

**Untersuchungen zur Biosynthese und zum Emissionsverhalten
ausgesuchter Terpenoide bei Pflanzen**

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Christoph Holzke

aus Hamburg

2001

Berichterstatter: PD Dr. W. Zimmer

Prof. Dr. G. Weissenböck

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 22.05.2001

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	9
2	Material und Methoden	17
2.1	Verwendetes Pflanzenmaterial für die Emissionsstudien	17
2.1.1	Der Fächerblattbaum <i>Ginkgo biloba</i> L.	17
2.1.2	Die Waldkiefer <i>Pinus sylvestris</i> L. und die Schwarzkiefer <i>Pinus nigra</i> L.	18
2.1.3	Die Braunalgen <i>Fucus spec.</i>	19
2.2	Ermittlung der Emissionen von flüchtigen organischen Kohlenwasserstoffen ...	19
2.2.1	Beschreibung der Zweig-Küvetten	19
2.2.2	Probenahme von flüchtigen organischen Kohlenwasserstoffen	22
2.2.3	Messung der meteorologischen Parameter	24
2.3	Analytik der flüchtigen Kohlenwasserstoffe	27
2.3.1	Aufbau der gekoppelten Analytik Thermodesorption/ Gaschromatographie/ Massenspektrometrie	27
2.3.2	Einsatz einer Kalibrationsgasquelle zur qualitativen und quantitativen Bestimmung der emittierten Kohlenwasserstoffe	31
2.3.2.1	Identifizierung der Kohlenwasserstoffe	35
2.3.2.2	Quantifizierung der detektierten Kohlenwasserstoffe	37
2.4	Berechnung der Standard-Emissionen biogener flüchtiger Kohlenwasserstoffe mit Hilfe von empirischen Algorithmen	39
2.5	Beschreibung eines numerischen Algorithmus für die Modellierung der <i>de novo</i> -Biosynthese von flüchtigen organischen Kohlenwasserstoffen	42
3	Ergebnisse	47
3.1	Untersuchungen zu der jahreszeitlichen Änderung der Zusammensetzung und dem Emissionsverhalten von flüchtigen Kohlenwasserstoffen bei <i>Pinus sylvestris</i> L. und <i>Pinus nigra</i> L.	47
3.1.1	Entwicklungsphysiologisch bedingte Größenänderung der emittierenden Nadeloberfläche bei den untersuchten <i>Pinus</i> -Arten	48
3.1.2	Die Kohlenwasserstoff-Emission bei <i>Pinus sylvestris</i> L. und <i>Pinus nigra</i> L. zu verschiedenen Jahreszeiten	49
3.1.3	Zusammensetzung der Kohlenwasserstoff-Emission im jahreszeitlichen Verlauf	54
3.2	Zeitliches Verhalten der Biosynthese und der Emission von flüchtigen Kohlenwasserstoffen bei <i>Ginkgo biloba</i> L.	71
3.2.1	Zusammensetzung der Kohlenwasserstoff-Emission von <i>Ginkgo biloba</i> L. ...	72
3.2.2	Das Emissionsverhalten von <i>Ginkgo biloba</i> L. nach Dunkelinkubation	73

3.2.3	Untersuchungen zum Beitrag von Mono- und Sesquiterpen-Emissionen aus dem cytoplasmatischen und dem plastidären Biosynthese-Weg bei <i>Ginkgo biloba</i> L.	75
3.2.3.1	Untersuchung der Isoprenoid-Biosynthese mittels einer Exposition geschnittener Zweige von <i>Ginkgo biloba</i> L. mit ¹³ C-markiertem Kohlendioxid	76
3.2.3.2	Hemmung der Emission einzelner von <i>Ginkgo biloba</i> L. emittierten Isoprenoide mittels des Hemmstoffes Fosmidomycin bei gleichzeitiger ¹³ CO ₂ -Exposition der Pflanze	84
3.3	Emissionsmessungen an der Gattung <i>Fucus</i>	90
4	Diskussion	93
4.1	Untersuchungen zu der jahreszeitlichen Änderung der Zusammensetzung und dem Emissionsverhalten von flüchtigen Kohlenwasserstoffen bei <i>Pinus sylvestris</i> L. und <i>Pinus nigra</i> L.	93
4.1.1	Die Kohlenwasserstoff-Emission bei <i>Pinus sylvestris</i> L. und <i>Pinus nigra</i> L. zu verschiedenen Jahreszeiten	94
4.1.2	Zusammensetzung der Kohlenwasserstoff-Emission im jahreszeitlichen Verlauf	97
4.1.3	Untersuchung der Einflussparameter auf die Kohlenwasserstoff-Emissionen.....	102
4.1.4	Modellierungsansätze für biogene VOC-Emissionen.....	106
4.2	Zeitliches Verhalten der Biosynthese und der Emission von flüchtigen Kohlenwasserstoffen bei <i>Ginkgo biloba</i> L.	108
4.2.1	Zusammensetzung der Kohlenwasserstoff-Emission von <i>Ginkgo biloba</i> L.	109
4.2.2	Untersuchungen zum Beitrag von Mono- und Sesquiterpen-Emissionen aus dem cytoplasmatischen und dem plastidären Biosynthese-Weg bei <i>Ginkgo biloba</i> L.	111
4.2.2.1	Untersuchung der Isoprenoid-Biosynthese mittels einer Exposition geschnittener Zweige von <i>Ginkgo biloba</i> L. mit ¹³ C-markiertem Kohlendioxid	111
4.2.2.2	Hemmung der Emission einzelner von <i>Ginkgo biloba</i> L. emittierten Isoprenoide mittels des Hemmstoffes Fosmidomycin.....	113
4.3	Emissionsmessungen an der Gattung <i>Fucus</i>	120
5	Zusammenfassung	125
6	Literaturverzeichnis	127
7	Anhang	139

Abkürzungsverzeichnis

^{12}C	Kohlenstoff-Isotop der rel. Atommasse 12 g mol^{-1}
^{13}C	Kohlenstoff-Isotop der rel. Atommasse 13 g mol^{-1}
^{14}C	Kohlenstoff-Isotop der rel. Atommasse 14 g mol^{-1}
Abb.	Abbildung
C_L	empirischer Parameter des Standard-Emissionsfaktors (= 1,066)
C-mol-%	Mol-Prozent Kohlenstoff
C_{T1}	empirischer Parameter des Standard-Emissionsfaktors (= $95.000 \text{ J mol}^{-1}$)
C_{T2}	empirischer Parameter des Standard-Emissionsfaktors (= $230.000 \text{ J mol}^{-1}$)
C_{T3}	empirischer Parameter des Standard-Emissionsfaktors (= 0,961)
DMADP	Dimethylallyl-diphosphat
DOX	Desoxy-D-xylulose
DOXP	Desoxy-D-xylulose-phosphat
Dxr	Desoxyxylulosephosphat-Reductoisomerase
Dxs	Desoxyxylulosephosphat-Synthase
E_{KW}^{pool}	temperaturabhängige Kohlenwasserstoff-Emission aus Speicherräumen
$E_{KW}^{\text{p, s}}$	Standard-Emissions-Faktor (Emission bei einer Temperatur = 303 K)
$E_{KW}^{\text{Synth.}}$	temperatur- und lichtabhängige Emission, hervorgehend aus der <i>de novo</i> -Biosynthese der abgegebenen Kohlenwasserstoffe
$E_{KW}^{\text{S, s}}$	Standard-Emissions-Faktor (Emission bei einer Temperatur = 303 K und einer PAR = $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGM	environmental gas monitor
EI	Elektronenstoß-Ionisation
Fa.	Firma
FDP	Farnesyl-diphosphat
FEP	fluoriertes Ethylenpolymer
GA-3P	Glycerinaldehyd-3-phosphat
GC	Gaschromatographie
GDP	Geranyldiphosphat
GGDP	Geranylgeranyl-diphosphat

GLT	glaslined tube (glasbeschichtetes Rohr)
GTP	Guanosin-triphosphat
Hmgr	3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzym A-Reduktase
HTR	humidity-temperature-radiation
HVOC	halogenated volatile organic compound (halogenierte flüchtige organische Verbindung)
ID	Innendurchmesser
IDP	Isopentenyl-diphosphat
IFU	Institut für Atmosphärische Umweltforschung
IRGA	Infrarot-Gas-Analysator
ISAS	Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie
L	Lichtintensität
ln	natürlicher Logarithmus
MEP	2-C-Methylerythritol-4-phosphat
MS	Massenspektrometrie
m/z-Verhältnis	Masse zu Ladung-Verhältnis
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
n.b.	nicht bestimmt
N.N.	Normal-Null
PAR	photosynthetic active radiation (photosynthetisch aktive Strahlung)
P _{KL}	rel. Anteil von ¹³ CO ₂ an der Küvettenluft
P _{Synth}	rel. Anteil der ¹³ CO ₂ -Moleküle am Isoprenoid-Syntheseort
PTFE	Polytetrafluorethylen
P _{X(M)}	rel. Anteil von ¹³ C-Atomen in einem Isoprenoid-Molekül
Q _k	Luftdurchsatz der Zweig-Küvette
R	allgemeine Gaskonstante (= 8,314 J mol ⁻¹ K ⁻¹)
rH	relative humidity (relative Luftfeuchte)
spec.	Spezies
T	Temperatur
Tab.	Tabelle
TG	Trockengewicht
Tg	Teragramm (= 10 ¹² g)
TIC	total ion current (Total-Ionenstrom)
T _M	kritische Temperatur der Enzym-Denaturierung

T_s	standardisierte Temperatur
V_K	Volumen der Zweig-Küvette
VOC	volatile organic compound (flüchtige organische Verbindung)
v/v	Volumen pro Volumen

1 Einleitung

Die chemische Zusammensetzung der Atmosphäre wird stark durch die Spurengase der Biosphäre beeinflusst. Wichtige Komponenten dieser auch als VOCs (*volatile organic compounds*) bezeichneten Substanzen sind neben dem Methan die längerkettigen flüchtigen organischen Verbindungen (C₅- bis C₁₅-Kohlenwasserstoffe). Im letzten Jahrzehnt ist die Emission solcher längerkettigen organischen Verbindungen in ein globales Interesse gerückt, da diese Kohlenwasserstoffe bei ihrem Abbau die Konzentration der atmosphärischen OH-Radikale verringern (Thompson, 1992), welche unter anderem zum Abbau des Treibhausgases Methan benötigt werden. Darüber hinaus führt der Umsatz dieser Verbindungen in stadtnahen Gebieten, in denen hohe NO_x-Konzentrationen vorliegen, zu der Bildung von Ozon (Paulson & Seinfeld, 1992) und anderen Reizgasen im Sommersmog. Die von Pflanzen emittierten Kohlenwasserstoffe sind deshalb so reaktiv, da sie größtenteils ungesättigt sind. Dies gilt besonders für die von vielen Pflanzen emittierten Isoprenoide. Zudem können diese Substanzen als Kondensationskerne für die Bildung von organischen Aerosolen dienen (Haataja et al., 1999). Für die Chemie der Atmosphäre sind besonders die leichtflüchtigen Verbindungen von Interesse. Für diese Kohlenwasserstoffe ist die Möglichkeit eines schnellen Austausches zwischen Biosphäre und Atmosphäre gegeben. Isopren und Monoterpene tragen hier am stärksten zu den biogenen Kohlenwasserstoff-Emissionen, die in die Atmosphäre gelangen, bei (Guenther et al., 1995). Neben diesen werden von einigen Pflanzenspezies auch hohe Raten an Sesquiterpenen abgegeben (Winer et al., 1992; Koenig et al., 1995; Waengberg et al., 1997). Allerdings gelangen diese Verbindungen auf Grund ihrer großen Reaktivität meist nicht in höhere Luftschichten. Sie sind aber für die Luftchemie des Bestandes der emittierenden Pflanzen von Interesse.

Der weltweite Beitrag der Vegetation zur Menge von flüchtigen organischen Verbindungen in der Atmosphäre wurde erstmals in den 60er Jahren auf 175 Tg Kohlenstoff pro Jahr geschätzt (Went, 1960). Dieser Wert wurde in späteren Arbeiten deutlich nach oben korrigiert, und man geht mittlerweile von einer globalen biogenen Emission (ohne Berücksichtigung von Methan) von etwa 1150 Tg Kohlenstoff pro Jahr aus (Fehsenfeld et al., 1992). Im Vergleich dazu schätzt man die Emission von Kohlenwasserstoffen aus anthropogenen Quellen auf Werte zwischen 56 Tg Kohlenstoff pro Jahr (Ehhalt et al., 1986) und 98 Tg Kohlenstoff pro Jahr (Müller, 1992). Damit übersteigt der Beitrag der biogenen Emissionen den der anthropogenen um einen Faktor 10-20.

Die Einschätzung der globalen Quellstärke der biogenen Emissionen ist mit großen Unsicherheiten belegt. Dies wird an den bedeutenden Unterschieden der Abschätzungen verschiedener Autoren mit Differenzen um bis zu 200 % deutlich (Lamb et al., 1987; Lamb et al., 1993; Monson et al., 1994; Guenther et al., 1995; Guenther et al., 1996; Guenther, 1999). Grund hierfür ist die Komplexität der verschiedenen Parameter, die auf das Emissionsverhalten von Pflanzen Einfluss nehmen. Die auf die pflanzliche Bildung und Emission einwirkenden Faktoren Temperatur und Lichtintensität sind bis heute die am besten untersuchten Parameter. Aber auch andere Faktoren wie die Belastung der Pflanze mit Schadgasen, der Einfluss durch Fraßfeinde und Pathogene, sowie ein entwicklungsphysiologischer Einfluss wirken auf das Emissionsverhalten und sind daher für die Abschätzung der biogenen Emissionen von großer Bedeutung (Tingey, 1981; Yokouchi & Ambe, 1984; Sidorovich et al., 1985; Steinbrecher et al., 1997).

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, die Abschätzungen der Kohlenwasserstoff-Emissionen auf eine breitere Basis zu stellen. Dies sollte zum einen durch Messungen sowohl bezüglich der Zusammensetzung als auch der saisonalen Änderungen im Emissionsverhalten einer ausgesuchten, in der nördlichen Hemisphäre weitverbreiteten Pflanzenspezies der Gattung *Pinus* erreicht werden. Vergleichende Untersuchungen an Vertretern der verhältnismäßig ursprünglichen Makroalgen waren darauf ausgerichtet, deren Beitrag zur Quellstärke biogener Emissionen zu klären. Die hier vorliegenden Ergebnisse können Modellentwicklern als Grundlage für die Abbildung regionaler Emissionen dienen. Zudem wurde das Verständnis der biogenen Ursprünge der Emissionen über erste Studien zur Biosynthese an *Ginkgo biloba* L. erweitert. Bei allen Studien wurde neben der Untersuchung der Monoterpen-Emissionen auch ein besonderer Wert auf die Detektion und die Untersuchung der Sesquiterpene und sauerstoffhaltiger Verbindungen gelegt. Für diese Komponenten sind im Vergleich zu Studien der Emission von Isopren und Monoterpenen bisher nur sehr wenige Daten verfügbar. Da diese Kohlenwasserstoffe aber, wie bereits erwähnt, hoch reaktiv sind, haben sie einen entscheidenden Einfluss sowohl auf die ökologischen als auch auf die luftchemischen Verhältnisse unserer Erdatmosphäre.

Die Isoprenoide bilden die größte Gruppe der Naturstoffe. Über 22000 verschiedene Verbindungen dieser Stoff-Klasse wurden bisher beschrieben (Connolly & Hill, 1991). Dabei hat sich die Zahl der für Isoprenoide aufgeklärten Strukturen seit den 70er Jahren in jeder Dekade verdoppelt (Devon & Scott, 1972; Glasby, 1982). Gemeinsam ist allen diesen Verbindungen, dass sie jeweils ein Vielfaches einer C₅-Grundstruktur darstellen (Tab. 1), also die Anzahl der Kohlenstoffatome in einer isoprenoiden Verbindung entsprechend der sogenannten Ruzicka-Regel immer durch fünf teilbar ist (Ruzicka,

1953). Ausnahmen von dieser Regel, wie sie zum Beispiel bei Homoterpenen auftreten, bei denen das C-Gerüst um vier Kohlenstoffe verkürzt ist, entstehen durch eine sekundäre Modifikation der zuvor als Isoprenoid höherer Ordnung (hier ein C₁₅-Körper) synthetisierten Verbindung. Die Funktion der verschiedenen Isoprenoide, welche in Pflanzen gefunden werden, ist vielfältig (Tab. 1). Wie auch andere Naturstoffe werden die Isoprenoide je nach ihrer Funktion als Primär- bzw. als Sekundärstoffe charakterisiert. Zu den Primärstoffen werden die Sterole, Carotinoide, Hormone (Gibberelline, Abscisinsäure und Wachstumsregulatoren) und polyprenole Substituenten von Dolicholen, Quinonen und einigen Proteinen gezählt. Diese Verbindungen haben im pflanzlichen Stoffwechsel Funktionen, welche auch in tierischen Organismen gefunden werden. Sie sind essentiell für die Funktion des Elektronentransports in Membranen, die Photoprotektion des Organismus und den Ablauf entwicklungsphysiologischer Vorgänge.

Tab. 1: Übersicht der Isoprenoide nach Kohlenstoff-Kettenlänge und Funktion.

Gezeigt sind die wichtigsten Klassen der Isoprenoide, die C-Kettenlänge von deren Vertretern und exemplarisch einige Vertreter der Klasse sowie deren Hauptfunktion bei der Pflanze.

Klasse	Struktur	Beispiel	Funktion
Hemiterpene	C ₅	Isopren Cytokinin	Wachstumsregulation
Monoterpene	C ₁₀	α-Pinen Myrcen Limonen δ-3-Caren	Aromen, Pflanze/Pflanze- Interaktion Pflanze/Tier- Interaktion
Sesquiterpene	C ₁₅	Farnesen Bisabolen Bourbonen Cadinen	Pflanze/Pflanze-Interaktion Pflanze/Tier- Interaktion
Sterole	2xC ₁₅	Stigmasterol	Membranstruktur und Funktion
Proteine mit Prenylrest	Rest: C ₁₅ -C ₂₀	GTP Binde- proteine	Zellwachstum
Diterpene	C ₂₀	Gibberellinsäure	Wachstumsregulation
Polyprenole	≥C ₂₀	Dolichole Ubiquinone Chlorophylle Carotinoide	Glykosyl-Bildung Elektronen-Transport Photosynthese Photoprotektion

Den Sekundärstoffen werden das Isopren, die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Mono- und Sesquiterpene (C_{10} - bzw. C_{15} -Verbindungen), sowie die Diterpene (C_{20} -Verbindungen) zugeschrieben. Diese Verbindungen werden besonders in Pflanzen gefunden. Auch wenn diese Substanzen dem Sekundärstoffwechsel zugezählt werden und damit nicht essentiell für das Überleben des Organismus sind, haben sie eine wichtige Funktion in der Interaktion sowohl zwischen Pflanze und Pflanze als auch zwischen Pflanze und Tier (vgl. Tab. 1). Dabei wirken diese Isoprenoide hauptsächlich als Signalstoffe, zur Verdrängung anderer pflanzlicher Individuen am Standort, der Attraktion von Blütenbestäubern sowie der Abwehr von Fraßfeinden und Pathogenen (Harborne, 1991).

Charakteristisch für diese flüchtigen Vertreter der Isoprenoide sind deren meist starker Geruch und eine nur geringe Wasserlöslichkeit. Bezüglich der Molekülstruktur umfasst die Gruppe der Terpene sowohl azyklische als auch mono-, bi- und trizyklische Strukturen. Sie sind ungesättigte Kohlenwasserstoffe, welche teilweise Sauerstoff-Substituenten aufweisen (Abb. 1).

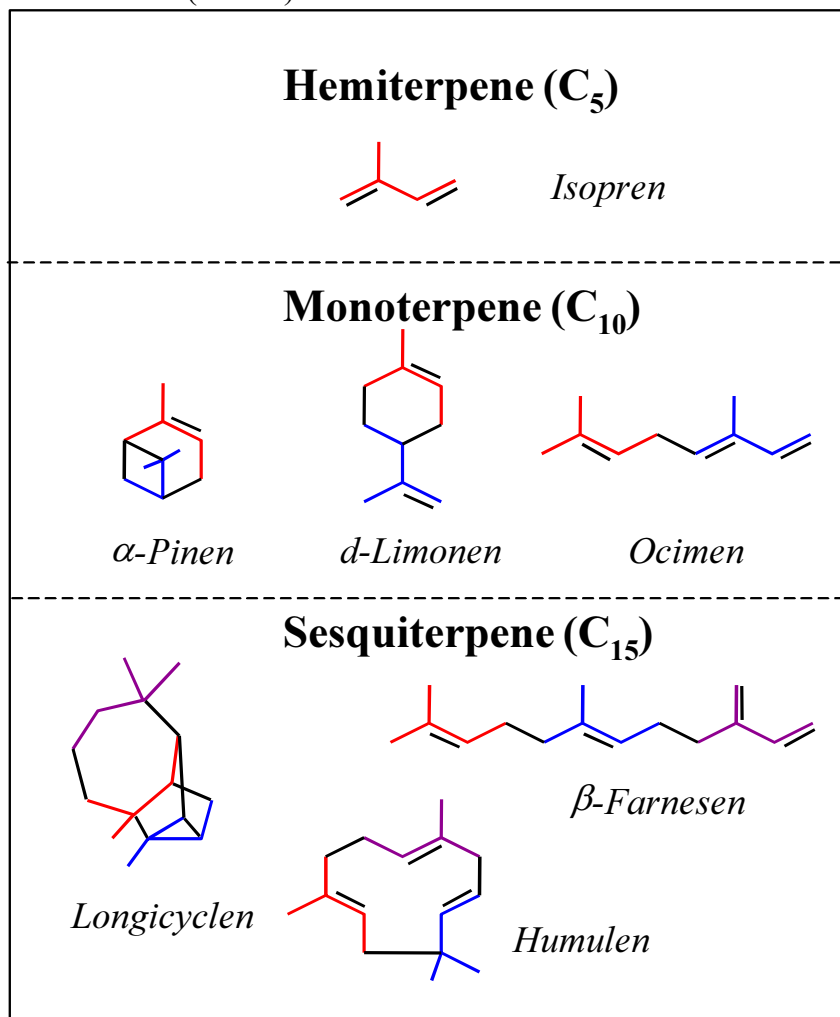


Abb. 1: Beispiele für die Molekül-Strukturen von Isoprenoiden. Gezeigt sind Vertreter der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Klassen der Isoprenoide.

Die Biosynthese der pflanzlichen Isoprenoide wird zwei voneinander unabhängigen Synthesewegen zugeschrieben (Lichtenthaler et al., 1997a). Diese sind in verschiedenen Zell-Kompartimenten lokalisiert (vgl. Abb. 2). Aufgrund bisheriger Untersuchungen geht man davon aus, dass Monoterpene über den *Methyl-Erythritol-Phosphat* (MEP)-Weg in den Plastiden wie den Chloroplasten (Lichtenthaler et al., 1997b), den Leucoplasten (McCaskill & Croteau, 1995) und den Chromoplasten (Mettal et al., 1988), die Sesquiterpene dagegen über den *Mevalonat*-Weg im Cytoplasma synthetisiert werden (Adam & Zapp, 1998; Bohlmann et al., 1998). Die Lokalisierung der verschiedenen Isoprenoid-Biosynthese-Wege erfolgte über Inkubationsversuche mit markiertem Substrat (Piel et al., 1998; Lichtenthaler, 1999). Der MEP-Synthese-Weg wurde sowohl in prokaryotischen Eubakterien (Disch et al., 1998) als auch in den Plastiden höherer Pflanzen nachgewiesen (Lichtenthaler et al., 1997b; Schwender et al., 1999).

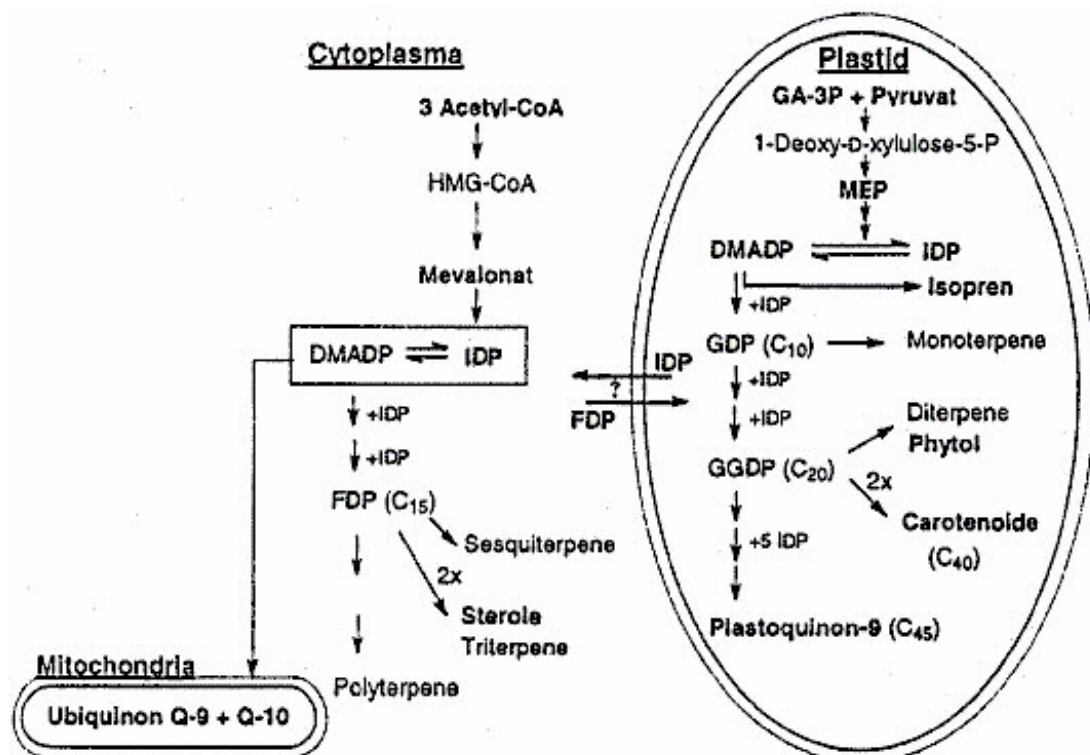


Abb. 2: Die Biosynthese der Isoprenoide. Mono- und Sesquiterpene sind frühe Produkte des Isoprenoid-Stoffwechsels, welcher bis zur Synthese von C₄₀-C₄₅ Verbindungen wie Carotinoide oder des Isoprenoid-Anteils des Plastochinons führt. Die Biosynthese der pflanzlichen *Isoprenoide* wird zwei voneinander unabhängigen Synthesewegen zugeschrieben. Diese sind in verschiedenen Zell-

Kompartimenten lokalisiert. Die *Monoterpene* werden danach über den MEP-Weg in den Plastiden, die *Sesquiterpene* dagegen über den Mevalonat-Weg im Cytoplasma synthetisiert.

Verwendete Abkürzungen: MEP *2-C-Methylerythritol-4-phosphat*, IDP *Isopentenyl-diphosphat*, DMADP *Dimethylallyl-diphosphat*, GDP *Geranyl-diphosphat*, FDP *Farnesyl-diphosphat*, GGDP *Geranylgeranyl-diphosphat* (Lichtenthaler, 1999; verändert).

Wie schon erwähnt, gehen alle Isoprenoide entsprechend der Ruzicka-Regel aus einer C₅-Vorstufe, dem Isopentenyl-diphosphat IDP, hervor. IDP kann über die IDP-Isomerase reversibel in Dimethylallyl-diphosphat DMADP umgewandelt werden, welches das Substrat für die Isopren-Synthase ist, die aus diesem Intermediat Isopren synthetisiert. Durch die Addition einer IDP-Einheit zu DMADP entsteht der C₁₀-Körper Geranyl-diphosphat GDP, aus welchem die verschiedenen Monoterpene durch eine Modifikation der Grundstruktur unter Freisetzung von Pyrophosphat hervorgehen. Verschiedene Monoterpen-Synthasen stehen der Pflanze für diese Modifikation zur Verfügung (Croteau et al., 1988). Mit der Addition eines weiteren IDP zu GDP entsteht die Vorstufe der Sesquiterpene, der C₁₅-Körper Farnesyl-diphosphat FDP und bei einer weiteren IDP-Addition Geranylgeranyl-diphosphat GGDP, welches die Vorstufe der Diterpene ist. Auch für die Bildung der Sesquiterpene stehen der Pflanze verschiedene Synthasen zur Verfügung. Über „Kopf-Schwanz“-Kondensation von C₁₀- bzw. C₂₀-Körpern entstehen die Isoprenoide höherer Ordnung (wie z. B. C₃₀- oder C₄₀-Verbindungen). Transformationen der Grundgerüste der Isoprenoide erfolgen auf unterschiedlichste Weise wie durch Oxidation, Reduktion, Isomerisation oder Konjugation der Strukturen. Die Regulation der Isoprenoid-Biosynthese erfolgt über verschiedene Kontroll-Mechanismen (Gershenzon & Croteau, 1990), ist aber bis heute nur teilweise verstanden. Ein wichtiger Regulationspunkt scheint die Cyclisierung von isoprenoiden Vorstufen zu sein.

Wie bereits erwähnt, übersteigt nach bisherigem Wissen die Kohlenwasserstoff-Emission aus biogenen Quellen die der Emission aus anthropogenen Quellen beträchtlich. Zudem sind die biogen emittierten Verbindungen hoch reaktiv, was besonders auch für die Isoprenoide höherer Ordnung gilt. Neben dem Verständnis der ökologischen Funktion der Kohlenwasserstoff-Emissionen ist daher auch das Erlangen eines fundamentalen Wissens über das Emissionsverhalten bei Pflanzen für den Erhalt unserer Umwelt von großem Interesse. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der regionalen Einschätzung der Emissionsraten biogener Kohlenwasserstoffe in unsere Erdatmosphäre. Durch Untersuchungen der jahreszeitlichen Änderung im Emissionsverhalten und der Untersuchung der Biosynthese von Mono- und Sesquiterpenen wird mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zur Klärung dieser Frage beigetragen.

Ziele der Arbeit:

- Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte die sogenannte Küvettentechnik für Emissionsstudien angewandt werden. Mit dieser Technik, die keinen Aufschluss des Pflanzenmaterials erfordert, besteht die Möglichkeit, Emissionen unter weitestgehendem Ausschluss von verletzungsbedingtem Stress und eine dadurch hervorgerufene Beeinflussung des Emissionsverhaltens zu ermitteln.
- Für die Art *Pinus sylvestris* L. sollte in einer über längere Zeit angelegten Studie für verschiedene Jahreszeiten die Zusammensetzung der emittierten organischen Verbindungen der Mono- und Sesquiterpene sowie sauerstoffhaltiger Kohlenwasserstoffe bestimmt werden. Darüber hinaus sollten jahreszeitliche Änderungen der Abgaberraten der gefundenen pflanzlichen Emissionen erfasst werden.
- Durch die Anwendung verschiedener Algorithmen zur Emissionsberechnung sollte gezeigt werden, inwieweit die Emissionen bei *P. sylvestris* durch Temperatur und Lichtintensität bestimmt werden. Mit Hilfe dieser Algorithmen sollten Standard-Emissionen (Emissionen bei definierter Temperatur und Lichtintensität) für die Waldkiefer bestimmt werden.
- An *Ginkgo biloba* L. sollten mittels Hemmstoff-Versuchen und einer $^{13}\text{CO}_2$ -Inkubation Aussagen zum Emissionsverhalten und damit rückschließend zur Biosynthese der emittierten Mono- und Sesquiterpene ermöglicht werden. Dabei sollte untersucht werden, welcher der beiden möglichen Synthesewege (Mevalonat-Weg bzw. MEP-Synthese-Weg) für die Synthese der emittierten Isoprenoide bei *Ginkgo biloba* verantwortlich ist. Es sollte gezeigt werden, inwieweit assimiliertes $^{13}\text{CO}_2$ kurzfristig (innerhalb von Minuten oder Stunden) in emittierten Kohlenwasserstoffen wiederzufinden ist. Zudem sollte über die Hemmung des MEP-Synthese-Wegs mittels des Hemmstoffs Fosmidomycin eine Zuordnung der Biosynthese-Wege für die Mono- bzw. Sesquiterpene ermöglicht werden.
- In einer zusätzlichen Studie sollte für Vertreter der Braunalgen-Gattung *Fucus* im Rahmen der vorliegenden Arbeit deren Beitrag zur biogenen VOC-Emission eingestuft werden.

2 Material und Methoden

2.1 Verwendetes Pflanzenmaterial für die Emissionsstudien

Die untersuchten Vertreter der Familien *Ginkgoaceae* der Klasse der *Ginkgoopsida* und *Pinaceae* der Klasse der *Pinopsida* gehören zu der gleichen Unterabteilung der *Coniferophytina* der *Gymnospermae*. Die untersuchten Makroalgen der Klasse *Phaeophyceae* zählen zu der Abteilung der *Heterokontophyta* der eukaryotischen Algen (Strasburger et al., 1991).

Die Emissionsstudien wurden an Zweigen der jeweiligen Art bzw. bei den Makroalgen am gesamten Thallus der untersuchten Arten durchgeführt. Die Messungen wurden teils im natürlichen Lebensraum (bei *Pinus spec.* und *Fucus spec.*), teils unter Laborbedingungen (*Ginkgo biloba*) vorgenommen.

2.1.1 Der Fächerblattbaum *Ginkgo biloba* L.

Der Fächerblattbaum *Ginkgo biloba* L. gehört zu der Gattung *Ginkgo* der Familie der *Ginkgoaceae* (nach dem chin. Gin-kyo = Silber-Aprikose). Die hauptsächlich fossil bekannten Vertreter dieser Familie sind Bäume mit verzweigter Krone, festem Holz und lederigen, fächerförmig gestalteten, tief eingeschnittenen Blättern. Die Nervatur der Blätter ist streng dichotom. Die Blattform und die Nervatur sind die auffälligsten Merkmale der einzigen heute lebenden Art *Ginkgo biloba* L.. Trivialnamen dieser Art sind Ginkgo und Fächerblattbaum. Die Art *G. biloba* ist fossil belegt seit der Kreide. Wahrscheinlich ist die Art aber noch viel älter. Dies lässt der Fund der fossilen Gattung *Ginkgoites* vermuten, deren Vertreter bei ihren Blättern eine ähnliche Anatomie aufweisen. Die Funde zeigen eine stärkere Lappung der Blätter als bei der rezenten Art *G. biloba* gefunden wird, haben aber eine gleichartige Epidermisstruktur. Die Gattung wird zeitlich in die obere Trias bis hin zur Kreide eingestuft. In dieser Zeit wurde die größte Formenvielfalt ausgebildet. Im Jura erreicht sie ihre größte Ausbreitung, die sich weltweit erstreckt. Besonders in der nördlichen Hemisphäre bildete die Gattung große Wälder aus (Dorf, 1958; Tralau, 1968).

Die Untersuchungen zum Emissionsverhalten wurden an Zweigen eines etwa 7 Jahre alten, getopften Ginkgo-Baumes (Höhe 150 cm, Quelle: Dinger's Gartencenter Köln) in einer Klimakammer des Instituts für atmosphärische Umweltforschung (IFU), Garmisch-Partenkirchen durchgeführt. Der Baum wurde täglich gut gewässert und zeigte einen gesunden Habitus.

Weitere Emissionsstudien an *G. biloba* erfolgten an einzelnen Zweigen im Labor am Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie (ISAS), Dortmund. Die Zweige wurden direkt vor den Versuchen im benachbarten Botanischen Garten an einem etwa 35 Jahre alten Ginkgo-Baum geschnitten und in Nährlösung überführt (Ingestad-Nährlösung nach Ingestad (1959), zusammengesetzt aus: Makroelemente: NH_4NO_3 : 0,143 g/l, NaCl : 0,0127 g/l, KCl : 0,0713 g/l, $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$: 0,1521 g/l, $\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$: $5,2 \times 10^{-4}$ g/l, $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$: 0,1467 g/l; Spurenelemente: H_3BO_4 : 0,972 g/l, $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$: 0,088 g/l, $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$: 0,079 g/l, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$: 0,08 g/l; Phosphat: KH_2PO_4 : 0,044 g/l; Fe-EDTA: $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$: 0,0014 g/l, $\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2 \text{H}_2\text{O}$: 0,0018 g/l).

2.1.2 Die Waldkiefer *Pinus sylvestris* L. und die Schwarzkiefer *Pinus nigra* L.

Die untersuchten Arten gehören zu der Gattung *Pinus* der Familie der *Pinaceae* (lat. Pflanzennamen; eigentlich: Picnus von pix, picis = Harz; also Harz liefernder Baum), welche mit ca. 225 Arten die artenreichste Gruppe der *Coniferophytina* darstellt. Ihr Vorkommen ist weitestgehend auf die nördliche Hemisphäre beschränkt. Trivialnamen sind Kiefer und Föhre. *Pinus*-Arten sind fossil seit der unteren Kreide belegt. Die Gattung *Pinus* umfasst ca. 70 Arten, die auf der nördlichen Halbkugel weite Verbreitung finden. In den Tropen treten sie nur in den höheren Lagen auf.

Die Waldkiefer *P. sylvestris* findet ihre Verbreitung von Europa aus östlich bis Sibirien und südöstlich über den Kaukasus bis Persien. Diese Kiefer ist der weitverbreitetste Nadelbaum überhaupt. Sie hat Europa und Asien zuerst besiedelt. Die Waldkiefer kann bis 40 m hoch werden. Die Nadeln, jeweils zwei an einem Kurztrieb, sind bis 8 cm lang. Die Blütezeit der Waldkiefer ist im Monat Mai.

Die Schwarzkiefer *P. nigra* L. ist von Südosteuropa bis Spanien und bis zur Nord- und Ostsee verbreitet. Sie bevorzugt einen trockenen, warmen Standort. Die dunkelgrünen ca. 8 bis 15 cm langen Nadeln stehen zu je zwei an den Kurztrieben. Die Blüten werden bei *P. nigra* im Mai bis Juni ausgebildet.

Untersuchungen wurden an Zweigen beider Arten im Kronenbereich eines Forstes in Hartheim bei Freiburg durchgeführt.

2.1.3 Die Braunalgen *Fucus spec.*

Die untersuchten Arten der Gattung *Fucus* (griechisch phykos = Tang) gehören zur Ordnung *Fucales*, welche der Abteilung *Phaeophyta* (Braunalgen) angehören. Die Makroalgen bestehen aus einem aufgefächerten dichotomen Thallus, welcher einen kleinen Fuß und eine Haftscheibe aufweist. Die Wedel zeigen üblicherweise eine zentrierte Verdickung, welche als Mittelrippe bezeichnet wird. Teilweise ist ein Gewebe mit Gaseinschlüssen vorhanden (*Fucus vesiculosus*), welches dazu beiträgt, den Thallus der Pflanze im Wasser aufzurichten.

Die Emissionsmessungen erfolgten an der Westküste von Irland. Als Ort der Studien wurde eine Bucht im *Connemara National Park* bei Galway genutzt. Untersuchungen wurden an den während des Niedrigwassers der Tide trockengefallenen, aber noch frischen Thalli durchgeführt.

2.2 Ermittlung der Emissionen von flüchtigen organischen Kohlenwasserstoffen

2.2.1 Beschreibung der Zweig-Küvetten

Die Untersuchungen zum Emissionsverhalten flüchtiger organischer Verbindungen wurden mit der sogenannten Küvettentechnik durchgeführt. Im folgenden werden Aufbau und Funktionsweise der verwendeten Küvetten beschrieben. Alle Küvetten wurden dynamisch, d.h. unter Zuleitung von gereinigter Umgebungsluft bzw. synthetischer Luft aus Gasdruckflaschen betrieben.

Die Studien an den zwei *Pinus*-Arten erfolgten im Freiland direkt in einem ca. 10 x 1,5 km² großen Baumbestand. Hier wurden für die Messungen im Kronenbereich Zweig-Küvetten mit einem Volumen von 53 Litern von einem Messturm aus eingesetzt (vgl. Abb. 3c). Bei diesen umschließt ein transparenter Foliensack das zu untersuchende Pflanzenmaterial (hier ein Zweig von ca. 30 cm Länge) und bildet so ein Mikroklima um die emittierende Oberfläche der Pflanze. Die verwendete Folie (Fa. Foiltec, Bremen) aus fluoriertem Ethylenpolymer (FEP) ist für die photosynthetisch aktive Strahlung (*photosynthetic active radiation* PAR, Wellenlänge: 400-700 nm) durchlässig. Gegenüber den untersuchten Verbindungen verhält sich die Folie inert. Substanzverluste durch Oberflächenreaktionen oder Adsorption werden so weitestgehend vermieden. Der Foliensack ist zur Stabilisierung in einen Aluminiumrahmen eingesetzt. Der Rahmen der Küvette ist mit einer Kopfplatte versehen, auf welcher Schlauchanschlüsse, ein Ventilator und ein Messfühler für meteorologische Parameter angebracht sind.

Für die Emissionsmessungen wird die Küvette über einen zu untersuchenden Zweig gezogen und an der Seite zur Zweigbasis hin verschlossen. Dies erfolgt lediglich locker als Umschließung (also nicht gasdicht), um eine Verletzung des Triebes und damit verbundene Emissionen (verletzungs- oder stressbedingt) zu vermeiden. Über einen Schlauchanschluss an der Kopfplatte des Systems wird kontinuierlich gereinigte Umgebungsluft in die Küvette eingeleitet. Ein unkontrolliertes Eindringen von kohlenwasserstoffhaltiger Umgebungsluft wird durch einen geringfügigen Überdruck der eingeleiteten Luft verhindert. Um den Eintrag von Kohlenwasserstoffen in die Küvette zu minimieren, wurde die Umgebungsluft direkt vor der Einleitung über eine Aktivkohle-Kartusche geleitet. Kohlenwasserstoffe adsorbieren an der Kohlenstoffoberfläche des Filters, was zu einer Minimierung des Eintrags auf unter 5 % verglichen mit den Emissionsraten der emittierenden Pflanzenteile führt. Der Reinheitsgrad der zugeleiteten Luft wurde an jedem Messtag jeweils einmal um 9:30 h und um 15:30 h mit Probenahmen aus der in die Küvette geleiteten Luft kontrolliert. Die Volumenströme der zugeleiteten Luft wurden im Bereich von 6-10 l/min gewählt.

Die Durchmischung der Luft innerhalb der Küvette erfolgte mit Hilfe des an der Kopfplatte eingeführten Flügelrad-Ventilators. Es wurde eine Windgeschwindigkeit gewählt, welche eine gute Homogenisierung erzielte, ohne für die Kiefern zu mechanischem Stress durch Luftströmung zu führen. Die Probenahme der emittierten Kohlenwasserstoffe aus der Küvette erfolgte über einen weiteren Schlauchanschluss an der Kopfplatte der Küvette. Es wurden zwei Bäume der Art *Pinus sylvestris* und ein Baum der Art *Pinus nigra* untersucht. Die Installation der drei Küvetten während der Messkampagnen erfolgte jeweils am selben Zweig im Kronenbereich der ausgewählten Bäume.

Für die Laborstudien an *Ginkgo biloba* L. wurden ähnliche Zweig-Küvetten verwendet (Abb. 3 a und b). Es kamen Zweig-Küvetten mit einem Volumen von 4,5 l und 1,3 l zum Einsatz. Abweichend von der Konstruktion der 53 l-Küvetten für die Untersuchungen an *Pinus* bestehen die Körper dieser kleineren Küvetten aus Glas (4,5 l-Küvette) bzw. aus Plexiglas (1,3 l-Küvette). Als Kopf- und Bodenplatte wurde bei der 4,5 l-Küvette PTFE (Polytetrafluorethylen) gewählt. Die Technik der Gasführung und der Durchmischung der Luft waren in dieser kleineren Zweig-Küvette weitestgehend gleich der 53 l-Küvetten. Der Volumenstrom der Gaszufuhr (hier synthetische Luft unter Zugabe von ^{12}C - bzw. ^{13}C -Kohlendioxid in ambienten Konzentrationen) betrug in diesem System 2 l min^{-1} .

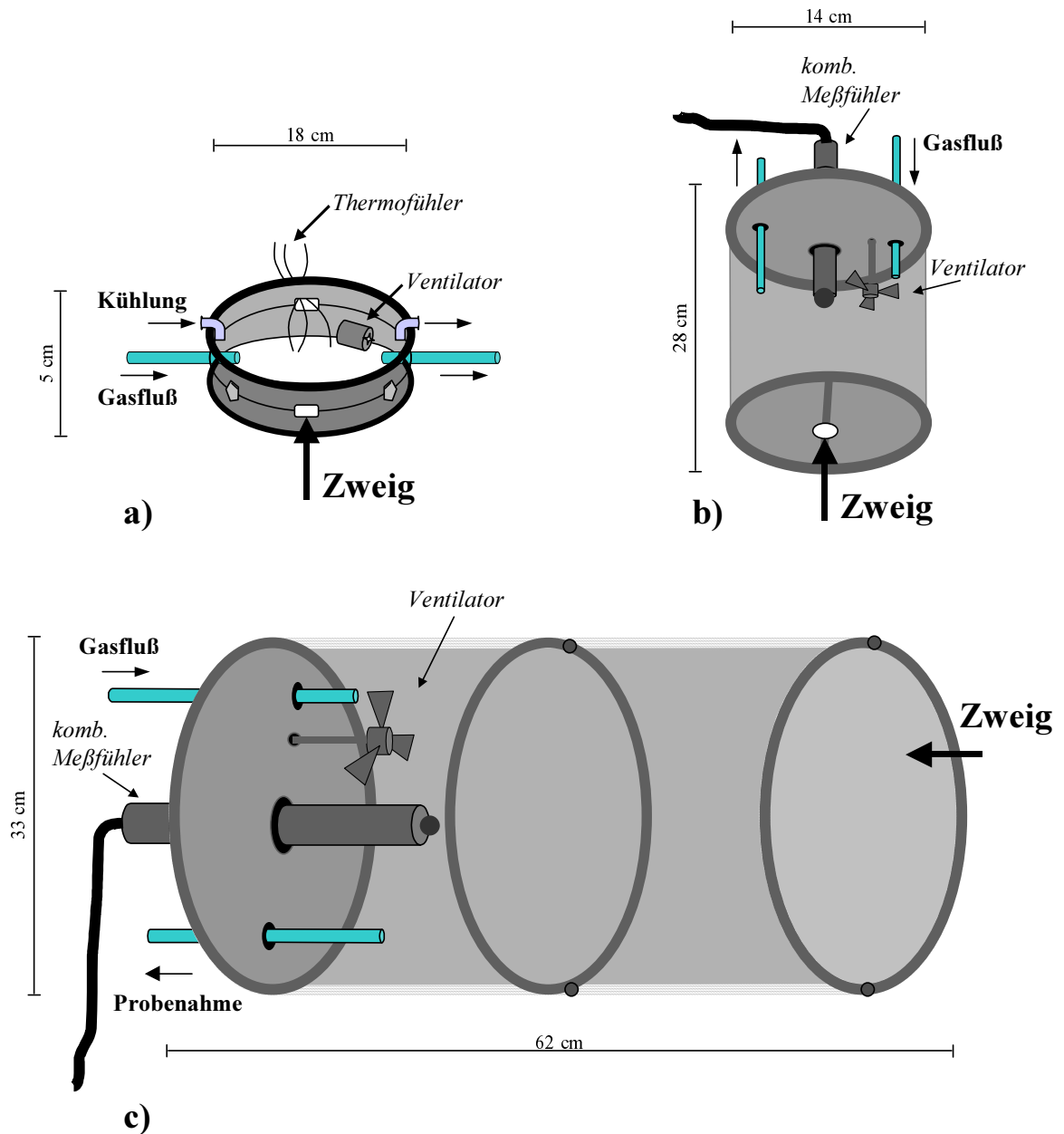


Abb. 3: Bauweise der Zweig-Küvetten. a) 1,3 l-Küvette, b) 4,5 l-Küvette, c) 53 l-Küvette. Alle Küvetten wurden dynamisch betrieben (Gaszufuhr: gereinigte Umgebungsluft oder synthetische Luft). Die Küvetten sind für photosynthetisch aktive Strahlung durchlässig. Die 53 l- und die 4,5 l-Küvette werden soweit gedichtet, dass ein geringer Innen-Überdruck entsteht. Die 1,3 l-Küvette wird nach außen hin gasdichtet, da sie eine Durchfluss-Küvette darstellt. In allen Küvetten werden die meteorologischen Parameter Temperatur, Lichtintensität (PAR) und Luftfeuchte, sowie der Kohlendioxidgehalt der Luft bestimmt.

Für die 1,3 l-Küvette des IFU kam ein System der Gasversorgung zum Einsatz, welches sowohl über eine Zuleitung zur Küvette als auch eine Ableitung der Küvettenluft verfügt. Vorteil dieses Systems ist die Möglichkeit einer Parameterbestimmung vor und hinter der Küvette. Dies ist besonders nützlich für Differenzmessungen der CO₂-Konzentration und der Luftfeuchte. Die CO₂-Differenzmessung vor und hinter der Küvette gibt Aufschluss über die Assimilationstätigkeit des in der Küvette eingesetzten Zweiges. Der Volumenstrom der Gaszufuhr in die Küvette (Umgebungsluft oder synthetische Luft unter Zugabe von ¹³C-Kohlendioxid) betrug bei diesem System 1,2 l min⁻¹.

Für die Untersuchungen an Vertretern der Gattung *Fucus* wurde von der Universität Lancaster (GB), welche zur gleichen Zeit vor Ort Messungen an Makroalgen vornahm, freundlicherweise eine dynamisch arbeitende Boden-Küvette zur Verfügung gestellt. Bau und Funktionsweise gleichen weitestgehend der bereits beschriebenen Durchfluss-Küvette, welche für die Untersuchungen an *Ginkgo biloba* am IFU eingesetzt wurde. Das Volumen der Boden-Küvette beträgt 25 l, und die eingeschlossene Bodenfläche hat eine Größe von 0,126 m². Der Fluss durch die Küvette betrug üblicherweise 5 l min⁻¹. Probenahmen erfolgten für die verschiedenen *Fucus*-Arten jeweils für 20 Minuten mit resultierenden Probevolumina von 2000 bis 4000 ml.

Bei allen Küvettentypen, ebenso wie bei den Probenahme-Einheiten, bestehen alle Probe-führenden Schlauchverbindungen aus PTFE. Schlauchübergänge wurden mit 1/4- bzw. 1/8-Zoll Verbindern (Fa. Swagelok, Solon, USA) aus Messing oder Edelstahl hergestellt.

2.2.2 Probenahme von flüchtigen organischen Kohlenwasserstoffen

Proben der durch die Pflanzen emittierten Kohlenwasserstoffe wurden als Gasproben in regelmäßigen Abständen aus den Küvetten entnommen (vgl. Abb. 4). Hierbei wurde ein definiertes Volumen der Küvettenluft über ein Adsorptionsröhrchen aus silanisiertem Glas gezogen. Als Adsorbentien dienten je 100 mg *Tenax TA* (Fa. Macherey-Nagel, Düren) und *Carbotrap* (Fa. Sigma-Aldrich, Bereich Supelco, Deisenhofen).

Für *P. sylvestris* kam hauptsächlich eine automatisierte Probenahme-Einheit (Konstruktion: J. Spanke, Doktorand, ISAS, Dortmund) zum Einsatz. Die Einheit ermöglichte die Beschickung von sieben Adsorptionsröhrchen in Reihe bzw. parallel, wobei die Auswahl der Beschickung des einzelnen Röhrchens über Magnetventile (Fa. Bürkert, Minden) PC-gesteuert durchgeführt wird. Der Probenahme-Fluss wird mit einer Membranpumpe (Fa. AFS Thomas Industries, Puchheim) erzielt. Um eine

Verunreinigung der Probe auszuschließen, wurde die Pumpe saugend, d.h. in Gasflussrichtung hinter dem Adsorptionsröhrchen („down stream“) eingesetzt. Alle Probe-führenden Schlauchverbindungen des Systems bestehen aus PTFE. Der Gasfluss wird über einen Gasflussregler (Fa. MKS Industries, München) mit einem Regelbereich von 1-200 ml/min eingestellt und über eine Zeitschalt-Einheit ein- und ausgeschaltet. Für die durchgeführten Messungen wurde ein Probenahme-Fluss von 100-150 ml/min gewählt.

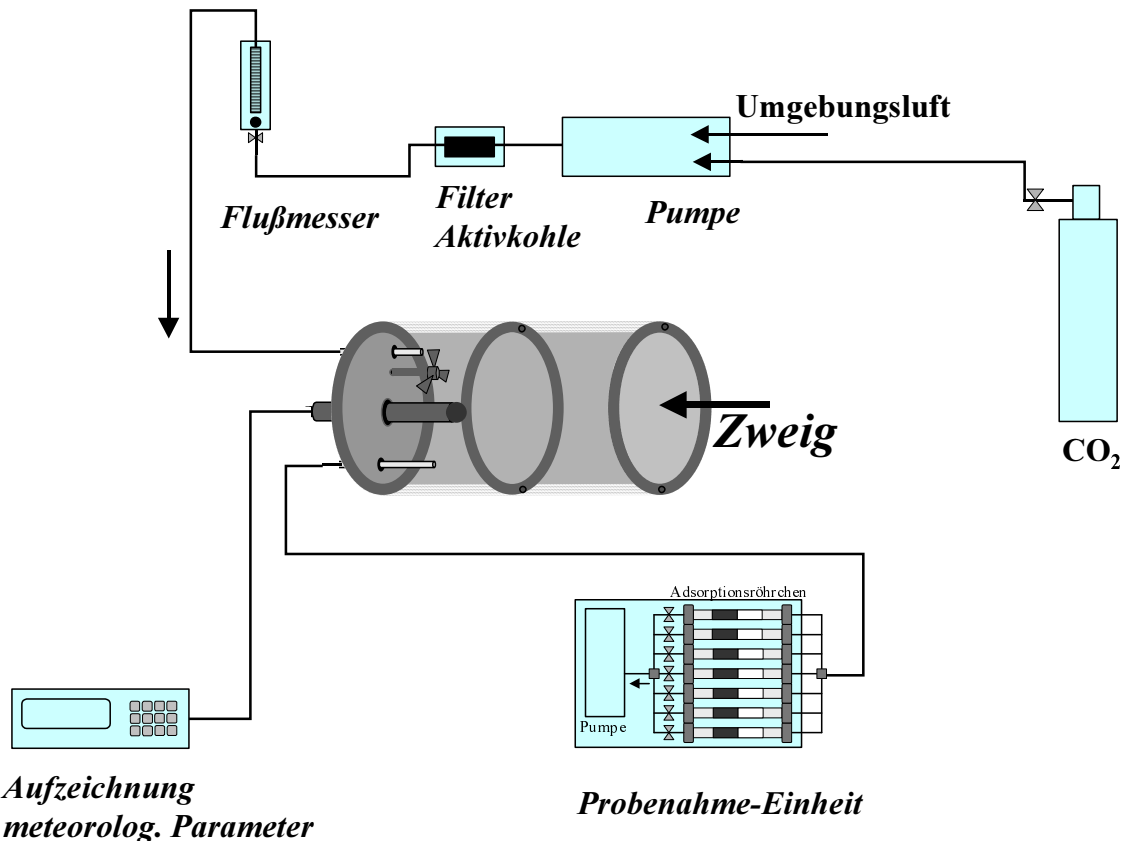


Abb. 4: Messaufbau zur automatisierten Probenahme. Der Messaufbau wird zum Sammeln von Luftproben auf Adsorptionsröhrchen eingesetzt. Die Probenahme ist PC-gesteuert und ermöglicht die Beschickung von bis zu sieben Adsorptionsröhrchen parallel oder in Reihe.

Bei den ersten beiden Messkampagnen für *P. sylvestris* (März, April 1998), für alle Messungen an *P. nigra*, sowie für die Probenahmen bei den Versuchen zum Emissionsverhalten von *Ginkgo biloba* im ISAS Dortmund und den Messungen an den Makroalgen wurde eine manuelle Probenahme-Einheit für Einzelröhrchen verwendet. Das Grundprinzip der Probenahme dieser Einheit entspricht der automatisierten Probenahme. Der Gasfluss über ein Adsorptionsröhrchen wird hier allerdings manuell über ein Nadelventil (Fa. Swagelok, Solon, USA) eingestellt, und das Starten und Beenden der Probenahme erfolgt ebenfalls manuell. Für die Erzielung eines konstanten Volumenstroms kam, wie für die automatisierten Probenahme-Einheiten, eine Pumpe

mit einem maximalen Volumenstrom von 9 l/min (Fa. ASF Thomas Industries, Puchheim) zum Einsatz. Die Kalibrierung beider Probenahme-Einheiten des ISAS, Dortmund erfolgte mit einem Volumenstrommesser (Fa. Gilian, Wil, CH).

Für die Versuche an *Ginkgo biloba*, durchgeführt am IFU, wurden Adsorptionsröhrchen der Fa. Perkin-Elmer, Weiterstadt aus silanisierem Glas verwendet (drei kombiniert verwendete Adsorbentien: *Carbopack C*, *Carbopack*, *Carbotrap X*). Die Probenahme erfolgte vergleichbar der Probenahme an *Pinus*, hier allerdings jeweils mit Probenahmen direkt vor und hinter der 1,3 l-Küvette. Die Membranpumpen wurden saugend („down stream“) eingesetzt und mit Gasflussreglern auf Probenahme flüsse von 100-150 ml min⁻¹ eingestellt.

2.2.3 Messung der meteorologischen Parameter

Grundsätzlich wurden bei allen durchgeführten Studien die meteorologischen Parameter Temperatur, Lichtintensität (PAR), Luftfeuchte und sowie der Kohlendioxidgehalt der Luft in den Küvetten bestimmt. Bei den Messungen an *Pinus* im Freiland wurden alle entsprechenden meteorologischen Daten kontinuierlich erfasst. Hierfür kam für jede Küvette ein tragbares Gerät (Typ EGM, Fa. PP Systems, Hitchin, GB) zum Einsatz. Dieses Gerät verfügt sowohl über einen Infrarot-Gas-Analysator (IRGA) für die CO₂-Bestimmung als auch über einen Temperaturfühler und Sensoren für die Bestimmung der Lichtintensität und der relativen Luftfeuchte. Alle Parameter werden über einen kombinierten Messfühler (Typ HTR, Fa. PP Systems, Hitchin, GB) in der Küvette gemessen. Der Messfühler ist in die Kopfplatte der Küvette eingelassen (vgl. Abb. 3c). Die Messdaten werden vom Messfühler in den Datenspeicher des EGMs übermittelt.

Eine ausreichende Versorgung des Zweiges mit Kohlendioxid wurde durch die kontinuierliche Bestimmung des CO₂-Gehalts in der Küvettenluft mittels des Infrarot-Gas-Analysators des EGMs überwacht. Eine Zumischung erfolgte über eine Gasdruckflasche mit einem CO₂-Volumenanteil von 0,03 % zur eingeleiteten Umgebungsluft. Die Zumischung war nur für einige Messungen in den Sommermonaten nötig. Hier sank der CO₂-Wert, bedingt durch die starke Assimilationstätigkeit der untersuchten Zweige, unter 350 ppm (v/v).

Die Lichtintensität wurde über eine Photodiode, welche entweder direkt im Messfühler in der Küvette integriert oder als Einzeldiode auf dem Zweig in der Küvette aufgelegt war, im Wellenbereich von 400-700 nm (PAR) bestimmt.

Alle meteorologischen Parameter wurden für die Zeit der Messkampagnen im Kiefernforst Hartheim in einem Intervall von drei Minuten aufgezeichnet.

Für die Laborversuche an *G. biloba* im ISAS, Dortmund kam der gleiche Geräte- und Messfühlertyp (EGM mit HTR-Fühler) von PP Systems zum Einsatz. Die Lichtintensität wurde vor dem Beginn des jeweiligen Versuchs bestimmt. Als Lichtquelle diente ein Halogenstrahler mit einer Leistung von 300 Watt, dessen Wärmestrahlung durch ein Wasserbad zwischen Küvette und Strahler gedämpft wurde. Es wurde eine Lichtintensität von $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ erzielt. Die Parameter Temperatur (T) und relative Luftfeuchte (rH) wurden während der Versuche kontinuierlich in einem Intervall von drei bis fünf Minuten ermittelt und aufgezeichnet. Die Werte lagen bei $T = 29 \text{ }^\circ\text{C}$ und $rH = 60 \%$ mit Abweichungen unter 20 %. Die Versorgung der Küvette mit Kohlendioxid wurde über eine Gasdruckflasche erzielt. Für die Studien unter Einsatz von $^{13}\text{CO}_2$ musste die Kohlendioxid-Versorgung gesondert geregelt werden. Eine kontinuierliche Bestimmung der $^{13}\text{CO}_2$ -Konzentration mittels eines IRGA ist nicht möglich, da durch das schwerere Kohlenstoff-Isotop die Absorptionsbanden im Infrarot verschoben werden. Eine Lösung des Problems ist die Einstellung eines definierten Volumenstroms von $^{12}\text{CO}_2$ und das nachfolgende Umschalten der Gaszufuhr auf $^{13}\text{CO}_2$ unter identischen Volumenstrombedingungen. Da für diese Versuche kein Massenflussregler mit entsprechend kleinem regelbarem Durchfluss (wenige μl) zur Verfügung stand, wurde der CO_2 -Volumenstrom mittels eines kalibrierten Blasen Zählers, welcher als Durchfluss-Einheit in die Gaszuleitung integriert wurde, ermittelt. Mit dieser Einheit konnte bei einer CO_2 -Konzentration von 400 ppm (v/v) eine Genauigkeit der Dosierung von ± 20 ppm (v/v) erzielt werden.

Bei den Studien an *G. biloba* im IFU, Garmisch-Partenkirchen wurden entsprechende meteorologische Parameter auf etwas andere Weise bestimmt. Die Untersuchungen wurden in einer der Klimakammern des Instituts durchgeführt. Die zwei sonnenlichtgespeisten, kuppelartigen Kammern sind Teil der Bergstation „Wank“ in einer Höhe von 1780 m über N.N.. Pflanzen können hier unter naturnahen Strahlungsbedingungen gehalten und untersucht werden. Die Kammern sind temperaturreguliert und ermöglichen die Untersuchung an Pflanzen einer Größe bis ca. 170 cm. Die Versuche wurden in diesen Kammern an Zweigen mit Hilfe der bereits beschriebenen 1,3 l-Zweig-Küvette durchgeführt. Während der Versuche sorgte ein Niedervolt-Halogenstrahler (Leistung: 15 Watt) für eine kontinuierliche Belichtung der untersuchten Zweige mit PAR-Werten von $750 \pm 50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Ansonsten wurde der Ginkgo-Baum in der Kammer unter deren umgebungsnahen Strahlungsklima gehalten (PAR-Werte im Tagesgang bis etwa $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Die CO_2 -Konzentration konnte in dieser Anlage mit einem Infrarot-Photometer (Typ

BINOS 100, Fa. Rosemount, Hasselroth) vor und hinter der Küvette als Differenzmessung ermittelt werden. Für die Bestimmung der photosynthetisch aktiven Strahlung in der Küvette wurde, wie bei den anderen eingesetzten Systemen, eine Photodiode (Typ Li-190SA Quantum Sensor, Fa. LI-COR, Lincoln, Nebraska, U.S.A.) verwendet.

Für die Messung der Temperatur stehen in der Küvette drei Thermoelemente zur Verfügung. Da die Leitungen dieser Messfühler aus flexiblem Draht bestehen, sind sie gut an die Blattoberfläche heranzuführen und eignen sich daher auch zur Bestimmung der Blatt-Temperatur. Auf diese Möglichkeit wurde allerdings in den hier beschriebenen Untersuchungen zum Emissionsverhalten verzichtet, um stressbedingte Emissionen zu vermeiden. Vielmehr wurde auch hier lediglich die Lufttemperatur des Küvetten-Innenraums ermittelt, wie dies auch bei den anderen Messsystemen erfolgte. Die Messwerte der drei Thermoelemente wurden gemittelt.

Die Bestimmung der Luftfeuchte erfolgt nicht, wie bei den anderen verwendeten Messeinheiten, direkt in der Küvette, sondern in der Zu- und Ableitung der Luft der Küvette. Die Luftfeuchte wird mit Hilfe eines Taupunktspiegels bestimmt (Typ: TS-2, Fa. Walz, Effeltrich) und ist durch einen Befeuchter in der Gaszufuhr des Systems regelbar.

Alle Parameter wurden bei den Versuchen in der Klimakammer in einem Intervall von einer Minute gemessen und aufgezeichnet.

2.3 Analytik der flüchtigen Kohlenwasserstoffe

2.3.1 Aufbau der gekoppelten Analytik Thermodesorption/Gaschromatographie/Massenspektrometrie

Die zu untersuchenden Kohlenwasserstoffe wurden auf Adsorptionsröhrchen als Gasproben aus der Küvette gezogen. Die Analyse der biogenen Verbindungen erfolgte mit Hilfe eines gekoppelten Systems bestehend aus Thermodesorption, Gaschromatographie (GC) und Massenspektrometrie (MS) (vgl. Abb. 5).

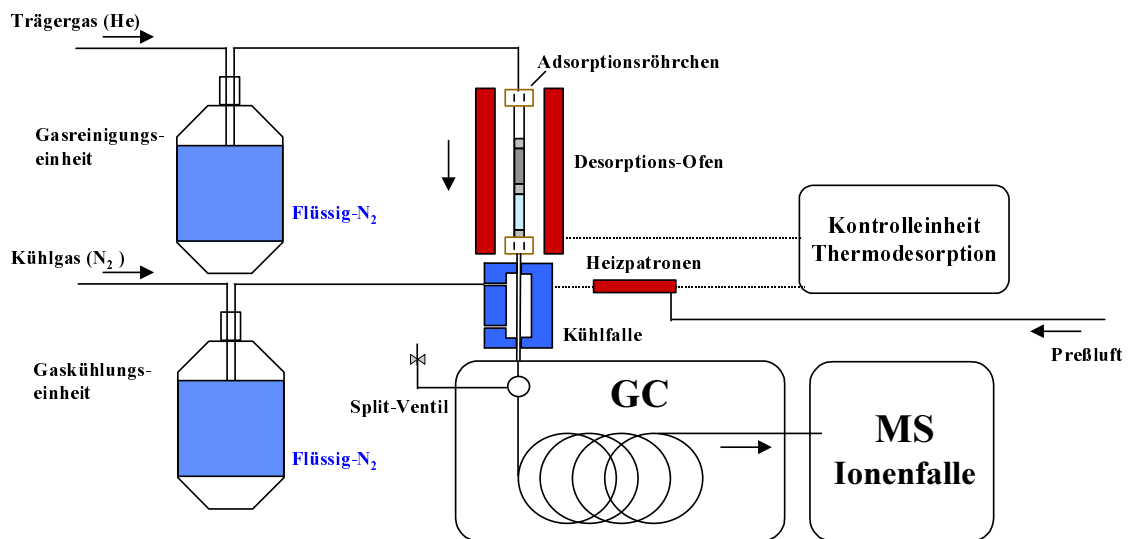


Abb. 5: Aufbau der gekoppelten Analytik für Spurenstoffe. Die Analytik besteht aus Thermodesorption, Gaschromatographie (GC) und Massenspektrometrie (MS). Als Trägergas dient Helium 5.0. Die desorbierten Substanzen gelangen im Trägergasstrom nach einer Fokussierung in einer Kühlfalle in das GC/MS-System, in dem die Verbindungen getrennt und nachfolgend massenspektrometrisch detektiert werden.

Die thermische Desorption (im folgenden „Thermodesorption“) erfolgte für Emissionsproben von *Pinus*, *Fucus* und *Ginkgo* im ISAS mit einer Einheit für Einzelröhrchen (Eigenbau Hoffmann, 1992). Ein zu desorbierendes Adsorptionsröhrchen wird hier in den Trägergasstrom (Trägergas: Helium 5.0) des GC/MS-Systems eingesetzt, gasdicht verschraubt (*Swagelok*-Verschlüsse) und von den Heizbacken des Desorptionsofens umschlossen. Während der Desorptionsdauer von 10 Minuten erwärmen vier Heizpatronen den Ofen in fünf Minuten von Raumtemperatur auf 275 °C. Diese Temperatur wird für weitere fünf Minuten gehalten. Unterhalb des Ofens befindet sich eine Kühlfalle, welche die Substanzen mit Hilfe von gekühltem Stickstoff (unter -80 °C) während der Desorptionszeit aus dem Trägergasstrom ausfriert und vor der Trennsäule des GC zurückhält. Die Substanzen kondensieren auf der glasbeschichteten Oberfläche eines Metallrohrs (*glaslined tube*;

GLT) in der Kühlfalle. Nach Beendigung der Thermodesorption erwärmt eine Heizpatrone dieses GLT in wenigen Sekunden auf 250 °C, so dass alle Substanzen gleichzeitig die Kühlfalle verlassen und im Trägergasstrom auf die GC-Säule gelangen. Für die Trennung der untersuchten Substanzen wurde eine unpolare Säule der Länge 50 m mit einer Filmdicke der stationären Phase von 1 µm verwendet (50QC2/BPX5 1.0, Fa. SGE, Weiterstadt). Es wurde folgendes Temperaturprogramm für die Trennsäule im GC-Ofen verwendet:

Starttemperatur: 37 °C, gehalten für 2 min

Erste Heizrate: 8 °C min⁻¹ bis 200 °C

Zweite Heizrate: 10 °C min⁻¹ bis 220 °C

Halten der Endtemperatur für 18 min

Gesamtdauer des GC-Laufes: 42,5 min

Für die Analyse der Emissionsproben von *Ginkgo* im IFU wurde ein ähnliches System der gekoppelten Analytik (Fa. Perkin-Elmer, Weiterstadt) verwendet. Die automatische Thermodesorptions-Einheit dieses Systems fasst bis zu 50 Adsorptionsröhrchen. Cryofokussierung, Gaschromatograph und Massenspektrometer sind dem System des ISAS vergleichbar. Im folgenden sind die technischen Daten der verwendeten Systeme aufgeführt.

Verwendete Gaschromatographen:

- Für die Untersuchungen an *Pinus spec.*, *Fucus spec.* und *G. biloba* im ISAS, Dortmund:

DANI 6500 GC, Dani GmbH, Mainz-Kastel

GC-Kapillartrennsäule: Typ 50QC2/BPX5 1.0, 50 m Länge, 0,22 mm Innendurchmesser, 1 µm Filmdicke stationäre Phase, Fa. SGE, Weiterstadt

Trägergas: Helium 5.0, Vordruck 3,5 bar

- Für die Untersuchungen an *G. biloba* im IFU, Garmisch-Partenkirchen:

GC Auto System XL, Perkin-Elmer, Weiterstadt

GC-Kapillartrennsäule: Typ 1701, 30 m Länge, 0,25 mm Innendurchmesser, 1 µm Filmdicke stationäre Phase, Fa. Restek, Bad Soden

Trägergas: Helium 5.0, Vordruck 3,5 bar

GC gekoppelt mit Thermodesorption ATD 400, Perkin-Elmer, Weiterstadt

Die getrennten Substanzen gelangen über eine geheizte Einlasskapillare (*transferline*) in die Ionenfalle des Massenspektrometers, wo sie mittels Elektronenstoß (EI) bei 70 eV ionisiert werden. Die Gesamtdauer der Analyse einer Probe beträgt für dieses gekoppelte System etwa 60 Minuten.

Verwendete Massenspektrometer:

- Für die Untersuchungen an *Pinus spec.*, *Fucus spec.* und *G. biloba* im ISAS, Dortmund:

Iontrap detector ITD 700, Finnigan-MAT, Bremen

Ionisationsenergie: 70 eV

Massenbereich: 46-240 m/z

Scan-Rate: 2 scans/s (entspr. 0,5 s/scan)

Akquisitionsdauer: 40 min

- Für die Untersuchungen an *G. biloba* im IFU, Garmisch-Partenkirchen:

Turbo Mass, Perkin-Elmer, Weiterstadt

Ionisationsenergie: 70 eV

Massenbereich: 65-225 m/z

Scan-Rate: 4 scans/s (entspr. 0,25 s/scan)

Akquisitionsdauer: 40 min

Typisch für die Verbindungsklasse der Terpene ist die starke Fragmentierung der Substanz-Moleküle durch Elektronenstoß-Ionisation (EI) im Massenspektrometer. Dabei sind die entstehenden Fragmente jeweils durch ein spezifisches *Masse-zu-Ladung* (m/z)-Verhältnis charakterisiert. Für die unfragmentierten Molekül-Ionen einer solchen Verbindung finden sich hingegen üblicherweise nur schwache Signale im Massenchromatogramm. Die qualitative und quantitative Bestimmung der Substanzen erfolgt daher über die durch die Ionisation entstandenen, charakteristischen Haupt-Fragmente des jeweiligen Moleküls (Tab. 2). Die Quantifizierung wurde über die Bestimmung der Signalfächen der Hauptfragmente in den Massenchromatogrammen, welche aus der Analyse der Emissionsproben hervorgingen, durchgeführt.

Tab. 2: Charakteristische Fragment-Ionen der untersuchten Kohlenwasserstoffe.

Die Fragment-Ionen mit charakteristischen m/z-Verhältnissen werden in einem Massenspektrometer (Typ: Ionenfalle) über Elektronenstoß-Ionisation (EI) bei einer Ionisationsenergie von 70 eV erzeugt. Sie dienen der Quantifizierung von pflanzlichen Emissionen über die Bestimmung der Signalflächen der Fragmente in den erzeugten Massenchromatogrammen.

Verbindung	Charakteristische Fragment-Ionen	Verbindung	Charakteristische Fragment-Ionen
Dibromomethan	174	Bornylacetat	95+121+136
Tribromomethan	173	α -Ylangen	105+119+161
Diiodomethan	141	β -Elemen	67+93+107
Chloriodomethan	173	β -Gurjunen	91+105+161
Isopren	67	β -Bourbonen	81+123+161
α -Thujen	93	Longicyclen	91+105+161
Tricyclen	93	δ -Elemen	91+93+121
α -Pinen	93	β -Cedren	69+93
Camphen	93	α -Farnesen	69+93
Sabinen	93	β -Farnesen	69+93
β -Pinen	93	<i>cis</i> - α -Bergamoten	93+119
δ -3-Caren	93	β -Cadren	69+91
Limonen	67	Acoradien	93+105+119
β -Phellandren	93	β -Bisabolen	69+91
1,8-Cineol	81	Trans- α -Bisabolen	93
Nopinon	83	β -Cubeben	105+119+161
Kampfer	81	β -Caryophyllen	91+105+161
4-Terpineol	71+93	Aromadendren	79+91+161
α -Terpineol	59+81+93	Alloaromadendren	91+105+161
Myrtenal	79+91+107	α -Muurolen	79+105+161
Methylsalicylat	92+120+152	δ -Cadinen	91+105+161
Verbenon	91+107+135	γ -Cadinen	91+105+161
Trans-3-Pinanon	83+95+109		

2.3.2 Einsatz einer Kalibrationsgasquelle zur qualitativen und quantitativen Bestimmung der emittierten Kohlenwasserstoffe

Hauptbauelemente der eingesetzten Kalibrationsgasquelle (vgl. Abb. 6) sind ein temperiertes Gefäß, in dem die Glasfläschchen mit Referenz-Substanzen stehen (im folgenden „Diffusionsraum“) und ein Mischkolben, welcher zur Verdünnung der hochkonzentrierten Gasphase der Referenz-Substanzen dient. Der Diffusionsraum besteht aus einem Glasgefäß, dessen Wandung über einen Wasserstrom kontinuierlich temperiert wird. Die Regelung der Temperatur auf 30 °C erfolgte über einen Wasserbad-Thermostaten (Typ Fison Haake L, Fa. Haake, Karlsruhe). In die Wandung des Glasgefäßes eingelassen befindet sich eine Gasleitung, welche das Trägergas des Systems mit einem Volumenstrom von 7,2 l/h in den Diffusionsraum führt. Als Trägergas dient hochreiner Stickstoff (Qualität 5.0). Die Substanzen stehen in diesem Raum in kleinen Glasfläschchen. Als Diffusionsoberfläche dienen Kapillaren mit definierten Durchmessern und Längen, welche in die Glasfläschchen eingesetzt sind. Länge und Durchmesser der Kapillaren wurden nach dem Diffusionsverhalten, abhängig vom Dampfdruck der einzelnen eingesetzten Kohlenwasserstoffe gewählt. Es wurden unbeschichtete, deaktivierte Quarz- (*fused silica*)-Kapillaren aus der GC-Analytik verwendet (Fa. Ziemer Chromatografie GmbH, Mannheim). Im Glasfläschchen bildet sich über der flüssigen Substanz schnell der Sättigungsdampfdruck, welcher zu konstanten Ausstoßraten über die Kapillare führt. Die Methode basiert auf dem Phänomen der diffusionskontrollierten Abgabe einer Substanz aus einem Reservoir in die Gasphase. Die Diffusion einer Substanz wird durch deren Dampfdruck und durch die Geometrie der Diffusionsfläche bestimmt. Dabei ist die Diffusion temperatur- und druckabhängig. Die Ausstoßrate kann somit als Funktion der Temperatur, des Dampfdrucks und der Geometrie der Diffusionsfläche beschrieben werden.

Elf kommerziell erhältliche Kohlenwasserstoffe mit einem Reinheitsgrad größer 97 % (Fa. Sigma-Aldrich, Deisenhofen) wurden in der Kalibrationsgasquelle jeweils rein in einzelnen Glasfläschchen eingesetzt. Tabelle 3 zeigt eine Liste der verwendeten Kohlenwasserstoffe mit den Maßen der jeweiligen Diffusionskapillare.

Tab. 3: Maße der Diffusionskapillaren. Die Kapillaren bestehen aus Quarz und sind unbeschichtet und deaktiviert. Sie werden in die Öffnungen der Glasfläschchen der Referenz-Substanzen eingesetzt. Länge und Durchmesser der Kapillaren wurden nach dem Diffusionsverhalten, abhängig vom Dampfdruck der einzelnen Substanzen, gewählt.

Verbindung	Länge Kapillare [mm]	Innendurchmesser Kapillare [mm]
Tricyclen	19	0,53
α -Pinen	19	0,53
Camphen	19	0,53
Sabinen	20	0,53
β -Pinen	18	0,53
δ -3-Caren	19	0,53
Limonen	20	0,53
Bornylacetat	20	0,53
Methylsalicylat	30	0,53
β -Caryophyllen	17	0,53
Longicyclen	20	0,2

Von dem Diffusionsraum gelangen die Kohlenwasserstoffe im Trägergasstrom in den Mischkolben. Durch das Einleiten eines zweiten Volumenstroms von Stickstoff in diesen Kolben kann die Konzentration der Substanzen weiter erniedrigt werden. Für die Regelung der Zuleitung von hochreinem Stickstoff in den Mischkolben stand ein Durchflussmesser (Fa. Yohogawa Deutschland GmbH, Ratingen) mit einem Regelbereich von 50 bis 4500 ml min⁻¹ zur Verfügung. Um einen Rückfluss des Mischgasstroms zur Diffusionskammer und eine damit verbundene Beeinflussung des Diffusionsverhalten der Kohlenwasserstoffe zu verhindern, wurde zwischen Diffusionskammer und Mischkolben ein Strömungswiderstand (unbeschichtete, deaktivierte Quarz- (*fused silica*)-Kapillare, 0,53 mm ID, Fa. Ziemer Chromatografie GmbH, Mannheim) eingesetzt. Aus dem Mischkolben werden Proben auf Adsorptionsröhrchen gezogen. Hierzu wurden die selben Probenahme-Einheiten, welche für die Emissionsmessungen zum Einsatz kamen, verwendet.

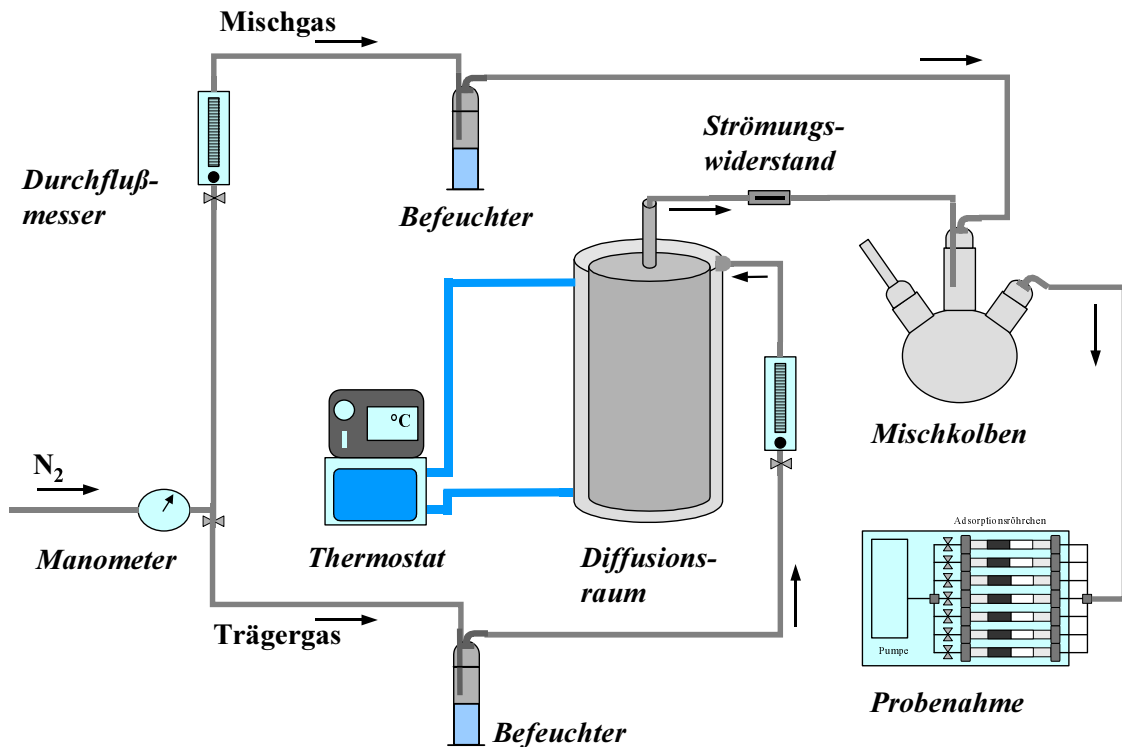


Abb. 6: Aufbau der Kalibrationsgasquelle. Die Referenz-Substanzen gelangen im Trärgasstrom vom Diffusionsraum in den Mischkolben, aus dem die Probenahme auf Adsorptionsröhrchen erfolgt. Der Trärgasstrom des Systems beträgt $7,2 \text{ l h}^{-1}$. Der Mischgasstrom ist je nach erforderlichem Verdünnungsgrad der Quellen-Emissionen zwischen 50 bis 4500 ml min^{-1} einstellbar. Für beide Gasströme wird hochreiner Stickstoff (Qualität 5.0) verwendet. Der Diffusionsraum der Kalibrationsgasquelle ist auf $30 \text{ }^\circ\text{C}$ temperiert.

Die Ausstoßraten der Kohlenwasserstoffe der Kalibrationsgasquelle wurden über Differenz-Wägung der mit Referenz-Substanz gefüllten Glasfläschchen (Waage: Analysenwaage, Sartorius Digital Typ R 160 P, Fa. Sartorius, Göttingen) über mehrere Monate hinweg in Intervallen von ein bis drei Wochen bestimmt. Die meisten der verwendeten Kohlenwasserstoffe zeigten ein Ausstoßverhalten mit gutem bis sehr gutem Bestimmtheitsmaß der Gewichtsabnahme pro Zeit von $0,887$ bis $0,999$.

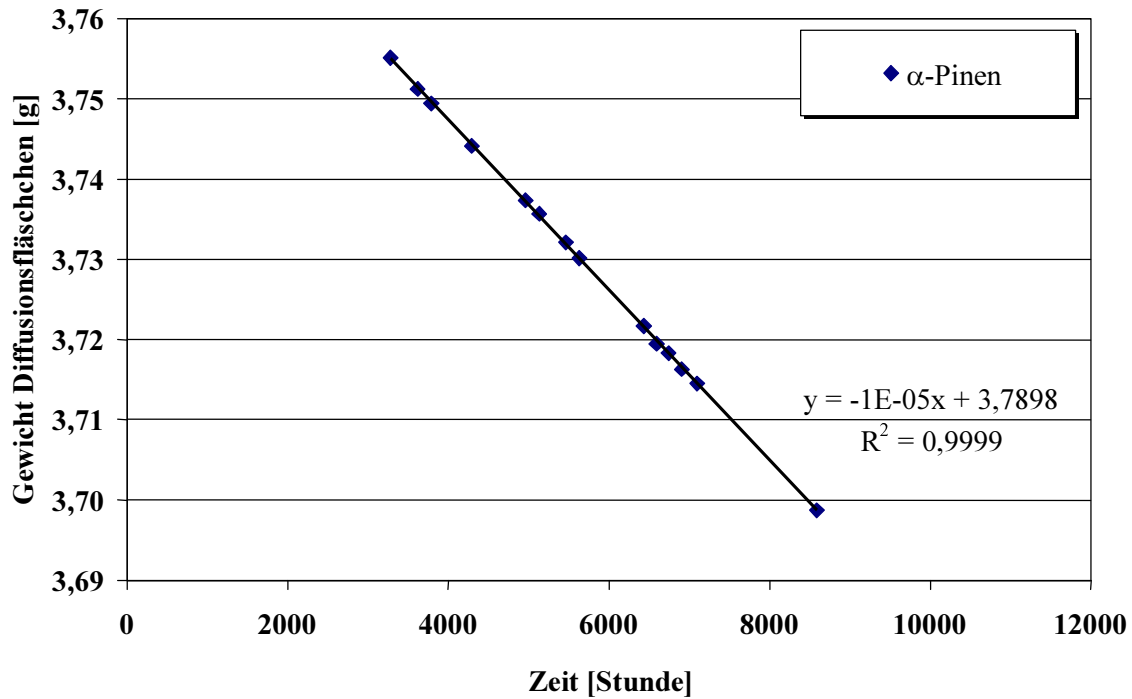


Abb. 7: Verdampfungsbedingte Gewichtsabnahme von Referenz-Substanzen in der Kalibrationsgasquelle am Beispiel von α -Pinen. Die Wägungen des mit der Referenz-Substanz gefüllten Glasfläschchens aus der Kalibrationsgasquelle wurden mit einer Analysenwaage (Typ R 160 P, Fa. Sartorius, Göttingen) vorgenommen. Der Trägergasstrom der Kalibrationsgasquelle (hochreiner Stickstoff, Qualität 5.0) betrug $7,21 \text{ l h}^{-1}$. Der Diffusionsraum der Quelle wurde auf $30 \text{ }^\circ\text{C}$ temperiert.

Exemplarisch wird die Gewichtsabnahme gegen die Zeit für das Glasfläschchen gefüllt mit α -Pinen gezeigt (Abb. 7). In Tabelle 4 sind die Ausstoßraten und die Werte für das Bestimmtheitsmaß der Gewichtsabnahme pro Zeit für alle Substanzen der Kalibrationsgasquelle aufgeführt.

Tab. 4: Ausstoßraten der Referenz-Substanzen in der Kalibrationsgasquelle. Der Trägergasstrom der Kalibrationsgasquelle (hochreiner Stickstoff, Qualität 5.0) betrug $7,21 \text{ h}^{-1}$. Der Diffusionsraum der Quelle wurde auf 30 °C temperiert. Die Bestimmung der Ausstoßraten erfolgte über 13 Monate.

Verbindung	Ausstoßrate [$\mu\text{g h}^{-1}$]	Bestimmtheitsmaß r^2 der Gewichtsabnahme der Referenz-Substanzen pro Zeit
Tricyclen	13,49	0,99994
α -Pinen	10,61	0,99986
Camphen	9,05	0,99986
Sabinen	7,21	0,99987
β -Pinen	8,48	0,99848
δ -3-Caren	4,32	0,99973
Limonen	3,60	0,99805
Bornylacetat	0,34	0,88780
Methylsalicylat	1,08	0,98482
β -Caryophyllen	0,09	0,39405
Longicyclen	0,33	0,89640

2.3.2.1 Identifizierung der Kohlenwasserstoffe

Ein Teil der in den Emissionsstudien detektierten Kohlenwasserstoffe wurde unter Verwendung einer Kalibrationsgasquelle identifiziert. Elf Referenz-Substanzen wurden in der Kalibrationsgasquelle eingesetzt (vgl. Tab. 3). Aus der Analyse von Gasproben aus diesem System mittels Thermodesorption/GC/MS konnten diesen Substanzen charakteristische Massenspektren in Verbindung mit substanzspezifischen Retentionszeiten für die verwendete GC-Säule zugeordnet werden. Abbildung 8 zeigt exemplarisch die Massenspektren von Camphen im Vergleich, zum einen das Spektrum des standardisierten Kohlenwasserstoffs, zum anderen das des von der Pflanze emittierten Kohlenwasserstoffs.

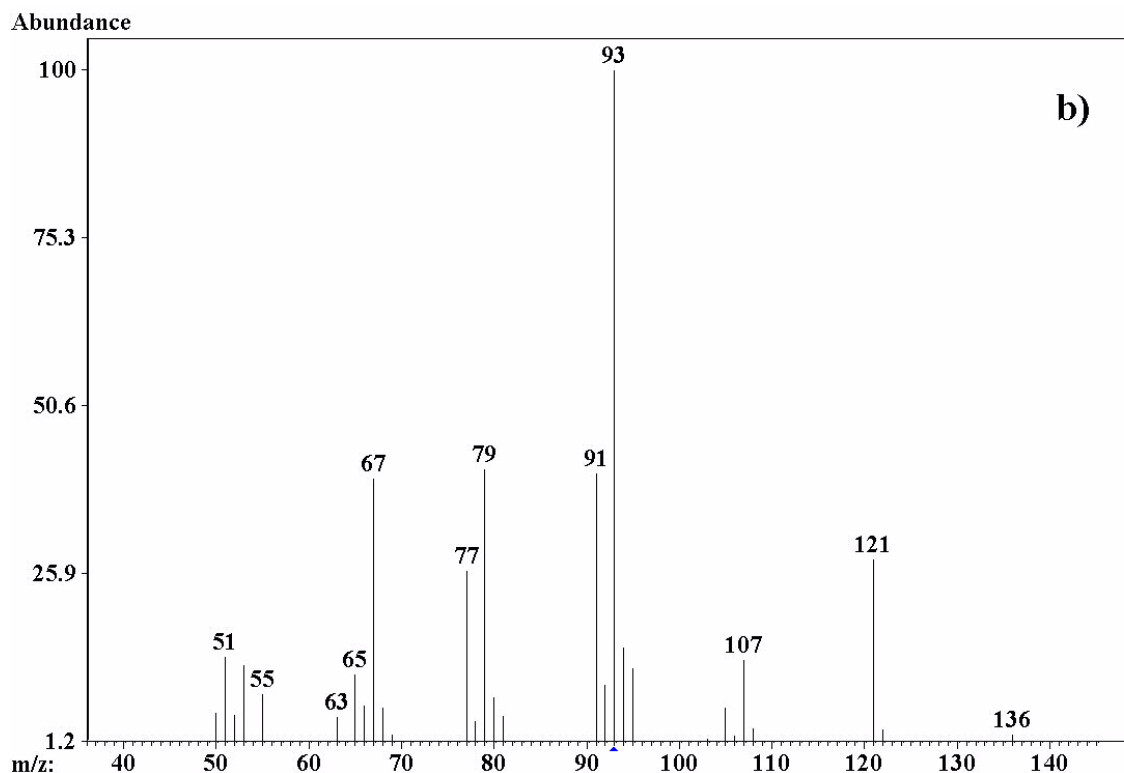
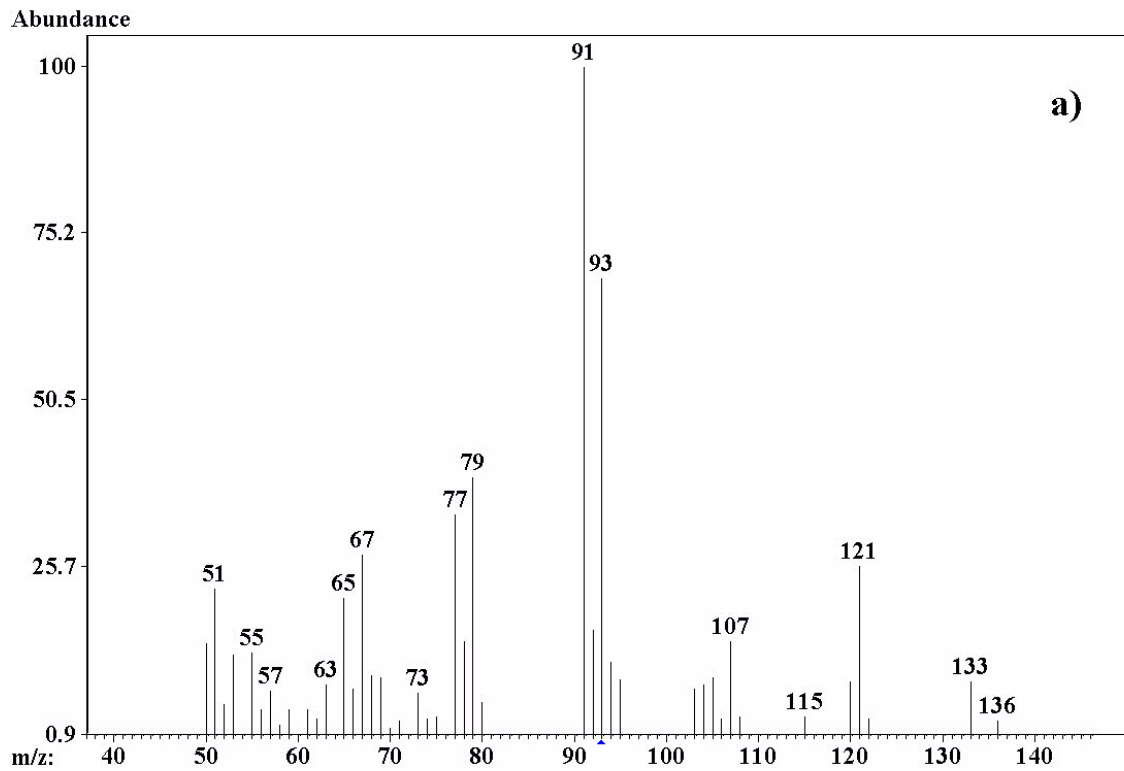


Abb. 8: Massenspektrum der Verbindung Camphen. a) Spektrum des von *Pinus sylvestris* emittierten Kohlenwasserstoffs, b) Spektrum der Referenz-Substanz. Die Probenahme des flüchtigen Kohlenwasserstoffs auf Adsorptionsröhrchen erfolgte mit der selben Probenahme-Einheit. Die Aufnahme der Massenspektren wurde mit einer Ionenfalle (*Iontrap detector ITD 700*, Fa. Finnigan-MAT, Bremen) durchgeführt. Ionisationsenergie: 70 eV. *Scan*-Rate: 2 scans/s.

Detektierte Substanzen, für die keine Referenz zur Verfügung stand, wurden über den Vergleich der aus den Emissionsmessungen der Pflanzen erhaltenen Massenspektren mit Spektren-Datenbanken (NIST, Gaithersburg, USA; Verlag Wiley-VCH, Weinheim) bestimmt. Darüber hinaus wurden unbekannte Substanzen über den Vergleich der Retentionszeiten mit Literaturdaten des relativen Retentionsverhalten nach Kovats (Kovats, 1958; Davies, 1990) von in Frage kommenden Kohlenwasserstoffen unter Berücksichtigung einer guten Übereinstimmung der Massenspektren identifiziert.

2.3.2.2 Quantifizierung der detektierten Kohlenwasserstoffe

Die Emissionsraten der Kohlenwasserstoffe der untersuchten Pflanzen wurden unter Verwendung der Kalibrationsgasquelle ermittelt. Dabei dient der Einsatz der Kalibrationsgasquelle als Methode der Kalibration einer Konzentration einer Stoffmenge in einem gegebenen Volumen. Bei Kenntnis der Ausstoßrate einer Substanz unter den kontrollierten Bedingungen einer Kalibrationsgasquelle (vgl. Tab. 4) lässt sich für ein auf ein Adsorptionsröhrchen gegebenes definiertes Probevolumen die hierin enthaltene Stoffmenge bestimmen. Diese entspricht einer Signalfläche im Chromatogramm des desorbierten Adsorptionsröhrchens. Aus den Signalflächen der GC/MS-Analyse der Emissionsproben kann man somit bei Kenntnis des Probevolumens auf die Konzentration des untersuchten Kohlenwasserstoffs zurück rechnen.

Bei der Probenahme der Kohlenwasserstoffe aus der Kalibrationsgasquelle wurde ein Probevolumen gewählt, welches dem Konzentrationsbereich der Emissionsmessungen an den Pflanzen entspricht und somit in ähnlich großen Signalflächen resultiert. Unterschiede in der Empfindlichkeit des GC/MS-Systems, welche bei extremen Konzentrationsunterschieden der Substanzen auftreten können, wurden so als Fehlerquelle weitestgehend ausgeschlossen und konnten vernachlässigt werden. Für die Erzielung der gewünschten Konzentrationen der Kohlenwasserstoffe pro Adsorptionsröhrchen wurde ein Probevolumen von 200 ml gewählt. Bei einem Volumenstrom von 100 bzw. 50 ml min⁻¹ über das Adsorptionsröhrchen wurde ein besonderes Augenmerk darauf gelegt, dass die Zeitspanne der Probenahme von zwei bzw. vier Minuten exakt eingehalten wurde. Höhere Volumenströme des Mischgases, welche eine Verlängerung der Probenahmezeit ermöglichen würden, waren bei diesem System leider nicht möglich. Die genaue zeitliche Bemessung der Probenahme und die sehr konstanten Ausstoßraten aus der Quelle (vgl. Tab. 4) ermöglichten aber eine gute Quantifizierung der Kohlenwasserstoffe. Über die Kenntnis der Ausstoßraten unter den kontrollierten Bedingungen der Kalibrationsgasquelle kann somit einer Fläche eines

spektroskopischen Signals einer Substanz im MS-Chromatogramm eine Stoffmenge zugeordnet werden.

In den pflanzlichen Emissionen detektierte Kohlenwasserstoffe, für die keine Referenz-Substanzen zur Verfügung standen, wurden ebenfalls mit den vorhandenen Referenzen quantifiziert. Hierbei musste der unterschiedlichen Ionisierung der Substanzen im Massenspektrometer je nach Molekülstruktur Rechnung getragen werden. Substanzen, für die keine Referenz zur Verfügung stand, wurden daher mit strukturell ähnlichen Komponenten der Kalibrationsgasquelle kalibriert. Für die Quantifizierung wurde das Verhältnis der Signalflächen von charakteristischem Fragment-Ion zum Total-Ionenstrom (*total ion current* TIC) einer Substanz im Chromatogramm bestimmt. Dieses Verhältnis ist von Substanz zu Substanz unterschiedlich. Grundsätzlich ist der Anteil der Signalfläche des Fragment-Ions an der Signalfläche des TIC um so größer, desto leichter ein charakteristisches Fragment-Ion durch die Ionisation im Massenspektrometer aus dem Gesamtmolekül hervorgeht. Für die Quantifizierung von emittierten Substanzen mit entsprechenden Referenz-Substanzen ist dieses Verhältnis zunächst nicht von Bedeutung, da die Quantifizierung über das charakteristische Fragment-Ion erfolgt. Damit wird verhindert, dass Fragmente, welche dem Untergrundrauschen der MS-Analyse zuzurechnen sind, welche also nicht aus der Ionisierung der untersuchten Substanz hervorgehen, mit in die Quantifizierung der Substanz eingehen. Will man aber eine Substanz ohne Referenz mit den Ausstoßdaten einer verfügbaren Referenz quantifizieren, müssen diese Unterschiede von Total-Signalfläche und Fragment-Signalfläche aufgrund des verschiedenartigen Ionisierungsverhaltens Berücksichtigung finden. Der Vergleich der ermittelten Verhältnisse von Total-Signalfläche und Fragment-Signalfläche zwischen einem Kohlenwasserstoff mit verfügbarer Referenz (z.B. α -Pinen) und der zu quantifizierenden Substanz ergibt einen Faktor, welcher, multipliziert mit der Signalfläche des charakteristischen Fragments dieser Substanz, die Differenz der Ionisierung beider Substanzen ausgleicht. Mit der Anwendung dieses Faktors erhält man also eine auf die verfügbare Referenz normierte Signalfläche für die zu quantifizierende Substanz. Diese kann nun mit den Ausstoßdaten der Referenz-Substanz aus der Kalibrationsgasquelle quantifiziert werden.

2.4 Berechnung der Standard-Emissionen biogener flüchtiger Kohlenwasserstoffe mit Hilfe von empirischen Algorithmen

Grundsätzlich benötigen die in Feld- und Laborstudien erzielten Emissionsdaten – da sie temperatur- und lichtabhängig sind – eine Standardisierung, welche einen Vergleich der Daten sowohl verschiedener Spezies als auch gleicher Spezies unterschiedlicher Lebensräume ermöglicht. Dabei wird in der Literatur kontrovers diskutiert, welche Einfluss-Parameter in solchen Standardisierungsverfahren eine Berücksichtigung finden müssen (Tingey & Manning, 1980; Tingey, 1981; Guenther et al., 1993; Guenther, 1999; Steinbrecher et al., 1999). Grundlage für die Berechnung von standardisierten Emissionen (im folgenden „Standard-Emissionen“) biogener flüchtiger Kohlenwasserstoffe sind in der vorliegenden Arbeit zwei Algorithmen, welche entweder nur die Temperaturabhängigkeit der Emissionen (nach Tingey & Manning, 1980) oder eine Temperatur- und eine Lichtabhängigkeit der Emissionen (nach Guenther, 1997) berücksichtigen.

Der Algorithmus nach Tingey & Manning (1980) geht für die Modellierung der Monoterpen-Emissionen von Waldbäumen von einer temperaturgetriebenen Abgabe dieser Verbindungen aus. Die Emissionen sind dabei reine Verdampfungsvorgänge aus Speicherräumen, wie sie z.B. Harzkanäle bei *Pinus* darstellen. Der Algorithmus setzt sich aus einem Standard-Emissions-Faktor und einem Temperatur-Term zusammen (Gleichung 1).

$$E_{KW}^{pool} = E_{KW}^{P,S} \cdot \exp[\beta \cdot (T - T_s)] \quad (1)$$

mit:

E_{KW}^{pool} = temperaturabhängige Kohlenwasserstoff-Emission aus Speicherräumen

$E_{KW}^{P,S}$ = Standard-Emissions-Faktor (Emission bei einer Temperatur = 303 K)

T = Temperatur des Pflanzengewebes [K]

T_s = Standardisierte Temperatur (303 K)

β = empirischer Parameter (0,09)

Außerdem wurde der Algorithmus nach Guenther (1997) auf die gemessenen Emissionsdaten angewendet. Dieser fasst zwei Ansätze der Darstellung der temperatur- und der lichtabhängigen Kohlenwasserstoff-Emission bei Pflanzen zusammen (Gleichung 2): Zwei Terme beschreiben zum einen die physikalisch bedingte Emission

(Term 1, s. Gleichung 3, er wurde in dieser Art zuerst von Tingey et al. 1991 beschrieben) und zum anderen die physiologisch bedingte Emission der Kohlenwasserstoffe (Term 2, s. Gleichung 4, er wurde von Guenther (1997) postuliert). Im Term 1 wird der Emission aus Speicherräumen der Pflanze Rechnung getragen. Diese ist als physikalische Größe zu beschreiben, da diese Emission die temperaturgetriebene Abgabe von gespeicherten Substanzen an der Oberfläche der Pflanze darstellt. Bestimmender Faktor der Emissionsrate ist hier also die Temperatur, welche aufgrund unterschiedlicher Dampfdrücke der einzelnen, von der Pflanze gebildeten Kohlenwasserstoffe für die Menge und die Zusammensetzung der Emission verantwortlich ist. Zudem beeinflusst der Diffusionswiderstand des Pflanzengewebes und der Kutikula die Emissionsrate dieser temperaturgetriebenen Abgabe von Kohlenwasserstoffen.

Der zweite Term des Algorithmus (Gleichung 4) erfasst die physiologisch bedingte Emission der flüchtigen Kohlenwasserstoffe. Dieser Term wird durch den Einfluss von Temperatur und photosynthetisch aktiver Strahlung PAR auf den physiologischen Zustand der Pflanze allgemein und insbesondere der *de novo*-Biosynthese der pflanzlichen Kohlenwasserstoffe bestimmt. Einflussnehmende Faktoren sind hier sowohl der Aktivierungs-Zustand von licht- und temperaturregulierten Enzymen des Isoprenoid-Stoffwechsels als auch die Verfügbarkeit von Energie- und Reduktionsäquivalenten aus der Photosynthese.

$$E_{KW} = E_{KW}^{pool} + E_{KW}^{Synth.} \quad (2)$$

mit:

$$E_{KW}^{pool} = E_{KW}^{P,S} \cdot \left(\frac{\exp\left[\frac{C_{T_1} \cdot (T - T_s)}{R \cdot T \cdot T_s}\right]}{C_{T_3} + \exp\left[\frac{C_{T_2} \cdot (T - T_M)}{R \cdot T \cdot T_s}\right]} \right) \quad (3)$$

und:

$$E_{KW}^{Synth.} = E_{KW}^{S,S} \cdot C_L \cdot \left(\frac{\alpha \cdot L}{\sqrt{1 + \alpha^2 \cdot L^2}} \right) \cdot \left(\frac{\exp\left[\frac{C_{T_1} \cdot (T - T_s)}{R \cdot T \cdot T_s}\right]}{C_{T_3} + \exp\left[\frac{C_{T_2} \cdot (T - T_M)}{R \cdot T \cdot T_s}\right]} \right) \quad (4)$$

wobei

E_{KW}^{pool} = temperaturabhängige Kohlenwasserstoff-Emission aus Speicherräumen

$E_{KW}^{Synth.}$ = temperatur- und lichtabhängige Emission, hervorgehend aus der *de novo*-Biosynthese der abgegebenen Kohlenwasserstoffe

$E_{KW}^{P,S}$ = Standard-Emissions-Faktor (Emission bei einer Temperatur = 303 K)

$E_{KW}^{S,S}$ = Standard-Emissions-Faktor (Emission bei einer Temperatur = 303 K und einer PAR = 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

T = Temperatur des Pflanzengewebes [K]

T_s = Standardisierte Temperatur (303 K)

T_M = kritische Temperatur der Enzym-Denaturierung (314 K)

C_{T_1} = empirischer Parameter (95.000 J mol⁻¹)

C_{T_2} = empirischer Parameter (230.000 J mol⁻¹)

C_{T_3} = empirischer Parameter (0,961)

α = empirischer Parameter (0,0027)

C_L = empirischer Parameter (1,066)

L = Lichtintensität über dem Pflanzengewebe in PAR [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]

R = allgemeine Gaskonstante R (= 8,314 J mol⁻¹ K⁻¹)

Die Anwendung der einzelnen Algorithmen auf ermittelte Emissionsdaten erfolgte in der Vergangenheit mit unterschiedlichen Gewichtungen. So wurde für die Monoterpen-Emissionen von harzbildenden Koniferen bis jetzt lediglich der Algorithmus der *pool*-bestimmten Emissionen als Modellierungsgröße zu Grunde gelegt (nach Tingey & Manning, 1980). Hingegen fand der Algorithmus, welcher die physiologische Emission beschreibt, hauptsächlich Anwendung für die Modellierung der Isopren-Emissionen von Laubbäumen (nach Guenther, 1997). In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Anwendung der Algorithmen auf Emissionsdaten einer ganzen Vegetationsperiode. Die Anwendung der Modellierung auch unter Einbeziehung der physiologischen Abhängigkeit der Emission sollte zeigen, inwieweit dem entwicklungsphysiologischen Zustand der untersuchten Art *Pinus sylvestris* mit diesen Algorithmen Rechnung getragen werden kann.

2.5 Beschreibung eines numerischen Algorithmus für die Modellierung der *de novo*-Biosynthese von flüchtigen organischen Kohlenwasserstoffen

Die Fragmente der untersuchten C₅- bis C₁₅-Kohlenwasserstoff-Moleküle, welche aus der Ionisation in der Ionenfalle eines Massenspektrometers hervorgehen, zeigen über eine Breite der Masse-zu-Ladung-Verhältnisse m/z von z.B. 93 bis 204 typische Massenspektren, welche eine Identifizierung der Kohlenwasserstoffe und eine Herleitung der Elementverteilung im Molekül zulassen. Beispielsweise stellt das Fragment der $m/z = 93$ typischerweise eine Kohlenwasserstoff-Struktur aus sieben C-Atomen als Bruchstück des Gesamtmoleküls eines C₁₀- oder C₁₅-Kohlenwasserstoffs dar. Werden nun ¹²C-Atome durch das Isotop ¹³C ersetzt, kommt es aufgrund der größeren Masse zu einer Verschiebung des m/z -Verhältnisses der Fragmente. Ein C₇-Fragment hat dann ein m/z -Verhältnis größer 93. Die durch die photosynthetische Assimilationstätigkeit der Pflanze ermöglichte Aufnahme und der Einbau von mit dem Isotop ¹³C versehenem ¹³CO₂ in ein Terpen-Molekül führt auf gleiche Weise zu einer Verschiebung des m/z -Verhältnisses im Massenspektrum einer von der Pflanze emittierten Substanz. Dabei spiegelt der zeitliche Verlauf der Verschiebung das Assimilations- und Inkorporationsverhalten der Pflanze wider. Verfolgt man also das Auftreten von ¹³C -markierten Kohlenwasserstoff-Emissionen einer Pflanze nach einer ¹³CO₂-Exposition, lassen sich Aussagen sowohl zu der Geschwindigkeit der Isoprenoid-Biosynthese als auch zum Zusammenhang von Photosynthese und Biosynthese der emittierten Verbindungen machen.

Geht man für den metabolischen Einbau von markiertem Kohlendioxid in Isoprenoide von einer statistischen Verteilung, d.h. ohne bevorzugte Inkorporation von assimiliertem Kohlenstoff auf einer bestimmten Position im Isoprenoid-Gerüst aus, so kann man auf dieser Grundlage das zeitliche Verhalten der aus dieser Biosynthese resultierenden Terpen-Emissionen rechnerisch simulieren. Die Simulation beruht dabei auf dem Prinzip des *kontinuierlich gerührten Kessel-Reaktors* (Baerns et al., 1992). Er stellt den Austausch zweier Stoffe A und B in einem Reaktionskessel in einer bestimmten Zeit dar. Dabei entscheidet das Verhältnis von dem Volumen des Reaktionskessels zu dem Stoff-Fluss durch den Reaktionskessel über die mittlere Verweildauer eines Moleküls im Kessel und damit über die Zeit, welche benötigt wird, um Stoff A gegen Stoff B auszutauschen.

Auf dieser Grundlage wurde ein numerisches Modell entwickelt, welches die Simulation des pflanzlichen ^{13}C -Einbaus in Mono- bzw. Sesquiterpene erlaubt. Ausgehend von den Massenspektren unmarkierter Kohlenwasserstoffe kann mit Hilfe der Modellrechnung die m/z-Verschiebung im Massenspektrum dargestellt werden. Für das Auftreten von ^{13}C -Atomen im Molekül wurde für Mono- und Sesquiterpene eine statistische Verteilung des Einbaus von assimiliertem ^{13}C -Kohlenstoff angenommen. Die Wahrscheinlichkeit des Einbaus kann dann mit Hilfe der Binomialverteilung für alle Positionen im Molekül errechnet werden (Chung, 1978). Durch den Vergleich und die Anpassung der erhaltenen modellierten Spektren an die gemessenen Spektren von emittierten Verbindungen einer Pflanze nach einer $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition kann der zeitliche Verlauf von Assimilation und Einbau von ^{13}C nachvollzogen werden. Zur Verdeutlichung der Vorgehensweise wurde ein Schema der Modellierung entworfen (Abb. 9).

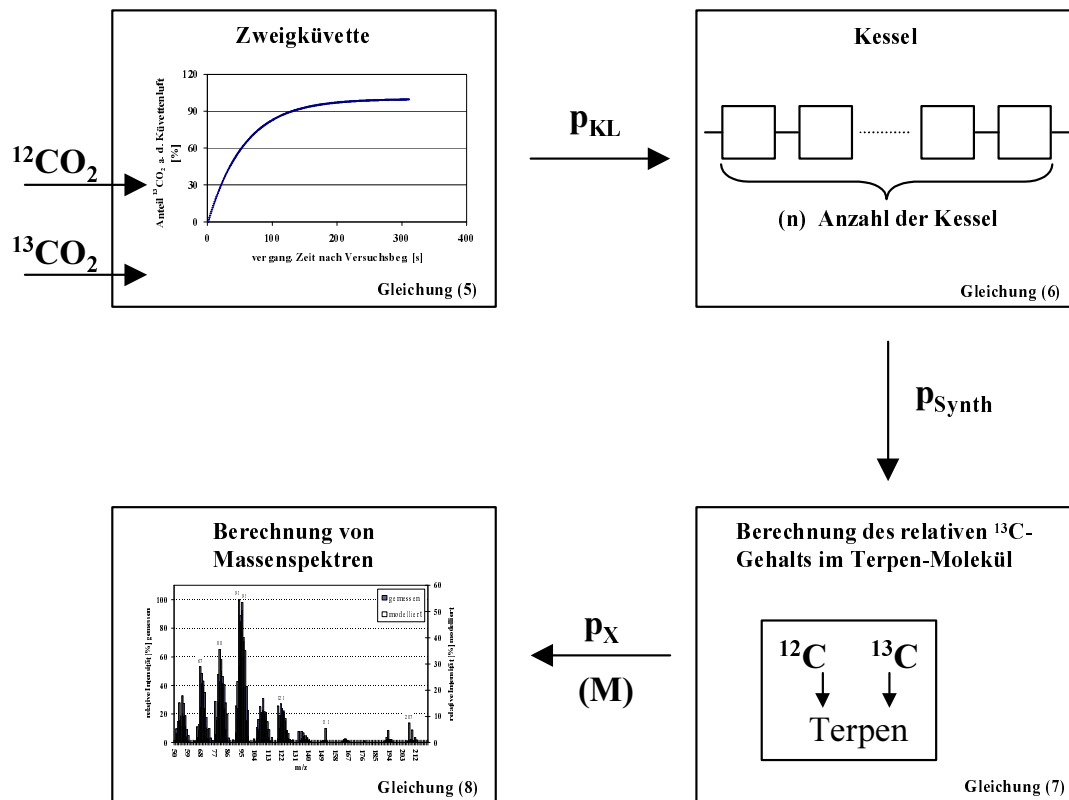


Abb. 9: Schema der Modellierung des ^{13}C -Kohlenstoff-Einbaus in Terpene.

Abkürzungen: P_{KL} = rel. Anteil von $^{13}\text{CO}_2$ an der Küvettenluft, P_{Synth} = rel. Anteil der $^{13}\text{CO}_2$ -Moleküle am Isoprenoid-Syntheseort, $P_X(\text{M})$ = rel. Anteil von ^{13}C -Atomen im Molekül.

Die Modellierung kann formal wie folgt dargestellt werden:

- Berechnung des zeitlichen Verlaufs der $^{13}\text{CO}_2$ -Konzentration in der Küvettenluft:

$$p_{\text{KL}} = 1 - \exp\left[\frac{-t}{\left(\frac{V_{\text{K}}}{Q_{\text{K}}}\right)}\right] \quad (5)$$

wobei t = vergangene Zeit nach Umschaltung der Gaszufuhr von $^{12}\text{CO}_2$ auf $^{13}\text{CO}_2$ in [s];
 V_{K} = Volumen der Zweig-Küvette in [l]; Q_{K} = Luftdurchsatz der Küvette in [l s^{-1}].

- Berechnung des zeitlichen ^{13}C -Flusses im Biosynthese-System der Pflanze (in Analogie zu einem Rührkessel-Kaskaden-Modell):

$$\mathbf{F}(\mathbf{t}) = \mathbf{0,4} \cdot \mathbf{p}_{\text{Synth}} = \mathbf{1} - \left[\mathbf{1} + \sum_{j=1}^{n-1} \frac{\mathbf{1}}{j!} \left(\frac{\mathbf{n} \cdot \mathbf{t}}{\tau_{\text{ges}}} \right) \right] \cdot \mathbf{exp} \left(\frac{-\mathbf{n} \cdot \mathbf{t}}{\tau_{\text{ges}}} \right) \quad (6)$$

mit n = Anzahl der Kessel ; $\tau_{\text{ges}} = \tau \cdot n$; $\tau = V_{\text{K}}/Q_{\text{K}}$; V_{K} = Volumen der Einzelkessel (Kompartimente) in [l] ; Q_{K} = Luftdurchsatz der Küvette in [l s^{-1}]. Dabei stellt p_{Synth} den Anteil des in Terpen-Molekülen wiedergefundenen Kohlenstoffs aus der direkten *de novo*-Biosynthese dar.

- Berechnung der Häufigkeitsverteilung von ^{13}C -Atomen im Terpen-Gerüst als Funktion von p_{Synth} :

$$\mathbf{b}(\mathbf{x}, \mathbf{n}, \mathbf{p}_{\text{Synth}}) = \binom{\mathbf{n}}{\mathbf{x}} \mathbf{p}_{\text{Synth}}^{\mathbf{x}} (\mathbf{1} - \mathbf{p}_{\text{Synth}})^{\mathbf{n} - \mathbf{x}} \quad (7)$$

Gleichung (7) beschreibt die Wahrscheinlichkeit $\mathbf{b}(\mathbf{x}, \mathbf{n}, \mathbf{p}_{\text{Synth}})$, dass genau \mathbf{x} ^{13}C -Atome in einem C_{15} -Kohlenwasserstoff ($n = 15$) vorkommen, wenn der relative ^{13}C -Gehalt p_{Synth} beträgt (z.B. $[^{13}\text{C}]/[^{12}\text{C}] = 1 \hat{=} p_{\text{Synth}} = 0,5$).

- Berechnung der erwarteten Massenspektren bei statistisch verteiltem Einbau der ^{13}C -Atome in das Molekülgerüst:

$$\mathbf{p}(\mathbf{x}) = \frac{\binom{\mathbf{M}}{\mathbf{x}} \cdot \binom{\mathbf{N} - \mathbf{M}}{\mathbf{n} - \mathbf{x}}}{\binom{\mathbf{N}}{\mathbf{n}}} \quad (8)$$

Die Anzahl der ^{13}C -Atome (\mathbf{M}) in einem C_{15} -Molekülgerüst ($n = 15$) bestimmt die Wahrscheinlichkeit $\mathbf{p}(\mathbf{x})$, mit welcher \mathbf{x} ^{13}C -Atome in einem Fragment \mathbf{N} vorkommen (hypergeometrisch-verteilte Zufallsvariable).

3 Ergebnisse

Die Emissionen von Kohlenwasserstoffen aus Pflanzen tragen, neben anthropogen emittierten Kohlenwasserstoffen, bedeutend zur Chemie der Atmosphäre unserer Erde bei. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, wichtige Emissionsquellen zu charakterisieren und zu quantifizieren. Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse von Studien zu der saisonal bestimmten Quellstärke von Kohlenwasserstoff-Emissionen von der Kiefer als borealem Waldbaum und zu dem Emissionsverhalten des Ginkgo als einer ausgesuchten Art unter Berücksichtigung der Biosynthese der flüchtigen Kohlenwasserstoffe vorgestellt. Zudem werden Ergebnisse aus Untersuchungen des Emissionsverhaltens an Braunalgen der Gattung *Fucus* als Vertreter von sehr ursprünglichen Organismen beschrieben.

3.1 Untersuchungen zu der jahreszeitlichen Änderung der Zusammensetzung und dem Emissionsverhalten von flüchtigen Kohlenwasserstoffen bei *Pinus sylvestris* L. und *Pinus nigra* L.

An den Arten *Pinus sylvestris* L. und *Pinus nigra* L. wurden Untersuchungen zum Emissionsverhalten flüchtiger Kohlenwasserstoffe durchgeführt. Die Untersuchung der Abhängigkeit dieser Emissionen von meteorologischen Parametern wie Temperatur und Lichtintensität sowie von entwicklungsphysiologischen Parametern wie die jahreszeitlichen Änderungen der Emission waren ein Ziel der vorliegenden Arbeit. Diese als exogen und endogen zu charakterisierenden Faktoren wurden für *Pinus sylvestris* über die Vegetationsperiode 1998 monatlich von April bis Oktober und im Jahr 1999 in den Monaten Mai, Juli und Oktober mit Hilfe von zwei 53 l-Zweig-Küvetten untersucht. Für *Pinus nigra* wurden die Feldmessungen in den Monaten August, September und Oktober des Jahres 1998 mit einer 53 l-Zweig-Küvette durchgeführt. Als Standort der beiden untersuchten Arten wurde ein durch langjährige meteorologische Datenaufzeichnung gut erfasster geforsteter Kiefernbestand in Hartheim, Nähe Freiburg gewählt. Der Bestand wurde 1969 mit zweijährigen Setzlingen auf dem sandig-kiesigen Boden der nahen Rheinniederung angelegt. Trotz der Nähe zum Rhein ist der Standort, bedingt durch eine Absenkung des Grundwassers unter den Wurzelbereich der Bäume und die geringe Wasserspeicherkapazität des Bodens, als trocken einzustufen (Reif, 1996). Die untersuchten Bäume der Art *P. sylvestris* hatten zur Zeit der Messungen eine Höhe von etwa 15 m. Die Studien wurden im gut mit Licht versorgten Kronenbereich von zwei Bäumen direkt im Forst an einem Messturm durchgeführt. Für Messungen an *P. nigra* wurde ein Baum von ca. 10 m Höhe an einem Waldweg gewählt. Auch hier wurden die Untersuchungen im Kronenbereich von einem begehbaren Turm aus vorgenommen. Bei

allen Untersuchungen wurden die Küvetten mindestens 10 Stunden vor den Emissionsmessungen (Vorabend des ersten Messtags) installiert. In dem genannten Forst unterhält die Universität Freiburg eine meteorologische Station. Die hier regelmäßig aufgezeichneten meteorologischen Parameter wurden für den Untersuchungszeitraum freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

3.1.1 Entwicklungsphysiologisch bedingte Größenänderung der emittierenden Nadeloberfläche bei den untersuchten *Pinus*-Arten

Emissionsraten werden in der vorliegenden Arbeit auf die Nadeloberfläche der emittierenden Zweige bezogen. Die Bestimmung der Nadel-Gesamtoberfläche der untersuchten Zweige erfolgte im Monat Oktober der Jahre 1998 und 1999, jeweils nach der letzten Messkampagne des jeweiligen Jahres. Die Nadeln wurden von den Zweigen geerntet und nachfolgend das Nadelfrischgewicht bestimmt. Von der gesamten Nadelmenge wurden 50 Nadeln separiert und mittels eines Fotokopiergerätes zweidimensional projiziert. Die Flächenbestimmung erfolgte mit einer Referenzfläche mittels Wägung der projizierten Flächen und der Referenzfläche. Die Umrechnung der zweidimensionalen Nadelfläche auf die dreidimensionale Nadelfläche erfolgte mit Hilfe eines Rechenfaktors für Kiefernadeln. Dieser betrug 2,56 (nach Peterer & Körner 1990). Über die Bestimmung des Frischgewichts dieser somit flächenmäßig definierten Nadeln konnte die Nadel-Gesamtoberfläche der untersuchten Zweige bestimmt werden.

Zeitlich ausgedehnte Untersuchungen des Emissionsverhaltens über das Jahr hinweg müssen der Änderung der Nadeloberfläche durch Wachstum Rechnung tragen. Die Ermittlung des Wachstums der untersuchten Zweige wurde für *Pinus sylvestris* mit Hilfe einer Bildauswertung normierter Fotografien vorgenommen. Hierfür wurden bei jeder Messkampagne Fotografien von den Zweigen auf Rasterpapier gemacht. Die Vermessung einiger gut sichtbarer Nadeloberflächen diente zur Abschätzung des Nadelzuwachses über die Vegetationsperiode hinweg. Der Abwurf toter Nadeln ab den Sommermonaten wurde in die Bestimmung der Emissionsfläche der Zweige mit einbezogen. Die aufgeführten Nadel-Gesamtflächen (Summe aller Nadelflächen eines Zweiges), ausgehend von den Nadel-Gesamtflächen des Monats Oktober 1998 bzw. 1999 (Ernte der Zweige bei der letzten Messkampagne des jeweiligen Jahres und nachfolgende Nadelflächenbestimmung), wurden als Emissionsfläche definiert (Tab. 5).

Tab. 5: Größenänderung der emittierenden Nadeloberfläche bei *Pinus sylvestris*.

Die aufgeführten Nadel-Gesamtflächen wurden unter Zuhilfenahme einer Bildauswertung auf der Basis von Rasterpapier-normierter Fotografien der Zweige ermittelt. Abkürzung: n.b. = nicht bestimmt.

Jahr/Monat	Nadel-Gesamtfläche des untersuchten Zweigs, Baum 1 [m ²]	Nadel-Gesamtfläche des untersuchten Zweigs, Baum 2 [m ²]
1998		
März	0,049±0,003	0,066 ±0,003
April	0,056 ±0,002	0,075 ±0,003
Juni	0,087 ±0,005	0,116 ±0,004
Juli	0,112 ±0,006	0,149 ±0,007
August	0,131 ±0,002	0,174 ±0,003
September	0,125 ±0,003	0,166 ±0,005
Oktober	0,125 ±0,003	0,166 ±0,005
1999		
Mai	0,092 ±0,005	0,144 ±0,004
Juli	0,185 ±0,008	0,289 ±0,009
Oktober	n.b.	0,321 ±0,008

Eine deutliche Zunahme der Nadel-Gesamtfläche wird bis in die Sommermonate beobachtet. In den Monaten August bis September ändert sich die emittierende Nadel-Gesamtfläche hingegen nur wenig. Zu dieser Zeit ist der jährliche Nadelzuwuchs abgeschlossen.

3.1.2 Die Kohlenwasserstoff-Emission bei *Pinus sylvestris* L. und *Pinus nigra* L. zu verschiedenen Jahreszeiten

Zur Verdeutlichung der tages- und jahreszeitabhängigen Emissionen von *Pinus sylvestris* und *Pinus nigra* werden die Ergebnisse der Untersuchungen in der Summe aller untersuchten flüchtigen Isoprenoide dargestellt. Hierbei handelt es sich um insgesamt 28 Einzelverbindungen, die im folgenden zur Vereinfachung als *Terpen-Gesamt-Emission* bezeichnet werden.

Die Abgaberaten der Kohlenwasserstoffe von *Pinus sylvestris* wurden im Abstand von zwei Stunden bestimmt. Aus den so ermittelten Tagesgängen der Emission (Abb. 10), welche an zwei aufeinander folgenden Tagen pro Monat aufgenommen wurden, ergeben sich Datensätze für die Vegetationsperiode 1998 (März bis Oktober für *P. sylvestris*; August, September und Oktober für *P. nigra*) und für drei Monate in 1999 (Mai, Juli und Oktober nur für *P. sylvestris*).

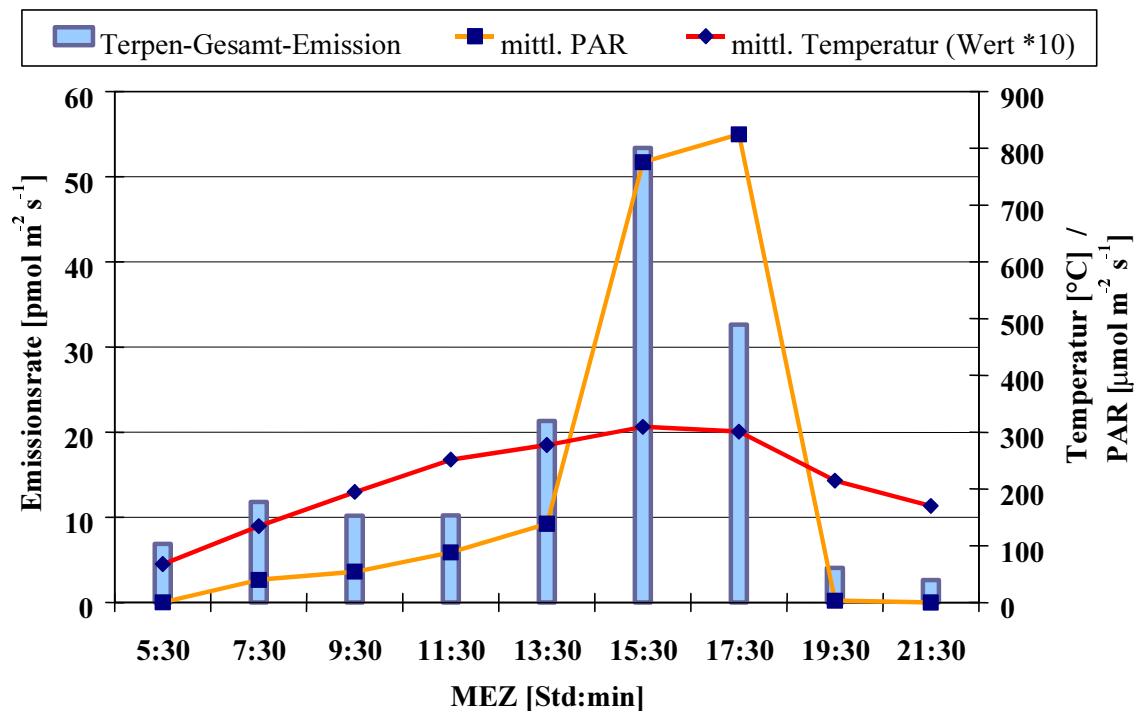


Abb. 10: Tagesgang der Terpen-Gesamt-Emission bei *Pinus sylvestris*. Exemplarisch gezeigt ist ein Tagesgang der Terpen-Gesamt-Emissionen für den Baum 1, ermittelt am 26.08.1998. Grundsätzlich wurden die Emissionen an zwei Bäumen mittels der Küvettenteknik gemessen. Es wurden ca. 30 cm lange Zweige verwendet. Die meteorologischen Parameter Temperatur und Lichtintensität (PAR) in der Zweig-Küvette wurden parallel zu der Probenahme der Kohlenwasserstoff-Emissionen ermittelt. Verwendetes Messsystem: kombinierter Messfühler, Fa. PP-Systems.

Die Kohlenwasserstoff-Emissionen unterliegen deutlichen Änderungen über den Tag hinweg. Hierbei folgen sie grundsätzlich den Temperatur- und Lichtverhältnissen zu verschiedenen Tageszeiten.

Die Küvetten-Studien ergaben deutliche jahreszeitliche Änderungen in den Emissionsraten flüchtiger Kohlenwasserstoffe der beiden untersuchten Bäume (Abb. 11). Dabei wurden zudem Unterschiede in den Emissionsraten der Summe aller untersuchten Kohlenwasserstoffe für die Jahre 1998 und 1999 ermittelt.

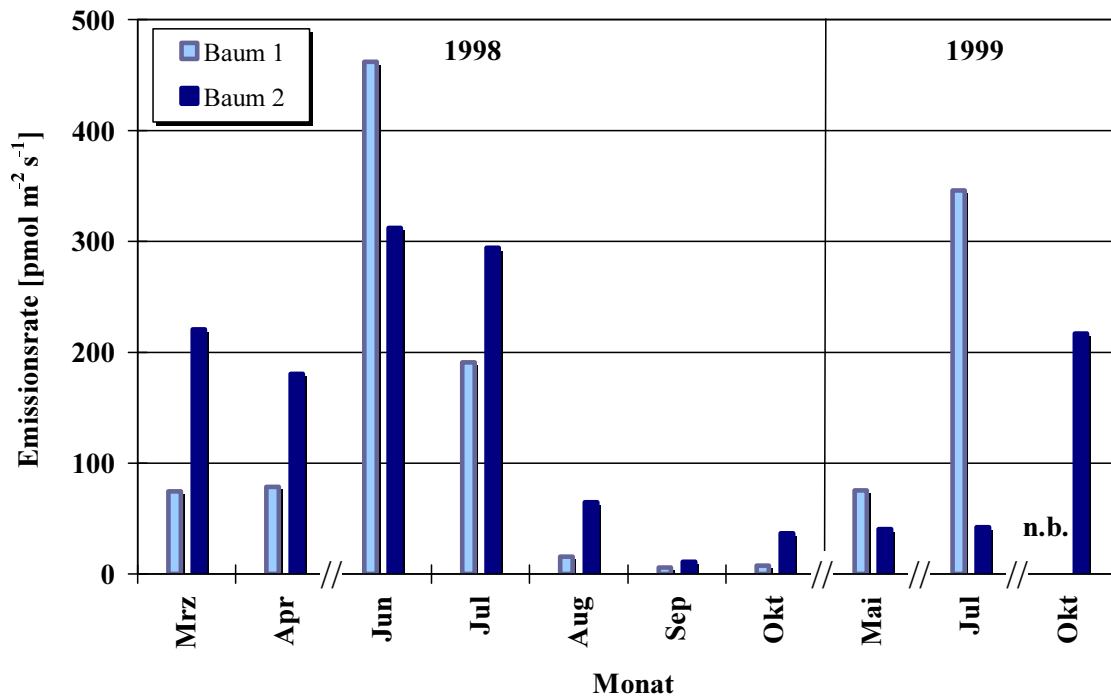


Abb. 11: Terpen-Gesamt-Emission bei *Pinus sylvestris*, gemessen. Die Emissionen wurden an zwei Bäumen (Baum 1 u. Baum 2) mittels der Küvettentechnik in den Jahren 1998 und 1999 gemessen. Es wurden ca. 30 cm lange Zweige untersucht. Die Emissionsraten stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar. Abkürzung: n.b. = nicht bestimmt.

Die Emissionen, welche im Jahr 1998 gemessen wurden, stiegen im Frühjahr bis in die Sommermonate Juni und Juli, und gingen ab August deutlich auf Werte unter $100 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ zurück. Sie lagen in den Spätsommer- und Herbstmonaten deutlich unter den Frühjahr-Emissionen. Die Höhe der Abgaberraten der Gesamtkohlenwasserstoffe bei *P. sylvestris* verläuft ähnlich wie die mittleren Temperaturen und eingeschränkt auch ähnlich der photosynthetisch aktiven Strahlung PAR in der Küvette (Abb. 12). Die meteorologischen Messwerte stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tageswerten (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar.

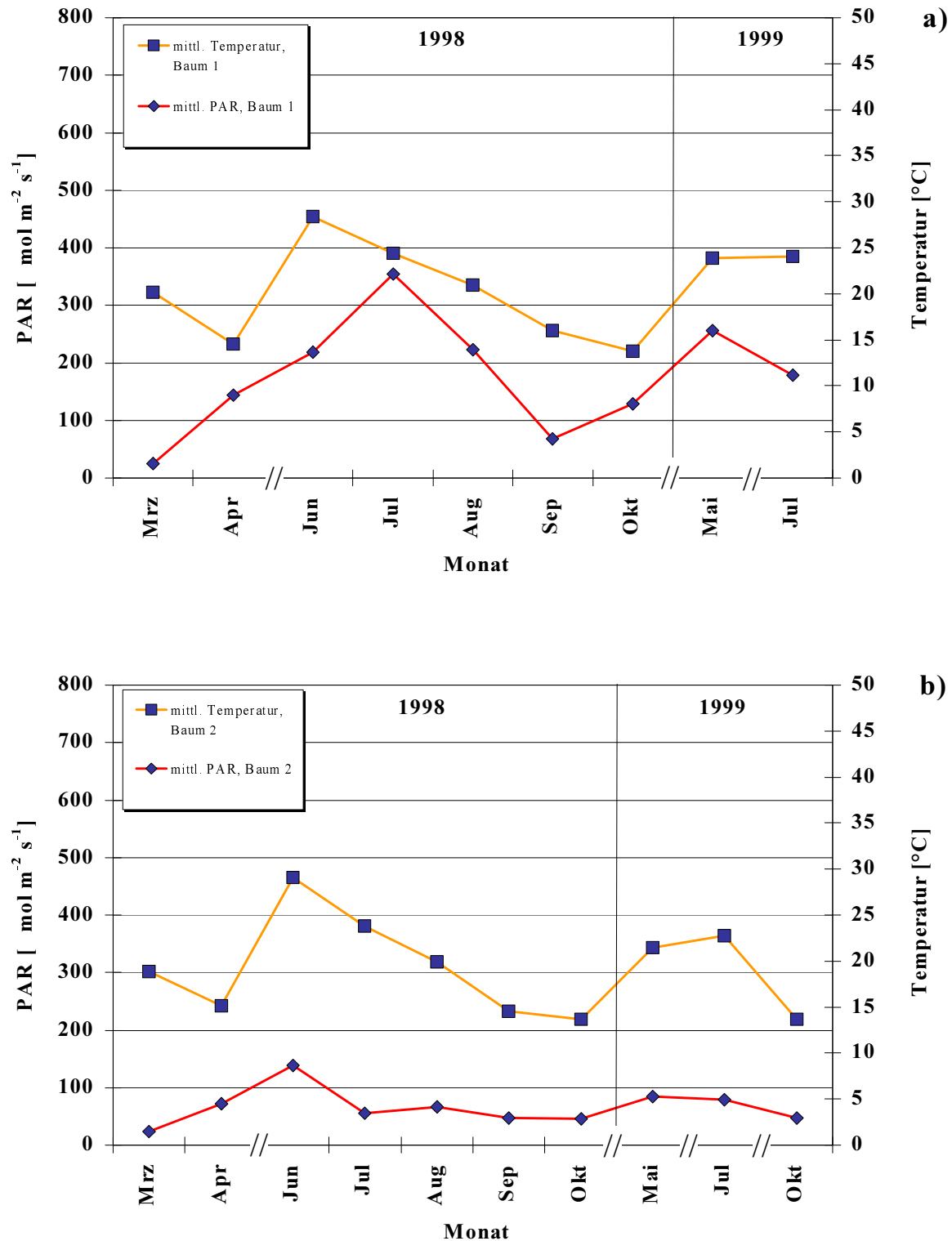


Abb. 12: Temperatur- und Lichtverhältnisse in der Zweig-Küvette während der Probenahme von Kohlenwasserstoff-Emissionen. a) Baum 1, b) Baum 2. Die Messwerte stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tageswerten (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar. Sie wurden parallel zu der Probenahme der Kohlenwasserstoff-Emissionen ermittelt. Verwendetes Messsystem: kombinierter Messfühler, Fa. PP-Systems.

Der Vergleich der Temperatur- und Lichtverhältnisse in den beiden Küvetten untereinander zeigt, dass die Höhe der Emissionsraten nicht proportional zu diesen Parametern ist. Die Bäume weisen für diese Gesamt-Kohlenwasserstoff-Emission somit eine gewisse Individualität auf. So sind die Emissionen von Baum 2 im Jahr 1998 bei ähnlichen Temperatur- und Lichtverhältnissen in den beiden Küvetten um durchschnittlich 70 % höher als bei Baum 1.

Neben den Emissionsmessungen an *Pinus sylvestris* wurden in der zweiten Jahreshälfte 1998 vergleichende Emissionsmessungen an *Pinus nigra* durchgeführt. Es wurde die Terpen-Gesamt-Emission bestimmt (Abb. 13).

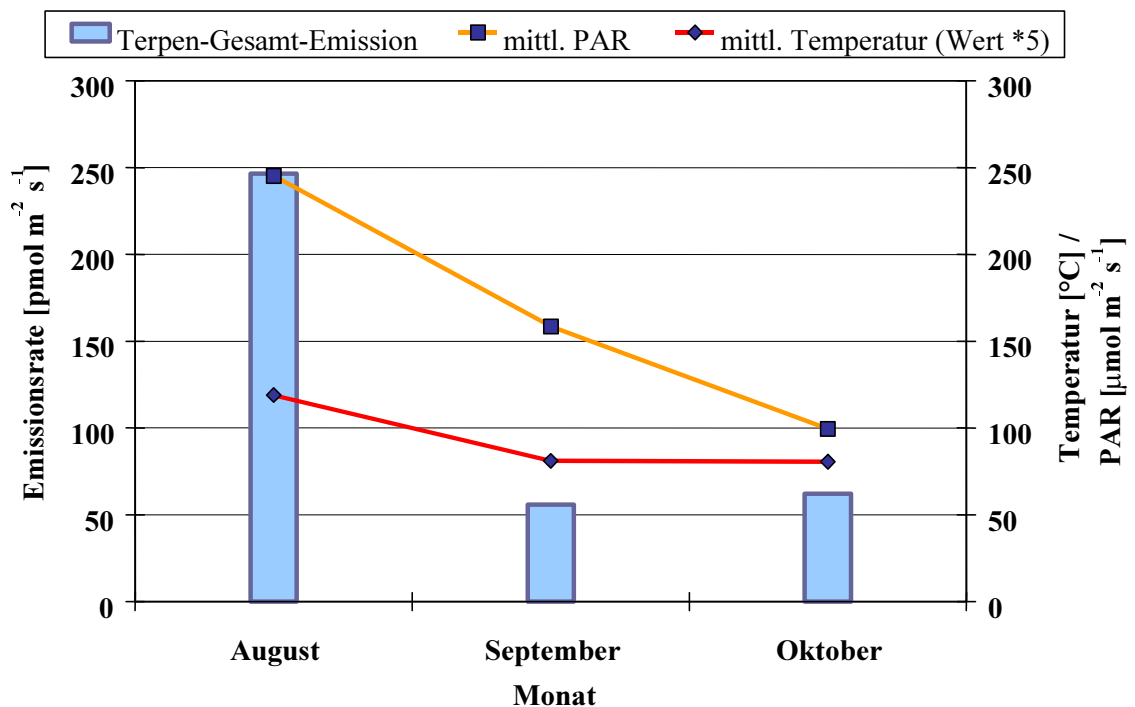


Abb. 13: Terpen-Gesamt-Emission bei *Pinus nigra*, gemessen im Jahr 1998.

Die Emissionen wurden mit Hilfe der Küvettentechnik an einem ca. 40 cm langen Zweig ermittelt. Die Emissionsraten stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar. Die meteorologischen Parameter Temperatur und Lichtintensität (PAR) in der Zweig-Küvette wurden parallel zu der Probenahme der Kohlenwasserstoff-Emissionen ermittelt. Verwendetes Messsystem: kombinierter Messfühler, Fa. PP-Systems.

Die Emissionsraten der Terpen-Gesamt-Emission liegen bei *Pinus nigra* in der gleichen Größenordnung wie bei *Pinus sylvestris*, sind aber im Monat August bedeutend erhöht. Vergleichbar den Kohlenwasserstoff-Emissionen von *P. sylvestris* zeigen auch die Emissionsraten von *Pinus nigra* eine Abhängigkeit von der Temperatur und bedingt auch von den Lichtverhältnissen in der Zweig-Küvette.

3.1.3 Zusammensetzung der Kohlenwasserstoff-Emission im jahreszeitlichen Verlauf

Die bisher dargestellte Terpen-Gesamt-Emission der flüchtigen Kohlenwasserstoffe setzt sich wie bereits erwähnt aus 28 detektierten Einzelsubstanzen zusammen. Es wurden Isopren und neun Monoterpene (Abb. 14 und 15) sowie 18 Sesquiterpene und sauerstoffhaltige Verbindungen (Abb. 17 und 18) für die Jahre 1998 und 1999 gefunden.

Die untersuchten Verbindungen α -Pinen, β -Pinen, δ -3-Caren und Camphen sind in der Gruppe der Monoterpene die Hauptkomponenten der Emission beider untersuchter Bäume für die Vegetationsperiode 1998 (Abb. 14). Sie zusammen tragen 50-90 mol-% Kohlenstoff (Einheit im folgenden C-mol-%) zu der Terpen-Gesamt-Emission bei. Ebenso wie bei der Höhe der Terpen-Gesamt-Emission ist auch bei der Zusammensetzung dieser Emission eine gewisse Individualität der untersuchten Bäume zu erkennen.

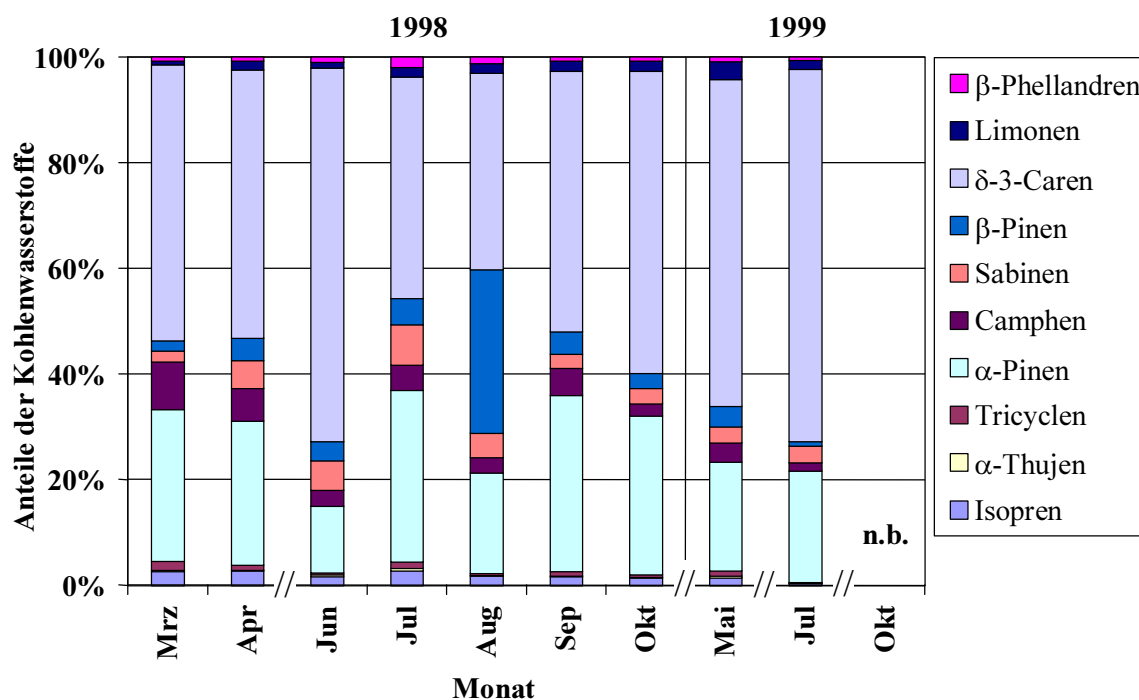


Abb. 14: Zusammensetzung der Terpen-Gesamt-Emission bei *P. sylvestris*. Isopren und Monoterpene. Messungen an Baum 1. Die prozentualen Anteile der Einzelkomponenten an der Gruppe des Isopren und der Monoterpene stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar. Die Emissionen wurden mittels der Küvettenteknik in den Jahren 1998 und 1999 gemessen. Abkürzung: n.b. = nicht bestimmt.

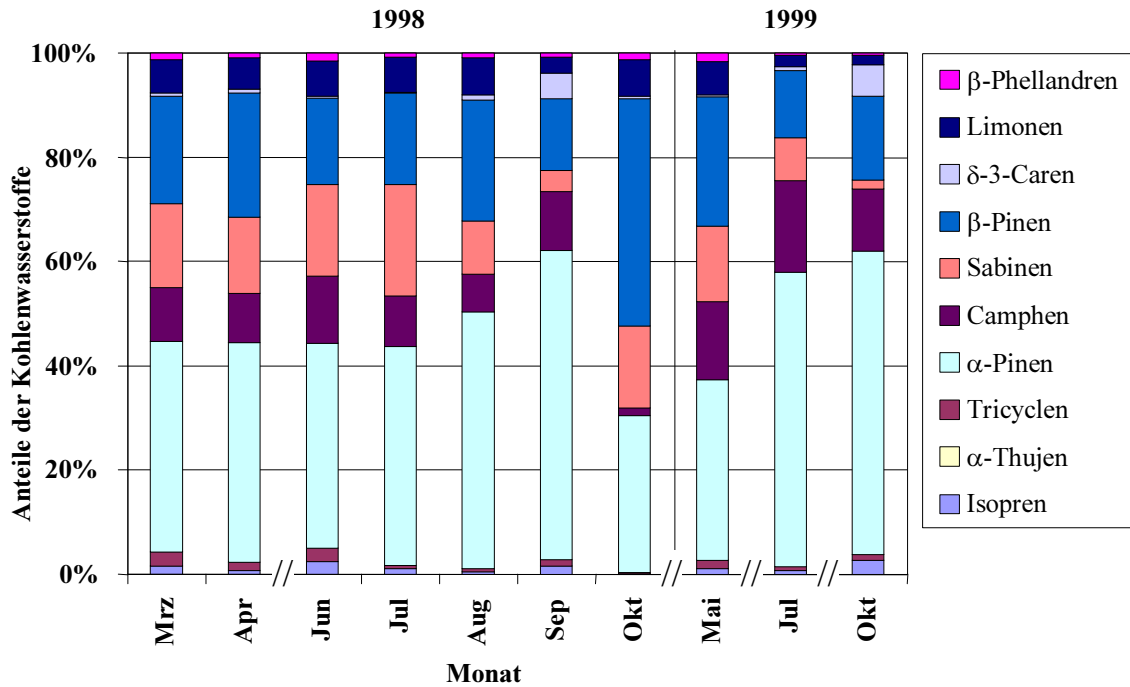


Abb. 15: Zusammensetzung der Terpen-Gesamt-Emission bei *P. sylvestris*. Isopren und Monoterpene. Messungen an Baum 2. Die prozentualen Anteile der Einzelkomponenten an der Gruppe des Isopren und der Monoterpene stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar. Die Emissionen wurden mittels der Kuvettentechnik in den Jahren 1998 und 1999 gemessen.

Baum 1 emittiert als Hauptkomponente δ -3-Caren, gefolgt von α -Pinen, wohingegen bei Baum 2 δ -3-Caren fast ganz fehlt und die Hauptkomponenten hier α -Pinen und β -Pinen sind (Tab. 6). Der Anteil der Emission von Sabinen an der Terpen-Gesamt-Emission ist bei diesem Baum etwas höher als bei Baum 1 (allerdings war die Quantifizierung der Komponente Sabinen durch eine Überlagerung einer unbekannteren anderen Substanz im Massenspektrum grundsätzlich erschwert).

Ähnliche Verhältnisse für die Zusammensetzung der Emissionen zeigen sich auch für das Jahr 1999. Für die Messungen dieses Jahres wurden andere Zweige von jeweils dem gleichen Baum des Vorjahres ausgewählt. Leider konnten aufgrund technischer Probleme für den Monat Oktober für Baum 1 keine Emissionen bestimmt werden. Für die anderen Monate wurden auch für die Emissionen in 1999 die Unterschiede in den Anteilen der Verbindungen δ -3-Caren und β -Pinen für die beiden Bäume gefunden. Für Baum 1 liegen die Anteile der Emissionen von α -Pinen und δ -3-Caren an der Terpen-Gesamt-Emission wie schon 1998 über 65 C-mol-%. Baum 2 zeigt für 1999 einen erhöhten Anteil von Camphen, welcher bei bis zu 17 C-mol-% der Terpen-Gesamt-Emission und damit in der Größe der Abgaberaten von β -Pinen liegt.

Tab. 6: prozentualer Anteil der Monoterpene α -Pinen, β -Pinen δ -3-Caren und Camphen an der Terpen-Gesamt-Emission. Die prozentualen Anteile (in mol-% Kohlenstoff C) stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar. Die Emissionen wurden mittels der Kuvettentechnik in den Jahren 1998 und 1999 gemessen. Abkürzung: n.b. = nicht bestimmt.

Baum 1	α-Pinen [C-mol-%]	β-Pinen [C-mol-%]	δ-3-Caren [C-mol-%]	Camphen [C-mol-%]	Gemeinsamer Anteil der vier Terpene an der Gesamtemission [C-mol-%]
1998					
März	28,5	1,9	51,6	9,0	91,0
April	25,9	4,1	48,4	5,9	84,3
Juni	12,1	3,6	67,7	2,9	86,3
Juli	31,0	4,8	39,9	4,6	80,4
August	15,7	25,6	30,7	2,4	74,4
September	32,3	4,2	47,8	5,1	89,4
Oktober	29,5	2,8	56,2	2,3	90,7
1999					
Mai	16,9	3,1	50,7	3,0	73,7
Juli	20,7	0,9	68,9	1,5	92,0
Oktober	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Baum 2					
1998					
März	39,1	20,0	0,4	10,2	69,7
April	40,3	22,6	0,7	9,1	72,7
Juni	36,6	15,6	0,3	12,1	64,7
Juli	39,5	16,3	0,3	9,0	65,1
August	47,2	22,3	0,8	7,0	77,3
September	56,5	13,2	4,6	10,9	85,2
Oktober	29,8	43,2	0,6	1,4	75,0
1999					
Mai	28,8	20,7	0,2	12,4	62,0
Juli	54,0	12,4	0,7	16,8	84,0
Oktober	54,9	15,2	5,8	11,3	87,2

Am Beispiel von δ -3-Caren und α -Pinen kann gezeigt werden, dass das Verhältnis der Hauptkomponenten der Emission zueinander jahreszeitlichen Änderungen bezüglich der Höhe der Abgaberraten unterliegt (Abb. 16).

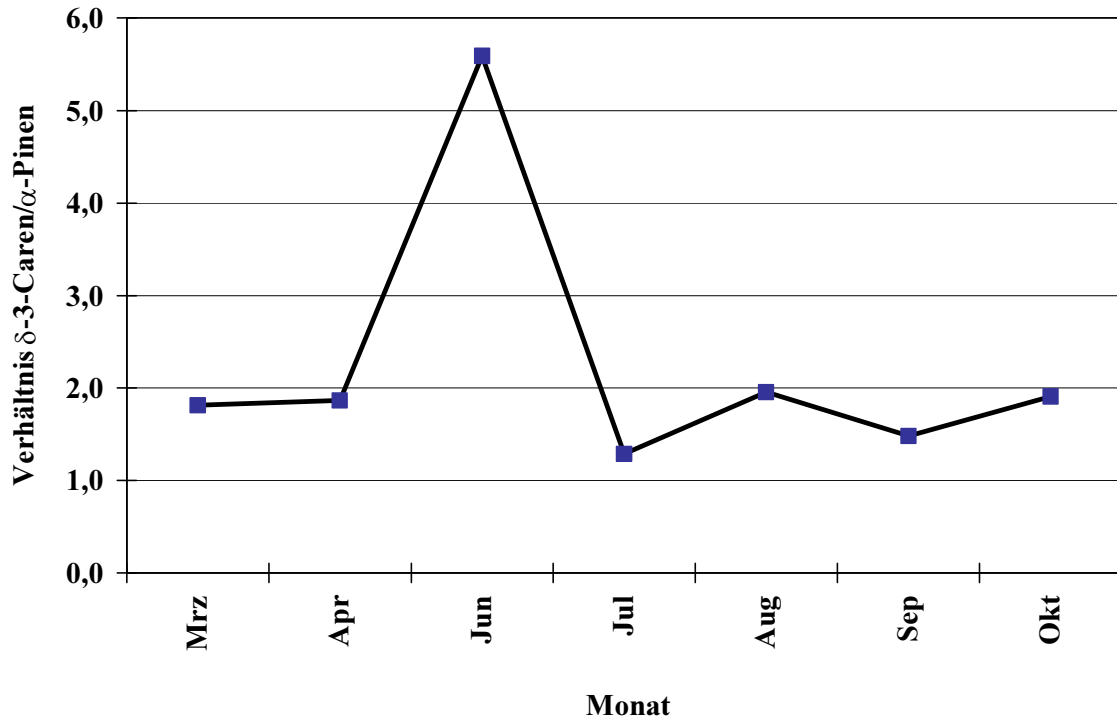


Abb. 16: Verhältnis der Emissionsraten von δ -3-Caren und α -Pinen zueinander.

Ergebnisse der Messungen an Baum 1 des Jahres 1998. Die Emissionsraten stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar.

Für die meiste Zeit des Jahres 1998 wird in der Entwicklung des Verhältnisses kein Trend deutlich. Allerdings steigt im Monat Juni der Anteil von δ -3-Caren an der Terpen-Gesamt-Emission verglichen mit dem Anteil von α -Pinen deutlich an. Dies ist die Zeit, in der von der Kiefer neu angelegte Nadeln schon deutlich ausgetrieben sind und zur Emission der untersuchten Zweige bedeutend beitragen.

Neben den Emissionen von Monoterpenen wurden auch das Abgabeverhalten von *P. sylvestris* bezüglich Terpenen höherer Ordnung und sauerstoffhaltiger Verbindungen und deren Beitrag zur Terpen-Gesamt-Emission untersucht. In der Gruppe der Sesquiterpene und der sauerstoffhaltigen Kohlenwasserstoffe (Abb. 17) sind 1998 die Hauptkomponenten für beide untersuchten Bäume 1,8-Cineol und Kampfer. Sie tragen noch bis zu 18 C-mol-% (vgl. Tab. 7) zur Terpen-Gesamt-Emission bei.

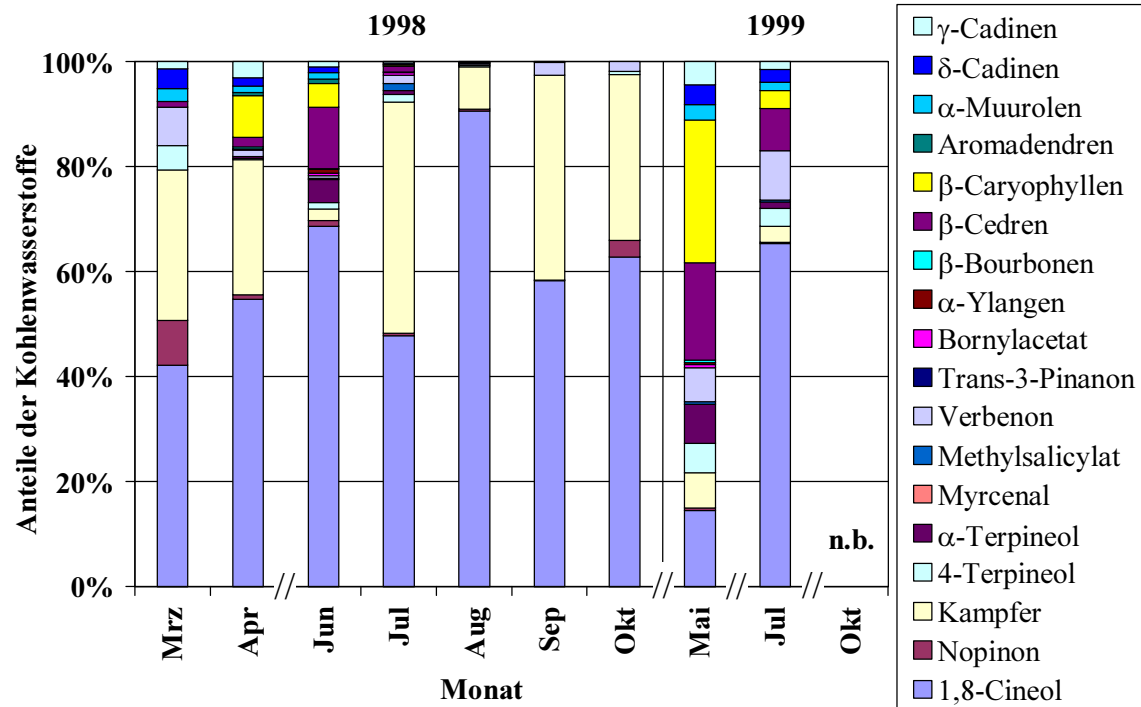


Abb. 17: Zusammensetzung der Terpen-Gesamt-Emission bei *P. sylvestris*. Sauerstoffhaltige Substanzen und Sesquiterpene. Messungen an Baum 1. Die prozentualen Anteile der Einzelkomponenten an der Gruppe der sauerstoffhaltigen Substanzen und Sesquiterpene stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar. Die Emissionen wurden mittels der Küvettentechnik in den Jahren 1998 und 1999 gemessen. Abkürzung: n.b. = nicht bestimmt.

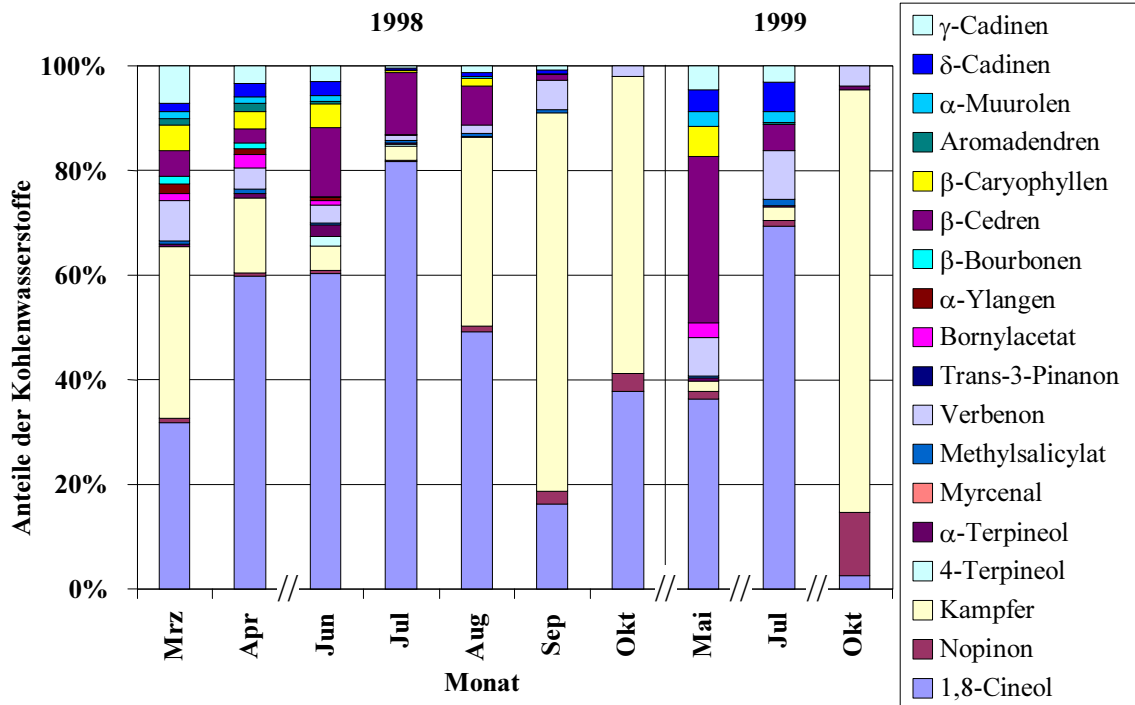


Abb. 18: Zusammensetzung der Terpen-Gesamt-Emission bei *P. sylvestris*. Sauerstoffhaltige Substanzen und Sesquiterpene. Messungen an Baum 2. Die prozentualen Anteile der Einzelkomponenten an der Gruppe der sauerstoffhaltigen Substanzen und Sesquiterpene stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar. Die Emissionen wurden mittels der Küvettentechnik in den Jahren 1998 und 1999 gemessen.

Besonders auffällig ist hier die überdurchschnittlich starke Differenzierung der Terpen-Gesamt-Emission im Monat Juni bei beiden Bäumen. In diesem Monat werden besonders viele verschiedene Substanzen dieser Gruppe emittiert. Auch im März, April und Juli tragen neben den Hauptkomponenten 1,8-Cineol und Kampfer viele Substanzen mit nur geringen Emissionsraten zu der Terpen-Gesamt-Emission bei.

Die sauerstoffhaltigen Substanzen und Sesquiterpene weisen für die Messungen im Jahr 1999 einige Unterschiede zu den Emissionen des Vorjahres auf. So ist 1,8-Cineol im Sommermonat Juli zwar die Hauptkomponente dieser Gruppe der Emissionen bei *P. sylvestris*, ähnlich den Emissionen im Jahr 1998, allerdings liegt der Anteil an der Terpen-Gesamt-Emission für Baum 1 im Frühjahr und für Baum 2 im Herbst deutlich niedriger, verglichen mit den Werten von 1998.

Tab. 7: prozentualer Anteil der Substanzen 1,8-Cineol und Kampfer an der Terpen-Gesamt-Emission. Die prozentualen Anteile (in mol-% Kohlenstoff C) stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar. Die Emissionen wurden mittels der Küvettentchnik in den Jahren 1998 und 1999 gemessen. Abkürzung: n.b. = nicht bestimmt.

	1,8-Cineol [C-mol-%]	Kampfer [C-mol-%]	Gemeinsamer Anteil der zwei Terpene an der Gesamtemission [C-mol-%]
<i>Baum 1</i>			
1998			
März	1,0	0,7	1,7
April	3,0	1,4	4,4
Juni	3,1	0,1	3,2
Juli	2,9	2,7	5,5
August	16,5	1,4	17,9
September	2,3	1,5	3,8
Oktober	1,6	0,8	2,4
1999			
Mai	1,9	0,9	2,7
Juli	1,4	0,1	1,4
Oktober	n.b.	n.b.	n.b.
<i>Baum 2</i>			
1998			
März	1,1	1,1	2,2
April	2,7	0,6	3,3
Juni	4,1	0,3	4,4
Juli	5,1	0,2	5,3
August	2,1	1,5	3,6
September	0,9	3,9	4,7
Oktober	0,3	0,5	0,8
1999			
Mai	4,9	0,3	5,2
Juli	3,1	0,1	3,2
Oktober	0,2	5,4	5,6

Kampfer hingegen weist für die Monate Mai und Juli für beide Bäume nur geringe Anteile von unter 1 C-mol-% auf. Lediglich bei Baum 2 wird für die Messungen im Oktober 1999 ein vergleichsweise großer Anteil an der Terpen-Gesamt-Emission von 5 C-mol-% gefunden, welcher den Anteil von 1,8-Cineol in diesem Monat weit übersteigt und somit Kampfer im Oktober 1999 zur Hauptkomponente dieser Gruppe macht.

In den Emissionen von 1998 und 1999, besonders bei Baum 2 (Abb. 18), hat die Verbindung β -Cedren zusammen mit Bornylacetat im Frühjahr bis in den Juli hinein noch Anteile an der Terpen-Gesamt-Emission, welche in der Abstufung denen der Hauptkomponenten 1,8-Cineol und Kampfer folgen. Die Emission dieser Verbindung kommt hierbei im Mai 1999 deutlicher zum Tragen als in den Messungen des Vorjahres.

Für die Art *P. nigra* ergeben sich aus den durchgeführten Emissionsmessungen der Monate August bis Oktober des Jahres 1998 einige Unterschiede in der Zusammensetzung der Emissionen (Abb. 19 und 20).

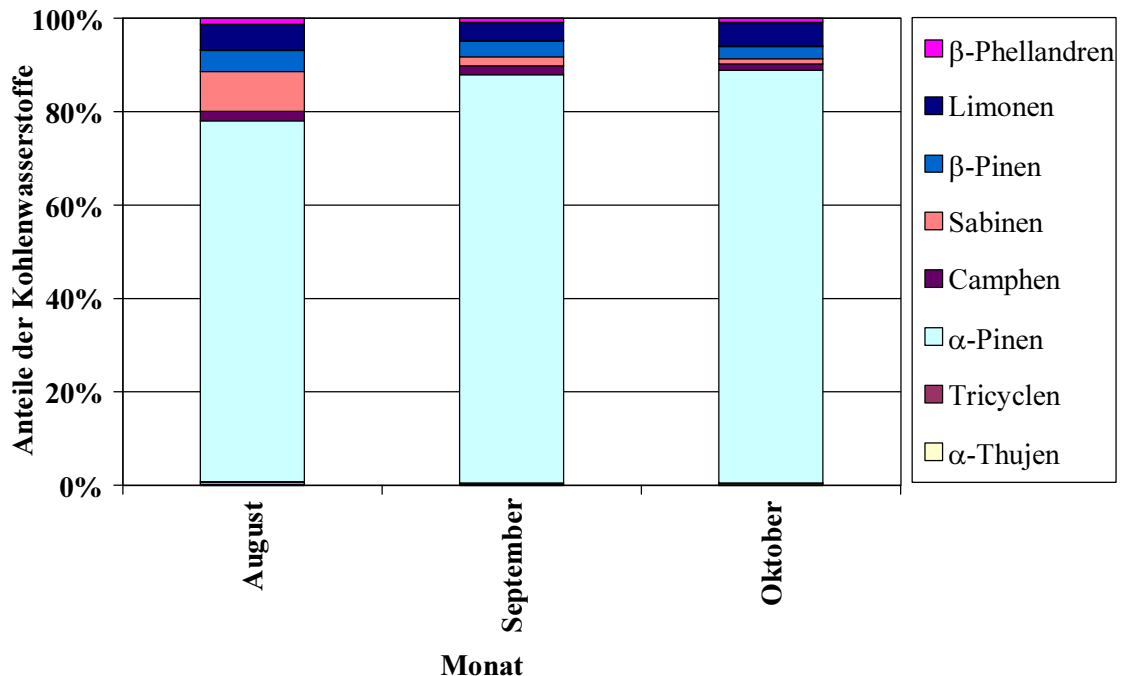


Abb. 19: Zusammensetzung der Terpen-Gesamt-Emission bei *P. nigra*. Monoterpene. Messungen des Jahres 1998. Die Emissionsraten stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar.

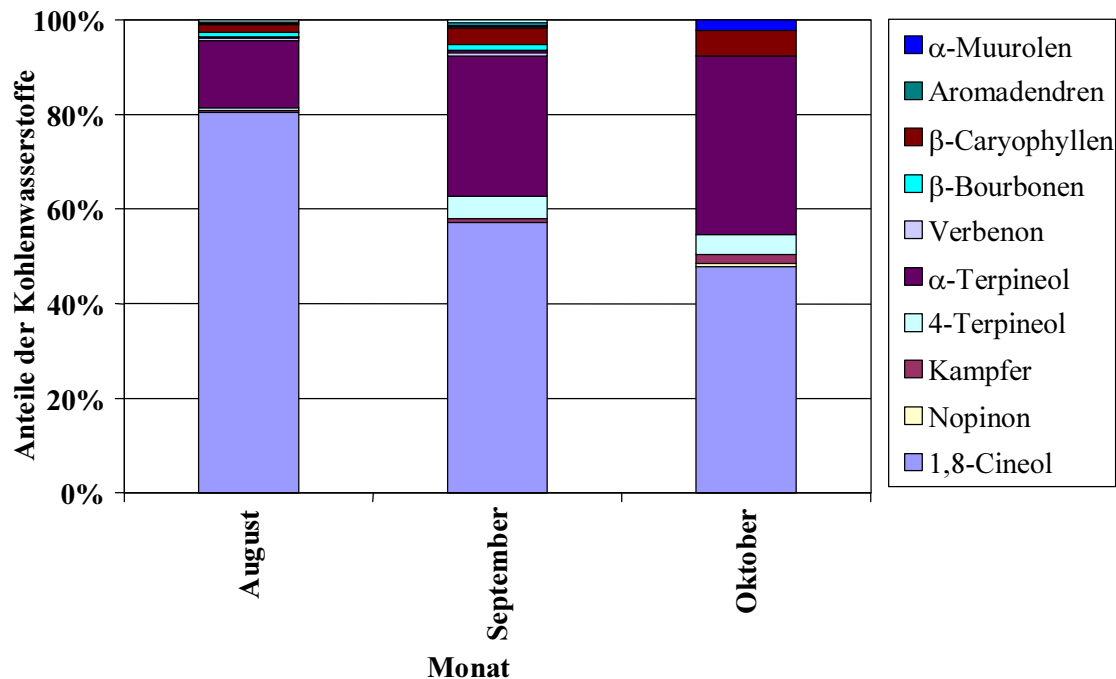


Abb. 20: Zusammensetzung der Terpen-Gesamt-Emission bei *P. nigra*. Sauerstoffhaltige Substanzen und Sesquiterpene. Messungen des Jahres 1998. Die Emissionsraten stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar.

In Übereinstimmung mit *P. sylvestris* ist die Hauptkomponente der Emissionen bei *P. nigra* ebenfalls α -Pinen. Dieses Monoterpen macht einen Anteil von deutlich über 70 C-mol-% an der Terpen-Gesamt-Emission aus. Hingegen fehlt δ -3-Caren in den Emissionen von *P. nigra* ganz. Wie bei der Waldkiefer *P. sylvestris* ist bei den sauerstoffhaltigen Substanzen und Sesquiterpenen 1,8-Cineol die hauptsächlich emittierte Verbindung. Einen großen Beitrag zu den Emissionen dieser Gruppe leistet bei der Schwarzkiefer auch die ebenfalls sauerstoffhaltige Verbindung α -Terpineol.

Die Messungen während der Jahre 1998 und 1999 ergeben einen großen Satz an Emissionsdaten sowohl für Einzelkomponenten als auch für die Summe aller untersuchten Substanzen. Für diese Daten stehen außerdem Temperatur, Lichtintensitäts- und Luftfeuchtedaten zur Verfügung. Die weiter oben dargestellten Ergebnisse haben gezeigt, dass 70-90 C-mol-% der Terpen-Gesamt-Emission von einigen wenigen Substanzen bestimmt werden.

Da die Emissionen von Kohlenwasserstoffen, wie beobachtet, wesentlich von der Temperatur und der Lichtintensität beeinflusst sind, hat sich zur besseren Vergleichbarkeit von Emissionen die Ermittlung von sogenannten Standard-Emissionen

durchgesetzt. Standard-Emissionen stellen Emissionswerte unter definierten Bedingungen bezüglich Temperatur und/oder Lichtintensität dar. Da unter Freiland-Bedingungen der Datensatz von Emissionsdaten für eine bestimmte meteorologische Bedingung (z.B. eine Temperatur von 30°C und/oder eine photosynthetisch aktive Strahlung PAR von 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) üblicherweise klein ist, erfolgt die Bestimmung solcher Standard-Emissionen meist unter Anwendung aller erzielten Messdaten mit dafür entwickelten Algorithmen (vgl. Material und Methoden 2.4). Diese ermöglichen dann über die Bildung relativer Bezüge eine Berechnung von Emissionsraten für die festgesetzten Standard-Bedingungen. Im Folgenden sind Standard-Emissionen als Emissionen bei einer Temperatur von 30°C (entspricht 303K) und einer photosynthetisch aktiven Strahlung PAR von 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ definiert. Die Ermittlung von Standard-Emissionen aus gemessenen Emissionsdaten ist in sofern von großem Vorteil, da sie grundsätzlich den Vergleich des Emissionsverhaltens unterschiedlicher Arten untereinander und ebenso gleicher Arten in verschiedenen Lebensräumen ermöglicht.

Zunächst soll am Beispiel von α -Pinen als einer der Hauptkomponenten der Terpen-Emissionen von *P. sylvestris* das Emissionsverhalten über das Jahr hinweg verdeutlicht werden. Betrachtet man die Abhängigkeit des Logarithmus der Emissionsrate dieses Kohlenwasserstoffs von dem Kehrwert der Temperatur (Arrhenius-Auftragung), so ist fast für alle Monate eine lineare Abhängigkeit erkennbar (Abb. 21-24). Allerdings sind die Bestimmtheitsgrade der Korrelation von Monat zu Monat unterschiedlich hoch.

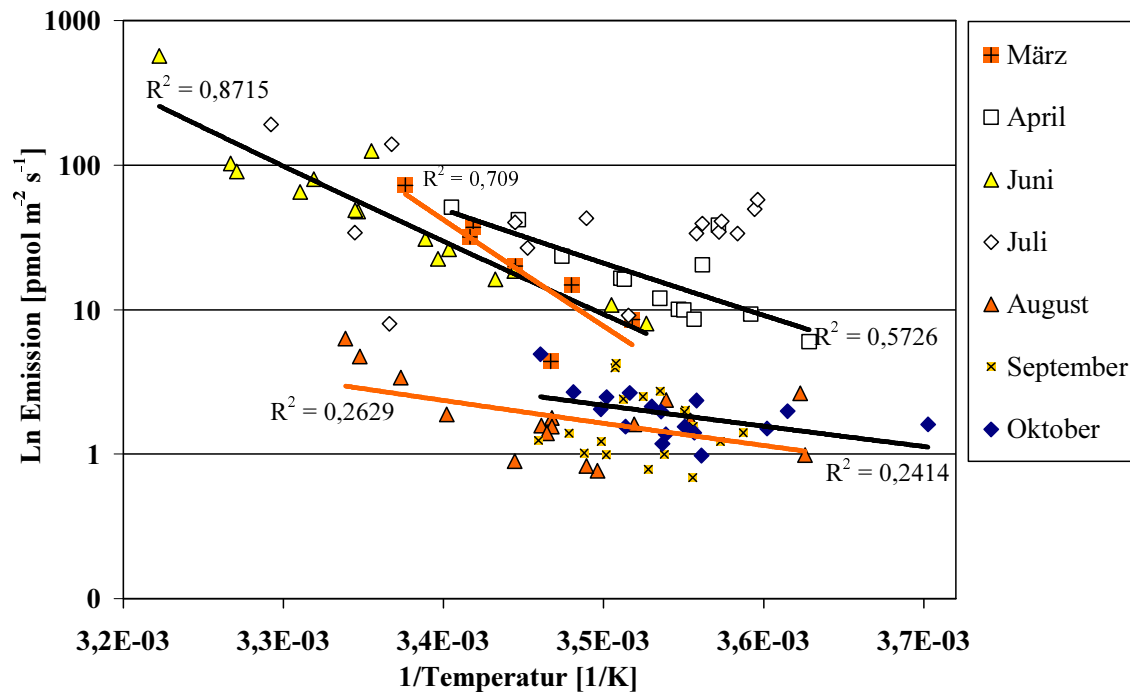


Abb. 21: Logarithmische Darstellung der Emissionsrate von α -Pinen gegen die reziproke Temperatur. Baum 1. Die Emissionen wurden mittels der Kuvettentechnik im Jahr 1998 gemessen. Die Temperatur wurde in der Kuvette bestimmt (komb. Messfühler, Fa. PP-Systems).

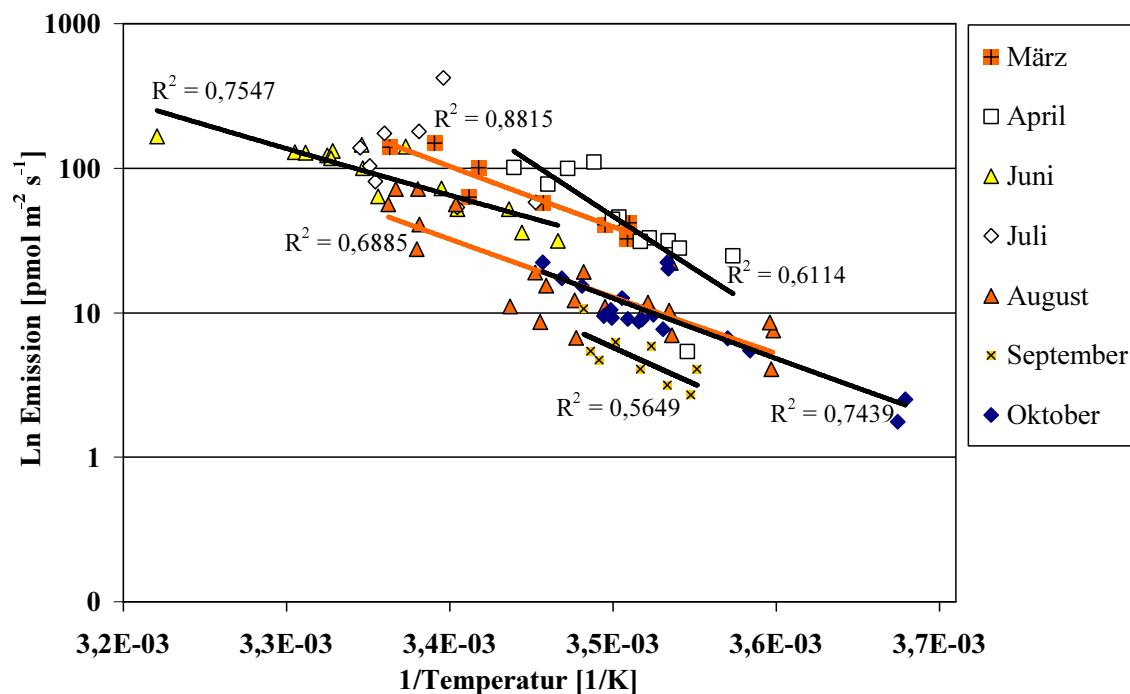


Abb. 22: Logarithmische Darstellung der Emissionsrate von α -Pinen gegen die reziproke Temperatur. Baum 2. Die Emissionen wurden mittels der Kuvettentechnik im Jahr 1998 gemessen. Die Temperatur wurde in der Kuvette bestimmt (komb. Messfühler, Fa. PP-Systems).

Für das Jahr 1998 war eine deutliche Abhängigkeit des Logarithmus der Emission von α -Pinen von der reziproken Temperatur zu erkennen (Abb. 21 und 22). Besonders für den Baum 2 ergaben sich im März und Juni dabei gute Korrelationen zwischen 0,75 und 0,88, wohingegen die Korrelationen für die Monate April und Juli bis Oktober diesen Jahres mit Werten zwischen 0,56 und 0,68 weniger deutlich sind. Die Emissionsraten zeigen für Baum 1 besonders für die Monate März, April und Juni eine bedeutende Abhängigkeit von der Temperatur mit guten Bestimmtheitsgraden. In den Folgemonaten ist eine solche Abhängigkeit nur bedingt erkennbar. Dies entspricht den Ergebnissen der Untersuchungen im Jahr 1999. Die Abhängigkeit der Emission von der Temperatur ist hier ebenfalls nicht so deutlich erkennbar (Abb. 23 und Abb. 24).

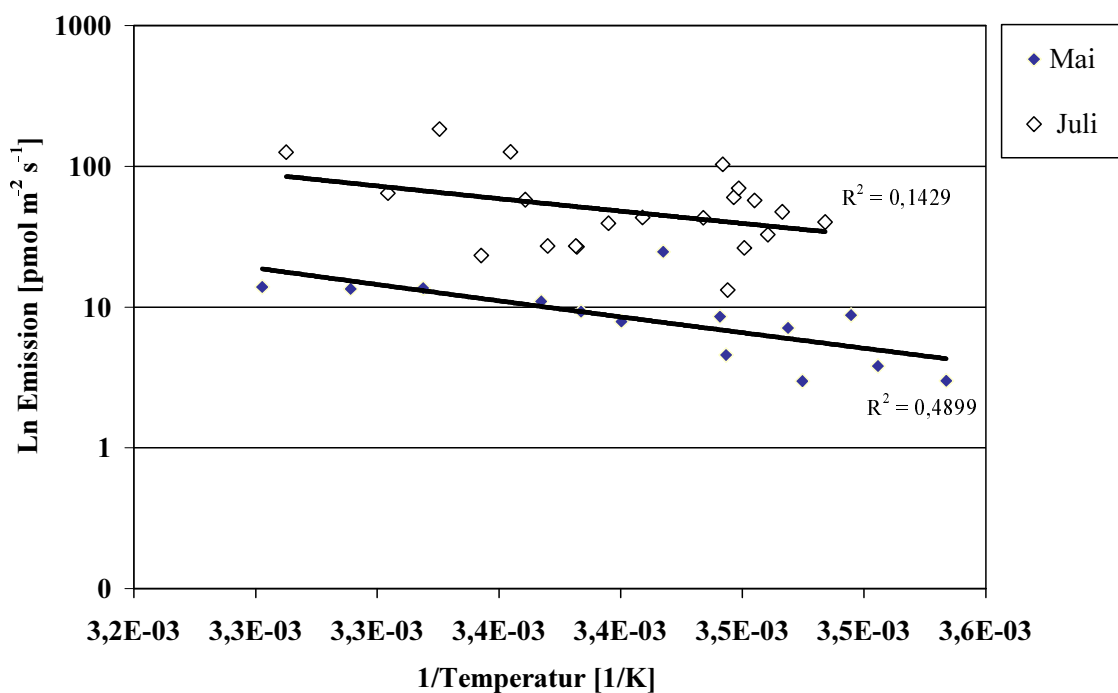


Abb. 23: Logarithmische Darstellung der Emissionsrate von α -Pinen gegen die reziproke Temperatur. Baum 1. Die Emissionen wurden mittels der Küvettentechnik im Jahr 1999 gemessen. Die Temperatur wurde in der Küvette bestimmt (komb. Messfühler, Fa. PP-Systems).

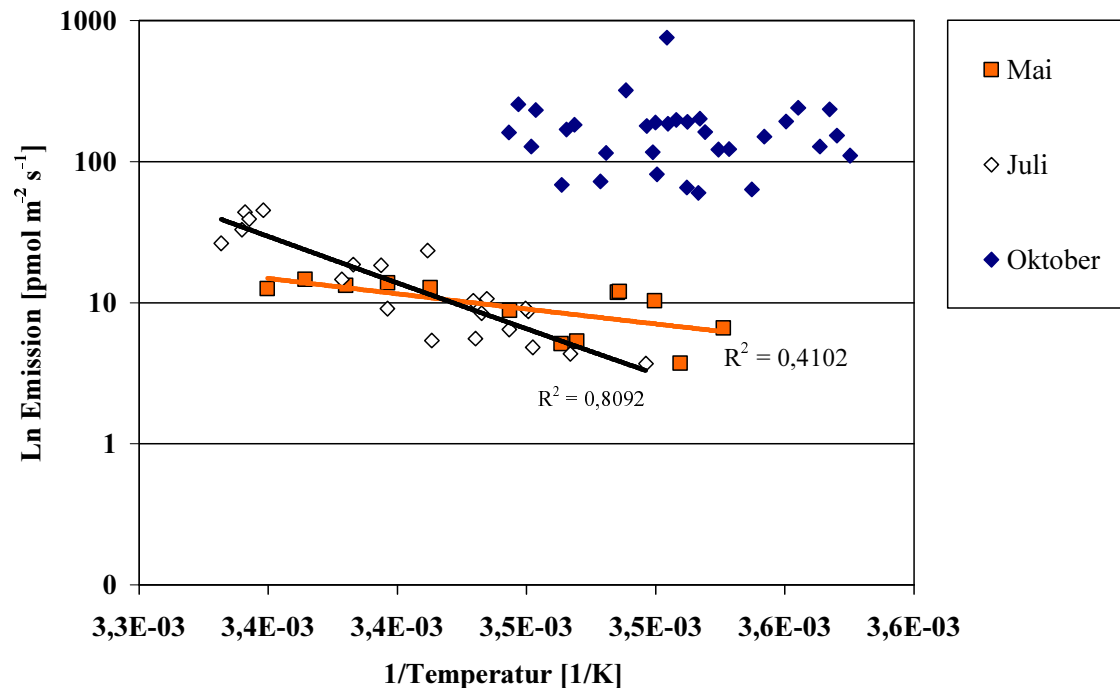


Abb. 24: Logarithmische Darstellung der Emissionsrate von α -Pinen gegen die reziproke Temperatur. Baum 2. Die Emissionen wurden mittels der Kuvettentechnik im Jahr 1999 gemessen. Die Temperatur wurde in der Kuvette bestimmt (komb. Messfühler, Fa. PP-Systems).

Die Betrachtung der Abhängigkeit von Temperatur und Terpen-Emission zeigt, dass die absolute Emission von *P. sylvestris* jahreszeitlichen Änderungen unterliegt (Abb. 21-24). Für die Emission von α -Pinen werden für die verschiedenen Jahreszeiten Unterschiede in der Höhe der Emissionsrate bei gleichen Temperaturverhältnissen deutlich. So sind die Emissionsraten im Jahr 1998 in den Frühjahr- und Sommermonaten bei beiden Bäumen höher als in den Spätsommer- und Herbstmonaten. Hierbei übersteigen die Emissionsraten der Sommermonate interessanterweise die der Frühjahrsmonate. Diese Beobachtung konnte bei den Messungen im Jahr 1999 nicht bestätigt werden. Hier lagen für den Baum 2 die Werte der Emissionsraten für den Herbstmonat Oktober höher als für den Mai.

Die oben gezeigten Ergebnisse weisen auf eine Temperaturabhängigkeit der Emission bei *P. sylvestris* hin. Eine Anwendung von empirischen Algorithmen sollte zeigen, ob eine Modellierung von im Freiland ermittelten Emissionen über Modelle mit grundsätzlich verschiedenen Ansätzen der Erklärung des variierenden Emissionsverhaltens möglich ist und dies zur Charakterisierung der pflanzlichen Quellen der gemessenen Emissionen beitragen kann. Es wurden zwei verschiedene Algorithmen für die Modellierung des Emissionsverhaltens bezüglich Temperatur- und Lichteinflusses auf die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Ergebnisse angewendet.

Zum einen wurden die Daten auf das Modell von Tingey & Manning (1980) angewendet und Standard-Emissionen nach diesem Algorithmus errechnet (vgl. Material und Methoden 2.4, Gleichung 1). Die Modellierung geht von einer Emission der Monoterpene ausschließlich aus Speicherräumen aus, welche nur als eine temperaturgetriebene Verdampfung anzusehen ist, ohne das ein physiologischer Einfluss auf die Emissionsraten wirksam wird. In einem zweiten Ansatz wurden die Daten auf eine erweiterte Form des Emissions-Algorithmus nach Guenther (1997) angewandt, der sowohl eine reine temperaturabhängige Emission aus den Speicherräumen beschreibt als auch eine Neusynthese der emittierten Verbindungen im Blatt berücksichtigt (vgl. Material und Methoden 2.4, Gleichung 2). Ziel war es hier zu ermitteln, inwieweit die gemessenen Emissionen von *P. sylvestris* auch unter Berücksichtigung der physiologisch bedingten Abgaben modelliert werden können. Neben einer Emission aus Speicherräumen (temperaturbestimmt, vgl. Material und Methoden 2.4, Gleichung 3: *pool*-Term) wurde ein die physiologisch bedingte Emission beschreibender Term (temperatur- und lichtbestimmt, vgl. Material und Methoden 2.4, Gleichung 4: *de novo* Biosynthese-Term) im Algorithmus verwendet. Um einen Lichteinfluss auf das Emissionsverhalten von *P. sylvestris* zu untersuchen, wurden dabei einerseits der *pool*-Term mit dem Biosynthese-Term zusammen (Gleichung 2) und andererseits nur der *pool*-Term (Gleichung 3) alleine modelliert.

Für beide Emissions-Algorithmen werden sog. Standard-Emissions-Faktoren definiert, welche multipliziert mit den Termen für Lichteinfluss und Temperatureinfluss die Standard-Emissionen ergeben. Für kurze Zeitabschnitte (Tage) lassen sich Einzelmessungen unter Anpassung der Standard-Emissions-Faktoren mit beiden Algorithmen gut beschreiben (Abb. 25). Diese Anpassung wurde mit einer einfachen Rechenoperation der kleinsten erzielbaren Differenz zwischen gemessenen und modellierten Daten vorgenommen. Der Versuch, die Algorithmen mit den gleichen hier gewählten Parametern auch für Emissionsdaten anderer Monate zu nutzen, ergab keine zufriedenstellenden Ergebnisse.

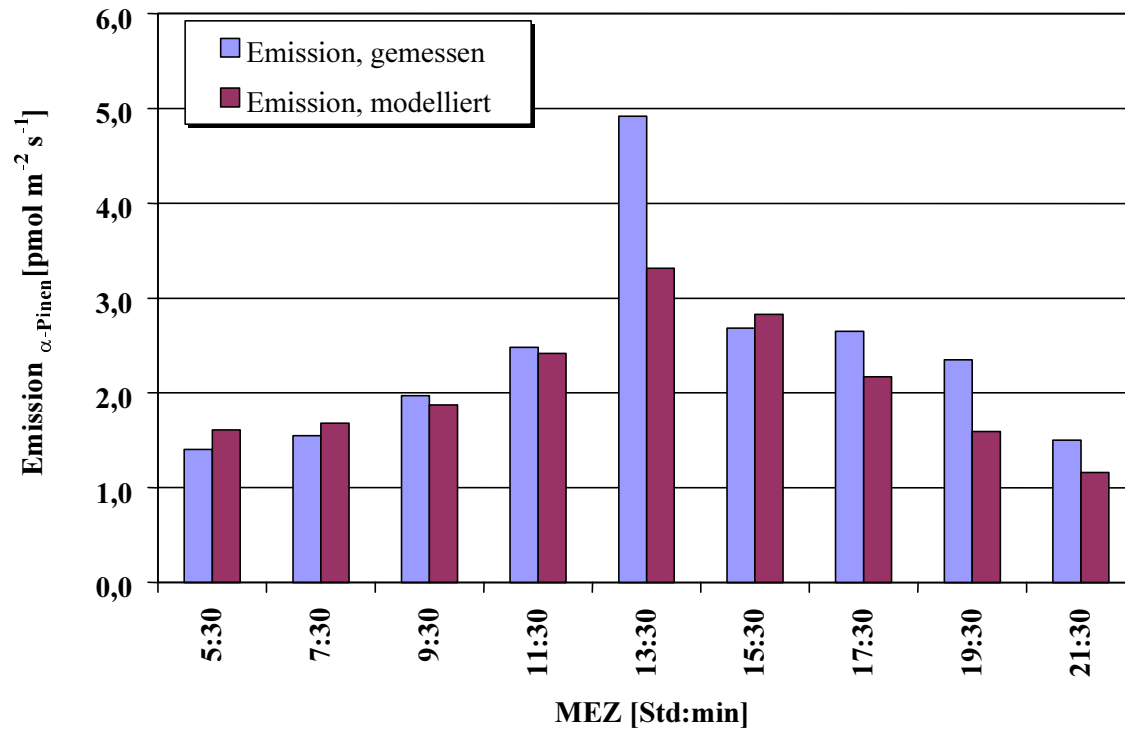


Abb. 25: Änderung der α -Pinen-Emission im tageszeitlichen Verlauf. helle Säulen: gemessene Emission; dunkle Säulen: modellierte Emission nach dem Algorithmus von Tingey & Manning (1980). Die Messungen erfolgten an *P. sylvestris* am 21.10.1998 am Baum 2 mittels der Küvettentechnik.

Da Pflanzen in ihrer Entwicklung Änderungen in ihrem Stoffwechsel unterliegen, ist ein unterschiedliches Emissionsverhalten für verschiedene Jahreszeiten bezüglich der Terpene nicht unerwartet. Vielmehr müssen entwicklungsphysiologische Aspekte, welche die spezifische Stoffwechselfähigkeit der emittierenden Pflanze bestimmen und somit zu Änderungen in der Emission führen können, in einem Algorithmus berücksichtigt werden. Diese jahreszeitlichen Änderungen, welche in der Änderung der Standard-Emissions-Faktoren für verschiedene Jahreszeiten resultiert, sind in den heute zur Verfügung stehenden Modellen weitestgehend nicht integriert.

Um eine gute Modellierung der erzielten Emissionsdaten zu ermöglichen, wurden Standard-Emissions-Faktoren für jeden Monat, für den Emissionsdaten vorliegen, über die obengenannte Rechenoperation der kleinsten Differenz Messung zu Modellierung bestimmt. Dies erfolgte für alle drei oben beschriebenen Modellierungsansätze nach Tingey & Manning (1980) und Guenther (1997) exemplarisch für α -Pinen (Abb. 26).

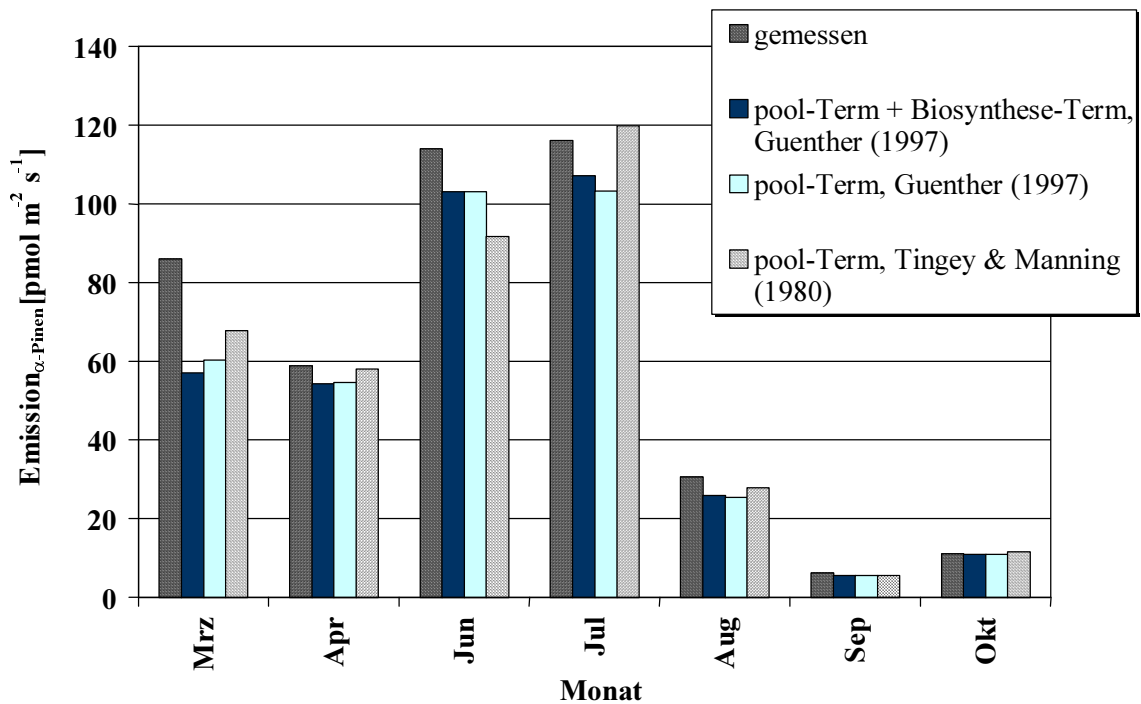


Abb. 26: Modellierung der gemessenen Emissionen von α -Pinen von *P. sylvestris* mit verschiedenen Algorithmen. Die Emissionsraten stellen Mittelwerte aus jeweils mittleren α -Pinen-Tagesemissionen (8.00-18.00h) zweier aufeinander folgender Messtage dar. Die Ergebnisse der Modellierung gehen aus der Anpassung der Standard-Emissions-Faktoren des jeweiligen Monats des Jahres 1998 hervor. Exemplarisch gezeigt ist die gemessene Emission und die Modellierung der Emission bei Baum 2.

Es wird deutlich, dass bei entsprechender Anpassung der Standard-Emissions-Faktoren für alle angewandten Algorithmen eine gute Abbildung der gemessenen Daten erzielt werden kann. Aus den angepassten Algorithmen wurden für α -Pinen unter Anwendung des Modellierungsansatzes Temperatur-Term mit Licht/Temperatur-Term (Emission aus *pool* + *de novo*-Biosynthese) nach Guenther (1997) die Standard-Emissionen für alle Monate, in denen Messungen erfolgten, für die Hauptkomponenten der Terpen-Emission ermittelt (Tab. 8).

Tab. 8: Standard-Emissionen für die Hauptkomponenten der Kohlenwasserstoff-Emissionen von *P. sylvestris*. Ermittelt für eine Temperatur von 30 °C und eine Lichtintensität von 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nach dem Modellierungsansatz „Emission aus *pool + de novo*-Biosynthese“ nach Guenther (1997). Abkürzung: n.b. = nicht bestimmt.

Jahr/Monat	Standard-Emissionen [$\text{pmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]					
	α -Pinen		β -Pinen		δ -3-Caren	
	Baum 1	Baum 2	Baum 1	Baum 2	Baum 1	Baum 2
1998						
März	97,89	350,73	3,06	450,60	220,23	n.b.
April	106,06	375,27	16,32	309,94	278,34	n.b.
Juni	154,95	114,21	32,62	59,14	415,99	n.b.
Juli	93,81	709,52	14,28	562,71	80,56	n.b.
August	5,10	164,15	14,27	76,47	10,20	n.b.
September	10,20	109,09	2,04	31,60	15,30	n.b.
Oktober	14,28	89,74	1,02	130,53	43,84	n.b.
1999						
Mai	15,30	33,65	5,10	22,43	35,69	n.b.
Juli	122,36	82,59	6,12	22,43	424,16	n.b.
Oktober	n.b.	1288,75	n.b.	399,75	n.b.	n.b.

Die Standard-Emissionen aller drei Hauptkomponenten der Terpen-Emission bei *P. sylvestris* zeigen für das Jahr 1998 deutliche Unterschiede im jahreszeitlichen Verlauf. Hierbei fällt auf, dass die Werte im Frühjahr bedeutend höher als im Spätsommer/Herbst sind. Es ist zudem ein individuelles Emissionsverhalten für die untersuchten Bäume zu erkennen. So zeigt Baum 1 für alle drei Hauptkomponenten maximale Standard-Emissionen im Monat Juni, wohingegen bei Baum 2 die höchsten Standard-Emissionen im Juli ermittelt wurden.

Die vorliegenden Ergebnisse zum Emissionsverhalten der Waldkiefer *Pinus sylvestris* L. zeigen, dass die Terpen-Gesamt-Emission von wenigen Kohlenwasserstoffen dominiert wird. Diese weisen in ihrem Emissionsverhalten eine deutliche Temperaturabhängigkeit auf. Darüber hinaus unterliegen die Emissionen auch saisonalen Einflüssen, was an der Änderung der Standard-Emissionen für verschiedene Jahreszeiten abzulesen ist.

3.2 Zeitliches Verhalten der Biosynthese und der Emission von flüchtigen Kohlenwasserstoffen bei *Ginkgo biloba* L.

Die biogene Emission flüchtiger organischer Substanzen ist abhängig von der Synthesetätigkeit des Pflanzenorgans, in dem diese Substanzen gebildet werden, und ist damit auch vom physiologischen Zustand der emittierenden Pflanze bestimmt. Bei einem Vorhandensein von Harzkanälen setzt sich die Gesamt-Emission aus Komponenten, hervorgehend aus der *de novo*-Biosynthese im Mesophyll des Blattes, und der Emission aus den im Harz der Harzkanäle gespeicherten flüchtigen organischen Verbindungen zusammen.

Da *Ginkgo biloba* zu den harzkanalfreien *Gymnospermen* gehört, bietet sich diese Pflanze für eine Untersuchung der Neu-Synthese der flüchtigen organischen Verbindungen im Mesophyll der Blätter an. Wie aus neueren Untersuchungen hervorging, existieren zwei Synthesewege für Isoprenoide (Lichtenthaler, 1999). Einer der beiden Wege ist im Cytoplasma lokalisiert und ist nach seinem charakteristischen Intermediat als Mevalonat-Weg bezeichnet. Der andere Syntheseweg ist in den Plastiden lokalisiert und wird ebenfalls entsprechend seinem charakteristischen Intermediat als *Methyl-Erythritol-Phosphat* (MEP)-Weg bezeichnet. Zur Klärung, welcher der beiden Synthesewege für die Bildung der freigesetzten Terpene verantwortlich ist, wurden Hemmstoff-Versuche unter Einsatz von Fosmidomycin durchgeführt. Fosmidomycin hemmt spezifisch das für die Bildung von MEP verantwortliche Enzym, die *Desoxyxylulosephosphat-Reductoisomerase*.

Die Untersuchungen erfolgten mittels der Küvetten-Technik an Zweigen eines etwa 7-jährigen, getopften Ginkgo-Baumes. Die Versuche wurden im Monat Mai auf der Bergstation des IFU, Garmisch-Partenkirchen in einer Klimakammer durchgeführt.

Neben diesen Arbeiten wurde die Abhängigkeit der Terpen-Emission von der Assimilationstätigkeit der Photosynthese untersucht. Diese Studie erfolgte im Monat September im ISAS, Dortmund. Hierzu wurden Expositionsversuche mit $^{13}\text{CO}_2$ an geschnittenen Zweigen eines ca. 35 Jahre alten Baumes des dem Institut benachbarten Botanischen Gartens durchgeführt. Ziel der Studie war es, die Emission aus der Neu-Synthese im Mesophyll des Blattes im Minutenbereich zeitlich aufzulösen. Über die $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition sollten zudem die Anteile der Emission aus der Synthese im Cytoplasma und in den Chloroplasten an der Gesamt-Emission ermittelt werden.

3.2.1 Zusammensetzung der Kohlenwasserstoff-Emission von *Ginkgo biloba* L.

Zunächst sollte das Emissionsspektrum von unbehandelten Blättern von *Ginkgo biloba* auf das Vorhandensein von Mono- und Sesquiterpenen untersucht werden. Hierzu wurde eine kombinierte gaschromatographische und massenspektrometrische Analyse der auf Adsorptionsröhrchen gesammelten flüchtigen Kohlenwasserstoffe bei zwei Individuen durchgeführt.

Die für die verschiedenen Jahreszeiten ermittelten Emissionen der beiden untersuchten Pflanzen (Zweige eines getopften ca. 7 Jahre und eines ca. 35 Jahre alten Baumes) zeigen deutliche Unterschiede in der Zusammensetzung in der Gruppe der Mono- und Sesquiterpene (Tab. 9).

Tab. 9: Emissionsraten der untersuchten Mono- und Sesquiterpene. Exemplarische Darstellung des typischen Emissionsmusters jeweils eines von drei untersuchten Zweigen von *G. biloba*. Die Emissionsraten wurden mit Hilfe der GC/MS-Analyse von Proben der Kohlenwasserstoff-Emissionen aus der Zweig-Küvette bestimmt. Volumenstrom der Probenahme für a): 590 ml min⁻¹ f. 30 Minuten; für b): 213 ml min⁻¹ f. 15 min. Verwendete Thermodesorption/GC/MS-Analytik: für a): GC Auto System XL + Turbo Mass, GC/MS-System, Perkin-Elmer; für b): DANI 6500 GC, Dani GmbH; ITD 700, Finnigan-MAT.

Verbindung	Emissionsrate [pmol m ⁻² s ⁻¹]	
	<i>G. biloba</i> , 7-jährig Frühjahr ^{a)}	<i>G. biloba</i> , 35-jährig Herbst ^{b)}
α-Pinen	-	0,08
Camphen	-	-
Sabinen	-	-
β-Pinen	-	1,82
Myrcen	4,25	-
δ-3-Caren	-	0,01
Limonen	4,57	0,16
β-Farnesen	-	0,26
<i>cis</i> -α-Bergamoten	-	0,81
β-Cadren	-	0,25
α-Farnesen	-	0,06
Acoradien	-	0,25
β-Bisabolen	-	0,23
<i>Trans</i> -α-Bisabolen	-	1,19

Für den 7-jährigen Baum werden nur Emissionen von Myrcen und Limonen gefunden, deren Emissionsraten aber im Vergleich zu den Emissionen des anderen untersuchten *G. biloba* grundsätzlich deutlich höher sind. Besonders Sesquiterpen-Emissionen werden beim 7-jährigen Baum bei den Messungen im Frühjahr überhaupt nicht gefunden, wohingegen sie bei den Untersuchungen am anderen Baum teilweise in der Größenordnung der Monoterpen-Emissionen auftreten. Hauptkomponenten der Emissionen des 35-jährigen Baumes, welche im Herbst ermittelt wurden, sind das Monoterpen β -Pinen und die Sesquiterpene *cis*- α -Bergamoten und *trans*- α -Bisabolen.

3.2.2 Das Emissionsverhalten von *Ginkgo biloba* L. nach Dunkelinkubation

Zur Klärung der Frage, welcher Anteil der Emission auf eine photosyntheseabhängige Bildung der Terpene (MEP-Synthese-Weg) im Chloroplasten zurückzuführen ist und welcher Anteil über die vom Kohlenhydrat-Abbau abhängige Bildung der Terpene im Cytoplasma (Mevalonat-Synthese-Weg) erfolgt, wurden Versuche mit einer Dunkelinkubation von *G. biloba* durchgeführt. Hierzu wurde ein Zweig des 35-jährigen Ginkgo-Baumes direkt nach dem Schneiden vom Baum in ein Reagenzglas mit Ingestad-Nährlösung überführt und nach dem Einsetzen in die 4,5 l-Küvette für 17 Stunden in Dunkelheit gehalten. Direkt vor der erneuten Belichtung wurden zwei Proben der Kohlenwasserstoff-Emissionen aus der Küvette entnommen. Nach dem Einschalten der Beleuchtung erfolgte die Probenahme kontinuierlich für eine Stunde bei Probenahmezeiten von 15 Minuten. Danach wurden Proben von 15 Minuten einmal pro Stunde der Küvette entnommen. Diese Probenahmen erfolgten für weitere 6 Stunden.

Die Zusammensetzung der Emissionen wurde bei *G. biloba* in diesem Versuch deutlich von der Gruppe der Sesquiterpene bestimmt. Bedeutende Emissionen an Monoterpenen wurden hingegen nur für α -Pinen und Limonen gefunden. Nach dem Beginn der Belichtung wurde eine deutliche Änderungen im Emissionsverhalten für die Kohlenwasserstoffe bei *G. biloba* beobachtet. Es wurden Änderungen in den Emissionsraten, nicht aber in der Zusammensetzung der Emissionen gefunden (Abb. 27). Für die Monoterpene α -Pinen und Limonen ergab die Aufhebung der Dunkelinkubation eine nur geringe Induktion der Emission. Die Emissionsraten der Sesquiterpene hingegen stiegen nach einer Verzögerung von etwa zwei Stunden deutlich an.

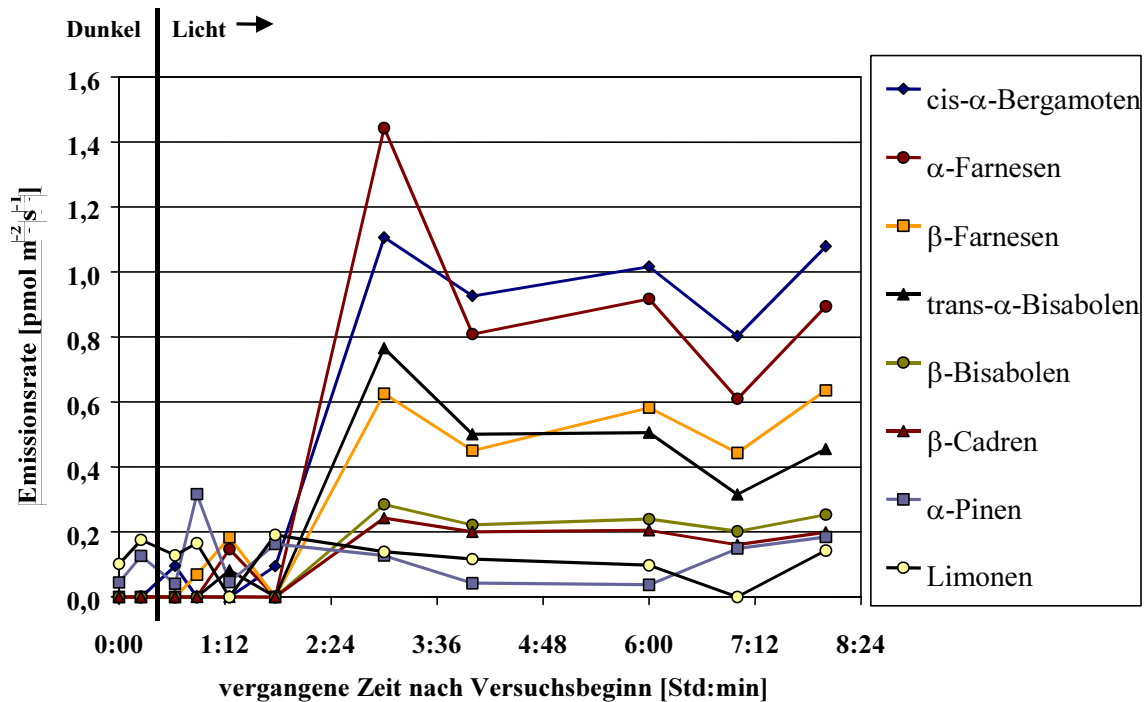


Abb. 27: Kohlenwasserstoff-Emissionsraten vor und während der Belichtung eines *G. biloba*-Zweigs. Dunkelinkubation des Zweigs für 17 Stunden in der Zweig-Küvette. Der Zweig wurde direkt vor der Dunkelinkubation geschnitten und in 50 ml Ingestad-Nährlösung überführt. Die Bestimmung der Emissionsraten erfolgte mit Hilfe der GC/MS-Analyse von Proben der Kohlenwasserstoff-Emissionen aus der Küvette. Der Volumenstrom der Probenahme betrug jeweils 213 ml min^{-1} f. 15 min. Verwendete GC/MS-Analytik: DANI 6500 GC, Dani GmbH; ITD 700, Finnigan-MAT.

Die stärkste Induktion der Emission nach dem Beginn der Belichtung zeigt das Sesquiterpen α -Farnesen, gefolgt von *cis*- α -Bergamoten, *trans*- α -Bisabolen, β -Farnesen, β -Bisabolen und β -Cadren. Die Emissionsraten gehen nach dem ersten sehr sprunghaften Anstieg wieder etwas zurück, bleiben aber in ihren Werten deutlich über den Raten im Dunkeln.

Der Einfluss der Temperatur auf das Emissionsverhalten von *G. biloba* konnte in diesem Versuch weitestgehend unterdrückt werden. Durch Dämpfung der Wärmestrahlung mittels eines Wasserbades vor der Strahlungsquelle wurde gewährleistet, dass sich die Temperatur in der Zweig-Küvette während des gesamten Versuchs nur von $25 \text{ }^\circ\text{C}$ auf $29 \text{ }^\circ\text{C}$ erhöhte (Abb. 28).

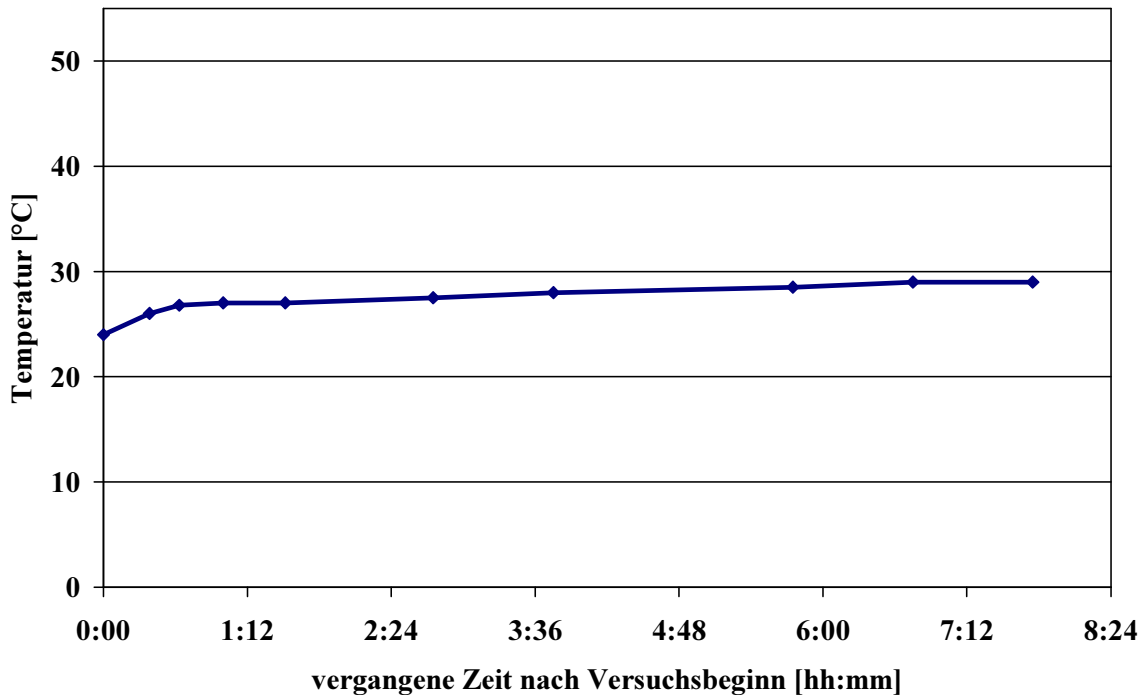


Abb. 28: Zeitlicher Verlauf des Temperaturanstiegs in der Zweig-Küvette nach Anschalten der Strahlungsquelle. Es wurde ein Halogen-Strahler (Leistung: 300 Watt) verwendet. Die Wärmestrahlung wurde durch ein Wasserbad zwischen Strahlungsquelle und Zweig-Küvette gedämpft.

Dabei erfolgte der stärkste Anstieg der Temperatur pro Zeiteinheit (von 25 °C auf 27 °C) innerhalb der ersten 60 Minuten, noch deutlich vor dem sprunghaften Anstieg der Emissionsraten der untersuchten Kohlenwasserstoffe.

3.2.3 Untersuchungen zum Beitrag von Mono- und Sesquiterpen-Emissionen aus dem cytoplasmatischen und dem plastidären Biosynthese-Weg bei *Ginkgo biloba* L.

Für Vertreter der *Angiospermen* wird die Biosynthese der Sesquiterpene im Cytoplasma (Adam & Zapp, 1998) und die der Monoterpene in Plastiden (Lichtenthaler et al., 1997b) lokalisiert. Die Ergebnisse zeigen, dass die Emissionen von *G. biloba*, insbesondere die Emissionen der Sesquiterpene, lichtinduziert sind. Somit ist davon auszugehen, dass bei diesem Vertreter der *Gymnospermen* ein Zusammenhang dieser Emissionen mit der Photosynthese-Leistung im Chloroplasten der Pflanze besteht. Dieser Zusammenhang sollte an Zweigen von *G. biloba* zum einen mit Hilfe einer $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition und zum anderen mit der Inkubation der Zweige mit einem Hemmstoff eines der beiden möglichen Biosynthese-Wege der Terpene aufgeklärt werden.

3.2.3.1 Untersuchung der Isoprenoid-Biosynthese mittels einer Exposition geschnittener Zweige von *Ginkgo biloba* L. mit ^{13}C -markiertem Kohlendioxid

Um Aussagen zu der Abgabe der ermittelten Terpen-Emissionen aus verschiedenen Quellen in der Pflanze machen zu können, wurden Expositionsversuche mit ^{13}C -markiertem CO_2 an *G. biloba* durchgeführt. Ziel der Studie war es, die photosynthetische Assimilation und den Einbau von Kohlendioxid in die nachfolgend emittierten Kohlenwasserstoffe mittels der GC/MS-Methode zu verfolgen. Ein geschnittener, in 50 ml Ingestad-Nährlösung überführter Zweig des 35-jährigen *G. biloba* wurde zunächst in die 4,5 l-Zweig-Küvette eingesetzt, in welche $^{12}\text{CO}_2$ in synthetischer Luft eingeleitet wurde. Nach vier Probenahmen von jeweils 15 min (Volumenstrom der Probenahme: $213 \pm 4 \text{ ml min}^{-1}$) erfolgte die Umschaltung der Gaszufuhr von $^{12}\text{CO}_2$ auf $^{13}\text{CO}_2$. Direkt aufeinanderfolgende Probenahmen von jeweils 10 min erfolgten für die nächsten 50 Minuten. Darauf wurden halbstündlich weitere fünf Proben von jeweils 15 min Probenahmezeit der Zweig-Küvette entnommen.

Anhand des Volumenstromes der Gaszufuhr in die Küvette wurde die Zeit, die für den Austausch des zugeführten $^{12}\text{CO}_2$ zu $^{13}\text{CO}_2$ in der Küvette benötigt wird, errechnet. Der gesamte Austausch erfolgt hiernach bei einem Volumenstrom von 2 l min^{-1} in weniger als 6 Minuten (Abb. 29).

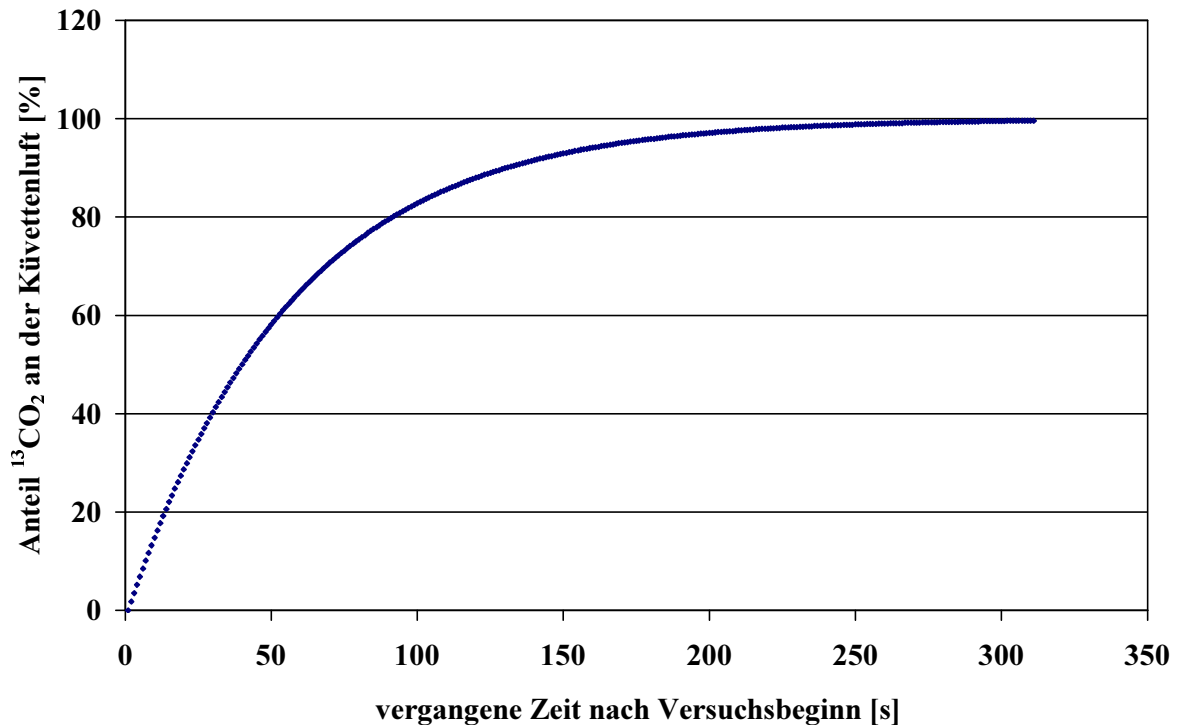


Abb. 29: Zunahme des Anteils von ¹³CO₂ an der Kuvettenluft. Das Volumen der Zweig-Kuvette betrug 4,5 l. Es wurde ein Volumenstrom von 2 l min⁻¹ eingeleitet. Der Wechsel von ¹²CO₂ zu ¹³CO₂ erfolgte durch die Schaltung eines 3-Wege-Ventils. Die Austauschrate ¹²CO₂ zu ¹³CO₂ wurde mittels des Volumenstromes der Gaszufuhr in die Kuvette errechnet (vgl. Material und Methoden 2.5).

Die massenspektrometrische Untersuchung der Emissionsproben von *G. biloba* ergab deutliche Unterschiede im Auftreten von ¹³C-Isotopen in den emittierten Mono- und Sesquiterpenen. Während der gesamten Zeit der Exposition mit ¹³CO₂ blieben die *Masse-zu-Ladung* (m/z)-Verhältnisse der Massenspektren der untersuchten Monoterpene α -Pinen, β -Pinen, δ -3-Caren und Limonen unverändert. Eine Verschiebung des m/z-Verhältnisses zu höheren Massen, welche den Einbau von ¹³C-Isotopen in die Kohlenwasserstoff-Moleküle widerspiegeln würde, konnte in den Spektren dieser Monoterpene nicht gefunden werden.

Die Massenspektren der in den Emissionen gefundenen Sesquiterpene *cis*- α -Bergamoten, Acoradien, β -Farnesen und *trans*- α -Bisabolen hingegen wiesen deutliche Veränderungen auf. Mit zunehmender Konzentration des ¹³CO₂ in der Kuvettenluft, nach Umschalten der Gaszufuhr von ¹²CO₂ auf ¹³CO₂, zeigten sich bei diesen Kohlenwasserstoffen Verschiebungen der m/z-Verhältnisse zu höheren Massen hin. Am Beispiel der Massenspektren des stark emittierten Sesquiterpenes *trans*- α -Bisabolen vor und nach der ¹³CO₂-Exposition des Zweigs von *G. biloba* wird der Einbau von ¹³C-Isotopen in das Isoprenoid-Molekülgerüst sehr deutlich (Abb. 30).

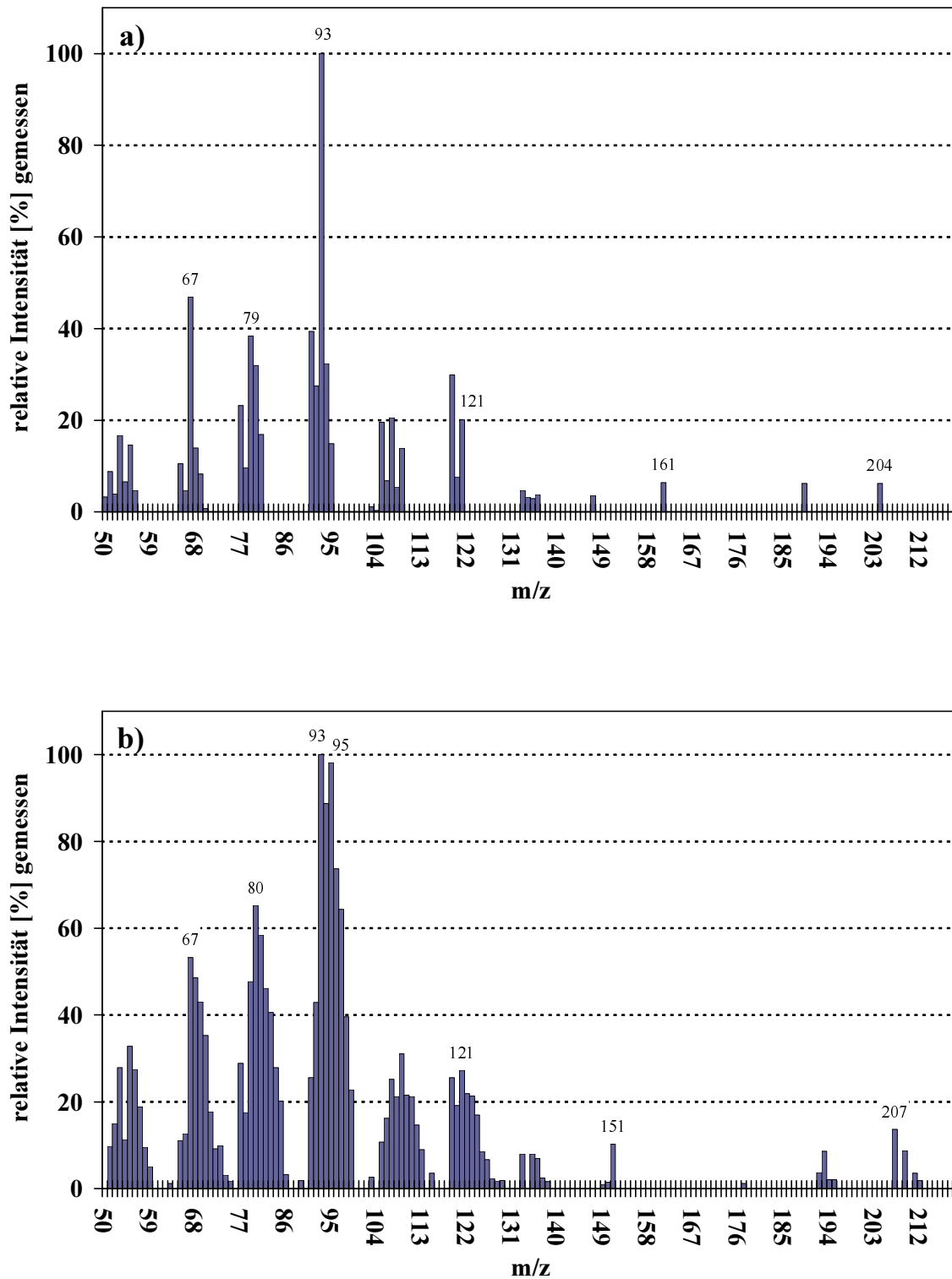
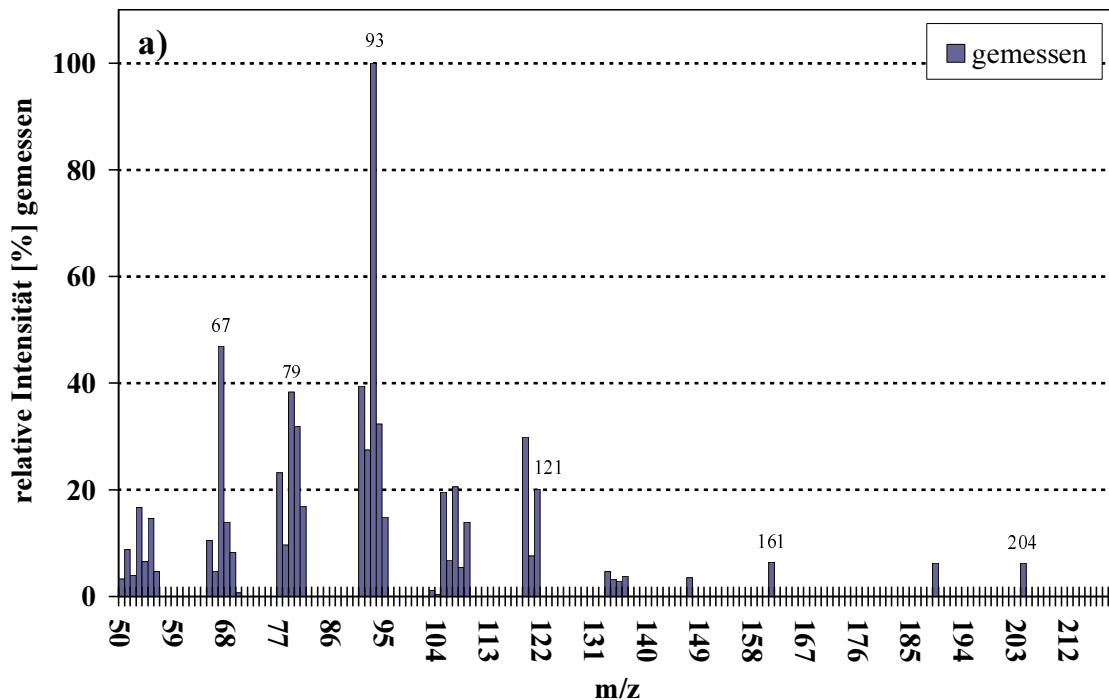
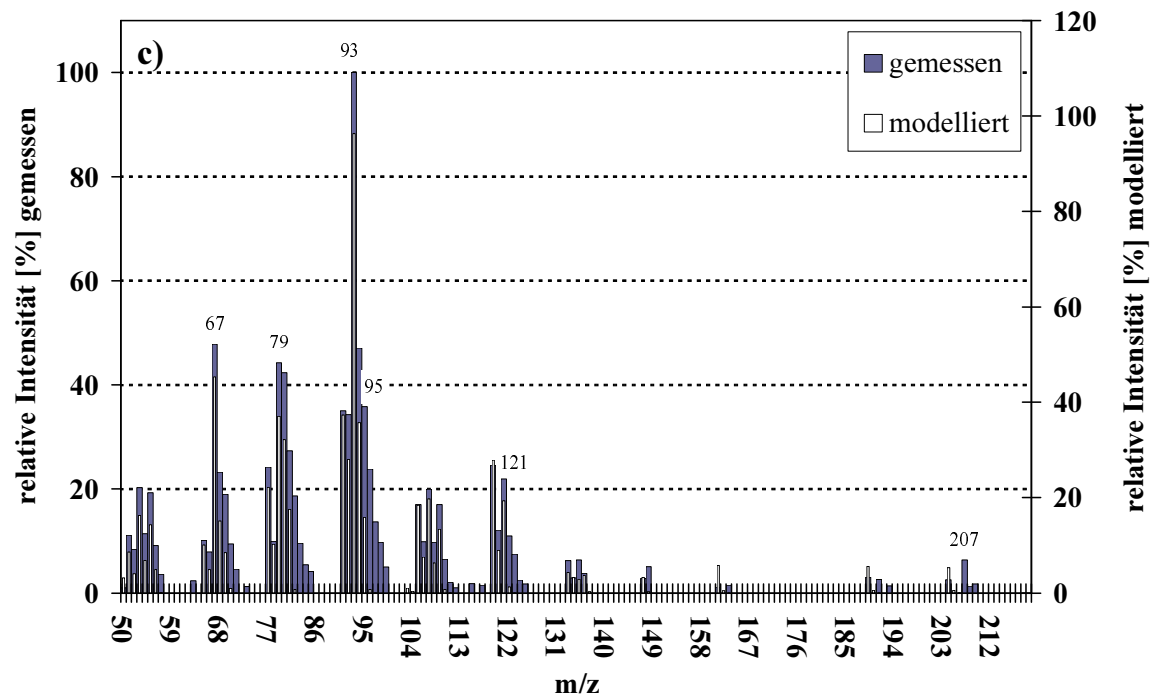
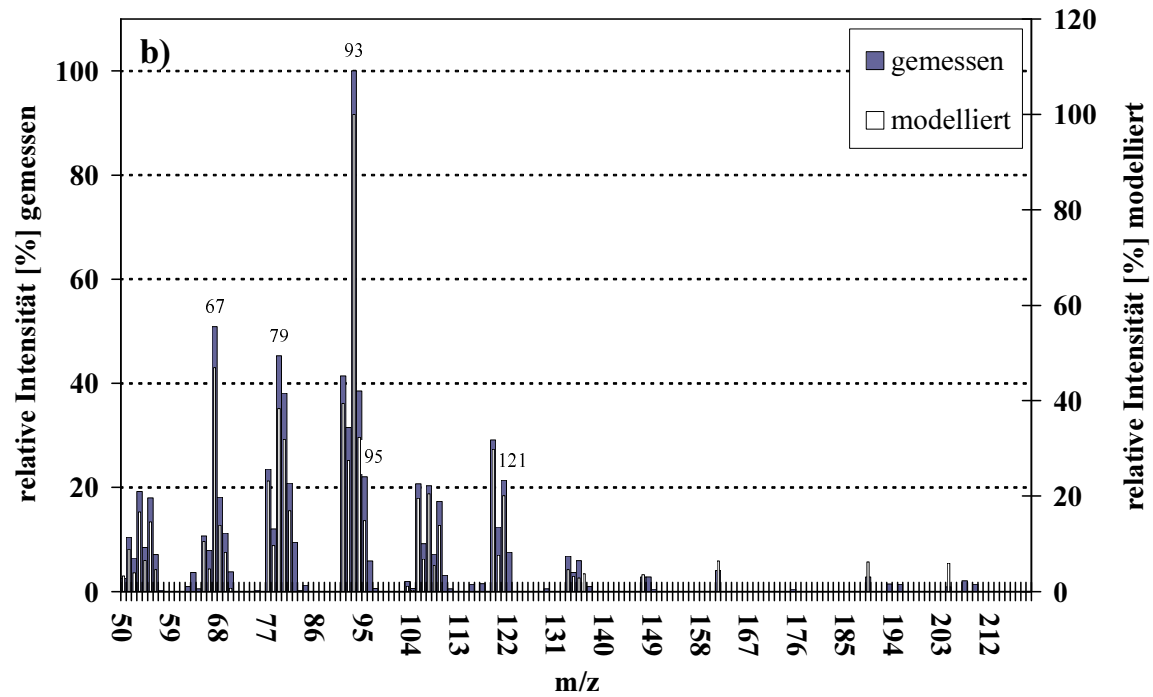


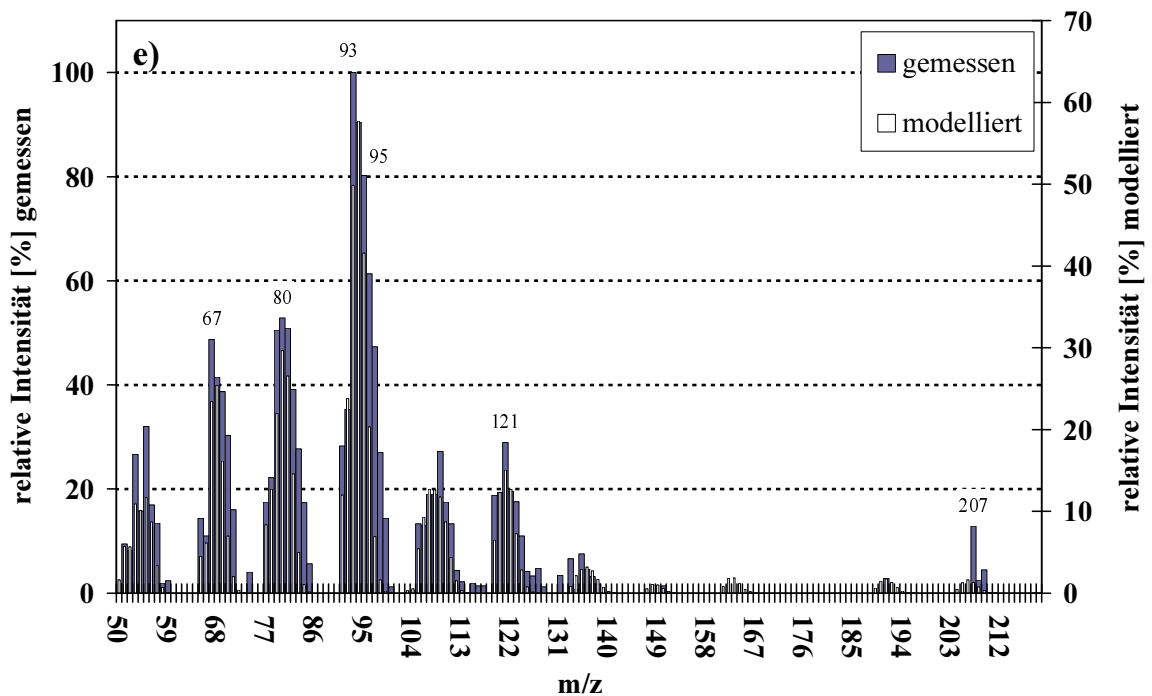
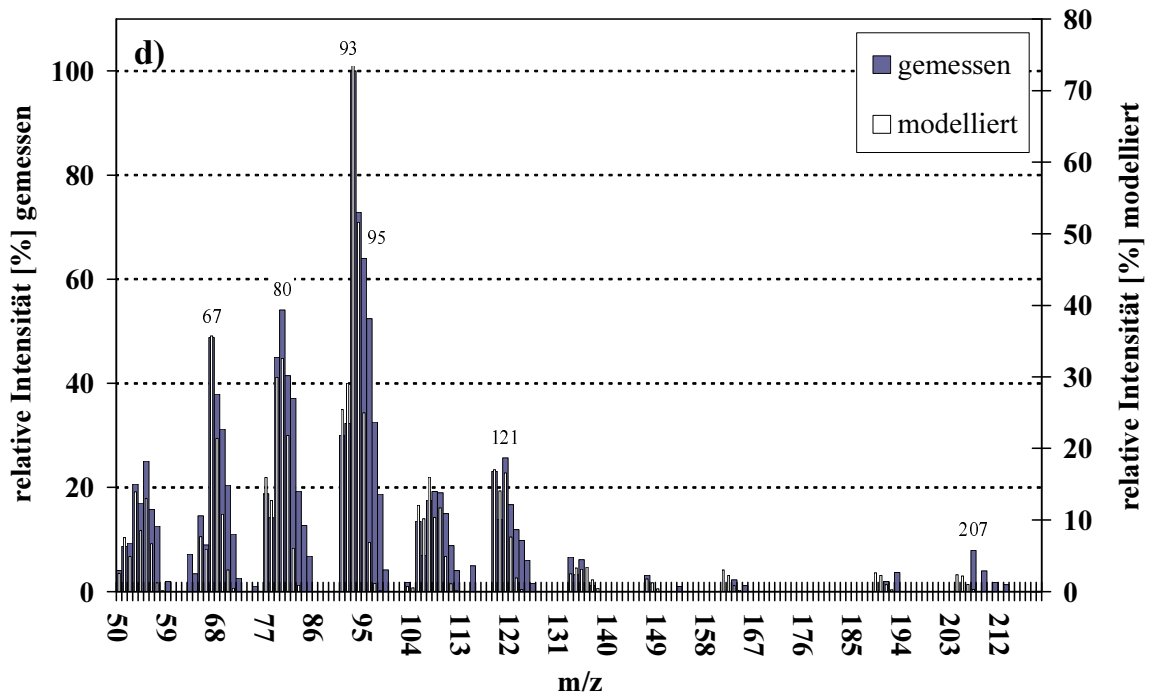
Abb. 30: Massenspektrum von emittiertem *trans*- α -Bisabolen. a) Spektrum der Verbindung unter $^{12}\text{CO}_2$ -Atmosphäre ($t_0 = 0$ min), b) Spektrum der Verbindung unter $^{13}\text{CO}_2$ -Atmosphäre ($t_1 = 50$ min). Die Verhältnisse in der Küvette waren: Volumenstrom der Gaszufuhr: 2 l min^{-1} , Temperatur: $29 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, PAR: $750 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, Kohlendioxid-Gehalt: $400 \pm 20 \text{ ppm (v/v)}$. Es wurde folgende GC/MS-Analytik verwendet: DANI 6500 GC, Dani GmbH; ITD 700, Finnigan-MAT.

Auf der Grundlage der Massenspektren unmarkierter Kohlenwasserstoffe wurde die Verschiebung des m/z -Verhältnisses nach ^{13}C -Exposition mit einer entsprechenden Modellrechnung simuliert (vgl. Material und Methoden 2.5). Dabei stellt das Modell den zeitlichen Verlauf des Austauschs von für die Assimilation zur Verfügung stehendem ^{12}C zu ^{13}C und deren Einbau in die Kohlenwasserstoff-Moleküle in Massenspektren dar. Für das im Ansatz des *kontinuierlich gerührten Kessel-Reaktors* nach Baerns et al. (1992) definierten Volumen des Reaktionskessels steht im Modell eine Anzahl von kleinen Kesseln, welche in Anlehnung an die Biosynthese metabolische Teilschritte widerspiegeln. Über den Vergleich von gemessenen und modellierten Spektren wurde die Geschwindigkeit der m/z -Verschiebung im Modell über die Änderung der Anzahl der kleinen Kessel angeglichen. Dies spiegelt die Umsatzleistung der Assimilation und des Einbaus in ein Terpen-Molekülgerüst wider. Die beste Übereinstimmung von gemessenen und modellierten Spektren wird mit einer Kesselanzahl von $n = 5$ erzielt.

Am Beispiel der Emissionen von *trans*- α -Bisabolon kann die Simulation des ^{13}C -Einbaus im Vergleich zu den gemessenen Spektren gut nachvollzogen werden (Abb. 31 a-g).







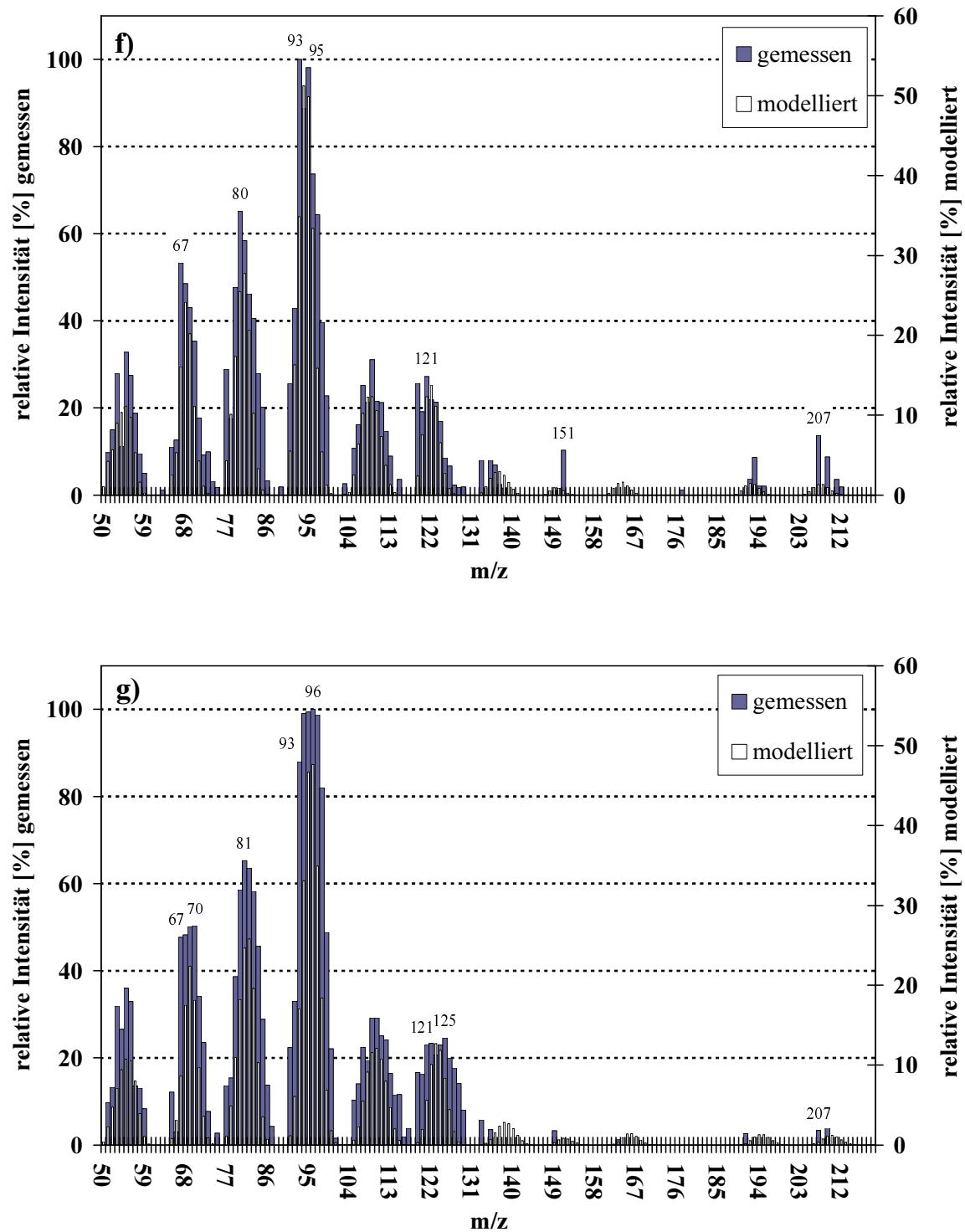


Abb. 31: Veränderung der Massenspektren nach $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition: nach a) 0 min, b) 3 min, c) 15 min, d) 30 min, e) 40 min, f) 50 min g) 100 min. Vergleich der gemessenen und der modellierten Emissionen des Sesquiterpens *trans*- α -Bisabolens von *G. biloba*. Die Messungen erfolgten in der 4,5 l-Zweigküvette. Die Verhältnisse in der Küvette waren: Volumenstrom der Gaszufuhr: 2 l min^{-1} , Temperatur: $29 \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$, PAR: $750\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$, Kohlendioxid-Gehalt: $400 \pm 20\text{ ppm}$ (v/v). Es wurde folgende GC/MS-Analytik verwendet: DANI 6500 GC, Dani GmbH; ITD 700, Finnigan-MAT.

Für die Emission von *trans*- α -Bisabolon zeigt der Vergleich von gemessenen und modellierten Massenspektren eine gute Übereinstimmung, wenn auch nicht alle Fragmente ausreichend mit der Simulation des ^{13}C -Einbaus dargestellt werden können. Besonders die charakteristischen Fragmente $m/z = 93$ und $m/z = 121$ werden gut vom Modell wiedergegeben.

Da die Ermittlung des Anteils der mit ^{13}C -Isotopen markierten Moleküle an der Gesamt-Emission von *trans*- α -Bisabolon über die Methode der GC/MS-Analytik aufgrund der Fragmentierung der Moleküle im Massenspektrometer sehr erschwert wird, ist die Modellierung des Einbauverhaltens von ^{13}C in die Bisabolon-Moleküle sehr hilfreich. Die vorgenommene Modellierung ermöglicht diese Aussagen über den Markierungsgrad der Kohlenwasserstoff-Moleküle mit ^{13}C -Isotopen. Aus den errechneten Daten lässt sich der zeitliche Verlauf des Auftretens der Moleküle mit unterschiedlichem Markierungsgrad in den Emissionen von *G. biloba* am Beispiel von *trans*- α -Bisabolon ermitteln (Abb. 32).

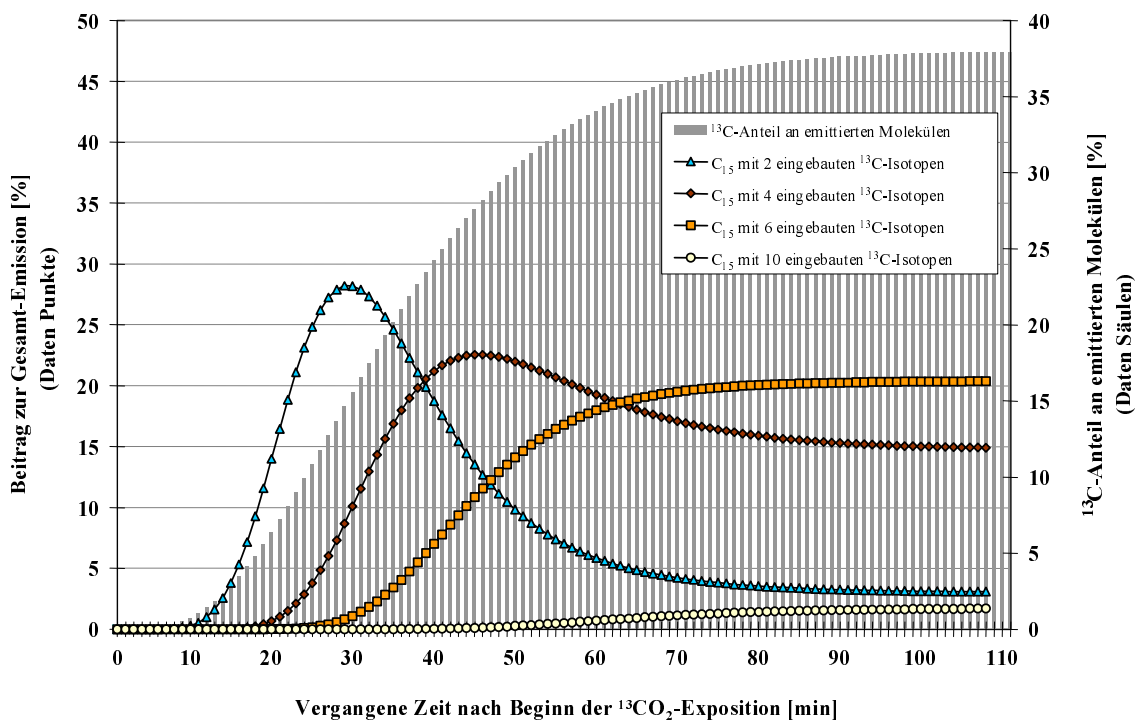


Abb. 32: Zeitliche Entwicklung des ^{13}C -Markierungsgrades von *trans*- α -Bisabolon-Molekülen. Auftreten von markierten C_x -Fragmenten. Die Messungen erfolgten in der 4,5 l-Zweigküvette. Die Verhältnisse in der Küvette waren: Volumenstrom der Gaszufuhr: 2 l min^{-1} , Temperatur: $29 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, PAR: $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, Kohlendioxid-Gehalt: $400 \pm 20 \text{ ppm (v/v)}$. Es wurde folgende GC/MS-Analytik verwendet: DANI 6500 GC, Dani GmbH; ITD 700, Finnigan-MAT. Die Berechnung der Markierungsgrade erfolgte aus den modellierten Emissionen.

An der Modellierung auf Grundlage von gemessenen Massenspektren wird deutlich, dass mit steigendem $^{13}\text{CO}_2$ -Anteil der Küvettenluft der Markierungsgrad der emittierten *trans*- α -Bisabolen-Moleküle zunimmt. Dabei zeigt sich, dass mit der Zunahme der Zahl der eingebauten ^{13}C -Isotope der weitere Einbau in das Molekül langsamer vonstatten geht. Der Anteil an ^{13}C -markierten *trans*- α -Bisabolen-Molekülen an der Gesamt-*trans*- α -Bisabolen-Emission beträgt bei $^{13}\text{CO}_2$ -Sättigung der Küvettenluft etwa 38 % (Abb. 32).

3.2.3.2 Hemmung der Emission einzelner von *Ginkgo biloba* L. emittierten Isoprenoide mittels des Hemmstoffes Fosmidomycin bei gleichzeitiger $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition der Pflanze

Um die Kohlenwasserstoff-Emissionen von *G. biloba* den verschiedenen Biosynthese-Wegen zuordnen zu können, sollte eine der beiden bekannten Biosynthesen der Isoprenoide gehemmt werden. Als Hemmstoff wurde die Verbindung Fosmidomycin gewählt, welche die Isoprenoid-Biosynthese über den plastidären MEP-Weg nicht aber den Mevalonat-Weg hemmt. Gleichzeitig sollte mit Hilfe einer $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition der Pflanze die Nutzung von assimiliertem Kohlenstoff für die Synthese von direkt nachfolgend emittierten Isoprenoiden verfolgt werden. Da die Inkubation der Versuchspflanzen mit dem Hemmstoff Fosmidomycin in Ingestad-Nährlösung erfolgte und somit der Schnitt der untersuchten Zweige vom Ginkgo-Baum nötig war, wurden zunächst mögliche Einflüsse der Verwundung auf das Emissionsverhalten des Pflanzenmaterials am unbehandelten *G. biloba* untersucht.

Für die Untersuchungen des biosynthetischen Ursprungs der Terpen-Emissionen mit Hilfe des Hemmstoffes Fosmidomycin an *G. biloba* wurde ein etwa 7-jähriger, getopfter Baum verwendet. Die Versuche erfolgten im Monat Mai auf der Bergstation des IFU, Garmisch-Partenkirchen in einer Klimakammer.

Es wurden zunächst die Kohlenwasserstoff-Emissionen von unbehandelten Zweigen am Baum untersucht. Nach dem Beginn der Belichtung erfolgten drei Probenahmen der Emissionen für jeweils 30 min aus der Küvette. Nachfolgend wurden die Zweige geschnitten und für den weiteren Versuch in Ingestad-Nährlösung überführt. Um eine mögliche Wundreaktion im Emissionsverhalten zu verfolgen, wurden nach dem Schnitt drei Emissionsproben der Küvette entnommen (Probenahme ebenfalls jeweils für 30 min). Darauf erfolgte eine erste $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition, welche den Einbau von assimiliertem Kohlenstoff in die emittierten Isoprenoide ohne Beeinflussung der Biosynthese durch einen Hemmstoff erfassen sollte. Hierzu wurde die Gaszufuhr zur Zweig-Küvette von gereinigter Außenluft zu synthetischer Luft unter Zumischung von

$^{13}\text{CO}_2$ umgeschaltet. Die $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition erfolgte für 30 Minuten. Drei Emissionsproben in Folge (Probenahmezeit jeweils 30 min) wurden 15 min nach Beginn der Exposition genommen und später auf Änderungen im *Masse-zu-Ladung*-Verhältnis der Massenspektren der emittierten Verbindungen hin untersucht. Zur Hemmung des plastidären Isoprenoid-Synthese-Weges wurden die Zweige nachfolgend mit einer 10 μM Fosmidomycin-Lösung inkubiert. Hierfür wurden die Zweige in die entsprechende Fosmidomycin-Lösung (Fosmidomycin gelöst in Ingestad-Nährlösung) überführt. Nach drei Stunden Inkubation erfolgte eine zweite $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition der Zweige, welche den Einbau von assimiliertem Kohlenstoff in die emittierten Isoprenoide, diesmal unter gleichzeitiger Anwendung des Hemmstoffs, erfassen sollte. Wiederum 15 min nach Beginn der Exposition wurde mit der Probenahme begonnen. Es erfolgten vier Probenahmen von jeweils 30 min Dauer. Für alle Probenahmen wurde ein Volumenstrom von 590 ml min^{-1} gewählt.

Die Durchführung dieses Versuchs erfolgte an drei Zweigen des *G. biloba*. Aus messtechnischen Gründen und bedingt durch die Dauer der Einzelversuche konnte nur ein Zweig pro Tag beprobt werden, sodass abgesehen von der unterschiedlichen Position am Baum auch der Licht- und Temperaturverlauf vor dem Tag der Beprobung unterschiedlich war. So wurde der Versuch ohne Hemmstoffgabe (vgl. Tab. 11, Zweig 0, „Kontrolle“) an einem Tag durchgeführt und die Versuche mit Hemmstoffgabe (vgl. Tab. 11, Zweige 1 bis 3) ebenso wie die Untersuchung zur Wundreaktion nach Schnitt (vgl. Tab. 10, Zweige 1 bis 3) an darauf folgenden Tagen durchgeführt. Daher zeigten die Zweige grundsätzlich für die verschiedenen Phasen des Experiments ein unterschiedliches Emissionsverhalten bezüglich der Abgaberaten der identifizierten Substanzen α -Pinen, Camphen, Myrcen, δ -3-Caren, Sabinen und Limonen, waren aber in deren Verteilung ähnlich.

Der Vergleich von ungeschnittenen und geschnittenen Zweigen ergab für die verschiedenen untersuchten Substanzen ein unterschiedliches Emissionsverhalten vor und nach dem Schnitt (Tab. 10).

Tab. 10: Emissionsraten von ungeschnittenen und geschnittenen Zweigen von *G. biloba*. Die Probenahme erfolgte jeweils nach dem Einsetzen des Zweigs in die Zweig-Küvette (100 min nach Versuchsbeginn) ungeschnitten am Baum und 30 min nach dem Zweigschnitt (160 min nach Versuchsbeginn) aus der Küvette an drei aufeinander folgenden Tagen. Der Volumenstrom der 30-minütigen Probenahme betrug jeweils 590 ml min^{-1} . Da jeder Zweig ein unterschiedliches Emissionsmuster vor und nach dem Schnitt zeigte, wurde die Emissionsrate der einzelnen Verbindungen vor dem Schnitt für jeden Zweig getrennt als 100 % gesetzt und die jeweils gemessene Emissionsrate nach Schnitt prozentual diesem Wert gegenübergestellt. Die verwendete GC/MS-Analytik war: GC Auto System XL + Turbo Mass, GC/MS-System, Perkin-Elmer. n.d.= nicht detektierbar = Emissionsrate hier $< 0,1 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

	Emissionsrate [$\text{pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]					
	Zweig 1		Zweig 2		Zweig 3	
	unge-schnitten	ge-schnitten	unge-schnitten	ge-schnitten	unge-schnitten	ge-schnitten
α -Pinen	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,3 =100%	0,7 =233%
Camphen	n.d.	2,5	n.d.	0,7	0,8	n.d.
Sabinen	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Myrcen	3,0 =100%	5,7 =190%	5,5 =100%	7,1 =129%	10,2 =100%	11,2 =110%
δ -3-Caren	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,1 =100%	0,1 =100%
Limonen	3,0 =100%	6,4 =213%	6,1 =100%	8,8 =144%	8,8 =100%	13,9 =158%

Die drei Zweige zeigten eine ähnliche Zusammensetzung der Emissionen. Die Emissionsraten lagen allerdings für Zweig 1 niedriger und für Zweig 3 höher im Vergleich zum Zweig 2.

Bedingt durch das verwendete Probenahmeverfahren und die eingesetzte Analytik ist für die Wertung sehr kleiner Emissionsraten zu beachten, dass diese Daten einen vergleichsweise großen Fehler im Vergleich zu hohen Emissionsraten aufweisen. Für das Sammeln der Emissionsproben wurde Carbopack als Adsorptionsmittel verwendet, auf dem die Substanzen temperaturabhängig adsorbieren. Bei großen Substanzmengen wird die Molekülkonzentration in der Gasphase vernachlässigbar, da das Gleichgewicht der Konzentrationen stark zur Seite der Adsorption auf der Oberfläche des Carbopacks

hin verschoben ist. Bei sehr kleinen Substanzmengen ist der Anteil an Molekülen welche sich in der Gasphase aufhalten aber bezüglich der Gesamtkonzentration der beprobten Substanz im Adsorptionsröhrchen relativ groß und somit nicht weiter vernachlässigbar. Ein Artefakt tritt dann auf, wenn bei der Lagerung der Adsorptionsröhrchen in der Zeit zwischen Probenahme und Probeanalyse oder aber bei der Vorbereitung der Probeanalyse Moleküle in der mobilen Phase aus undichten Adsorptionsröhrchen entweichen können und so zu einem relativ großen Verlust von Probe führen. Dies führt bei kleinen Probekonzentrationen zu einem vergleichsweise großen Fehler in der Bestimmung der adsorbierten Probemenge. Dieses Artefakt kann nie vollständig ausgeschlossen werden, wenn auch während der Versuche für jedes beprobte Adsorptionsröhrchen auf ein gutes Verschließen geachtet wurde.

Ein weiteres Problem in der Probenahme sind die Glasoberflächen der Adsorptionsröhrchen, die während der Probenahme mit den untersuchten Substanzen in Berührung kommen. Zwar sind die Oberflächen grundsätzlich durch Silanisierung weitestgehend gegenüber den Kohlenwasserstoffen deaktiviert, nichtsdestotrotz kommt es aber für einen geringen, absoluten Teil der Probe zu Wandverlusten durch Abreaktion. Dies führt bei kleinen Probemengen zu einem anteilmäßig hohen Probeverlust. Bei großen Substanzmengen hingegen ist diese absolute Menge gegen die gesamte Probemenge vernachlässigbar gering.

Für die GC/MS-Analytik ist zu beachten, dass eine quantitative chromatographische Auswertung sehr kleiner Emissionsraten erschwert ist. Je kleiner die Menge an detektierter Substanz desto ungünstiger wird in der Analytik das Verhältnis des Untergrundsignals des Analysesystems zu dem Signal der detektierten Substanz, was für sehr kleine Substanzmengen dann bedeutet, dass eine Auswertung des Chromatogramms erschwert wird und letztlich die Grenze der Detektierbarkeit für eine Substanz erreicht ist.

Von den identifizierten Verbindungen wurden hauptsächlich Myrcen und Limonen in bedeutenden Mengen von den Zweigen emittiert. Für die Proben der ungeschnittenen und der geschnittenen, nicht-inkubierten Zweige lagen die Emissionen dieser beiden Verbindungen für alle Zweige deutlich über der Grenze der Detektierbarkeit. Für Myrcen wurde eine Erhöhung der Emissionsraten von 10-90 % nach dem Schnitt der Zweige vom Baum im Vergleich zu den Emissionsraten der ungeschnittenen Zweige beobachtet. Die Emissionsraten von Limonen erhöhten sich nach dem Schnitt der Zweige um 58-113 % verglichen mit den Emissionsraten vor dem Schnitt der Zweige. Die bei allen drei Zweigen beobachtete Erhöhung der Emission bei Myrcen und Limonen deutet insgesamt auf eine Wundreaktion hin.

Die anderen Terpenoide wurden in deutlich geringeren Mengen emittiert und waren nicht bei jedem Messzeitpunkt für jeden Zweig detektierbar, sodass für diese Phase des Experiments keine eindeutige Aussage bezüglich einer Wundreaktion getroffen werden kann. So wurden abweichend vom Emissionsverhalten der Zweige 1 und 2 für Zweig 3 geringe Emissionen von α -Pinen beobachtet. Diese erhöhten sich um 133 % nach Schnitt. Bei den anderen Zweigen lag die Emission von α -Pinen unterhalb der Messgrenze. Emissionen von Camphen wurden für die drei Zweige in unterschiedlichem Maße beobachtet. So zeigten die Zweige 1 und 2 ungeschnitten am Baum keine Emission von Camphen, wohingegen besonders Zweig 1 eine Induktion der Emission auf $2,5 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ nach dem Schnitt aufwies. Für Zweig 2 fiel die Emission nach Schnitt mit $0,7 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ gering aus. Zweig 3 zeigte hingegen eine geringe Emission vor dem Schnitt, welche nach dem Schnitt nicht mehr detektiert wurde.

In den weiteren Phasen des Versuches wurde einerseits eine Änderung der Zusammensetzung der Emissionen der Zweige beobachtet und andererseits ließen sich einzelne Monoterpene identifizieren, die nach Hemmstoffgabe verglichen mit der Kontrolle eine Abnahme in der Emissionsrate zeigten.

Für Myrcen wiesen alle drei Zweige nach Zugabe des Hemmstoffes gegenüber der nahezu unveränderten Kontrolle einen deutlichen Rückgang in der Emission um 54-86 % auf. Für den Zeitpunkt $t = 150 \text{ min}$ nach Zweigschnitt wurden nun auch bedeutende Abgaberraten von α -Pinen, δ -3-Caren und Sabinen gefunden (Tab. 11). Ähnlich wie bei dem eingangs erwähnten Myrcen nahmen bei dem Kontrollzweig (Zweig 0) die Emissionsraten von α -Pinen, δ -3-Caren und Sabinen während der Inkubationszeit von $t = 150 \text{ min}$ zu $t = 420 \text{ min}$ nach Schnitt noch leicht zu. Zusammen mit Myrcen war bei diesen Komponenten, sofern sie sowohl 150 min als auch 420 min nach Schnitt detektierbar waren (Zweig 1-3), nach Zugabe des Hemmstoffes Fosmidomycin ein Rückgang der Emissionsrate um durchschnittlich 47 % für diese Verbindungen zu beobachten. Stärkste Emissionsrückgänge werden dabei für Myrcen gefolgt von δ -3-Caren, α -Pinen und Sabinen beobachtet. Bei Zweig 2 waren α -Pinen-, Sabinen- und δ -3-Caren-Emissionen vor der Hemmstoff-Inkubation nicht detektierbar und konnten erst nach der Hemmstoff-Inkubation nachgewiesen werden.

Tab. 11: Emissionsraten der untersuchten Kohlenwasserstoffe der geschnittenen, nicht-inkubierten und der Fosmidomycin-inkubierten Zweige von *G. biloba*. Die Emissionsraten wurden errechnet aus den Emissionsproben, welche 150 min nach Zweigschnitt und 420 min nach Zweigschnitt der Küvette entnommen wurden. Zum Zeitpunkt $t = 420$ min nach Schnitt waren die Zweige 180 min mit Fosmidomycin inkubiert (Der Beginn der Inkubation erfolgte 240 min nach dem Schnitt der Zweige). Da jeder Zweig ein unterschiedliches Emissionsmuster 150 min nach Schnitt zeigte, wurde die Emissionsrate der einzelnen Verbindungen 150 min nach Schnitt für jeden Zweig getrennt als 100 % gesetzt und die jeweils gemessene Emissionsrate 420 min nach Schnitt prozentual diesem Wert gegenübergestellt. Dem als Kontrolle bezeichneten Zweig 0 wurde kein Fosmidomycin zugesetzt. Aufgrund des komplexen Versuchsaufbaues und der messtechnischen Voraussetzungen erfolgte die Untersuchung der verschiedenen Zweige 0 bis 3 an jeweils gesonderten Tagen. Der Volumenstrom der 30-minütigen Probenahme betrug jeweils 590 ml min^{-1} . Die verwendete Analytik war: GC Auto System XL + Turbo Mass, GC/MS-System, Perkin-Elmer. n.d.= nicht detektierbar = Emissionsrate hier $< 0,1 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

	Emissionsrate [$\text{pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$] (Geschnittene Zweige in Nährlösung)							
	Zweig 0 (Kontrolle)		Zweig 1		Zweig 2		Zweig 3	
	150 min	420 min	150 min	420 min	150 min	420 min	150 min	420 min
Zeit nach Schnitt								
Fosmidomycin	0 μM	0 μM	0 μM	10 μM	0 μM	10 μM	0 μM	10 μM
α -Pinen	35,3 =100%	36,4 103%	82,4 =100%	51,4 62%	n.d.	7,5	117,8 =100%	63,1 54%
Camphen	0,2 =100%	0,5 250%	3,4 =100%	16,2 476%	n.d.	n.d.	n.d.	16,4
Sabinen	1,8 =100%	2,3 128%	52,3 =100%	25,7 49%	n.d.	6,5	8,4 =100%	8,0 95%
Myrcen	2,9 =100%	3,0 103%	3,6 =100%	1,6 44%	3,6 =100%	0,5 14%	6,5 =100%	2,5 38%
δ -3-Caren	3,1 =100%	4,2 135%	49,6 =100%	19,1 39%	n.d.	7,8	90,4 =100%	36,3 40%
Limonen	16,1 =100%	13,8 86%	4,7 =100%	5,3 113%	63,2 =100%	70,2 111%	113,9 =100%	126,7 111%

Ausnahmen bezüglich des Emissionsverhaltens nach der Hemmstoffzugabe bilden die Terpene Camphen und Limonen. Für Limonen wurden durchweg bedeutende Emissionen beobachtet. Gegenüber der leichten Abnahme der Emissionsrate von Limonen beim Kontrollzweig ohne Fosmidomycinzugabe war bei allen mit Fosmidomycin behandelten Zweigen im Vergleich zu dem jeweiligen Wert vor der Hemmstoffinkubation ein leichter Zuwachs in der Emissionsrate zu beobachten. Auch für Camphen wurde ein Anstieg der Emissionsraten gefunden. Allerdings wurde dieser Anstieg nur bei dem Kontrollzweig und bei einem der mit Hemmstoff behandelten Zweige beobachtet und lässt daher keine eindeutige Aussage zum Emissionsverhalten für diese Verbindung zu.

Die aus der GC/MS-Analyse der Emissionsproben nach $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition hervorgegangenen Massenspektren (Vergleich der $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition vor und nach der Fosmidomycinzugabe) wurden auf das Auftreten von Verschiebungen des Masse-zu-Ladung (m/z)-Verhältnisses hin untersucht. Diese Verschiebung würde den Einbau von assimiliertem $^{13}\text{CO}_2$ in die Moleküle der untersuchten Kohlenwasserstoffe widerspiegeln. Die Untersuchungen ergaben für alle untersuchten Terpene, dass die zweimalige Exposition der Zweige mit ^{13}C -markiertem Kohlendioxid zu keiner Veränderung der Massenspektren führte. Ein Einbau von kurz zuvor assimiliertem Kohlenstoff in die Isoprenoid-Molekülgerüste dieser Monoterpene erfolgt also offensichtlich nicht bei dem in Frühjahr beprobten *G. biloba*. Dies stimmt sehr gut mit den Ergebnissen der Untersuchungen am im Spätsommer beprobten *Ginkgo* überein.

3.3 Emissionsmessungen an der Gattung *Fucus*

In einer weiteren Studie wurde das Emissionsverhalten von Braunalgen untersucht. Ziel der Studie war es, die Kohlenwasserstoff-Emissionen verschiedener Arten der Gattung *Fucus* abzuschätzen. Es sollte gezeigt werden, inwieweit bei diesen sehr ursprünglichen Organismen Terpen-Emissionen der Gruppe der C_{10} - bis C_{15} -Verbindungen auftreten. Während eines Forschungsaufenthalts an der Westküste Irlands wurden Messungen der Emission von flüchtigen organischen Verbindungen von verschiedenen *Fucus*-Arten im *Connemara National Park* bei Galway durchgeführt. Die Messungen erfolgten einige Stunden vor Niedrigwasser an trockengefallenen, aber noch frischen Thalli der jeweiligen Art mit Hilfe der Küvettentchnik. Untersucht wurden die Arten *Fucus vesiculosus*, *F. serrata* und *F. spiralis*.

Bei allen untersuchten Arten wurden keinerlei Mono- und Sesquiterpen-Emissionen gefunden. Es traten aber bedeutende Emissionen von halogenierten Kohlenwasserstoffen auf. Diese auch als HVOCs (*halogenated volatile organic*

compounds) bezeichneten Verbindungen machen dabei unterschiedlich große Anteile an den Emissionen der verschiedenen Arten aus. Abbildung 33 gibt ein typisches Massenchromatogramm, welches aus der GC/MS-Analyse von Emissionsproben hervorgegangen ist, für die Art *F. vesiculosus* wieder.

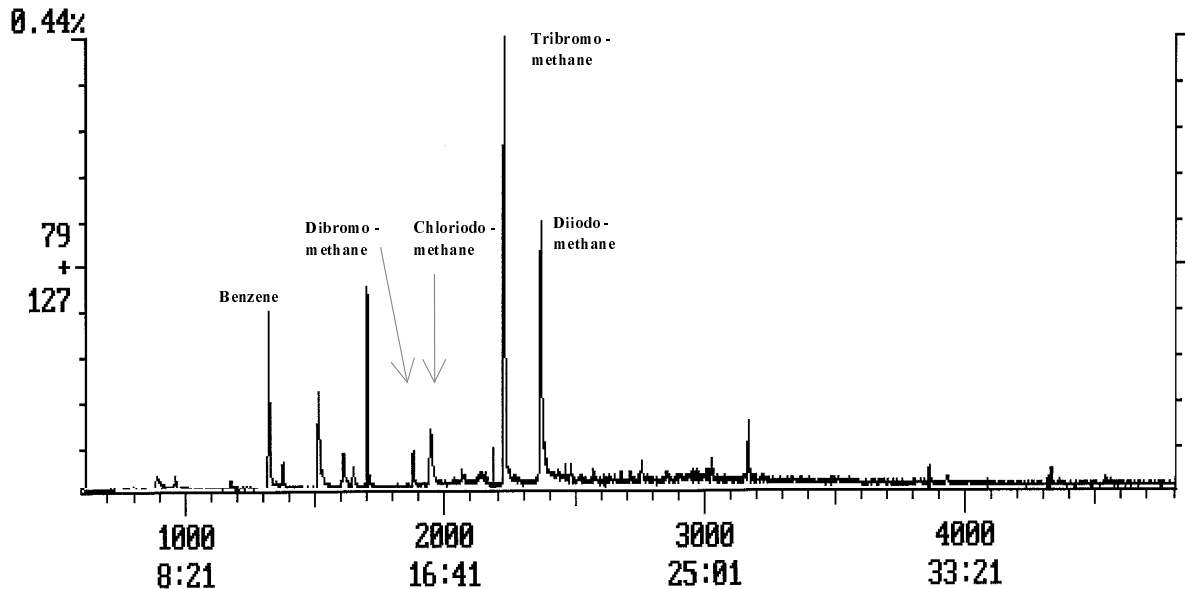


Abb. 33: Massenchromatogramm der Emissionen von halogenierten Kohlenwasserstoffen bei *Fucus vesiculosus*. Die Emissionsmessungen erfolgten im Tidebereich einer Bucht des *Connemara National Park*, Galway, Irland. Alle Messungen wurden kurze Zeit nach Trockenfallen der Makroalgen an noch frischen Thalli mit Hilfe einer Boden-Küvette vorgenommen. Die Analyse der Emissionsproben erfolgte mit einem GC/MS-System (DANI 6500 GC, Dani GmbH; ITD 700, Finnigan-MAT). Gezeigt ist das Massenchromatogramm für das m/z-Verhältnis 79 + 127.

Die Messungen erfolgten in der Regel tagüber, in Abhängigkeit von den Tidezeiten. Für *Fucus vesiculosus* wurden zudem zwei Emissionsmessungen bei Nacht durchgeführt. Neben Messungen an intakten Organismen erfolgte auch eine Messung an einem Gemisch von totem Algenmaterial im Bereich der Hochwasserlinie. Tabelle 12 gibt die Emissionsraten für die untersuchten Arten *F. vesiculosus*, *F. serrata* und *F. spiralis* und die Ergebnisse der Messung an totem Material wieder.

Tab. 12: Emissionsraten der Hauptkomponenten der halogenierten Kohlenwasserstoffe, emittiert von verschiedenen *Fucus*-Arten. Die Emissionsmessungen erfolgten im Tidebereich einer Bucht des *Connemara National Park*, Galway, Irland. Alle Messungen wurden kurze Zeit nach Trockenfallen der Makroalgen an noch frischen Thalli mit Hilfe einer Boden-Küvette vorgenommen. Außer für *F. serrata* (eine Messung) stellen die Daten Mittelwerte aus zwei (für *F. spiralis*) bzw. drei Messungen (*F. vesiculosus*) dar. Folgende Thermodesorption/GC/MS-Analytik wurde verwendet: DANI 6500 GC, Dani GmbH; ITD 700, Finnigan-MAT.

Spezies der Gattung <i>Fucus</i>	Emissionsraten verschiedener halogenerter Kohlenwasserstoffe [$\text{ng m}^{-2} \text{s}^{-1}$]			
	CH_2Br_2	CHBr_3	CH_2I_2	CH_2ClI
<i>F. vesiculosus</i>	0,41	2,41	0,59	0,11
<i>F. serrata</i>	0,11	2,50	0,09	-
<i>F. spiralis</i>	0,59	5,00	0,60	0,05
<i>F. vesiculosus</i> Nacht-Emission	2,24	56,41	0,35	-
Totes Algen-Gemisch	1,42	84,20	0,49	-

Die Hauptkomponente der Emissionen, welche bei diesen Messungen gefunden wurde, war Tribromomethan. Höchste Emissionsraten von $5 \text{ ng m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ wurden für die Art *Fucus spiralis* ermittelt. Deutlich höhere Werte wurden für *F. vesiculosus* bei den Nachtmessungen und für die Freisetzungen aus dem toten Algengemisch gemessen. Die Abgaberraten liegen hier um über das 10-fache höher.

Sehr viel kleinere Mengen wurden für Dibromomethan in den Emissionen der einzelnen untersuchten Arten gefunden. Die durchschnittlichen Emissionsraten lagen dabei nicht über $1 \text{ ng m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Eine Ausnahme bilden auch hier die Nacht-Emissionen von *F. vesiculosus*, welche mit einem Wert von $2,24 \text{ ng m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ermittelt wurden. Auch die Abgaberraten von iodierten Kohlenwasserstoffen lagen für alle Arten mit deutlich unter $1 \text{ ng m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ sehr niedrig. Chloriodomethan wurde nur von *F. vesiculosus* in Mengen von $0,1 \text{ ng m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ und in geringeren Mengen von $0,05 \text{ ng m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ von *F. spiralis* emittiert.

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Analyse und Charakterisierung der Kohlenwasserstoff-Emissionen verschiedener Pflanzenarten. Zum einen war es Ziel der Arbeit, die Quellstärke dieser biogenen Kohlenwasserstoff-Emissionen für die Art *Pinus sylvestris* im Freiland zu bestimmen. Dabei wurden die Variationen dieser Emissionen von Individuum zu Individuum bei *P. sylvestris* und von Spezies zu Spezies einer Gattung (*P. sylvestris* / *P. nigra*) bestimmt. Die Untersuchungen erfolgten unter Berücksichtigung der jahreszeitlichen Einflüsse von exogenen (meteorologischen) und endogenen (entwicklungsphysiologischen) Faktoren.

Zudem wurden die Emissionen von verschiedenen Spezies der Gattung *Fucus* als Vertreter von vergleichsweise ursprünglichen Organismen untersucht. Hier sollte gezeigt werden, inwieweit Emissionen von Mono- oder Sesquiterpenen auftreten, bzw. welche anderen Kohlenwasserstoffe von diesen Organismen emittiert werden.

Ein weiteres Ziel der Arbeit war die Untersuchung der Isoprenoid-Biosynthese, welche für die gefundenen Kohlenwasserstoff-Emissionen verantwortlich ist. Emissionsmessungen bei Versuchen mit dem Biosynthese-Hemmstoff Fosmidomycin und die $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition der untersuchten Pflanzen ermöglichen Aussagen über Synthesewege und die Nutzung von Vorstufen bei der Biosynthese von Mono- und Sesquiterpenen. Zudem wurde mit Hilfe von Emissionsmessungen nach $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition die Geschwindigkeit des Umsatzes von assimiliertem Kohlendioxid in die emittierten Kohlenwasserstoffe untersucht.

4.1 Untersuchungen zu der jahreszeitlichen Änderung der Zusammensetzung und dem Emissionsverhalten von flüchtigen Kohlenwasserstoffen bei *Pinus sylvestris* L. und *Pinus nigra* L.

Die Art *P. sylvestris* ist in der nördlichen Hemisphäre eine der am häufigsten vorkommenden Baumarten. Sie bildet große Bestände in Kanada, Skandinavien und Sibirien. In Deutschland ist die Kiefer neben der Fichte eine der am häufigsten vertretenen Koniferen (Bundesministerium für Ernährung, 1990). *Pinus sylvestris* ist als bedeutende Quelle von flüchtigen organischen Verbindungen bekannt (z.B. Peterson & Tingey, 1980; Janson, 1993; Kesselmeier & Staudt, 1999). Kenntnisse über die Höhe der Freisetzungsraten von Kohlenwasserstoffen sowie deren Zusammensetzung aus Einzelkomponenten sind für die Einschätzung des relativen Anteils von biogenen Verbindungen an der Gesamtmenge dieser Gruppe von Spurengasen in der Atmosphäre

von besonderem Interesse. Sie bilden damit eine Grundlage für Modellierungen sowohl der regionalen als auch der globalen Klimaentwicklung unserer Erde.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen klar, dass sowohl die Gesamt-Emission der Hauptkomponenten als auch die Zusammensetzung der Emissionen deutlichen Änderungen im jahreszeitlichen Verlauf unterliegen. Neben dem grundsätzlichen Problem der Vergleichbarkeit von Ergebnissen aus verschiedenen Studien, ausgerüstet mit unterschiedlichen Probenahme- und Analytik-Systemen, spielt somit der Zeitpunkt der Emissionsmessung für die Vergleichbarkeit eine entscheidende Rolle. Zeitlich ausgedehnte Untersuchungen mit Hilfe der Küvettentchnik über eine Vegetationsperiode hinweg sind verhältnismäßig aufwendig. Dies ist begründet durch die technischen Voraussetzungen, welche bedingen, dass die Küvetten sinnvollerweise nach jeder Messkampagne vom Baum abgenommen werden, um die Einwirkung durch dauerhaften mechanischen Stress am untersuchten Zweig und die damit verbundene Beeinflussung des Emissionsverhaltens zu verhindern. Dieser technische Aufwand ist sicher mit ein Grund dafür, dass zwar von verschiedenen Arbeitsgruppen grundsätzlich jahreszeitliche Unterschiede im Emissionsverhalten beobachtet und berichtet werden, aber nur wenige systematische Studien zu diesem jahreszeitlichen Einfluss in der Vergangenheit durchgeführt wurden und nur entsprechend wenig Datenmaterial für den Zeitraum eines gesamten Jahres zur Verfügung steht. Sollen einer Modellierung der Klimaentwicklung aber biogene Emissionsdaten zur Verfügung gestellt werden, so ist diese Differenzierung der jahreszeitlichen Änderungen der Quellstärken der VOC-Emissionen unabdingbar.

4.1.1 Die Kohlenwasserstoff-Emission bei *Pinus sylvestris* L. und *Pinus nigra* L. zu verschiedenen Jahreszeiten

Beide 1998 untersuchten Einzelbäume der Art *Pinus sylvestris* zeigen höchste Terpen-Gesamt-Emissionen im Sommermonat Juli mit dann zurückgehenden Emissionsraten. Die Emissionsraten liegen dabei im Herbst noch deutlich unter den Raten der Frühjahr-Monate. Für das Folgejahr werden nur für einen der beiden Bäume höchste Emissionsraten im Juli bestimmt. Baum 2 hingegen zeigt die maximalen Werte der Kohlenwasserstoff-Emission im Oktober und nur vergleichsweise geringe Emissionsraten im Mai und Juli mit keinen deutlichen Unterschieden für diese beiden Monate. Die in der vorliegenden Arbeit erfasste jahreszeitliche Variation der Emissionsraten wurde ebenfalls von einigen anderen Arbeitsgruppen sowohl für *P. sylvestris* als auch für andere Koniferen-Arten beobachtet. Aufgrund einer ähnlichen Zeitauflösung der Messungen wie in der vorliegenden Arbeit ergibt sich die beste Vergleichbarkeit mit einer Studie, die 1989/90 an Waldkiefern in Schweden

durchgeführt wurde (Janson, 1993). Hier wurde die Saisonalität der Emissionen bei *P. sylvestris* mit maximalen Emissionsraten im Juni/Juli ermittelt. Die gemessene Gesamt-Emission wird für den Monat Juli für eine Temperatur von 30 °C mit $230 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (dies entspricht $1,3 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) bestimmt, wobei dieser Wert der Sommermonate um das 3- bis 4-fache höher liegt als die gemessenen Werte im Mai und im August des gleichen Jahres. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit entsprechen in ihrer Höhe diesen Emissionsraten sowie den beobachteten jahreszeitlichen Änderungen der Emissionsraten.

Die Ergebnisse der vergleichenden Messungen an *P. nigra*, welche in den Monaten August bis Oktober 1998 im Hartheimer Forst durchgeführt wurden, zeigen für diese Spezies der Gattung *Pinus* ähnliche Emissionsraten. Aufgrund der nur wenigen Messungen ist eine Interpretation bezüglich der saisonalen Unterschiede im Emissionsverhalten für *P. nigra* schwierig. Die gemessenen Terpen-Gesamt-Emissionen zeigen für die Monate September und Oktober mit Werten um $50 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ähnlich hohe Emissionsraten wie die Waldkiefer zu dieser Jahreszeit. Allerdings liegen die mittleren Emissionen im August mit etwa $250 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ um fast das Vierfache höher als die ermittelten Emissionen bei *P. sylvestris*.

Die von verschiedenen Autoren durchgeführte Ermittlung der Emissionsraten für Standard-Bedingungen weisen deutliche Unterschiede auf. Für *Pinus sylvestris* errechnete Janson (1993) für Standard-Bedingungen von 20 °C für den Monat Juli eine Emissionsrate von $140 \pm 70 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $0,8 \pm 0,4 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$), gemittelt aus Messungen an vier verschiedenen Orten in Schweden. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Standard-Emissionen bei 30 °C und $1000 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ PAR liegen für Baum 1 mit $190 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $1,1 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) in der gleichen Größenordnung. Für Baum 2 werden mit $1270 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $7,3 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) Emissionen einer Größenordnung mehr ermittelt.

In Laborversuchen wurden für junge Waldkiefern vergleichsweise niedrige Standard-Emissionen, normiert auf 25 °C, mit Werten zwischen $20\text{-}120 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $0,12\text{-}0,69 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) ermittelt (Shao et al., 2000). Bei Untersuchungen an verschiedenen europäischen Waldbäumen errechnete Staudt (1997) für die Waldkiefer Standard-Emissionsraten von $1050 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, dies entspricht $6 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Staudt, 1997). Die größten Emissionsraten wurden für *Pinus sylvestris* in verschiedenen Gebieten der ehemaligen Sowjetunion ermittelt. Hier lagen die Werte für Nadeln der Spitzen von untersuchten Zweigen, bezogen auf das Nadel-Frischgewicht, gemessen bei 28 °C im Monat Juli bei $19 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{Fg}}^{-1} \text{ h}^{-1}$, was $8570 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ entspricht (Isidorov et al., 1985). Die Schwankungsbreite in den Werten der ermittelten Kohlenwasserstoff-

Emissionen liegt zwischen den verschiedenen Studien bei Unterschieden von bis zu einem Faktor 100. Dies macht die Schwierigkeit der Einschätzung der Quellstärke biogener Emissionen von *Pinus sylvestris* deutlich. Auch die in der vorliegenden Arbeit von Jahr zu Jahr für die Standard-Emissionen ermittelten Unterschiede bei den selben Bäumen belegen dieses grundsätzliche Problem.

Dass die beobachteten jahreszeitlichen Unterschiede im Emissionsverhalten der Kohlenwasserstoffe nicht auf die Art *P. sylvestris* beschränkt sind, zeigt der Vergleich mit Ergebnissen aus Untersuchungen an anderen Koniferen-Arten. So werden z.B. für *Pinus pinea* L. maximale Werte der Gesamt-Emission im Sommer im Bereich von $1220\text{-}2620 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $7\text{-}15 \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) und deutlich niedrigere Emissionen im Frühjahr und Herbst von $350\text{-}610 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $2\text{-}3,5 \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) gefunden (Staudt et al., 1997). Bei der Fichten-Art *Picea glauca* werden mit Sommer-Emissionen von $2095 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $12 \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) und Frühjahr/Herbst-Emissionen von $1220 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $7 \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) ähnliche Verhältnisse der Unterschiede zwischen den Jahreszeiten beobachtet (Kempf et al., 1996). Junge Pflanzen von *Picea abies* (L.) Karst. zeigten in Laborstudien ebenfalls jahreszeitliche Änderungen in der Emission von Monoterpenen (Kahl, 1997). Hier fällt zudem besonders die deutliche Zunahme des Anteils von α -Pinen an der Gesamt-Emission der Monoterpene in der Zeit von Mitte Juli bis Anfang September auf. Eine ähnliche Beobachtung konnte im Jahr 1999 für die Gesamt-Emission bei den Freiland-Untersuchungen der vorliegenden Arbeit an *P. sylvestris* zwischen Juli und Oktober gemacht werden. 1998 trat diese Erhöhung zum Ende des Jahres hin allerdings nicht auf, und bis jetzt wurden auch keine solchen Beobachtungen von anderen Autoren berichtet.

Neben der Temperatur und der Lichtintensität, welche grundsätzlich als beeinflussende Faktoren auf die Kohlenwasserstoff-Emissionen bekannt sind und in entsprechenden Algorithmen der jahreszeitlichen Änderung der Emissionen mit eingehen (Tingey & Manning, 1980; Guenther et al., 1993; Guenther, 1997; Schuh et al., 1997), werden von einigen Autoren auch andere bisher in den Modellierungen noch nicht berücksichtigte Einflussgrößen beobachtet. Die Feuchte der Luft und der emittierenden Pflanzenoberfläche, ebenso wie die mechanische Beeinflussung der Pflanze durch Wind, Hagel und Regen werden als zusätzliche Faktoren diskutiert (Yatagai et al., 1995). Die in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisse unterstützen die Wichtigkeit dieser zusätzlichen Faktoren. So wurden die höchsten Emissionen im Juli 1998 und im Oktober 1999 unter Bedingungen gemessen, welche sowohl durch vergleichsweise hohe Luftfeuchtigkeit als auch durch hohe Windgeschwindigkeiten charakterisiert waren. Die Juli-Messkampagne 1998 musste aufgrund von Sturmböen zeitweise unterbrochen

werden. Während der Messkampagne im Oktober 1999 herrschte während der gesamten Zeit der Messungen Nebel im umliegenden Forst, welcher in den Zweig-Küvetten zu Werten für die relative Luftfeuchtigkeit von bis zu 83 % führte.

4.1.2 Zusammensetzung der Kohlenwasserstoff-Emission im jahreszeitlichen Verlauf

Grundsätzlich sind die für die untersuchten Bäume ermittelten Hauptkomponenten der Kohlenwasserstoff-Emissionen typisch für die untersuchten Arten und stimmen mit den Ergebnissen anderer Studien überein (Ross & De Serves, 1991; Janson, 1992; Janson, 1993; Kahl, 1997; Janson & De Serves, 1999; Hauff et al., 1999). In Koniferen-Wäldern machen die Monoterpene den Hauptanteil an den von den Bäumen in die Atmosphäre abgegebenen flüchtigen Verbindungen aus (Enders et al., 1992). Dabei dominieren α -Pinen und δ -3-Caren üblicherweise die Terpen-Emissionen von *Pinus*-Arten borealer Standorte. Neben diesen aus der Literatur bekannten Emissionen wurde in dieser Arbeit auch das Monoterpen β -Pinen als Hauptkomponente der Gesamt-Emission von *P. sylvestris* ermittelt. Dabei ist der Anteil dieser Verbindung an der Gesamt-Emission mit bis zu 43 C-mol-% deutlich höher als in den oben genannten Studien beschrieben. Messungen einer anderen Arbeitsgruppe im selben Forst bestätigen β -Pinen als eine der Hauptkomponenten der Emissionen der untersuchten Bäume im Hartheimer Forst (Komenda & Koppmann, 2000).

In der Literatur findet sich, ebenso wie für die Höhe der Gesamt-Emission an isoprenoiden Kohlenwasserstoffen beschrieben, auch eine große Bandbreite der ermittelten Emissionsraten der verschiedenen Einzelkomponenten der Kohlenwasserstoff-Emission von *P. sylvestris*. Für α -Pinen werden zum Beispiel Werte von $80 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $0,45 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) und für β -Pinen Werte von $50 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $0,3 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) ermittelt (Peterson & Tingey, 1980). Janson (1993) ermittelte für einen Forst in Schweden an *P. sylvestris* ähnliche Emissionsraten, wohingegen von anderen Autoren für diese Verbindungen Abgaberraten in der Größenordnung von $350\text{-}1220 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (entspricht $2\text{-}7 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) gemessen wurden (Khalil & Rasmussen, 1992).

Für die aufgeführten Hauptkomponenten weisen die zwei in der vorliegenden Arbeit untersuchten Bäume einige Unterschiede in deren Beitrag zu der Gesamt-Emission auf. Besonders auffällig ist das völlige Fehlen einer Emission von δ -3-Caren bei Baum 2 und der hier ermittelte größere Anteil von β -Pinen an der Gesamt-Emission. Um sicherzustellen, dass die sehr geringe δ -3-Caren-Emission wirklich das Ergebnis des Emissionsverhaltens von *Pinus sylvestris* darstellt und nicht auf artifizielle Verhältnisse

in der individuellen Zweig-Küvette zurückzuführen ist, wurden die Küvetten wechselseitig eingesetzt und auch Messungen mit der Küvette des Baumes 1 an Baum 2 durchgeführt. Auch mit dieser Küvette, in der an Baum 1 eine deutliche Emission von δ -3-Caren ermittelt wurde, konnte keine entsprechende Emission für Baum 2 gefunden werden. Die beobachteten Unterschiede in der Zusammensetzung der Emissionen einer Art wurden auch von anderen Arbeitsgruppen beobachtet. So fanden Komenda & Koppmann (2000) bei Messungen an benachbarten Kiefern im Hartheimer Forst einen Baum, welcher ebenfalls keine bedeutende Emission von δ -3-Caren zeigte und einen größeren Anteil an β -Pinen an der Gesamt-Emission aufwies. Vergleichbar deutliche Unterschiede in der Zusammensetzung der Monoterpen-Emissionen wurden auch bei Messungen an *P. sylvestris* an verschiedenen Orten und zu verschiedenen Zeiten der Jahre 1996 und 1997 in Skandinavien ermittelt (Janson & De Serves, 1999). Auch hier fanden sich Kiefern ohne jegliche Emissionen an δ -3-Caren. Eine Erhöhung des Anteils von β -Pinen an der Gesamt-Emission wurde hier allerdings nicht beobachtet. Statt dessen wurde ein erhöhter Anteil von α -Pinen gefunden.

Die beschriebenen Unterschiede in der Zusammensetzung der Emission treten laut einiger Autoren bei *P. sylvestris* typischerweise besonders für die Komponente δ -3-Caren auf (Juvonen, 1966; Hiltunen, 1975). Zudem wurde für Messungen im Mai und Juli in Finnland und in Schweden ein Nord/Südgefälle für die relativen Emissionen von δ -3-Caren berichtet, wobei das Verhältnis δ -3-Caren/ α -Pinen nach Süden hin kleiner wird (Hiltunen et al., 1975; Janson, 1993). Mit 61 C-mol-% Anteil an der Gesamt-Emission (Mittelwert aus den Emissionen von Mai und Juli 1999) entspricht der Wert der δ -3-Caren-Emission im süddeutschen Hartheimer Forst dem in Süd-Skandinavien ermittelten Wert. Ein weiteres Nord/Südgefälle ist somit für diese Ausdehnung nicht auszumachen und muss zunächst als regional begrenzt eingestuft werden. Zudem zeigt der Vergleich der Messungen der vorliegenden Arbeit für 1998 und 1999, dass sich die Zusammensetzung der Gesamt-Emission von Jahr zu Jahr deutlich ändern kann. Dies gilt sowohl für den Anteil von δ -3-Caren an den ermittelten Emissionen als auch für die Anteile der anderen Hauptkomponenten der Kohlenwasserstoff-Emission. Für δ -3-Caren wurden für die verschiedenen Jahre Unterschiede im Anteil an der Gesamt-Emission von mehr als einem Faktor 2 ermittelt.

Bedeutende Unterschiede in der Zusammensetzung der Emissionen zwischen Einzelpflanzen sind erwartungsgemäß nicht auf die Art *P. sylvestris* beschränkt. Verschiedene Autoren berichten z.B. für die Art *Pinus pinea* L. ebenfalls von solchen Variationen im Emissionsverhalten von Bäumen einer Art (Corchnoy et al., 1992; Pio et al., 1993; Street et al., 1997; Staudt et al., 1997).

Eine mögliche Erklärung des fast völligen Fehlens von δ -3-Caren in den Emissionen von Baum 2 können die Unterschiede in der Anzahl junger und älterer Nadeln an den untersuchten Zweigen sein. Der Anteil an diesjährigen Nadeln an der Gesamt-Nadelmenge war am Baum 1 höher als am Baum 2. Untersuchungen haben gezeigt, dass δ -3-Caren besonders von jungen Nadeln als Fraßschutz, gegen Insekten gerichtet, emittiert wird (Larsson & Tenow, 1980). Der unterschiedliche Anteil von jungen, diesjährigen und älteren Nadeln kann somit zu den Unterschieden in der Zusammensetzung der Emissionen beitragen und die nur geringen Emissionsraten bei Baum 2 zumindest teilweise erklären.

Es wurde berichtet, dass im Laufe des Jahres mit dem Heranwachsen der Nadeln der Anteil an δ -3-Caren an der Gesamt-Emission abnimmt (Juvonen, 1966). Bei Zweigen mit bedeutendem Anteil an jungen Nadeln sollte somit eine Änderung des Verhältnisses der Emission von δ -3-Caren zu anderen Komponenten zu beobachten sein. Der Vergleich der Emissionsraten der Hauptkomponenten über das Jahr 1998 hinweg zeigt allerdings für die in der vorliegenden Arbeit vorgestellten Ergebnisse keine deutliche Tendenz in bezug auf deren Verhältnis zueinander. Die von Janson (1993) für das Verhältnis der Emissionen von δ -3-Caren zu α -Pinen beobachtete Entwicklung, ausgehend von einem hohen Wert im Frühjahr mit einer abnehmenden Tendenz in den Sommermonaten und danach ansteigender Werte im Herbst, konnte für die hier vorgestellten Messungen an *P. sylvestris* nicht bestätigt werden. Statt dessen ändert sich das Verhältnis dieser beiden Komponenten bei den Untersuchungen im Hartheimer Forst zueinander weniger deutlich. Nur für den Monat Juni verschiebt sich das Verhältnis bedeutend in Richtung δ -3-Caren. Bei genauerer Betrachtung ist aber der Einfluss der verstärkten Emission von δ -3-Caren durch junge Nadeln durchaus erkennbar. Bei den Messungen im Monat März wurde bereits ein sehr großer Anteil von δ -3-Caren von über 50 C-mol-% an der Gesamt-Emission ermittelt. Der Austrieb junger Nadeln wurde in der April-Messkampagne beobachtet. Zu diesem Zeitpunkt ist der Anteil von δ -3-Caren an der Emission noch fast unverändert. Erst im Juni ist der Anteil dieser Komponente mit 68 C-mol-% der Gesamt-Emission deutlich erhöht. Zu dieser Zeit sind die jungen Nadeln schon stark ausgetrieben und emittieren bedeutende Mengen an δ -3-Caren.

Für die Zusammensetzung der Emissionen findet sich interessanterweise für den Baum 2 eine vergleichbare Entwicklung, wie sie von Janson (1993) beobachtet wurde, dies allerdings für das Verhältnis von β -Pinen zu α -Pinen. Bis auf einen sehr hohen Wert für den Oktober folgt das im Hartheimer Forst ermittelte Verhältnis der von Janson (1993) beschriebenen Entwicklung. Auch für die verhältnismäßig wenigen

Messpunkte des Jahres 1999 ist diese jahreszeitliche Entwicklung der Verhältnisse der beiden Verbindungen zueinander deutlich erkennbar.

Die in der vorliegenden Arbeit in ihrer ausführlichen Art erstmalig beschriebenen Ergebnisse zu der Untersuchung des Emissionsverhaltens auch anderer Kohlenwasserstoffe (sauerstoffhaltige Verbindungen und Sesquiterpene) zeigt eine große Fülle zusätzlich zu den Monoterpenen emittierte Komponenten. Der Beitrag dieser Kohlenwasserstoffe zur Gesamt-Emission fällt mit durchschnittlich 5 C-mol-% vergleichsweise gering aus. Lediglich im Monat August 1998 (für Baum 1) und im Mai 1999 (für beide Bäume) erreichen diese Verbindungen einen Anteil von 18 C-mol-% an der Gesamt-Emission. Bei den Laubbäumen Hainbuche und Birke bilden die Sesquiterpene alleine einen Anteil von bis zu 50 C-mol-% an der Gesamt-Emission der C₁₀- bis C₁₅-Terpene (Koenig et al., 1995). Dennoch könnten auch diese Emissionen der oft hoch reaktiven Verbindungen mit atmosphärischen Umsatzzeiten im Minutenbereich neben dem Beitrag zur Chemie im einzelnen Bestand ebenso aufgrund der Häufigkeit der Art *P. sylvestris* besonders in der nördlichen Hemisphäre bedeutend zur Chemie der Atmosphäre beitragen.

Ein Grund für die in der vorliegenden Arbeit deutlich werdende starke Varianz der ermittelten Emissionsdaten ist nicht zuletzt auch der Einfluss der Lebensbedingungen am Standort auf das Emissionsverhalten der jeweils untersuchten Bäume. Bei Untersuchungen in Europa fand man diesbezüglich deutliche Unterschiede im Emissionsverhalten für verschiedene Koniferen. So variieren z.B. die Emissionen von Kiefer und Fichte, welche in fünf verschiedenen Regionen von Nord- und Mitteleuropa ermittelt wurden, um das 50-fache (Janson, 1993). Sowohl das Nährstoffangebot des Bodens als auch die klimatischen Bedingungen des individuellen Standorts der untersuchten Bäume wirken sich hier auf das Emissionsverhalten aus. Pflanzen zeigen eine individuelle Ausprägung eines Emissionsverhaltens aufgrund ihrer spezifischen Stoffwechsellätigkeit. Eine Spezifität gilt auch - und besonders - für den Sekundärstoffwechsel. Da metabolische Prozesse, die zu diesem Stoffwechsel gezählt werden, meist nicht mit dem Ziel der grundsätzlich benötigten Primärversorgung des pflanzlichen Organismus ablaufen, sondern Sekundärprozesse darstellen, werden sie oft vorzugsweise von exogenen Umweltfaktoren induziert und bestimmt. Wie für andere Interaktionen Pflanze/Umwelt bekannt wurden diese individuellen Ausprägungen, bestimmt durch exogene Faktoren, auch in Bezug auf das Emissionsverhalten der Kohlenwasserstoffe gefunden (Monson et al., 1995). In Untersuchungen an *Quercus robur* L. wurde für deren Isopren-Synthase eine gute Korrelation der Enzym-Aktivität mit den jahreszeitlich unterschiedlichen Isopren-Emissionsraten über das Jahr hinweg ermittelt (Lehning et al., 1999). In jüngsten Untersuchungen wurde diese Saisonalität

der Enzym-Aktivität auch für Monoterpen-Synthasen in *Quercus ilex* L. und *Picea abies* (L.) Karst. gefunden (Fischbach et al., 2001).

Darüber hinaus führen komplexe Interaktionen zwischen der Pflanze und ihrer belebten Umwelt (z.B. Herbivoren- oder Pathogenbefall) zu der individuellen Ausbildung einer großen Breite an Stoffwechselaktivitäten in der Pflanze, welche erst teilweise verstanden sind. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen zudem, dass individuelle Ausprägungen offensichtlich auch bei zwei Individuen im selben Lebensraum am gleichen Standort auftreten können. Diese Beobachtung wird von Ergebnissen anderer Studien gestützt. So wird bei verschiedenen Autoren im Vergleich des Emissionsverhaltens deutlich, dass trotz eines Arbeitens unter unveränderten Standard-Bedingungen an gleichen Pflanzen es zu bedeutenden Unterschieden in den erzielten Emissionsraten kommt (Kesselmeier & Staudt, 1999). Die Gründe für diese Variabilität der Organismen sind noch weitestgehend unverstanden. Grundsätzlich ist zu bedenken, dass jede Pflanze je nach ihrer genetischen Disposition spezifische Merkmale ausbildet. Ein entsprechender Einfluss auf das Emissionsverhalten wurde in der Vergangenheit von anderen Autoren beschrieben (Steinbrecher et al., 1999). Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Individuen von *P. sylvestris* wurden bei ihrer Pflanzung als Setzlinge, ungeachtet ihrer Abstammung mit unterschiedlichem Ursprung, ausgewählt und sind von daher nicht mit den gleichen genetischen Merkmalen ausgerüstet (Dr. Jäger, Freiburg; mündl. Mitteilung). Eine Ursache für die ermittelten Unterschiede im Emissionsverhalten für die untersuchten Bäume der vorliegenden Arbeit kann somit zumindest teilweise über eine genetische Variabilität der Individuen erklärt werden.

Diskutiert wird auch die verstärkte Produktion und Emission von Terpenen als Überschussreaktion bei einer ausgelasteten Photosynthese-Aktivität. Diese Auslastung der Photosynthese kann zeitweise bei hohen Lichtintensitäten auftreten. Hierbei wird über die durch die Elektronentransportkette des Photosynthese-Apparates bereitgestellten Elektronen NADP^+ zu NADPH reduziert. Dieses NADPH steht dann diversen Stoffwechselvorgängen der Pflanze als Reduktionsäquivalent zur Verfügung. Kann die Menge an reduzierbaren NADP^+ -Molekülen nicht schnell genug durch den Umsatz in diesen Stoffwechselvorgängen regeneriert werden, kommt es zu einem Rückstau von Elektronen in der Transportkette und zudem zur Bildung von Sauerstoff-Radikalen, hervorgehend aus der Wasserspaltung am Anfang der Elektronentransportkette. Diese Radikale sind für die Zelle toxisch und führen zur Zerstörung von Zellstrukturen. Eine Möglichkeit, diese Zerstörung zu verhindern, ist die verstärkte Synthese von Terpenen. Aufgrund ihrer ungesättigten Molekül-Struktur reagieren Terpene gut mit Sauerstoffradikalen und fungieren somit als

„Radikal-Fänger“, welche die Radikale unschädlich machen. Zudem benötigt die Synthese von Terpenen Reduktionsäquivalente, was zur Freisetzung von reduzierbaren NADP^+ -Molekülen führt. Somit kann die Zerstörung von Zellstrukturen durch Radikale über die Synthese leichtflüchtiger Substanzen und der daraus resultierenden Regeneration des reduzierbaren NADP^+ -pools vermieden werden. Eine Energieinvestition durch Vorgänge des Sekundärstoffwechsels ist somit für den Primärstoffwechsel von Nutzen.

Zeitweise wurde ein Zusammenhang der Emissionsraten mit der Stomata-Öffnung diskutiert. Eine Beeinträchtigung der Möglichkeit zur freien Emission der Pflanzen bedingt durch die Änderung des Öffnungszustandes der Stomata ist aber für die vorliegenden Untersuchungen wenig wahrscheinlich. So wurde unter anderem in einer Studie für die Emission von Isopren festgestellt, dass diese unabhängig von der Stomata-Öffnung des emittierenden Blattgewebes über die Kutikula erfolgt (Fall & Monson, 1992). Dies wurde von anderen Autoren auch für die Monoterpen-Emission gezeigt. Guenther et al. (1991) ermittelten an *Eukalyptus*, dass die Emission der Kohlenwasserstoffe ebenfalls vollständig über die Kutikula erfolgt und somit unabhängig vom Öffnungsgrad der Stomata ist. Dies wurde auch für die Emission von α -Pinen bei der Eichen-Art *Quercus ilex* gefunden (Loreto et al., 1996).

4.1.3 Untersuchung der Einflussparameter auf die Kohlenwasserstoff-Emissionen

Die Ursache für die Emissionen aus Pflanzen sind nur teilweise verstanden. Ist für die Emission des C_5 -Kohlenstoffs Isopren sowohl ein Einfluss der Temperatur als auch der Lichtintensität allgemein anerkannt, werden die treibenden Kräfte für die Emissionen von Monoterpenen aus Koniferen weiterhin kontrovers diskutiert. Verschiedene Arbeitsgruppen beschrieben in Laborstudien für die Monoterpen-Emissionen von Koniferen die Temperatur als bestimmenden Faktor, ohne dabei einen bedeutenden Einfluss der Lichtintensität auf die Emissionsraten feststellen zu können, (Tingey, 1981; Guenther et al., 1991; Schürmann et al., 1993; Kahl, 1997). Dabei variiert die Rate der Abgabe der Monoterpene in die Atmosphäre exponentiell mit der Nadeltemperatur, gleich der Temperaturabhängigkeit des Dampfdrucks der Terpene auf der physikalischen Grundlage des Clapeyronschen Gesetzes.

Die in den verschiedenen Messkampagnen der vorliegenden Arbeit ermittelten, wenn auch vergleichsweise kleinen Emissionsraten der Hauptkomponenten bei Nacht deuten auf das Vorhandensein einer lichtunabhängigen Emission hin. Die logarithmische Auftragung der Emissionsraten gegen die reziproke absolute Temperatur zeigt, dass diese Temperaturabhängigkeit der Emission für die verschiedenen Jahreszeiten relativ

konstant ist. Bei der Pinus-Art *Pinus ponderosa* wurde eine solche Änderung der Temperaturabhängigkeit der Emission von Monoterpenen in deutlicherem Ausmaß beobachtet (Lerdau et al., 1994). Lerdau et al. begründen diesen Einfluss der Temperatur mit der Änderung der Menge der in den Speicherräumen gelagerten Monoterpene und der damit verbundenen Verfügbarkeit von emittierbaren Substanzen in der Pflanze, entsprechend der jahreszeitlich unterschiedlichen biosynthetischen Leistung des Organismus. Dies würde die Saisonalität der Kohlenwasserstoff-Emissionen allein über eine Verfügbarkeit der Substanzen in den Speicherräumen erklären, unabhängig von einer Emission direkt aus der Neusynthese der Verbindungen. Allerdings werden für verschiedene Pflanzen unterschiedlich deutliche Korrelationen zwischen dem Gehalt an Monoterpenen im Pflanzengewebe und den Emissionsraten dieser Verbindungen gefunden. Für *Pinus ponderosa* (Lerdau et al., 1994) und *Pinus pinaster* (Simon et al., 1994) zeigten sich deutliche Beziehungen zwischen Terpen-Gehalt und Emission. Im Gegensatz dazu war dieser Zusammenhang bei Untersuchungen an z. B. *Picea abies* (Schindler & Kotzias, 1989), *Abies sachalinensis*, *Thuja occidentalis* (Yatagai et al., 1995) und einigen anderen europäischen Baumarten (Staudt, 1997) nicht zu finden. Selbst für maximale Emissionsraten in einer vegetativen Periode von ca. sechs Monaten errechneten Autoren für *Picea abies* eine Abgabe von Monoterpenen der gesamten in Speicherräumen zur Verfügung stehenden Moleküle von lediglich 4-5 % (Schindler & Kotzias, 1989).

Interessanterweise wurde z.B. auch für das Blattgewebe von Orangenbäumen (*Citrus sinensis*) ein hoher Anteil der Monoterpene Sabinen und Limonen gefunden; Hauptemission für diese Pflanze ist aber das Sesquiterpen β -Caryophyllen (Benjamin et al., 1996). Andererseits werden für einige Eichen-Arten hohe Monoterpen-Emissionsraten ermittelt und dies, ohne dass diese Pflanzen Speicherräume für diese Verbindungen aufweisen (Staudt et al., 1993; Loreto et al., 1996; Staudt & Bertin, 1998; Csiky & Seufert, 1999). Diese Beispiele zeigen, dass das Vorhandensein von hohen Konzentrationen an flüchtigen Verbindungen im Gewebe nicht zwangsläufig auch hohe Emissionsraten dieser Verbindungen bedingen muss und umgekehrt auch Pflanzen ohne Speicherräume zu sehr hohen Emissionsraten an Kohlenwasserstoffen fähig sind. Die sogenannten *Pool*-Pflanzen (Pflanzen mit Speicherräumen für flüchtige Kohlenwasserstoffe) zeigen also nicht zwangsläufig eine rein durch die physikalische Verdampfung getriebene Emission, welche unabhängig von physiologischen Parametern eine nur temperaturgetriebene Abgabe von flüchtigen Substanzen aus Speicherräumen darstellen würde.

Die Änderung der Emissionsrate mit der Temperatur übersteigt zudem für einige *Pool*-Pflanzen die rein physikalische Emission nach Clausius-Clapeyron um den Faktor

2 (Kahl, 1997), teilweise sogar um mehr als das 3-fache (Janson, 1993). Dieser Umstand wird von einigen Autoren als Indiz für eine zusätzliche lichtinduzierte Emission der Monoterpene in Koniferen angesehen (Steinbrecher et al., 1990; Schürmann et al., 1993; Kahl, 1997). Bei der Fichte konnte gezeigt werden, dass ein Teil der α -Pinen-Emission von der vorherrschenden Lichtintensität bestimmt wird (Steinbrecher, 1989; Schürmann et al., 1993). Janson (1993) fand Differenzen in der temperaturunabhängigen Emission von Monoterpenen von 50-70 %. Dabei ermittelte er eine deutliche Abhängigkeit der Emissionsraten von der photosynthetisch aktiven Strahlung PAR. Für *Pinus pinea* wurde bei Hell/Dunkel-Versuchen eine Erniedrigung der Emissionsraten im Dunkel um den Faktor 3 für die Kohlenwasserstoffe α -Pinen und Limonen bei annähernd gleicher Temperatur, und für 1,8-Cineol sogar eine Reduktion um das 100-fache ermittelt (Staudt et al., 1997).

Um den Einfluss der Strahlung auf die Emission der Monoterpene von *P. sylvestris* zu charakterisieren, wurde der Algorithmus nach Guenther (1997) auf verschiedene Weise auf die gemessenen Emissionsdaten der Hauptkomponente α -Pinen angewandt. Dieser Algorithmus wurde für die Modellierung der aus der direkten *de novo*-Biosynthese hervorgehenden Emission der Komponente Isopren ermittelt (Guenther, 1997). Mit diesem Algorithmus wurden die gemessenen Emissionen von α -Pinen zum einen nur mit dem Temperatur-Term (vgl. Material und Methoden 2.4 Gleichung 3), also ohne den Einfluss von Licht zu berücksichtigen, modelliert. Zum anderen wurden sowohl der Temperatur-Term (= *pool*-Term) als auch der Licht/Temperatur-Term (= *de novo*-Biosynthese-Term) für die Modellierung verwendet (vgl. Material und Methoden 2.4 Gleichung 3 und Gleichung 4). Außerdem wurde der von Tingey & Manning (1980) beschriebene Algorithmus als zweiter Modellierungsansatz auf die Daten angewandt (vgl. Gleichung 1). Dieser modelliert die temperaturgetriebenen Emissionen von Monoterpenen aus Speicherräumen, unabhängig von direkten Emissionen aus der *de novo*-Biosynthese (Tingey & Manning, 1980). Es zeigt sich, dass alle Ansätze die gemessenen Emissionen grundsätzlich gut wiedergeben. Die Abweichungen der modellierten Emissionen von den gemessenen Daten liegt maximal bei 35 % für Baum 1 und bei 30 % für Baum 2.

Die Berechnungen machen deutlich, dass die Güte der Modellierung der gemessenen Daten weitestgehend unabhängig von der Art des gewählten temperatur- bzw. licht- und temperaturabhängigen Algorithmus ist. Ein klarer Einfluss der Lichtintensität auf das Emissionsverhalten von *P. sylvestris* konnte mit den angewandten Algorithmen nicht erwiesen werden. Allerdings wird über die Verwendung der verschiedenen Modellierungsansätze das Vorhandensein eines oder mehrerer bislang nicht berücksichtigter physiologischer Einflussparameter erkennbar. Dies zeigt die

Notwendigkeit der individuellen Bestimmung der Standard-Emissionen für jeden Monat im Jahr. Nur diese individuelle Anpassung ermöglicht eine gute Abbildung der gemessenen Emissionen über einen der Algorithmen. Erfolgt eine solche Anpassung an den saisonalen Einfluss auf die Abgaberate, kann das Emissionsverhalten für *P. sylvestris* mit den genutzten Algorithmen gut modelliert werden.

Die gemessenen Emissionen lassen sich gut mit einem Modell darstellen, welches die Emission abhängig von der Abgabe von Kohlenwasserstoffen aus Speicherräumen und einer *de novo*-Biosynthese beschreibt (nach Guenther, 1997). Dieses bewertet die Emissionen durchschnittlich etwas zu niedrig. Dabei zeigt sich, dass der um den Term für den Licht-Einfluss erweiterte Algorithmus nach Guenther (1997) die gemessenen Emissionen nur geringfügig anders abbildet als der gleiche Algorithmus ohne Licht/Temperatur-Term der Biosynthese, welcher nur den Temperatur-Term (= *pool*-Term) beinhaltet. Der Vergleich der beiden gewählten Ansätze nach Guenther (1997) zeigt, dass die Lichtintensität nicht als die treibende Kraft der Emissionen einzustufen ist. Dies macht der nur unwesentliche Unterschied in den Modellierungen der beiden Ansätze deutlich. Für beide Ansätze gilt, dass die Höhe der errechneten Emissionen grundsätzlich unter denen des Algorithmus nach Tingey & Manning (1980) liegen, welcher die reine Abgabe von Kohlenwasserstoffen aus Speicherräumen abbildet. Somit spricht die Anwendung der Algorithmen der vorliegenden Arbeit bei *P. sylvestris* für eine temperaturgetriebene Abgabe von Kohlenwasserstoffen. Staudt (1997) beobachtet eine lichtgetriebene Emission für die hauptsächlich im mediterranen Raum vorkommende Kiefern-Art *Pinus pinea*. Hier wurde eine bessere Darstellung der gemessenen Emissionen unter Verwendung eines zusätzlichen Licht/Temperatur-Terms im Algorithmus erzielt, verglichen mit der Modellierung der Daten nur mit einem Temperatur-Term. Für die Waldkiefer fanden Steinbrecher et al. (1999) Bäume, bei denen das Emissionsverhalten ebenfalls besser mit Hilfe eines *de novo*-Terms abzubilden war. Bei diesen Bäumen lag der *de novo*-Anteil der Emission bei bis zu 37 % der Gesamt-Monoterpen-Emission. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit für *P. sylvestris* nicht gefunden werden. Der fehlende Einfluss des Lichtes würde bedeuten, dass nicht primär die Beeinflussung der Photosynthese auf das Emissionsverhalten von *P. sylvestris* wirkt, sondern dieses davon größtenteils unabhängig ist. Entweder ist die Emission aus Speicherräumen bei den hier untersuchten Bäumen borealen Standorts deutlich stärker als die Emission aus der direkt vorausgegangenen Biosynthese der Terpene, oder nicht das Licht, sondern die Temperatur ist die treibende Kraft der direkten Emission nach der Biosynthese der Terpene. Schürmann und Ziegler (1993) finden bei *Picea abies* einen deutlichen Zusammenhang von Biosynthese und Emission über Expositionsversuche mit ^{13}C -markiertem Kohlendioxid, können aber gleichzeitig keine ^{13}C -markierten Terpene in den Speicherräumen ausmachen. Die Unterschiede im

Emissionsverhalten für die verschiedenen Jahreszeiten weisen auf einen Einfluss des physiologischen Zustands des Baumes als den ausschlaggebenden Faktor für die Höhe der Emissionsraten hin. Grund für die Unterschiede könnte die Ausstattung im Enzymhaushalt und die Temperatur-Regulierung von verschiedenen Enzymen, welche an der Synthese der emittierten Kohlenwasserstoffe beteiligt sind, sein.

Ein weiterer Aspekt der Strahlungsabhängigkeit der Monoterpen-Emissionen wurde in einer Laborstudie unter kontrollierten Bedingungen an jungen Kiefern ermittelt (Shao et al., 2000). Die Emissionsraten der Monoterpene unter Belichtung lagen hier um 20-30 % höher. Allerdings wurde in diesen Versuchen eine Lichtsättigung für die Emissionen bereits bei $360 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gefunden. Dieser Strahlungswert entspricht einem Anteil an vollem Sonnenlicht von etwa 15 %. Situationen mit einem entsprechend schwachen Licht werden in Feldmessungen selten über längere Zeit gefunden. Auch dies kann mit ein Grund für die relativ schwache Ausbildung eines Licht-Einflusses auf die Emissionen sein und erschwert die Interpretation der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit diesbezüglich.

4.1.4 Modellierungsansätze für biogene VOC-Emissionen

Nicht minder bedeutend für die großen Differenzen in den Untersuchungen zu der Quellstärke der Emissionen ist die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Änderung der Standard-Emissionen für verschiedene Jahreszeiten. Die Ergebnisse zeigen, dass die Anwendung des Algorithmus nach Guenther (1997) unter Verwendung von für eine bestimmte Jahreszeit ermittelten Standard-Emissions-Faktoren auf verschiedene Jahreszeiten zu keiner zufriedenstellenden Abbildung des Emissionsverhaltens von *P. sylvestris* führt. Wie bereits weiter oben erwähnt, zeigt sich beim Vergleich der Emissionsdaten, dass zwar für die verschiedenen Jahreszeiten Unterschiede in der Höhe der Emissionsraten auftreten, sich aber der Grad der Temperaturabhängigkeit der Emission nicht bedeutend ändert. Dies wird in der Auftragung nach Arrhenius (ln Emission gegen $1/T$) für die verschiedenen Jahreszeiten deutlich. Folglich ist davon auszugehen, dass der jeweilige Wert des Standard-Emissions-Faktors über die Höhe der Standard-Emission entscheidet. Es wurden daher Standard-Emissions-Faktoren für jede Messkampagne 1998 und 1999 ermittelt. Für die Ermittlung der Faktoren standen die Emissionsdaten aus jeweils zwei aufeinander folgenden Messtagen für die verschiedenen Jahreszeiten in 1998 und 1999 zur Verfügung ($n = 300$).

Die bestimmten Standard-Emissionen variieren bedeutend über das Jahr hinweg. Interessanterweise folgen sie größtenteils den absoluten, direkt temperaturabhängigen Emissionsraten. Ausnahmen bilden dabei die Emissionsraten des Baumes 2 für die

Sommermonate Juni und Juli des Jahres 1998. Die Standard-Emissionen für beide untersuchten Bäume zeigen in 1998 Unterschiede für die Frühjahr- und Herbstmonate. Hierbei übersteigen die Werte im Frühjahr die der Herbst-Emissionen bedeutend bis zu einem Faktor 10. Diese saisonalen Unterschiede in den Frühjahr- und Herbst-Emissionen der Kohlenwasserstoffe werden in dieser Ausführlichkeit in der vorliegenden Arbeit zum ersten Mal beschrieben und können für das Jahr 1998 für andere Bäume der Art *P. sylvestris* des Hartheimer Forstes bestätigt werden (Komenda & Koppmann, 2000). Eine solche temperatur- und lichtunabhängige Saisonalität in der standardisierten Monoterpen-Emission wurde auch in einer anderen Studie für die Kiefern-Art *Pinus pinea* beobachtet (Staudt et al., 1997). Auch andere Autoren finden in ihren Untersuchungen diese Änderung der Standard-Emissionen für verschiedene Jahreszeiten (Monson et al., 1995).

Die hier beschriebenen Ergebnisse werfen die Frage auf, ob biogene Emissionen mit den heute zur Verfügung stehenden Modellierungsansätzen über längere Zeiträume hin abgebildet werden können. Die Notwendigkeit, für eine gute Abbildung der gemessenen Emissionen für jeden Monat neue Standard-Emissions-Faktoren bestimmen zu müssen, zeigt, dass die verwendeten Algorithmen physiologische Einflüsse auf das Emissionsverhalten der Pflanze nur ungenügend berücksichtigen. Eine Beschreibung des Emissionsverhaltens würde für jede Änderung der klimatischen Bedingungen im spezifischen Lebensraum der Pflanze eine neue Bestimmung von Emissionsfaktoren erfordern. Dies ist aufgrund des bereits beschriebenen technischen Aufwandes der Emissionsmessungen arbeitsintensiv und wenig praktikabel.

Neuere Ansätze einer Modellierung basieren auf den physiologischen Gegebenheiten in der Pflanze und deren Änderungen durch umweltbedingte und entwicklungsphysiologische Einflüsse (Lehning et al., 2001). In ein solches Modell müssen neben den kurzzeitig wirkenden Parametern wie der aktuellen Temperatur und der vorherrschenden Lichtverhältnisse sowie der CO₂-Konzentration unter anderem auch der vom Tages- und Jahresverlauf von Temperatur und Licht abhängige Auf- und Abbau von Substanzmengen und die Enzyymbildungs- und Abbauraten während der Pflanzenentwicklung eingehen. Untersuchungen an der Isopren-Synthase bei *Quercus robur* L. haben gezeigt, dass die Höhe der Emissionsrate an Isopren mit der Aktivität der Isopren-Synthase im Blatt korreliert (Lehning et al., 1999). Langzeitunterschiede und jahreszeitliche Änderungen in der Isopren-Emission wurden auch von anderen Autoren berichtet (Monson et al., 1992; Kuzma & Fall, 1993; Schnitzler et al., 1997). Es besteht daher Grund zur Annahme, dass auch die Variation der Monoterpen-Emission mit der Änderung der Menge an aktiven Monoterpen-Synthasen im Blatt zusammenhängt.

Ausgehend von diesen Beobachtungen wurde für die Isopren-Emissionen von *Quercus robur* kürzlich ein Modell entwickelt, welches die Aktivitätszustände sowohl der Isopren-Synthase als auch der anderen an der Synthese von Isopren beteiligten Enzyme berücksichtigt (Zimmer et al., 2000). In diesem als BIM (*biochemical isoprene emission model*) bezeichneten Modell wurden die einzelnen chemischen, von Enzymen katalysierten pflanzlichen Reaktionen als Differentialgleichungen formuliert und die licht-, CO₂- und temperaturabhängige Isoprenbildung mittels dieses Differentialgleichungssystems errechnet. Die Synthese von Isopren ist stark abhängig von der Bildung des ersten stabilen Produkts der CO₂-Fixierung der Photosynthese, dem 3-Phospho-Glycerat (Delwiche & Sharkey, 1993). Integriert in den Modellierungsansatz wurde daher ein neues Modell, welches die Kohlenstoff-Assimilation der Photosynthese unter Berücksichtigung auch kurzfristiger Änderungen der Lichtverhältnisse beschreibt (Kirschbaum et al., 1998), und damit die Grundlagen der Verfügbarkeit des Substrates der Isoprenoidbildung nach dem heutigen Stand des Wissens berücksichtigt.

Die Anwendung dieses neuen Modellierungsansatzes und der Vergleich mit einem bekannten Modell der Isopren-Emission (Guenther, 1997) erzielte in ersten Versuchen für die Abbildung der Isopren-Emissionen aus Eichenblättern gute Ergebnisse (Zimmer et al., 2000). Das Modell bildet damit eine gute Grundlage für die Erweiterung auch auf andere Emissionen, wie z.B. der verschiedenen Monoterpene, welche neben dem Isopren - bevorzugt emittiert von Laubbäumen - die bedeutendsten Emissionen, besonders für boreale Wälder, darstellen. Hier müssen zum einen die Enzym-Eigenschaften der Prenyltransferase (welche u.a. für die Bildung der Monoterpen-Vorstufen verantwortlich ist) und zum anderen der Einfluss der Emission von gespeicherten Terpenen berücksichtigt werden.

4.2 Zeitliches Verhalten der Biosynthese und der Emission von flüchtigen Kohlenwasserstoffen bei *Ginkgo biloba* L.

Bei den Untersuchungen zur Biosynthese von emittierten Mono- und Sesquiterpenen an zwei Individuen von *Ginkgo biloba* L. wiesen die Pflanzen Unterschiede in der Zusammensetzung der Emissionen und in der Höhe der Emissionsraten auf. Hingegen zeigten die Bäume bei den Monoterpen-Emissionen ein übereinstimmendes Verhalten bezüglich der Umsetzung von assimiliertem Kohlendioxid. In ¹³C-Markierungs-Versuchen konnte für beide Bäume kein direkter Einbau von zuvor assimiliertem ¹³CO₂-Kohlenstoff in emittierte Monoterpene gefunden werden. Eine ¹³C-Markierung wurde hingegen erstaunlicherweise bei Sesquiterpenen beobachtet. Untersuchungen zur Biosynthese der Isoprenoide wurden mit Hilfe des Hemmstoffs Fosmidomycin

vorgenommen. Hier zeigte sich eine deutliche Reduktion der Emissionsraten fast aller emittierten Monoterpene nach Gabe des Hemmstoffs. Dies ist ein Hinweis darauf, dass eine zumindest teilweise Hemmung des plastidären MEP-Synthese-Wegs durch Fosmidomycin auftrat.

4.2.1 Zusammensetzung der Kohlenwasserstoff-Emission von *Ginkgo biloba* L.

Für die einjährigen Zweige der zwei untersuchten Bäume sind deutliche Unterschiede sowohl in der Zusammensetzung der Emissionen als auch in den Emissionsraten der Einzelkomponenten der Emissionen zu beobachten. So wurden im unbehandelten Zustand von den einjährigen Zweigen bei Untersuchungen im Frühjahr neben Myrcen und Limonen keine weiteren Terpene emittiert. Untersuchungen an den einjährigen Zweigen, welche im Spätsommer erfolgten, ergaben ein deutlich breiteres Emissionsmuster für die Terpene. Hier wurden vier Monoterpene und sieben Sesquiterpene in den Emissionen detektiert. Die Emissionsraten der im Frühjahr detektierten Monoterpene sind allerdings im Vergleich zu den durchschnittlichen Emissionsraten sowohl der Mono- als auch der Sesquiterpene der Spätsommer-Messungen recht hoch.

Verschiedene Faktoren können für die beobachteten Unterschiede verantwortlich gemacht werden. Zwar waren die untersuchten Zweige jeweils der jährliche Neuaustrieb der Pflanzen, doch können sowohl der Altersunterschied als auch die unterschiedlichen Lebensbedingungen Einfluss auf das Emissionsverhalten der untersuchten Ginkgo-Bäume haben. Bezüglich des Alters zweier Bäume einer Art werden in der Literatur z.B. für eine *Pinus*-Art Unterschiede in den Emissionen an Monoterpenen beschrieben (Janson, 1993). Entsprechende Unterschiede im Emissionsverhalten wurden auch für eine andere *Gymnosperme*, die Fichte *Picea abies* (L.) Karst. gefunden (Fischbach et al., 2001). Hier zeigten junge Nadeln eine um fast 70 % höhere Aktivität der Monoterpen-Synthase als vergleichbare Nadeln des Vorjahres. Für die untersuchten Bäume der vorliegenden Arbeit darf der Einfluss des Alters jedoch nicht zu hoch bewertet werden, da nicht ganze Bäume, sondern lediglich Zweige untersucht wurden. Diese waren bei beiden Bäumen frische, diesjährige Triebe und damit im entwicklungsphysiologischen Zustand nicht sehr unterschiedlich. Neben dem Alter ist zu bedenken, dass hier besonders auch der individuelle Lebensraum bzw. die Lebensbedingungen für die Unterschiede im Emissionsverhalten der beiden Bäume verantwortlich gemacht werden müssen. Für die Untersuchungen im ISAS wurden einjährige Zweige des 35-jährigen Baumes im benachbarten Botanischen Garten geschnitten und in das Labor überführt. Die Versuche erfolgten nach einer Equilibrierungszeit (über Nacht) von ca. 12 Stunden. Es fällt auf, dass die Emissionen

dieses Baumes einen hohen Anteil von Sesquiterpenen an der Terpen-Gesamt-Emission aufweisen. Vielen Vertretern dieser Gruppe von Terpenen wird zugeschrieben, dass sie als stress-induzierte Emissionen auftreten (Fang et al., 1996; Bohlmann et al., 1998; Loreto et al., 1998). Die Untersuchungen auf der Bergstation Wank erfolgten an einjährigen Zweigen eines 7-jährigen, noch getopften Baumes, direkt nach dem Schnitt der Zweige. Die Zeit vom Schnitt bis zur Emissionsprobennahme betrug hier nur maximal 1,5 Stunden. Pflanzen reagieren auf Stress unterschiedlichster Art unter anderem mit der Emission von Kohlenwasserstoffen. Stressoren können zum Beispiel Pathogene und Herbivore sein. Aber auch mechanischer Stress und die Verwundung der Pflanze können zur Abgabe bestimmter Kohlenwasserstoffe führen (Bohlmann et al., 1997; Bohlmann et al., 1998). In Antwort auf biogene Stressoren wie Pathogene und Herbivoren werden oft spezielle Zusammensetzungen der Emissionen von den Pflanzen abgegeben. Die auch in der vorliegenden Arbeit in den Emissionen von *G. biloba* gefundenen Verbindungen α - und β -Farnesen ebenso wie Bisabolen sind bei Baumwolle als fraß-induzierte Metabolite bekannt (Loughrin et al., 1994). Die Verbindung Bisabolen ist ein Vertreter der sog. Juvabione. Sesquiterpene dieser Gruppe imitieren das Juvenilhormon von Insekten. Durch die Emission dieser Verbindungen kann die Pflanze erreichen, dass die Vermehrung und Entwicklung der Herbivore gestört wird (Bowers, 1991). In Versuchen, den Herbivoren-Befall bei Koniferen nachzustellen und die Emission von Sesquiterpen zu induzieren, führte bereits die mechanische Verwundung zu erhöhten Emissionsraten von α -Bisabolen (Bohlmann et al., 1998). Diese Studie ergab zudem, dass die Reaktion auf die Verwundung genetisch reguliert ist. So induziert die Verwundung die Expression der α -Bisabolen-Synthase, des Enzyms für die Synthese dieses Sesquiterpens. Die Emission von Sesquiterpenen kann somit als eine gezielte Antwort auf eine äußere Beeinflussung der Pflanze verstanden werden.

Auch Synthesen der Monoterpene können durch eine Verletzung in Pflanzen induziert werden. Für *Abies grandis* ist bekannt, dass eine Verwundung des Astes die Aktivierung von einer Limonen-Synthase und einer Pinen-Synthase (diese synthetisiert α - und β -Pinen) bewirkt (Bohlmann et al., 1997). Die Regulation der verwundungsinduzierten Terpen-Emission erfolgt dabei auf der Ebene der Bildung der Monoterpen-Synthase-mRNA. In der vorliegenden Arbeit konnte eine Induktion der Monoterpen-Emissionen durch die Verwundung für *G. biloba* nicht beobachtet werden. Hingegen wurden für den 7-jährigen Baum vergleichsweise hohe Emissionsraten für Myrcen und Limonen bereits vor dem Schnitt der Zweige detektiert. Dies kann so interpretiert werden, dass ein stress-induziertes Emissionsverhalten schon vor dem Schnitt bestand. Fraglich ist dann aber, warum bei diesem Baum nur Monoterpen- und keine Sesquiterpen-Emissionen gefunden wurden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist

eine zeitliche Staffelung der Emissionen der Mono- und Sesquiterpene durch eine unterschiedlich schnelle Aktivierung der Mono- und Sesquiterpen-Synthasen nach der Stressung. Die Untersuchung zum Emissionsverhalten am 35-jährigen Baum erfolgte erst 12 Stunden nach dem Schnitt der Zweige. Die Untersuchungen am 7-jährigen Baum hingegen dauerten nach dem Schnitt der Zweige nicht länger als vier Stunden. Falls die Emission der Sesquiterpene erst deutlich später nach der Verwundung von *G. biloba* induziert wurde, konnte dies am 7-jährigen Baum aufgrund des durch den komplexen Versuchsverlauf bedingten Zeitfensters der Versuche nicht beobachtet werden. Eine entsprechend unterschiedliche Induktion der Mono- und Sesquiterpen-Synthasen wird in der Literatur für *Abies grandis* beschrieben. Monoterpen-Synthasen treten bei dieser Koniferen-Art schon wenige Stunden nach der Verwundung eines Astes auf (Bohlmann et al., 1997; Steele et al., 1998), wohingegen die Induktion der Transkription und Translation einer α -Bisabolen-Synthase erst frühestens einen Tag später beobachtet wurde (Bohlmann et al., 1998).

4.2.2 Untersuchungen zum Beitrag von Mono- und Sesquiterpen-Emissionen aus dem cytoplasmatischen und dem plastidären Biosynthese-Weg bei *Ginkgo biloba* L.

Die Ergebnisse aus den Untersuchungen mit einer $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition und einer Hemmstoff-Inkubation ermöglichen Aussagen zur Biosynthese von Mono- und Sesquiterpenen bei *G. biloba*. Mono- und Sesquiterpene sind frühe Seiten-Produkte des Isoprenoid-Stoffwechsels, welcher bis zur Synthese von Verbindungen höherer Ordnung wie Carotinoide oder des Isoprenoid-Anteils des Plastochinons führt. Die Biosynthese der pflanzlichen Isoprenoide wird zwei, voneinander unabhängigen, Synthesewegen zugeschrieben (Lichtenthaler et al., 1997a). Diese sind in verschiedenen Zell-Kompartimenten lokalisiert. Aufgrund bisheriger Untersuchungen geht man davon aus, dass Monoterpene über den MEP-Weg in den Plastiden (Mettal et al., 1988; McCaskill & Croteau, 1995; Lichtenthaler et al., 1997b), die Sesquiterpene dagegen über den Mevalonat-Weg im Cytoplasma synthetisiert werden (Adam & Zapp, 1998; Bohlmann et al., 1998). Die Lokalisierung der verschiedenen Isoprenoid-Biosynthese-Wege kann über Inkubationsversuche mit markiertem Substrat erfolgen (Piel et al., 1998; Lichtenthaler, 1999).

4.2.2.1 Untersuchung der Isoprenoid-Biosynthese mittels einer Exposition geschnittener Zweige von *Ginkgo biloba* L. mit ^{13}C -markiertem Kohlendioxid

Um den Zusammenhang von photosynthetischer Kohlenstoff-Assimilation und dem nachfolgenden Einbau des Kohlenstoffs in Isoprenoide zu untersuchen, wurden im

Rahmen der vorliegenden Arbeit Versuche mittels einer $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition der einjährigen Ginkgo-Zweige durchgeführt. Der Einbau von ^{13}C -Isotopen in das Isoprenoid-Gerüst kann an der Veränderung der charakteristischen Massenspektren der emittierten Verbindungen verfolgt werden. Dabei wird eine Verschiebung des *Masse-zu-Ladung* (m/z)-Verhältnisses zu höheren Massen hin beobachtet. Je nach Grad der Markierung der Terpen-Moleküle unter Bedingungen einer $^{13}\text{CO}_2$ -gesättigten Atmosphäre treten dabei entsprechend schwere Fragment-Ionen im Massenspektrum auf.

In den im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuchen mit markiertem Kohlendioxid wurde ermittelt, dass die der $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition nachfolgend emittierten Sesquiterpene deutliche Markierungsgrade aufweisen; Monoterpene dagegen zeigten eine solche Isotopen-Markierung nicht. Diese Beobachtung ist unerwartet, da für andere Spezies deutliche Markierungen von Monoterpenen nach einer $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition gefunden wurden. Dies gilt z.B. für die Rotbuche *Fagus silvatica* (Kahl, 1997). Monoterpen-Markierungen nach $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition werden auch bei der Eichen-Art *Quercus ilex* beobachtet (Loreto et al., 1996). Interessanterweise entspricht hier die Zeit zwischen Beginn der Exposition und dem ersten Auftreten von Isotopen in emittierten Monoterpenen der benötigten Zeit, die in der vorliegenden Arbeit für den Einbau von assimiliertem Kohlenstoff in Sesquiterpene beobachtet wird. Für die Gymnosperme *Picea abies* wird eine teilweise Markierung von emittierten Monoterpenen gefunden (Schürmann et al., 1993). Weiterführende Untersuchungen ergaben hier, dass zwar Monoterpene, welche aus der *de novo*-Biosynthese hervorgehen und direkt emittiert werden, ^{13}C -markiert sind, gleichzeitig aber keine Markierung von in den Harzkanälen gespeicherten Monoterpenen auftritt. Erklärbar ist dies durch die Tatsache, dass die Plastiden in den Harzkanälen keine CO_2 -Fixierung betreiben, sondern über das Cytoplasma mit Kohlenstoffverbindungen versorgt werden. Die Beobachtungen an *Picea abies* stehen im klaren Gegensatz zu dem in der vorliegenden Arbeit beobachteten Emissionsverhalten von *G. biloba*, bei dem keinerlei ^{13}C -Markierung der Monoterpene gefunden werden konnte und Sesquiterpene deutlich markiert waren. Hieraus wird deutlich, dass es offenbar einen Unterschied in der Umsetzung von assimiliertem Kohlenstoff in Bezug auf Mono- und Sesquiterpene bei den Gymnospermen *Picea abies* und *Ginkgo biloba* gibt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die ^{13}C -Markierung von Sesquiterpenen gefunden. Die Untersuchung der Massenspektren ergab für das Sesquiterpen *trans- α -Bisabolen* einen maximalen Markierungsgrad von 40 % der Kohlenstoffatome im Molekül. Eine direkte Nutzung von photosynthetisch fixiertem Kohlenstoff wird auch für andere Terpenoide höherer Ordnung beschrieben. So ist bekannt, dass in komplexe Terpenoide

wie α - und β -Farnesen zuvor assimilierter Kohlenstoff eingebaut wird und diese Verbindungen direkt nachfolgend emittiert werden (Pare & Tumlinson, 1997). Eine schnelle Antwort der Pflanze auf Umwelteinflüsse, erkennbar am geänderten Emissionsverhalten, ist also auch in Bezug auf die Abgabe höherer Terpene möglich.

Der Einbau von $^{14}\text{CO}_2$, 2- ^{14}C -Mevalonat und 2- ^{14}C -Acetat in höhere Isoprenoide wurde schon früh beobachtet (Goodwin, 1958a; Goodwin, 1958b; Braithwaite & Goodwin, 1960). Auch neuere Studien zeigen, dass die letzten Schritte der Isoprenoid-Biosynthese in höheren Pflanzen in den Chloroplasten lokalisiert sind (Lichtenthaler, 1993). Markierungsversuche an höheren Isoprenoiden haben aber gezeigt, dass nicht alle Kohlenstoffatome dieser Verbindungen aus einem Synthese-Weg hervorgehen. Beim Diterpen Ginkgolid, welches in *G. biloba* gefunden wurde, stammen nur drei von vier Isopren-Einheiten aus dem cytoplasmatischen Mevalonat-Weg. Die vierte Einheit wird über den MEP-Weg synthetisiert (Schwarz, 1994). Eine derartige Zusammensetzung aus Isopren-Einheiten unterschiedlicher Biosynthese-Quellen wurde auch für das Phytol in dem Moos *Heteroscyphus* gefunden (Nabeta et al., 1995; Nabeta et al., 1997). Für diese Verbindungen wird daher ein Transport von Farnesyl-diphosphat FDP aus dem Cytoplasma in den Plastiden und eine nachfolgende Modifizierung mit IDP zu den C_{20} -Einheiten diskutiert (Lichtenthaler, 1999). Auch für Sesquiterpene konnte gezeigt werden, dass für deren Synthese zwei Quellen der Isopren-Einheiten existieren. In Sesquiterpenen der echten Kamille *Matricaria chamomilla* L. stammen zwei C_5 -Einheiten immer aus dem Mevalonat-Weg, wohingegen die dritte C_5 -Einheit sowohl aus diesem cytoplasmatischen als auch aus dem plastidären Synthese-Weg stammen kann (Adam et al., 1998). Die in der vorliegenden Arbeit für Sesquiterpene mit einem statistischen Modell errechnete Einbaurate schweren Kohlenstoffs von ca. 40 % entspricht diesem Anteil an Kohlenstoff plastidärem Ursprungs.

4.2.2.2 Hemmung der Emission einzelner von *Ginkgo biloba* L. emittierten Isoprenoide mittels des Hemmstoffes Fosmidomycin

Eingangs wurde das Emissionsverhalten vor und nach dem Schnitt von Zweigen des Ginkgo-Baums untersucht. Änderungen im Emissionsverhalten sollten Rückschlüsse auf eine Wundreaktion nach dem Schnitt der Zweige zulassen. Beobachtet wurde hier ein uneinheitliches Emissionsverhalten für die einzelnen Komponenten, was eine Aussage über eine Wundreaktion erschwert. Dies ist aufgrund der Vielzahl der in der Pflanze zu findenden Synthesen, welche für die Bildung der unterschiedlichen Isoprenoide verantwortlich sind (Croteau et al., 1988), nicht verwunderlich. Die verschiedenen Synthesen stellen dabei Regulationspunkte in der Isoprenoid-Biosynthese

für die verschiedenen Vertreter dieser Substanzklasse dar (Gershenzon & Croteau, 1990).

Für die Zweige 1 und 2 sind die Verbindungen α -Pinen, Sabinen und δ -3-Caren vor dem Schnitt und 30 min nach dem Schnitt nicht detektierbar, sodass für diese Substanzen eine direkte Wundreaktion im Emissionsverhalten nicht sichtbar wird. Dies gilt bei Zweig 3 ebenfalls für Sabinen. Die Verbindung δ -3-Caren wird von Zweig 3 mit $0,1 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ in nur sehr geringen Mengen emittiert. Eine Wundreaktion nach dem Schnitt wird hier ebenfalls nicht erkennbar. Mit einer Zunahme der Emissionsrate einer vor dem Schnitt beobachteten geringen Emissionsrate von $0,3 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ auf $0,7 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ bildet der Zweig 3 für die Substanz α -Pinen eine Ausnahme im Emissionsverhalten. Diese geringen Werte unterliegen den unter 3.2.3.2 dargestellten messtechnischen Problemen.

Für die Substanzen Myrcen und Limonen wurden erhöhte Emissionsraten nach dem Schnitt der Zweige beobachtet (vgl. Tab. 10). Hier sind die Werte um 10 bis 113 % erhöht im Vergleich zu den Emissionsraten vor dem Schnitt der Zweige. Es ist eine Wundreaktion zu vermuten. Die Emission von Myrcen hält in dieser Stärke bis zur Fosmidomycin-Inkubation der Zweige an. Nach Gabe des Hemmstoffs ist die Emission um 46-86 % erniedrigt (vgl. Tab. 11). Die Kontrolle Zweig 0 ohne Hemmstoffgabe zeigt auch nach 420 min noch eine erhöhte Emission von Myrcen im Vergleich zu den Emissionsraten vor dem Schnitt des Zweigs. Die Beobachtung lässt vermuten, dass Myrcen über den plastidären MEP-Weg synthetisiert wird und die Hemmung dieser Biosynthese durch Fosmidomycin zur Reduktion der Emissionsraten von Myrcen führt.

Für Limonen wird ein anderes Emissionsverhalten gefunden. Hier sind die Emissionen 150 min nach dem Schnitt der Zweige (Tab. 11) deutlich erhöht im Vergleich zu den Werten 30 min nach dem Schnitt (vgl. Tab. 10). Es ist eine späte Wundreaktion zu vermuten. Die Bildung von Limonen erfolgt durch eine produktspezifische Limonen-Synthase (Bohlmann, 1997; Croteau, 1993). Nach der Gabe des Hemmstoffs steigen die Limonen-Emissionsraten für alle drei inkubierten Zweige noch an (vgl. Tab. 11). Erklären lässt sich dieser Anstieg mit einer veränderten Kohlenstoffsubstratverteilung in den Kompartimenten der Zelle. Durch die Hemmung des plastidären MEP-Synthesewegs durch Fosmidomycin steht dem alternativen Isoprenoid-Syntheseweg über Mevalonat verstärkter assimilierter Kohlenstoff zur Verfügung. Dies kann zu der beobachteten erhöhten Emission von Limonen führen. Der Kontrollzweig „0“ ohne Hemmstoffgabe zeigt hingegen eine leichte Abnahme der Emissionen 420 min nach dem Schnitt, was als Abklingen der möglichen Wundreaktion gewertet werden kann (vgl. Tab. 11).

Für die Substanzen α -Pinen, Sabinen und δ -3-Caren sind die Emissionsraten 150 min nach dem Schnitt der Zweige ebenfalls deutlich höher (Tab. 11), im Vergleich zum Zeitpunkt 30 min nach Schnitt (Tab. 10). Für die Kontrolle Zweig 0 werden für diese Verbindungen auch 420 min nach dem Schnitt erhöhte Emissionsraten gefunden (Tab. 11). Deutet man diese Erhöhung als späte Wundreaktion, so sprechen die erhöhten Emissionsraten für ein Anhalten der Wundreaktion auch für die Zeit nach der Hemmstoffinkubation.

Für die hemmstoffinkubierten Zweige hingegen wurde beobachtet, dass nach Gabe des Hemmstoffs Fosmidomycin die Emission der Terpene α -Pinen, Sabinen und δ -3-Caren, ebenso wie für die Substanz Myrcen gefunden, deutlich reduziert war (Tab. 11). Die Beobachtung deutet darauf hin, dass der Hemmstoff die Biosynthese dieser Vertreter der Gruppe der Monoterpene beeinflusst. Wird die Erhöhung der Emissionsraten im Lauf der Versuchsdurchführung als Wundreaktion nach dem Schnitt der Zweige interpretiert, so könnte die beobachtete Reduktion der Emissionen der Terpene α -Pinen, Sabinen, Myrcen und δ -3-Caren nach der Hemmstoffgabe nicht auf die Wirkung des Hemmstoffs zurückzuführen sein, sondern das Abklingen der Wundreaktion darstellen. Gegen diese Deutung der Ergebnisse spricht allerdings die fehlende Reduktion der Emissionen dieser Terpene bei der Kontrolle Zweig 0.

Eine hemmende Wirkung auf die Isoprenoid-Biosynthese konnte in der Vergangenheit bereits gezeigt werden (Kuzuyama et al., 1998; Zeidler et al., 1998; Jomaa et al., 1999). Der Hemmstoff Fosmidomycin imitiert dabei das DOXP (Desoxy-D-xylulose-phosphat), welches durch die Desoxyxylulosephosphat-Synthase gebildet wird. Damit hemmt Fosmidomycin die DOXP-Reductoisomerase kompetitiv, die normalerweise DOXP zu MEP (2-C-Methylerythritol-4-phosphat) umsetzt.

Eine vollständige Blockade der Emission wird aber in den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Versuchen nicht beobachtet. Vielmehr werden die Emission der Terpene α -Pinen, Sabinen und δ -3-Caren ebenso wie Myrcen zu durchschnittlich 53 % der Emissionen der ungehemmten Biosynthese aufrecht erhalten. Die Komponente Limonen wird zudem in ihrer Emission nicht erkennbar gehemmt. Dies spricht für eine uneingeschränkte Biosynthese des Limonens alternativ über den plastidären MEP-Weg oder über den cytoplasmatischen Mevalonat-Weg (vgl. Abb. 34). Aussagen zum Verhalten der Emissionen von Camphen nach der Hemmstoffinkubation sind hingegen schwer zu tätigen, da Emissionen dieser Verbindung während der Versuche nur extrem unständig auftraten. Für einen Zweig wurde aber ein Anstieg der Emissionsrate nach der

Fosmidomycingabe beobachtet. Eine gesicherte Aussage zu dieser Beobachtung bedarf allerdings weiterer Versuche in der Zukunft.

Neben dieser Interpretation der Ergebnisse ist auch ein methodisches Artefakt als Erklärung der nur teilweisen Hemmwirkung des Fosmidomycins in Betracht zu ziehen. Es besteht die Möglichkeit, dass die nur teilweise Hemmung der Biosynthese der Isoprenoide über den MEP-Weg durch die Gabe einer zu geringen Konzentration des Hemmstoffes auftrat. Die Wahl der eingesetzten Konzentration von 10 μM beruht auf in der Literatur beschriebenen erfolgreich durchgeführten Versuchen zur DOXP-Reductoisomerase-Hemmung. Kuzuyama et al. (1998) erzielten *in vitro* eine vollständige Hemmung des Enzyms aus *Escherichia coli* bei einer etwa 1 $\mu\text{molaren}$ Fosmidomycin-Konzentration. Bei neueren Untersuchungen von Isopren-Emissionen an einzelnen Blättern von *Quercus rubra* L. wurde eine vollständige Hemmung der Isopren-Emission 80 min nach Beginn der Inkubation mit 4 μM Fosmidomycin beobachtet (Sharkey et al., 2001). Die Inkubation erfolgte wie in der vorliegenden Arbeit über den Transpirationsstrom. Andere Arbeiten geben hingegen deutlich höhere Konzentrationen für eine DOXP-Reductoisomerase-Hemmung an. In Chromoplasten aus Früchten der Paprika *Capsicum annuum* L. wurde eine vollständige Hemmung der Carotinoid-Biosynthese bei einer Fosmidomycin-Konzentration von 100 μM beobachtet (Fellenmeyer et al., 1999). Bei der Untersuchung der Biosynthese dieser höheren Terpenoide an der Mikroalge *Haematococcus pluvialis* wurde gefunden, dass die Inkubation einer Algensuspension mit 500 μM Fosmidomycin zu einer Reduktion der Carotinoid-Biosynthese von 50 % führte (Hagen & Grünewald 2000).

Aufgrund der unterschiedlichen Hemmwirkung des Fosmidomycins in verschiedenen Organismen kann eine nur teilweise Hemmung der DOXP-Reductoisomerase somit nicht vollständig ausgeschlossen werden, zumal in der vorliegenden Arbeit an ganzen Zweigen unbekanntem Volumens der Kompartimente gearbeitet wurde und nicht an Einzelblättern oder Zellsuspensionen, wie von anderen Arbeitsgruppen verwendet. Eine grundsätzlich hemmende Wirkung des Fosmidomycins auf die DOXP-Reductoisomerase der plastidären Isoprenoid-Biosynthese ist aber wie in der Literatur gezeigt nachgewiesen.

Die unterschiedlich starke Nutzung von verschiedenen Synthesewegen der Isoprenoide je nach Substratverfügbarkeit wurde in der Vergangenheit für andere Spezies beschrieben. Bei Untersuchungen an der Mondbohne *Phaseolus lunatus* wurde bei der Inkubation der Blätter mit deuteriertem Mevalonat nach der Induktion der Biosynthese von Terpenoiden ein Grad der Markierung für Homoterpene (C_{11}) von über 80 % gefunden. Monoterpene hingegen waren zu weniger als 20 % markiert (Piel et al.,

1998). In weiterführenden Versuchen mit dem nicht phosphorylierten, deuterierten Substrat DOX (Desoxy-D-xylulose) des MEP-Weges wurde die Markierung zu 90 % in Monoterpenen wiedergefunden. Markiertes Mevalonat wird zu etwa dem gleichen Prozentsatz im Sesquiterpenoid DMNT (4,8-Dimethylnona-1,3,7-trien) gefunden (Piel et al., 1998). Hemmt man allerdings den Mevalonat-Weg mit dem Hemmstoff Cerivastatin, kann eine Einbaurrate von DOX in das Sesquiterpenoid von 70 % beobachtet werden. Gleiche Beobachtungen wurden hier für die Biosynthese der Terpene von Tabak und Mais gemacht. Für den in der vorliegenden Arbeit untersuchten *Ginkgo biloba* wurde von den Autoren ebenfalls die Möglichkeit der Nutzung von DOX und damit von DOXP als Substrat der Synthese von Sesquiterpenen wie Copaen, Caryophyllen und Farnesen nachgewiesen. Diese Möglichkeit, beide Synthese-Wege der Isoprenoid-Vorstufen für die Produktion einer Verbindung nutzen zu können, lässt vermuten, dass dies auch für andere Terpene möglich ist (vgl. Abb. 2). Allerdings macht die fehlende Isotopen-Markierung der emittierten Monoterpene die Biosynthese der Vorstufen (DOXP und Mevalonat) dieser Verbindungen im Chloroplasten bei *G. biloba* unwahrscheinlich (vgl. Abb. 34). Die teilweise Hemmung der Emission von Monoterpenen zeigt aber eine Beteiligung des MEP-Synthese-Wegs an der Bildung dieser Isoprenoide. Die vorliegenden Ergebnisse, welche allerdings durch weitere Versuche noch bestätigt werden müssen, deuten zunächst darauf hin, dass auch im Cytoplasma die Synthese von DOXP stattfinden kann. Das bedeutet, es muss der Pflanze hier ebenfalls eine Desoxyxylulosephosphat-Synthase (Dxs) zur Verfügung stehen. Die Existenz der Dxs im Cytoplasma ist indes für die Synthese der Verbindungen Thiamin und Pyridoxol notwendig (Therisod et al., 1981; Hill et al., 1996; Sprenger et al., 1997). Eine Dxs im Cytoplasma auch von *G. biloba* ist somit nicht unwahrscheinlich. Ein Transport von DOXP vom Cytoplasma in den Plastiden ist bis jetzt nicht nachgewiesen, wird aber derzeit diskutiert. Darüber hinaus deutet die nicht vollständige Hemmung der Monoterpen-Emission auf eine zusätzliche cytoplasmatische Synthese der Monoterpene α -Pinen, Sabinen, Myrcen und δ -3-Caren über den Mevalonat-Weg hin (vgl. hierzu Abb. 34).

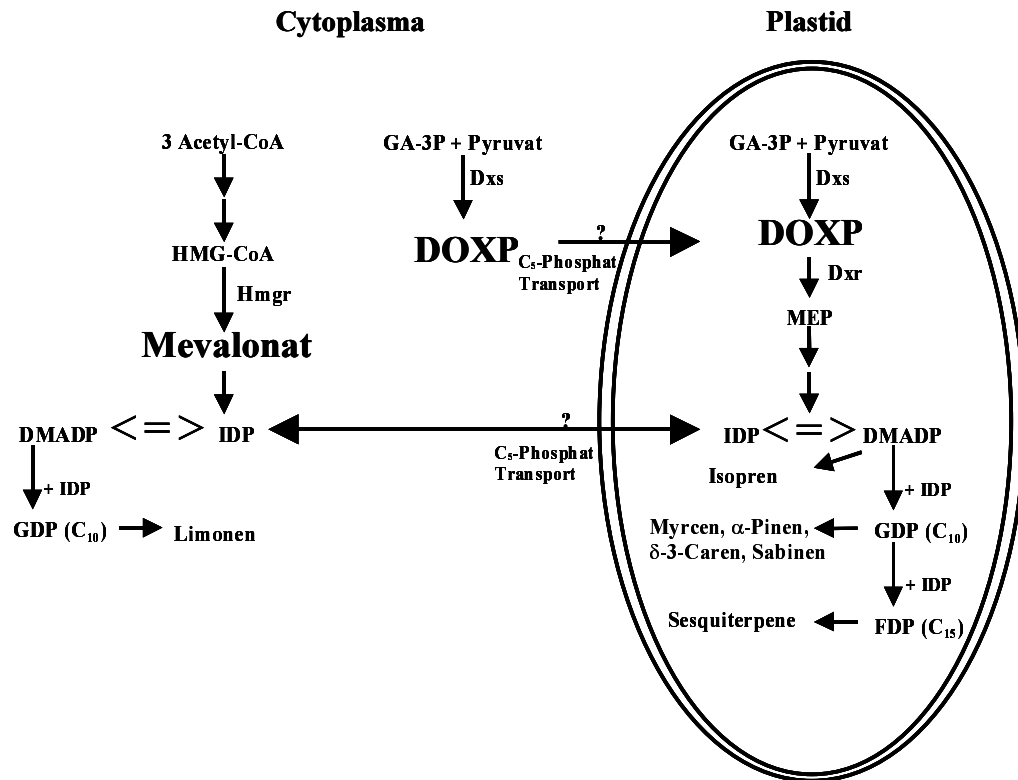


Abb. 34: Hypothese der Kompartimentierung der Biosynthese-Wege der Mono- und Sesquiterpene bei *G. biloba*. Die Biosynthese der Vorstufen von Mono- und Sesquiterpenen bei *G. biloba* erfolgt grundsätzlich über verschiedene Synthesewege, welche in verschiedenen Kompartimenten der Zelle lokalisiert sind. Dabei wird IDP sowohl aus dem cytoplasmatischen Mevalonat-Weg als auch aus dem plastidären MEP-Weg zur Verfügung gestellt. Verwendete Abkürzungen: Hmgr 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzym A-Reduktase, Dxr Desoxyxylulosephosphat-Reductoisomerase, Dxs Desoxyxylulosephosphat-Synthase, GA-3P Glycerinaldehyd-3-phosphat, MEP 2-C-Methylerythritol-4-phosphat, DOXP Desoxy-D-xylulose-phosphat, IDP Isopentenyl-diphosphat, DMADP Dimethylallyl-diphosphat, GDP Geranyl-diphosphat, FDP Farnesyl-diphosphat.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit geben Hinweis darauf, dass die Biosynthese von Mono- und Sesquiterpenen bei *G. biloba* über verschiedene Synthesewege erfolgt, welche in verschiedenen Kompartimenten der Zelle lokalisiert sind. Eine mögliche Erklärung bietet die folgende Hypothese der Kompartimentierung der Biosynthese für *G. biloba* (vgl. Abb. 34): Vorstufen der Isoprenoide in Form von C₅-Verbindungen werden im Cytoplasma sowohl über den Mevalonat-Weg (Bildung von IDP aus Mevalonat) als auch über den MEP-Weg (Bildung von DOXP) synthetisiert. Die letzten Schritte der Biosynthese sowohl der Mono- als auch der Sesquiterpene erfolgen bei *G. biloba* im Plastiden. Dabei werden Monoterpene auch aus cytoplasmatischem DOXP gebildet, welches nicht aus einer zuvor erfolgten photosynthetischen Kohlenstoff-Assimilation hervorgeht. Vermutlich besteht bei *G. biloba* eine Transportmöglichkeit für die Vorstufen IDP und DOXP aus dem Cytoplasma in den Plastiden. Das

Monoterpen Limonen kann offensichtlich im Cytoplasma über den Mevalonat-Weg synthetisiert werden und ist damit unabhängig von der Verfügbarkeit von der Isoprenoid-Vorstufe DOXP. Dies wird durch die fehlende Hemmung der Emission von Limonen durch den Hemmstoff Fosmidomycin deutlich. Gleiches lässt sich für das Monoterpen Camphen vermuten. Allerdings benötigen gesicherte Aussagen insbesondere für diese Verbindung noch weitere Versuche, da das Emissionsverhalten für Camphen in den vorliegend beschriebenen Versuchen sehr uneinheitlich ausfiel und nur wenige verwertbare Emissionsdaten hervorbrachte. Die anderen im Plastiden synthetisierten Monoterpene α -Pinen, Sabinen, δ -3-Caren und besonders Myrcen hingegen sind auf die Bereitstellung von DOXP teilweise angewiesen. Fehlt dieses Substrat, erfolgt eine verringerte Biosynthese dieser Verbindungen ausschließlich über die aus dem Cytoplasma importierte Vorstufe IDP, welche dort aus dem Mevalonat-Weg hervorgeht. Die Folge dieser veränderten Versorgung mit dem Substrat für die Monoterpen-Biosynthese führt zu einer Erniedrigung der Emissionsraten dieser Terpene. Sesquiterpene werden bei *G. biloba* ebenfalls, allerdings nur teilweise, aus Vorstufen, welche im Cytoplasma gebildet werden, synthetisiert. Neben diesen Vorstufen cytoplasmatischen Ursprungs erfolgt die Bildung dieser Gruppe von Terpenen im Plastiden mit Vorstufen aus direkt zuvor photosynthetisch assimiliertem Kohlenstoff. Die Versuche geben somit Anlass zu der Vermutung, dass bei *G. biloba*, anders als bei vielen höheren Pflanzen, keine strenge räumliche Trennung der Biosynthese der Mono- und Sesquiterpene erfolgt.

Die hier aufgestellte Hypothese bietet eine mögliche Erklärung für die Ergebnisse der ersten Hemmstoffversuche an *G. biloba*. Sie ist daher als zunächst vorläufiger Ansatz des Verständnisses der Isoprenoid-Biosynthese dieser Pflanze einzuordnen. Die in der vorliegenden Arbeit postulierte Hypothese zu der Kompartimentierung der Terpen-Biosynthese muss in zukünftigen Untersuchungen intensiv überprüft und weiter ausgeführt werden. Die Versuche haben gezeigt, dass bezüglich des Emissionsverhaltens mit einer gewissen Varianz sowohl von Pflanze zu Pflanze als auch von Zweig zu Zweig einer Pflanze zu rechnen ist. Dies erfordert für zukünftige Untersuchungen eine bedeutend größere Stichprobenanzahl, um gesicherte Aussagen zum Emissionsverhalten und zur Biosynthese der emittierten Verbindungen machen zu können. Die ersten Ergebnisse legen die Fortsetzung der Versuche mit einer solchen höheren Stichprobenanzahl nahe. Eine Möglichkeit, die Biosynthese von Mono- und Sesquiterpenen hierbei zu erfassen, ist die eindeutige Lokalisierung der an der Synthese in *G. biloba* beteiligten Enzyme über biochemische bzw. genetische Techniken. Zudem ließen sich die im Rahmen der vorliegenden Arbeit erbrachten Ergebnisse mit Untersuchungen zur Hemmung des Mevalonat-Synthese-Wegs mit Mevinolin oder Cerivastatin in *G. biloba* ergänzen, um einen detaillierten Aufschluß über die

Kompartimentierung der Biosynthese der Isoprenoide zu erhalten. Auch hier bietet sich aber die Kombination von Hemmstoff-Versuchen und einer $^{13}\text{CO}_2$ -Inkubation an und dies möglichst in größeren als in der vorliegenden Arbeit gewählten Zeitfenstern.

4.3 Emissionsmessungen an der Gattung *Fucus*

Für Vertreter der Grünalgen ist bekannt, dass sie über einen Isoprenoid-Stoffwechsel verfügen. Untersuchungen hierzu wurden an Isoprenoiden höherer Ordnung wie Carotinoide und das Phytol durchgeführt (Schwender et al., 1996). Die Biosynthese von flüchtigen Isoprenoiden und deren Emission durch Braunalgen sind hingegen wenig untersucht. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, diese Emissionen für einige Vertreter der Braunalgen der Gattung *Fucus* zu bestimmen. Es zeigte sich allerdings bei den Messungen, welche in der Küstenregion von Galway, Irland durchgeführt wurden, dass keine der untersuchten *Fucus*-Spezies isoprenoide Verbindungen der Gruppe der Mono- und Sesquiterpene emittierte. Statt dessen wurden für die untersuchten Arten bedeutende Emissionen von halogenierten Methan-Verbindungen ermittelt. Obwohl bekannt ist, dass Makroalgen diese Verbindungen emittieren und diese Kohlenwasserstoffe nachfolgend in der Atmosphäre an der Bildung von organischen Aerosolen beteiligt sind (Vogt et al., 1999), ist die Menge verfügbarer Daten, welche zum Emissionsverhalten von Makroalgen in der Literatur zu finden ist, sehr klein.

Die Küsten sind die Hauptregionen, wo erhöhte Konzentrationen von bromierten und iodierten flüchtigen Kohlenwasserstoffen zu finden sind und dies besonders in der Umgebung von Algen-Ansiedlungen (Fogelqvist, 1985; Class & Ballschmitter, 1987). Die Zuordnung dieser Verbindungen als Emissionen aus Makroalgen erfolgte erstmals über die Bestimmung der halogenierten Substanzen im Umgebungswasser von Algen (Klick, 1992). In Untersuchungen an verschiedenen Makroalgen der gemäßigten Klimazonen konnte schon zuvor gezeigt werden, dass diese Organismen zur Abgabe einer Reihe unterschiedlicher halogener Kohlenwasserstoffe befähigt sind (Gschwend et al., 1985; Gschwend & MacFarlane, 1985). In diesen Studien wurde ermittelt, dass die Konzentration der Verbindung Bromomethan im Thallus-Gewebe im Vergleich zu den gemessenen Abgaberraten an der Gewebe-Oberfläche verhältnismäßig klein ist. Von dieser Beobachtung ausgehend vermuteten Gschwend et al. (1985), dass die Synthese und der Transport dieser Substanzen im Gewebe entweder sehr schnell erfolgen müsse oder die Synthese an der Gewebe-Oberfläche lokalisiert ist. Die Synthese der halogenierten Kohlenwasserstoffe wird durch die sog. Haloperoxidasen katalysiert (Wever et al., 1991). Von diesen ist bekannt, dass sie in den Chloroplasten der Algen (Manley & Chapman, 1979), in der Zellwand (Oliveira & Bisalputra, 1976)

und in der Gewebe-Oberfläche des Thallus (Wever et al., 1991) lokalisiert sind. Deren bromierte und iodierter Produkte hingegen finden sich in hohen Konzentrationen in den Chloroplasten der äußeren corticalen Zellen, in der Kutikula und der Mittellamelle des Thallus (Pedersen et al., 1979; Pedersen et al., 1980; v. Hofsten & Pedersen, 1980; Pedersen et al., 1981). Diese Verteilung der Enzyme und der resultierenden Metabolite machen es der Alge möglich, die halogenierten Verbindungen schnell in ihre Umwelt abzugeben. In Übereinstimmung hierzu werden besonders in der Umgebung von Makroalgen erhöhte Konzentrationen dieser Substanzen gefunden.

Untersuchungen zur Abgabe von halogenierten Kohlenwasserstoffen durch Braunalgen wurden in der Vergangenheit weitestgehend an den Thalli im untergetauchten Zustand durchgeführt. Lediglich eine Studie, vergleichbar der vorliegenden Arbeit, durchgeführt an trocken gefallen Algen mit Hilfe der Küvettentechnik ist bekannt (Carpenter et al., 1999). Der Vergleich mit Literaturdaten ist auf Grund der verschiedenen experimentellen Ansätze (untergetauchte/nicht untergetauchte Thalli) und unterschiedlicher Bezugsgrößen, die in verschiedenen Studien verwendet werden, nicht einfach. Allerdings liegen die in der vorliegenden Arbeit gemessenen Emissionsraten halogener Kohlenwasserstoffe in der gleichen Größenordnung, welche auch für einige Vertreter der Rotalgen gefunden wurden (Mtolera et al., 1996; Giese et al., 1999).

Die Hauptkomponente der Emissionen der untersuchten *Fucus*-Arten ist das Tribromomethan. Für diese Verbindung wurden tagsüber höchste Emissionsraten für *F. spiralis* mit Werten von $5 \text{ ng m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ermittelt. Hingegen wurden deutlich höhere Emissionen dieses halogenierten Kohlenwasserstoffes für *F. vesiculosus* zur Nachtzeit und ebenso aus totem vermischtem Algenmaterial mit Werten über $80 \text{ ng m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ gefunden. Sehr viel kleinere Emissionsraten zeigen die Algen für die zweifach bromierte Verbindung Dibromomethan. Hier lagen die Emissionen üblicherweise nicht viel höher als $1 \text{ ng m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Bei den iodierten Kohlenwasserstoffen war Diiodomethan die am stärksten emittierte Komponente. Die Emissionsraten wurden mit kleiner $1 \text{ ng m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ bestimmt.

Die ermittelten Emissionsraten sind vergleichsweise klein (Gschwend et al., 1985; Klick, 1992; Moore & Tokarczyk, 1993). Ein Grund hierfür kann der Zeitpunkt der Messungen, Ende September, sein. Es ist bekannt, dass die Emissionen von halogenierten Kohlenwasserstoffen jahreszeitlichen Änderungen unterliegen. Für die Verbindungen Di- und Tribromomethan wurden in Untersuchungen des Jahres 1990 an der Küste von Schweden höchste Emissionsraten Ende August bis Anfang September gefunden (Klick, 1992). Die Konzentration dieser Verbindungen in Seewasser lagen zu

dieser Zeit für Dibromomethan bei etwa 80 ng l^{-1} und für Tribromomethan bei 500 ng l^{-1} . Hingegen wurden für die Zeit Ende September deutlich niedrigere Konzentrationen von etwa 20 ng l^{-1} für Dibromomethan und von etwa 220 ng l^{-1} für Tribromomethan ermittelt.

Die Quelle von iodierten und chlorierten Kohlenwasserstoffen, welche in der Atmosphäre von Küstenregionen gefunden werden, wird kontrovers diskutiert. In Studien von Klick (1992) wurden erhöhte Konzentrationen der Verbindungen Diiodomethan und Chloriodomethan nur im Oberflächenwasser der offenen See, nicht aber im küstennahen Lebensraum von Makroalgen gefunden. Dem Diiodomethan wurden hier als Quelle der Emissionen Vertreter des oberflächennahen Phytoplanktons zugeschrieben. Dagegen wurde in Rotalgen das Vorhandensein von Diiodomethan im Thallus-Gewebe nachgewiesen (McConnell & Fenical, 1979).

Bezüglich des detektierten Chloriodomethans wurde angenommen, dass diese Verbindung nicht biogenen Ursprungs ist, sondern über eine Halogen-Austausch-Reaktion aus Diiodomethan hervorgeht (Class & Ballschmitter, 1987). Diese Vorstellung wird gestützt von Untersuchungen auf offener See, bei der über weite Regionen hinweg eine Korrelation der Konzentrationsverteilungen von CH_2I_2 und CH_2ClI beobachtet wurde (Moore & Tokarczyk, 1993). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit hingegen zeigen vergleichsweise hohe Konzentrationen an Diiodomethan in der Luft über Algen-Ansiedlungen ohne das Auftreten entsprechend hoher Chloriodomethan-Konzentrationen in diesen Bereichen. Vielmehr lagen die Konzentrationen des Diiodomethans in der Größenordnung des Dibromomethans. Diese Beobachtung deckt sich mit Berichten anderer Autoren. In vergleichbaren Studien in der europäischen Küstenregion wird dieses Verhältnis von CH_2I_2 zu CH_2Br_2 ebenfalls gefunden, wohingegen für einige arktische Makroalgen-Spezies diese iodierten Emissionen die Abgaberraten bromierter Kohlenwasserstoffe sogar übersteigt (Giese et al., 1999). Aufgrund der Höhe der Emissionsraten, die auch von Giese et al. (1999) in der Größenordnung von $5\text{-}10 \text{ pmol g}^{-1}_{(\text{Frischgewicht})}$ pro Tag bestimmt wurden, ist es unwahrscheinlich, dass diese Emissionen anderen biogenen Quellen - wie z.B. epiphytischen Mikroalgen - als den untersuchten Algen entspringen. Die Annahme, dass Epiphyten und nicht die Makroalgen an sich für die Emission der detektierten Kohlenwasserstoffe verantwortlich sind, kann durch die Ergebnisse einer Laborstudie, welche 1983/84 in Massachusetts, USA durchgeführt wurde, ausgeschlossen werden (Gschwend et al., 1985). Die in dieser Studie untersuchten Epiphyten zeigten keinerlei Emissionen halogenierter Kohlenwasserstoffe. Zudem könnte aufgrund ihrer Größe und Besiedlungsdichte der Epiphyten deren Beitrag an halogenierten Verbindungen zu den

in der Nähe von Makroalgen gemessenen Emissionen nicht größer als 0,1 % sein und wäre damit nicht bedeutend.

5 Zusammenfassung

- Im Rahmen dieser Arbeit wurde gezeigt, dass sich Emissionsstudien mit Hilfe der Küvettentchnik gut für die Untersuchung der Biosynthese und des Emissionsverhaltens von Pflanzen eignen, ohne dass ein Aufschluss des Pflanzenmaterials nötig ist. Somit besteht mit dieser Technik die Möglichkeit, Emissionen unter weitestgehendem Ausschluss von verletzungsbedingtem Stress und eine dadurch hervorgerufene Beeinflussung des Emissionsverhaltens zu ermitteln.
- Es wurde eindeutig nachgewiesen, dass neben den Isoprenoiden der Gruppe der Monoterpene sowohl von *Pinus sylvestris* L. als auch von *Pinus nigra* L. Sesquiterpene und sauerstoffhaltige Kohlenwasserstoffe in einer beachtlichen Vielfalt emittiert werden. Diese dienen der Pflanze ebenso wie die Monoterpene als abwehrende Signalstoffe gegenüber Fraßfeinden. Neben dieser ökologischen Funktion der Kohlenwasserstoffe beeinflussen diese Emissionen die chemische Zusammensetzung der Erdatmosphäre.
- Durch die Anwendung verschiedener Algorithmen zur Emissionsberechnung wurde nachgewiesen, dass die Emission von Monoterpenen bei *P. sylvestris* primär durch die Temperatur bestimmt wird. Ein bedeutender Einfluss der Lichtintensität auf das Emissionsverhalten wurde über die Anwendung der Emissions-Modellierungsansätze nach Tingey & Manning (1980) und Guenther (1997) nicht gefunden.
- Die beobachtete jahreszeitliche Änderung der Standard-Emissionen deutet sehr auf eine physiologische Komponente in der Regulierung des Emissionsverhaltens bei *P. sylvestris* hin, die mit einer Änderung der Aktivität der an der Biosynthese beteiligten Terpen-Synthasen während der Vegetationsperiode erklärt werden kann.
- Die durchgeführten Hemmstoff-Versuche und die $^{13}\text{CO}_2$ -Inkubationen an Zweigen des Ginkgo-Baums ergaben Hinweise darauf, dass die Biosynthese einzelner Mono- und der Sesquiterpene bei *Ginkgo biloba* L. über verschiedene Synthese-Wege erfolgt. Beobachtet wurde, dass die Herabsetzung der Emission der Monoterpene α -Pinen, Sabinen, Myrcen und δ -3-Caren durch die Hemmung des plastidären MEP-Synthese-Wegs möglich ist. Die Hemmung ist allerdings nicht vollständig. Unter der Annahme, dass die eingesetzte Hemmstoffkonzentration ausreichend war ist zu vermuten, dass eine Verbindung des plastidären MEP-Synthese-Wegs und des

cytoplasmatischen Mevalonat-Weg besteht. Die erbrachten Ergebnisse deuten ausserdem darauf hin, dass Limonen in Ginkgo unabhängig von der Verfügbarkeit von DOXP vollständig über den cytoplasmatischen Mevalonat-Weg gebildet wird. Die beobachtete hohe Variabilität des Emissionsverhaltens der untersuchten Zweige erfordert in Zukunft eine deutlich grössere Stichprobenanzahl um gesicherte Aussagen zu erlangen.

- Die Versuche deuten ebenfalls darauf hin, dass Sesquiterpene bei *G. biloba* anteilig sowohl über den cytoplasmatischen Mevalonat-Synthese-Weg als auch über den plastidären MEP-Synthese-Weg gebildet werden. Emittierte Sesquiterpene wurden bei einer $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition deutlich, aber nicht vollständig, ^{13}C -markiert, was eine entsprechende Mitwirkung des plastidären MEP-Synthese-Wegs an der Synthese dieser Isoprenoide zu etwa 40 % wahrscheinlich macht.
- Bei Vertretern der Braunalgen-Gattung *Fucus* wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit keine Emissionen an Mono- und Sesquiterpenen gefunden. Diese ursprünglichen Organismen emittieren hingegen beachtliche Mengen an halogenierten Methan-Kohlenwasserstoffen und beeinflussen so bedeutend die Chemie der küstennahen Erdatmosphäre.

Teile der im Rahmen der Arbeit erzielten Ergebnisse sind in folgender Veröffentlichung zusammengefasst:

J.-P. SCHNITZLER, N. BAUKNECHT, N. BRÜGGEMANN, W. EINIG, R. FORKEL, R. HAMPP, A. C. HEIDEN, U. HEIZMANN, T. HOFFMANN, C. HOLZKE, L. JAEGER, M. KLAUER, M. KOMENDA, R. KOPPMANN, J. KREUZWIESER, H. MAYER, H. RENNENBERG, G. SMIA TEK, R. STEINBRECHER, J. WILDT, W. ZIMMER (2001) Emission of biogenic volatile organic compounds: An overview of field, laboratory and modelling studies performed during the 'Tropospheric Research Program' (TFS) 1997 – 2000. *Journal of Atmospheric Chemistry* (Im Druck).

6 Literaturverzeichnis

- Adam, K. P. und Zapp, J. (1998) Biosynthesis of the isoprene units of chamomile sesquiterpenes. *Phytochemistry* **48**: 953-959
- Adam, K.P.; Tiel, R.; Zapp, J. und Becker, H. (1998) Involvement of the mevalonic acid pathway and the glyceraldehyde-pyruvate pathway in terpenoid biosynthesis of the liverworts *Riccia carpus natans* and *Conocephalum conicum*. *Arch. Biochem. Biophys.* **354**: 181-187
- Baerns, M.; Hofmann, H. und Renken, A. (1992) Chemische Reaktionstechnik. In: Lehrbuch der Technischen Chemie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- Benjamin, M.T.; Sudol, M.; Bloch, L. und Winer, A.M. (1996) The BEMA-project: Low-emitting urban forests: A taxonomic methodology for assigning isoprene and monoterpene emission rates. *Atmos. Environ.* **30**: 1437-1452
- Bohlmann, J.; Steele, C. L. und Croteau, R. (1997) Monoterpene Synthases from Grand Fir (*Abies grandis*). *Journal of Biological Chemistry* **272**: 21784-21792
- Bohlmann, J.; Crock, J.; Jetter, R. und Croteau, R. (1998) Terpenoid-based defenses in conifers: cDNA cloning, characterization, and functional expression of wound-inducible (E)-alpha-bisabolene synthase from grand fir (*Abies grandis*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**: 6756-6761
- Bohlmann, J.; Meyer-Gauen, G. und Croteau, R. (1998) Plant terpenoid synthases: Molecular biology and phylogenetic analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**: 4126-4133
- Bowers, W.S. (1991) Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites. In: Herbivores. eds: G.A. Rosenthal; M.R. Berenbaum, Academic, San Diego. Seiten 431-456
- Braithwaite, G.D, und Goodwin, T.W. (1960) Studies in carotenogenesis 27. The incorporation of [2-¹⁴C]acetate, DL-[2-¹⁴C]mevalonate and ¹⁴CO₂ into carrot-root preparations.. *Biochem. J.* **76**: 194-197
- Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (1990) Bundeswaldinventur 1986-1990. Bonn, BRD
- Carpenter, L. J.; Sturges, W. T.; Penkett, S. A.; Liss, P. S.; Alicke, B.; Hebestreit, K. und Platt, U. (1999) Short-lived alkyl iodides and bromides at Mace Head, Ireland: Links to biogenic sources and halogen oxide production. *J. Geophys. Res.* **104**: 1679-1689
- Chung, K.L. (1978) Elementare Wahrscheinlichkeitstheorie und stochastische Prozesse. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Class, T. und Ballschmitter, K. (1987) Chemistry of organic traces in air. 9: Evidence of natural marine sources of chloroform in regions of high primary production. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **327**: 39-40

- Connolly, J.D. und Hill, R.A. (1991) Dictionary of Terpenoids. Chapman and Hall, London.
- Corchnoy, S. B.; Arey, J. und Atkinson, R. (1992) Hydrocarbon Emissions from twelve Urban Shade Trees of the Los- Angeles, California, Air Basin. *Atmos. Environ.* **26**: 339-348
- Croteau, R.; Satterwhite, D.M.; Cane, D.E. und Chang, C.C. (1988) Biosynthesis of monoterpenes - enantioselectivity in the enzymatic cyclization of (+)- and (-)-linalyl pyrophosphate to (+)- and (-)- α -pinene and (+)- and (-)-camphene. *J. Biochem. Chem.* **263**: 10063-10071
- Croteau, R. (1993) Biosynthesis of limonene in *Mentha* species. In: Progress in Flavor Precursor Studies: Analysis, Generation, Biotechnology. eds: P Schreier, P Winterhalter Allured Publishing Co, Wheaton, IL, Seiten 113–122
- Csiky, O. und Seufert, G. (1999) Terpenoid biosynthesis of Mediterranean oaks and their relation to taxonomy. *Ecol. Appl.* **9**: 1138-1146
- Davies, N.W. (1990) Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *J. Chromatogr.* **503**: 1-24
- Delwiche, C.F. und Sharkey, T.D. (1993) Rapid appearance of ^{13}C in biogenic isoprene when $^{13}\text{CO}_2$ is fed to intact leaves. *Plant Cell Environ.* **16**: 587-591
- Devon, T.K. und Scott, A.I. (1972) Terpenes. In: Handbook of Naturally Occuring Compounds. Academic Press, New York.
- Disch, A.; Schwender, J.; Müller, C.; Lichtenthaler, H. K. und Rohmer, M. (1998) Distribution of the mevalonate and glyceraldehyde phosphate/pyruvate pathways for isoprenoid biosynthesis in unicellular algae and the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6714. *Biochem. J.* **333**: 381-388
- Dorf, E. (1958) The geological distribution of the Ginkgo family. *Bull. Wagner Inst. Sci. Phila.* **33**: 1-10
- Ehhalt, D.H.; Rudolph, J. und Schmidt, U. (1986) On the importance of light hydrocarbons in the multiphase atmospheric systems. In: Chemistry of Multiphase Atmospheric Systems. ed: W. Jaeschke, NATO ASI Series, Springer-Verlag, Berlin. Seiten 321-350
- Enders, G.; Dlugi, R.; Steinbrecher, R.; Clement, B.; Daiber, R.; Euk, J. v.; Gäb, S.; Haziza, M.; Helas, G.; Herrmann, U.; Kessel, M.; Kesselmeier, J.; Kotzias, D.; Kourtidis, K.; Kurth, H.-H.; McMillen, R.T.; Roider, G.; Schürmann, W.; Teichmann, U. und Torres, L. (1992) Biosphere/atmosphere interactions: Integrated research in a european forest ecosystem. *Atmos. Environ.* **26A**: 171-189
- Fall, R. und Monson, R.K. (1992) Isoprene emission rate and intercellular isoprene concentration as influenced by stomatal distribution and conductance. *Plant Physiol.* **100**: 987-992

- Fang, C.; Monson, R. K. und Cowling, E. B. (1996) Isoprene emission, photosynthesis, and growth in sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) seedlings exposed to short- and long-term drying cycles. *Tree Physiology* **16**: 441-446
- Fehsenfeld, F.; Calvert, J.; Fall, R.; Goldan, P.; Guenther, A.B.; Hewitt, C.N.; Lamb, B.; Liu, S.; Trainer, M.; Westberg, H. und Zimmerman, P. (1992) Emissions of volatile organic compounds from vegetation and the implications for atmospheric chemistry. *Global Biogeochem. Cycles* **6**: 389-430
- Fellenmeier, M.; Kis, K.; Sagner, S.; Maier, U.; Bacher, A. und Zenk, M.H. (1999) Cell-free conversion of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate and 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate into β -carotene in higher plants and its inhibition by fosmidomycin. *Tetrahedron Lett.* **40**: 2743-2746
- Fischbach, R.; Staudt, M.; Zimmer, I.; Rambal, S.; Steinbrecher, R. und Schnitzler, J.-P. (2001) Seasonal fluctuations of monoterpene synthase activities in evergreen leaves of holm oak (*Quercus ilex* L.) and Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Plant Cell Environ* eingereicht
- Fogelqvist, E. (1985) Carbon tetrachloride, tetrachloroethylene, 1,1,1-trichloroethane and bromoform in arctic seawater. *J. Geophys. Res.* **90**: 9181-9193
- Gershenzon, J. und Croteau, R. (1990) Regulation of monoterpene biosynthesis in higher plants. *Recent Adv. Phytochem.* **24**: 99-160
- Giese, B.; Laturnus, F.; Adams, F.C. und Wiencke, C. (1999) Release of volatile iodinated C₁-C₄ hydrocarbons by marine macroalgae from various climate zones. *Environ. Sci. Technol.* **33**: 2432-2439
- Glasby, J.S. (1982) *Encyclopaedia of the Terpenoids*. John Wiley and sons, Chichester, England.
- Goodwin, T.W. (1958) Incorporation of ¹⁴CO₂, [2-¹⁴C]acetate and [2-¹⁴C]mevalonic acid into β -carotene by etiolated maize seedlings. *Biochem. J.* **68**: 26-27
- Goodwin, T.W. (1958) Studies in carotenogenesis 25. The incorporation of ¹⁴CO₂, [2-¹⁴C]acetate and [2-¹⁴C]mevalonic acid into β -carotene by illuminated etiolated maize seedlings. *Biochem. J.* **70**: 612-617
- Gschwend, P.M. und MacFarlane, J.K. (1985) Polybromomethanes - A year-round study of their release to seawater from *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. *Org. Mar. Geochem.* **18**: 314-322
- Gschwend, P.M.; MacFarlane, J.K. und Newman, K.A. (1985) Volatile halogenated organic compounds released to seawater from temperate marine macroalgae. *Science* **227**: 1033-1035
- Guenther, A. (1997) Seasonal and spatial variations in natural volatile organic compound emissions. *Ecological Applications* **7**: 34-45

- Guenther, A. (1999) Modeling biogenic volatile organic compound emissions to the atmosphere. In: Reactive hydrocarbons in the atmosphere. ed: N. Hewitt, Academic Press, London. Seiten 98-119
- Guenther, A.; Monson, R.K. und Fall, R. (1991) Isoprene and monoterpene emission rate variability: Observations with Eucalyptus and emission rate algorithm development. *J. Geophys. Res.* **96**: 10799-10808
- Guenther, A.; Hewitt, C.N.; Erickson, D.; Fall, R.; Geron, C.; Graedel, T.; Harley, P.; Klinger, L.; Lerdau, M.; McKay, W.A.; Pierce, T.; Scholes, B.; Steinbrecher, R.; Tallamraju, R.; Taylor, J. und Zimmerman, P. (1995) A global model of natural volatile organic compound emissions. *J. Geophys. Res.* **100**: 8873-8892
- Guenther, A.; Zimmerman, P.; Klinger, L.; Greenberg, J.; Ennis, C.; Davies, K.; Pollock, W.; Westberg, H.; Allwine, G. und Geron, C. (1996) Estimates of regional natural volatile organic compound fluxes from enclosure and ambient measurements. *J. Geophys. Res.* **101**: 1345-1359
- Guenther, A. B.; Zimmerman, P. R.; Harley, P. C.; Monson, R. K. und Fall, R. (1993) Isoprene and Monoterpene Emission Rate Variability - Model Evaluations and Sensitivity Analyses. *J. Geophys. Res.* **98**: 12609-12617
- Haataja, J.; Aalto, P.; Altimir, N.; Buzorius, G.; Garam, E.; Hemeri, K.; Ilvesniemi, H.; Jokinen, V.; Keronen, P.; Lahti, T.; Markkanen, T.; Mekele, J. M.; Nikinmaa, E.; Palmroth, S.; Palva, L.; Pohja, T.; Pumpanen, J.; Rannik, U.; Siivola, E. und Vesala, H. Ylita T. (1999) Long-term field measurements of atmosphere-surface interactions in boreal forest combining forest ecology, micrometeorology, aerosol physics and atmospheric chemistry. *Trends in Heat, Mass & Momentum Transfer* **4**: 17-35
- Hagen, C. und Grünewald, K. (2000) Fosmidomycin as an inhibitor of the nonmevalonate terpenoid pathway depresses synthesis of secondary carotenoids in flagellates of the green alga *Haematococcus pluvialis*. *J. Appl. Botany* **74**: 137-140
- Harborne, J.B. (1991) Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids. In: Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids. eds: J.B. Harborne; F.A. Tomas-Barberan, Clarendon Press, Oxford. Seiten 399-426
- Hauff, K.; Rössler, J.; Hakola, H. und Steinbrecher, R. (1999) Isoprenoid emission in the European boreal forests. In: proceedings of EUROTRAC symposium 98. eds: P.M. Borrell; P. Borrell, WITpress, Southampton, Boston. Seiten 97-102
- Hill, R.E.; Himmeldirk, K.; Kennedy, I.A.; Pauloski, R.M.; Sayer, B.G.; Wolf, E. und Spenser, I.D. (1996) The biogenic anatomy of vitamin B6. A ¹³C NMR investigation of the biosynthesis of pyridoxol in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **271**: 30426-30435

- Hiltunen, R. (1975) Variation and inheritance of some monoterpenes in *Pinus sylvestris*. *Planta Med.* **28**: 315-323
- Hiltunen, R.; Juvonen, S. und Tigerstedt, P. (1975) Geographical variation in some monoterpenes in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Finland. *Farm. Aikak.* **84**: 73-82
- Hoffmann, T. (1992) Entwicklung eines Verfahrens zur Messung luftgetragener biogener Kohlenwasserstoffe und seine Anwendung zur Untersuchung von Emission und Abbau von Terpenen in Waldbeständen. *Dissertation Universität Dortmund*
- Ingestad, T. (1959) Studies on the nutrition of forest tree seedlings. II. Mineralnutrition of spruce. *Physiol. Plant.* **12**: 568-593
- Isidorov, V. A.; Zenkevich, I. G. und Ioffe, B. V. (1985) Volatile organic compounds in the atmosphere of forests. *Atmos. Environ.* **19**: 1-8
- Janson, R. (1992) Monoterpene Concentrations in and Above a Forest of Scots Pine. *J. Atmos. Chem.* **14**: 385-394
- Janson, R. und De Serves, C. (1999) Emissions of biogenic VOCs from boreal ecosystems. In: Biogenic VOC emissions and photochemistry in the boreal regions of Europe - BIPHOREP. eds: European commission, Laurila, T.; Lindfors, V., Helsinki. Seiten 45-55
- Janson, R. W. (1993) Monoterpene Emissions from Scots Pine and Norwegian Spruce. *J. Geophys. Res.* **98**: 2839-2850
- Jomaa, H.; Wiesner, J.; Sanderbrand, S.; Altincicek, B.; Weidemeyer, C.; Hintz, M.; Türbachova, I.; Eberl, M.; Zeidler, J.; Lichtenthaler, H.K.; Soldati, D. und Beck, E. (1999) Inhibitors of the nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs. *Science* **285**: 1573-1576
- Juvonen, S. (1966) Über die Terpenbiosynthese beeinflussenden Faktoren in *Pinus sylvestris* L.. *Diss., Acta Bot. Fenn.* **71**: 1-92
- Kahl, J. (1997) Labor- und Feldstudien zur Emission biogener Kohlenwasserstoffe von ausgewählten europäischen Pflanzenarten. *Dissertation Universität Dortmund*
- Kempf, K.; Allwine, E.; Westberg, H.; Claiborn, C. und Lamb, B. (1996) Hydrocarbon emissions from spruce species using environmental chamber and enclosure methods. *Atmos. Environ.* **30**: 1381-1389
- Kesselmeier, L. und Staudt, M. (1999) Biogenic volatile organic compounds (VOC): An overview on emission, physiology and ecology. *J. Atmos. Chem.* **33**: 23-88
- Khalil, M. A. K. und Rasmussen, R.A. (1992) Forest hydrocarbon emissions: Relationship between fluxes and ambient concentrations. *J. Air Waste Managem. Assoc.* **42**: 810-813

- Kirschbaum, M.U.F.; Küppers, M.; Schneider, H.; Giersch, C. und Noe, S. (1998) Modelling photosynthesis in fluctuating light with inclusion of stomatal conductance, biochemical activation and pools of photosynthetic intermediates. *Planta* **204**: 16-26
- Klick, S. (1992) Seasonal variations of biogenic and anthropogenic halocarbons in seawater from coastal site. *Limnol. Oceanogr.* **37**: 1579-1585
- Koenig, G.; Brunda, M.; Puxbaum, H.; Hewitt, C.N.; Duckham, S.C. und Rudolph, J. (1995) Relative contribution of oxygenated hydrocarbons to the total biogenic VOC emissions of selected Mid-European agricultural and natural plant species. *Atmos. Environ.* **29**: 861-874
- Komenda, M. und Koppmann, R. (2000) Monoterpene emissions from Scots pine (*Pinus sylvestris*): Field studies of emission rate variabilities. *J. Geophys. Res.*, eingereicht
- Kovats, E. sz. (1958) 206. Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. *Helv. Chim. Acta* **41**: 1915-1932
- Kuzma, J. und Fall, R. (1993) Leaf isoprene emission rate is dependent on leaf development and the level of isoprene synthase. *Plant Physiol.* **101**: 435-440
- Kuzuyama, T.; Shimizu, T.; Takahashi, S. und Seto, H. (1998) Fosmidomycin, a specific inhibitor of 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase in the nonmevalonate pathway for terpenoid biosynthesis. *Tetrahedron Lett.* **39**: 7913-7916
- Lamb, B.; Guenther, A.; Gay, D. und Westberg, H. (1987) A national inventory of biogenic hydrocarbon emissions. *Atmos. Environ.* **21**: 1695-1705
- Lamb, B.; Gay, D.; Westberg, H. und Pierce, T. (1993) A biogenic hydrocarbon emission inventory for the USA using a simple forest canopy model. *Atmos. Environ.* **27**: 1673-1690
- Larsson, S. und Tenow, O. (1980) Needle-eating insects and grazing dynamics in a mature Scots pine forest in central Sweden, Structure and Function of Northern Coniferous Forests-An Ecosystem Study. In: *Ecol. Bull.* ed: T. Persson, Swed. Nat. Sci. Res. Council., Stockholm. Seiten 269-306
- Lehning, A.; Zimmer, I.; Steinbrecher, R.; Brüggemann, N. und Schnitzler, J.-P. (1999) Isoprene synthase activity and its relation to isoprene emission in *Quercus robur* L. leaves. *Plant Cell Environ.* **22**: 494-505
- Lehning, A.; Zimmer, W.; Zimmer, I. und Schnitzler, J.-P. (2001) Modeling of annual variations of oak (*Quercus robur* L.) isoprene synthase activity to predict isoprene emission rates. *J. Geophys. Res.* in Druck
- Lerdau, M.; Dilts, S.B.; Westberg, H.; Lamb, B.K. und Allwine, E.J. (1994) Monoterpene emission from ponderosa pine. *J. Geophys. Res.* **99**: 16609-16615

- Lichtenthaler, H.K. (1993) The plant prenylipids including carotenoids, chlorophylls, and prenylquinones. *Eur. J. Biochem.* **244**: 427-470
- Lichtenthaler, H.K. (1999) The 1-Deoxy-D-Xylulose-5-Phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **50**: 47-65
- Lichtenthaler, H.K.; Schwender, J.; Disch, A. und Rohmer, M. (1997a) Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via a mevalonate-independent pathway. *FEBS Letters* **400**: 271-274
- Lichtenthaler, H.K.; Rohmer, M. und Schwender, J. (1997b) Two independent biochemical pathways for isopentenyl diphosphate and isoprenoid biosynthesis in higher plants. *Physiol. Plant.* **101**: 643-652
- Loreto, F.; Ciccioli, P.; Cecinato, A.; Brancaleoni, E.; Frattoni, M.; Fabozzi, C. und Tricoli, D. (1996) Evidence of the photosynthetic origin of monoterpenes emitted by *Quercus ilex* L. leaves by ¹³C labeling. *Plant Physiol.* **110**: 1317-1322
- Loreto, F.; Forster, A.; Durr, M.; Csiky, O. und Seufert, G. (1998) On the monoterpene emission under heat stress and on the increased thermotolerance of leaves of *Quercus ilex* L. fumigated with selected monoterpenes. *Plant Cell Environ.* **21**: 101-107
- Loughrin, J.H.; Manukian, A.; Heath, R.R.; Turlings, T.C.J. und Tumlinson, J.H. (1994) Diurnal cycle of emission of induced volatile terpenoids by herbivore-injured cotton plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 11836-11840
- Manley, S.L. und Chapman, D.J. (1979) Metabolism of L-tyrosine to 4-hydroxybenzaldehyde and 3-bromo-4-benzaldehyde by chloroplast-containing fractions of *Odonthalia floccosa* (Esp.) Falk.. *Plant Physiol.* **64**: 1032-1038
- McCaskill, D. und Croteau, R. (1995) Monoterpene and sesquiterpene biosynthesis in glandular trichomes of peppermint (*Mentha xpiperita*) rely exclusively on plastid-derived isopentenyl diphosphate. *Planta* **197**: 49-56
- McConnell, O.J. und Fenical, W. (1979) Antimicrobial agents from marine red algae of the family Bonnemaisoniaceae. In: *Marine Algae in Pharmaceutical Science*. eds: A.H. Hoppe; T. Levring; Y. Tanaka, Walter de Gruyter, Berlin, New York. Seiten 403-427
- Mettal, U.; Boland, W.; Beyer, P. und Kleinig, H. (1988) Biosynthesis of monoterpene hydrocarbons by isolated chromoplasts from daffodilflowers. *Eur. J. Biochem.* **170**: 613-616
- Monson, R.K.; Jaeger, C.H.; Adams, W.W.; Driggers, E.M.; Silver, G.M. und Fall, R. (1992) Relationship among isoprene emission rate, photosynthesis, and isoprene synthase activity as influenced by temperature. *Plant Physiol.* **98**: 1175-1180

- Monson, R.K.; Harley, P.C.; Litvak, M.E.; Wildermuth, M.; Guenther, A.B.; Zimmerman, P.R. und Fall, R. (1994) Environmental and developmental controls over the seasonal pattern of isoprene emission from aspen leaves. *Oecologia* **99**: 260-270
- Monson, R.K.; Lerdau, M.T.; Sharkey, T.D.; Schimel, D.S. und Fall, R. (1995) Biological aspects of constructing volatile organic compound emission inventories. *Atmos. Environ.* **29**: 2989-3002
- Moore, R.M. und Tokarczyk, R. (1993) Volatile biogenic halocarbons in the Northwest Atlantic. *Global Biogeochemical Cycles* **7**: 195-210
- Mtolera, M.S.P.; Collen, J.; Pedersen, M.; Ekdahl, A.; Abrahamsson, K. und Semesi, A.K. (1996) Stress-induced production of volatile halogenated organic compounds in *Eucheuma denticulatum* (Rhodophyta) caused by elevated pH and high light intensities. *Euro. J. Phyco.* **31**: 89-95
- Müller, J. F. (1992) Geographical Distribution and Seasonal Variation of Surface Emissions and Deposition Velocities of Atmospheric Trace Gases. *J. Geophys. Res.* **97**: 3787-3804
- Nabeta, K.; Ishikawa, T. und Okuyama, H. (1995) Sesqui- and Diterpene biosynthesis from ^{13}C -labeled acetate and mevalonate in cultured cells of *Heteroscyphus planus*. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.* **1**: 3111-3115
- Nabeta, K.; Kawae, T.; Saitoh, T. und Kikuchi, T. (1997) Synthesis of chlorophyll a and β -carotene from ^2H and ^{13}C -labeled mevalonate and ^{13}C -labeled glycine in cultured cells of liverworts *Heteroscyphus planus* and *Lophocolea heterophylla*. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.* **1**: 261-267
- Oliveira, L. und Bisalputra, T. (1976) Studies in the brown alga *Ectocarpus* in culture: Ultrastructural localization of enzyme activities. *Can. J. Bot.* **54**: 913-922
- Pare, P.W. und Tumlinson, J.H. (1997) Induced synthesis of plant volatiles. *Nature* **38**: 30-31
- Paulson, S. E. und Seinfeld, J. H. (1992) Development and Evaluation of a Photooxidation Mechanism for Isoprene. *J. Geophys. Res.* **97**: 20703-20715
- Pedersen, M.; Saenger, P.; Rowan, K.S. und v. Hofsten, A.V. (1979) Bromine, bromophenols and floridorubin in the red alga *Lenormandia prolifera*. *Physiol. Plant.* **46**: 121-126
- Pedersen, M.; Roomans, G.M.; Westlund, P. und v. Hofsten, A.V. (1980) X-ray microanalysis of marine algae. *Scanning Electron Microscopy II*: 565-574
- Pedersen, M.; Roomans, G.M. und v. Hofsten, A.V. (1981) Bromine in the cuticle of *Polysiphonia nigrescens*. Localization and content. *J. Phycol.* **17**: 105-108
- Peterer, J. und Körner, C. (1990) Das Problem der Bezugsgröße bei physiologisch-ökologischen Untersuchungen an Konifernadeln. *Forstwissenschaftliches Zentralblatt* **109**: 220-241

- Peterson, E. W. und Tingey, D. T. (1980) An estimate of the possible contribution of biogenic sources to airborne hydrocarbon concentrations. *Atmos. Environ.* **14**: 79-81
- Piel, J.; Donath, J.; Bandemer, K. und Boland, W. (1998) Mevalonate-independent biosynthesis of terpenoid volatiles in plants: Induced and constitutive emission of volatiles. *Angewandte Chemie - International Edition* **37**: 2478-2481
- Pio, C.A.; Nunes, T.V. und Brito, S. (1993) Volatile hydrocarbon emissions from common and native species of vegetation in Portugal. In: Air Pollution Report. G. Angeletti & B. Belice, ed: J. Slanina, Gyot, Brussels. Seiten 291-298
- Reif, A. (1996) Vegetation der Trockenaue am Oberrhein zwischen Müllheim und Breisach. *Berichte der naturforschenden Gesellschaft zu Freiburg i. Br.* **84/85**: 81-150
- Ross, H.B. und De Serves, C. (1991) Terpenes and forest decline. *Nature* **352**: 672
- Ruzicka, L. (1953) The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. *Experientia* **9**: 357-367
- Schindler, T. und Kotzias, D. (1989) Comparison monoterpene volatilization and leaf-oil composition of conifers. *Naturwissenschaften* **76**: 475-476
- Schnitzler, J.P.; Lehning, A. und Steinbrecher, R. (1997) Seasonal pattern of isoprene synthase activity in *Quercus robur* leaves and its significance for modelling isoprene emission rates. *Bot. Acta* **110**: 240-243
- Schuh, G.; Heiden, A.C.; Hoffmann, T.; Kahl, J.; Rockel, P.; Rudolph, J. und Wildt, J. (1997) Emission of volatile organic compounds from sunflower and beech; Dependence on temperature and light intensity. *J. Atmos. Chem.* **27**: 291-318
- Schürmann, W.; Ziegler, H.; Kotzias, D.; Schönwitz, R. und Steinbrecher, R. (1993) Emission of biosynthesized monoterpenes from needles of Norway spruce. *Naturwissenschaften* **80**: 276-278
- Schwarz, M.K. (1994) Terpenbiosynthese in *Ginkgo biloba*. *Dissertation, Eidgenöss. Tech. Hochschule, Zürich*
- Schwender, J.; Seemann, M.; Lichtenthaler, H.K. und Rohmer, M. (1996) Biosynthesis of isoprenoids (carotenoids, sterols, prenyl side-chains of chlorophylls and plastoquinone) via a novel pyruvate/glyceraldehyde 3-phosphate non-mevalonate pathway in the green alga *Scenedesmus obliquus*. *Biochem. J.* **316**: 73-80
- Schwender, J.; Müller, C.; Zeidler, J. und Lichtenthaler, H. K. (1999) Cloning and heterologous expression of a cDNA encoding 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase of *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* **455**: 140-144
- Shao, M.; v. Czapiewski, K.; Heiden, A.C.; Kobel, K.; Komenda, M.; Koppmann, R. und Wildt, J. (2000) VOC emissions from Scots pine: Dependence on temperature and light intensity, season, and stress effects. *J. Geophys. Res., eingereicht*

- Sharkey, T. D.; Chen, X. und Yeh, S. (2001) Isoprene increases thermotolerance of Fosmidomycin-fed leaves. *Plant Physiol.* **125**: 2001-2006
- Sidorovich, E. A.; Rupasova, Z. A.; Bus'ko, E. G.; Alekhno, A. I. und Kozyr, O. S. (1985) Effect of anthropogenic factors on the chemical behavior of atmospheric precipitation in forest plant communities. *Dokl. Akad. Nauk BSSR* **29**: 162-165
- Simon, V.; Clement, B.; Riba, M.-L. und Torres, L. (1994) The Landes experiment: Monoterpenes emitted from the maritime pine. *J. Geophys. Res.* **99**: 16501-16510
- Sprenger, G.A.; Schörken, U.; Wiegert, T.; Grolle, S.; de Graaf, A.A.; Taylor, S.V.; Begley, T.P.; Bringer-Meyer, S. und Sahm, H. (1997) Identification of a thiamin-dependent synthase in *Escherichia coli* required for the formation of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate precursor to isoprenoids, thiamin, and pyridoxol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 12857-12862
- Staudt, M. (1997) Untersuchungen der Monoterpen-Abgabe an europäischen Nadelbaumarten in Abhängigkeit von Umweltfaktoren; . In: Documenta Naturae . eds: Fak II, Hrsg. Gregor, H.J. *Dissertation Universität Hohenheim*; H.J. Unger, Verlag Documenta naturae, München.
- Staudt, M. und Bertin, N. (1998) Light and temperature dependence of the emission of cyclic and acyclic monoterpenes from holm oak (*Quercus ilex* L.) leaves. *Plant Cell and Environment* **21**: 385-395
- Staudt, M.; Seufert, G.; Kotzias, D.; Sparta, C. und Ciccioli, P. (1993) Holm oak (*Quercus ilex*) - a strong emitter of monoterpenes. In: Proceedings of the 1st Italian Symp. on the Strategies and Techniques for the Monitoring of the Atmosphere Rome. ed: P. Ciccioli, Societa Chimica Italiana, Rome. Seiten 579-586
- Staudt, M.; Bertin, N.; Hansen, U.; Seufert, G.; Ciccioli, P.; Foster, P.; Frenzel, B. und Fugit, J.-L. (1997) The BEMA-project: Seasonal and diurnal patterns of monoterpene emissions from *Pinus pinea* (L.). *Atmos. Environ.* **31**: 145-156
- Steele, C. L.; Katoh, S.; Bohlmann, J. und Croteau, R. (1998) Regulation of Oleoresinosis in Grand Fir (*Abies grandis*). *Plant Physiol.* **116**: 1497-1504
- Steinbrecher, R. (1989) Gehalt und Emission von Monoterpenen in oberirdischen Organen von *Picea abies* (L.) Karst.. *Dissertation Technische Universität München*
- Steinbrecher, R.; Schürmann, W.; Schönwitz, R.; Eichstädter, G. und Ziegler, H. (1990) Volatile monoterpenes in a spruce (*Picea abies* [L.] Karst.): Sources and mechanism of emission and behavior in the atmosphere. In: Transport and Transformation of Pollutants in the Troposphere: Proceedings Of EUROTRAC Symposium '90 Garmisch-Partenkirchen. eds: P. Borell; P.M. Borell; W. Seiler, Seiten 221-224

- Steinbrecher, R.; Hauff, K.; Rabong, R. und Steinbrecher, J. (1997) Isoprenoid emission of oak species typical for the Mediterranean area: Source strength and controlling variables. *Atmos. Environ.* **31**: 79-88
- Steinbrecher, R.; Hauff, K.; Hakola, H. und Roessler, J. (1999) A revised parameterisation for emission modelling of isoprenoids for boreal plants. In: Biogenic VOC Emission and Photochemistry in the boreal regions of Europe. eds: European commission, Laurila, T.; Lindfors, V., Helsinki., Seiten 29-43
- Strasburger, E.; Noll, F.; Schenk, H. und Schimper, A.F.W. (1991) Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. eds: Sitte, P.; Ziegler, H.; Ehrendorfer, F.; Bresinsky, A., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- Street, R.A.; Owen, S.; Duckham, C.; Boissard, C. und Hewitt, C.N. (1997) The BEMA-project: Effekt of habitat and age on variations in emissions from *Quercus ilex* and *Pinus pinea*. *Atmos. Environ.* **31**: 89-100
- Therisod, M.; Fischer, J.C. und Estramareix, B. (1981) The origin of the carbon chain in the thiazole moiety of thiamin in *Escherichia coli*: incorporation of deuterated 1-deoxy-D-threo-2-pentulose. *Biophys. Res. Commun.* **98**: 374-379
- Thompson, A.M. (1992) The Oxidizing Capacity of the Earth's Atmosphere - Probable Past and Future Changes. *Science* **256**: 1157-1165
- Tingey, D. T. (1981) The effect of environmental factors on the emission of biogenic hydrocarbons from live oak and slash pine. In: Atmos. Biog. Hydrocarbons. eds: Joseph J. Bufalini; Robert R. Arnts, Ann Arbor Sci.: Ann Arbor, Michigan. Seiten 53-79
- Tingey, D.T. und Manning, M. (1980) The influence of light and temperature on monoterpene emission rates from slash pine. *Plant. Physiol.* **65**: 797-801
- Tralau, H. (1968) Evolutionary trends in the genus *Ginkgo*. *Lathalia* **1**: 89-91
- v. Hofsten, A. und Pedersen, M. (1980) Bromine location in the red alga *Odonthalia dentata*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* **96**: 115-122
- Vogt, R.; Sander, R.; Vonglasow, R. und Crutzen, P. J. (1999) Iodine chemistry and its role in halogen activation and ozone loss in the marine boundary layer: A model study. *J. Atmos. Chem.* **32**: 375-395
- Waengberg, I.; Barnes, I. und Becker, K.H. (1997) Product and mechanistic study of the reaction of NO₃ radicals with alpha-pinene. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 2130-2135
- Went, F.W. (1960) Blue hazes in the atmosphere. *Nature* **187**: 641-643
- Wever, R.; Tromp, M.G.M.; Krenn, B.E.; Marjani, A. und van Tol, M. (1991) Brominating activity of the seaweed *Ascophyllum nodosum*: impact on the biosphere. *Environ. Sci. Technol.* **25**: 446-449
- Winer, A. M.; Arey, J.; Atkinson, R.; Aschmann, S. M.; Long, W. D.; Morrison, C. L. und Olszyk, D. M. (1992) Emission Rates of Organics from Vegetation in California's Central Valley. *Atmos. Environ.* **26**: 2647-2659

- Yatagai, M.; Ohira, M.; Ohira, T. und Nagai, S. **(1995)** Seasonal variations of terpene emission from trees and influence of temperature, light and contact stimulation on terpene emission. *Chemosphere* **30**: 1137-1149
- Yokouchi, Y. und Ambe, Y. **(1984)** Factors affecting the emission of monoterpenes from Red pine (*Pinus densiflora*). *Plant Physiol.* **75**: 1009-1012
- Zeidler, J.; Schwender, J.; Müller, C.; Wiesner, J.; Weidemeyer, C.; Beck, E.; Jomaa, H. und Lichtenthaler, H. K. **(1998)** Inhibition of the non-mevalonate 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of plant isoprenoid biosynthesis by fosmidomycin. *Z. Naturforsch.* **53c**: 980-986
- Zimmer, W.; Brüggemann, N.; Emeis, S.; Giersch, C.; Lehning, A.; Steinbrecher, R. und Schnitzler, J.-P. **(2000)** Process-based modelling of isoprene emission by oak leaves. *Plant Cell Environ.* **23**: 585-595

7 Anhang

Strukturformeln der untersuchten Verbindungen

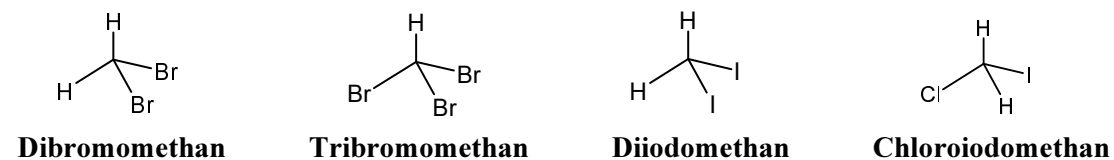


Abb. 35: halogenierte Kohlenwasserstoffe

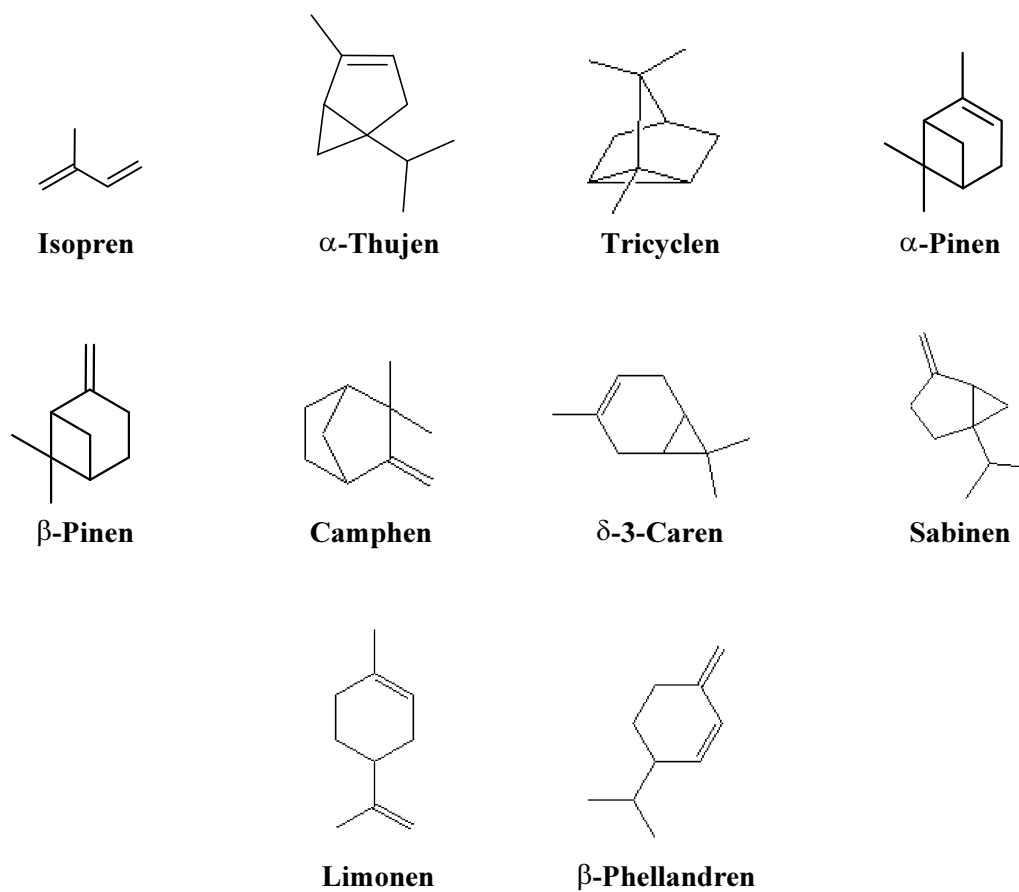
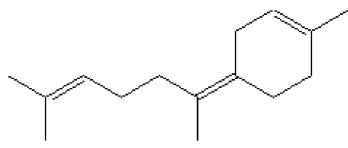
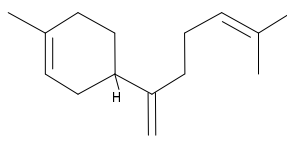
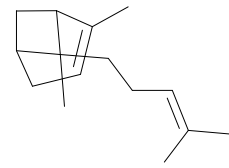
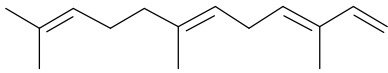
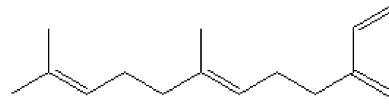
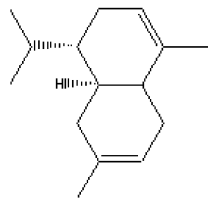
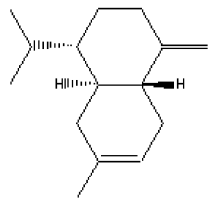
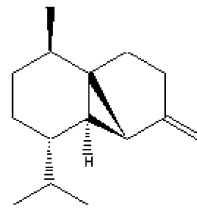
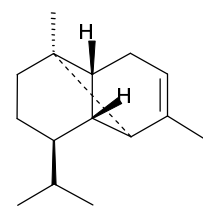
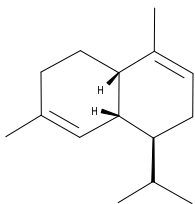
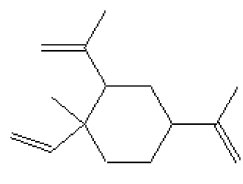
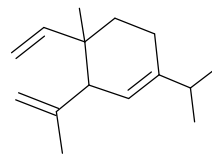
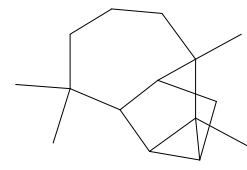
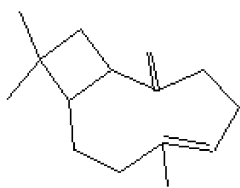
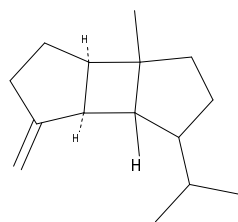
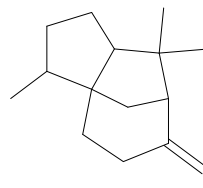
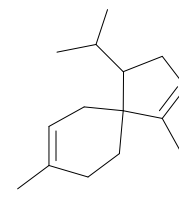
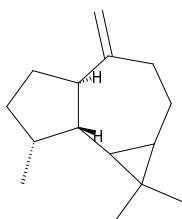
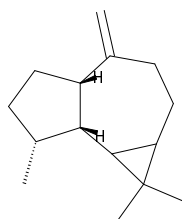
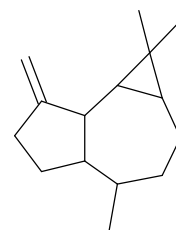
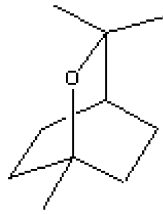
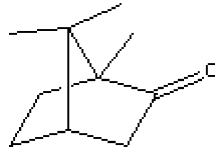
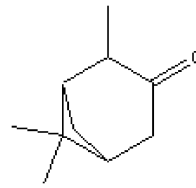
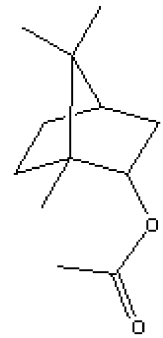
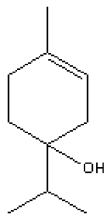
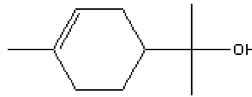
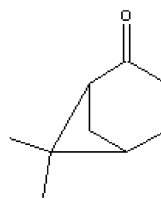
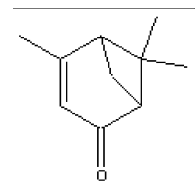
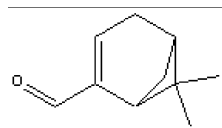
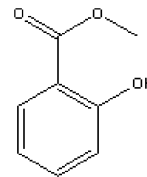


Abb. 36: Isopren und Monoterpene

***trans*-α-Bisabolen****β-Bisabolen*****cis*-α-Bergamoten****α-Farnesen****β-Farnesen****δ-Cadinen****γ-Cadinen****β-Cubeben****α-Ylangen****α-Muurolen****β-Elemen****δ-Elemen****Longicyclen****β-Caryophyllen****β-Bourbonen****β-Cedren****Acoradien****Aromadendren****Alloaromadendren****β-Gurjunen****Abb. 37: Sesquiterpene**

**1,8-Cineol****Kampfer****3-Pinanon****Bornylacetat****4-Terpineol** **α -Terpineol****Nopinon****Verbenon****Myrtenal****Methylsalicylat****Abb. 38: sauerstoffhaltige Verbindungen**

Danksagung

PD Dr. Thorsten Hoffmann danke ich für die gute Betreuung der Arbeit am Institut für Spektrochemie, Dortmund.

Meinem Doktorvater PD Dr. Wolfgang Zimmer danke ich für die freundliche Anteilnahme am Fortgang der Arbeit und für die vielen guten Anregungen zur Verfassung der Dissertation.

Prof. Dr. G. Weissenböck danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Mein besonderer Dank gilt Rolf Bandur vom ISAS, der mich sowohl im Labor als auch bei den Feldkampagnen tatkräftig unterstützt hat.

Im IFU danke ich besonders Reiner Steinbrecher und Maurice Habram für die Unterstützung in der Durchführung der Versuche und für die Hilfe bei der Analytik.

Danken möchte ich auch meinen Doktoranden-Kollegen, insbesondere Jörg Spanke, der u.a. die Probenahme-Einheiten entwickelt und zur Verfügung gestellt hat.

Für ein sehr gutes Arbeitsklima danke ich den Kollegen im ISAS und im IFU.

Meiner Frau Angelika danke ich dafür, dass sie mir den Rücken freigehalten hat und sich während der Dissertationsanfertigung so ausgiebig um unseren kleinen Sohn gekümmert hat.

Meinen Eltern danke ich dafür, dass sie mir diesen Bildungsgang ermöglicht haben.

Kurz-Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Emissionsstudien mit Hilfe der Küvettentchnik an Vertretern der Gattungen *Pinus*, *Ginkgo* und *Fucus* durchgeführt. Untersucht wurden die Kohlenwasserstoff-Emissionen der Pflanzen. Es wurde eindeutig nachgewiesen, dass sowohl von *Pinus sylvestris* L. als auch von *Pinus nigra* L. neben Monoterpenen ebenfalls Sesquiterpene und sauerstoffhaltige Kohlenwasserstoffe in einer beachtlichen Vielfalt emittiert werden. Neben einer ökologischen Funktion der Kohlenwasserstoffe (abwehrende Signalstoffe gegenüber Fraßfeinden) beeinflussen diese Emissionen die chemische Zusammensetzung der Erdatmosphäre.

Durch die Anwendung verschiedener Algorithmen zur Emissionsberechnung wurde nachgewiesen, dass die Emission von Monoterpenen bei *P. sylvestris* primär durch die Temperatur bestimmt wird. Ein bedeutender Einfluss der Lichtintensität auf das Emissionsverhalten wurde nicht gefunden. Darüber hinaus deutet die beobachtete jahreszeitliche Änderung der Standard-Emissionen sehr auf eine physiologische Komponente in der Regulierung des Emissionsverhaltens bei *P. sylvestris* hin, die mit einer Änderung der Aktivität der Terpen-Synthasen während der Vegetationsperiode erklärt werden kann.

Bei Untersuchungen der Biosynthese der Isoprenoide mittels Hemmstoff-Versuchen und einer $^{13}\text{CO}_2$ -Inkubation ergaben sich erste Hinweise, dass die Bildung der Mono- und Sesquiterpene bei *Ginkgo biloba* L. über verschiedene Synthese-Wege erfolgt. Beobachtet wurde, dass die Herabsetzung der Emission der Monoterpene α -Pinen, Sabinen, Myrcen und δ -3-Caren durch die Hemmung des plastidären MEP-Synthese-Wegs möglich ist. Eine vollständige Hemmung der Emission wurde nicht beobachtet. Bei Limonen konnte keine Hemmung beobachtet werden. Eine rein cytoplasmatische Bildung von Limonen über den Mevalonat-Weg ist daher wahrscheinlich. Emittierte Sesquiterpene wurden bei einer $^{13}\text{CO}_2$ -Exposition deutlich, aber nicht vollständig, ^{13}C -markiert, was eine entsprechende Mitwirkung des plastidären MEP-Synthese-Wegs an der Synthese dieser Isoprenoide wahrscheinlich macht.

Bei Vertretern der Braunalgen-Gattung *Fucus* wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit keine Emissionen an Mono- und Sesquiterpenen gefunden, allerdings emittieren diese vergleichsweise ursprünglichen Organismen beachtliche Mengen an halogenierten Methan-Kohlenwasserstoffen, welche die Chemie der küstennahen Erdatmosphäre bedeutend beeinflussen.

Abstract

During 1998 and 1999 emission studies on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and Black pine (*Pinus nigra* L.) were carried out in a pine forest in the vicinity of Freiburg, Germany, aiming on quantification and long-term variation of the emission pattern of hydrocarbons. The branch enclosure chamber technique was used. Identification and quantification of the hydrocarbons were performed applying thermodesorption coupled with GC/MS. Beside monoterpenes (the main compounds emitted) a wide variety of sesquiterpenes and oxygenated hydrocarbons was emitted by *Pinus*. For the main compounds (α -pinene, β -pinene and δ -3-carene) results of diurnal and annual variation of emission rates as well as emission pattern, and the application of emission models are presented in this work. The emission of monoterpenes are in dependency of temperature.

Using empirical algorithms for the modeling of emission behavior (Tingey & Manning 1980; Guenther 1997) no influence of the light intensity on the amounts of emission could be found. Besides the emission of terpenes out of pools a dependency of the annual variation was recognised for the amount of the emitted compounds.

Studying the biosynthesis of isoprenoids by using the inhibitor Fosmidomycin and an $^{13}\text{CO}_2$ incubation evidence was found that the synthesis of mono- and sesquiterpenes in *Ginkgo biloba* L. is realised by two different pathways. Inhibition of the plastidic 2-C-methylerythritol-4-phosphate (MEP) pathway by Fosmidomycin led to a decrease of the emission of α -pinene, sabinene, myrcene and δ -3-carene. A total inhibition was not observed. No inhibition was found for limonene. For that reason it is supposable that the compound limonene is synthesised completely from IDP synthesised by the mevalonate pathway. Sesquiterpenes emitted by *Ginkgo biloba* after $^{13}\text{CO}_2$ exposition showed obvious ^{13}C labeling. This is a hint for a contribution of the plastidic 2-C-methylerythritol-4-phosphate (MEP) pathway in the synthesis of these compounds.

Investigations on the emission behavior of species of *Fucus* showed a different emission pattern for hydrocarbons. The measurements were carried out on the species *Fucus vesiculosus*, *F. serrata* and *F. spiralis*. These poorly differentiated organisms emitted no mono- and sesquiterpenes at all. Instead huge amounts of halogenated hydrocarbons were detected in the emissions taken from the non-submerged thalli out of a ground cuvette over algae fields.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Christoph Holzke
Auf der Kluse 8, 44263 Dortmund
Tel.: (0231) – 59 91 07; e-mail: holzke@cityweb.de
geboren am 06.09.1966 in 22335 Hamburg
verheiratet, ein Kind, 8 Monate
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulische Bildung:

08/73 - 08/77 Grundschule in 21244 Buchholz-Sprötze, 64823 Groß-
Umstadt und 21129 Hamburg
08/77 - 05/87 Gymnasium in 21129 Hamburg

27.05. 1987 Zeugnis der allgemeinen Hochschulreife

Zivildienst:

07/87 - 02/89 Dienst im Umweltschutz (NSG-Betreuung und
Öffentlichkeitsarbeit in der Bundesgeschäftsstelle des
Naturschutzbund Deutschland, NABU e.V.)

Studium:

15.10.1990 Immatrikulation im Studiengang Biologie (Diplom) an der
Universität Osnabrück

24.04.1993 Zeugnis über das Vordiplom
Prüfungsfächer: Botanik, Chemie, Mikrobiologie, Physik

10/95 - 12/95 Ablegen der mündlichen Diplomprüfung
Prüfungsfächer: Pflanzenphysiologie, Botanik, Biochemie

3/96 - 3/97 Diplomarbeit zum Thema "*O₂- und CO₂- Gaswechsel bei
transformierten Tabakpflanzen mit unterschiedl.
Expressions-Niveaus an NADP-Malatdehydrogenase unter
verschiedenen atmosphärischen Bedingungen*"

24.03.1997 Zeugnis über das Diplom

01.07. 1997 Beginn der Promotion zum Thema „*Untersuchungen zur
Biosynthese und zum Emissionsverhalten ausgesuchter
Terpenoide bei Pflanzen*“

Eidesstattliche 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 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 solche Veröffentlichung vor Abschluß des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde. Die Bestimmungen dieser Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von PD Dr. W. Zimmer betreut worden.

Dortmund, den 12.01.2001

C. Holzke