

## Wirkung eines Insektizids (Pyrethrum) auf die Erbse

Ein Vergleich der Chlorophyllfluoreszenz, der photosynthetischen Energieumwandlung und dem Öffnungszustand der Stomata

**Pyrethrum ist ein Insektizid und in CELAFLO<sup>®</sup> Pflanzenspray HORTEX<sup>®</sup> NEU enthalten. Dieses Pflanzenspray ist im Handel käuflich. Im folgenden Experiment wird die Wirkung auf das mitbehandelte Blattmaterial der Erbse (*Pisum sativum*) getestet. Bereits wenige Stunden nach Anwendung läßt sich eine schädigende Wirkung auf die Blattphysiologie feststellen. Nach zwei Tagen zeigen diese Blätter nur noch eine minimale photosynthetische Aktivität und sterben schließlich ab. Ob der Pflanzenspraybelag auf der Blattoberfläche oder das Pyrethrum im Blattinneren für einen derartigen Schaden verantwortlich sind, ist noch fraglich.**

### Einleitung

In diesem Versuch wird folgendes Insektizid getestet:

CELAFLOR<sup>®</sup> Pflanzenspray HORTEX<sup>®</sup> NEU

(gegen Läuse und Spinnmilben an Zimmer-, Balkon- und Kübelpflanzen).

Das auf Insekten wirkende Mittel ist **Pyrethrum**.

Dieser Stoff wird aus den Blüten von *Chrysanthemum cinerariaefolium* gewonnen. Pyrethrum ist ein Kontaktgift, welches bei Insekten über Sinnesorgane, Gelenkspalten oder Kutikula aufgenommen wird. Es verhindert das Schließen der spannungsabhängigen Natriumkanäle in den Membranen von Sinneszellen und Nervenendigungen und führt so zur Auslösung von Aktionspotentialsalven.

Die Wirkung des Pyrethrums wurde erstmalig 1840 beschrieben. Sein Effekt kann durch Zugabe von Synergisten gesteigert werden. In dem getesteten Insektizid dient Piperonylbutoxid (Ölformulierung) als Verstärker.

Das Pyrethrum setzt sich aus verschiedenen Bestandteilen zusammen (Abbildung 1). Insgesamt wurden sechs Hauptbestandteile isoliert, Pyrethrine I+II, Cinerin I+II und Jasmolin I+II.

Eine Langzeitwirkung ist aufgrund der leichten Photooxidation des Pyrethrums unter Sonnenlicht und Luftsauerstoff ausgeschlossen.

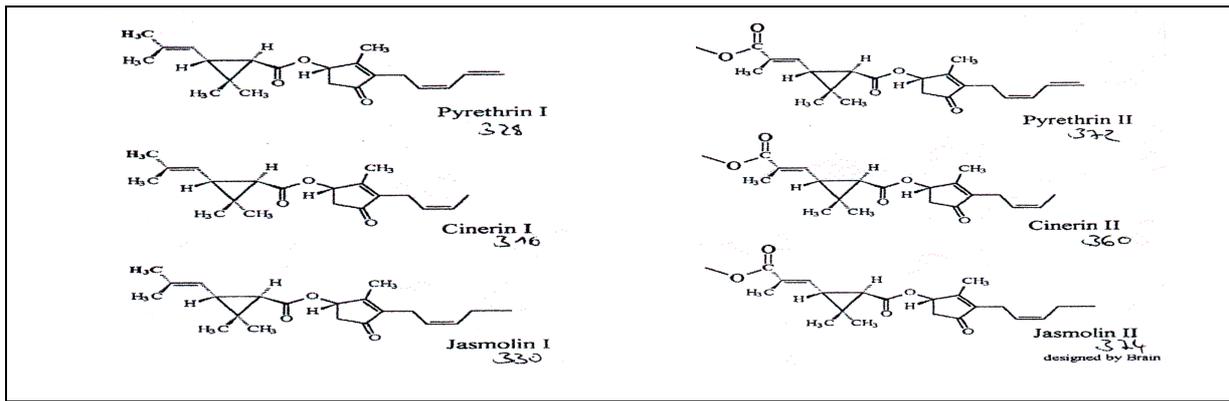


Abbildung 1. Strukturbestandteile des Pyrethrums

In den Literaturquellen wird nur die Wirkung auf Insekten beschrieben. Wie wirkt aber Pyrethrum auf die behandelten Pflanzenteile? In diesem Versuch soll anhand der Erbse (*Pisum sativum*) überprüft werden, ob auch die Pflanzen geschädigt werden.

*Pisum sativum* ist freilich keine typische Zimmerpflanze, könnte aber durchaus auf dem Balkon gehalten werden. So wird nach den Angaben des Herstellers die Bedingung geschaffen (siehe oben), um mit Pyrethrum behandeln zu können. Es ist im Rahmen des Praktikums nicht durchführbar gewesen, neben der Erbse eine Zimmerpflanze zu testen. Die allgemein im Zimmer befindlichen Pflanzen weisen eine größere Blattdicke und eine meist stark ausgebildete Kutikula auf. Aufgrund dieser Anatomie ist eine so zeitige und umfangreiche Schädigung eventuell nicht erreichbar. Aber die charakteristischen Balkonpflanzen (z.B. Stiefmütterchen) sind im Blattaufbau eher mit einer Erbse vergleichbar.

### Material und Methoden

Die Erbsen werden im Gewächshaus aufgezogen und sind bei der Untersuchung im Labor 30 Tage alt. Da sie aber bereits eine Gesamthöhe von durchschnittlich 18 cm haben, sind sie optimal für den Versuch geeignet. Unter dieser Voraussetzung kann die gesamte Pflanze behandelt werden. Nach den Angaben des Herstellers wird die Sprayflasche vor der Anwendung kräftig geschüttelt und anschließend die Erbsen im Abstand von 20 cm auf der Ober- und Unterseite besprüht. Die Blätter werden mit einem weißlichen Belag bedeckt.

Nach unterschiedlich langen Einwirkzeiten wird am TEACHING-PAM Fluorometer die langsame Kinetik der Kautsky-Kurve aufgenommen. Dabei wird die Chlorophyllfluoreszenz der Blattoberseite gemessen. Es ist nicht relevant, welche Erbsenblätter kontrolliert werden, da die gesamte Pflanze erst 30 Tage alt ist.

In der langsamen Kinetik der Kautsky-Kurve wird mit Hilfe des vorprogrammierten RUN 3 besonderes Augenmerk auf  $F_t$ ,  $q_N$ ,  $q_P$  und Yield gelegt. Die Messgröße  $F_t$  soll Angaben über das aktuelle Fluoreszenzsignal erstellen.  $q_N$  macht Aussagen über die Energetisierung der Thylakoidmembran und  $q_P$  ist ein Maß für den Anteil an oxidiertem  $Q_A$  bezogen auf die  $Q_A$  Gesamtmenge. Aus der Fluoreszenzausbeute kann die Quantenausbeute der photochemischen Energieumwandlung in PSII abgeleitet werden, d.h.  $\Delta F/F_m' = \text{Yield}$ .

Der RUN 3 durchläuft die folgenden Schritte im *Sat.Pulse Mode*: Vor der Messung erfolgt eine Dunkeladaptation des Blattes für mindestens 3 min. Mit dem Beginn des RUN 3 wird mittels eines Sättigungsimpulses die minimale und maximale Fluoreszenzausbeute ermittelt. Mit dem Sättigungsimpuls wird ein Plateau erreicht, welches dem  $F_m$  (maximale Fluoreszenz) entspricht. Bei *Pisum sativum* liegt die Intensität diese Impulses bei 10 (ca.  $3500 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Nachdem  $F_m$  erreicht wird, nähert sich die Fluoreszenz langsam der  $F_o$ -Linie ( $F_o = \text{Grundfluoreszenz}$ ). Das aktinische Licht (Intensität 3) wird eingeschaltet und zusätzlich werden alle 20s Sättigungsimpulse gegeben, die die Veränderung der maximalen Fluoreszenzausbeute ( $F_m'$ ) im Verlauf der Dauerbelichtung widerspiegelt. Nach 6 min ist der RUN beendet. Das Messlicht hat eine Intensität von 6.

Um die graphischen Darstellungen etwas statistisch abzusichern, werden insgesamt pro Bedingung (d.h. pro Behandlungsstunde) vier Blätter und pro Blatt zwei Blattstellen (nahe der Mittelrippe und im Seitenbereich) gemessen.

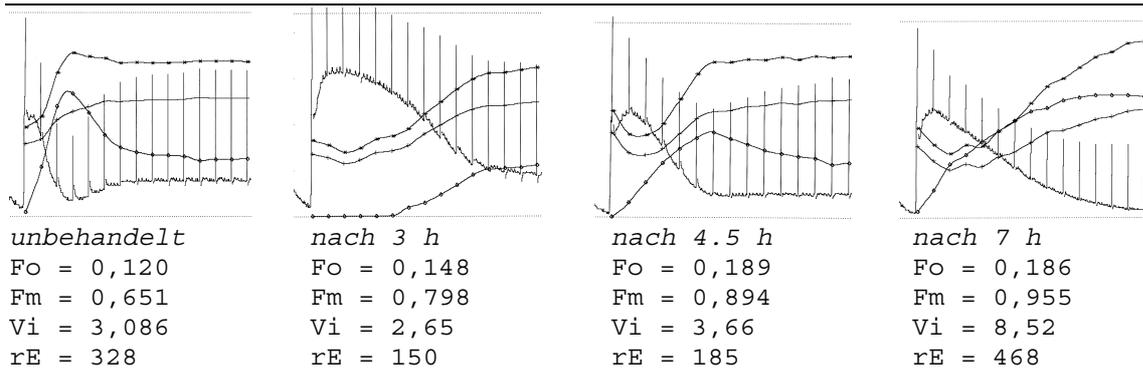
Neben der Chlorophyllfluoreszenzmethode wird eine mögliche Beeinflussung durch Pflanzenspray auf die Stomata überprüft. Mikroskopisch wird der Spaltöffnungszustand, der sich nach den jeweiligen Behandlungszeiten einstellt, ermittelt. Dies erfolgt durch Zählen der Spaltöffnungen innerhalb eines definierten Bereiches (Blickfeld bei 400-facher Vergrößerung). Um den jeweiligen Zustand nach einer begrenzten Wirkzeit des Sprays nicht durch andere Faktoren zu verfälschen, wird sofort die Blattfläche mit Weißlack behandelt (Weißlack von „FRENCH NAILS“ zur Behandlung von Nagelspitzen). Der Lack ist nach ca. 15' ausgehärtet und kann problemlos abgezogen werden. Die Kopie der Blattoberfläche wird unter dem Mikroskop untersucht. *Pisum sativum* besitzt auf der Blattober- und Blattunterseite Spaltöffnungen. Begutachtet werden in diesem Versuch nur die Öffnungen auf der Unterseite, da hier die Anzahl pro  $\text{cm}^2$  höher ist.

## Ergebnisse

Sehr interessant war das Ergebnis nach einer zwei- und dreitägigen Einwirkzeit des Sprays (Abbildung 2).

**Abbildung 2.** *Pisum sativum* (Erbse) unbehandelt und nach 2 bzw. 3 Tagen mit Pflanzenspray HORTEX® NEU

Die Gesamtheit aller Erbsenpflanzen, die in Abbildung 2 zu sehen sind, stammen aus einem Topf und wurden während der Untersuchung unter gleichen Bedingungen (auf der Fensterbank im Labor) gehalten. Bereits nach zwei Tagen ist eine irreversible Schädigung der behandelten Blätter zu erkennen. Nach diesem eindrucksvollen Ergebnis wird auch eine kurzfristige Beurteilung (nach Stunden) des Blattzustandes vorgenommen. Anhand der langsamen Kinetik werden die oben genannten Parameter ( $F_t$ ,  $q_N$ ,  $q_P$  und Yield) geprüft.

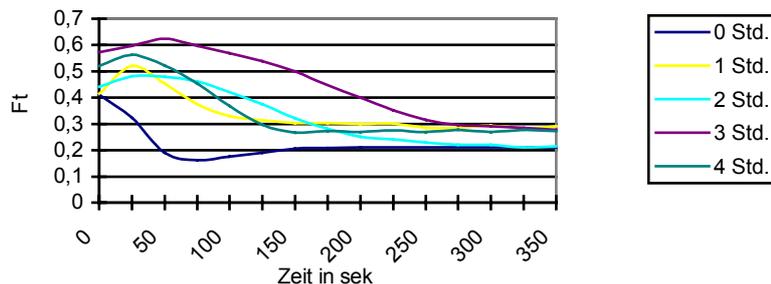


**Abbildung 3.** Darstellung der langsamen Kinetik von unbehandelten und mit Pflanzenspray behandelten Erbsenblättern. Die x-Achse entspricht einer Gesamtzeit von 350 Sekunden.

Die y-Achse gibt die Fluoreszenz an. [O-O-O qN], [\*-\*-\* qP], [I-I-I-I Yield], [□□□□-Ft];

Fm = maximale Fluoreszenz, Fo = Grundfluoreszenz, Vi = Vitalitätsindex, rE = relative Elektronentransportrate

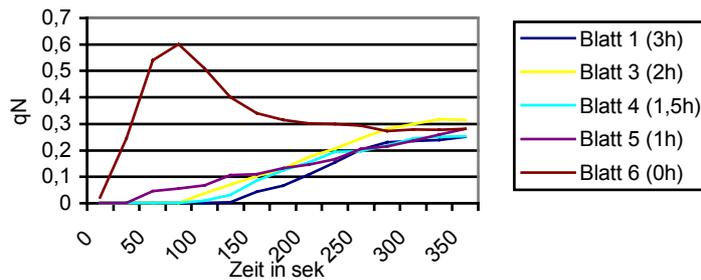
Im Vergleich zu der Chlorophyllfluoreszenzausbeute (Ft) eines unbehandelten Blattes sind die Ft-Werte bei behandelten Blättern deutlich erhöht. Teilweise wird nach 350 Sekunden noch kein konstanter Ft-Wert erreicht. In Abbildung 4 sind die Ft-Graphen vergleichsweise aufgetragen.



**Abbildung 4.** Darstellung der Fluoreszenzausbeute nach unterschiedlich langen Wirkzeiten des Pflanzensprays auf und / oder in den Blättern einer Erbse.

Die Fluoreszenzausbeute ist um so höher, um so schlechter die photosynthetische Energieumwandlung läuft, aber auch je weniger Energie in Wärme dissipiert wird. Die Fluoreszenz steigt, da die PS II Zentren aufgrund der Elektronen, die zwischen den beiden Photosystemen akkumulieren, blockiert sind. PS I kann nicht alle Elektronen sofort abtransportieren.

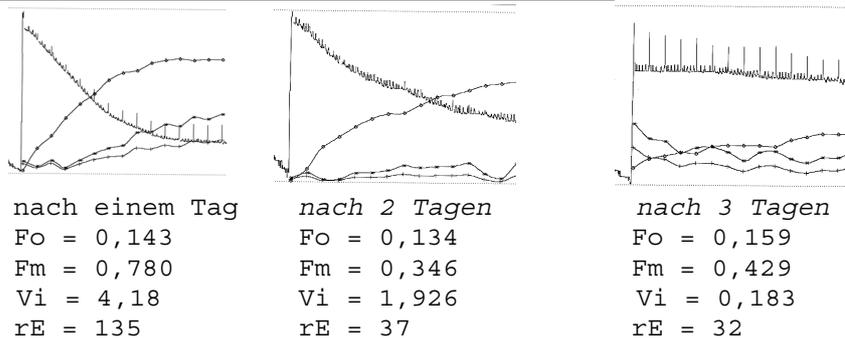
Eine auffällige Kinetik zeigt der Protonengradient (qN) nach einer dreistündigen Behandlungsdauer. Zur weiteren Verdeutlichung ist in Abbildung 5 die qN-Kinetik innerhalb der ersten drei Behandlungsstunden detailliert dargestellt. Bereits nach einer Stunde ist die Energetisierung der Thylakoidmembran deutlich niedriger.



**Abbildung 5.** Darstellung des Protonengradienten ( $qN$ ) nach unterschiedlich langen Wirkzeiten (in Stunden) des Pflanzensprays auf und / oder in den Blättern einer Erbse.

Der Protonengradient ( $qN$ ) kann sich aber im Verlauf weiterer Stunden nochmals stabilisieren (siehe auch Abbildung 6).

In den drei nächsten Kinetiken werden Ergebnisse präsentiert, die Angaben über die Chlorophyllfluoreszenz und photosynthetische Energieumwandlung nach einer mehrtägigen Einwirkzeit machen. Die überwachten Parameter ( $F_t$ ,  $qN$ ,  $qP$  und Yield) sind nach drei Tagen Einwirkzeit charakteristisch für ein abgestorbenes Blatt (Vergleich mit Abbildung 2).



**Abbildung 6.** Darstellung der langsamen Kinetik von Erbsenblättern nach einer Einwirkzeit von mehreren Tagen. Die x-Achse entspricht einer Gesamtzeit von 350 Sekunden. Die y-Achse gibt die Fluoreszenz an. [O-O-O  $qN$ ], [\*-\*-\*-\*  $qP$ ], [I-I-I-I Yield], [□□□□- $F_t$ ];  $F_m$  = maximale Fluoreszenz,  $F_o$  = Grundfluoreszenz,  $V_i$  = Vitalitätsindex,  $rE$  = relative Elektronentransportrate

Der Elektronenfluß durch PS II kann ebenfalls mit Hilfe der Chlorophyllfluoreszenz bestimmt werden. Im stationären Lichtzustand entspricht der Elektronenfluß durch PS II dem gesamten photosynthetischen Elektronenfluß. Die relative Elektronentransportrate wird aus dem Produkt der Quantenausbeute von PS II (Yield) und der aktinischen Lichtintensität ermittelt. Zum Vergleich stehen hier die Elektronentransportraten nach unterschiedlich langen Wirkzeiten des Pflanzensprays. Die relative Elektronentransportrate wird unter konstanter Lichtintensität ( $1050 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) ermittelt.

Behandlungszeit	relative Elektronentransportrate
unbehandelt	328
3 Stunden	150,8
4,5 Stunden	185,5
7 Stunden	468,3
24 Stunden	135
48 Stunden	37
72 Stunden	32,6

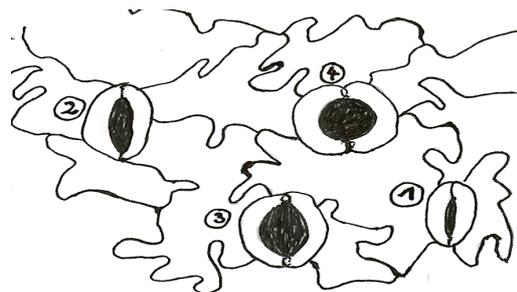
**Tabelle 1.** Vergleich der relativen Elektronentransportrate mit der Wirkzeit des Pflanzensprays

Wie auch für qN (Abbildung 3) gibt es auch für die relative Elektronentransportrate nach ca. drei Stunden eine kritische Phase.

Weiterhin ist auch der Vitalitätsindex ( $V_i = (F_p - F_T) / F_T$ ) zu den bestimmten Zeiten interessant. Dieser Vitalitätsindex ist ein ungefähres Maß für die Aktivität des Photosyntheseapparates. Je höher er ist, um so höher ist die Aktivität.  $F_p$  ist der Fluoreszenz-Spitzenwert nach Zugabe des aktinischen Lichts. Darauf folgend fällt das Fluoreszenzsignal auf einen Endwert  $F_T$  zurück.

Der Vitalitätsindex zeigt, daß nach einer kurzzeitigen Erniedrigung (nach 1,5 h und 3 h) die Vitalität für die nächsten 24 Stunden erneut stark zunimmt und dann die folgenden Tage stetig abnimmt.

Neben den Kinetiken werden zeitgleich auch die Stomata betrachtet. Sie werden nach folgendem Öffnungszustand eingeteilt (Abbildung 7):



**Abbildung 7.** möglicher Öffnungszustand der Stomata

In der folgenden Tabelle sind alle Spaltöffnungszustände pro Einwirkzeit festgehalten. Die Anzahl der Spaltöffnungstypen ist ein Durchschnittswert, der aus jeweils vier gezählten Flächen ermittelt wird.

	unbehandelt	3h	4,5h	7h	1 Tag	ab 2 Tagen
Anzahl pro Blickfeld	21	14	13	15	10	13
Typ 1	4	2	4	3	3	13
Typ 2	7	10	9	6	4	0
Typ 3	6	2	0	6	3	0
Typ 4	4	0	0	0	0	0
Verhältnis der Typen 1:2:3:4 (gerundet)	1:2:1,5:1	1:5:1:0	1:2:0:0	1:2:2:0	1:1:1:0	13:0:0:0

**Tabelle 2.** Die Spaltöffnungszustände der Erbse (unter dem Mikroskop) vor und nach der Behandlung mit Pflanzenspray.

Auffällig wird, daß nur beim unbehandelten Blatt der Spaltöffnungstyp 4 (ganz offen) vorkommt. Hier liegt ein vollständig funktionierendes Spaltöffnungssystem vor. Wie auch anhand der Kinetik erkennbar ist (Abbildungen 3 und 6), kann nach mehreren Stunden von einer Beeinflussung des Spaltöffnungssystems und/oder des Photosyntheseapparates gesprochen werden. Nach zwei Tagen sind die behandelten Blätter nicht mehr funktionstüchtig und sterben ab. Sie besitzen einen pergamentartigen Blattzustand.

### Diskussion

Schlußfolgernd kann festgestellt werden, daß nicht nur die Insekten (wie Blattläuse und Milben) vernichtet werden, sondern auch die Pflanze einen Schaden davonträgt. Mit Sicherheit ist die Erbse keine „typische“ Zimmer-, Balkon- oder Kübelpflanze, aber sie hat im wesentlichen eine ähnliche Anatomie und Physiologie. Weitere Tests müßten getätigt werden, um auszuschließen, daß zum Beispiel gering ausgebildete Kutikula, Größe der Blattfläche u.s.w. Grund für den unüberwindbaren Schaden sind. Eine schädigende Wirkung, bevor sie dann auch optisch wahrgenommen wird, tritt bereits nach wenigen Stunden ein. Nach einer gewissen Regenerationszeit kommt es schließlich zum Erliegen aller betrachteten photosynthetischen Parameter.

Im Rahmen dieser Arbeit ist keine konkrete Ursache zu finden, jedoch kann spekuliert werden. Eine Ursache könnte sein, daß der Stoffaustausch über die Stomata beeinträchtigt ist. Gerade in den ersten Stunden befindet sich ein bedenklich dicker Belag auf den Blattflächen, der möglicherweise die Öffnungen verstopft. Eine weitere Eventualität ist die schädigende Wirkung des Pyrethrums. Dieser Wirkstoff könnte als PS II Inhibitor fungieren, d.h. Pyrethrum besitzt die Fähigkeit den photosynthetischen Elektronentransport zu hemmen.

Wenn Pyrethrum an ein PS II Reaktionszentrum bindet, dann wird dadurch die photochemische Energieumwandlung blockiert, was zur Erhöhung der Fluoreszenzausbeute und zur Erniedrigung der PS II Quantenausbeute führt.

In welcher Art und Weise die Behinderung der Photosynthese aber wirklich erfolgt, ist noch nicht konkret erfaßt. Fakt ist nur, daß CELAFLO<sup>®</sup> Pflanzenspray HORTEX<sup>®</sup> NEU die Blätter der Erbsenpflanze stark schädigt.

#### Literatur

**Dieter J. von Willert, Rainer Matyssek, Werner Herppich** (1995)  
Experimentelle Pflanzenökologie

**Ulrich Schreiber** (1997) Chlorophyllfluoreszenz und photosynthetische Energieumwandlung: Einfache einführende Experimente mit dem TEACHING-PAM Chlorophyll Fluorometer