

VEREIN
DEUTSCHER
INGENIEURE

Biologische Messverfahren zur Ermittlung und
Beurteilung der Wirkung von Luftverunreinigungen
auf Pflanzen (Biomonitoring)

VDI 3957

Blatt 6 / Part 6

Ermittlung und Beurteilung der phytotoxischen Wirkung
von Ozon und anderen Fotooxidantien

Verfahren der standardisierten Tabak-Exposition

Biological measuring techniques for the
determination und evaluation of effects of air
pollutants on plants (biomonitoring)

Determination and evaluation of the phytotoxic effect
of ozone and photooxidants

Method of the standardised tobacco exposure

Ausg. deutsch/englisch
Issue German/English

*Der Entwurf dieser Richtlinie wurde mit Ankündigung im
Bundesanzeiger einem öffentlichen Einspruchsverfahren
unterworfen.*

*The draft of this standard has been subject to public scrutiny
after announcement in the Bundesanzeiger (Federal Gazette).*

Die deutsche Version dieser Richtlinie ist verbindlich.

*The German version of this standard shall be taken as authori-
tative. No guarantee can be given with respect to the English
translation.*

Inhalt	Seite
Vorbemerkung	2
Einleitung	2
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweise	5
3 Begriffe	5
4 Grundlagen	5
5 Durchführung	6
5.1 Materialien für die Anzucht	6
5.2 Anzucht	7
5.3 Exposition	11
5.4 Bonitur	15
6 Berechnung der Ergebnisse	18
6.1 Betrachtung der Daten	19
6.2 Ergänzung fehlender Daten	19
6.3 Statistische Analyse	24
6.4 Ermittlung des Mittelwerts eines Expositionsorts (Jahreswert)	25
7 Kenngrößen des Verfahrens	27
8 Bewertung	28
Anhang A Ermittelte prozentuale Blatt- schädigung durch Ozon an Tabak....	31
Anhang B Formblatt zur Beschreibung des Expositionsorts	34
Schrifttum	36

Contents	Page
Preliminary note.....	2
Introduction.....	2
1 Scope	5
2 Normative references	5
3 Terms and definitions	5
4 Principles	5
5 Implementation	6
5.1 Materials for cultivation	6
5.2 Cultivation	7
5.3 Exposure	11
5.4 Visual injury assessment.....	15
6 Calculation of the results	18
6.1 Viewing the data	19
6.2 Completion of missing data	19
6.3 Statistical analysis.....	24
6.4 Determination of the mean value of an exposure location (annual value)	25
7 Performance characteristics	27
8 Evaluation	28
Annex A Determined percentage leaf damage by ozone on tobacco	31
Annex B Exposure location description form	35
Bibliography	36

VDI/DIN-Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) – Normenausschuss
Fachbereich Umweltqualität

VDI/DIN-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 1a: Maximale Immissions-Werte
VDI-Handbuch Biotechnologie
VDI-Handbuch Technik Biomasse/Boden

Vorbemerkung

Der Inhalt dieser Richtlinie ist entstanden unter Beachtung der Vorgaben und Empfehlungen der Richtlinie VDI 1000.

Alle Rechte, insbesondere die des Nachdrucks, der Fotokopie, der elektronischen Verwendung und der Übersetzung, jeweils auszugsweise oder vollständig, sind vorbehalten.

Die Nutzung dieser Richtlinie ist unter Wahrung des Urheberrechts und unter Beachtung der Lizenzbedingungen (www.vdi.de/richtlinien), die in den VDI-Merkblättern geregelt sind, möglich.

Allen, die ehrenamtlich an der Erarbeitung dieser Richtlinie mitgewirkt haben, sei gedankt.

Eine Liste der aktuell verfügbaren und in Bearbeitung befindlichen Blätter dieser Richtlinienreihe sowie gegebenenfalls zusätzliche Informationen sind im Internet abrufbar unter www.vdi.de/3957.

Einleitung

Luftverunreinigungen üben einen Reiz auf Lebewesen aus, durch den im betroffenen Organismus Reaktionen ausgelöst werden, die zu vielfältigen Veränderungen im Stoffwechselfgeschehen führen können. Bei Pflanzen können diese Veränderungen auch im äußeren Erscheinungsbild sichtbar werden.

Es ist möglich, Konzentrationen wichtiger Immissionskomponenten mit chemisch-physikalischen Methoden einzeln zu bestimmen. Diese stellen jedoch nur eine beschränkte Auswahl aller in der Umwelt vorkommenden und für die Wirkung auf Pflanzen relevanten Faktoren dar (VDI 3957 Blatt 1).

Emissionsbegrenzungen vermeiden und vermindern schädliche Wirkungen, die durch Immissionsmessungen nur indirekt nachvollzogen werden können, während mit geeigneten empfindlichen (Wirk-)Organismen ein direkter Wirkungsnachweis erfolgen kann [1].

Die Prognose einer integralen Gesamtwirkung ist über physikochemische Konzentrationsbestimmung einzelner Immissionskomponenten auch bei Berücksichtigung der parallel einwirkenden Klimafaktoren mit erheblicher Unsicherheit behaftet.

Im Gegensatz dazu sind Ergebnisse biologischer Messverfahren ungleich sicherer als aus technischen Immissionsmessungen abgeleitete Wirkungsprognosen, weil festgestellte Wirkungen eine direkte Information über nachteilige Folgen für die Wirkungsobjekte, u.a. für die Vegetation, liefern (VDI 3957 Blatt 1). Bioindikatoren reagieren auf den biologisch wirksamen Anteil der Luftverunreinigungen. Die Reaktionen können hiermit als In-

Preliminary note

The content of this standard has been developed in strict accordance with the requirements and recommendations of the standard VDI 1000.

All rights are reserved, including those of reprinting, reproduction (photocopying, micro copying), storage in data processing systems and translation, either of the full text or of extracts.

The use of this standard without infringement of copyright is permitted subject to the licensing conditions (www.vdi.de/richtlinien) specified in the VDI Notices.

We wish to express our gratitude to all honorary contributors to this standard.

A catalogue of all available parts of this series of standards and those in preparation as well as further information, if applicable, can be accessed on the Internet at www.vdi.de/3957.

Introduction

Air pollutants exert a stimulus on living organisms, triggering reactions in the affected organism that can lead to a variety of changes in metabolic processes. In plants, these changes can also be visible in their external appearance.

It is possible to determine concentrations of important immission components individually using chemical-physical methods. However, these represent only a limited selection of all factors occurring in the environment and relevant for the effect on plants (VDI 3957 Part 1).

Emission controls avoid and reduce harmful effects that can only be indirectly reproduced by immission measurements, whereas direct evidence of effects can be obtained using suitable sensitive (effective) organisms [1].

The prediction of an integral overall effect by means of physicochemical concentration determination of individual immission components is subject to considerable uncertainty, even when taking into account the climatic factors acting in parallel.

In contrast, the results of biological measurement methods are much more reliable than predictions of effects derived from technical immission measurements, because the effects detected provide direct information about adverse consequences for the objects of impact, including vegetation (VDI 3957 Part 1). Bioindicators react to the biologically effective portion of air pollutants. The reactions can hereby be recorded as an integral of

tegral vorausgegangener Schadstoffbelastungen im Kontext mit anderen Umweltzuständen erfasst werden [2].

Von besonderer Bedeutung für Wirkungsmessungen mit Bioindikatoren ist seit Langem die Indikation der Wirkungen von Fotooxidantien, insbesondere von Ozon [3]. Fotooxidantien sind in der Atmosphäre auftretende, gasförmige Stoffe, die oxidierend wirken und lichtabhängig in der Troposphäre gebildet werden. Vorläufersubstanzen sind NO_x und Kohlenwasserstoffe.

Als Leitkomponente der Fotooxidantien spielt Ozon eine zentrale Rolle. Ozon ist ein phytotoxisch wirkendes Gas, das bei Pflanzen zu Zell- und Gewebeschädigungen, zu Wachstumseinbußen und damit zu landwirtschaftlichen Mindererträgen führen kann [4 bis 8]. Fotooxidantien wurden auch mit der Entstehung der sogenannten „neuartigen Waldschäden“ in den 1980er-Jahren in Zusammenhang gebracht [9; 10]. Wirkungen von Ozon auf Wildpflanzen waren bereits Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, z.B. [11 bis 16]. Ozon ist zudem ein aggressives Reizgas, das beim Menschen insbesondere die Atemwege beeinträchtigt (VDI 2310 Blatt 15, [17; 18]).

Anmerkung: Im Folgenden werden durch Fotooxidantien verursachte Schädigungen als „Ozonschädigungen“ bezeichnet.

Eine wesentliche Ursache für weiträumige Ozonbelastungen ist der Kfz-Verkehr, durch den Vorläufersubstanzen emittiert werden. Aufgrund der reduzierenden Wirkung von Stickstoffmonoxid, Kohlenwasserstoffen und weiteren Substanzen treten jedoch im straßennahen Bereich geringere Ozonkonzentrationen auf als in der weiteren Umgebung [19; 20].

Betroffen sind daher insbesondere ländliche Regionen, in denen oftmals höhere Konzentrationen an Fotooxidantien auftreten als in den Ballungsräumen selbst. Grund dafür ist zum einen, dass erst durch fotochemische Reaktionen beim Stofftransport aus den Ballungszentren die Fotooxidantien mit ihrer Leitkomponente Ozon aus den Vorläufersubstanzen gebildet werden. Zum anderen sind Abbauprozesse in ländlichen Räumen infolge der dort niedrigeren NO -Konzentrationen verringert.

Fotooxidantien reichern sich in Pflanzenorganen nicht an, sondern initiieren durch chemische Reaktionen immissionsbedingte Schädigungen an Membranen von Zellen, die am Blatt visuell als abgestorbenes Gewebe (Nekrosen) erkennbar werden können. Derartige Blattschädigungen empfindlich reagierender Pflanzen werden bei der Wirkungsmessung von Ozon genutzt [21 bis 26].

preceding pollutant loads in the context of other environmental conditions [2].

The indication of the effects of photooxidants, in particular ozone [3], has long been of particular importance for effect measurements with bioindicators. Photooxidants are gaseous substances occurring in the atmosphere, which have an oxidizing effect and are formed in the troposphere in a light-dependent manner. Precursor substances are NO_x and hydrocarbons.

Ozone plays a central role as the lead component of photooxidants. Ozone is a phytotoxic gas that can lead to cell and tissue damage in plants, to growth losses and thus to reduced agricultural yields [4 to 8]. Photooxidants have also been linked to the emergence of the so-called “new type of forest damage” in the 1980s [9; 10]. Effects of ozone on wild plants have been the subject of numerous studies, e.g. [11 to 16]. Ozone is also an aggressive irritant gas that affects humans, especially the respiratory tract (VDI 2310 Part 15, [17; 18]).

Note: In the following, damage caused by photo oxidants is referred to as “ozone damage”.

A major cause of long-range ozone pollution is motor vehicle traffic, which emits precursor substances. However, due to the reducing effect of nitrogen monoxide, hydrocarbons and other substances, lower ozone concentrations occur in the vicinity of roads than in the wider environment [19; 20].

Therefore, rural regions are particularly affected. Often, higher concentrations of photo oxidants occur than in the conurbations themselves. The reason for this is, on the one hand, that the photooxidants with their lead component ozone are only formed from the precursor substances by photochemical reactions during the transport of substances from the conurbations. On the other hand, degradation processes are reduced in rural areas due to the lower NO concentrations there.

Photooxidants do not accumulate in plant organs, but initiate immission-related damage to cell membranes through chemical reactions, which can be visually recognized on the leaf as dead tissue (necrosis). Such damage to the leaves of sensitive plants is used to measure the effects of ozone [21 to 26].

Die Tabakvarietät *Nicotiana tabacum*, Sorte Bel-W3, reagiert sehr empfindlich und spezifisch auf Ozon mit sichtbaren Schadsymptomen [1; 3; 27 bis 31]. Diese Reaktion erfolgt allerdings nicht ausschließlich komponentenspezifisch, da beim gleichzeitigen Einwirken verschiedener Stoffe synergistische und/oder antagonistische Effekte auftreten können. Schädigungsausmaß und Zuwachslleistung dieser subtropischen Tabakvarietät weisen Korrelationen zu denjenigen einheimischer Wild- und Kulturpflanzen auf [32 bis 35] (siehe Tabelle 1).

Diese Repräsentativität ermöglicht es, aus den Resultaten der Tabakschädigung Gefährdungsprognosen für andere Pflanzenarten abzuleiten.

Bereits die ersten Untersuchungen zum Wirkungsnachweis von Fotooxidantien setzten Tabak ein [27; 36 bis 48]. Tabak wird häufig zusammen mit anderen abgestuft reagierenden Reaktionsindikatoren exponiert. Eine solche Kombination verschiedener Bioindikatoren wird als Indikatorfächer bezeichnet [49].

The tobacco variety *Nicotiana tabacum*, cultivar Bel-W3, reacts very sensitively and specifically to ozone with visible symptoms of damage [1; 3; 27 to 31]. However, this reaction is not exclusively component-specific, as synergistic and/or antagonistic effects can occur when different substances act simultaneously. The extent of damage and growth performance of this subtropical tobacco variety show correlations with those of native wild and cultivated plants [32 to 35] (see Table 1).

This representativeness makes it possible to derive hazard predictions for other plant species from the tobacco damage results.

Already the first studies for the detection of effects of photooxidants used tobacco [27; 36 to 48]. Tobacco is often exposed together with other graded reaction indicators. Such a combination of different bioindicators is called an indicator fan [49].

Tabelle 1. Ozonschädigung bei der Tabaksorte Bel-W3 und anderen Kulturpflanzen (getopft) in Abhängigkeit von der Ozonimmissionsbelastung (jeweils zwei- oder vierwöchige Exposition; zehn oder fünf Expositionsserien/Jahr; drei bis neun Untersuchungsjahre; nach [35]; verändert)

Ozonkonzentration in µg/m ³	< 100	100...120	120...140	140...160	160...170	> 170
Pflanzenart, -sorte	Schädigung der Blattfläche in %					
<i>Nicotiana tabacum</i> , Bel-W3	0,6	6	12	19	25	43
<i>Phaseolus vulgaris</i> , Pinto	0,1	0,2	0,6	0,3	8	12
<i>Phaseolus vulgaris</i> , Sanilac	0,1	0,2	0,4	0,2	5	7
<i>Lycopersicon esculentum</i> , Master	0,4	1	3	2	4	5
<i>Lycopersicon esculentum</i> , Estrella	0,6	6	2	2	6	4
<i>Lycopersicon esculentum</i> , Roma	1,8	2	4	2	4	8

Table 1. Ozone damage in the tobacco cultivar Bel-W3 and other cultivated plants (potted) as a function of ozone immission exposure (two- or four-week exposure in each case; ten or five exposure series/year; three to nine years of study; according to [35]; modified)

Ozone concentration in µg/m ³	< 100	100...120	120...140	140...160	160...170	> 170
Plant species, cultivar	Damage to the leaf surface in %					
<i>Nicotiana tabacum</i> , Bel-W3	0,6	6	12	19	25	43
<i>Phaseolus vulgaris</i> , Pinto	0,1	0,2	0,6	0,3	8	12
<i>Phaseolus vulgaris</i> , Sanilac	0,1	0,2	0,4	0,2	5	7
<i>Lycopersicon esculentum</i> , Master	0,4	1	3	2	4	5
<i>Lycopersicon esculentum</i> , Estrella	0,6	6	2	2	6	4
<i>Lycopersicon esculentum</i> , Roma	1,8	2	4	2	4	8

1 Anwendungsbereich

Biomonitoring – der Einsatz biologischer Systeme zur räumlichen und/oder zeitlichen Überwachung von Umweltveränderungen – dient der direkten Erfassung von schädlichen Umwelteinwirkungen mittels Bioindikatoren (VDI 3957 Blatt 1). Pflanzliche Reaktionsindikatoren bieten durch ihre unmittelbare Wirkungserfassung die Basis für Risikobetrachtungen für die Vegetation – Schutzgut Pflanze – und für die landwirtschaftliche und gärtnerische Produktion.

Die standardisierte Tabak-Exposition (Sorten von Tabak *Nicotiana tabacum*) zeigt durch bodennahes Ozon und andere Fotooxidantien in der Außenluft bedingte Auswirkungen unmittelbar an (Reaktionsindikator). Die sichtbare Blattschädigung wird als Wirkungsmessgröße verwendet. Diese Richtlinie legt das Verfahren einschließlich Pflanzenanzucht und Ausbringung (Exposition) fest. Es beschreibt außerdem das Verfahren zur Erfassung und Bewertung/Beurteilung der Blattschädigung zur Ermittlung der Ozonwirkung.

In die europäische Norm DIN EN 16789 sind Inhalte der Richtlinie VDI 3957 Blatt 6 aus dem Jahr 2003 maßgeblich eingeflossen. Die vorliegende Richtlinie ist das Ergebnis einer Überarbeitung und Anpassung an die Norm DIN EN 16789. Sie schreibt für die Anwendung spezifisch in Deutschland und Mitteleuropa relevante Festlegungen fort.

1 Scope

Biomonitoring – the use of biological systems for the spatial and/or temporal monitoring of environmental changes – serves the direct detection of harmful environmental effects by means of bioindicators (VDI 3957 Part 1). Due to their direct detection of effects, plant response indicators provide the basis for risk assessments for vegetation – the plant as a protected resource – and for agricultural and horticultural production.

Standardised tobacco exposure (cultivars of tobacco *Nicotiana tabacum*) directly indicates effects caused by ground-level ozone and other photooxidants in ambient air (response indicator). Visible leaf damage is used as the effect measure. This standard specifies the procedure including plant cultivation and application (exposure). It also describes the procedure for recording and assessing/evaluating leaf damage to determine ozone effects.

The contents of the standard VDI 3957 Part 6 from 2003 have been significantly incorporated into the European standard DIN EN 16789. The present standard is the result of a revision and adaptation to the standard DIN EN 16789. It updates relevant specifications for the application specifically in Germany and Central Europe.