

Einfluss von Ozon, CO₂ und Trockenstress auf das Wachstum und die Pollenproduktion der Beifuß-Ambrosie (*Ambrosia artemisiifolia*)

Effects of ozone, CO₂ and drought stress on the growth and pollen production of common ragweed (Ambrosia artemisiifolia)

Amr El Kelish¹, J. Barbro Winkler², Hans Lang², Andreas Holzinger³, Heidrun Behrendt⁴, Jörg Durner^{1,5}, Ulrike Kanter^{1*} und Dieter Ernst¹

¹Institut für Biochemische Pflanzenpathologie, Helmholtz Zentrum München, Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg, Germany; ²Abteilung Experimentelle Umweltsimulation, Helmholtz Zentrum München, Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg, Germany; ³Institut für Botanik, Leopold-Franzens-Universität Innsbruck, 6020 Innsbruck, Austria; ⁴Zentrum für Allergie & Umwelt (ZAUM), Technische Universität und Helmholtz Zentrum München, Biedersteiner Str. 29, 80802 München, Germany; ⁵Forschungsdepartment Pflanzenwissenschaften, Technische Universität München, 85354 Freising-Weihenstephan, Germany.

*Korrespondierender Autor, ulrike.kanter@helmholtz-muenchen.de

DOI 10.5073/jka.2013.445.017

Zusammenfassung

Klimaveränderungen beeinflussen das pflanzliche Wachstum und können auch einen Einfluss auf den Pollen haben. Wichtige Faktoren sind dabei erhöhte CO₂-Konzentrationen, Trockenstress und Schadstoffbelastungen. Die Pollen der Beifuß-Ambrosie gehören mit zu den stärksten Allergie-Auslösern und beeinflussen die menschliche Gesundheit. In dieser Studie wurde die Beifuß-Ambrosie über die gesamte Vegetationsperiode erhöhten CO₂- (700 ppm) und Ozon- (80 ppb) Konzentrationen ausgesetzt. Ferner wurde der Einfluss von Trockenstress unter unterschiedlichen CO₂-Konzentrationen untersucht. Erhöhtes CO₂ und Trockenstress hatten keinen Einfluss auf die Größe, Form und Oberflächenstruktur des Pollens. Bezüglich morphologischer Parameter resultierte erhöhtes CO₂ in einer Zunahme des Stängelwachstums und der Hauptinfloreszenz, sowie vermehrter Pollenproduktion. Trockenstress führte zu einem reduzierten Wachstum des Stängels und der Hauptinfloreszenz und verringerter Pollen-Ausbeute. Erhöhte Ozon-Werte führten tendenziell zu einer geringeren, statistisch jedoch nicht signifikant veränderten Pollenausbeute. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Klimaveränderungen die Entwicklung von *Ambrosia*-Pollen beeinflussen und dadurch auch die öffentliche Gesundheit beeinträchtigen.

Stichwörter: Allergie, Infloreszenz, Klimawandel, Luftschadstoff, Stängel, Vegetationsperiode

Abstract

Climate change will affect the growth of plants and may also influence the production of pollen. The important factors influencing climate change are increased CO₂ concentrations, drought and air pollution. Common ragweed pollen is known to be strongly allergenic, thereby affecting human health. In this study, common ragweed plants were grown over an entire vegetation period under conditions of twice the ambient level of CO₂ (700 ppm) and ozone (80 ppb), respectively. Furthermore, the effect of soil drought combined with different CO₂ levels was investigated. Scanning electron microscopy showed no change in surface morphology and size of CO₂- and drought-treated pollen. Regarding morphological parameters, elevated CO₂ resulted in an increased length of the stem and the main inflorescence and higher pollen yields, whereas drought reduced the stem and inflorescence lengths and resulted in a lower pollen yield, a result that was mitigated by elevated CO₂. Twice the ambient level of ozone tends to result in a reduced pollen yield. However, this was not statistically significant. These findings support the idea that the conditions of climate change will influence the development of common ragweed pollen, thereby affecting public health.

Keywords: Allergy, air pollution, inflorescence, climate change, stem, vegetation period

Einleitung

Der Klimawandel wird das Pflanzenwachstum und auch den Beginn, die Dauer und Intensität der Pollenproduktion beeinflussen (D'AMATO und CECCHI, 2008; ZISKA *et al.*, 2008), und eine Beziehung zwischen Klima, der Pollenproduktion und allergischer Rhinitis wurde beobachtet (BRETON *et al.*, 2006). Die jüngsten Erwärmungsbedingungen konnten mit einer Verlängerung der Pollensaison von *A. artemisiifolia* in Nord Amerika assoziiert werden (ZISKA *et al.*, 2011). Ferner konnte gezeigt werden,

dass 2-fach ambiante CO₂-Konzentrationen zu einer erhöhten Pollenmenge bei *A. artemisiifolia* führten (ROGERS *et al.*, 2006; STINSON und BAZZAZ, 2006). Allerdings sind viele Fragen bezüglich des Einflusses von Klimawandel und erhöhten CO₂-Konzentrationen auf das Gesundheitswesen noch offen (ZISKA *et al.*, 2008; 2009). Aerobiologische Studien zeigten, dass sich die Pollen-Landkarte von *A. artemisiifolia* verändert hat und dass diese Veränderungen durch den Klimawandel und Luftverschmutzung verursacht sein könnten. Darüber hinaus werden Wetterextreme die geographische Ausbreitung von Pflanzen, speziell von invasiven Neophyten, erleichtern (D'AMATO *et al.*, 2007).

Zunehmende Luftverschmutzung, vor allem durch den Verkehr verursacht, führt zu mehr aggressiven Pollen-Allergenen (RING *et al.*, 2001). Bodennahes Ozon ist einer der häufigsten Luftschadstoffe und steht in Beziehung zu globalen Klimaveränderungen (ASHMORE, 2005; MATYSSEK *et al.*, 2008; CIESLIK, 2009). Die chronische Exposition der Vegetation mit erhöhtem bodennahem Ozon wird in den kommenden Dekaden wahrscheinlich ansteigen, auf einem erhöhten Niveau bleiben und in Schäden an den Pflanzen resultieren (MATYSSEK *et al.*, 2008). Kürzlich konnte gezeigt werden, dass erhöhtes Ozon sowohl zu einer verringerten Pollenkeimung, als auch zu einem verminderten Pollenschlauch-Wachstum führt (LEISNER und AINSWORTH, 2012). Eine Ozonbegasung von *A. artemisiifolia* bis hin zur Blütenstands-Entwicklung zeigte jedoch keinen Einfluss auf Wachstumsparameter wie Blattfläche, Gesamtbiomasse oder Blütenstands-Gewicht; es wurde daher der Schluss gezogen, dass *A. artemisiifolia* unempfindlich gegenüber Ozon-Konzentrationen von bis zu 80 ppb ist (ZISKA, 2002).

Material und Methoden

Ozonbehandlung

Die Samen wurden von einer einzelnen Pflanze bei Bad Waldsee – Reute (Baden-Württemberg) gesammelt und bei Raumtemperatur bis zur Verwendung gelagert. Die Samen wurden in Pflanzschalen (40 cm x 60 cm) auf Standardsubstrat (Floradur®; Bayerische Gärtnereigenossenschaft, München) ausgesät. Die Kultivierung erfolgte in 8 Plexiglas Sub-Kammern (0,8 m x 1,0 m x 1,15 m) innerhalb von 2 begehbaren Phytotronen am Helmholtz Zentrum München (<http://www.helmholtz-muenchen.de/en/eus/index.html>; <http://www.helmholtz-muenchen.de/en/eus/facilities/phytotron/index.html>) (KANTER *et al.*, 2013). Die technischen Daten der Kammern sind bei (THIEL *et al.*, 1996) beschrieben. Der durchschnittliche saisonale Verlauf der Klimabedingungen zwischen dem 1. Mai und 15. September wurde auf einer stündlichen Basis simuliert (KANTER *et al.*, 2013). Die tägliche Lichtperiode betrug 14,5 h (durchschnittlich 500 µE m⁻² s⁻¹ PPFR mit einem realistischen Anteil an UV-A); die Tag / Nachttemperaturen waren 20-30 °C / 10-20 °C und die relative Luftfeuchte lag zwischen 30-50 % / 80-85 % (Tag / Nacht) (KANTER *et al.*, 2013). Nach 3 Wochen wurden Setzlinge in Einzeltöpfe (Ø 17 cm) pikiert und für weitere 4 Wochen in den Kammern ohne Ozon-Begasung kultiviert. Ab dem 19. Juni 2010 wurden 2 Sub-Kammern in jedem Phytotron mit 40 ppb Ozon (Kontrolle) oder 80 ppb Ozon über die weitere Vegetationsperiode begast. Der Versuch wurde über einen Zeitraum von 4,5 Monaten durchgeführt. Für die Probenahme der Pollen wurden die männlichen Blütenstände mit einem modifizierten ARACON System (BETATECH, Gent) ummantelt und die Pollen von Juli bis Ende August gesammelt.

CO₂-Behandlung und Trockenstress

Die Samen wurden in kleinen Multiflor-Töpfchen (6 cm x 6 cm; Pöppelmann, Lohne) auf Standardsubstrat (Floradur®) ausgesät. Die Kultivierung erfolgte ab dem 29.3.2011 in 2 klimatisierten Gewächshaus-Kabinen (je 36 m²; <http://www.helmholtz-muenchen.de/en/eus/index.html>; <http://www.helmholtz-muenchen.de/en/eus/facilities/greenhouse/index.html>). Eine Kabine wurde mit ambientem CO₂ (380 ppm) (Kontrolle) und die zweite Kabine mit 700 ppm CO₂ (CO₂-Proben) begast. Die Lichtverhältnisse und Temperaturen entsprachen den Außenbedingungen (ca. 60 % Lichtverhältnisse und 15 % Schattierung) mit monatlichen Durchschnittstemperaturen von 30 °C / 10 °C (Tag / Nacht) und einer relativen Luftfeuchte von 48-66 % / 69-82 % (Tag / Nacht) (Abb. 1).

15 Tage nach Keimung erfolgte die Pikierung in Einzeltöpfe (Ø 17 cm). Die Bewässerung erfolgte über eine automatische Dosierung (100 ml pro Topf und 24 h). Der Trockenstress startete am 20. Juni durch eine Reduktion der Bewässerung auf 100 ml pro 36 h. Es wurde darauf geachtet, dass kein Welken der Blätter eintrat. Der Pollen wurde von September bis Ende November gesammelt.

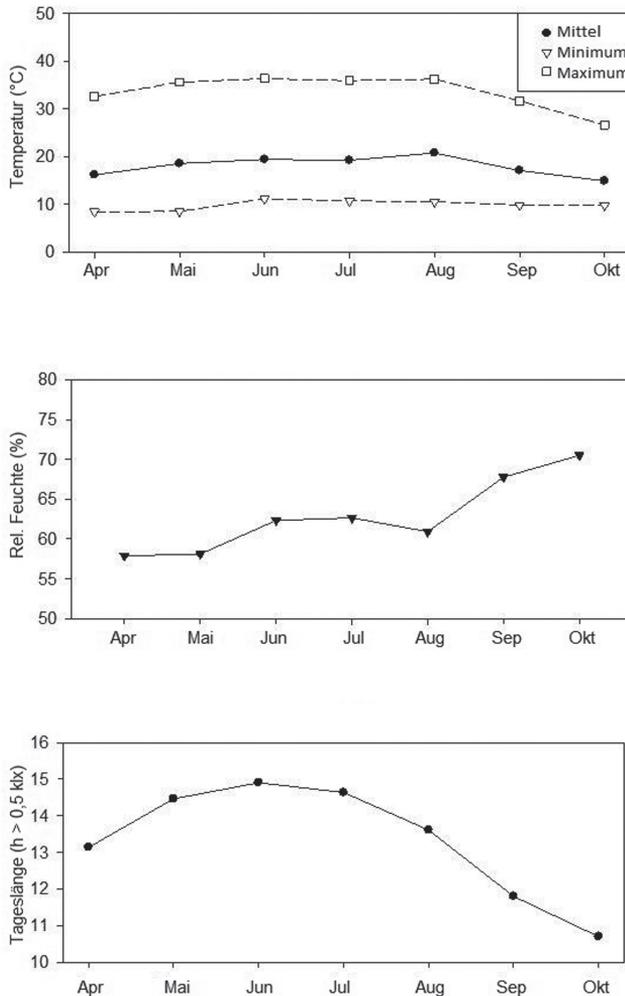


Abb. 1 Lichtbedingungen, Durchschnittstemperatur und relative Luftfeuchte in den Gewächshaus-Kabinen während der Vegetationsphase von *A. artemisiifolia*.

Fig. 1 Light conditions, mean temperature and relative humidity in the greenhouse cabinets during the vegetation period of *A. artemisiifolia*.

Pollenlebensfähigkeit

Die Lebensfähigkeit der Pollen wurde durch die MTT-Methode bestimmt (RODRIGUEZ-RIANO und DAFNI, 2000). Hierzu wurde der Pollen in einer 10 %iger Saccharose-Lösung, die mit 0,5 % 2,5-Diphenyltetrazoliumbromid (MTT) versetzt war, inkubiert. Nicht vitale Pollen zeigten keine intensiv rosa Färbung und durch Erhitzung abgetötet Pollen dienten als Negativ-Kontrolle.

Rasterelektronenmikroskopie (REM)

REM von luftgetrockneten Pollen wurden mit einem Philips XL20 Rasterelektronenmikroskop (Philips Electronics, Eindhoven) durchgeführt (KANTER *et al.*, 2013).

Statistik

Für die Datenanalyse wurde der t-Test mittels der Software SigmaPlot 12 eingesetzt (Shapiro-Wilk Normalitäts-Test oder Mann-Whitney-Rangsummentest). Zwei unterschiedliche Pflanzengruppen wurden jeweils verglichen: 40 ppb Ozon vs. 80 ppb Ozon (Stängellänge, Länge der Hauptinfloreszenz und Pollengewicht), 380 ppm CO₂ vs. 700 ppm CO₂ (Stängellänge, Länge der Hauptinfloreszenz und Pollengewicht), 380 ppm CO₂ vs. 380 ppm CO₂ + Trockenstress (Stängellänge, Länge der Hauptinfloreszenz und Pollengewicht), 380 ppm CO₂ vs. 700 ppm CO₂ + Trockenstress (Stängellänge, Länge der Hauptinfloreszenz und Pollengewicht) und 380 ppm CO₂ + Trockenstress vs. 700 ppm CO₂ + Trockenstress (Stängellänge, Länge der Hauptinfloreszenz und Pollengewicht).

Ergebnisse und Diskussion

Erhöhtes Ozon

Zwei unterschiedliche Blattmorphologien wurden bei den *A. artemisiifolia* Pflanzen festgestellt: Pflanzen mit stark dreifach-gefiederten Blättern (Abb. 2A) und Pflanzen mit schwach zweifach-gefiederten Blättern (Abb. 2B). Erhöhte Ozonkonzentrationen bewirkten eine leichte, jedoch nicht signifikante Verlängerung des Stängels von ca. 42 cm auf 47 cm (Tab. 1). Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu einem reduzierten Wachstum von Rotklee und Einjährigem Weidelgras, gewachsen unter 90 ppb Ozon (BENNETT und RUNECKLES, 1977) Die gegenwärtigen Ozonkonzentrationen in der Atmosphäre sind oft hoch genug, um den Ertrag wichtiger Nutzpflanzen wie Mais, Reis, Weizen und Kartoffel zu reduzieren (FUHRER, 2009). Wichtiger ist jedoch die effektive Ozondosis, d. h. Aufnahme, Verteilung und Entgiftung in den Blättern und nicht die extern gemessene Ozonkonzentration (MATYSSEK *et al.*, 2008; CIESLIK, 2009). In Bezug auf die Ozonsensitivität von *A. artemisiifolia* zeigte ein früherer Bericht keinen Einfluss auf Blattfläche, Stängel- und Wurzelgewicht bei Konzentrationen von bis zu 80 ppb (ZISKA, 2002). Unsere Daten weisen auch darauf hin, dass 2-fach ambiente Ozonkonzentrationen keinen Einfluss auf das Wachstum und die Physiologie von *A. artemisiifolia* haben (Tab. 1). Vergleicht man die Lebensfähigkeit von ozonbehandeltem und Kontroll-Pollen, so ergab sich kein signifikanter Unterschied. Die Lebensfähigkeit reduzierte sich vom Beginn bis zum Ende der Beprobung von 71 % (± 17) auf 60 % (± 15). Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu Resultaten bei Mais, mit einer reduzierten Keimungsrate nach einem 60-tägigen Wachstum unter 60 ppb Ozon (MUMFORD *et al.*, 1972). In ähnlicher Weise wurde die Reifung von Weidelgras-Pollen durch Ozon negativ beeinflusst (SCHOENE *et al.*, 2004). Eine Meta-Analyse über den Einfluss von Ozon auf die pflanzliche Reproduktion zeigte eine reduzierte Keimungsrate von ca. 30 % bei erhöhten Ozonwerten (LEISNER und AINSWORTH, 2012); allerdings weisen die Autoren daraufhin, dass die meisten Studien mit hohen Ozonkonzentrationen von durchschnittlich 340 ppb durchgeführt wurden. Eine Ozonbehandlung (100 ppb) von kommerziellen *A. artemisiifolia* Pollen resultierte in einer um ca. 30 % reduzierten Lebensfähigkeit (PASQUALINI *et al.*, 2011). Da die Lebensfähigkeit des Pollens im Verlauf unserer Studie generell reduzierte wurde, könnte es sein, dass bereits 40 ppb Ozon ausreichen um die Lebensfähigkeit des Pollens zu reduzieren. In Bezug auf die öffentliche Gesundheit spielt die Menge an *A. artemisiifolia* Pollen eine dominante Rolle (RAFAR *et al.*, 1991; BRETON *et al.*, 2006; GADERMAIER *et al.*, 2008); daher wurden die Länge der Hauptinfloreszenz und die Pollenmenge pro Hauptinfloreszenz untersucht. Die Infloreszenzen zeigten keine signifikanten Längenunterschiede (Tab. 1). Erhöhtes Ozon resultierte in einer geringfügig reduzierten Pollenmenge von ca. 0,36 g auf 0,32 g pro Infloreszenz; dies war jedoch ebenfalls nicht signifikant (Tab. 1). Dieses Ergebnis steht im Einklang mit einem unveränderten Blütenkätzchen-Gewicht von *A. artemisiifolia* bei einer Ozonkonzentration von 65 ppb (ZISKA, 2002). In einer anderen Studie wurden widersprüchliche Trends zwischen atmosphärischem Ozon und der Pollenkonzentration diverser Pflanzen gefunden (SOUSA *et al.*, 2008).

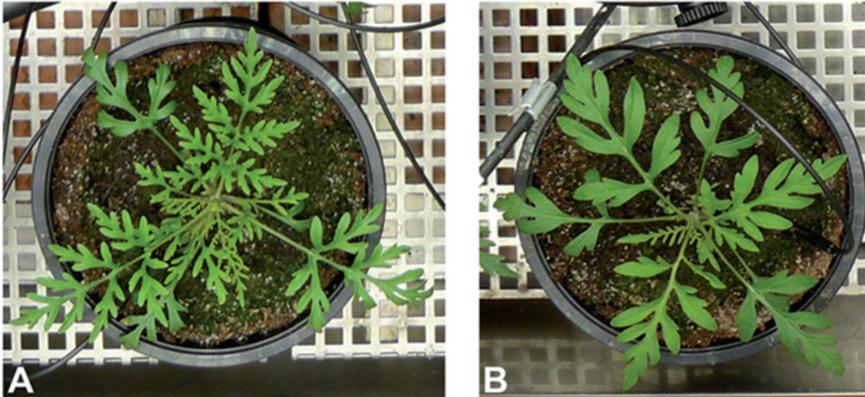


Abb. 2 Blattmorphologie von *A. artemisiifolia*. Die Pflanzen wurden in Phytotronen oder in Gewächshaus-Kabinen kultiviert.

Fig. 2 Leaf morphology of *A. artemisiifolia*. Plants were cultivated in phytotrons or in greenhouse cabinets: (A) strongly pinnate leaves, (B) weakly pinnate leaves.

Tab. 1 Das Wachstum von *A. artemisiifolia* erfolgte in Expositions-kammern unter 40 ppb, bzw. 80 ppb Ozon. Stängellänge, Länge der Hauptinfloreszenz und Pollengewicht sind angegeben; (Anzahl der Pflanzen N = 14).

Tab. 1 *A. artemisiifolia* plants were grown in exposure chambers and fumigated with 40 ppb and 80 ppb ozone; (number of plants. Stem length, main inflorescence length and pollen weight are indicated; (number of plants N = 14).

Ozon	Stängellänge (cm) ± SD	Hauptinfloreszenz (cm) ± SD	Pollenmenge/Infloreszenz(g) ± SD
40 ppb	42,42 ± 11,35	30,57 ± 5,00	0,36 ± 0,16
80 ppb	46,57 ± 14,52	33,00 ± 4,61	0,32 ± 0,14
p-Wert	0,407	0,193	0,497

Für die Statistik wurde ein Test auf Normalverteilung nach Shapiro-Wilk durchgeführt. Der Unterschied in den Mittelwerten der beiden Gruppen für Stängellänge, Länge der Hauptinfloreszenz und Pollengewicht war nicht groß genug, um die Möglichkeit abzulehnen, dass der Unterschied durch zufällige Stichproben-Variabilität entstanden ist. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Eingangs-Gruppen ($p = 0.407, 0.193$ und 0.497).

Erhöhtes CO₂ und Trockenstress

REM Bilder zeigten die erwartete rundliche Form von *A. artemisiifolia* Pollen mit einer mittleren Größe von etwa 20 µm (Abb. 3). Entsprechend der REM-Aufnahmen konnten keine Unterschiede in Pollen-Größe und Oberflächenstruktur zwischen Kontrolle, erhöhtem CO₂, Trockenstress und erhöhtem CO₂ + Trockenstress festgestellt werden (Abb. 3). In ähnlicher Weise konnte gezeigt werden, dass erhöhtes Ozon keinen Einfluss auf die Form von *A. artemisiifolia* Pollen hatte (KANTER *et al.*, 2013). Dies weist daraufhin, dass abiotischer Stress, wie er unter realistischen Freilandbedingungen vorkommt, keine negativen Auswirkungen auf die Pollenform von *A. artemisiifolia* hat. Es ist jedoch zu erwähnen, dass Trockenstress zu Veränderungen der Oberflächenstruktur von Maispollen führte (FENGBIN und SHUNYING, 2004). Erhöhtes CO₂ beeinflusste deutlich das Wachstum von *A. artemisiifolia* (Tab. 2). Der Stängel war um ca. 42% und die Hauptinfloreszenz um ca. 33% verlängert (Tab. 2). Ein solcher Effekt wurde auch für die Biomasse von Wurzel und Spross von *A. artemisiifolia* bei Behandlung mit 720 ppm CO₂ beschrieben (MARSHALL *et al.*, 2010). Obwohl eine Stimulation des Wachstums unter erhöhtem CO₂ gut bekannt ist, spielt aber auch die Nährstoffversorgung wie Nitrat oder die Wasserversorgung

eine wichtige Rolle (WOODWARD, 2002; LONG et al., 2004; BLOOM et al., 2010). Trockenstress führte zu einem reduzierten Stängelwachstum von ca. 23 % (380 ppm CO₂ vs. 380 ppm CO₂ + Trockenstress) (Tab. 2). Dieser Effekt wurde teilweise durch erhöhtes CO₂ abgeschwächt mit einem Plus von 52 % (380 ppm CO₂ + Trockenstress vs. 700 ppm CO₂ + Trockenstress) (Tab. 2). Dieses Ergebnis könnte auf eine bessere Effizienz der Wassernutzung unter erhöhtem CO₂ zurück zu führen sein, wie es für Nutzpflanzen beschrieben wurde (BURKART et al., 2011). In ähnlicher Weise führte der Trockenstress zu einer reduzierten Infloreszenzlänge (Tab. 2), was in Übereinstimmung mit einer verringerten Blütenzahl und Hülsenproduktion in Kichererbse bei Trockenstress ist (FANG et al., 2010). Erhöhtes CO₂ schwächte diesen Effekt ebenfalls ab und führte zu einem Infloreszenzwachstum vergleichbar wie bei ambienten CO₂-Konzentrationen (Tab. 2). Die Pollenproduktion war unter erhöhtem CO₂ gesteigert, wohingegen der Trockenstress zu einer reduzierten Pollenmenge führte (Tab. 2). Kürzlich wurde gezeigt, dass erhöhtes CO₂ die Pollenproduktion bei *A. artemisiifolia* stimuliert (ZISKA und CAULFIELD, 2000; WAYNE et al., 2002), und ein Anstieg des Amb a 1 Allergengehalt in *A. artemisiifolia*-Pollen wurde in Zusammenhang mit erhöhtem CO₂ gebracht (SINGER et al., 2005). Interessanterweise wurde in einem FACE Experiment mit Weihrauchkiefer gezeigt, dass die Anzahl der Pollenkörner in der ambienten und erhöhten CO₂-Fläche in 2004 nicht unterschiedlich war, wohingegen in 2005 die Pollenkörner-Zahl in der begasteten Fläche anstieg (LADEAU und CLARK, 2006). Dieses Resultat zeigt, dass interaktive Effekte unterschiedlicher Parameter unter realistischen Bedingungen zu berücksichtigen sind. Interaktive Effekte von CO₂, Temperatur und UV-B Strahlung auf die Pollenmorphologie und Pollenproduktion wurde auch bei Sojabohne beschrieben (KOTI et al., 2005). Ein derartiger interaktiver Effekt wurde auch in dieser Studie gefunden, da die reduzierte Pollenmenge unter Trockenstress durch erhöhte CO₂-Spiegel abgeschwächt wurde (Tab. 2).

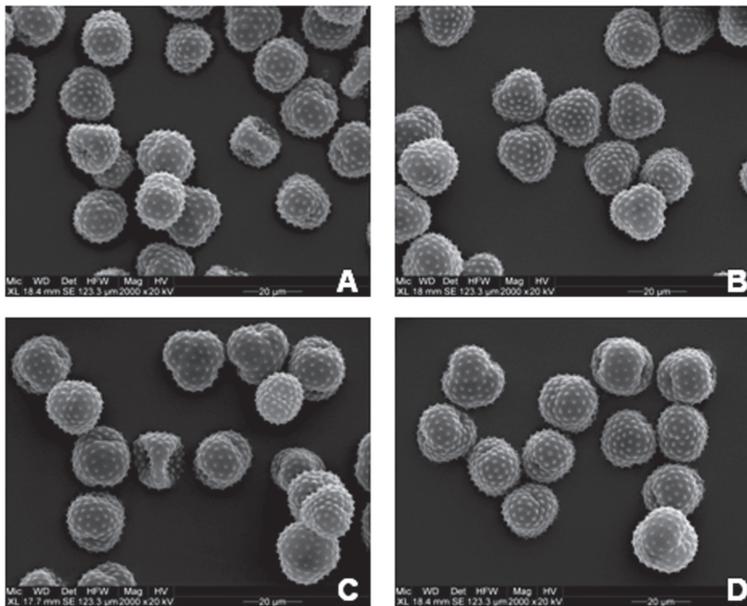


Abb. 3 Rasterelektronenmikroskopie von *A. artemisiifolia* Pollen, exponiert mit unterschiedlichen CO₂-Konzentrationen und Trockenstress. A = 380 ppm CO₂; B = 380 ppm CO₂ + Trockenstress; C = 700 ppm CO₂; D = 700 ppm CO₂ + Trockenstress. Balken entsprechen 20 µm.

Fig. 3 Scanning electron microscopy of *A. artemisiifolia*, exposed to different CO₂ concentration and drought: A = 380 ppm CO₂; B = 380 ppm CO₂ + drought stress; C = 700 ppm CO₂; D = 700 ppm CO₂ + drought stress. Bars indicate 20 µm.

Tab. 2 Das Wachstum von *A. artemisiifolia* erfolgte im Gewächshaus unter ambientem CO₂ (380 ppm) und 2-fach erhöhtem ambienten CO₂ (700 ppm). Nach 2 Monaten wurde zusätzlich ein Trockenstress durchgeführt. Stängellänge, Länge der Hauptinfloreszenz und Pollengewicht sind angegeben; (Anzahl der Pflanzen N = 9-16)

Tab. 2 *A. artemisiifolia* plants were grown in the greenhouse under ambient CO₂ (380 ppm) and twice the ambient level (700 ppm). In addition drought-stress was initiated after 2 month of growth. Stem length, main inflorescence length and pollen weight are indicated; (number of plants N = 9-16)

CO ₂	Stängellänge (cm) ± SD	Hauptinfloreszenz (cm) ± SD	Pollenmenge/ Infloreszenzen (g) ± SD	3
380 ppm (1)	64,92 ± 16,82	41,09 ± 7,98	0,81 ± 0,13	
700 ppm (2)	92,46 ± 15,66	54,83 ± 8,10	1,16 ± 0,24	
380 ppm + Trockenstress (3)	50,00 ± 09,98	32,46 ± 4,80	0,45 ± 0,07	
700 ppm + Trockenstress (4)	76,17 ± 16,03	39,78 ± 8,35	0,89 ± 0,09	
p-Wert (2 vs 1)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	
p-Wert (3 vs 1)	0,007	0,006	< 0,001	
p-Wert (4 vs 1)	0,108	0,621	0,166	
p-Wert (4 vs 3)	< 0,001	0,024	< 0,001	

Für die Statistik wurde ein Test auf Normalverteilung nach Shapiro-Wilk oder der Mann-Whitney-Rangsummentest. durchgeführt. Der Unterschied in den Mittelwerten der beiden Gruppen (700 ppm CO₂ + Trockenstress vs. 380 ppm CO₂) für Stängellänge, Länge der Hauptinfloreszenz und Pollengewicht war nicht groß genug, um die Möglichkeit abzulehnen, dass der Unterschied durch zufällige Stichproben-Variabilität entstanden ist ($p = 0.108, 0.621$ and 0.166). Für die anderen Gruppenvergleiche (700 ppm CO₂ vs 380 ppm CO₂; 380 ppm CO₂ + Trockenstress vs 380 ppm CO₂; 700 ppm CO₂ + Trockenstress vs 380 ppm CO₂ + Trockenstress) war die Differenz der Mittelwerte der jeweiligen zwei Gruppen größer als dies durch Zufall eintreten könnte. Es gab einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den jeweiligen Gruppen ($p \leq 0,024$).

Schlussfolgerungen

Unter dem Blickwinkel der öffentlichen Gesundheit werden 2-fach ambiente Ozonwerte, wie sie primär in ländlichen Gegenden während des Sommers auftreten (PAOLETTI, 2009; WITTIG *et al.*, 2009), das Wachstum von *A. artemisiifolia* nicht beeinflussen. Ferner war die Pollenmenge, welche für das allergene Potential wichtig ist, nicht erhöht. Im Gegensatz dazu steigern erhöhte CO₂-Werte das Pflanzenwachstum und die Pollenproduktion, wohingegen Trockenperioden einen negativen Effekt haben werden. Allerdings muss eine jährliche klimatische und geographische Variation in der Pollenzahl und dem Allergen-Gehalt berücksichtigt werden, wie es kürzlich für Birke beschrieben wurde (BUTERS *et al.*, 2008; BRYCE *et al.*, 2010). Zusätzlich ist eine veränderte Intensität und Dauer der Pollensaison als Antwort auf wärmere Sommer von Bedeutung (ZISKA *et al.*, 2011). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass die Allergenität nicht nur durch allergene Proteine beeinflusst wird (BRYCE *et al.*, 2010; GILLES *et al.*, 2011). Daher muss der Einfluss zahlreicher Faktoren im Hinblick auf eine zukünftige Änderung der Pollen-Allergenität berücksichtigt werden. Um diese Fragen lösen zu können sind mechanistische Studien unter kontrollierten Klimakammer-Bedingungen notwendig und ein wertvolles Instrument zur Produktion von Pollen. Allerdings muss letztendlich das allergene Potential in geeigneten Modellsystemen oder sogar in Prick-Tests erfasst werden.

Danksagungen

Diese Studie wurde finanziell unterstützt durch CK-CARE (3/09), Christine Kühne - Center for Allergy Research and Education; dem Deutschen Akademischen Austauschdienst und dem Egyptian Ministry of Higher Education & Scientific Research. Wir danken Peter Kary (EUS) für die technische Betreuung der Gewächshausversuche, sowie Elke Gerstner und Barbara Groß für die Hilfe bei der Pflanzenhandhabung. Die Samen von *A. artemisiifolia* wurden freundlicherweise von Dr. Beate Alberterst (Friedberg) zur Verfügung gestellt.

Literatur

- ASHMORE, M. R., 2005: Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. *Plant Cell Environ.* 28, 949-964.
- BENNETT, J. P. und V. C. RUNECKLES, 1977: Effects of low levels of ozone on growth of crimson clover and annual ryegrass. *Crop Sci.* 17, 443-445.
- BLOOM, A. J., M. BURGER, J. S. RUBIO-ASENSIO und A. B. COUSINS, 2010: Carbon dioxide enrichment inhibits nitrate assimilation in wheat and *Arabidopsis*. *Science* 328, 899-903.
- BRETON, M.-C., M. GARNEAU, I. FORTIER, F. GUAY und J. LOUIS, 2006: Relationship between climate, pollen concentrations of *Ambrosia* and medical consultations for allergic rhinitis in Montreal, 1994-2002. *Sci. Total Environ.* 370, 39-50.
- BRYCE, M., O. DREWS, M. F. SCHENK, A. MENZEL, N. ESTRELLA, I. WEICHENMEIER, M.J.M. SMULDERS, J. BUTERS, J. RING, A. GÖRG, H. BEHRENDT und C. TRAILD-HOFFMANN, 2010: Impact of urbanization on the proteome of birch pollen and its chemotactic activity on human granulocytes. *Int. Arch. Allergy Imm.* 151, 46-55.
- BURKART, S., R. MANDERSCHIED, K.-P. WITTICH, F. J. LÖPMEIER und H.-J. WEIGEL, 2011: Elevated CO₂ effects on canopy and soil water flux parameters measured using a large chamber in crops grown with free-air CO₂ enrichment. *Plant Biol.* 13, 258-269.
- BUTERS, J. T. M., A. KASCHE, I. WEICHENMEIER, W. SCHÖBER, S. KLAUS, C. TRAILD-HOFFMANN, A. MENZEL, J. HUSS-MARP, U. KRÄMER und H. BEHRENDT, 2008: Year-to-year variation in release of Bet v 1 allergen from birch pollen: Evidence for geographical differences between West and South Germany. *Int. Arch. Allergy Imm.* 145, 122-130.
- CIESLIK, S., 2009: Ozone fluxes over various plant ecosystems in Italy: A review. *Environ. Pollut.* 157, 1487-1496.
- D'AMATO, G. und L. CECCHI, 2008: Effects of climate change on environmental factors in respiratory allergic diseases. *Clin. Exp. Allergy* 38: 1264-1274.
- D'AMATO, G., L. CECCHI, S. BONINI, C. NUNES, I. ANNESI-MAESANO, H. BEHRENDT, G. LICCARDI, T. POPOV und P. VAN CAUWENBERGE, 2007: Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy* 62, 976-990.
- FANG, X., N. C. TURNER, G. YAN, F. LI und K.H.M. SIDDIQUE, 2010: Flower numbers, pod production, pollen viability, and pistil function are reduced and flower and pod abortion increased in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under terminal drought. *J. Exp. Bot.* 61, 335-345.
- FENGBIN, S. und D. SHUNYING, 2004. Effects of drought stress on surface ultrastructure and vigour of pollen and filament. *J. Jilin Agr. U.* 26, 1-5.
- FUHRER, J., 2009: Ozone risk for crops and pastures in present and future climates. *Naturwissenschaften* 96, 173-194.
- GADERMAIER, G., N. WOPFNER, M. WALLNER, M. EGGER, A. DIDIERLAURENT, G. REGL, F. ABERGER, R. LANG, F. FERREIRA und T. HAWRANEK, 2008: Array-based profiling of ragweed and mugwort pollen allergens. *Allergy* 63, 1543-1549.
- GILLES, S., A. FEKETE, X. ZHANG, I. BECK, C. BLUME, J. RING, C. SCHMIDT-WEBER, H. BEHRENDT, P. SCHMITT-KOPPLIN und C. TRAILD-HOFFMANN, 2011: Pollen metabolome analysis reveals adenosine as a major regulator of dendritic cell-primed T_H cell responses. *J. Allergy Clin. Immun.* 127, 454-461.
- KANTER, U., W. HELLER, J. DURNER, J. B. WINKLER, M. ENGEL, H. BEHRENDT, A. HOLZINGER, P. BRAUN, M. HAUSER, F. FERREIRA, K. MAYER, M. PFEIFER und D. ERNST, 2013: Molecular and immunological characterization of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) pollen after exposure of the plants to elevated ozone over a whole growing season. *PLoS ONE* 8, e61518.
- KOTI, S., K. R. REDDY, V. R. REDDY, V. G. KAKANI und D. ZHAO, 2005: Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination and tube lengths. *J. Exp. Bot.* 56, 725-736.
- LADEAU, S. L. und J. S. CLARK, 2006: Pollen production by *Pinus taeda* growing in elevated atmospheric CO₂. *Funct. Ecol.* 20, 541-547.
- LEISNER, C. P. und E. A. AINSWORTH, 2012: Quantifying the effects of ozone on plant reproductive growth and development. *Glob. Change Biol.* 18, 606-616.
- LONG, S. P., E. A. AINSWORTH, A. ROGERS und D. R. ORT, 2004: Rising atmospheric carbon dioxide: Plants face the future. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 591-628.
- MARSHALL, D. L., A. P. TYLER, N. J. ABRAHAMSON, J. J. AVRITT, M. G. BARNES, L. L. LARKIN, J. S. MEDEIROS, J. REYNOLDS, M.G.M. SHANER, H. L. SIMPSON und S. MALIAKAL-WITT, 2010: Pollen performance of *Raphanus sativus* (Brassicaceae) declines in response to elevated [CO₂]. *Sex. Plant Reprod.* 23, 325-336.
- MATYSSEK, R., H. SANDERMANN, G. WIESER, F. BOOKER, S. CIESLIK, R. MUSSELMAN und D. ERNST, 2008: The challenge of making ozone risk assessment for forest trees more mechanistic. *Environ. Pollut.* 156, 567-582.
- MUMFORD, R. A., H. LIPKE und D. A. LAUFER, 1972: Ozone-induced changes in corn pollen. *Environ. Sci. Technol.* 6, 427-430.
- PAOLETTI, E., 2009: Ozone and urban forests in Italy. *Environ. Pollut.* 157, 1506-1512.
- PASQUALINI, S., E. TEDESCHINI, G. FRENGUELLI, N. WOPFNER, F. FERREIRA, G. D'AMATO und L. EDERLI, 2011: Ozone affects pollen viability and NAD(P)H oxidase release from *Ambrosia artemisiifolia* pollen. *Environ. Pollut.* 159, 2823-2830.
- RAFAR, T., I. J. GRIFFITH, M. C. KUO, J. F. BOND, B. L. ROGERS und D. G. KLAPPER, 1991: Cloning of *Amb a 1* (antigen E), the major allergen family of short ragweed pollen. *J. Biol. Chem.* 266, 1229-1236.
- RING, J., U. KRÄMER, T. SCHÄFER und H. BEHRENDT, 2001: Why are allergies increasing? *Curr Opin. Immunol.* 13, 701-708.
- RODRIGUEZ-RIANO, T. und A. DAFNI, 2000: A new procedure to assess pollen viability. *Sex. Plant Reprod.* 12, 241-244.

- ROGERS, C. A., P. M. WAYNE, E. A. MACKLIN, M. L. MUILENBERG, C. J. WAGNER, P. R. EPSTEIN und F. A. BAZZAZ, 2006: Interaction of the onset of spring and elevated atmospheric CO₂ on ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) pollen production. *Environ. Health Persp.* 114, 865-869.
- SCHOENE, K., J.-T. FRANZ und G. MASUCH, 2004: The effect of ozone on pollen development in *Lolium perenne* L. *Environ. Pollut.* 131, 347-354.
- SINGER, B. D., L. H. ZISKA, D. A. FRENZ, D. E. GEBHARD und J. G. STRAKA, 2005: Increasing Amb a 1 content in common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) pollen as a function of rising atmospheric CO₂ concentrations. *Funct. Plant Biol.* 32, 667-670.
- SOUSA, S. I. V., F. G. MARTINS, M. C. PEREIRA, M.C.M. ALVIM-FERRAZ, H. RIBEIRO, M. OLIVEIRA und I. ABREU, 2008: Influence of atmospheric ozone, PM₁₀ and meteorological factors on the concentration of airborne pollen and fungal spores. *Atmos. Environ.* 42, 7452-7464.
- STINSON, K. A., F. A. BAZZAZ, 2006: CO₂ enrichment reduces reproductive dominance in competing stands of *Ambrosia artemisiifolia* (common ragweed). *Oecologia* 147, 155-163.
- THIEL, S., T. DOHRING, M. KÖFFERLEIN, A. KOSAK, P. MARTIN und H. K. SEIDLITZ, 1996: A phytotron for plant stress research: How far can artificial lighting compare to natural sunlight? *J. Plant Physiol.* 148, 456-463.
- WAYNE, P., S. FOSTER, J. CONNOLLY, F. BAZZAZ und P. EPSTEIN, 2002: Production of allergenic pollen by ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) is increased in CO₂-enriched atmospheres. *Ann. Allerg. Asthma Imm.* 88, 279-282.
- WITTIG, V. E., E. A. AINSWORTH, S. L. NAIDU, D. F. KARNOSKY und S. P. LONG, 2009: Quantifying the impact of current and future tropospheric ozone on tree biomass, growth, physiology and biochemistry: a quantitative meta-analysis. *Glob. Change Biol.* 15, 396-424.
- WOODWARD, F. I., 2002: Potential impacts of global CO₂ concentrations on plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 207-211.
- ZISKA, L. H., 2002: Sensitivity of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) growth to urban ozone concentrations. *Funct. Plant Biol.* 29, 1365-1369.
- ZISKA, L. H. und F. A. CAULFIELD, 2000: Rising CO₂ and pollen production of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*), a known allergy-inducing species: implications for public health. *Aust. J. Plant Physiol.* 27, 893-898.
- ZISKA, L. H., P. R. EPSTEIN und C. A. ROGERS, 2008: Climate change, aerobiology, and public health in the Northeast United States. *Mitig. Adapt. Strateg. Glob. Change* 13, 607-613.
- ZISKA, L. H., P. R. EPSTEIN und W. H. SCHLESINGER, 2009: Rising CO₂, climate change, and public health: Exploring the links to plant biology. *Environ. Health Persp.* 117, 155-158.
- ZISKA, L., K. KNOWLTON, C. ROGERS, D. DALAN, N. TIERNEY, M. A. ELDER, W. FILLEY, J. SHROPSHIRE, L. B. FORD, C. HEDBERG, P. FLEETWOOD, K. T. HOVANKY, T. KAVANAUGH, G. FULFORD, R. F. VRTIS, J. A. PATZ, J. PORTNOY, F. COATES, L. BIELORY und D. FRENZ, 2011: Recent warming by latitude associated with increased length of ragweed pollen season in central North America. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 4248-4251.