

**Massenspektrometrische Untersuchung der
Wurzelaufnahme, Translokation und
räumlichen Verteilung von
Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht bei der
Technischen Universität Dortmund
Fakultät für Chemie und Chemische Biologie

vorgelegt von
Herrn Daniel Skoczowsky
geboren am 12.05.1995 in Velbert

Dortmund, 2026

Dissertation, veröffentlicht an der Fakultät für Chemie und Chemische Biologie der Technischen Universität Dortmund, Dortmund.

Die in der vorliegenden Dissertation präsentierten Forschungsarbeiten wurden im Zeitraum von Oktober 2021 bis April 2025 unter der Anleitung von Dr. SEBASTIAN ZÜHLKE an der Fakultät für Chemie und Chemische Biologie der Technischen Universität Dortmund durchgeführt. Teile dieser Arbeit wurden bereits in der Bachelorarbeit von TILL BEBENROTH sowie in den Masterarbeiten von JAN PHILIPP BÖHMER, LUKAS FÖBINGER und DOMINIK SCHNEEWEIß veröffentlicht und sind als Publikationen in wissenschaftlichen Fachzeitschriften erschienen oder zur Publikation eingereicht.

Dekan: Prof. Dr. STEFAN M. KAST

1. Gutachter: Dr. SEBASTIAN ZÜHLKE

2. Gutachter: Prof. Dr. DANIEL RAUH

Eingereicht am 07.01.2026

Promotionskolloquium am 23.03.2026

Publikationen und Vorträge

Teile dieser Arbeit wurden bereits in Form von Publikationen oder Vorträgen veröffentlicht oder sind zur Veröffentlichung in wissenschaftlichen Fachzeitschriften eingereicht. Die bereits in Fachzeitschriften erschienenen Forschungsarbeiten wurden unter der Creative-Commons-Lizenz CC-BY als Open-Access-Artikel publiziert. Die daraus resultierenden Nutzungsrechte erlauben die Verwendung selbstverfasster Text- und Bildmaterialien innerhalb dieser Dissertation.

Artikel in wissenschaftlichen Fachzeitschriften:

Skoczowsky, D.; Böhmer, J. P.; Kubicki, M.; Zühlke, S., *Influence of concentration, exposure time and physicochemical properties on the root uptake and translocation of plant protection products in hydroponically grown maize, wheat and soybean. Environ. Chall.* **2026**, *23*, 101459.

Skoczowsky, D.; Föbinger, L.; Schneeweiß, D.; Kubicki, M.; Lamshöft, M.; Zühlke, S., *Impact of Physicochemical Properties of Plant Protection Products on their Fate in Hydroponically Grown Wheat: A Comparison of Substances with Similar and Diverse Structural Characteristics.* Eingereicht.

Skoczowsky, D.; Böhmer, J. P.; Kubicki, M.; Zühlke, S., *Investigation of metabolism and spatial distribution of metabolites of metalaxyl and spirotetramat after root uptake in maize using HPLC-HRMS and MALDI-MSI. Chemosphere* **2025**, *392*, 144742.

Skoczowsky, D.; Bebenroth, T.; Kubicki, M.; Zühlke, S., *Spatial analysis of uptake and accumulation of metalaxyl, spirotetramat, and spirotetramat-enol in maize at the micrometer scale using HPLC-HRMS and MALDI-MSI. J. Hazard. Mater.* **2025**, *489*, 137610.

Vorträge an Universitäten und auf Fachkonferenzen:

Zühlke, S.; **Skoczowsky, D.**, *Untersuchung der Aufnahme und Translokation von Pflanzenschutzmitteln mit unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften durch Nutzpflanzen mittels hochauflösender Massenspektrometrie*. Umwelt 2024 – Jahrestagung der SETAC GLB e.V. & GDCh FG Umweltchemie & Ökotoxikologie, Technische Hochschule Mittelhessen, Deutschland; **September 2024**.

Skoczowsky, D.; Zühlke, S., *Investigation of the Distribution of Pesticides and Their Metabolites in Plants After Root Uptake Using HPLC-HR-MS and MALDI-MSI*. 34th MassSpec-Forum Vienna, Universität Wien, Österreich; **Februar 2024**.

Skoczowsky, D.; Zühlke, S., *Investigation of Pesticide Uptake by Plants and Distribution in Tissues on a Micrometer-Scale Using Mass Spectrometry*. 17. Tag der Chemie, Technische Universität Dortmund, Deutschland; **Februar 2024**.

Skoczowsky, D.; Zühlke, S., *Investigation of Uptake and Translocation of Plant Protection Agents by Crops via HPLC-HR-MS and MALDI-MSI*. SETAC Europe 34th Annual Meeting, Convention Center Dublin, Irland; **Mai 2023**.

Skoczowsky, D.; Zühlke, S., *Analytik in der CCB – Center for Mass Spectrometry (CMS)*. JungChemikerForum, Technische Universität Dortmund, Deutschland; **April 2023**.

Vorträge bei Industrieunternehmen:

Skoczowsky, D.; Zühlke, S., *Investigation of Uptake and Translocation of Plant Protection Products With Different Physicochemical Properties by Crops via HPLC-HRMS and MALDI-MSI*. Bayer AG, Division CropScience, Monheim, Deutschland; **April 2025**.

Skoczowsky, D.; Zühlke, S., *Investigation of Uptake and Translocation of Plant Protection Products With Different Physicochemical Properties by Crops via HPLC-HRMS and MALDI Mass Spectrometry Imaging*. Bayer AG, Division CropScience, Monheim, Deutschland; **September 2024**.

Skoczowsky, D.; Zühlke, S., *Investigation of Uptake and Translocation of Plant Protection Products via HPLC-HRMS and MALDI Mass Spectrometry Imaging*. BASF Agricultural Solutions, Limburgerhof, Deutschland; **Juli 2024**.

Danksagung

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. DANIEL RAUH und Herrn Dr. SEBASTIAN ZÜHLKE meinen Dank aussprechen, die es mir ermöglicht haben, meine Doktorarbeit im Bereich der analytischen Chemie anfertigen zu können. Besonders bedanken möchte ich mich für das entgegengebrachte Vertrauen, die kontinuierliche Hilfsbereitschaft und die Übernahme der Gutachten dieser Dissertation.

Ein großer Dank gilt zusätzlich meinem Betreuer, Herrn Dr. SEBASTIAN ZÜHLKE, der mir die Möglichkeit gegeben hat, meine Doktorarbeit unter seiner Leitung zu diesem spannenden Thema anzufertigen. Sowohl die Gewährung großer wissenschaftlicher Freiheit als auch die vielen intensiven Diskussionen, häufig begleitet von Espresso, haben maßgeblich zur Qualität dieser Arbeit sowie zu meinem persönlichen und fachlichen Wachstum beigetragen. Für Dein großes Vertrauen und Deine kontinuierliche Förderung bin ich sehr dankbar.

Weiterer Dank gilt der Bayer AG, Division CropScience in Monheim, für die wertvolle Kooperation und die Unterstützung dieser Arbeit durch das Bereitstellen von Ressourcen und Fachexpertise. Besonderer Dank gebührt dabei Herrn Dr. MICHAEL KUBICKI für den kontinuierlichen wissenschaftlichen Austausch, das Messen einer Vielzahl von Proben auf den hervorragenden Massenspektrometern der Bayer AG und seine jederzeit engagierte Unterstützung in allen weiteren Belangen. Herrn Dr. MARC LAMSHÖFT danke ich für den produktiven wissenschaftlichen Austausch und die für diese Arbeit richtungsweisenden Gespräche, besonders zu Beginn der Promotion. Ich möchte zudem Herrn ANDREAS LAGOJDA für die instrumentelle Unterstützung danken.

Besonderen Dank möchte ich allen Studenten, Auszubildenden und Mitarbeitern des Zentrums für Massenspektrometrie aussprechen. Ohne die Unterstützung von JAN PHILIP SCHULZE, JAN PHILIPP BÖHMER, TILL BEBENROTH, LUKAS FÖBINGER und DOMINIK SCHNEEWEIß im Rahmen ihrer Abschlussarbeiten sowie von TILL BEBENROTH, LORENZO HILTMANN und LAURIN HOMBERG als studentische Hilfskräfte wäre die Arbeit weniger umfangreich ausgefallen und die vielen Stunden im Labor und Büro wären nicht so angenehm gewesen. Nur durch die fortwährende Hilfe von GABRIELE HARDES, EVA SANDBOTHE, JENS WARMERS, FYNN SÖRRIES, LENA HAFNER und vielen weiteren Personen war ein so reibungsloser und freudvoller Forschungsalltag möglich. An dieser Stelle möchte ich mich bei allen zusätzlich für die große praktische Unterstützung bei der Probenvorbereitung bedanken, ohne welche die Durchführung der Aufnahmestudien nicht möglich gewesen wäre.

Ich danke allen, die mich beim Erstellen der Promotionsschrift durch ihre Anmerkungen und Beiträge unterstützt haben. Besonders JONAS RÖSLER möchte ich für die gute Freundschaft und die große Sorgfalt beim Korrekturlesen danken.

Abschließend möchte ich mich ganz besonders bei meiner Partnerin Sara, meinen Eltern und meiner Familie für ihre unermüdliche Unterstützung in allen Lebenslagen bedanken. Ohne euch wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Inhaltsverzeichnis

Publikationen und Vorträge	III
Danksagung	V
Abkürzungsverzeichnis	X
Kurzfassung	XV
Abstract	XVII
1. Theoretischer Hintergrund	1
1.1 Nutzen und Risiken des chemischen Pflanzenschutzes	1
1.2 Verbleib chemischer Pflanzenschutzmittel in der Umwelt	2
1.3 Wurzelaufnahme und Verteilung von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen	8
1.4 Metabolismus von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen	15
1.5 Rückstandsanalytik	19
1.5.1 GC-MS zur Detektion von Pflanzenschutzmittelrückständen	21
1.5.2 LC-MS zur Analyse von Pflanzenschutzmittelrückständen	21
1.5.3 Untersuchung der räumlichen Verteilung von Pflanzenschutzmitteln mittels bildgebender Massenspektrometrie	24
2. Zielsetzung	28
3. Experimentelles	30
3.1 Chemikalien und Materialien	30
3.2 Stammlösungen	31
3.3 Geräte	32
3.4 Software	34
3.5 Herstellung der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung	35
3.6 Pflanzenanzucht	35
3.7 Durchführung der hydroponischen Aufnahmestudien	37
3.8 Beurteilung der Vitalität der Nutzpflanzen in den Aufnahmestudien	39
3.9 Extraktion der Pflanzenschutzmittel und Pflanzenschutzmetaboliten aus der hydroponischen Nährstofflösung	40
3.10 Probenvorbereitung zur Detektion und Quantifizierung von Pflanzenschutzmittelrückständen mittels HPLC-HRMS	41
3.11 Detektion und Quantifizierung von Pflanzenschutzmittelrückständen mittels HPLC-HRMS	42
3.12 Beurteilung der erhaltenen Informationen zur Aufnahme und Verteilung von Pflanzenschutzmittelrückständen in Nutzpflanzen	43
3.13 Probenvorbereitung für die bildgebende Massenspektrometrie	44
3.14 Analyse der räumlichen Verteilung von Pflanzenschutzmittelrückständen mittels MALDI-MSI	45

3.15 Auswertung und graphische Darstellung der durch MALDI-MSI erhaltenen Messergebnisse	46
4. Ergebnisse und Diskussion	47
4.1 Entwicklung eines hydroponischen Testsystems sowie geeigneter analytischer Methoden zur Quantifizierung und Lokalisierung von Pflanzenschutzmittelrückständen...	47
4.1.1 Etablierung eines hydroponischen Testsystems	47
4.1.2 Entwicklung der Probenvorbereitung und Messmethode zur Quantifizierung mittels HPLC-HRMS	52
4.1.3 Entwicklung der analytischen Methoden zur Lokalisierung von Pflanzenschutzmitteln und deren Metaboliten mittels MALDI-MSI	60
4.1.4 Kapitelzusammenfassung	66
4.2 Einfluss von Konzentration, Expositionsdauer und physikochemischen Eigenschaften auf die Wurzelaufnahme und Translokation von Pflanzenschutzmitteln in hydroponisch kultiviertem Mais, Weizen und Soja	67
4.2.1 Einfluss der Pflanzenschutzmittelmischung auf die Vitalität von Mais-, Weizen- und Sojapflanzen	67
4.2.2 Aufnahme von IMI, MET, FLU und TEB aus einem hydroponischen System über die Wurzeln in Mais, Weizen und Soja	70
4.2.3 Aufnahme und Translokation von IMI, MET, FLU und TEB bei vier unterschiedlichen Expositionskonzentrationen	74
4.2.4 Vergleich der Aufnahme und Translokation von MET, FLU und TEB bei einer Aufnahmedauer von zwei und sieben Tagen	79
4.2.5 Kapitelzusammenfassung	82
4.3 Einfluss der physikochemischen Eigenschaften von Pflanzenschutzmitteln auf ihre Aufnahme in Weizen: Ein Vergleich von Substanzen mit ähnlichen und unterschiedlichen strukturellen Merkmalen	84
4.3.1 Hydroponische Aufnahme von IMI, MET, FLU und TEB nach einzelner Exposition oder Mischapplikation in Weizenpflanzen	84
4.3.2 Aufnahme strukturell ähnlicher Phenylamid-Fungizide und Fluopyram-Analoga ..	86
4.3.3 Einfluss von Lipophilie und Molekülgröße auf Aufnahme und Translokation in Weizen	92
4.3.4 Visualisierung der Verteilung von Phenylamiden in Weizenwurzeln	97
4.3.5 Kapitelzusammenfassung	99
4.4 Analyse der Aufnahme und Translokation von Spirotetramat, Spirotetramat-Enol und Metalaxyl in Mais	101
4.4.1 Einfluss der Pflanzenschutzmittel auf die Gesundheit der Maispflanzen	101
4.4.2 Aufnahme und Translokation von MET, SPI und SPI-E	104
4.4.3 Visualisierung der Verteilung von MET, SPI und SPI-E in Maiswurzeln mittels bildgebender Massenspektrometrie	110
4.4.4 Räumliche Verteilung von MET im Xylem und Phloem von Maisblättern	118
4.4.5 Mögliche Auswirkungen auf den Schutz der Pflanze	120
4.4.6 Kapitelzusammenfassung	122

4.5 Metabolismus von Spirotetramat und Metalaxyl in Mais: Vergleich der Verteilung und des Transports von Wirkstoffen und ihren Metaboliten	124
4.5.1 Metabolismus von MET und SPI in Maispflanzen	124
4.5.2 Verteilung von Metaboliten zwischen Wurzeln und Spross	133
4.5.3 Verteilung der Metaboliten in Blättern unterschiedlicher Entwicklungsstadien....	137
4.5.4 Untersuchung der räumlichen Verteilung der Pflanzenschutzmittelmetaboliten mittels MALDI-MSI.....	144
4.5.4.1 Räumliche Verteilung der Pflanzenschutzmittelmetaboliten in Wurzeln	144
4.5.4.2 Räumliche Verteilung der Pflanzenschutzmittelmetaboliten im Spross	147
4.5.5 Kapitelzusammenfassung.....	152
5. Zusammenfassung und Ausblick.....	154
6. Literaturverzeichnis.....	156
7. Anhang	XIX
7.1 Ergänzende Kapitel.....	XIX
7.1.1 Inhalte mit Überschneidungen zu Abschlussarbeiten.....	XIX
7.1.2 LC-kompatible Ionisationstechniken zur Ionisation von Pflanzenschutzmitteln ...	XX
7.1.3 Python Skript zur Berechnung des Z/Ko-Verhältnisses.....	XXI
7.1.4 Berechnung des alleinigen Translokationsfaktors von SPI.....	XXIII
7.2 Ergänzende Abbildungen.....	XXIV
7.2.1 Chromatogramme und Spektren	XXIV
7.2.2 Abbildungen zu Aufnahmestudien.....	XXXIX
7.3 Ergänzende Tabellen	L
7.3.1 Pflanzenschutzmittel und Metaboliten	L
7.3.2 Tabellen zu Aufnahmestudien	LVI
7.4 Abbildungsverzeichnis.....	LXXV
7.5 Tabellenverzeichnis.....	LXXXIV

Abkürzungsverzeichnis

AA	Ameisensäure (engl. <i>acetic acid</i>)
ABC	ATP-Bindungskassette (engl. <i>ATP binding cassette</i>)
ACN	Acetonitril
ADP	Adenosindiphosphat
a.i.	Aktive Substanz (engl. <i>active ingredient</i>)
ANOVA	Varianzanalyse (engl. <i>analysis of variance</i>)
AP	Athmosphärendruck (engl. <i>athmospheric pressure</i>)
APCI	Atmosphärendruck-Chemische-Ionisation (engl. <i>atmospheric pressure chemical ionization</i>)
ATP	Adenosintriphosphat
a.u.	einheitenlos (engl. <i>arbitrary units</i>)
BX	Blatt Nummer X
BBCH	Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bundessortenamt und Chemische Industrie
BCF	Biokonzentrationsfaktor (engl. <i>bioconcentration factor</i>)
BEN	Benalaxyl
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
ca.	circa
CMC	Carboxymethylcellulose
CoA	Coenzym A
CPY	Chlorpyrifos
cv.	Kultivar (engl. <i>cultivar</i>)
CYP	Cytochrom-P450-Monooxygenase
d	Tage (engl. <i>days</i>)
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DMSO	Dimethylsulfoxid
D_{ow}	pH-abhängiger Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
d-SPE	dispersive Festphasenextraktion (engl. <i>dispersive solid phase extraction</i>)
d.w.	Trockengewicht (engl. <i>dry weight</i>)
EA	Ethylacetat
X	

ECD	Elektroneneinfangdetektor (engl. <i>electron capture detector</i>)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EFSA	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (engl. <i>European Food Safety Authority</i>)
EI	Elektronenstoßionisation (engl. <i>electron impact</i>)
En	Endodermis
engl.	englisch
Ep	Epidermis
ESI	Elektrospray-Ionisation
<i>et al.</i>	und andere (lat. <i>et alia</i>)
Ex	Exodermis
Exp.	Experiment
FGI	Pflanzenwachstumsindex (engl. <i>fresh growth index</i>)
FLP	Fluopicolid
FLU	Fluopyram
f_{om}	Gehalt organischer Substanzen im Boden
FUR	Furalaxyl
GC	Gaschromatographie
G-IMI	Guanidin-Imidacloprid
Glc	Glucosid
Gluc	Glucuronsäure
GT	Glucuronosyltransferase
h	Stunden (engl. <i>hours</i>)
ha	Hektar
HCCA	α -Cyano-4-hydroxycimtsäure
HCD	Hochenergetische Stoßdissoziation (engl. <i>Higher-energy collisional dissociation</i>)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. <i>high performance liquid chromatography</i>)
HRMS	Hochauflösende Massenspektrometry (engl. <i>high resolution mass spectrometry</i>)
IEM	Modell der Ionenverdampfung (engl. <i>ion evaporation model</i>)
IMI	Imidacloprid
IS	interner Standard
k_H	Henry Konstante

Ko	Kortex
K_{OM}	Organische Substanz/Wasser Verteilungskoeffizient (engl. <i>organic matter/water distribution coefficient</i>)
K_{OW}	Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
lat.	lateinisch
Lb	Leitbündel
LC	Flüssigkeitschromatographie (engl. <i>liquid chromatography</i>)
LOD	Nachweisgrenze (engl. <i>limit of detection</i>)
LOQ	Bestimmungsgrenze (engl. <i>limit of quantification</i>)
[M]	Molekül
M	Molgewicht
Ma	Mark(gewebe)
MAE	Mikrowellen-assistierte Extraktion (engl. <i>microwave assisted extraction</i>)
MALDI	Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (engl. <i>matrix assisted laser desorption/ionization</i>)
MAT	Malonyl/Acetyl-Transferase
MBT	2-Mercaptobenzothiazol
Me	Mesophyllgewebe
ME	Matrixeffekt
MEP	Mepronil
MES	2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure
MET	Metalaxyl
min	Minuten
MS	Massenspektrometrie
MS^2	Tandem-Massenspektrometrie
MSI	Massenspektrometrische Bildgebung (engl. <i>mass spectrometry imaging</i>)
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
n	Stichprobengröße
NADP	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NMR	Kernspinresonanz (engl. <i>nuclear magnetic resonance</i>)
NPD	Stickstoff-Phosphor-Detektoren (engl. <i>nitrogen phosphorus detector</i>)
OFU	Ofurac
OKG	Oberes Konfidenzgrenzenintervall
OXA	Oxadixyl

p(-Wert)	Signifikanzwert (lat. <i>probabilitas</i>)
P450	Cytochrom P450
PAF	Phenylamid-Fungizide
PERSAM	Modell zur Analyse der Persistenz im Boden (engl. <i>Persistence in Soil Analytical Model</i>)
Pfl.	Pflanze
Ph	Phloem
pK _a	Säuredissoziationskonstante
ppb	Anteile pro Milliarde (engl. <i>parts per billion</i>)
ppm	Anteile pro Million (engl. <i>parts per million</i>)
PSM	Pflanzenschutzmittel
QuEChERS	schnell, einfach, günstig, effizient, robust, sicher (engl. <i>quick, easy, cheap, efficient, rugged, safe</i>)
R	Wiederfindungsrate (engl. <i>recovery</i>)
R ²	Bestimmtheitsmaß
RCF	Wurzelkonzentrationsfaktor (engl. <i>root concentration factor</i>)
RF	Radiofrequenz
RSD	relative Standardabweichungen (engl. <i>relative standard deviation</i>)
RT	Retentionszeit (engl. <i>retention time</i>)
S	Spross
SEM	Standardfehler des Mittelwerts (engl. <i>standard error of the mean</i>)
Sig.	Signifikanz
SM	Glättung (engl. <i>smoothing</i>)
SOM	organische Bodensubstanz (engl. <i>soil organic matter</i>)
SPE	Festphasenextraktion (engl. <i>solid phase extraction</i>)
SPI	Spirotetramat
SPI-E	Spirotetramat-Enol
SPI _{Summe}	Summe aus SPI und SPI-E
SRIF	Triebe-zu-Wurzeln-Intensitätsfaktor (engl. <i>shoots to roots intensity factor</i>)
TEB	Tebuconazol
TF	Translokationsfaktor
TFZ	Thifluzamid
TMB	2-(Trifluormethyl)-benzamid
TOF	Flugzeitmassenspektrometer (engl. <i>time-of-flight mass spectrometer</i>)

TPA	3-Chlor-5-(trifluoromethyl)-picolinsäure (engl. <i>3-chloro-5-(trifluoromethyl) picolinic acid</i>)
TSCF	Transpirationsstrom-Konzentrationsfaktor (engl. <i>transpiration stream concentration factor</i>)
UAE	Ultraschallextraktion (engl. <i>ultrasound-assisted extraction</i>)
UDP	Uridindiphosphat
UKG	Unteres Konfidenzgrenzenintervall
UV	Ultraviolett
VE	vollentsalzt
Vpp	Spannung von Signal zu Signal (engl. <i>voltage peak-to-peak</i>)
vgl.	vergleiche
W	Wurzeln
Wahrsch.	Wahrscheinlichkeit
WUE	Wassernutzungseffizienz (engl. <i>water use efficiency</i>)
Xy	Xylem
Z	Zentralzylinder
Z _{eco}	Ökotoxikologische mittlere Bodentiefe (engl. <i>exotoxicological averaging depth</i>)
θ _{fc}	Wassergehalt bei Feldkapazität
ρ	Trockene Schüttdichte des Bodens

Kurzfassung

In der modernen Landwirtschaft werden weltweit chemische Pflanzenschutzmittel in großen Mengen eingesetzt, um Ernteerträge zu sichern und die globale Lebensmittelversorgung zu gewährleisten. Von den jährlich etwa zwei Millionen Tonnen applizierter Pflanzenschutzmittel erreicht jedoch nur ein geringer Anteil den Zielbereich. Stattdessen befindet sich nach der Applikation ein großer Anteil der aktiven Substanzen gelöst im Porenwasser des Bodens. Schätzungen zufolge werden bis zu 95 % der applizierten Wirkstoffe in Nicht-Zielkompartimente, vor allem in den Boden, eingetragen. Die Aufnahme dieser Substanzen über die Wurzeln von Nutzpflanzen beeinflusst maßgeblich den Verbleib der Pflanzenschutzmittel in der Umwelt sowie den Schutz der Pflanzen.

Zur Vertiefung des Verständnisses der Mechanismen der Wurzelaufnahme und des Transports von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen wurden im Rahmen dieser Arbeit die Aufnahme, Translokation und räumliche Verteilung ausgewählter Wirkstoffe und ihrer Metaboliten unter hydroponischen Bedingungen untersucht. Hierzu kamen hochauflösende massenspektrometrische Techniken zum Einsatz, darunter Hochleistungsflüssigkeitschromatographie gekoppelt mit hochauflösender Massenspektrometrie (HPLC-HRMS) zur Identifizierung und Quantifizierung der Wirkstoffe sowie matrixunterstützte Laser-Desorptions/Ionisations-Massenspektrometrie mit Bildgebung (MALDI-MSI) zur Lokalisierung und Visualisierung ihrer räumlichen Verteilung.

Zu Beginn der Arbeit wurde ein standardisiertes hydroponisches Testsystem etabliert, welches durch kontrollierte experimentelle Bedingungen reproduzierbare Aufnahmestudien mit unterschiedlichen Wirkstoffen und Nutzpflanzen ermöglichte. Ergänzend wurden analytische Methoden zur Extraktion, Quantifizierung mittels HPLC-HRMS und räumlichen Darstellung der Wirkstoffe mittels MALDI-MSI entwickelt und optimiert. Mithilfe dieser gelang es, unterschiedlichste Pflanzenschutzmittel und ihre Metaboliten selbst in geringen Konzentrationen in der komplexen Pflanzenmatrix zuverlässig quantitativ sowie bildgebend zu erfassen.

Durch die Untersuchung der Aufnahme und Translokation strukturell unterschiedlicher Pflanzenschutzmittel in den Nutzpflanzen Mais, Weizen und Soja wurde gezeigt, dass ihre Verteilung in den Pflanzen artspezifische Unterschiede aufwies. In diesen Aufnahmeexperimenten konnten zudem neue Erkenntnisse bezüglich des Einflusses der Expositionskonzentration und -dauer auf die Aufnahme und Verteilung der Substanzen gewonnen werden.

Um die Abhängigkeit zwischen den physikochemischen Eigenschaften von Pflanzenschutzmitteln und deren Verbleib in Nutzpflanzen genauer zu untersuchen, wurde erstmalig die Wurzel Aufnahme strukturell eng verwandter Substanzen evaluiert und verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass die Molekülgröße einen großen Einfluss auf die Akkumulation in den Wurzeln und die Lipophilie einen großen Einfluss auf das Ausmaß des Transports in den Pflanzenspross hat. Dabei stellte sich heraus, dass die Korrelation deutlich größer beim Vergleich innerhalb strukturell verwandter Substanzgruppen als unter Einbezug verschiedener Substanzklassen war. Diese Ergebnisse suggerieren, dass neben passiven Prozessen, welche anhand der physikochemischen Eigenschaften der Wirkstoffe aufschlüsselbar sind, zusätzlich spezifische aktive Transportprozesse einen maßgeblichen Einfluss auf den Verbleib der Pflanzenschutzmittel und ihrer Metaboliten haben.

Die Verteilung verschiedener Pflanzenschutzmittel und ihrer Metaboliten in unterschiedlichen Pflanzenorganen konnte mithilfe der bildgebenden Massenspektrometrie im μm -Maßstab gezeigt werden. Durch diese hohe laterale Auflösung ermöglichte MALDI-MSI erstmals eine präzise Zuordnung von Pflanzenschutzmitteln zu Leitbündelstrukturen wie Xylem und Phloem. In Kombination mit HPLC-HRMS konnten so komplexe Fragestellungen bezüglich verschiedener innerpflanzlicher Transportprozesse beantwortet werden. Auch zuvor unbekannte Unterschiede in der Aufnahme und Translokation von Pflanzenschutzmitteln und ihren Metaboliten konnten aufgeklärt werden. Auf diese Weise konnte unter anderem gezeigt werden, dass hier untersuchte Pflanzenschutzmittel nach Wurzel Aufnahme zunächst akropetal über das Xylem transportiert werden und im Anschluss phloemmobile Metaboliten zu wachsenden Pflanzenteilen umverteilt werden.

Die im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse ermöglichen durch den kombinierten Einsatz massenspektrometrischer Techniken neue Einblicke in den Verbleib von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen. Neben Rückschlüssen auf die zusätzliche Schutzwirkung der Pflanzenschutzmittel nach Wurzel Aufnahme erlauben die erhobenen Daten die Optimierung von Modellen zur Vorhersage des Verbleibs von Wirkstoffen nach der Applikation. Zusätzlich unterstreichen die Ergebnisse das Potenzial der bildgebenden Massenspektrometrie als vielversprechende orthogonale Methode in der Umweltanalytik.

Abstract

Chemical plant protection products are used in large quantities in modern agriculture worldwide to secure high crop yields and safeguard the global food supply. It has been determined that only a small proportion of the approximately two million tons of pesticides applied each year reach their target area. Instead, after application, a large proportion of the active substances are dissolved in the pore water of the soil. It is estimated that up to 95% of the active ingredients applied are absorbed into non-target compartments, primarily the soil. The uptake of these compounds via crop roots significantly influences the fate of the plant protection products in the environment and the protection of the crops.

To deepen our understanding of the mechanisms of root uptake and transport of plant protection products in crops, this study investigated the uptake, translocation and spatial distribution of selected active substances and their metabolites under hydroponic conditions. For this purpose high-resolution mass spectrometric techniques were employed, including high-performance liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry (HPLC-HRMS) for the identification and quantification of active substances. In addition matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging (MALDI-MSI) was used to localize and visualize their spatial distribution.

In the initial phase of the work, a standardized hydroponic test system was established, which enabled reproducible uptake studies with different plant protection products and crops under controlled experimental conditions. In addition, analytical methods for the extraction, quantification using HPLC-HRMS and spatial distribution analysis of the active substances using MALDI-MSI were developed and optimized. Utilizing these methods, it was possible to reliably quantify and image a wide variety of plant protection products and their metabolites, even in low concentrations in the complex plant matrix.

By investigating the uptake and translocation of structurally diverse plant protection products in maize, wheat and soybeans, it was shown that their distribution in the plants showed species-specific differences. These uptake experiments also provided new insights into the influence of exposure concentration and duration on the uptake and distribution of the compounds.

In order to further investigate the relationship between the physicochemical properties of plant protection products and their fate in crops, the root uptake of structurally closely related substances was evaluated and compared for the first time. It was shown that molecular size has a significant influence on the accumulation in roots, while lipophilicity significantly impacts the extent of translocation to the shoots. The degree of correlation was found to be significantly

greater comparing structurally related substances than including compounds from different substance classes. These results suggest that, in addition to passive processes that can be attributed to the physicochemical properties of the active ingredients, specific active transport processes also have a significant influence on the fate of plant protection products and their metabolites.

Utilizing imaging mass spectrometry, the distribution of various plant protection products and their metabolites could be visualized across different plant organs at the μm -scale. Due to this high lateral resolution, MALDI-MSI enabled the precise allocation of plant protection products to vascular bundle tissues such as xylem and phloem, for the first time. Combining this with HPLC-HRMS made it possible to answer complex questions regarding various transport processes in the crops. It also revealed previously unknown differences in the uptake and translocation of plant protection products and their metabolites. For example, it was demonstrated that the investigated compounds are initially transported acropetally via the xylem after uptake by the roots and that phloem-mobile metabolites are afterwards redistributed to the plant's growing parts.

The results presented in this study provide new insights into the fate of plant protection products in crops through the combined use of mass spectrometry techniques. In addition to conclusions about the additional protective effect of plant protection products after root uptake, the collected data allow models to be optimised for predicting the fate of active ingredients after application. Furthermore, the results highlight the potential of imaging mass spectrometry as a valuable complementary method in environmental analysis.

1. Theoretischer Hintergrund

1.1 Nutzen und Risiken des chemischen Pflanzenschutzes

Die Geschichte der Menschheit ist durch ein kontinuierliches Streben nach Nahrungssicherheit und einer ausreichenden Lebensmittelversorgung geprägt. Die Gewährleistung der Nahrungssicherheit ist auch heute noch eine der global größten Herausforderungen, weswegen weltweit Maßnahmen ergriffen werden, um die landwirtschaftliche Produktivität zu steigern und Ernteauffälle zu minimieren.^[1] Pflanzenschutzmittel stellen eine wesentliche Errungenschaft der modernen Landwirtschaft dar, welche essentiell zu diesem Ziel beitragen.^[1] Bei diesen Substanzen handelt es sich um chemische oder biologische Wirkstoffe, welche zum Einsatz kommen, um Schädlinge, Unkraut und Krankheiten zu bekämpfen und so hohe Ernteerträge sicher zu stellen.^[1-3] Der Anstieg der Weltbevölkerung sowie die veränderten Ernährungsgewohnheiten in Entwicklungsländern, hin zu mehr Milch- und Fleischprodukten lassen einen signifikanten Anstieg der Nachfrage nach Lebensmitteln bis 2050 um 70 % erwarten.^[4] Aus diesem Grund sowie in Anbetracht der limitierten Verfügbarkeit von landwirtschaftlichen Nutzflächen und der sich verändernden Klimabedingungen erfährt der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln eine zunehmende Relevanz, um die Nahrungssicherheit zu gewährleisten.^[1,4-8] Pflanzenschutzmittel umfassen eine Vielzahl biologischer sowie anorganischer und organischer Verbindungen natürlichen oder anthropogenen Ursprungs, welche aufgrund ihrer Wirkweise gegen Schädlingsgruppen klassifiziert werden.^[9] Herbizide werden zur Bekämpfung von Unkräutern eingesetzt, Fungizide zur Beseitigung von Pilzen und Insektizide zur Bekämpfung von Insekten.^[9]

Die Verwendung von Pflanzenschutzmitteln ist dabei keine Erfindung der modernen Landwirtschaft. Bereits seit tausenden von Jahren werden biologisch aktive Substanzen zur Bekämpfung von Schädlingen durch Menschen verwendet.^[10] Die frühesten eingesetzten Pflanzenschutzmittel waren dabei vor allem natürlich vorkommende anorganische Fungizide wie Schwefel und Kupfersulfat.^[10,11] Die ersten organischen Pflanzenschutzmittel waren die natürlich vorkommenden Insektizide Nikotin und Pyrethrin, welche erstmals 1838 als pflanzliche Extrakte eingesetzt wurden.^[11,12] Dichlordiphenyltrichlorethan (DDT), das erstmals 1874, ohne Kenntnis seiner biologischen Wirkung, synthetisiert wurde, gilt als das erste anthropogen hergestellte Pestizid.^[11] Die Entdeckung der insektiziden Wirkung von DDT führte ab den 1940er-Jahren zu dessen breitflächiger Anwendung.^[11,13] Mit steigenden chemischen Möglichkeiten wuchs die Entwicklung und der Einsatz synthetischer, organischer Pestizide in den folgenden Jahrzehnten.^[11] Im Fokus stand dabei vor allem eine hohe Wirksamkeit bei Zielorganismen, verbunden mit einer geringen Toxizität gegen Nichtzielorganismen sowie einer langen Wirkungsdauer. Ökologisch relevante Aspekte wie die Persistenz in der Umwelt

und die Bioakkumulation der Substanzen wurden hingegen kaum oder gar nicht berücksichtigt.^[14] Erst ab dem Jahr 1962 begann eine kritischere Erörterung der potentiellen Gefahren, welche von synthetischen Pestiziden ausgehen können.^[11,13] Ausgelöst wurde diese kritische Auseinandersetzung durch zunehmende Erkenntnisse über das Bioakkumulationspotential von DDT und seiner Metaboliten sowie über eine Resistenzbildung der Zielorganismen.^[11] Im Laufe der Jahre wurden weitere Nachteile des DDT identifiziert, darunter eine kanzerogene und neurotoxische Wirkung bei Menschen sowie hohe Giftigkeit für aquatische Wirbeltiere.^[15] Aufgrund solcher Erkenntnisse wurde im Laufe der Zeit verstärkt auf die Umweltauswirkungen chemischer Pflanzenschutzmittel geachtet, was zu einer restriktiveren Nutzung und dem Verbot einzelner Pestizide geführt hat.^[16,17] Zudem hat sich die öffentliche Wahrnehmung verändert. So liegt in der aktuellen Fachliteratur der Fokus zunehmend auf den Risiken des chemischen Pflanzenschutzes, während dessen Vorteile meist unberücksichtigt bleiben.^[18] Um eine sichere Nutzung von Pflanzenschutzmitteln zu ermöglichen, ist ein umfassendes Verständnis der toxikologischen Eigenschaften sowie des Umweltverhaltens der verwendeten Verbindungen von zentraler Bedeutung.^[16]

1.2 Verbleib chemischer Pflanzenschutzmittel in der Umwelt

Wenngleich Fortschritte in der Entwicklung von modernen Pflanzenschutzmitteln eine Reduzierung der Aufwandmengen und eine geringere Umweltbelastung ermöglichen^[19], sind Pflanzenschutzrückstände weiterhin in unterschiedlichsten Bereichen der Umwelt auffindbar.^[19-21] Obwohl der Markt für biologische Pflanzenschutzmittel ein starkes Wachstum verzeichnet, stellen Biopestizide heutzutage nur etwa 1 % aller Pflanzenschutzmittel dar.^[22,23] Der chemisch-synthetische Pflanzenschutz hat somit weiterhin die größte Bedeutung für die moderne Landwirtschaft.^[24] Weltweit werden jährlich etwa zwei Millionen Tonnen Pflanzenschutzmitteln appliziert, wobei sowohl die Aufwandmengen als auch die Anzahl neu zugelassener Wirkstoffe stetig zunimmt.^[3,25] Nach der Applikation unterliegen die Wirkstoffe unterschiedlichsten Transport- und Transformationsprozessen, welche große Auswirkungen auf ihre Persistenz sowie mögliche von ihnen ausgehende Gefahren, haben können (Abbildung 1).^[20]

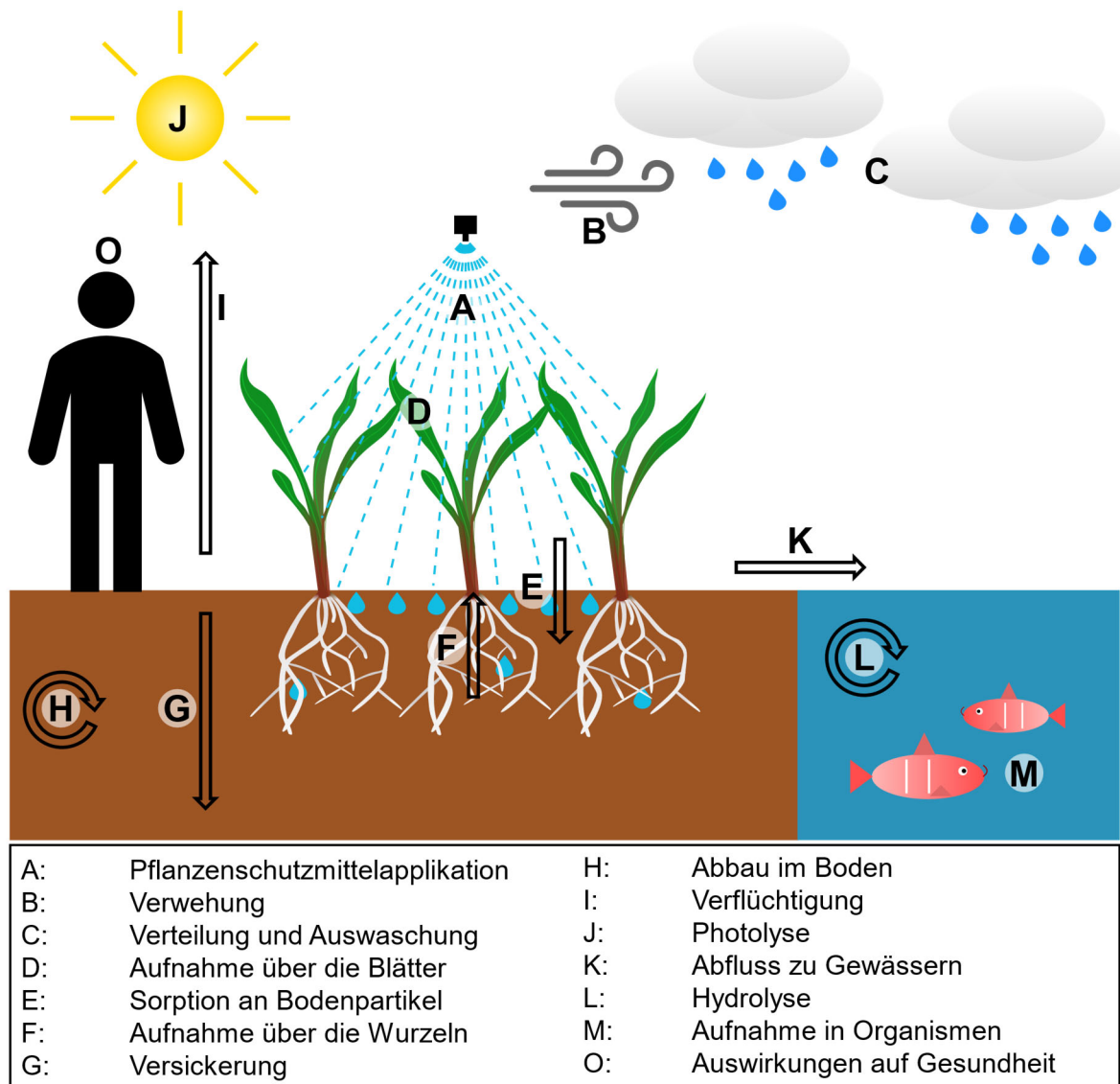


Abbildung 1: Transport- und Umwandlungsprozesse von Pflanzenschutzmitteln nach Applikation und deren potentiell negative Auswirkungen.

Die primäre Applikationsform von Pflanzenschutzmitteln ist die Spritzanwendung (Abbildung 1, A).^[25,26] Dabei werden die Wirkstoffe in einer Formulierungslösung auf die Blattoberfläche der Pflanzen gesprüht, um dort entweder als Kontaktgift auf der Oberfläche zu fungieren oder, im Falle von systemischen Pflanzenschutzmitteln, von der Pflanze aufgenommen und verteilt zu werden (Abbildung 1, D).^[25,27–29] Jedoch gelangt selbst bei isolierter Betrachtung der Applikation nicht der gesamte ausgebrachte Wirkstoff auf die Oberfläche der Nutzpflanze.^[30] Im Falle junger Maispflanzen, welche sich in der Phase der Blattentwicklung befinden (BBCH 11-19)^[31], werden schätzungsweise etwa 75 % des Wirkstoffes unmittelbar auf den Boden appliziert, da der junge Spross der Pflanzen das Feld noch nicht flächendeckend beschattet und somit keine großflächige Bodenabdeckung gegeben ist.^[30] Verwehungen und Abdrift (Abbildung 1, B) sowie Auswaschung der

Pflanzenschutzmittel durch Regen (Abbildung 1, C) sorgen zusätzlich für eine Reduktion der aktiven Substanzen auf der Zieloberfläche der Pflanzen und begünstigen deren Eintrag in den Boden.^[30,32,33] Diese Effekte tragen maßgeblich dazu bei, dass die Effizienz der Pflanzenschutzmittelanwendung reduziert wird und sich im Boden verschiedene Wirkstoffe in teils erhöhten Konzentrationen anreichern können.^[30,32,34] So wurden in Agrarböden in Frankreich bis zu 33 unterschiedliche Pflanzenschutzmittel gleichzeitig und in unerwartet hohen Konzentrationen nachgewiesen, woraus ein erhebliches Risiko für Regenwürmer abgeleitet wurde.^[35]

Pflanzenschutzmittel können darüber hinaus Verflüchtigungsprozessen unterliegen und somit von Pflanzen- oder Bodenoberflächen in die Atmosphäre gelangen (Abbildung 1, I).^[36] Wie groß der Anteil der Substanzen ist, die durch Verflüchtigung in die Atmosphäre gelangen, ist abhängig von den physikochemischen Eigenschaften der Wirkstoffe sowie umweltabhängigen Faktoren.^[36] So ist die Verflüchtigung von Lindan, einem lipophilen Insektizid, auf Zuckerrübenblättern siebenmal größer als auf Boden.^[36,37] In manchen Fällen kann dieser Transportpfad über einem Zeitraum von Tagen bis Monate in einem Verlust von bis zu 90 % der Applikationsdosis resultieren.^[36] In der Luft befindliche Pflanzenschutzmittel können durch Inhalation von Menschen und anderen Lebewesen aufgenommen werden.^[38] Die sich in der Atmosphäre befindlichen Substanzen können zudem über große Distanzen transportiert, von Wolken absorbiert und durch Regenfälle in sensible Ökosysteme eingebracht werden (Abbildung 1, C).^[39,40] So wurde in den USA ein atmosphärischer Transport des Insektizids Diazinon aus dem von intensiver Landwirtschaft geprägten Central Valley in die Sierra-Nevada-Bergkette festgestellt, der potenziell schädliche Auswirkungen auf die dort vorkommenden Amphipoden haben könnte.^[41]

Wirkstoffe in der Atmosphäre, in Wasser, auf Pflanzenoberflächen und in oberen Bodenschichten können zudem durch direkte oder indirekte photolytische Prozesse abgebaut werden (Abbildung 1, J).^[42,43] Beim direkten Photoabbau resultiert die Absorption von Photonen in einem Bindungsbruch oder einer intramolekularen Umlagerung des Pflanzenschutzmittels. Bei der indirekten Photolyse wird durch Lichtabsorption eines Chromophors eine reaktive Spezies gebildet, welche anschließend das Pestizid abbaut.^[42,44] So zeigt das Herbizid Carbetamid keinen Abbau unter direkten photolytischen Bedingungen, während in Anwesenheit von Huminsäure (Bodenstandteil) der indirekte Photoabbau als Hauptabbauweg der Verbindung identifiziert wurde.^[42,45] Die indirekte Photolyse kann daher einen bedeutenden Beitrag zur Reduktion der Persistenz von Pflanzenschutzmitteln und Schadstoffen in der Umwelt leisten. Gleichzeitig ist zu berücksichtigen, dass die entstehenden Photolyseprodukte teilweise eine erhöhte Toxizität besitzen, wie beispielsweise Hydrochinon,

welches als Abbauprodukt des Herbizids Fenoxaprop-P-ethyl eine gesteigerte Giftigkeit für Wasserflöhe aufweist.^[46]

Oberflächenabfluss (Abbildung 1, K) ist ein Prozess, bei dem die Pflanzenschutzmittel in gelöster oder partikulärer Form über die Bodenoberfläche abgetragen und transportiert werden. Unter durchschnittlichen Bedingungen betragen Verluste durch diese Art von Transport weniger als 0,1 – 1 % der applizierten Wirkstoffmenge. Jedoch kann dieser Anteil bei Stürmen oder unter anderen lokalen Extrembedingungen 5 % oder mehr erreichen.^[47,48] Nur für sehr stark an Bodenpartikel adsorbierende Wirkstoffe, welche prinzipiell sehr immobil sind, stellt Oberflächenabfluss den dominierenden Austragsweg dar.^[48] Substanzen, die so oder auf andere Arten, wie beispielsweise durch Verflüchtigung und anschließendes Abregnen, in Oberflächengewässer und Flüsse eingetragen werden, können einen großen Einfluss auf das aquatische Ökosystem haben.^[49] So führte der Oberflächenabfluss des Insektizids Azinphos-methyl im Juli 2002 in Kanada zum Tod von tausenden Fischen.^[50] Pflanzenschutzmittelrückstände können aber auch weniger deutliche, subletale Effekte haben.^[51] Eine chronische Exposition der Catla-Barbe gegenüber subletalen Konzentrationen von Cypermethrin führt zu unterschiedlichen pathologischen Veränderungen, darunter Schädigungen des Nierengewebes.^[52] Tiere an der Spitze der Nahrungskette scheinen dabei besonders gefährdet zu sein, da in ihnen die Pflanzenschutzmittelrückstände stärker akkumulieren können.^[49]

Ein zusätzlicher Abbaumechanismus der Substanzen in Wasser ist die Hydrolyse, welche entweder chemisch (abiotisch) oder enzymatisch stattfinden kann (Abbildung 1, L).^[53,54] So führt die Hydrolyse des Insektizids Spirotetramat zur Bildung des ebenfalls biologisch aktiven Spirotetramat-Enol.^[55] Während die Hydrolyseprodukte phosphororganischer Pestizide entweder nicht toxisch oder deutlich weniger toxisch als ihre Ausgangsverbindungen sind, gibt es andere Pflanzenschutzmittel, deren Hydrolyseprodukte entscheidend für die Risikobetrachtung der Wirkstoffe sind.^[53,54] Die Hydrolyse von Thiram, einem Dithiocarbamat-Fungizid, resultierte in der Bildung des toxischeren Dimethyldithiocarbamats, welches zudem eine höhere Persistenz aufweist.^[56]

Abseits des Abflusses können Pflanzenschutzmittelrückstände im Boden verschiedene Prozesse durchlaufen. Sie können fest an Bodenpartikel adsorbieren und so im Boden immobilisiert sein (Abbildung 1, E), im Porenwasser des Bodens gelöst oder durch mikrobielle Prozesse im Boden metabolisiert und abgebaut werden (Abbildung 1, H).^[20,47] Im Porenwasser gelöste Wirkstoffe können zusätzlich über die Wurzeln in Pflanzen aufgenommen werden (Abbildung 1, F).^[57–59] Der genaue Verbleib der Wirkstoffe im Boden ist abhängig von den Eigenschaften des Bodens und der Nutzpflanzen sowie den physikochemischen Parametern der Wirkstoffe (Abbildung 2).^[60,61]

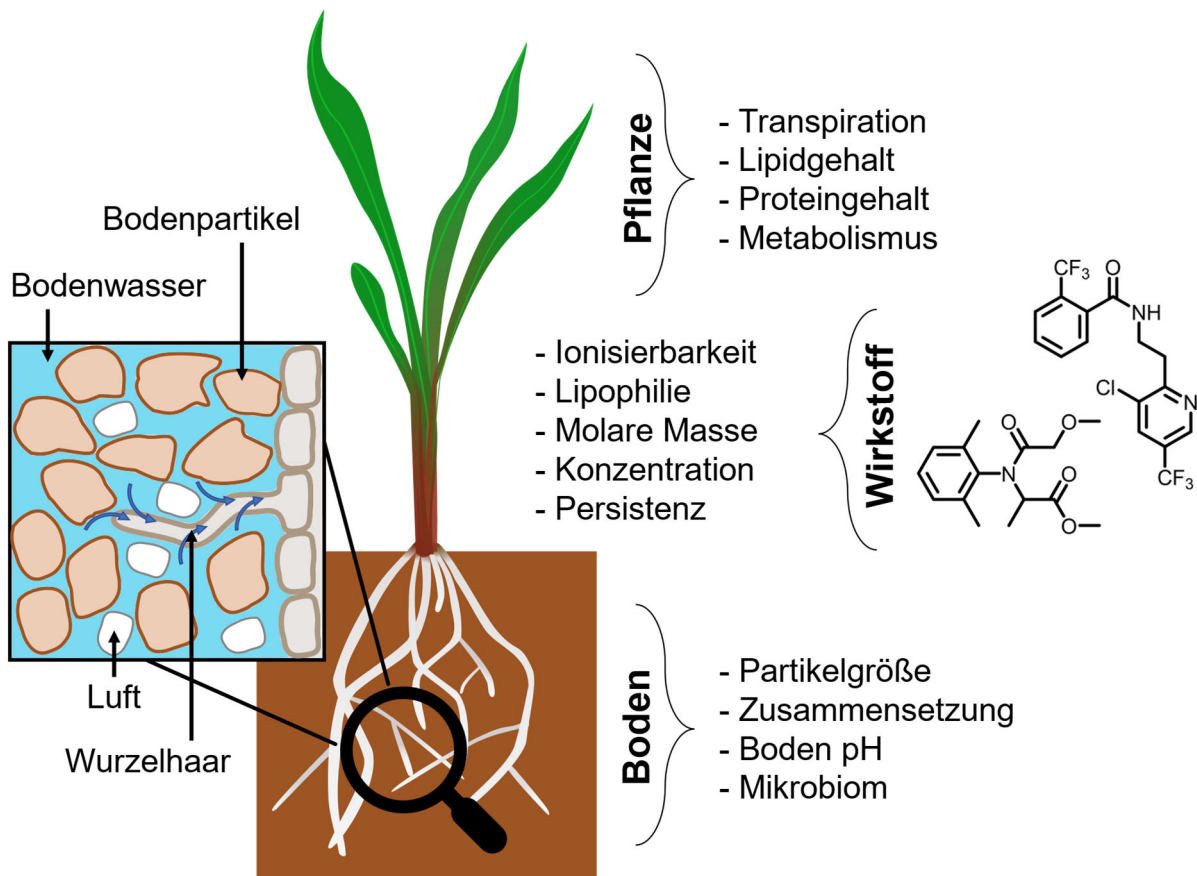


Abbildung 2: Eigenschaften von Pflanze, Wirkstoff und Boden, welche die Verteilung von Pflanzenschutzmittelrückständen in landwirtschaftlichen Böden beeinflussen.

Boden besteht im Allgemeinen aus Mineralien (45 %), organischen Substanzen (5 %), Luft (25 %) und Wasser (25 %).^[62] Somit spielt auch die Hydrolyse im Boden eine Rolle für den Abbau der Pflanzenschutzmittel.^[63] Die Eigenschaften des Bodens tragen maßgeblich zum Umweltverbleib der im Boden befindlichen Wirkstoffe bei.^[20,64,65] Die Partikelgröße des Bodens ist wichtig für das Adsorptionsverhalten, da eine größere Oberfläche in mehr aktiven Positionen für Interaktionen zwischen Wirkstoffen und Boden resultiert. Bei der Untersuchung der lipophilen Pflanzenschutzmittel-Zwischenprodukte Tetrachlorbenzol und Pentachlorbenzol in verschiedenen Böden wurde eine inverse Korrelation der Adsorption mit der Partikelgröße festgestellt.^[64,66] Die genaue Zusammensetzung des Bodens ist zudem entscheidend für die Retention und Mobilität der Wirkstoffe, da die Bestandteile im Boden maßgeblich für das Ausmaß und die Stärke der stattfindenden Sorptionsreaktionen sind.^[67]

Organische Substanzen im Boden (*soil organic matter*, SOM) stellen aufgrund der möglichen hydrophoben Wechselwirkungen mit den Wirkstoffen die primären Sorbenzien für unpolare Pflanzenschutzmittel dar.^[61] Vor allem ungeladene, lipophile chlororganische Pflanzenschutzmittel wie DDT zeigen ein hohes Potential für Adsorption an SOM.^[68] Folgerichtig korreliert ein höherer Gehalt an organischen Komponenten im Boden stark mit

einer stärkeren Bodenadsorption.^[67,69] Besonders für Böden mit einem geringeren Anteil an organischen Substanzen und bei hydrophileren Wirkstoffen ist der Anteil an Tonmineralen für den Verbleib von Pflanzenschutzmittelrückständen entscheidend.^[65,67,70] Anders als bei der organischen Bodenfraktion ist dabei jedoch vor allem die Art der Tonminerale von Bedeutung, da diese durch physikalische Wechselwirkungen, aber auch durch Kationen- oder Anionenaustausch Wirkstoffe im Boden zurückhalten können.^[65,67,69] Darüber hinaus sind der pH-Wert des Bodens sowie dessen Ionenstärke von Relevanz.^[67,69] Der pH-Wert beeinflusst die Ladungen an den Bodenpartikeloberflächen sowie den Ladungszustand der Wirkstoffe bei ionisierbaren Substanzen.^[67,69] Bezüglich der Stoffeigenschaften ist ein genereller Trend ersichtlich, nach dem hydrophile Substanzen wie Imidacloprid eher im Porenwasser gelöst vorliegen, während lipophile Substanzen wie Tebuconazol vermehrt an Bodenpartikel gebunden sind.^[71] Dieser Effekt ist auch für die Persistenz von großer Bedeutung, da Sorptionsprozesse für den mikrobiellen Abbau einen Konkurrenzprozess darstellen, indem diese die Bioverfügbarkeit der Substanzen reduzieren.^[72] Das im Boden vorliegende Mikrobiom ist dabei von entscheidender Bedeutung, um die Pflanzenschutzmittelrückstände abzubauen und eine Akkumulation in der Umwelt zu verhindern.^[72] Diese Prozesse sind jedoch nur von Bedeutung, wenn die Toxizität der Moleküle die mikrobielle Aktivität nicht hemmt.^[61]

Im Porenwasser gelöste Substanzen sind deutlich mobiler als solche, welche an Bodenpartikel gebunden vorliegen. Daher besteht besonders bei hydrophileren Pflanzenschutzmitteln und sandigen Böden mit wenig Sorption die Gefahr der Auswaschung, wodurch es zur Kontamination des Grundwassers kommen kann.^[73,74] Grundwasser stellt etwa 99 % der Süßwasserreserven der Erde dar und deckt weltweit circa 50 % des Trinkwasserbedarfs sowie 40 % des Wasserbedarfs in der Landwirtschaft.^[73] Daher ist der Schutz des Grundwassers und die Vermeidung der Kontamination durch Pflanzenschutzmittelrückstände von zentraler Bedeutung.^[73] Der im Porenwasser vorliegende Wirkstoffanteil wird als bioverfügbare Fraktion angesehen.^[75] Diese kann durch Pflanzenwurzeln aufgenommen werden.^[71,76] Die Aufnahme in Nutzpflanzen kann somit als direkter Konkurrenzprozess zum Auswaschen angesehen werden.^[26,77] Ob und in welchem Umfang die Pflanzenschutzmittel durch Wurzel Aufnahme in die Pflanze gelangen, ist abhängig von der Konzentration im Porenwasser, den Eigenschaften der Wirkstoffe und der Pflanze.^[71] So nehmen Pflanzen, die viel Wasser transpirieren, generell eine höhere Menge an Wirkstoffen auf.^[78] In Pflanzen mit einem höheren Lipid- oder Proteinanteilen kann zudem ein höheres Maß an Bioakkumulation der Substanzen stattfinden.^[79,80] Die Pflanzenaufnahme kann positive und negative Auswirkungen haben, abhängig von Wirkstoff und Konzentration in verschiedenen Teilen der Pflanze. Einerseits kann eine Anreicherung in Pflanzenteilen wie Früchten negative Auswirkungen auf die Gesundheit von Tieren und Menschen haben.^[81] Andererseits kann die zusätzliche Aufnahme

durch die Pflanzenwurzeln die Applikationseffizienz steigern, den Pflanzenschutz verbessern und Auswaschungsverluste vermindern, was die Belastung von Gewässern reduzieren kann.^[26,77,82]

Die Aufnahme durch Pflanzenwurzeln ist somit ein entscheidender Aspekt für die Landwirtschaft sowie den Umweltverbleib der Substanzen. Pflanzenschutzmittel und Schadstoffe auch abseits landwirtschaftlicher Flächen gezielt durch die Aufnahme in Pflanzen aus der Umwelt zu entfernen, wird als Phytosanierung bezeichnet und gewinnt kontinuierlich an Bedeutung.^[83] Dabei wird auf verschiedene Fähigkeiten der Pflanzen zurückgegriffen. Die Rhizodegradation beschreibt den verstärkten Abbau von Schadstoffen durch Mikroorganismen in Wurzelnähe, der Rhizosphäre. Durch Phytoextraktion werden die Substanzen über die Pflanzenwurzeln aus Boden oder Wasser aufgenommen und in der Pflanze gesammelt, während Phytodegradation den enzymatischen Abbau der Schadstoffe zu weniger toxischen Produkten in der Pflanze beschreibt. Bei der Phytoverflüchtigung werden anschließend leicht flüchtige Wirkstoffe und Metaboliten über die Blätter in die Atmosphäre abgegeben.^[83–85]

Die Aufnahme und der Abbau von Pflanzenschutzmitteln durch Pflanzenwurzeln ist somit ein vielschichtiger nachhaltiger Prozess, welcher nachhaltig die Umwelt und Agrarflächen schützen kann. Bezieht man alle Formen des Abtransports und Abbaus mit ein, führt die Ausbringung von Pflanzenschutzmitteln auf landwirtschaftlichen Flächen in Summe zu einem Verlust von etwa 95 % der applizierten Wirkstoffe in Nicht-Zielbereiche wie den Boden.^[3] Bezogen auf die Wirkung wird vermutet, dass oftmals sogar unter 0,1 % der auf Nutzpflanzen ausgebrachten Menge an Pflanzenschutzmitteln die Zielorganismen erreichen.^[3] Ein fundiertes Verständnis der Aufnahme, Verteilung und Metabolisierung von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen ist daher entscheidend, um wirksame, nachhaltige Strategien zur Reduktion der Umweltbelastung zu entwickeln.

1.3 Wurzelaufnahme und Verteilung von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen

Die primären Funktionen der Wurzel sind die Verankerung der Pflanze im Boden sowie die Absorption von Wasser und Nährstoffen.^[86] Zu diesem Zweck bildet die Pflanze feine Wurzelhärchen aus, um die Wurzeloberfläche und somit den Kontakt mit dem Boden zu maximieren.^[86,87] Wasser und im Wasser gelöste Substanzen, wie Pflanzenschutzmittel, dringen vor allem in Nähe der Wurzelspitze in die Wurzel ein, da ältere Teile der Wurzel weniger wasserdurchlässig sind.^[86] Um in die oberirdischen Pflanzenteile transportiert werden zu können, müssen die Substanzen die Leitbündel, bestehend aus Xylem und Phloem, im Zentrum der Wurzel erreichen.^[86] Dazu müssen verschiedene Teile der Wurzel durchquert

werden, darunter die Epidermis, der Kortex und die Endodermis (Abbildung 3).^[86] Nach Aufnahme in die Wurzelhaare lässt sich der Transport von Pflanzenschutzmitteln von der Epidermis zur Endodermis in drei Wege unterteilen: Der apoplastische, symplastische und transmembrane Transportweg (Abbildung 3).^[86,88]

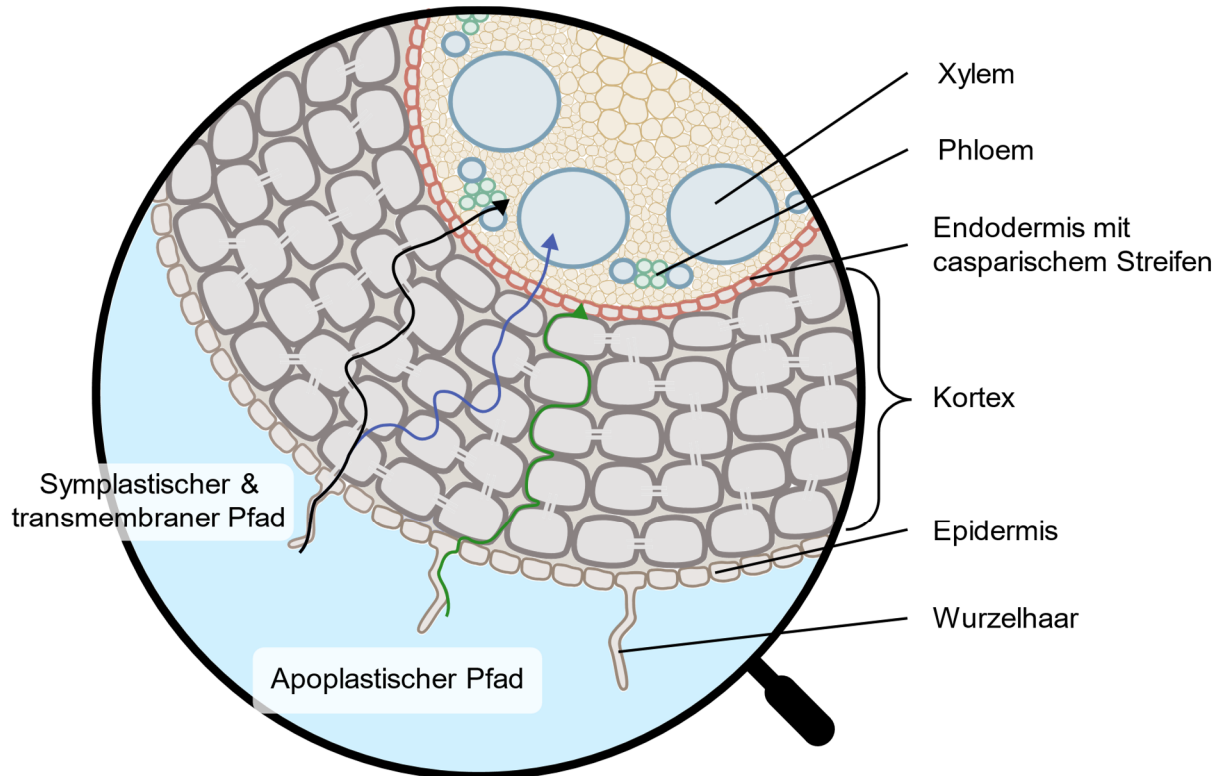


Abbildung 3: Aufnahme von Wasser und Pflanzenschutzmittelrückständen aus dem Porenwasser über die Wurzelhaare und Transport durch verschiedene Gewebetypen der Wurzel zu den Leitbündeln, bestehend aus Xylem und Phloem. Dabei wird beim Transport zwischen dem symplastischen Pfad (schwarz), transmembranen Pfad (blau) und apoplastischen Pfad (grün) unterschieden.

Der Apoplast bezeichnet das System aus Zellwänden, zwischenzellulärem Raum sowie den Hohlraum (Lumen) nichtlebender Zellen.^[86] Durch diesen Raum kann ein Wirkstoff, ohne eine Zellmembran zu durchdringen, durch den Kortex bis zur Endodermis gelangen (Abbildung 3, grüner Pfad).^[88] Der Symplast beschreibt das gesamte Netzwerk der Zellen, welche durch Plasmodesmen verbunden sind.^[86] Auf dem symplastischen Pfad können Substanzen transportiert werden, welche in der Lage sind, durch Zellmembranen zu diffundieren.^[76,88] Nach dem Eindringen in das Innere der Zellen findet ein Transport durch die Plasmodesmen von Zelle zu Zelle bis zur Endodermis statt (Abbildung 3, blauer Pfad).^[76,88] Beim transmembranen Transportweg bewegen sich die Wirkstoffe ebenfalls durch den Symplast, passieren jedoch die Zellmembrane jeder Zelle auf ihrem Weg zweimal, statt sich durch die Plasmodesmen fortzubewegen (Abbildung 3, schwarzer Pfad).^[76,86,88]

Auf ihrem Weg durch den Kortex gelangen die Substanzen am Zellenring der Endodermis auf eine Barriere, den Casparischen Streifen (Abbildung 3).^[86,88] Dieser ist ein Band innerhalb der radialen Zellwände der Endodermis, welches unter anderem aus dem hydrophoben Polymer Lignin besteht und den Weg des apoplastischen Weges unterbricht.^[86] Um diese Barriere passieren zu können, müssen die gelösten Pflanzenschutzmittel mit dem Wasser die Membranschicht der Endodermis durchqueren.^[76,88] Nur so ist ein Erreichen der Stele, dem zentralen Teil der Wurzel, in welchem sich die Leitbündel befinden, möglich.^[86,88] Wirkstoffe, die ausschließlich über den apoplastischen Weg transportiert werden und nicht in der Lage sind, durch Zellmembranen zu diffundieren, können diese Barriere nicht passieren. In der Folge akkumulieren sie vor der Endodermis im Kortex der Pflanzenwurzel.^[26,76,88,89] Es wird angenommen, dass die Aufnahme von Pflanzenschutzmitteln durch Nutzpflanzen größtenteils ein unspezifischer, passiver Prozess ist, der primär durch die Verteilung der Wirkstoffe zwischen dem wässrigen Zellmilieu und organischen Komponenten, wie Lipiden, bestimmt wird.^[57,90–93] Somit ist die Membranpermeabilität der Pflanzenschutzmittel entscheidend für die Aufnahme und ihren Verbleib in Nutzpflanzen.^[88] Da diese maßgeblich von den physikochemischen Eigenschaften der Wirkstoffe beeinflusst wird, kommt diesen Eigenschaften eine zentrale Bedeutung zu. Zu den wichtigsten Parametern zählen dabei die Lipophilie ($\log K_{OW}$), die Molekülmasse (M) sowie der Säuredissoziationskonstante (pK_a), welche den Ladungszustand in der Nährlösung und in verschiedenen Pflanzenkompartimenten bestimmt.^[57,59,78,94–97]

Eine hohe Lipophilie ermöglicht eine schnelle Diffusion der Pflanzenschutzmittelrückstände durch Zellmembranen und somit eine erhöhte Mobilität in der Pflanze.^[88] Es wird jedoch angenommen, dass eine maximale Mobilität von Pflanzenschutzmitteln bei ungeladenen Verbindungen mit intermediärer Lipophilie erreicht wird.^[57,89,95,98–100] Substanzen hoher Lipophilie werden tendenziell über den symplastischen Pfad aufgenommen, können dabei jedoch aufgrund ihrer hohen Affinität zu Wurzellipiden in den Wurzeln akkumulieren.^[100–102] Hydrophile Verbindungen gelangen hingegen in der Regel über den apoplastischen Weg bis zur Endodermis.^[101] Aufgrund ihrer Polarität können sie jedoch schwer Membranen passieren, was eine geringe Diffusionsrate durch den Casparischen Streifen und somit eine Akkumulation in der Wurzel zur Folge hat.^[89,100] Eine Studie zur Aufnahme von elf Pflanzenschutzmitteln unterschiedlicher Eigenschaften zeigte, dass vor allem die Lipophilie deren Aufnahme und Transport in Weizen beeinflusst.^[93] Nach aktuellem Wissensstand stellt die Lipophilie die wichtigste Stoffeigenschaft für den Verbleib von organischen Verbindungen in Pflanzen dar.^[71,90,93,95,97] So konnte gezeigt werden, dass die Lipophilie achtmal stärker mit dem akropetalen Transport korreliert als die Molekülgröße, dem zweitwichtigsten Parameter.^[90,97]

Der pK_a -Wert von Pflanzenschutzmitteln und deren Metaboliten bestimmt deren Ladungszustand im Bodenwasser sowie im Symplast und Apoplast der Pflanze.^[100] Aufgrund des negativen Potentials pflanzlicher Zellmembranen ist die Diffusionsrate von kationischen und anionischen Substanzen stark reduziert.^[59] Zusätzlich sind geladene Wirkstoffe signifikant hydrophiler als ungeladene, was ihre Mobilität in Pflanzen nach Aufnahme zusätzlich einschränkt.^[95,103] So zeigte die hydroponische Aufnahme des Antibiotikum Sulfamethoxazol bei verschiedenen pH-Werten, dass die anionische Form des Wirkstoffs verstärkt in Wurzeln akkumuliert und akropetaler Transport im Vergleich zur ungeladenen Form deutlich eingeschränkt ist.^[61]

Um Zellmembranen passieren zu können, müssen systemische Pflanzenschutzmittel zudem eine ausreichend geringe Molekülmasse und -größe aufweisen.^[78,104,105] So zeigen mehrere Studien, dass der akropetale Transport innerhalb der Pflanze bei einer Molekülmasse größer 400 g/mol stark eingeschränkt ist, was zu einer Akkumulation im Wurzelgewebe führt.^[78,100,106] So konnten Unterschiede im Aufnahmeverhalten von verschiedenen Neonicotinoiden (z.B. Imidacloprid) primär auf das unterschiedliche Molekulargewicht der Wirkstoffe zurückgeführt werden.^[100,107]

Zusätzlich zur passiven Aufnahme durch Diffusion kann ein aktiver Transport entgegen des Konzentrationsgradienten stattfinden, was zu einer erhöhten Bioakkumulation führen kann.^[88,90,91] So wurde eine starke Aufnahme von nitrosubstituierten Verbindungen in Sojawurzeln, aber nicht in Weizenwurzeln festgestellt.^[108] Dies wurde auf einen aktiven Aufnahmeprozess zurückgeführt, der vermutlich mithilfe von Aminosäuretransportern abläuft, welche die Nitro-Wirkstoffe als alternative Stickstoffquelle transportieren.^[90,108] Dieser Prozess ist hochspezifisch und hängt sowohl von der Struktur der organischen Verbindung als auch von der Pflanzenspezies ab.^[108–111]

Gelangen die Pflanzenschutzmittelrückstände bis in die Stele, können sie durch das spezialisierte Gefäßsystem, welches aus Xylem und Phloem besteht, in andere Pflanzenteile transportiert werden (Abbildung 4).^[76] Das Xylem, das aus lignifizierten Zellen besteht, ist dabei primär für den Transport von Wasser und mineralischen Nährstoffen aus den Wurzeln in Spross und Blätter verantwortlich.^[112] Dieser Transpirationsstrom ist getrieben durch die Evaporation von Wasser an den Stomata der Blätter und des daraus resultierenden negativen hydrostatischen Drucks.^[112] Aus diesem Grund ist der Transport von Pflanzenschutzmitteln und anderen Substanzen aus dem Boden durch das Xylem ein unidirektionaler, akropetaler Prozess.^[112–114] Das Beladen ins Xylem und der anschließende Transport mit dem Transpirationsstrom ist der Haupttransportpfad einer Vielzahl von Pflanzenschutzmitteln.^[76,113–117]

Im Gegensatz zum Xylem setzt sich das Phloem aus lebenden Zellen zusammen und dient der Verteilung von Assimilaten, insbesondere Zuckern.^[118] Der Mechanismus des Phloem-Transports wird häufig mithilfe des Druckstrom-Modells erklärt.^[86,114] Nach diesem findet an der „Quelle“ eine aktive Beladung von Sukrose und anderen organischen Verbindungen in das Phloem statt.^[119] Die Quellen sind dabei ausgewachsene Blätter, welche durch Photosynthese Assimilate produzieren.^[119] Die erhöhte Zuckerkonzentration im Phloem erhöht daraufhin das osmotische Potential wodurch Wasser aus dem Xylem ins Phloem fließt (Abbildung 4).^[114] Dies erhöht den Druck im Phloem an der Quelle und der Phloemsaft fließt in Richtung einer Senke, welche ein wachsendes Blatt, eine wachsende Wurzel oder eine Frucht sein kann.^[86,114,119] Pflanzenschutzmittel können in das Phloem diffundieren und dieses passiv in Senken entlang des Konzentrationsgradienten wieder verlassen.^[114] Somit handelt es sich hierbei um einen bidirektionalen Transport, der auch entgegen des Transpirationsstroms stattfinden kann.^[114] Durch Transport im Phloem können größere Mengen an Pflanzenschutzmitteln und ihre Metaboliten in wachsende Pflanzenteile gelangen, welche sonst durch den Xylemsaft nicht erreicht werden könnten.^[114]

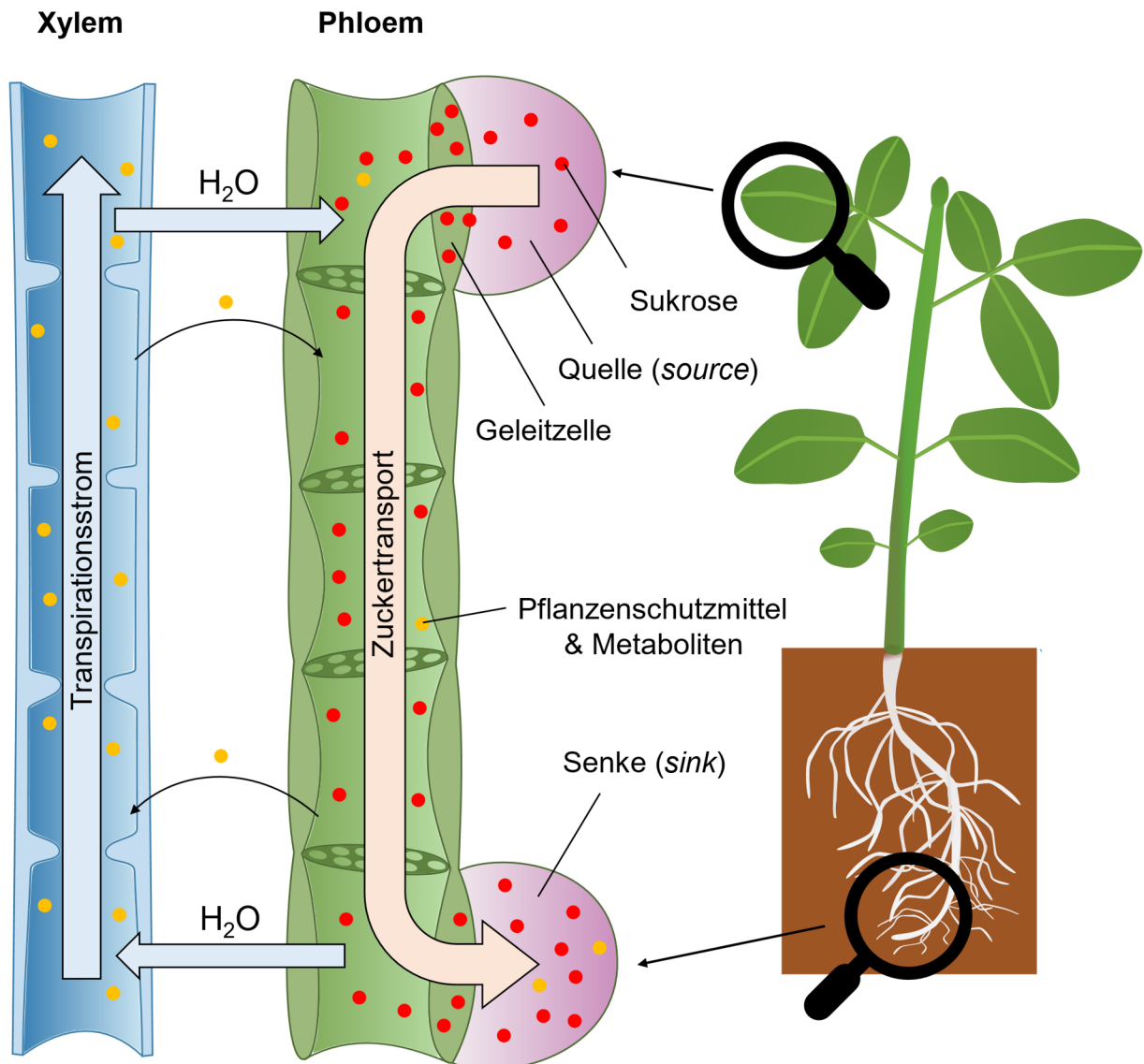


Abbildung 4: Transport von Wasser, Zucker und Pflanzenschutzmitteln sowie deren Metaboliten mit dem Xylem und Phloem in Pflanzen.

Systemische Pflanzenschutzmittel können grundsätzlich sowohl durch das Xylem als auch durch das Phloem in der Pflanze transportiert werden.^[120] Welcher Transportweg dominiert, hängt vor allem von der chemischen Struktur und den physikochemischen Parametern der Wirkstoffe ab.^[96,120] Der Langstreckentransport erfordert, dass die Substanzen in die Siebröhren diffundieren können und bis zu den Senken im Phloem verbleiben.^[121] Substanzen mit großer Molekülgröße können die Zellmembranen des Phloems nur schwer passieren, was ihren Transport im Phloem stark limitiert.^[122] Verglichen zum Xylem ist der Transport im Phloem 50 – 100 Mal langsamer.^[26,120] Dadurch ist die Retention der Substanzen über einen längeren Zeitraum entscheidend für den Langstreckentransport im Phloem.^[26,120,121] Pflanzenschutzmittel mit schwach sauren funktionellen Gruppen, wie beispielsweise Carbonsäuren, zeigen eine erhöhte Phloemmobilität.^[114,123] Bei Diffusion in das Phloem erfolgt

eine Deprotonierung dieser, was in einer reduzierten Membranpermeabilität und somit längeren Verweilzeit im Phloem resultiert.^[123,124]

Um die Mobilität von systemischen Pflanzenschutzmitteln zu beschreiben, haben sich verschiedene Metriken etabliert.^[82] Der Transpirationsstrom-Konzentrationsfaktor (TSCF) beschreibt die Konzentration im Xylemsaft im Verhältnis zur Konzentration im umgebenden Medium (Boden oder Nährlösung), in welchem sich die Pflanze befindet.^[78,82,125] Alle rein passiv aufgenommenen Substanzen haben einen TSCF-Wert zwischen 0 und 1, wobei ein Wert von 0,5 bedeuten würde, dass die Hälfte der aufgenommenen Substanzmenge in die Triebe umverteilt wird.^[82] Seit den 80er-Jahren wurde der TSCF genutzt, um Korrelationen zwischen der Lipophilie und der Mobilität von Pflanzenschutzmitteln festzustellen (Abbildung 5).

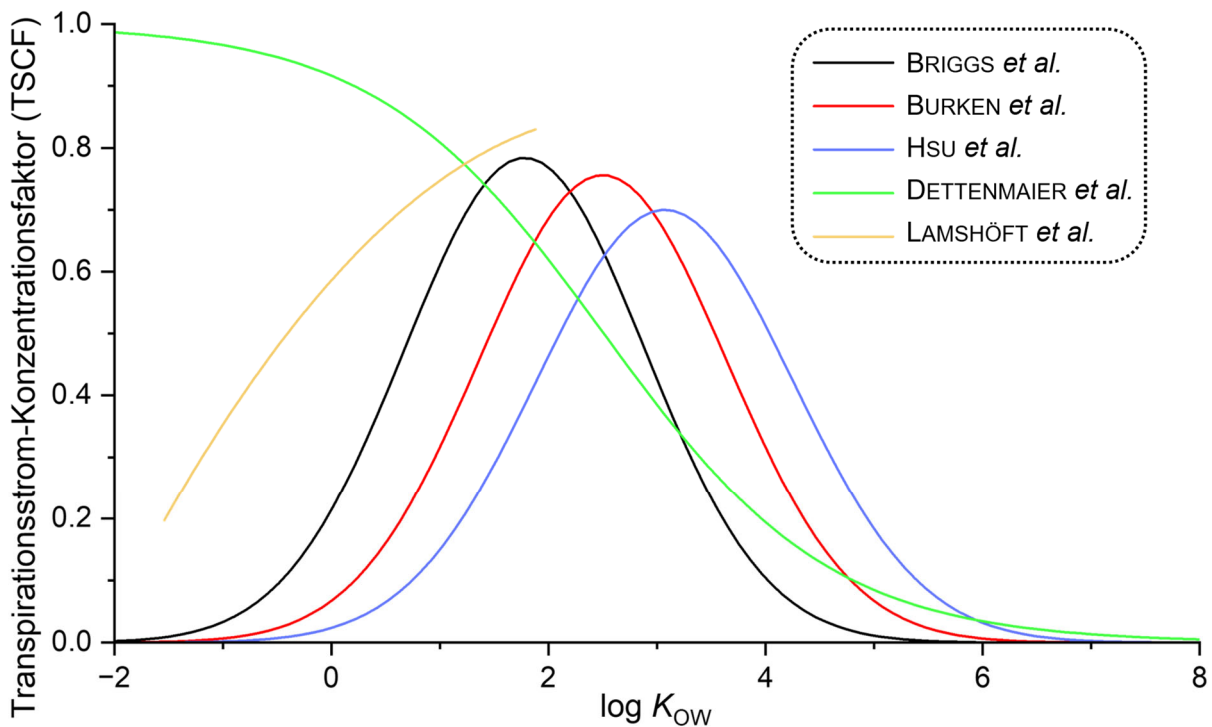


Abbildung 5: Modellierter Korrelation der Lipophilie der Pflanzenschutzmittel ($\log K_{OW}$) und ihres Transpirationsstrom-Konzentrationsfaktors (TSCF)^[82] nach BRIGGS *et al.*^[57], BURKEN *et al.*^[99], HSU *et al.*^[98], DETTENMAIER *et al.*^[126] und LAMSHÖFT *et al.*^[78]

Die Ergebnisse der Korrelation von TSCF und Lipophilie der Pflanzenschutzmittel aus den meisten Studien zeigen das höchste Maß an Translokation bei einer mittleren Polarität der Wirkstoffe.^[57,98,99] Die Unterschiede in den Ergebnissen von DETTENMAIER *et al.* und LAMSHÖFT *et al.* liegen begründet in den unterschiedlichen gewählten Testsystemen.^[78,82,126] Dies zeigt, dass ein einheitliches Versuchssystem entscheidend für die Untersuchung des Aufnahme- und Translokationsverhaltens von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen ist.

Aus diesem Grund haben sich hydroponische Aufnahmeexperimente zur isolierten Untersuchung des Einflusses von physikochemischen Parametern sowie Pflanzeigenschaften auf das Aufnahmeverhalten etabliert.^[26,58,78] Mithilfe dieser können komplexe Bodeneinflüsse wie die Adsorption an Bodenpartikeln oder Inhomogenitäten im Fließverhalten und Konzentrationshotspots ausgeschlossen werden.^[26,58,78,127]

1.4 Metabolismus von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen

Nach der Aufnahme eines Pflanzenschutzmittels kann die Pflanze verschiedene Abwehrmechanismen einsetzen, um dessen Entgiftung und Abbau zu ermöglichen.^[128,129] Die wichtigste Rolle dabei spielt meist die enzymatische Umwandlung der Substanz, welche in der Regel über einen dreistufigen, in manchen Literaturquellen auch vierstufigen Prozess erfolgt (Abbildung 6).^[96,128–130] Aufgrund der Analogie zu den metabolischen Prozessen in Menschen und Tieren wird der Metabolismus von Xenobiotika in Pflanzen auch als Konzept der „grünen Leber“ bezeichnet.^[131–133] In der initialen ersten Phase wird das Pflanzenschutzmittel durch Oxidation, Reduktion oder Hydrolyse umgewandelt, um einen Metaboliten, welcher besser wasserlöslich und in vielen Fällen weniger toxisch ist, zu bilden.^[96,128] Die Metaboliten der Phase I weisen jedoch nicht zwangsläufig eine geringere Toxizität auf.^[134] So zeigten die Oxidationsprodukte von Organophosphat-Pflanzenschutzmitteln im Vergleich zu den Ausgangsverbindungen eine deutlich erhöhte Toxizität.^[96,135] Die zentrale Reaktion der Phase I stellt die Oxidation durch Cytochrom-P450-Monooxygenasen (CYPs) dar.^[96,128,129] Die primäre Aufgabe eines Großteils dieser Enzymfamilie ist, die Biosynthese und den Abbau endogener Verbindungen, wie Pflanzenhormone, zu katalysieren.^[129] Darüber hinaus konnte jedoch eine weitere Gruppe von CYPs identifiziert werden, welche eine hohe Selektivität für Pflanzenschutzmittel aufweist und so maßgeblich an deren metabolischen Abbau beteiligt ist.^[129]

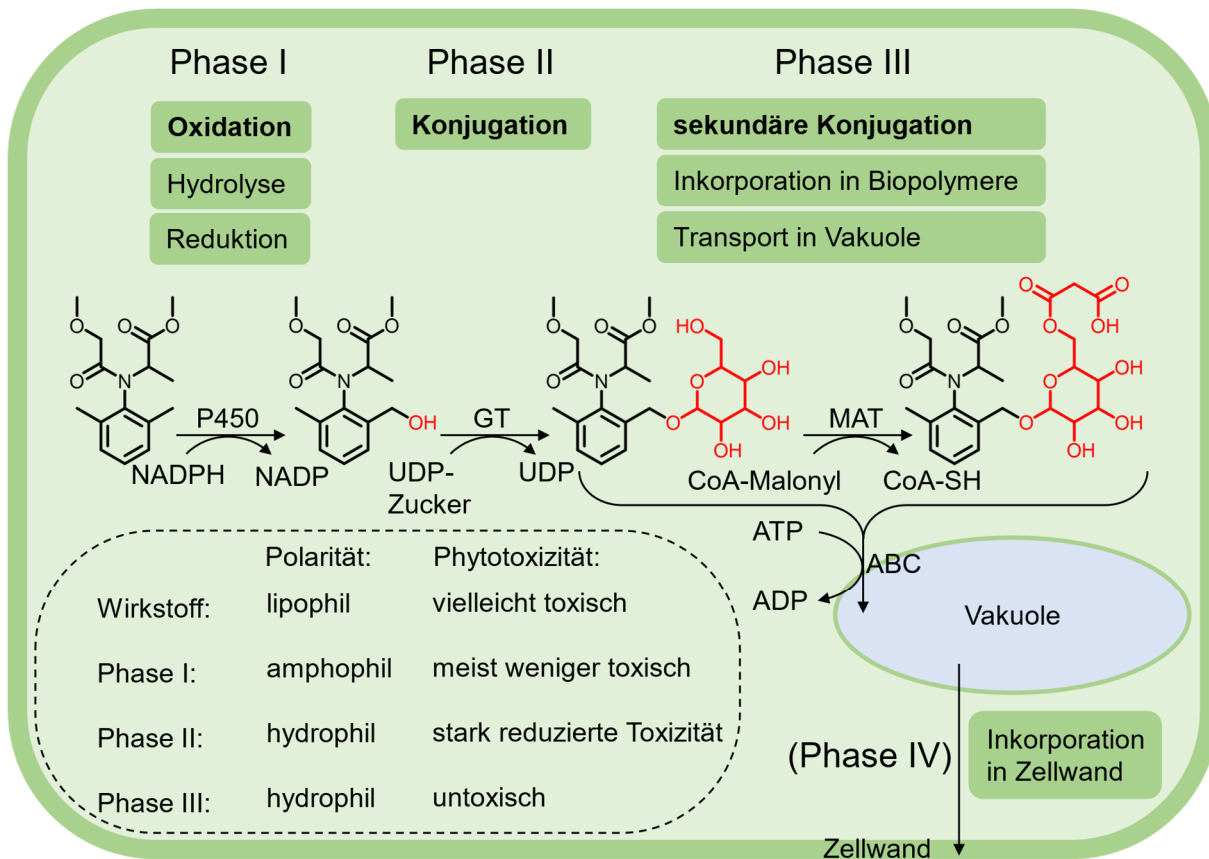


Abbildung 6: Phasen des Metabolismus von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen, gezeigt am Beispiel des Fungizids Metalaxyl (basierend auf VAN EERD *et al.*^[128], DALAZEN *et al.*^[136], KUBICKI *et al.*^[115], ZHANG *et al.*^[129] und SUZUKI *et al.*^[137]).

Metalaxyl wird in Phase I primär durch Hydroxylierung funktionalisiert (Abbildung 6), aber auch eine Hydrolyse des Esters sowie eine Dealkylierung der Alkoholfunktion findet in verschiedenen Nutzpflanzen statt.^[115,130,138,139] Neben der besseren Wasserlöslichkeit ist die Einführung funktioneller Gruppen zur Vorbereitung nachfolgender Konjugationsreaktionen.^[96,128,134,140,141]

In Phase II erfolgt die Kopplung der zuvor aktivierten Wirkstoffe an verschiedene endogene, hydrophile Pflanzenmetaboliten wie Aminosäuren, Thiole, Glutathion oder Glukose.^[128,129,142] Welche Konjugate entstehen, ist stark abhängig von der Wirkstoffspezies und ihrer Interaktion mit den entsprechenden Enzymen.^[129] Dabei ist die Glykosylierung eine der häufigsten Reaktionen, welche durch Glykosyltransferasen katalysiert wird und in der Bildung von O-, S- und N-Glykosiden sowie Zuckerestern resultiert.^[128,129,143] Daraus resultieren vor allem O-Glykoside, da die Phase I Reaktionen in Pflanzen primär zur Einführung von Hydroxygruppen führt.^[128] Die Phase II Konjugation mit Glukose führt zu einer signifikanten Steigerung der Wasserlöslichkeit bei gleichzeitig stark reduzierter Phytotoxizität.^[96,128,130]

In der dritten Phase kann es dann zu einer sekundären Konjugation durch endogene Substanzen wie Malonsäure oder zur Inkorporation der Phase II Produkte in Biopolymere

kommen.^[128,136] So wurde in Tomatenpflanzen die Bildung von Hydroxy-Metalaxyl-Glucosid-Malonsäure aus dem Phase II Produkt Hydroxy-Metalaxyl-Glucosid festgestellt.^[115] Diese zusätzliche Konjugation führt zu einer weiteren Steigerung der Wasserlöslichkeit sowie zur Bildung einer üblicherweise nicht-toxischen Verbindung.^[128] Zudem umfasst die Phase III des Metabolismus die Sequestrierung der gebildeten Phase II oder Phase III Konjugate in Vakuolen oder Apoplasten.^[130,134,136] Die Sequestrierung geschieht durch ATP-Bindungskassetten-(ABC)-Transporter, welche eine Gruppe der Membranproteine darstellen und maßgeblich an der Verteilung von Zuckern, Aminosäuren und Pflanzenschutzmitteln beteiligt sind.^[129,136] In Phase IV können die in die Vakuolen sequestrierten Metaboliten mit Bestandteilen der Zellwand wie Pektinen, Lignin, Polysacchariden und Proteinfractionen verbunden werden, wodurch nicht-extrahierbare Rückstände entstehen.^[136]

Der Abbauweg eines Pflanzenschutzmittels ist nicht nur abhängig von der chemischen Struktur und den Eigenschaften der Substanz, sondern auch von der Pflanzenart, in die das Pflanzenschutzmittel aufgenommen wurde.^[144] Wie komplex und divers der Metabolismus einer Substanz in verschiedenen Nutzpflanzen sein kann, ist gut ersichtlich am Beispiel des pflanzlichen Abbaus von Fluopyram (Abbildung 7). Der Metabolismus von Fluopyram umfasst primär drei verschiedene Prozesse. Zunächst findet eine Hydroxylierung (Oxidation) statt.^[145] Die daraus entstehenden Alkohole werden anschließend durch Zucker oder Schwefelsäure konjugiert, wobei in einigen Fällen auch eine sekundäre Konjugation mit Malonsäure oder anderen endogenen Substanzen stattfindet.^[145] Alternativ können die Alkohole gespalten und anschließend oxidiert werden, wodurch es in allen Pflanzen zur Bildung von FLU-benzamide und FLU-pyridyl-carboxyl acid kommt.^[145]

1. Theoretischer Hintergrund

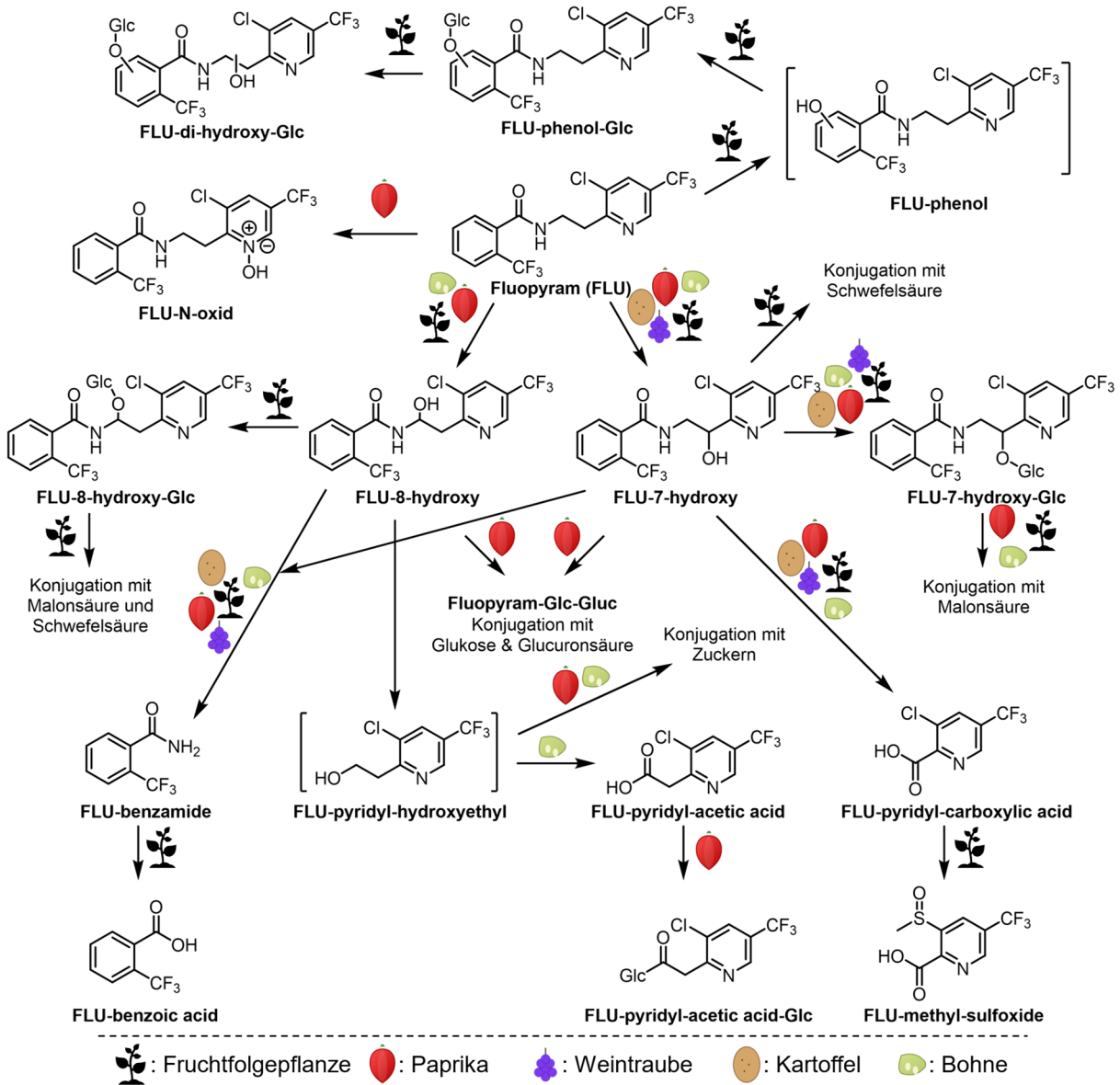


Abbildung 7: Metabolismus von Fluopyram (FLU) in verschiedenen Pflanzenspezies nach Sprühapplikation. Metaboliten in eckigen Klammern sind postulierte Zwischenprodukte. Die Darstellung basiert auf RATHOD *et al.*^[145] und die dort gewählten Namen wurden übernommen, um eine konsistente Terminologie zu wahren.

Der Metabolit FLU-pyridyl-carboxylic acid ist dabei besonders relevant, da er unter Verdacht steht, phytotoxisch in Weinreben zu wirken und so die Ernteerträge zu reduzieren.^[146] Dies ist in seiner strukturellen Ähnlichkeit zum Auxin-inhibierenden Herbizid Chlopyralid begründet, weswegen herbizidale Effekte nach Applikation von Fluopyram festgestellt wurden.^[146] Solche Beispiele verdeutlichen die zentrale Bedeutung des Metabolismus für die Risikobewertung von Pflanzenschutzmitteln und erklären die Notwendigkeit substanzspezifischer Regelungen bezüglich der zulässigen Applikationsmengen.^[147,148]

1.5 Rückstandsanalytik

In der europäischen Union sind die Rückstandshöchstgehalte von Pflanzenschutzmitteln in tierischen und pflanzlichen Produkten für den tierischen oder menschlichen Verzehr in der Verordnung 396/2005/EC geregelt.^[147,149,150] Entsprechend dieser Verordnung werden landwirtschaftliche Produkte auf die enthaltene Menge aktiver Wirkstoffe geprüft. Um den Verbleib der Pflanzenschutzmittel sowie deren Metaboliten in landwirtschaftlichen Erzeugnissen und der Umwelt nachvollziehen zu können, sind analytische Methoden vonnöten, welche es vermögen, diese Substanzen selektiv und sensitiv zu detektieren.^[149,151] Dies ist nicht trivial, denn der Überbegriff Pflanzenschutzmittel beinhaltet über 100 verschiedenen Substanzklassen mit Substanzen unterschiedlichster Stoffeigenschaften.^[152] Beispiele dafür sind kationisch, anionische und ungeladene Pestizide mit und ohne Halogenen-, Phosphor-, Schwefel- oder Stickstofffunktionalitäten.^[152] Manche Substanzen sind flüchtig, während andere kaum verdampfen.^[152] Aufgrund dieser Diversität der eingesetzten Wirkstoffe sowie der zu untersuchenden Matrices, von Boden und Pflanzen bis hin zu tierischen Produkten, wurden in den letzten Jahrzehnten eine Vielzahl unterschiedlicher Methodiken entwickelt.^[147] Etablierte Methoden zur Detektion und Quantifizierung umfassen dabei elektrochemische Techniken, Spektralphotometrie, Fluoreszenzspektroskopie sowie chromatographische Techniken in Verbindung mit Stickstoff-Phosphor-Detektoren (NPD), Elektroneneinfangdetektoren (ECD), Szintillationsdetektoren oder Massenspektrometern (MS).^[153,154]

Für analytisch anspruchsvolle Verbindungen wie das Herbizid Glyphosat und seine Metaboliten, wurden neben den gängigen analytischen Techniken zusätzlich spezifische Methoden entwickelt.^[155] Dazu zählen elektrochemische Techniken wie die Kapillarelektrophorese, welche mit Anreicherungsschritten oder zur indirekten Detektion mit speziellen Chromophoren zum Erreichen besserer Nachweisgrenzen kombiniert wird.^[154,156,157] Um Proben im Feld direkt und schnell auf Pflanzenschutzmittelrückstände untersuchen zu können, wurden tragbare Fluoreszenz-Immunassays entwickelt.^[154,158,159]

Bei der Entwicklung und der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln werden unter anderem Szintillationsdetektoren eingesetzt.^[160] Messungen mittels Flüssigszintillation erfordern eine ausreichende Radioaktivität der zu untersuchenden Verbindung. Aus diesem Grund werden mit radioaktiven, beta-strahlenden Isotopen wie ^{14}C oder ^3H markierte Pflanzenschutzmittel synthetisiert und in Laborversuchen eingesetzt.^[160,161] Eine chromatographische Trennung, gefolgt von Flüssigszintillation, ermöglicht eine Zuordnung der gemessenen Signale zu der eingesetzten Verbindung und deren Metaboliten, solange diese weiterhin den radioaktiv markierten Teil des Moleküls beinhalten, da keine anderen Bestandteile der Probe

Radioaktivität aufweisen.^[160] So ist es möglich, den Verbleib der markierten funktionellen Gruppe, häufig eine mittels ^{14}C markierter aromatischer Substituent, bis zur Mineralisierung nachzuvollziehen und eine Bilanz aufzustellen.^[160] Jedoch bringt diese Technik auch einige Nachteile mit sich. Die Radiosynthese ist zeitaufwändig, teuer und die Arbeit mit diesen Verbindungen erfordert eine spezielle Schulung.^[160] Zudem werden keine weiteren Informationen bezüglich der Struktur der detektierten Verbindung gewonnen, weswegen diese Technik häufig mit anderen orthogonalen Analysemethoden wie der Massenspektrometrie eingesetzt wird.^[115,160–162]

Die am häufigsten verwendeten Methoden sind gekoppelt mit Gas- (GC) oder Flüssigkeitschromatographie (LC), welche sehr hohe Trennkapazitäten bieten und sich somit in Kombination mit selektiven und sensitiven Detektoren als ideal für die Analyse von Pflanzenschutzmittelrückständen in komplexen Probenmatrizes erwiesen haben.^[147,163–166] Um möglichst viele Pflanzenschutzmittel und deren Metaboliten gleichzeitig erfassen zu können, hat sich in Kombination dazu die Massenspektrometrie als ideale Detektionsmöglichkeit im Rahmen von sogenannten Multikomponentenmethoden etabliert.^[149,151,165,166] Diese ermöglicht aufgrund ihrer hohen Selektivität die parallele Detektion einer sehr hohen Anzahl an Pflanzenschutzmitteln und Metaboliten mit einer einzelnen Messung.^[167]

Dabei ist die Art der Ionenerzeugung entscheidend für die Qualität der analytischen Methode, wobei Analyten verschiedener Eigenschaften mit unterschiedlichsten Ionenquellen detektierbar sind (Abbildung 8).^[168]

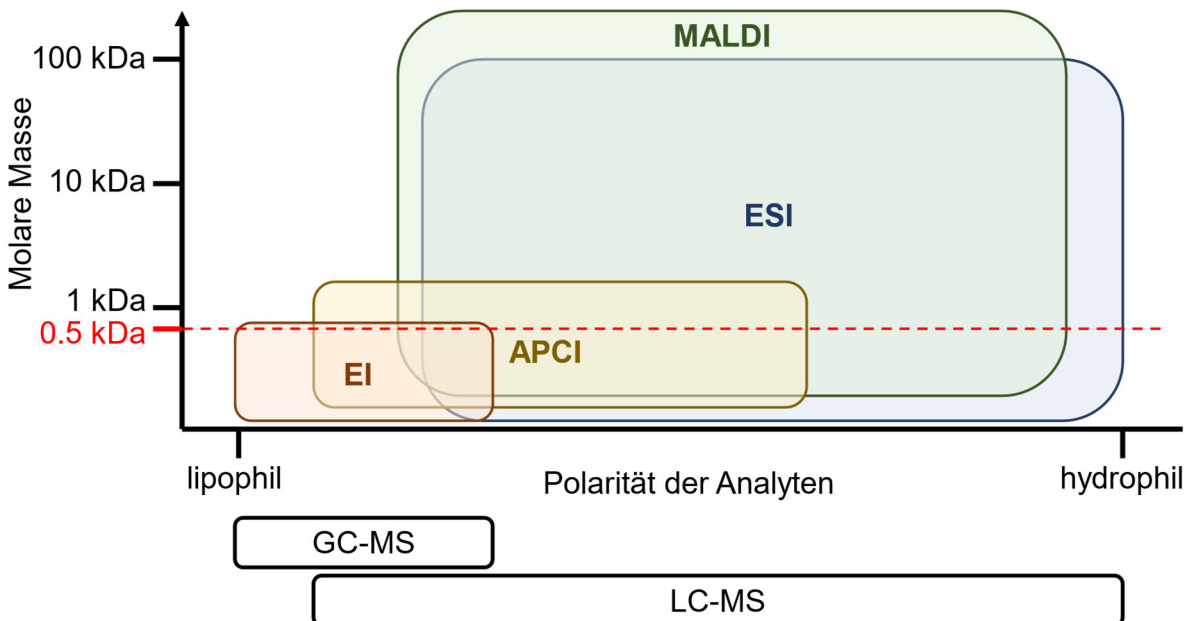


Abbildung 8: Schema zur Erläuterung der Eignung verschiedener Ionisationstechniken für die massenspektrometrische Analyse von Pflanzenschutzmittelrückständen in Abhängigkeit von Polarität und molarer Masse der Analyten.^[168,169] Die rote Linie markiert die Obergrenze der molaren Masse für systemische Pflanzenschutzmittel nach TICE.^[170]

Die Elektronenstoßionisation (EI), welche in Kombination mit GC eingesetzt wird, eignet sich besonders für die Ionisation von kleinen lipophilen Analyten, während weichere, zu weniger Fragmentation führende Ionisationsformen auch für hydrophilere Analyten mit größeren molaren Massen geeignet sind.^[171] Die Atmosphärendruck-Chemische-Ionisation (APCI) ermöglicht dabei die Ionisation von unpolar bis mittelpolaren Analyten, während Techniken wie Elektrospray-Ionisation (ESI) oder die Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI) selbst hochpolare Zucker und sogar Proteine zu ionisieren vermögen.^[171–174] APCI und ESI werden in Kombination mit LC eingesetzt, wohingegen MALDI ohne vorgeschaltete Chromatographie Einsatz findet.^[171]

1.5.1 GC-MS zur Detektion von Pflanzenschutzmittelrückständen

Bis zum Ende der 90er-Jahre war die Kombination aus Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS) die primäre Technik zur Detektion von Pflanzenschutzmittelrückständen in verschiedenen Umweltproben.^[175] Begründet lag dies in der großen Trennkapazität der GC, gekoppelt mit der hohen Spezifität und Selektivität, welche ein Massenspektrometer bietet.^[175] Zudem ist die primäre Anforderung dieser Technik an die Analyten, dass diese flüchtig sowie thermisch stabil sind, was auf einen Großteil der eingesetzten Pflanzenschutzmittel zutrifft.^[175]

Besonders für die Detektion von Organophosphor-, Organostickstoff- sowie Organochlorpestiziden wurden eine Mehrzahl von auf GC-MS basierenden Multikomponentenmethoden entwickelt.^[176] Durch diese konnten Nachweisgrenzen von unter 2 ng/g in verschiedenen Lebensmittelmatrixen erreicht werden.^[176] In den letzten Jahrzehnten ist die Verwendung von GC-MS jedoch zurückgegangen, da vermehrt polare Pestizide und Metaboliten separiert und detektiert werden müssen, die für die Gaschromatographie eher ungeeignet sind.^[147,175,177] Zur Analyse bestimmter Stoffklassen wie Pyrethrine und Organochlorpestizide ist GC-MS jedoch nach wie vor die empfindlichste Detektionsmethode und daher die Analysetechnik der Wahl.^[175]

1.5.2 LC-MS zur Analyse von Pflanzenschutzmittelrückständen

Die Entwicklung der Kopplung von Flüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie (LC-MS) in den 1980er Jahren und deren instrumentelle Implementierung in den folgenden Jahrzehnten führte zu einer deutlichen Verbesserung der analytischen Möglichkeiten, um den Verbleib von Pflanzenschutzmitteln in der Umwelt zu verfolgen.^[178] Heutzutage hat LC-MS für die meisten Anwendungen im Bereich der Pflanzenschutzmittelrückstandsanalytik GC-MS

ersetzt, da sich diese Technik ideal zur Trennung und Detektion schwer flüchtiger, hydrophiler Analyten eignet.^[178,179] Bezogen auf die Ionisationstechniken sind vor allem die Elektrospray-Ionisation (ESI) und die Atmosphärendruck-Chemische-Ionisation (APCI) in der Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln von großer Bedeutung.^[171,178] Während sich ESI im Allgemeinen durch höhere Empfindlichkeiten auszeichnet, findet bei der Verwendung von APCI eine geringere Interferenz durch Signale aus der Probenmatrix statt.^[171,180,181]

Um die erzeugten Ionen anschließend nach ihrem Masse-zu-Ladung-Verhältnis (m/z) zu analysieren, werden in der Pflanzenschutzmittelrückstandsanalytik heutzutage primär hochauflösende Massenanalytoren eingesetzt.^[182] Die Verwendung hochauflösender Massenspektrometer profitiert von den Vorteilen einer kontinuierlichen Aufzeichnung (full scan), welche eine hohe Selektivität ermöglicht, ohne die Anzahl der gleichzeitig detektierten Verbindungen zu begrenzen.^[183] Zu diesem Zweck kommen in der Analytik von Pflanzenschutzmitteln am häufigsten Flugzeitmassenspektrometer (TOF-MS) und Orbitrap-Massenspektrometer zum Einsatz.^[182,183] Orbitrap-Massenspektrometer finden aufgrund ihrer höheren Massenauflösung und Massengenauigkeit bevorzugt Anwendung in der Spurenanalytik.^[184]

Die primäre Limitation der LC-MS ist ihre Sensitivität bezüglich störender exo- und endogener Substanzen in der Probe.^[185] Dabei ist der Effekt tendenziell größer, je komplexer und konzentrierter die zu analysierende Probenmatrix ist.^[185] Die Matrixverbindungen können mit den Analyten in der Ionenquelle wechselwirken und somit zu einer drastisch reduzierten Ionenausbeute und somit geringeren Nachweisgrenzen führen.^[185] Daher liegt eine große Herausforderung in der Analytik von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen darin, dass die Konzentration typischerweise im geringen ppb Bereich liegt, während die biologische Matrix der Probe hochkomplex ist.^[186,187] Um eine sensitive Analyse dennoch zu ermöglichen, ist es daher entscheidend, eine Probenvorbereitung zu wählen, welche die Matrixinterferenz möglichst reduziert und gleichzeitig eine hohe Wiederfindungsrate der zu detektierenden Analyten erreicht.^[185,187,188]

Zu diesem Zweck haben sich verschiedene Extraktions- und Aufarbeitungsmethoden etabliert wie die Mikrowellen-assistierte Extraktion (MAE), Ultraschallextraktion (UAE), QuEChERS oder die Festphasenextraktion (SPE).^[188] Für die Extraktion werden Pflanzenteile zunächst mittels mechanischer Verfahren, wie Mörsern, zu einem feinen, homogenen Pulver verarbeitet.^[188] Dabei ist es für die meisten Techniken vorteilhaft, die Pflanze zuvor zu trocknen, um einen enzymatischen Abbau der Wirkstoffe nach der Ernte zu verhindern sowie den Wassergehalt während der anschließenden Extraktion konstant zu halten.^[189,190] Die Lyophilisation ermöglicht eine schonende Trocknung, um potenziell flüchtigere Pflanzenschutzmittel oder deren Metaboliten erfassen zu können.^[190]

Die MAE funktioniert mittels Mikrowellen, welche die Restfeuchtigkeit in den Zellen des getrockneten Pflanzenmaterials zum Verdampfen bringen und somit die Zellen aufbrechen. Dieser Effekt kann bei Einsatz von polaren Extraktionsmitteln, welche Mikrowellenstrahlung besser absorbieren können, weiter verstärkt werden.^[191] So wurden beim Einsatz der MAE zur Extraktion von 21 phosphororganischen Pflanzenschutzmitteln im Vergleich zur klassischen Soxhlet-Extraktion leicht bessere Wiederfindungsraten bei Einsatz geringerer Lösungsmittelmengen und kürzerer Extraktionszeit erreicht.^[191,192]

Bei der UAE werden durch Ultraschall kleine Kavitäten in der Pflanzenmatrix gebildet, in welche das Extraktionsmittel anschließend tief eindringen kann. Dies resultiert, vergleichbar zur MAE, in besseren Wiederfindungsraten und zugleich einer schnelleren und lösungsmittelschonenden Extraktion.^[193,194]

QuEChERS wurde explizit entwickelt, um Pflanzenschutzmittel verschiedener Strukturklassen gleichzeitig aus Pflanzenproben zu extrahieren.^[195,196] Dabei wird im Falle von trockenen Probenmatrizes zunächst Wasser hinzugefügt und die Probe anschließend mit Acetonitril extrahiert.^[195,197] Zur Trennung der Phasen wird NaCl hinzugegeben und die organische Phase mittels dispersiver Festphasenextraktion (d-SPE) aufgearbeitet.^[195] Diese Technik deckt ein breites Spektrum unterschiedlicher Analyten ab, braucht geringe Lösungsmittelmengen und ist kosteneffizient. Jedoch werden sehr polare Substanzen, zu welchen Pflanzenschutzmittel und deren Metaboliten zählen können, nicht durch Aussalzen in die organische Phase überführt und sind somit nicht mittels QuEChERS erfassbar.^[198] Zudem ist der Anreicherungsfaktor gering, was besonders in Proben mit sehr geringen Analytkonzentrationen problematisch sein kann.^[199]

Im Falle der Probenvorbereitung von festem Pflanzenmaterial ist die SPE ein zusätzlicher Aufarbeitungsschritt, welcher nach der Extraktion stattfinden kann, mit dem Ziel, weitere störende Matrixkomponenten zu entfernen.^[200] Durch die Nutzung geeigneter Adsorbentien ist es möglich die Analyten aufgrund ihrer Substanzeigenschaften an diese zu binden. Andere mitextrahierte Verbindungen können dann entweder ausgewaschen werden oder verbleiben nach der Elution der Analyten auf der Festphase.^[201]

Der Einsatz von LC-MS in Kombination mit einer geeigneten Probenvorbereitung ermöglicht die Gewinnung einer Vielzahl von Informationen bezüglich der Aufnahme und Verteilung sowie des Metabolismus von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen.^[26,78,93,107,115] Allerdings werden Pflanzen für diese Methodik meist in Wurzeln (unterirdisch) und Spross (oberirdisch) unterteilt, wodurch detailliertere Informationen zur Verteilung der Wirkstoffe verloren gehen.^[26,115,202] Eine genauere Unterteilung in unterschiedlich alte Blätter vor der Extraktion oder spezielle Extraktionsmethoden zur Aufklärung der subzellulären Verteilung der Wirkstoffe sind einige

der Techniken, die eingesetzt werden, um ein tieferes Verständnis der Verteilungsprozesse und Akkumulation von Pflanzenschutzmitteln in Pflanzen zu gewinnen.^[26,203–205]

1.5.3 Untersuchung der räumlichen Verteilung von Pflanzenschutzmitteln mittels bildgebender Massenspektrometrie

Um die Verteilung einer Vielzahl von endogenen und exogenen Verbindungen in Tier- und Pflanzenorganen näher zu untersuchen, wurden unterschiedlichste bildgebenden Techniken entwickelt.^[115,202,206–208] Für die bildgebende Untersuchung von Pflanzenschutzmittelrückständen in Nutzpflanzen wird unter anderem die Autoradiographie eingesetzt.^[115,209,210] Die Vor- und Nachteile dieser Technik ergeben sich, wie auch bei der Flüssigszintillation, hauptsächlich aus der Verwendung von radiomarkierten Pflanzenschutzmitteln (siehe Kapitel 1.5). Ein großer Nachteil der Autoradiographie ist, dass diese nicht zwischen einem Pflanzenschutzmittel und dessen Metaboliten differenzieren kann.^[26,115] Somit gehen wichtige Information bezüglich des Metabolismus sowie der Unterschiede im Transport und in der Akkumulation von Pflanzenschutzmitteln und ihren Metaboliten verloren.^[96] Im Vergleich dazu können bildgebende massenspektrometrische Methoden die Strukturinformationen, welche durch die Detektionsform erhalten werden, nutzen, um die Verteilung einer Vielzahl von Substanzen auf intaktem Pflanzengewebe gleichzeitig darzustellen.^[202] Eine Technik, die sich für diesen Zweck besonders eignet, ist die Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation bildgebende Massenspektrometrie (MALDI-MSI).^[26] MALDI-MSI vereint eine hohe räumliche Auflösung von nur wenigen Mikrometern mit der hohen Selektivität der Massenspektrometrie.^[26,211,212]

Der grundlegende Aufbau einer MALDI-Ionenquelle umfasst einen Probenträger, auf dem die zu messende Probe fixiert ist und ein Lasersystem, bei welchem der Laserstrahl über ein optisches System aus Linsen und Spiegeln auf die Probe fokussiert wird, sowie die Kopplung an ein Massenspektrometer zur Detektion der Analyten (Abbildung 9, A).^[171,213] Besonders an der MALDI im Vergleich zu anderen Ionisationsmethoden ist, dass die Probe vor der Ionisation mit einer MALDI-Matrix vermischt oder überschichtet werden muss.^[171,214,215] Dies liegt im besonderen Ionisationsprozess der Technik und den dafür notwendigen zentralen Aufgaben der kristallinen MALDI-Matrix begründet.^[216] Diese dient der räumlichen Trennung der Analyten, wodurch intermolekulare Wechselwirkungen vermieden werden.^[216] Zusätzlich absorbiert die Matrix die Energie des Laserlichtpulses, da sie chromophore funktionelle Gruppen besitzt, wodurch eine für die Analyten schonendere Desorption ohne Fragmentierung geschieht.^[216,217] Die Desorptionswolke dehnt sich in einer Überschallexpansion aus,^[218,219] was zu einer Abkühlung der Plasmawolke führt

(Abbildung 9, B).^[220] Im Rahmen dieser Gasphasenprozesse können auch niedermolekulare Spezies wie Pflanzenschutzmittel und deren Metaboliten effizient ionisiert werden.^[216,221,222]

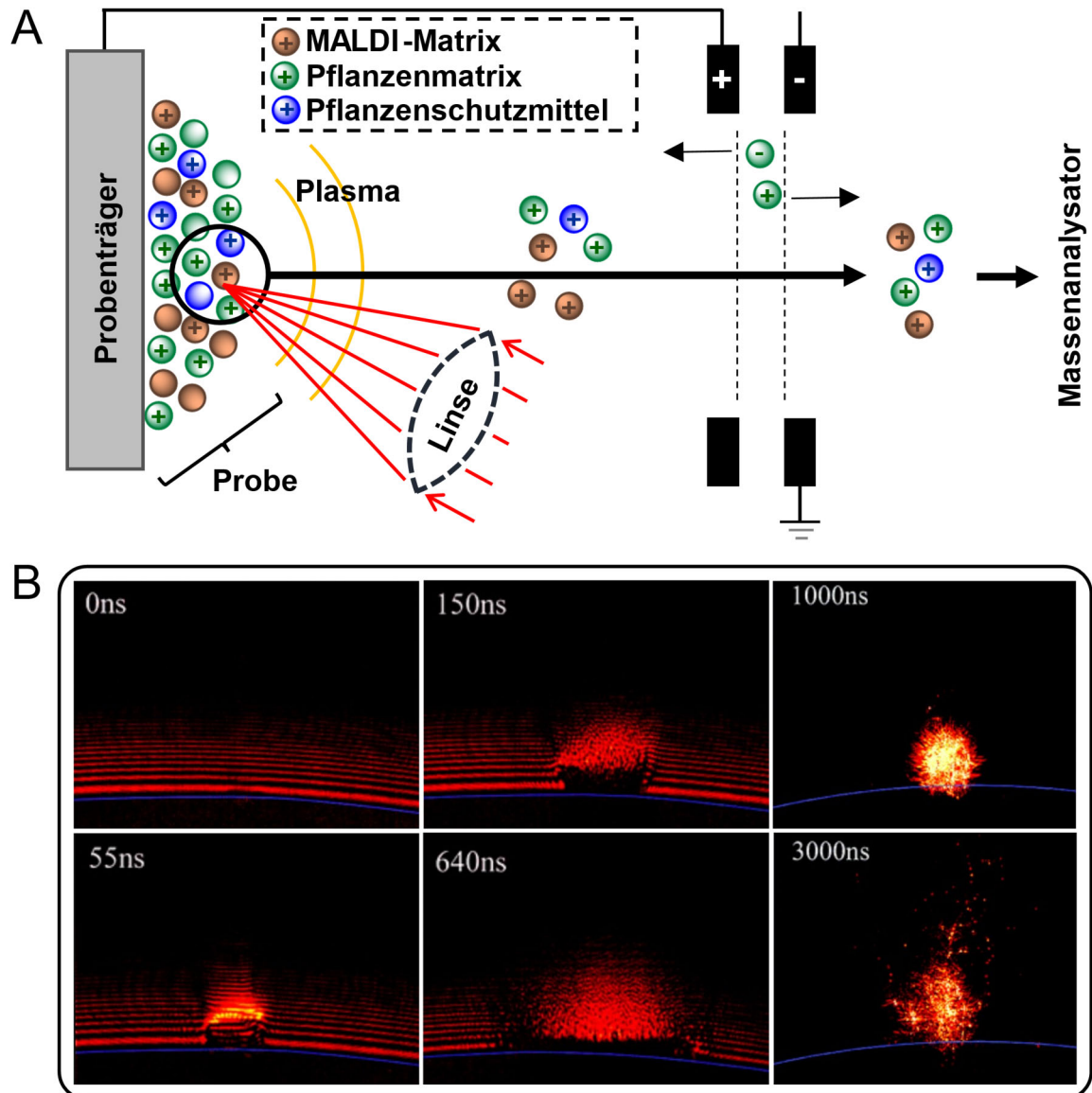


Abbildung 9: Schematischer Aufbau der Matrix-unterstützten Laser-Desorption/Ionisation zur Detektion von Pflanzenschutzmittelrückständen (A). Zeitlicher Verlauf einer Desorptionwolke bei Ionisation mittels UV-Laserbeschluss (B).^[219] Adaptiert mit Genehmigung aus LEISNER *et al.*, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 23, 11661–11666. © 2025 American Chemical Society.

Diese Ionisationsform kann als bildgebende Technik zur orts aufgelösten Analyse von Pflanzenschutzmittelrückständen in pflanzlichem Gewebe eingesetzt werden.^[115,186] Dafür werden sequentielle Messungen über einen definierten Probenbereich aufgenommen, indem die Probe nach jeder Messung schrittweise um wenige Mikrometer entlang der x- und y-Achse verschoben wird.^[213,223,224] Dabei entsteht eine Serie von Massenspektren, die jeweils einem spezifischen Koordinatenpunkt zugeordnet werden können.^[213,223] Durch Extraktion der Intensitäten ausgewählter Analyten, deren farbcodierte Darstellung in Abhängigkeit von der

Signalstärke sowie die Überlagerung mit einer optischen Aufnahme der Probe lässt sich ein hochaufgelöstes Ionenbild erzeugen, das die räumliche Verteilung der Analyten innerhalb des Gewebes visualisiert (siehe Abbildung 10).^[115,224]

Obwohl diese Technik vielversprechend für die Untersuchung von Pflanzenschutzmitteln in pflanzlichen Geweben ist, existieren bislang lediglich drei Studien, welche den Verbleib von Pflanzenschutzmitteln nach Wurzelaufnahme mittels MALDI-MSI bildgebend erfassen konnten.^[115,225–227] Zwei dieser Arbeiten sind bereits über 15 Jahre alt und basieren auf lateralen Auflösungen im Millimeterbereich, wodurch eine präzise Lokalisation der Signale innerhalb spezifischer pflanzlicher Strukturen, wie etwa der Leitbündel, nicht möglich war.^[225,227] Die bislang einzigen hochaufgelösten Bilder der Verteilung von Pflanzenschutzmitteln nach Wurzelaufnahme stammen von KUBICKI *et al.*, welcher die Verteilung von Metalaxyl in Tomatenpflanzen zeigte.^[115]

Durch die bildgebende Messung der Tomatenwurzeln ist ersichtlich, dass Metalaxyl vor allem hohe Intensitäten im Bereich des Kortex sowie in den Leitbündeln, vermutlich im Xylem, aufweist (Abbildung 10).^[115] Eine hohe Signalintensität im Xylem lässt auf einen passiven Transport mit dem Transpirationsstrom vermuten.^[115] Somit sollte Metalaxyl nach Aufnahme in die Wurzel primär in die Blätter transportiert werden, welche den größten negativen hydrostatischen Druck durch Evaporation ausüben.^[112] Aus dieser mittels MALDI-MSI visualisierten Verteilung des Wirkstoffes in Wurzeln lassen sich somit Informationen bezüglich des Transportes des Wirkstoffes in der Pflanze ableiten.^[115,228]

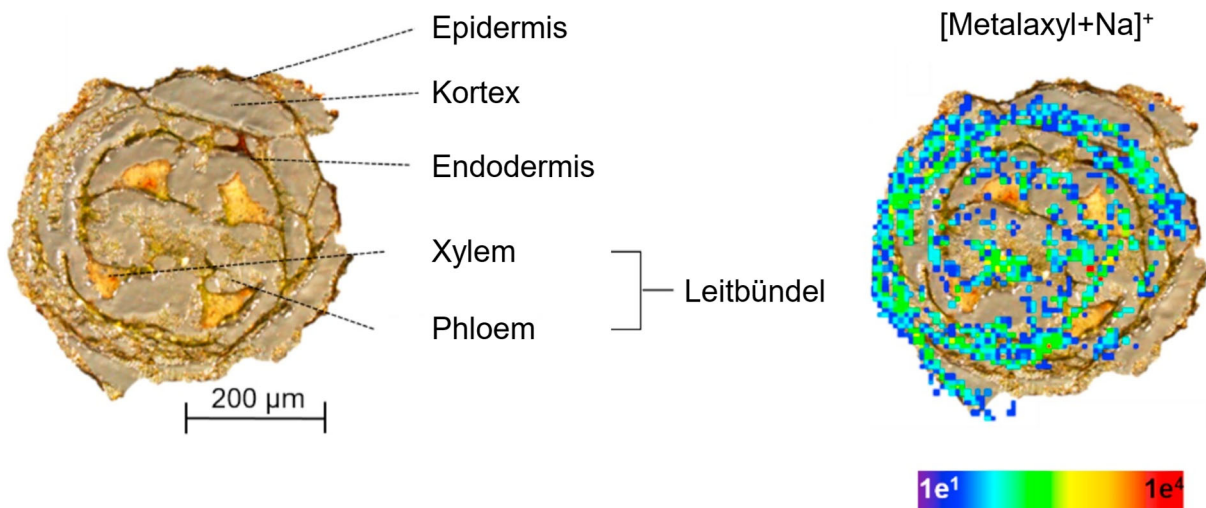


Abbildung 10: Lokalisation von Metalaxyl in Wurzeln der Tomate nach 10 Tagen der hydroponischen Aufnahme mittels MALDI-MSI.^[115] Adaptiert mit Genehmigung aus KUBICKI *et al.*, *Chemosphere* **2019**, *218*, 36–41. © 2025 Elsevier.

Zusätzlich ist es in manchen Fällen möglich, die Verteilung der Metaboliten eines Wirkstoffes durch bildgebende Messungen zu visualisieren.^[115] Nach Aufnahme in die Wurzeln ist dies

bislang jedoch nur bei Messung der Blattoberfläche, nicht eines Querschnittes, für einen Phase II und einen Phase III Metaboliten des Metalaxyl gelungen (Abbildung 11).^[115]

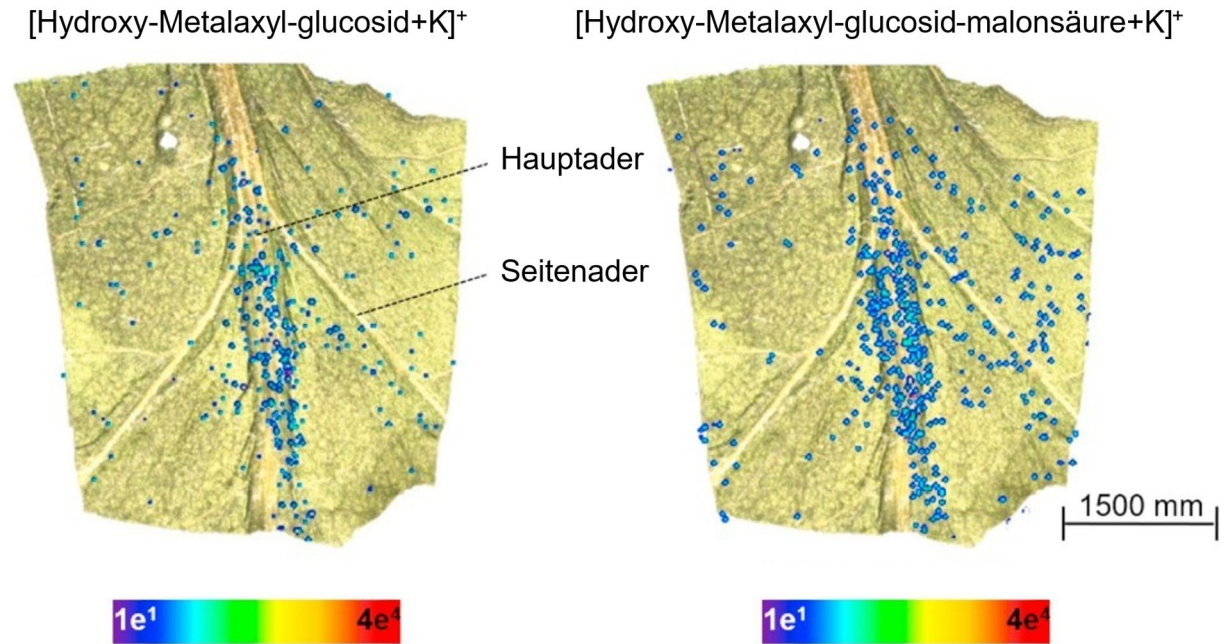


Abbildung 11: Lokalisation der Metaboliten des Metalaxyl auf einer Blattoberfläche der Tomatenpflanze mittels MALDI-MSI nach 10 Tagen der hydroponischen Aufnahme.^[115] Adaptiert mit Genehmigung aus KUBICKI *et al.*, Chemosphere **2019**, 218, 36–41. © 2025 Elsevier.

Im Gegensatz zur Wurzelmessung wurden die Substanzen nicht als Natrium-Addukte, sondern als Kalium-Addukte detektiert. Dies beruht auf dem hohen Kaliumgehalt in diesen Teilen der Tomatenpflanze sowie der Fähigkeit der Metaboliten, Kaliumaddukte zu bilden.^[115,229] Hydroxy-Metalaxyl-Glucoside und Hydroxy-Metalaxyl-Glucoside-Malonsäure wurden hauptsächlich in der Hauptader und Seitennerven des Tomatenblattes detektiert.^[115] Dies lässt darauf schließen, dass Metalaxyl während des Transportes metabolisiert wird, ohne dass die Mobilität der entstehenden Substanzen merklich reduziert wird.^[115] MALDI-MSI ermöglicht somit auch eine räumlich aufgelöste Analyse des Metabolismus in Pflanzengewebe.^[115,230]

2. Zielsetzung

Aufgrund der großen Zahl benötigter Studien zur Registrierung und Re-Registrierung zählen Pflanzenschutzmittel zu den Substanzen mit der bei weitem größten Informationsdichte bezüglich ihres Verhaltens in Pflanzen.^[231] Jedoch beziehen sich diese Daten nahezu ausschließlich auf zulassungsrelevante Fragestellungen einzelner Wirkstoffe und lassen dabei grundlegende Fragen bezüglich Korrelationen im Aufnahme- und Transportverhalten mit ihren physikochemischen Eigenschaften unbeantwortet. Auch Informationen bezüglich der Verteilung der Wirkstoffe in einzelnen Pflanzenorganen oder mechanistische Betrachtungen der Transportprozesse der Wirkstoffe werden im Rahmen der Zulassungsverfahren nicht erhalten. Da Pflanzenschutzmittel strukturell sehr divers sind, jedoch ubiquitär und in großen Mengen eingesetzt werden, ist es notwendig, ein tiefergehendes Verständnis bezüglich des Verbleibs dieser aktiven Substanzen in Pflanzen zu schaffen.^[232]

Ziel dieser Arbeit war es daher, neue Erkenntnisse bezüglich der Aufnahme in die Wurzeln und des anschließenden Transports verschiedener Pflanzenschutzmittel in unterschiedlichen Nutzpflanzen zu erlangen. Um möglichst aussagekräftige Informationen zu gewinnen, wurden verschiedene, in der modernen Landwirtschaft relevante, strukturell unterschiedliche Pflanzenschutzmittel untersucht, um den Verbleib in der Pflanze möglichst signifikant mit ihren Charakteristiken verbinden zu können. Zu diesem Zweck wurden drei Unterziele formuliert:

1. Etablierung eines simplen und robusten hydroponischen Testsystems, um reproduzierbare Ergebnisse zur Aufnahme, Translokation und Verteilung von unterschiedlichen Pflanzenschutzmitteln in verschiedenen Nutzpflanzen erhalten zu können. Zusätzlich mussten selektive und sensitive analytische Methoden zur Probenvorbereitung sowie zur Messung der Proben mittels HPLC-HRMS und MALDI-MSI entwickelt werden (Abbildung 12, A).
2. Mithilfe dieser Methoden sollte anschließend die Aufnahme und Translokation der strukturell unterschiedlichen Pflanzenschutzmittel untersucht werden. Dabei sollte zunächst die Akkumulation der Substanzen in Wurzeln und Blättern mittels HPLC-HRMS quantifiziert werden, um diese mit den physikochemischen Parametern der Pflanzenschutzmittel zu korrelieren. Das Ziel dieser Untersuchungen war es, den Einfluss wirkstoffspezifischer Eigenschaften, wie der molaren Masse und Lipophilie, zu identifizieren, um Trends im Aufnahme- und Translokationsverhalten ableiten zu können. Ein zentraler Punkt war außerdem die Aufnahme von Wirkstoffen in unterschiedliche Nutzpflanzen bei verschiedenen Konzentrationen zu zeigen, um

Einflüsse der Pflanzencharakteristiken und Expositionskonzentration auf die Wirkstoffaufnahme aufzuklären (Abbildung 12, B).

3. Als orthogonale, bildgebende Analysemethode sollte zusätzlich MALDI-MSI eingesetzt werden, um die räumliche Verteilung von Pflanzenschutzmitteln in einzelnen Pflanzenorganen im Mikrometer-Maßstab aufzuklären. Mithilfe dieser Technik war es das Ziel, zusätzliche Informationen zum Transport- und Akkumulationsverhalten innerhalb der Pflanzen zu erhalten (Abbildung 12, C).

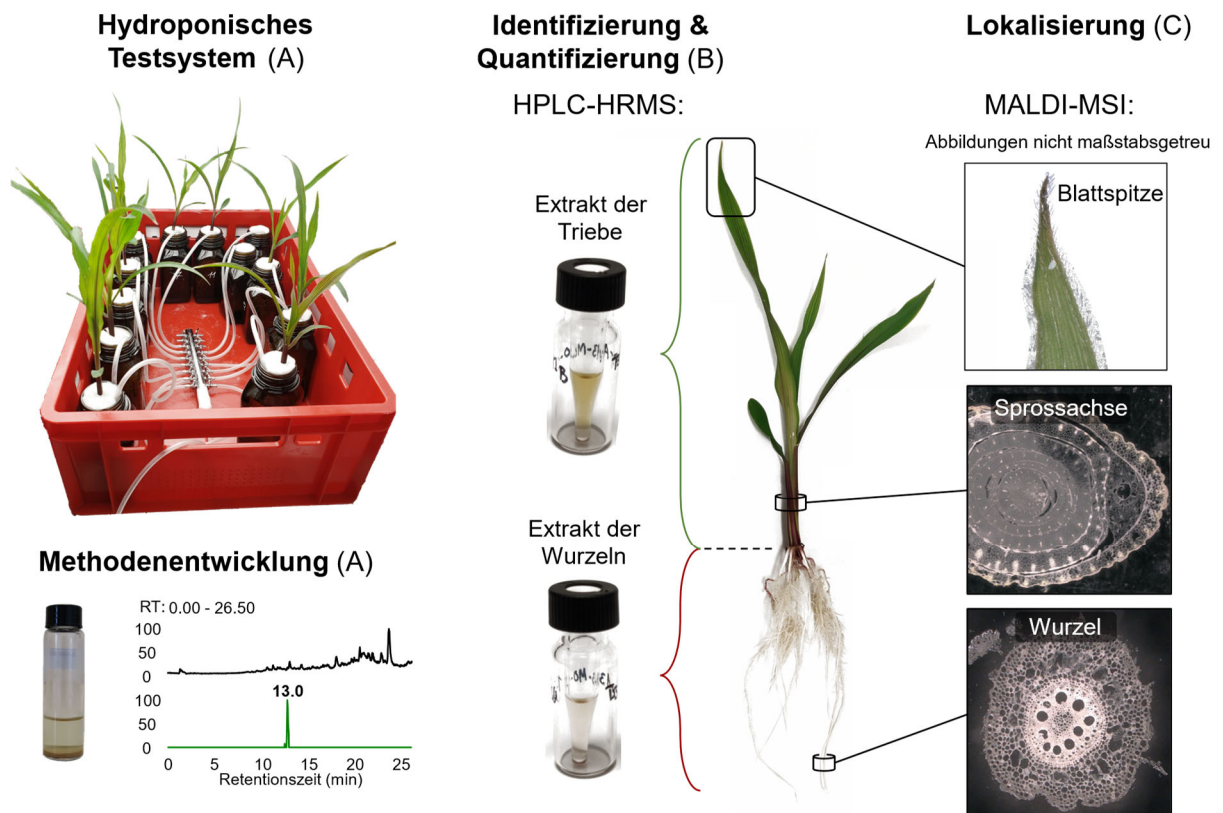


Abbildung 12: Graphische Darstellung der thematischen Aufteilung dieser Dissertation. Um neue Erkenntnisse bezüglich der Pflanzenschutzmittelaufnahme in Nutzpflanzen zu erlangen, mussten zuerst ein hydroponisches Testsystem sowie analytische Methoden entwickelt werden (A). Anschließend konnten die Wirkstoffe nach Aufnahme mittels HPLC-HRMS identifiziert und quantifiziert (B) und mittels MALDI-MSI bildgebend in einzelnen Pflanzenorganen untersucht werden (C).

3. Experimentelles

3.1 Chemikalien und Materialien

Analytische Referenzstandards der Pflanzenschutzmittel Benalaxyl (BEN), Chlorpyrifos (CPY), Fluopicolid (FLP), Fluopyram (FLU), Furalaxyl (FUR), Imidacloprid (IMI), Mepronil (MEP), Metalaxyl (MET), Metalaxyl-M (MET-M), Ofurac (OFU), Oxadixyl (OXA), Spirotetramat (SPI), Tebuconazol (TEB) und Thifluzamid (TFZ) wurden als Feststoffe von Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland mit einer Reinheit von über 98 % erworben. Die Fluopyram Metaboliten 2-(Trifluormethyl)-benzamid (TMB) und 3-Chlor-5-(trifluoromethyl)-picolinsäure (TPA) sowie der SPI-Hauptmetabolit Spirotetramat-Enol (SPI-E) wurden als Feststoffe von der Bayer AG, Division Crop Science, Monheim, Deutschland, bereitgestellt. Eine Übersicht der einzelnen Substanzen inklusive der wichtigsten physikochemischen Parameter ist in Tabelle 1 dargestellt:

Tabelle 1: Physikochemische Eigenschaften der in dieser Arbeit für Aufnahmestudien eingesetzten Pflanzenschutzmittel und Pflanzenschutzmittelmetaboliten.^[231]

Substanz	Abkürzung	Klasse	<i>M</i>	Log <i>K</i> _{ow}	p <i>K</i> _a
Chlorpyrifos	CPY	Insektizid	350,6	4,7	-
Imidacloprid	IMI	Insektizid	255,6	0,6	-
Tebuconazol	TEB	Fungizid	307,1	3,7	5,0
Oxadixyl	OXA	Fungizid	278,3	0,7	-
Ofurac	OFU	Fungizid	281,7	1,4	-
Metalaxyl	MET	Fungizid	279,3	1,8	-
Metalaxyl-M	MET-M	Fungizid	279,3	1,8	-
Furalaxyl	FUR	Fungizid	301,3	3,0	-
Benalaxyl	BEN	Fungizid	325,4	3,5	-
2-(Trifluormethyl)-benzamid	TMB	Fluopyram Metabolit	189,1	1,7	-
3-Chlor-5-(trifluoromethyl)-picolinsäure	TPA	Fluopyram Metabolit	225,6	- 0,4 ^[a]	1,0
Mepronil	MEP	Fungizid	269,3	3,7	-
Fluopicolid	FLP	Fungizid	383,6	2,9	-
Fluopyram	FLU	Fungizid	396,7	3,3	-
Thifluzamid	TFZ	Fungizid	528,1	4,2	-
Spirotetramat	SPI	Insektizid	373,5	2,5	10,7
Spirotetramat-Enol	SPI-E	Insektizid	301,4	0,3	5,2

[a]: Aufgrund des p*K*_a-Wertes der Verbindung ist der berechnete Log *D*_{ow} im für diese Arbeit relevanten pH-Bereich anstelle des Log *K*_{ow} angegeben.

Die stabil-isotopenmarkierte Referenzstandards CPY-d₁₀, IMI-¹³C-d₃, FLP-d₂, FLU-¹³C₆, MET-¹³C₆, BEN-d₅, OXA-d₃, TEB-¹⁵N₃-¹³C₂, SPI-¹³C₃, SPI-E-¹³C₃, TMB-¹³C₆ und TPA-¹⁵N-¹³C₃ wurden ebenfalls von der Bayer AG, Division Crop Science, Monheim, Deutschland, zur Verfügung gestellt.

Ammoniumdihydrogenphosphat (≥ 99,0 % Reinheit, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Calciumnitrat-Tetrahydrat (98,0 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Eisensulfat-Heptahydrat (≥ 99,0 %, Honeywell Research Chemicals, Morris Plains, USA), Kaliumnitrat (99,0 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Kupfersulfat-Pentahydrat (98,0 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Magnesiumsulfat (≥ 98,0 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Mangan(II)-chlorid-Tetrahydrat (≥ 99,0 %, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), Molybdän(VI)-säure-Monohydrat (99,5 %, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), Morpholinoethansulfonsäure-Monohydrat (99,0 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Natriumchlorid (≥ 99,5 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Natrium-EDTA (≥ 99,0 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Zinksulfat-Heptahydrat (≥ 99,5 %, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) und Natriumhydroxid (99,0 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) wurden zur Herstellung der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung verwendet.

Für die Extraktion der Pflanzenschutzmittel und ihrer Metaboliten wurden Acetonitril (HPLC-Qualität, J.T. Baker, Phillipsburg, USA), Ethylacetat (HPLC-Qualität, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) und bidestilliertes Wasser verwendet. Für die HPLC-HRMS-Analyse wurden Acetonitril (HPLC-Qualität, J.T. Baker, Phillipsburg, USA), bidestilliertes Wasser und Ameisensäure (≥ 98,0 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) eingesetzt.

Natriumcarboxymethylcellulose (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), 2,5-Dihydroxybenzoesäure (≥ 99,0 %, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Aceton (99,5 %, AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) und bidestilliertes Wasser wurden als Einbettungsmedium, MALDI-Matrix und Lösungsmittel bei der bildgebenden Massenspektrometrie zur Probenvorbereitung verwendet.

Unbehandelte Samen von *Zea mays* L. cv. Aventura (Mais), *Triticum aestivum* L. cv. Kerubino (Winterweizen), und *Glycine max* L. cv. Safrana (Sojabohne) wurden von der Bayer AG, Division Crop Science, Monheim, Deutschland bereitgestellt.

3.2 Stammlösungen

Stammlösungen aller Verbindungen in einer Konzentration von 1 mg/mL wurden in Acetonitril (HPLC-Qualität, J.T. Baker, Phillipsburg, USA) hergestellt. Aus diesen Stammlösungen wurden verdünnte Stammisierungen der Pflanzenschutzmittel und deren Metaboliten in

Acetonitril hergestellt. Zur Zugabe in die Nährstofflösung wurden für die Aufnahmestudien zusätzlich Stammlösungen der Pflanzenschutzmittel und Metaboliten mit einer Konzentration von 10 mg/mL in Dimethylsulfoxid (DMSO; Reinheit 99,9 %, Laguna, Berlin, Deutschland) angesetzt. Bis zur Benutzung wurden alle Lösungen im Gefrierschrank bei $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert.

3.3 Geräte

Einwaagen der Pflanzenschutzmittel erfolgten an einer METTLER TOLEDO XS205 dual range Präzisionswaage (METTLER TOLEDO, Columbus, USA). Braunglasflaschen mit Nährlösung wurden auf einer Sartorius Masterpro-LA 2200 (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) gewogen.

Die Keimung und Anzucht der Pflanzen sowie die Pflanzenschutzmittelexposition erfolgte in einer E-41L2 Pflanzenwachstumschamber (CLF Plant Climatics GmbH, Wertingen, Deutschland).

Für die Probenvorbereitung zur späteren Messung mittels HPLC-HRMS wurde eine VaCo 5 Gefriertrocknung (Zirbus Technology, Bad Grund, Deutschland), ein Sonorex Digitec DT100 Ultraschallbad (Bandelin, Berlin, Deutschland), ein VF 2 Vortexmischer (Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland), eine LMS MCF-2360 mini Zentrifuge (LMS CO., LTD, Tokyo, Japan) sowie ein Eppendorf Concentrator 5301 (Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland), gekoppelt mit einer CVC300 Vakuumpumpe (Vacuubrand GmbH, Wertheim, Deutschland) eingesetzt.

Zur Detektion der Analyten mittels MALDI-MSI wurden histologische Schnitte mit einem Leica CM1860 Kryostaten (Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar, Deutschland) angefertigt. Die Beschichtung der Probe mit Matrix erfolgte in einem TransMIT SMALDIPrep Matrix-Applikationsroboter (TransMIT GmbH, Gießen, Deutschland). Aufnahmen der Proben wurden mittels eines VHX-5000 Digitalmikroskops (Keyence Deutschland GmbH, Neu-Isenburg, Deutschland) angefertigt.

Eine Übersicht der verwendeten Massenspektrometer in den unterschiedlichen Aufnahmestudien ist in Tabelle 2 dargestellt. Die den einzelnen Experimenten zugeordneten Nummern entsprechen den Kapiteln dieser Arbeit, in denen die jeweiligen Experimente beschrieben werden. Die durch einen Bindestrich ergänzten Ziffern dienen der Unterscheidung der experimentellen Gruppen.

Tabelle 2: Übersicht der verwendeten Massenspektrometer in den unterschiedlichen Aufnahmeexperimenten (Exp.) dieser Arbeit.

Exp.	HPLC-HRMS (Nährlösung)	HPLC-HRMS (Pflanzenproben)	MALDI-MSI
4.2-1			
4.2-6	Compact QTOF	Orbitrap Exploris™ 480	-
4.2-11			
4.2-W ^[a]	LTD-Orbitrap XL™	LTD-Orbitrap XL™	-
4.3-X ^[b]	Compact QTOF	Orbitrap Exploris™ 480	Q Exactive™ Orbitrap
4.4-Y ^[c]	Compact QTOF Orbitrap Exploris™ 480	Orbitrap Exploris™ 480	Q Exactive™ Orbitrap
4.5-Z ^[d]	Compact QTOF	Orbitrap Exploris™ 480	Q Exactive™ Orbitrap Q Exactive™ Plus Orbitrap

[a]: W = 2 – 5, 7 – 10, 12 – 15. [b]: X = 1 – 19. [c]: Y = 1 – 4. [d]: Z = 1 – 3.

Dabei kamen durchgängig dieselben HPLC-Systeme in Kopplung mit den jeweiligen Massenspektrometern zum Einsatz, sodass die Tabelle zugleich Informationen zu den verwendeten HPLC-Systemen enthält. Die chromatographische Trennung vor der Detektion mittels des Compact QTOF (Bruker Daltonics GmbH & Co. KG, Bremen, Deutschland) erfolgte durch ein Agilent 1260 Infinity II System (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland), bestehend aus einem G7129A Autosampler, einem G7116A Säulenofen, einem G7117C Photodiodenarray-Detektor und einem G7111B quartären Pumpensystem. Die LTD-Orbitrap XL™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) wurde in Kombination mit einem Agilent 1200 HPLC System (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland), bestehend aus einem G1367 KiP-ALS Autosampler, einem G1315 Photodiodenarray-Detektor und einem G1312 binären Pumpensystem betrieben. Die der Orbitrap Exploris™ 480 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) vorgeschaltete Chromatographie wurde mit einer Vanquish-HPLC (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) durchgeführt, die aus einer VF-P10 binären Pumpe, einem VF-A10 Split Sampler, einem VF-D40 Photodiodenarray-Detektor sowie einem VH-C10 Säulenofen bestand.

Die Q Exactive™ Orbitrap (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) sowie die Q Exactive™ Plus Orbitrap (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) waren zur Ionisation der Pflanzenproben mittels MALDI an eine AP-SMALDI⁵ AF (TransMIT GmbH, Giessen, Deutschland) gekoppelt.

3.4 Software

Die Kalibrierung und Einstellung der LTQ-Orbitrap XL™ wurde mittels Tune Plus 2.5.5 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) durchgeführt. Für die Orbitrap Exploris™ 480 wurde das Programm Tune Orbitrap Exploris™ 480 4.2.362.36 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) verwendet. Die Q Exactive™ Plus Orbitrap und Q Exactive™ Orbitrap wurden mittels Q Exactive™ Tune 2.5 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) gesteuert. Zur Einstellung und Kalibrierung des Compact QTOF wurde otofControl 5.2 (Bruker Daltonics GmbH & Co. KG, Bremen, Deutschland) verwendet.

Daten, welche mit den Orbitrap-Massenspektrometern (LTQ-Orbitrap XL™, Orbitrap Exploris™ 480, Q Exactive™ Orbitrap und Q Exactive™ Plus Orbitrap) aufgenommen wurden, wurden mithilfe von Xcalibur 2.2.48 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) ausgewertet. Mit dem compact QTOF erfasste HPLC-HRMS-Messdaten wurden mittels des Bruker Compass DataAnalysis 5.1 (Bruker Daltonics GmbH & Co. KG, Bremen, Deutschland) analysiert.

Zur Einstellung des Matrix-Applikationsroboters wurde durch das Programm Matrix Sprayer Control 1.9.2890 (TransMIT GmbH, Giessen, Germany) verwendet. Die AP-SMALDI⁵ wurde mittels SMALDIControl 1.2 (TransMIT GmbH, Giessen, Germany) gesteuert. Zur Erstellung der Ionensbilder nach MALDI-MSI wurde Mirion Version 3D v3.3.64.23 (TransMIT GmbH, Gießen, Deutschland) verwendet. Für die Bildbearbeitung kam GIMP Version 2.10.36 zum Einsatz.

Zur Berechnung der umweltrelevanten Konzentrationen der Pflanzenschutzmittel im Porenwasser und somit im hydroponischen System wurde PERSAM 3.0.9 (European Food Safety Authority, Parma, Italien) verwendet.

Chemische Strukturen wurden mit ChemDraw Professional 20.1.0.110 (PerkinElmer Inc., Waltham, USA) und Grafiken mit OriginPro 2024 Version 10.1.0.178 (OriginLab, Northampton, USA) erstellt. Die statistischen Analysen wurden ebenfalls mit OriginPro 2024 Version 10.1.0.178 durchgeführt. Für das Verfassen von Texten, die Datenanalyse und die Erstellung von Abbildungen wurden Word, Excel und PowerPoint aus Microsoft 365 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) genutzt. Literaturangaben wurden mit Citavi 6.19 (Lumivero, Denver, USA) verwaltet.

3.5 Herstellung der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung

Die Herstellung der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung wurde bereits in einer eigenen Veröffentlichung beschrieben und wird hier zur Vollständigkeit nochmals detailliert dargestellt.^[26] Zur Herstellung der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung wurde deionisiertes Wasser und die in Tabelle 3 angegebenen Mengen der Salze, welche die Makro- und Mikronährstoffe darstellen sowie MES-Puffer hinzugefügt. Die Lösung wurde homogenisiert und mit einer 1 M Natronlauge der pH-Wert auf 6,5 eingestellt. Der Eisen(III)-EDTA-Komplex wurde mit FeSO_4 synthetisiert und dient als Ersatz Eisenquelle im Vergleich zur Standardzusammensetzung einer HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung.^[233,234] Die Stammlösungen der einzelnen Salze wurde in den in Tabelle 3 dargestellten Konzentrationen bis zur Nutzung bei -4 °C in der Dunkelheit gelagert.

Tabelle 3: Zusammensetzung der verwendeten HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung aus Mikro- und Makronährstoffen.

Nährstoff	Konzentration der Stammlösung [$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$]	Zugegebenes Volumen pro 1 L HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung [mL]
KNO_3	202	3
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{ H}_2\text{O}$	472	2
MgSO_4	241	1
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	115	1
H_3BO_3	2,86	1
$\text{MnCl}_2\cdot 4\text{ H}_2\text{O}$	1,81	1
$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{ H}_2\text{O}$	0,22	1
$\text{CuSO}_4\cdot 5\text{ H}_2\text{O}$	0,08	1
$\text{H}_2\text{MoO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$	0,02	1
Fe-EDTA-Komplex	5	1

3.6 Pflanzenanzucht

Die Pflanzenanzucht wurde bereits in eigenen Veröffentlichungen beschrieben und ist hier zur Vollständigkeit nochmals ausführlich dargestellt.^[26,96] Der in dieser Arbeit gewählte Ansatz zur Keimung und Anzucht der Setzlinge basiert in Grundzügen auf einer Methode von Lamshöft et al.^[78] Die Bestimmung des Wachstumsstadiums der Pflanzen erfolgte anhand der BBCH-Skala.^[31] Die gesamte Pflanzenanzucht wurde in einer E-41L2 Pflanzenwachstumschamber durchgeführt. Diese wurde nach einem 16/8-stündigen

Tag/Nacht-Zyklus mit einer Temperatur von 23 °C und 55 % relativer Luftfeuchtigkeit während der Lichtperiode und einer Temperatur von 18 °C und 55 % relativer Luftfeuchtigkeit während der Dunkelperiode betrieben.

Die Samen wurden bis zur Verwendung in einem Exsikkator bei 4 °C gelagert. Zu Beginn wurden alle unbehandelten Samen für etwas sechs Stunden in Leitungswasser getaucht. Anschließend wurden die Samen, ohne Kontakt zueinander, auf ein steriles Stahlsieb mit einer Maschenweite von 2,5 mm gelegt. Dieses Stahlsieb befand sich in einem Wasserbehälter, welcher so mit Leitungswasser aufgefüllt wurde, dass die Samen konstanten Kontakt mit der Wasseroberfläche hatten, ohne im Wasser unterzugehen. Dem Leitungswasser wurden zusätzlich 30 mL HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung pro 1 L Leitungswasser hinzugefügt. Das weitere Vorgehen mit den jungen Setzlingen unterschied sich geringfügig, je nachdem, ob Mais, Soja oder Weizen kultiviert wurden.

Mais (*Zea mays* L. cv. Aventura) und Soja (*Glycine max* L. cv. Safrana): Nach einer Keimdauer von drei Tagen befanden sich die Setzlinge in den BBCH Stadien 06 – 09. ^[31] Diese wurden vorsichtig vom Sieb entfernt, ohne die Wurzeln zu beschädigen, und in einzelne, mit 50 mL Perlit befüllte Tontöpfe umgesetzt. Über einen Zeitraum von etwa 14 Tagen wurden die jungen Pflanzen täglich mit einer 50 %igen HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung bewässert, bis sie das BBCH-Stadium 12 erreichten. Anschließend wurden die jungen Pflanzen einzeln in das hydroponische Testsystem überführt. Dieses bestand pro Replikat aus einer Pflanze, welche durch Polyurethanschaum in einer 500 mL Braunglasflasche fixiert war. Die Braunglasflasche wurde mit unverdünnter HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung gefüllt, welche keine Wirkstoffe enthielt. Um einen ausreichenden Sauerstoffgehalt zu gewährleisten, wurde die Lösung durchgängig mit einer elektrischen Luftpumpe mit etwa zwei Luftblasen pro Sekunde belüftet. Das experimentelle Setup ist in Abbildung 79 dargestellt. Nach einer Akklimatisierungszeit von fünf bis sechs Tagen erreichten die Pflanzen das BBCH-Stadium 13, woraufhin ihr Gewicht und das transpierte Wasser erfasst wurden.

Weizen (*Triticum aestivum* L. cv. Kerubino): Die jungen Weizensetzlinge verblieben für etwa 20 Tage auf dem Stahlsieb, bis sie das BBCH-Stadium 11 oder 12 erreichten. Während dieses Zeitraums wurde in regelmäßigen Abständen HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung nachgefüllt, um ein gesundes Wachstum zu gewährleisten. Anschließend wurden die Pflanzen in Zweierpaaren in das hydroponische System überführt. Das System selbst war bis auf das Vorhandensein von zwei statt einer Pflanze identisch zu dem für Mais und Soja. Bei Erreichen von BBCH 21 wurde ebenfalls das Gewicht der Pflanzen sowie das transpierte Wasser erfasst.

3.7 Durchführung der hydroponischen Aufnahmestudien

Die Durchführung der Aufnahmestudien wurde bereits in eigenen Veröffentlichungen beschrieben.^[26,96,100] Nach Erreichen des Wachstumsstadiums BBCH 13 (Mais, Soja) oder BBCH 21 (Weizen) wurde das hydroponische Gefäß mit der undotierten HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung durch eines mit einer dotierten Nährlösung ersetzt, welche einzelne Pflanzenschutzmittel(-metaboliten) oder eine Kombination von Pflanzenschutzmitteln enthielt. Je nach Fragestellung fand das Aufnahmeexperiment bei verschiedenen Konzentrationen der Wirkstoffe (0,01 μM , 0,1 μM , 1 μM , 10 μM) und über verschiedene Zeiträume (2 Tage oder 7 Tage) statt.

Jeder Versuch wurde mit mindestens sechs Replikaten und zwei zusätzlichen Kontrollpflanzen ohne Pflanzenschutzmittel, aber gleicher Konzentration an DMSO in der Nährlösung, durchgeführt. Zusätzlich wurde pro Versuch mindestens eine pflanzenlose Kontrollprobe mit dotierter Nährlösung eingesetzt, um die Verdunstung und Stabilität der Pflanzenschutzmittel in der Lösung zu überwachen. In wenigen Fällen wurde eine zusätzliche Aufnahmestudie in 100 ml Braunglasflaschen mit zwei Replikaten in einem ansonsten identischen experimentellen Aufbau durchgeführt. Dabei betrug die Expositionskonzentration 100 μM zur späteren Analyse ausschließlich mittels MALDI-MSI. Nach Ablauf des Versuchszeitraumes wurden alle Pflanzen geerntet. Dafür wurden zunächst das Nassgewicht der Pflanzen sowie die stattgefundene Transpiration dokumentiert. Anschließend wurden die Pflanzenwurzeln zunächst für mindestens eine Minute in einem VE-Wasserbad getränkt und nachfolgend für mindestens eine weitere Minute unter fließendem Wasser von Pflanzenschutzmittelresten auf der Wurzeloberfläche gereinigt. Im Anschluss wurden die Wurzeln vorsichtig mittels Papiertüchern getrocknet und die Pflanzen entsprechend der geplanten folgenden Analysetechnik (HPLC-HRMS oder MALDI-MSI) weiterverarbeitet.

Eine Übersicht über die experimentellen Bedingungen der einzelnen Aufnahmeexperimente ist in den Tabellen 4 – 7 gegeben.

Tabelle 4: Übersicht der experimentellen Konditionen der Aufnahmeexperimente in Kapitel 4.2.

Experiment	Pflanze	Wirkstoffe ^[a]	Zeitraum	Konzentration
4.2-1	Mais	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	0,01 µM
4.2-2	Mais	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	0,1 µM
4.2-3	Mais	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	1 µM
4.2-4	Mais	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	10 µM
4.2-5	Mais	IMI, MET, FLU, TEB	7 d	10 µM
4.2-6	Soja	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	0,01 µM
4.2-7	Soja	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	0,1 µM
4.2-8	Soja	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	1 µM
4.2-9	Soja	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	10 µM
4.2-10	Soja	IMI, MET, FLU, TEB	7 d	10 µM
4.2-11	Weizen ^[b]	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	0,01 µM
4.2-12	Weizen ^[b]	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	0,1 µM
4.2-13	Weizen ^[b]	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	1 µM
4.2-14	Weizen ^[b]	IMI, MET, FLU, TEB	2 d	10 µM
4.2-15	Weizen ^[b]	IMI, MET, FLU, TEB	7 d	10 µM

[a]: Die Auflistung mehrerer Wirkstoffe bedeutet, dass diese als Mischung zugesetzt wurden. Die angegebene Konzentration bezieht sich auf die Konzentration jedes einzelnen Wirkstoffs.

Tabelle 5: Übersicht der experimentellen Konditionen der Aufnahmeexperimente in Kapitel 4.3.

Experiment	Pflanze ^[a]	Wirkstoffe	Zeitraum	Konzentration
4.3-1	W-Weizen	IMI	2 d	1 µM
4.3-2	W-Weizen	TEB	2 d	1 µM
4.3-3	W-Weizen	OXA	2 d	1 µM
4.3-4	W-Weizen	OFU	2 d	1 µM
4.3-5	W-Weizen	MET	2 d	1 µM
4.3-6	W-Weizen	FUR	2 d	1 µM
4.3-7	W-Weizen	BEN	2 d	1 µM
4.3-8	W-Weizen	TMB	2 d	1 µM
4.3-9	W-Weizen	TPA	2 d	1 µM
4.3-10	W-Weizen	MEP	2 d	1 µM
4.3-11	W-Weizen	FLP	2 d	1 µM
4.3-12	W-Weizen	FLU	2 d	1 µM
4.3-13	W-Weizen	TFZ	2 d	1 µM

Tabelle 6: Übersicht der experimentellen Konditionen der Aufnahmeexperimente in Kapitel 4.4.

Experiment	Pflanze	Wirkstoffe ^[a]	Zeitraum	Konzentration
4.4-1	Mais	MET-M, SPI	7 d	1 µM
4.4-2	Mais	MET-M, SPI-E	7 d	1 µM
4.4-3	Mais	MET-M, SPI	7 d	10 µM
4.4-4	Mais	MET-M, SPI-E	7 d	10 µM

[a]: Die Auflistung mehrerer Wirkstoffe bedeutet, dass diese als Mischung zugesetzt wurden. Die angegebene Konzentration bezieht sich auf die Konzentration jedes einzelnen Wirkstoffs.

Tabelle 7: Übersicht der experimentellen Konditionen der Aufnahmeexperimente in Kapitel 4.5.

Experiment	Pflanze	Wirkstoffe ^[a]	Zeitraum	Konzentration
4.5-1	Mais	MET-M, SPI	7 d	1 µM
4.5-2	Mais	MET-M, SPI	7 d	10 µM
4.5-3	Mais	MET-M, SPI	7 d	100 µM

[a]: Die Auflistung mehrerer Wirkstoffe bedeutet, dass diese als Mischung zugesetzt wurden. Die angegebene Konzentration bezieht sich auf die Konzentration jedes einzelnen Wirkstoffs.

3.8 Beurteilung der Vitalität der Nutzpflanzen in den Aufnahmestudien

Die Beurteilung der Vitalität der Nutzpflanzen wurde bereits in einer eigenen Veröffentlichung beschrieben und ist hier nochmals detailliert dargestellt.^[26] Um die Gesundheit der Nutzpflanzen während des Aufnahmeexperimentes zu überwachen und mögliche phytotoxische Effekte der Wirkstoffe zu erfassen, wurden verschiedene Methoden verwendet. Es erfolgte eine tägliche Untersuchung der Pflanzen auf morphologische Veränderungen, wie etwa Chlorosen oder gehemmtes Wachstum verschiedener Pflanzenorgane sowie ein optischer Vergleich mit den Pflanzen, die keinen Wirkstoffen ausgesetzt waren. Zusätzlich wurden die Metriken Pflanzenwachstumsindex (FGI) und Wassernutzungseffizienz (WUE) berechnet, um die Pflanzengesundheit quantitativ bewerten und vergleichen zu können.^[235–237]

Der Pflanzenwachstumsindex (FGI) vergleicht die während der Exposition gebildete Biomasse mit der zuvor vorhandenen Biomasse:

$$FGI = \frac{\text{Pflanzengewicht nach Exposition [g]} - \text{Pflanzengewicht vor Exposition [g]}}{\text{Pflanzengewicht vor Exposition [g]}} \quad (1)$$

Die Wassernutzungseffizienz (WUE) beschreibt die gebildete Biomasse während des Aufnahmeexperimentes im Vergleich zu der Menge des transpirierten Wassers im gleichen Zeitraum:

$$WUE = \frac{\text{Pflanzengewicht nach Exposition [g]} - \text{Pflanzengewicht vor Exposition [g]}}{\text{transpirierte Nährstofflösung während der Exposition [g]}} \quad (2)$$

3.9 Extraktion der Pflanzenschutzmittel und Pflanzenschutzmittelmetaboliten aus der hydroponischen Nährstofflösung

Die Extraktion der Pflanzenschutzmittel und Pflanzenschutzmittelmetaboliten aus der hydroponischen Nährstofflösung wurde bereits in einer eigenen Veröffentlichungen beschrieben und ist hier nochmals ausführlich dargestellt.^[26] Die hydroponischen Nährstofflösungen wurden vor Beginn der Aufnahmestudie sowie zu verschiedenen, regelmäßigen Zeitintervallen beprobt. Zur Überprüfung der Konzentrationen der zugesetzten Substanzen in der hydroponischen Nährlösung wurden zwei unterschiedliche Methoden eingesetzt.

Methode A (eingesetzt in Kapitel 4.4 und 4.5 außer zur Messung von SPI-E): Die extrahierte Menge an Nährlösung richtete sich nach der Konzentration der Wirkstoffe. Im Falle der Experimente bei einer Expositionskonzentration von 10 µM wurden 100 µL der Nährlösung zusammen mit 900 µL bidestilliertem Wasser in ein 12 mL Schraubdeckelglas überführt. Bei Experimenten mit Expositionskonzentration von 1 µM, 0,1 µM und 0,01 µM wurden jeweils 1 mL, 10 mL und 10 mL überführt. Anschließend wurden 20 µL einer Lösung, welche die relevanten isopenmarkierten Pflanzenschutzmittel(metaboliten) in einer Konzentration von jeweils 10 ng/µL enthielt, hinzugegeben. Die Proben wurden mittels eines Vortexmischers durchmischt, woraufhin 1 mL Acetonitril und 400 mg NaCl hinzugegeben wurden. Anschließend wurde die Probe erneut für zwei Minuten durchmischt. Nach Zentrifugation konnte die obere, organische Phase dekantiert und in ein LC-Vial überführt werden, in welchem sie bis zur Messung bei -26 °C gelagert wurde.

Methode B (eingesetzt in Kapitel 4.2 und 4.3 sowie in Kapitel 4.5 zur Messung von SPI-E): Bei der 10 µM Expositionskonzentration wurden 100 µL der Nährlösung zusammen mit 900 µL bidestilliertem Wasser in ein 12 mL Schraubdeckelglas überführt und anschließend gemessen. Bei allen anderen Konzentrationen wurden 1 mL der mit Pflanzenschutzmitteln versetzten HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung in ein LC-Vial überführt und ohne Verdünnung direkt gemessen.

3.10 Probenvorbereitung zur Detektion und Quantifizierung von Pflanzenschutzmittelrückständen mittels HPLC-HRMS

Die Probenvorbereitung zur Detektion und Quantifizierung von Pflanzenschutzmittelrückständen mittels HPLC-HRMS wurde bereits in eigenen Veröffentlichungen beschrieben und ist hier nochmals gesammelt und detaillierter dargestellt.^[26,100] Im Vorfeld der Extraktion wurden die Mais- und Weizenpflanzen in Spross und Wurzel, und Sojapflanzen in Wurzeln, Stiel und Blätter segmentiert und die einzelnen Segmente gewogen. Die Pflanzensegmente wurden für jedes Replikat einzeln mit einer Rasierklinge auf einer Metalloberfläche in kleine Stücke geschnitten. Nach der Segmentierung jeder Probe wurde die Rasierklinge sowie die Arbeitsoberfläche sukzessiv mit Wasser, Bacillol, sowie dreimal mit einem technischen Gemisch aus Acetonitril und Ethylacetat (ACN:EA, 2:1 v/v) und abschließend nochmal mit Wasser gereinigt, um eine Kreuzkontamination von Proben zu vermeiden. Die segmentierten Pflanzenteile wurden bei -26 °C im Tiefkühlschrank gelagert und anschließend bei -80 °C und 3 mbar für 48 Stunden lang in einem Lyophilisator gefriergetrocknet. Anschließend wurde das trockene Pflanzenmaterial erneut gewogen und mit einem Mörser und Stößel unter Verwendung von Trockeneis zermahlen, bis das dadurch gewonnene Pulver durch ein Sieb mit einer Maschengröße von $250\text{ }\mu\text{m}$ gesiebt werden konnte. Bis zur Extraktion erfolgte die Lagerung des Pulvers in 10 mL Schraubdeckelgläsern bei -26 °C im Tiefkühlschrank.

Im Rahmen des Versuches, bei welchem einzelne Blätter verschiedener Wachstumsstadien extrahiert wurden (Kapitel 4.5.3), erfolgte die Separation und Gruppierung der Blätter jeder Pflanze wie folgt: Alle zwölf Keimblätter (Blatt 1) wurden gruppiert, drei Blätter wurden jeweils für die Blätter 2-6 gruppiert (vier Replikate) und vier Blätter wurden für Blatt 7 gruppiert (drei Replikate). Eine tabellarische Darstellung der Gruppierung inklusive Blattlängen ist in Tabelle 39 gegeben. Im Anschluss wurde das so gruppierte Pflanzenmaterial homogenisiert und bei -26 °C gelagert.

Die Optimierung der Extraktionsmethode, bei welcher verschiedene Techniken und Lösungsmittel eingesetzt wurden, ist in Kapitel 4.1.2 diskutiert. Im Folgenden wird die finale Methode, welche in den Kapiteln 4.2 – 4.5 zur Extraktion der Pflanzenschutzmittel und deren Metaboliten aus der Pflanzenmatrix verwendet wurde, beschrieben. Zur Extraktion wurden jeweils 100 mg des homogenisierten Pflanzenpulvers in 12 mL Schraubdeckelgläser eingewogen und $20\text{ }\mu\text{L}$ einer $10\text{ ng}/\mu\text{L}$ isopenmarkierten Pflanzenschutzmittel-Standardlösung hinzudotiert. Nach der Dotierung wurde eine Stunde gewartet, bis das Lösungsmittel vollständig verdampft war und die internen Standards in die Pflanzenmatrix absorbiert worden waren. Anschließend wurde jede Probe drei Extraktionszyklen unterzogen,

wobei mit jeweils 3 mL EA:ACN (2:1 v/v) bei Raumtemperatur für 15 Minuten ultraschallunterstützt extrahiert wurde. Nach jedem Extraktionszyklus wurde die Probe für mindestens 5 min zentrifugiert und der Überstand in ein neues 12 mL Schraubdeckelglas überführt und vereint. Das Lösungsmittel wurde im Anschluss bei 45 °C und einem Druck von 220 mbar auf ein Volumen von ca. 500 µL eingengt und in ein 1 mL LC-Vial überführt. Das 12 mL Schraubdeckelglas wurde dreimal mit je 200 µL ACN nachgespült, um eine Überführung aller extrahierten Pflanzenschutzmittelrückstände zu gewährleisten. Im Anschluss wurde die Probe weiter im Vakuumkonzentrator aufkonzentriert, bis etwa 5 µL Lösungsmittel verblieben. Die Probe wurde in einer Lösung von 500 µL ACN und bidestilliertem Wasser (1:1 v/v) aufgenommen und mittels des Vortexmischers für 5 min und anschließend des Ultraschallbades für 30 min homogenisiert. Im Anschluss wurde die Probe zentrifugiert und ohne Feststoffreste in ein neues LC-Vial dekantiert. Die Proben wurden bis zum Zeitpunkt der Messung bei einer Temperatur von –26 °C im Gefrierschrank gelagert.

3.11 Detektion und Quantifizierung von Pflanzenschutzmittelrückständen mittels HPLC-HRMS

Die Detektion und Quantifizierung von Pflanzenschutzmittelrückständen mittels HPLC-HRMS wurde bereits in einer eigenen Veröffentlichung beschrieben und ist hier nochmals detailliert dargestellt.^[26] Zur Quantifizierung der Pflanzenschutzmittelrückstände in den Nährstofflösungen wurde primär ein HPLC-TOF-HRMS mit einem Scanbereich von 50 – 800 m/z und einer Auflösung von 23.000 bei $m/z = 200$ im positiven Modus eingesetzt. Zur Messung mittels HPLC-TOF-HRMS wurden folgende Ionenquelleneinstellungen verwendet: Ein Endplatten-Offset der HESI von 500 V, eine Kapillarspannung von 4,5 kV, ein Zerstäubergasdruck von 1,8 bar, ein Trockengasfluss von 9.0 L/min bei einer Gastemperatur von 220 °C. Die MS-Einstellungen waren wie folgt: Ein RF-Spannung in Funnel 1 von 150 Vpp und in Funnel 2 von 200 Vpp, Eine Spannung im Hexapole von 50 Vpp und eine Transferzeit von 80 µs mit einer Vorpulsspeicherung von 5 µs und einer Frequenz der Pulse von 2 Hz.

Zur Detektion und Quantifizierung der Pflanzenschutzmittelrückstände in den Pflanzenproben wurden HPLC-Orbitrap-HRMS mit einem Scanbereich von 100 – 1000 m/z und einer Auflösung von 100.000 oder 120.000 bei $m/z = 200$ im positiven Modus verwendet. Zur Messung der Pflanzenproben mittels HPLC-Orbitrap-HRMS wurden folgende Parameter eingestellt: Eine Kapillarspannung von 3,5 kV, ein Hüllgasfluss von 25 a.u., ein Hilfgasfluss von 5 a.u., keinen Spülgasfluss und eine Transferkapillarentemperatur von 30 °C. Die Injektionszeit betrug 5 ms, bei einer angelegten Spannung der RF-Linse von 50 %. Die

MS²-Messungen wurden nach Inklusionsliste bei einer Auflösung von 15.000 bei $m/z = 200$ und ansonsten identischen Einstellungen durchgeführt.

In beiden Fällen wurde eine identische chromatographische Methode verwendet und die Analyten mittels einer ESI-Ionenquelle ionisiert und im positiven Modus gemessen. Zur chromatographischen Trennung wurden 5 – 10 μL der Probe bei einer Flussrate von 0,3 mL/min injiziert. Die stationäre Phase wurde durch eine Nucleoshell RP 18-Säule (100 mm, 3 mm, 2,7 μm ; Macherey Nagel, Düren, Deutschland) mit einer vorgeschalteten AJO-4286 RP 18 VS (4 mm, 2 mm) Vorsäule dargestellt. Die Temperatur des Säulenofens betrug 20 °C. Als mobile Phase wurden A: Wasser + 0,1 % Ameisensäure und B: ACN + 0,1 % Ameisensäure verwendet. Der Startgradient betrug 95 % A und 5 % B und wurde für 0,5 min gehalten. Diese Zusammensetzung wurde innerhalb von 2 min linear zu 85 % A und 15 % B verändert und innerhalb eines Zeitraums von 5 min zu 30 % A und 70 % B modifiziert. Anschließend wurde das Verhältnis über einen Zeitraum von 10 min zu 5 % A und 95 % B modifiziert und für weitere 5 min beibehalten. Schließlich wurde das Verhältnis mit einem linearen Gradienten innerhalb von 1 min wieder auf die Ausgangsbedingungen von 95 % A und 5 % B geändert und abschließend für 5 min beibehalten.

3.12 Beurteilung der erhaltenen Informationen zur Aufnahme und Verteilung von Pflanzenschutzmittelrückständen in Nutzpflanzen

Die Beurteilung der experimentellen Daten mittels verschiedener Metriken wurde bereits in eigenen Veröffentlichungen beschrieben und ist hier gesammelt und detailliert dargestellt.^[26,90,96] Zur Beurteilung und zum Vergleich der Aufnahme, Akkumulation und Verteilung der aufgenommenen Wirkstoffe wurden verschiedene Metriken eingesetzt. Die Anreicherung von organischen Substanzen in der gesamten Pflanze im Vergleich zur Umgebungslösung wurde anhand des Biokonzentrationsfaktors (BCF) bewertet, der wie folgt berechnet wird:

$$\text{BCF} = \frac{\text{Konzentration in gesamter Pflanze } [\text{ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ Trockengewicht}]}{\text{Konzentration in der Nährstofflösung } [\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}]} \quad (3)$$

Die Anreicherung von organischen Substanzen in Wurzeln wurde anhand des Wurzelkonzentrationsfaktors (RCF) bewertet, der wie folgt berechnet wird:

$$\text{RCF} = \frac{\text{Konzentration in Wurzeln } [\text{ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ Trockengewicht}]}{\text{Konzentration in der Nährstofflösung } [\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}]} \quad (4)$$

Die Verlagerung von Pflanzenschutzmittel aus Wurzeln in oberirdische Pflanzenteile wurde anhand des Translokationsfaktors (TF) quantifiziert, der als Verhältnis der Substanz in Trieben und Wurzeln ausgedrückt wird:

$$TF = \frac{\text{Konzentration in Trieben [ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ Trockengewicht]}}{\text{Konzentration in Wurzeln [ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ Trockengewicht]}} \quad (5)$$

Die analoge Verlagerung der Pflanzenschutzmetaboliten wurde aufgrund der fehlenden Quantifizierung dieser sowie der Unsicherheiten, wo die Umwandlung zum Metaboliten stattfand, als Triebe-zu-Wurzeln-Intensitätsfaktor (engl. *shoots to roots intensity factor*, SRIF) ausgedrückt: ^[96]

$$SRIF = \frac{\text{Signalintensität in Trieben [Signalflächenintegral]}}{\text{Signalintensität in Wurzeln [Signalflächenintegral]}} \quad (6)$$

Die Konzentration eines Wirkstoffes im Xylemstrom der Pflanzen, als Maß seiner Fähigkeit in die Triebe verlagert zu werden, wird als Transpirationsstromkonzentrationsfaktor (TSCF) bezeichnet und wurde in dieser Arbeit wie folgt approximiert:

$$TSCF = \frac{\text{Menge Pflanzenschutzmittel in Trieben [g]}}{\text{Konzentration in Lösung [g} \cdot \text{L}^{-1}] \cdot \text{Transpierte Lösung [L]}} \quad (7)$$

Die statistische Signifikanz der beobachteten Unterschiede zwischen verschiedenen experimentellen Daten wurde mittels t-Test für unabhängige Stichproben, einfaktorielle ANOVA, zweifaktorielle ANOVA und dem Tukey-Test evaluiert.

3.13 Probenvorbereitung für die bildgebende Massenspektrometrie

Die Probenvorbereitung für die bildgebende Massenspektrometrie wurde bereits in einer eigenen Veröffentlichung beschrieben und ist hier nochmals detaillierter dargestellt.^[26] Zur Vorbereitung der Proben für bildgebende massenspektrometrische Messungen mittel MALDI-MSI wurden die Pflanzen nach der Ernte sofort weiterverarbeitet, um ein Austrocknen zu verhindern. Zunächst wurden Pflanzenorgane wie Wurzeln oder Stiele in wenige cm lange Segmente geschnitten und in einer hochviskosen Lösung, welche aus 5 % Carboxymethylcellulosen in bidestilliertem Wasser bestand, eingebettet. Als Einbettungsgefäße wurden primär Falcon konische Zentrifugenröhrchen (15 mL und 50 mL) verwendet, welche ca. 3-4 cm unterhalb des Deckels abgeschnitten wurden. Die in die Lösung eingetauchten Proben wurden anschließend in das Kryomikrotom bei $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ gestellt und dort

eingefroren. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die Proben bei $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Tiefkühlschrank gelagert. Zur Entfernung der Proben aus den Zentrifugenröhrchen konnte der Deckel dieser abgeschraubt und die gefrorene Probe mit Hilfe eines Stempels herausgedrückt werden. Die histologischen Schnitte wurden anschließend im Kryomikrotom bei Temperaturen zwischen $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ und $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ sowie Schnittdicken zwischen 20 und 50 μm angefertigt. Die dünnen Schnitte wurden mit Glasobjektträgern aufgenommen und über Nacht bei $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$ schonend in einem Exsikkator getrocknet. Die Proben wurden anschließend im Exsikkator für etwa 5 Stunden im Kühlschrank bei $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ und anschließend bei Raumtemperatur langsam aufgetaut. Die aufgetauten Schnitte wurden mit einem Digitalmikroskop gesichtet, die morphologisch besten wurden fotografiert und anschließend zur Matrixapplikation im Matrixpräparationsroboter platziert. Dieser beschichtete die Proben mit einer Matrixlösung bei den folgenden Sprühparametern: 11 min Sprühzeit, 18 $\mu\text{L}/\text{min}$ Matrixflussrate, 5 L/min Stickstoffflussrate und einer Probenrotation von 60 Umdrehungen/min. Die DHB-Matrixlösung wurde wöchentlich als 30 mg/mL 2,5-Dihydroxybenzoesäure in Aceton:Wasser (v/v, 1:1) + 0,1 % Ameisensäure angesetzt. Nach Applikation wurde die Homogenität der kristallinen Matrix sowie die Kristallgröße durch Längenmessung mit einem Digitalmikroskop geprüft und ein Foto der besprühten Probe aufgenommen. Die Proben wurden anschließend in den meisten Fällen sofort gemessen oder alternativ für maximal drei Tage in einem Exsikkator in Dunkelheit gelagert.

Im Falle der Messung von abaxialen Blattoberflächen wurden die Blätter direkt nach der Ernte mit der adaxialen Seite auf Objektträgern fixiert. Nach einer optischen Aufnahme durch das Digitalmikroskop wurden die Blätter mit derselben Methode, welche auch für die histologischen Schnitte verwendet wurde, mit der MALDI-Matrix beschichtet. Die besprühten Blattproben wurden mit einem Digitalmikroskop geprüft und fotografiert und im Anschluss sofort mittels MALDI-MSI gemessen, um ein Verziehen des Blattes und Ablösen der Matrix bei Trocknung zu vermeiden.

3.14 Analyse der räumlichen Verteilung von Pflanzenschutzmittelrückständen mittels MALDI-MSI

Das Vorgehen zur Analyse der räumlichen Verteilung von Pflanzenschutzmitteln und ihren Metaboliten mittels MALDI-MSI wurde bereits in einer eigenen Veröffentlichung beschrieben und ist hier nochmals detaillierter dargestellt.^[26] Die Messung wurde mittels einer Atmosphärendruck-MALDI-Ionenquelle durchgeführt, welche an ein QExactive-Orbitrap-Massenspektrometer gekoppelt war. Die MALDI-Ionenquelle war ausgestattet mit einem FLARE NX 343 kurzgepulsten, diodengepumpten Festkörperlaser,

welcher Strahlung einer Wellenlänge von 343 nm erzeugte. Die MALDI-Quelle wurde, wenn nicht anders angegeben, bei einer *Attenuator*-Einstellung von 32° und unter Verwendung des Filters betrieben. Messungen wurden im positiven Modus mit einem Scanbereich von 125 – 500 *m/z* oder 200 – 800 *m/z* und einer Auflösung von 140.000 bei *m/z* = 200 durchgeführt. Das Orbitrap-Massenspektrometer wurde bei einer Sprühspannung von 3,6 kV, eines S-Lense Levels von 70 und einer Injektionszeit von 500 ms betrieben. Eine Kalibrierung fand täglich unter Verwendung von Signalen aus der DHB-Matrix statt. Für eine optimale Massengenauigkeit wurde zudem das Signal 273,039366 *m/z*, welches aus der DHB-Matrix stammt und der Spezies [2 DHB – 2 H₂O + H]⁺ zuordenbar ist, zur internen Massenkali-
brierung verwendet.^[238] Die Messungen wurden hauptsächlich bei einer lateralen Auflösung von 25 µm im „full-pixel“-Modus durchgeführt.^[239] Nach der Messung wurden die Proben abschließend erneut optisch durch ein Digitalmikroskop geprüft und ein Foto der gemessenen Probe aufgenommen.

3.15 Auswertung und graphische Darstellung der durch MALDI-MSI erhaltenen Messergebnisse

Die Ionenbilder wurden mittels mirion 3D v3.3.64.23 erstellt. Wenn nicht anders spezifiziert, wurde dabei eine Massengenauigkeit von 2 ppm verwendet. Die Signalintensitäten wurden graphisch im Stil einer Wärmekarte dargestellt, bei welcher blaue Farben mit den geringeren Intensitäten korrelieren, während rote Farben die höchsten gemessenen Intensitäten darstellen. Die genaue Zuordnung, welche Intensität als rot dargestellt wird und ab welcher Intensität eine farbliche Darstellung durch blaue Farbtöne stattfindet ist anhand einer Farbskala deklariert.

Die mit Hilfe des Digitalmikroskops erhaltenen Bilder der Probe vor und nach der Matrixapplikation wurden miteinander verglichen, um sicher zu stellen, dass die Probe sich durch die Applikation nicht verändert hat. Mit Hilfe der Aufnahme nach der massenspektrometrischen Messung, auf welcher deutlich zu erkennen ist, welches Areal durch die MALDI desorbiert und ionisiert wurde konnte das erhaltene Ionenbild räumlich der Mikroskopaufnahme zugeordnet werden. Somit war es möglich, das Ionenbild räumlich exakt mit der Mikroskopaufnahme der Probe vor der Matrixapplikation zu unterlegen.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 Entwicklung eines hydroponischen Testsystems sowie geeigneter analytischer Methoden zur Quantifizierung und Lokalisierung von Pflanzenschutzmittelrückständen

Um den Erhalt robuster Ergebnisse aus den hydroponischen Aufnahmestudien zu gewährleisten, musste zunächst ein hydroponisches Testsystem, sowie geeignete analytische Methoden zur Quantifizierung und Lokalisierung von Pflanzenschutzmittelrückständen entwickelt werden. Bei der Entwicklung der analytischen Verfahren und insbesondere des hydroponischen Testsystems konnte dabei auf die umfassende Expertise des Kooperationspartners Bayer CropScience zurückgegriffen werden.

Teile dieses Kapitels wurden bereits in der Masterarbeit von JAN PHILIPP BÖHMER beschrieben (siehe Kapitel 7.1.1).

4.1.1 Etablierung eines hydroponischen Testsystems

Eine Vielzahl von Studien hat bislang die Wurzelaufnahme von Pflanzenschutzmitteln und anderen organischen Substanzen in unterschiedlichsten Pflanzen untersucht.^[58,59,78,89,108,115,205,228,240] Die teils erheblichen Unterschiede im experimentellen Aufbau verschiedener Studien verhindern jedoch häufig eine direkte Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Unterschiede zwischen den hydroponischen Systemen, die den Wurzelkontakt mit den bioverfügbaren Pflanzenschutzmitteln ohne Einfluss von Boden ermöglichen sollen, sind besonders problematisch. Da solche Systeme keine realen Umweltbedingungen abbilden, sondern lediglich eine simplifizierte Approximation dieser darstellen, sollten sie vor allem den Erhalt von vergleichbaren und reproduzierbaren Ergebnissen ermöglichen.^[58,240]

Unterschiede in den hydroponischen Systemen können vielfältig sein. Dazu zählen insbesondere Variationen in der Expositionskonzentration sowie -dauer, in der Pflanzenart oder im Entwicklungsstadium der Pflanzen sowie bei der Applikation der Wirkstoffe. Darüber hinaus können experimentelle Unterschiede, die nicht direkt umweltrelevant, jedoch entscheidend für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse sind, eine Rolle spielen. Hierzu gehören beispielsweise Aufnahmeversuche mit Wurzeln ohne Wurzelspitze^[126] oder ohne Belüftung der Nährlösung zum Erhalt des Sauerstoffgehaltes.^[89,204] Auch Variationen in der Zusammensetzung oder Konzentration der Nährlösung^[59,115,138], das Nachfüllen der Nährlösung während des Experimentes^[59,138] sowie eine geringe Gefäßgröße^[89,138] mit einer

daraus resultierenden geringen Wurzelbenetzung nach Transpiration können Einfluss auf die Vergleichbarkeit der Ergebnisse haben.

Aus diesen Gründen sollte für diese Arbeit ein System gewählt werden, welches möglichst konstante Bedingungen für die Aufnahme der Wirkstoffe durch die Nutzpflanzen gewährleistet und somit den Erhalt von reproduzierbaren, vergleichbaren Ergebnissen ermöglicht. Neben der Standardisierung der Versuchsbedingungen war es zudem entscheidend, ein System zu entwickeln, das kostengünstig, robust und simpel ist, um den Einsatz in zukünftigen hydroponischen Aufnahmestudien zu ermöglichen. So wurden zum Beispiel zur Sauerstoffversorgung der hydroponischen Pflanzen anstelle von kostenintensiven Peristaltikpumpen günstigere Teichpumpen mit einem einstellbaren Schlauchverteiler eingesetzt.

Zur Sicherstellung einer vollständigen Versorgung der Versuchspflanzen mit essenziellen Mikro- und Makronährstoffen wurde HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung eingesetzt.^[241] Diese Lösung stellt einen etablierten Standard in hydroponischen Aufnahmestudien dar und wurde bereits, teils in modifizierter Form, zur Untersuchung der Aufnahme von verschiedenen Substanzen in Pflanzen verwendet.^[93,115,242–244] Kleine Modifikationen der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung wurden getestet, um ihre Eignung für Pflanzen wie Mais, Weizen und Soja zu gewährleisten. In den vorab durchgeführten hydroponischen Experimenten zeigte sich, dass die Art der Eisenverfügbarkeit einen maßgeblichen Einfluss auf das Wachstum der Pflanzen hatte. Dieses Ergebnis ist wenig überraschend, da Eisen ein essenzielles Spurenelement darstellt und häufig den limitierenden Faktor für ein normales Pflanzenwachstum darstellt.^[245] Daher wurde eine kommerziell erhältliche HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung mit einer aus den einzelnen Salzen selbst hergestellten HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung verglichen. In der kommerziellen Nährlösung befand sich dabei Eisen(II)-Tartrat, während die selbst hergestellte Nährlösung Eisensulfat und Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) enthielt.^[233] Zudem wurde die kommerzielle Nährlösung mit zusätzlich hinzugefügtem EDTA eingesetzt, welches das vorhandene Eisen in der Nährlösung komplexieren und so für die Pflanze besser verfügbar machen sollte.^[246] Die Auswirkungen auf das Wachstum der Maispflanzen nach zweiwöchiger Exposition gegenüber den jeweiligen Nährlösungen sind in Abbildung 13 dargestellt.

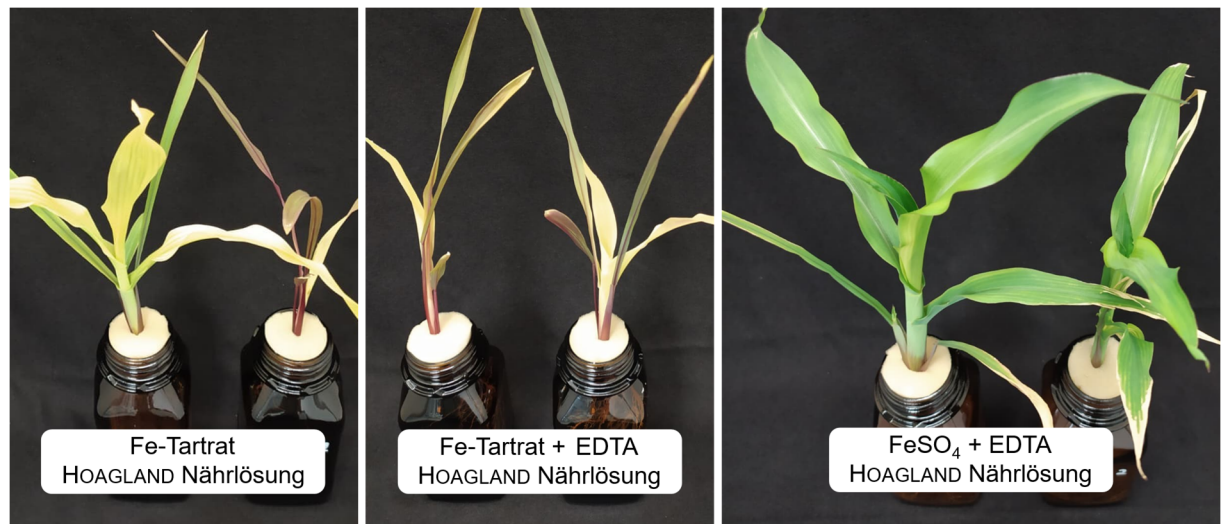


Abbildung 13: Einfluss der Eisenquelle auf die Gesundheit von jungen, hydroponisch kultivierten Maispflanzen.

Unabhängig von der Zugabe von EDTA war ein stark reduziertes Wachstum, Chlorosen sowie eine Verfärbung der Blätter bei den Pflanzen ersichtlich, welche in der erworbenen HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung wuchsen. Optisch waren bei der erworbenen Lösung zudem dunkle Partikel am Boden des hydroponischen Gefäßes erkennbar, welche vermutlich nicht gelöste Eisenreste darstellten. Dies könnte auf einen Eisenmangel der Pflanzen hindeuten, welcher zu einem reduzierten Wachstum sowie Chlorosen führen kann.^[247] Da ein Eisenmangel zusätzlich zu einer Reduktion von anderen Mineralien in den Blättern der Maispflanzen führt, können weitere Pflanzenschäden auftreten, welche nicht primär bei Eisenmangel zu erwarten sind.^[248] Es ist ersichtlich, dass die Kultivierung der Nutzpflanzen in der selbst hergestellten, Eisensulfat und EDTA beinhaltenden Nährlösung signifikant gesündere Pflanzen hervorbrachte, weswegen diese für die in dieser Arbeit beschriebenen Aufnahmeexperimente verwendet wurde. Der pH-Wert der hydroponischen Nährlösung wurde in allen Experimenten auf 6,5 eingestellt, da dies nach Angaben der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) im Modell zur Analyse der Persistenz im Boden (PERSAM) dem durchschnittlichen pH-Wert des Porenwassers in Deutschland entspricht und sich zudem in hydroponischen Aufnahmestudien als geeignet erwiesen hat.^[78,249,250]

Zur Abschätzung geeigneter Expositionskonzentrationen im hydroponischen System wurden die maximal zu erwartenden Konzentrationen von Pflanzenschutzmitteln im pflanzenverfügbaren Bodenwasser eines Feldes unmittelbar nach Sprühapplikation mithilfe von PERSAM modelliert.^[249] PERSAM ist ein von der EFSA entwickeltes Programm, welches die Konzentrationen von Pflanzenschutzmitteln in europäischen Böden sowie dem Bodenwasser berechnet.^[249,251] Ausgehend von einer Sprühapplikation von 0,24 kg Wirkstoff pro Hektar, wie sie der Applikation von Ridomil Gold MZ mit dem Wirkstoff MET entspricht, auf ein Feld mit jungen Maispflanzen im BBCH-Stadium 10 – 19, ergab sich

an Tag 0 eine maximale Konzentration von 4,96 mg/L (17,8 μM) im pflanzenverfügbaren Porenwasser (Abbildung 78). Vergleichbare Werte wurden ebenfalls für Weizen- (20,6 μM) und Sojapflanzen (22,3 μM) erhalten. Ausgehend von dieser Berechnung wurde für die hydroponischen Aufnahmestudien eine maximale, umweltrelevante Konzentration von 10 μM gewählt. Zusätzlich zu dem Maximalwert von 10 μM wurden, je nach Fragestellung, auch niedrigere Expositionskonzentrationen von 1 μM , 0,1 μM und 0,01 μM untersucht. Diese Konzentrationen sind ökologisch relevant, da Pflanzenschutzmittel im Boden infolge mikrobieller und chemischer Umwandlungsprozesse mit fortschreitender Zeit stark abgebaut werden können.^[20] Somit ist auch die Aufnahme von Pflanzenschutzmitteln in deutlich reduzierten Konzentrationen von hoher ökologischer Relevanz, da Rückstände über längere Zeiträume in Agrarböden verbleiben und weiterhin pflanzenverfügbar sein können.^[20,252]

Das organische Lösungsmittel, in welchem die aufzunehmenden Substanzen gelöst in die Nährlösung gegeben werden, kann phytotoxische Effekte haben, welche die Ergebnisse der Aufnahmestudie beeinflussen könnten.^[253] Um den Einfluss des Lösungsmittels zu minimieren, wurde DMSO gewählt. Dieses weist eine vergleichsweise geringe Phytotoxizität auf^[253] und ermöglicht die Solvatation aller zu untersuchenden Pflanzenschutzmittel in einer hohen Konzentration von 10 mg/mL, wodurch die zugesetzte Menge an organischem Lösungsmittel auf ein Minimum reduziert werden konnte. Zudem ist DMSO bereits in früheren hydroponischen Aufnahmestudien erfolgreich eingesetzt worden.^[138]

Um reproduzierbare und aussagekräftige Ergebnisse zur Aufnahme von Pflanzenschutzmitteln über die Pflanzenwurzeln zu erzielen, ist es entscheidend, dass Veränderungen der Wirkstoffkonzentrationen im hydroponischen System während der Aufnahmestudie ausschließlich auf die Pflanzenaufnahme zurückzuführen sind. Abnahmen in Pflanzenschutzmittelkonzentrationen können neben der Aufnahme durch die Pflanzen auch durch Sorption, Photolyse oder mikrobiellen Abbau verursacht werden.^[26] So beobachteten MATHEWS *et al.* einen signifikanten Verlust von Triclocarban und Triclosan in hydroponischer Nährlösung in Abwesenheit einer Pflanze.^[26,32] Sie führten dieses Verhalten primär auf Ausfällung oder Sorption der Substanzen an die Salze der Nährlösung zurück.^[32] Photolyse wurde ebenfalls als relevanter Abbaupfad der Substanzen identifiziert, obwohl, wie auch in dem hier beschriebenen hydroponischen System, Braunglasflaschen verwendet wurden.^[26,32] Auch für Pflanzenschutzmittel wie Azoxystrobin wurde eine signifikante Abnahme in der pflanzenlosen Nährstofflösung festgestellt.^[26,254]

Daher wurde die Stabilität aller in dieser Arbeit untersuchten Wirkstoffe vorab im hydroponischen System unter Verwendung einer für das Aufnahmeexperiment repräsentativen Konzentration untersucht. Dies ist beispielhaft in Abbildung 14 für die

Wirkstoffe Fluopyram (FLU), Imidacloprid (IMI), Metalaxyl (MET) und Tebuconazol (TEB) dargestellt, welche in Kapitel 4.2 untersucht werden.

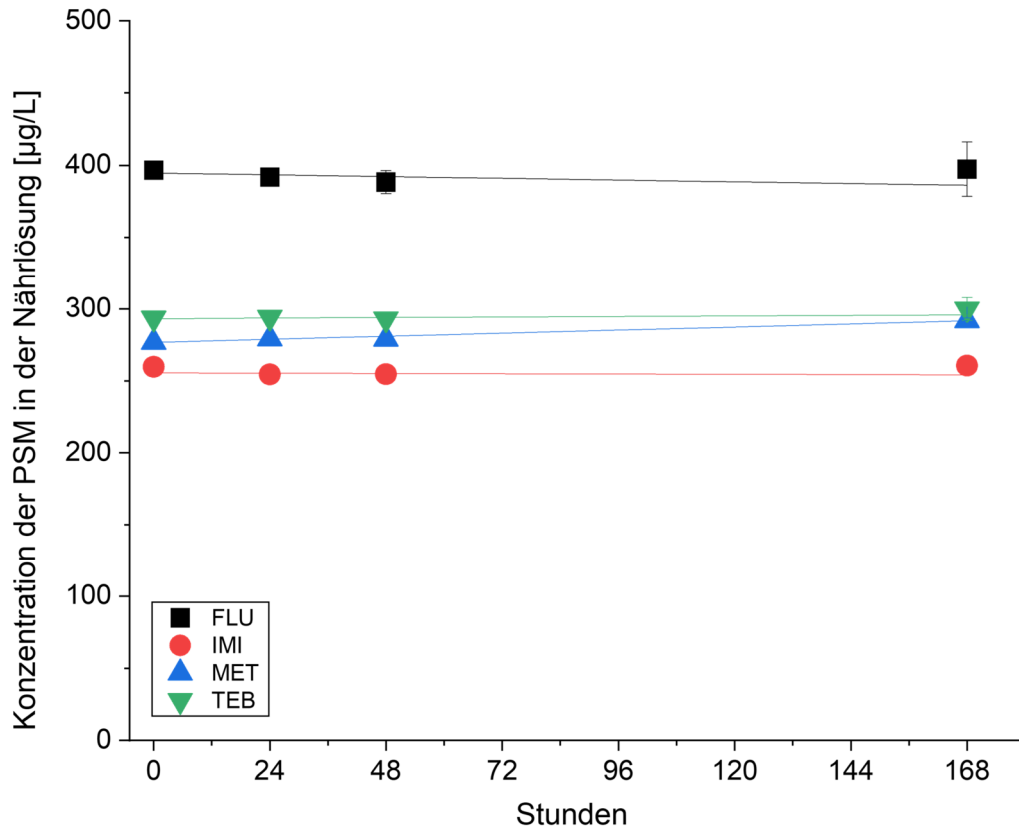


Abbildung 14: Konzentrationsverlauf der Pflanzenschutzmittel (PSM) IMI, MET, FLU und TEB in der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung in Abwesenheit von Pflanzen nach 0, 24, 48 und 168 h, wobei kein Abbau in der Nährlösung beobachtet wurde.

FLU, IMI, MET und TEB, zeigten über die Versuchsdauer von zwei sowie sieben Tagen keine signifikante Konzentrationsabnahme in der Nährlösung bei Abwesenheit einer Nutzpflanze (Abbildung 14). Dies zeigt, dass alle vier Wirkstoffe unter den gewählten experimentellen Bedingungen stabil sind und keine Umwandlung in der Nährlösung Einfluss auf das Aufnahmeverhalten hat. Mit Ausnahme von Spirotetramat (SPI) waren alle in dieser Arbeit untersuchten Pflanzenschutzmittel über den Versuchszeitraum hinweg stabil im hydroponischen System. Die Konsequenzen der Konzentrationsabnahme von SPI für die Aufnahmestudie werden daher in Kapitel 4.4 detailliert diskutiert, während auf eine weitere Beschreibung der Stabilität der übrigen Wirkstoffe verzichtet wird. Die zugehörigen Abbildungen sind im Anhang enthalten (Abbildung 85 und Abbildung 86).

Der gesamte Versuchsablauf mit dem in dieser Arbeit entwickelten hydroponischen System, von der Keimung der Pflanzen bis zur Durchführung der hydroponischen Aufnahmestudie, ist in Abbildung 15 dargestellt.

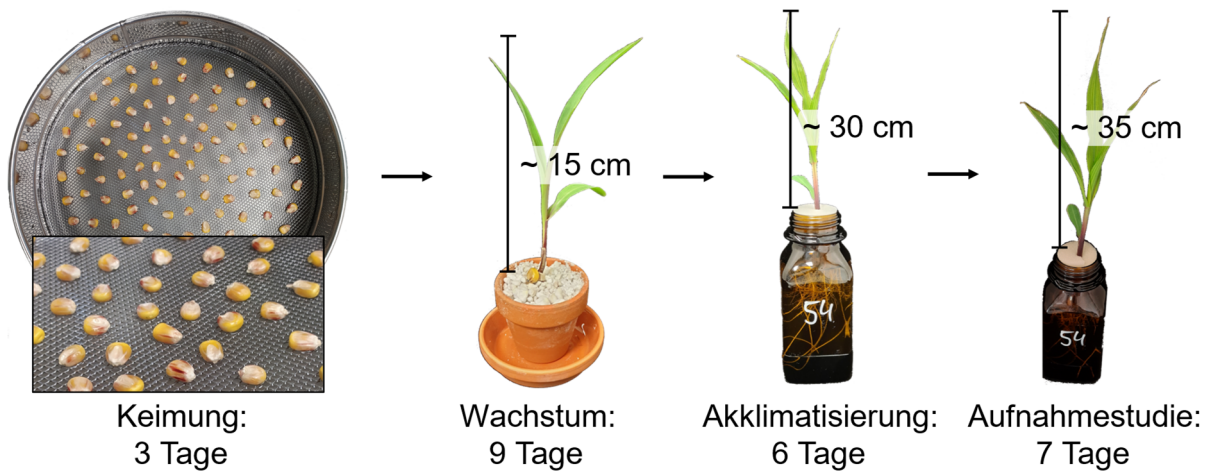


Abbildung 15: Schematische Darstellung des Ablaufs der Keimung sowie des Wachstums von Maispflanzen im hydroponischen System vor und zu Beginn des Aufnahmestudiums.

Die in den folgenden Aufnahmestudien nach Aufnahme aus diesem hydroponischen System detektierten Konzentrationen an Pflanzenschutzmitteln in Wurzeln und Trieben zeigten nur eine geringe Variation zwischen den Replikaten.^[26] Dies deutet darauf hin, dass der hier verwendete Versuchsaufbau trotz der inhärenten Variabilität biologischer Systeme eine robuste und reproduzierbare Wurzelaufnahme in Nutzpflanzen ermöglicht.^[26] So wurde zum Beispiel im Falle der Aufnahme von MET und SPI in Mais (Kapitel 5.4) relative Standardabweichungen (%RSD) von unter 20 % festgestellt, während in vergleichbaren Aufnahmestudien bei vergleichbaren Expositionskonzentrationen die Variation zwischen Replikaten signifikant höher war (%RSD = 25 – 64 %).^[26,255] Die geringere Variabilität könnte in der kürzeren Expositionsdauer sowie den konstanteren Umweltbedingungen in der Pflanzenkammer begründet liegen.^[26] Aus diesem Grund sollte die hohe Robustheit der Aufnahmestudien dieser Arbeit einen genaueren Einblick in die Aufnahme und den Transport von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen erlauben.

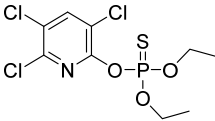
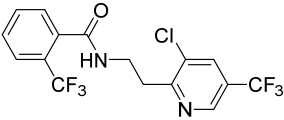
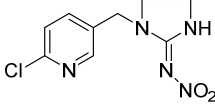
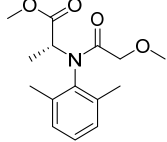
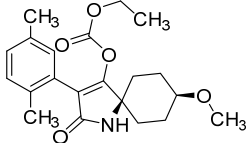
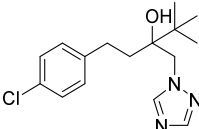
4.1.2 Entwicklung der Probenvorbereitung und Messmethode zur Quantifizierung mittels HPLC-HRMS

Um strukturell und physikochemisch stark unterschiedliche Pflanzenschutzmittel in niedrigen Konzentrationen im Pflanzengewebe erfassen und quantifizieren zu können, muss eine Multikomponentenmethode entwickelt werden, durch welche es ermöglicht wird, diese Substanzen selektiv und sensitiv zu detektieren.^[149] Dazu müssen die Pflanzenschutzmittel durch eine geeignete Probenvorbereitung möglichst ohne Verluste und mit hohen Wiederfindungsraten extrahiert werden können. Mithilfe der HPLC-HRMS Methode müssen diese Verbindungen im Anschluss sensitiv gemessen werden können, um auch die

Pflanzenaufnahme aus Nährlösungen mit sehr geringen Konzentrationen an Wirkstoffen (0,01 μM , 0,1 μM) untersuchen zu können.^[149]

Zur Entwicklung der Multikomponentenmethode wurden sechs Pflanzenschutzmittel aus unterschiedlichen Wirkstoffklassen ausgewählt, welche ein breites Spektrum an funktionellen Gruppen und physikochemischen Eigenschaften abdecken (Tabelle 8). Diese Auswahl ermöglicht die Untersuchung der Eignung der Methode für strukturell und chemisch heterogene Pflanzenschutzmittelmischungen in komplexen Pflanzenmatrizes und dient als Grundlage für eine robuste und breit einsetzbare Analyse mittels HPLC-HRMS.

Tabelle 8: Überblick über die zur Entwicklung der Multikomponentenmethode eingesetzten Pflanzenschutzmittel aus verschiedenen Substanzklassen mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen und Polaritäten.

Struktur	Name	Summenformel	Substanzklasse	Log K_{OW}
	Chlorpyrifos (CPY)	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_3\text{NO}_3\text{PS}$	Phosphorsäureester-Derivat (Insektizid)	4,7
	Fluopyram (FLU)	$\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{ClF}_6\text{N}_2\text{O}$	Pyridinyl-ethylbenzamid (Fungizid)	3,3
	Imidacloprid (IMI)	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{ClN}_5\text{O}_2$	Neonicotinoid (Insektizid)	0,6
	Metalaxyl (MET)	$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_4$	Acylalanin-Derivat (Fungizid)	1,7
	Spirotetramat (SPI)	$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{NO}_5$	Tetraminsäure-Derivat (Fungizid)	2,5
	Tebuconazol (TEB)	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}$	Triazol-Derivat (Fungizid)	3,7

Um die Probenvorbereitung möglichst schonend durchzuführen, wurde das Pflanzenmaterial nach der Ernte zerkleinert und anschließend bei einem Druck von 3 mbar bei $-8\text{ }^\circ\text{C}$ lyophilisiert. Unter diesen Bedingungen zeigten alle Pflanzenschutzmittel mit Ausnahme von CPY eine Wiederfindungsrate von über 86 %, während CPY aufgrund seiner hohen Flüchtigkeit und Henry Konstante von $k_H = 0,48\text{ Pa} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ^[231] nur zu etwa 20 % nach

Lyophilisation detektiert wurde (Abbildung 80). Dennoch stellte die Lyophilisation unter diesen Bedingungen die schonendste Probenvorbereitung dar. Da in diesem Vorversuch die Substanzen in Wasser gelöst waren, ist es denkbar, dass bei der Lyophilisation von Pflanzenproben die feste Matrix des Gewebes den Verlust von CPY reduziert, da die Substanz dort nicht direkt dem Vakuum ausgesetzt ist.

Obwohl zahlreiche Extraktionsmethoden bereits zur Detektion von Pflanzenschutzmitteln in pflanzlichem Gewebe entwickelt wurden, sind die meisten Methoden auf bestimmte Pflanzenarten oder einzelne Wirkstoffklassen beschränkt. Als Extraktionstechnik wurde die Ultraschallextraktion (UAE) gewählt, da diese sich als besonders umweltschonend und zeiteffizient erwiesen hat und zugleich hohe Wiederfindungsraten ermöglicht.^[188,256,257] Zur Optimierung der Extraktionseffizienz wurden verschiedene Lösungsmittel und Lösungsmittelgemische getestet. Die erzielten Wiederfindungsraten für die einzelnen Pflanzenschutzmittel aus Maisblättern sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Wiederfindungsraten (*R*) nach Ultraschallextraktion der sechs Pflanzenschutzmittel mit unterschiedlichen Extraktionsmitteln aus Maisblättern (*n* = 3).
ACN: Acetonitril; EA: Ethylacetat; AA: Ameisensäure.

Extraktion:	Wirkstoff:	CPY	FLU	IMI	MET	SPI	TEB
ACN:H ₂ O (4:1)	<i>R</i> [%]	48 ± 5	88 ± 4	92 ± 2	99 ± 1	85 ± 2	83 ± 4
ACN	<i>R</i> [%]	59 ± 3	79 ± 2	58 ± 1	77 ± 2	82 ± 4	79 ± 3
EA	<i>R</i> [%]	66 ± 3	74 ± 4	45 ± 3	70 ± 3	74 ± 4	75 ± 4
EA:ACN (1:1)	<i>R</i> [%]	63 ± 3	80 ± 2	50 ± 1	76 ± 2	82 ± 3	83 ± 1
EA:ACN (2:1)	<i>R</i> [%]	60 ± 1	89 ± 2	69 ± 4	92 ± 8	97 ± 2	83 ± 2
EA:MeOH (1:1)	<i>R</i> [%]	63 ± 4	83 ± 3	42 ± 20	87 ± 2	80 ± 1	86 ± 3
EA:AA	<i>R</i> [%]	56 ± 1	71 ± 2	47 ± 2	68 ± 2	73 ± 2	70 ± 1
Toluol	<i>R</i> [%]	68 ± 7	68 ± 7	45 ± 2	65 ± 3	67 ± 8	67 ± 8

Die Extraktionsergebnisse zeigen, dass insbesondere CPY und IMI geringere Wiederfindungsraten bei den meisten Extraktionen zeigen. Diese beiden Verbindungen stellen die entgegengesetzten Enden des Polaritätsspektrums der untersuchten Verbindungen dar. CPY weist mit einem $\log K_{ow} = 4,7$ eine sehr hohe Lipophilie auf und lässt sich entsprechend vor allem mit unpolaren Lösungsmitteln extrahieren. Darüber hinaus sind zudem Verluste aufgrund der Flüchtigkeit denkbar, die während der anschließenden Aufkonzentrierung unter Unterdruck entstehen können. IMI hingegen weist die größte Hydrophilie mit einem

$\log K_{OW} = 0,6$ auf und ist somit vor allem durch polare Lösungsmittelgemische wie ACN:H₂O in hohen Wiederfindungsraten extrahierbar.

Unter den untersuchten Lösungsmittelgemischen erzielten ACN:H₂O (4:1, v/v) und EA:ACN(2:1, v/v) die besten Ergebnisse für die Multikomponentenanalyse (grau hinterlegt in Tabelle 9). Um ihre Eignung weiter zu untersuchen, wurden beide Methoden zusätzlich zur Extraktion der Pflanzenschutzmittel aus Maiswurzeln eingesetzt. Der direkte Vergleich zeigte, dass die Extraktion mit dem Lösungsmittelgemisch EA:ACN der polareren Extraktion mit ACN:H₂O aufgrund geringerer Matrixeffekte vorzuziehen ist (Tabelle 12). Zudem erwies sich die Extraktion mit EA:ACN als zeiteffizienter, da das Pflanzengewebe im Vergleich zur Extraktion mit wasserhaltigen Lösungsmitteln weniger Flüssigkeit aufnahm, wodurch das Lösungsmittel nach jedem Extraktionszyklus deutlich schneller dekantiert werden konnte. Auch die anschließende Aufkonzentrierung verlief effizienter, da die Abwesenheit von Wasser die Verdampfungszeit erheblich verkürzte. Die Lösungsmittel ACN und EA eignen sich zudem aufgrund ihrer aprotischen Eigenschaften besonders für die Extraktion von SPI, da so eine mögliche Hydrolyse von SPI zu SPI-E während des Extraktionsprozesses vermieden werden kann.^[258] Die Methode wurde erfolgreich auf Maiswurzeln sowie Wurzeln und Spross von Weizen- und Sojapflanzen übertragen (Abbildung 16).

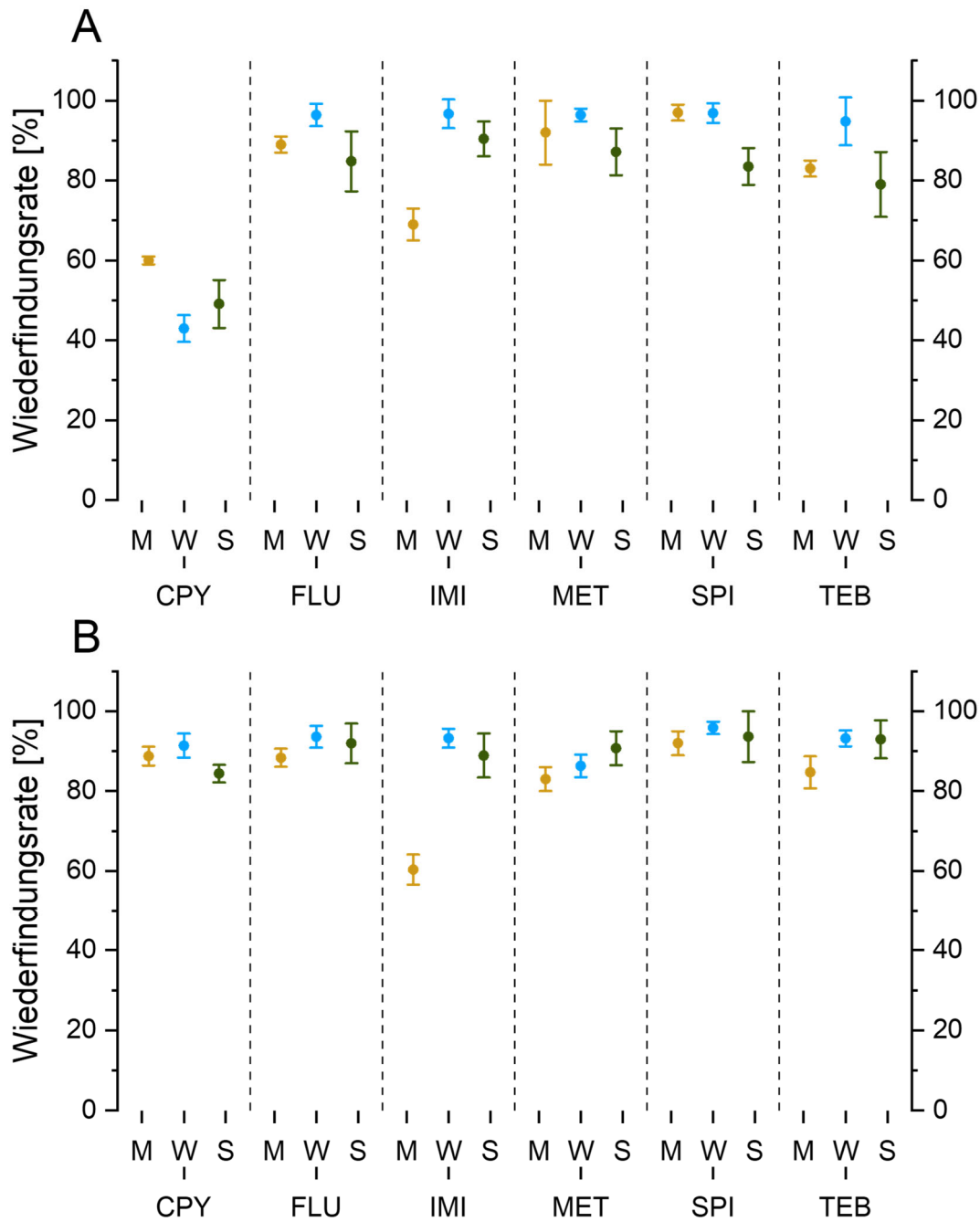


Abbildung 16: Mittlere Wiederfindungsraten inklusive Standardabweichungen der sechs untersuchten Pflanzenschutzmittel nach Extraktion mit der optimierten EA:ACN-(2:1)-Extraktionsmethode in Spross (A) und Wurzeln (B) von Mais (M, beige), Weizen (W, blau) und Soja (S, grün). Extraktion nach Dotierung von Wurzeln und Spross mit Pflanzenschutzmitteln in einer Konzentration von 100 ng/g trockenes Pflanzenmaterial (d.w.) (n = 6).

FLU, MET, SPI und TEB zeigen in allen Pflanzen sowohl in den Wurzeln als auch im Spross Wiederfindungsraten größer 70 %, was laut der SANTE/12682/2019 Richtlinie zur Analytik von Pflanzenschutzmittelrückständen einer idealen Methode für diese Wirkstoffe entspricht.^[259,260] Ebenso zeigt CPY gute Wiederfindungsraten in den Wurzeln aller Pflanzen, jedoch geringe Wiederfindungsraten von unter 70 % in den Sprossen, was wahrscheinlich auf seine

Flüchtigkeit zurückgeführt werden kann. IMI wurde aus Mais deutlich schlechter als aus Soja und Weizen extrahiert, zeigte jedoch immer noch mittlere Wiederfindungsraten größer 60 %. Da bei den Verbindungen, welche eine Wiederfindungsrate kleiner 70 % aufwiesen, die relative Standardabweichung (%RSD) unter 20 % lag und die Wiederfindungsraten größer 30 % waren, können auch die schlechter extrahierbaren Verbindungen laut SANTE/12682/2019 Richtlinie als durch die Methode hinreichend extrahiert bewertet werden.^[260] Daher kann die hier gewählte Multikomponenten-Extraktionsmethode für die Extraktion von chemisch unterschiedlichen Pflanzenschutzmittel als geeignet angesehen werden.

Zur Entwicklung einer geeigneten massenspektrometrischen Detektionsmethode wurden zunächst die Ionisationsausbeuten nach Ionisation mittels ESI und APCI verglichen (Abbildung 52). Mithilfe beider Ionisationsmethoden konnten alle sechs Pflanzenschutzmittel detektiert werden, jedoch waren die Ionenausbeuten für CPY sowohl bei ESI als auch bei APCI sehr gering. Für TEB, MET, FLU und SPI wurden nach Ionisation mittels ESI gute Intensitäten von ca. $2 \cdot 10^6$ a.u. beobachtet, wohingegen die Intensitäten nach Ionisation mit APCI nur bei ca. $4 \cdot 10^5$ a.u. lagen. Ebenso konnte das polare IMI durch ESI in signifikant höheren Intensitäten detektiert werden als durch APCI, wie aufgrund des Ionisationsmechanismus zu erwarten war (siehe Kapitel 7.1.1).^[171,172] Da die Pflanzenschutzmittelmetaboliten potenziell polarer als die eigentlichen Pflanzenschutzmittel sind^[128,136] und ebenfalls durch die Multikomponentenmethode erfasst werden sollten, wurde ESI als geeignete Ionisationsform gewählt.

Zur Verbesserung der Nachweisgrenzen sowie der chromatographischen Trennleistung wurde die chromatographische Methode weiter optimiert. In diesem Zusammenhang wurden verschiedene Laufmittelgemische mit unterschiedlichen Additiven als mobile Phase erprobt (Abbildung 53). Bei CPY war eine signifikante Intensitätssteigerung beim Einsatz von MeOH:H₂O mit 0,1 % Ameisensäure ersichtlich. Die große Lipophilie der Verbindung resultiert in einer späten Retentionszeit, bei welcher der organische Anteil in der mobilen Phase 95 % beträgt. Daher sind bei Einsatz von ACN und ohne Säurezusatz zu diesem Zeitpunkt nur wenig Protonen in der Lösung, was zu einer signifikant geringeren Ionenausbeute führt. MeOH kann im Gegensatz zu ACN selbst als Protonendonator fungieren, was die Ionisationseffizienz sehr unpolare Verbindungen stark verbessern kann.^[261] Die Verwendung von MeOH kann jedoch zu einer Veresterung verschiedener Verbindungen führen^[262], was besonders die Untersuchung unbekannter Metaboliten erschweren kann. Wenn ausschließlich lipophile Substanzen einer Lipophilie von $\log K_{ow} < 4$, wie TEB oder FLU untersucht werden, eignet sich ebenfalls ACN:H₂O ohne oder mit verschiedenen Additiven. Daher wurde für die in den folgenden Aufnahmestudien untersuchten Pflanzenschutzmittel routinemäßig ACN:H₂O mit

0,1 % Ameisensäure eingesetzt, eine Methode, die auch bevorzugt in der Literatur eingesetzt wurde.^[93,115,130,138] Die Retentionszeiten der Pflanzenschutzmittel mit der finalen chromatographische Methode sind im Anhang in Abbildung 54 dargestellt.

Zur Vermeidung falsch-positiver Befunde wurden Pflanzenschutzmittel ausschließlich dann als im pflanzlichen Gewebe nachgewiesen gewertet, wenn definierte Nachweiskriterien erfüllt waren. Alle Messungen wurden auf hochauflösenden Massenspektrometern durchgeführt, weswegen die exakte Masse erste präzise Rückschlüsse auf die Summenformel der detektierten Verbindung zuließ. Jede Verbindung, mit Ausnahme vieler der Metaboliten, lag zudem als Referenzstandard vor, wodurch ein Abgleich der Retentionszeiten möglich war. Außerdem war zu jedem Pflanzenschutzmittel mit Ausnahme von TFZ, MEP, OFU und FUR ein interner isotope-markierter Standard vorrätig, der vor der Extraktion hinzugegeben wurde, um matrix- oder messgerätbedingte Schwankungen der Ionenausbeute auszugleichen. Zusätzlich wurden tandem-MS-Messungen (MS^2) durchgeführt und die erhaltenen Fragmentierungsmuster mit denen der Referenzstandards abgeglichen. Nur wenn sowohl die exakte Masse, die Retentionszeit als auch die Fragmentierung mit den zu erwartenden Ergebnissen übereinstimmten, wurde ein Pflanzenschutzmittel als in der Pflanze detektiert deklariert. Diese Kriterien entsprechen im Minimum dem höchsten Niveau der Sicherheit, welches von SCHYMANSKI *et al.* beschrieben wurde.^[263] Dieses Vorgehen ist exemplarisch für MET in Abbildung 17 dargestellt.

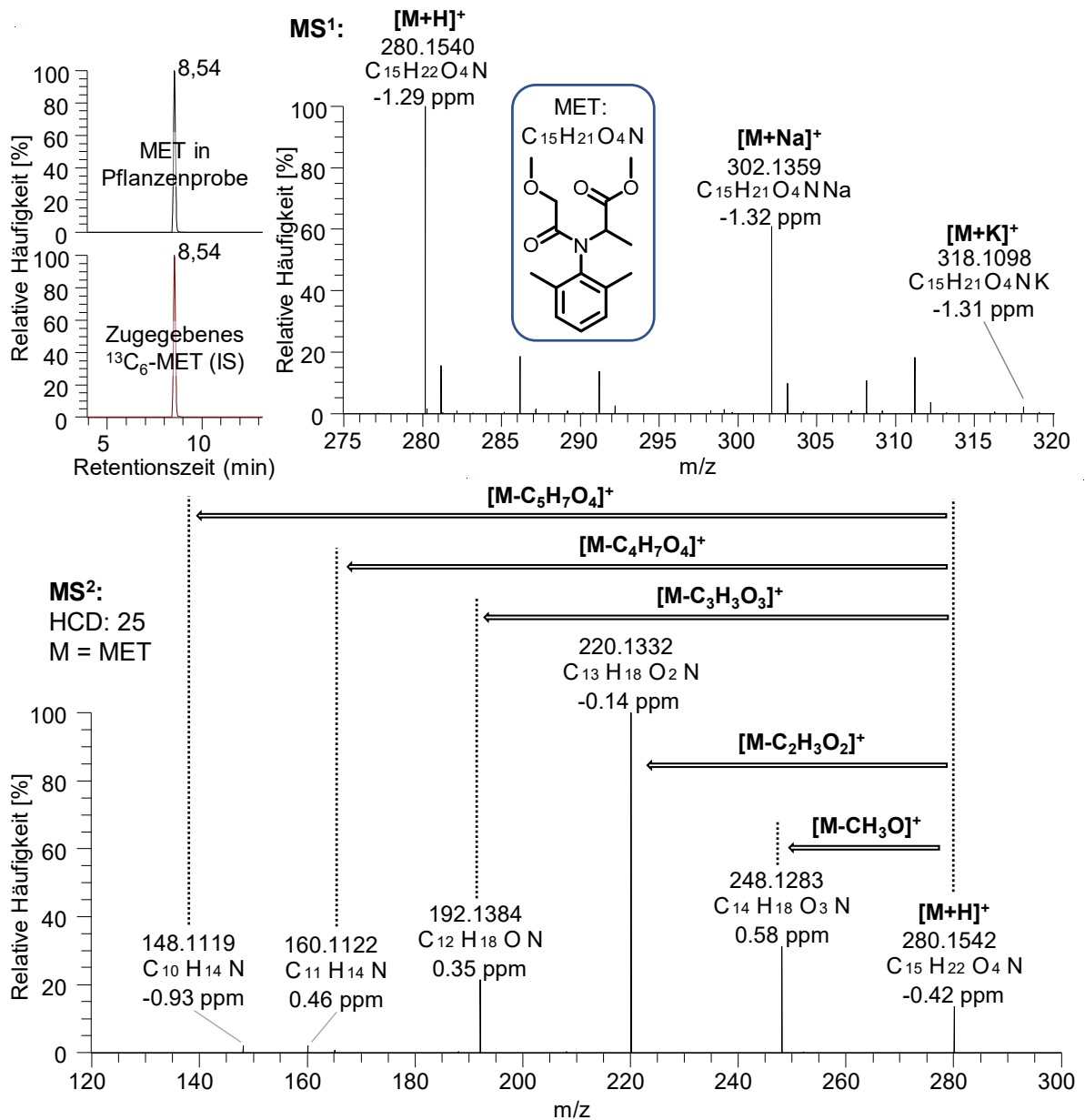


Abbildung 17: Identifizierung von MET im Spross einer Maispflanze nach Aufnahme über die Wurzel aus dem hydroponischen System mittels Vergleich der Retentionszeit mit dem internen Standard (IS; oben links), Detektion der exakten Masse des Quasi-Moleküliions und von Addukten im MS¹ (oben rechts) sowie Detektion des für MET charakteristischen Fragmentmusters im MS² (unten).

4.1.3 Entwicklung der analytischen Methoden zur Lokalisierung von Pflanzenschutzmitteln und deren Metaboliten mittels MALDI-MSI

Die selektive und sensitive Analyse von Pflanzenschutzmitteln mittels MALDI-MSI hängt von einer Vielzahl technischer sowie analytischer Parameter ab. So ist die Wahl der Instrumentation sowie der MALDI-Matrix entscheidend für die Ionisation und die Qualität der entstehenden Verteilungsbilder.^[264,265]

Die Ionisation bei MALDI-MSI wurde bislang überwiegend unter Hochvakuumbedingungen durchgeführt.^[212] Dies ist jedoch mit mehreren Einschränkungen verbunden. Es ist eine aufwendigere Probenvorbereitung notwendig, das Vakuum kann die Morphologie der zu messenden Probe beeinflussen und volatile Analyten können nicht erfasst werden.^[212] Im Gegensatz dazu resultiert die Verwendung einer unter Atmosphärendruck betriebenen MALDI-Ionenquelle (AP-MALDI), wie sie auch in dieser Arbeit zum Einsatz kam, in einer verbesserten Ionenstabilität aufgrund von Kollisionskühlung.^[212] Durch den Einsatz solcher AP-MALDI-MSI Systeme, welche mit hochauflösenden Orbitrap Massenspektrometern zur Detektion gekoppelt wurden, wurde bereits eine laterale Auflösung von bis zu 5 μm erreicht.^[212] Bei der Messung von endogenen Substanzen konnten zudem Verteilungsbilder von noch geringeren Pixelgrößen um 1.4 μm^2 erzeugt werden.^[224] Mit steigender lateraler Auflösung und sinkender Pixelgröße wird jedoch auch die Menge an desorbierten und ionisierten Analyten reduziert. Dies ist besonders im Falle der Analyse von exogenen Pflanzenschutzmitteln und ihrer Metaboliten von Bedeutung, da diese in deutlich geringeren Konzentrationen im Pflanzengewebe vorliegen als häufig mittels MALDI-MSI untersuchte endogene Verbindungen wie Aminosäuren, Lipide und Peptide.^[266,267] Aus diesem Grund musste für die bildgebenden Experimente in dieser Arbeit ein Kompromiss zwischen einer sicheren Detektion der Analyten bei ausreichenden Intensitäten und einer möglichst hohen lateralen Auflösung der Messung gefunden werden. Um dennoch Verteilungen im μm -Maßstab zeigen zu können, wurde der Full-Pixel-Modus bei den hier durchgeführten Messungen eingesetzt. Dieser ermöglicht ab einer lateralen Auflösung $\geq 25 \mu\text{m}$ den Beschuss des gesamten Pixelbereichs mit multiplen Laserpulsen durch eine präzise mäanderförmige Bewegung der Probe während des Beschusses.^[239] Somit können im Vergleich zum klassischen Spot-Modus die Signalintensitäten von Analyten nahe der Nachweisgrenze um bis zu Faktor 20 erhöht werden.^[239] Während in Vortests alle Pflanzenschutzmittel im Spot-Modus nicht oder nur in unzureichenden Intensitäten detektiert werden konnten, konnte die Verteilung einiger Analyten im Pflanzengewebe detailliert durch den Einsatz des Full-Pixel-Modus dargestellt werden.

Da der MALDI Desorptions- und Ionisationsprozess in seiner Gänze noch nicht vollständig verstanden ist, ist die Suche nach einer idealen MALDI-Matrix zur Detektion der Analyten ein

empirischer Prozess.^[171,186,268] Auch wenn die physikochemischen Eigenschaften der Analyten sowie der Matrixverbindungen bei der Wahl der MALDI-Matrix miteinbezogen werden können, findet der Auswahlprozess hauptsächlich durch simples Ausprobieren statt.^[171,186,269] Die Wahl der korrekten Matrix sowie ihre Applikation auf die Probe ist der wahrscheinlich wichtigste Schritt der bildgebenden Gewebeanalyse mittels MALDI-MSI.^[270] Daher wurden verschiedene MALDI-Matrizes auf ihre Effektivität bei der Ionisation der zur Methodenentwicklung ausgewählten Pflanzenschutzmittel getestet. SPI wurde bei dieser Untersuchung nicht miteinbezogen, da es bei der Probenvorbereitung und anschließenden Messung mittels MALDI-MSI zu SPI-E zerfällt.^[100] Da dieser Prozess unterschiedlich stark bei unterschiedlichen Matrizes ausgeprägt war, konnten die Matrizes hier nicht miteinander verglichen werden. Eine ausführlichere Untersuchung des Zerfalls von SPI zu SPI-E in der MALDI-Messung ist in Kapitel 4.4 beschrieben. Auch IMI konnte nicht detektiert werden, da dieses während der MALDI-Messung durch Verlust der Nitro-Gruppe zu Guanidin-Imidacloprid (G-IMI) zerfällt.^[26,271] Da dieser Prozess unter Verwendung aller MALDI-Matrizes mit einem nahezu vollständigen Umsatz stattfand (> 99 %), war ein Vergleich der Signalintensitäten des G-IMI anstelle des IMI möglich.

Untersucht wurden die Matrizes 2,5-Dihydroxybezoessäure (DHB), α -Cyano-4-hydroxymizimtsäure (HCCA) und 2-Mercaptobenzothiazol (MBT), welche sich vor allem in der Analyse kleiner Analyten wie Pharmaka und Pflanzenschutzmittel etabliert haben (Abbildung 18).^[228,270,272–275] Zusätzlich wurde eine 1:1-Mischung aus DHB und HCCA auf ihre Ionisationseffizienz geprüft (Abbildung 18), da eine gemeinsame Anwendung zweier Co-Matrizes die Sensitivität deutlich verbessern kann.^[171,276]

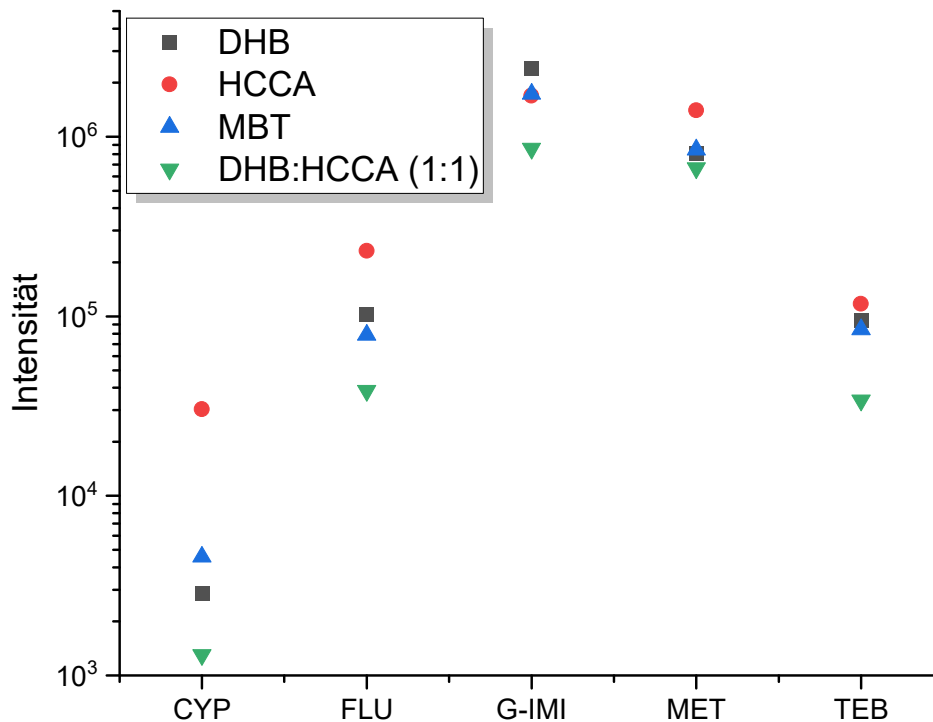


Abbildung 18: Vergleich der maximalen absoluten Signalintensitäten der Pflanzenschutzmittel in Abhängigkeit der verwendeten Matrix (Zahl der aufgenommenen Spektren: 200-250, n = 2). 1 μ L einer 100 ng/ μ L Pflanzenschutzmittellösung wurde auf einen Aluminiumträger dotiert und anschließend mit der entsprechenden MALDI-Matrix beschichtet und mittels MALDI-MS gemessen.

CYP zeigte die mit Abstand geringsten Ionenausbeuten, was darauf hindeuten kann, dass das Organophosphorinsektizid die positive Ladung in Form eines Protons oder Na^+/K^+ nur unzureichend zu stabilisieren vermag. Die höchsten Ionisationseffizienzen wurden für MET und G-IMI beobachtet, welche um etwa eine Dekade höhere Intensitäten zeigten als FLU und TEB. Dies stimmt mit den vorherigen Ergebnissen zur Analyse von MET mittels MALDI überein, bei welchen eine extrem hohe Ionisierbarkeit der Verbindung und somit geringe Nachweisgrenzen festgestellt wurden.^[273] Beim Vergleich der Matrices wurden bei Verwendung von HCCA, gefolgt von DHB, die besten Resultate erhalten. Die Mischung aus DHB und HCCA (1:1, v/v) resultierte hingegen in einer signifikant geringeren Sensitivität der Methode. Der Matrixvergleich eignet sich hier jedoch nur zu einer ungefähren Einschätzung der Eignung der Matrix, da die relative Standardabweichung zwischen den einzelnen Messungen bei bis zu %RSD = 60 % lag. Dementsprechend wurden sowohl HCCA als auch DHB und MBT als geeignet für die bildgebende Analyse der Pflanzenschutzmittel eingeschätzt.

In nachfolgenden Versuchen zeigte sich, dass für die Detektion der Analyten nach Aufnahme ins pflanzliche Gewebe eine höhere Laserenergie erforderlich war als in den Voruntersuchungen, bei denen die Substanzen unmittelbar auf den Aluminiumträger aufgebracht und anschließend mit Matrix überschichtet wurden. Die Laserenergie stellt einen

wichtigen Parameter für die Messung dar, da eine zu hohe Energie zur Fragmentierung der Analyten führt, eine zu geringe Energie jedoch in einer unzureichenden Desorption und Ionisation resultiert.^[171,273] Somit kann nur bei korrekt eingestellter Laserenergie eine optimale Messempfindlichkeit erreicht werden. Bei der Messung der Gewebeproben unter erhöhter Laserenergie erwies sich die Beschichtung mit DHB im Vergleich zu HCCA und MBT als vorteilhaft.^[273] Unter Verwendung von DHB war eine geringere Fragmentierung der Analyten zu beobachten und in den resultierenden Spektren traten weniger Störsignale auf, wie bereits in vorherigen MALDI-Studien beschrieben wurde.^[277,278] Zudem erwies sich die hohe Löslichkeit der DHB-Matrix in Aceton:Wasser (1:1, v/v) als vorteilhaft, da sie ein reproduzierbares, homogenes Sprühbild ermöglichte. Im Gegensatz zu HCCA kam es hierbei nicht zu Matrixablagerungen im Sprühkopf des Matrix-Applikationsroboters. Daher wurde DHB als Matrix für die in den folgenden Kapiteln dieser Arbeit beschriebenen bildgebenden Experimente verwendet.

Um sicherzustellen, dass die MALDI-Verteilungsbilder den korrekten Verbindungen zugeordnet sind und falsch-positive Resultate verhindert werden, wurde eine Vielzahl von Maßnahmen getroffen, um ein höchstmögliches Maß an Sicherheit zu gewährleisten. Die Zuordnung eines Verteilungsbildes zu einem Pflanzenschutzmittel oder dessen Metabolit erfolgte nur dann, wenn die folgenden Kriterien erfüllt waren:

1. Die erhaltene Ionenverteilung war klar und aussagekräftig. Das bedeutet, es waren keine Störsignale, Mess- oder Verarbeitungsartefakte sowie Signale, die dem Analyten zuordenbar sind und deutlich außerhalb der Probe liegen, erkennbar.
2. Die Verteilung endogener Verbindungen wie Zucker und Aminosäuren in der gleichen Messung war plausibel und ebenfalls frei von Mess- oder Verarbeitungsfehlern.
3. In einer Negativkontrolle, einer identischen Gewebeprobe einer Pflanze ohne Kontakt zu den Analyten, die unter denselben Bedingungen kultiviert wurde, konnten keine den Massen der Analyten entsprechenden Signale detektiert werden. Gleichzeitig wiesen die endogenen Verbindungen eine vergleichbare Intensität und Verteilung auf, wie in den bildgebenden Messungen nach Aufnahme des Pflanzenschutzmittels in die Nutzpflanze.
4. Für jedes erfasste und einer Verbindung zugeordnete Signal wurde die Signalintensität gegen die Abweichung von der exakten Masse der Verbindung aufgetragen. Nur wenn sich hierbei eine gaußförmige Verteilung um die exakte Masse ergab, wurde die chemische Verbindung als korrekt zugeordnet betrachtet.
5. Abhängig von der Verbindung und der Signalintensität konnten übereinstimmende Verteilungsmuster für unterschiedliche Addukte (vorwiegend $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$ und $[M+K]^+$) sowie für Isotopensignale nachgewiesen werden.

6. Die durch MALDI-MSI detektierten Analyten wurden bereits mittels HPLC-HRMSⁿ als orthogonaler Analysemethode entweder in derselben Pflanze, aus der die Schnittprobe stammt, oder in einer weiteren Replikatpflanze desselben Experiments bestätigt (Abbildung 17).
7. Als letzte Sicherheitsmaßnahme erfolgte, sofern die Signalintensität ausreichend war, eine Bestätigung der Verbindungen über das Fragmentierungsmuster direkt im Gewebe mittels MALDI-MS². Dies war jedoch aufgrund der geringen Konzentrationen der Analyten in den Nutzpflanzen nur selten möglich.

Dieses Vorgehen ist in Teilen graphisch in Abbildung 19 dargestellt. MET zeigt eine sinnvolle, vergleichsweise punktsymmetrische Verteilung in der Maiswurzel und keinen Anstieg oder Abfall der Messintensitäten im Verlauf der Messung, wie es aus einer fehlerhaften Fokussierung des Lasers entstehen kann (Kriterium 1).^[213] Gleiches gilt für die endogenen Trisaccharide und Glutamin (Kriterium 2). Zudem sind in einer negativen Kontrollprobe, welche ohne Kontakt zu Pflanzenschutzmitteln zusammen mit den exponierten Pflanzen kultiviert wurde, keine Signale zu erkennen, die dem m/z des [MET+K]⁺ entsprechen würden (Kriterium 3). In Abbildung 19, B sind die Massenabweichung der Signale, welche dem m/z des [MET+K]⁺ entsprechen aufgezeigt, wobei eine näherungsweise gaußförmige Verteilung der detektierten Signale bei Messung der MET-exponierten Pflanze zu erkennen ist (Kriterium 4). Zusammen mit den zusätzlichen erläuterten Sicherheitsfaktoren kann mit einer sehr hohen Sicherheit MET als in der Maiswurzel detektiert und visualisiert deklariert werden. Eine detaillierte Diskussion der Verteilung von MET in der Maiswurzel findet in Kapitel 4.4 statt.

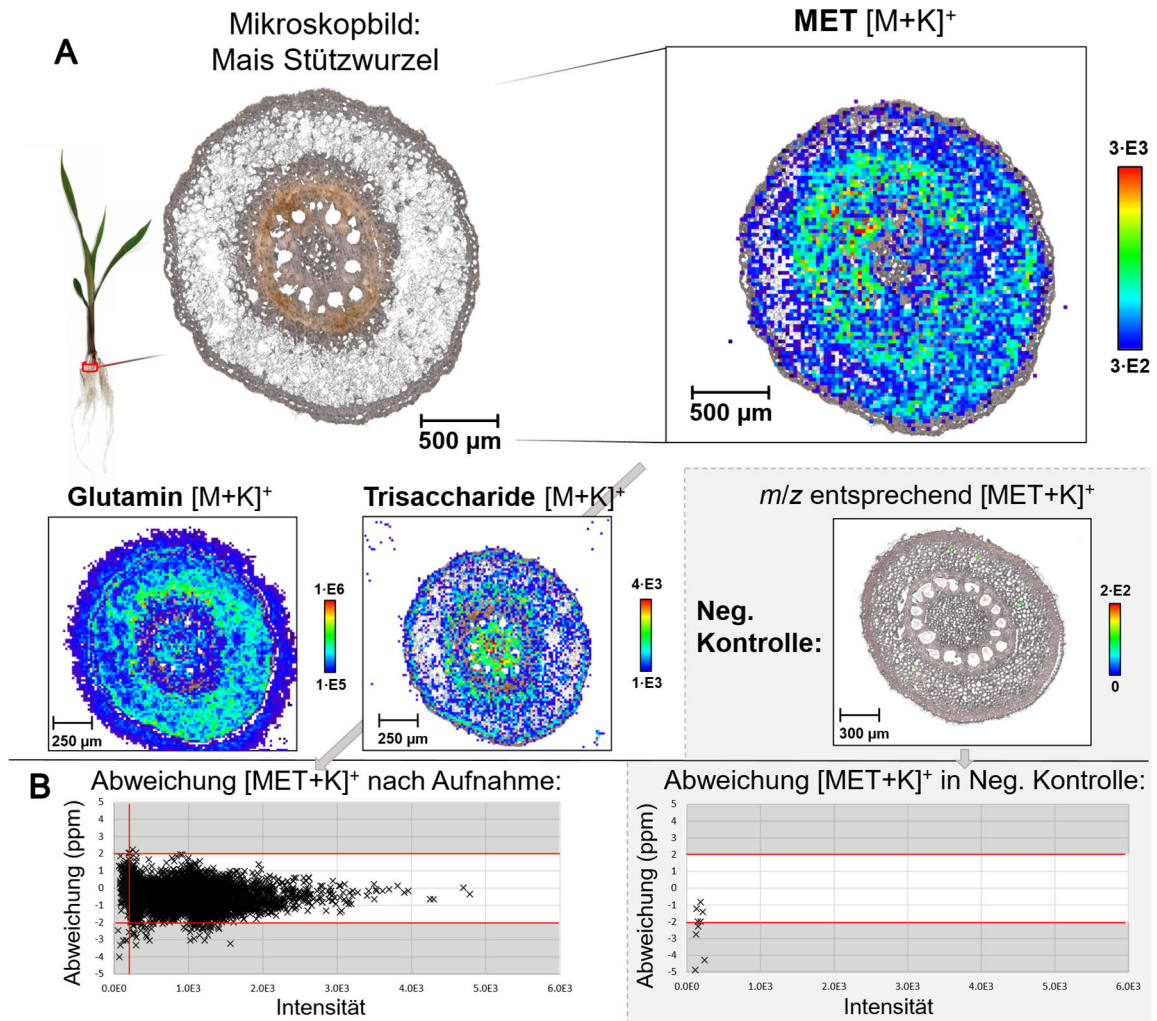


Abbildung 19: Detektion und Lokalisierung von Metalaxyl (MET) in den Stützwurzeln von Mais mittels MALDI-MSI. A: Querschnitt einer Stützwurzel einer Maispflanze nach Aufnahme von MET aus einer hydroponischen Lösung. Signale mit einer Intensität unterhalb des an der Farbskala angegebenen Werts werden nicht dargestellt, während alle Signale mit einer Intensität oberhalb des auf der Farbskala angezeigten Werts mit maximaler Intensität (rot) visualisiert werden. Zum Vergleich werden neben dem Lokalisierungsbild von MET ([M+K]⁺; *m/z* 318,11022) auch Bilder von Glutamin ([M+K]⁺; *m/z* 185,03230), Trisacchariden ([M+K]⁺; *m/z* 543,13219) sowie Signale, die der Masse von [MET+K]⁺ in einer Negativkontrollpflanze entsprechen (*m/z* 318,11022), dargestellt. Die laterale Auflösung der Messungen betrug 25 µm. B: Graphische Darstellung der Massenabweichung zentriert auf *m/z* 318,11022 ≡ [MET+K]⁺ zeigt die Signalverteilung in der pflanzenschutzmittel-exponierten Pflanze im Vergleich zur Verteilung in der Negativkontrollpflanze (Neg. Kontrolle). Rote Linien und ausgegraute Bereiche markieren die Signale, die aufgrund der gewählten Massengenauigkeit von 2 ppm und des gewählten Intensitätsschwellenwertes in den Verteilungsbildern ausgeblendet sind. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

4.1.4 Kapitelzusammenfassung

Zur Durchführung der Pflanzenschutzmittel-Aufnahmestudien wurde ein simples, robustes und reproduzierbares hydroponisches Testsystem entwickelt. Durch eine Modifizierung der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung konnte eine optimale Eisenversorgung der Nutzpflanzen sichergestellt werden, welche in einer deutlich verbesserten Pflanzengesundheit resultierte als bei Verwendung der kommerziell erwerblichen HOAGLAND Nr. 2 Nährlösung. In Kombination mit einer geringen Menge an organischem Lösungsmittel in der Nährlösung sowie kontrollierten Umweltbedingungen konnte eine geringe Abweichung der Replikate und so eine hohe Vergleichbarkeit der Studienergebnisse gewährleistet werden.

Zur quantitativen Analyse der Pflanzenschutzmittel wurde eine Multikomponentenmethode mittels HPLC-HRMS entwickelt. Dazu wurden sechs Wirkstoffe unterschiedlicher chemischer Klassen mit diversen physikochemischen Eigenschaften als Modellverbindungen ausgewählt. In der finalen Methode erfolgte die Probenvorbereitung durch Lyophilisation, Homogenisierung und anschließende Ultraschallextraktion, wobei EA:ACN (2:1, v/v) als optimales Lösungsmittelgemisch identifiziert wurde. Die Ionisation mittels ESI erwies sich als besonders geeignet, insbesondere für polare Wirkstoffe und deren Metaboliten. Die Methode zeigte hohe Wiederfindungsraten und geringe Matrixeffekte, was eine zuverlässige Detektion auch bei niedrigen Konzentrationen ermöglichte.

Für die Lokalisierung der Wirkstoffe und Metaboliten in Querschnitten der einzelnen Organe der Nutzpflanzen wurde eine bildgebende Methode mittels MALDI-MSI entwickelt und optimiert. Die Verwendung eines AP-MALDI-Systems in Kombination mit einem Orbitrap-HRMS ermöglichte eine laterale Auflösung von bis zu 25 µm unter Einsatz des Full-Pixel-Modus, durch welchen die Detektionsintensitäten signifikant gesteigert werden konnte. DHB wurde als bevorzugte Matrix identifiziert, da sie eine hohe Ionisationseffizienz und Reproduzierbarkeit bei minimaler Fragmentierung zeigte. Zur Bewertung der Validität der bildgebenden Ergebnisse wurden strenge Bewertungskriterien konzipiert, darunter die Übereinstimmung von exakter Masse, Retentionszeit, Fragmentierungsmuster sowie der Abgleich mit Negativkontrollen und isopenmarkierten Standards. Mithilfe dieser Optimierungen ermöglicht die Kombination aus HPLC-HRMS und MALDI-MSI eine quantitative und räumlich aufgelöste Analyse der Aufnahme, Translokation und Metabolisierung von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen.

4.2 Einfluss von Konzentration, Expositionsdauer und physikochemischen Eigenschaften auf die Wurzel Aufnahme und Translokation von Pflanzenschutzmitteln in hydroponisch kultiviertem Mais, Weizen und Soja

Unter Verwendung des im vorherigen Kapitel optimierten hydroponischen Systems sowie der entwickelten analytischen Methoden wurde die Aufnahme und Translokation von vier Pflanzenschutzmitteln in Mais, Weizen und Soja untersucht. Für die hydroponischen Aufnahmeuntersuchungen wurden vier Wirkstoffe mit signifikanten strukturellen Unterschieden ausgewählt, um die daraus resultierenden Differenzen im Aufnahmeverhalten erfassen zu können. Die Einbeziehung mehrerer Nutzpflanzenarten ermöglichte darüber hinaus eine Abschätzung des Einflusses der Pflanzen auf die Aufnahme- und Translokationsprozesse. Zusätzlich wurden die Wirkstoffe den Nutzpflanzen in vier verschiedenen Konzentrationen und im Falle der höchsten Expositionskonzentration über zwei unterschiedliche Expositionszeiträume zugesetzt, um den Einfluss dieser Faktoren auf die Wirkstoffakkumulation zu evaluieren.

Teile dieses Kapitels wurden bereits in der Masterarbeit von JAN PHILIPP BÖHMER beschrieben und publiziert: **Skoczowsky, D.**; Böhmer, J. P.; Kubicki, M.; Zühlke, S., *Influence of concentration, exposure time and physicochemical properties on the root uptake and translocation of plant protection products in hydroponically grown maize, wheat and soybean. Environ. Chall.* **2026**, *23*, 101459.

4.2.1 Einfluss der Pflanzenschutzmittelmischung auf die Vitalität von Mais-, Weizen- und Sojapflanzen

Zur Beurteilung möglicher Pflanzenschäden, die während der hydroponischen Aufnahmestudien durch die Exposition gegenüber den Pflanzenschutzmitteln bei unterschiedlichen Konzentrationen auftreten können, wurden zusätzlich Kontrollpflanzen ohne Kontakt zu den Wirkstoffen hydroponisch kultiviert. In den Mais-, Weizen und Sojapflanzen der Negativkontrollgruppen, welche nicht in Kontakt mit den Pflanzenschutzmitteln standen, wurden keine sichtbaren morphologischen Schäden oder Anomalien beobachtet, was auf eine gute Gesundheit der Pflanzen im hydroponischen System schließen lässt.^[90] Diese Beobachtung war unabhängig vom DMSO-Gehalt der Nährlösung, da entsprechend den Wirkstoffgruppen die DMSO-Konzentration in den Kontrollen an diese angepasst wurden. Nutzpflanzen, welche den Wirkstoffen zwei Tage lang bei Konzentrationen von 0,01, 0,1 und 1,0 μM ausgesetzt waren, zeigten ebenfalls keine Anzeichen von Wachstumsschäden oder Stress.^[90] Erst ab einer Wirkstoffkonzentration von 10 μM waren morphologische Schäden

ersichtlich. Die beobachtete optischen Veränderungen der Pflanzen, die der höheren Wirkstoffkonzentration von 10 μM ausgesetzt waren, sind in Abbildung 20 dargestellt.

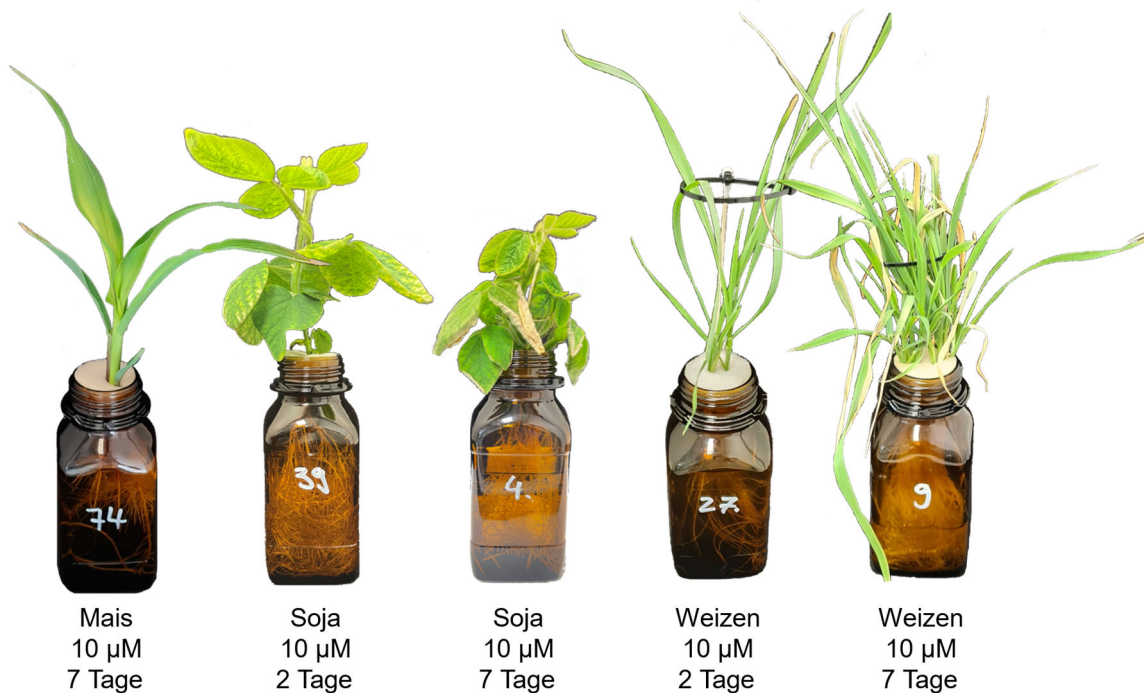


Abbildung 20: Optische Veränderungen der Nutzpflanzen nach zwei oder sieben Tagen der Aufnahme einer 10 μM Pflanzenschutzmittelmischung bestehend aus IMI, MET, TEB und FLU.

Bei der höchsten Expositionskonzentration von 10 μM zeigten sich nach zwei Tagen leichte Chlorosen an den Blattspitzen der Weizenpflanzen, während die Blattscheiden unbeeinträchtigt blieben, was auf frühe Stresssymptome hindeutet.^[90] Unter identischen Bedingungen zeigten Sojapflanzen leichte interveinale Chlorosen, während Maispflanzen physiologisch unbeeinträchtigt von der Pflanzenschutzmittelaufnahme blieben.^[90] Nach sieben Tagen der Wirkstoffaufnahme aus einer 10 μM Nährstofflösung zeigten die Maispflanzen leichte Chlorosen an den Blattspitzen älterer Blätter, wirkten ansonsten jedoch vital.^[90] Im Gegensatz dazu wiesen die Weizenpflanzen bei gleichen Bedingungen eine ausgeprägtere Chlorose und Nekrose auf, welche bis in die Blattscheiden erkennbar war.^[90] Sojapflanzen zeigten ebenfalls vor allem an den Blatträndern sowie der Blattunterseite Chlorosen, wobei zusätzlich eine Blattverkrümmung, insbesondere bei älteren Blättern, vorlag.^[90] Diese Blattverkrümmung, genannt Hyponastie, ist ein Indiz, welches auf systemischen Stress der Sojapflanze aufgrund der Pflanzenschutzmittelexposition hindeutet.^[90,279] Aufgrund der Applikation der Pflanzenschutzmittel als Mischung lässt sich nicht eindeutig nachvollziehen, welcher Wirkstoff welchen spezifischen Stresseffekt bei welcher Pflanzenart verursacht hat. Es ist jedoch bekannt, dass bestimmte Pflanzenarten empfindlich auf die Aufnahme einzelner Pflanzenschutzmittel reagieren und dadurch physiologische Schäden erleiden können.^[138]

So wurde IMI bereits mit einer Reduktion der Photosyntheseaktivität sowie Wachstumsbeeinträchtigungen bei verschiedenen Pflanzenarten in Verbindung gebracht.^[90,280,281] Eine Behandlung der Samen von Sojapflanzen mit FLU resultierte in einem reduzierten Höhenwachstum, besonders in frühen Wachstumsstadien.^[90,282] Eine Aufnahme von TEB (10 µM) aus einem hydroponischen System über 14 Tage verursachte deutliche Schäden bei Cannabispflanzen.^[90,138] Als Symptome waren dabei insbesondere eine starke Blattwelke sowie eine deutlich verringerte Biomassezunahme zu erkennen.^[138] Im Gegensatz dazu zeigten die Cannabispflanzen bei einer identischen Exposition gegenüber MET keine verstärkten Stresssymptome im Vergleich zur Kontrollgruppe.^[90,138] Durch die kombinierte Anwendung der vier Pflanzenschutzmittel könnten synergistische oder antagonistische Wechselwirkungen auftreten, die die Pflanzengesundheit in einer Weise beeinflussen, welche sich nicht eindeutig aus den Einzelwirkungen der Substanzen ableiten lässt.^[90,283]

Veränderungen in der Transpiration und dem Wachstum gelten als sensitive und quantifizierbare Indikatoren für Stressreaktionen von verschiedenen Pflanzen.^[90,235,237] Daher wurde die Wassernutzungseffizienz (WUE) als das Verhältnis aus erzeugter Trockenmasse und transpiriertem Wasservolumen während der Aufnahmestudie berechnet, um den Einfluss der Pflanzenschutzmittel auf die Pflanzengesundheit zu beurteilen (Abbildung 81 – Abbildung 83).^[90,237] Für Maispflanzen wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede in der WUE zwischen Kontrollgruppe und allen den Pflanzenschutzmitteln ausgesetzten experimentellen Gruppen gefunden.^[90] Bei Weizen wurde eine signifikante Reduktion der WUE nur in der 10 µM-Gruppe mit siebentägiger Exposition festgestellt, was suggeriert, dass substanzieller Pflanzenstress nur bei der höchsten Konzentration und längeren Expositionsdauer auftritt.^[90] Im Kontrast dazu zeigte Soja bereits bei 0,1 µM sowie in den 10 µM-Gruppen deutliche Reduktionen der WUE im Vergleich zur Kontrolle.^[90] Dies deutet auf eine höhere Empfindlichkeit von Soja gegenüber den Pflanzenschutzmitteln im Vergleich zu Mais und Weizen hin.^[90] Diese Beobachtung steht im Einklang mit Literaturergebnissen, welche eine geringere Toleranz von Soja gegenüber abiotischem Stress im Vergleich zu Mais dokumentieren.^[284]

4.2.2 Aufnahme von IMI, MET, FLU und TEB aus einem hydroponischen System über die Wurzeln in Mais, Weizen und Soja

Nach der zweitägigen Wurzel Aufnahme aus einer 1 μM hydroponischen Pflanzenschutzmittellösung konnten alle vier Wirkstoffe sowohl in den Wurzeln als auch in den Sprossen von Mais, Weizen und Soja nachgewiesen werden (Abbildung 21).^[90]

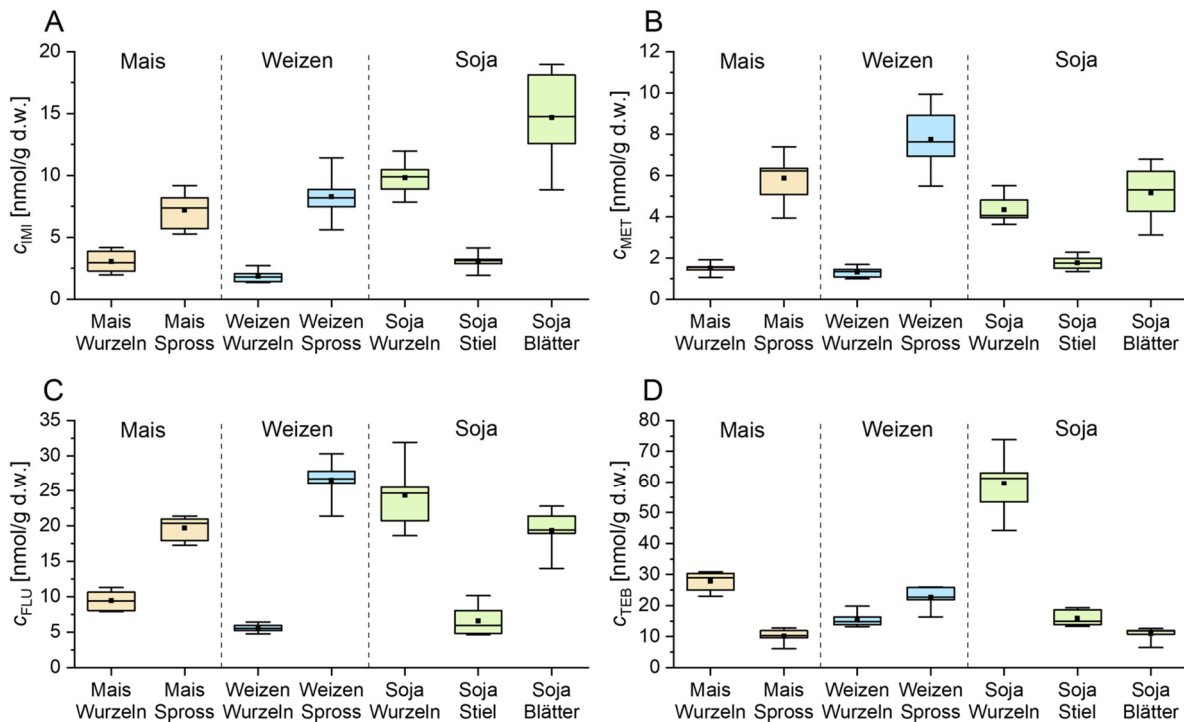


Abbildung 21: Molare Konzentration von IMI (A), MET (B), FLU (C) und TEB (D) in Mais (beige), Weizen (blau) und Sojabohne (grün) nach zweitägiger hydroponischer Exposition gegenüber einer Pflanzenschutzmittelmischung, welche alle Wirkstoffe in einer Konzentration von jeweils 1 μM beinhaltete ($n \geq 6$). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Da im Kontrast zu den anderen Nutzpflanzen die jungen Sojapflanzen einen deutlich ausgebildeten Stiel entwickelten, wurde nur bei ihnen zusätzlich der Spross in Blätter und Stiel unterteilt, um detailliertere Informationen zur Verteilung der Wirkstoffe zu erhalten.^[90] Es zeigten sich pflanzenspezifische Trends in der Aufnahme und Translokation der vier Wirkstoffe.^[90] Um diese besser vergleichen zu können, wurde der Wurzelkonzentrationsfaktor (RCF), Translokationsfaktor (TF) und Biokonzentrationsfaktor (BCF) berechnet (Tabelle 19).^[90]

Imidacloprid (IMI): In Maiswurzeln lagen die gemessenen Konzentrationen von IMI zwischen 2,0 und 4,2 nmol/g Trockengewicht (d.w.), was einem durchschnittlichen RCF von 3,0 entspricht (Abbildung 21, A).^[90] Die gemessenen Konzentrationen im Maisspross waren durchgängig höher als in den Wurzeln und lagen zwischen 5,3 und 9,2 nmol/g d.w., woraus sich unter Einbezug der Konzentrationen in Wurzeln ein TF von 2,7 errechnet.^[90] Diese Werte zeigen eine moderate Akkumulation von IMI in den Wurzeln sowie ein hohes Maß an

Translokation in den Spross, was mit der bekannten hohen Systemizität von Neonicotinoiden, zu denen IMI gehört, übereinstimmt.^[90,285,286] In Weizenwurzeln war die Konzentration des Wirkstoffes deutlich geringer als in Maiswurzeln, wie ein RCF von 1,9 zeigt (Abbildung 21, A).^[90] Trotz dieser geringen Wurzelakkumulation wurden signifikant höhere Konzentrationen im Spross von 5,6 – 11,4 nmol/g d.w. beobachtet, was auf ein deutlich höheres Maß an akropetalem Transport in Weizen als in Mais schließen lässt.^[90] Diese Beobachtung stimmt mit Ergebnissen zur Aufnahme von Hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazin überein.^[90,287] Diese Verbindung, welche hinsichtlich Lipophilie und Molekulargewicht mit IMI vergleichbar ist, wurde in Weizen in höheren Konzentrationen im Transpirationsstrom detektiert als in Mais.^[90,287] Die höchste Bioakkumulation von IMI der drei untersuchten Pflanzenspezies zeigte Soja.^[90] Die Konzentration in Wurzeln lag dabei zwischen 7,9 und 12,0 nmol/g d.w. (RCF = 9,8) und somit signifikant über der Wurzelakkumulation in Mais und Weizen.^[90] Die elektronegative Nitrogruppe, welche als Teil des Pharmakophors essenziell für die insektizide Wirkung des Moleküls ist, könnte die Aufnahme und Akkumulation in Soja begünstigen.^[90,108,288] Studien zeigen, dass nitrosubstituierte Verbindungen in Leguminosen wie Soja verstärkt akkumulieren.^[108] Es wird vermutet, dass dies aufgrund ihrer potenziellen Verwendung als Stickstoffquelle passiert, weswegen ein zusätzlicher, aktiver Transport durch Aminosäuretransporter stattfinden könnte.^[108] Im Gegensatz dazu konnte kein Hinweis auf aktiven Transport für nitrosubstituierte Verbindungen in Mais und Weizen gefunden werden, weswegen die Aufnahme von IMI in Weizen in früheren Studien als passiver Prozess beschrieben wurde.^[80,90,108] In den Blättern der Sojapflanze wurde IMI in den höchsten Konzentrationen von 8,8 – 19,0 nmol/g d.w. gefunden, während die Konzentrationen im Stiel mit durchschnittlich 3,1 nmol/g d.w. deutlich geringer waren, woraus ein TF von 1,2 resultierte.^[90] Die berechneten Werte für den RCF und TF von IMI nach zweitägiger Aufnahme in Mais, Weizen und Soja sind vergleichbar mit denen, die für andere Neonicotinoide in Komatsuna nach eintägiger Exposition berichtet wurden und zwischen RCF = 1,1 – 7,9 und TF = 0,3 – 3,6 lagen.^[90,107]

Metalaxyl (MET): MET zeigte ein zu IMI vergleichbares Aufnahme- und Translokationsverhalten in Mais und Weizen, mit ähnlichen Konzentrationen in Wurzeln und Spross (Abbildung 21, B).^[90] Der hohe TF-Wert von MET zwischen 2,1 und 7,0 zeigt die starke akropetale Mobilität des Wirkstoffs, welche bereits in verschiedensten Studien beschrieben wurde.^[90,115,139] In Soja war die Bioakkumulation von MET signifikant geringer als von IMI, was möglicherweise auf das Nichtvorhandensein einer Nitro-Gruppe im Wirkstoff und somit vergleichsweise weniger zusätzlichen aktiven Transport zurückzuführen ist.^[90] Dieses Ergebnis deckt sich mit dem Resultat einer Studie zur Aufnahme von MET in

Tomatenpflanzen, wo ein ausschließlich passiver Transport über den Transpirationsstrom angenommen wurde.^[90,115]

Fluopyram (FLU): FLU zeigte eine ähnliche Verteilung wie MET, jedoch bei deutlich höheren Konzentrationen (Abbildung 21, C).^[90] Die ausgeprägte Wurzelakkumulation (RCF = 5,6 – 24,3) in Kombination mit einem hohen Maß an Translokation (TF = 0,7 – 4.8) resultierte in sehr hohen Konzentrationen in den oberirdischen Pflanzenteilen (14,0 – 30,3 nmol/g d.w.).^[90] Dies steht im Gegensatz zu früheren Ergebnissen zur Wurzelaufnahme und Verteilung von FLU in Frühlingszwiebel-, Paprika- und Tomatenpflanzen, bei denen eine deutlich geringere Wirkstoffakkumulation festgestellt wurde.^[90,289,290] In Paprika wurde ein TF-Wert von 0,5 berechnet, vergleichbar zum hier beobachteten akropetalen Transport in Soja, während in Tomate der TF unter 0,1 lag.^[90,289] Die hohen Konzentrationen in den oberirdischen Pflanzenteilen könnten teilweise auf die hohe Stabilität von FLU in Pflanzen zurückzuführen sein, wodurch mehr Wirkstoff zur Translokation in den Wurzeln vorhanden ist und auch nach dem Transport stärker im Spross akkumuliert.^[90,145,290] Die Akkumulation in oberirdischen Pflanzenteilen könnte noch ausgeprägter in Blattgemüse auftreten^[291] und obwohl FLU als umweltverträglich gilt, unterstreichen diese Ergebnisse die Notwendigkeit einer kontinuierlichen Überwachung der Rückstandsmengen.^[90,145]

Tebuconazol (TEB): Im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Pflanzenschutzmitteln zeigte TEB ein deutlich abweichendes Verhalten mit einer stark erhöhten Akkumulation in den Wurzeln im Vergleich zu den oberirdischen Pflanzenteilen (RCF = 15,5 – 59,5, Abbildung 21, D).^[90] Diese Beobachtung stimmte mit vorherigen Literaturergebnissen bezüglich der Aufnahme von TEB in Tomate und Paprika überein, bei denen der TF von TEB signifikant unter dem von FLU lag.^[90,289] Die starke Anreicherung in Wurzeln könnte auf die hohe Lipophilie von TEB zurückzuführen sein, welche eine Sorption an Wurzellipide und somit einen reduzierten akropetalen Transport begünstigt.^[89,90] Während alle anderen untersuchten Pflanzenschutzmittel im Rahmen dieser Aufnahmestudie in ungeladener Form auftraten, könnte TEBs pKa-Wert von 5,0 dazu führen, dass das Fungizid während des Transports im saureren apoplastischen Milieu protoniert vorlag.^[90,292] Da geladene Moleküle eine stark reduzierte Membranpermeabilität aufweisen, könnte dies ein Grund für die verstärkte Akkumulation von TEB im Wurzelgewebe darstellen.^[59,90,101]

Im Einklang mit früheren Literaturergebnissen zur Aufnahme organischer Verbindungen in Nutzpflanzen zeigte keine der drei untersuchten Pflanzenspezies durchgehend die höchste Aufnahme und Anreicherung für sämtliche untersuchte Pflanzenschutzmittel.^[90,293] Soja zeigte lediglich im Falle von IMI und TEB eine leicht erhöhte Bioakkumulation im Vergleich zu Mais und Weizen.^[90] Da die Aufnahme und Verteilung von Pflanzenschutzmitteln maßgeblich durch

deren physikochemische Eigenschaften bestimmt wird, ist das Verständnis dieser Zusammenhänge entscheidend, um ihr Umweltverhalten präzise vorherzusagen und fundierte Risikobewertungen durchführen zu können.^[90,95,294] Dabei hat sich besonders die Lipophilie, welche üblicherweise als Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient ($\log K_{OW}$) ausgedrückt wird, als wichtigste Substanzeigenschaft herausgestellt.^[71,90,95,97] Studien haben gezeigt, dass die Lipophilie achtmal stärker mit dem akropetalen Transport korreliert als die Molekülgröße, welche als zweitwichtigster Parameter gilt.^[90,97] Daher wurde im Folgenden die Korrelation zwischen Lipophilie und Wurzelakkumulation ($\log RCF$) sowie Lipophilie und Translokation ($\log TF$) näher untersucht (Abbildung 22).

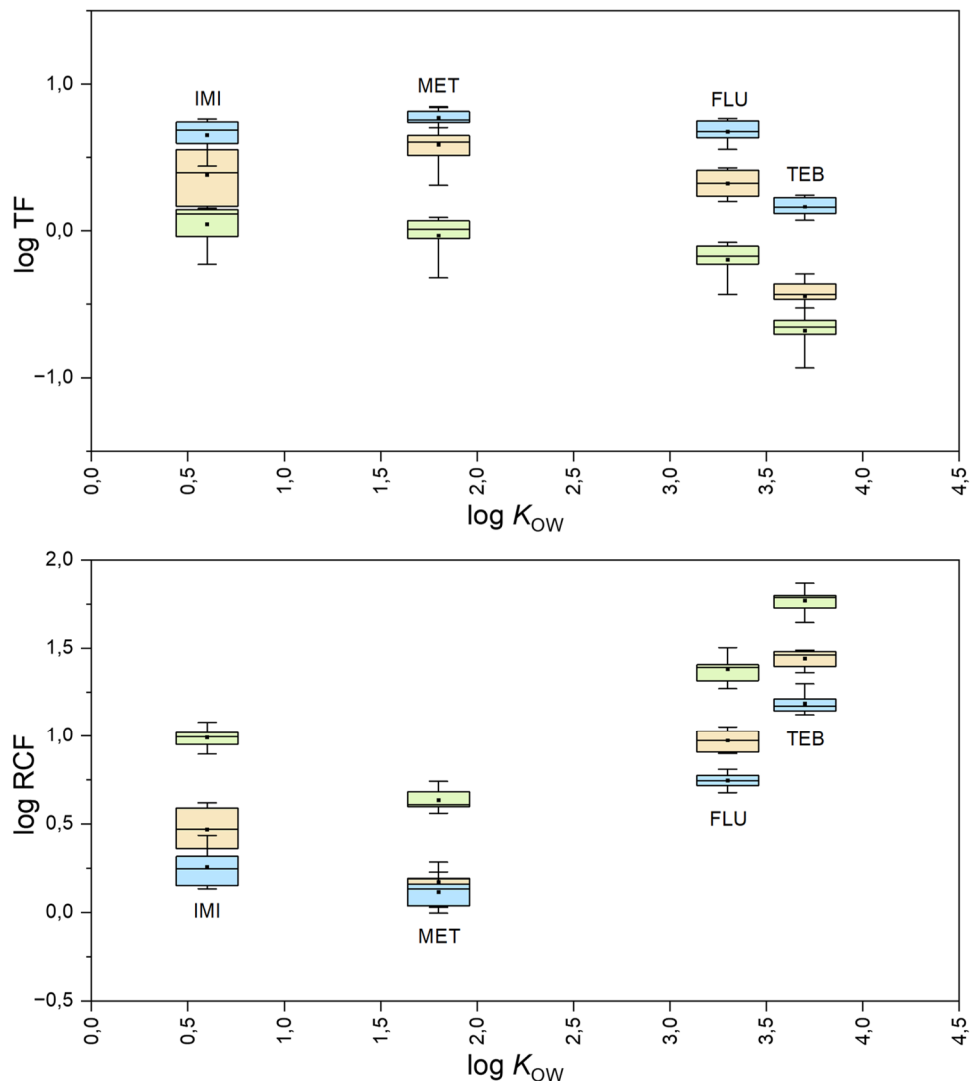


Abbildung 22: Korrelation zwischen der Lipophilie ($\log K_{OW}$) von IMI, MET, FLU und TEB und ihrer Anreicherung in Mais (beige), Weizen (blau) und Soja (grün) nach zwei Tagen der Aufnahme aus einem hydroponischen System, welches jeweils $1 \mu\text{M}$ jedes Pflanzenschutzmittels enthielt. Die Anreicherung wurde mittels Berechnung des Translokationsfaktors (TF) und Wurzelkonzentrationsfaktors (RCF) bewertet. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Trotz der insgesamt höheren log RCF-Werte von IMI im Vergleich zu MET in allen untersuchten Nutzpflanzenarten zeigt sich ein genereller Trend, welcher mit früheren Forschungsergebnissen übereinstimmt, wonach eine stärkere Wurzelanreicherung bei höherer Lipophilie der Wirkstoffe stattfindet (Abbildung 22, A).^[59,71,90] Der Zusammenhang von log TF und Lipophilie wird häufig als glockenförmig beschrieben, wobei das höchste Maß an akropetalen Transport für Substanzen mit mittleren log K_{OW} -Werten um 1,78 beobachtet wird.^[57,89,90,95] Eine ähnliche Verteilung zeigte sich auch bei den vier hier untersuchten Pflanzenschutzmitteln (Abbildung 22, B). Im Mittel wies dabei MET mit einem log K_{OW} von 1,75, nahe dem von BRIGGS *et al.* postulierten Idealwert, den höchsten log TF auf.^[57] Nur in Sojapflanzen war der TF von IMI höher als der von MET, was möglicherweise auf zusätzliche aktive Transportprozesse zurückzuführen ist, die eine verstärkte Anreicherung von IMI im Sojaspross begünstigen.^[88,90,108]

Der Vergleich von log RCF (Abbildung 22, A) und log TF (Abbildung 22, B) offenbart eine inverse Beziehung. Dabei zeigen die Pflanzenarten mit den höchsten RCF-Werten durchweg die niedrigsten TF-Werte und umgekehrt.^[90] Dieses Muster ist nicht nur zwischen Pflanzenarten erkennbar, sondern zeigt sich auch zwischen den untersuchten Pflanzenschutzmitteln.^[90] Substanzen, welche verstärkt in den Wurzeln akkumulieren, weisen eine geringere Tendenz zu akropetalem Transport auf.^[90] Der Umstand, dass die physikochemischen Eigenschaften der Pflanzenschutzmittel einen gegensätzlichen Einfluss auf RCF und TF haben, wurde bereits in mehreren Studien beschrieben und erklärt die hier beobachtete, inverse Beziehung.^[71,90,93,295] Es erscheint plausibel, dass ein ähnlicher Zusammenhang auch bei der Untersuchung verschiedener Pflanzenarten zu beobachten ist, da physiologische Unterschiede zwischen Pflanzenspezies die Aufnahme und Verteilung von Pflanzenschutzmitteln maßgeblich beeinflussen können.^[90,93,108]

4.2.3 Aufnahme und Translokation von IMI, MET, FLU und TEB bei vier unterschiedlichen Expositionskonzentrationen

Bei den meisten nichtionischen Pflanzenschutzmitteln erfolgt der Transport in Pflanzen hauptsächlich mittels passiver Diffusion durch Zellmembranen.^[57,90,125,296] Die Konzentration dieser Substanzen im Pflanzengewebe hängt daher maßgeblich vom Konzentrationsgradient entlang der Wurzelmembranen und somit von der Konzentration in der Nährlösung ab.^[90,296] Wäre die passive Pflanzenschutzmittelaufnahme durch Diffusion der einzige Aufnahmemechanismus, ließe sich ein proportionaler Anstieg der Wirkstoffkonzentration im Gewebe mit zunehmender Konzentration in der Nährlösung erwarten.^[90] Jedoch zeigen mehrere Studien, dass dieser Zusammenhang nicht strikt linear ist und der RCF bei höheren

Expositionskonzentrationen häufig nicht im gleichen Maße wie die Umgebungskonzentration der Substanzen zunimmt.^[90,255,297,298] Um diesen Zusammenhang näher zu betrachten, wurde die Aufnahme der Pflanzenschutzmittelmischung bei verschiedenen Expositionskonzentrationen von 0,01 µM, 0,1 µM, 1,0 µM und 10 µM untersucht. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden anstelle der Konzentrationen RCF und TF als konzentrationsunabhängige Metriken verglichen (Abbildung 23 und Abbildung 24).

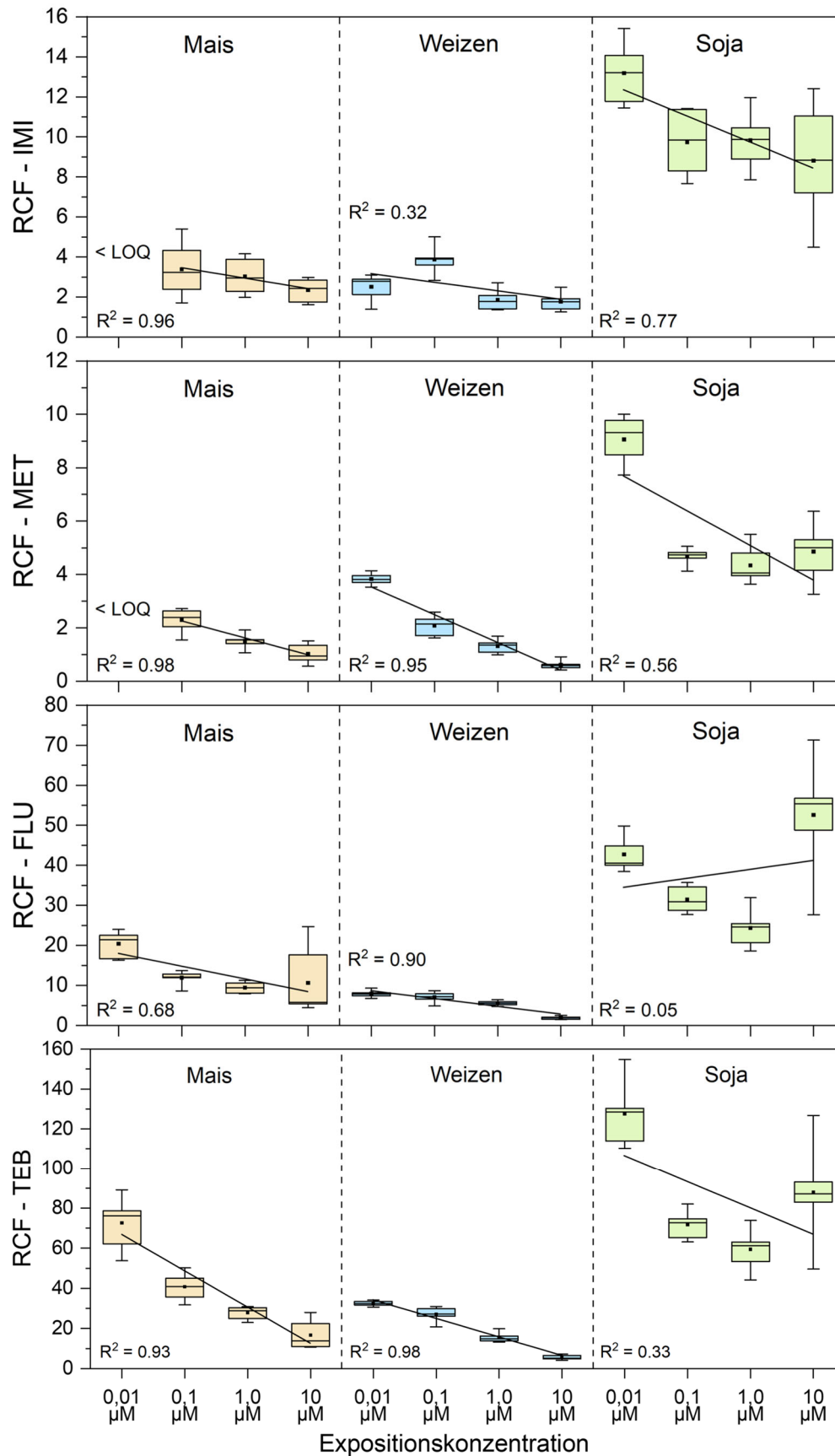


Abbildung 23: Korrelation zwischen Expositionskonzentration und Wurzelkonzentrationsfaktor (RCF) von IMI, MET, FLU und TEB in Mais (beige), Weizen (blau) und Soja (grün) nach zweitägiger Aufnahme. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Es zeigte sich ein Rückgang des RCF mit steigender Konzentration für alle untersuchten Wirkstoffe und Pflanzenarten mit Ausnahme von FLU in Soja, wo der höchste RCF bei einer Konzentration von 10 μM beobachtet wurde (Abbildung 23).^[90] Diese Abweichung könnte eine Abnormalität darstellen, da gleichzeitig eine deutlich reduzierte Translokation in den Spross und somit ein stark verringerter TF beobachtet wurde (Abbildung 24).^[90] Der geringe TF legt nahe, dass die erhöhte Anreicherung in den Wurzeln eher auf eine geringe Verlagerung in die oberirdischen Pflanzenteile zurückzuführen ist als auf eine gesteigerte Aufnahme aus der Nährlösung.^[90] Die vergleichbaren BCF bei 1,0 und 10 μM stützen diese Interpretation (Abbildung 84).^[90]

Der Trend des abnehmenden RCF bei steigender Wirkstoffkonzentration könnte darauf hinweisen, dass sich das Verhältnis zwischen aktiven und passiven Transportprozessen mit steigender Konzentration verschiebt, da aktive Prozesse zunehmend an ihre Kapazitätsgrenze gelangen.^[90,298] Dies wird dadurch unterstützt, dass bei vielen Pflanzenschutzmitteln und Pflanzenarten der stärkste Rückgang des RCF zwischen 0,01 μM und 0,1 μM beobachtet wurde, während weitere Konzentrationssteigerungen zu einem etwas moderateren Rückgang führten.^[90]

Die Anreicherung von Substanzen im Pflanzengewebe steht in engem Zusammenhang mit dem Lipid- und Proteingehalt der jeweiligen Nutzpflanze.^[79,80] Eine Studie zur Aufnahme von IMI ($\log K_{\text{OW}} = 0,57$) und Propiconazol ($\log K_{\text{OW}} = 3,72$) zeigte, dass der RCF des hydrophilen IMI positiv mit dem Proteingehalt der Wurzeln, jedoch negativ mit deren Lipidgehalt korreliert.^[80,90,231] Im Gegensatz dazu korrelierte die Anreicherung des lipophilen Propiconazol stark positiv mit dem Lipidgehalt, während der Proteingehalt der Wurzeln keinen signifikanten Einfluss zeigte.^[80,90] Vergleichende Studien zum Lipid- und Proteingehalt von Mais- und Soja ergaben, dass Sojawurzeln etwa halb so viel Lipide, aber doppelt so viel Proteine wie Maiswurzeln enthalten.^[79,90] Aus diesen Daten lässt sich schließen, dass die stärker polaren Wirkstoffe IMI und MET bevorzugt in Soja akkumulieren, während die lipophileren Pflanzenschutzmittel FLU und TEB verstärkt in Maiswurzeln anreichern sollten.^[90] Dieser Trend ist jedoch aus den Ergebnissen der hier durchgeführten Aufnahmestudie bei keiner der untersuchten Expositionskonzentrationen erkennbar.^[90] Selbst beim Vergleich der BCF, um die unterschiedlichen TF zu berücksichtigen, lässt sich kein eindeutiger Trend hinsichtlich der Wirkstoffanreicherung in beiden Pflanzenarten beobachten (Abbildung 84).^[90]

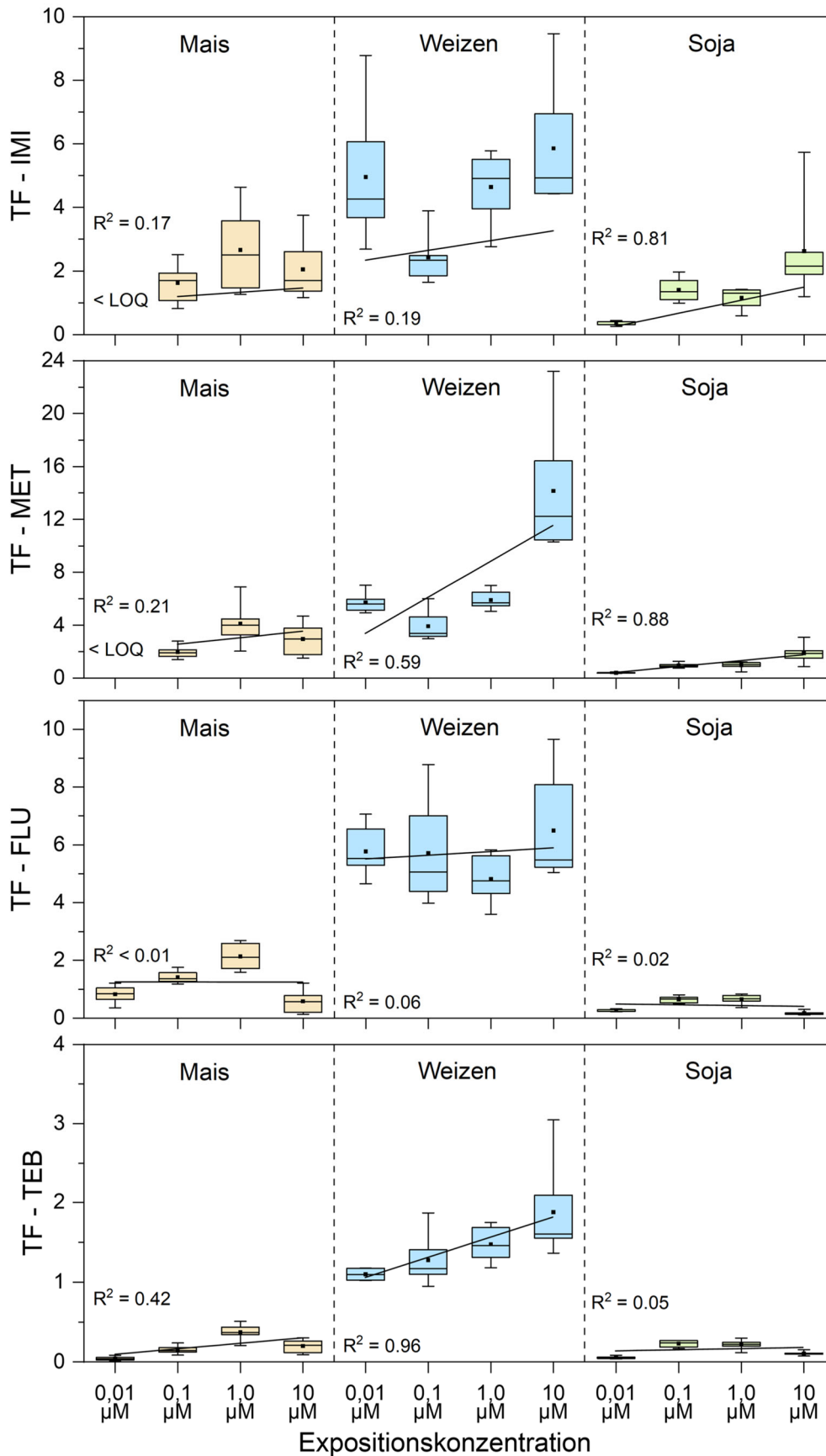


Abbildung 24: Korrelation zwischen Expositions-konzentration und Translokationsfaktor (TF) von IMI, MET, FLU und TEB in Mais (beige), Weizen (blau) und Soja (grün) nach zweitägiger Aufnahme. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Der TF zeigte insgesamt weniger ausgeprägte und statistisch signifikante Trends im Vergleich zum RCF (Abbildung 24).^[90] Generell war ein Anstieg der TF-Werte mit steigender Expositionskonzentration zu erkennen, jedoch konnte bei der höchsten untersuchten Konzentration von 10 µM ein Rückgang des TF für die lipophilen Wirkstoffe FLU und TEB in Mais und Soja beobachtet werden.^[90] Dieser Rückgang ging mit einer gleichzeitigen Zunahme der RCF-Werte einher (Abbildung 23).^[90] Der Verlauf des TF in Abhängigkeit der Expositionskonzentration zeigt sich somit invers zum Trend des RCF, was mit dem in Kapitel 4.2.2 beschriebenen Zusammenhang beider Parameter übereinstimmt.^[90]

WEN *et al.* zeigten eine starke Korrelation zwischen dem TF und dem Verhältnis des Proteingehaltes zwischen Spross und den Wurzeln.^[79,90] Auf Basis ihrer Ergebnisse für Mais und Soja, die unter den sieben untersuchten Pflanzenarten das ähnlichste Verhältnis von Spross- zu Wurzelprotein aufwiesen, wäre ein vergleichbarer TF dieser beiden Pflanzenarten zu erwarten.^[79,90] Diese Annahme deckt sich mit den hier erhaltenen Ergebnissen, nach welchen der TF nach Aufnahme in Mais und Soja über alle getesteten Konzentrationen hinweg vergleichbar war, während Weizen durchgehend eine signifikant höhere akropetale Verlagerung der Wirkstoffe zeigte.^[90] Die stärkeren Schwankungen der TF-Werte im Vergleich zu den RCF-Werten könnten darauf zurückzuführen sein, dass der metabolische Abbau der Wirkstoffe der primäre Grund für den Konzentrationsrückgang in den oberirdischen Pflanzenteilen ist.^[90,93,299] Da es sich dabei um einen aktiven Prozess handelt, ist eine höhere Variabilität zu erwarten als bei der passiven Diffusion und Translokation, welche primär für die Abnahme des RCF verantwortlich ist.^[128]

4.2.4 Vergleich der Aufnahme und Translokation von MET, FLU und TEB bei einer Aufnahmedauer von zwei und sieben Tagen

Um ein besseres Verständnis der zeitlichen Dynamik der Aufnahme in die Wurzel sowie der Translokation zu schaffen, wurden die RCF- und TF-Werte nach einer zweitägigen und einer siebentägigen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel aus einer 10 µM hydroponischen Nährlösung verglichen.^[90] Im Allgemeinen haben sich kurze Expositionszeiten in den Aufnahmestudien im Rahmen dieser Arbeit als vorteilhaft erwiesen, was sich durch eine geringere Variabilität zwischen den Replikaten sowie eine robustere Korrelation der Aufnahmewerte mit den physikochemischen Eigenschaften der Pflanzenschutzmittel auszeichnete.^[90]

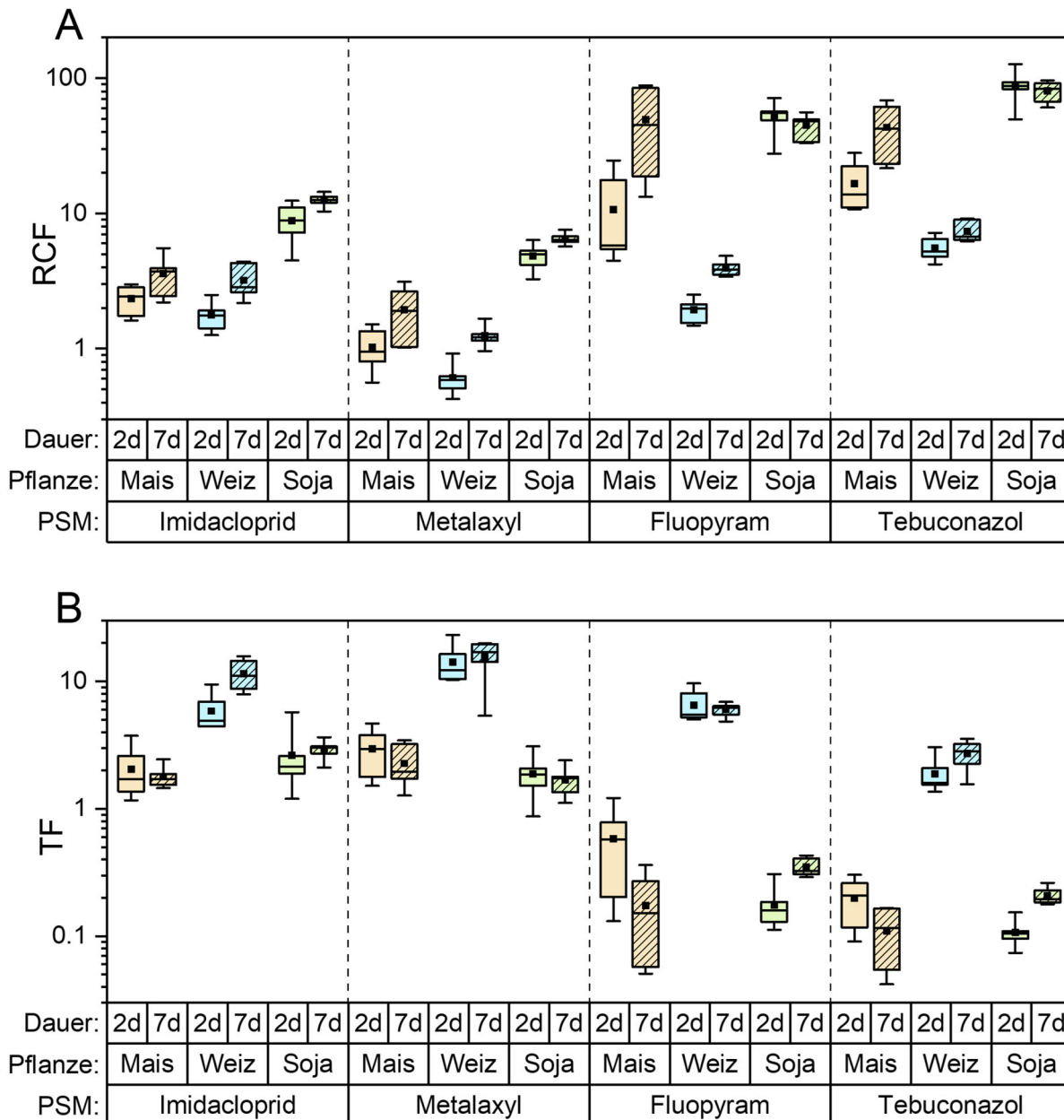


Abbildung 25: Logarithmische Darstellung der RCF-Werte (A) und TF-Werte (B) von Imidacloprid (IMI), Metalaxyl (MET), Fluopyram (FLU) und Tebuconazol (TEB) nach zwei bzw. sieben Tagen (d) der Aufnahme aus einem hydroponischen System, das jeweils 10 µM jedes Pflanzenschutzmittels enthielt, in Mais (beige), Weizen (Weiz; blau) und Soja (grün).
 Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Bei den RCF-Werten war eine deutliche Erhöhung bei längerer Expositionsdauer zu beobachten (Abbildung 25). Dieser Anstieg war für alle Wirkstoffe und Pflanzenarten statistisch signifikant, mit Ausnahme von FLU und TEB in Soja, bei denen keine Zunahme des RCF festgestellt wurde.^[90] Die Zeit, die es braucht, um durch Diffusion eines Pflanzenschutzmittels ins Wurzelgewebe ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen Wurzel und Nährlösung zu erreichen, hängt vom Diffusionskoeffizienten der Substanz sowie von der Dicke der Wurzel ab.^[90,300] Diese Annahme basiert auf dem Axiom, dass die Aufnahme

hauptsächlich durch passive Diffusion und nicht durch aktive, durch Transporterproteine gesteuerte Prozesse erfolgt.^[90] Daher wurde für diesen Versuch die höhere Expositionskonzentration von 10 μM ausgewählt, um den relativen Einfluss aktiver Transportprozesse zu minimieren und so die passive Diffusion als primären Aufnahmeweg zu untersuchen.^[90,298]

Auf Basis der passiven Diffusion wäre somit anzunehmen, dass die Pflanzenschutzmittel in den deutlich kleineren Wurzeln von Weizen schneller ein Gleichgewicht erreichen als in den größeren Mais- oder Sojawurzeln.^[90] Die beobachteten Veränderungen der RCF zwischen zwei und sieben Tagen spiegeln diese Annahme jedoch nicht wider, da der Anstieg in Weizen vergleichbar oder sogar höher ausfiel als der in Mais und Soja.^[90] Hydrophile Wirkstoffe wie IMI und MET ($\log K_{\text{OW}} < 2$) sollten schneller einen Gleichgewichtszustand erreichen als lipophile Substanzen wie FLU und TEB ($\log K_{\text{OW}} > 3$).^[90,93] Jedoch war ein entsprechender Trend nur teilweise in Maiswurzeln erkennbar, nicht vorhanden in Weizenwurzeln und in Sojawurzeln sogar umgekehrt.^[90] Daraus lässt sich schließen, dass die Pflanzenschutzmittelaufnahme in Wurzeln nicht allein durch passive Diffusion erklärbar ist und weitere pflanzenartspezifische Faktoren eine wesentliche Rolle spielen müssen.

Die TF-Werte zeigten erneut einen im Vergleich zu den RCF-Werten weniger einheitlichen Trend mit geringerer statistischer Signifikanz.^[90] In Weizen war ein leichter Anstieg der TF mit längerer Expositionsdauer zu beobachten, der jedoch nur statistisch signifikant im Falle von IMI war ($p < 0,05$).^[90] In Mais und Soja waren kaum Unterschiede in der Translokation der hydrophilen Pflanzenschutzmittel IMI und MET nach zwei und sieben Tagen ersichtlich. Im Gegensatz dazu zeigten die lipophilen Wirkstoffe FLU und TEB unterschiedliche Trends.^[90] In Mais nahmen die TF mit längerer Expositionsdauer ab, während sie in Soja zunahmen. Diese Unterschiede waren, mit Ausnahme von TEB in Mais, statistisch signifikant ($p = 0,07$).^[90]

Der akropetale Transport hydrophiler Substanzen erreichte schneller ein Gleichgewicht als der Transport lipophiler Wirkstoffe, was erklärt, warum Änderungen der TF bei verschiedener Expositionszeit bei FLU und TEB, jedoch nicht bei IMI und MET, beobachtet wurde.^[90,237] Die unterschiedlichen Auswirkungen der Expositionsdauer auf das Maß an Translokation lipophiler Wirkstoffe in Mais, Weizen und Soja demonstriert den großen Einfluss pflanzenspezifischer Eigenschaften auf die Aufnahme und den Verbleib von Pflanzenschutzmitteln.^[90]

4.2.5 Kapitelzusammenfassung

In diesem Kapitel wurde der Einfluss von Konzentration, Expositionsdauer und physikochemischer Eigenschaften der Wirkstoffe auf die Wurzelaufnahme und Translokation von vier unterschiedlichen Pflanzenschutzmitteln, IMI, MET, FLU und TEB, in Mais, Weizen und Soja untersucht. Die Vitalitätsuntersuchungen zeigten, dass die getesteten Wirkstoffe keine sichtbaren morphologischen Schäden in den Nutzpflanzen bis zu einer Konzentration von 1 μM verursachten. Erst bei einer Exposition von 10 μM waren artspezifische Stresssymptome zu beobachten, wobei von allen drei Pflanzenarten Soja die höchste Empfindlichkeit aufwies. Dies war auch aus den berechneten WUE-Werten ersichtlich. Während Mais über alle Konzentrationen hinweg unbeeinflusst von der Pflanzenschutzmittelexposition blieb, wies Weizen erst bei siebentägiger Exposition gegenüber 10 μM eine Reduktion der WUE auf. Im Gegensatz dazu zeigte Soja bereits nach zweitägiger Exposition gegenüber 0,1 μM eine verringerte WUE.

Die Aufnahmestudien zeigten, dass alle vier Wirkstoffe durch alle drei Pflanzen aufgenommen und in den Spross verlagert werden, jedoch in verschiedenen Maßen. IMI wurde insbesondere in Soja in hohem Maße aufgenommen, was auf die mögliche zusätzliche Beteiligung aktiver Transportprozesse zusätzlich zur passiven Aufnahme hindeutet. MET zeigte ein vergleichbares Verhalten mit hoher akropetaler Mobilität, insbesondere in Weizen. Das lipophile FLU akkumulierte stark im Spross der Pflanzen, während TEB eine hohe Anreicherung in den Pflanzenwurzeln und die geringste Translokation aufwies. Die Lipophilie korrelierte mit der Aufnahme und Verlagerung der Wirkstoffe. Substanzen mit mittlerer Lipophilie wie MET zeigten die höchste Translokation, während stark lipophile Wirkstoffe wie TEB bevorzugt in den Wurzeln verblieben.

Keine der untersuchten Nutzpflanzen zeigte durchgehend eine signifikant höhere Anreicherung aller getesteten Pflanzenschutzmittel als andere Pflanzen.^[90] Allerdings nahm Soja geringfügig höhere Konzentrationen von IMI und TEB auf als Mais und Weizen.^[90] Während Soja allgemein die höchste Anreicherung der Wirkstoffe in den Wurzeln aufwies, zeigte Weizen den größten akropetalen Transport der Substanzen.^[90] Diese Ergebnisse unterstreichen die bedeutende Rolle pflanzenspezifischer Eigenschaften für die Mobilität und das Verhalten von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen.^[90] Es konnte gezeigt werden, dass mit steigender Expositionskonzentration ein Rückgang der RCF-Werte über alle untersuchten Pflanzenarten und Pflanzenschutzmittel stattfindet, während die TF-Werte im Gegensatz dazu zunahmten.^[90] Die inverse Beziehung zwischen Wurzelkonzentrationsfaktor (RCF) und Translokationsfaktor (TF) wurde sowohl zwischen den Substanzen als auch zwischen den Pflanzenarten beobachtet. Ein Vergleich der Pflanzenschutzmittelaufnahme nach zwei- und

siebtägiger Wurzelexposition ergab, dass eine längere Expositionsdauer zu signifikant höheren RCF-Werten führte.^[90] Die TF-Werte zeigten hingegen uneinheitliche Trends. Während die hydrophilen Pflanzenschutzmittel kaum Veränderungen zeigten, wiesen die lipophilen Substanzen einen Rückgang der TF-Werte in Mais, keine signifikanten Änderungen in Weizen und eine Zunahme in Soja bei längerer Exposition auf.^[90]

4.3 Einfluss der physikochemischen Eigenschaften von Pflanzenschutzmitteln auf ihre Aufnahme in Weizen: Ein Vergleich von Substanzen mit ähnlichen und unterschiedlichen strukturellen Merkmalen

Die folgenden Experimente zielten darauf ab, detailliertere Einblicke in den Einfluss der physikochemischen Eigenschaften von Pflanzenschutzmitteln auf deren Aufnahme- und Translokationsverhalten in Nutzpflanzen zu erlangen. Zu diesem Zweck wurde die Aufnahme von 13 Wirkstoffen in Weizen untersucht und mittels HPLC-HRMS quantifiziert. Dazu wurde zunächst ein Vergleich der Aufnahme von Wirkstoffen aus einzelner Exposition und Mischexposition durchgeführt. Anschließend wurde die Aufnahme von fünf strukturell zu MET sowie sechs strukturell zu FLU ähnlichen Substanzen unter Einzelexposition untersucht, um den Einfluss von Lipophilie und molarer Masse auf den Verbleib der Wirkstoffe in den Pflanzen zu identifizieren. Bildgebende Untersuchungen von Maiswurzeln mittels MALDI-MSI ermöglichten zudem eine Korrelation der räumlichen Wirkstoffverteilung mit der Lipophilie sowie der Translokationsrate verschiedener Pflanzenschutzmittel.

Teile dieses Kapitels wurden bereits in den Masterarbeiten von LUKAS FÖBINGER und DOMINIK SCHNEEWEIß beschrieben und zur Publikation eingereicht: **Skoczowsky, D.**; Föbinger, L.; Schneeweiß, D.; Kubicki, M.; Lamshöft, M.; Zühlke, S., *Impact of Physicochemical Properties of Plant Protection Products on their Fate in Hydroponically Grown Wheat: A Comparison of Substances with Similar and Diverse Structural Characteristics*. Eingereicht.

4.3.1 Hydroponische Aufnahme von IMI, MET, FLU und TEB nach einzelner Exposition oder Mischapplikation in Weizenpflanzen

Da Weizen die geringsten Schwankungen zwischen den Replikaten einer Aufnahmegruppe aufwies und zudem ein hohes Maß an akropetalem Transport zeigte (siehe Kapitel 4.2), wurde Weizen als Modellpflanze gewählt, um den Einfluss der physikochemischen Eigenschaften der Pflanzenschutzmittel auf deren Aufnahme und Verteilung näher zu untersuchen. Die geringe Standardabweichung der Replikate bei einer zweitägigen Expositionsdauer sollte einen bestmöglichen Vergleich der Aufnahme einzelner Wirkstoffe ermöglichen, auch wenn diese nicht als Mischung in dieselbe Pflanze aufgenommen, sondern separat in unterschiedlichen experimentellen Gruppen eingesetzt wurden. Eine Studie zur Aufnahmekinetik von elf Pflanzenschutzmitteln zeigte, dass für alle Wirkstoffe, die innerhalb von sechs Tagen eine stabile Konzentration in Wurzeln und Spross erreichen, eine Aufnahmedauer von zwei Tagen

ausreicht, um einen Zustand nahe dem Gleichgewicht zu erreichen.^[93,100] Alle in diesem Kapitel untersuchten Wirkstoffe waren über den Zeitraum von zwei Tagen stabil in der hydroponischen Nährlösung und zeigten keinen Abbau (Abbildung 85 und Abbildung 86). Durch eine einzelne Applikation der Wirkstoffe kann zudem der potenzielle Einfluss synergistischer oder antagonistischer Effekte, wie sie bei gleichzeitiger Aufnahme mehrerer Substanzen auftreten können, ausgeschlossen werden.^[283,301]

Zur Untersuchung der Vergleichbarkeit von Aufnahmeergebnissen nach Einzel- und Mischexposition, wurden die detektierten Konzentrationen von IMI, MET, FLU und TEB sowohl nach gemeinsamer Applikation als Mischung (jeweils 1 μM) als auch nach einzelner Zugabe zur hydroponischen Nährlösung (ebenfalls 1 μM) miteinander verglichen (Abbildung 26).

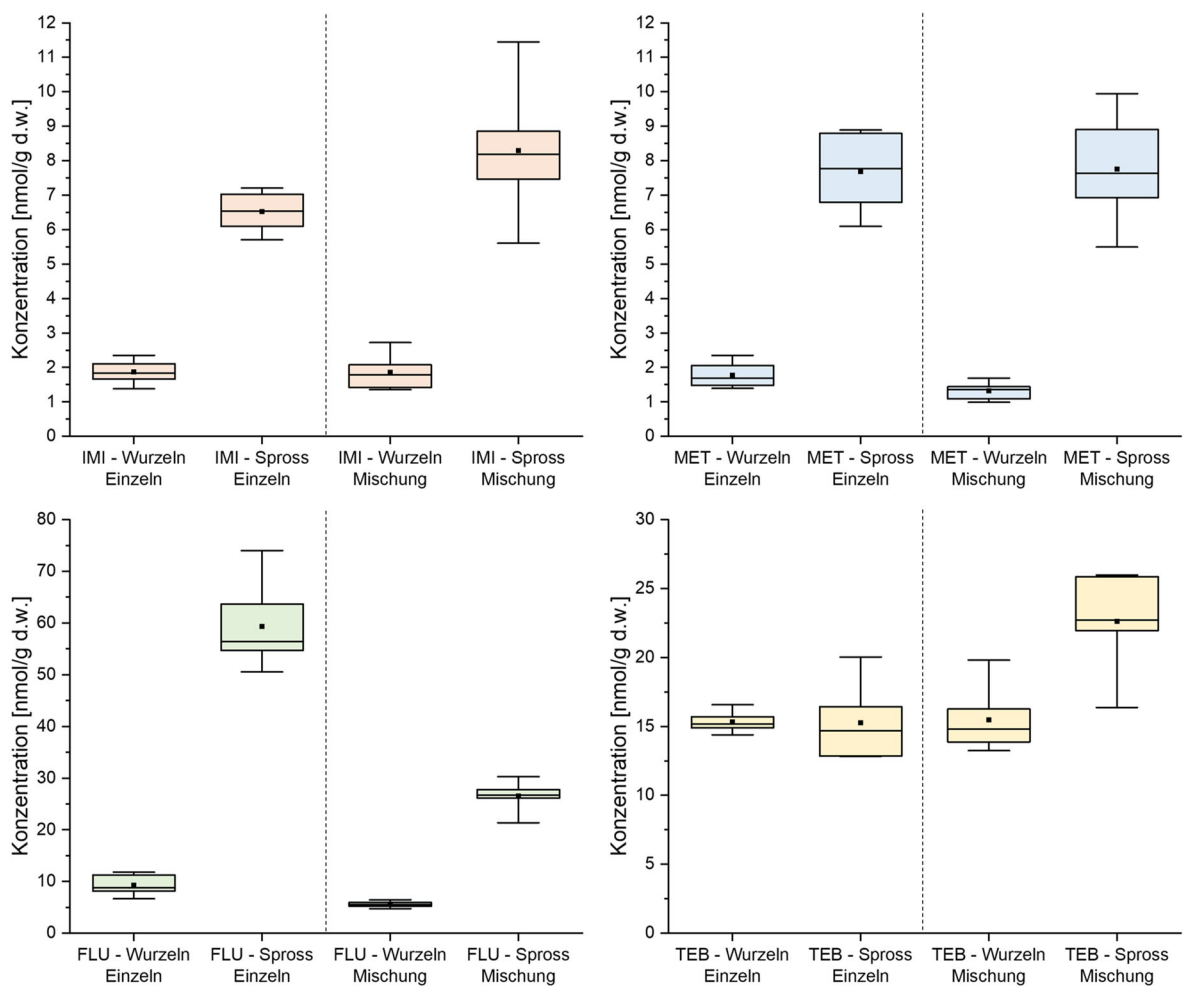


Abbildung 26: Vergleich der Aufnahme von IMI, MET, FLU und TEB in Weizenpflanzen nach zweitägiger Exposition gegenüber den Pflanzenschutzmitteln einzeln (links) oder als Mischung (rechts) bei einer Konzentration von jeweils 1 μM (n = 6).

Für IMI, MET sowie TEB sind nur geringe Unterschiede in der Akkumulation zwischen Einzelexposition und Mischexposition ersichtlich. Dies spricht für eine weitgehend voneinander unabhängige Aufnahme der Wirkstoffe, wie es bei einer Aufnahme primär durch passive

Transpiration der Fall wäre.^[91,93] Im Gegensatz dazu ist im Falle von FLU eine deutlich geringere Aufnahme nach Mischexposition zusammen mit den anderen Wirkstoffen zu erkennen. Eine mögliche Erklärung dafür könnte ein signifikanter Anteil an aktiven Transportprozessen bei der Aufnahme und Translokation von FLU sein.^[88] Für die meisten Substanzen fällt die Aufnahme bei Einzel- und Mischexposition ähnlich aus. Deutliche Abweichungen bei einzelnen Wirkstoffen, wie FLU, verhindern jedoch eine allgemeingültige Vergleichbarkeit beider Applikationstypen.

Wie bereits in Kapitel 4.2 ausführlich diskutiert, zeigten alle hier untersuchten Pflanzenschutzmittel einen RCF-Wert > 1 und somit eine Tendenz zur Akkumulation in den Wurzeln. Mit Ausnahme von TEB waren zudem TF-Werte > 3 zu beobachten, welche eine starke Tendenz zum Transport in oberirdische Pflanzenteile und zur Anreicherung im Sprossgewebe signalisieren.^[100] Dabei zeigten sowohl das kleine und polare IMI als auch das vergleichsweise große und lipophile FLU eine starke Translokation.^[100] Dies erschwert eine klare Einschätzung, welche Eigenschaften der Pflanzenschutzmittel schlussendlich entscheidend für ihren Verbleib in Nutzpflanzen sind.^[100]

4.3.2 Aufnahme strukturell ähnlicher Phenylamid-Fungizide und Fluopyram-Analoga

Herauszufinden, welcher physikochemische Parameter maßgeblich das Maß der Wurzelaufnahme und Translokation von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen wie Weizen bestimmt, ist schwierig, wenn mehrere Eigenschaften zwischen den untersuchten Verbindungen gleichzeitig variieren.^[100] Dies stellt eine Limitation vieler hydroponischer Aufnahmestudien dar.^[71,93,100,302] Daher wurden die beiden Wirkstoffe mit der höchsten beobachteten Mobilität in Weizen, MET und FLU, ausgewählt und zusätzlich strukturell zu MET oder FLU verwandte Verbindungen untersucht, die sich primär in einem einzigen physikochemischen Parameter unterscheiden (Abbildung 27 und Abbildung 29). Soweit bekannt, wurde bislang keine vergleichenden Untersuchungen zur Aufnahme dieser beiden Wirkstoffgruppen durchgeführt.

Zusätzlich zu MET wurden weitere Phenylamid-Fungizide (PAFs) untersucht: Oxadixyl (OXA), Ofurac (OFU), Furalaxyl (FUR) und Benalaxyl (BEN).^[303,304] Diese Verbindungen liegen unter den Bedingungen dieser Aufnahmestudie alle in ungeladener Form vor und weisen nahezu identische Molekulargewichte (M) zwischen 278 und 325 g/mol auf. Die Hauptunterschiede zwischen den PAFs ergeben sich aus den jeweiligen Seitenketten, die maßgeblich ihre Lipophilie beeinflussen. Dabei decken die Verbindungen ein breites Spektrum an Polaritäten von hydrophil bis hydrophob ab, mit Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten zwischen $\log K_{OW} = 0,7$ und $\log K_{OW} = 3,5$.^[231] Die Untersuchung der hydroponischen Aufnahme der

PAFs in Weizen bietet somit die Möglichkeit, den Einfluss der Lipophilie unter kontrollierten Bedingungen gezielt und weitgehend unabhängig von anderen physikochemischen Parametern zu analysieren (Abbildung 27).

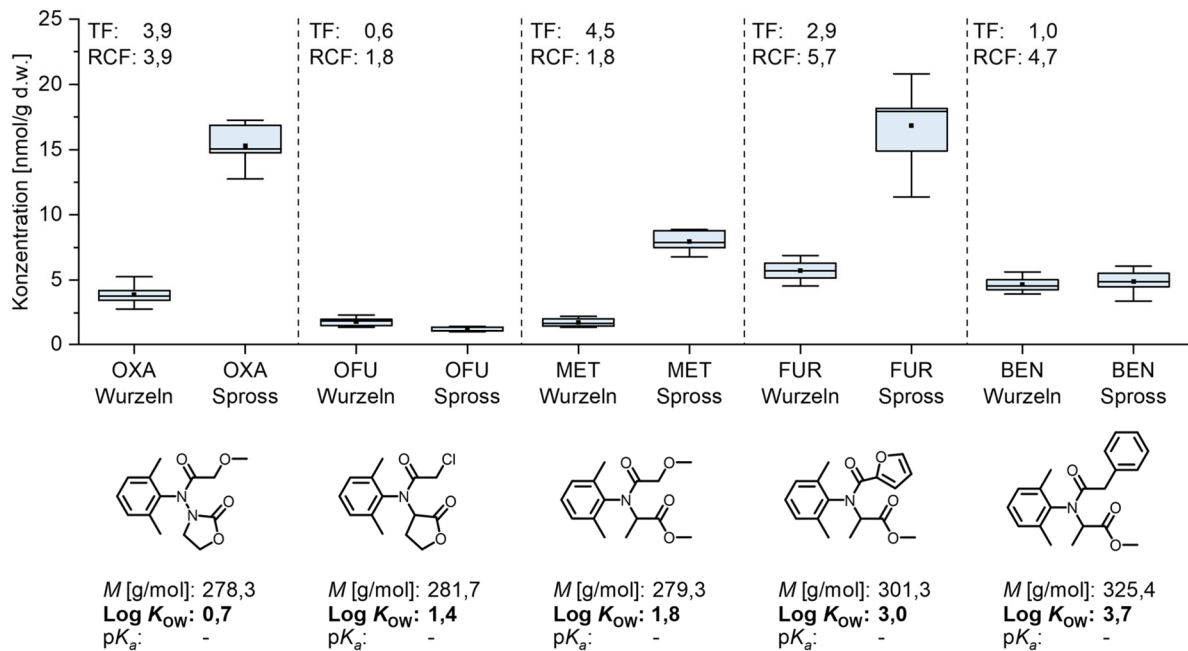


Abbildung 27: Konzentrationen der Phenylamid-Fungizide (PAF; Oxadixyl: OXA, Ofurac: OFU, Metalaxyl: MET, Furalaxyl: FUR, Benalaxyl: BEN) in Wurzeln und Spross von Weizen nach zweitägiger einzelner Aufnahme aus einer hydroponischen Lösung mit einer Konzentration von 1 μ M des jeweiligen Pflanzenschutzmittels (n = 6). Zusätzlich wurden die RCF- und TF-Werte berechnet. Unterhalb der gemessenen Konzentrationen sind die Molekülstrukturen sowie die physikochemischen Eigenschaften der einzelnen Substanzen dargestellt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.* [100]

Alle PAFs wiesen eine mittlere bis hohe Tendenz zur Anreicherung in den Weizenwurzeln auf, gezeigt durch ihre RCF-Werte zwischen 1,8 und 5,7.^[100] Dabei wurde die geringste Akkumulation im Falle von OFU und MET beobachtet.^[100] OXA, MET und FUR zeigten sehr hohe Translokationsfähigkeiten mit TF-Werten > 2,9, was im Einklang mit der bekannten hohen Systemizität und Mobilität von PAFs in Nutzpflanzen ist.^[26,100,115,305] Obwohl OFU nur einen geringfügig niedrigeren log K_{ow} als MET aufweist, ist OFUs Wasserlöslichkeit etwa 50-mal geringer.^[100,231,306] Eine Studie zur Wurzelaufnahme von Pflanzenschutzmitteln in Mais zeigte eine positive Korrelation zwischen TF und Wasserlöslichkeit sowie eine negative Korrelation zwischen TF und log K_{ow} .^[71,100] Dementsprechend könnte die geringe Wasserlöslichkeit von OFU und BEN für den geringen akropetalen Transport in den Weizenspross verantwortlich sein.^[71,100] Dies würde jedoch auch eine gesteigerte Anreicherung in den Wurzeln bedeuten, was bei BEN, aber nicht bei OFU der Fall ist.^[71,100] OFU zeigte von allen PAFs die mit Abstand geringste Anreicherung in der Weizenpflanze mit einem BCF von 1,4, welcher mehr als dreimal niedriger ist als der aller anderen untersuchten Fungizide.^[100]

4. Ergebnisse und Diskussion

Während MET, FUR und BEN chemisch verhältnismäßig stabil sind^[307], könnte OFU stärker durch Metabolismus umgewandelt werden, was in einer geringeren Anreicherung der Ausgangsverbindung resultieren würde.^[100] Aufgrund OFUs Chlorfunktion, welche bei den anderen PAFs nicht vorhanden ist, kann es zu einer Glutathion-vermittelten Dechlorierung kommen.^[100,307] Solch eine enzymatische Dechlorierung wurde bereits als zentraler Abbauweg für die strukturell zu OFU sehr ähnlichen Acetanilid-Herbizide Alachlor, Metolachlor und Propachlor beobachtet.^[100,308–310] Der Metabolit Glutathion-OFU wurde in den Sprossen von Weizen nachgewiesen, nicht jedoch in den Wurzeln, was darauf hindeutet, dass der reduzierte TF und BCF von OFU auf eine signifikante Dechlorierung in den Sprossen zurückzuführen sein könnte (Abbildung 28).^[100]

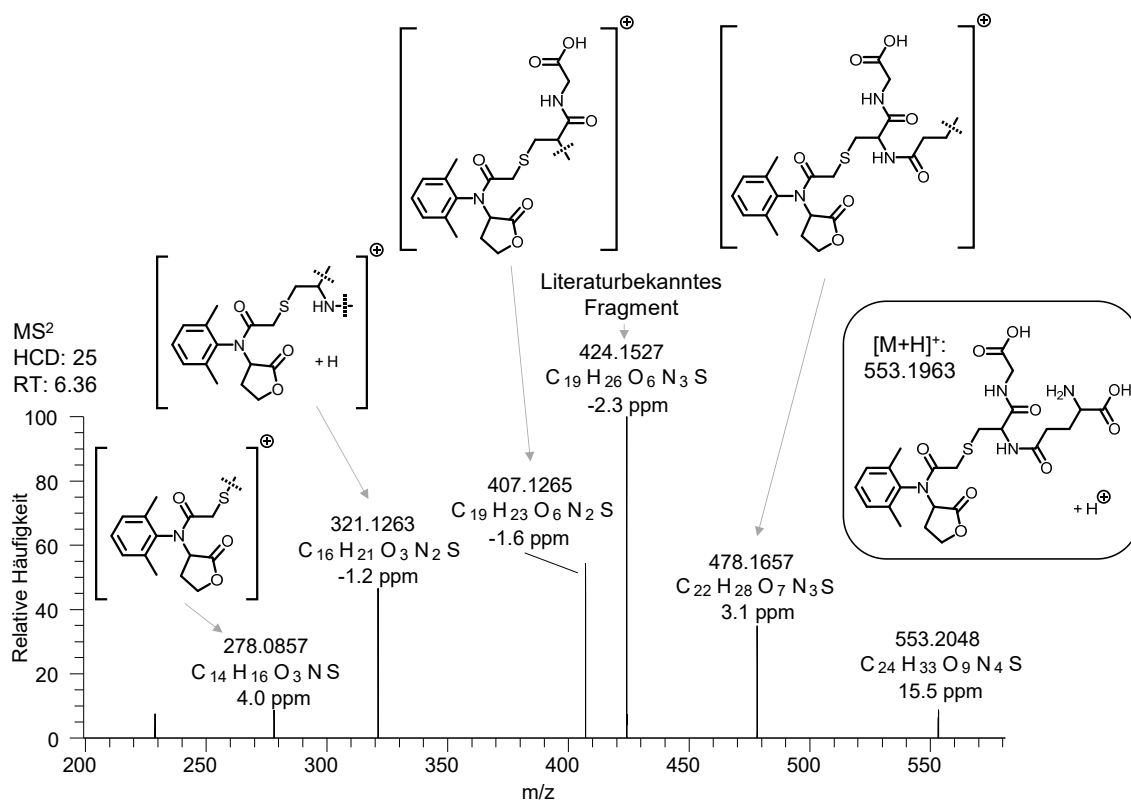


Abbildung 28: MS²-Spektrum des im Spross der Weizenpflanzen detektierten Metaboliten Glutathion-OFU. Die gestrichelten Linien der Fragmenten-Strukturvorschläge zeigen, wo der Bindungsbruch stattfindet. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100]

Die Tatsache, dass Glutathion-OFU ausschließlich in den Sprossen nachgewiesen wurde, legt nahe, dass die enzymatische Dechlorierung nicht nur pflanzenspezifisch, sondern auch gewebespezifisch erfolgt. Diese Umwandlung durch Glutathion stellt einen Stoffwechselweg dar, der den anderen PAFs nicht zur Verfügung steht und somit den Unterschied im Verhalten von OFU zu allen anderen PAFs erklären könnte.^[100] Auch wenn die Glutathionkonjugation, wie andere Phase II Konjugationen zur Detoxifizierung vieler biologisch aktiver Substanzen in Tieren und Pflanzen beiträgt, werden einige Substanzen durch diese zu toxischen, mutagenen

oder karzinogenen Metaboliten umgewandelt.^[311] Die Bildung schwefelhaltiger Metaboliten wie Glutathion-OFU führt zudem zu einer erhöhten Wasserlöslichkeit und damit zu einer potenziell gesteigerten Umweltmobilität, was das Risiko einer Kontamination des Grundwassers erhöht.^[311,312] Gleichzeitig erschweren die geringe Flüchtigkeit und die hohe Polarität der schwefelhaltigen Metaboliten ihre Detektion, sodass toxische Wirkungen dieser Metaboliten in der Vergangenheit potenziell unzureichend berücksichtigt wurden.^[311]

Zur Untersuchung des Einflusses der molaren Masse auf die Aufnahme und Verteilung von Pflanzenschutzmitteln in Weizen wurden Substanzen ausgewählt, die strukturell ähnlich zu FLU sind. FLU eignet sich dabei als Ausgangsverbindung für diese Fragestellung, da es trotz einer molaren Masse von 397 g/mol, die nahe der in der Literatur häufig genannten Grenze von 400 g/mol liegt, ab der eine signifikant reduzierte Mobilität erwartet wird, in hohen Konzentrationen aufgenommen und stark akropetal translokiert wurde.^[78,89,105,106] Die hier als Fluopyram-Analoga (FLU-Analoga) bezeichneten Verbindungen umfassen die beiden FLU-Metaboliten 2-(Trifluormethyl)-benzamid (TMB) und 3-Chlor-5-(trifluormethyl)-picolinsäure (TPA) sowie die Fungizide Mepronil (MEP), Fluopicolid (FLP) und Thifluzamid (TFZ), die gezielt aufgrund ihrer unterschiedlichen molaren Massen zwischen 189 und 528 g/mol bei vergleichbaren Strukturen und funktionellen Gruppen zu FLU ausgewählt wurden. Die in Wurzeln und Blättern des Weizens detektierten Wirkstoffkonzentrationen sind in Abbildung 29 dargestellt.

4. Ergebnisse und Diskussion

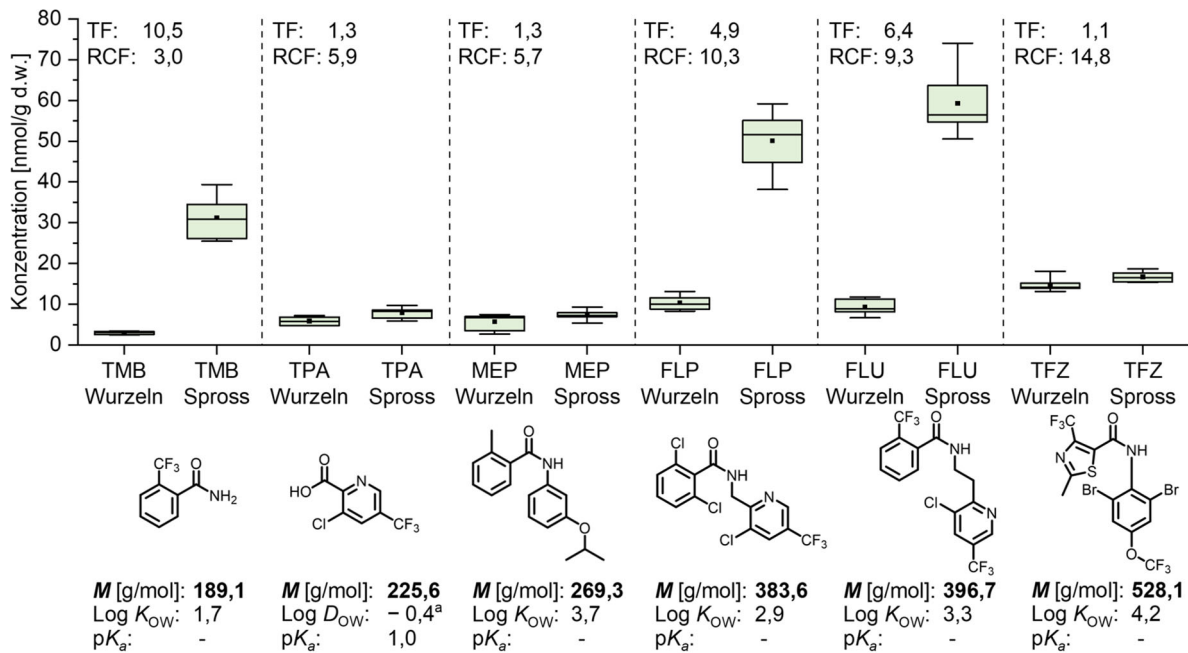


Abbildung 29: Konzentrationen der Fluopyram-Analoga (FLU-Analoga; 2-(Trifluormethyl)-benzamid: TMB, 3-Chlor-5-(trifluormethyl)-picolinsäure: TPA, Mepronil: MEP, Fluopicolid: FLP, Fluopyram: FLU, Thifluzamid: TFZ) in Wurzeln und Spross von Weizen nach zweitägiger einzelner Aufnahme aus einer hydroponischen Lösung mit einer Konzentration von 1 μM des jeweiligen Wirkstoffes ($n = 6$). Zusätzlich wurden die RCF- und TF-Werte berechnet. Unterhalb der gemessenen Konzentrationen sind die Molekülstrukturen sowie die physikochemischen Eigenschaften der einzelnen Substanzen dargestellt (a: für TPA ist der berechnete $\log D_{ow}$ -Wert bei pH 6,5 angegeben). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100]

Die FLU-Analoga zeigten eine stärkere Tendenz zur Akkumulation in Wurzeln als die PAFs, mit RCF-Werten zwischen 3,0 und 14,8.^[100,311] Die stärkste Bioakkumulation wurde dabei für FLU und FLP beobachtet, welche strukturell und bezogen auf ihre physikochemischen Eigenschaften die größten Ähnlichkeiten der untersuchten Verbindungen aufweisen. Dies spricht dafür, dass eine strukturelle Ähnlichkeit in einer ähnlichen Aufnahme und Verteilung resultiert, was die Prämisse der Untersuchung strukturell verwandter Verbindungen zur Identifikation der für die Aufnahme entscheidenden Substanzeigenschaften stützt. Die Untersuchungen von LAMSHÖFT *et al.* zeigten eine reduzierte Translokation von Pflanzenschutzmitteln spätestens ab einem Molekulargewicht von 392 g/mol, da diese Verbindungen aufgrund einer eingeschränkten Membranpermeabilität nur in geringem Maße die Leitbündel erreichen können und somit in den Wurzeln akkumulieren.^[78] Die relativ große Molekülmasse scheint für FLU (397 g/mol) und FLP (384 g/mol) jedoch keine signifikante Einschränkung darzustellen.^[100] Für beide Verbindungen war ein hohes Maß an akropetalem Transport zu beobachten, gezeigt durch den $TF_{FLU} = 6,4$ beziehungsweise $TF_{FLP} = 4,9$.^[100] Trotz seiner hohen Lipophilie und deutlich größeren Molekülmasse zeigte TFZ (528 g/mol) einen TF-Wert leicht über 1, was auf eine substantielle Translokation und Akkumulation im Spross hinweist.^[100] Diese Ergebnisse passen nicht zu den Resultaten bisheriger Studien und

zeigen somit die Limitationen von Vorhersagen, die ausschließlich auf den physikochemischen Eigenschaften von Wirkstoffen basieren.^[100,111] Insbesondere verdeutlichen sie, dass Aussagen zur Aufnahme oder Nicht-Aufnahme von Substanzen allein anhand selbst definierter Grenzwerte, wie einer zu hohen molaren Masse, nur eingeschränkt belastbar sind. Das Verhalten der großen FLU-Analoga legt nahe, dass substanzklassenspezifischer, aktiver Transport durch Enzyme eine bedeutende Rolle für ihren Verbleib in Pflanzen spielen könnte.^[100]

MUERDTER *et al.* zeigten, dass elektronegative Substituenten am Benzolring von Benzimidazolen mit einer schnelleren Aufnahme korrelierten, möglicherweise aufgrund von Bindungsinteraktionen mit pflanzlichen Transportproteinen.^[100,111] Eine ähnliche Interaktion könnte auch bei den elektronenziehenden Chlor- und Trifluormethylgruppen am Benzamid-Rest der FLU-Analoga angenommen werden, die in allen Verbindungen außer MEP, TPA und TFZ (keine Benzamidfunktion) vorkommen.^[100] Diese Verbindungen mit elektronenziehenden Gruppen zeigten alle einen deutlich gesteigerten TF von ≥ 3 , während die Translokation der anderen Substanzen, welche dieses Merkmal nicht aufwiesen, signifikant niedriger mit einem TF ≤ 1.3 war. MEP hingegen besitzt eine elektronenschiebende Methylgruppe und zeigte die geringste Bioakkumulation und Translokation.^[100]

Nach der Aufnahme durch die Wurzeln zeigten die beiden FLU-Analoga mit der geringsten Molekülgröße und molaren Massen, TMB und TPA, deutliche Unterschiede in ihrer Anreicherung in Weizen.^[100] Beide Verbindungen stellen die Hauptmetaboliten von FLU dar.^[145] TMB repräsentiert dabei den Benzamid-Teil, während TPA den Pyridin-Teil des ursprünglichen Moleküls darstellt. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeiten zwischen FLU und FLP wird durch Metabolisierung von FLP ebenfalls TPA gebildet.^[313] Zusätzlich entsteht, analog zum trifluormethylsubstituierten TMB, aus dem Benzamid-Teil von FLP ein zweifach chloriertes Benzamid.^[145,313] Ein Vergleich von TMB und TPA zeigt, dass TMB einen deutlich höheren Translokationsfaktor, den höchsten aller untersuchten Verbindungen in dieser Studie, aufweist.^[100] Dieses Verhalten steht im Einklang mit der postulierten maximalen Mobilität kleiner, ungeladener Verbindungen bei einem log K_{OW} um 1,78.^[57,89,100] TMB zeigt mit einem log K_{OW} von 1,7 eine mittlere Lipophilie, die optimal für eine effiziente Translokation über den Transpirationsstrom erscheint.^[57] TPA hingegen zeigt einen deutlich erhöhten RCF-Wert von 5,9, welcher nahezu das doppelte des RCF-Wertes von TMB beträgt, bei einer gleichzeitig stark reduzierten Translokation mit einem TF-Wert von 1,3.^[100] Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass TPA in der hydroponischen Nährlösung und nach Aufnahme in die Wurzel in einer anionischen oder zwitterionischen Form vorliegt, welche zu einer deutlich reduzierten Diffusionsrate durch Zellmembranen führt.^[59,100,146] Zusätzlich wird angenommen, dass TPA eine hohe Mobilität im Phloem aufweist und somit sowohl akropetal als auch

basipetal entgegen der Richtung des Transpirationsstroms transportiert werden kann.^[100,146] Da der Transport über das Phloem 50- bis 100-mal langsamer als über das Xylem erfolgt, stellt sich ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen Wurzeln und Spross entsprechend langsamer ein.^[26,100,120] Folglich könnte die verhältnismäßig kurze Aufnahmedauer von 48 Stunden nicht ausgereicht haben, um ein Gleichgewicht auch für stärker phloemmobile Substanzen wie TPA zu erreichen, wodurch dieses einen potenziell veränderten TF ausweist.^[100] Da der Phloemtransport in beide Richtungen erfolgt, ist zudem nicht eindeutig feststellbar, ob ein Erreichen des Gleichgewichtszustandes den TF weiter erhöhen oder reduzieren würde.

4.3.3 Einfluss von Lipophilie und Molekülgröße auf Aufnahme und Translokation in Weizen

Um eine umfassende Bewertung des Einflusses der physikochemischen Eigenschaften der Pflanzenschutzmittel auf ihren Verbleib in Weizen zu ermöglichen, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt.^[100] Dabei wurde sowohl die Molekülgröße bzw. -gewicht als auch die Lipophilie gegen den RCF sowie den TF graphisch dargestellt. Aufgrund der sehr starken positiven Korrelation zwischen Molekulargewicht und Molekülgröße wurde das Molekulargewicht als repräsentativer Index gewählt.^[100,106] Aufgrund der anionischen oder zwitterionischen Eigenschaften von TPA wurde bei dieser Verbindung der $\log D_{OW}$ anstelle des $\log K_{OW}$ in den gezeigten Korrelationen verwendet, da dieser besser geeignet ist, die Lipophilie geladener Verbindungen zu beschreiben.^[95,100,146] So zeigten SCHRIEVER *et al.*, dass der $\log D_{OW}$ eine deutlich stärkere Korrelation als der $\log K_{OW}$ mit dem Aufnahmeverhalten geladener Verbindungen in unterschiedliche Nutzpflanzen aufweist.^[95] Der Zusammenhang von Lipophilie und Molekulargewicht mit der Akkumulation in Wurzelgewebe ist in Abbildung 30 dargestellt.

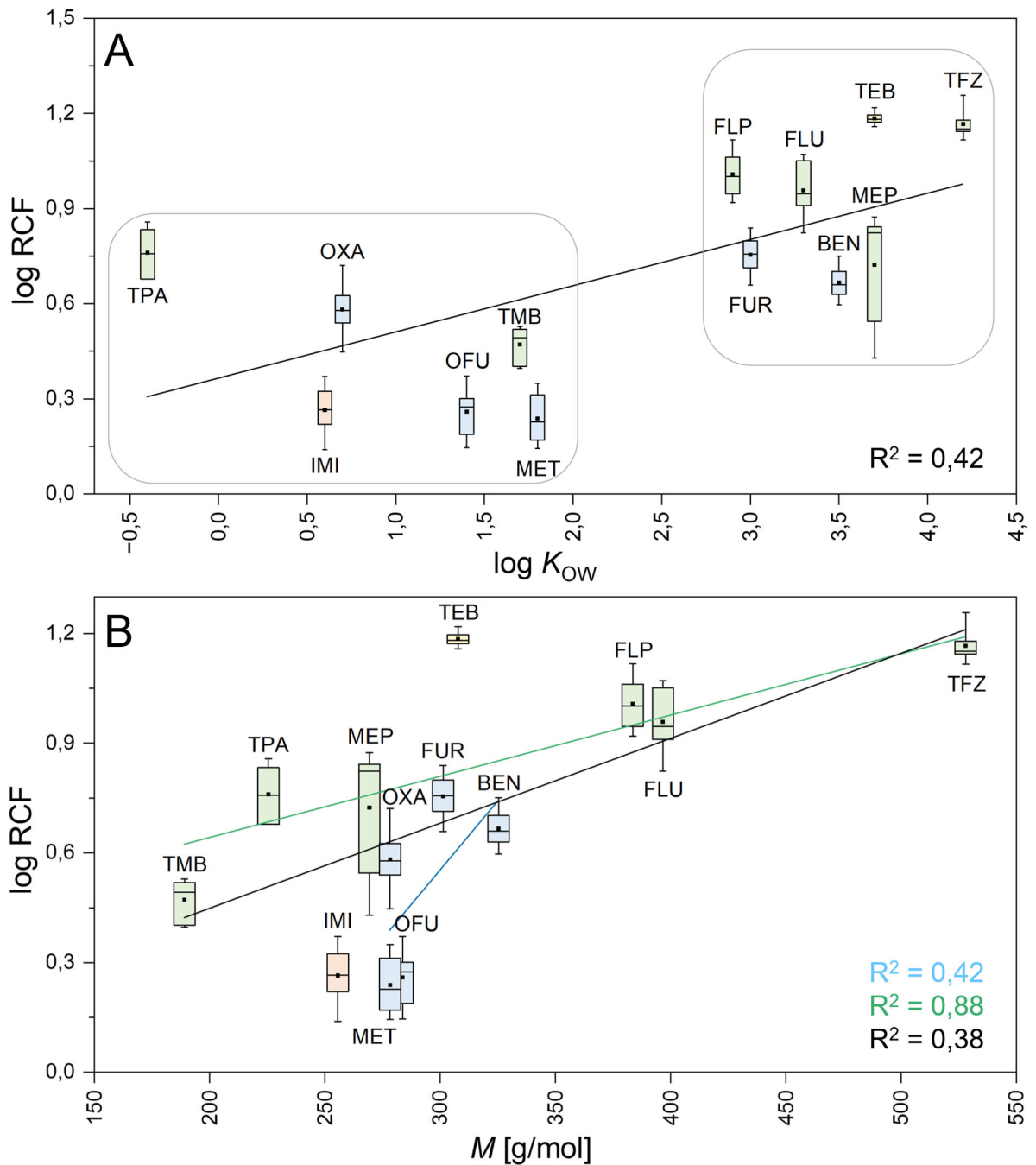


Abbildung 30: Korrelation zwischen der Anreicherung in Weizenwurzeln (log RCF) und der Lipophilie (log K_{OW} ; A) bzw. des Molekulargewichts (M ; B) der Pflanzenschutzmittel. Zu den PAFs zugehörige Boxplots sind in blau dargestellt, während zu den FLU-Analoga gehörende Boxplots grün eingefärbt sind. Jeder Boxplot basiert auf den experimentellen Daten von 12 Replikaten ($n = 12$) und die Signifikanz der linearen Regression (blau = PAFs,

grün = FLU-Analoga, schwarz = Einbezug aller Pflanzenschutzmittel) wurde mittels R^2 bewertet. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100]

Die Untersuchung des Einflusses der Lipophilie (log K_{OW}) auf die Wurzelanreicherung (log RCF) zeigte keine statistisch signifikante Korrelation weder für die Substanzgruppe der PAFs (blau) noch die der FLU-Analoga (grün).^[100] Unter Einbeziehung aller untersuchten Verbindungen zeigte sich jedoch eine moderate positive Korrelation ($p = 0,016$, $R^2 = 0,42$;

Abbildung 30, A), nach der eine erhöhte Anreicherung bei höherer Lipophilie zu erkennen ist.^[100] Das Fehlen eines konsistenten Trends innerhalb der Substanzgruppen deutet darauf hin, dass Lipophilie zwar eine relevante, jedoch untergeordnete Rolle bei der Wurzelakkumulation der hier untersuchten Verbindungen spielt.^[100] Die Lipide, welche sich in den Pflanzenwurzeln befinden, fördern aufgrund ihrer Interaktion mit den aufgenommenen Pflanzenschutzmitteln die Anreicherung lipophiler Substanzen im Wurzelgewebe, was zu einer erhöhten Retention und somit einer Korrelation zwischen $\log K_{OW}$ und $\log RCF$ führt.^[80,93,94,100] Eine Untersuchung der Aufnahme von elf unterschiedlichen Pflanzenschutzmitteln in Weizen zeigte ebenfalls nur eine geringe Korrelation, was mit den hier erhaltenen Ergebnissen übereinstimmt.^[93,100] Die Diskrepanz zu anderen Aufnahmestudien, welche ein größeres Maß an positiver Korrelation gefunden haben, lässt sich vermutlich durch den vergleichsweise geringen Lipidgehalt in den Weizenwurzeln erklären, welcher den Einfluss der Lipophilie auf die Wurzelakkumulation reduziert.^[100,314]

Die Analyse der Abhängigkeit der Wurzelakkumulation ($\log RCF$) vom Molekulargewicht (M) der Wirkstoffe zeigte eine signifikante positive Korrelation für die Summe aller Substanzen sowie für die FLU-Analoga, jedoch nicht für die PAFs (Abbildung 30, B).^[100] Die fehlende Signifikanz der Korrelation bei den PAFs liegt vermutlich darin begründet, dass die Struktur und das Molekulargewicht der PAFs sehr ähnlich ist (278,3 – 325,4 g/mol).^[100] Somit sind die Unterschiede im Molekulargewicht vermutlich zu gering, um einen signifikanten Einfluss auf die Aufnahme sowie Verteilung der Fungizide in den Weizenpflanzen zu haben.^[100] Im Gegensatz dazu sind Unterschiede zwischen den PAFs in anderen Eigenschaften wie der Lipophilie deutlich ausgeprägter, sodass diese Parameter, selbst wenn das Molekulargewicht die dominierende Rolle bei der Wurzelakkumulation spielen sollte, einen vergleichsweise stärkeren Einfluss auf die Aufnahme dieser Substanzgruppe hätte. Für die FLU-Analoga zeigte sich eine starke positive Korrelation zwischen M und $\log RCF$, welche etwa 88 % der Variation in der Wurzelanreicherung zwischen den Verbindungen erklärt ($R^2 = 0,88$).^[100] Das ist ein signifikant höheres Bestimmtheitsmaß als unter Einbezug aller Substanzen, wo das Molekulargewicht weniger als 40 % der Variation des RCF erklärte ($R^2 = 0,38$).^[100] Dieses Resultat stimmt mit den Ergebnissen früherer Studien überein, welche ebenfalls eine positive Korrelation von Molekulargewicht und RCF nachweisen konnten.^[100] Dabei konnten Studien, welche viele strukturell sehr unterschiedliche Substanzen untersucht haben, nur eine moderate Korrelation feststellen ($R^2 = 0,36$ und $0,45$), während Untersuchungen innerhalb einer Stoffklasse von Substanzen eine deutlich höhere Korrelation identifizierten ($R^2 = 0,83$).^[71,93,100,107] Dies bestätigt die gesteigerte Aussagekraft von Aufnahmestudien, bei welchen eine gezielte Analyse strukturell ähnlicher Verbindungen durchgeführt wurde, um definitive Schlussfolgerungen über den Einfluss einzelner Parameter zu erhalten.^[100] Die

Korrelation von Lipophilie und Molekulargewicht mit dem Maß an akropetalem Transport in die Weizentriebe ist in Abbildung 31 dargestellt.

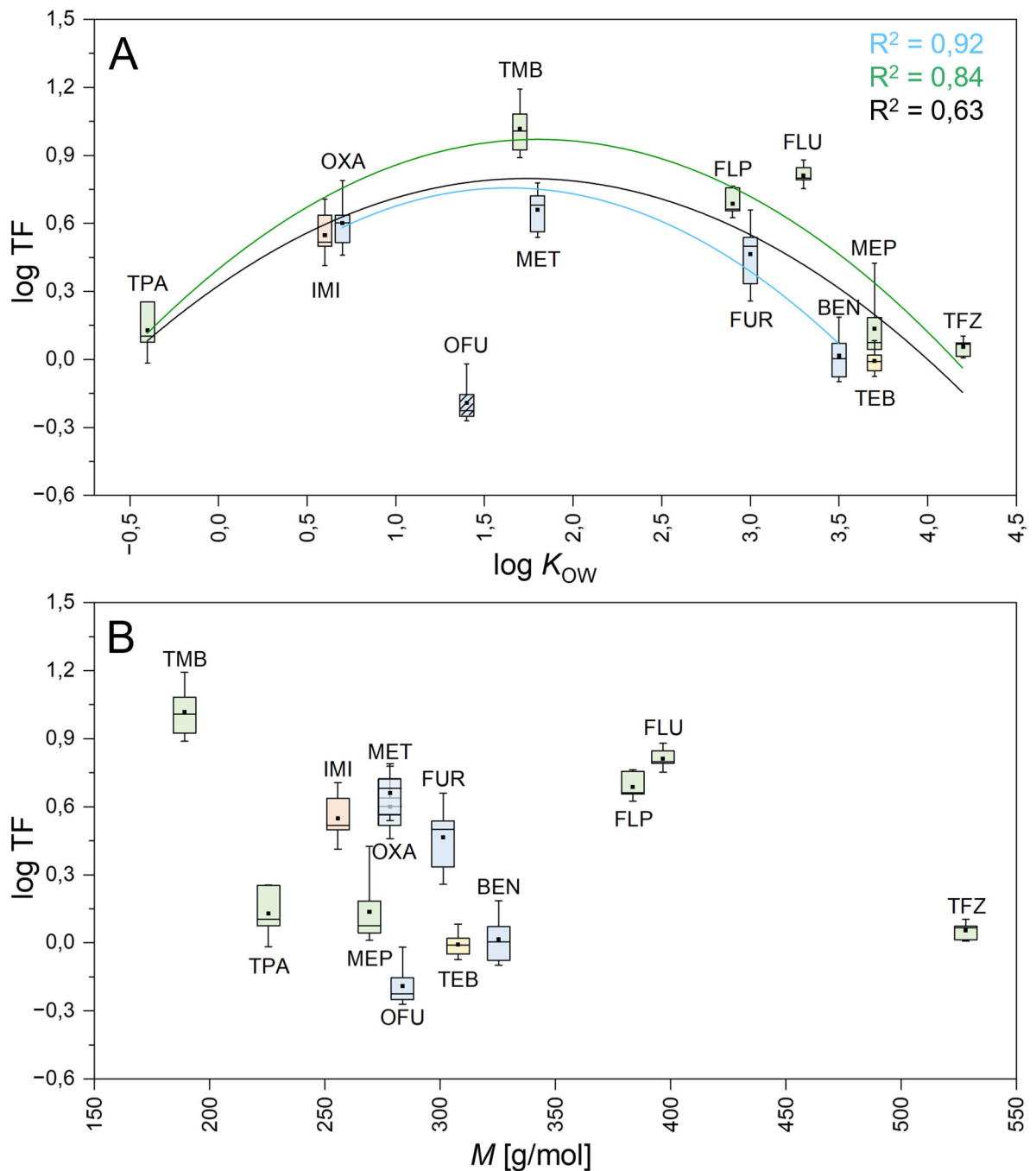


Abbildung 31: Korrelation zwischen der Translokation in oberirdische Weizenteile ($\log TF$) und der Lipophilie ($\log K_{OW}$; A) bzw. des Molekulargewichts (M ; B) der Pflanzenschutzmittel. Zu den PAFs zugehörige Boxplots sind in blau dargestellt, während zu den FLU-Analoga gehörende Boxplots grün eingefärbt sind. Jeder Boxplot basiert auf den experimentellen Daten von 12 Replikaten ($n = 12$) und die Signifikanz der polynomialen Regressionen (blau = PAFs, grün = FLU-Analoga, schwarz = Einbezug aller Pflanzenschutzmittel) wurde mittels R^2 dargestellt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100]

Zur Visualisierung der Abhängigkeit des TF von der Lipophilie wurde ein polynomialer Regressionsansatz gewählt, in Einklang mit den bisherigen Literaturergebnissen zum

Transport der Wirkstoffe mit dem Transpirationsstrom (siehe Kapitel 1.3).^[100] Aufgrund der begrenzten Datensätze zeigte nur das Modell mit allen Substanzen eine signifikante Abweichung von einer konstanten Funktion ($p < 0,05$).^[100] OFU wurde aufgrund seines vermutlich starken Abbaus und seiner daraus resultierenden geringen Konzentration im Spross (siehe Kapitel 4.3.2) aus der polynomialen Anpassung ausgeschlossen.^[100] Dies zeigt, dass die Metabolisierung der Wirkstoffe einen starken Einfluss auf Biometriken wie RCF und TF haben kann, da die Metaboliten selbst von diesen nicht miterfasst werden.^[95] Somit ist ein relativer Vergleich der Wirkstoffe erschwert, sollten diese in unterschiedlichem Maße in der Pflanze abgebaut werden.^[95] Alle drei polynomialen Funktionen zeigen einen allgemeinen Trend, wonach ihr Hochpunkt und somit die maximale Translokation bei einer mittleren Lipophilie der Wirkstoffe erreicht wird.^[100] Dies passt zu den Resultaten anderer Aufnahmestudien (siehe Kapitel 1.3).^[76,78,105] Die durch die Regression bestimmte optimale Lipophilie lagen bei $\log K_{OW} = 1,64$ für PAFs, $\log K_{OW} = 1,80$ für FLU-Analoga und unter Einbezug aller Substanzen bei $\log K_{OW} = 1,74$ und stimmen damit gut mit dem von BRIGGS *et al.* prognostizierten Idealwert für den akropetalen Transport von $\log K_{OW} = 1,78$ überein.^[57,89,100] Die y-Werte der Regressionskurve der FLU-Analoga lag deutlich über denen der Kurve der PAFs ($TF_{FLU-Analoga} > TF_{PAFs}$).^[100] Diese Differenz könnte auf einen aktiven Transport der FLU-Analoga hindeuten, da ein Transport unter Beteiligung von Transportproteinen zu einer zusätzlichen Anreicherung führen würde, welche die allein durch passive Aufnahme über den Transpirationsstrom prognostizierten Werte übersteigen würde.^[88,100] Die gemeinsame Untersuchung von strukturell unterschiedlichen Substanzgruppen mit stark unterschiedlichen Lipophilien kann daher, insbesondere bei ungleichem Einfluss aktiver Transportmechanismen, die Form der Regressionskurve möglicherweise verzerren und somit zu Fehlinterpretationen führen.^[100]

Eine Untersuchung der Abhängigkeit des TSCF (berechnet nach Gleichung 7) vom $\log K_{OW}$, wie sie häufig in der Literatur zu finden ist (siehe Kapitel 1.3), zeigte eine deutlich geringere Korrelation für die hier untersuchten Verbindungen (Abbildung 87).^[78,95,100,105] Da der TF auf der tatsächlichen Verteilung der Pflanzenschutzmittel zwischen Wurzeln und Spross basiert, bezieht er implizit zusätzlich Effekte wie einen aktiven Transport durch Transporterproteine im Phloem mit ein.^[315] Der TSCF, als theoretischer oder semi-theoretischer Parameter bezieht sich jedoch ausschließlich auf die Konzentration der Wirkstoffe im Xylemstrom und kann somit aktive Prozesse nur unzureichend berücksichtigen.^[126] Im Falle, dass aktive Prozesse den Verteilungsprozess von Wirkstoffen dominieren, könnte es durch den TSCF zu einer falschen Einschätzung der Mobilität der Substanzen kommen. Ein zusätzlicher Aspekt könnte zudem sein, dass der TSCF bzw. die Gleichung zur Berechnung des TSCF häufig aus

Modellversuchen oder Simulationen abgeleitet ist und die erhaltenen Werte somit methodisch variieren können.

Zwischen der molaren Masse der Substanzen und ihrem TF konnten keine signifikanten Abhängigkeiten festgestellt werden (Abbildung 31, B).^[100] Die fehlende Korrelation deutet darauf hin, dass die Molekülgröße im Vergleich zu anderen physikochemischen Parametern nur eine untergeordnete Rolle für die Translokation von Substanzen spielt.^[100] Diese Beobachtung deckt sich mit Studien zur Aufnahme von Pflanzenschutzmitteln in Mais, welche ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen Molekulargewicht und dem Maß an akropetalem Transport feststellen konnten.^[71]

4.3.4 Visualisierung der Verteilung von Phenylamiden in Weizenwurzeln

Zusätzlich zu den quantitativen Ergebnissen, welche mittels HPLC-HRMS gewonnen werden konnten, konnte die Verteilung der PAFs MET, FUR und BEN in ausgewachsenen Primärwurzeln von Weizenpflanzen mithilfe von MALDI-MSI visualisiert werden.^[100] Um eine möglichst gute Bildgebung zu ermöglichen, wurden ältere Weizenpflanzen einer 10 µM pflanzenschutzmittelhaltigen Nährlösung exponiert.^[100] Die größere Wurzelstruktur erlaubte dabei die Aufnahme einer höheren absoluten Menge an Pflanzenschutzmittel und somit eine bessere räumliche Auflösung der MALDI-Messung sowie das Anfertigen von morphologisch weniger beschädigten Wurzelschnitten. Eine mikroskopische Darstellung der Weizenwurzel mit Annotation ihrer Hauptbestandteile sowie die räumliche Verteilung der PAFs in der Wurzel ist in Abbildung 32 dargestellt.

MET zeigt eine homogene Verteilung in der Weizenwurzel mit einer lokalen Anreicherung in der Epidermis sowie im Zentralzylinder im Bereich der Leitbündel und des Marks.^[100] Dies zeigt die hohe Mobilität des Fungizids in der Weizenwurzel, welches nach der Aufnahme, ohne durch Barrieren wie den Casparischen Streifen aufgehalten zu werden und dort zu akkumulieren, zu den Leitbündeln vordringen kann. Im Vergleich zu MET war die Anzahl detektierbarer Signale für FUR deutlich geringer, wobei die Anreicherung überwiegend auf die Epidermis beschränkt war und nur vereinzelte Signale im Bereich der Leitbündel auftraten.^[100] BEN zeigte eine ausgeprägte Bioakkumulation im Kortextgewebe, mit vergleichsweise wenigen Signalen innerhalb des Zentralzylinders in Nähe der Leitbündel.^[100]

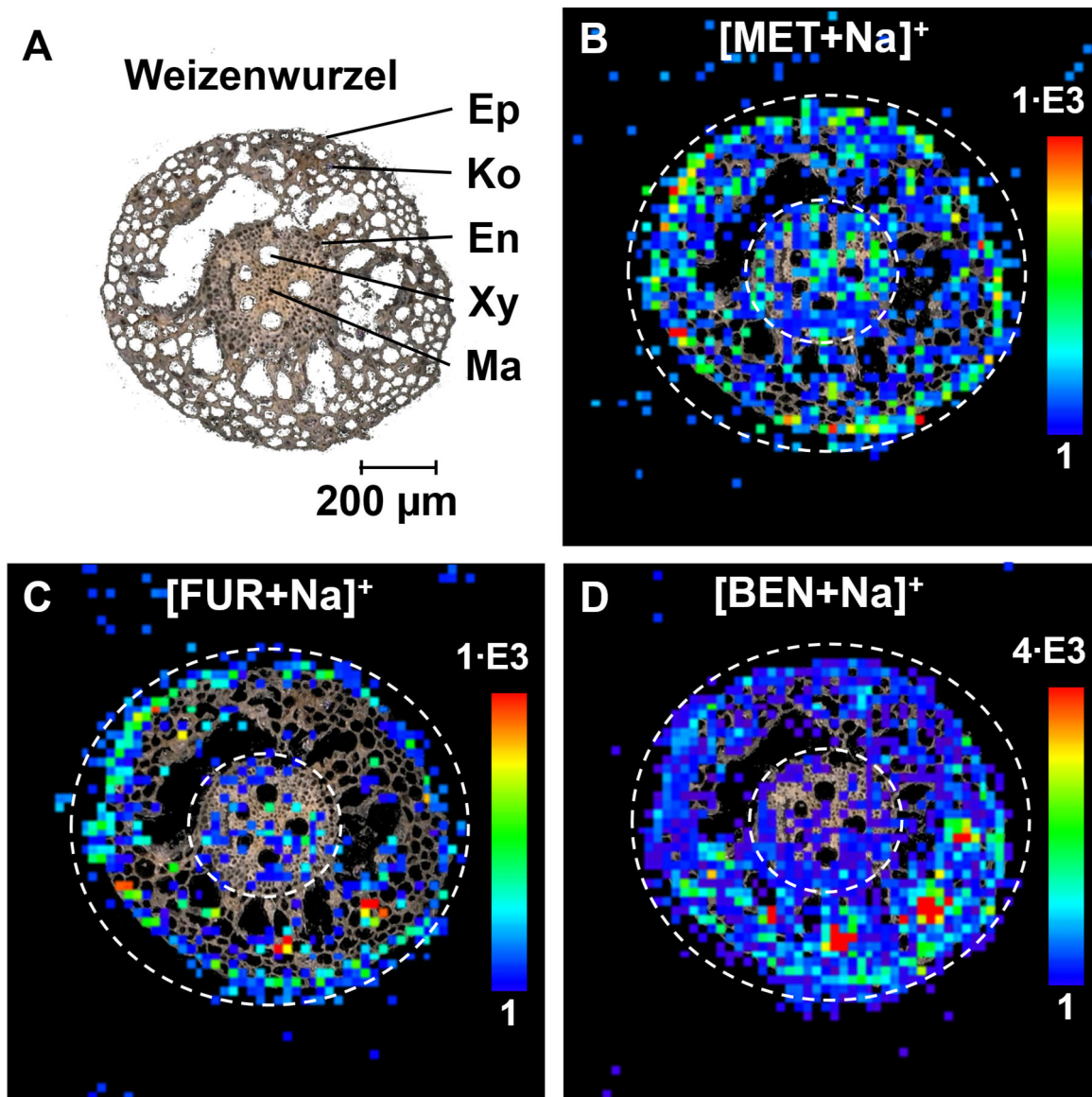


Abbildung 32: Räumliche Verteilung von MET, FUR und BEN in der Weizenwurzel nach Aufnahme aus der hydroponischen Lösung. Mikroskopbild der Weizenwurzel (A), welche Epidermis (Ep), Kortex (Ko), Endodermis (En), Xylem (Xy) und Mark (Ma) zeigt sowie Lokalisierung von MET (B), FUR (C) und BEN (D) mittels MALDI-MSI. Die zwei gestrichelten Kreise markieren anatomisch unterschiedliche Bereiche der Wurzel. Die Leitbündel befinden sich innerhalb des inneren Kreises, während das Kortexgewebe zwischen dem inneren und äußeren Kreis liegt. Signalintensitäten oberhalb des auf der Farbskala angegebenen Schwellenwerts werden als maximal intensiv (rot) dargestellt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100]

Das Kortexgewebe der Pflanzenwurzeln, das die Pflanzenschutzmittel passieren müssen, um die Leitbündel zu erreichen und anschließend akropetal in den Spross transportiert zu werden, enthält eine signifikante Menge an Lipiden.^[100,316] Entsprechend sollten die physikochemischen Eigenschaften der Wirkstoffe, besonders die Lipophilie, für ihre räumliche Verteilung in der Weizenwurzel entscheidend sein.^[100–102] Zur besseren Visualisierung wurde die Wurzel in zwei Regionen mittels weiß gestrichelter Kreise unterteilt: Der Zentralzylinder mit den Leitbündeln

innerhalb des inneren Kreises und das Kortexgewebe einschließlich der Epidermis im Bereich zwischen dem inneren und äußeren Kreis.^[100] Ein optischer Vergleich der erhaltenen Ionenbilder zeigt, dass MET die meisten Signale im inneren Kreis aufweist, während BEN sich vor allem außerhalb des zentralen Zylinders befindet. FUR zeigte eine Verteilung, welche sich zwischen der von MET und BEN einordnen lässt.

Zusätzlich wurden die Intensitäten aller Signale in den beiden Regionen mithilfe eines Python-Skriptes (dargestellt in Kapitel 7.1.2) zur graphischen Auswertung erfasst und ins Verhältnis gesetzt, um ein semiquantitatives Ergebnis bezüglich der Signalintensität pro Fläche zu erhalten (Abbildung 32). Dieser Wert, welcher als Z/Ko-Verhältnis die Signale im inneren Kreis nahe den Leitbündeln im Zentralzylinder (Z) mit denen außerhalb des inneren Kreises im Kortexgewebe (Ko) vergleicht, zeigt eine eindeutige Entwicklung innerhalb der Gruppe der PAFs.^[100] Dies ist ein abnehmender Trend im Verhältnis der Signalintensität pro Fläche zwischen Zentralzylinder und Kortexgewebe, mit dem höchsten Wert für MET ($Z/Ko = 1,07$; $\log K_{ow} = 1,8$), gefolgt von FUR ($Z/Ko = 0,58$; $\log K_{ow} = 3,0$) und BEN ($Z/Ko = 0,40$; $\log K_{ow} = 3,5$).^[100] Dieser Verteilungstrend korreliert mit der zunehmenden Lipophilie der Substanzen, die vermutlich zu einer stärkeren Retention in den Lipiden des Kortexgewebes führt.^[100] Nach aktuellem Kenntnisstand stellt dieses Ergebnis die erste direkte Visualisierung dar, wie Lipophilie die räumliche Verteilung von Pflanzenschutzmitteln im Wurzelgewebe beeinflusst.^[100] Eine hohe Korrelation des Z/Ko-Verhältnisses mit dem TF wurde bereits für die Aufnahme von verschiedenen Pharmaka in *Pistia stratiotes* beschrieben.^[100,228] Das hier erhaltene Ergebnis unterstützt die Validität dieser Korrelation, da in dieser Arbeit ebenfalls ein abnehmender TF von MET über FUR zu BEN gezeigt wurde, was mit der beobachteten räumlichen Substanzverteilung übereinstimmt.^[100]

4.3.5 Kapitelzusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die Wurzelaufnahme und Translokation von 13 Pflanzenschutzmitteln und Metaboliten, bestehend aus fünf Phenylamiden (PAFs) und sechs Fluopyram-Analoga (FLU-Analoga), in hydroponisch kultiviertem Weizen untersucht.^[100] Ein Vergleich der Aufnahme von IMI, MET, FLU und TEB nach Applikation als Mischung und einzelner Exposition zeigte, dass die gemessene Konzentrationen im Pflanzengewebe nach beiden Versuchstypen für alle Substanzen bis auf FLU keine signifikanten Unterschiede zeigen. Bei FLU wurde hingegen eine deutlich geringere Aufnahme nach Mischexposition festgestellt, welche auf einen signifikanten Anteil an aktiven Prozessen an der Aufnahme und dem Transport hindeutet.

Um den Einfluss der molaren Masse (M) sowie der Lipophilie ($\log K_{ow}$) auf die Akkumulation in Wurzeln (RCF) sowie die Translokation (TF) genauer untersuchen zu können, wurden zwei Gruppen strukturell ähnlicher Verbindungen ausgewählt.^[100] Obwohl PAFs generell eine hohe Mobilität in Weizen zeigten, deutet die unerwartet geringe Bioakkumulation von OFU darauf hin, dass uneinheitlich auftretende metabolische Umwandlungen innerhalb einer Substanzklasse die Korrelation zwischen Substanzverhalten und physikochemischen Eigenschaften zusätzlich erschweren.^[100] Die hohen TF-Werte der großen FLU-Analoga zeigen, dass die Annahme einer Obergrenze für die molare Masse von etwa 400 g/mol, ab welcher die Substanzen in der Wurzel akkumulieren und nicht mehr in signifikanten Mengen akropetal transportiert werden, nicht haltbar ist.^[100]

Während für die Summe aller Substanzen eine moderate positive Korrelation zwischen der Wurzelakkumulation und der Lipophilie gefunden wurde, zeigte sich bei den FLU-Analoga eine starke positive Korrelation zwischen RCF und Molekülmasse.^[100] Ebenso wurde eine polynomiale Korrelation zwischen TF und Lipophilie gefunden, wobei die Abhängigkeit deutlich stärker bei ausschließlicher Betrachtung strukturell ähnlicher Substanzgruppen war.^[100] Dieses Ergebnis unterstreicht die höhere Aussagekraft über den Einfluss einzelner Parameter bei einer gezielten Untersuchung strukturell verwandter Verbindungen.^[100]

Zusätzlich zu den durch HPLC-HRMS gewonnenen Ergebnissen ermöglichten MALDI-MSI-Experimente die erstmalige Visualisierung von drei PAFs im Wurzelgewebe von Weizenpflanzen. Die erhaltenen Verteilungsbilder zeigten deutliche Unterschiede in der Lokalisierung der Substanzen, welche mit deren Lipophilie korreliert. PAFs mit geringerer Lipophilie reichern sich verstärkt im Zentralzylinder in Nähe der Leitbündel an und können dadurch stärker in den Spross verlagert werden. Somit korreliert die räumliche Verteilung in den Querschnitten von Weizenwurzeln mit dem TF der Pflanzenschutzmittel.

4.4 Analyse der Aufnahme und Translokation von Spirotetramat, Spirotetramat-Enol und Metalaxyl in Mais

Die bildgebende Analyse der PAFs in Weizenwurzeln (Kapitel 4.3.4) zeigte eine signifikante Korrelation zwischen der räumlichen Verteilung und dem Transportverhalten. In den nachfolgenden Aufnahmeexperimenten sollte MALDI-MSI in Kombination mit HPLC-HRMS eingesetzt werden, um verschiedene Transport- und Akkumulationsprozesse von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen zu identifizieren. Zu diesem Zweck wurde die Aufnahme von Spirotetramat (SPI), seinem Hauptmetaboliten Spirotetramat-Enol (SPI-E) und Metalaxyl (MET) aus dem hydroponischen System in Maispflanzen untersucht. Durch einen Vergleich der Wirkstoffanreicherung nach Zugabe von entweder SPI oder SPI-E zur hydroponischen Nährlösung konnten unterschiedliche Mobilitäten des Pflanzenschutzmittels und seines Metaboliten nachgewiesen werden. Im Anschluss daran wurden die Akkumulationsorte der Verbindungen in den Maisorganen mithilfe von MALDI-MSI identifiziert. Dies ermöglichte eine Erklärung des differenten Verhaltens von SPI und SPI-E sowie der Transportwege der Pflanzenschutzmittel in Nutzpflanzen.

Teile dieses Kapitels wurden bereits in der Bachelorarbeit von TILL BEBENROTH beschrieben sowie publiziert: **Skoczowsky, D.**; Bebenroth, T.; Kubicki, M.; Zühlke, S., *Spatial analysis of uptake and accumulation of metalaxyl, spirotetramat, and spirotetramat-enol in maize at the micrometer scale using HPLC-HRMS and MALDI-MSI*. *J. Hazard. Mater.* **2025**, *489*, 137610.

4.4.1 Einfluss der Pflanzenschutzmittel auf die Gesundheit der Maispflanzen

Die Maispflanzen wurden entweder einem Gemisch aus MET und SPI oder MET und SPI-E bei zwei verschiedenen Konzentrationen (1 und 10 μM) ausgesetzt, um Unterschiede in der Aufnahme und Translokation von MET, SPI und SPI-E feststellen zu können. Das Experiment wurde folglich mit vier verschiedenen experimentellen Gruppen und zusätzlichen Kontrollgruppen, welche keinen Kontakt mit den Pflanzenschutzmitteln, jedoch mit dem organischen Lösungsmittel DMSO hatten, durchgeführt. Die Selektion dieser Substanzen erfolgte aufgrund der grundlegenden Unterschiede in ihren physikochemischen Eigenschaften, ihres unterschiedlichen Verhaltens in Pflanzen in Vorversuchen sowie ihrer Eignung für die Analyse mittels MALDI-MSI.

Physiologisch waren die Maispflanzen aus allen Experimenten sowie den Kontrollgruppen gesund und wiesen keine größeren Schäden auf, die auf eine veränderte Interaktion der Pflanzen mit den aufzunehmenden Wirkstoffen schließen lassen könnten.^[26] In manchen Fällen war zu Ende des Experimentes eine leichte Chlorose zwischen den Blattadern der

jüngeren Blätter sowie an den Spitzen der älteren Blätter ersichtlich (Abbildung 88).^[26] Zudem konnte eine Reduktion des Wurzelwachstums der Maispflanzen aus der experimentellen Gruppe, welche einer 10 μM Konzentration der Wirkstoffe ausgesetzt war, beobachtet werden (Abbildung 33).^[26]

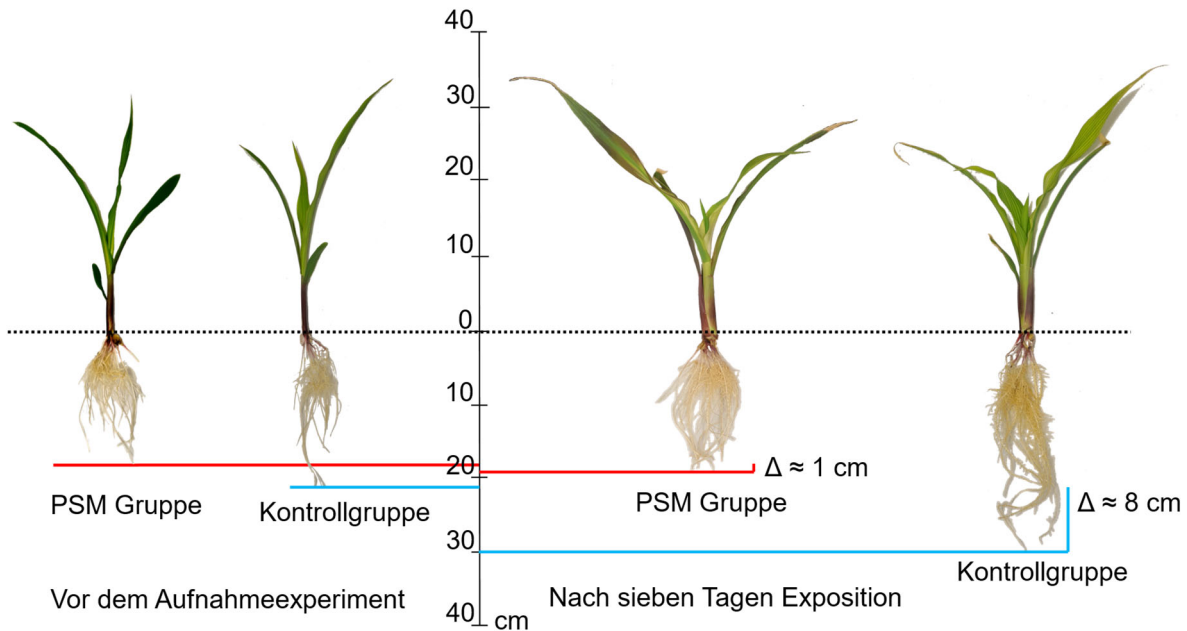


Abbildung 33: Inhibition des Wurzelwachstums von Maispflanzen durch die Exposition gegenüber 10 μM der Pflanzenschutzmittel (PSM) SPI und MET für sieben Tage in der hydroponischen Nährlösung. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Eine Inhibition des Wachstums von Mais aufgrund von chemischem Stress durch Exposition zu Pflanzenschutzmitteln wurde bereits in unterschiedlichen Studien beschrieben.^[317–319] Bei der Behandlung von Maissetzlingen unter Einsatz der empfohlenen Felddosis einer Vielzahl von Pflanzenschutzmitteln wurde ein reduziertes Wurzelwachstum sowie eine geringere Sprosslänge beobachtet.^[318] Dass die Inhibition nach hydroponischer Aufnahme vor allem die Wurzeln betrifft, liegt wahrscheinlich darin begründet, dass die Wurzeln einen direkten Kontakt zu den Substanzen hatten und somit stärker phytotoxisch von diesen beeinflusst sind.^[317]

Da Wachstumsparameter wie der Pflanzenwachstumsindex (FGI) und die Wassernutzungseffizienz (WUE) gute Indikatoren von subletalem Stress sind, wurden diese berechnet, um die Pflanzengesundheit quantitativ beurteilen zu können und einen Vergleich zwischen den vier Experimenten zu ermöglichen.^[26,235,236,320] Die Aufnahmeexperimente bei einer Konzentration von 1 μM resultierten in einem FGI von $1,7 \pm 0,2$ (MET + SPI) und $2,5 \pm 0,2$ (MET + SPI-E), während die zugehörige Kontrollgruppe ohne Pflanzenschutzmittelexposition (60 ppm DMSO) ebenfalls einen FGI von $1,7 \pm 0,3$ aufwies.^[26] Dies suggeriert, dass keine Inhibition des Pflanzenwachstums bei 1 μM Konzentration stattfand. Im Gegensatz verzeichneten die Pflanzen, welche einer Exposition von MET + SPI-E

ausgesetzt waren, ein verstärktes Wachstum.^[26] Die Pflanzenentwicklung kann durch Pflanzenschutzmittel gefördert werden, jedoch hängt dies stark von den verwendeten Pflanzenschutzmitteln sowie deren Konzentration ab.^[26,321] So fanden HILLEBRANDS *et al.* in einer hydroponischen Aufnahmestudie heraus, dass MET in einer Konzentration von 10 µM den FGI von Hanfpflanzen im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht.^[26,138] Bei einer 10 µM Exposition waren die FGI deutlich reduziert mit $0,6 \pm 0,2$ (MET + SPI) und $1,1 \pm 0,1$ (MET + SPI-E), während die Kontrollgruppe (600 ppm DMSO) einen FGI von $2,0 \pm 0,1$ aufwies.^[26] Somit ist bei hoher Wirkstoffkonzentration eine Inhibition des Biomassezuwachses der Pflanzen ersichtlich, was durch das reduzierte Wurzelwachstum indiziert wurde.^[26] Diese Inhibition ist ausgeprägter für die Pflanzen in der MET + SPI-Gruppe.^[26] Ein Vergleich der Kontrollgruppen aus beiden Experimenten (60 und 600 ppm DMSO) zeigt, dass der Anteil DMSO in der Nährstofflösung keinen Effekt auf die Gesundheit der Pflanzen hatte.^[26]

Die berechnete Wassernutzungseffizienz (WUE), welche die Transpiration zusätzlich zum Wachstum miteinbezieht, zeigt ein vergleichbares Bild. Da subletale phytotoxische Effekte sich schneller auf die Transpiration als auf die Biomasse einer Pflanze auswirken, könnte die WUE ein sensitiverer Parameter zur Bestimmung des Stresses der Maispflanzen in kürzeren Aufnahmestudien sein. Die WUE der Kontrollgruppen lag im Bereich von $90 \pm 0,3$ bis 110 ± 17 g/L ohne einen Indikator dafür, dass der DMSO-Anteil einen phytotoxischen Einfluss hat. In beiden Gruppen, die 10 µM ausgesetzt waren, wurde eine ähnliche WUE von 65 ± 18 g/L (MET + SPI) und 68 ± 10 g/L (MET + SPI-E) beobachtet. Bei der geringeren Expositionskonzentration von 1 µM wurde hingegen eine höhere WUE nach Aufnahme von MET + SPI-E (WUE = 107 ± 5 g/L) als nach Aufnahme von MET + SPI (WUE = 85 ± 12 g/L) festgestellt. Somit lässt sich bei der höheren Wirkstoffkonzentration ein geringer phytotoxischer Effekt vermuten, wohingegen bei der niedrigeren Konzentration kein signifikanter Effekt nachweisbar war.

4.4.2 Aufnahme und Translokation von MET, SPI und SPI-E

Im Gegensatz zu den übrigen in dieser Arbeit untersuchten Verbindungen zeigte SPI in der hydroponischen Nährlösung bei Abwesenheit einer Pflanze eine Konzentrationsabnahme, weshalb die Stabilität dieses Wirkstoffes näher untersucht wurde (Abbildung 34).^[26]

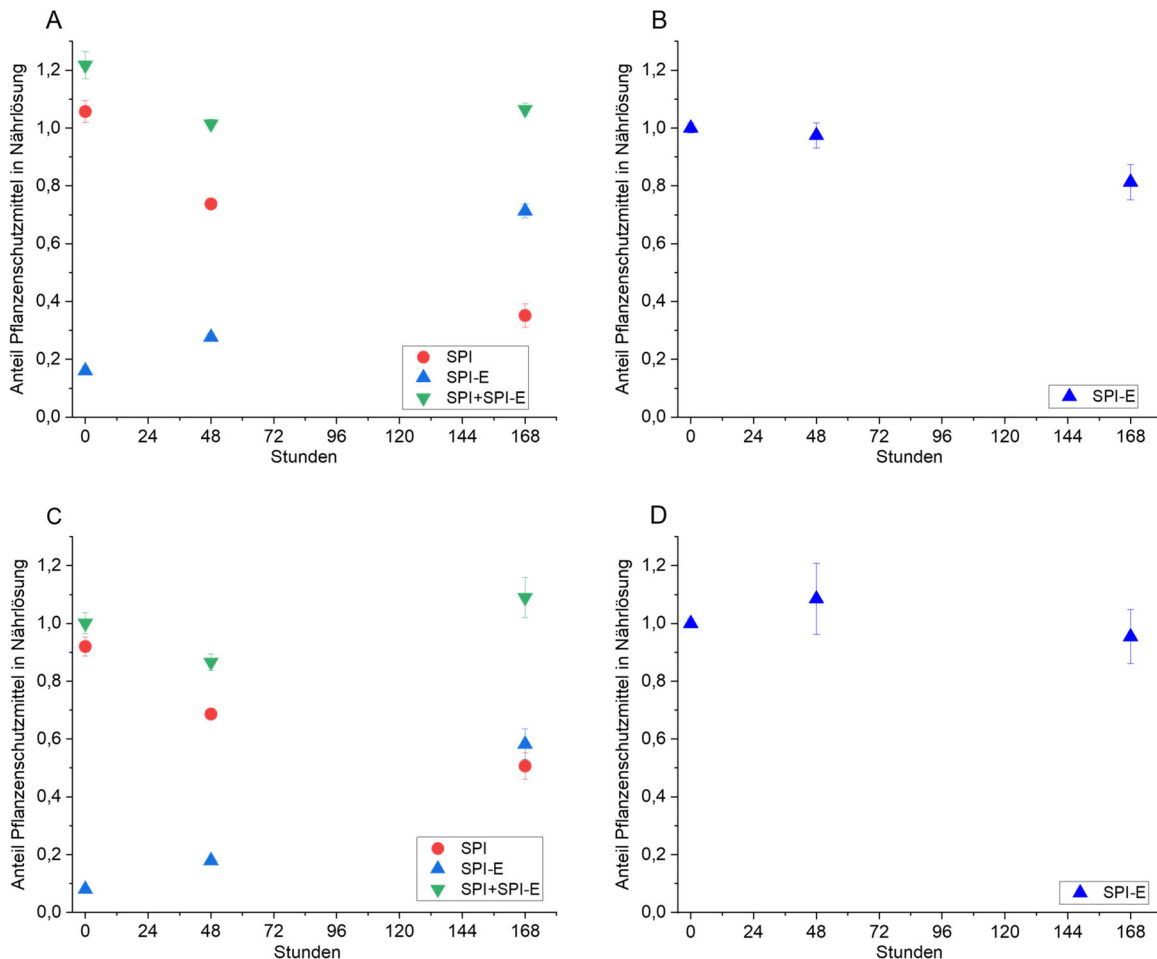


Abbildung 34: Anteil an SPI und SPI-E in der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung in Abwesenheit einer Pflanze zur Kontrolle der Wirkstoffstabilität von SPI (bezogen auf die Initialkonzentration von 1 oder 10 mM). A: Nährlösung dotiert mit SPI bei einer Konzentration von 1 µM. B: Nährlösung versetzt mit SPI-E bei einer Konzentration von 1 µM. C: Nährlösung dotiert mit SPI bei einer Konzentration von 10 µM. D: Nährlösung versetzt mit SPI-E bei einer Konzentration von 10 µM.

Während die Konzentration von MET in allen vier experimentellen Setups über sieben Tage lang konstant blieb (Abbildung 14), nahm die Konzentration von SPI in der Nährstofflösung kontinuierlich ab.^[26] Diese Abnahme konnte primär auf die Umwandlung zu SPI-E durch Hydrolyse zurückgeführt werden.^[26] Dadurch konnte innerhalb eines Zeitraumes von sieben Tagen eine Abnahme der SPI-Konzentration in den pflanzenlosen Kontrollexperimenten um mehr als 50 % festgestellt werden.^[26] Diese Reduktion ist größer bei einer initialen Konzentration an SPI von 10 µM im Vergleich zu 1 µM.^[26] Im Gegensatz dazu wurde bei

direkter Zugabe von SPI-E in die hydroponische Nährlösung nur eine minimale Abnahme bei 10 μM und keine Abnahme bei 1 μM Startkonzentration beobachtet.^[26] Auch bei Betrachtung der Summe aus SPI und SPI-E wurde keine signifikante Reduktion der Gesamtkonzentration bei beiden experimentellen Gruppen festgestellt.^[26] Weder bei Anwesenheit noch Abwesenheit einer Maispflanze wurden Abbauprodukte des MET oder SPI-E in signifikanten Intensitäten nachgewiesen.^[26] Allein Spirotetramat-Ketohydroxy als Abbauprodukt des SPI-E wurde nach sieben Tagen mit einer Intensität geringer als 1 % der anfänglichen Intensität von SPI-E in der Nährstofflösung detektiert.^[26,55]

Nach einer Expositionsdauer von sieben Tagen konnten MET und SPI bzw. SPI-E in den Wurzeln und Trieben aller vier Versuchsgruppen detektiert werden.^[26] Die gemessenen Konzentrationen der Pflanzenschutzmittel in Wurzeln und Trieben, aufgeteilt nach den vier unterschiedlichen experimentellen Gruppen, sind in Abbildung 35 dargestellt. Die Konzentrationsreihenfolge in den Wurzeln sowie in den Trieben war in allen vier Experimenten: MET > SPI-E > SPI. Dabei überstieg die gemessene Konzentration von MET durchgängig die Summe aus SPI und SPI-E, was von einer signifikant höheren Bioakkumulation des Fungizids zeugt. Um das Aufnahme- und Verteilungsverhalten der Wirkstoffe in den Maispflanzen besser beurteilen und vergleichen zu können, wurden der RCF und der TF als Bioakkumulationsmetriken berechnet.^[26,89,125,205,322] Zur Bewertung des Aufnahmeverhaltens und Verbleibs von SPI wurde die Summe von SPI und SPI-E, bezeichnet als SPI_{Summe}, zur Berechnung verwendet.^[26] Dies entspricht der von der EFSA verwendeten Rückstandsdefinition für SPI.^[26,323]

4. Ergebnisse und Diskussion

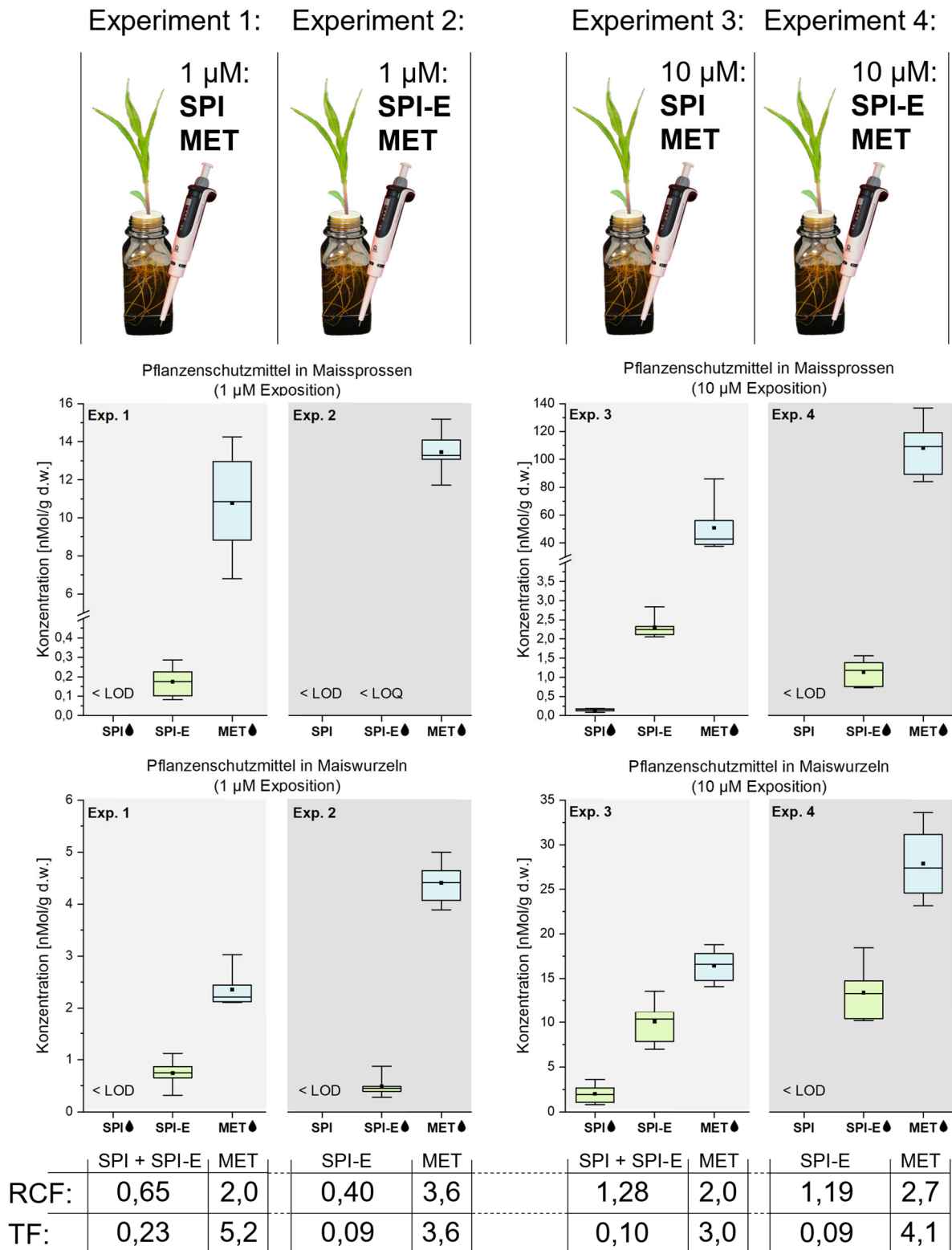


Abbildung 35: Konzentrationen von MET, SPI und SPI-E in Wurzeln und Trieben von Mais nach Aufnahme über die Wurzeln für sieben Tage aus einem hydroponischen System. Oberhalb der Boxplots sind die zugegebenen Wirkstoffe und deren Konzentration vermerkt. $LOQ_{SPI} = 1.3 \text{ pmol/g d.w.}$ (0.5 ng/g d.w.); $LOQ_{SPI-E} = 3.3 \text{ pmol/g d.w.}$ (1 ng/g d.w.); $LOQ_{MET} = 3.6 \text{ pmol/g d.w.}$ (1 ng/g d.w.). Die unten dargestellten RCF und TF wurden für die Summe aus SPI und SPI-E berechnet. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Wie in Abbildung 35 ersichtlich, lag der durchschnittliche RCF-Wert von $\text{SPI}_{\text{Summe}}$ bei einer $10 \mu\text{M}$ Exposition zwischen $1,28 \pm 0,29$ (Exp. 3) und $1,19 \pm 0,28$ (Exp.4), unabhängig davon, ob SPI oder SPI-E der Nährstofflösung initial hinzugegeben wurden.^[26] Auch bei einer geringeren Konzentration von $1 \mu\text{M}$ waren die berechneten $\text{RCF}_{\text{SPI}_{\text{Summe}}}$ aus beiden Experimenten (Exp. 1 und Exp. 2) vergleichbar.^[26] Diese Ergebnisse legen nahe, dass sowohl SPI als auch SPI-E in den Maiswurzeln akkumulieren und dies in einem ähnlichen Maße tun.^[26,301] Selbst in der Annahme, dass ein signifikanter Anteil von SPI in Exp. 1 und 3 bereits in der Nährstofflösung durch Hydrolyse zu SPI-E umgewandelt wurde, ist diese vergleichbare Bioakkumulation aufgrund der signifikant unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften von SPI (Log KOW = 2,51, pKa = 10,7) und SPI-E (Log KOW = 0,3, pKa = 5,2) überraschend.^[26,324] Die beobachtete Akkumulation in Maiswurzeln ist vergleichbar mit der in Salatpflanzen, in welchen Liu et al. einen $\text{RCF}_{\text{SPI}_{\text{Summe}}}$ zwischen 0,8 und 3,6, abhängig von der Expositionsdauer, feststellten.^[26,302]

Auch in Exp. 1 und 3, in welchen SPI der Nährlösung zugesetzt wurde, wurde primär der Hauptmetabolit SPI-E in den Trieben der Maispflanzen detektiert (Abbildung 35).^[26] In Exp. 1 lag die Konzentration von SPI in den Trieben sogar unter der Bestimmungsgrenze (LOQ). Dies deutet darauf hin, dass SPI entweder direkt in den Wurzeln metabolisiert wird, bevor es akropetal in die Triebe transportiert wird, oder dass die Translokation den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt des Prozesses darstellt und die Umwandlung zu SPI-E extrem schnell nach dem Transport geschieht.^[26] Um den Prozess des Transportes und der Umwandlung zu SPI-E besser zu verstehen, wurde die Translokation nach Exposition zu SPI und zu SPI-E verglichen.^[26] Bezogen auf die Experimente bei $1 \mu\text{M}$ (Exp. 1 und 2) wurden durchschnittliche $\text{TF}_{\text{SPI}_{\text{Summe}}}$ -Werte von $0,23 \pm 0,06$ bei Exposition zu SPI (Exp. 1) und $0,09 \pm 0,06$ bei Exposition zu SPI-E (Exp. 2) beobachtet.^[26] Diese TF-Werte der beiden Experimente unterscheiden sich statistisch signifikant (p-Wert < 0,05) voneinander (Abbildung 90, Tabelle 13) und suggerieren, dass nicht eine geringere Transportrate von SPI, sondern die schnelle Umwandlung zu SPI-E Grund für die geringe Menge an SPI in den Trieben ist.^[26] Die Ergebnisse zur Mobilität von SPI (Exp. 1) sind vergleichbar mit Ergebnissen aus der Fachliteratur, in welcher ein TF_{SPI} von 0,2 – 0,4 in chinesischem Kohl^[325] und ein $\text{TF}_{\text{SPI}_{\text{Summe}}}$ von 0,2 in Salat^[302] beobachtet wurde.^[26] Diese Ergebnisse suggerieren einen vergleichbaren Transport von SPI in Mais und in Blattgemüse.^[26] Dies legt nahe, dass ein Erkenntnisgewinn zum Transport von SPI in Mais sich auch auf den Transport von SPI in anderen Pflanzenarten übertragen lassen könnte.^[26] Die metabolische Umwandlung von SPI zu SPI-E passiert sehr schnell in den Wurzeln, mit berichteten Halbwertszeiten in Wurzeln von Petersilie- und Radieschenpflanzen von unter drei Tagen.^[26,326] Aus diesem Grund wird, selbst wenn SPI von der Pflanze aufgenommen wird, es zu einem Großteil bereits zu SPI-E metabolisiert sein,

bevor es die Leitbündel für den akropetalen Transport erreichen kann.^[26] Obwohl die Wurzelakkumulation beider Substanzen zu einem ähnlichen Maße erfolgt, waren nur 7 % des aktiven Wirkstoffes in Experiment 1 unmetabolisiertes SPI.^[26]

Die berechneten TF-Werte aus Exp. 1, in dem SPI und das Hydrolyseprodukt SPI-E in der Nährlösung vorlagen, und Exp. 2, in welchem nur SPI-E präsent war, können genutzt werden, um den „wahren“ TF von SPI zu berechnen und dabei sowohl die Wurzelaufnahme von SPI-E als auch die Metabolisierung zu SPI-E in den Wurzeln zu exkludieren.^[26] Der so berechnete TF_{SPI} betrug 1,96 und die Berechnung ist im Anhang in Kapitel 7.1.2 gezeigt.^[26] Der TF von fast 2 zeigt, dass SPI selbst sehr mobil ist und eine signifikant höhere Neigung zu akropetalem Transport als sein Metabolit SPI-E ($TF_{SPI-E} = 0,09$) bei einer Expositionskonzentration von 1 μ M aufweist.^[26]

Im Gegensatz dazu waren die $TF_{SPIsumme}$ -Werte nach 10 μ M Exposition zu SPI (Exp. 3) und SPI-E (Exp. 4) nicht statistisch signifikant unterschiedlich ($p > 0,05$; Abbildung 90, Tabelle 13).^[26] Da der Transport im Phloem etwa 50 – 100 mal langsamer als im Xylem ist, ist die Einstellung eines Konzentrationsgleichgewichtes zwischen Wurzeln und Trieben ein deutlich langsamerer Prozess für phloemmobile Substanzen wie SPI.^[26] Zusätzlich haben verschiedene Studien gezeigt, dass der Phloem-Transport von Pflanzenschutzmitteln ein aktiver, über Transporterproteine gesteuerter Prozess ist, was auch in Mais in einem nichtlinearen konzentrationsabhängigen Aufnahmeverhalten resultiert hat.^[26] Die hier beobachtete nichtlineare Korrelation des $TF_{SPIsumme}$ könnte von einem ähnlichen, durch Transportproteine kontrollierten Aufnahme- und Transportprozess von SPI zeugen.^[26]

Die berechneten RCF-Werte von MET lagen zwischen $2,0 \pm 0,2$ und $3,6 \pm 0,4$ in allen vier Experimenten und zeigen, dass MET stärker in Wurzeln akkumuliert als SPI.^[26] Ein zusätzliches Aufnahmeexperiment wurde durchgeführt, in welchem Mais für einen Zeitraum von zwei Tagen nur MET, ohne Anwesenheit von SPI oder SPI-E, bei einer Konzentration von 1 μ M ausgesetzt war. Der RCF_{MET} dieser Aufnahme betrug $4,0 \pm 1,0$, was signifikant höher ist, als die berechneten RCF_{MET} selbst nach sieben Tagen der Exposition zu MET und SPI (Exp. 1 und 3). Diese Aufnahmewerte suggerieren eine Störung der Aufnahme von MET durch die Anwesenheit von SPI, jedoch nicht durch die Anwesenheit von SPI-E. Dieser Effekt ist bei beiden Aufnahmekonzentrationen bemerkbar, jedoch betonter bei einer Expositionskonzentration von 10 μ M. Synergistische und antagonistische Effekte zwischen mehreren organischen Substanzen können die Aufnahme in die Pflanze sowie den Metabolismus verändern.^[301,327] Jedoch sind solche Effekte bislang nur selten beschrieben worden und kaum untersucht.

Die durchschnittlichen TF_{MET} wurden zwischen $3,0 \pm 0,9$ und $5,2 \pm 0,8$ berechnet und zeigen ein enorm hohes Potential von MET, um nach Aufnahme durch die Maiswurzeln akropetal in die Triebe transportiert zu werden.^[26] Die hier beobachtete hohe Mobilität stimmt mit vorherigen Studien zum Verbleib von MET in Tomatenpflanzen nach Aufnahme aus einem hydroponischen System überein.^[26,115] Die hohe Translokation steht in direktem Zusammenhang mit den physikochemischen Eigenschaften der Verbindung.^[26] Die maximale Mobilität von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen wird für ungeladene Wirkstoffe mit einer intermediären Lipophilie um einen $\log K_{OW}$ von 1,78 postuliert.^[26,89] Dies ist sehr nah an dem experimentellen $\log K_{OW}$ von MET, welcher bei 1,75 liegt.^[328] In Kombination mit der guten Wasserlöslichkeit (8,4 g/L) von MET weist der Wirkstoff ideale Eigenschaften auf, um den Casparischen Streifen passieren zu können und anschließend mit dem Transpirationsstrom in die Triebe zu gelangen.^[26] Der sehr hohe Translokationsfaktor nach einer Aufnahmezeit von nur sieben Tagen ist ein Indikator dafür, dass der akropetale Transport primär im schneller fließenden Xylem stattfindet.^[26]

Lipophilere Substanzen wie SPI ($\log K_{OW} = 2,51$, $pK_a = 10,7$) weisen eine höhere Affinität für Lipide auf und partitionieren daher häufiger in Wurzellipide, was bei einem Vergleich mit hydrophileren Substanzen bei identischer Bioakkumulation zu einem höheren RCF führt.^[26,57,302] Daher gibt es eine starke Korrelation zwischen RCF und $\log K_{OW}$, nach welcher sehr lipophile Substanzen ($\log K_{OW} > 3$) durch Interaktion mit Lipiden hauptsächlich in den Wurzeln zurückgehalten werden.^[26,102] Dies resultiert in einer geringeren Translokation und somit einem geringeren TF, da ein geringerer Anteil der Wirkstoffe die Leitbündel erreichen.^[26] SPI weist eine mittlere bis hohe Lipophilie auf und liegt bei den pH-Bereichen, welche in Symplast und Apoplast vorzufinden sind, in ungeladener Form vor.^[26,329] Daher ist es vor allem in den Wurzeln in höheren Konzentrationen detektierbar, kann jedoch auch in relevanten Mengen in die Triebe transportiert werden.^[26]

Durch die Umwandlung von SPI zu SPI-E ändern sich die physikochemischen Eigenschaften der Verbindung stark.^[26,324] In der Nährstofflösung mit pH 6,5 ist etwa 5 % des SPI-E ungeladen, während 95 % der Verbindung in anionischer Form vorliegt.^[26] Dies macht einen entscheidenden Unterschied in der Aufnahme, da die Aufnahme geladener Substanzen deutlich reduziert ist, da diese durch die negativ geladenen Zellwände der Pflanzenzellen abgestoßen werden.^[26,59,330] Somit ist der Transport zu den Leitbündeln und dadurch der akropetale Transport und TF stark reduziert.^[26] Hydrophile Substanzen können weniger leicht durch passive Diffusion die Lipidmembranen passieren und benötigen häufig aktiven Transport durch Transportproteine, um zu den Leitbündeln zu gelangen.^[26,89]

4.4.3 Visualisierung der Verteilung von MET, SPI und SPI-E in Maiswurzeln mittels bildgebender Massenspektrometrie

Ausschließlich mittels HPLC-HRMS lässt sich der genaue Akkumulationsort, an dem die Retention des SPI-E stattfindet, nicht entschlüsseln, da bei dieser Technik räumliche Information verloren geht. Diese Information ist jedoch unter anderem für die Bewertung des zusätzlichen Schutzes der Pflanze nach der Aufnahme der aktiven Verbindung durch die Wurzeln entscheidend. Daher wurden MALDI-MSI-Messungen von einzelnen Maisorganen durchgeführt, um den exakten Verbleib der Verbindungen feststellen zu können. Im Einklang mit den zuvor beschriebenen Ergebnissen nach HPLC-HRMS Analyse konnten MET und SPI-E in den Wurzeln und Trieben der Maispflanzen nach 10 μM Exposition auch mittels MALDI-MSI detektiert werden.^[26] Im Kontrast zur Messung mittels HPLC-HRMS konnte SPI nicht reproduzierbar im Wurzelgewebe nach Ionisation mittels MALDI nachgewiesen werden.^[26] Die hohen Intensitäten des SPI-E in diesen Messungen legen nahe, dass eine Umwandlung von SPI zu SPI-E durch die Probenvorbereitung oder Messung erfolgt.^[26] Um diesen Umstand näher zu untersuchen, wurden unterschiedliche MALDI-Messungen mit den SPI- und SPI-E-Stammlösungen durchgeführt (Abbildung 36).^[26]

In einer ersten Messung wurde 1 μL der 1 mg/mL Stammlösung SPI auf einem Aluminiumträger aufgetragen, getrocknet und anschließend mit DHB-Matrix beschichtet.^[26] Diese Probenvorbereitung ähnelt am ehesten der Probenvorbereitung zur Lokalisierung von MET, SPI und SPI-E in Pflanzengewebe.^[26] Die Ergebnisse dieser Messung zeigten, dass eine Umwandlung von 90 % des detektierten SPI zu SPI-E stattfand (Abbildung 36, A). Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass der Wassergehalt in der DHB-Matrixlösung zu einer schnellen Hydrolyse führt.^[26] Der Wassergehalt der Matrixlösung ist entscheidend für eine homogene Beschichtung der Probe mit kleinen DHB-Kristallen.^[331,332] Da die Matrix unter anderem dazu dient, Analyten aus der Probe in die Matrix zu extrahieren, ist es wichtig, dass die Größe der Matrixkristalle geringer als die gewählte laterale Auflösung ist, um eine Verschlechterung der räumlichen Auflösung der Messung zu verhindern.^[333,334] Da eine Besprühung der Probe mit der wasserfreien Matrix somit zu inhomogenen und kaum reproduzierbaren Ergebnissen führen würde, wurden *dried-droplet*-Messungen^[335,336] durchgeführt, welche keinen Anspruch an eine räumliche Auflösung der Analyten erheben und somit keine dünne Matrixschicht benötigen.

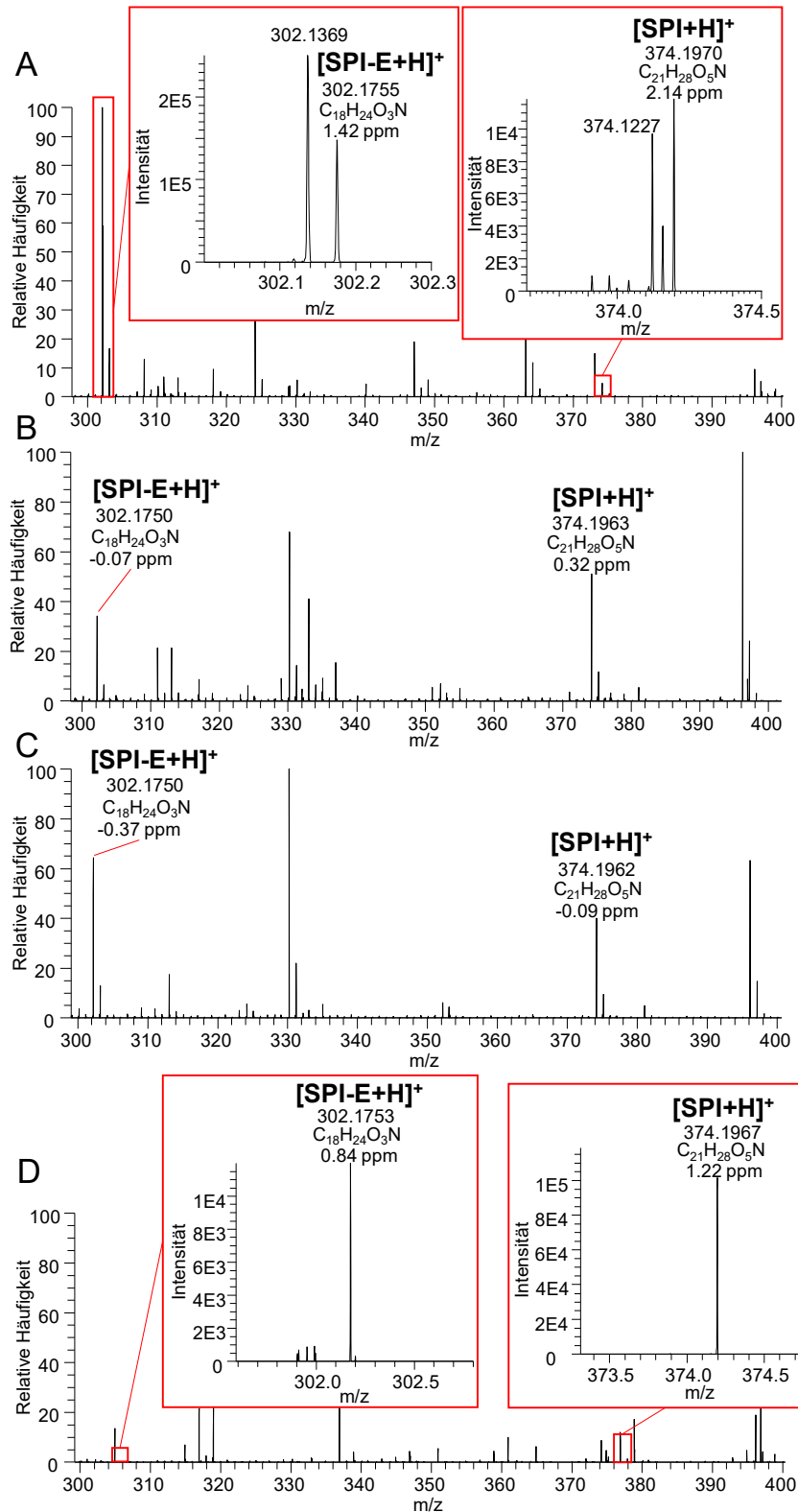


Abbildung 36: Umwandlung von SPI zu SPI-E unter verschiedenen Bedingungen bei der Probenvorbereitung und MALDI-Messung. A: Messung der SPI-Stammlösung nach Besprühen mit DHB-Matrix-Lösung. B: Messung der SPI-Stammlösung nach *dried-droplet*-Probenvorbereitung mit wasserfreier DHB-Matrix-Lösung. C: Messung der SPI-Stammlösung nach *dried-droplet*-Probenvorbereitung mit wasserhaltiger DHB-Matrix-Lösung. D: Laserablationsmessung der SPI-Stammlösung ohne DHB-Matrix. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Um den Einfluss des Wassergehaltes auf die Hydrolyse zu untersuchen, wurden Messungen durchgeführt, bei denen eine wasserfreie DHB-Matrix, gelöst in ACN, mit der Probe für eine *dried-droplet*-Messung vermischt wurde (Abbildung 36, B).^[26] Dies führte zu einer Hydrolyse von etwa 50 % des SPI. Die bei Nutzung wasserfreier Matrix beobachtete Umwandlung war nur geringfügig geringer als die bei *dried-droplet*-Messung unter Verwendung der wasserhaltigen Matrixlösung, wie sie in den bildgebenden Experimenten verwendet wird (Abbildung 36, C).^[26] Abschließend wurde zusätzlich eine Laserablationsmessung ohne Verwendung einer Matrix durchgeführt, welche dennoch in der Bildung von SPI-E in etwa 10 % der Intensität des SPI führte (Abbildung 36, D).^[26] Aus diesen vier Experimenten kann also geschlossen werden, dass der MALDI-Ionisationsprozess selbst bereits zu einer Umwandlung des SPI zu SPI-E führt.^[26] Ein vergleichbares Ergebnis wurde bereits für die MALDI-Detektion von Imidacloprid berichtet, welches während des Laser-Desorptions- und Ionisationsprozesses durch Abspaltung der Nitro-Gruppe zu Guanidin-Imidacloprid umgewandelt wird.^[26,271] Bei Verwendung der idealen MALDI-Matrixlösung zur bildgebenden Detektion der Analyten wird die Umwandlung von SPI zu SPI-E signifikant erhöht, entweder während der Probenvorbereitung oder der eigentlichen Messung.^[26] Dieser Prozess ist zusätzlich verstärkt, wenn die Matrix mithilfe des Matrixapplikationsroboters als feine Schicht aufgesprüht wird, wie es für bildgebende Messungen vonnöten ist.^[26] Daher können alle Ionenbilder, welche im Folgenden gezeigt werden und mit SPI-E annotiert sind, als Summe von SPI und SPI-E (SPI_{Summe}), im Einklang mit der EFSA-Definition, verstanden werden.^[26,323] Wie aus den HPLC-HRMS-Messungen jedoch hervorgeht, ist nur eine sehr geringe Menge an SPI in den Wurzeln vorhanden, was darauf hindeutet, dass auch in den bildgebenden Messungen der weite Hauptteil der Signale aus der Ionisation von SPI-E resultiert.^[26]

SPI_{Summe} und MET wurden in den lateralen Wurzeln sowie Stützwurzeln der jungen Maispflanzen nach Aufnahme aus einer 10 μM hydroponischen Nährlösung detektiert.^[26] Die hohe laterale Auflösung der Messungen von 25 μm ermöglicht dabei einen detaillierten Einblick in die räumliche Verteilung im Wurzelquerschnitt.^[26] Die Verteilung der Wirkstoffe in verschiedenen Wurzeltypen wie Primärwurzeln, Seminalwurzeln und Stützwurzeln wurde verglichen und zeigte keine signifikanten Unterschiede.^[26] Daher wurde zur Diskussion des Akkumulationsverhalten eine MALDI-Messung einer Stützwurzel gewählt, da diese größer als andere Wurzeltypen ist sowie physiologisch intakt bei Anfertigung der Wurzelschnitte blieb und somit einen idealen Einblick ermöglicht (Abbildung 37).^[26] Die Mikroskopaufnahme der Wurzel zeigt ihre verschiedenen Bestandteile (Abbildung 37, A).^[26] Diese sind (von außen nach innen betrachtet) die Epidermis, Exodermis, Kortex, Endodermis und die Leitbündel, welche aus Xylem und Phloem bestehen sowie das zentrale Mark.^[26,337]

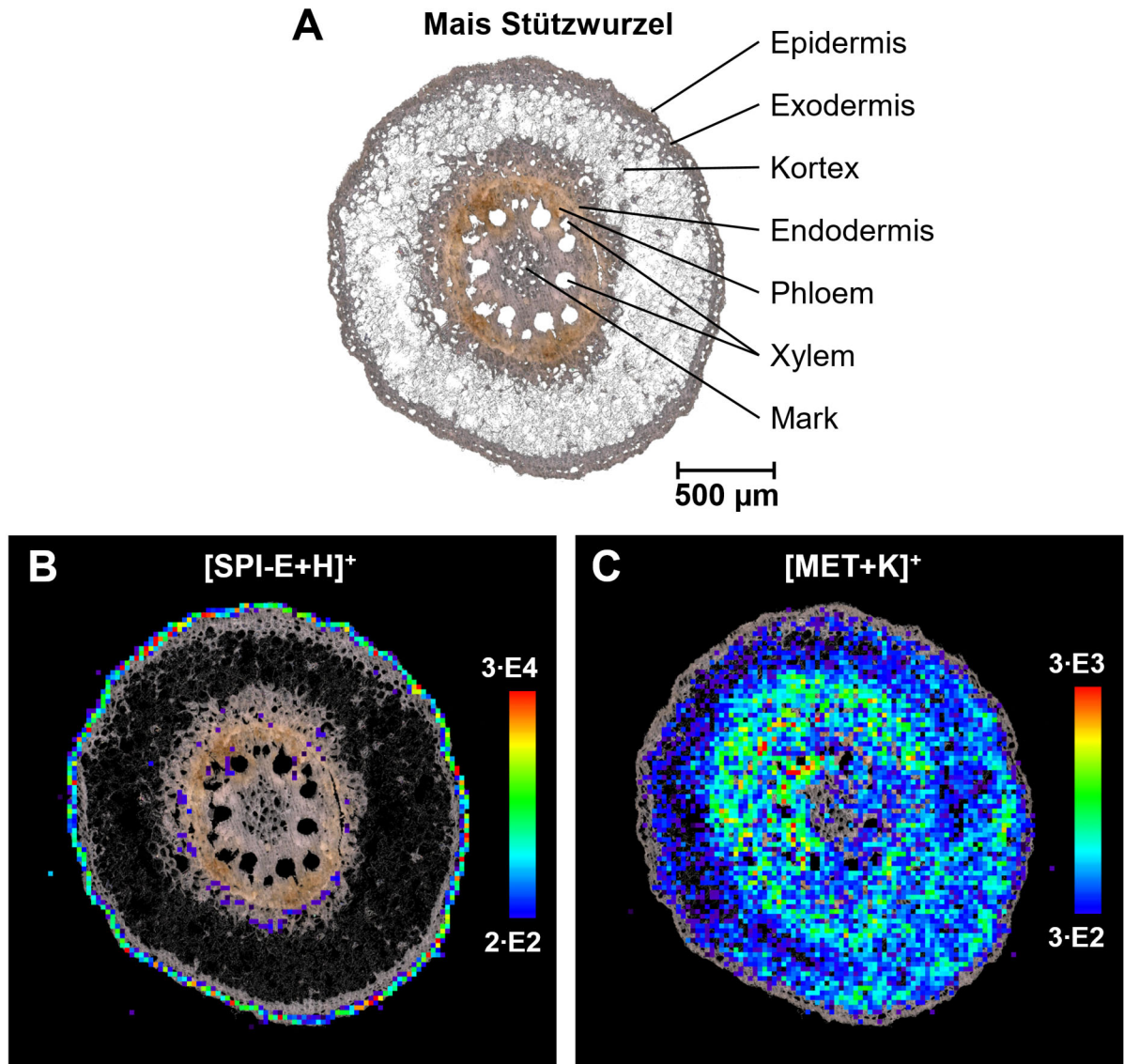


Abbildung 37: Visualisierung der Verteilung von $\text{SPI}_{\text{Summe}}$ (detektiert als SPI-E) und MET in Stützwurzeln von jungen Maispflanzen mittels MALDI-MSI nach siebentägiger Aufnahme bei einer Expositionskonzentration von $10 \mu\text{M}$. A: Mikroskopische Aufnahme der Stützwurzel inklusive Annotation ihrer Bestandteile. B: Verteilung von $\text{SPI}_{\text{Summe}}$ in der Wurzel zeigt eine Akkumulation in der Epidermis. C: Verteilung von MET in der Wurzel zeigt eine hohe Signaldichte im Kortex und eine Akkumulation in Nähe der Leitbündel mit einer Abwesenheit von Signalen in der Epidermis. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Es wird vermutet, dass Stützwurzeln, insbesondere bei älteren Maispflanzen, eine wichtige Rolle bei der Wasser- und Nährstoffaufnahme spielen.^[26,337] Direkte Messungen, welche ihre Fähigkeit zur Wasser- oder Nährstoffaufnahme bestätigen würden, sind jedoch nicht bekannt.^[26,338] Dementsprechend blieb die Frage, ob Stützwurzeln direkt an der Aufnahme von Pflanzenschutzmitteln oder anderen Xenobiotika beteiligt sind, bislang unbeantwortet.^[26] Die bildgebenden Messungen der Verteilung von $\text{SPI}_{\text{Summe}}$ und MET in Stützwurzeln zeigen zum ersten Mal die Aufnahme von Pflanzenschutzmitteln durch Stützwurzeln.^[26] Die vergleichbaren Verteilungen in den verschiedenen Wurzeltypen lassen darauf schließen, dass analoge

Mechanismen an der Aufnahme und dem Transport von SPI_{Summe} und MET in allen Wurzelarten beteiligt sind.^[26] Daraus lässt sich schließen, dass Stützwurzeln eine entscheidende Rolle bei der Aufnahme von Pflanzenschutzmitteln spielen.^[26]

SPI_{Summe} zeigt eine starke Akkumulation im äußersten Gewebe der Wurzel, der Epidermis.^[26] Dabei befinden sich fast keine Signale oberhalb der unteren Signalgrenze (2E2) im Kortex oder in den Leitbündeln, mit nur wenigen Signalen sehr schwacher Intensitäten außerhalb der Endodermis.^[26] Es ist jedoch zu beachten, dass ein Nicht-detektieren eines Analyten an einer bestimmten Position des Wurzelquerschnitts nicht zwangsläufig ein völliges Fehlen des Wirkstoffes an dieser Position bedeutet. Vielmehr deutet es darauf hin, dass die Wirkstoffmenge pro Fläche von 25 x 25 µm nicht ausreichend war, um die Nachweisgrenze zu erreichen. Dies liegt daran, dass in MSI-Messungen die laterale Auflösung mit der Empfindlichkeit korreliert und somit räumlich hochauflösende Messungen häufig nahe der Nachweisgrenze der Analyten durchgeführt werden.^[239] Dies ist besonders relevant vor dem Hintergrund, dass es sich bei den hier gezeigten Analyten um exogene Verbindungen handelt, deren Konzentrationen in Pflanzengewebe typischerweise signifikant niedriger sind als die der endogenen Substanzen, deren Verteilung häufig mittels MALDI-MSI gezeigt werden.^[339–341] Die ringförmige Anreicherung des SPI_{Summe} im äußersten Wurzelgewebe, in Kombination mit der Abwesenheit von Signalen in der Nähe der Leitbündel, deutet auf ein geringes Maß an Translokation hin.^[26,228] Diese Interpretation wird bestätigt durch die Quantifizierung mittels HPLC-HRMS, aus welcher ein geringer Translokationsfaktor resultierte (Abbildung 35).^[26]

Die nahezu ausschließliche Akkumulation von SPI_{Summe} in der Epidermis könnte durch die Exodermis verursacht sein.^[26] Diese ist eine kontinuierliche und geschlossene Zellschicht, welche sich als Barriere hinter der Epidermis befindet und passiert werden muss, um die Leitbündel zu erreichen.^[26,342] Im Gegensatz zur Endodermis ist die Exodermis nicht bei allen Pflanzen vorhanden.^[343] Bereits junge Maispflanzen bilden eine uniforme Exodermis, bestehend aus verlängerten Zellen, als zusätzliche apoplastische Barriere aus.^[343] Diese Exodermis kann vor allem Ionen an ihren Zellwänden zurückhalten und so ein tieferes Eindringen in das Innere der Wurzel verhindern.^[344] Für das Insektizid Chlordecon wurde in Radieschen ein Aufnahmepfad identifiziert, der mit der beobachteten Verteilung von SPI_{Summe} in Maiswurzeln übereinstimmt.^[26,345] Das sehr lipophile Chlordecon ($\log K_{OW} = 4,5$) adsorbiert und akkumuliert zuerst im Periderm, einer äußeren Barriere, die mit der Exodermis in Mais vergleichbar ist und diffundiert anschließend in Kortex, Xylem und Mark.^[26,345] Da die Exodermis aus den Biopolymeren Lignin und Suberin besteht^[342], ist es wahrscheinlich, dass das mäßig lipophile SPI ebenfalls am hydrophoben Suberin adsorbiert, wenn auch in einem geringeren Maße als Chlordecon.^[26] Ergebnisse von LIU *et al.*, welche zeigen, dass nach einer Aufnahme über einen Zeitraum von sieben Tagen 99 % des SPI gebunden an den Zellwänden

der Salatwurzeln vorlagen, stützen diese Überlegungen.^[26,302] Folglich ist es wahrscheinlich, dass SPI analog zu Chlordecon desorbiert und in Richtung der Leitbündel diffundieren kann.^[26] Im Falle des SPI-E könnte die negative Ladung der Verbindung verhindern, dass diese in die Exodermis eindringt, da die negativ geladenen Zellwände anionische Verbindungen abstoßen, was zu einer Anreicherung dieser außerhalb der Exodermis in der Epidermis führt.^[26,89,106]

Der Entwicklungsgrad der Exodermis ist abhängig von einer Reihe von Faktoren, zu welchen auch abiotischer Stress zählt.^[26,342] Daher könnte auch eine einwöchige Exposition gegenüber hohen Konzentrationen von Pflanzenschutzmitteln zu einem erhöhten Suberingehalt führen oder die Exodermis in Mais könnte multiseriatisch werden.^[26,342] Um die Bedeutung der Exodermis näher bewerten zu können, wurden zusätzliche Aufnahme- und Bildgebungsexperimente bei verschiedenen Bedingungen und unter Betrachtung verschiedener Wurzelteile durchgeführt (Abbildung 38).^[26]

Die Signalintensität von SPI_{Summe} nach einer eintägigen Exposition (Abbildung 38, A) ist signifikant niedriger als nach sieben Tagen der Aufnahme von SPI und SPI-E (Abbildung 37).^[26] Dies liegt daran, dass innerhalb der kurzen Expositionsdauer deutlich weniger Nährstofflösung von der Maispflanze aufgenommen und transpiriert wurde.^[26] Als Konsequenz wurde auch eine geringere Menge Wirkstoff in die Wurzel aufgenommen.^[26,78] Im Vergleich zur Wurzel nach sieben Tagen der Exposition (Abbildung 37) wurde SPI_{Summe} mit einer höheren Signaldichte tiefer in der Wurzel, besonders in Nähe der Leitbündel detektiert.^[26] Dies lässt darauf schließen, dass mehr SPI_{Summe} in der löslichen Zellfraktion vorhanden ist^[302] und somit vermehrt die Exodermis passieren kann.^[26] Der 50 – 75 µm breite Ring an SPI_{Summe}-Signalen in Kombination mit den Signalen in Nähe der Leitbündel zeigt, dass die Signalverteilung nicht durch eine Adsorption an die Epidermis verursacht ist, wie es für lipophilere Substanzen der Fall sein kann.^[26,57,89]

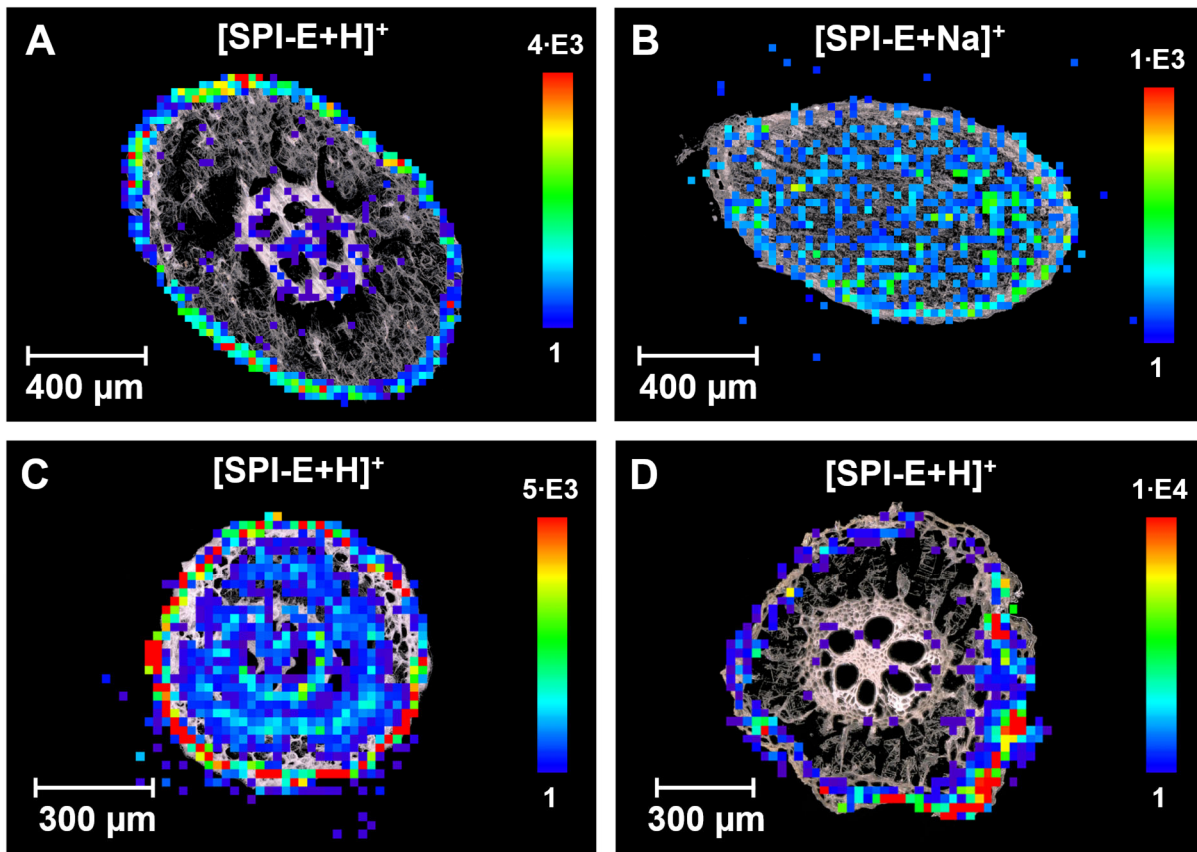


Abbildung 38: MALDI-MSI zeigt die Verteilung von $\text{SPI}_{\text{Summe}}$ (detektiert als SPI-E) in verschiedenen Wurzeln nach Aufnahme unter unterschiedlichen Bedingungen (Expositions-konzentration: $10 \mu\text{M}$). A: Primärwurzel nach einer eintägigen Exposition gegenüber SPI bei einem pH-Wert der Nährstofflösung von 6,5 zeigt eine Anreicherung außerhalb der Exodermis mit wenig Signalen in Nähe der Leitbündel. B: Wurzelspitze ohne ausgebildete Exodermis nach einer eintägigen Exposition gegenüber SPI bei einem pH-Wert von 6,5 zeigt eine homogene Verteilung der Signale. C: Primärwurzel nach einer siebentägigen Exposition gegenüber SPI bei einem pH-Wert von 5,0 mit signifikant mehr Signalen im Kortex und in Nähe der Leitbündel als bei höherem pH. D: Primärwurzel nach siebentägiger Aufnahme des Metaboliten SPI-E bei pH 5,0 zeigt eine starke Akkumulation außerhalb der Exodermis, vergleichbar mit A. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Die Wurzelspitze (Abbildung 38, B) verfügt über keine Exodermis, wodurch Wasser sowie gelöste Substanzen wie Pflanzenschutzmittel aus der Nährlösung ungehindert durch die Epidermis und den Kortex zu den Leitbündeln gelangen können, solange sie nicht an den Zellwänden adsorbieren.^[26,342] Die extrem homogene Verteilung von $\text{SPI}_{\text{Summe}}$ in der Wurzelspitze deutet darauf hin, dass die Verbindungen in Abwesenheit eines Casparischen Streifens, wie er in der Exodermis als Barriere vorliegt, frei in die Gefäßstrukturen der Wurzel migrieren können.^[26] Im Gegensatz zu den anderen Wurzelmessungen wurde $\text{SPI}_{\text{Summe}}$ in der Wurzelspitze als Natrium-Addukt detektiert. Dies liegt an dem vergleichsweise höheren Gehalt an Natrium und Kalium in der Wurzelspitze.^[115,346]

Um den Einfluss des Anteils der geladenen Substanzen auf die räumliche Akkumulation von $\text{SPI}_{\text{Summe}}$ zu untersuchen, wurde ein siebentägiges Aufnahmeexperiment bei pH 5,0

durchgeführt (Abbildung 38, C).^[26] Bei einem pH-Wert der Nährstofflösung von 6.5 liegen etwa 95 % der SPI-E Moleküle in anionischer Form und nur 5 % SPI-E in ungeladener Form vor.^[26,324] Im Gegensatz sind bei einem pH-Wert von 5.0 nur knapp 40 % der SPI-E Fraktion geladen und über 60 % befinden sich in ungeladener Form in der pflanzenverfügbaren Nährlösung.^[26,324] Außerdem ist die Rate der Hydrolyse von SPI zu SPI-E bei einem pH von 5,0 deutlich reduziert, wodurch eine höhere Menge SPI zur Aufnahme verfügbar ist.^[26,55] Die stärkste Akkumulation nach Aufnahme von SPI_{Summe} aus der Nährlösung bei pH 5.0 wurde erneut in der Epidermis beobachtet.^[26] Jedoch wurde der Wirkstoff im Kontrast zur Aufnahme aus der Nährlösung bei pH 6,5 (Abbildung 37) auch im Kortex sowie in und um die Leitbündel in höheren Intensitäten detektiert.^[26] Diese Verteilung weist auf eine signifikant höhere Durchdringung der Exodermis hin.^[26] Das Experiment bei pH 5,0 wurde unter direkter Zugabe von SPI-E zur Nährlösung anstelle von SPI wiederholt (Abbildung 38, D).^[26] Im Vergleich zum vorherigen Experiment ist eine deutlich geringere Penetration der Exodermis erkennbar.^[26] Dies zeigt, dass SPI-E, obwohl es zum Großteil ungeladen in der Lösung vorliegt, eine deutlich geringere Fähigkeit als SPI besitzt, die Leitbündel zu erreichen.^[26]

Aufgrund der mittleren Lipophilie wird vermutet, dass SPI sowohl durch den apoplastischen als auch durch den symplastischen Pfad durch das Pflanzengewebe transportiert wird.^[26,302] Da der Apoplast acider ist, während der Symplast eher neutral bis basisch ist, wird die Akkumulation und der Verbleib von SPI und SPI-E stark dadurch beeinflusst, welchem Transportweg sie folgen.^[26,329] Während SPI-E im Apoplast vor allem neutral vorliegt und die Hydrolyse des SPI langsam stattfinden sollte, würde es im Symplast in anionischer Form transportiert werden und sich signifikant schneller aus SPI bilden.^[26] Sobald SPI-E aus dem Apoplast in eine Pflanzenzelle diffundiert, sollte es somit durch den dort herrschenden pH-Wert in seine anionische Form umgewandelt und in der Zelle somit zurückgehalten werden.^[26,89] Dieser Prozess des Ionenenschlusses (*ion trapping*) findet im Falle von SPI-E ebenfalls im Phloem statt und ist der Grund für seine Fähigkeit, ambimobil in der Pflanze transportiert zu werden.^[26,114] Da alle Substanzen die Exodermis der Maiswurzeln durchqueren müssen, um zu den Leitbündeln zu gelangen, wird das ungeladene SPI-E vor allem zurückgehalten werden, sobald es in die Zellen der Exodermis eindringt.^[26] SPI hingegen kann leichter durch die Exodermis ins Kortexgewebe gelangen, da es auch beim basischeren pH des Symplasts im Inneren der Exodermis ungeladen vorliegt.^[26] Wenn es jedoch in der Exodermis zu SPI-E hydrolysiert wird, wird es ebenfalls mit einer deutlich reduzierten Rate die Leitbündel erreichen.^[26] Daher ist es wahrscheinlich, dass ein signifikanter Anteil der SPI_{Summe}-Signale im Kortexgewebe und in Nähe der Leitbündel aus der Ionisation von SPI anstelle von SPI-E resultiert.^[26]

Die räumliche Verteilung von MET (Abbildung 37) unterscheidet sich deutlich von der des SPI_{Summe} .^[26] Während nur wenige Signale in der Epidermis beobachtet werden, ist eine ausgeprägte Akkumulation im Kortextgewebe sowie in der Nähe der Leitbündel, besonders im Bereich des Xylems, erkennbar.^[26] Dies führt zu einer homogeneren Signalverteilung in der Wurzel im Vergleich zu SPI_{Summe} .^[26] Die Verteilung von MET im Wurzelquerschnitt deutet darauf hin, dass MET die Exodermis und Endodermis leicht durchdringen und anschließend die Leitbündel erreichen kann, was eine höhere Translokationsrate ermöglicht.^[26,228] Diese Ergebnisse stimmen mit den zuvor berechneten TF-Werten sowie mit früheren Studien zur räumlichen Verteilung von MET in Tomatenwurzeln überein und suggerieren, dass der Transport von MET auch in Maiswurzeln primär durch den Apoplast erfolgt.^[26,115] Angesichts der Akkumulation im und um das Xylem kann angenommen werden, dass MET vorwiegend durch das Xylem akropetal transportiert wird, was seine hohe Mobilität erklärt.^[26,120]

4.4.4 Räumliche Verteilung von MET im Xylem und Phloem von Maisblättern

Neben der Visualisierung der räumlichen Verteilung in Wurzeln konnte MET ebenfalls in der oberen Sprossachse der Maispflanze identifiziert werden (Abbildung 39).^[26] Diese setzt sich aus ineinander gerollten Blättern unterschiedlichen Entwicklungsalters zusammen, wobei die äußeren Blätter die zuerst gebildeten sind.^[26] Im Mikroskopbild entspricht das äußerste Blatt dem dritten, das innerste dem sechsten entwickelten Blatt der Pflanze (Abbildung 39).^[26]

Eine starke Anreicherung von MET ist im Bereich der Leitbündel zu beobachten, während die Signalintensitäten im umgebenden Mesophyllgewebe deutlich geringer sind (Abbildung 39, B).^[26] Zudem akkumuliert MET sowohl in der adaxialen als auch in der abaxialen Epidermis der Blattscheiden des Mais. Ein Vergleich der verschiedenen Blätter, aus welchen der Spross besteht, zeigt, dass MET vor allem in die älteren Blätter transportiert wird und dort höhere Intensitäten als in den inneren, jüngeren Blättern aufzeigt.^[26] Diese Beobachtung wird durch Erkenntnisse über die Aufnahme von Carbamazepin, einem Wirkstoff, welcher hauptsächlich durch das Xylem transportiert wird, gestützt.^[26,203] Es konnte festgestellt werden, dass die Konzentration von Carbamazepin sowie seiner Metaboliten signifikant niedriger in jüngeren als in älteren Blättern ist.^[26,203] Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung könnte sein, dass die inneren Blätter besser gegen Licht und trockene Luft geschützt sind und somit eine geringere Transpiration aufweisen.^[26,203] Diese geringere Transpiration würde zu einer geringeren Anreicherung von MET in diesen Blättern führen.^[26,78]

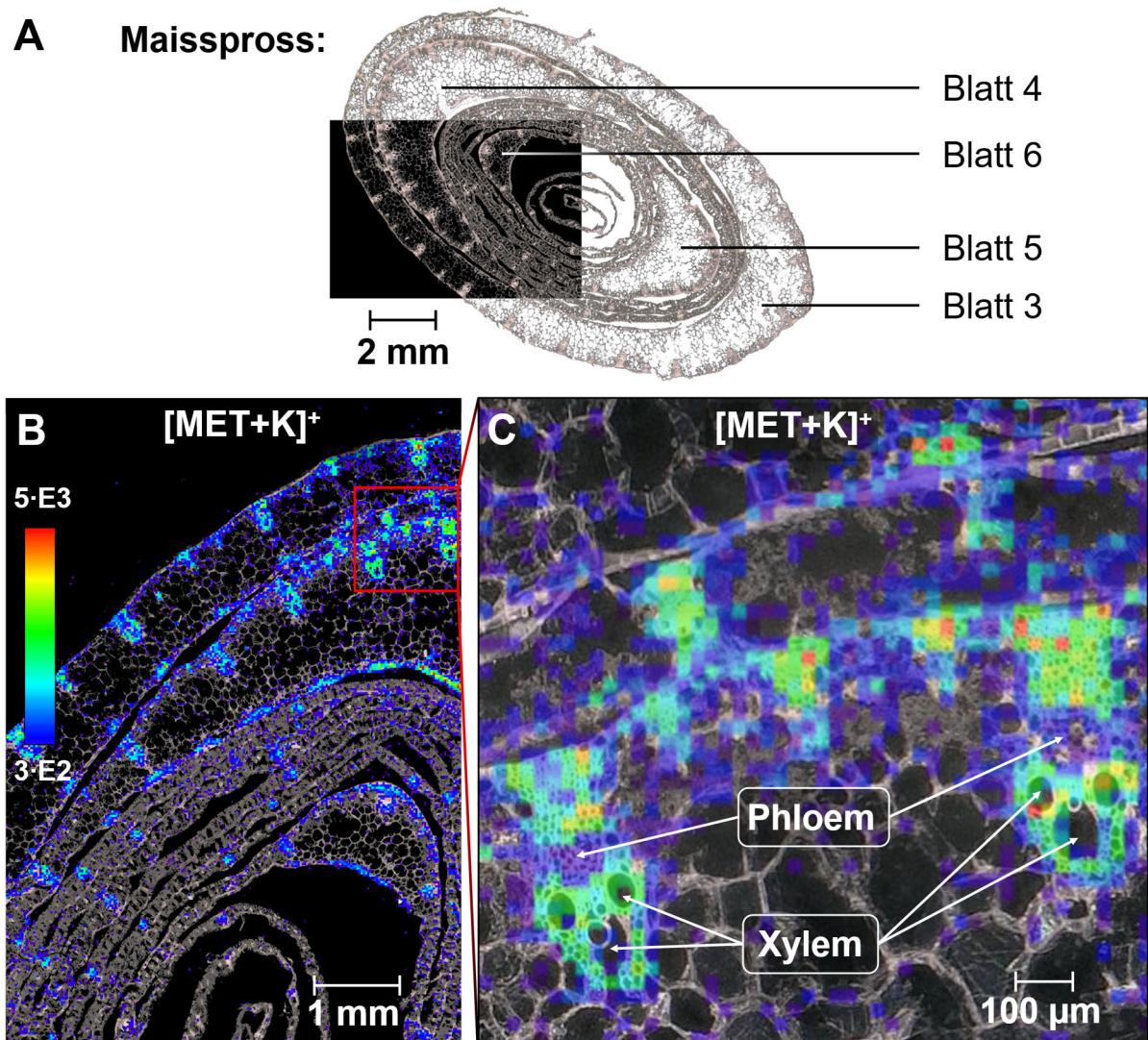


Abbildung 39: Visualisierung der räumlichen Verteilung von MET in einem oberen Teil des Maissprosses, gemessen mittels MALDI-MSI. A: Mikroskopische Aufnahme des Sprossquerschnitts mit nummerierten Blättern entsprechend ihres Wachstumszeitpunktes. B: Räumliche Verteilung von MET zeigt eine Anreicherung in den Leitbündeln und der Blattepidermis. C: Vergrößerter Ausschnitt der Leitbündel zeigt eine Akkumulation im Xylem bei vergleichsweise geringeren Signalintensitäten im Phloem. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Bei Betrachtung eines vergrößerten Ausschnittes der Leitbündel ist eine Beurteilung der Verteilung von MET innerhalb der Leitbündel möglich (Abbildung 39, C).^[26] Die hohe räumliche Auflösung der Messung zeigt, dass MET die höchsten relativen Intensitäten im Xylem sowie dem angrenzenden Sklerenchym aufweist, während die Intensitäten im Phloemgewebe deutlich geringer sind.^[26] Diese Verteilung deutet darauf hin, dass das Xylem den primären Transportweg darstellt. In diesem wird die systemische Verbindung passiv mit dem Transpirationsstrom akropetal in der Pflanze verteilt.^[26] Die vergrößerte Ansicht zeigt zudem, dass alle Signale im Mesophyllgewebe genau auf den Zellwänden und nicht im Inneren der Zellen lokalisiert sind.^[26] In Anbetracht der relativ geringen Sorptionsrate von MET an

Pflanzengewebe wie Zellwänden^[347] deutet die gemessene Verteilung darauf hin, dass der apoplastische Weg durch die interzellulären Räume eine bedeutende Rolle beim Transport von MET in Blätter spielt.^[26] Diese Schlussfolgerung ist konsistent mit den Ergebnissen vorheriger Forschungsarbeiten, jedoch konnte sie bislang nie durch bildgebende Verfahren unterstützt werden.^[26,115,348] Die Signalverteilung ist zudem ein Zeichen für die sehr hohe räumliche Präzision, die in dieser Messung erreicht wurde.^[26] Dies ist das erste Mal, dass mit einer ausreichend hohen lateralen Auflösung Pflanzenschutzmittel den verschiedenen Gefäßstrukturen in Pflanzenblättern nach Messung durch MALDI-MSI zugeordnet werden können.^[26] Die Verteilung von SPI_{Summe} konnte aufgrund der vermutlich zu geringen translokierten Mengen und dadurch geringen Konzentrationen (vgl. Abbildung 35) nicht im Querschnitt des Sprosses der Maispflanzen detektiert werden.^[26]

4.4.5 Mögliche Auswirkungen auf den Schutz der Pflanze

Aufgrund der hohen Wasserlöslichkeit von MET und SPI-E sowie ihrer relativ geringen Affinität, an Bodenpartikeln zu adsorbieren, wird von beiden Pflanzenschutzmitteln erwartet, dass diese primär gelöst im Porenwasser des Bodens vorliegen.^[26,349–352] Dies bedeutet ein hohes Maß an Mobilität und Bioverfügbarkeit für die Aufnahme durch Nutzpflanzen sowie ein Risiko der Auswaschung der Substanzen in das Grundwasser.^[26,352,353] Wenn diese Substanzen durch Sprühapplikation auf einem Feld mit jungen Pflanzen und somit geringer Pflanzenabdeckung des Bodens ausgebracht werden, kann ein großer Teil der Wirkstoffe direkt in den Boden und somit in das Porenwasser gelangen.^[30] Ein tieferes Verständnis der Wurzelaufnahme und der Transportwege von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen kann dazu beitragen, ihren Verbleib sowie eine potentielle Akkumulation abschätzen zu können.^[26] Zudem kann es helfen, geeignetere Applikationsformen zu finden, um Substanzen besser an ihren Zielort zu bringen und somit Konzentrationen in der Umwelt zu reduzieren.^[26]

Die Phloemmobilität des SPI-E ermöglicht nach erfolgter Sprühapplikation und darauffolgender Aufnahme in die Blätter den Transport der Verbindung in die Wurzeln.^[26,114] Dies ist ein entscheidendes Merkmal des Wirkstoffes, da SPI dafür entwickelt wurde, die Pflanze gegen Schädlinge im Boden wie Wurzelläuse und Nematoden, die die Wurzeln der Pflanze schädigen, zu schützen.^[26,114,353] Jedoch erwies sich diese abwärts gerichtete Verlagerung nach Blattaufnahme in Salatpflanzen als eher gering.^[26,301] Unsere bildgebende Analyse zeigt, dass SPI-E nicht in der Lage war, den Casparischen Streifen in Form der Exodermis in größeren Mengen zu passieren.^[26] Dies deutet darauf hin, dass in Pflanzen mit Endodermis die Verbindung nach abwärts gerichteter Translokation hauptsächlich innerhalb des zentralen Zylinders und nicht am Ort des Schädlingsbefalls angereichert wird.^[26] Eine

zusätzliche Aufnahme aus dem Porenwasser durch die Wurzel könnte den Schutz der Pflanzenwurzeln deutlich verbessern.^[26] Nach dem Eindringen von SPI in den Boden findet eine rapide Umwandlung zu SPI-E statt.^[26,350] Der Vergleich der Verteilung von SPI und SPI-E in der Wurzel zeigt, dass SPI-E nach Aufnahme in der äußersten Schicht der Wurzel verbleibt, was zu vergleichbar hohen Konzentrationen des Wirkstoffes im dortigen Gewebe führt.^[26] Diese Verteilung könnte sich als vorteilhaft für die Bekämpfung von Schädlingen erweisen.^[26]

Eine der Hauptanwendungen von MET ist die Bekämpfung von Falschen Mehltau, eine der destruktivsten Maiskrankheiten in den tropischen Regionen Asiens.^[26,354] Es konnte nachgewiesen werden, dass bereits eine MET Konzentration von über 19 ppm eine Infektion durch Mehltauerreger wirksam verhindert, was die fungizide Wirksamkeit der Verbindung selbst bei niedrigen Konzentrationen zeigt.^[355] Aufgrund der hohen Translokationsrate in die Triebe betrug die Konzentration in frischem Maisblattgewebe nach der Wurzelaufnahme aus einer Nährlösung mit einer Konzentration von 10 μM über sieben Tage etwa 3 ppm ($3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Die von der EFSA vorgeschlagenen Rückstandshöchstgehalte für Spinat und andere Pflanzen, bei denen die Blattkonzentration maßgeblich ist, liegen zum Zeitpunkt der Ernte bei $1,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Die Konzentration von MET in Kohlblättern lag gemäß den Zulassungsdaten eine Stunde nach Applikation bei $8,7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Die in dieser Studie mittels HPLC-HRMS ermittelten Wirkstoffkonzentrationen liegen demnach in einem für den fungiziden Schutz der Pflanze relevanten Bereich.^[356] Dies deutet auf einen potentiell signifikanten Beitrag der Wurzelaufnahme zum Pflanzenschutz nach Sprühapplikation hin. Darüber hinaus zeigten Studien, dass MET eine hohe Persistenz in Böden aufweist^[352] und möglicherweise somit auch über einen längeren Zeitraum von der Pflanze aufgenommen werden kann.

Der Falsche Mehltau befällt, abhängig vom genauen Erreger, verschiedenste Teile der Maispflanze wie die Blattoberflächen sowie in manchen Fällen die Leitbündel.^[26,357] Die gezeigte Verteilung von MET in der Sprossachse des Mais deutet darauf hin, dass MET vorwiegend in der Epidermis der Blätter sowie in den Leitbündeln, insbesondere im Xylem, zu finden ist.^[26] Diese Verteilung scheint vorteilhaft für die Bekämpfung des Falschen Mehltaus zu sein, da die lokale Konzentration des Fungizids in genau diesen Pflanzenteilen, welche der Falsche Mehltau befällt, deutlich erhöht sein sollte.^[26] Aufgrund des Transports von MET durch das Xylem fand nach der Blattapplikation nur eine minimale Verlagerung des Wirkstoffes in unbehandelte Blätter statt, was zu einem geringeren Schutz der Blätter, welche nach der Applikation wuchsen, führte.^[26,358] MALDI-MSI der Sprossachse nach Wurzelaufnahme zeigte eine höhere Translokation in ältere Maisblätter im Vergleich zu jüngeren Blättern, aber auch eine signifikante Anreicherung von MET in den Leitbündeln der jüngsten Blätter.^[26] Dies deutet darauf hin, dass die Aufnahme von MET durch die Wurzeln in einem zusätzlichen Schutz der jungen, nach Blattapplikation wachsenden Blätter resultieren kann.^[26]

4.4.6 Kapitelzusammenfassung

Die Untersuchungen des Fungizids MET und des Proinsektizids SPI und dessen Hauptmetabolit SPI-E führten zu neuen Erkenntnissen bezüglich der Mechanismen der Aufnahme in die Wurzeln sowie der Translokation der Wirkstoffe.^[26] Die Kombination aus HPLC-HRMS und MALDI-MSI zeigte, dass nicht nur die Menge des Wirkstoffes in Wurzeln und Spross, sondern auch die räumliche Verteilung in einzelnen Pflanzenorganen entscheidend ist, um Aufnahme- und Transportmechanismen besser zu verstehen.^[26] Dabei gelang es zum ersten Mal, bildgebende massenspektrometrische Messungen der Verteilung von Pflanzenschutzmitteln in Leitbündeln durchzuführen, welche eine exakte Zuordnung der Akkumulation zu Xylem und Phloem ermöglichten.^[26]

Durch HPLC-HRMS konnte gezeigt werden, dass SPI aufgrund seiner physikochemischen Eigenschaften sehr mobil in der Maispflanze ist, jedoch nach Hydrolyse in Form des SPI-E signifikant in seiner Mobilität eingeschränkt ist.^[26] Dies liegt daran, dass SPI-E in der hydroponischen Lösung sowie im Symplast der Pflanze in anionischer Form vorliegt und somit aufgrund der negativen Ladungen der Zellwände durch diese aufgehalten wird. Durch unterschiedliche bildgebende Experimente (MALDI-MSI) konnte gezeigt werden, dass SPI-E in der Epidermis, außerhalb der Exodermis akkumuliert. Die Exodermis mit ihrem Casparischen Streifen stellt dabei eine Barriere aus zusammenhängenden Zellen dar, die von SPI oder SPI-E passiert werden muss, um in das Innere der Wurzel zu gelangen. Dies resultierte in einer stark reduzierten Translokationsrate von SPI und vor allem vom anionischen SPI-E, wie durch Quantifizierung mittels HPLC-HRMS nach verschiedenen Aufnahmeexperimenten gezeigt werden konnte. Im Gegensatz zeigte MET einen deutlich höheren Translokationsfaktor und wies auch in den MALDI-MSI Experimenten eine homogenere Verteilung in der Wurzel mit mehr Signalen in Nähe der Leitbündel auf. Dies deutete darauf hin, dass MET anders als SPI-E die Exodermis leicht passieren kann, was in Übereinstimmung mit seiner prognostizierten hohen Mobilität aufgrund der physikochemischen Eigenschaften ist.

Im Maisspross akkumulierte MET vor allem in Nähe der Leitbündel und in der Blattepidermis. Die hohe räumliche Auflösung der bildgebenden Messung ermöglichte zusätzlich eine genaue Zuordnung des Wirkstoffes zu den Leitbündelgefäßen Phloem und Xylem. Dabei konnte beobachtet werden, dass MET hauptsächlich im Xylem anreichert, was nahelegt, dass das Xylem der primäre Transportpfad für diesen Wirkstoff ist.^[26] Der gemeinsame Einsatz quantifizierender und bildgebender massenspektrometrischer Techniken kann somit tiefe Einblicke in die Prozesse des Pflanzenschutzmitteltransports in Nutzpflanzen liefern. Ein umfassendes Verständnis der Aufnahme- und Transportwege verschiedener Pflanzenschutzmittel mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften kann

Vorhersagen ihres Verhaltens und ihrer Anreicherung in Pflanzen auf Grundlage ihrer Strukturmerkmale ermöglichen und verbessern.^[26] Dieses vertiefte Wissen über die gezielte Aufnahme und Anreicherung in potenzielle Zielorgane der Pflanzen kann dazu beitragen, Applikationen zu verbessern und so die Gesamtkonzentration in der Umwelt zu reduzieren.^[26]

4.5 Metabolismus von Spirotetramat und Metalaxyl in Mais: Vergleich der Verteilung und des Transports von Wirkstoffen und ihren Metaboliten

Um den Metabolismus von MET und SPI sowie die Verteilung der Metaboliten in verschiedenen Pflanzenteilen beurteilen zu können, wurden weitere siebentägige Aufnahmestudien bei Expositionskonzentrationen von 1 µM und 10 µM durchgeführt. Die Ergebnisse der wiederholten Aufnahmestudie zeigen für alle Verbindungen leicht erhöhte Aufnahmewerte im Rahmen der Schwankungen, welche für biologische Systeme zu erwarten sind (Tabelle 21). Die erhaltenen Daten stimmen ansonsten mit den in Kapitel 4.4 ausführlich beschriebenen Ergebnissen überein und sind daher hier nicht weiter diskutiert. Neben der qualitativen Erfassung der von MET und SPI gebildeten Metaboliten wurde deren Verteilung zwischen Wurzel und Spross sowie zwischen Blättern verschiedener Entwicklungsalter untersucht, um Rückschlüsse auf die Transportmechanismen innerhalb der Pflanze zu ermöglichen. Ergänzend dazu ermöglichte der Einsatz der bildgebenden Massenspektrometrie eine räumlich aufgelöste Darstellung der Metabolitenverteilung in den einzelnen Organen der Maispflanzen, wodurch weiterführende Informationen zu den Transportwegen der Pflanzenschutzmittel nach der Metabolisierung erhalten werden konnten.

Teile dieses Kapitels wurden bereits in der Masterarbeit von JAN PHILIPP BÖHMER beschrieben und publiziert: **Skoczowsky, D.**; Böhmer, J. P.; Kubicki, M.; Zühlke, S., *Investigation of Metabolism and Spatial Distribution of Metabolites of Metalaxyl and Spirotetramat after Root Uptake in Maize using HPLC-HRMS and MALDI-MSI. Chemosphere* **2025**, 392, 144742.

4.5.1 Metabolismus von MET und SPI in Maispflanzen

Eine Vielzahl von Metaboliten des SPI und MET wurden bislang in unterschiedlichen Pflanzenspezies identifiziert.^[96,130,359] Dabei sind große Unterschiede in der Struktur der gebildeten Metaboliten in Abhängigkeit der Pflanze, welche den Wirkstoff aufgenommen hat, ersichtlich.^[96] Im Falle des MET wurde bei Raps-, Mais-, Soja- und Weizenpflanzen das Phase-I-Hydroxylierungsprodukt 2-hydroxymethyl-MET gebildet, während das Konstitutionsisomer 3-hydroxyphenyl-MET nur von Mais, Soja und Weizen, jedoch nicht von Raps, ausgebildet wurde.^[130] Raps war hingegen die einzige der untersuchten Pflanzenspezies, die nach Desmethylierung zu O-desmethyl-MET das Zuckerkonjugat O-desmethyl-glycosyl-MET bildete.^[130] Noch größere Unterschiede in den Metabolismusprozessen verschiedener Pflanzen sind bei Spirotetramat bekannt. Während alle untersuchten Pflanzen den Hauptmetaboliten SPI-E sowie das Hydroxylierungsprodukt des SPI-E in Ketohydroxy-SPI bilden, unterscheiden sich die weiteren gebildeten Metaboliten

je nach Pflanze strukturell sehr.^[359] Baumwollpflanzen spalten als einzige Pflanzenspezies den Pyrrolidin-Ring des Ketohydroxy-SPI, in dessen Folge sich eine Vielzahl von kleineren Metaboliten bilden.^[359] Ausschließlich in Apfel- sowie teilweise in Kartoffelpflanzen wurden hingegen Mono- und Di-hydroxy-SPI Metaboliten identifiziert.^[359] Um die metabolische Transformation von SPI und MET in Maispflanzen beurteilen zu können, wurden daher neben der Quantifizierung der Wirkstoffe ihre Metaboliten qualitativ sowie semi-quantitativ erfasst.

Ein Überblick aller detektierten Metaboliten von MET und SPI ist in Tabelle 10 und Tabelle 11 gegeben. Mit Ausnahme einiger Isomere wurden diese bereits in der Literatur beschrieben, was den Ergebnissen dieser Studie zusätzliche Sicherheit verleiht.^[96] Die massenspektrometrische Sicherheit, der den Messergebnissen zugeordneten Metaboliten wurde anhand eines Stufensystems beschrieben, welches von SCHYMANSKI *et al.* inspiriert ist.^[96,263] Stufe 1 wurde bei Bestätigung des Metaboliten durch einen Abgleich mit einem Referenzstandard mit übereinstimmenden MSⁿ-Ergebnissen und Retentionszeit sowie zusätzlichem Nachweis durch MALDI-MSI Messungen von Pflanzengewebe nach Aufnahme als orthogonale Analysetechnik vergeben.^[96] Stufe 2a beschreibt die Bestätigung durch die exakte Masse mittels HPLC-HRMS, charakteristische MS²-Fragmentationen sowie Identifikation im Pflanzengewebe mittels MALDI-MSI, während bei Stufe 2b die Bestätigung durch MALDI-MSI fehlt (< LOD).^[96] Im Falle, dass die Signalintensität der Analyten zu gering ist, um eine Detektion von mindestens zwei charakteristischen MS²-Fragmenten zu ermöglichen, wurde Stufe 3 vergeben.^[96]

Die in der Maispflanze gebildeten und massenspektrometrisch detektierten Metaboliten des Phenylamid-Fungizids MET sind in Tabelle 10 dargestellt.

4. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 10: Auflistung von MET und allen detektierten Metaboliten des Wirkstoffes in Wurzeln und Blättern der Maispflanzen nach einer siebentägigen Aufnahme von MET aus einer hydroponischen Nährlösung (10 µM). Die massenspektrometrische Sicherheit wurde anhand eines Stufensystems bewertet, wobei Stufe 1 die höchste Sicherheit darstellt.

Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Substanz	Summenformel	Masse ^[a] [m/z]	RT [min]	Intensität ^[b] [%]	Reaktion	Stufe
Metalaxyl (MET)	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	280,15433	8,54	W: 24,8 S: 69,6	-	1
Hydroxy-MET (Isomer 1)			6,46	W: < 0,01 S: 0,12		2a
Hydroxy-MET (Isomer 2)	C ₁₅ H ₂₁ NO ₅	296,14925	6,65	W: 0,06 S: 0,81	Hydroxylierung	2a
Hydroxymethyl-MET (Isomer 3)			7,25	W: 0,14 S: 0,33		1
Desmethyl-MET (Isomer 1)			6,85	W: 0,07 S: 0,87		2b
MET-Säure (Isomer 2)			7,66	W: 0,06 S: 0,15		1
O-Desmethyl-MET (Isomer 3)	C ₁₄ H ₁₉ NO ₄	266,13868	8,00	W: 0,02 S: 0,08	Demethylierung	1
Desmethyl-MET (Isomer 4)			8,21	W: < 0,01 S: 0,02		2b
Desethyl-MET (Isomer 1)			6,53	W: < 0,01 S: 0,03		2b
Desethyl-MET (Isomer 2)	C ₁₃ H ₁₇ NO ₄	252,12303	7,21	W: 0,01 S: 0,04	Demethylierung	2b
Desmethylhydroxy-MET (Isomer 1)			6,66			2b
Desmethylhydroxy-MET (Isomer 2)	C ₁₄ H ₁₉ NO ₅	282,13360	6,79	W: < 0,01 ^[c] S: 0,02 ^[c]	Hydroxylierung, Demethylierung	2b
Desethylhydroxy-MET	C ₁₃ H ₁₇ NO ₅	268,11795	6,90	W: < 0,01 S: < 0,01	Hydroxylierung, Demethylierung	3
Hydroxy-MET-glucosid	C ₂₁ H ₃₁ NO ₁₀	458,20207	6,65	W: 0,16 S: 2,41	Hydroxylierung, Glycosylierung	2a
Hydroxy-MET-Malonsäure-glucosid	C ₂₄ H ₃₃ NO ₁₃	544,20247	6,77	W: 0,04 S: 0,12	Hydroxylierung, Glycosylierung, Malonsäure-Konjugation	2a

[a]: Masse-zu-Ladungs-Verhältnis des ausgewählten Ions zur Detektion als [M+H]⁺.

[b]: Relative Signalintensität der Verbindung in Relation zur Summe aller Intensitäten des Wirkstoffes und seiner Metaboliten in Wurzeln (W) und Spross (S) der Maispflanzen.

[c]: Eine Unterscheidung der Intensitäten beider Isomere war aufgrund einer fehlenden Basislinientrennung nicht möglich.

In der ersten metabolischen Phase wurde MET durch Hydroxylierung und Demethylierung umgewandelt, was mit früheren akademischen Studien sowie industriellen Zulassungsstudien in verschiedenen Nutzpflanzen übereinstimmt.^[96,115,130] Die Hydroxylierung von MET resultierte in der Bildung von drei unterschiedlichen Isomeren des Hydroxy-MET, welche sich anhand

ihrer unterschiedlichen Retentionszeiten voneinander unterscheiden ließen (Abbildung 40, A).^[96]

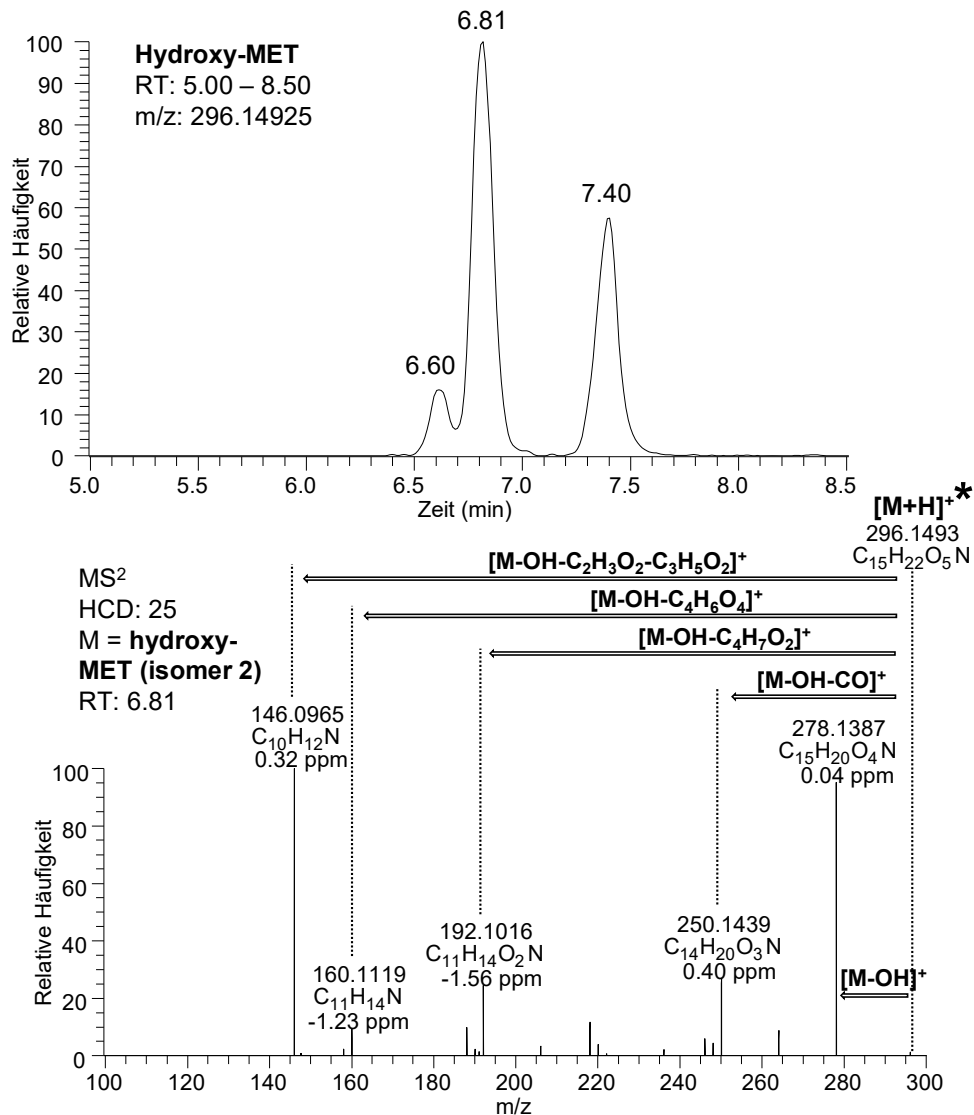


Abbildung 40: Oben: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse des MET Metaboliten [Hydroxy-MET+H]⁺ in einem Sprossextrakt der Maispflanzen nach siebentägiger Aufnahme von MET zugeordnet werden können. Unten: MS²-Messung des zweiten Isomers des Hydroxy-MET bei einer Retentionszeit von 6.8 min, welches repräsentativ für die MS²-Spektren aller drei Isomere gezeigt wird. Der Asterisk signalisiert die Position des [Hydroxy-MET+H]⁺, welches aufgrund der starken Fragmentierung nicht in der MS²-Messung detektiert wurde. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

In der Literatur sind zwei unterschiedliche Konstitutionsisomere des Hydroxy-MET, Hydroxymethyl-MET und Hydroxyphenyl-MET, bekannt.^[96] Diese wurden bislang in Pilzen, der menschlichen Leber sowie in Nutzpflanzen nachgewiesen.^[96,115,360,361] Aufgrund der Tatsache, dass die beiden benzyllischen Methylgruppen von MET nicht chemisch äquivalent sind, kann die Hydroxylierung dieser Methylgruppen in der Bildung von zwei unterschiedlichen Konformationsisomeren des Hydroxymethyl-MET resultieren.^[96] Da das enantiomerenreine

Metalaxyl (Metalaxyl-M oder MET-M) in dieser Aufnahmestudie verwendet wurde, entstehen aufgrund der Chiralität der Methylgruppe im oberen Teil des Moleküls zwei Diastereomere, die sich chromatographisch trennen lassen.^[96,361] Dies ist nicht der Fall für Hydroxyphenyl-MET, welches lediglich als ein einzelnes Konformationsisomer existiert, da beide Hydroxylierungsprodukte chemisch äquivalent sind.^[96,361] Durch Messung eines Referenzstandards konnte Hydroxy-MET Isomer 3 als Hydroxymethyl-MET identifiziert werden.^[96] Tandem-MS-Messungen zeigten für alle drei Isomere wie erwartet ein identisches Fragmentationsmuster sowohl bezüglich der gebildeten Fragmente als auch ihrer Intensitäten (Abbildung 40). Somit war eine eindeutige Zuordnung der Isomere 1 und 2, welche nach Literaturangaben Hydroxyphenyl-MET und dem weiteren Konformationsisomer des Hydroxymethyl-MET entsprechen sollten, hier nicht möglich.^[96,361]

Die Bildung von vier unterschiedlichen Demethyl-MET Spezies wurde nach einer einfachen Demethylierung beobachtet, was zu den Ergebnissen früherer Studien passt (Abbildung 41).^[96,130] Zwei dieser Isomere konnten, aufgrund eines Abgleichs der Retentionszeiten und der Fragmentationsmuster bei MS²-Messungen mit denen der Referenzstandards, MET-Säure (Isomer 2) und O-Desmethyl-MET (Isomer 3) zugeordnet werden.^[96,138] Tandem-MS-Messungen aller Isomere wurden durchgeführt, um Strukturinformationen bezüglich der beiden unbekanntes Desmethyl-MET Isomere zu erhalten.^[96] Die gebildeten Fragmente der beiden unbekanntes Isomere wurden mit denen der MET-Säure und des O-Desmethyl-MET verglichen (Abbildung 41).^[96] Dabei ist erkenntlich, dass Isomer 1 ein identisches Fragmentationsmuster sowohl bezüglich der gebildeten Fragmente als auch deren Intensität im Vergleich zu MET Säure aufweist.^[96] Da es sich jedoch aufgrund der unterschiedlichen Retentionszeiten um unterschiedliche Verbindungen handeln muss, ist naheliegend, dass der strukturelle Unterschied der beiden Verbindungen in einer früh abgespaltenen Funktion liegt, wodurch die verbleibenden detektierten Spezies diesen Unterschied nicht widerspiegeln. Jedoch werden die exklusiv durch Isomer 1 und MET-Säure (Isomer 2) gebildeten Spezies $m/z = 220$ und $m/z = 192$ auch von MET selbst im MS² in vergleichbarer Intensität gebildet (Abbildung 55). Dies bedeutet, dass die Demethylierung höchstwahrscheinlich ebenfalls am Carbonsäureester stattgefunden haben muss, da ansonsten kein Fragment $m/z = 220$ gebildet werden würde, wie auch im Spektrum von O-Desmethyl-MET ersichtlich ist. Jedoch gibt es keine weitere Position, an welcher die Demethylierung stattgefunden haben könnte, um ein zu MET-Säure differentes Konstitutionsisomer zu erzeugen und dennoch das $m/z = 220$ Fragment zu bilden. Daher stellt sich die Frage, ob es sich analog zu den verschiedenen detektierten Hydroxy-MET Spezies um das Vorhandensein von Konformationsisomeren aufgrund der Interaktion der gebildeten Carbonsäure mit chemisch nicht äquivalenten Gruppen im Molekül handelt. Da das

unbekannte Isomer 1 die mit Abstand höchsten Intensitäten aller detektierten Desmethyl-MET Spezies aufwies, ist es bei der strukturellen Ähnlichkeit naheliegend, dass es auch in den größten Mengen in der Maispflanze gebildet wurde.

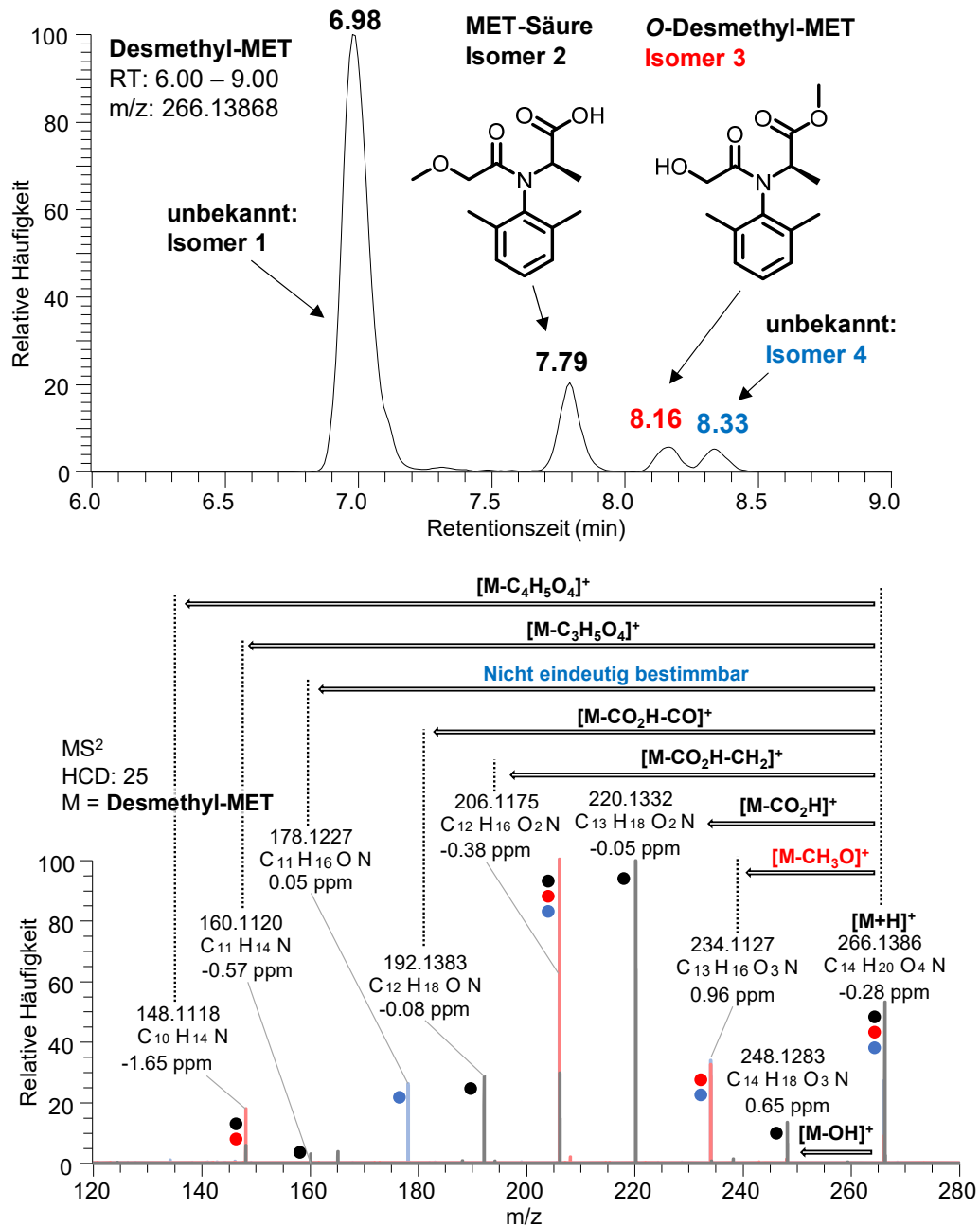


Abbildung 41: Oben: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse des MET Metaboliten [Desmethyl-MET+H]⁺ in einem Sprossextrakt der Maispflanzen nach siebentägiger Aufnahme von MET zugeordnet werden können. Unten: Superponierte MS²-Messungen der vier Isomere. Da die MS²-Spektren vom unbekanntem Isomer 1 und MET-Säure (Isomer 2) identisch waren, wurde nur das Spektrum von MET-Säure in schwarz gezeigt. In rot das MS²-Spektrum von O-Desmethyl-MET (Isomer 3) und in blau das Spektrum des ebenfalls unbekanntem Isomer 4. Farbige Punkte signalisieren zusätzlich, in welchen Spektren die Fragmente vorkamen. Auf den Pfeilen sind Vorschläge bezüglich der Abgangsgruppen, wobei die Farbe dieser angibt, auf welches Spektrum diese sich beziehen.

Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Das unbekannte Isomer 4 (blau) ähnelt in seiner Fragmentation stark dem *O*-Desmethyl-MET (rot; Abbildung 41). Analog zu *O*-Desmethyl-MET bildete es das Fragment $m/z = 234$, bei welchem die Esterfunktion gespalten wird und das Fragment $m/z = 206$ in deutlich höheren Intensitäten als Isomer 1 und MET-Säure. Dies zeigt, dass die Demethylierung nicht an der Esterfunktion, sondern an einem anderen Molekülteil stattfand. Während bei allen drei anderen Isomeren der *N*-C-Bindungsbruch zum Abgang der gesamten rechtseitigen Ester- bzw. Carbonsäuregruppe führte (Abbildung 41), ist dieses Fragment beim unbekanntem Isomer 4 nicht erkennbar. Stattdessen wurde ein Fragment $m/z = 178$ gebildet, welches bei keinem anderen Isomer detektiert wurde und zu dessen Bildung eine eindeutige Zuweisung der Abgangsgruppe nicht möglich war. Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass zusätzlich zu einer *O*-Desmethylierung eine Umlagerung in Teilen des Moleküls stattfand.

Da es nicht möglich war, eine signifikante Menge der Metaboliten zu isolieren, war eine genauere Identifizierung mittels NMR nicht möglich.^[96] Folglich konnten die genauen Strukturen der unbekanntem Demethyl-MET-Isomere in dieser Studie nicht bestimmt werden.^[96] Eine mehrfache Demethylierung resultierte in der Bildung von zwei Desethyl-MET Isomeren, welche erneut aufgrund von identischen Fragmentierungsmustern nicht voneinander unterschieden werden konnten. Eine Kombination aus Demethylierung und Hydroxylierung führte zur Bildung von Desethyl-hydroxy-MET sowie zwei Isomeren von Desmethyl-hydroxy-MET, welche bislang nur in Kalluskulturen beobachtet werden konnten.^[96,130] Alle MS²-Spektren der hier identifizierten Pflanzenschutzmittel und ihrer Metaboliten sind zur besseren Nachvollziehbarkeit zusätzlich einzeln im Anhang dieser Arbeit zu finden (Abbildung 55 – Abbildung 77).

Die Phase-II Konjugation von Hydroxy-MET durch Glukose führte zur Bildung von Hydroxy-MET-glucosid.^[96] Die Konjugation erfolgte dabei vermutlich ausgehend vom Isomer 2 Hydroxymethyl-MET.^[96] Die Umwandlung dieses Isomers zum Glukosekonjugat wurde bereits in mehreren Pflanzen, darunter Mais und Tomate, beschrieben.^[96,115,130] Eine anschließende weitere Konjugation in Phase-III durch Malonsäure resultierte in der Bildung von Hydroxy-MET-glucosid-Malonsäure. MET-Säure wird in biologischen Systemen häufig als primärer oder sogar Hauptmetabolit erfasst.^[96,362,363] In dem hier beschriebenen Aufnahmeexperiment wurden jedoch geringere Intensitäten für MET-

Säure festgestellt als für das unbekanntem Desmethyl-MET Isomer 1 und deutlich geringere als für die Hydroxy-MET Spezies. Die höchsten Intensitäten aller identifizierten Metaboliten im Maisspross zeigte das Hydroxy-MET-glucosid.^[96]

Die in der Maispflanze gebildeten und massenspektrometrisch detektierten Metaboliten des SPI sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Auflistung von SPI und allen detektierten Metaboliten des Wirkstoffes in Wurzeln und Blättern der Maispflanzen nach einer siebentägigen Aufnahme von SPI aus einer hydroponischen Nährlösung (10 µM). Die massenspektrometrische Sicherheit wurde anhand eines Stufensystems bewertet, wobei Stufe 1 die höchste Sicherheit darstellt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Substanz	Summenformel	Masse ^[a] [m/z]	RT [min]	Intensität ^[b] [%]	Reaktion	Stufe
Spirotetramat (SPI)	C ₂₁ H ₂₇ NO ₅	374,19620	9,20	W: 3,48 S: 2,34	-	1
Spirotetramat-enol (SPI-E)	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	302,17507	7,78	W: 74,6 S: 6,43	Hydrolyse	1
Ketohydroxy-SPI	C ₁₈ H ₂₃ NO ₄	318,16998	8,04	W: 2,57 S: 1,43	Hydrolyse, Hydroxylierung	2b
Desmethyl-SPI-E	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	288,15942	7,02	W: 2,32 S: 4,05	Hydrolyse, Demethylation	2a
Desmethyl-SPI-E-glucosid	C ₂₃ H ₃₁ NO ₈	450,21224	6,53	W: 0,96 S: 1,46	Hydrolyse, Demethylation Glycosylierung	2b
Desmethyl-ketohydroxy-SPI-E-glucosid	C ₂₃ H ₃₀ NO ₉	466,20717	6,59	W: 0,04 S: 0,28	Hydrolyse, Hydroxylierung, Demethylation, Glycosylierung	2b

[a]: Masse-zu-Ladungs-Verhältnis des ausgewählten Ions zur Detektion als [M+H]⁺.

[b]: Relative Signalintensität der Verbindung in Relation zur Summe aller Intensitäten des Wirkstoffes und seiner Metaboliten in Wurzeln (W) und Sprossen (S).

Als Hauptmetabolit des SPI, aufgrund dessen Eigenschaften als Carbonatesterderivat, wurde SPI-E detektiert, welches als Hydrolyseprodukt sowohl in Wurzeln als auch im Spross gefunden wurde.^[96] Weitere identifizierte Phase-I Metaboliten waren Ketohydroxy-SPI und Desmethyl-SPI-E.^[96] Der hier in Mais beobachtete metabolische Abbauweg stimmt mit zuvor von Bayer veröffentlichten Ergebnissen in Apfel, Baumwolle, Salat und Kartoffel überein, unterscheidet sich jedoch von dem beobachteten Metabolismus von SPI in Spinat.^[96,359,364] Umwandlungen in Phase-II resultierten in der Bildung von Desmethyl-SPI-E-glucosid und Desmethyl-ketohydroxy-SPI-E-glucosid.^[96] Der Metabolit SPI-E-glucosid ohne vorhergehende Desmethylierung wurde in Wurzeln und Spross von Mais nicht detektiert. Dies zeigt den großen Einfluss, den die Pflanzenspezies auf den Abbauweg der Pflanzenschutzmittel hat, denn Ergebnisse von Bayer zeigten, dass dieser Metabolit in allen von ihnen untersuchten Pflanzen (Apfel, Baumwolle, Salat und Kartoffel) gebildet wurde.^[359] Dass die Glukosylierung in Mais erst nach einer Demethylierung stattfindet, deutet darauf hin, dass die Konjugation an der durch diese entstehenden Hydroxygruppe am Cyclohexenring stattfindet.

Alle Metaboliten des SPI wurden sowohl in Wurzeln als auch im Spross detektiert.^[96] Im Gegensatz zu den Ergebnissen bezüglich des Metabolismus von MET konnten keine Produkte einer Konjugation durch Malonsäure identifiziert werden.^[96] Der Metabolismus von SPI in Mais scheint dem in Kartoffeln zu ähneln, da die Umwandlungsprodukte Desmethyl-SPI-E und

Desmethyl-SPI-E-glucosid in Kartoffelpflanzen, aber nicht in Apfel, Baumwolle, Salat, Spinat oder Kräutern nachgewiesen wurden.^[96,302,359,365] Den bedeutendsten metabolischen Weg von SPI in Mais, insbesondere in den Sprossen, scheint die Hydrolyse zu SPI-E, gefolgt von einer Demethylierung zu Desmethyl-SPI-E darzustellen.^[96] Dieser Metabolit wird anschließend durch Glucose konjugiert, wodurch das Phase-II-Produkt Desmethyl-SPI-E-glucosid entsteht.^[96]

Zusätzlich wurde der Abbauweg nach direkter Aufnahme von SPI-E anstelle von SPI aus der hydroponischen Nährstofflösung, sodass der Pflanze kein SPI zur Verfügung stand, untersucht.^[96] Die Identifikation von Ketohydroxy-SPI und Desmethyl-SPI-E nach Exposition gegenüber SPI-E bei Abwesenheit von SPI zeigt, dass diese Metaboliten aus SPI-E gebildet wurden, nachdem dieses zuvor aus SPI entstanden ist, und nicht direkt aus SPI stammen.^[96] Die relativen Intensitäten der einzelnen Metaboliten nach Aufnahme von SPI-E ähneln stark jener nach Aufnahme von SPI.^[96] Dies deutet darauf hin, dass die initiale Umwandlung zu SPI-E rasch erfolgt, während die nachfolgenden Phase I- und Phase II-Metabolisierungen verzögert ablaufen und somit die geschwindigkeitsbestimmenden Schritte des SPI-Abbaus darstellen.^[96] Die hohe Intensität von Desmethyl-SPI-E im Vergleich zu dessen Zucker-Konjugat weist zudem darauf hin, dass die Demethylierung schneller erfolgt als die anschließende Glycosylierung.^[96]

Unter der Prämisse, dass die Wiederfindungsraten der Pflanzenschutzmittel und ihrer Metaboliten ausreichend und vergleichbar sind und zudem ähnliche Responsefaktoren vorliegen, lässt sich eine grobe Abschätzung der relativen Menge der während der siebentägigen Aufnahmestudie gebildeten Metaboliten vornehmen.^[89,96] Es ist zu beobachten, dass in den Sprossen über 93 % und in den Wurzeln nahezu 98 % der gesamten Signalintensität auf unmetabolisiertes MET zurückzuführen sind.^[96] Selbst wenn von einer geringeren Extraktionseffizienz der polareren Metaboliten ausgegangen wird, deutet dies darauf hin, dass die Menge der extrahierbaren Metaboliten in der Maispflanze im Vergleich zur Menge der Ausgangsverbindung relativ gering ist.^[96] Dieses Verhalten unterscheidet sich deutlich von früheren Studien zum Abbau von MET in Tomate, bei denen ausschließlich MET in den Wurzeln nachgewiesen wurde, während in den Sprossen nur Metaboliten vorkamen.^[96,115] SPI zeigt hingegen eine deutlich stärkere Tendenz zur Umwandlung in der Pflanze, besonders ausgeprägt im Spross, wo lediglich 55 % der gesamten Signalintensität von SPI und SPI-E stammen.^[96] Daraus lässt sich schließen, dass entweder die oberirdischen Teile der Pflanze eine deutlich höhere metabolische Aktivität aufweisen als die Wurzeln, oder dass Metaboliten aus den Wurzeln wesentlich schneller in die oberirdischen Pflanzenteile transportiert werden als SPI oder SPI-E selbst.^[96]

4.5.2 Verteilung von Metaboliten zwischen Wurzeln und Spross

Um einen tieferen Einblick in die metabolischen Abbauege der Wirkstoffe sowie die Transportpfade ihrer Metaboliten zu erhalten, wurde die Verteilung der Substanzen zwischen Wurzeln und Blättern mittels HPLC-HRMS untersucht.^[96] Bei MET als auch bei SPI handelt es sich um hochmobile, systemische Pflanzenschutzmittel.^[114,139] Die Systemizität eines Pflanzenschutzmittels oder seines Metaboliten kann als dessen Fähigkeit zur Translokation in andere Pflanzenteile, die bei der initialen Aufnahme nicht direkt mit der Verbindung in Kontakt gekommen sind, definiert werden.^[96,366] Dementsprechend gibt die Verteilung zwischen Wurzeln und Spross Aufschluss über Mobilität und Systemizität einer Verbindung, was sich quantitativ durch den TF erfassen lässt.^[96,107,367]

Bei der Bewertung der Verteilung von Pflanzenschutzmittelmetaboliten in Wurzeln und Spross ist nicht klar erkennbar, ob die Umwandlung in den Wurzeln erfolgte und die Metaboliten im Anschluss in den Spross transportiert wurden oder ob das eigentliche Pflanzenschutzmittel selbst zunächst in den Spross verlagert und anschließend dort metabolisiert wurde.^[96,368] Da die von uns ermittelte Verteilung der Metaboliten zudem auf gemessenen Intensitäten und nicht auf tatsächlichen Konzentrationen innerhalb des Gewebes basiert, wurde die Verteilung nicht als TF, sondern als Spross-zu-Wurzel-Intensitätsfaktor (engl. *shoots to roots intensity factor*; SRIF) bezeichnet.^[96] Um die Aussagekraft des SRIF zu bewerten, wurde dieser mit dem TF für MET und SPI-E verglichen, was aufgrund der robusten Quantifizierung dieser mithilfe von Referenzsubstanzen und isopenmarkierter interner Standards möglich war.^[96] Die TF- und SRIF-Werte waren nahezu identisch mit $TF_{\text{MET}} = 3,1$ und $SRIF_{\text{MET}} = 2,9$ für MET sowie $TF_{\text{SPI-E}} = 0,09$ und $SRIF_{\text{SPI-E}} = 0,09$ für SPI-E. Die geringen Abweichungen können möglicherweise auf Matrixeffekte der Proben zurückzuführen sein, welche beim TF, anders als beim SRIF, durch die internen Standards berücksichtigt werden.^[96] SRIF-Werte unterhalb von 1 weisen auf eine höhere Messintensität in den Wurzeln hin, während ein Wert von 1 eine gleichmäßige Signalverteilung zwischen Wurzel und Spross anzeigt. Werte über 1 deuten auf eine stärkere Intensität im Spross hin. Der SRIF der wichtigsten Metaboliten des MET ist in Abbildung 42 dargestellt.

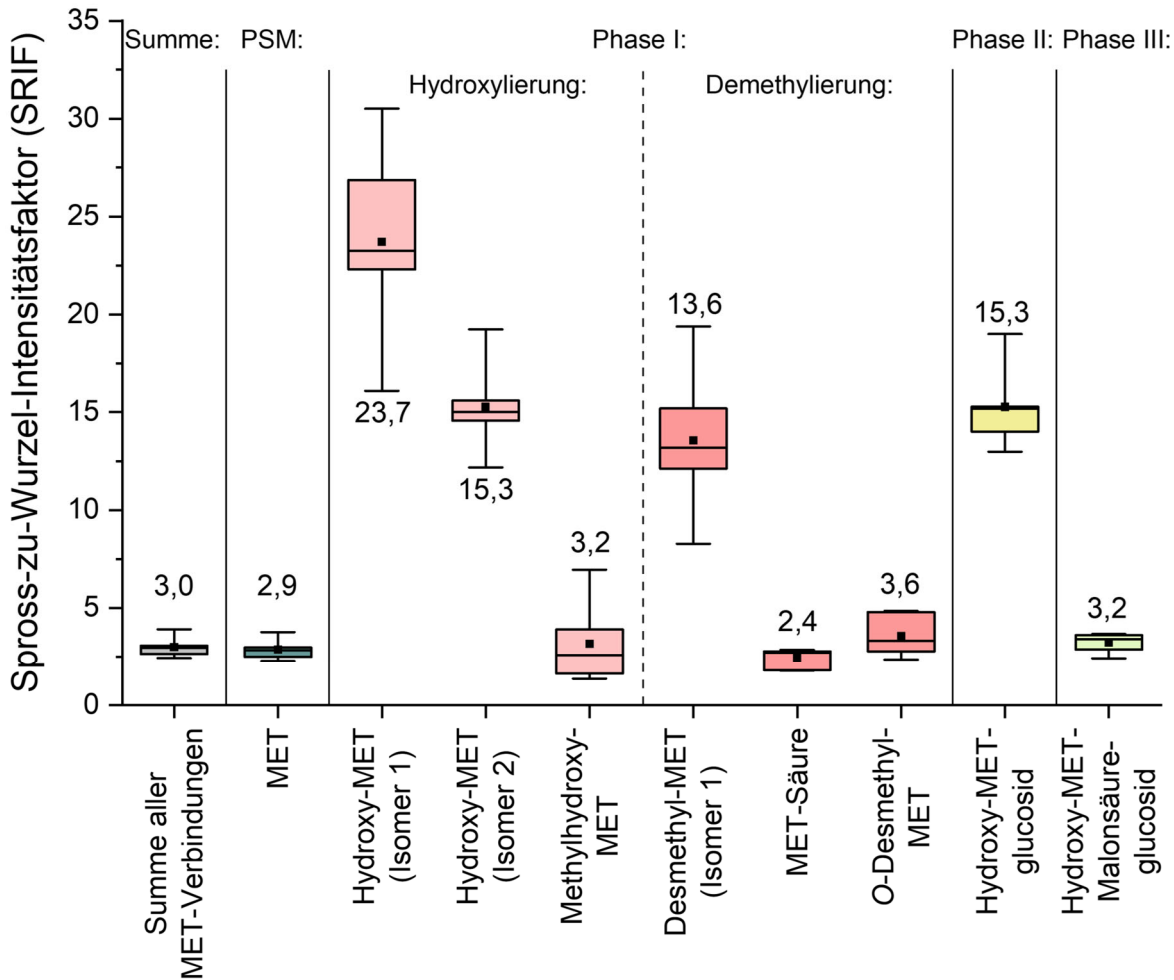


Abbildung 42: Der Spross-zu-Wurzel-Intensitätsfaktor (SRIF) zeigt die Intensitätsverteilung von Signalen der wichtigsten Metaboliten des Pflanzenschutzmittels (PSM) MET in Wurzeln und Spross der Maispflanzen nach Wurzel Aufnahme von MET über einen Zeitraum von sieben Tagen bei einer Expositionskonzentration von 10 µM. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

MET zeigte eine hohe Translokationsrate mit einem SRIF von 3,0, bedingt durch sein geringes Molekulargewicht, mittlere Lipophilie und gute Wasserlöslichkeit (8,4 g/L).^[57,89,96,328] Diese physikochemischen Eigenschaften ermöglichen einen schnellen akropetalen Transport durch das Xylem und eine hohe Systemizität in Mais, die bereits in Kapitel 4.4 ausführlich diskutiert wurde.^[96,115,120]

Wie erwartet zeigen die Metaboliten des hochmobilen MET hohe SRIF-Werte, welche auf ein hohes Maß an Systemizität hindeuten.^[96] Die metabolische Aktivierung von Pflanzenschutzmitteln in Phase I resultiert in der Bildung von Substanzen mit erhöhter Hydrophilie und Wasserlöslichkeit, was als Nebeneffekt in vielen Fällen die Mobilität der Metaboliten in der Pflanze erhöht.^[369,370] Dementsprechend zeigte Hydroxy-MET eine starke Tendenz zur Anreicherung in den Sprossen.^[96] Dabei wurden statistisch signifikante Unterschiede in der Verteilung der verschiedenen Hydroxy-MET Isomere zwischen ober- und

unterirdischen Pflanzenteilen festgestellt (SRIF-Werte zwischen 3,2 und 23,7).^[96] Es konnte gezeigt werden, dass selbst Stereoisomere mit nahezu identischen physikochemischen Eigenschaften erhebliche Unterschiede in ihrer Verteilung in Nutzpflanzen aufweisen.^[96,371] Die stereoselektive Natur enzymatischer Hydroxylierungsreaktionen kann zur bevorzugten Bildung eines bestimmten Isomers führen, wenn entsprechende Enzyme in Wurzeln oder Sprossen in höherer Konzentration vorliegen.^[96,372] Auch enzymatische Phase-II-Folgereaktionen, bei welchen die Isomere in unterschiedlichem Maße umgewandelt werden, können ebenfalls den SRIF beeinflussen.^[96] Der Nachweis des Hydroxy-MET-Glucosid in vergleichsweise hoher Intensität, insbesondere in den Sprossen, deutet darauf hin, dass ein erheblicher Anteil des Hydroxymethyl-MET metabolisiert wurde.^[96,115,130] Dies kann die beobachtete Verteilung im Vergleich zu anderen Hydroxy-MET-Isomeren verändern und im Falle des Hydroxymethyl-MET möglicherweise den stark reduzierten SRIF erklären.^[96]

Auch bei der Demethylierung von MET sind deutliche Unterschiede ersichtlich.^[96] Für das unbekannte Desmethyl-MET Isomer 1 wurde ein signifikant höherer SRIF-Wert festgestellt als für die Isomere MET-Säure und O-Desmethyl-MET.^[96] Während MET-Säure eine Carboxygruppe besitzt, liegt bei O-Desmethyl-MET eine α -Hydroxy-Keton-Funktion vor.^[96,138] O-Desmethyl-MET besitzt daher Eigenschaften, welche denen der Ausgangsverbindung MET ähneln, was ebenfalls einen ähnlichen SRIF der beiden Verbindungen resultiert.^[96] MET-Säure hat als Carbonsäure einen berechneten pK_a -Wert von 3,7 (Tabelle 16), weswegen die Verbindung in ihrer neutralen Form in Zellen diffundieren und dort im alkalischen Symplast ionisiert werden kann.^[96,373] Dieses *Ion-Trapping* führt zu einer Retention der anionischen Verbindung in den Zellen.^[89,96,329] Dadurch kann MET-Säure auch über einen längeren Zeitraum im Phloem zurückgehalten werden, was der Substanz ermöglicht, in diesem transportiert zu werden.^[96,120,373] Da der Phloemtransport signifikant langsamer erfolgt als der Transport im Xylem und die Verbindung auch in anderen Gewebestrukturen im Symplast zurückgehalten werden kann, ist eine verlangsamte Translokation von MET-Säure zu erwarten.^[96,120] Hinzu kommt, dass die Verbindung aufgrund der bidirektionalen Transportrichtung des Phloems auch aus dem Spross in die wachsenden Wurzeln transportiert werden konnte.^[114] Diese Aspekte können zur Erklärung des niedrigen SRIF-Wertes der Verbindung beitragen.

Hydroxy-MET-Glucosid zeigt ebenfalls eine starke Tendenz zur Anreicherung im Spross der Maispflanzen.^[96] Da Phase II Metaboliten aufgrund der Konjugation mit polaren endogenen Substanzen im Allgemeinen eine deutlich höhere Wasserlöslichkeit aufweisen, könnte dies ihren Transport durch die Pflanze begünstigen.^[96,374] Auch das Phase-III-Malonsäurekonjugat zeigte eine Neigung zur Anreicherung in den Sprossen, wenn auch in geringerem Maße als sein Edukt, das Hydroxy-MET-Glucosid.^[96] Diese reduzierte Verlagerung könnte auf die stark

gesteigerte Hydrophilie des Moleküls zurückzuführen sein, welche die Transportrate durch lipophile Zellmembranen reduziert.^[59,128]

Der SRIF-Wert der wichtigsten detektierten Metaboliten des SPI in Maispflanzen ist in Abbildung 43 dargestellt.

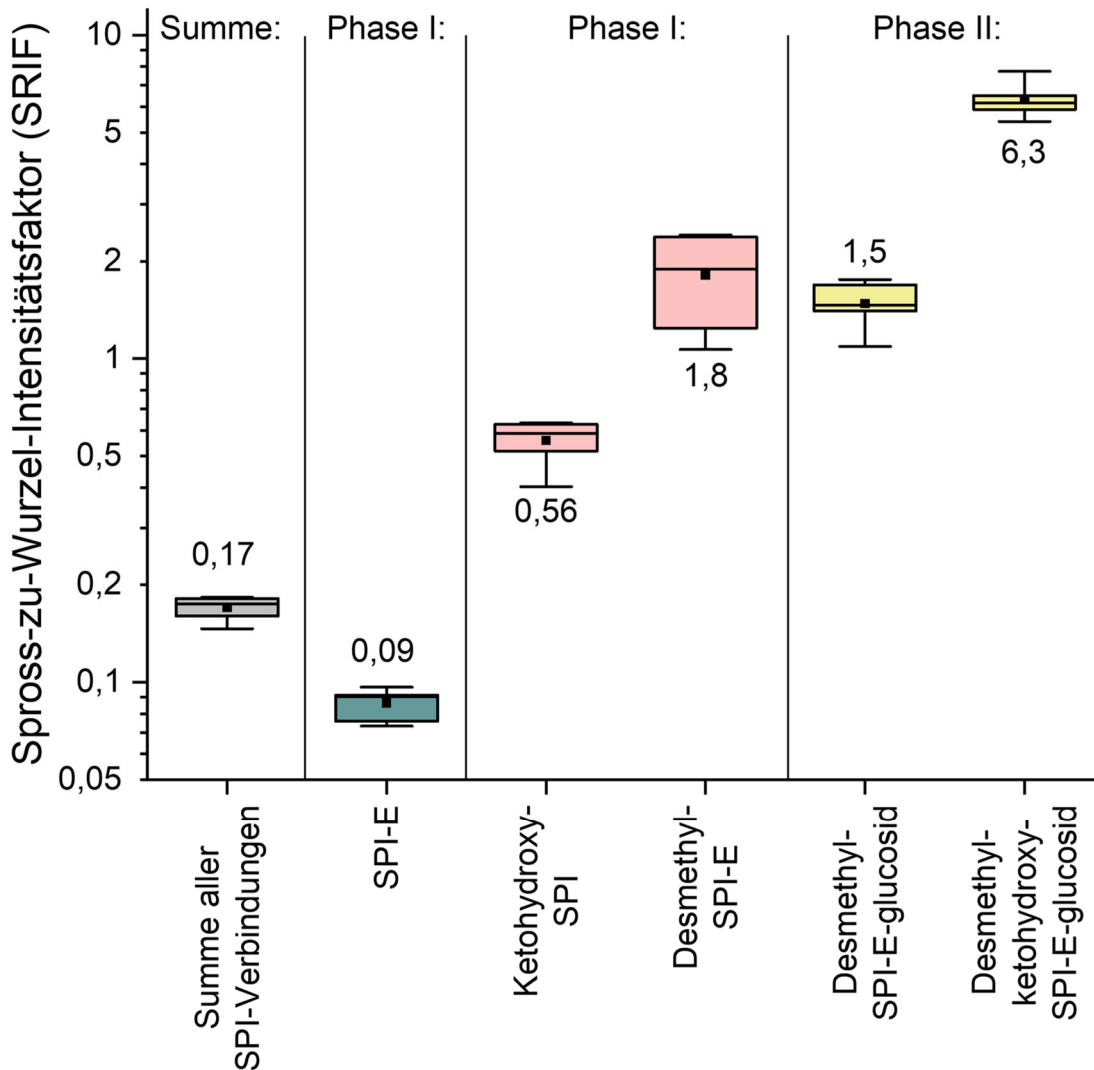


Abbildung 43: Der Spross-zu-Wurzel-Intensitätsfaktor (SRIF) zeigt die Intensitätsverteilung von Signalen der wichtigsten Metaboliten des SPI in Wurzeln und Spross der Maispflanzen nach Wurzel Aufnahme von MET über einen Zeitraum von sieben Tagen bei einer Expositionskonzentration von 10 μM . SPI-E kann hier aufgrund der Hydrolyse vor der Aufnahme in die Wurzel sowohl als Phase I Metabolit, als auch als Ausgangsverbindung angesehen werden. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Die Verteilung der SPI-Metaboliten unterscheidet sich gänzlich von der beobachteten Verteilung von MET und seinen Metaboliten.^[96] Die Konzentration von SPI in den Sprossen war zu gering, um eine robuste Berechnung und Bewertung des SRIF-Wertes zu ermöglichen, da die Unterschiede zwischen den einzelnen Replikaten aufgrund der raschen Umwandlung zu SPI-E sehr groß waren.^[96] Wie bereits in Kapitel 4.4 ausführlich diskutiert, führt die

Hydrolyse von SPI zu SPI-E zu signifikanten Veränderungen der physikochemischen Eigenschaften, insbesondere des pKa-Wertes.^[324] Diese Veränderungen sorgen dafür, dass SPI-E anionisch im Symplast vorliegen sollte und von den negativ geladenen Zellwänden abgestoßen wird.^[89,96,329,330] Dies führt zu einer erhöhten Phloemmobilität und somit einem reduzierten akropetalen Transport, was sich in einem reduzierten SRIF-Wert widerspiegelt, ähnlich wie es auch für MET-Säure angenommen wurde.^[96,114]

Ketohydroxy-SPI sowie Desmethyl-SPI-E weisen signifikant höhere SRIF-Werte auf als SPI-E.^[96] Im Gegensatz zu SPI-E liegt Ketohydroxy-SPI aufgrund seines höheren pKa-Wertes von 11,0 in ungeladener Form im Apoplast sowie Symplast der Pflanze vor, was seine akropetale Transportrate erhöht.^[89,96,329] Der SRIF-Wert von Desmethyl-SPI-E war signifikant höher als der von SPI-E und sogar höher als der von Ketohydroxy-SPI (Abbildung 43).^[96] Dies weist darauf hin, dass die Umwandlung von SPI-E zu Desmethyl-SPI-E vor allem in den oberirdischen Pflanzenteilen stattfindet, da aufgrund der ähnlichen physikochemischen Eigenschaften beide Verbindungen anionisch im Symplast vorliegen und somit ähnliche Transportgeschwindigkeiten aufweisen sollten.^[96] Die Konjugationsprodukte des SPI, Desmethyl-SPI-E-Glucosid sowie Desmethyl-Ketohydroxy-SPI-E-Glucosid zeigen eine ähnliche Tendenz primär im Spross anzureichern, wie sie auch für Hydroxy-MET-Glucosid beobachtet wurde.^[96]

4.5.3 Verteilung der Metaboliten in Blättern unterschiedlicher Entwicklungsstadien

Zur näheren Aufklärung der Metabolisierung sowie der Verteilung der Metaboliten von MET und SPI in der Maispflanze wurde mithilfe von HPLC-HRMS die Verteilung der beiden Wirkstoffe und ihrer wichtigsten Metaboliten in Blättern unterschiedlichen Alters untersucht.^[96] Die jungen Maispflanzen wiesen zum Erntezeitpunkt noch keinen ausgebildeten Stiel auf, stattdessen bestand die Sprossachse aus den zusammengerollten Blattscheiden der unterschiedlichen Blätter. Die Blätter wurden dabei entsprechend ihrer Wachstumsreihenfolge nummeriert, wobei Blatt sechs und sieben während des siebentägigen Aufnahmeexperimentes neu ausgebildet wurden (Tabelle 39).^[96] Nur Metaboliten, welche reproduzierbar erfasst werden konnten, wurden in die Bewertung miteinbezogen. Die relative Intensität jedes hier gezeigten Metaboliten wurde auf die gemessene Intensität im Keimblatt (Blatt 1) normiert, da dieses die geringste metabolische Aktivität aufweisen sollte.^[96,375] Diese Standardisierung ermöglicht einen direkten Vergleich der Verteilungsmuster der verschiedenen Metaboliten in den Blättern unterschiedlicher Entwicklungsstadien.^[96] Die Intensitäten von MET und seinen Metaboliten in Maisblättern unterschiedlichen Alters sind in Abbildung 44 dargestellt.

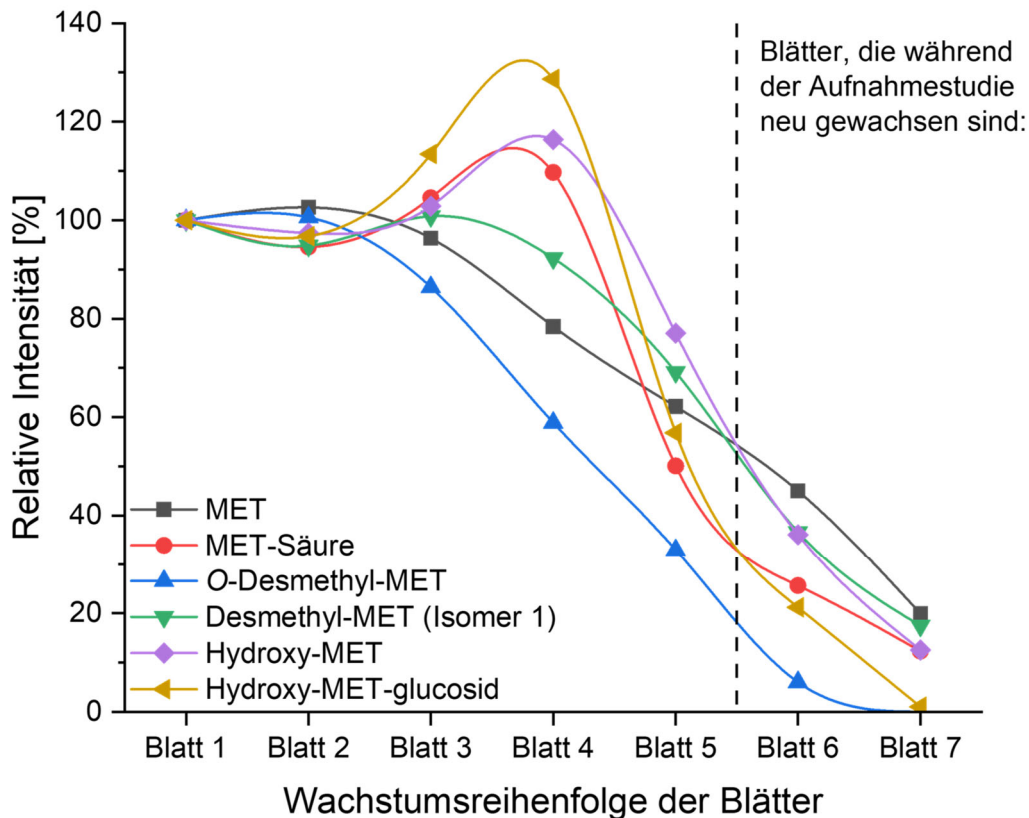


Abbildung 44: Verteilung der relativen normalisierten Intensitäten von MET und seinen Hauptmetaboliten in Blättern unterschiedlichen Alters, nach siebentägiger Aufnahme durch die Wurzel aus einer hydroponischen Lösung mit einer Konzentration von 1 μM . Die Intensitäten wurden auf die detektierte Intensität im Keimblatt (Blatt 1) normalisiert. Blätter 6 und 7 sind während des Aufnahmezeitraumes neu gewachsen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Die Intensitäten von MET und seinen Metaboliten nahmen von den älteren hin zu den jüngeren Blättern ab, mit den niedrigsten detektierten Intensitäten in den während der Aufnahmestudie neu gebildeten Blättern (Blatt 6 und 7).^[96] Dieser Verlauf entspricht früheren Beobachtungen zur Verteilung von Carbamazepin in Salat nach Aufnahme durch die Wurzeln.^[96,203] Dieses wurde überwiegend mit dem Transpirationsstrom im Xylem transportiert und in hohen Konzentrationen vor allem in den älteren, äußeren Blättern detektiert.^[96,203] Im Vergleich zu den jüngeren, inneren Blättern sind diese trockener Luft und höherer Lichtintensität ausgesetzt, was zu einer verstärkten Transpiration und somit einem stärkeren Transport in diese Blätter führt.^[96,203] Da MET ähnliche physikochemische Eigenschaften wie Carbamazepin aufweist, ist es naheliegend, dass eine vergleichbare Verteilung der beiden Substanzen in Pflanzen zu beobachten ist.^[96]

O-Desmethyl-MET zeigt ein Verteilungsmuster, das von allen betrachteten Metaboliten dem von MET am ähnlichsten war, mit einer kontinuierlichen Abnahme der Intensitäten von älteren hin zu jüngeren Blättern.^[96] Es ist naheliegend, dass die Verteilung der Metaboliten eng mit der des unmetabolisierten Wirkstoffes korreliert, da höhere Konzentrationen an MET im

Gewebe die Bildung der Metaboliten in höheren Konzentrationen begünstigt.^[96,376] Die im Vergleich zu MET geringeren Intensitäten in den jüngeren Blättern bis unter die Nachweisgrenze in Blatt 7 deuten darauf hin, dass die O-Demethylierung langsamer verläuft als andere Phase I Umwandlungen.^[96] Dies wird durch die ebenfalls geringen Intensitäten in Wurzeln und Spross der Maispflanzen unterstützt (Tabelle 10).^[96]

Bezüglich der anderen Metaboliten des MET ließen sich zwei auffällige Trends identifizieren:

1. In den jüngsten Blättern (Blatt 5 – 7) ist ein rapider Rückgang der relativen Intensitäten zu beobachten.^[96] Dieser Trend ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass in diesen neu gewachsenen Blättern nicht genügend Zeit zur Verfügung stand, um dort Metaboliten in höheren Konzentrationen zu bilden.^[96] Die Beobachtung, dass in Blatt 7 die Phase I Metaboliten eine deutlich höhere relative Intensität als die Phase II Metaboliten aufweisen, unterstützt diese Hypothese.^[96,377]
2. Um Blatt 4 wurde ein Anstieg der relativen Intensität festgestellt.^[96] Eine erhöhte metabolische Aktivität könnte in diesem Entwicklungsstadium zur beobachteten Verteilung beitragen, erklärt den Trend jedoch nicht vollständig, da O-Desmethyl-MET keinen vergleichbaren Anstieg zeigte.^[96] Stattdessen könnte der gezeigte Trend der relativen Intensitäten im Transportweg der Metaboliten in der Pflanze begründet liegen.^[96]

In frühen Entwicklungsstadien fungieren Blätter als sogenannte „Senken“, welche Assimilate wie Zucker und Aminosäuren zum Wachstum aus den restlichen Teilen der Pflanze erhalten.^[96] Mit zunehmendem Alter reifen die Blätter zu Produzenten und Exporteuren dieser Stoffwechselprodukte heran und werden somit zu „Quellen“, welche durch das Phloem die Senken mit Nährstoffen versorgen.^[96,119,378] Bei dikotylen Pflanzen erfolgt der Übergang von Senken zu Quellen, wenn die Blattfläche etwa 30 – 60 % der ausgewachsenen Größe erreicht hat.^[96,379] Daher sind ältere Blätter vor allem dem Xylemtransport ausgesetzt, während jüngere Blätter primär durch das Phloem mit phloemmobilen Substanzen versorgt werden.^[96] Das starke Wachstum der Blätter 4 – 7 während der Aufnahmestudie deutet darauf hin, dass diese zumindest in Teilen als Senke fungiert haben, insbesondere Blatt 6 und 7, die erst während des Experiments ausgebildet wurden (Tabelle 39).^[96] Der beobachtete Anstieg der relativen Intensitäten von MET-Säure, Hydroxy-MET und Hydroxy-MET-Glucosid um Blatt 4 könnte auf einen gewissen Grad der Phloemmobilität dieser Verbindungen hindeuten.^[96] Die Umverteilung von Metaboliten aus älteren Blättern (Quellen) in jüngere Blätter (Senken) würde zu einer Verschiebung der Intensitätskurve führen, welche in der beobachteten Verteilung resultieren könnte.^[96] Dass die höchsten Intensitäten jedoch in den Blättern 3 – 5 und nicht in den jüngsten Blättern auftreten, lässt sich durch das Zusammenspiel mehrerer Faktoren erklären:

1. Eine größere Menge des Wirkstoffes MET wurde initial in die Blätter 3 – 5 als in die jüngeren Blätter 6 und 7 transportiert.^[96]
2. Die Blätter, welche bereits zu Anfang des Aufnahmezeitraumes weiter ausgebildet waren, konnten MET über einen längeren Zeitraum und somit in einer größeren Quantität metabolisieren als die Blätter, deren Wachstum erst während des Experimentes startete.^[96]
3. Blätter 4 und 5 zeigten ein substanzielles Wachstum in der Anfangsphase der siebentägigen Aufnahmestudie und wurden daher vermutlich über das Phloem mit Assimilaten und phloemmobilen Metaboliten versorgt.^[96] Aufgrund ihrer Größe zu Ende des Experimentes könnten sie zusätzlich zu einem gewissen Anteil durch das Xylem mit Substanzen beliefert worden sein.

Da die ersten beiden Faktoren die relative Intensität der Metaboliten in Richtung der älteren Blätter verschieben und der Phloemtransport in das Senkengewebe vergleichsweise langsam ist ^[120], ist die Anreicherung in den jüngsten Blättern entsprechend gering.^[96]

Ein von KLEIER *et al.* entwickeltes mathematisches Modell, welches die Phloemmobilität mit den physikochemischen Eigenschaften der Wirkstoffe und Metaboliten korreliert, prognostiziert eine hohe Phloemmobilität für MET-Säure, jedoch keine für MET und Hydroxy-MET und nur eine geringe für Hydroxy-MET-Glucosid (Abbildung 45, A).^[96,124,373]

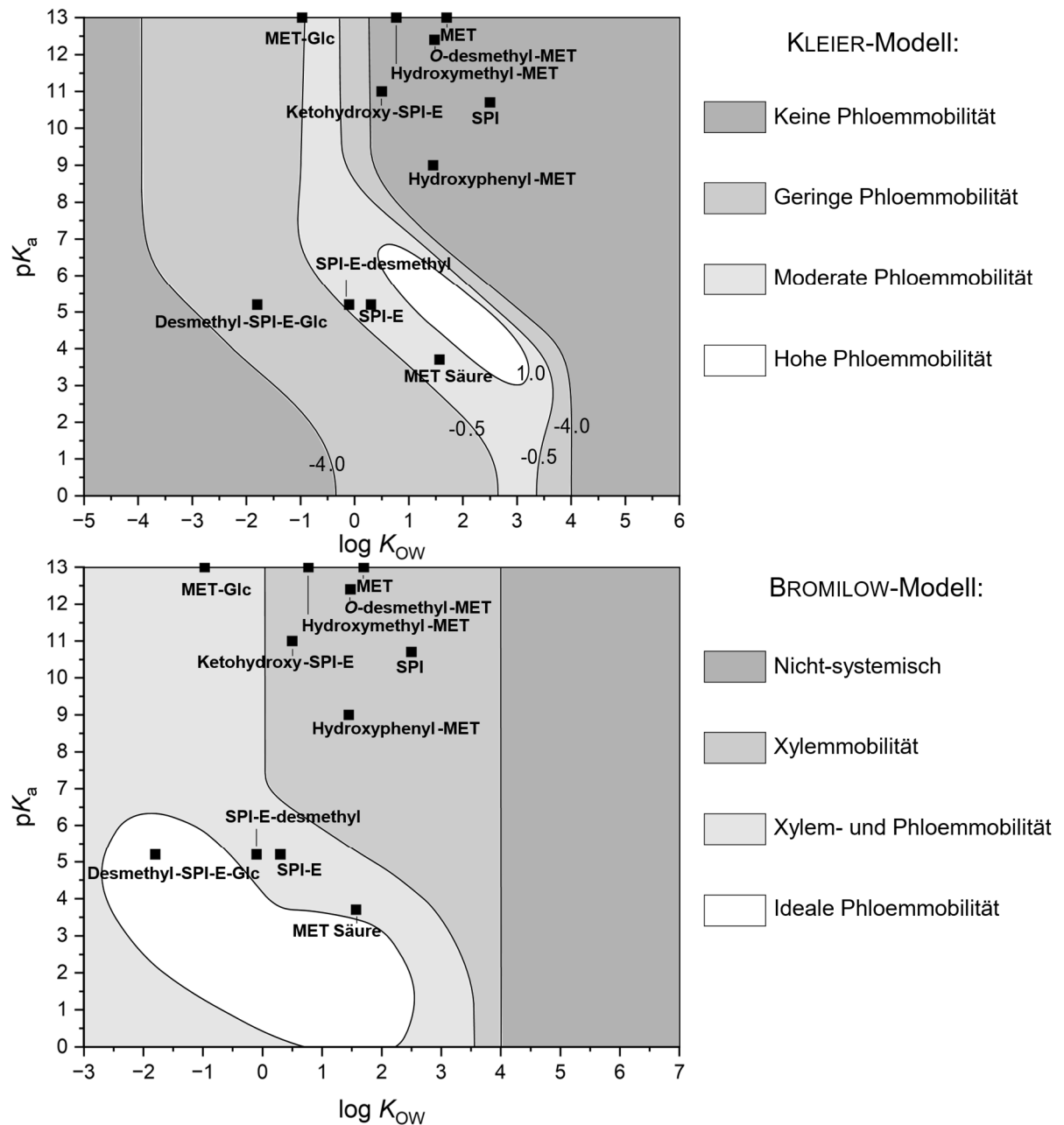


Abbildung 45: Oben: Graphische Darstellung nach KLEIER *et al.*, welche die Phloemmobilität anhand der physikochemischen Eigenschaften (pK_a und $\log K_{OW}$) der Substanzen prognostiziert. Unten: Modell nach BROMILOW *et al.* zur Vorhersage der Xylem- und Phloemmobilität, ebenfalls auf Basis derselben Stoffeigenschaften. MET und SPI sowie ihre primären Metaboliten sind anhand ihrer Parameter in der graphischen Darstellung der Modelle gezeigt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Da das KLEIER-Modell ausschließlich auf dem Prozess der passiven Diffusion basiert, bleiben aktive enzymgesteuerte Transportprozesse unberücksichtigt.^[96,380] Studien zeigen, dass die Einführung einer Zucker-, Dipeptid- oder Aminosäuregruppe in ein Molekül dessen Phloemmobilität potenziell aufgrund von aktiven Phloembelastungsprozessen deutlich erhöhen kann.^[96,380–382] Daher ist es plausibel, dass insbesondere Hydroxy-MET-Glucosid ein zusätzliches Maß an Phloemmobilität aufgrund von aktiven Transportprozessen zeigt.^[96] Da

Glykosylierungsreaktionen reversibel sind^[383], ist es möglich, dass die Verteilung von Hydroxy-MET in den unterschiedlichen Blättern zu einem Teil durch den Transport von Hydroxy-MET-Glucosid durch das Phloem und anschließender Spaltung zu Hydroxy-MET, beeinflusst wird.^[96] Das unbekannte Desmethyl-MET Isomer 1 lag in seiner Verteilung zwischen O-Desmethyl-MET und den anderen detektierten Metaboliten, wobei eine Einordnung im KLEIER-Modell und eine detaillierte Interpretation der Verteilung erneut aufgrund der fehlenden Strukturinformationen derzeit nicht möglich ist.

Die Intensitäten von SPI und seinen Metaboliten in Maisblättern unterschiedlicher Entwicklungsstadien sind in Abbildung 46 dargestellt.

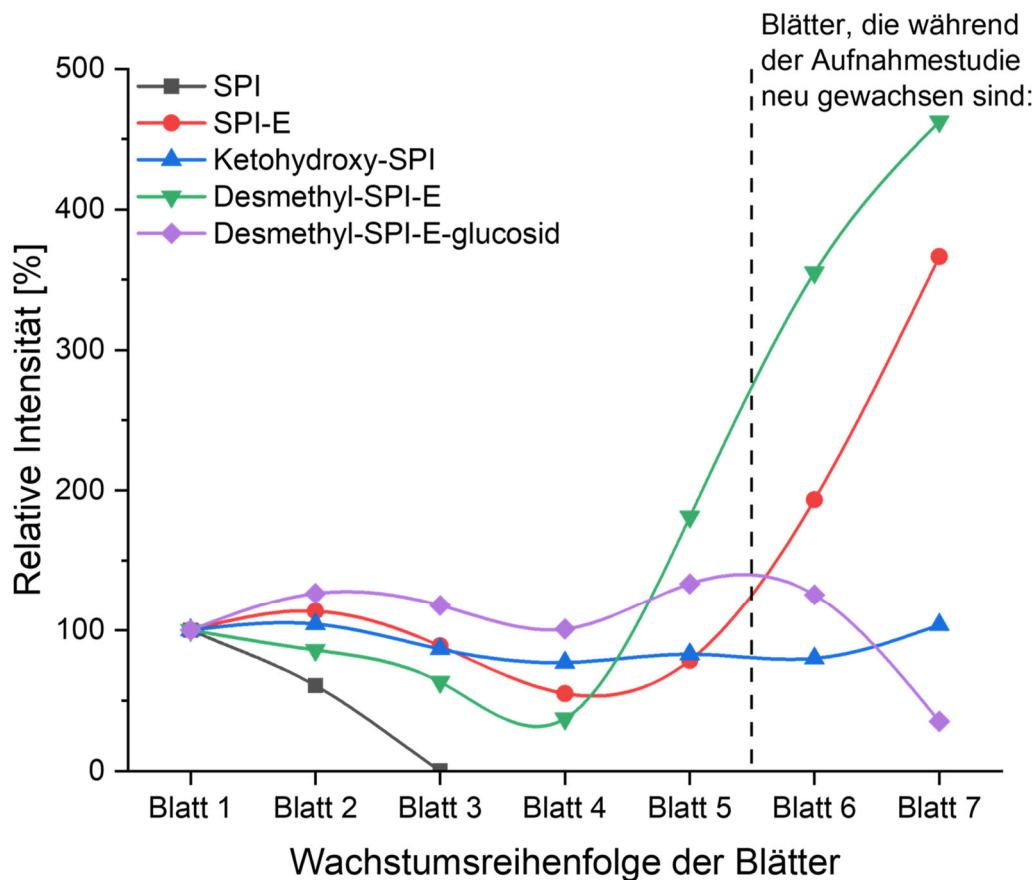


Abbildung 46: Verteilung der relativen normalisierten Intensitäten von SPI und seinen Hauptmetaboliten in Blättern unterschiedlichen Alters nach sieben-tägiger Aufnahme durch die Wurzel aus einer hydroponischen Lösung mit einer Konzentration von 1 μM . Die Intensitäten wurden auf die detektierte Intensität im Keimblatt (Blatt 1) normalisiert. Blätter 6 und 7 sind während des Aufnahmezeitraumes neu gewachsen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

SPI zeigt eine starke Abnahme der relativen Intensität von älteren hin zu jüngeren Blättern, sodass es in Blättern jünger als Blatt 3 nicht mehr nachweisbar war.^[96] Dieser Trend entspricht der beobachteten Verteilung von MET in Maisblättern unterschiedlichen Alters und lässt auf einen Transport mit dem Transpirationsstrom im Xylem analog zu MET schließen.^[96] Dies steht

in Einklang mit der aufgrund der physikochemischen Eigenschaften angenommenen Xylemmobilität der Verbindung.^[96] Aufgrund des hohen pKa-Wertes von 10,7 liegt SPI auch innerhalb der Pflanzenzellen nicht in ionischer Form vor und kann somit nicht durch passive Prozesse für längere Zeit im Phloem verweilen. Dies wird auch aus seiner Positionierung im KLEIER-Modell ersichtlich, wo es aufgrund der fehlenden Ionisierbarkeit als gänzlich immobil im Phloemgewebe deklariert wird (Abbildung 45, A). Anders als das theoretische KLEIER-Modell, welches auf dem Diffusionsmodell beruht, basiert das BROMILOW-Modell auf empirischen Daten zur beobachteten Mobilität von Pflanzenschutzmitteln in Pflanzen (Abbildung 45, B).^[124,373] Dieses erlaubt anstelle einer quantitativen Vorhersage der Phloemmobilität eine qualitative Einteilung in Mobilitätsklassen und ermöglicht zusätzliche Vorhersagen zur Mobilität im Xylem.^[384] Nach dem BROMILOW-Modell wird SPI, in Einklang mit den in dieser Arbeit dargestellten Ergebnissen, ebenso wie MET akropetal mit dem Xylem in die oberirdischen Pflanzenteile transportiert.^[120,385]

Im Gegensatz zu SPI gilt SPI-E als hoch phloemmobil.^[96,114] Eine Eigenschaft, welche sich deutlich in dessen Verteilung in den Maisblättern widerspiegelt.^[96] Aufgrund der Hydrolyse von SPI zu SPI-E in der hydroponischen Nährlösung war die Pflanze direkt einer hohen Konzentration von SPI-E ausgesetzt, welches über die Wurzeln aufgenommen und unmittelbar zu den Senken transportiert wurde. Dies erklärt die sehr hohen relativen Intensitäten in den jüngsten Blättern 6 und 7.^[96] Da das aufgenommene SPI in den Blättern ebenfalls zu SPI-E metabolisiert wird (siehe Kapitel 4.4), zeigt sich in den ältesten Blättern, in die die größte Menge SPI transportiert wurde, ein leichter Anstieg der relativen Intensität des SPI-E.^[96] Das Zusammenspiel dieser beiden Effekte resultiert in dem beobachteten Verlauf und einem Intensitätsminimum um Maisblatt 4. Desmethyl-SPI-E weist ein nahezu identisches Verteilungsmuster wie SPI-E auf.^[96] Aufgrund der sehr ähnlichen physikochemischen Eigenschaften beider Verbindungen ist davon auszugehen, dass auch Desmethyl-SPI-E eine hohe Phloemmobilität besitzt (Abbildung 45).^[96] Das Glucosylierungsprodukt Desmethyl-SPI-E-Glucosid zeigt einen Verlauf analog zu dem von SPI-E und ähnlich dem des Desmethyl-SPI-E von Blatt 1 bis Blatt 5.^[96] Anders als bei den Phase I Metaboliten ist in den jüngsten Blättern jedoch eine starke Abnahme der relativen Intensität zu erkennen. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass nicht genügend Zeit zur Verfügung stand, um den Phase II Metaboliten in ausreichender Quantität zu bilden.^[96] Ein vergleichbarer Trend wurde in dieser Arbeit bereits für Hydroxy-MET-Glucoside beobachtet.^[96] Die relative Intensität von Ketohydroxy-SPI-E blieb über alle Blätter hinweg weitgehend konstant. Dies deutet darauf hin, dass dieser Metabolit primär in den Wurzeln gebildet und anschließend in die Sprosse transportiert wird, da keine Korrelation mit der Verteilung seines Vorläufers SPI-E erkennbar ist.^[96] Die gleichmäßige Verteilung lässt sich erneut durch das Zusammenspiel von zwei Effekten erklären. Die

erhöhten relativen Intensitäten in älteren Blättern sprechen für eine hohe Xylemmobilität, während die höheren relativen Intensitäten in den jüngeren Blättern auf eine Umwandlung von SPI-E zu Ketohydroxy-SPI-E in diesem Gewebe zurückführbar sind.^[96] Die hohen SPI-E-Gehalte in den jüngsten Blättern begünstigen die Bildung größerer Mengen von Ketohydroxy-SPI-E, was in Kombination mit dem Transportprozess die beobachtete, über die sieben Blätter nahezu konstante Verteilung erklärt.^[96]

4.5.4 Untersuchung der räumlichen Verteilung der Pflanzenschutzmittelmetaboliten mittels MALDI-MSI

Um Informationen bezüglich der räumlichen Verteilung von Pflanzenschutzmittelmetaboliten in einzelnen Organen der Maispflanze zu erhalten, wurden verschiedene MALDI-MSI Messungen durchgeführt.^[96] Die bildgebende Massenspektrometrie ermöglicht eine räumlich aufgelöste Nachverfolgung des Transports von Wirkstoffen und deren Metaboliten in der Pflanze.^[96] Die Visualisierung des Aufnahmeprozesses über die Wurzel sowie der stattfindenden Transportprozesse in einzelnen Organen erlaubt tiefere Einblicke in die zugrunde liegenden Mechanismen. Da SPI während des MALDI-MSI Prozesses zu SPI-E umgewandelt wird, wie bereits ausführlich in Kapitel 4.4.3 diskutiert wurde, können alle Ionenbilder, die SPI-E zeigen, als Summe von SPI und SPI-E (SPI_{Summe}) verstanden werden.

4.5.4.1 Räumliche Verteilung der Pflanzenschutzmittelmetaboliten in Wurzeln

SPI-E, MET sowie Metaboliten von MET wurden nach Aufnahme aus einem hydroponischen System mit einer Wirkstoffkonzentration von 10 μM in den Maiswurzeln identifiziert und lokalisiert (Abbildung 47**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).^[96] Ein detailliertes mikroskopisches Bild zeigt die Bestandteile der untersuchten Stützwurzel.

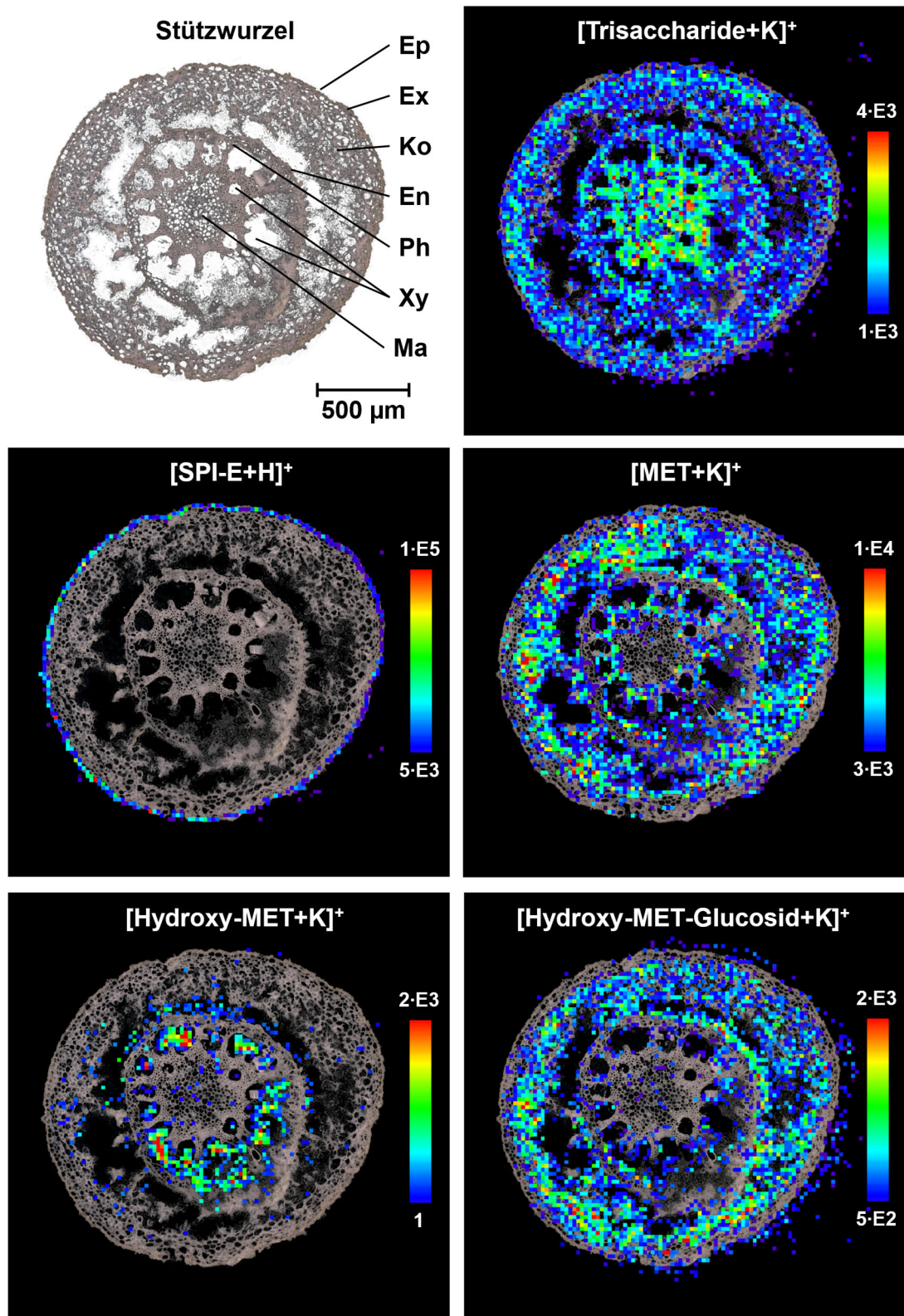


Abbildung 47: MALDI-MSI-Messung zur Darstellung der räumlichen Verteilung von Trisacchariden, SPI_{Summe} (detektiert als SPI-E), MET und dessen Metaboliten in der Maiswurzel nach siebentägiger Aufnahme aus einer 10 µM hydroponischen Lösung. Das mikroskopische Bild zeigt die Epidermis (Ep), Exodermis (Ex), Endodermis (En), Kortex (Ko) und das zentrale Markgewebe (Ma) sowie die Leitbündel, bestehend aus Xylem (Xy) und Phloem (Ph). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Die Visualisierung von endogenen Substanzen in bildgebenden massenspektrometrischen Messungen von tierischem oder pflanzlichem Gewebe dient als eine zusätzliche Möglichkeit, die Validität der Messung zu überprüfen.^[96] Die Messung der endogenen Trisaccharide zeigt, dass die Verbindung kohärent räumlich verteilt und in allen Bereichen der Maiswurzel vorhanden ist, unter Abwesenheit von Mess- oder Prozessierungsartefakten.^[96] Die Validität der Messung wird zusätzlich dadurch bestätigt, dass eine ähnliche Akkumulation von Trisacchariden in Nähe der Leitbündel sowie im Zentrum der Wurzel zuvor mittels MALDI-MSI bereits in *Rehmannia glutinosa* beobachtet wurde.^[96,386] Zur Unterdrückung von delokalisierten Signalen im die Wurzel umgebenden Einbettmedium wurde ein niedriger Schwellenwert für die Anzeigeintensität gewählt, welcher im Falle der Trisaccharide 1E3 betrug.^[96] Carboxymethylcellulose (CMC) wurde als optimales Einbettmedium ausgewählt, da es die Delokalisierung minimiert und gleichzeitig nicht die leicht signalunterdrückenden Eigenschaften von dem alternativen Einbettungsmedium Gelatine besitzt.^[96,387] Das Maß an nach außen gerichteter Delokalisierung ist stärker ausgeprägt bei Analyten höherer Hydrophilie wie Hydroxy-MET-Glucosid, beeinflusst jedoch auch bei diesen nicht die räumliche Signalverteilung innerhalb des Pflanzengewebes.^[96,388]

Die Signale von SPI_{Summe} sind, wie bereits in Kapitel 4.4.3 gezeigt, erneut auf das Gewebe der Epidermis beschränkt. Signale, die anderen Metaboliten des SPI, wie dem Ketohydroxy-SPI, entsprechen könnten, konnten aufgrund von interferierenden endogenen Signalen in unbehandelten Kontrollproben oder Intensitäten sehr nahe der Nachweisgrenzen nicht eindeutig zugeordnet werden.^[96]

Wie bereits in Kapitel 4.4.3 ausführlicher diskutiert, akkumulierte MET hauptsächlich im inneren Wurzelbereich, insbesondere im Kortex und in Nähe der Leitbündel, was auf eine höhere Mobilität hinweist. Dies konnte durch den höheren TF und SRIF bestätigt werden.^[96] Die beobachtete Verteilung weist darauf hin, dass MET hauptsächlich akropetal über das Xylem transportiert wird^[115], was mit der Verteilung des Wirkstoffes in Blättern unterschiedlicher Entwicklungsstadien übereinstimmt (Kapitel 4.5.3).^[96] Hydroxy-MET zeigt eine zu MET sehr differente Verteilung, da es nahezu ausschließlich innerhalb der Xylemgefäße detektiert wurde.^[96] Diese Akkumulation lässt auf eine hohe Konzentration im Transpirationsstrom im Xylem im Vergleich zum umgebenden Gewebe schließen.^[96] Diese Verteilung legt nahe, dass Hydroxy-MET nach seiner Bildung in der Wurzel vor allem akropetal über das Xylem transportiert wird.^[96] Da verschiedene Ergebnisse und Informationen, darunter die Verteilung in Blättern unterschiedlicher Entwicklungsstadien sowie die Vorhersagen des KLEIER- und BROMLOW-Modells darauf hindeuten, dass Hydroxy-MET eine höhere Phloemmobilität als MET aufweist^[373,385], erlaubt die Visualisierung der Verteilung von Hydroxy-MET auch Rückschlüsse auf den Transportweg von MET innerhalb der Pflanze. Denn

wenn Hydroxy-MET zu einem höheren Maße durch das Phloem und weniger durch das Xylem transportiert wird als MET und dennoch ausschließlich im Xylem gefunden wird, kann davon ausgegangen werden, dass auch MET, zumindest im initialen akropetalen Transport aus der Wurzel primär durch das Xylem und nicht durch das Phloem verlagert wird. Hydroxy-MET-Glucoside ist hauptsächlich im Kortex der Maiswurzel zu finden.^[96] Die Verteilung des Zuckerkonjugats zeigt von allen Metaboliten die größte Ähnlichkeit zu der des MET, jedoch mit einer geringeren Akkumulation in Nähe der Leitbündel.^[96] Die Verteilung einer Verbindung zwischen Kortexgewebe und dem Zentralzylindergewebe, in welchem sich die Leitbündel befinden, wird als Indikator für den Translokationsgrad der Verbindung angesehen.^[96,228] Daher wird der Teil des Hydroxy-MET-Glucosid, der in der Wurzel gebildet wird, nur in geringem Maße in den Spross translokiert.^[96] Der hohe SRIF-Wert (Abbildung 42) ist daher vermutlich auf die Metabolisierung von Hydroxy-MET zu Hydroxy-MET-Glucoside im Spross der Maispflanzen zurückzuführen.

4.5.4.2 Räumliche Verteilung der Pflanzenschutzmittelmetaboliten im Spross

Ein zusätzliches Aufnahmeexperiment wurde mit einer höheren Expositionskonzentration von 100 μM an MET und SPI und einer Dauer von zwei Tagen durchgeführt, um die Visualisierung von Metaboliten, welche nur in sehr geringen Konzentrationen im Maisspross vorliegen, zu ermöglichen.^[96] Um sicherzugehen, dass die beobachtete Verteilung bei der höheren Expositionskonzentration ein realistisches Abbild der Verteilung der Wirkstoffe und ihrer Metaboliten bei geringeren Konzentrationen darstellt, wurde die Verteilung von MET, der bei beiden Konzentrationen im Spross detektiert werden konnte, verglichen. Die Verteilung von MET im Maisspross zeigt keine signifikanten Unterschiede bei einer Aufnahme von 10 μM für sieben Tage oder bei 100 μM für zwei Tage, weswegen eine signifikante Übertragbarkeit der hier detektierten Metabolitenverteilungen auch für die geringere Expositionskonzentration angenommen werden kann.^[96] Die räumliche Verteilung der Wirkstoffe selbst sowie ihrer Metaboliten im Maisspross ist in Abbildung 48 dargestellt. Dieser besteht aus ineinander gerollten Blättern, bei welchen der Querschnitt durch die Blattscheiden verläuft.^[96] Die älteren Blätter befinden sich im äußeren Bereich des Querschnitts, während die jüngeren Blätter im Inneren angeordnet sind (B2, alt – B10, jung).^[96]

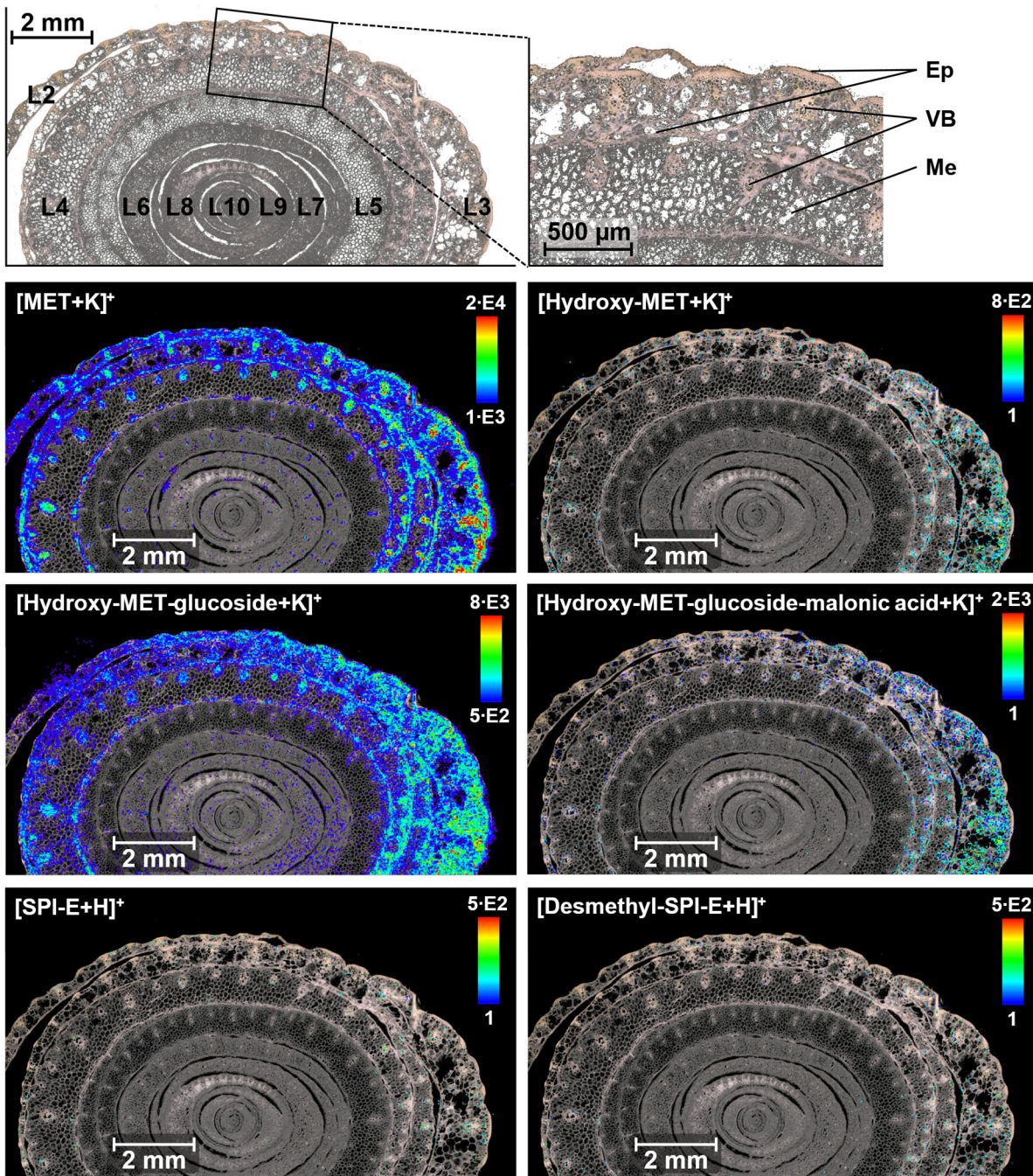


Abbildung 48: MALDI-MSI-Messung zur Darstellung der räumlichen Verteilung von SPI_{Summe} (detektiert als SPI-E) und MET sowie deren Metaboliten in der Sprossachse nach zweitägiger Aufnahme aus einer 100 µM hydroponischen Lösung. Das mikroskopische Bild zeigt die Blätter, aus welchen der Maisspross besteht, nummeriert nach ihrer Wachstumsreihenfolge. Ein vergrößerter Bildausschnitt zeigt die Epidermis (Ep), das Mesophyllgewebe (Me) sowie die Leitbündel (Lb), bestehend aus Xylem und Phloem. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Die Ergebnisse des MALDI-Imaging-Experiments zeigen, dass MET hauptsächlich in die äußeren, älteren Blätter der Maispflanze transportiert wird, wie bereits zuvor durch die HPLC-HRMS-Messungen der Extrakte einzelner Blätter gezeigt werden konnte (Kapitel 4.5.3).^[96] Da MALDI-MSI lediglich als semiquantitative Methode angesehen werden

kann^[389], während die Wirkstoffkonzentrationen in den einzelnen Blättern mittels HPLC-HRMS quantitativ erfasst werden konnten, spricht die Übereinstimmung der Resultate beider Verfahren für die Validität der in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse der bildgebenden Massenspektrometrie. Innerhalb eines Blattes ist eine Akkumulation in den Leitbündeln sowie im Epidermisgewebe ersichtlich, während im angrenzenden Mesophyllgewebe MET nur in geringeren Signalintensitäten detektiert wurden.^[96]

Die Verteilung von Hydroxy-MET um die Leitbündel, vor allem im Bereich der älteren Blätter, ähnelt der von MET, jedoch mit einer insgesamt deutlich geringeren Intensität.^[96] Die verringerte Intensität ist größtenteils auf die deutlich geringere Konzentration des Metaboliten im Maisspross zurückzuführen. Wie in Kapitel 4.5.1 dargestellt, entfielen knapp 70 % der gesamten Signalintensität in der Maispflanze auf MET im Spross, während Hydroxy-MET lediglich etwas mehr als 1 % zur Gesamtintensität beitrug. Die Akkumulation von Hydroxy-MET-Glucosid korreliert ebenfalls mit der Verteilung von MET, zeigt jedoch eine etwas höhere relative Intensität im Mesophyllgewebe in der Nähe der Leitbündel.^[96] Dies deutet auf eine leicht höhere Tendenz der Verbindung für eine horizontale Verlagerung aus den Leitbündeln in das Blattgewebe hin.^[96] Im Vergleich zu MET wurde Hydroxy-MET-Glucosid zudem in leicht höheren Intensitäten auch in den innenliegenden, jüngeren Blättern nachgewiesen.^[96] Aufgrund der kurzen Aufnahmedauer von lediglich zwei Tagen bei deutlich erhöhter Konzentration kann dieses bildgebende Experiment die Ergebnisse der HPLC-HRMS Analyse einzelner Blätter nicht stützen, da nur eine signifikant kürzere Zeitspanne für eine Umverteilung über das Phloem nach initialer Translokation in die Blätter zur Verfügung stand.^[96] Da der Transport im Phloem 50–100-mal langsamer als der Transport im Translokationsstrom abläuft, kann bei kürzerer Aufnahmeexperimentdauer ein geringerer Beitrag des Phloems zur Gesamtheit der Verlagerungsprozesse in der Pflanze angenommen werden. Die Verteilung des Phase-III-Metaboliten Hydroxy-MET-Glucosid-Malonsäure entspricht weitgehend der des Hydroxy-MET-Glucosid, jedoch bei allgemein geringeren Signalintensitäten.^[96]

Aufgrund der hohen Expositionskonzentration in der Nährlösung konnten Metaboliten des SPI erstmals in oberirdischen Pflanzenteilen mittels MALDI-MSI detektiert werden. SPI-Summe, welches wie für MALDI-MSI üblich als SPI-E detektiert wurde, kann in diesem Fall als SPI-E interpretiert werden, da vorherige HPLC-HRMS-Messungen zeigten, dass im Maisspross signifikant weniger unmetabolisiertes SPI als SPI-E vorhanden ist (Tabelle 21). SPI-E und Desmethyl-SPI-E wurden nur als wenige Signale in sehr geringen Intensitäten detektiert, weswegen eine vergrößerte Ansicht ihrer Verteilung in Abbildung 49 gezeigt ist.

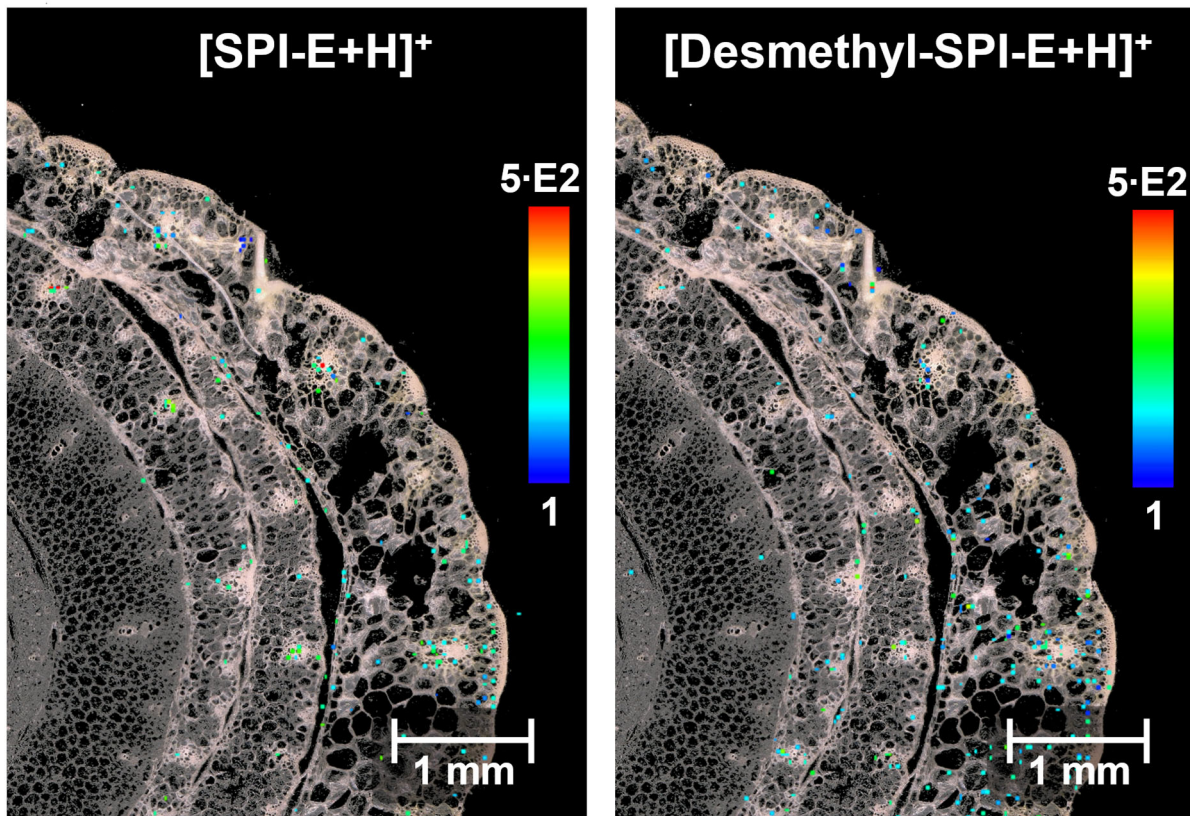


Abbildung 49: Vergrößerte Darstellung der räumlichen Verteilung von SPI_{Summe} (detektiert als SPI-E) und Desmethyl-SPI-E in der Sprossachse nach zweitägiger Aufnahme aus einer $100 \mu\text{M}$ hydroponischen Lösung. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Die generelle Verteilung beider Verbindungen zeigt trotz geringerer Intensitäten starke Parallelen zu der des MET und dessen Metaboliten.^[96] Diese beobachtete Verteilung impliziert, dass selbst stark phloemmobile Substanzen wie SPI-E und Desmethyl-SPI-E (Abbildung 45) initial mit dem schnell fließenden Transpirationsstrom im Xylem aus der Wurzel in den Spross translokiert werden.^[96,120] Eine signifikante Umverteilung durch den langsameren Phloemtransport konnte nach zwei Tagen, anders als nach sieben Tagen (Abbildung 46), nicht nachgewiesen werden.^[96] Der hier vermutete Prozess einer initialen Translokation von Pflanzenschutzmitteln und deren Metaboliten über das Xylem, gefolgt von einer anschließenden Umverteilung durch das Phloem, wurde in der Literatur bereits für Peptide und Nanopartikel beschrieben.^[96,390,391]

Um zusätzliche räumliche Informationen bezüglich Substanzen zu erhalten, die in Messungen von Blattquerschnitten nahe oder unterhalb der Nachweisgrenze liegen, haben sich Messungen der Blattoberfläche in unseren Experimenten als vorteilhaft gezeigt. Da sich dort, bezogen auf jeden einzelnen Messpunkt, mehr Pflanzenmaterial und somit mehr Analyten zu Desorption und Ionisation befinden, können höhere Messintensitäten erreicht werden. Da die Blattoberfläche jedoch signifikant unebener ist als angefertigte Querschnitte, kann dieser Ansatz nur mittels eines dreidimensionalen bildgebenden Experimentes umgesetzt werden,

welches bereits für die Messung von Blattoberflächen eingesetzt wurde.^[213] Unter Einsatz eines dreidimensionalen MALDI-MSI Systems konnten wir die räumliche Verteilung von MET, SPI_{Summe} (detektiert als SPI-E), Hydroxy-MET-Glucosid und Desmethyl-SPI-E sowie endogenen Hexosen in der abaxialen Seite der Blattspitze des jüngsten Blattes visualisieren (Abbildung 50).

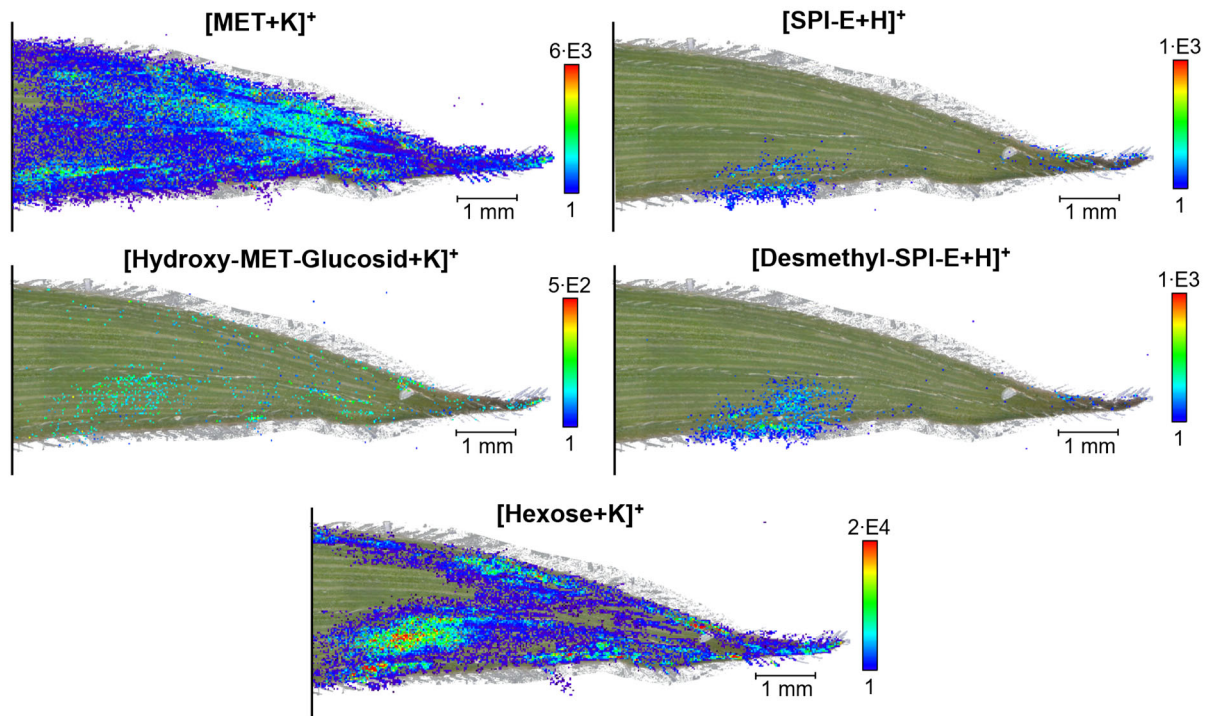


Abbildung 50: Verteilung von MET, Hydroxy-MET-Glucosid, SPI_{Summe} (detektiert als SPI-E), Desmethyl-SPI-E und endogenen Hexosen, gemessen in der abaxialen Seite der Blattspitze des jüngsten Maisblattes nach siebentägiger Aufnahme von MET und SPI aus einer 10 µM hydroponischen Lösung.

Während MET in Querschnitten der jüngsten Blätter der Maispflanze auch nach Aufnahme der Wirkstoffe aus einer 100 µM Nährlösung kaum nachweisbar war (Abbildung 48, B8 – B10), konnte MET bei der Messung der Blattoberfläche auch nach Aufnahme aus einer 10 µM Nährlösung in signifikant höheren Intensitäten detektiert werden. Die Verteilung von MET nach Messung der Blattoberfläche entspricht der im Sprossquerschnitten beobachteten Lokalisierung, wo MET in der abaxialen Epidermis sowie in den Leitbündeln detektiert wurde. Entsprechend wurde MET auf der gesamten Blattunterseite detektiert, mit lokal erhöhten Intensitäten dort, wo die Leitbündel sich unterhalb der Epidermis befinden. Der Phase II Metabolit Hydroxy-MET-Glucosid wurde in insgesamt geringerer Intensität als MET nachgewiesen, zeigte jedoch ein ausgeprägtes lokales Signal an einem unteren Teil der Blattspitze. Diese Akkumulation korreliert mit der Verteilung von Hexosen, welche endogen gebildet und als Photosyntheseprodukt aktiv transportiert werden.^[392] Da es sich um das jüngste untersuchte Blatt handelt, welches als Senke fungiert, ist der Transport von Hexosen

sowie weiterer im Phloem verlagerter Metaboliten aus Quellen zu erwarten.^[119,392] Das ähnliche Verteilungsmuster legt eine vergleichbare Transportroute nahe und ist ein weiterer Indikator für die potenzielle Phloemmobilität des Glukosekonjugats.

Auch das phloemmobile SPI-E sowie sein Metabolit Desmethyl-SPI-E zeigten eine Anreicherung in der Blattspitze sowie an einer Stelle, die dem Akkumulationsort der Hexose- und Hydroxy-MET-Glucosid-Verteilung ähnelt. Die genaue Ursache dieser spezifischen Akkumulation ist derzeit nicht bekannt. Das Fehlen einer Akkumulation von MET in denselben Bereichen spricht jedoch gegen mechanische Verletzungen oder artefaktbedingte Effekte während der Probenvorbereitung, Messung oder Datenverarbeitung als Grund. In älteren Maisblättern war SPI_{Summe} nicht nachweisbar. Die Detektion von SPI-E in jungen Blättern konnte zudem in nachfolgenden bildgebenden Experimenten reproduziert werden.

4.5.5 Kapitelzusammenfassung

Die in diesem Kapitel beschriebenen Arbeiten untersuchten den Metabolismus von MET und SPI in Mais nach der Aufnahme dieser Wirkstoffe über die Wurzel aus einer hydroponischen Lösung. Dabei wurde besonders die räumliche Verteilung der Metaboliten, sowohl in verschiedenen Pflanzenteilen als auch in einzelnen Pflanzenorganen mittels hochauflösender massenspektrometrischer Techniken (HPLC-HRMSⁿ und MALDI-MSI) untersucht.

Während SPI eine umfangreiche Metabolisierung zu SPI-E sowie weiteren Phase I- und Phase II Metaboliten zeigte, stammten nur 5 % der Gesamtintensität aller detektierten MET-Verbindungen von Metaboliten, was auf einen deutlich geringeren Metabolisierungsgrad im Vergleich zu SPI hinweist.^[96] Zwischen Wurzel und Spross der Maispflanzen wurden unterschiedliche Verteilungen für verschiedene Metaboliten beobachtet.^[96] Dabei wurden auch statistisch signifikante Unterschiede in der Verteilung von Isomeren mit nahezu identischen physikochemischen Eigenschaften gefunden.^[96] Dies zeigt, dass die Translokationsprozesse von Metaboliten innerhalb der Pflanze hochspezifisch sind und sich nur schwer aufgrund von physikochemischen Eigenschaften verallgemeinern lassen.^[96]

Die Verteilung der unmetabolisierten Pflanzenschutzmittel MET und SPI in den Pflanzen deutet darauf hin, dass das Xylem deren wichtigsten Transportweg darstellt.^[96] Im Gegensatz dazu suggeriert die Verteilung ihrer Metaboliten in unterschiedlichen Blättern ein gewisses Maß an Phloemmobilität für MET-Säure, Hydroxy-MET und Hydroxy-MET-Glucosid. SPI-E und Desmethyl-SPI-E waren überwiegend in den jüngsten Blättern nachweisbar, was darauf hindeutet, dass das langsam transportierende Phloem bei längeren Aufnahmezeiträumen deren primärer Transportweg sein könnte.^[96]

Zudem wurden erstmal detaillierte Bilder der räumlichen Verteilung von MET- und SPI-Metaboliten in verschiedenen Organen der Maispflanze im Mikrometermaßstab erhalten.^[96] Unsere Ergebnisse zeigen, dass der initiale akropetale Transport von Pflanzenschutzmitteln und deren Metaboliten von den Wurzeln zu den Sprossen primär durch den Transpirationsstrom im Xylem erfolgt.^[96] Anschließend werden die phloemmobilen Verbindungen langsamer von Quellen zu Senken, welche unter anderem die jüngeren Blätter darstellen, umverteilt.^[96]

5. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Dissertation sollte die hydroponische Aufnahme von Pflanzenschutzmitteln über die Wurzeln, deren anschließender Transport sowie die Verteilung in verschiedenen Pflanzenorganen untersucht werden, um ein vertieftes Verständnis ihres Verbleibs in Nutzpflanzen zu erlangen, welches über die zulassungsrelevante Datenerhebung hinausreicht.

Hierzu wurde ein standardisiertes hydroponisches Testsystem etabliert, das durch kontrollierte Umweltbedingungen in einer Pflanzenkammer und eine modifizierte Nährlösung mit minimalem Lösungsmittelanteil reproduzierbare Aufnahmeexperimente ermöglichte. Ergänzend wurden analytische Methoden zur Extraktion, Detektion, Quantifizierung und Bildgebung der Wirkstoffe entwickelt und optimiert. So konnten die Pflanzenschutzmittelrückstände effizient extrahiert und durch geeignete HPLC-HRMS Methoden auch in geringen Konzentrationen in der komplexen Pflanzenmatrix quantifiziert werden. Zusätzlich ermöglichte das optimierte bildgebende Verfahren die Visualisierung der Wirkstoffverteilung im μm -Maßstab. Für die MALDI-MSI Experimente wurden strenge Bewertungskriterien konzipiert, die eine zuverlässige und sichere Zuordnung der Verteilungsbilder zu den jeweiligen Pflanzenschutzmitteln ermöglichen.

Mit Hilfe der optimierten Methoden wurde die Aufnahme und Translokation von vier unterschiedlichen Pflanzenschutzmitteln aus der hydroponischen Nährlösung in Mais, Weizen und Soja mittels HPLC-HRMS untersucht. Dabei waren artspezifische Unterschiede in der Verteilung ersichtlich: Während Soja eine starke Wurzelakkumulation aufwies, zeigten die Wirkstoffe in Weizen die höchste Mobilität. Weitere neue Erkenntnisse wurden bezüglich des Verbleibs der Wirkstoffe abhängig von ihrer Expositionskonzentration und Expositionsdauer gewonnen. So konnte gezeigt werden, dass mit steigender Expositionskonzentration die relative Wurzelakkumulation sinkt, während das Maß an Translokation zunimmt.

Zur gezielten Untersuchung des Einflusses physikochemischer Eigenschaften der Pflanzenschutzmittel wurde die Aufnahme von insgesamt dreizehn Substanzen aus zwei strukturell ähnlichen Substanzgruppen in Weizenpflanzen untersucht. Für alle Substanzen wurde eine polynomiale Korrelation zwischen der Translokation und deren Lipophilie gefunden, nach welcher eine mittlere Lipophilie in der höchsten Mobilität resultiert. Dabei wurden selbst Wirkstoffe hoher Molekülmassen effektiv transloziert, was die bislang in der Literatur vertretene Annahme einer molekülgrößenbedingten Obergrenze für Transportprozesse infrage stellt. Die deutlichsten Zusammenhänge zwischen Wirkstoffverteilung und physikochemischen Parametern zeigten sich bei Substanzen

derselben Gruppe, was die Aussagekraft gruppenspezifischer Analysen unter kontrollierten Bedingungen für die Ableitung verlässlicher Aufnahmetrends unterstreicht.

Bildgebende Analysen mittels MALDI-MSI zeigten die Verteilung von unterschiedlichen Wirkstoffen in verschiedenen Organen der Nutzpflanzen. Erstmals erlaubt die hohe Bildqualität eine eindeutige Zuordnung der Wirkstoffe zu Leitbündelstrukturen wie Xylem und Phloem und lieferte damit detaillierte Einblicke in pflanzliche Transportprozesse. Zum ersten Mal konnten zudem Pflanzenschutzmetaboliten in Gewebeschnitten räumlich aufgelöst dargestellt werden, was neue Einblicke in den Metabolismus und das Transportverhalten innerhalb einzelner Pflanzenorgane lieferte. Durch die Verknüpfung quantitativer (HPLC-HRMS) und bildgebender (MALDI-MSI) Verfahren konnte gezeigt werden, dass Pflanzenschutzmittel zunächst akropetal über das Xylem transportiert und anschließend phloemmobile Metaboliten in Richtung wachsender Pflanzenteile umverteilt werden.

Die Kombination aus HPLC-HRMS und MALDI-MSI ermöglichte zudem die Beantwortung komplexer Fragestellungen bezüglich der Aufnahme, Verteilung und des Metabolismus des instabilen Proinsektizids Spirotetramat. Mehrere Aufnahmeexperimente unter variierenden Bedingungen zeigten, dass SPI hochmobil in Mais ist, während sein Hauptmetabolit SPI-E an der Exodermis zurückgehalten wird und dort akkumuliert. Solche Erkenntnisse liefern nicht nur wichtige Informationen bezüglich der Aufnahme- und Transportmechanismen, sondern ermöglichen auch direkte Rückschlüsse auf die Schutzwirkung der Pflanzenschutzmittel nach Wurzelaufnahme.

Auf Grundlage der gewonnenen Erkenntnisse erscheinen weiterführende Aufnahmeexperimente in enger Verzahnung mit umfassender biologischer Expertise vielversprechend. Durch die mögliche gleichzeitige Erfassung endogener Substanzen und applizierter Pflanzenschutzmittel sowie ihrer Metaboliten, könnte der Einfluss der Wirkstoffe auf die Biologie der Pflanze räumlich differenziert aufgeklärt werden. Dies würde das Verständnis der biologischen Reaktionen auf Wirkstoffapplikationen weiter vertiefen und neue Einblicke in die in der Pflanze stattfindenden Prozesse bieten. Darüber hinaus stellt die Übertragung des Versuchssystems auf Feldbedingungen eine vielversprechende Perspektive dar. Die Berücksichtigung bodenspezifischer Eigenschaften sowie variabler Umweltfaktoren könnte den Weg für eine praxisnahe Datenerhebung ebnen und die Aussagekraft der Ergebnisse im agronomischen Kontext erheblich steigern. Langfristig können solche Erkenntnisse einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung gezielterer und effizienterer Pflanzenschutzmittel sowie zur Optimierung nachhaltiger Applikationsstrategien leisten. Dies fördert nicht nur die Wirksamkeit des Pflanzenschutzes, sondern trägt auch maßgeblich zum Umweltschutz bei.

6. Literaturverzeichnis

- [1] F. P. Carvalho, *Environ. Sci. Policy* **2006**, 9, 685.
- [2] A. Sharma, V. Kumar, B. Shahzad, M. Tanveer, G. P. S. Sidhu, N. Handa, S. K. Kohli, P. Yadav, A. S. Bali, R. D. Parihar et al., *SN Appl. Sci.* **2019**, 1, 1446.
- [3] D. Pimentel, L. Levitan, *BioScience* **1986**, 36, 86.
- [4] J. Popp, K. Pető, J. Nagy, *Agron. Sustain. Dev.* **2013**, 33, 243.
- [5] D. Tilman, C. Balzer, J. Hill, B. L. Befort, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2011**, 108, 20260.
- [6] H. C. J. Godfray, J. R. Beddington, I. R. Crute, L. Haddad, D. Lawrence, J. F. Muir, J. Pretty, S. Robinson, S. M. Thomas, C. Toulmin, *Science* **2010**, 327, 812.
- [7] M. R. Loso, N. Garizi, V. B. Hegde, J. E. Hunter, T. C. Sparks, *Pest Manag. Sci.* **2017**, 73, 678.
- [8] Y. Yang, D. Tilman, Z. Jin, P. Smith, C. B. Barrett, Y.-G. Zhu, J. Burney, P. D'Odorico, P. Fantke, J. Fargione et al., *Science* **2024**, 385, 1058.
- [9] M. F. F. Bernardes, M. Pazin, L. C. Pereira, D. J. Dorta in *Toxicology Studies - Cells, Drugs and Environment* (Hrsg.: A. C. Andreatza, G. Scola), IntechOpen, London, **2015**.
- [10] C. A. Damalas, *Sci. Res. Essays* **2009**, 4, 945.
- [11] B. Achilladelis, A. Schwarzkopf, M. Cines, *Res. Policy* **1987**, 16, 175.
- [12] P. M. Ngegba, G. Cui, M. Z. Khalid, G. Zhong, *Agriculture* **2022**, 12, 600.
- [13] Y. Abubakar, H. Tijjani, C. Egbuna, C. O. Adetunji, S. Kala, T. L. Kryeziu, J. C. Ifemeje, K. C. Patrick-Iwuanyanwu in *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control* (Hrsg.: C. Egbuna, B. Sawicka), Elsevier, Amsterdam, **2020**.
- [14] W. M. Jarman, K. Ballschmiter, *Endeavour* **2012**, 36, 131.
- [15] A. Mansouri, M. Cregut, C. Abbes, M.-J. Durand, A. Landoulsi, G. Thouand, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2017**, 181, 309.
- [16] V. Pelaez, L. R. Da Silva, E. B. Araujo, *Sci. Public Policy* **2013**, 40, 644.
- [17] H. M. van der Werf, *Agric. Ecosyst. Environ.* **1996**, 60, 81.
- [18] J. Cooper, H. Dobson, *Crop Prot.* **2007**, 26, 1337.
- [19] N. Umetsu, Y. Shirai, *J. Pestic. Sci.* **2020**, 45, 54.
- [20] U. P. Dhuldhaj, R. Singh, V. K. Singh, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2023**, 30, 9243.
- [21] M. D. Bish, K. W. Bradley, *Weed Technol.* **2017**, 31, 165.
- [22] G. V. Ranga Rao, O. P. Rupela, V. R. Rao, Y. V. R. Reddy, *Indian Journal of Plant Protection* **2007**, 35, 1.
- [23] J. Shoham, *Outlooks Pest Manag.* **2020**, 31, 129.
- [24] S. Leenhardt, L. Mamy, S. Pesce, W. Sanchez, *Impacts of plant protection products on biodiversity and ecosystem services*, éditions Quae, Versailles, **2023**.

- [25] J. Xiao, L. Chen, F. Pan, Y. Deng, C. Ding, M. Liao, X. Su, H. Cao, *Pest Manag. Sci.* **2020**, *76*, 1256.
- [26] D. Skoczowsky, T. Bebenroth, M. Kubicki, S. Zühlke, *J. Hazard. Mater.* **2025**, *489*, 137610.
- [27] V. Dhananjayan, S. Jayakumar, B. Ravichandran in *Controlled Release of Pesticides for Sustainable Agriculture* (Hrsg.: R. K. R., S. Thomas, T. Volova, J. K.), Springer International Publishing, Cham, **2020**.
- [28] B. Łozowicka, P. Kaczyński, P. Mojsak, J. Rusiłowska, Z. Beknazarova, G. Ilyasova, D. Absatarova, *J. Food Compos. Anal.* **2020**, *90*, 103494.
- [29] S. N. M. Yusoff, A. Kamari, N. F. A. Aljafree, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **2016**, *13*, 2977.
- [30] M. H. Olesen, P. K. Jensen, *EFSA Support. Publ.* **2013**, *10*, 1.
- [31] H. Bleiholder, P. D. Lancashire, P. Langelüddeke, R. Stauss, T. den van Boom, E. Weber, A. Witzemberger, *Ann. Appl. Biol.* **1991**, *119*, 561.
- [32] G. A. Matthews, N. Thomas, *Pest Manag. Sci.* **2000**, *56*, 974.
- [33] A. C. Gonçalves Jr., E. Conradi Junior, D. Schwantes, A. Braccini, A. Pinheiro, G. Conradi, *Soil Till. Res.* **2024**, *237*, 105958.
- [34] J. Riedo, F. E. Wettstein, A. Rösch, C. Herzog, S. Banerjee, L. Büchi, R. Charles, D. Wächter, F. Martin-Laurent, T. D. Bucheli et al., *Environ. Sci. Technol.* **2021**, *55*, 2919.
- [35] C. Froger, C. Jolivet, H. Budzinski, M. Pierdet, G. Caria, N. P. A. Saby, D. Arrouays, A. Bispo, *Environ. Sci. Technol.* **2023**, *57*, 7818.
- [36] C. Bedos, P. Cellier, R. Calvet, E. Barriuso, B. Gabrielle, *Agronomie* **2002**, *22*, 21.
- [37] H.-D. Haenel, J. Siebers, *Agric. For. Meteorol.* **1995**, *76*, 237.
- [38] O. Tiryaki, C. Temur, *J. Biol. Environ. Sci.* **2010**, *4*, 29.
- [39] D. C. G. Muir, C. Teixeira, F. Wania, *Environ. Toxicol. Chem.* **2004**, *23*, 2421.
- [40] A. H. Da Silva Júnior, J. d. O. M. Müller, C. R. S. de Oliveira, A. de Noni Junior, R. K. Tewo, W. Mhike, A. Da Silva, A. B. Mapossa, U. Sundararaj, *Materials* **2024**, *17*.
- [41] J. S. LeNoir, L. L. McConnell, G. M. Fellers, T. M. Cahill, J. N. Seiber, *Environ. Toxicol. Chem.* **1999**, *18*, 2715.
- [42] C. K. Remucal, *Environ. Sci.: Process. Impacts* **2014**, *16*, 628.
- [43] T. Mill, *Chemosphere* **1999**, *38*, 1379.
- [44] O. C. Zafiriou, J. Jousot-Dubien, R. G. Zepp, R. G. Zika, *Environ. Sci. Technol.* **1984**, *18*, 358A-371A.
- [45] M. Mansour, E. A. Feicht, *Chemosphere* **1994**, *28*, 323.
- [46] J. Lin, J. Chen, Y. Wang, X. Cai, X. Wei, X. Qiao, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 8226.
- [47] M. Ahemad, M. S. Khan, *Biochem. Mol. Biol.* **2013**, *1*, 63.
- [48] J. Vymazal, T. Březinová, *Environ. Int.* **2015**, *75*, 11.
- [49] G. H. Willis, L. L. McDowell, *Environ. Toxicol. Chem.* **1982**, *1*, 267.
- [50] K. L. Gormley, K. L. Teather, D. L. Guignion, *Ecotoxicology* **2005**, *14*, 671.

- [51] Shefali, K. Rahul, S. S. Mahipal, K. Rajeev, S. Swaroop, *Biointerface Res. Appl. Chem.* **2020**, *11*, 10131.
- [52] S. Kadiru, S. Patil, R. D'Souza, *Int. J. Fish. Aquat. Stud.* **2022**, *10*, 113.
- [53] E. Chamberlain, H. Shi, T. Wang, Y. Ma, A. Fulmer, C. Adams, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 354.
- [54] M. Sirotkina, I. Lyagin, E. Efremenko, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2012**, *68*, 18.
- [55] X. Chen, L. Ren, Z. Meng, Q. Zhang, Y. Song, L. Guan, T. Fan, Y. Xu, D. Shen, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2018**, *25*, 24162.
- [56] B. Gupta, M. Rani, R. Kumar, P. Dureja, *J. Environ. Sci. Health B* **2012**, *47*, 823.
- [57] G. G. Briggs, R. H. Bromilow, A. A. Evans, *Pestic. Sci.* **1982**, *13*, 495.
- [58] J. Chang, K. Gao, R. Li, F. Dong, Y. Zheng, Q. Zhang, Y. Li, *Sci. Total Environ.* **2024**, *925*, 171670.
- [59] D. J. Pérez, W. J. Doucette, M. T. Moore, *Chemosphere* **2022**, *288*, 132480.
- [60] L. J. Carter, M. Williams, S. Martin, S. P. B. Kamaludeen, R. S. Kookana, *Sci. Total Environ.* **2018**, *628-629*, 18.
- [61] S. Pérez Solsona, N. Montemurro, S. Chiron, D. Barceló, *Interaction and Fate of Pharmaceuticals in Soil-Crop Systems*, Springer International Publishing, Cham, **2021**.
- [62] M. Larramendy, S. Soloneski (Hrsg.) *Pesticides - Use and Misuse and Their Impact in the Environment*, IntechOpen, London, **2019**.
- [63] L. Somasundaram, J. R. Coats, K. D. Racke, V. M. Shanbhag, *Environ. Toxicol. Chem.* **1991**, *10*, 185.
- [64] M. R. Fouad, A. F. El-Aswad, M. I. Aly, M. E. I. Badawy, *Curr. Chem. Lett.* **2023**, *12*, 545.
- [65] J. A. Ferrell, W. K. Vencill, K. Xia, T. L. Grey, *Pest Manag. Sci.* **2005**, *61*, 40.
- [66] L. B. Barber, E. Thurman, D. D. Runnells, *J. Contam. Hydrol.* **1992**, *9*, 35.
- [67] K. M. Spark, R. S. Swift, *Sci. Total Environ.* **2002**, *298*, 147.
- [68] F. Amutova, S. Jurjanz, N. Akhmetsadykov, M. Kazankapova, A. Razafitianamaharavo, A. Renard, M. Nurseitova, G. Konuspaveva, M. Delannoy, *Results Eng.* **2023**, *17*, 100823.
- [69] R. D. Wauchope, S. Yeh, J. B. H. J. Linders, R. Kloskowski, K. Tanaka, B. Rubin, A. Katayama, W. Kördel, Z. Gerstl, M. Lane et al., *Pest Manag. Sci.* **2002**, *58*, 419.
- [70] M. E. Báez, J. Espinoza, R. Silva, E. Fuentes, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*, 8576.
- [71] F. Wang, X. Li, S. Yu, S. He, D. Cao, S. Yao, H. Fang, Y. Yu, *J. Hazard. Mater.* **2021**, *405*, 124269.
- [72] M. Kah, S. Beulke, C. D. Brown, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 4487.
- [73] G. Araya, A. Perfetti-Bolaño, M. Sandoval, A. Araneda, R. O. Barra, *Environ. Toxicol. Chem.* **2024**, *43*, 2478.
- [74] L. Zotarelli, J. M. Scholberg, M. D. Dukes, R. Muñoz-Carpena, *J. Environ. Qual.* **2007**, *36*, 953.

- [75] Q. Lu, Z. Shen, K. Zheng, Q. Chang, J. Xue, X. Wu, *Sci. Total Environ.* **2022**, 833, 155239.
- [76] F. Sicbaldi, G. A. Sacchi, M. Trevisan, A. A. M. Del Re, *Pestic. Sci.* **1997**, 50, 111.
- [77] V. L. R. Pullagurala, S. Rawat, I. O. Adisa, J. A. Hernandez-Viezcas, J. R. Peralta-Videa, J. L. Gardea-Torresdey, *Sci. Total Environ.* **2018**, 636, 1585.
- [78] M. Lamshoeft, Z. Gao, H. Ressler, C. Schriever, R. Sur, P. Sweeney, S. Webb, B. Zillgens, M. U. Reitz, *Sci. Total Environ.* **2018**, 613-614, 10.
- [79] B. Wen, Y. Wu, H. Zhang, Y. Liu, X. Hu, H. Huang, S. Zhang, *Environ. Pollut.* **2016**, 216, 682.
- [80] C. Ju, X. Li, S. He, L. Shi, S. Yu, F. Wang, S. Xu, D. Cao, H. Fang, Y. Yu, *J. Agric. Food Chem.* **2020**, 68, 15381.
- [81] A. Alengebawy, S. T. Abdelkhalek, S. R. Qureshi, M.-Q. Wang, *Toxics* **2021**, 9, 42.
- [82] B. M. Jones, C. D. Collins in *The Handbook of Environmental Chemistry* (Hrsg.: J. J. Ortega-Calvo, J. R. Parsons), Springer International Publishing, Cham, **2020**.
- [83] S. Takkar, C. Shandilya, R. Agrahari, A. Chaurasia, K. Vishwakarma, S. Mohapatra, A. Varma, A. Mishra in *Phytoremediation Technology for the Removal of Heavy Metals and Other Contaminants from Soil and Water* (Hrsg.: V. Kumar, M. P. Shah, S. K. Shahi), Elsevier, Amsterdam, **2022**.
- [84] R. Chandra, N. K. Dubey, V. Kumar, *Phytoremediation of environmental pollutants*, 1. Aufl., Taylor & Francis, CRC Press, Boca Raton, **2018**.
- [85] O. V. Singh, R. K. Jain, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2003**, 63, 128.
- [86] L. Taiz, E. Zeiger, I. M. Møller, A. Murphy, *Plant physiology and development*, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, **2015**.
- [87] S. Gilroy, D. L. Jones, *Trends Plant Sci.* **2000**, 5, 56.
- [88] E. L. Miller, S. L. Nason, K. G. Karthikeyan, J. A. Pedersen, *Environ. Sci. Technol.* **2016**, 50, 525.
- [89] S. Castan, A. Sherman, R. Peng, M. T. Zumstein, W. Wanek, T. Hüffer, T. Hofmann, *Environ. Sci. Technol.* **2023**, 57, 168.
- [90] D. Skoczowsky, J. P. Böhmer, M. Kubicki, S. Zühlke, *Environ. Chall.* **2026**, 23, 101459.
- [91] C. T. Chiou, G. Sheng, M. Manes, *Environ. Sci. Technol.* **2001**, 35, 1437.
- [92] S. Trapp, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2004**, 11, 33.
- [93] Q. Liu, Y. Liu, F. Dong, J. B. Sallach, X. Wu, X. Liu, J. Xu, Y. Zheng, Y. Li, *Environ. Pollut.* **2021**, 275, 116637.
- [94] C. Collins, M. Fryer, A. Grosso, *Environ. Sci. Technol.* **2006**, 40, 45.
- [95] C. Schriever, M. Lamshoeft, *Sci. Total Environ.* **2020**, 713, 136667.
- [96] D. Skoczowsky, J. P. Böhmer, M. Kubicki, S. Zühlke, *Chemosphere* **2025**, 392, 144742.
- [97] M. Bagheri, K. Al-Jabery, D. C. Wunsch, J. G. Burken, *Sci. Total Environ.* **2019**, 651, 561.
- [98] F. C. Hsu, R. L. Marxmiller, A. Y. Yang, *Plant Physiol.* **1990**, 93, 1573.

- [99] J. G. Burken, J. L. Schnoor, *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 3379.
- [100] D. Skoczowsky, L. Föbinger, D. Schneeweiß, M. Lamshöft, M. Kubicki, S. Zühlke, eingereicht.
- [101] K. Kumar, S. C. Gupta, *J. Environ. Qual.* **2016**, *45*, 555.
- [102] H. Li, G. Sheng, C. T. Chiou, O. Xu, *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 4864.
- [103] J. Inoue, K. Chamberlain, R. H. Bromilow, *Pestic. Sci.* **1998**, *54*, 8.
- [104] O. Adu, M. T. Bryant, X. Ma, V. K. Sharma, *ACS EST Eng.* **2024**, *4*, 1884.
- [105] M. A. Limmer, J. G. Burken, *Environ. Sci. Technol. Lett.* **2014**, *1*, 156.
- [106] Y.-H. Chuang, C.-H. Liu, J. B. Sallach, R. Hammerschmidt, W. Zhang, S. A. Boyd, H. Li, *Environ. Int.* **2019**, *131*, 104976.
- [107] Y. Li, L. Long, H. Yan, J. Ge, J. Cheng, L. Ren, X. Yu, *Chemosphere* **2018**, *200*, 603.
- [108] H. Yang, X. Zhang, C. Yan, R. Zhou, J. Li, S. Liu, Z. Wang, J. Zhou, L. Zhu, H. Jia, *Environ. Sci. Technol.* **2024**, *58*, 2058.
- [109] M.-H. Denis, S. Delrot, *Physiol. Plant.* **1993**, *87*, 569.
- [110] J. J. Hart, J. M. Ditomaso, D. L. Linscott, L. V. Kochian, *Plant Physiol.* **1992**, *99*, 1400.
- [111] C. P. Muerdter, M. M. Powers, D. T. Webb, S. Chowdhury, K. E. Roach, G. H. LeFevre, *Environ. Sci. Technol. Lett.* **2023**, *10*, 596.
- [112] H. K. Kim, J. Park, I. Hwang, *J. Exp. Bot.* **2014**, *65*, 1895.
- [113] Y. Shen, R. Gu, Y. Sheng, N. Zeng, X. Zhan, *Environ. Pollut.* **2020**, *260*, 114055.
- [114] R. Nauen, U. Reckmann, J. Thomzik, W. Thielert, *Bayer CropSci. J.* **2007**, *61*, 245.
- [115] M. Kubicki, M. Lamshöft, A. Lagojda, M. Spiteller, *Chemosphere* **2019**, *218*, 36.
- [116] B. Xia, S. Wang, R. Li, F. Dong, Y. Zheng, Y. Li, *Environ. Sci. Technol.* **2024**, *58*, 7600.
- [117] R. Li, J. Chang, X. Pan, F. Dong, G. Wang, Z. Li, Y. Zheng, Y. Li, *Environ. Sci. Technol. Lett.* **2024**, *11*, 41.
- [118] V. de Schepper, T. de Swaef, I. Bauweraerts, K. Steppe, *J. Exp. Bot.* **2013**, *64*, 4839.
- [119] D. M. Braun, *Annu. Rev. Plant Biol.* **2022**, *73*, 553.
- [120] R. H. Bromilow, K. Chamberlain, A. A. Evans, *Weed Sci.* **1990**, *38*, 305.
- [121] E. Grimm, A. Grube, S. Jahnke, S. Neumann, *Planta* **1995**, *197*, 11.
- [122] C. ZHANG, Y. FENG, Y. LIU, H. CHANG, Z. LI, J. XUE, *J. Integr. Agric.* **2017**, *16*, 1659.
- [123] D. A. Kleier, *Pestic. Sci.* **1994**, *42*, 1.
- [124] D. A. Kleier, *Plant Physiol.* **1988**, *86*, 803.
- [125] W. J. Doucette, C. Shunthirasingham, E. M. Dettenmaier, R. T. Zaleski, P. Fantke, J. A. Arnot, *Environ. Toxicol. Chem.* **2018**, *37*, 21.
- [126] E. M. Dettenmaier, W. J. Doucette, B. Bugbee, *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 324.
- [127] A. S. Fernandes, I. Bragança, V. Homem, *Sci. Total Environ.* **2023**, *912*, 168894.
- [128] L. L. van Eerd, R. E. Hoagland, R. M. Zablotowicz, J. C. Hall, *Weed Sci.* **2003**, *51*, 472.
- [129] J. J. Zhang, H. Yang, *Sci. Total Environ.* **2021**, *790*, 148034.

- [130] L. Hillebrands, M. Lamshoeft, A. Lagojda, A. Stork, O. Kayser, *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *48*, 14123.
- [131] J. G. Burken in *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants* (Hrsg.: S. C. McCutcheon, J. L. Schnoor), John Wiley & Sons, Ltd, Hoboken, **2003**.
- [132] H. Sandermann, *Pharmacogenetics* **1994**, *4*, 225.
- [133] H. Sandermann, *Trends Biochem. Sci.* **1992**, *17*, 82.
- [134] J. Coleman, M. Blake-Kalff, E. Davies, *Trends Plant Sci.* **1997**, *2*, 144.
- [135] D. W. Sparling, G. Fellers, *Environ. Pollut.* **2007**, *147*, 535.
- [136] G. Dalazen, C. Markus, T. E. Kaspary, A. Pisoni, M. Gallon, A. R. S. de Queiroz, R. A. Vidal, A. Merotto Júnior, *Rev. Bras. Herbic.* **2016**, *15*, 26.
- [137] H. Suzuki, T. Nakayama, K. Yonekura-Sakakibara, Y. Fukui, N. Nakamura, M.-A. Yamaguchi, Y. Tanaka, T. Kusumi, T. Nishino, *Plant Physiol.* **2002**, *130*, 2142.
- [138] L. Hillebrands, M. Lamshoeft, A. Lagojda, A. Stork, O. Kayser, *ACS Agric. Sci. Technol.* **2021**, *1*, 192.
- [139] P. Sukul, M. Spiteller, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **2000**, *164*, 1.
- [140] L. Chai, S. Ji, S. Zhang, H. Yu, M. Zhao, L. Ji, *Chem. Res. Toxicol.* **2020**, *33*, 1442.
- [141] E. Hodgson in *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology* (Hrsg.: R. Krieger), Elsevier, Amsterdam, **2010**.
- [142] Y. C. Lu, S. Zhang, H. Yang, *J. Hazard. Mater.* **2015**, *283*, 806.
- [143] N. E. Balke, M. P. Davis, C. C. Lee in *ACS symposium series*, Vol. 330 (Hrsg.: G. R. Waller), American Chemical Society, Washington, DC, **1987**.
- [144] D. J. Cole, *Pestic. Sci.* **1994**, *42*, 209.
- [145] P. H. Rathod, P. G. Shah, K. D. Parmar, R. L. Kalasariya, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **2022**, *260*, 1.
- [146] P. Robatscher, D. Eisenstecken, G. Innerebner, C. Roschatt, B. Raifer, H. Rohregger, H. Hafner, M. Oberhuber, *J. Agric. Food Chem.* **2019**, *67*, 7223.
- [147] S. T. Narendaran, S. N. Meyyanathan, B. Babu, *Food Res. Int.* **2020**, *133*, 109141.
- [148] O. Pelkonen, K. Abass, J. M. Parra Morte, M. Panzarea, E. Testai, S. Rudaz, J. Louise, U. Gundert-Remy, G. Wolterink, D. Jean-Lou Cm et al., *Front. Toxicol.* **2023**, *5*, 1304885.
- [149] S. Grimalt, P. Dehouck, *J. Chromatogr. A* **2016**, *1433*, 1.
- [150] *Commission Regulation (EC) 396/2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin. 396/2005*, **2005**.
- [151] Y. Picó, C. Blasco, G. Font, *Mass Spectrom. Rev.* **2004**, *23*, 45.
- [152] L. Alder, K. Greulich, G. Kempe, B. Vieth, *Mass Spectrom. Rev.* **2006**, *25*, 838.
- [153] P. Wang, M. Rashid, J. Liu, M. Hu, G. Zhong, *Food Chem.* **2016**, *212*, 420.
- [154] Y. Wang, L. Shen, Z. Gong, J. Pan, X. Zheng, J. Xue, *Water Environ. Res.* **2019**, *91*, 1009.
- [155] P. Rocío-Bautista, D. Moreno-González, A. B. Martínez-Piernas, J. F. García-Reyes, A. Molina-Díaz, *Trends Environ. Anal. Chem.* **2022**, *36*, e00186.

- [156] M. P. Moraes, L. M. Gonçalves, E. A. Pereira, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2018**, 98, 258.
- [157] M. Corbera, M. Hidalgo, V. Salvadó, P. P. Wieczorek, *Anal. Chim. Acta* **2005**, 540, 3.
- [158] A. Y. Boroduleva, J. J. Manclús, Á. Montoya, S. A. Eremin, *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, 410, 6923.
- [159] Y. Liu, L.-T. Wang, K. Zhou, S. A. Eremin, X.-A. Huang, Y.-M. Sun, Z.-L. Xu, H.-T. Lei, *Food Agric. Immunol.* **2018**, 29, 67.
- [160] M. A. F. Jalal, S. Bondarenko, *Radiochemical Analysis of Agrochemicals*, Springer Nature Switzerland, Cham, **2025**.
- [161] D. Shen, Z. Lu, J. Zhong, S. Zhang, Q. Ye, W. Wang, J. Gan, *Environ. Int.* **2021**, 157, 106879.
- [162] D. Ando, T. Fujisawa, *J. Pestic. Sci.* **2020**, 45, 138.
- [163] C. C. Leandro, P. Hancock, R. J. Fussell, B. J. Keely, *J. Chromatogr. A* **2006**, 1103, 94.
- [164] E. Hogendoorn, P. van Zoonen, *J. Chromatogr. A* **2000**, 892, 435.
- [165] L. Pareja, A. R. Fernández-Alba, V. Cesio, H. Heinzen, *Trends Anal. Chem.* **2011**, 30, 270.
- [166] M. Dömötöröová, E. Matisová, *J. Chromatogr. A* **2008**, 1207, 1.
- [167] S. Saito-Shida, T. Hamasaka, S. Nemoto, H. Akiyama, *Food Chem.* **2018**, 256, 140.
- [168] S. Banerjee, *ACS Omega* **2020**, 5, 2041.
- [169] Y. Wang, S. Liu, Y. Hu, P. Li, J.-B. Wan, *RSC Adv.* **2015**, 5, 78728.
- [170] C. M. Tice, *Pest Manag. Sci.* **2001**, 57, 3.
- [171] J. H. Gross, *Massenspektrometrie*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2013**.
- [172] R. de O Silva, M. G. G. de Menezes, R. C. de Castro, C. de A Nobre, M. A. L. Milhome, R. F. Do Nascimento, *Food Chem.* **2019**, 297, 124934.
- [173] D. J. Ryan, J. M. Spraggins, R. M. Caprioli, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2019**, 48, 64.
- [174] J. Wang, J. Zhao, S. Nie, M. Xie, S. Li, *Food Chem.* **2023**, 399, 133968.
- [175] Y. Pico, A. H. Alfarhan, D. Barcelo, *Trends Anal. Chem.* **2020**, 122, 115720.
- [176] M. Alamgir Zaman Chowdhury, A. Fakhruddin, M. Nazrul Islam, M. Moniruzzaman, S. H. Gan, M. Khorshed Alam, *Food Control* **2013**, 34, 457.
- [177] A. R. Fernández-Alba, J. F. García-Reyes, *Trends Anal. Chem.* **2008**, 27, 973.
- [178] E. Primel, S. Caldas, A. Escarrone, *Open Chem.* **2012**, 10, 876.
- [179] M. Otto, *Analytische Chemie*, 5. Aufl., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2019**.
- [180] A. Di Corcia, M. Nazzari, *J. Chromatogr. A* **2002**, 974, 53.
- [181] R. Dams, M. A. Huestis, W. E. Lambert, C. M. Murphy, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2003**, 14, 1290.
- [182] C. Li, S. Chu, S. Tan, X. Yin, Y. Jiang, X. Dai, X. Gong, X. Fang, Di Tian, *Front. Chem.* **2021**, 9, 813359.

- [183] M. M. Gómez-Ramos, C. Ferrer, O. Malato, A. Agüera, A. R. Fernández-Alba, *J. Chromatogr. A* **2013**, 1287, 24.
- [184] B. A. Boughton, D. Thinagaran, D. Sarabia, A. Bacic, U. Roessner, *Phytochem. Rev.* **2016**, 15, 445.
- [185] A. Stachniuk, E. Fornal, *Food Anal. Methods* **2016**, 9, 1654.
- [186] M. Kubicki, *Dissertation. Technische Universität Dortmund*, Dortmund, **2022**.
- [187] W. M. A. Niessen, P. Manini, R. Andreoli, *Mass Spectrom. Rev.* **2006**, 25, 881.
- [188] L. Zhang, S. Liu, X. Cui, C. Pan, A. Zhang, F. Chen, *Open Chem.* **2012**, 10, 900.
- [189] K. K. Singh, T. K. Goswami, *J. Food Eng.* **1999**, 39, 359.
- [190] Y. Y. Lim, J. Murtijaya, *LWT* **2007**, 40, 1664.
- [191] V. Mandal, Y. Mohan, S. Hemalatha, *Phcog. Rev.* **2007**, 1, 7.
- [192] M. Barriada-Pereira, E. Concha-Graña, M. J. González-Castro, S. Muniategui-Lorenzo, P. López-Mahía, D. Prada-Rodríguez, E. Fernández-Fernández, *J. Chromatogr. A* **2003**, 1008, 115.
- [193] M. D. Gil García, M. Martínez Galera, S. Uclés, A. Lozano, A. R. Fernández-Alba, *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, 410, 5195.
- [194] F. Chemat, N. Rombaut, A.-G. Sicaire, A. Meullemiestre, A.-S. Fabiano-Tixier, M. Abert-Vian, *Ultrason. Sonochem.* **2017**, 34, 540.
- [195] M. González-Curbelo, B. Socas-Rodríguez, A. V. Herrera-Herrera, J. González-Sálamo, J. Hernández-Borges, M. Rodríguez-Delgado, *Trends Anal. Chem.* **2015**, 71, 169.
- [196] M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Štajnbaher, F. J. Schenck, *J. AOAC Int.* **2003**, 86, 412.
- [197] M. C. Bruzzoniti, L. Checchini, R. M. de Carlo, S. Orlandini, L. Rivoira, M. Del Bubba, *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, 406, 4089.
- [198] W.-R. Liao, K.-L. Wu, K.-H. Chiang, C.-E. Teng, S.-F. Chen, *J. Food Drug Anal.* **2022**, 30, 538.
- [199] A. Samsidar, S. Siddiquee, S. M. Shaarani, *Trends Food Sci. Technol.* **2018**, 71, 188.
- [200] H. Barchanska, M. Danek, M. Sajdak, M. Turek, *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2018**, 48, 467.
- [201] M. Stoytcheva (Hrsg.) *Pesticides in the Modern World. Trends in Pesticides Analysis*, IntechOpen, London, **2011**.
- [202] M. Vats, B. Cillero-Pastor, E. Cuypers, R. M. A. Heeren, *Analyst* **2024**, 149, 4553.
- [203] E. Ben Mordechay, J. Tarchitzky, Y. Chen, M. Shenker, B. Chefetz, *Environ. Pollut.* **2018**, 232, 164.
- [204] C. Ju, S. Dong, H. Zhang, S. Yao, F. Wang, D. Cao, S. Xu, H. Fang, Y. Yu, *Chemosphere* **2020**, 248, 126024.
- [205] D. J. Pérez, W. J. Doucette, M. T. Moore, *Chemosphere* **2022**, 287, 132104.
- [206] S. Jiang, J. Sun, Z. Xin, H. Mao, X. Wu, Q. Li, *J. Food Process Eng.* **2017**, 40, 1.
- [207] X. Wu, R. Qin, H. Wu, G. Yao, Y. Zhang, P. Li, Y. Xu, Z. Zhang, Z. Yin, H. Xu, *Nano Res.* **2020**, 13, 611.

- [208] R. Ben-Zur, H. Hake, S. Hassoon, V. Bulatov, I. Schechter, *Rev. Anal. Chem.* **2011**, *30*, 123.
- [209] X. Liu, X. Chen, X. Ding, H. Wu, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 27152.
- [210] L. Bondareva, N. Fedorova, *Molecules* **2021**, *26*, 5370.
- [211] A. Römpf, B. Spengler, *Histochem. Cell Biol.* **2013**, *139*, 759.
- [212] B. Spengler, *Anal. Chem.* **2015**, *87*, 64.
- [213] M. Kompauer, S. Heiles, B. Spengler, *Nat. Methods* **2017**, *14*, 1156.
- [214] S. M. Puolitaival, K. E. Burnum, D. S. Cornett, R. M. Caprioli, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2008**, *19*, 882.
- [215] T. W. Jaskolla, M. Karas, U. Roth, K. Steinert, C. Menzel, K. Reihls, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2009**, *20*, 1104.
- [216] M. Karas, U. Bahr, U. Gießmann, *Mass Spectrom. Rev.* **1991**, *10*, 335.
- [217] P. Juhasz, C. E. Costello, K. Biemann, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1993**, *4*, 399.
- [218] F. Hillenkamp, J. Peter-Katalinić (Hrsg.) *MALDI MS. A practical guide to instrumentation, methods and applications*, Wiley Blackwell, Weinheim, **2014**.
- [219] A. Leisner, A. Rohlfing, U. Röhling, K. Dreisewerd, F. Hillenkamp, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 11661.
- [220] G. Montaudo, R. P. Lattimer, *Mass spectrometry of polymers*, CRC Press, Boca Raton, **2002**.
- [221] C. D. Calvano, A. Monopoli, T. R. I. Cataldi, F. Palmisano, *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, *410*, 4015.
- [222] B. H. Wang, K. Dreisewerd, U. Bahr, M. Karas, F. Hillenkamp, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1993**, *4*, 393.
- [223] R. M. Caprioli, T. B. Farmer, J. Gile, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 4751.
- [224] M. Kompauer, S. Heiles, B. Spengler, *Nat. Methods* **2017**, *14*, 90.
- [225] D. M. G. Anderson, V. A. Carolan, S. Crosland, K. R. Sharples, M. R. Clench, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2009**, *23*, 1321.
- [226] A. Ajith, P. J. Milnes, G. N. Johnson, N. P. Lockyer, *Plants* **2022**, *11*, 1234.
- [227] A. K. Mullen, M. R. Clench, S. Crosland, K. R. Sharples, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, *19*, 2507.
- [228] J. Wang, Y. Zhu, B. Ye, J. Dun, X. Yu, Q. Sui, *J. Hazard. Mater.* **2024**, *469*, 134028.
- [229] R. Zenobi, R. Knochenmuss, *Mass Spectrom. Rev.* **1998**, *17*, 337.
- [230] M. K. Andersen, T. S. Høiem, B. S. R. Claes, B. Balluff, M. Martin-Lorenzo, E. Richardsen, S. Krossa, H. Bertilsson, R. M. A. Heeren, M. B. Rye et al., *Cancer Metab.* **2021**, *9*, 9.
- [231] K. A. Lewis, J. Tzilivakis, D. J. Warner, A. Green, *Hum. Ecol. Risk Assess.* **2016**, *22*, 1050.
- [232] A. Rein, S. Trapp, P. Fantke, M. Yalçın, N. Turgut, C. Ahat, E. Camcı, C. Turgut, *Pest Manag. Sci.* **2025**, *81*, 1562.
- [233] A. A. Steiner, H. van Winden, *Plant Physiol.* **1970**, *46*, 862.

- [234] S. Xu, D. Lin, H. Sun, X. Yang, X. Zhang, *Acta Physiol. Plant.* **2015**, 37, 1.
- [235] A. Füzy, R. Kovács, I. Cseresnyés, I. Parádi, T. Szili-Kovács, B. Kelemen, K. Rajkai, T. Takács, *Acta Physiol. Plant.* **2019**, 41, 1.
- [236] N. Kittipongpatana, R. S. Hock, J. R. Porter, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **1998**, 52, 133.
- [237] S. Trapp, *Pest Manag. Sci.* **2000**, 56, 767.
- [238] A. Treu, A. Römpf, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2021**, 35, e9110.
- [239] M. A. Müller, M. Kompauer, K. Strupat, S. Heiles, B. Spengler, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2021**, 32, 465.
- [240] Y. Sumei, L. Xin, H. Shuhong, Z. Hongchao, J. Maojun, Z. Yongquan, Z. Luqing, Y. Yunlong, *J. Hazard. Mater.* **2022**, 423, 127011.
- [241] D. R. Hoagland, D. I. Arnon, *Circ. Calif. Agric. Exp. Stn.* **1950**, 2, 32.
- [242] D. Q. Zhang, T. Hua, R. M. Gersberg, J. Zhu, W. J. Ng, S. K. Tan, *Chemosphere* **2013**, 91, 14.
- [243] Z. Wang, Y. Li, Y. Tan, R. Li, L. Zhou, Z. He, D. Barcelo, H. Shi, M. Wang, *Environ. Int.* **2023**, 179, 108139.
- [244] Q. Wang, H. Zhao, L. Xu, Y. Wang, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2019**, 174, 683.
- [245] T. Kobayashi, Y. Ogo, R. N. Itai, H. Nakanishi, M. Takahashi, S. Mori, N. K. Nishizawa, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, 104, 19150.
- [246] T. M. Vadas, X. Zhang, A. M. Curran, B. A. Ahner, *J. Plant Nutr.* **2007**, 30, 1229.
- [247] M. G. Mallikarjuna, N. Thirunavukkarasu, R. Sharma, K. Shiriga, F. Hossain, J. S. Bhat, A. C. Mithra, S. S. Marla, K. M. Manjaiah, A. R. Rao et al., *Plants* **2020**, 9, 1812.
- [248] S. THOIRON, N. PASCAL, J.-F. BRIAT, *Plant Cell Environ.* **1997**, 20, 1051.
- [249] European Food Safety Authority, *EFSA J.* **2017**, 15, e04982.
- [250] L. Montanarella, R. Hiederer, P. Panagos, C. Gardi, F. Micale, *Report on the activities realized within the service level agreement between JRC and EFSA. As a support of the FATE and ECOREGION Working Groups of EFSA PPR (SLA/EFSA-JRC/2008/01)*, European Union, Ispra, **2011**.
- [251] L. Decorte, I. Joris, S. van Looy, J. Bronders, *EFSA Support. Publ.* **2019**, 16, 1.
- [252] V. Silva, H. G. J. Mol, P. Zomer, M. Tienstra, C. J. Ritsema, V. Geissen, *Sci. Total Environ.* **2019**, 653, 1532.
- [253] J. H. Yu, J. S. Kim, K. Y. Cho, *J. Korean Chem. Soc.* **1989**, 32, 255.
- [254] C. Ju, H. Zhang, S. Yao, S. Dong, D. Cao, F. Wang, H. Fang, Y. Yu, *J. Agric. Food Chem.* **2019**, 67, 6691.
- [255] S. Felizeter, M. S. McLachlan, P. de Voogt, *Environ. Sci. Technol.* **2012**, 46, 11735.
- [256] B. Albero, J. L. Tadeo, R. A. Pérez, *Trends Anal. Chem.* **2019**, 118, 739.
- [257] Y. Picó, *Trends Anal. Chem.* **2013**, 43, 84.
- [258] G. D. Cooper, B. Williams, *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 3717.
- [259] T.-T. Tran-Lam, M. Q. Bui, H. Q. Nguyen, Y. H. Dao, G. T. Le, *Foods* **2021**, 10, 2455.

- [260] European Commission, *Method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Sante/12682/2019.*, **2019**.
- [261] B. Ucur, O. J. Shiels, S. J. Blanksby, A. J. Trevitt, *J Am Soc Mass Spectrom* **2024**, *35*, 1128.
- [262] A. P. Bateman, M. L. Walser, Y. Desyaterik, J. Laskin, A. Laskin, S. A. Nizkorodov, *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 7341.
- [263] E. L. Schymanski, J. Jeon, R. Gulde, K. Fenner, M. Ruff, H. P. Singer, J. Hollender, *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 2097.
- [264] H. He, L. Qin, Y. Zhang, M. Han, J. Li, Y. Liu, K. Qiu, X. Dai, Y. Li, M. Zeng et al., *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 2634.
- [265] B. A. Dilmetz, Y.-R. Lee, M. R. Condina, M. Briggs, C. Young, C. T. Desire, M. Klingler-Hoffmann, P. Hoffmann, *Anal. Sci. Adv.* **2021**, *2*, 225.
- [266] K. Susniak, M. Krysa, B. Gieroba, I. Komaniecka, A. Sroka-Bartnicka, *Acta Biochim. Pol.* **2020**, *67*, 277.
- [267] Q. Zhou, A. Fülöp, C. Hopf, *Anal. Bioanal. Chem.* **2021**, *413*, 2599.
- [268] M. Glückmann, A. Pfenninger, R. Krüger, M. Thierolf, M. Karasa, V. Horneffer, F. Hillenkamp, K. Strupat, *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, *210-211*, 121.
- [269] H. Brandt, T. Ehmman, M. Otto, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 8169.
- [270] A. E. Steuer, M. Poetzsch, T. Kraemer, *Bioanalysis* **2016**, *8*, 1859.
- [271] S. Ohtsu, M. Yamaguchi, H. Nishiwaki, E. Fukusaki, S. Shimma, *Anal. Sci.* **2018**, *34*, 991.
- [272] S. G. Crisostomo, N. A. dos Santos, C. S. D. Baptista, W. Romão, *J. Food Compos. Anal.* **2025**, *147*, 108044.
- [273] S. Madla, D. Miura, H. Wariishi, *Anal. Sci.* **2012**, *28*, 301.
- [274] S. P. Annangudi, K. Myung, C. Avila Adame, J. R. Gilbert, *Environ. Sci. Technol.* **2015**, *49*, 5579.
- [275] M. Kubicki, G. Giannakopoulos, M. Lamshöft, J. Dittgen, *J. Agric. Food Chem.* **2022**, *70*, 6368.
- [276] M. Laštovičková, J. Chmelik, J. Bobalova, *Int. J. Mass Spectrom.* **2009**, *281*, 82.
- [277] A. N. Krutchinsky, B. T. Chait, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2002**, *13*, 129.
- [278] L. M. Andrade, M. A. Mendes, P. Kowalski, C. A. O. Nascimento, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2015**, *29*, 295.
- [279] K. S. Sathi, A. A. C. Masud, T. I. Anee, K. Rahman, N. Ahmed, M. Hasanuzzaman in *Managing Plant Production Under Changing Environment* (Hrsg.: M. Hasanuzzaman, G. J. Ahammed, K. Nahar), Springer Nature Singapore, Singapore, **2022**.
- [280] N. Ajermoun, S. Aghris, F. Ettadili, O. T. Alaoui, F. Laghrib, A. Farahi, S. Lahrach, M. Bakasse, S. Saqrane, M. A. El Mhammedi, *Environ. Res.* **2022**, *214*, 113794.
- [281] H. Kaur, R. Kaur, S. Singh, N. Jagota, A. Sharma in *Pesticides in the Environment: Impact, Assessment, and Remediation* (Hrsg.: A. Sharma), Elsevier, San Diego, **2024**.
- [282] L. F. Rocha, A. Subedi, M. F. Pimentel, J. P. Bond, A. M. Fakhoury, *Front. Plant Sci.* **2022**, *13*, 1020167.

- [283] R. G. Nash, *Weed Sci.* **1981**, 29, 147.
- [284] D. A. Russell, D. M. Wong, M. M. Sachs, *Plant Physiol.* **1990**, 92, 401.
- [285] A. Elbert, M. Haas, B. Springer, W. Thielert, R. Nauen, *Pest Manag. Sci.* **2008**, 64, 1099.
- [286] Y. Li, L. Yang, H. Yan, M. Zhang, J. Ge, X. Yu, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2018**, 164, 690.
- [287] M. Bagheri, X. He, M. K. Al-Lami, N. Oustriere, W. Liu, M. A. Limmer, H. Shi, J. G. Burken, *Int. J. Phytorem.* **2023**, 25, 1215.
- [288] M. Tomizawa, J. E. Casida, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2005**, 45, 247.
- [289] N. Y. Matadha, S. Mohapatra, L. Siddamallaiah, V. R. Udupi, S. Gadigeppa, D. P. Raja, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2019**, 26, 6077.
- [290] M.-S. Yun, H. Choi, *Foods* **2023**, 12, 1996.
- [291] A. Christou, G. Papadavid, P. Dalias, V. Fotopoulos, C. Michael, J. M. Bayona, B. Piña, D. Fatta-Kassinos, *Environ. Res.* **2019**, 170, 422.
- [292] E. Čadková, M. Komárek, J. Debord, L. Della Puppa, F. Bordas, J.-C. Bollinger, *J. Solution Chem.* **2013**, 42, 1075.
- [293] M. R. Overcash, J. B. Weber, W. Tucker, *Toxic and priority organics in municipal sludge land treatment systems*, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, **1986**.
- [294] S. Namiki, T. Otani, Y. Motoki, N. Seike, T. Iwafune, *J. Pestic. Sci.* **2018**, 43, 96.
- [295] Y. Xing, F. Wang, M. Zhang, L. Li, E. Zhao, *Agron.* **2024**, 14, 1809.
- [296] M. Goldstein, T. Malchi, M. Shenker, B. Chefetz, *Environ. Sci. Technol.* **2018**, 52, 6957.
- [297] D.-Y. Lee, G.-H. Choi, J.-H. Rho, H.-S. Lee, S.-W. Park, K.-Y. Oh, J.-H. Kim, *J. Appl. Biol. Chem.* **2020**, 63, 243.
- [298] L. Liu, Z. Cheng, P. Wang, X. Chen, Z. Chen, J. Li, Y. Lu, H. Sun, *J. Agric. Food Chem.* **2024**, 72, 18401.
- [299] J. A. Ryan, R. M. Bell, J. M. Davidson, G. A. O'Connor, *Chemosphere* **1988**, 17, 2299.
- [300] S. Trapp, *Environ. Toxicol. Chem.* **2002**, 21, 203.
- [301] G. Liu, X. Feng, Y. Wan, Q. Liu, Y. Liu, J. Dong, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2022**, 29, 60133.
- [302] G. Liu, X. Feng, Y. Guo, X. Wang, K. An, J. Dong, Y. Liu, *J. Agric. Food Chem.* **2023**, 71, 8356.
- [303] H. Sierotzki, L. Quaranta, U. Müller, U. Gisi in *Modern Crop Protection Compounds* (Hrsg.: P. Jeschke, M. Witschel, W. Krämer, U. Schirmer), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2019**.
- [304] L. Quaranta in *Bioactive Carboxylic Compound Classes: Pharmaceuticals and Agrochemicals* (Hrsg.: C. Lamberth, J. Dinges), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2016**.
- [305] H. Ishii, D. W. Hollomon, *Fungicide Resistance in Plant Pathogens*, Springer Japan, Tokyo, **2015**.
- [306] T. Zavievo, Latorre B. A., R. Torres, *Plant Dis.* **1993**, 77, 1239–1243.

- [307] T. R. Roberts, D. H. Hutson, P. W. Lee, P. H. Nicholls, J. R. Plimmer, *Metabolic Pathways of Agrochemicals*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2007**.
- [308] M. Farkas, J. O. Berry, D. S. Aga, *Analyst* **2007**, *132*, 664.
- [309] D. M. Stamper, O. H. Tuovinen, *Crit. Rev. Microbiol.* **1998**, *24*, 1.
- [310] J. Wei, J. Chen, Z. Zhang, Y. Ban, J. Guo, L. Dong, Z. Feng, *J. Agric. Food Chem.* **2024**, *72*, 25001.
- [311] J. A. Field, E. M. Thurman, *Environ. Sci. Technol.* **1996**, *30*, 1413.
- [312] S. T. Dugan, A. Muhammetoglu, A. Uslu, *Sci. Total Environ.* **2023**, *901*, 165892.
- [313] K. Rupprecht, *Bayer CropSci. J.* **2006**, *59*, 261.
- [314] K. Liu, *J. Food Sci.* **2011**, *76*, 334-342.
- [315] Y. Wu, G. Mao, G. Xing, Y. Tian, Y. Hu, C. Liao, L. Li, X. Zhu, J. Li, *Molecules* **2024**, *29*, 1780.
- [316] K. M. Dokken, L. C. Davis, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 10517.
- [317] T. Parween, S. Jan, S. Mahmooduzzafar, T. Fatma, Z. H. Siddiqui, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2016**, *56*, 160.
- [318] N. M. Hassan, M. M. Nemat Alla, *Acta Physiol. Plant.* **2005**, *27*, 429.
- [319] N. C. Da Bevilacqua, R. N. Costa, B. F. Giovanelli, V. G. C. Pereira, F. H. Krenchinski, C. A. Carbonari, E. D. Velini, *Agron.* **2025**, *15*, 557.
- [320] S. Trapp, K. C. Zambrano, K. O. Kusk, U. Karlson, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2000**, *39*, 154.
- [321] A. Naha, D. C. Nath, S. Nath, *Int. J. Plant Physiol. Biochem.* **2020**, *12*, 17.
- [322] Q. Liu, X. Wang, R. Yang, L. Yang, B. Sun, L. Zhu, *Environ. Sci. Technol.* **2019**, *53*, 4940.
- [323] M. Anastassiadou, G. Bernasconi, A. Brancato, L. Carrasco Cabrera, L. Greco, S. Jarrah, A. Kazocina, R. Leuschner, J. O. Magrans, I. Miron et al., *EFSA J.* **2020**, *18*, 6059.
- [324] Y. Zhang, B. A. Lorsbach, S. Castetter, W. T. Lambert, J. Kister, N. X. Wang, C. J. R. Klittich, J. Roth, T. C. Sparks, M. R. Loso, *Pest Manag. Sci.* **2018**, *74*, 1979.
- [325] W. Wang, Q. Wan, Y. Li, W. Xu, X. Yu, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2019**, *183*, 109488.
- [326] B. Łozowicka, P. Mojsak, P. Kaczyński, R. Konecki, A. Borusiewicz, *Sci. Total Environ.* **2017**, *603-604*, 178.
- [327] Y.-H. Su, Y.-G. Zhu, *Environ. Pollut.* **2007**, *148*, 94.
- [328] E. El-Sayed, H. Hassan, A. A. El-Raouf, S. N. Salman, *Hell. Plant Prot. J.* **2021**, *14*, 65.
- [329] H.-H. Tsai, W. Schmidt, *Nat. Prod. Bioprospect.* **2021**, *7*, 106.
- [330] R. S. Al-Farsi, M. Ahmed, A. Al-Busaidi, B. S. Choudri, *Emerg. Contam.* **2017**, *3*, 132.
- [331] P. Mielczarek, P. Suder, I. Kotsan, A. Bodzon-Kulakowska, *J. Mass Spectrom.* **2023**, *58*, e4916.
- [332] I. D. Figueroa, O. Torres, D. H. Russell, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 4527.

- [333] S. Li, Y. Zhang, J. Liu, J. Han, M. Guan, H. Yang, Y. Lin, S. Xiong, Z. Zhao, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 37903.
- [334] H. Xie, R. Wu, Y. L. W. Hung, X. Chen, T.-W. D. Chan, *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 6342.
- [335] S. Vaidyanathan, C. L. Winder, S. C. Wade, D. B. Kell, R. Goodacre, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2002**, *16*, 1276.
- [336] R. Guo, R. Lv, R. Shi, E. Wu, C. Ma, C. Sun, G. Mandal, J. Liu, *Analyst* **2025**, *150*, 760.
- [337] J. A. Atkinson, A. Rasmussen, R. Traini, U. Voß, C. Sturrock, S. J. Mooney, D. M. Wells, M. J. Bennett, *Plant Physiol.* **2014**, *166*, 538.
- [338] E. E. Sparks, *New Phytol.* **2023**, *237*, 48.
- [339] L. Qin, Y. Zhang, Y. Liu, H. He, M. Han, Y. Li, M. Zeng, X. Wang, *Phytochem. Anal.* **2018**, *29*, 351.
- [340] Y. Fujimura, D. Miura, *Metabolites* **2014**, *4*, 319.
- [341] H. Liu, Y. Pan, C. Xiong, J. Han, X. Wang, J. Chen, Z. Nie, *Trends Anal. Chem.* **2022**, *157*, 116809.
- [342] T. Liu, T. Kreszies, *J. Plant Physiol.* **2023**, *290*, 154118.
- [343] D. E. Enstone, C. A. Peterson, F. Ma, *J. Plant Growth. Regul.* **2002**, *21*, 335.
- [344] Di Wu, L. Li, C. Li, B. Dun, J. Zhang, ten Li, C. Zhou, D. Tan, C. Yang, G. Huang et al., *Open Life Sci.* **2021**, *16*, 1347.
- [345] C. Létondor, S. Pascal-Lorber, F. Laurent, *Chemosphere* **2015**, *118*, 20.
- [346] C. X. Huang, R. F. M. van Steveninck, *Physiol. Plant.* **1988**, *73*, 525.
- [347] W. V. Sigler, Z. Reicher, C. Throssell, M. Bischoff, R. F. Turco, *Water Air Soil Pollut.* **2003**, *142*, 311.
- [348] J. R. Stone, P. R. Verma, J. Dueck, N. D. Westcott, *Can. J. Plant. Pathol.* **1987**, *9*, 260.
- [349] E. Berger, T. Čoja, A. Dellantonio, B. Hrdina-Zödl, N. Hutzenlaub, D. Jölli, M. Möller, C. Prohaska, *EFSA Support. Publ.* **2013**, *10*, 511-610.
- [350] European Food Safety Authority, *EFSA J.* **2013**, *11*, 3243.
- [351] Babczinski P., Hellpointner E., *Bayer CropSci. J.* **2008**, *2*, 181.
- [352] M. S. Sharom, L. V. Edgington, *Can. J. Plant. Pathol.* **1982**, *4*, 334.
- [353] N.-J. Salazar-López, M.-L. Aldana-Madrid, M.-I. Silveira-Gramont, J.-L. Aguiar in *Insecticides Resistance* (Hrsg.: S. Trdan), IntechOpen, London, **2016**.
- [354] A. Kamalakannan, V. Shanmugam, *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* **2009**, *44*, 255.
- [355] S. D. Singh, *Plant Dis.* **1984**, *68*, 668.
- [356] European Food Safety Authority, *EFSA J.* **2016**, *14*, 4521.
- [357] M. L. Putnam, *Plant Health Prog.* **2007**, *8*, 1.
- [358] A. I. Zaki, G. A. Zentmyer, H. M. LeBaron, *Phytopathology* **1981**, *5*, 509.
- [359] R. Sur, *Bayer CropSci. J.* **2008**, *61*, 227.
- [360] K. Abass, P. Reponen, J. Jalonen, O. Pelkonen, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2007**, *23*, 39.

- [361] Z. Zheng, S. Y. Liu, A. J. Freyer, J. M. Bollag, *Appl. Environ. Microbiol.* **1989**, *55*, 66.
- [362] H. Zhou, Q. Shan, L. He, M. Zhang, C. Zhao, G. Zheng, L. Li, F. Xu, L. Ma, Y. Yin, *Food Chem.* **2024**, *435*, 137599.
- [363] Y. Li, F. Dong, X. Liu, J. Xu, X. Chen, Y. Han, Y. Cheng, Q. Jian, Y. Zheng, *Food Chem.* **2013**, *141*, 10.
- [364] X. Chen, Z. Meng, Y. Zhang, H. Gu, Y. Ren, C. Lu, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23*, 15053.
- [365] M. Jankowska, P. Kaczyński, B. Łozowicka, *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 1323.
- [366] C. J. Basso, C. C. Kuss, O. H. d. C. Pias, D. S. Muraro, L. Cutti, *Pesqui. Agropecu. Trop.* **2016**, *46*, 96.
- [367] A. Buscaroli, *Ecol. Indic.* **2017**, *82*, 367.
- [368] G. Ge, W. Gao, M. Yan, W. Song, Y. Xiao, P. Zheng, C. Peng, H. Cai, R. Hou, *Food Chem.* **2021**, *344*, 128579.
- [369] A. Anzano, G. Bonanomi, S. Mazzoleni, V. Lanzotti, *Phytochem. Rev.* **2022**, *21*, 503.
- [370] A. Canarini, C. Kaiser, A. Merchant, A. Richter, W. Wanek, *Front. Plant Sci.* **2019**, *10*, 157.
- [371] Y. Yu, J. Huang, L. Jin, M. Yu, X. Yu, X. Zhu, J. Sun, L. Zhu, *Environ. Int.* **2023**, *172*, 107793.
- [372] R. Hara, K. Kino, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2020**, *104*, 4771.
- [373] F. C. Hsu, D. A. Kleier, *J. Exp. Bot.* **1996**, *47*, 1265.
- [374] K. Kreuz, R. Tommasini, E. Martinoia, *Plant Physiol.* **1996**, *111*, 349.
- [375] N. Pontarin, R. Molinié, D. Mathiron, J. Tchoumtchoua, S. Bassard, D. Gagneul, B. Thiombiano, H. Demailly, J.-X. Fontaine, X. Guillot et al., *Metabolites* **2020**, *10*, 218.
- [376] K. K. Sharma, V. Tripathy, S. Mohapatra, N. Y. Matadha, A. R. K. Pathan, B. N. Sharma, J. K. Dubey, S. Katna, T. George, A. Tayade et al., *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2021**, *208*, 111494.
- [377] K. Huynh, E. Banach, D. Reinhold, *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 4032.
- [378] S. Marchi, L. Sebastiani, R. Gucci, R. Tognetti, *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* **2005**, *130*, 631.
- [379] R. Turgeon, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **1989**, *40*, 119.
- [380] H.-X. Wu, W. Yang, Z.-X. Zhang, T. Huang, G.-K. Yao, H.-H. Xu, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 6088.
- [381] J. Cai, Y. Xiong, X. Zhu, J. Hu, Y. Wang, J. Li, J. Wu, Q. Wu, *Molecules* **2022**, *27*, 4999.
- [382] S. Zheng, X. Lin, H. Wu, C. Zhao, H. Xu, *BMC Chem.* **2020**, *14*, 22.
- [383] B. Schmidt, J. Breuer, B. Thiede, I. Schuphan, *Pestic. Biochem. Physiol.* **1997**, *57*, 109.
- [384] F. Rocher, J.-F. Chollet, S. Legros, C. Jousse, R. Lemoine, M. Faucher, D. R. Bush, J.-L. Bonnemain, *Plant Physiol.* **2009**, *150*, 2081.
- [385] R. H. Bromilow, K. Chamberlain, A. A. Evans in *Proceedings of the International Conference on Recent Advances in Phloem Transport and Assimilate*

- Compartmentation* (Hrsg.: S. Delrot, J. Dainty, W. J. Lucas, J.-L. Bonnemain), Ouest Editions, Nantes, **1991**.
- [386] H. Li, S. Zhang, Y. Zhao, J. He, X. Chen, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2023**, *37*, e9635.
- [387] F. Greco, L. F. Pardini, A. Botto, L. A. McDonnell, *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 18678.
- [388] B. Li, Y. Zhang, J. Ge, K. Liu, P. Li, *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, *410*, 7449.
- [389] Y. Zhang, J. Wang, J. Liu, J. Han, S. Xiong, W. Yong, Z. Zhao, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 25289.
- [390] M. Notaguchi, S. Okamoto, *Front. Plant Sci.* **2015**, *6*, 161.
- [391] Z. Wang, X. Xie, J. Zhao, X. Liu, W. Feng, J. C. White, B. Xing, *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46*, 4434.
- [392] A. J. E. van Bel, P. H. Hess, *J. Exp. Bot.* **2008**, *59*, 261.
- [393] L. Konermann, E. Ahadi, A. D. Rodriguez, S. Vahidi, *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 2.
- [394] G. Wang, R. B. Cole, *Anal. Chim. Acta* **2000**, *406*, 53.

7. Anhang

7.1 Ergänzende Kapitel

7.1.1 Inhalte mit Überschneidungen zu Abschlussarbeiten

Teile dieser Dissertation wurden bereits in der Bachelorarbeit von TILL BEBENROTH sowie in den Masterarbeiten von JAN PHILIPP BÖHMER, LUKAS FÖBINGER und DOMINIK SCHNEEWEIß veröffentlicht. Im Folgenden wird detailliert erläutert, welche Inhalte dieser Dissertation von den jeweils genannten Studierenden im Rahmen ihrer Abschlussarbeiten erarbeitet wurden. Die Zuordnung der Nummern zu den in dieser Arbeit beschriebenen 35 Aufnahmestudien ist in Kapitel 3.7 gezeigt.

Bachelorarbeit TILL BEBENROTH:

Kapitel 4.4.1: Gemeinsame Durchführung der Aufnahmestudie 4.4-3, Evaluation des eingeschränkten Wurzelwachstums (4.4-3)

Kapitel 4.4.2: Probenvorbereitung (4.4-3)

Masterarbeit JAN PHILIPP BÖHMER:

Kapitel 4.1.2: Durchführung eines Großteils der Experimente zur Extrahierbarkeit

Kapitel 4.2.3: Gemeinsame Durchführung der Aufnahmestudien 4.2-1, 4.2-6 und 4.2-11, Probenvorbereitung (4.2-1, 4.2-6, 4.2-11)

Kapitel 4.5.3: Gemeinsame Durchführung der Aufnahmestudie 4.5-1, Probenvorbereitung (4.5-1)

Masterarbeit LUKAS FÖBINGER:

Kapitel 4.3.2: Gemeinsame Durchführung der Aufnahmestudien 4.3-8 – 4.3-13, Probenvorbereitung (4.3-8 – 4.3-13)

Masterarbeit DOMINIK SCHNEEWEIß:

Kapitel 4.3.2: Gemeinsame Durchführung der Aufnahmestudien 4.3-1 – 4.3-7, Probenvorbereitung (4.3-1 – 4.3-7)

Kapitel 4.3.4: Probenvorbereitung und Durchführung der bildgebenden Experimente

7.1.2 LC-kompatible Ionisationstechniken zur Ionisation von Pflanzenschutzmitteln

Die Entwicklung der Kopplung von Flüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie (LC-MS) in den 1980er Jahren und deren instrumentelle Implementierung in den folgenden Jahrzehnten führte zu einer deutlichen Verbesserung der analytischen Möglichkeiten, um den Verbleib von Pflanzenschutzmitteln in der Umwelt zu verfolgen.^[178] Die Schwierigkeit dieser Kopplung besteht darin, dass ein kontinuierlicher Lösungsmittelfluss bei Atmosphärendruck die Ionenquelle erreichen und die Analyten dort nicht nur ionisieren, sondern zudem auch in das Hochvakuum des Massenspektrometers überführt werden müssen.^[171] Die meisten LC-MS Systeme erreichen dies durch sogenannter Atmosphärendruck-Ionisationsquellen, welche nach unterschiedlichen Mechanismen funktionieren. Von diesen Techniken sind vor allem die Elektrospray-Ionisation (ESI) und die Atmosphärendruck-Chemische-Ionisation (APCI) in der Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln von Bedeutung (Abbildung 51).^[171,178]

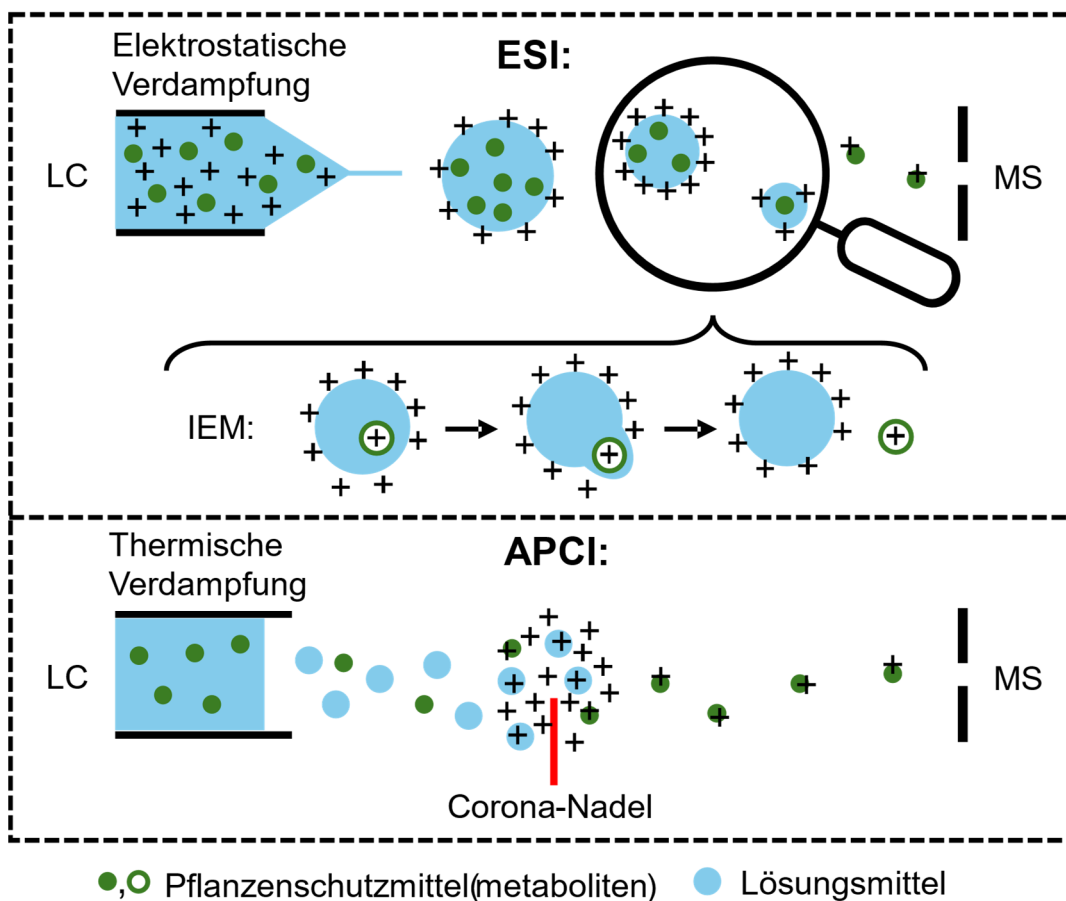


Abbildung 51: Mechanismen der ESI und APCI für die Pflanzenschutzmitteldetektion im positiven Messmodus. Die Ladungsübertragung beim ESI-Prozess ist nach dem Mechanismus der Ionenverdampfung (*ion evaporation model*, IEM) näher dargestellt.

In einer ESI-Quelle erfolgt die Verdampfung des Analyten elektrostatisch mittels einer Spannung, welche zwischen der Kapillare und dem Einlass des Massenspektrometers angelegt ist.^[171] Beim Austritt der Flüssigkeit aus der Kapillare entsteht dadurch ein TAYLOR-KONUS an dessen Spitze sich ein feiner Strahl ausbildet, welcher aufgrund der Interaktion der Ladungen in kleine Tröpfchen zerfällt.^[171] Bei der Ionisation kleiner Moleküle, wie Pflanzenschutzmittel geschieht dies nach dem Modell der Ionenverdampfung (*ion evaporation model*, IEM), nach welchem die geladenen Analyten von der Tröpfchenoberfläche ausgestoßen werden.^[171,393,394] Diese Ionisationstechnik wird am häufigsten verwendet, ist besonders schonend und führt primär zur Bildung von Quasi-Molekülonen mit Protonen als ladungstragendes Addukt.^[185]

Bei der APCI findet eine thermische Verdampfung bei pneumatischer Zerstäubung statt.^[171] Die entstehenden Tröpfchen werden an der Korona-Nadel durch eine angelegte Hochspannung in einem Plasma ionisiert.^[171] In diesem Plasma liegen zunächst ionisierte Stickstoff- und anschließend Wassercluster vor, welche die Analyten durch Stöße ionisieren.^[171] Dies bedeutet, dass durch APCI auch unpolare Substanzen ionisiert werden können.^[172]

7.1.3 Python Skript zur Berechnung des Z/Ko-Verhältnisses

Folgendes Python Skript wurde zur Berechnung des Z/Ko-Verhältnisses in Kapitel 4.3.4 von LAURIN HOMBERG erstellt:

```
import sys

from PIL import Image
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from matplotlib.patches import Circle
import sys

# Dateipfad des zu analysierenden Bildes
image_filepath = "C:/Users/lauri/OneDrive/Uni/CMS/Greyscale FUR+Na exported_crop.bmp"

# Erzeugt ein Bild mit Kreisen, die die analysierten Bereiche anzeigen
def visualize_with_outlines(image_array, center_x, center_y, inner_radius, outer_radius):
    fig, ax = plt.subplots()
    ax.imshow(image_array, cmap="gray", vmin=0)

    # Innerer Kreis
    circle_inner = Circle((center_x, center_y), inner_radius, edgecolor='white', facecolor='none',
                          linewidth=2)

    # Äußerer Kreis
```

```
circle_outer = Circle((center_x, center_y), outer_radius, edgecolor='white', facecolor='none',
linewidth=2)

ax.add_patch(circle_inner)
ax.add_patch(circle_outer)

ax.axis("off")
plt.show()

def analyze_circular_regions(image_path, inner_diameter=54, outer_diameter=125):
    np.set_printoptions(threshold=sys.maxsize)

    # Bild laden und in Graustufen umwandeln
    image = Image.open(image_path).convert("L")
    image_array = np.array(image)

    # Bildmaße und Mittelpunkt
    height, width = image_array.shape
    center_x, center_y = width // 2, height // 2

    # Radien berechnen
    inner_radius = inner_diameter / 2
    outer_radius = outer_diameter / 2

    # Entfernung jedes Pixels zum Mittelpunkt
    Y, X = np.ogrid[:height, :width]
    dist_from_center = np.sqrt((X - center_x) ** 2 + (Y - center_y) ** 2)

    # Masken erstellen
    mask_inner = dist_from_center <= inner_radius
    mask_outer = (dist_from_center > inner_radius) & (dist_from_center <= outer_radius)

    # Graustufen normalisieren (0 = schwarz, 1 = weiß)
    normalized = image_array / 255.0

    # Mittelwerte berechnen
    mean_inner = normalized[mask_inner].mean()
    mean_outer_ring = normalized[mask_outer].mean()

    print(f"Mittelwert innere Region (D={inner_diameter}px): {mean_inner:.4f}")
    print(f"Mittelwert äußerer Ring (D={inner_diameter}px bis {outer_diameter}px):
    {mean_outer_ring:.4f}")
    print(f"Verhältnis Innen / Außen: {mean_inner/mean_outer_ring}")

    # Optional: Visualisierung der Regionen
    visualize_with_outlines(image_array, center_x, center_y, inner_radius, outer_radius)

analyze_circular_regions(image_path=image_filepath)
```

7.1.4 Berechnung des alleinigen Translokationsfaktors von SPI

Die Berechnung des Translokationsfaktors von SPI (TF_{SPI}) basiert auf den in Kapitel 4.4 beschriebenen Aufnahmewerten aus Experiment 1 (SPI + SPI-E; 10 μ M) und Experiment 2 (SPI-E; 10 μ M).^[26]

In den Maispflanzen gemessene Konzentrationen (Exp. 1):

Konzentration SPI in Wurzeln: $c_{SPI,Wurzeln} = 13,9 \text{ ng/g d.w.}$

Konzentration SPI-E in Wurzeln: $c_{SPI-E,Wurzeln} = 185 \text{ ng/g d.w.}$

Konzentration SPI-E im Spross: $c_{SPI-E,Spross} = 43,9 \text{ ng/g d.w.}$

Translokationsfaktor SPI-E (Exp. 2): $TF_{SPI-E} = 0,09$

Berechnung der Konzentration von SPI-E im Spross als Ergebnis der Translokation von SPI-E aus den Wurzeln unter Berücksichtigung der exklusiven SPI-E-Translokation aus Experiment 2:^[26]

$$c_{SPI-E,SprossTF} = c_{SPI-E,Wurzeln} \cdot TF_{SPI-E} = 185 \text{ ng/g d.w.} \cdot 0,09 = 16,7 \text{ ng/g d.w.}$$

Subtraktion der zuvor genannten Konzentration ($c_{SPI-E,SprossTF}$) von der gemessenen Gesamtkonzentration von SPI-E in den Trieben resultiert in der Konzentration von SPI-E in den Trieben, die nicht auf den Transport von SPI-E aus den Wurzeln zurückzuführen ist. Es kann abgeleitet werden, dass diese Konzentration eine Konsequenz der Translokation von SPI in den Spross darstellt:^[26]

$$c_{SPI,SprossTF} = c_{SPI-E,Spross} - c_{SPI-E,WurzelnTF} = 43,9 \text{ ng/g d.w.} - 16,7 \text{ ng/g d.w.} = 27,2 \text{ ng/g d.w.}$$

Es besteht nun die Möglichkeit, den "wahren" TF_{SPI} mit der bekannten Konzentration von SPI in den Wurzeln und der errechneten Konzentration zu berechnen, die sich aus der SPI-Translokation in den Trieben ergibt:^[26]

$$TF_{SPI} = c_{SPI,SprossTF} / c_{SPI,Wurzeln} = 27,2 \text{ ng/g d.w.} / 13,9 \text{ ng/g d.w.} = \underline{\underline{1,96}}$$

7.2 Ergänzende Abbildungen

7.2.1 Chromatogramme und Spektren

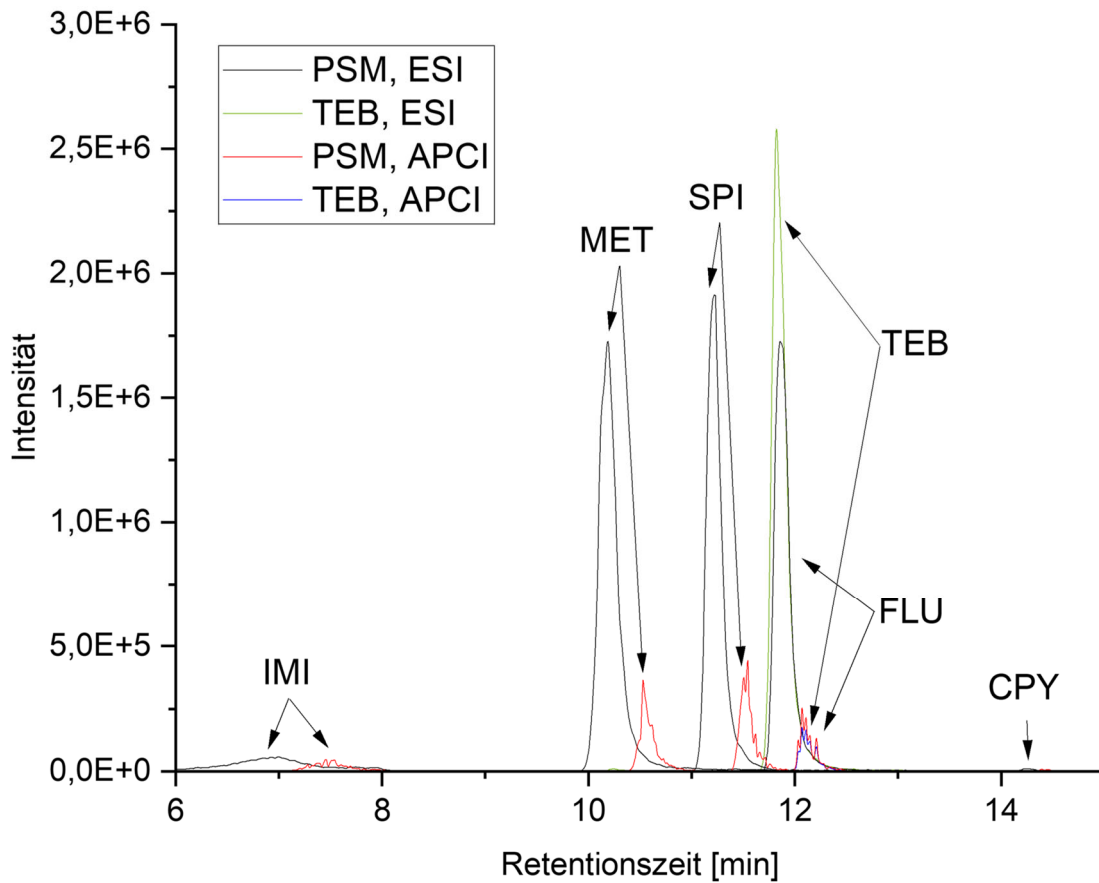


Abbildung 52: Vergleich der Ionenausbeute (EIC-Intensitäten; $[M+H]^+$) nach Ionisation der sechs zur Methodenentwicklung untersuchten Pflanzenschutzmittel (PSM) mittels ESI (schwarz: IMI, MET, SPI, FLU und CYP; grün: TEB) und APCI (rot: IMI, MET, SPI, FLU, CPY; blau: TEB). CPY zeigte eine sehr geringe Ionisierbarkeit mit beiden Methoden.

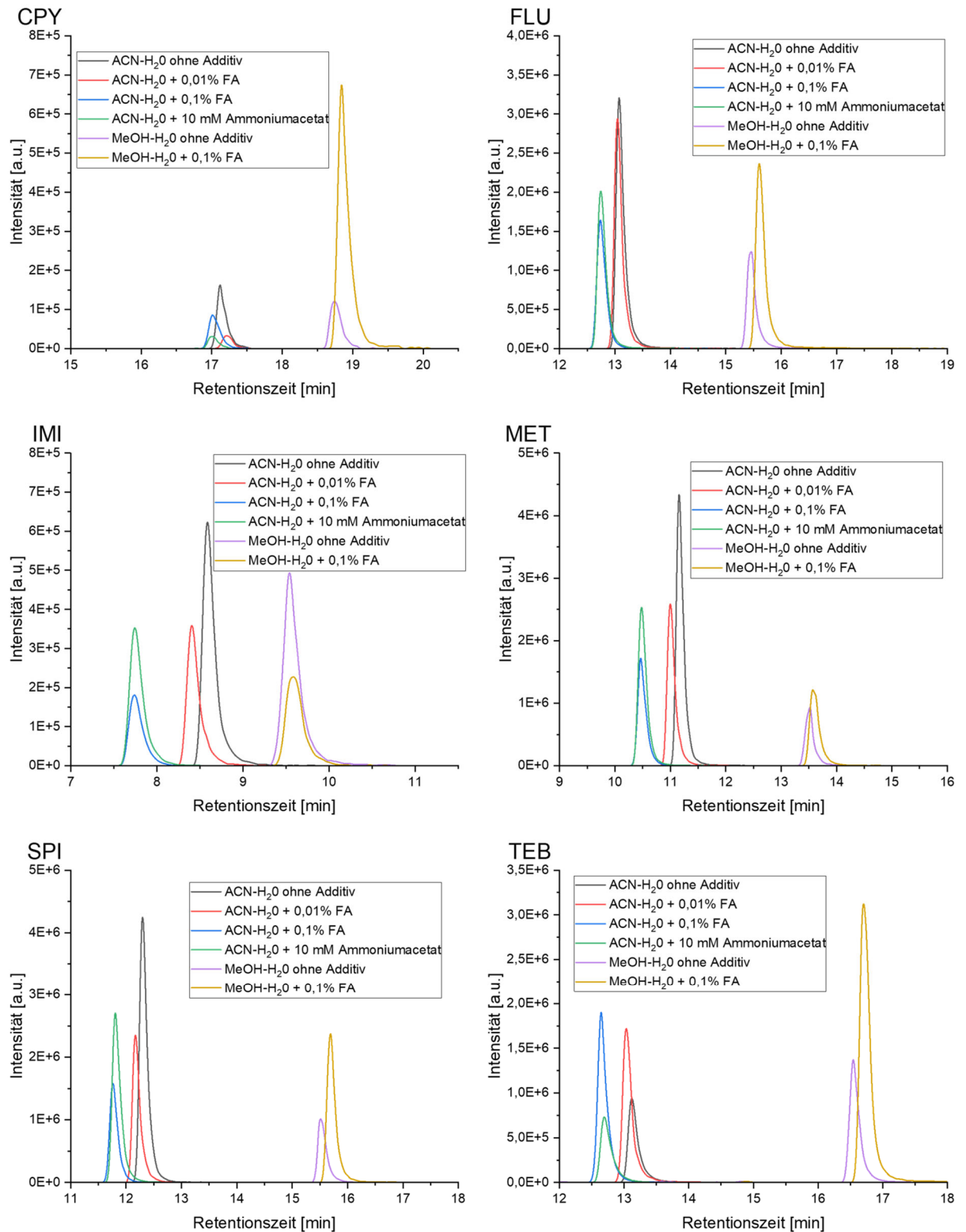


Abbildung 53: Extrahierte Ionen-Chromatogramme der Pflanzenschutzmittel bei Einsatz verschiedener mobiler Phasen zeigen unterschiedliche Ionisationsausbeuten und Retentionszeiten.

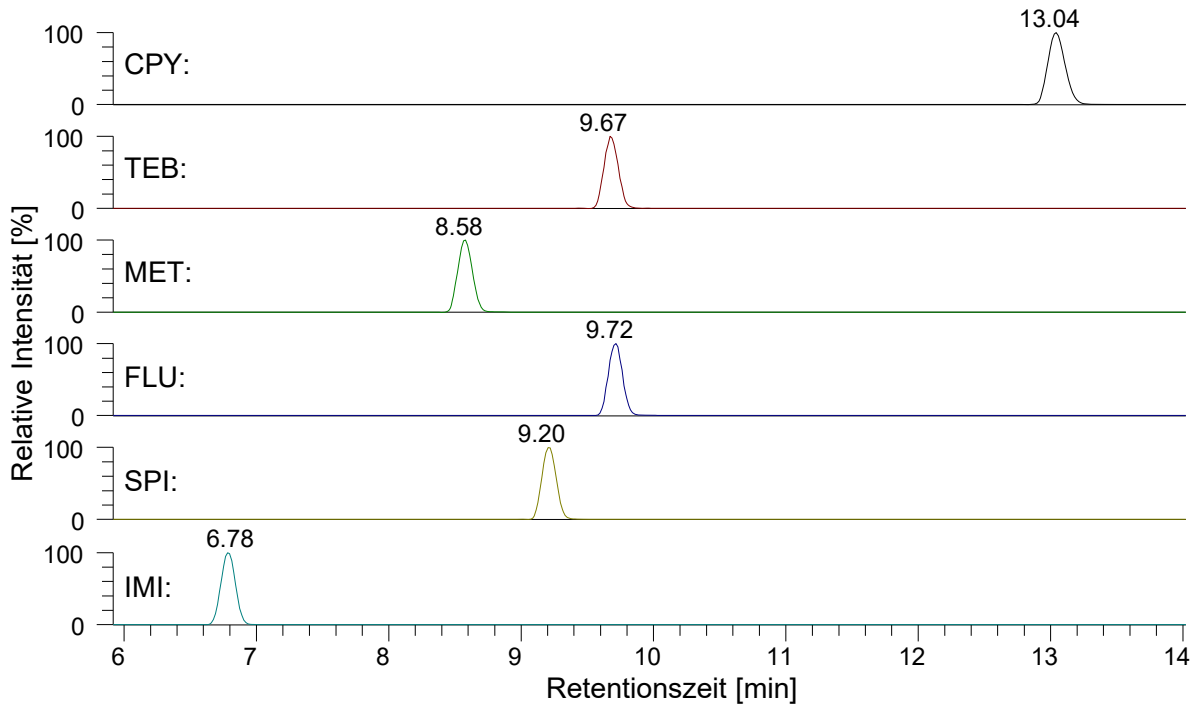


Abbildung 54: Visualisierung der Retentionszeiten der sechs Pflanzenschutzmittel unter Einsatz der finalen chromatographischen Methode (siehe Kapitel 3.11).

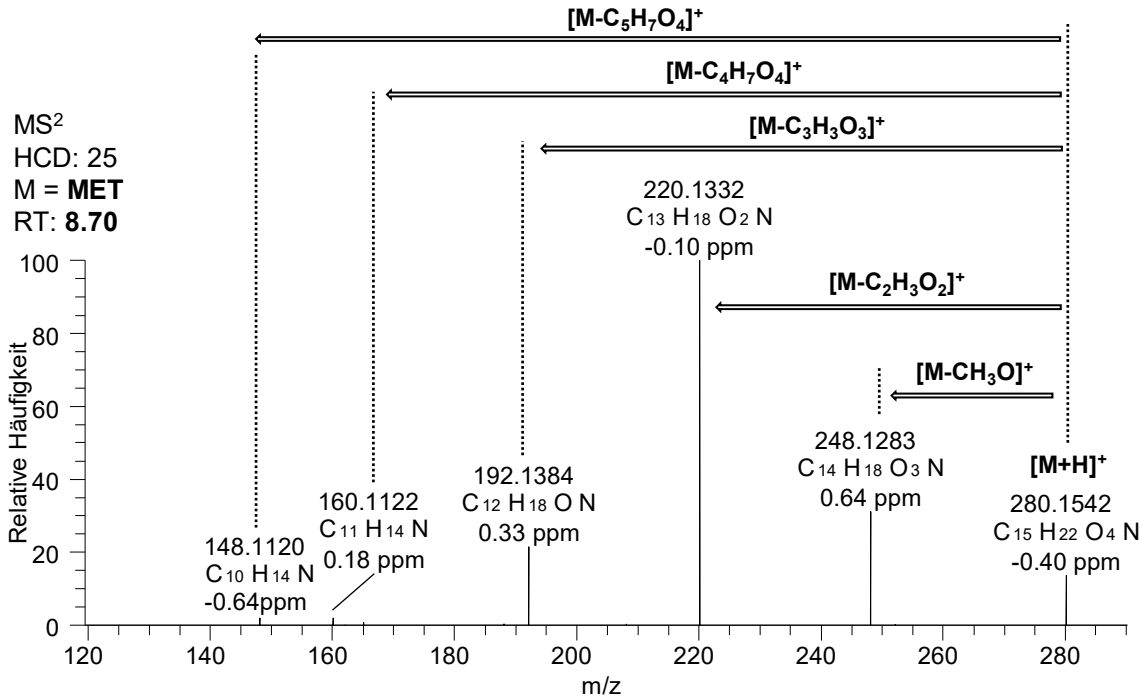


Abbildung 55: MS²-Messung von [MET+H]⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

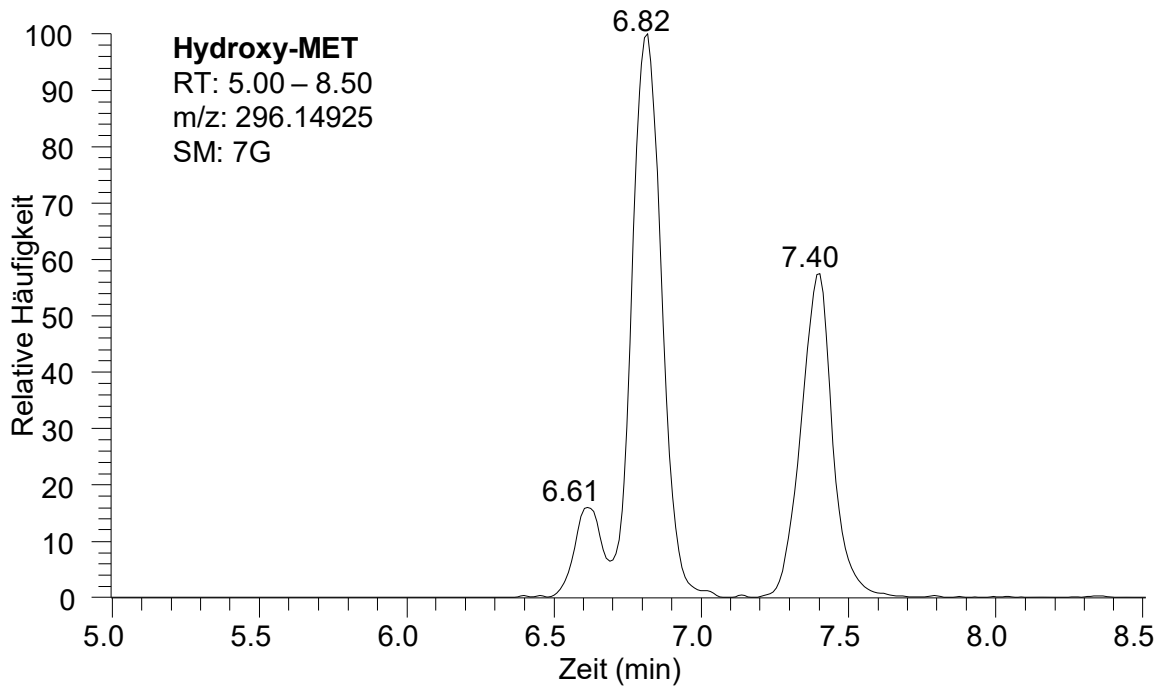


Abbildung 56: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse von $[\text{Hydroxy-MET}+\text{H}]^+$ in Blattproben von Mais entsprechen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

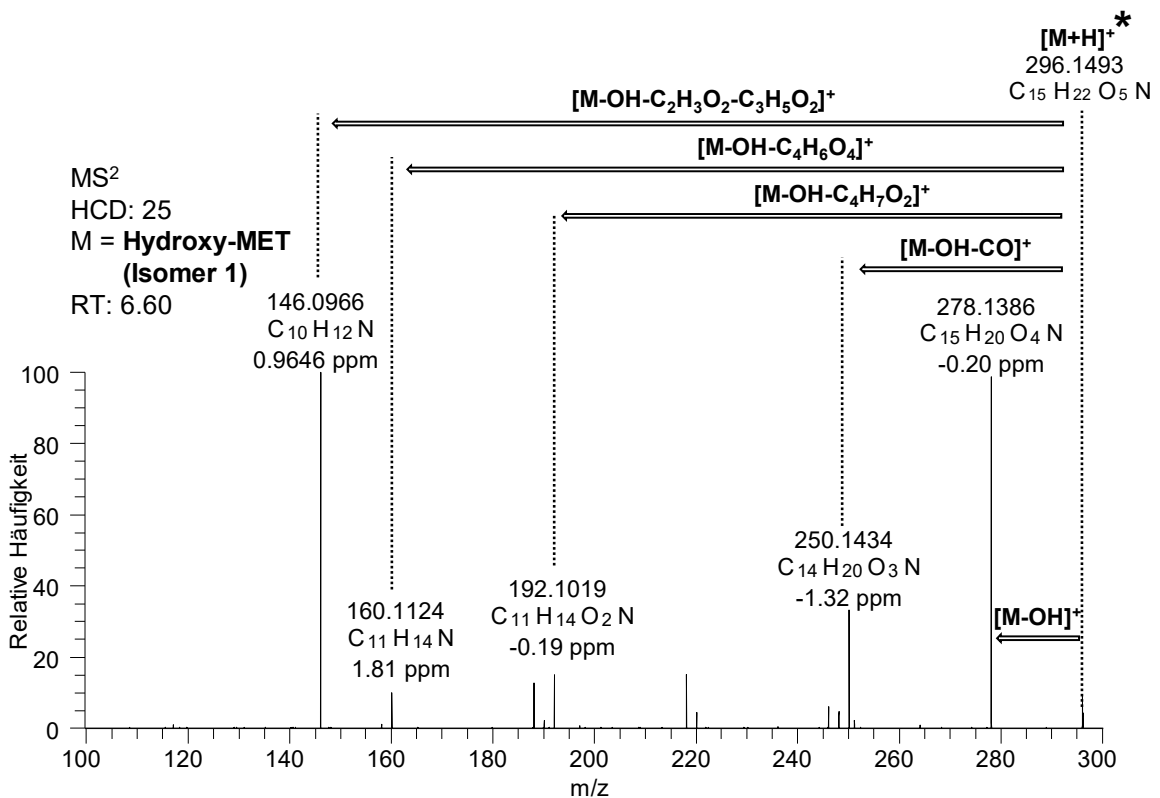


Abbildung 57: MS²-Messung von $[\text{Hydroxy-MET}+\text{H}]^+$ Isomer 1 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

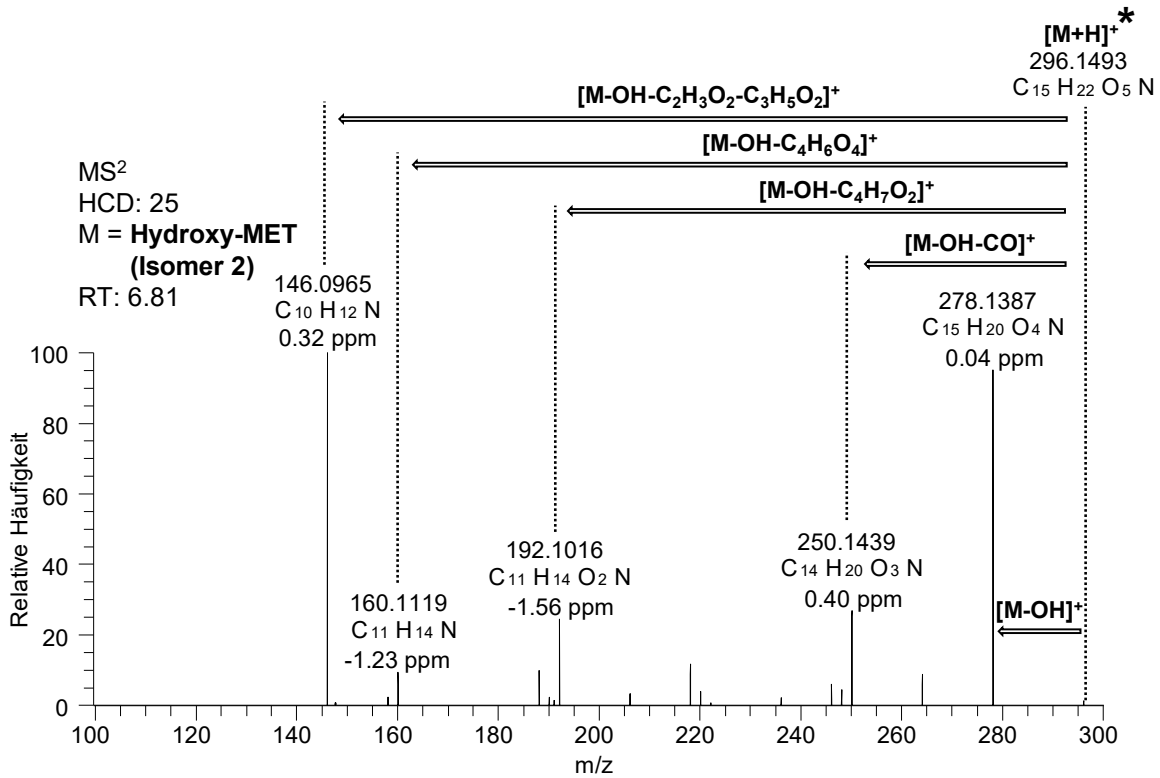


Abbildung 58: MS²-Messung von [Hydroxy-MET+H]⁺ Isomer 2 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

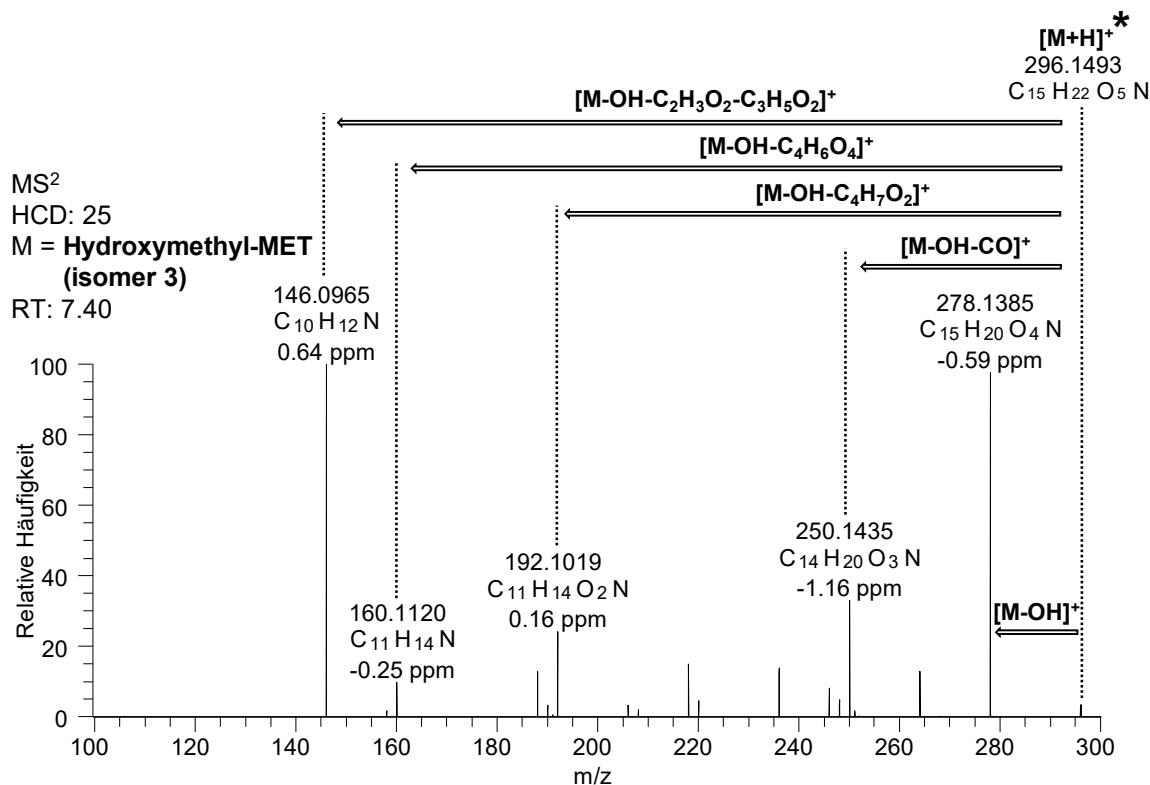


Abbildung 59: MS²-Messung von [Hydroxymethyl-MET+H]⁺ Isomer 3 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

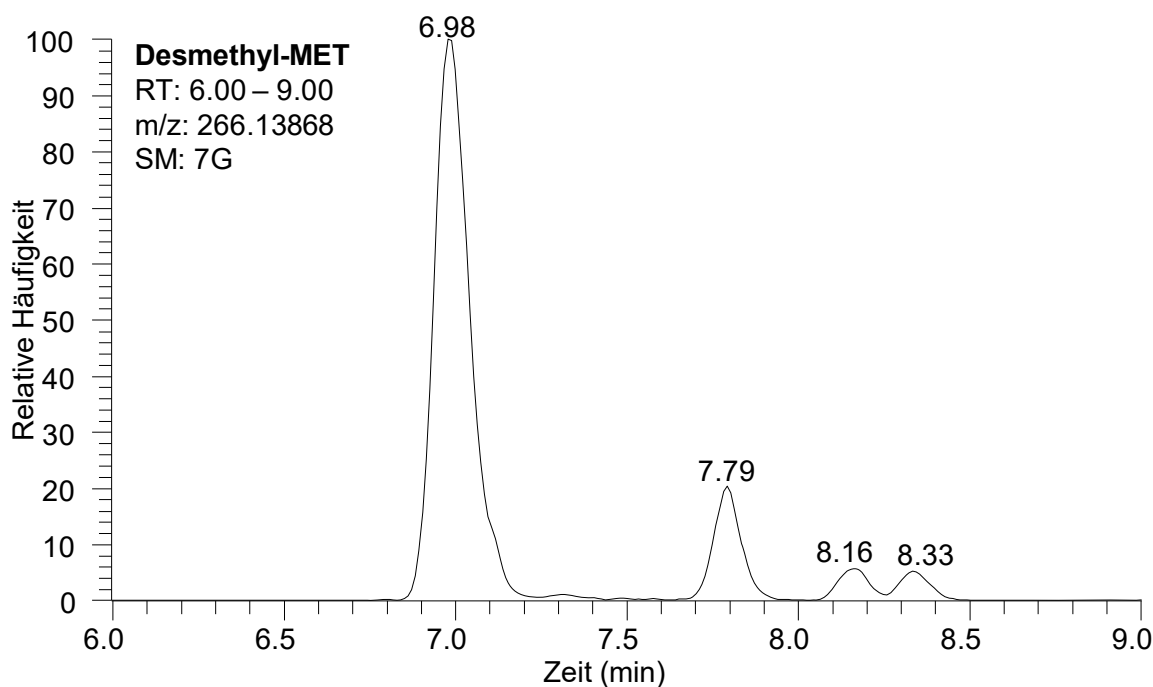


Abbildung 60: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse von [Desmethyl-MET+H]⁺ in Blattproben von Mais entsprechen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

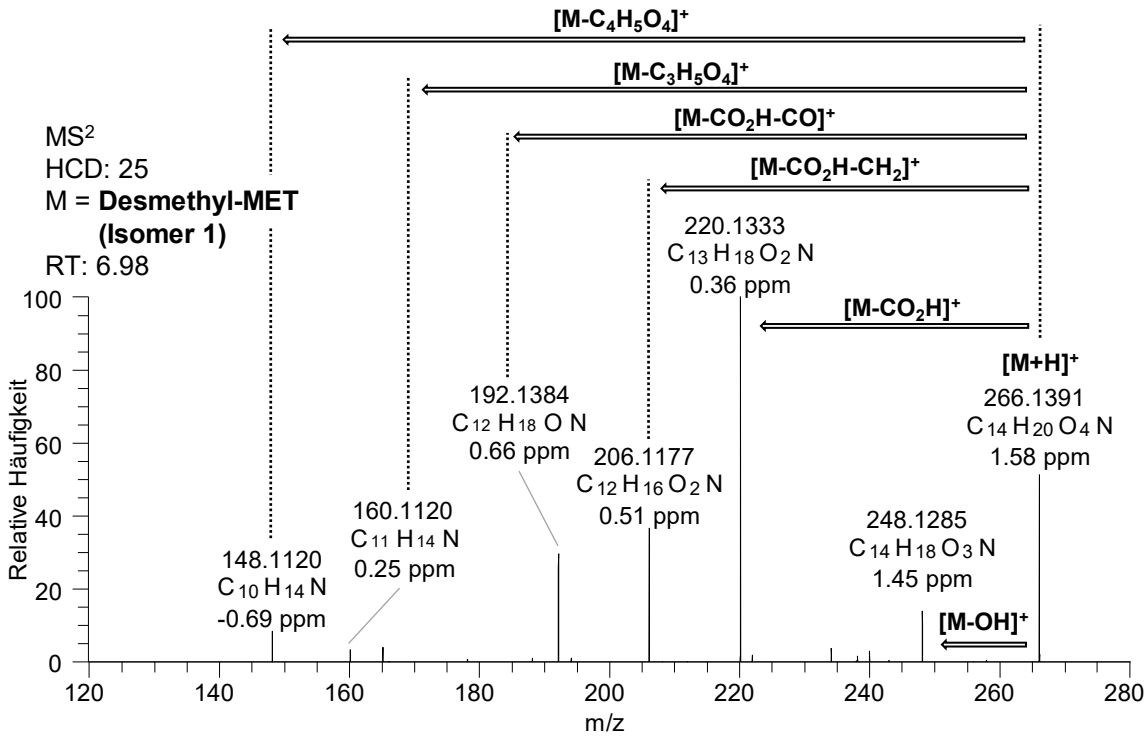


Abbildung 61: MS²-Messung von [Desmethyl-MET+H]⁺ Isomer 1 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

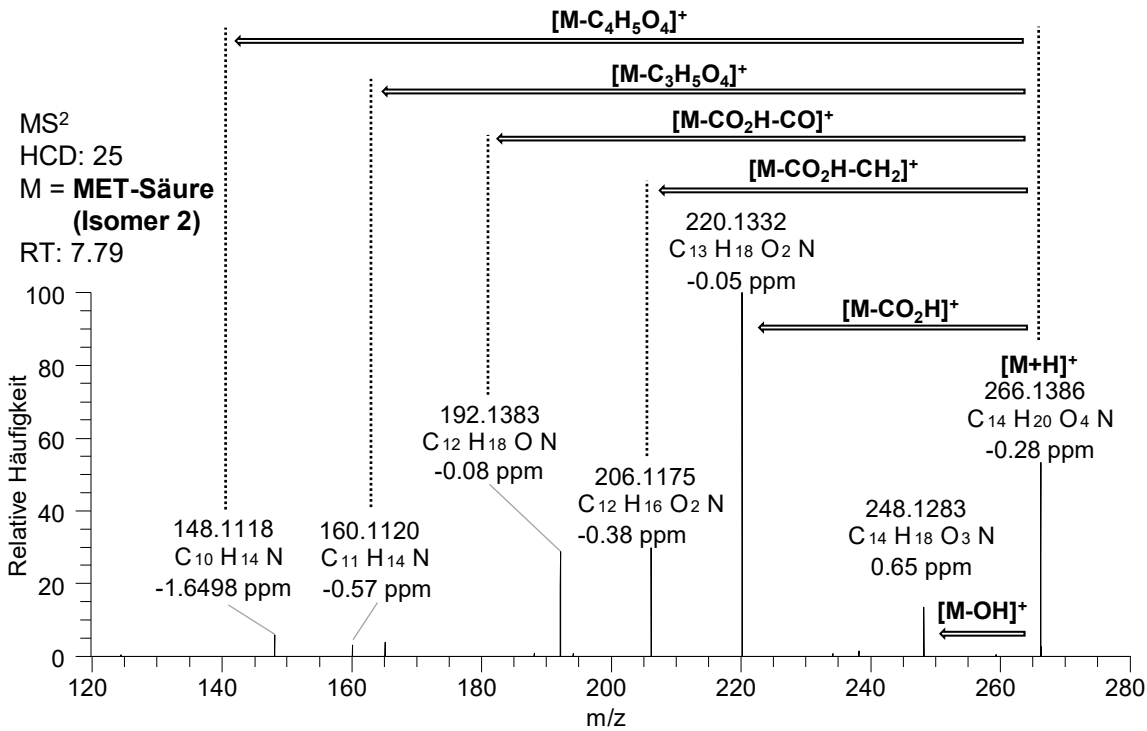


Abbildung 62: MS²-Messung von [MET-Säure+H]⁺ Isomer 2 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

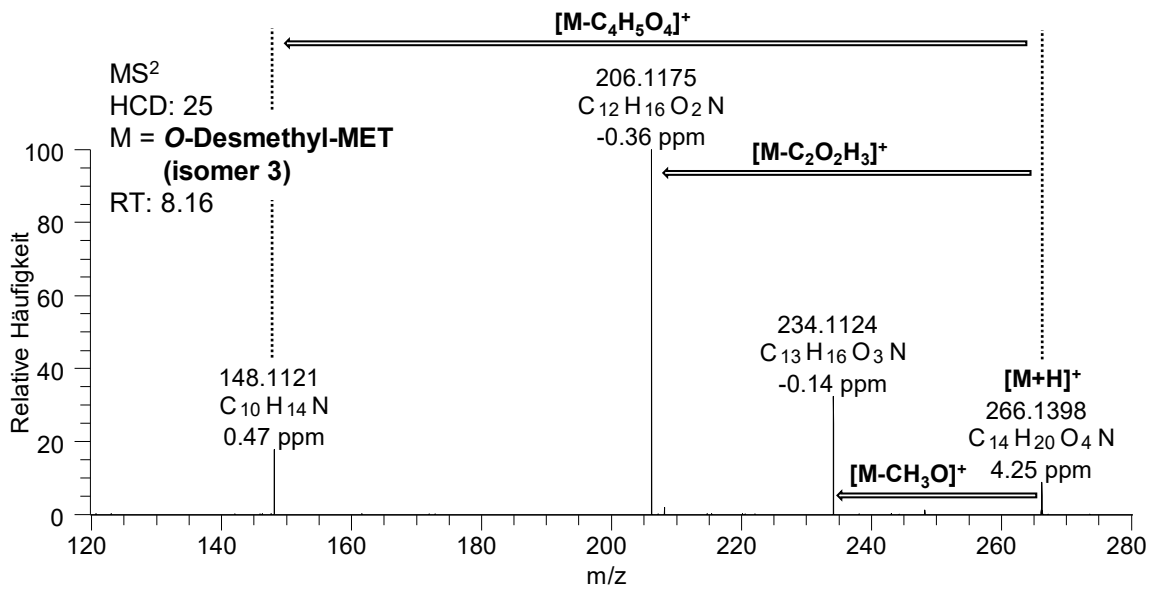


Abbildung 63: MS²-Messung von [O-Desmethyl-MET+H]⁺ Isomer 3 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

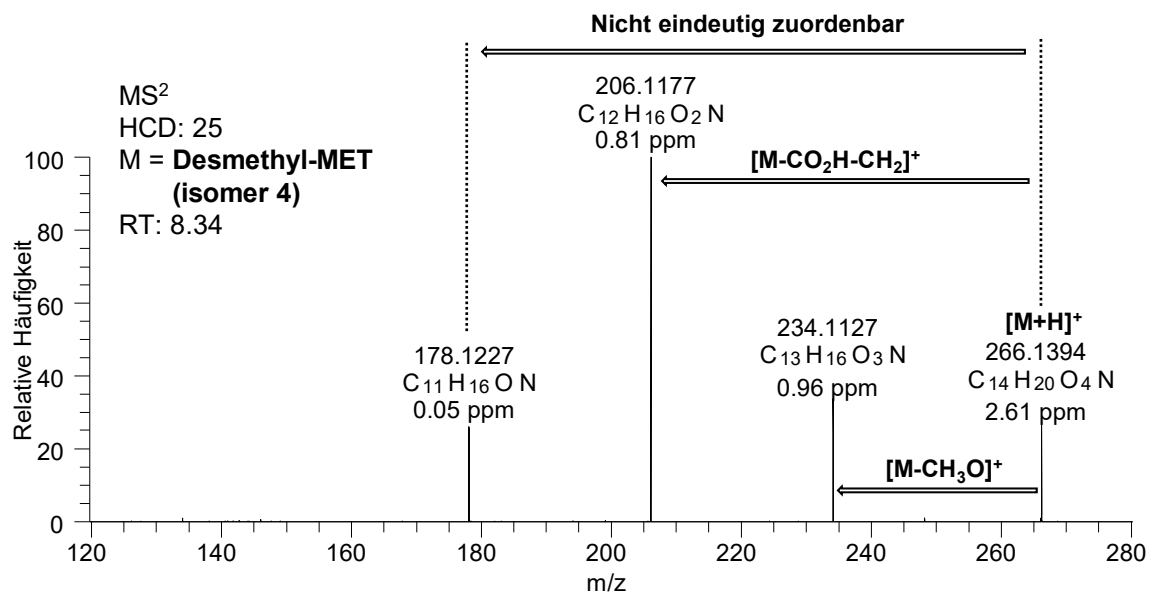


Abbildung 64: MS²-Messung von [Desmethyl-MET+H]⁺ Isomer 4 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

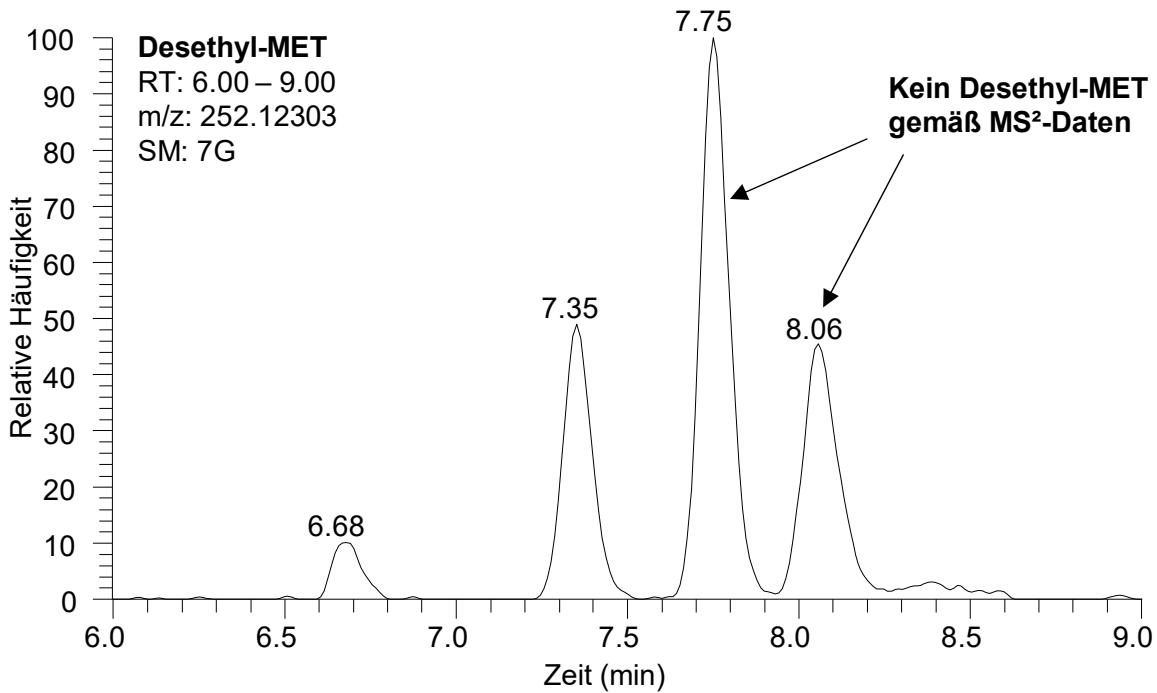


Abbildung 65: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse von [Desethyl-MET+H]⁺ in Blattproben von Mais entsprechen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

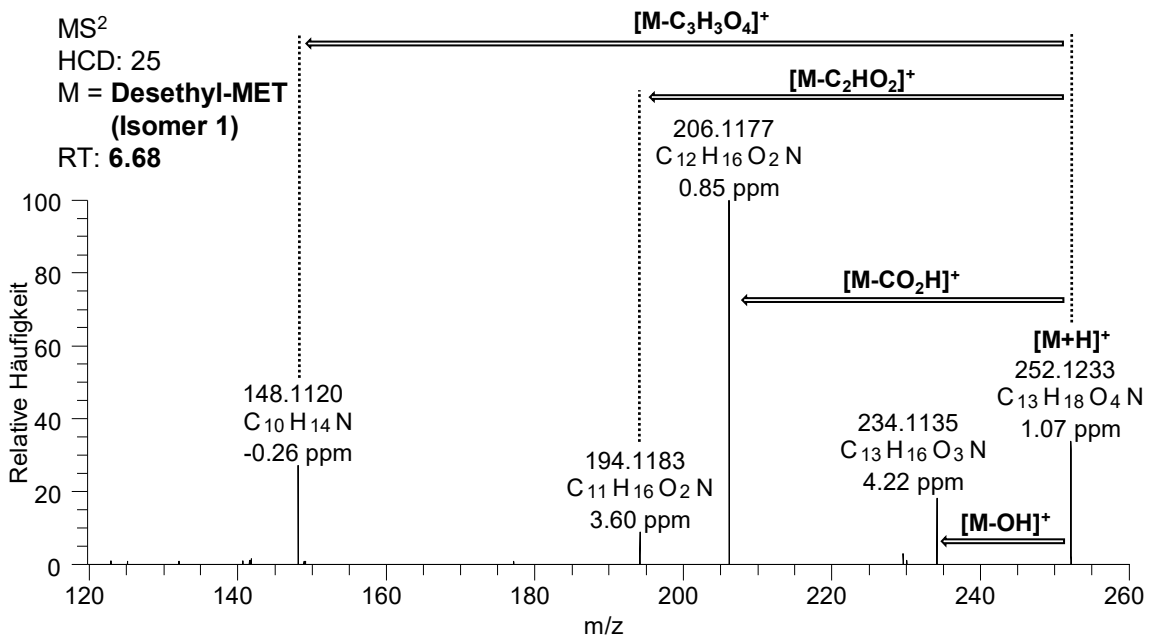


Abbildung 66: MS²-Messung von [Desethyl-MET+H]⁺ Isomer 1 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

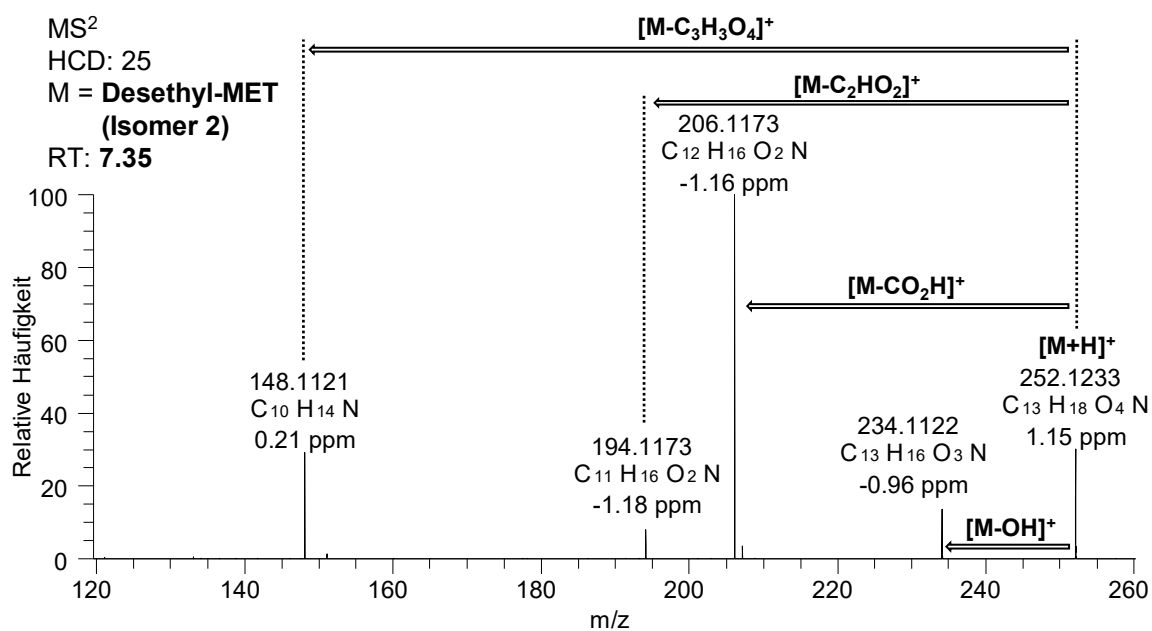


Abbildung 67: MS²-Messung von [Desethyl-MET+H]⁺ Isomer 2 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

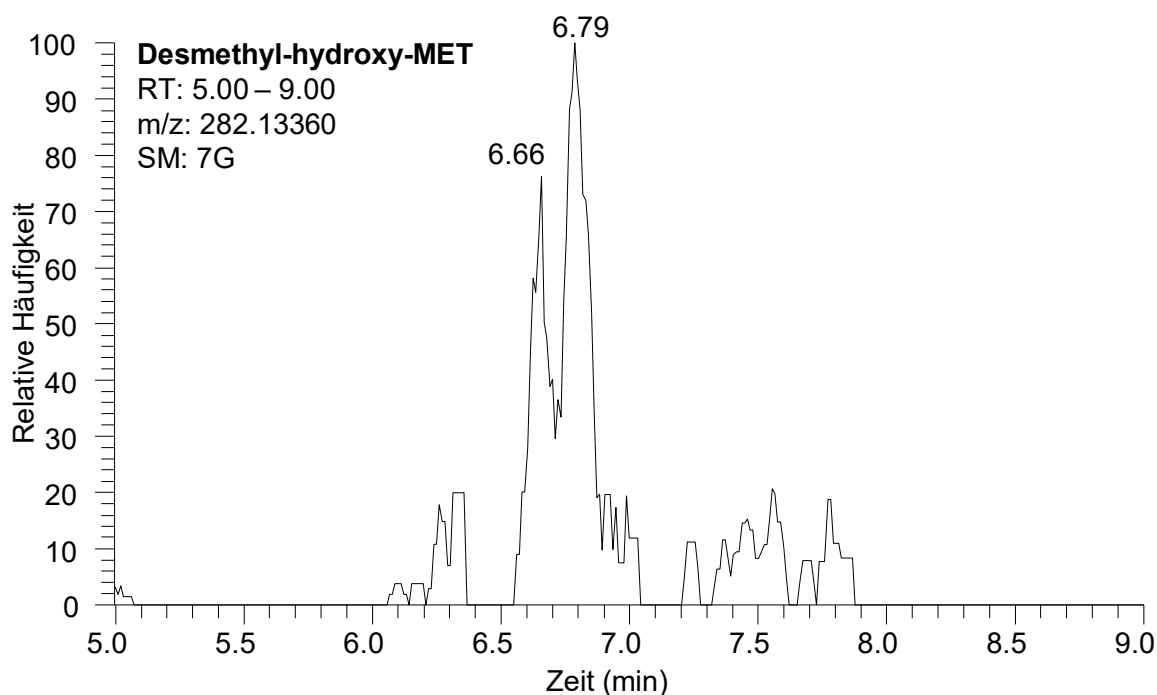


Abbildung 68: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse von [Desmethyl-hydroxy-MET+H]⁺ in Blattproben von Mais entsprechen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

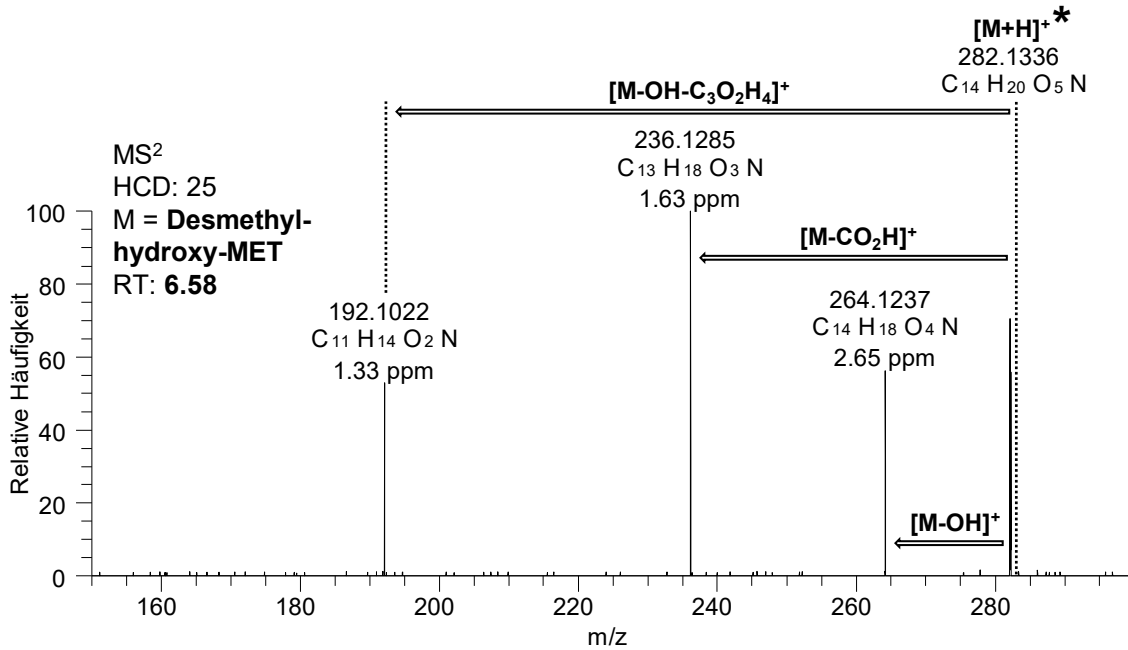


Abbildung 69: MS²-Messung von [Desmethyl-hydroxy-MET+H]⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

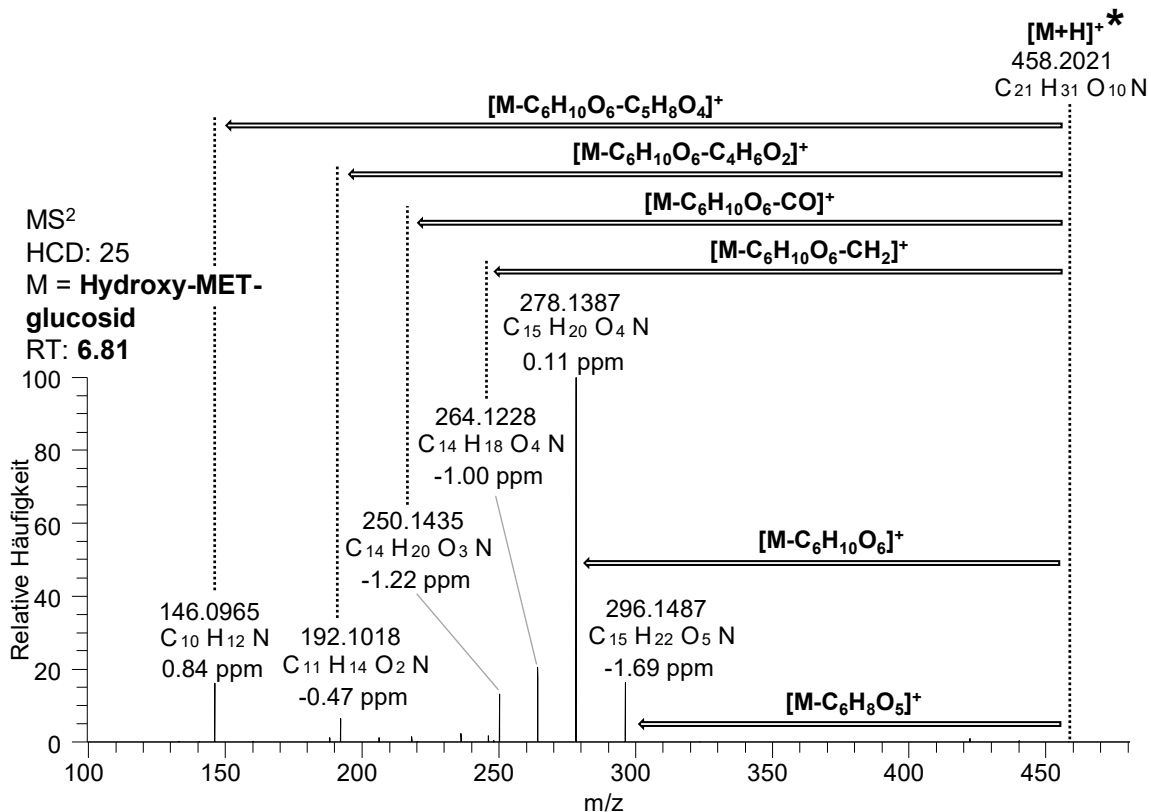


Abbildung 70: MS²-Messung von [Hydroxy-MET-glucosid+H]⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

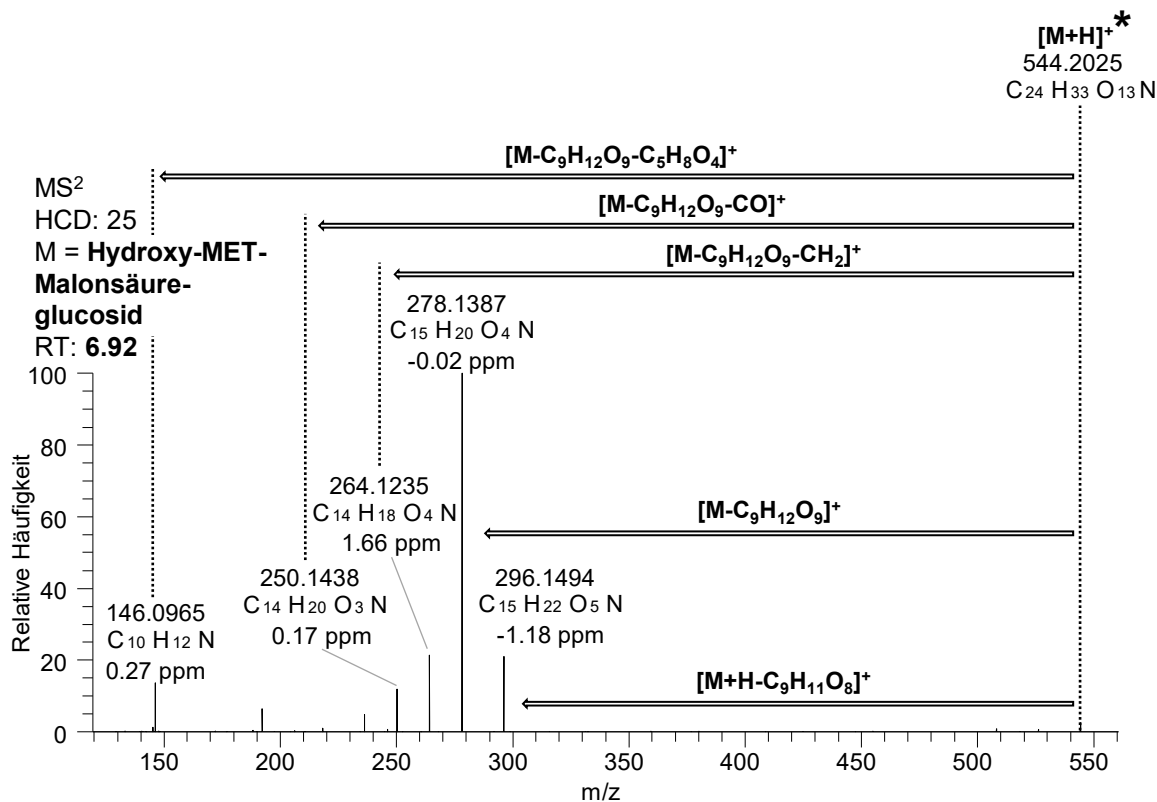


Abbildung 71: MS²-Messung von [Hydroxy-MET-Malonsäure-glucosid+H]⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

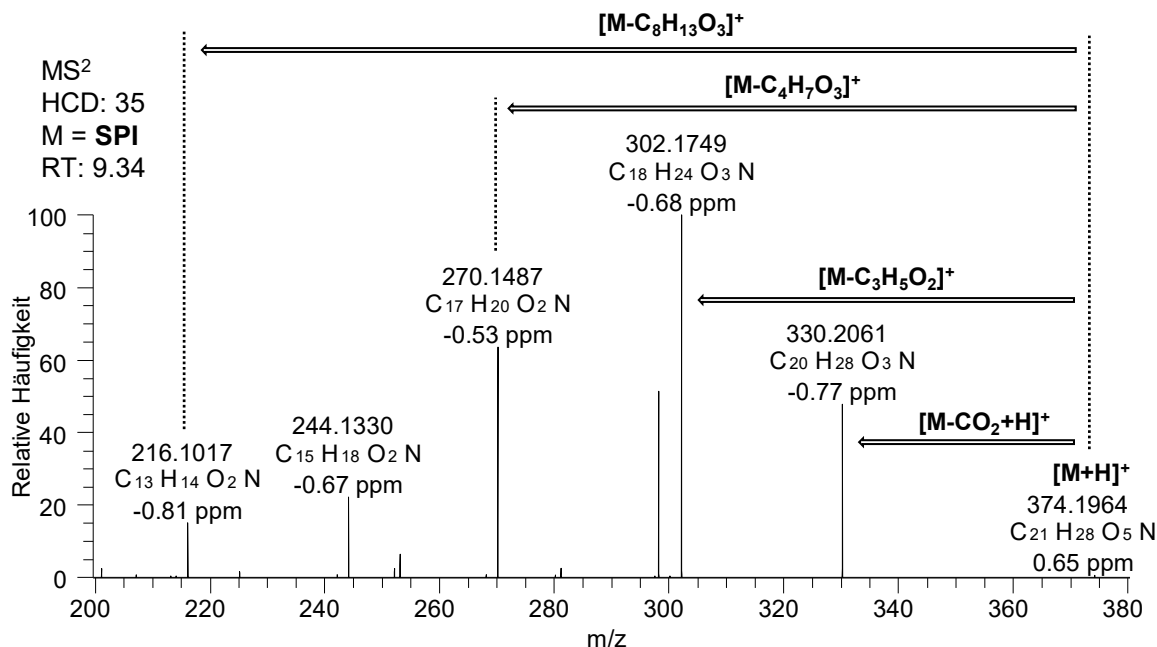


Abbildung 72: MS²-Messung von [SPI+H]⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

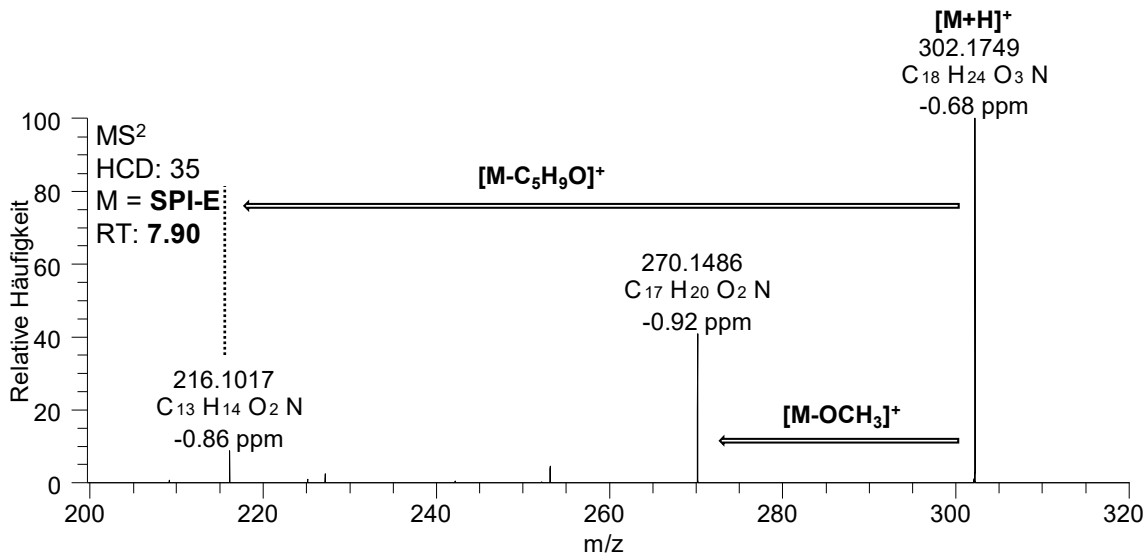


Abbildung 73: MS²-Messung von [SPI-E+H]⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

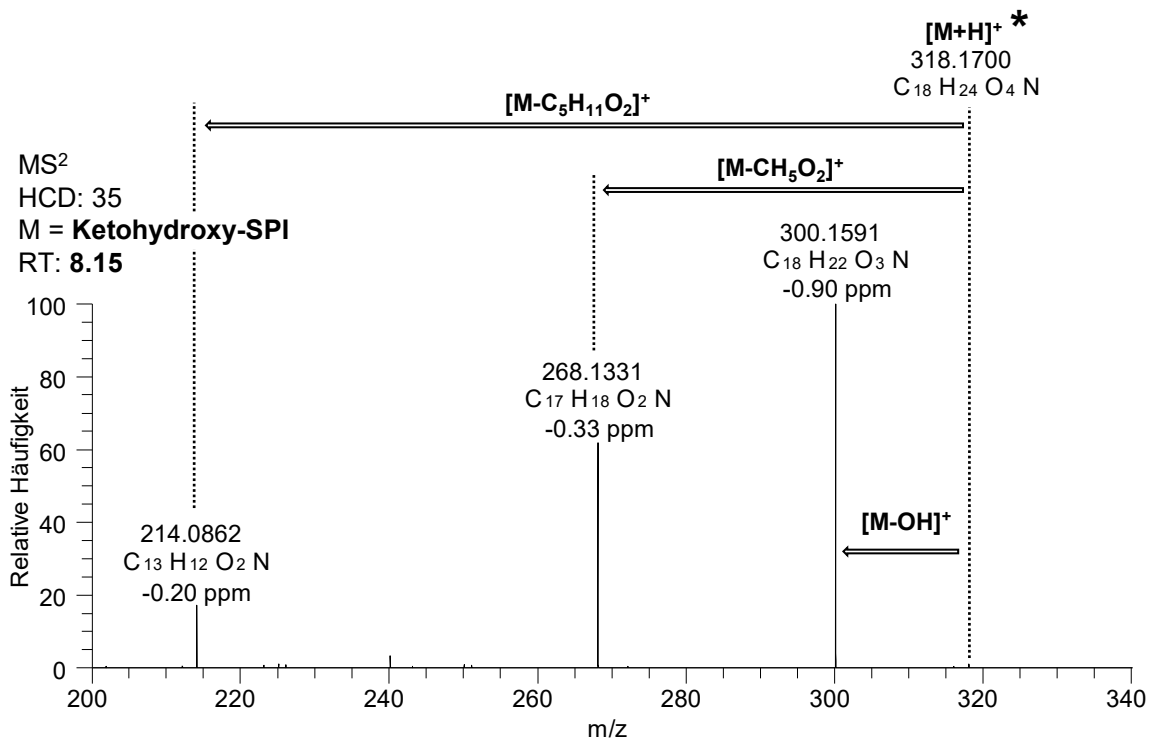


Abbildung 74: MS²-Messung von [Ketoxy-SPI+H]⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

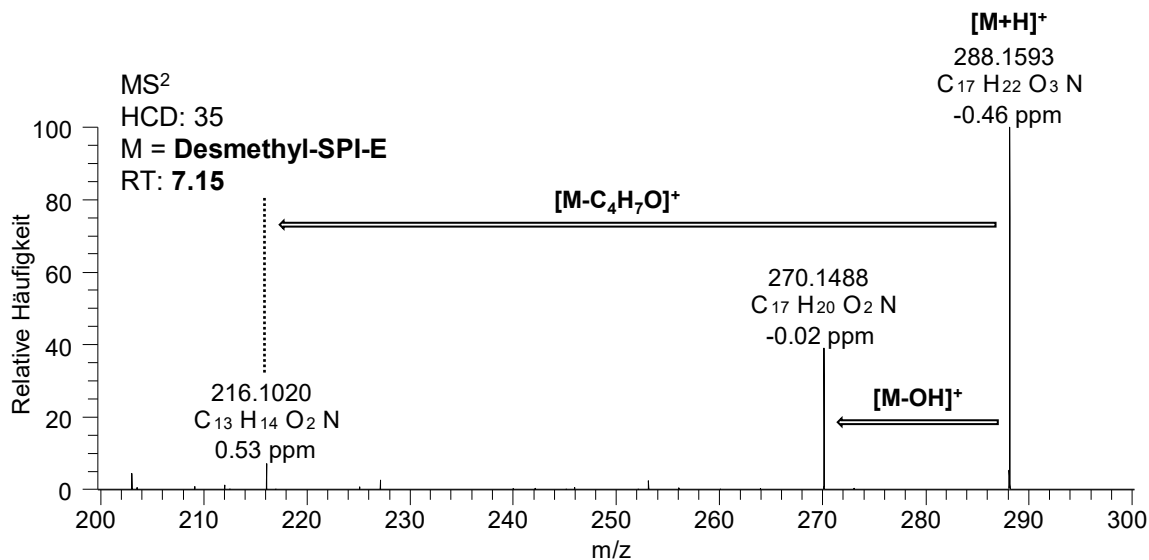


Abbildung 75: MS²-Messung von [Desmethyl-SPI-E+H]⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

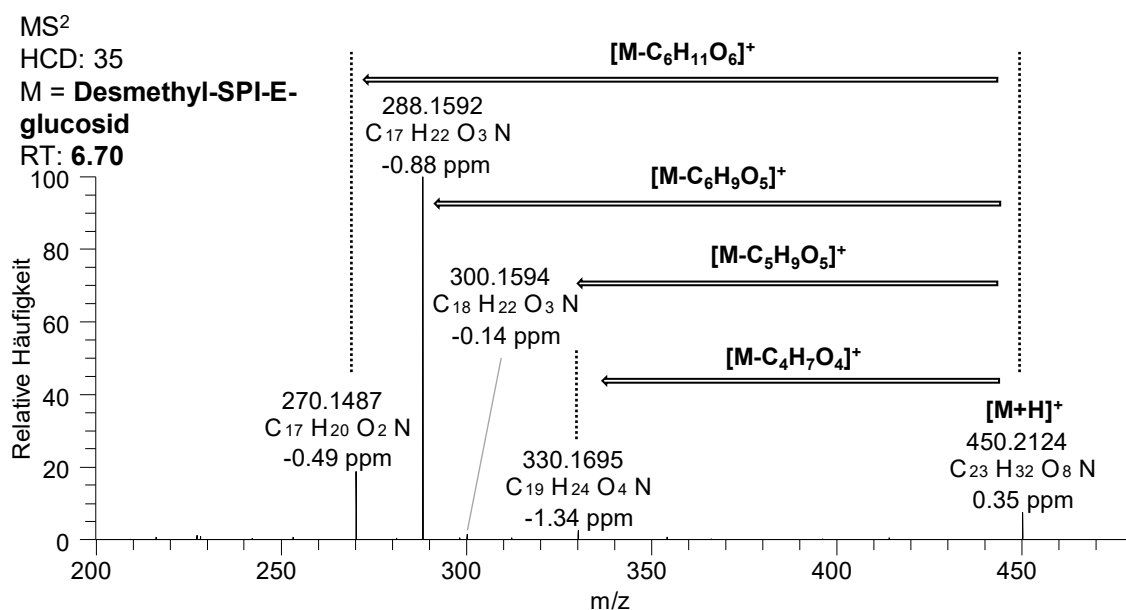


Abbildung 76: MS²-Messung von [Desmethyl-SPI-E-glucosid+H]⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

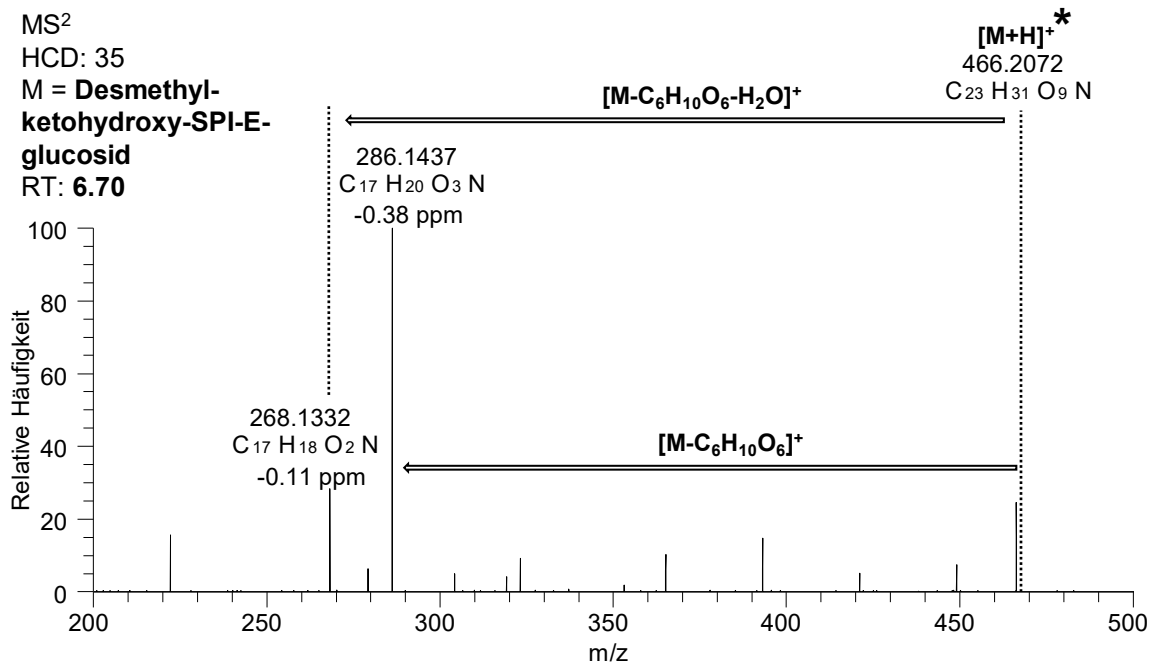
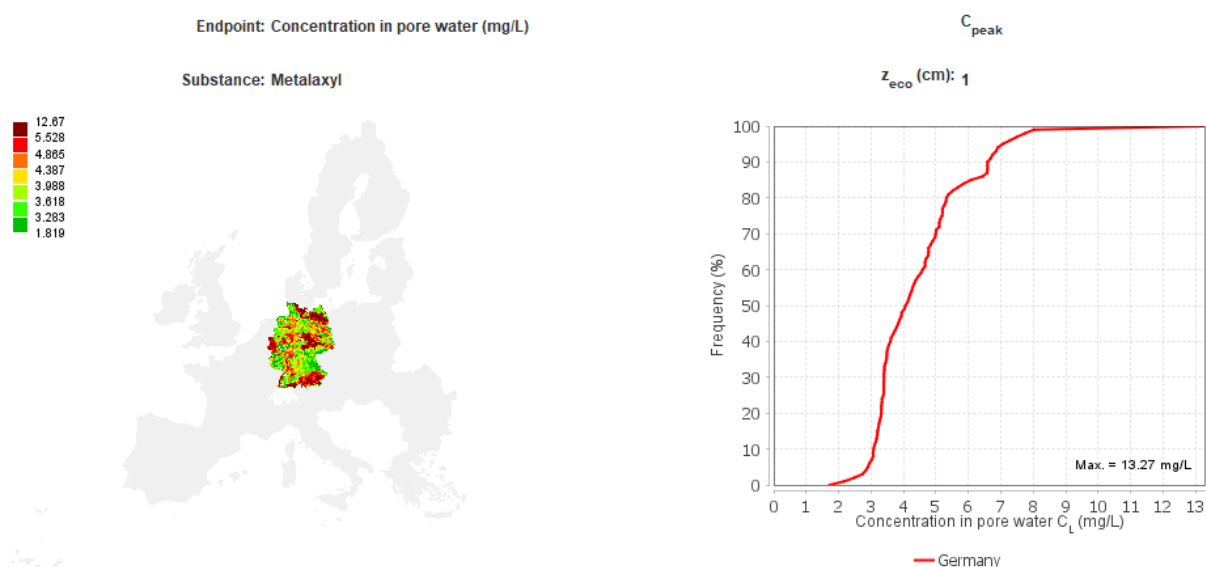


Abbildung 77: MS²-Messung von [Desmethyl-ketohydroxy-SPI-E-glucosid+H]⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

7.2.2 Abbildungen zu Aufnahmestudien



Pflanzenschutzmittel:	Metalaxyl (MET)
organische Substanz/Wasser Verteilungskoeffizient (K_{om}):	25 mL/g
Anwendungsart:	Blattapplikation
Applikationsrate:	0,24 kg MET/ha
Nutzpflanze:	Mais
Wachstumsstadium:	BBCH 10-19
Zeit seit der Anwendung:	0 h
Ökotoxikologische mittlere Bodentiefe (z_{eco}):	1 cm (Standardwert)
Anwendungsregion:	Deutschland
Boden pH:	6,5
Gehalt organischer Substanzen im Boden (f_{om}):	0,02356 kg/kg
Wassergehalt bei Feldkapazität (θ_{fc}):	0,3847 m ³ /m ³
Trockene Schüttdichte des Bodens (ρ):	1,382 kg/L
Spitzenkonzentration im Porenwasser (C_{peak}):	7,056 mg/L (25,3 μ M)
Maximale Konzentration im Porenwasser (C_{max}):	13,27 mg/L (47,6 μ M)

Abbildung 78: PERSAM-Ergebnisse sowie die zur Approximation verwendeten Parameter zur Modellierung der Konzentration von MET im Porenwasser des deutschen Bodens direkt nach der Applikation im Feld. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

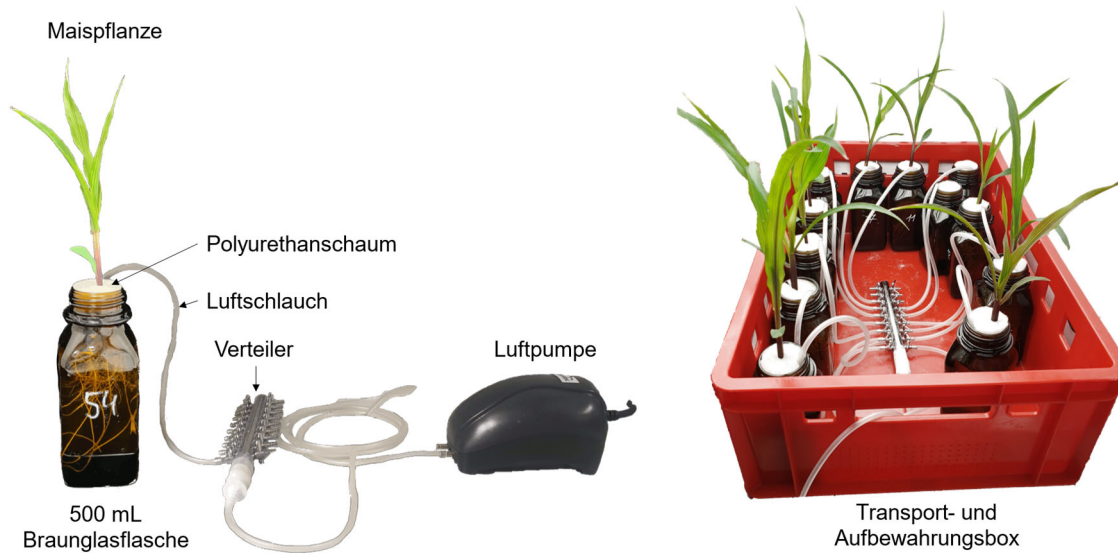


Abbildung 79: Aufbau des Aufnahmeversuchs. Links: Schematische Darstellung des hydroponischen Systems. Rechts: Lager- und Transportbox mit einer Reihe von Maispflanzen während des Aufnahmeversuchs. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

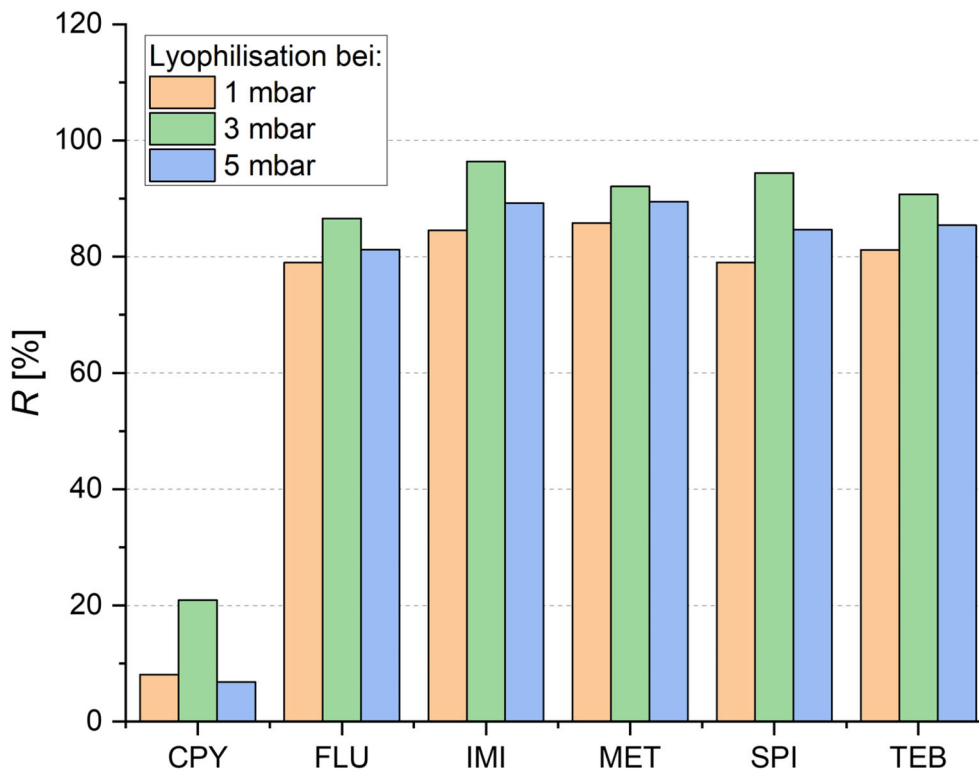


Abbildung 80: Wiederfindungsraten (R) der sechs Pflanzenschutzmittel nach Lyophilisation bei 1 mbar ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), 3 bar ($-8\text{ }^{\circ}\text{C}$) und 5 mbar ($-3\text{ }^{\circ}\text{C}$). Zur Ermittlung der R wurden die Pflanzenschutzmittel in Wasser dotiert, eingefroren und lyophilisiert bis kein Wasser zurückblieb. Anschließend wurden sie im Ultraschallbad in ACN aufgenommen und mit einer Kontrollprobe verglichen, in welche die Pflanzenschutzmittel in das Glasvial ohne Wasser zudotiert worden und das Lösungsmittel bei Raumtemperatur verdampft ist ($n=3$).

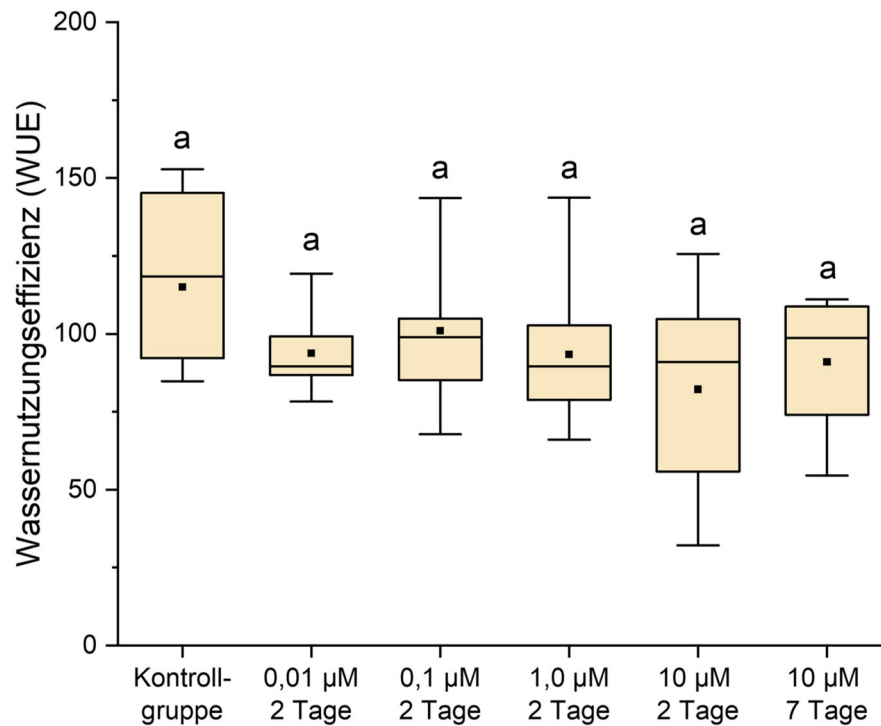


Abbildung 81: Wassernutzungseffizienz (WUE) der Maispflanzen in den verschiedenen Versuchsgruppen während der hydroponischen Aufnahmestudie, beschrieben in Kapitel 4.1. Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf statistisch signifikante Unterschiede hin, basierend auf einer einfaktoriellem Varianzanalyse (ANOVA) und dem Tukey-Test ($\alpha = 0,05$).

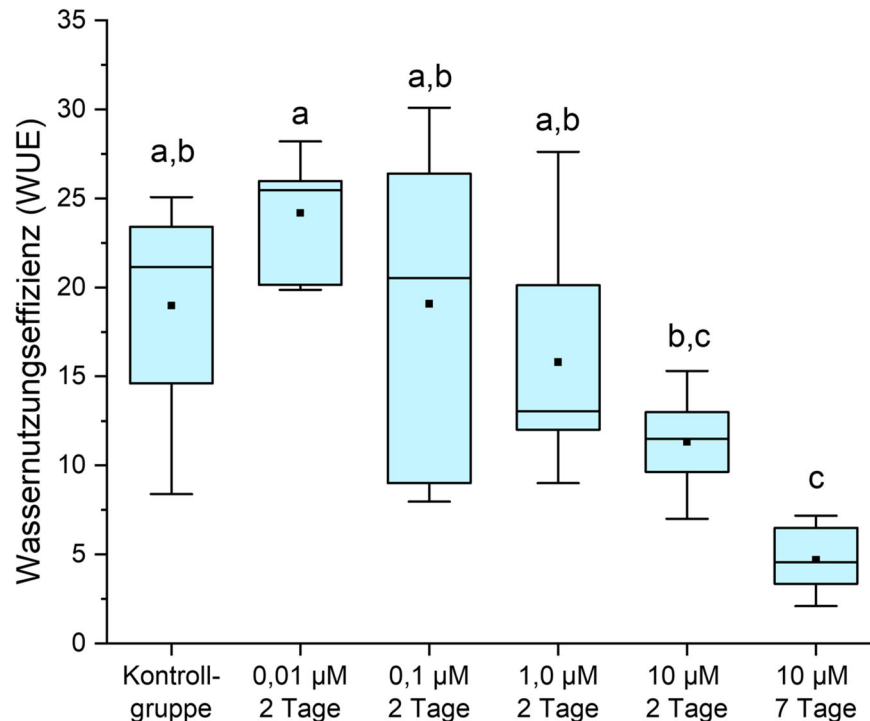


Abbildung 82: Wassernutzungseffizienz (WUE) der Weizenpflanzen in den verschiedenen Versuchsgruppen während der hydroponischen Aufnahmestudie, beschrieben in Kapitel 4.1. Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf statistisch signifikante Unterschiede hin, basierend auf einer einfaktoriellem Varianzanalyse (ANOVA) und dem Tukey-Test ($\alpha = 0,05$).

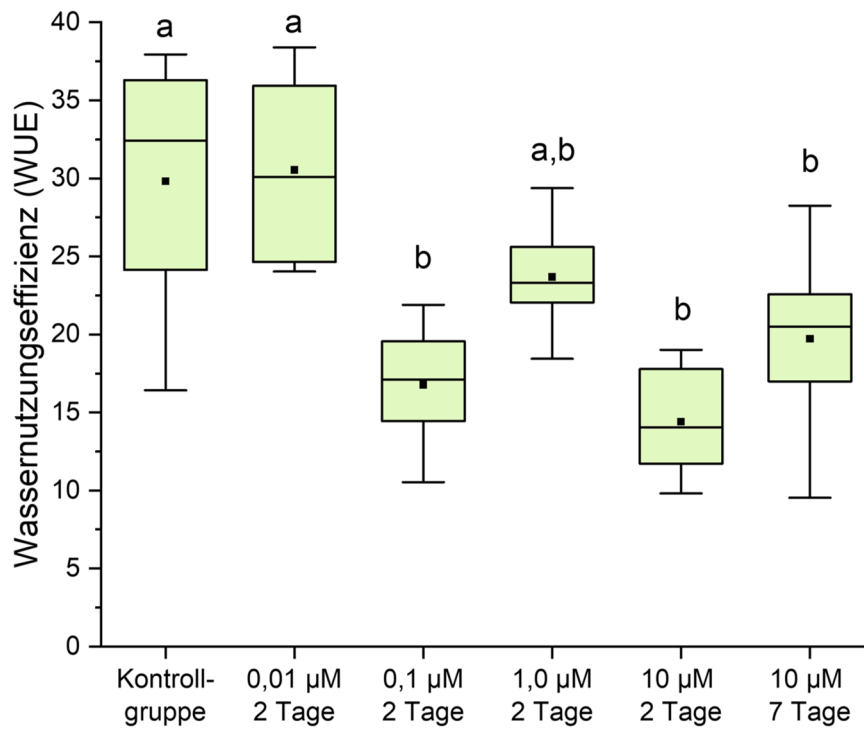


Abbildung 83: Wassernutzungseffizienz (WUE) der Sojapflanzen in den verschiedenen Versuchsgruppen während der hydroponischen Aufnahmestudie, beschrieben in Kapitel 4.1.

Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf statistisch signifikante Unterschiede hin, basierend auf einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und dem Tukey-Test ($\alpha = 0,05$).

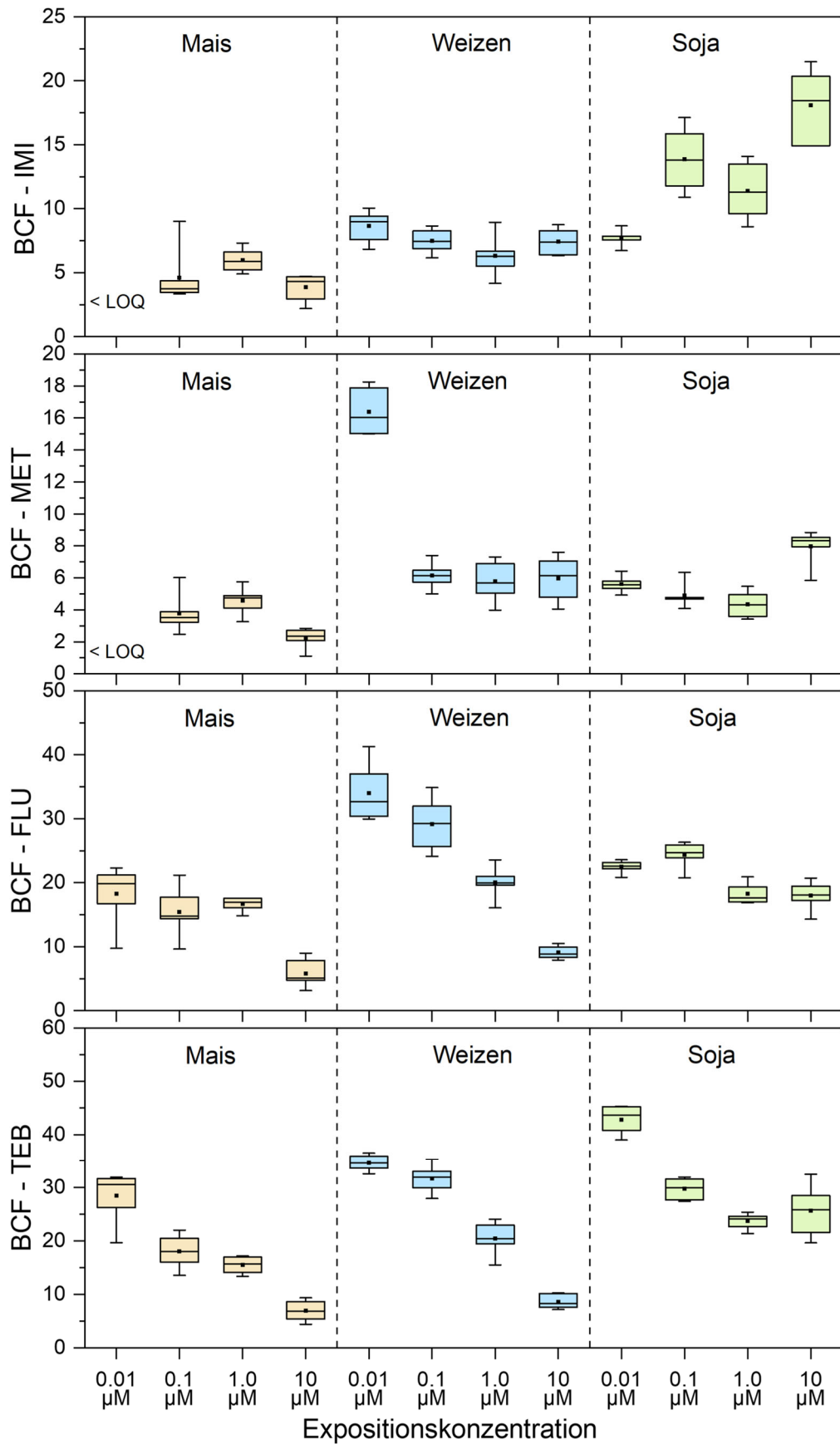


Abbildung 84: Korrelation zwischen Expositions-konzentration und Biokonzentrationsfaktor (BCF) von IMI, MET, FLU und TEB in Mais, Weizen und Sojabohne (zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

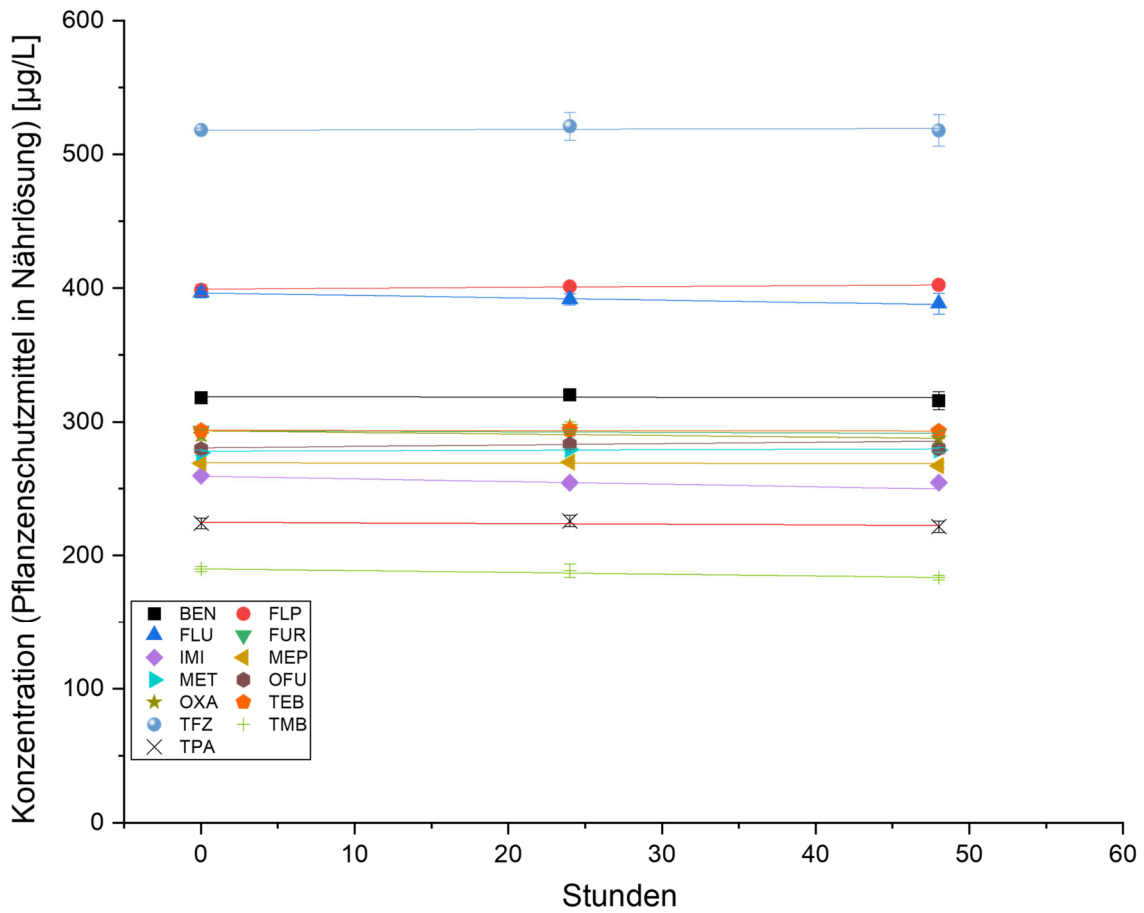


Abbildung 85: Konzentration der in Kapitel 4.3 untersuchten Pflanzenschutzmittel in der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung über einen Zeitraum von 48 Stunden in Abwesenheit einer Pflanze. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100]

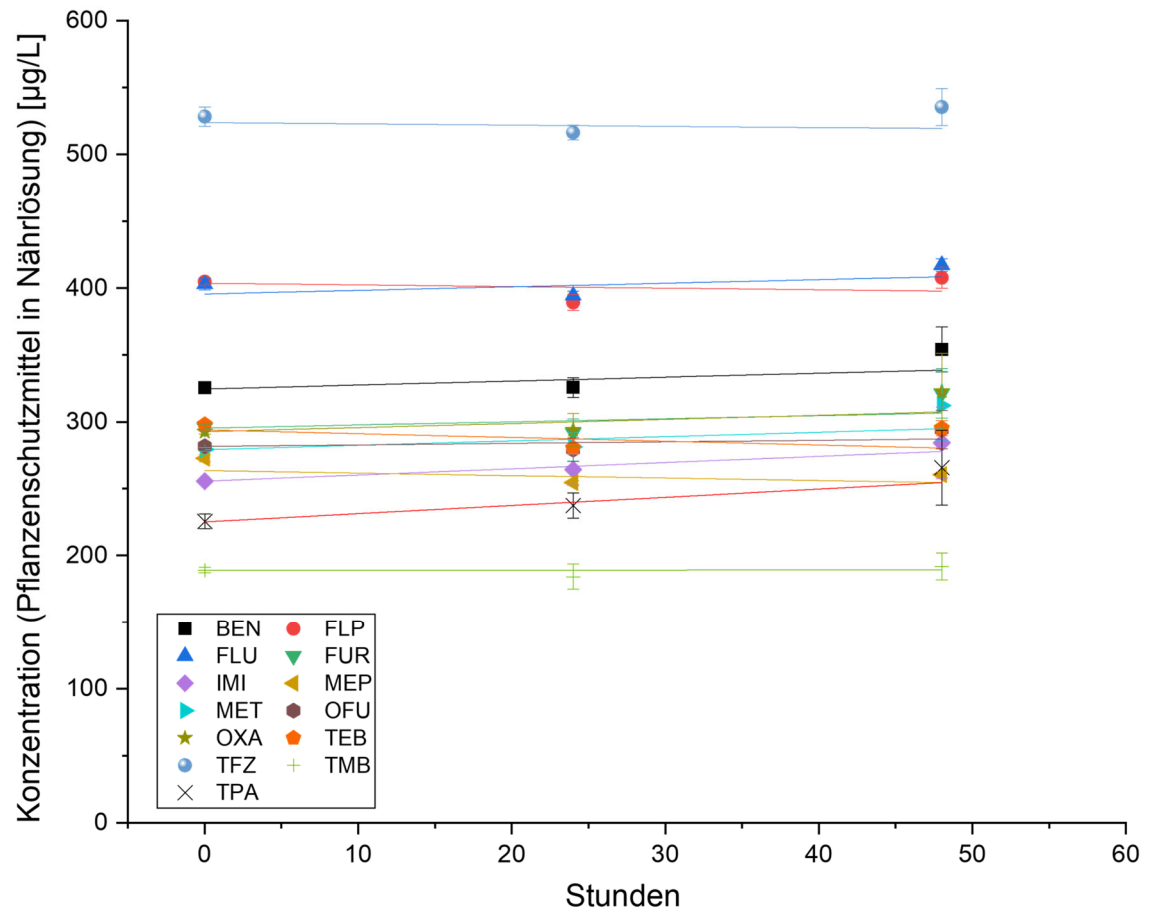


Abbildung 86: Konzentration der in Kapitel 4.3 untersuchten Pflanzenschutzmittel in der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung über einen Zeitraum von 48 Stunden in Anwesenheit einer Pflanze. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100]

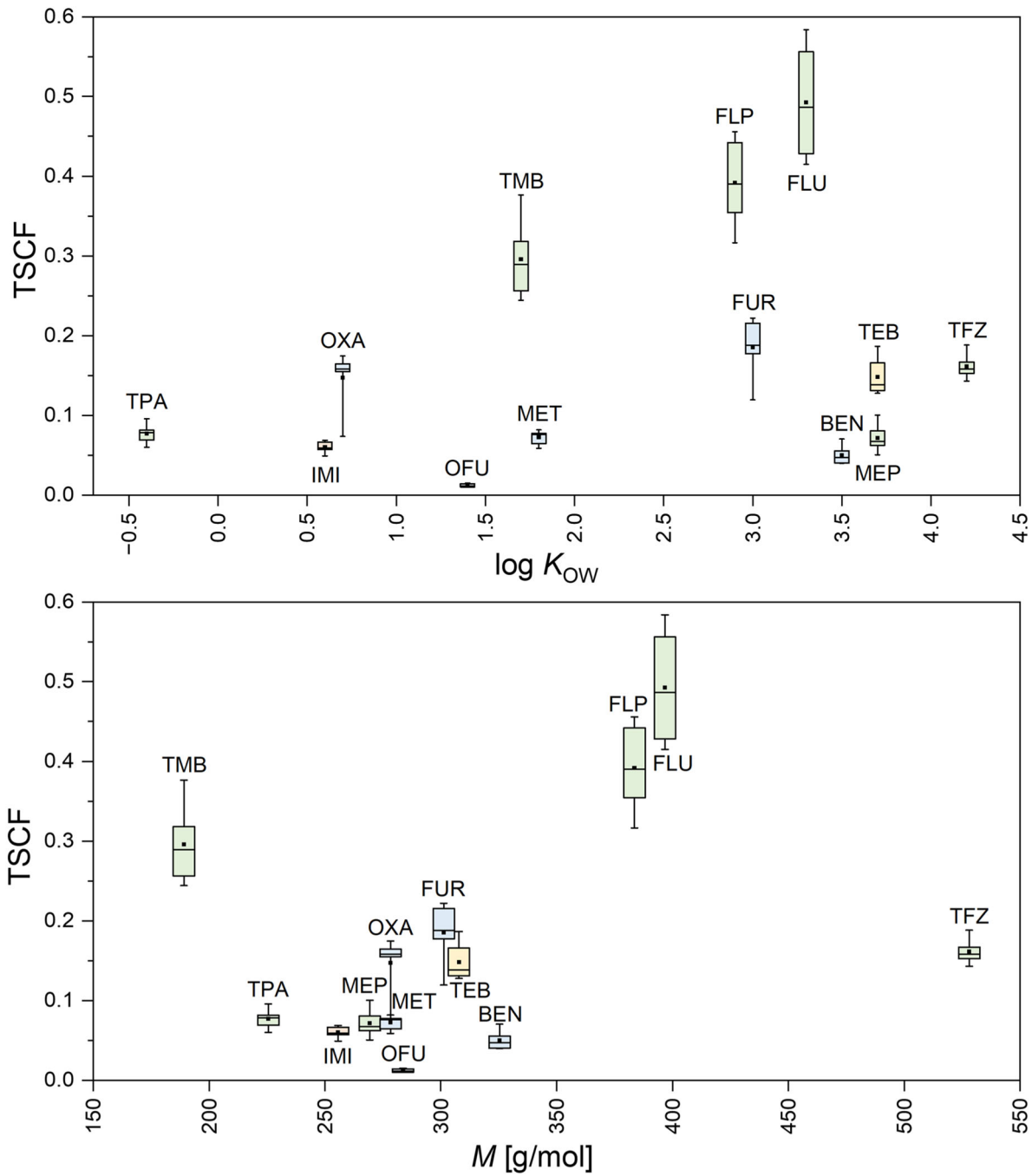


Abbildung 87: Korrelation zwischen den physikochemischen Eigenschaften der in Kapitel 4.3 untersuchten Pflanzenschutzmittel und deren Transpirationsstromkonzentrationsfaktor (TSCF) in Weizen (n = 12). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100]



Abbildung 88: Maispflanze, welche die stärkste Chlorose nach der siebentägigen Aufnahme von MET und SPI zeigte (zugehörig zu Kapitel 4.4). Übernommen von SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

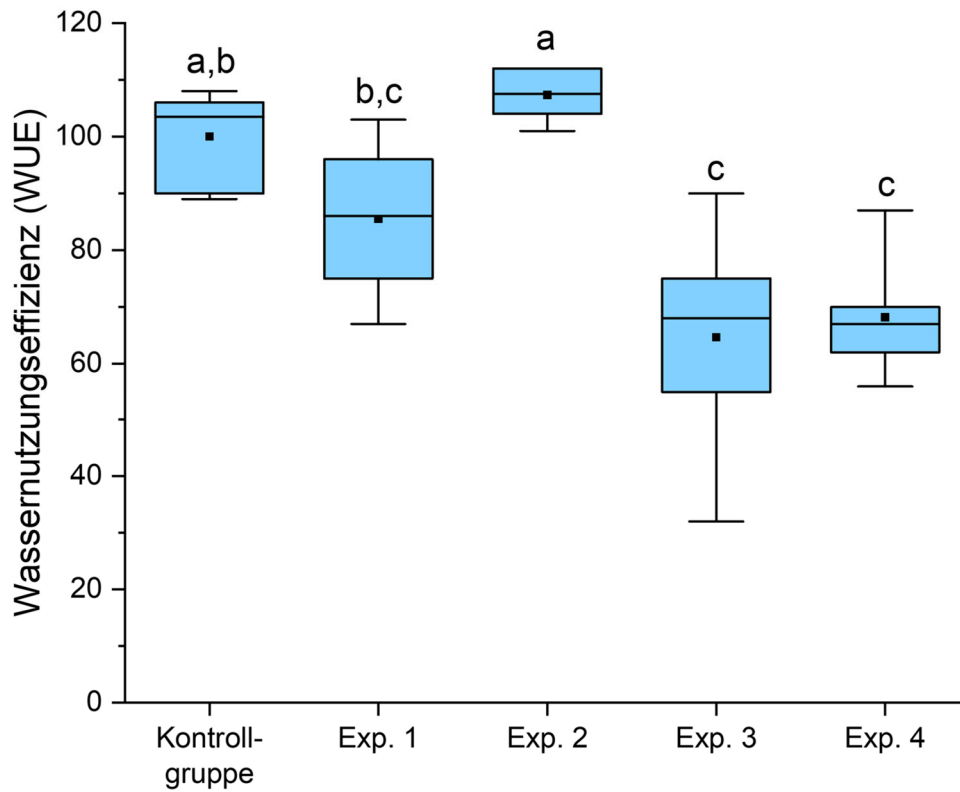


Abbildung 89: Wassernutzungseffizienz (WUE) der Maispflanzen in den verschiedenen Versuchsgruppen während der hydroponischen Aufnahmestudie, beschrieben in Kapitel 4.4. Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf statistisch signifikante Unterschiede hin, basierend auf einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und dem Tukey-Test ($\alpha = 0,05$).
Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

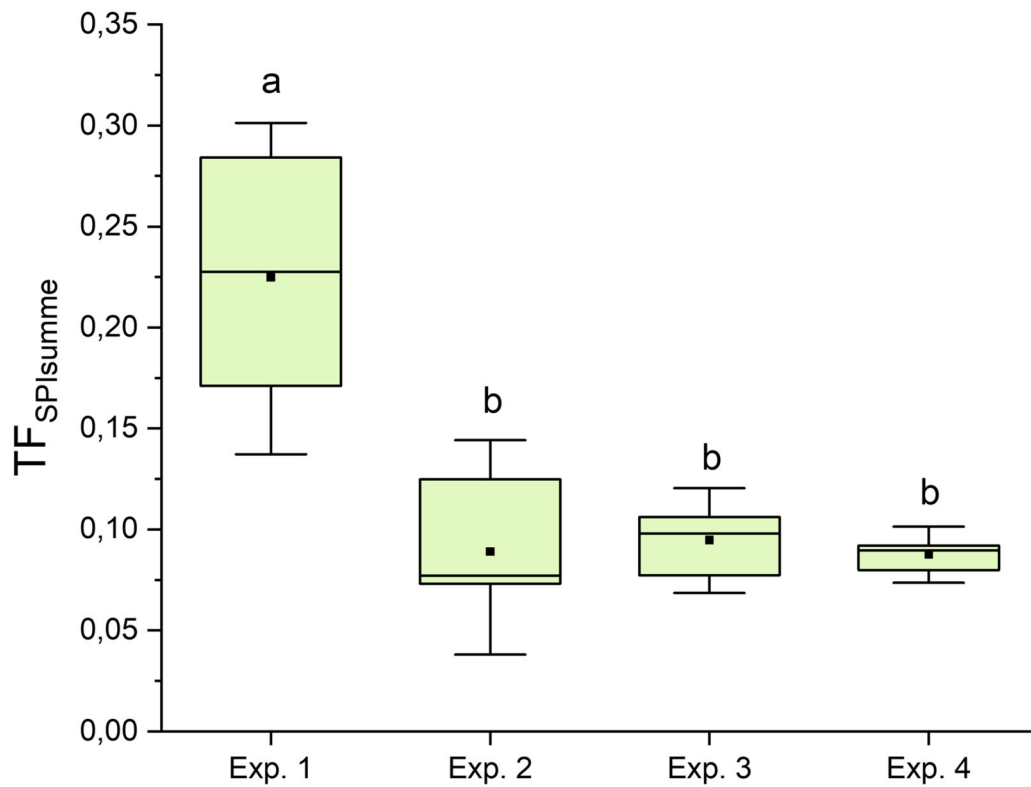


Abbildung 90: Translokationsfaktor von SPI + SPI-E ($TF_{SPIsumme}$) in den verschiedenen Versuchsgruppen während der hydroponischen Aufnahmestudie, beschrieben in Kapitel 4.4.

Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf statistisch signifikante Unterschiede hin, basierend auf einer einfaktorischen Varianzanalyse (ANOVA) und dem Tukey-Test ($\alpha = 0,05$).

Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

7.3 Ergänzende Tabellen

7.3.1 Pflanzenschutzmittel und Metaboliten

Tabelle 12: Mittelwerte der detektierten Signalveränderung aufgrund von Matrixeffekten (ME) nach Extraktion des Pflanzenschutzmittelgemisches aus Maissprossen (Kapitel 4.1.2). Die Dotierung erfolgte mit einer Konzentration von 100 ng/g d.w. (n = 3). Negative Werte bedeuten eine Reduzierung der Signalintensität aufgrund der ME. Die Extraktion mit EA:ACN (2:1) resultierte in deutlich geringeren ME als die Extraktion mit ACN:H₂O (4:1).

Extraktion:		Wirkstoff:					
		CPY	FLU	IMI	MET	SPI	TEB
ACN:H ₂ O (4:1)	ME [%]	-39	-32	-62	-14	-19	-18
ACN	ME [%]	-25	-13	-14	-10	-10	-11
EA	ME [%]	-16	+1	+3	-1	+10	-2
EA:ACN (1:1)	ME [%]	-17	-1	+3	-1	+1	-1
EA:ACN (2:1)	ME [%]	-31	-7	-2	-3	+2	+4
EA:MeOH (1:1)	ME [%]	-39	-26	-39	-15	-26	-15
EA:AA	ME [%]	-10	-8	+2	-5	-4	-4
Toluol	ME [%]	-13	-4	+3	+2	+4	+3

Tabelle 13: Ergebnisse der einfaktoriellen ANOVA und der Tukey-Tests zum Vergleich der Translokationsfaktoren der Summe von SPI und SPI-E ($TF_{SPIsumme}$) der einzelnen experimentellen Gruppen (Exp. 1 – 4), beschrieben in Kapitel 4.4. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Vergleich	Mittlere Differenz	SEM	q-Wert	Wahrsch. (p-Wert)	Alpha	Sig.	UKG	OKG
Exp. 2 und Exp. 1	-0,136	0,022	8,54	<0,0001	0,05	1	-0,199	-0,073
Exp. 3 und Exp. 1	-0,130	0,022	8,19	<0,0001	0,05	1	-0,193	-0,067
Exp. 3 und Exp. 2	0,006	0,022	0,36	0,99413	0,05	0	-0,057	0,069
Exp. 4 und Exp. 1	-0,137	0,022	8,63	<0,0001	0,05	1	-0,200	-0,074
Exp. 4 und Exp. 2	-0,001	0,022	0,09	0,99991	0,05	0	-0,064	0,061
Exp. 4 und Exp. 3	-0,007	0,022	0,45	0,98879	0,05	0	-0,070	0,056

Tabelle 14: Wiederfindungsraten von Pflanzenschutzmitteln und Metaboliten in Weizengewebe, welche in Kapitel 4.3 untersucht wurden und deren Extrahierbarkeit nicht in Kapitel 4.1.2 beschrieben wurde. Die Dotierung erfolgte mit einer Konzentration von 100 ng/g d.w. (n = 6). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100]

Substanz	Wiederfindungsrate in Weizenwurzeln	Wiederfindungsrate im Weizenspross
TMB	88 ± 5,2 %	83 ± 8,2 %
TPA	32 ± 3,6 %	47 ± 1,7 %
MEP	94 ± 2,9 %	98 ± 3,1 %
FLP	100 ± 3,4 %	100 ± 6,0 %
FLU	94 ± 2,7 %	96 ± 2,8 %
TFZ	102 ± 5,0 %	99 ± 2,3 %
OXA	86 ± 0,4 %	80 ± 14 %
OFU	82 ± 0,1 %	87 ± 3,0 %
MET	86 ± 3,3 %	96 ± 1,6%
FUR	71 ± 1,0 %	78 ± 2,4 %
BEN	88 ± 1,1 %	86 ± 0,4 %

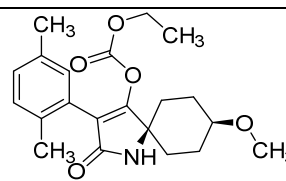
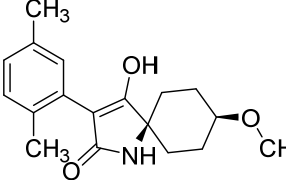
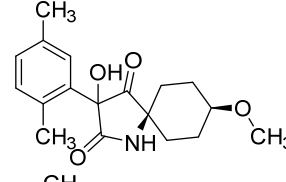
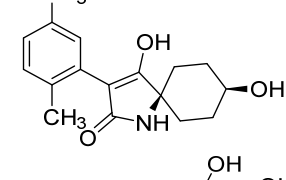
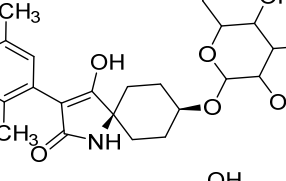
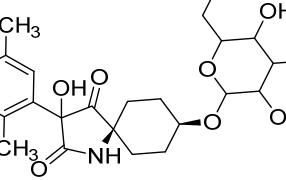
Tabelle 15: Physikochemische Eigenschaften von MET und seinen Metaboliten mit bekannten Strukturen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Verbindung	Struktur	Log K_{ow}	p <i>K</i> _a	<i>M</i>
MET		1,75 ^a	nicht zutreffend ^a	279,34
Hydroxymethyl-MET		0,77 ^b	14,0 ^b	295,34
Hydroxyphenyl-MET		1,45 ^b	9,0 ^b	295,34
MET-Säure		1,57 ^b	3,7 ^b	265,31
O-Desmethyl-MET		1,47 ^b	12,4 ^b	265,31
Desethyl-MET		1,21 ^b	1,2 ^b	251,28
Hydroxy-MET-glucosid		-0,97 ^b	13,0 ^b	457,48
Hydroxy-MET-Malonsäure-glucosid		-1,02 ^b	3,3 ^b	543,52

a: In der Literatur beschriebene Eigenschaften.

b: Mittels ChemDraw berechnete Eigenschaften.

Tabelle 16: Physikochemische Eigenschaften von SPI und seinen Metaboliten mit bekannten Strukturen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Verbindung	Struktur	Log K_{OW}	pK_a	M
SPI ^[324]		2,51 ^a	10,7 ^a	373,48
SPI-E ^[324]		0,3 ^a	5,2 ^a	301,39
Ketohydroxy-SPI		0,5 ^b	11 ^c	317,39
Desmethyl-SPI-E		-0,1 ^b	5,2 ^b	287,36
Desmethyl-SPI-E-glucosid		-1,8 ^b	5,2 ^b	449,50
Desmethyl-ketohydroxy-SPI-E-glucoside		-1,7 ^b	6,4 ^b	465,50

a: In der Literatur beschriebene Eigenschaften.

b: Die Eigenschaften wurden ermittelt, indem die mit ChemDraw berechneten Differenzen der pK_a - und $\log P$ -Werte der Metaboliten im Vergleich zu SPI-E von den experimentell bestimmten Daten für SPI-E abgezogen wurden.

c: pK_a -Wert aus den Registrierungsdaten (B.8 Schicksal und Verhalten in der Umwelt).

Tabelle 17: Detektion von MET und seiner Metaboliten. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Verbindung	Summenformel	Monoisotopische Masse	detektiert
MET	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	279,14706	ja
Hydroxy-MET	C ₁₅ H ₂₁ NO ₅	295,14197	ja
Desmethyl-MET	C ₁₄ H ₁₉ NO ₄	265,13141	ja
Hydroxy-desmethyl-MET	C ₁₄ H ₁₉ NO ₅	281,12632	ja
Hydroxy-MET-glucosid	C ₂₁ H ₃₁ NO ₁₀	457,19480	ja
Desmethyl-MET-glucosid	C ₂₀ H ₂₉ NO ₉	427,18423	nein
Desethyl-MET	C ₁₃ H ₁₇ NO ₄	251,11576	ja
Desmethyl-Benzoesäure-MET	C ₁₄ H ₁₇ NO ₆	295,10559	nein
Benzoessäure-MET	C ₁₅ H ₁₉ NO ₆	309,12124	nein
Desmethylpropionat-MET	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	193,11028	nein
Hydroxy-desmethylpropionat-MET	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	209,10519	nein
Didesmethylpropionat-MET	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	179,09463	nein
Desmethylcarboxy-MET	C ₁₄ H ₁₇ NO ₅	279,11067	nein
Hydroxy-desethyl-MET	C ₁₃ H ₁₇ NO ₅	267,11067	ja
Hydroxy-MET-Malonsäure-glucosid	C ₂₄ H ₃₃ NO ₁₃	543,19519	ja
MET-Malonsäure	C ₁₃ H ₂₄ NO ₇	306,15528	nein
Dihydroxy-MET-glucosid	C ₂₁ H ₃₁ NO ₁₁	473,18971	nein
Dihydroxy-MET- Malonsäure-glucosid	C ₂₄ H ₃₃ NO ₁₄	559,19010	nein
Amin-MET	C ₁₅ H ₂₃ N ₂ O ₄	295,16578	nein
Thiol-MET	C ₁₅ H ₂₂ NO ₄ S	280,15488	nein

Tabelle 18: Detektion von SPI und seiner Metaboliten. Modifiziert nach SKOCZOWSKY et al.^[96]

Verbindung	Summenformel	Monoisotopische Masse	detektiert
SPI ^a	C ₂₁ H ₂₇ NO ₅	373,18892	ja
SPI-E ^a	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	301,16779	ja
SPI-E-glucosid ^a	C ₂₄ H ₃₃ NO ₈	463,22062	nein
Ketohydroxy-SPI ^a	C ₁₈ H ₂₃ NO ₄	317,16271	ja
Monohydroxy-SPI ^a	C ₁₈ H ₂₅ NO ₃	303,18344	ja
Desmethyl-SPI-E ^a	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	287,15214	ja
Desmethyl-SPI-E-glucosid ^a	C ₂₃ H ₃₁ NO ₈	449,20497	ja
Dihydroxy-SPI ^a	C ₁₈ H ₂₅ NO ₄	319,17836	nein
Desmethyl-ketohydroxy-SPI ^a	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303,14706	ja
Desmethyl-ketohydroxy-SPI-glucosid ^a	C ₂₃ H ₃₁ NO ₉	465,19988	ja
Ketohydroxy-alkohol-SPI ^a	C ₁₈ H ₂₃ NO ₅	333,15762	nein
Ketohydroxy-alkohol-SPI-glucosid ^a	C ₂₄ H ₃₃ NO ₁₀	495,21045	nein
Malonsäure-amid-SPI ^a	C ₁₈ H ₂₅ NO ₅	335,17327	nein
Ketohydroxy-formiat-SPI ^a	C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	331,14197	nein
Ketohydroxy-formiat-SPI-glucosid ^a	C ₂₄ H ₃₁ NO ₁₀	493,19480	nein
Olefin-SPI ^a	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	289,16779	nein
Mandelsäure-SPI ^a	C ₁₀ H ₁₂ NO ₃	194,08172	nein
Mandelsäure-amid-SPI ^a	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	179,09463	nein
Hydroxymorpholindion-SPI ^a	C ₁₈ H ₂₃ NO ₅	333,15762	nein
Glucuronsäure-SPI-E ^b	C ₂₄ H ₃₁ NO ₉	477,19988	nein
Desmethyl-dihydroxy-SPI ^c	C ₁₇ H ₂₃ NO ₄	305,16271	nein
Desmethyl-dihydroxy-SPI-Malonsäure-glucosid ^c	C ₂₆ H ₃₅ NO ₁₃	569,21084	nein
Desmethyl-ketohydroxy-SPI-Malonsäure-glucosid ^c	C ₂₆ H ₃₃ NO ₁₃	567,19519	nein
SPI-E-diglucosid ^c	C ₃₀ H ₄₃ NO ₁₃	625,27344	nein
SPI-E-Malonsäure-glucosid ^c	C ₂₇ H ₃₆ NO ₁₁	550,22883	nein
SPI-E-N-glucosid ^c	C ₂₄ H ₃₃ NO ₉	479,21553	nein
SPI-E-Malonsäure-N-glucosid ^c	C ₂₇ H ₃₆ NO ₁₂	566,22375	nein

a: Metaboliten beschrieben von SUR.^[359]

b: Metabolit beschrieben in den Zulassungsdaten von SPI.

c: Eigene Vorschläge für Metaboliten.

7.3.2 Tabellen zu Aufnahmestudien

Tabelle 19: Biokonzentrationsfaktor (BCF), Wurzelkonzentrationsfaktor (RCF) und Translokationsfaktor (TF) von IMI, MET, FLU und TEB nach zweitägiger Wurzel Aufnahme aus einer 1 μ M hydroponischen Nährlösung (n = 6). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Pflanze	PSM	BCF	RCF	TF
Mais	IMI	6,0 \pm 0,8	3,0 \pm 0,8	2,7 \pm 1,2
	MET	4,6 \pm 0,8	1,5 \pm 0,3	4,1 \pm 1,5
	FLU	17 \pm 1,0	9,5 \pm 1,3	2,1 \pm 0,4
	TEB	16 \pm 1,5	28 \pm 2,9	0,4 \pm 0,1
Weizen	IMI	6,3 \pm 1,4	1,9 \pm 0,5	4,6 \pm 1,1
	MET	5,8 \pm 1,1	1,3 \pm 0,2	5,9 \pm 0,7
	FLU	20 \pm 2,2	5,6 \pm 0,5	4,8 \pm 0,8
	TEB	20 \pm 2,7	16 \pm 2,1	1,5 \pm 0,2
Soja	IMI	11 \pm 2,0	9,8 \pm 1,3	3,0 \pm 0,8
	MET	4,3 \pm 0,8	4,3 \pm 0,6	1,0 \pm 0,3
	FLU	18 \pm 1,5	24 \pm 4,2	0,7 \pm 0,2
	TEB	24 \pm 1,3	59 \pm 9,1	0,2 \pm 0,1

Tabelle 20: Biokonzentrationsfaktor (BCF) der in Kapitel 4.3 untersuchten Pflanzenschutzmittel und Pflanzenschutzmittelmetaboliten. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100]

Substanz	BCF
FLU	45 \pm 6,4
FLP	38 \pm 5,1
TMB	23 \pm 3,2
TPA	7,3 \pm 1,1
MEP	6,8 \pm 1,3
TFZ	16 \pm 1,2
MET	6,0 \pm 0,5
OXA	11 \pm 1,4
OFU	1,4 \pm 0,2
FUR	14 \pm 2,0
BEN	4,7 \pm 0,6
IMI	5,0 \pm 0,3
TEB	15 \pm 1,9

Tabelle 21: Konzentrationen von MET, SPI und SPI-E in den Wurzeln und Sprossen von Maispflanzen nach siebentägiger Aufnahme aus dem hydroponischen System bei einer Expositionskonzentration von 1 und 10 μM ($n = 6$; zugehörig zu Kapitel 4.5). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Verbindung:	1 μM Expositionskonzentration			10 μM Expositionskonzentration		
	TF	Wurzeln [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Spross [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	TF	Wurzeln [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Spross [$\mu\text{g}/\text{kg}$]
MET	5,2	570 \pm 101	2960 \pm 720	3,1	7300 \pm 1240	22800 \pm 5330
SPI _{Summe}	0,23	200 \pm 75	43,9 \pm 19,7	0,09	7680 \pm 1290	695 \pm 330
SPI	- ^a	13,9 \pm 6,7 ^b	< LOQ	- ^a	192 \pm 140 ^b	146 \pm 230 ^b
SPI-E	- ^a	186 \pm 68	43,9 \pm 19,7	- ^a	7490 \pm 1150	549 \pm 97

a: Für SPI und dessen Hauptmetaboliten SPI-E wurde kein Translokationsfaktor (TF) berechnet, da die gemessenen Konzentrationen stark durch den Metabolismus beeinflusst sind, wodurch eine zuverlässige Vorhersage der Translokationskapazität nicht möglich ist.

b: Die Schwankungen der gemessenen Konzentrationen zwischen den Replikaten sind auf den Metabolismus von SPI zu SPI-E zurückzuführen.

Tabelle 22: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Sojabohnen aufgenommenen Wassers in der nicht-exponierten Kontrollgruppe (0 μM ; zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Sojabohne 1	8,4 g	9,5 g	68,8 mL	0,13	16
Sojabohne 2	6,9 g	8,0 g	43,5 mL	0,15	23
Sojabohne 3	7,3 g	8,6 g	54,4 mL	0,19	25
Sojabohne 4	8,6 g	9,9 g	48,3 mL	0,15	27
Sojabohne 5	8,6 g	10,3 g	45,2 mL	0,19	36
Sojabohne 6	7,4 g	9,3 g	50,7 mL	0,25	36
Sojabohne 7	6,0 g	7,7 g	43,6 mL	0,27	37
Sojabohne 8	5,6 g	7,5 g	49,8 mL	0,34	38
Sojabohne 9	6,6 g	8,2 g	48,8 mL	0,23	32
Sojabohne 10	6,6 g	7,4 g	44,7 mL	0,12	18
Sojabohne 11	8,0 g	9,7 g	52,1 mL	0,21	33
Sojabohne 12	7,6 g	9,2 g	47,2 mL	0,22	35
Durchschnitt	7,3 g	8,8 g	49,8 mL	0,20	30

Tabelle 23: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Mais- und Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in den nicht-exponierten Kontrollgruppen (0 μ M; zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Mais 1	4,7 g	6,6 g	13,0 mL	0,40	145
Mais 2	2,5 g	3,3 g	7,8 mL	0,31	100
Mais 3	5,8 g	8,3 g	16,5 mL	0,43	153
Mais 4	4,7 g	6,7 g	16,6 mL	0,42	119
Mais 5	3,9 g	5,6 g	19,6 mL	0,42	85
Mais 6	5,5 g	6,5 g	11,0 mL	0,17	86
Mais 7	3,8 g	5,9 g	17,6 mL	0,56	122
Mais 8	3,6 g	5,6 g	21,6 mL	0,55	92
Mais 9	3,1 g	5,1 g	13,3 mL	0,66	153
Mais 10	2,3 g	3,2 g	7,8 mL	0,41	118
Mais 11	6,2 g	7,3 g	12,1 mL	0,18	93
Durchschnitt	4,2 g	5,8 g	14,3 mL	0,41	115
Weizen 1	4,3 g	5,1 g	35,5 mL	0,18	22
Weizen 2	3,9 g	4,3 g	29,4 mL	0,09	12
Weizen 3	4,8 g	5,7 g	40,7 mL	0,19	23
Weizen 4	4,1 g	4,4 g	32,2 mL	0,07	8
Weizen 5	4,3 g	4,9 g	30,9 mL	0,14	20
Weizen 6	4,6 g	5,2 g	35,4 mL	0,13	17
Weizen 7	4,6 g	8,1 g	40,2 mL	0,22	25
Weizen 8	4,8 g	9,1 g	51,3 mL	0,26	24
Durchschnitt	4,4 g	5,9 g	37,0 mL	0,16	19

Tabelle 24: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Nutzpflanzen aufgenommenen Wassers in den 0,01 μM Expositionsgruppen während der zweitägigen hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.2).
Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Mais 1	9,7 g	11,8 g	27,1 mL	0,22	78
Mais 2	6,4 g	8,0 g	17,2 mL	0,25	92
Mais 3	12,6 g	15,3 g	27,3 mL	0,21	99
Mais 4	9,4 g	11,3 g	22,2 mL	0,20	87
Mais 5	7,8 g	9,6 g	19,9 mL	0,22	87
Mais 6	7,1 g	8,5 g	12,0 mL	0,20	119
Durchschnitt	8,8 g	10,8 g	21,0 mL	0,22	94
Weizen 1	6,9 g	8,6 g	66,2 mL	0,25	26
Weizen 2	8,2 g	10,1 g	73,4 mL	0,23	25
Weizen 3	5,5 g	6,6 g	55,1 mL	0,20	20
Weizen 4	6,7 g	8,0 g	50,1 mL	0,19	26
Weizen 5	8,6 g	10,2 g	56,7 mL	0,19	28
Weizen 6	8,3 g	9,7 g	69,7 mL	0,17	20
Durchschnitt	7,4 g	8,9 g	61,9 mL	0,20	24
Sojabohne 1	6,3 g	7,5 g	32,2 mL	0,18	36
Sojabohne 2	8,7 g	10,4 g	54,8 mL	0,20	32
Sojabohne 3	7,0 g	8,1 g	46,0 mL	0,16	25
Sojabohne 4	7,8 g	9,0 g	51,0 mL	0,16	24
Sojabohne 5	9,2 g	10,7 g	54,2 mL	0,17	29
Sojabohne 6	6,0 g	7,2 g	29,7 mL	0,19	38
Durchschnitt	7,5 g	8,8 g	44,7 mL	0,18	31

Tabelle 25: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Nutzpflanzen aufgenommenen Wassers in den 0,1 µM Expositionsgruppen während der zweitägigen hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.2).
Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Mais 1	5,0 g	7,6 g	19,4 mL	0,52	133
Mais 2	7,7 g	11,8 g	39,5 mL	0,53	103
Mais 3	5,5 g	7,5 g	20,5 mL	0,36	96
Mais 4	6,5 g	8,1 g	23,2 mL	0,24	68
Mais 5	7,2 g	9,6 g	23,5 mL	0,34	105
Mais 6	6,9 g	8,3 g	19,1 mL	0,21	75
Mais 7	5,5 g	7,5 g	14,1 mL	0,37	144
Mais 8	4,4 g	5,4 g	9,6 mL	0,21	99
Mais 9	6,2 g	7,4 g	14,6 mL	0,20	85
Durchschnitt	6,1 g	8,1 g	20,4 mL	0,33	101
Weizen 1	4,5 g	5,2 g	44,1 mL	0,16	16
Weizen 2	4,7 g	5,0 g	40,2 mL	0,07	8
Weizen 3	4,7 g	4,9 g	37,1 mL	0,04	9
Weizen 4	4,4 g	5,5 g	37,5 mL	0,26	30
Weizen 5	3,6 g	4,3 g	29,6 mL	0,21	25
Weizen 6	4,5 g	5,4 g	33,7 mL	0,20	26
Durchschnitt	4,4 g	5,0 g	37,1 mL	0,16	19
Sojabohne 1	11,9 g	13,2 g	90,0 mL	0,11	14
Sojabohne 2	7,6 g	8,7 g	58,0 mL	0,14	18
Sojabohne 3	10,4 g	11,8 g	85,8 mL	0,13	16
Sojabohne 4	11,1 g	11,8 g	70,2 mL	0,07	11
Sojabohne 5	12,1 g	14,1 g	89,1 mL	0,16	22
Sojabohne 6	10,3 g	11,4 g	58,3 mL	0,11	20
Durchschnitt	10,6 g	11,8 g	75,2 mL	0,12	17

Tabelle 26: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Nutzpflanzen aufgenommenen Wassers in den 1,0 μ M Expositionsgruppen während der zweitägigen hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.2).
Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Mais 1	9,1 g	12,5 g	38,9 mL	0,36	86
Mais 2	6,1 g	8,5 g	26,9 mL	0,40	90
Mais 3	6,9 g	10,3 g	36,6 mL	0,50	93
Mais 4	6,8 g	9,4 g	33,0 mL	0,38	79
Mais 5	9,6 g	12,4 g	42,7 mL	0,29	66
Mais 6	7,2 g	9,2 g	26,5 mL	0,28	76
Mais 7	5,6 g	7,7 g	14,6 mL	0,37	144
Mais 8	4,8 g	6,1 g	12,0 mL	0,26	103
Mais 9	4,7 g	5,8 g	11,3 mL	0,26	106
Durchschnitt	6,7 g	9,1 g	26,9 mL	0,34	94
Weizen 1	5,5 g	5,5 g	39,9 mL	0,01	9
Weizen 2	4,1 g	5,0 g	30,0 mL	0,20	28
Weizen 3	5,5 g	5,4 g	35,3 mL	-0,02	12
Weizen 4	4,1 g	4,4 g	36,2 mL	0,08	14
Weizen 5	4,7 g	5,2 g	37,2 mL	0,10	12
Weizen 6	4,2 g	4,9 g	34,3 mL	0,17	20
Durchschnitt	4,7 g	5,1 g	35,5 mL	0,09	16
Sojabohne 1	8,2 g	9,1 g	47,7 mL	0,11	18
Sojabohne 2	8,5 g	9,7 g	54,9 mL	0,15	23
Sojabohne 3	7,4 g	8,4 g	42,4 mL	0,14	24
Sojabohne 4	11,1 g	12,9 g	59,2 mL	0,16	29
Sojabohne 5	8,4 g	9,7 g	50,8 mL	0,15	26
Sojabohne 6	4,4 g	5,1 g	28,6 mL	0,14	22
Durchschnitt	8,0 g	9,1 g	47,3 mL	0,14	24

Tabelle 27: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Nutzpflanzen aufgenommenen Wassers in den 10 µM Expositionsguppen während der zweitägigen hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.2).
Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Mais 1	5,9 g	7,6 g	15,1 mL	0,29	113
Mais 2	6,7 g	8,5 g	17,8 mL	0,28	105
Mais 3	5,4 g	6,8 g	15,1 mL	0,25	91
Mais 4	6,7 g	8,3 g	16,1 mL	0,25	102
Mais 5	4,5 g	5,8 g	9,9 mL	0,27	126
Mais 6	3,8 g	4,3 g	14,3 mL	0,12	32
Mais 7	4,5 g	5,0 g	9,1 mL	0,11	56
Mais 8	5,6 g	6,2 g	12,3 mL	0,10	45
Mais 9	6,2 g	7,1 g	13,3 mL	0,15	70
Durchschnitt	5,5 g	6,6 g	13,6 mL	0,20	82
Weizen 1	4,5 g	4,8 g	28,0 mL	0,06	10
Weizen 2	4,1 g	4,2 g	24,8 mL	0,02	7
Weizen 3	3,8 g	3,8 g	23,2 mL	0,01	13
Weizen 4	5,0 g	5,4 g	24,8 mL	0,08	15
Weizen 5	6,1 g	5,7 g	32,7 mL	-0,07	12
Weizen 6	3,4 g	3,5 g	26,2 mL	0,02	11
Durchschnitt	4,5 g	4,6 g	26,6 mL	0,02	11
Sojabohne 1	7,4 g	7,9 g	45,3 mL	0,07	12
Sojabohne 2	7,2 g	7,9 g	44,5 mL	0,10	16
Sojabohne 3	8,2 g	9,2 g	56,8 mL	0,12	18
Sojabohne 4	10,0 g	10,9 g	50,0 mL	0,10	19
Sojabohne 5	8,2 g	8,7 g	43,0 mL	0,06	12
Sojabohne 6	8,2 g	8,7 g	48,9 mL	0,06	10
Durchschnitt	8,2 g	8,9 g	48,1 mL	0,09	14

Tabelle 28: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Nutzpflanzen aufgenommenen Wassers in den 10 μ M Expositionsgruppen während der siebentägigen hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[90]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Mais 1	7,3 g	10,0 g	36,0 mL	0,36	74
Mais 2	5,7 g	9,3 g	35,5 mL	0,65	103
Mais 3	6,3 g	10,3 g	42,3 mL	0,63	94
Mais 4	7,2 g	12,3 g	46,6 mL	0,72	111
Mais 5	4,6 g	5,7 g	20,2 mL	0,24	55
Mais 6	6,6 g	12,3 g	52,5 mL	0,87	109
Durchschnitt	6,3 g	10,0 g	38,9 mL	0,58	91
Weizen 1	4,8 g	5,2 g	94,3 mL	0,09	5
Weizen 2	5,0 g	5,0 g	69,4 mL	0,00	2
Weizen 3	4,0 g	4,6 g	81,6 mL	0,13	6
Weizen 4	5,2 g	4,5 g	90,5 mL	-0,14	3
Weizen 5	4,6 g	5,0 g	89,5 mL	0,08	4
Weizen 6	5,0 g	5,7 g	96,1 mL	0,14	7
Durchschnitt	4,8 g	5,0 g	86,9 mL	0,05	5
Sojabohne 1	10,3 g	14,7 g	198,0 mL	0,42	22
Sojabohne 2	7,2 g	10,9 g	130,6 mL	0,51	28
Sojabohne 3	4,6 g	6,6 g	105,2 mL	0,43	19
Sojabohne 4	6,8 g	10,1 g	148,8 mL	0,50	23
Sojabohne 5	8,2 g	9,5 g	144,8 mL	0,17	10
Sojabohne 6	9,5 g	12,4 g	170,7 mL	0,31	17
Durchschnitt	7,8 g	10,7 g	149,7 mL	0,39	20

Tabelle 29: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in der nicht-exponierten Kontrollgruppe (0 μ M; zugehörig zu Kapitel 4.3).

Gruppe	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Kontrollgruppe 1	4,5 g	5,9 g	43,3 mL	0,3	31
Kontrollgruppe 2	4,4 g	5,9 g	43,3 mL	0,3	35
Kontrollgruppe 3	4,5 g	5,7 g	40,8 mL	0,2	27
Kontrollgruppe 4	3,5 g	4,8 g	36,9 mL	0,4	37
Kontrollgruppe 5	4,3 g	5,6 g	34,6 mL	0,3	36
Kontrollgruppe 6	3,8 g	4,8 g	35,2 mL	0,2	27
Kontrollgruppe 7	4,0 g	4,9 g	38,2 mL	0,2	22
Kontrollgruppe 8	4,1 g	4,9 g	39,3 mL	0,2	21
Kontrollgruppe 9	3,4 g	5,2 g	30,9 mL	0,5	58
Kontrollgruppe 10	4,8 g	7,2 g	37,9 mL	0,5	63
Kontrollgruppe 11	5,5 g	6,0 g	33,8 mL	0,1	16
Kontrollgruppe 12	4,2 g	6,4 g	32,9 mL	0,5	69
Kontrollgruppe 13	4,5 g	7,1 g	36,0 mL	0,6	72
Kontrollgruppe 14	4,7 g	7,9 g	40,7 mL	0,7	80
Durchschnitt	4,3 g	5,9 g	37,4 mL	0,4	42

Tabelle 30: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 μ M Expositionsgruppen während der siebentägigen einzelnen hydroponischen Aufnahme von IMI, TEB und MET (zugehörig zu Kapitel 4.3).

Wirkstoff	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
IMI 1	5,1 g	6,1 g	32,6 mL	0,2	29
IMI 2	4,4 g	5,8 g	35,6 mL	0,3	40
IMI 3	4,7 g	6,3 g	38,7 mL	0,3	41
IMI 4	4,5 g	7,0 g	39,5 mL	0,5	62
IMI 5	5,1 g	8,1 g	44,7 mL	0,6	67
IMI 6	6,7 g	8,3 g	41,9 mL	0,2	38
Durchschnitt	5,1 g	6,9 g	38,8 mL	0,4	46
TEB 1	6,9 g	8,3 g	44,2 mL	0,2	33
TEB 2	3,7 g	5,4 g	31,8 mL	0,5	55
TEB 3	5,2 g	5,8 g	35,6 mL	0,1	16
TEB 4	6,4 g	8,0 g	43,5 mL	0,3	38
TEB 5	5,0 g	6,0 g	38,5 mL	0,2	26
TEB 6	5,6 g	6,3 g	43,5 mL	0,1	15
Durchschnitt	5,5 g	6,6 g	39,5 mL	0,2	30
MET 1	4,5 g	4,3 g	33,6 mL	-0,1	-7
MET 2	3,8 g	6,0 g	30,5 mL	0,6	69
MET 3	2,4 g	3,6 g	27,7 mL	0,5	43
MET 4	3,4 g	5,2 g	29,0 mL	0,5	61
MET 5	2,8 g	4,7 g	29,0 mL	0,6	63
MET 6	1,6 g	2,6 g	21,9 mL	0,7	48
Durchschnitt	3,1 g	4,4 g	28,6 mL	0,5	46

Tabelle 31: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 μ M Expositionsgruppen während der siebentägigen einzelnen hydroponischen Aufnahme von OXA, OFU, FUR und BEN (zugehörig zu Kapitel 4.3).

Wirkstoff	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
OXA 1	2,5 g	3,1 g	23,4 mL	0,2	26
OXA 2	4,1 g	4,2 g	26,2 mL	0,0	6
OXA 3	2,6 g	3,9 g	22,8 mL	0,5	58
OXA 4	2,8 g	3,2 g	21,9 mL	0,2	21
OXA 5	2,7 g	3,2 g	23,3 mL	0,2	23
OXA 6	4,4 g	6,4 g	40,3 mL	0,4	48
Durchschnitt	3,2 g	4,0 g	26,3 mL	0,3	30
OFU 1	2,2 g	2,8 g	21,8 mL	0,3	27
OFU 2	4,0 g	4,3 g	29,8 mL	0,1	12
OFU 3	3,3 g	4,0 g	27,0 mL	0,2	28
OFU 4	3,0 g	3,7 g	27,5 mL	0,2	23
OFU 5	4,9 g	5,5 g	36,4 mL	0,1	16
OFU 6	3,6 g	4,0 g	29,5 mL	0,1	12
Durchschnitt	3,5 g	4,0 g	28,7 mL	0,2	20
FUR 1	2,6 g	4,0 g	27,0 mL	0,5	49
FUR 2	3,1 g	3,2 g	25,1 mL	0,0	3
FUR 3	4,4 g	4,7 g	33,3 mL	0,1	10
FUR 4	4,3 g	5,9 g	29,9 mL	0,4	53
FUR 5	3,7 g	5,8 g	31,7 mL	0,6	66
FUR 6	3,4 g	3,9 g	26,5 mL	0,2	21
Durchschnitt	3,6 g	4,5 g	28,9 mL	0,3	32
BEN 1	3,3 g	4,4 g	27,9 mL	0,3	39
BEN 2	4,2 g	5,3 g	31,9 mL	0,2	33
BEN 3	2,2 g	3,2 g	21,3 mL	0,4	44
BEN 4	3,2 g	4,3 g	32,2 mL	0,4	35
BEN 5	3,9 g	5,8 g	33,9 mL	0,5	58
BEN 6	3,8 g	5,2 g	39,4 mL	0,3	34
Durchschnitt	3,4 g	4,7 g	31,1 mL	0,4	40

Tabelle 32: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 µM Expositionsgruppen während der siebentägigen einzelnen hydroponischen Aufnahme von FLU, FLP, TMB und TPA (zugehörig zu Kapitel 4.3).

Wirkstoff	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
FLU 1	3,9 g	5,1 g	40,9 mL	0,3	30
FLU 2	2,6 g	4,0 g	33,8 mL	0,6	42
FLU 3	4,2 g	4,7 g	43,1 mL	0,1	10
FLU 4	3,8 g	5,2 g	42,0 mL	0,4	34
FLU 5	4,0 g	5,3 g	44,1 mL	0,3	29
FLU 6	3,7 g	4,5 g	41,1 mL	0,2	17
Durchschnitt	3,7 g	4,8 g	40,8 mL	0,3	27
FLP 1	4,1 g	4,9 g	45,4 mL	0,2	17
FLP 2	4,4 g	5,6 g	52,7 mL	0,3	22
FLP 3	4,7 g	5,5 g	51,3 mL	0,2	16
FLP 4	4,4 g	5,9 g	51,2 mL	0,3	28
FLP 5	5,4 g	6,6 g	54,4 mL	0,2	22
FLP 6	4,4 g	5,6 g	52,9 mL	0,3	22
Durchschnitt	4,6 g	5,7 g	51,3 mL	0,2	21
TMB 1	6,1 g	6,9 g	53,2 mL	0,1	15
TMB 2	4,3 g	4,9 g	40,5 mL	0,1	15
TMB 3	4,7 g	5,4 g	41,8 mL	0,1	16
TMB 4	4,0 g	5,1 g	43,2 mL	0,3	25
TMB 5	4,1 g	5,8 g	48,3 mL	0,4	36
TMB 6	3,8 g	5,3 g	43,9 mL	0,4	36
Durchschnitt	4,5 g	5,6 g	45,2 mL	0,3	24
TPA 1	4,3 g	5,4 g	44,3 mL	0,3	26
TPA 2	4,7 g	5,5 g	38,5 mL	0,2	22
TPA 3	4,7 g	5,8 g	43,9 mL	0,2	24
TPA 4	4,0 g	5,1 g	41,1 mL	0,3	26
TPA 5	3,7 g	4,6 g	34,1 mL	0,2	24
TPA 6	4,4 g	5,4 g	40,4 mL	0,2	25
Durchschnitt	4,3 g	5,3 g	40,4 mL	0,2	25

Tabelle 33: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 μ M Expositionsgruppen während der siebentägigen hydroponischen Aufnahme von MET und TFZ (zugehörig zu Kapitel 4.3).

Wirkstoff	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
MEP 1	5,1 g	5,9 g	55,9 mL	0,1	13
MEP 2	4,6 g	5,8 g	50,4 mL	0,3	24
MEP 3	4,8 g	5,9 g	47,2 mL	0,2	24
MEP 4	4,0 g	4,7 g	33,9 mL	0,2	19
MEP 5	4,2 g	5,1 g	40,7 mL	0,2	22
MEP 6	4,3 g	5,3 g	45,3 mL	0,2	23
Durchschnitt	4,5 g	5,4 g	45,6 mL	0,2	21
FLP 1	4,4 g	5,0 g	45,0 mL	0,2	15
TFZ 2	3,8 g	4,6 g	40,5 mL	0,2	20
TFZ 3	3,9 g	4,7 g	41,7 mL	0,2	19
TFZ 4	3,9 g	4,7 g	39,0 mL	0,2	20
TFZ 5	4,0 g	4,8 g	38,6 mL	0,2	20
TFZ 6	4,2 g	5,1 g	46,5 mL	0,2	19
Durchschnitt	4,0 g	4,8 g	41,9 mL	0,2	19

Tabelle 34: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Maispflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 μ M Expositionsgruppen während der hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.4). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Experiment 1 Pflanze 1	9,4 g	26,4 g	226,8 mL	1,81	75
Experiment 1 Pflanze 2	7,3 g	20,3 g	126,3 mL	1,79	103
Experiment 1 Pflanze 3	9,3 g	23,6 g	165,3 mL	1,53	86
Experiment 1 Pflanze 4	10,6 g	25,5 g	174,3 mL	1,41	86
Experiment 1 Pflanze 5	6,3 g	18,0 g	122,1 mL	1,84	96
Experiment 1 Pflanze 6	6,5 g	16,7 g	152,3 mL	1,57	67
Experiment 1 Durchschnitt	8,2 g	21,8 g	161,2 mL	1,7	85
Experiment 2 Pflanze 1	8,4 g	27,8 g	175,1 mL	2,33	111
Experiment 2 Pflanze 2	6,7 g	26,2 g	172,9 mL	2,88	112
Experiment 2 Pflanze 3	6,8 g	22,2 g	153,5 mL	2,29	101
Experiment 2 Pflanze 4	8,5 g	27,2 g	178,9 mL	2,18	104
Experiment 2 Pflanze 5	9,1 g	33,8 g	220,4 mL	2,69	112
Experiment 2 Pflanze 6	10,9 g	37,2 g	252,4 mL	2,41	104
Experiment 2 Durchschnitt	8,4 g	29,1 g	192,2 mL	2,5	107

Tabelle 35: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Maispflanzen aufgenommenen Wassers in den 10 µM Expositionsgruppen während der hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.4). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Experiment 3 Pflanze 1	6,1 g	8,9 g	44,61 mL	0,5	63
Experiment 3 Pflanze 2	6,4 g	10,5 g	54,3 mL	0,6	75
Experiment 3 Pflanze 3	7,3 g	9,2 g	60,36 mL	0,3	32
Experiment 3 Pflanze 4	9,1 g	16,7 g	103,63 mL	0,8	73
Experiment 3 Pflanze 5	8,5 g	11,7 g	59,27 mL	0,4	55
Experiment 3 Pflanze 6	5,6 g	9,7 g	45,96 mL	0,7	90
Experiment 3 Durchschnitt	7,2 g	11,1 g	61,4 mL	0,6	65
Experiment 4 Pflanze 1	10,7 g	22,4 g	167,9 mL	1,1	70
Experiment 4 Pflanze 2	11,0 g	21,1 g	150,6 mL	0,9	67
Experiment 4 Pflanze 3	8,4 g	17,1 g	156,8 mL	1,1	56
Experiment 4 Pflanze 4	11,0 g	20,7 g	157,2 mL	0,9	62
Experiment 4 Pflanze 5	9,3 g	20,0 g	160,3 mL	1,2	67
Experiment 4 Pflanze 6	8,8 g	20,4 g	133,7 mL	1,3	87
Experiment 4 Durchschnitt	9,8 g	20,3 g	154,4 mL	1,1	68

Tabelle 36: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Maispflanzen aufgenommenen Wassers in der nicht exponierten Kontrollgruppe (zugehörig zu Kapitel 4.4). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
Kontrollgruppe Pflanze 1	7,6 g	20,4 g	121,5 mL	1,7	106
Kontrollgruppe Pflanze 2	8,8 g	23,7 g	138,7 mL	1,7	108
Kontrollgruppe Pflanze 3	5,9 g	17,0 g	109,5 mL	1,9	101
Kontrollgruppe Pflanze 4	6,3 g	17,0 g	101,7 mL	1,7	106
Kontrollgruppe Pflanze 5	7,9 g	23,2 g	132,1 mL	2,0	89
Kontrollgruppe Pflanze 6	5,7 g	17,1 g	126,7 mL	2,0	90
Kontrollgruppe Durchschnitt	7,0 g	19,7 g	121,7 mL	1,8	100

Tabelle 37: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Maispflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 μM und 10 μM Expositiongruppen während der hydroponischen Aufnahmeuntersuchung (zugehörig zu Kapitel 4.5). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
1 μM Pflanze 1	9,4 g	26,4 g	226,8 mL	1,8	75
1 μM Pflanze 2	7,3 g	20,3 g	126,3 mL	1,8	103
1 μM Pflanze 3	9,3 g	23,6 g	165,3 mL	1,5	86
1 μM Pflanze 4	10,6 g	25,5 g	174,3 mL	1,4	86
1 μM Pflanze 5	6,3 g	18,0 g	122,1 mL	1,8	96
1 μM Pflanze 6	6,5 g	16,7 g	152,3 mL	1,6	67
1 μM Durchschnitt	8,2 g	21,8 g	161,2 mL	1,7	85
10 μM Pflanze 1	3,8 g	15,0 g	58,13 mL	2,9	192
10 μM Pflanze 2	4,0 g	14,6 g	68,56 mL	2,6	155
10 μM Pflanze 3	3,7 g	16,9 g	79,66 mL	3,6	165
10 μM Pflanze 4	3,0 g	11,0 g	60,13 mL	2,7	134
10 μM Pflanze 5	3,1 g	12,5 g	61,74 mL	3,0	152
10 μM Pflanze 6	3,4 g	11,3 g	58,38 mL	2,3	135
10 μM Durchschnitt	3,5 g	13,5 g	64,40 mL	2,9	155

Tabelle 38: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Maispflanzen aufgenommenen Wassers in der 1 μM Expositionsgruppe, deren Blätter nach Alter getrennt untersucht wurden, während der hydroponischen Aufnahmeuntersuchung (zugehörig zu Kapitel 4.5). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

Pflanze	Gewicht vor Aufnahme	Gewicht nach Aufnahme	Transpiration in Aufnahmestudie	FGI	WUE
1 μM Pflanze 1	10,3 g	22,5 g	96,6 mL	1,2	126
1 μM Pflanze 2	6,7 g	8,5 g	34,3 mL	0,3	52
1 μM Pflanze 3	6,9 g	12,3 g	62,2 mL	0,8	87
1 μM Pflanze 4	6,4 g	7,5 g	30,9 mL	0,2	36
1 μM Pflanze 5	10,1 g	20,9 g	102,6 mL	1,1	105
1 μM Pflanze 6	6,5 g	8,1 g	31,6 mL	0,2	51
1 μM Pflanze 7	6,5 g	11,2 g	57,6 mL	0,7	82
1 μM Pflanze 8	5,1 g	8,0 g	35,6 mL	0,6	81
1 μM Pflanze 9	5,8 g	8,3 g	36,7 mL	0,4	68
1 μM Pflanze 10	6,5 g	7,6 g	27,2 mL	0,2	40
1 μM Pflanze 11	8,4 g	13,8 g	68,2 mL	0,6	79
1 μM Pflanze 12	9,0 g	18,5 g	90,6 mL	1,1	105
1 μM Durchschnitt	6,3 g	13,1 g	56,2 mL	1,1	76
0 μM Pflanze 1	6,5 g	15,6 g	66,9 mL	1,4	136
0 μM Pflanze 2	4,9 g	8,5 g	29,2 mL	0,7	123
0 μM Pflanze 3	8,5 g	22,7 g	108,7 mL	1,7	131
0 μM Pflanze 4	5,4 g	5,6 g	19,1 mL	0,0	10
0 μM Durchschnitt	7,3 g	12,2 g	56,0 mL	0,7	100

Tabelle 39: Länge der einzelnen Blätter jeder Maispflanze (Pfl.), deren Blätter nach Alter getrennt untersucht wurden (zugehörig zu Kapitel 4.5). Die Rahmen zeigen die Gruppierung der Blätter vor der Extraktion. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]

	Spross [cm]													
	Blatt 1		Blatt 2		Blatt 3		Blatt 4		Blatt 5		Blatt 6		Blatt 7	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor ^a	nach	vor	nach	vor	nach
Kontr. Pfl. 1	7,2	7,0	15,9	15,5	23,0	20,5	21,5	24,3	-	19,6	-	13,3	-	10,6
Kontr. Pfl. 2	6,5	6,3	14,9	14,4	19,0	18,8	14,2	15,7	-	12,5	-	11,7	-	11,0
Kontr. Pfl. 3	7,4	7,3	16,2	15,6	23,5	22,7	23,1	25,9	-	28,3	-	30,8	-	22,4
Kontr. Pfl. 4	9,0	8,9	19,2	18,4	25,0	24,7	17,7	16,8	-	7,3	-	2,1	-	-
Exp. Pfl. 1	9,5	7,8	20,0	19,0	31,5	30,9	30,1	34,1	-	28,2	-	20,2	-	15,0
Exp. Pfl. 2	9,0	8,4	19,7	19,0	27,1	26,1	21,2	21,1	-	11,7	-	7,1	-	-
Exp. Pfl. 3	7,0	6,8	15,4	13,9	21,3	19,9	16,9	20,0	-	17,3	-	12,9	-	10,2
Exp. Pfl. 4	9,1	8,9	19,8	18,6	25,6	23,4	20,0	18,5	-	10,6	-	6,1	-	-
Exp. Pfl. 5	8,0	7,6	18,0	17,0	27,7	26,6	27,2	30,2	-	22,6	-	16,6	-	11,7
Exp. Pfl. 6	8,0	8,2	18,1	16,7	22,2	22,0	17,4	19,1	-	9,3	-	5,5	-	-
Exp. Pfl. 7	7,7	6,8	16,6	16,6	25,2	24,3	23,6	25,6	-	17,9	-	8,0	-	5,9
Exp. Pfl. 8	7,5	6,9	15,7	19,1	22,3	20,8	18,0	16,1	-	9,8	-	6,1	-	-
Exp. Pfl. 9	9,1	9,1	20,5	19,9	24,6	23,3	17,7	19,6	-	11,7	-	6,7	-	4,8
Exp. Pfl. 10	7,5	6,9	20,5	16,7	24,6	22,6	17,7	17,2	-	7,2	-	2,5	-	-
Exp. Pfl. 11	8,7	9,1	19,3	18,4	29,5	28,4	23,1	24,1	-	12,1	-	9,2	-	8,2
Exp. Pfl. 12	7,6	7,8	19,4	18,2	28,8	27,6	25,0	30,5	-	27,8	-	17,1	-	15,5

a: Das fünfte Blatt war vor dem Aufnahmeexperiment erkennbar, aber nicht messbar, ohne die Pflanzen zu beschädigen.

7.4 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Transport- und Umwandlungsprozesse von Pflanzenschutzmitteln nach Applikation und deren potentiell negative Auswirkungen.....	3
Abbildung 2: Eigenschaften von Pflanze, Wirkstoff und Boden, welche die Verteilung von Pflanzenschutzmittelrückständen in landwirtschaftlichen Böden beeinflussen.....	6
Abbildung 3: Aufnahme von Wasser und Pflanzenschutzmittelrückständen aus dem Porenwasser über die Wurzelhaare und Transport durch verschiedene Gewebetypen der Wurzel zu den Leitbündeln, bestehend aus Xylem und Phloem. Dabei wird beim Transport zwischen dem symplastischen Pfad (schwarz), transmembranen Pfad (blau) und apoplastischen Pfad (grün) unterschieden.	9
Abbildung 4: Transport von Wasser, Zucker und Pflanzenschutzmitteln sowie deren Metaboliten mit dem Xylem und Phloem in Pflanzen.....	13
Abbildung 5: Modellierter Korrelation der Lipophilie der Pflanzenschutzmittel ($\log K_{OW}$) und ihres Transpirationsstrom-Konzentrationsfaktors (TSCF) ^[82] nach BRIGGS <i>et al.</i> ^[57] , BURKEN <i>et al.</i> ^[99] , HSU <i>et al.</i> ^[98] , DETTENMAIER <i>et al.</i> ^[126] und LAMSHÖFT <i>et al.</i> ^[78]	14
Abbildung 6: Phasen des Metabolismus von Pflanzenschutzmitteln in Nutzpflanzen, gezeigt am Beispiel des Fungizids Metalaxyl (basierend auf VAN EERD <i>et al.</i> ^[128] , DALAZEN <i>et al.</i> ^[136] , KUBICKI <i>et al.</i> ^[115] , ZHANG <i>et al.</i> ^[129] und SUZUKI <i>et al.</i> ^[137]).....	16
Abbildung 7: Metabolismus von Fluopyram (FLU) in verschiedenen Pflanzenspezies nach Sprühapplikation. Metaboliten in eckigen Klammern sind postulierte Zwischenprodukte. Die Darstellung basiert auf RATHOD <i>et al.</i> ^[145] und die dort gewählten Namen wurden übernommen, um eine konsistente Terminologie zu wahren.	18
Abbildung 8: Schema zur Erläuterung der Eignung verschiedener Ionisationstechniken für die massenspektrometrische Analyse von Pflanzenschutzmittelrückständen in Abhängigkeit von Polarität und molarer Masse der Analyten. ^[168,169] Die rote Linie markiert die Obergrenze der molaren Masse für systemische Pflanzenschutzmittel nach TICE. ^[170]	20
Abbildung 9: Schematischer Aufbau der Matrix-unterstützten Laser-Desorption/Ionisation zur Detektion von Pflanzenschutzmittelrückständen (A). Zeitlicher Verlauf einer Desorptionwolke bei Ionisation mittels UV-Laserbeschuss (B). ^[219] Adaptiert mit Genehmigung aus LEISNER <i>et al.</i> , <i>J. Phys. Chem. B</i> 2005 , <i>109</i> , 23, 11661–11666. © 2025 American Chemical Society.	25
Abbildung 10: Lokalisation von Metalaxyl in Wurzeln der Tomate nach 10 Tagen der hydroponischen Aufnahme mittels MALDI-MSI. ^[115] Adaptiert mit Genehmigung aus KUBICKI <i>et al.</i> , <i>Chemosphere</i> 2019 , <i>218</i> , 36–41. © 2025 Elsevier.	26
Abbildung 11: Lokalisation der Metaboliten des Metalaxyl auf einer Blattoberfläche der Tomatenpflanze mittels MALDI-MSI nach 10 Tagen der hydroponischen Aufnahme. ^[115] Adaptiert mit Genehmigung aus KUBICKI <i>et al.</i> , <i>Chemosphere</i> 2019 , <i>218</i> , 36–41. © 2025 Elsevier.	27
Abbildung 12: Graphische Darstellung der thematischen Aufteilung dieser Dissertation. Um neue Erkenntnisse bezüglich der Pflanzenschutzmittelaufnahme in Nutzpflanzen zu erlangen, mussten zuerst ein hydroponisches Testsystem sowie analytische Methoden entwickelt werden (A). Anschließend konnten die Wirkstoffe nach Aufnahme mittels HPLC-HRMS identifiziert und quantifiziert (B) und mittels MALDI-MSI bildgebend in einzelnen Pflanzenorganen untersucht werden (C).	29
Abbildung 13: Einfluss der Eisenquelle auf die Gesundheit von jungen, hydroponisch kultivierten Maispflanzen.....	49
Abbildung 14: Konzentrationsverlauf der Pflanzenschutzmittel (PSM) IMI, MET, FLU und TEB in der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung in Abwesenheit von Pflanzen nach 0, 24, 48 und 168 h, wobei kein Abbau in der Nährlösung beobachtet wurde.....	51

Abbildung 15: Schematische Darstellung des Ablaufs der Keimung sowie des Wachstums von Maispflanzen im hydroponischen System vor und zu Beginn des Aufnahmexperimentes.	52
Abbildung 16: Mittlere Wiederfindungsraten inklusive Standardabweichungen der sechs untersuchten Pflanzenschutzmittel nach Extraktion mit der optimierten EA:ACN-(2:1)-Extraktionsmethode in Spross (A) und Wurzeln (B) von Mais (M, beige), Weizen (W, blau) und Soja (S, grün). Extraktion nach Dotierung von Wurzeln und Spross mit Pflanzenschutzmitteln in einer Konzentration von 100 ng/g trockenes Pflanzenmaterial (d.w.) (n = 6).	56
Abbildung 17: Identifizierung von MET im Spross einer Maispflanze nach Aufnahme über die Wurzel aus dem hydroponischen System mittels Vergleich der Retentionszeit mit dem internen Standard (IS; oben links), Detektion der exakten Masse des Quasi-Moleküls und von Addukten im MS ¹ (oben rechts) sowie Detektion des für MET charakteristischen Fragmentmusters im MS ² (unten).	59
Abbildung 18: Vergleich der maximalen absoluten Signalintensitäten der Pflanzenschutzmittel in Abhängigkeit der verwendeten Matrix (Zahl der aufgenommenen Spektren: 200-250, n = 2). 1 µL einer 100 ng/µL Pflanzenschutzmittellösung wurde auf einen Aluminiumträger dotiert und anschließend mit der entsprechenden MALDI-Matrix beschichtet und mittels MALDI-MS gemessen.	62
Abbildung 19: Detektion und Lokalisierung von Metalaxyl (MET) in den Stützwurzeln von Mais mittels MALDI-MSI. A: Querschnitt einer Stützwurzel einer Maispflanze nach Aufnahme von MET aus einer hydroponischen Lösung. Signale mit einer Intensität unterhalb des an der Farbskala angegebenen Werts werden nicht dargestellt, während alle Signale mit einer Intensität oberhalb des auf der Farbskala angezeigten Werts mit maximaler Intensität (rot) visualisiert werden. Zum Vergleich werden neben dem Lokalisierungsbild von MET ([M+K] ⁺ ; m/z 318,11022) auch Bilder von Glutamin ([M+K] ⁺ ; m/z 185,03230), Trisacchariden ([M+K] ⁺ ; m/z 543,13219) sowie Signale, die der Masse von [MET+K] ⁺ in einer Negativkontrollpflanze entsprechen (m/z 318,11022), dargestellt. Die laterale Auflösung der Messungen betrug 25 µm. B: Graphische Darstellung der Massenabweichung zentriert auf m/z 318,11022 ≡ [MET+K] ⁺ zeigt die Signalverteilung in der pflanzenschutzmittelexponierten Pflanze im Vergleich zur Verteilung in der Negativkontrollpflanze (Neg. Kontrolle). Rote Linien und ausgegraute Bereiche markieren die Signale, die aufgrund der gewählten Massengenauigkeit von 2 ppm und des gewählten Intensitätsschwellenwertes in den Verteilungsbildern ausgeblendet sind. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[26]	65
Abbildung 20: Optische Veränderungen der Nutzpflanzen nach zwei oder sieben Tagen der Aufnahme einer 10 µM Pflanzenschutzmittelmischung bestehend aus IMI, MET, TEB und FLU.	68
Abbildung 21: Molare Konzentration von IMI (A), MET (B), FLU (C) und TEB (D) in Mais (beige), Weizen (blau) und Sojabohne (grün) nach zweitägiger hydroponischer Exposition gegenüber einer Pflanzenschutzmittelmischung, welche alle Wirkstoffe in einer Konzentration von jeweils 1 µM beinhaltete (n ≥ 6). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	70
Abbildung 22: Korrelation zwischen der Lipophilie (log K _{OW}) von IMI, MET, FLU und TEB und ihrer Anreicherung in Mais (beige), Weizen (blau) und Soja (grün) nach zwei Tagen der Aufnahme aus einem hydroponischen System, welches jeweils 1 µM jedes Pflanzenschutzmittels enthielt. Die Anreicherung wurde mittels Berechnung des Translokationsfaktors (TF) und Wurzelkonzentrationsfaktors (RCF) bewertet. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	73
Abbildung 23: Korrelation zwischen Expositionskonzentration und Wurzelkonzentrationsfaktor (RCF) von IMI, MET, FLU und TEB in Mais (beige), Weizen (blau) und Soja (grün) nach zweitägiger Aufnahme. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	76

Abbildung 24: Korrelation zwischen Expositionskonzentration und Translokationsfaktor (TF) von IMI, MET, FLU und TEB in Mais (beige), Weizen (blau) und Soja (grün) nach zweitägiger Aufnahme. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	78
Abbildung 25: Logarithmische Darstellung der RCF-Werte (A) und TF-Werte (B) von Imidacloprid (IMI), Metalaxyl (MET), Fluopyram (FLU) und Tebuconazol (TEB) nach zwei bzw. sieben Tagen (d) der Aufnahme aus einem hydroponischen System, das jeweils 10 µM jedes Pflanzenschutzmittels enthielt, in Mais (beige), Weizen (Weiz; blau) und Soja (grün). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	80
Abbildung 26: Vergleich der Aufnahme von IMI, MET, FLU und TEB in Weizenpflanzen nach zweitägiger Exposition gegenüber den Pflanzenschutzmitteln einzeln (links) oder als Mischung (rechts) bei einer Konzentration von jeweils 1 µM (n = 6).	85
Abbildung 27: Konzentrationen der Phenylamid-Fungizide (PAF; Oxadixyl: OXA, Ofurac: OFU, Metalaxyl: MET, Furalaxyl: FUR, Benalaxyl: BEN) in Wurzeln und Spross von Weizen nach zweitägiger einzelner Aufnahme aus einer hydroponischen Lösung mit einer Konzentration von 1 µM des jeweiligen Pflanzenschutzmittels (n = 6). Zusätzlich wurden die RCF- und TF-Werte berechnet. Unterhalb der gemessenen Konzentrationen sind die Molekülstrukturen sowie die physikochemischen Eigenschaften der einzelnen Substanzen dargestellt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[100]	87
Abbildung 28: MS ² -Spektrum des im Spross der Weizenpflanzen detektierten Metaboliten Glutathion-OFU. Die gestrichelten Linien der Fragmenten-Strukturvorschläge zeigen, wo der Bindungsbruch stattfindet. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[100]	88
Abbildung 29: Konzentrationen der Fluopyram-Analoga (FLU-Analoga; 2-(Trifluormethyl)-benzamid: TMB, 3-Chlor-5-(trifluormethyl)-picolinsäure: TPA, Mepronil: MEP, Fluopicolid: FLP, Fluopyram: FLU, Thifluzamid: TFZ) in Wurzeln und Spross von Weizen nach zweitägiger einzelner Aufnahme aus einer hydroponischen Lösung mit einer Konzentration von 1 µM des jeweiligen Wirkstoffes (n = 6). Zusätzlich wurden die RCF- und TF-Werte berechnet. Unterhalb der gemessenen Konzentrationen sind die Molekülstrukturen sowie die physikochemischen Eigenschaften der einzelnen Substanzen dargestellt (a: für TPA ist der berechnete log <i>D</i> _{OW} -Wert bei pH 6,5 angegeben). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[100] ..	90
Abbildung 30: Korrelation zwischen der Anreicherung in Weizenwurzeln (log RCF) und der Lipophilie (log <i>K</i> _{OW} ; A) bzw. des Molekulargewichts (<i>M</i> ; B) der Pflanzenschutzmittel. Zu den PAFs zugehörige Boxplots sind in blau dargestellt, während zu den FLU-Analoga gehörende Boxplots grün eingefärbt sind. Jeder Boxplot basiert auf den experimentellen Daten von 12 Replikaten (n = 12) und die Signifikanz der linearen Regression (blau = PAFs, grün = FLU-Analoga, schwarz = Einbezug aller Pflanzenschutzmittel) wurde mittels R ² bewertet. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[100]	93
Abbildung 31: Korrelation zwischen der Translokation in oberirdische Weizenteile (log TF) und der Lipophilie (log <i>K</i> _{OW} ; A) bzw. des Molekulargewichts (<i>M</i> ; B) der Pflanzenschutzmittel. Zu den PAFs zugehörige Boxplots sind in blau dargestellt, während zu den FLU-Analoga gehörende Boxplots grün eingefärbt sind. Jeder Boxplot basiert auf den experimentellen Daten von 12 Replikaten (n = 12) und die Signifikanz der polynomialen Regressionen (blau = PAFs, grün = FLU-Analoga, schwarz = Einbezug aller Pflanzenschutzmittel) wurde mittels R ² dargestellt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[100]	95

- Abbildung 32: Räumliche Verteilung von MET, FUR und BEN in der Weizenwurzel nach Aufnahme aus der hydroponischen Lösung. Mikroskopbild der Weizenwurzel (A), welche Epidermis (Ep), Kortex (Ko), Endodermis (En), Xylem (Xy) und Mark (Ma) zeigt sowie Lokalisierung von MET (B), FUR (C) und BEN (D) mittels MALDI-MSI. Die zwei gestrichelten Kreise markieren anatomisch unterschiedliche Bereiche der Wurzel. Die Leitbündel befinden sich innerhalb des inneren Kreises, während das Kortexgewebe zwischen dem inneren und äußeren Kreis liegt. Signalintensitäten oberhalb des auf der Farbskala angegebenen Schwellenwerts werden als maximal intensiv (rot) dargestellt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[100] 98
- Abbildung 33: Inhibition des Wurzelwachstums von Maispflanzen durch die Exposition gegenüber 10 µM der Pflanzenschutzmittel (PSM) SPI und MET für sieben Tage in der hydroponischen Nährlösung. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26] 102
- Abbildung 34: Anteil an SPI und SPI-E in der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung in Abwesenheit einer Pflanze zur Kontrolle der Wirkstoffstabilität von SPI (bezogen auf die Initialkonzentration von 1 oder 10 mM). A: Nährlösung dotiert mit SPI bei einer Konzentration von 1 µM. B: Nährlösung versetzt mit SPI-E bei einer Konzentration von 1 µM. C: Nährlösung dotiert mit SPI bei einer Konzentration von 10 µM. D: Nährlösung versetzt mit SPI-E bei einer Konzentration von 10 µM. 104
- Abbildung 35: Konzentrationen von MET, SPI und SPI-E in Wurzeln und Trieben von Mais nach Aufnahme über die Wurzeln für sieben Tage aus einem hydroponischen System. Oberhalb der Boxplots sind die zugegebenen Wirkstoffe und deren Konzentration vermerkt. $LOQ_{SPI} = 1.3 \text{ pmol/g d.w. (0.5 ng/g d.w.)}$; $LOQ_{SPI-E} = 3.3 \text{ pmol/g d.w. (1 ng/g d.w.)}$; $LOQ_{MET} = 3.6 \text{ pmol/g d.w. (1 ng/g d.w.)}$. Die unten dargestellten RCF und TF wurden für die Summe aus SPI und SPI-E berechnet. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26] 106
- Abbildung 36: Umwandlung von SPI zu SPI-E unter verschiedenen Bedingungen bei der Probenvorbereitung und MALDI-Messung. A: Messung der SPI-Stammlösung nach Besprühen mit DHB-Matrix-Lösung. B: Messung der SPI-Stammlösung nach *dried-droplet*-Probenvorbereitung mit wasserfreier DHB-Matrix-Lösung. C: Messung der SPI-Stammlösung nach *dried-droplet*-Probenvorbereitung mit wasserhaltiger DHB-Matrix-Lösung. D: Laserablationsmessung der SPI-Stammlösung ohne DHB-Matrix. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26] 111
- Abbildung 37: Visualisierung der Verteilung von SPI_{Summe} (detektiert als SPI-E) und MET in Stützwurzeln von jungen Maispflanzen mittels MALDI-MSI nach siebentägiger Aufnahme bei einer Expositionskonzentration von 10 µM. A: Mikroskopische Aufnahme der Stützwurzel inklusive Annotation ihrer Bestandteile. B: Verteilung von SPI_{Summe} in der Wurzel zeigt eine Akkumulation in der Epidermis. C: Verteilung von MET in der Wurzel zeigt eine hohe Signaldichte im Kortex und eine Akkumulation in Nähe der Leitbündel mit einer Abwesenheit von Signalen in der Epidermis. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26] 113
- Abbildung 38: MALDI-MSI zeigt die Verteilung von SPI_{Summe} (detektiert als SPI-E) in verschiedenen Wurzeln nach Aufnahme unter unterschiedlichen Bedingungen (Expositionskonzentration: 10 µM). A: Primärwurzel nach einer eintägigen Exposition gegenüber SPI bei einem pH-Wert der Nährstofflösung von 6,5 zeigt eine Anreicherung außerhalb der Exodermis mit wenig Signalen in Nähe der Leitbündel. B: Wurzelspitze ohne ausgebildete Exodermis nach einer eintägigen Exposition gegenüber SPI bei einem pH-Wert von 6,5 zeigt eine homogene Verteilung der Signale. C: Primärwurzel nach einer siebentägigen Exposition gegenüber SPI bei einem pH-Wert von 5.0 mit signifikant mehr Signalen im Kortex und in Nähe der Leitbündel als bei höherem pH. D: Primärwurzel nach siebentägiger Aufnahme des Metaboliten SPI-E bei pH 5.0 zeigt eine starke Akkumulation außerhalb der Exodermis, vergleichbar mit A. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26] 116

- Abbildung 39: Visualisierung der räumlichen Verteilung von MET in einem oberen Teil des Maissprosses, gemessen mittels MALDI-MSI. A: Mikroskopische Aufnahme des Sprossquerschnitts mit nummerierten Blättern entsprechend ihres Wachstumszeitpunktes. B: Räumliche Verteilung von MET zeigt eine Anreicherung in den Leitbündeln und der Blattepidermis. C: Vergrößerter Ausschnitt der Leitbündel zeigt eine Akkumulation im Xylem bei vergleichsweise geringeren Signalintensitäten im Phloem. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26] 119
- Abbildung 40: Oben: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse des MET Metaboliten [Hydroxy-MET+H]⁺ in einem Sprossextrakt der Maispflanzen nach siebentägiger Aufnahme von MET zugeordnet werden können. Unten: MS²-Messung des zweiten Isomers des Hydroxy-MET bei einer Retentionszeit von 6.8 min, welches repräsentativ für die MS²-Spektren aller drei Isomere gezeigt wird. Der Asterisk signalisiert die Position des [Hydroxy-MET+H]⁺, welches aufgrund der starken Fragmentierung nicht in der MS²-Messung detektiert wurde. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96] 127
- Abbildung 41: Oben: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse des MET Metaboliten [Desmethyl-MET+H]⁺ in einem Sprossextrakt der Maispflanzen nach siebentägiger Aufnahme von MET zugeordnet werden können. Unten: Superponierte MS²-Messungen der vier Isomere. Da die MS²-Spektren vom unbekanntem Isomer 1 und MET-Säure (Isomer 2) identisch waren, wurde nur das Spektrum von MET-Säure in schwarz gezeigt. In rot das MS²-Spektrum von O-Desmethyl-MET (Isomer 3) und in blau das Spektrum des ebenfalls unbekanntem Isomer 4. Farbige Punkte signalisieren zusätzlich, in welchen Spektren die Fragmente vorkamen. Auf den Pfeilen sind Vorschläge bezüglich der Abgangsgruppen, wobei die Farbe dieser angibt, auf welches Spektrum diese sich beziehen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96] 129
- Abbildung 42: Der Spross-zu-Wurzel-Intensitätsfaktor (SRIF) zeigt die Intensitätsverteilung von Signalen der wichtigsten Metaboliten des Pflanzenschutzmittels (PSM) MET in Wurzeln und Spross der Maispflanzen nach Wurzel Aufnahme von MET über einen Zeitraum von sieben Tagen bei einer Expositionskonzentration von 10 µM. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96] 134
- Abbildung 43: Der Spross-zu-Wurzel-Intensitätsfaktor (SRIF) zeigt die Intensitätsverteilung von Signalen der wichtigsten Metaboliten des SPI in Wurzeln und Spross der Maispflanzen nach Wurzel Aufnahme von MET über einen Zeitraum von sieben Tagen bei einer Expositionskonzentration von 10 µM. SPI-E kann hier aufgrund der Hydrolyse vor der Aufnahme in die Wurzel sowohl als Phase I Metabolit, als auch als Ausgangsverbindung angesehen werden. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96] 136
- Abbildung 44: Verteilung der relativen normalisierten Intensitäten von MET und seinen Hauptmetaboliten in Blättern unterschiedlichen Alters, nach siebentägiger Aufnahme durch die Wurzel aus einer hydroponischen Lösung mit einer Konzentration von 1 µM. Die Intensitäten wurden auf die detektierte Intensität im Keimblatt (Blatt 1) normalisiert. Blätter 6 und 7 sind während des Aufnahmezeitraumes neu gewachsen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96] 138
- Abbildung 45: Oben: Graphische Darstellung nach KLEIER *et al.*, welche die Phloemmobilität anhand der physikochemischen Eigenschaften (pKa und Log KOW) der Substanzen prognostiziert. Unten: Modell nach BROMILOW *et al.* zur Vorhersage der Xylem- und Phloemmobilität, ebenfalls auf Basis derselben Stoffeigenschaften. MET und SPI sowie ihre primären Metaboliten sind anhand ihrer Parameter in der graphischen Darstellung der Modelle gezeigt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26] 141

Abbildung 46: Verteilung der relativen normalisierten Intensitäten von SPI und seinen Hauptmetaboliten in Blättern unterschiedlichen Alters nach siebentägiger Aufnahme durch die Wurzel aus einer hydroponischen Lösung mit einer Konzentration von 1 μM . Die Intensitäten wurden auf die detektierte Intensität im Keimblatt (Blatt 1) normalisiert. Blätter 6 und 7 sind während des Aufnahmezeitraumes neu gewachsen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	142
Abbildung 47: MALDI-MSI-Messung zur Darstellung der räumlichen Verteilung von Trisacchariden, SPI _{Summe} (detektiert als SPI-E), MET und dessen Metaboliten in der Maiswurzel nach siebentägiger Aufnahme aus einer 10 μM hydroponischen Lösung. Das mikroskopische Bild zeigt die Epidermis (Ep), Exodermis (Ex), Endodermis (En), Kortex (Ko) und das zentrale Markgewebe (Ma) sowie die Leitbündel, bestehend aus Xylem (Xy) und Phloem (Ph). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	145
Abbildung 48: MALDI-MSI-Messung zur Darstellung der räumlichen Verteilung von SPI _{Summe} (detektiert als SPI-E) und MET sowie deren Metaboliten in der Sprossachse nach zweitägiger Aufnahme aus einer 100 μM hydroponischen Lösung. Das mikroskopische Bild zeigt die Blätter, aus welchen der Maisspross besteht, nummeriert nach ihrer Wachstumsreihenfolge. Ein vergrößerter Bildausschnitt zeigt die Epidermis (Ep), das Mesophyllgewebe (Me) sowie die Leitbündel (Lb), bestehend aus Xylem und Phloem. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	148
Abbildung 49: Vergrößerte Darstellung der räumlichen Verteilung von SPI _{Summe} (detektiert als SPI-E) und Desmethyl-SPI-E in der Sprossachse nach zweitägiger Aufnahme aus einer 100 μM hydroponischen Lösung. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	150
Abbildung 50: Verteilung von MET, Hydroxy-MET-Glucosid, SPI _{Summe} (detektiert als SPI-E), Desmethyl-SPI-E und endogenen Hexosen, gemessen in der abaxialen Seite der Blattspitze des jüngsten Maisblattes nach siebentägiger Aufnahme von MET und SPI aus einer 10 μM hydroponischen Lösung.....	151
Abbildung 51: Mechanismen der ESI und APCI für die Pflanzenschutzmitteldetektion im positiven Messmodus. Die Ladungsübertragung beim ESI-Prozess ist nach dem Mechanismus der Ionenverdampfung (<i>ion evaporation model</i> , IEM) näher dargestellt.....	XX
Abbildung 52: Vergleich der Ionenausbeute (EIC-Intensitäten; $[M+H]^+$) nach Ionisation der sechs zur Methodenentwicklung untersuchten Pflanzenschutzmittel (PSM) mittels ESI (schwarz: IMI, MET, SPI, FLU und CYP; grün: TEB) und APCI (rot: IMI, MET, SPI, FLU, CPY; blau: TEB). CPY zeigte eine sehr geringe Ionisierbarkeit mit beiden Methoden.....	XXIV
Abbildung 53: Extrahierte Ionen-Chromatogramme der Pflanzenschutzmittel bei Einsatz verschiedener mobiler Phasen zeigen unterschiedliche Ionisationsausbeuten und Retentionszeiten.	XXV
Abbildung 54: Visualisierung der Retentionszeiten der sechs Pflanzenschutzmittel unter Einsatz der finalen chromatographischen Methode (siehe Kapitel 3.11).....	XXVI
Abbildung 55: MS ² -Messung von $[\text{MET}+\text{H}]^+$ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmepériode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXVI
Abbildung 56: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse von $[\text{Hydroxy-MET}+\text{H}]^+$ in Blattproben von Mais entsprechen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXVII
Abbildung 57: MS ² -Messung von $[\text{Hydroxy-MET}+\text{H}]^+$ Isomer 1 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmepériode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXVII
Abbildung 58: MS ² -Messung von $[\text{Hydroxy-MET}+\text{H}]^+$ Isomer 2 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmepériode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXVIII

Abbildung 59: MS ² -Messung von [Hydroxymethyl-MET+H] ⁺ Isomer 3 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXIX
Abbildung 60: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse von [Desmethyl-MET+H] ⁺ in Blattproben von Mais entsprechen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXIX
Abbildung 61: MS ² -Messung von [Desmethyl-MET+H] ⁺ Isomer 1 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXX
Abbildung 62: MS ² -Messung von [MET-Säure+H] ⁺ Isomer 2 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXX
Abbildung 63: MS ² -Messung von [O-Desmethyl-MET+H] ⁺ Isomer 3 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXI
Abbildung 64: MS ² -Messung von [Desmethyl-MET+H] ⁺ Isomer 4 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXI
Abbildung 65: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse von [Desethyl-MET+H] ⁺ in Blattproben von Mais entsprechen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXII
Abbildung 66: MS ² -Messung von [Desethyl-MET+H] ⁺ Isomer 1 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXII
Abbildung 67: MS ² -Messung von [Desethyl-MET+H] ⁺ Isomer 2 mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXIII
Abbildung 68: Extrahiertes Ionen-Chromatogramm der Signale, welche der exakten Masse von [Desmethyl-hydroxy-MET+H] ⁺ in Blattproben von Mais entsprechen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXIII
Abbildung 69: MS ² -Messung von [Desmethyl-hydroxy-MET+H] ⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXIV
Abbildung 70: MS ² -Messung von [Hydroxy-MET-glucosid+H] ⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXIV
Abbildung 71: MS ² -Messung von [Hydroxy-MET-Malonsäure-glucosid+H] ⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXV
Abbildung 72: MS ² -Messung von [SPI+H] ⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXV

Abbildung 73: MS ² -Messung von [SPI-E+H] ⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXVI
Abbildung 74: MS ² -Messung von [Keto-hydroxy-SPI+H] ⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXVI
Abbildung 75: MS ² -Messung von [Desmethyl-SPI-E+H] ⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXVII
Abbildung 76: MS ² -Messung von [Desmethyl-SPI-E-glucosid+H] ⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXVII
Abbildung 77: MS ² -Messung von [Desmethyl-keto-hydroxy-SPI-E-glucosid+H] ⁺ mit einem charakteristischen Fragmentierungsmuster, welches die Identifizierung in Maispflanzen nach einer siebentägigen SPI-Aufnahmeperiode ermöglicht. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	XXXVIII
Abbildung 78: PERSAM-Ergebnisse sowie die zur Approximation verwendeten Parameter zur Modellierung der Konzentration von MET im Porenwasser des deutschen Bodens direkt nach der Applikation im Feld. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[26]	XXXIX
Abbildung 79: Aufbau des Aufnahmeversuchs. Links: Schematische Darstellung des hydroponischen Systems. Rechts: Lager- und Transportbox mit einer Reihe von Maispflanzen während des Aufnahmeversuchs. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[26]	XL
Abbildung 80: Wiederfindungsraten (<i>R</i>) der sechs Pflanzenschutzmittel nach Lyophilisation bei 1 mbar (−20 °C), 3 bar (−8 °C) und 5 mbar (−3 °C). Zur Ermittlung der <i>R</i> wurden die Pflanzenschutzmittel in Wasser dotiert, eingefroren und lyophilisiert bis kein Wasser zurückblieb. Anschließend wurden sie im Ultraschallbad in ACN aufgenommen und mit einer Kontrollprobe verglichen, in welche die Pflanzenschutzmittel in das Glasvial ohne Wasser zudotiert worden und das Lösungsmittel bei Raumtemperatur verdampft ist (<i>n</i> =3).	XL
Abbildung 81: Wassernutzungseffizienz (WUE) der Maispflanzen in den verschiedenen Versuchsgruppen während der hydroponischen Aufnahmestudie, beschrieben in Kapitel 4.1. Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf statistisch signifikante Unterschiede hin, basierend auf einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und dem Tukey-Test ($\alpha = 0,05$).	XLI
Abbildung 82: Wassernutzungseffizienz (WUE) der Weizenpflanzen in den verschiedenen Versuchsgruppen während der hydroponischen Aufnahmestudie, beschrieben in Kapitel 4.1. Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf statistisch signifikante Unterschiede hin, basierend auf einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und dem Tukey-Test ($\alpha = 0,05$).	XLI
Abbildung 83: Wassernutzungseffizienz (WUE) der Sojapflanzen in den verschiedenen Versuchsgruppen während der hydroponischen Aufnahmestudie, beschrieben in Kapitel 4.1. Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf statistisch signifikante Unterschiede hin, basierend auf einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und dem Tukey-Test ($\alpha = 0,05$).	XLII
Abbildung 84: Korrelation zwischen Expositionskonzentration und Biokonzentrationsfaktor (BCF) von IMI, MET, FLU und TEB in Mais, Weizen und Sojabohne (zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	XLIII

Abbildung 85: Konzentration der in Kapitel 4.3 untersuchten Pflanzenschutzmittel in der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung über einen Zeitraum von 48 Stunden in Abwesenheit einer Pflanze. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[100]	XLIV
Abbildung 86: Konzentration der in Kapitel 4.3 untersuchten Pflanzenschutzmittel in der HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung über einen Zeitraum von 48 Stunden in Anwesenheit einer Pflanze. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[100]	XLV
Abbildung 87: Korrelation zwischen den physikochemischen Eigenschaften der in Kapitel 4.3 untersuchten Pflanzenschutzmittel und deren Transpirationsstromkonzentrationsfaktor (TSCF) in Weizen (n = 12). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[100]	XLVI
Abbildung 88: Maispflanze, welche die stärkste Chlorose nach der siebentägigen Aufnahme von MET und SPI zeigte (zugehörig zu Kapitel 4.4). Übernommen von SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[26]	XLVII
Abbildung 89: Wassernutzungseffizienz (WUE) der Maispflanzen in den verschiedenen Versuchsgruppen während der hydroponischen Aufnahmestudie, beschrieben in Kapitel 4.4. Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf statistisch signifikante Unterschiede hin, basierend auf einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und dem Tukey-Test ($\alpha = 0,05$). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[26]	XLVIII
Abbildung 90: Translokationsfaktor von SPI + SPI-E ($TF_{SPIsumme}$) in den verschiedenen Versuchsgruppen während der hydroponischen Aufnahmestudie, beschrieben in Kapitel 4.4. Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf statistisch signifikante Unterschiede hin, basierend auf einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und dem Tukey-Test ($\alpha = 0,05$). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[26]	XLIX

7.5 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Physikochemische Eigenschaften der in dieser Arbeit für Aufnahmestudien eingesetzten Pflanzenschutzmittel und Pflanzenschutzmittelmetaboliten. ^[231]	30
Tabelle 2: Übersicht der verwendeten Massenspektrometer in den unterschiedlichen Aufnahmeexperimenten (Exp.) dieser Arbeit.	33
Tabelle 3: Zusammensetzung der verwendeten HOAGLAND's Nr. 2 Nährlösung aus Mikro- und Makronährstoffen.	35
Tabelle 4: Übersicht der experimentellen Konditionen der Aufnahmeexperimente in Kapitel 4.2.	38
Tabelle 5: Übersicht der experimentellen Konditionen der Aufnahmeexperimente in Kapitel 4.3.	38
Tabelle 6: Übersicht der experimentellen Konditionen der Aufnahmeexperimente in Kapitel 4.4.	39
Tabelle 7: Übersicht der experimentellen Konditionen der Aufnahmeexperimente in Kapitel 4.5.	39
Tabelle 8: Überblick über die zur Entwicklung der Multikomponentenmethode eingesetzten Pflanzenschutzmittel aus verschiedenen Substanzklassen mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen und Polaritäten.	53
Tabelle 9: Wiederfindungsraten (<i>R</i>) nach Ultraschallextraktion der sechs Pflanzenschutzmittel mit unterschiedlichen Extraktionsmitteln aus Maisblättern (<i>n</i> = 3). ACN: Acetonitril; EA: Ethylacetat; AA: Ameisensäure.	54
Tabelle 10: Auflistung von MET und allen detektierten Metaboliten des Wirkstoffes in Wurzeln und Blättern der Maispflanzen nach einer siebentägigen Aufnahme von MET aus einer hydroponischen Nährlösung (10 µM). Die massenspektrometrische Sicherheit wurde anhand eines Stufensystems bewertet, wobei Stufe 1 die höchste Sicherheit darstellt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	126
Tabelle 11: Auflistung von SPI und allen detektierten Metaboliten des Wirkstoffes in Wurzeln und Blättern der Maispflanzen nach einer siebentägigen Aufnahme von SPI aus einer hydroponischen Nährlösung (10 µM). Die massenspektrometrische Sicherheit wurde anhand eines Stufensystems bewertet, wobei Stufe 1 die höchste Sicherheit darstellt. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	131
Tabelle 12: Mittelwerte der detektierten Signalveränderung aufgrund von Matrixeffekten (ME) nach Extraktion des Pflanzenschutzmittelgemisches aus Maissprossen (Kapitel 4.1.2). Die Dotierung erfolgte mit einer Konzentration von 100 ng/g d.w. (<i>n</i> = 3). Negative Werte bedeuten eine Reduzierung der Signalintensität aufgrund der ME. Die Extraktion mit EA:ACN (2:1) resultierte in deutlich geringeren ME als die Extraktion mit ACN:H ₂ O (4:1).	L
Tabelle 13: Ergebnisse der einfaktoriellen ANOVA und der Tukey-Tests zum Vergleich der Translokationsfaktoren der Summe von SPI und SPI-E (TF _{SPIsumme}) der einzelnen experimentellen Gruppen (Exp. 1 – 4), beschrieben in Kapitel 4.4. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[26]	L
Tabelle 14: Wiederfindungsraten von Pflanzenschutzmitteln und Metaboliten in Weizengewebe, welche in Kapitel 4.3 untersucht wurden und deren Extrahierbarkeit nicht in Kapitel 4.1.2 beschrieben wurde. Die Dotierung erfolgte mit einer Konzentration von 100 ng/g d.w. (<i>n</i> = 6). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[100]	LI
Tabelle 15: Physikochemische Eigenschaften von MET und seinen Metaboliten mit bekannten Strukturen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	LII
Tabelle 16: Physikochemische Eigenschaften von SPI und seinen Metaboliten mit bekannten Strukturen. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	LIII

Tabelle 17: Detektion von MET und seiner Metaboliten. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	LIV
Tabelle 18: Detektion von SPI und seiner Metaboliten. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	LV
Tabelle 19: Biokonzentrationsfaktor (BCF), Wurzelkonzentrationsfaktor (RCF) und Translokationsfaktor (TF) von IMI, MET, FLU und TEB nach zweitägiger Wurzel Aufnahme aus einer 1 µM hydroponischen Nährlösung (n = 6). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	LVI
Tabelle 20: Biokonzentrationsfaktor (BCF) der in Kapitel 4.3 untersuchten Pflanzenschutzmittel und Pflanzenschutzmittelmetaboliten. Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[100]	LVI
Tabelle 21: Konzentrationen von MET, SPI und SPI-E in den Wurzeln und Sprossen von Maispflanzen nach siebentägiger Aufnahme aus dem hydroponischen System bei einer Expositionskonzentration von 1 und 10 µM (n = 6; zugehörig zu Kapitel 4.5). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[96]	LVII
Tabelle 22: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Sojapflanzen aufgenommenen Wassers in der nicht-exponierten Kontrollgruppe (0 µM; zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	LVII
Tabelle 23: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Mais- und Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in den nicht-exponierten Kontrollgruppen (0 µM; zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	LVIII
Tabelle 24: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Nutzpflanzen aufgenommenen Wassers in den 0,01 µM Expositiongruppen während der zweitägigen hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	LIX
Tabelle 25: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Nutzpflanzen aufgenommenen Wassers in den 0,1 µM Expositiongruppen während der zweitägigen hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	LX
Tabelle 26: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Nutzpflanzen aufgenommenen Wassers in den 1,0 µM Expositiongruppen während der zweitägigen hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	LXI
Tabelle 27: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Nutzpflanzen aufgenommenen Wassers in den 10 µM Expositiongruppen während der zweitägigen hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	LXII
Tabelle 28: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Nutzpflanzen aufgenommenen Wassers in den 10 µM Expositiongruppen während der siebentägigen hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.2). Modifiziert nach SKOCZOWSKY <i>et al.</i> ^[90]	LXIII
Tabelle 29: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in der nicht-exponierten Kontrollgruppe (0 µM; zugehörig zu Kapitel 4.3).....	LXIV
Tabelle 30: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 µM Expositiongruppen während der siebentägigen einzelnen hydroponischen Aufnahme von IMI, TEB und MET (zugehörig zu Kapitel 4.3).....	LXV

Tabelle 31: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 µM Expositionsgruppen während der siebentägigen einzelnen hydroponischen Aufnahme von OXA, OFU, FUR und BEN (zugehörig zu Kapitel 4.3)..... LXVI

Tabelle 32: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 µM Expositionsgruppen während der siebentägigen einzelnen hydroponischen Aufnahme von FLU, FLP, TMB und TPA (zugehörig zu Kapitel 4.3)..... LXVII

Tabelle 33: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Weizenpflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 µM Expositionsgruppen während der siebentägigen hydroponischen Aufnahme von MET und TFZ (zugehörig zu Kapitel 4.3).
..... LXVIII

Tabelle 34: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Maispflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 µM Expositionsgruppen während der hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.4). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]..... LXIX

Tabelle 35: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Maispflanzen aufgenommenen Wassers in den 10 µM Expositionsgruppen während der hydroponischen Aufnahme der Pflanzenschutzmittel (zugehörig zu Kapitel 4.4). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]..... LXX

Tabelle 36: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Maispflanzen aufgenommenen Wassers in der nicht exponierten Kontrollgruppe (zugehörig zu Kapitel 4.4). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[26]..... LXXI

Tabelle 37: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Maispflanzen aufgenommenen Wassers in den 1 µM und 10 µM Expositionsgruppen während der hydroponischen Aufnahmeuntersuchung (zugehörig zu Kapitel 4.5). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]..... LXXII

Tabelle 38: Übersicht der morphologischen Parameter und der Menge des von den Maispflanzen aufgenommenen Wassers in der 1 µM Expositionsgruppe, deren Blätter nach Alter getrennt untersucht wurden, während der hydroponischen Aufnahmeuntersuchung (zugehörig zu Kapitel 4.5). Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]..... LXXIII

Tabelle 39: Länge der einzelnen Blätter jeder Maispflanze (Pfl.), deren Blätter nach Alter getrennt untersucht wurden (zugehörig zu Kapitel 4.5). Die Rahmen zeigen die Gruppierung der Blätter vor der Extraktion. Modifiziert nach SKOCZOWSKY *et al.*^[96]..... LXXIV