

Jahreszeitlicher Verlauf und vermutliche Bedeutung der Phosphorylase und sauren Phosphatase in verholzten Organen von *Vitis*

VON

H. SCHAEFER

Seasonal changes and presumable role of phosphorylase and acid phosphatase in woody parts of *Vitis*

S u m m a r y . — The seasonal changes in the electrophoretic pattern and activity of phosphorylase and acid phosphatase in roots, stems, canes and shoots of various grapevine cultivars have been studied over several years. Only in a few cases, in late winter and spring and in autumn, there was evidence of phosphorylase being concerned with starch synthesis. Phosphorylase mainly seems to be involved in starch degradation. This activity appeared in autumn approximately at leaf coloration lasting until winter and was seldom detected in spring. The first phase of starch breakdown in autumn and the amylolysis in spring at temperatures higher than 5 °C are assumed to be regulated by amylase.

The results suggest that phosphorylase and, to a lesser extent, amylase represent the temperature dependent starch degrading system in grapevines. This is closely connected with the metabolism of inorganic phosphates and of glucose-1-phosphate and may be controlled by hormones too. In some cases, a conversion of the main isoenzyme into a slower moving one was observed. This conversion has no obvious significance in carbohydrate metabolism.

An enhanced activity of acid phosphatase, especially of the fastest moving isoenzyme, was observed during starch breakdown supposed to be regulated by phosphorylase. The activity was lower during starch degradation presumably controlled by amylase and mostly in periods of starch synthesis due to phosphorylase. A participation of acid phosphatase in the transport of carbohydrates could only rarely be observed. Thus, the staining intensity of the fastest band increased at the beginning of root and shoot formation some weeks after grafting. In winter before sprouting as well as in autumn, a slowly moving band was found to be very active in several cases, which, perhaps, may be related to frost resistance. Another isoenzyme showing a considerably increased activity was detected in young vines immediately after grafting and therefore is possibly involved in callus formation. A further very active isoenzyme and high total activity of acid phosphatase appeared during flowering.

Einleitung

Über die mit der Stärkeregelung zusammenhängenden Enzyme herrscht bei der Rebe noch weitgehende Unklarheit. EIFERT und EIFERT (1966) vermuten, daß die Stärke im Rebenholzgewebe durch die Phosphorylase synthetisiert wird, während die β -Amylase zumindest im Herbst an ihrem Abbau beteiligt ist. Auch nach YAP und REICHARDT (1965) und BEESKOW (1977) soll der Stärkeabbau durch Amylasen erfolgen. BARNA (1973) wies Amylasen in Rebentrieben elektrophoretisch nach. Da nach BUTT-ROSE (1969) dieses Enzym nicht an der Auflösung der Stärkekörner in der Rebe beteiligt sein soll, nimmt REUTHER (1971) das Auftreten von Phosphorylase an.

Die saure Phosphatase wird ebenfalls mit dem Kohlenhydratstoffwechsel in Zusammenhang gebracht (FREY 1953, SAUTER 1966). Auch darüber wissen wir bei der Rebe noch sehr wenig (WIENHAUS 1969).

Im folgenden berichten wir über die anlässlich anderer Untersuchungen in verschiedenen Jahren gewonnenen Ergebnisse über die Jahresperiodizität der beiden Enzyme und versuchen, ihre Stellung im Rebenstoffwechsel zu klären. Neben quantitativen Bestimmungen der Phosphataseaktivität (eine entsprechende einwandfreie Methode für die Phosphorylase bei der Rebe ist uns unbekannt) untersuchten wir die Veränderungen im Verteilungsmuster der multiplen Formen, um mögliche Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von Isoenzymen und gleichzeitig verlaufenden, bekannten physiologischen Vorgängen aufzudecken.

Material und Methoden

Die Reben stammten aus mehrjährigen Anlagen (Rotberger/5 C, Portugieser/5 BB, 5 BB, 125 AA \times *Vitis cinerea* (Cin.)) bzw. Rebschulen (Müller-Thurgau auf 193 G \times *V. riparia* 1 G, u. a.). An den angegebenen Terminen wurden die 2- bis 3jährigen Wurzeln sowie Stämme (Unterlagenstangen), Edelreiser und Triebe bzw. Jungtriebe (2.—4. basale Internodien) entnommen, sofort kleingeschnitten und gefriergetrocknet.

Extraktion und Analyse: Extraktion der Enzyme nach SCHAEFER (1977); Disc-Elektrophorese nach ORNSTEIN und DAVIS, mod. SCHAEFER (1969); Phosphorylase nach SIEPMANN und STEGEMANN (1967), 5,5 % PAA; saure Phosphatase nach BREWBAKER *et al.* (1968) in 5,5 % PAA, α -Naphthylphosphat und Fast Red TR. Aktivitätsbestimmung der sauren Phosphatase nach GÜNTHER und BURCKHART (1968) bei pH 4,6, Angabe in Einheiten (E) bezogen auf das Frischgewicht.

Ergebnisse

1. Phosphorylase

In allen untersuchten Organen von Rotberger/5 C (Abb. 1) und auch bei Portugieser/5 BB trat zur Zeit des Laubfalls eine starke Anfärbung des vor der Gelmitte liegenden Isoenzymen im November und im Dezember sowie zwischen Februar und April zur Zeit des Austriebes auf; danach wurde die Anfärbung wieder schwächer. Im April und teilweise auch im Februar bzw. Mai fand eine R_f -Wert-Verschiebung des Hauptisoenzymen zur Kathode statt. Ein Vergleich mit den entsprechenden Kurven des Kohlenhydratstoffwechsels (Abb. 2) ergibt, daß bei diesen Rebensorten die Anfärbungsintensität der Phosphorylase zur Zeit des Stärkeabbaues im Herbst und bei der Stärkesynthese im Spätwinter/Frühjahr anstieg. Die sehr starke Aktivität des Hauptisoenzymen in den Stämmen von Rotberger steht mit der Stärkekurve scheinbar nicht im Einklang. Die Stärkesynthese im Herbst und der Abbau im Spätfrühjahr wurden offensichtlich nicht durch die Phosphorylase gesteuert.

Neben dem starken Isoenzym wurden weitere sehr schwache Banden beobachtet. Sie nahmen zuweilen eine rötliche Färbung an (R in den Abbildungen) und zeigten somit die Reaktion von Maltodextrinen, die möglicherweise durch D-Enzym gebildet wurden (WOLF 1958).

In nicht veredelten, in größeren Intervallen untersuchten Unterlagen begann eine Zunahme der Hauptbande der Phosphorylase erst im November während des Stärkeabbaues, und sie erreichte ein Maximum im Januar zu Beginn einer Stärkesynthese, die in den Wurzeln bis zum März, in den Stämmen bis Mai andauerte. Eine Beteiligung der Phosphorylase an diesem weiteren Aufbau sowie am folgenden Stärkeabbau war nicht zu erkennen.

In Jungreben der Sorte Müller-Thurgau auf 193 G × Rip. 1 G (Abb. 3) war elektrophoretisch ebenfalls ein herbstliches Maximum während des schon im Gang befindlichen Stärkeabbaues (SCHAEFER 1978) ersichtlich, das bis in den Winter hinein andauerte, wobei das Hauptisoenzym zuweilen in Richtung Kathode driftete. Bei diesen Reben trat eine Verstärkung der Hauptbande auch gegen Ende Juni zur Zeit sehr schwachen Wachstums und einer Kohlenhydraterschöpfung auf. Beim Stärkeabbau im Frühjahr wie auch bei der Synthese im Sommer war aber elektrophoretisch nur eine schwache Aktivität erkennbar.

2. Saure Phosphatase

Eine stärkere Aktivität der sauren Phosphatase wurde im Herbst, zur Zeit der Blüte (besonders in Wurzeln und Trieben) und vor dem Austrieb in den Trieben beobachtet (Abb. 4). Während des Hauptwachstums war die Aktivität sonst sehr gering.

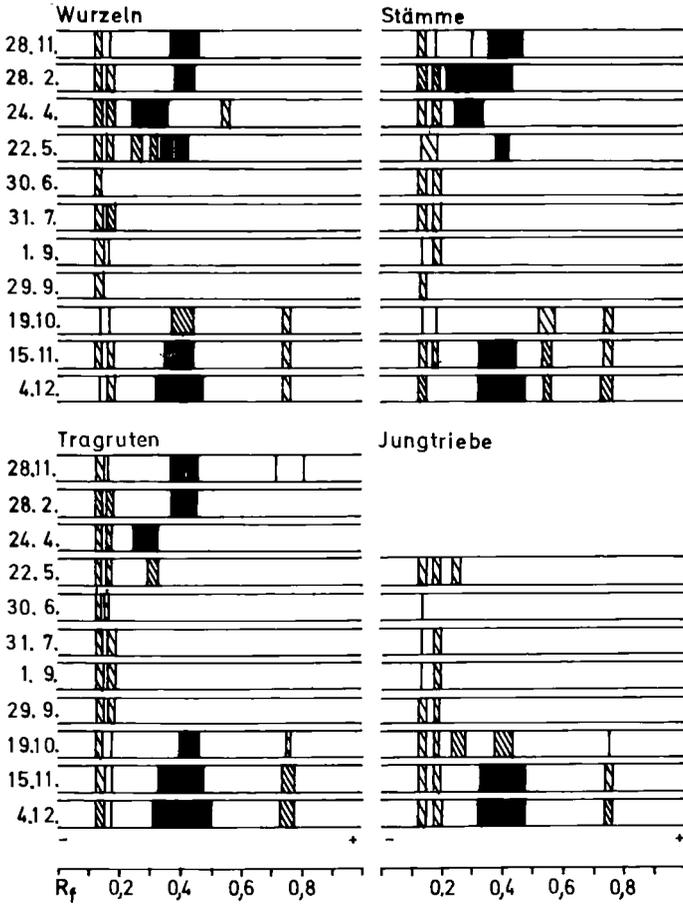


Abb. 1: Die Jahresrhythmik der Isoenzyme der Phosphorylase in Rotberger auf 5 C.
 Seasonal changes in the pattern of isoenzymes of phosphorylase in roots, stems, canes and shoots of Rotberger/5 C.

Es wurden mehrere Isoenzyme beobachtet, von denen das am schnellsten wandernde im Herbst und Winter eine sehr hohe Nachweisintensität zeigte (Abb. 5). Die elektrophoretischen Befunde stimmen aber nicht immer mit der quantitativen Messung überein. Zwar ist auch hier der allerdings schon früher beginnende herbstliche Gipfel zu erkennen, jedoch blieb das Hauptisozym mit einem R_f -Wert von 0,55 bis Ende Februar sehr stark angefärbt und zeigte die Aktivitätsabnahme im Dezember vor allem in den Wurzeln des Portugiesers (ohne Abbildung) nicht an. Auch war das

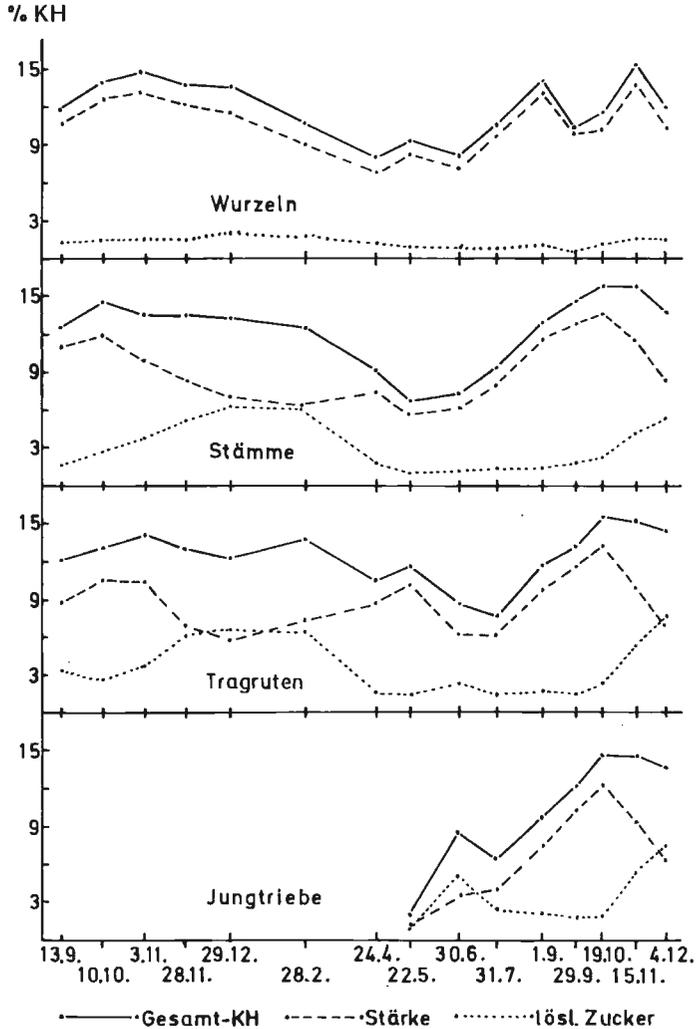


Abb. 2: Jahreszeitliche Veränderungen im Gehalt an Gesamtkohlenhydraten, Stärke und löslichen Zuckern in Rotberger auf 5 C.

Seasonal changes in the content of total carbohydrates, starch and soluble sugars in roots, stems canes and shoots of Rotberger/5 C.

herbstliche Maximum im 2. Jahr elektrophoretisch weniger ausgeprägt und stieg überdies später an. Das war auch bei Unterlagen der Fall. Die beobachteten Abweichungen können auch durch die unterschiedlichen Substrate bedingt sein, die bei den elektrophoretischen und quantitativen Analysen benutzt werden müssen.

Am frühherbstlichen Anstieg der Aktivität und teilweise im Februar in den Stämmen, 1jährigen und Jungtrieben von Rotberger war auch ein langsam wanderndes Isoenzym beteiligt. In den Wurzeln färbte sich im Aktivitätsgipfel im Juni eine andere Bande stärker an.

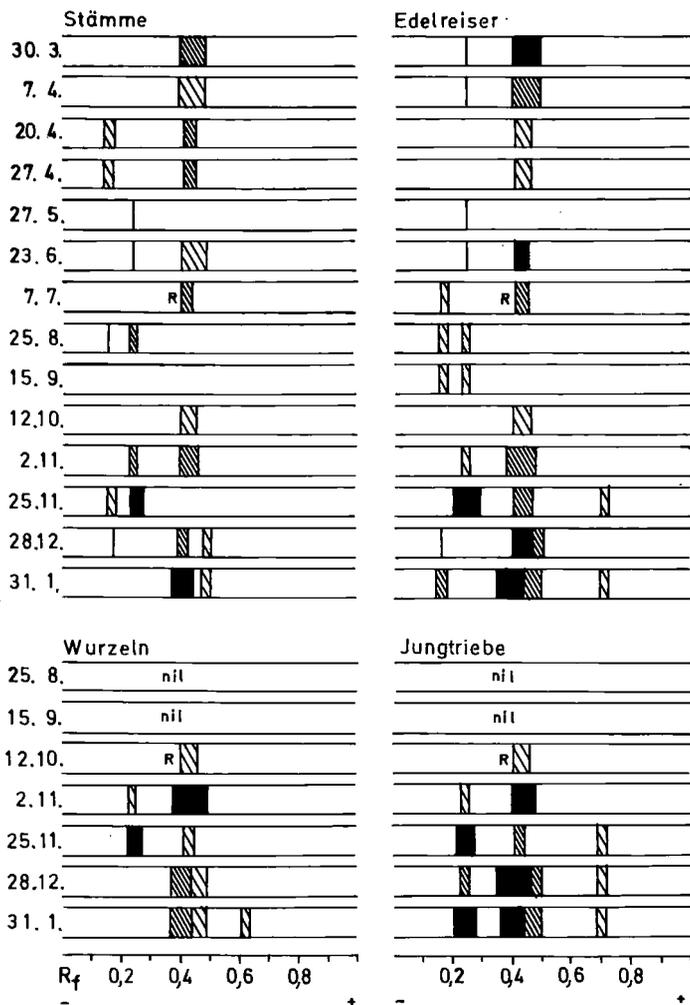


Abb. 3: Die Jahresrhythmik der Isoenzyme der Phosphorylase in Müller-Thurgau auf 193 G × Rip. 1 G. R = rötliche Anfärbung.

Seasonal changes in the pattern of isoenzymes of phosphorylase in roots, stems, scions and shoots of Müller-Thurgau/193 G × Rip. 1 G. R = reddish staining.

In den Stämmen der Unterlagen traten stärkere Sortenunterschiede auf (Abb. 6). So war das Hauptisoenzym bei 5 BB im Herbst stärker als bei der schwächer wüchsigen *V.-cinerea*-Kreuzung. Diese zeigte Ende Januar einen ausgeprägten Gipfel bei allen Isoenzymen, der zum Teil bis Mitte März andauerte. Im Herbst des 2. Jahres war die saure Phosphatase aber auch bei Cin. sehr aktiv. Zeitliche Unterschiede ergaben sich bei beiden Sorten auch in den Jungtrieben sowie bei dem langsamen Isoenzym.

Während des Vortreibens von jungen Pfropfreben gegen Ende März/Anfang April war die Aktivität der Phosphatase sehr hoch (Abb. 7), wobei zunächst nur ein langsam

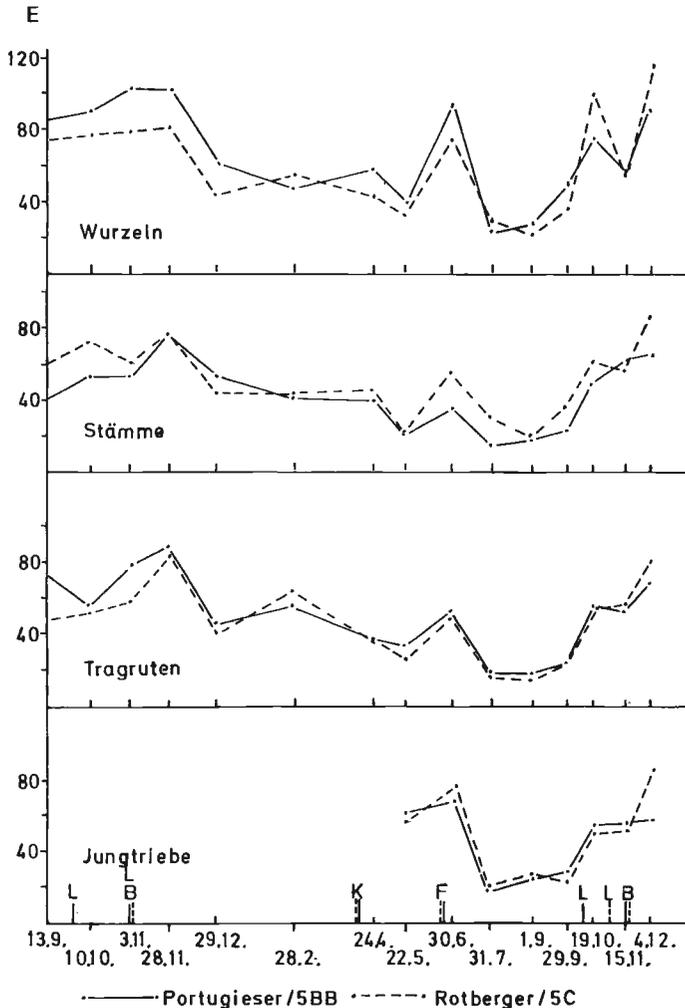


Abb. 4: Die Jahresrhythmik der Aktivität der sauren Phosphatase in zwei Ertragsrebensorten. L = Lese, B = Blattfall, K = Knospenschwellen, F = Blüte.

Seasonal changes in activity of acid phosphatase in roots, stems, canes and shoots of two bearing grapevine cultivars. L = harvest, B = leaf fall, K = bud swelling, F = flowering.

wanderndes Isoenzym stark angefärbt war. Beim Abhärten im April sank die Aktivität etwas ab und verlagerte sich in die schneller wandernde Bande. Auch hier trat eine höhere Intensität einiger Banden im Herbst auf, die in den Wurzeln bald wieder abflachte. Dieses herbstliche Maximum wurde auch bei weiteren Rebsorten beobachtet, wobei quantitativ starke Sortenunterschiede auftraten. Ein solches Verhalten wurde schon früher in den Triebinternodien gefunden (SCHAEFER 1980).

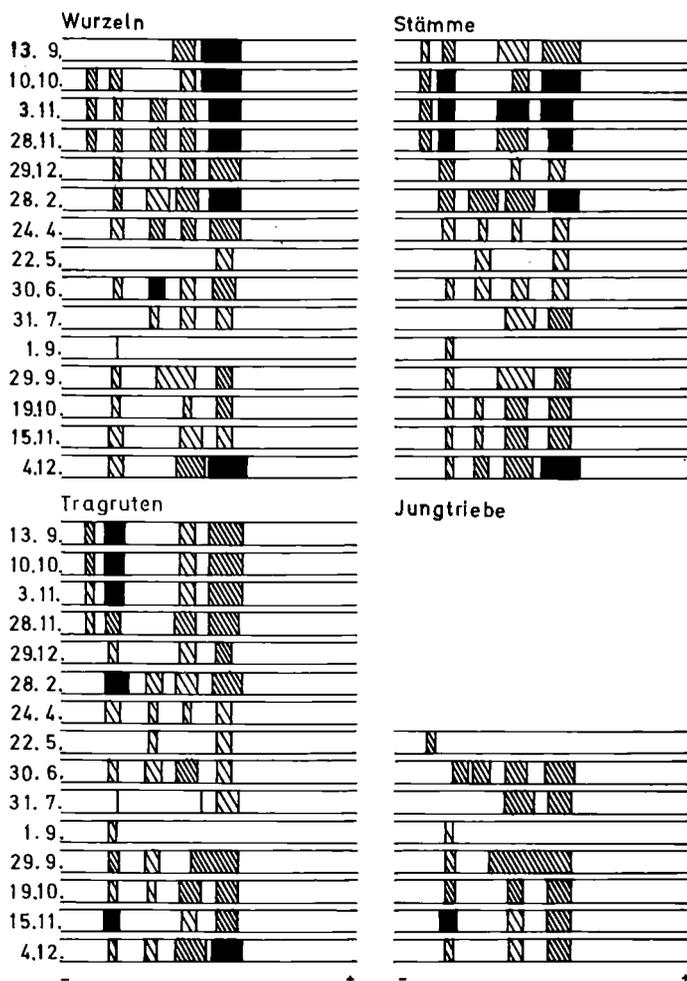


Abb. 5: Die Jahresrhythmik der Isoenzyme der sauren Phosphatase in Rotberger auf 5 C.
 Seasonal changes in the pattern of isoenzymes of acid phosphatase in roots, stems, canes and shoots of Rotberger/5 C.

Diskussion

Ein enger Zusammenhang zwischen der Aktivität der sauren Phosphatase und dem Stärkeabbau im Holzstrahlgewebe von Pappeln wurde von SAUTER (1966) und in bestimmten Rebengeweben von WIENHAUS (1969) beobachtet. Wenn die Phosphorylase den Stärkeabbau reguliert, kann das entstehende Glucose-1-phosphat (G-1-P) durch die saure Phosphatase dephosphoryliert werden. In unserem Material wurde die am schnellsten wandernde Bande der Phosphatase beim Stärkeabbau fast immer dann kräftig angefärbt, wenn auch elektrophoretisch starke Phosphorylaseaktivität vorlag.

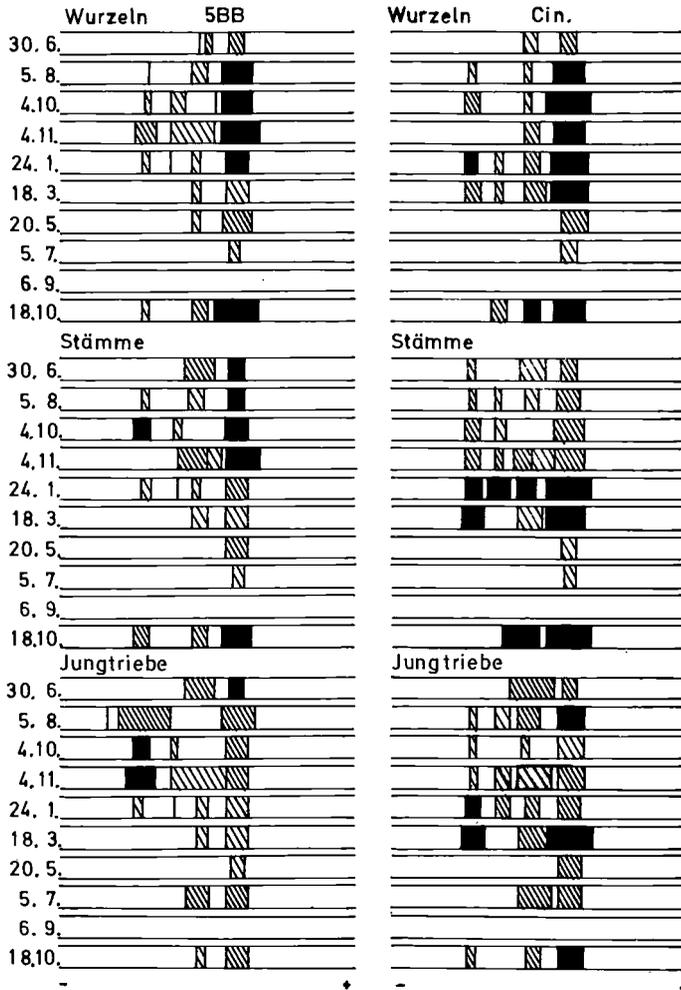


Abb. 6: Die Jahresrhythmik der Isoenzyme der sauren Phosphatase in zwei Unterlagensorten.
Seasonal changes in the pattern of isoenzymes of acid phosphatase in roots, stems, and canes of two rootstock varieties.

War letztere in einer solchen Periode schwach, wurde also die Stärke vermutlich durch Amylasen abgebaut, dann war auch die Aktivität der sauren Phosphatase geringer. Diese Befunde sprechen für eine Beteiligung dieses Enzyms am Stärkeabbau. Eine sehr schwache Gesamtaktivität der sauren Phosphatase trat ferner während einer Stärkesynthese im September in den Trieben und Edelreisern von mehreren Jungrebenarten (ohne Abbildung) auf. Da das Hauptisoenzym der Phosphorylase zu dieser Zeit ebenfalls eine sehr starke Anfärbung aufwies, ist hier eine Beteiligung der Phosphorylase am Stärkeaufbau wahrscheinlich. Ähnliche Befunde ergaben sich in den Trieben von Rotberger und in den Stämmen und Trieben von Portugieser im Spätwinter/Frühjahr.

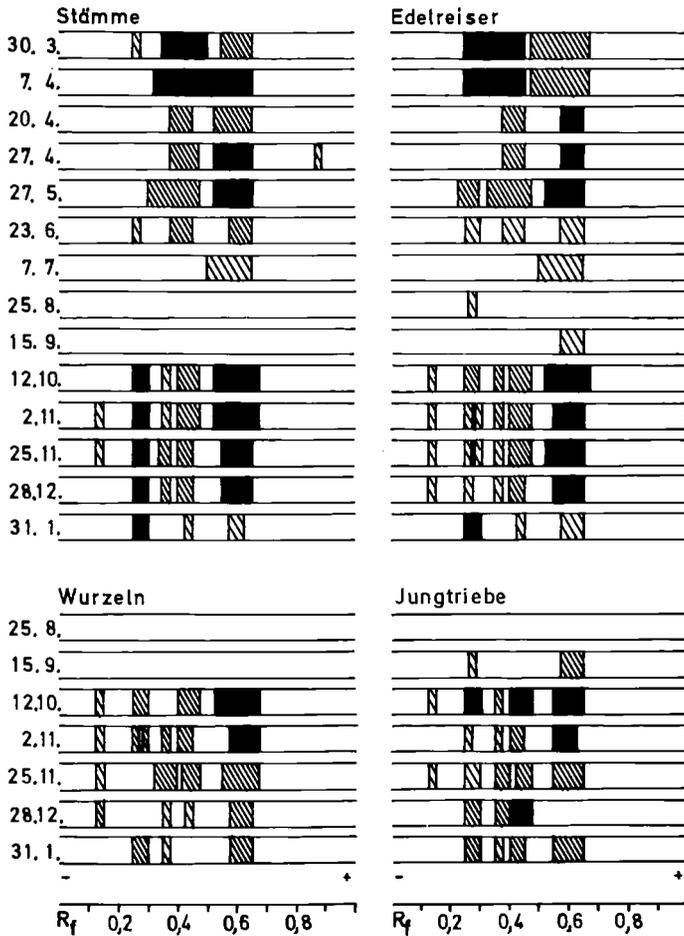


Abb. 7: Die Jahresrhythmik der Isoenzyme der sauren Phosphatase in Müller-Thurgau auf 193 G x Rip. 1 G.

Seasonal changes in the pattern of isoenzymes of acid phosphatase in roots, stems, scions and shoots of Müller-Thurgau/193 G x Rip. 1 G.

Es wurde meist aber eine gesteigerte Nachweisintensität der Phosphorylase zu Zeiten des Stärkeabbaues gefunden. Diese lief aber nicht immer parallel zum Ausmaß der Stärkeregelung. Es scheint hier eine Wechselspiel zwischen Amylase und Phosphorylase aufzutreten. Nach BEESKOW (1977) erscheint nämlich ein Amylasemaximum im Herbst und während der beginnenden Austriebsperiode, ein Minimum aber etwa im Dezember bis Februar.

Demnach kann folgende Hypothese für den Verlauf des Stärkestoffwechsels bei der Rebe aufgestellt werden: Im Spätsommer-Frühherbst erfolgt eine Stärkesynthese, an der meist andere Enzyme beteiligt sind. Sie kann durch die Phosphorylase dann durchgeführt werden, wenn es zu einer starken Erniedrigung von anorganischem Phosphat (Pi) kommt (HANES 1940). Die Aktivität der sauren Phosphatase kann dabei wegen Beteiligung an der Rückwanderung der Kohlenhydrate, besonders in den Wurzeln und Stämmen, hoch sein. Je nach Witterung und Rebensorte wird im Frühherbst der Stärkeabbau meistens durch die Amylase eingeleitet. Mit sinkender Temperatur wird die Phosphorylase stärker nachweisbar. Die Amylase könnte dabei durch die Phosphorylase selbst (PORTER 1950, 1953, NAKAMURA *et al.* 1951), durch Abscisinsäure (WILSON 1971) oder andere Faktoren mehr oder weniger inhibiert werden. Eine plötzliche starke Abnahme der Amylase beobachteten YAP und REICHARDT (1965) Ende November. In der Folge tritt ein immer stärker werdender Einfluß der Phosphorylase auf den Stärkeabbau ein. Bei vorzeitigem Frost und Laubfall kann es infolge einer schwächeren Rückwanderung von Pi zu einer länger andauernden Wirkung der Amylase kommen. Die herbstliche Stärke-Zucker-Interkonversion dürfte also vorwiegend durch die Phosphorylase gesteuert werden.

Die Zucker-Stärke-Umwandlung im Spätwinter/Frühjahr (EIFERT und EIFERT 1966) verläuft wohl auch hauptsächlich durch die Mitwirkung der Phosphorylase. Diese Synthese kann so lange verlaufen, wie genügend G-1-P zur Verfügung steht. Die Aktivität der sauren Phosphatase ist zu dieser Zeit meist schwach.

Zur Zeit des Stärkeabbaues beim Austrieb gewinnt die Amylase wieder mehr an Bedeutung (BEESKOW 1977): Das bei der vorausgegangenen Stärkesynthese freigewordene Pi wird nunmehr für den Austrieb abgeführt, so daß die Phosphorylase nicht mehr stärkeabbauend wirksam sein kann. Die saure Phosphatase ist im Minimum. Im Verlauf des Sommers tritt die Phosphorylase nur sporadisch in Erscheinung.

Unsere Befunde zeigen, daß der Stärkestoffwechsel der Rebe in der kalten Jahreszeit zumindest in erheblichem Maße durch die Phosphorylase gesteuert wird und der Amylase normalerweise nur im Frühherbst und Spätfrühjahr Bedeutung zukommt. So wurde das Hauptabbauprodukt der Amylase, Maltose, von PÄNCZÉL (1962) auch nur im Oktober/November und März/April in Rebentrieben nachgewiesen. Auch REUTHER (1971) fand in kaltgelagertem Rebenmaterial keine Maltose. SAUTER (1967) hatte bereits angenommen, daß die „kältebedingte“ (im Herbst) und die „wärmebedingte“ (im Frühjahr) Stärkeauflösung zwei von verschiedenen Faktoren gesteuerte Vorgänge sein müssen. Diese Faktoren dürften also die Enzyme Amylase und Phosphorylase sein.

Nach unseren Befunden und Überlegungen scheint also die Phosphorylase das temperaturabhängige Stärkeregelungssystem zu sein und weniger die Amylase. Darauf deutet auch der plötzlich im Oktober erscheinende Gipfel der Phosphorylase in den Internodien von 5 C (SCHAEFER 1980): An diesem Termin war die Temperatur plötzlich auf 3 °C abgesunken, während an den übrigen Probeentnahmetermen höherere Temperaturen herrschten. Bei 5 C fand also offenbar eine vorübergehende Entblockierung der Phosphorylase statt, während bei dem frostempfindlicheren Riesling und vor allem bei der sehr labilen Sorte Müller-Thurgau die stärkeabbauende Funktion des Enzyms erst später in Erscheinung trat. 5 C reagiert also wesentlich schneller. Auf

solche Sortenunterschiede im Hinblick auf die „Amylase“, vermutlich im Rahmen der Frostresistenz, hat BEESKOW (1977) schon hingewiesen.

Die bisher gezogenen Schlüsse über die Bedeutung der Amylase und ihre Temperaturabhängigkeit sollten daher im Hinblick auf die Phosphorylase überprüft werden, auch die von YAP und REICHARDT (1965) benutzte Methode der Aktivitätsbestimmung, da bei dieser auch die Phosphorylase in Anwesenheit von Pi wirksam sein kann. Eine exakte quantitative Aussage über die anteilmäßige Funktion beider Enzyme beim Stärkeabbau wie auch bei der Frostresistenz bei gleichzeitiger Analyse von Pi und G-1-P steht aber noch aus.

Das mehrmals beobachtete starke Auftreten einer langsam wandernden Isophosphorylase mit R_f 0,3 bei gleichzeitigem Verschwinden der Hauptbande (Übergänge sind erkennbar) und die spätere Rückwandlung deuten auf eine Isoenzymkonversion hin, wie sie auch bei keimenden, einige Tage lang kühlgehaltenen Kartoffeln auftritt (GERBRANDY *et al.* 1975, SHIRAVAM 1976, dort weitere Lit.). Dort trat aber die Umwandlung des langsameren in das schnellere Isoenzym auf und war verbunden mit Veränderungen des Molekulargewichtes und kinetischer Parameter. Bei den Reben scheint die Konversion auch temperaturabhängig zu sein, dürfte aber keinen Einfluß auf die auf- oder abbauende Richtung des Stärkestoffwechsels haben. Die physiologische Bedeutung ist noch unklar.

Da während der herbstlichen Rückwanderung der Kohlenhydrate oft nur eine schwächere Aktivität der sauren Phosphatase vorlag, scheint diese nur eine geringere Rolle beim Kohlenhydrattransport zu spielen (s. auch WIENHAUS 1969). Das geht auch aus den Untersuchungen an verschiedenen Triebinternodien hervor (SCHAEFER 1980). Ein Hinweis auf die Transportfunktion war bei Jungreben im Mai gegeben, wobei die Stärke vermutlich durch Amylasen abgebaut wurde.

Die stärkere Aktivität des Hauptisoenzymen der sauren Phosphatase Ende Februar bis Mitte März könnte mit der beginnenden Austriebsbereitschaft zusammenhängen. Gleichzeitig mit der zu dieser Zeit vor allem in den Stämmen und Trieben auftretenden Mobilisierung von löslichem Protein aus unlöslichem Pool, gefolgt von einer starken Proteolyse (SCHAEFER 1981), verlief wohl auch eine höhere Mobilisierung von Phosphorsäureestern. Dabei traten Unterschiede zwischen den einzelnen Sorten und Jahren auf, denn sowohl die Proteolyse als auch die Aktivität der Phosphatase waren bereits Ende Januar am stärksten bei der *V. cinerea*-Kreuzung. Bei dieser Sorte dauerten Phosphorylaseaktivität und Stärkeabbau zumindest in den Stämmen noch bis in den März hinein an, so daß das schnellste Isoenzym weiterhin eine erhebliche Wirkung entfaltete.

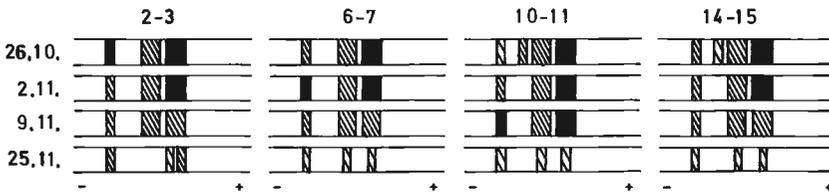


Abb. 8: Herbstliche Veränderungen im Isoenzymmuster der sauren Phosphatase in vier verschiedenen Internodien von 5 C.

Autumnal changes in the pattern of isoenzymes of acid phosphatase in four different internodes of the rootstock variety 5 C.

Zuweilen wurde ein langsam wanderndes Isoenzym der sauren Phosphatase mit R_f von etwa 0,3 sehr stark angefärbt, so auch in den Internodien von 5 C, wo die Farbintensität allmählich von unten nach oben anstieg (Abb. 8). Das zeitliche Erscheinen dieser Bande könnte auf eine Beteiligung an der Frosthärtung hinweisen.

Sofort nach der Rebenveredlung war die Aktivität eines Isoenzym mit R_f 0,42 (wegen starker Konzentration im Edelreis sich weiter hinziehend) äußerst gesteigert (Abb. 7). Das läßt vermuten, daß es weder mit dem Stärkeabbau noch mit dem Zuckerttransport zu tun hat, sondern daß die Phosphatase hier eine Rolle bei der Wundheilung und Kallusbildung spielt. Eine Erhöhung der Enzymaktivität wurde auch in kallusbildenden Stecklingen gefunden. Im Kallus selbst lag die Aktivität sogar noch höher als im zugehörigen Holz (SCHAEFER 1982).

Eine hohe Gesamtaktivität sowie eine starke Anfärbbarkeit eines weiteren, mittelschnellen Isoenzym mit R_f 0,32 wurde in den Wurzeln und eine weniger ansteigende Aktivität dieses oder anderer Isoenzyme in den übrigen Organen der traubentragenden Sorten Ende Juni beobachtet. Der offenbar vorliegende Zusammenhang mit der gerade stattgefundenen Blüte — der Befund wurde nicht bei nichtblühenden Sorten erhoben — läßt annehmen, daß nun besonders in den Wurzeln starke, mit der Phosphatase verbundene Stoffwechselprozesse für die Synthese oder Umbildung von Metaboliten ablaufen, die für die Samenbildung benötigt werden.

Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten werden festzustellen, welche spezifische Rolle der sauren Phosphatase und ihren Isoenzymen in der Rebe zukommt, wobei auch eine Beteiligung an der Frosthärtung in Betracht zu ziehen ist (WIENHAUS 1969, REUTHER 1971, 1975). Da darüber, auch bei anderen Holzgewächsen, bisher sehr wenig bekannt ist, muß zur Zeit die Mitteilung neuer Befunde und ein Versuch ihrer Interpretation genügen. Die Untersuchungen zeigen aber auch, daß bei ähnlichen enzymatischen Arbeiten die elektrophoretische Analyse von großer Bedeutung sein kann.

Zusammenfassung

Die Jahresperiodizität der Phosphorylase und der sauren Phosphatase wurde über mehrere Jahre bei einer Reihe von Rebensorten aus verschiedenen Anlagen untersucht. Eine physiologische Einordnung der Befunde wurde angestrebt.

Die Beteiligung der Phosphorylase an der Stärkesynthese war nur in wenigen Fällen offensichtlich. Die Phosphorylase scheint vorwiegend stärkeabbauende Funktion zu haben. Diese tritt im Herbst meist etwa zur Zeit der Laubverfärbung bis in den Winter hinein, weniger im Frühling auf. Die erste Phase des Stärkeabbaues im Herbst sowie die Amylyse im Frühjahr bei Temperaturen über 5 °C dürfte der Wirkung der Amylase zuzuschreiben sein. Es wird vermutet, daß die Phosphorylase und weniger die Amylase das temperaturabhängige stärkeabbauende System in der Rebe darstellt. Dieses steht eng mit dem Stoffwechsel der anorganischen Phosphate und des Glucose-1-phosphates in Zusammenhang und wird vermutlich auch durch Hormone gesteuert.

In einigen Fällen wurde eine Umwandlung des Hauptisoenzym der Phosphorylase in ein langsam wanderndes beobachtet. Ein Zusammenhang mit dem Stärkemetabolismus war nicht erkennbar.

Eine verstärkte Aktivität der sauren Phosphatase, vor allem des schnellsten Isoenzym, wurde während des Stärkeabbaues, wenn die Phosphorylase sehr aktiv war, beobachtet. Die Aktivität war geringer beim Stärkeabbau, wenn dieser vermutlich durch die Amylase bedingt war, sowie meistens dann, wenn die Phosphorylase während einer Stärkesynthese sehr aktiv war. Eine Beteiligung der Phosphatase am

Zuckertransport war seltener zu erkennen. Die Anfärbungsintensität des schnellsten Isoenzymen war zu Beginn der Bildung von Wurzeln und Trieben einige Wochen nach der Rebenveredlung jedoch gesteigert.

Vor dem Austrieb und im Herbst wurde ein langsames Isoenzym der sauren Phosphatase sehr stark angefärbt. Eine andere sehr aktive Bande trat in Jungreben kurz nach der Veredlung auf; sie dürfte bei der Kallusbildung eine Rolle spielen. Ein weiteres kräftiges Isoenzym sowie eine hohe Gesamtaktivität wurde während der Blütezeit gefunden.

Ich danke dem Forschungsring des Deutschen Weinbaues für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit. Den Herren Dr. SCHUMANN und Dr. FADER danke ich für die Überlassung des Rebenmaterials. Besonderer Dank gebührt Herrn K. MICHELMICHEL für die sehr sorgfältige Durchführung der Analysen.

Literatur

- BARNA, J., 1973: Amylase-Isoenzyme im Rebenholz. Mitt. Klosterneuburg 23, 89—93.
- BEESKOW, H., 1977: Neue Zuchtziele in der Rebenzüchtung, Untersuchungen über die Amylaseaktivität bei *Vitis* zur Entwicklung einer Frühstestmethode für die Frostresistenzzüchtung. Bayer. Landwirtschaft. Jahrb. 54, (Sonderh. 3), 196—209.
- BREWBAKER, J. L., UPADHYA, M. D., MÄKINEN, Y. and MACDONALD, T., 1968: Isoenzyme polymorphism in flowering plants. III. Gel electrophoretic methods and applications. *Physiol. Plant.* 21, 930—940.
- BUTTROSE, M. S., 1969: The dissolution and reaccumulation of starch granules in grape vine cane. *Austral. J. Biol. Sci.* 22, 1297—1303.
- EIFERT, J. and EIFERT, A., 1966: Influence of temperature on the seasonal changes of carbohydrate metabolism during the dormancy of the grape vine. *Nature* 212, 1056—1057.
- FREY, G., 1953: Aktivität und Lokalisation von saurer Phosphatase in den vegetativen Teilen einiger Angiospermen und in einigen Samen. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 63, 390—452.
- GERBRANDY, S. J., SHANKAR, V., SHIVARAM, K. N. and STEGEMANN, H., 1975: Conversion of potato phosphorylase isozymes. *Phytochemistry* 14, 2331—2333.
- GÜNTHER, F. und BURCKHART, O., 1968: Untersuchungen über pflanzliche Phosphatasen. II. Mitt.: Nachweis, Bestimmung und Verteilung der sauren Gesamtphosphatase in der Tomate. *Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch.* 138, 208—212.
- HANES, C. S., 1940: The reversible formation of starch from glucose-1-phosphate catalysed by potato phosphorylase. *Proc. Roy. Soc. London, B*, 129, 174—208.
- NAKAMURA, N., YAMAZAKI, K. and MARUO, B., 1951: Phosphorylase, phosphatase, β -amylase. *J. Agricul. Chem. Soc. Japan* 24, 197—201; 299—309.
- PÄNCZEL, Márta, 1962: Papierchromatographische Untersuchungen des Zuckergehaltes der Rebe. Mitt. Klosterneuburg 12, 124—130.
- PORTER, H. K., 1950: The inhibition of plant phosphorylase by β -amylase and the detection of phosphorylase in barley. *Biochem. J.* 47, 476—482.
- — —, 1953: The inhibition of α -amylase and phosphatase contaminants of potato phosphorylase preparations. *J. Exp. Bot.* 4, 44—52.
- REUTHER, G., 1971: Die Dynamik des Kohlenhydratmetabolismus als Kriterium der Frostresistenz von Obstgehölzen in Abhängigkeit von der Winterruhe. *Ber. Dt. Bot. Ges.* 84, 571—583.
- — —, 1975: Physiologische Kriterien der Klimaresistenz als sortenspezifische Merkmale. *Angew. Bot.* 49, 75—91.
- SAUTER, J. J., 1966: Untersuchungen zur Physiologie der Pappelholzstrahlen. II. Jahresperiodische Änderungen der Phosphataseaktivität im Holzstrahlparenchym und ihre mögliche Bedeutung für den Kohlenhydratstoffwechsel und den aktiven Assimilattransport. *Z. Pflanzenphysiol.* 55, 349—362.
- — —, 1967: Der Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Reservestärke in parenchymatischen Geweben von Baumsproßachsen. *Z. Pflanzenphysiol.* 56, 340—352.
- SCHAEFER, H., 1969: Untersuchungen zur Methodik der Extraktion und Disk-Elektrophorese der Blatteiweiße der Gattung *Vitis*. *Wein-Wiss.* 24, 205—232.

- —, 1977: Über die Extraktion von Proteinen und Enzymen aus verholzten Rebenorganen. I. Extraktion für die elektrophoretische Auftrennung. *Wein-Wiss.* **32**, 269—288.
- —, 1978: der Proteinstoffwechsel der Jungreben in der Rebschule. *Weinberg u. Keller* **25**, 331—352.
- —, 1980: Vergleichende Untersuchungen des Stoffwechsels verschiedener Internodien von 3 Rebsorten. *Wein-Wiss.* **35**, 259—280.
- —, 1981: Der jahreszeitliche Verlauf des Stoffwechsels der löslichen und unlöslichen Proteine in den verholzten Rebenorganen. *Wein-Wiss.* **36**, 3—20.
- —, 1982: Physiologische Untersuchungen zur Veredlungsaffinität und Kallusbildung der Reben. I. Untersuchungen an einfachen und veredelten Stecklingen. II. Analysen des Kallus. *Wein-Wiss.* **37**, 147—160; 219—233.
- SHIVARAM, K. N., 1976: Purification and properties of potato phosphorylase isozymes. *Z. Naturforsch.* **310**, 424—432.
- SIEPMANN, R. und STEGEMANN, H., 1967: Amylasen, Phosphorylase und verwandte Enzyme: Nano-gramm-Nachweis bei der Polyacrylamid- (PAA-)Elektrophorese. *Naturwiss.* **54**, 116—117.
- WIENHAUS, H., 1969: Die Aktivität der Phosphatasen im Rebholz und deren Beziehungen zum Kohlenhydratmetabolismus während verschiedener Temperaturbedingungen in der winterlichen Ruheperiode. *Vitis* **8**, 105—113.
- WILSON, A. M., 1971: Amylase synthesis and stability in crested wheatgrass seeds at low water potentials. *Plant. Physiol.* **48**, 541—546.
- WOLF, J., 1958: Kohlenhydratstoffwechsel massiger Speicherorgane nach Abschluß der Speicherung. In: RUHLAND, W. (Hrsg.): *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Bd. VI, 881—908, Springer-Verlag, Berlin — Göttingen — Heidelberg.
- YAP, F. und REICHARDT, A., 1965: Bestimmung der Amylase-Aktivität im Rebholz nach dem Agar-Diffusionstest. *Mitt. Klosterneuburg, Ser. A*, **15**, 255—261.

Eingegangen am 15. 3. 1982

Dr. H. SCHAEFER
Landes-Lehr- und Forschungsanstalt für
Landwirtschaft, Weinbau und Gartenbau
D 6730 Neustadt