

Über den reifeabhängigen Säure-Zucker-Stoffwechsel bei Beeren von Vitis-vinifera-Sorten, untersucht mit ^{14}C -Verbindungen

VON

H. STEFFAN, A. RAPP, H. ULLEMEYER UND G. KUPFER

Sur le métabolisme des ^{14}C -acides et des ^{14}C -sucres en dépendance de l'état de maturité chez des baies de variétés de Vitis vinifera

Résumé. — Dans des essais à court terme des raisins isolés, provenant des variétés Optima, Morio-Muskat et Riesling, furent soumis quatre fois à une application d'acide malique- ^{14}C . Au fur et à mesure de la maturation l'acide malique est respiré en quantités considérables de CO_2 . Par analogie à cela on constate une formation renforcée de sucres à partir de l'acide malique.

Une augmentation de la température effectue une élévation du taux de respiration de l'acide malique, qui est en effet plus forte que celle du glucose, testé parallèlement, tandis que la décomposition de l'acide tartrique- ^{14}C ne s'avère pas dépendante de la température. L'augmentation de la température ne favorise pas la formation de sucres à partir de l'acide malique. En conséquence l'intensité de la gluconéogenèse ne dépend pas de la température mais uniquement de l'état de maturité de la variété respective. C'est au fur et à mesure de la maturation des baies que l'acide malique est transformé en quantités plus grandes d'acide aspartique que d'acide glutamique.

Einleitung

Zur Charakterisierung von Rebsorten werden außer morphologischen auch physiologische Eigenschaften herangezogen. Dabei ist der Verlauf der Beerenreife ein entscheidender Faktor der Mostqualität. Das Wachstum der Beere von der Anthese bis zur Reife erfolgt in Form einer doppelsigmoiden Kurve und ist durch vier Phasen gekennzeichnet (1, 23, 30), die bei den einzelnen Sorten von unterschiedlicher Dauer sind (1, 6); dies gilt vor allem für die Phase III. Phase III und IV sind physiologisch besonders interessant, weil die Zellteilung abgeschlossen ist (Phase III) und die Zuckereinlagerung beginnt (Phase IV). Korrespondierend dazu nimmt die Säure ab, die bis dahin auf einen Maximalwert (Säuremaximum) angewachsen ist (4, 5, 6, 11, 23). In dieser letzten Phase spielen sich die eigentlichen Reifungsvorgänge in der Beere ab, und sie ist somit der interessanteste Ansatzpunkt für die biochemische Untersuchung des Säure-Zucker-Metabolismus. Im Reifungsverlauf nimmt die Äpfelsäure viel stärker ab als die Weinsäure (4, 5, 11, 25, 31, 34). KLEWER (11) konnte an acht Sorten zeigen, daß die Äpfelsäure eine größere Sortenvariabilität zeigt als die Weinsäure; auf die Sortenabhängigkeit des Äpfelsäureabbaus wiesen auch BURET und FLANZY (2) hin.

Material und Methoden

Die analytischen Daten für die Aufstellung der Reifungskurven werden an Freilandreben der Sorte Riesling und der beiden Neuzüchtungen Morio-Muskat und Optima gewonnen. Für den Tracerversuch mit ^{14}C -markierten Substanzen (L-Äpfelsäure-[U- ^{14}C], DL-Weinsäure-[1,4- ^{14}C], D-Glucose-[U- ^{14}C]) werden die Trauben nach dem Abschneiden in einen Glastopf mit Deckel eingebracht; dieser Behälter ist mit

einer Waschflasche mit 10%iger KOH (zur Absorption des Atmungs-CO₂) und einer Membranpumpe im Kreislauf geschaltet. Die gesamte Versuchsanordnung befindet sich in einem Thermostatschrank. Nach Versuchsende werden die Beeren abgeschnitten, in 80%igem Methanol homogenisiert, zentrifugiert und gefriergetrocknet. Der anschließend in Wasser aufgenommene Beerenextrakt wird mit dem Kationenaustauscher Dowex 50 (H⁺-Form) behandelt, der die Aminosäuren bindet. Diese werden mit 2 n NH₄OH eluiert. Die im Folgeschritt an Dowex 1 (Karbonatform) fixierten organischen Säuren werden mit 2 n (NH₄)₂CO₃ abgelöst. Alle Neutralstoffe, vornehmlich die Zucker, befinden sich im Auslauf der beiden Austauschersäulen. Die getrennten Substanzgruppen Aminosäuren (AS), organische Säuren (OS) und Neutralstoffe (N) werden nach Entfernen der Elutionsmittel im Rotationsverdampfer in wäßrigem Methanol aufgenommen.

Die Messung der Radioaktivität geschieht in einem Flüssigkeits-Szintillationszähler (Mark II, Nuclear Chicago). Verwendeter Szintillations-Cocktail: 10 ml einer Lösung von 5 g NEN Omniflour (98% PPO + 2% bis-MSB) in 1 l Toluol und 5 ml dest. Methanol.

Die Aminosäuren werden nach Auftrennung an einem Aminosäureanalysator in einem Durchfluß-Szintillationszähler LS 20 (Intertechnik), kombiniert mit einem Berthold-Frieskeke-Zähler-Timer und mit einem Drucker, automatisch ausgewertet.

Ergebnisse und Diskussion

In der Abb. sind die Reifungskurven (Säure-Zuckerwerte in mg/Beere) für die Sorten Optima (Neuzüchtung Gf. 33-13-113), Morio-Muskat und Riesling Klon 90 dargestellt.

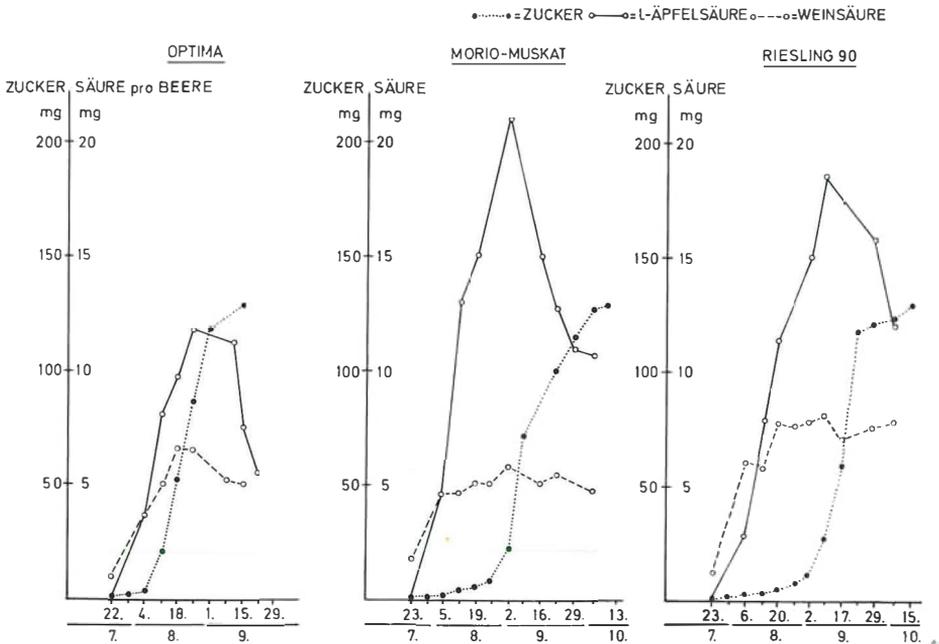


Abb.: Reifungskurven der Sorten Optima, Morio-Muskat und Riesling
 Courbes de la maturation des variétés Optima, Morio-Muskat et Riesling

Hierbei ist der Äpfelsäuregehalt durch einen steilen Anstieg in Phase III, ein Maximum zu Beginn der Phase IV und anschließenden Abfall gekennzeichnet, während die Weinsäurekonzentration meistens schon in Phase III ihren Höchstwert erreicht und sich dann nur noch wenig verändert. Gleichzeitig mit dem Beginn der Äpfelsäureabnahme setzt die Phase der intensiven Zuckereinlagerung ein.

Ursachen der Säureverminderung

Die Abnahme der Äpfelsäure wird von mehreren Faktoren beeinflusst:

1. Das Nachlassen der Säurezulieferung aus den Blättern (24), verbunden mit einer verminderten Fähigkeit zur CO₂-Fixierung (8, 16, 27), erniedrigt den Äpfelsäuregehalt. Dabei wirkt zusätzlich ein Feedback-Mechanismus durch akkumuliertes Malat, der die Enzymsysteme für die Äpfelsäuresynthese beeinflusst (20).
2. Der Anstieg des Kaliumgehaltes in den Beeren bewirkt in geringem Umfang eine Bindung der freien Säure als Mono- und Doppelsalze (15).
3. RQ-Werte über 1,0 weisen auf die Veratmung sauerstoffreicherer Verbindungen, wie z. B. Äpfelsäure, hin (19, 29). Diese Hypothese konnte durch die Versuche von DRAWERT, STEFFAN und RIBÉREAU-GAYON (4, 5, 27, 31) mittels Verfütterung von ¹⁴C-Äpfelsäure gesichert werden.
4. Die Umwandlung von Säure in Kohlenhydrate (Gluconeogenese) vermindert ebenfalls deren Konzentration, wie die gleichen Autoren (4, 5, 27, 31) sowie RUFFNER, KOBLET und RAST (28) mit ¹⁴C-markierten Verbindungen feststellen konnten.
5. Die Änderungen der Enzymaktivität von Malatdehydrogenase, Malic Enzyme, Pyruvat-Decarboxylase, PEP-Carboxylase und PEP-Carboxykinase sind für den Äpfelsäureabbau verantwortlich (8, 20, 22). Im Zusammenhang damit wurden Permeabilitätsänderungen, bedingt durch das Weichwerden der Beeren, diskutiert.
6. Der Einfluß der Tagestemperatur und des Tageslichtes wurde von mehreren Autoren (9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 32, 33) eingehend untersucht.
7. RAPP und KLENERT (26) stellten auch eine Beziehung zwischen der Samenzahl und dem Äpfelsäuregehalt der Beeren fest.

Versuche mit ¹⁴C-Äpfelsäure

Da wir in der Veratmung und in der Gluconeogenese die wichtigsten physiologischen Faktoren für die Säureabnahme sehen, haben wir mit ¹⁴C-Äpfelsäure den reifeabhängigen Abbau dieser Säure studiert. Die Versuche wurden mit isolierten Trauben durchgeführt, um Austauschvorgänge mit dem Sproß zu unterbinden und ausschließlich die Eigenleistung der Trauben zu erfassen. Bei den angeführten drei Sorten wurde jeweils an 4 verschiedenen Terminen während der Phasen III und IV uniform markierte ¹⁴C-Äpfelsäure durch die Schnittstellen der Traubenstiele eingegeben.

Wie die in Tabelle 1 aufgeführten Ergebnisse zeigen, ist bereits 31 oder 32 Tage nach der Blüte (frühes Stadium der Phase III) bei allen Sorten schon eine relativ starke Veratmung der Äpfelsäure festzustellen, repräsentiert durch die Aktivität im Atmungs-CO₂ (62% bei Riesling, 73% bei Optima). Nach dem Säuremaximum setzt eine verstärkte Veratmung ein, die für die untersuchten Sorten bei 87—98% liegt. Diese Ergebnisse stehen in teilweiser Übereinstimmung mit KRIEDEMANN (19), der durch Zusatz von Äpfelsäure zu reifen Beeren eine Erhöhung der CO₂-Produktion um 50%, bei grünen Beeren jedoch keine Steigerung fand. Daß wir auch bei unreifen Beeren eine Veratmung der Äpfelsäure finden, widerspricht jedoch nicht diesen Ergebnissen. Im Tracerversuch, d. h. bei Zufuhr minimaler, quantitativ nicht ins

Tabelle 1

Prozentuale Verteilung der Radioaktivität nach Zuführung von ^{14}C -Äpfelsäure in Beeren verschiedener Sorten
Dunkelversuch, 20 °C)

Pourcentage de distribution de la radioactivité après introduction d'acide malique- ^{14}C dans les baies de variété différentes (essai dans le noir, 20 °C)

	Optima				Morio-Muskat				Riesling			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Termin	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Tage nach der Blüte	32	61	72	79	31	63	71	79	31	64	71	79
Phase	III	IV	IV	IV	III	III	IV	IV	III	III	III	IV
Äpfelsäuregehalt mg/100 g Beeren	320	1180	1030	965	250	2100	1975	1895	96	1395	1840	1975
Gesamtradioaktivität												
% im: Beerenrückstand	8	1	—	—	9	2	1	1	10	3	1	1
Beerenextrakt	19	4	2	2	25	19	3	3	28	28	22	12
Atmungs- CO_2	73	95	98	98	66	79	96	96	62	69	77	87
Aktivität im Beerenextrakt												
% in: Aminosäuren	23	19	22	20	28	22	28	25	34	10	18	12
organischen Säuren	62	60	50	47	59	58	45	46	54	70	65	62
Neutralstoffen	15	21	28	34	13	20	17	29	12	20	17	26

Gewicht fallender Substanzmengen des radioaktiven Präparates, mißt man die normal vorhandene Malatdissimilation. Diese wird im unreifen Stadium noch nicht durch eine Zugabe von Äpfelsäure stimuliert, da Synthese- und Einlagerungsvorgänge dominieren. Erst im Reifestadium, wo durch die Änderung der Permeabilitätsverhältnisse und der Enzymaktivität (8) die Säureverminderung eintritt, wird auch durch zugesetzte Äpfelsäure eine Erhöhung der Veratmungsrate erreicht.

Die Umwandlung der Äpfelsäure in andere Inhaltsstoffe wird durch die Aktivitätsverteilung im Beerenextrakt angegeben. Zum ersten Termin werden bei allen drei Sorten viel Aminosäuren gebildet (23, 28, 34%). Zu späteren Zeitpunkten zeigt sich bei Optima eine geringere, aber ziemlich konstante Markierung (19, 22, 20%), ebenso wie Morio-Muskat über den ganzen Zeitraum ein gleiches Markierungsmuster aufweist (28, 22, 28, 25%). Beim Riesling wird später die geringste Aktivität in den Aminosäuren gefunden (10, 18, 12%).

Tabelle 2

Verteilung der Radioaktivität in den Hauptaminosäuren nach Verfütterung von ^{14}C -Äpfelsäure (Morio-Muskat: Dunkelversuch, 30 °C)
 Pourcentage de distribution de la radioactivité dans les amino-acides principaux après introduction d'acide malique- ^{14}C (Morio-Muskat, essai dans le noir, 30 °C)

Tage nach der Blüte	spezifische Aktivität (imp/mg)		Aktivitätsverhältnis
	Glu	Asp	Glu : Asp
31	73 800	46 400	1 : 0,6
63	10 100	7 000	1 : 0,7
79	24 050	24 450	1 : 1,0

Die Hauptmenge der Radioaktivität innerhalb der Aminosäurenfraktion ist in Glutaminsäure (Glu) und Asparaginsäure (Asp) inkorporiert. Die spezifische Aktivität gibt eine Auskunft über die je mg Aminosäuren eingebauten ^{14}C -Atome aus dem Äpfelsäurerüst. Bringt man die in Tabelle 2 angegebenen Werte zueinander in Beziehung (Glutaminsäure = 1 gesetzt), so zeigt sich während der Reifungsperiode eine vermehrte Bildung von Asparaginsäure aus Äpfelsäure, was allen drei Sorten gemeinsam ist. Dies läßt den Schluß zu, daß Äpfelsäure verstärkt unter Mitwirkung der Malatdehydrogenase zu Oxalacetat abgebaut wird, woraus durch Transaminierung dann Aspartat entsteht. Der durch das Malatenzym katalysierte Abbau hingegen führt von Äpfelsäure direkt zu Pyruvat und CO_2 . Der verstärkte Abbau der Äpfelsäure bewirkt, daß mit fortschreitender Reife mehr Radioaktivität in der Zuckerfraktion erscheint — ein Zeichen für den vermehrten Anteil der Gluconeogenese aus der Äpfelsäure. Obwohl der 3. Termin in Tabelle 1 etwas abweichende Werte zeigt, ist bei allen drei Sorten die Tendenz ersichtlich, daß die Metabolisierung von Malat zu Kohlenhydraten mit fortschreitender Reife zunimmt. Bei Optima nimmt der Zuckeranteil im Beerensaft von 15% über 21 und 28 auf 34% zu.

Um die Menge des umgewandelten Malats zu errechnen, setzt man den gefundenen Anteil an Radioaktivität mit der bei Versuchsanfang vorhandenen Menge Äpfelsäure in Beziehung. In Tabelle 3 sind die für die Sorten Riesling und Morio-Muskat errechneten Werte angegeben. Danach werden im Beispiel des Rieslings jeweils 60, 270, und 410 mg Äpfelsäure/1000 g Beeren in Aminosäuren und zu den gleichen Zeitpunkten jeweils 20, 550 und 880 mg Äpfelsäure in Zucker umgewandelt. Der Anteil in der Fraktion der organischen Säuren ist mit nicht dissimilierter Äpfelsäure gleichzusetzen, da in den radioaktiven Versuchen nur wenig andere markierte Säuren (Spuren von Bernsteinsäure und Citronensäure) gefunden wurden.

Tabelle 3

Umwandlung von Äpfelsäure zu Aminosäuren und Neutralstoffen während der Reifeperiode (Dunkelversuch, 30 °C, 15 h)
Transformation d'acide malique en amino-acides et constituants neutres au cours de la maturation (essai dans le noir, 30 °C, 15 h)

Tage n. d. Blüte	Morio-Muskat			Riesling 90		
	24. 7. 69	25. 8. 69	10. 9. 69	24. 7. 69	25. 8. 69	9. 9. 69
	31	63	79	31	63	78
	mg Äpfelsäure/1000 g Beeren					
in Aminosäuren	180	880	140	60	270	410
in Neutralstoffen	80	800	170	20	550	880

Wie bereits angeführt, wirkt sich auch die Temperatur auf die Verminderung der Säuren in Weinbeeren aus. So konnten KLIEWER und LIDER (13, 15) feststellen, daß bei den während der Vegetationsperiode im Phytotron unter kontrollierten Temperatur- und Lichtbedingungen stehenden Topfbereben die Äpfelsäure bei höheren Temperaturen (30 °C) stärker abnahm als bei niedrigen (15 °C). Das Licht ist von weit geringerem Einfluß, obwohl natürlich durch die absorbierte Strahlung eine Erwärmung in den Beeren eintritt (9, 14). Um den Einfluß der Temperatur auf die unter unseren Bedingungen gemachten Versuche zu studieren, wurden isolierte Trauben 15 Stunden lang bei 10, 20 und 30 °C mit radioaktiver Äpfelsäure und parallel dazu mit Glucose und Weinsäure gefüttert. Die Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse, wonach eine eindeutige Steigerung der Veratmungsrate, dokumentiert durch die Radioaktivität im aufgefangenen Atmungs-CO₂, mit der Erhöhung der Temperatur eintritt.

Tabelle 4

Prozentuale Verteilung der Radioaktivität bei isolierten Trauben (Morio-Muskat; Dunkelversuch, 15 h)
Pourcentage de distribution de la radioactivité chez des raisins isolés (Morio-Muskat, essai dans le noir, 15 h)

Versuchstemperatur °C	Beerenstiel	Beerenrückstand	Beerenextrakt	Atmungs-CO ₂
¹⁴ C-Glucose				
10	60	2	33	5
20	66	2	10	22
30	52	2	10	36
¹⁴ C-Äpfelsäure				
10	76,5	0,5	4	19
20	57,7	0,3	2	40
30	36,0	1,0	4	59
¹⁴ C-Weinsäure				
10	93	0,5	3,0	3,5
20	95	0,2	0,8	4,0
30	90	1,0	5,0	4,0

Davon ist die zugeführte Äpfelsäure stärker betroffen als die zugeführte Glucose. Die Äpfelsäureveratmung nimmt linear mit dem Temperaturgradienten zu (bis gegen 60%), während Glucose nur bis zu maximal 36% Atmungs-CO₂ ergibt. Dies steht in Übereinstimmung mit den analytischen Daten, da die Zucker ja bevorzugt eingelagert und nicht veratmet werden. LEFÈBVRE und RIBÉREAU-GAYON (21) konnten in einem Versuch mit ¹⁴C-Glucose zeigen, daß die spezifische Aktivität im Atmungs-CO₂ abnimmt — ein Zeichen dafür, daß mit steigender Temperatur andere Atmungssubstrate bevorzugt angegriffen werden. Die in Tabelle 4 dargestellten Ergebnisse zeigen, daß die Weinsäure nur geringfügig und unabhängig von der Temperaturhöhe zu CO₂ dissimiliert wird. Der hohe Aktivitätsanteil im Beerenstiel spricht für einen schlechteren Transport, eventuell bereits eine stärkere Bindung als Salz (3). Wie wir in früheren Arbeiten erwähnten (4, 5, 31), ist erst bei längerer Versuchszeit (20—60 h) eine deutlichere Aktivität durch Veratmung der Weinsäure nachweisbar. Auch in Temperaturversuchen, die sich über 24 h erstreckten, ließ sich ebenfalls keine sichere Beziehung feststellen, trotz höherer Ausbeute an aktivem CO₂. Die Ergebnisse waren schwankend, und in einigen Fällen wurde sogar bei erhöhter Temperatur weniger Weinsäure veratmet. Die gleiche Beobachtung konnten auch KLIOWER und LIDER (15) bei Topfreben im Phytotron machen, wonach für Weinsäure eine, wenn auch ungenügend gesicherte, negative Korrelation zur Temperatursteigerung besteht. Wahrscheinlich spielt die beobachtete Translokationsschwierigkeit der Weinsäure eine Rolle, so daß die Dissimilation auch von der Geschwindigkeit abhängt, mit der das Substrat nachgeliefert wird.

In Tabelle 5 ist die Verteilung der Radioaktivität im Beerenextrakt auf die Fraktionen Aminosäuren (AS), organische Säuren (OS) und Neutralstoffe (N) angegeben. Entsprechend der niedrigeren Veratmungsrate von zugeführter Glucose ist

Tabelle 5

Prozentuale Verteilung der Radioaktivität im Beerenextrakt von isolierten Trauben (Morio-Muskat; Dunkelversuch, 15 h)
 Pourcentage de distribution de la radioactivité dans l'extrait provenant de raisins isolés (Morio-Muskat, essai dans le noir, 15 h)

Versuchstemperatur °C	¹⁴ C-Äpfelsäure			¹⁴ C-Glucose		
	AS	OS	N	AS	OS	N
10	14	64	22	3	24	73
20	20	62	18	5	30	65
30	15	68	17	5	20	75

auch der in der Beere verbleibende Anteil hoch (65—75% in N). Die Aktivität innerhalb der Fraktion organische Säuren findet sich zu über 90% in der Äpfelsäure, als Folge des Abbaues über den Krebszyklus. Dabei erhält man eine erhöhte Einbaurrate bei 20 °C. Offensichtlich ist bei dieser Temperatur die Säurebildung aus Glucose, die sowohl von der Intensität der Glykolyse als auch von der CO₂-Refixierung abhängt, gegenüber höherer und niedrigerer Temperatur begünstigt.

An Enzymextrakten aus grünen Beeren wurde von LAKSO (20) die Temperaturabhängigkeit der CO₂-Fixierung studiert; dieser Autor findet unterhalb 30 °C eine höhere Nettosynthese von Äpfelsäure als oberhalb dieser Temperatur. Für reife Beeren kann daraus jedoch kein Analogieschluß gezogen werden, da vom Säuremaximum an die Dissimilation der Äpfelsäure generell bevorzugt ist.

Eine Temperaturerhöhung fördert die Umwandlung der zugeführten ¹⁴C-Äpfelsäure in Zucker nicht, sondern es zeigt sich sogar eine gering fallende Tendenz. Bei

10 °C sind 22% und bei 30 °C 17% der Radioaktivität des Beerenextraktes in der Neutralfraktion enthalten, wobei Glucose stärker markiert ist als Fructose, etwa im Verhältnis 5 : 4 (31). Somit hat sich gezeigt, daß für die Gluconeogenese aus Äpfelsäure bei den *in-vitro*-Versuchen nicht die Temperaturerhöhung, sondern das jeweilige Reifestadium von entscheidender Bedeutung ist (Tabelle 1).

Bei den geschilderten Versuchen handelt es sich um Untersuchungen der durch die Schnittstelle des Traubenstieles zugeführten Äpfelsäure. Da es Anzeichen dafür gibt, daß Säure und Zucker in den verschiedenen Teilen der Traubenbeere unterschiedlich metabolisiert werden können (7, 8), haben wir unsere Untersuchungen dem Vorhandensein unterschiedlicher Malatpools zugewandt, womit sich eine in Vorbereitung befindliche Arbeit befaßt.

Zusammenfassung

In Kurzzeitversuchen wurde an isolierten Trauben der Sorten Optima, Morio-Muskat und Riesling zu 4 Terminen ¹⁴C-Äpfelsäure appliziert. Die Äpfelsäure wird mit fortschreitender Reife stärker zu CO₂ veratmet. Analog dazu werden aus der Äpfelsäure in verstärktem Maße Zucker gebildet.

Die Veratmungsrate von Äpfelsäure erhöht sich auch mit steigender Temperatur, und zwar stärker als bei der parallel dazu eingesetzten ¹⁴C-Glucose, während der Abbau von ¹⁴C-Weinsäure keine Temperaturabhängigkeit zeigt. Die Bildung von Zuckern aus Äpfelsäure wird durch die Temperaturerhöhung nicht gefördert. Somit ist die Intensität der Gluconeogenese nicht von der Temperatur, sondern nur vom Reifegrad der jeweiligen Sorte abhängig. Mit fortschreitender Beerenreife entsteht aus Äpfelsäure mehr Asparaginsäure als Glutaminsäure.

Literaturverzeichnis

1. ALLEWELDT, G., 1972: Die Qualitäts- und Ertragsbildung von Neuzuchten. Weinberg u. Keller 19, 139—156.
2. BURET, M. et FLANZY, C., 1970: Évolution de l'acide malique au cours de la fermentation intracellulaire de baies de raisin placées en anaérobiose, à l'obscurité: Influence du cépage et de la température. C. R. Séances Acad. Agric. France 56, 418—422.
3. CARLES, J. et ALQUIER-BOUFFARD, A., 1962: Les acides organiques de la vigne et leurs gradients. C. R. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D 254, 925—927.
4. DRAWERT, F. und STEFFAN, H., 1965: Biochemisch-physiologische Untersuchungen an Traubenbeeren. II. Verteilung und Veratmung von zugeführten ¹⁴C-Verbindungen. Vitis 5, 27—34.
5. — — — — —, 1966: Biochemisch-physiologische Untersuchungen an Traubenbeeren. III. Stoffwechsel von zugeführten ¹⁴C-Verbindungen und die Bedeutung des Säure-Zucker-Metabolismus für die Reifung von Traubenbeeren. Vitis 5, 377—384.
6. EICHHORN, K. W., 1971: Die Ertragsstruktur und das Beerenwachstum der Reben. Diss. Univ. Stuttgart-Hohenheim.
7. HARDY, P. J., 1968: Metabolism of sugars and organic acids in immature grape berries. Plant Physiol. 43, 224—228.
8. HAWKER, J. S., 1969: Changes in the activities of malic enzyme, malate-dehydrogenase, phosphopyruvate-carboxylase and pyruvate-decarboxylase during the development of a non-climacteric fruit (the grape). Phytochemistry 8, 19—23.
9. KLENERT, M., 1975: Die Beeinflussung des Zucker- und Säuregehaltes von Traubenbeeren durch künstliche Veränderungen der Umweltbedingungen. Vitis 13, 308—318.
10. KLEWER, W. M., 1964: Influence of environment on metabolism of organic acids and carbohydrates in *Vitis vinifera*. I. Temperature. Plant Physiol. 39, 869—880.
11. — — — — —, 1965: Changes in the concentration of malates, tartrates, and total free acids in flowers and berries of *Vitis vinifera*. Amer. J. Enol. Viticult. 16, 92—100.
12. — — — — —, 1968: Effect of temperature on the composition of grapes grown under field and controlled conditions. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 93, 797—806.
13. — — — — —, 1971: Effect of day temperature and light intensity on concentration of malic and tartaric acids in *Vitis vinifera* L. grapes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 96, 372—377.

14. — — and LIDER, L. A., 1968: Influence of cluster exposure to the sun on the composition of Thompson Seedless fruit. *Amer. J. Enol. Viticult.* 19, 175—184.
15. — — and — —, 1970: Effects of day temperature and light intensity on growth and composition of *Vitis vinifera* L. fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 95, 766—769.
16. — — and SCHULTZ, H. B., 1964: Influence of environment on metabolism of organic acids and carbohydrates in *Vitis vinifera*. II. Light. *Amer. J. Enol. Viticult.* 15, 119—129.
17. KOBAYASHI, A., FUKUSHIMA, T., NII, N. and HARADA, K., 1967: Studies on the thermal conditions of grapes. VI. Effects of day and night temperatures on yield and quality of Delaware grapes. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 36, 373—379.
18. — —, YUKINAGA, H. and MATSUNAGA, E., 1965: Studies on the thermal conditions of grapes. V. Berry growth, yield and quality of Muscat of Alexandria as affected by night temperature. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 34, 152—158.
19. KRIEDEMANN, P. E., 1968: Observations on gas exchange in the developing Sultana berry. *Austral. J. Biol. Sci.* 21, 907—916.
20. LAKSO, A. N., 1974: The influence of temperature on malic acid metabolism in grape berries. *Diss. Univ. Calif., Davis, Calif., USA.*
21. LEFÈVRE, A. et RIBÉREAU-GAYON, P., 1970: La fixation et le dégagement de CO₂ par *V. vinifera*; leurs relations avec les voies du métabolisme. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D* 270, 1727—1729.
22. MEYNHARDT, J. T., 1965: Biosynthesis of dicarboxylic acids through carbon dioxide fixation by an enzyme extract from Barlinka grape berries. *S. Afr. J. Agricult. Sci. (Praetoria)* 8, 381—392.
23. NITSCH, J. P., PRATT, C., NITSCH, C. and SHAULIS, N. J., 1963: Natural growth substances in Concord and Concord Seedless grapes in relation to berry development. *Amer. J. Bot.* 47, 566—576.
24. Peynaud, E. and MAURIE, A., 1958: Synthesis of tartaric and malic acids by grape vines. *Amer. J. Enol. Viticult.* 9, 32—35.
25. DU PLESSIS, C. S., 1968: Changes in the major organic acids of ripening grapes. *S. Afr. J. Agricult. Sci. (Praetoria)* 11, 237—247.
26. RAPP, A. und KLENERT, M., 1974: Einfluß der Samen auf die Beerenreife von *Vitis vinifera* L. *Vitis* 13, 222—232.
27. RIBÉREAU-GAYON, P. et RIBÉREAU-GAYON, G., 1969: Études biochimiques sur la composition du raisin et ses variations. *Rev. Franç. Oenol.* 9 (35), 5—16.
28. RUFNER, H. P., KORBLET, W. und RAST, D., 1975: Gluconeogenese in reifenden Beeren von *Vitis vinifera*. *Vitis* 13, 319—328.
29. SAULNIER-BLACHE, P., 1963: Étude du développement du raisin. I. Croissance, accumulation des protéines et respiration pendant le passage de la phase végétative à la maturation. *Ann. Physiol. Vég.* 5, 217—228.
30. — — et BRUZEAU, F., 1967: Développement du raisin. III. Nouvelles recherches sur la croissance et la respiration pendant le passage de la phase de croissance végétative à la maturation. *Ann. Physiol. Vég.* 9, 179—196.
31. STEFFAN, H., 1968: Untersuchungen über Veränderungen von Inhaltsstoffen in reifenden Beeren der Rebe mit ¹⁴C-Verbindungen. *Diss. Univ. Karlsruhe.*
32. WEINAR, R., 1965: Der Einfluß der Temperatur auf die Bildung von Zucker, Äpfelsäure und Weinsäure in Weintrauben. *Ber. Dt. Bot. Ges.* 78, 314—321.
33. — —, 1967: Weitere Untersuchungen zum Einfluß der Temperatur auf die Bildung von Äpfelsäure in Weinbeeren. *Ber. Dt. Bot. Ges.* 80, 447—450.
34. — —, 1969: Untersuchungen zum Säurestoffwechsel reifender Beeren von *Vitis vinifera* L. *Flora, Abt. A* 160, 211—216.

Eingegangen am 27. 8. 1975

Dr. H. STEFFAN
 Dr. A. RAPP
 BFA für Rebenzüchtung
 Geilweilerhof
 6741 Siebeldingen