

Reaktionen in Organen der Weinrebe auf die Applikation von Stoffwechselhemmstoffen und Entkopplern während der Reifephase

VON

H. WIENHAUS

Responses in organs of the grape-vine to the application of metabolism inhibiting factors and uncouplers during ripening process

S u m m a r y . — Six agents influencing plant respiration were applied to grape berries and other parts of the vine by different methods. Inactive in every respect were Gly and Az. The effect of the remaining agents was greatly dependent on the method of application. Fac clearly initiated peduncle necrosis (Stiellähme). Decreased berry weights, lower contents of reducing sugars and potassium and a higher concentration of titrable acidity and calcium in fruits were ascertained after Fac treatment. These effects may be considered as direct responses to the agent or as consequences of the peduncle damage.

The treatment with Mal did not influence berry weights but ripening process was affected in regard to accumulation of sugars and reduction of acidity which did not reach the extent stated in untreated berries.

An increasing number of the berries showed a brown discolouration of the skins during Flu application. This inhibitor also diminished the ascending of the berry weights and the process of sugar accumulation in the berries. Decreases of titrable acidity and of calcium content as an effect of Flu were only significant, when they were related to a certain number of berries.

After treatment with CCP the increase of berry weights corresponded with the ascending yields of reducing sugars, titrable acidity, potassium and calcium. While these effects were in part significant, no significant effects of CCP on the concentration of these berry components were ascertained.

The cell-physiological causes of peduncle necrosis were discussed in regard to the promoting action of Fac.

Einleitung

Seit der Veröffentlichung der Versuchsergebnisse von GERBER (9) hat man dem Atmungsvorgang in der Traubenbeere und besonders den Substraten, die der Speisung dieses zentralen Stoffwechselprozesses dienen, Aufmerksamkeit geschenkt. Wie neuere Untersuchungen zeigten, wird während der Zuckerakkumulation in den Beeren (vierte Entwicklungsphase in Anlehnung an NITSCH *et al.* (29)) sowohl Zucker (13) wie auch Äpfelsäure (33) veratmet. Die Gehalte dieser beiden Inhaltsstoffe können in Abhängigkeit von den Wärmeverhältnissen während der Reife erheblich variieren, und man nimmt an, daß insbesondere die Respiration der Äpfelsäure durch Temperaturänderungen zu beeinflussen ist (z. B. 1, 5, 22, 25). Die vorliegenden Untersuchungen sollten klären, ob anders geartete Einwirkungen auf die Atmungsvorgänge, und zwar solche, die durch Stoffwechselinhibitoren verursacht werden, die endgültigen Gehalte an titrierbarer Säure und an Zucker verändern und welche sonstigen Reaktionen auf diese Substanzen bei Weinbeeren und anderen Organen des Rebstockes auftreten.

Eingesetzt wurden im einzelnen:

2 Hemmstoffe der Glykolyse: Flu und Gly;

2 Hemmstoffe, die in den Zitronensäurezyklus eingreifen: Fac und Mal;

1 Entkoppler der oxydativen Phosphorylierung: CCP;

1 Hemmstoff des Elektronentransportes, der auch die oxydative Phosphorylierung entkoppelt: Az¹⁾.

Flu soll besonders ein Enzym der anaeroben Glycolyse, nämlich die Enolase durch die Bildung eines inaktiven Magnesium-Fluorophosphat-Enzymkomplexes hemmen. Auch andere glycolytische Enzyme, deren Aktivitäten vom Cofaktor Magnesium abhängig sind, sollen in ähnlicher Weise mit Flu reagieren. Darüber hinaus beeinflußt Flu auch Reaktionsschritte des Krebscyclus und die Aktivität der Phosphatasen. In zahlreichen Pflanzengeweben (Kartoffeln, Haferkoleoptilen usw.) konnte als Folge dieser Einzelwirkungen eine Minderung der Atmung nach Flu-Zugabe beobachtet werden (11). In Geweben mit aktiver Photosynthese steigerte Flu bis zum Auftreten sichtbarer Schädigungen die Atmung (28).

Gly ist ein sehr spezifischer Hemmstoff der Glycolyse. Bei Anwesenheit dieser Substanz im Zellplasma soll L-Sorbose-1-Phosphat gebildet werden. Die letztgenannte Verbindung hemmt dann die Phosphorylierung der Glucose. Die Hemmwirkung von Gly wurde allerdings bisher nicht in Zellen höherer Pflanzen, sondern in Gehirn-, Muskel- und Hefezellen beobachtet (20, 39).

Fac blockiert den Citratcyclus. Es kondensiert zunächst mit der Oxalessigsäure zu Fluorzitronensäure. Diese Verbindung wird dann an die Aconitase angelagert, aber nicht metabolisiert. So kann Zitronensäure über den Cyclus nicht weiter umgesetzt werden. Als Folge dieser kompetitiven Hemmwirkung war eine verminderte Sauerstoffaufnahme bei Hefezellen, Kartoffelscheiben, Haferkoleoptilen etc. zu beobachten (11, 27). Auch soll es nach Zufuhr von Fac zu einer Anhäufung von Zitronensäure in den Pflanzenzellen kommen (32). Hohe Gehalte an Essigsäure nach einer derartigen Blockierung des Stoffwechsels wurden bisher nur in tierischen Zellen nachgewiesen (3). Fac wird aufgrund dieser Wirkung als spezifischer Indikator für den Ablauf des Krebscyclus benutzt (11).

Mal hemmt den Citratcyclus, indem es anstelle der Bernsteinsäure an die Succinatdehydrogenase angelagert, aber nicht umgesetzt wird. Diese Reaktion führt ebenfalls zu einer Abnahme der Atmung in pflanzlichen Geweben und unter Umständen zu einer Anhäufung von Succinat (11). Auch diese Hemmwirkung ist sehr spezifisch. Mit ihr wurde — ebenso wie mit Fac — die Existenz des Krebscyclus in bestimmten Geweben nachgewiesen.

CCP gilt als einer der stärksten Entkoppler der oxydativen Phosphorylierung. Darüber hinaus hemmt dieses Reagenz auch die cyclische Photophosphorylierung in Chloroplasten. Es setzt im Pflanzengewebe die Geschwindigkeit des Wachstums und der Transportprozesse herab und regt die Atmung an (18).

Az unterbricht die Endoxydation, weil es mit den Metall-Cytochrom-Oxydasen reagiert (4). Es hemmt wohl auch andere Glieder der Atmungskette durch eine komplexe Bindung von Schwermetallen und entkoppelt die oxydative Phosphorylierung. Seine Wirkung ist der des Cyanids sehr ähnlich (11).

Material und Methoden

Die Versuche wurden mit Weinstöcken bzw. Weinbeeren der Sorte Riesling ausgeführt. Um den jeweiligen Reifezustand bis zur späteren Analyse zu fixieren, gaben wir die zu untersuchenden Beeren in Drahtbügel-Verschlußflaschen und pasteurisierten sie zum Teil mit Wasserzusatz bei 100⁰ C 20 Minuten lang. Vor der

¹⁾ Abkürzungen:

Flu = Fluorid (Na-Salz); Gly = DL-Glycerinaldehyd; Fac = Fluoressigsäure (Na-Salz); Mal Malonsäure; CCP = Carbonylcyanid m-Chlorphenylhydrazon; Az = Azid (Na-Salz).

Untersuchung wurden die Beeren zerkleinert. Den so erhaltenen Brei verdünnten wir mit destilliertem Wasser auf ein bestimmtes Volumen. Diese eingestellte Suspension wurde dann für die Dauer von mindestens 24 Stunden in den Eisschrank gestellt, gelegentlich umgeschüttelt und anschließend filtriert. In einem Aliquot des Filtrates wurden dann die verschiedenen Traubeninhaltsstoffe ermittelt. Für die Bestimmung der reduzierenden Zucker benutzten wir die Methode nach HENNIG (16).

Die titrierbare Gesamtsäure wurde maßanalytisch mit Natronlauge bestimmt, deren Normalität sich nach der Konzentration der Säuren im Filtrat richtete. Die Kalium- und Calciummengen wurden in den Filtraten, die nach obiger Beschreibung gewonnen worden waren, flammenphotometrisch gegen eine Wasserreihe gemessen.

Versuchsbedingungen und Versuchsergebnisse

Drei unterschiedliche Applikationsverfahren wandten wir bei den Untersuchungen an.

Verfahren I (Einwirkung der Mittel auf lagernde Traubenbeeren)

Von 3 Weinstöcken schnitten wir eine größere Anzahl Beeren am Beerenstielchen ab. Nachdem dieses Ausgangsmaterial gut vermischt worden war, wurden aus dem Bestand Gruppen von 200 Beeren für eine Hemmstoffbehandlung bzw. für die Kontrolle gebildet. Die Beeren wurden sodann in Petrischalen gelegt, die einen Brei enthielten, der aus Wasser bzw. Hemmstofflösung und Kieselgur bestand. [Allen Flüssigkeiten war etwas Tween 20 (1 Tropfen auf 250 ml) zugegeben]. Diese Masse bedeckte die Beeren nicht vollständig. Das Einlegen erfolgte in der Weise, daß die Beerenstielchen sich im Kieselgurbrei befanden. Zur Vermeidung eines Befalls durch den Botrytispilz wurden alle Petrischalen einige Male mit 0,3%iger Chinosol-lösung besprüht. Der Versuch begann am Tage der Beerenernte am 16. 9., und

Tabelle 1

Die Abnahme der reduzierenden Zucker und der titrierbaren Säure unter der Einwirkung verschiedener Atmungshemmstoffe und Entkoppler während der Lagerung von Rieslingbeeren

Decreases of reducing sugars and titrable acidity in Riesling berries influenced by inhibitors of dissimilation and uncouplers

Behandlung	reduzierende Zucker				Titrierb. Säure, berechnet als Äpfelsäure			
	in 200 Beeren		in 200 g Beerenmasse		in 200 Beeren		in 200 g Beerenmasse	
	g	rel.	g	rel.	g	rel.	g	rel.
Ko 1V ¹⁾	14,4	100	15,4	100	3,93	100	4,18	100
Ko 2V ¹⁾	14,4		15,4		3,90		4,18	
Ko 1 ²⁾	13,1	90,6	13,2	85,9	3,43	87,7	3,47	83,1
Ko 2 ²⁾	13,9	96,4	14,0	91,0	3,52	90,0	3,55	84,9
Ko 3 ²⁾	13,7	95,3	13,8	89,4	3,42	87,4	3,43	82,0
Az 1 mM	13,6	94,2	13,5	87,8	3,55	90,6	3,53	84,5
CCP 0,01 mM	13,1	90,7	13,4	87,3	3,49	89,2	3,59	85,9
Mal 5 mM	13,4	92,7	13,4	87,1	3,53	90,1	3,48	83,1
Fac 5 mM	12,9	89,3	13,8	89,9	3,36	85,9	3,61	86,4
Gly 5 mM	14,0	97,2	13,9	90,4	3,45	88,0	3,42	81,9

¹⁾ Gehalte bei Beginn des Versuches. Ko = Kontrolle.

²⁾ Gehalte nach Lagerung ohne Wirkstoffzugaben.

wurde am 23. 9., also nach 7 Tagen, abgebrochen. Die Beeren aus den einzelnen Versuchs- und Kontrollgruppen wurden in Drahtbügelverschlußflaschen gegeben und pasteurisiert. Ebenso war mit 2×200 Beeren verfahren worden, die wir vor der Behandlung aus dem Bestand entnommen hatten.

Der Vergleich der Werte in Tabelle 1 zeigt, daß kein Mittel den Verbrauch an Zucker oder Säure während der Lagerung in auffälliger Weise verändert hat. Lediglich die Verbrauchswerte für die Atmung unter dem Einfluß von Fac zeigen einige Besonderheiten. Hier ist der Schwund beim Bezug auf Beerenmasse etwa gleich groß wie beim Bezug auf die Beerenzahl. In allen anderen Fällen ergeben sich wesentlich größere Atmungsverluste, wenn man auf Beerenmasse berechnet, als bei der Berechnung auf Beerenzahl.

Mit der Annahme, daß beim Fac-Versuch während der Lagerung der Zellsaft konzentriert worden ist, die Beeren also Wasser abgegeben haben, wäre diese Wirkung des Mittels erklärbar.

Verfahren II (Zufuhr der Mittel mit dem Transpirationsstrom)

Im Weinberg schnitten wir Rutenstücke und gaben sie sofort mit der Schnittstelle in Wasser. Anschließend wurden diese Ruten so beschnitten, daß an jedem Stück 1 Traube und 3 Blätter blieben. Je drei dieser Rutenstücke stellten wir sodann in ein Gefäß, das Wasser (Kontrolle) oder ein in Wasser gelöstes Mittel enthielt.

Dieser Versuch begann am 17. 9. und endete am 26. 9.; er erstreckte sich also über 9 Tage. Vor Beginn und am Ende der Behandlung wurden 20 Beeren von jeder Traube abgeschnitten und für die Aufbewahrung bis zur späteren Analyse in Nährbodenflaschen pasteurisiert. Wegen der außerordentlich großen Unterschiede zwischen den Zucker- und Säurewerten der einzelnen Trauben stellten wir in der Ab-

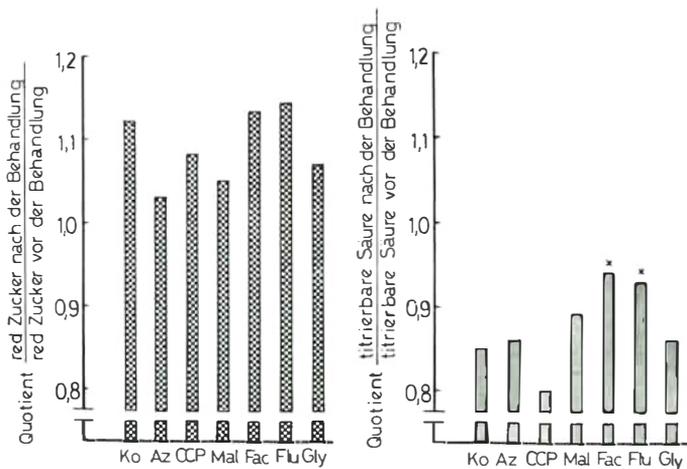


Abb. 1: Die relativen Veränderungen der Zucker- und Säuregehalte in Weinbeeren nach Zufuhr verschiedener Atmungshemmstoffe und Entkoppler über den Transpirationsstrom. x = signifikant bei Annahme von 5% Irrtumswahrscheinlichkeit. Konzentrationen der Mittel siehe Tab. 2.

The relative changes of the sugar contents and the amounts of titratable acidity in grape berries after application of respiratory inhibitors and uncouplers to grape berries with the transpiration stream. x = significant at the 5% level. Concentration of the agents in water see Tab. 2.

Tabelle 2

Blattbeschaffenheit an Rebtriebstücken, denen verschiedene Atmungshemmstoffe und Entkoppler mit dem Transpirationsstrom zugeführt wurden

The nature of leaves on vine shoots, to which respiratory inhibitors and uncouplers were applied with the transpiration stream

Behandlung der Triebe mit	Blattbeschaffenheit am . . .ten Tag nach Versuchsbeginn	
	2. Tag	3. Tag
Kontrolle	tr II II	tr II II I
	tr II II II	tr II II II
	tr II II II	tr II II II
Az (1 mM)	oB	} Blätter teilweise } am Rande } vergilbt
	oB	
	oB	
CCP (0,01 mM)	oB	oB
	oB	oB
	oB	oB am Rande tr
Mal (5 mM)	oB	} Beginnende } Bräunung in den } Intercostalfeldern
	oB	
	oB	
Fac (5 mM)	Bräunung	tr II II I
	in den	tr II II II
	Intercostalfeldern	tr II II II
Flu (10 mM)	oB	tr II I
	tr II II II	tr II II II
	tr II	tr II I
Gly (5 mM)	tr II II II	tr II II II
	tr II	tr II II
	tr II	tr II

oB = ohne Befund; tr I = ein Blatt zur Hälfte vertrocknet, tr II = ein Blatt völlig vertrocknet, usw. bis tr II II II = drei Blätter völlig vertrocknet.

bildung 1 nicht die absoluten Werte, sondern die Quotienten $N : V$, d. h. die Gehalte nach der Behandlung : die Gehalte vor der Behandlung, dar. Weiterhin bonitierten wir bei diesen Triebstücken auch die Veränderungen an Blättern und Trauben.

Es war zu beobachten, daß Fac in besonders starkem Maße die Stiel lähme fördert. In etwas geringerem Ausmaß trat diese Schädigung des Stielgerüsts auch bei Zufuhr von Az und Flu auf.

Das auffällig frühe Eintrocknen der Blätter bei der Kontrolle und bei der Zufuhr von Gly könnte durch eine Besiedlung der in der Flüssigkeit befindlichen Schnittstellen der Triebe mit Mikroorganismen verursacht worden sein. Wie spätere Versuche mit Schnittblumen gezeigt haben, hemmen einzelne Mittel auch die Vermehrung solcher Organismen im Wasser der Gefäße, in denen sich die Sträube befinden. Jedoch hat diese vorzeitige Unterbindung der Transpiration nicht zu einem früheren Auftreten der Stiel lähme geführt. Übrigens war im Falle von Mal und Fac die Natur der Blattschäden besonders in den Frühstadien nicht die gleiche wie bei den übrigen Behandlungen.

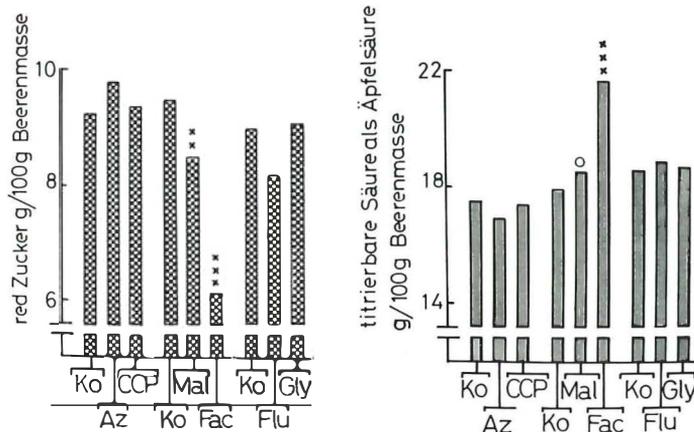


Abb. 2: Die Gehalte an reduzierendem Zucker und titrierbarer Säure nach sechsmaliger Besprühung der traubentragenden Zonen der Weinstöcke mit Atmungshemmstoffen und Entkopplern während der Reifephase. — Ko = unbehandelte Kontrolle. Konzentrationen der Spritzlösungen: Az 0,005 mol/l; CCP 0,05 mmol/l; Mal 0,02 mol/l; Fac 0,005 mol/l; Flu 0,05 mol/l; Gly 0,01 mol/l.

x = signifikant bei Annahme von 5% Irrtumswahrscheinlichkeit,
 xx = signifikant bei Annahme von 1% Irrtumswahrscheinlichkeit,
 xxx = signifikant bei Annahme von 0,1% Irrtumswahrscheinlichkeit,
 o = signifikant bei Annahme von 6,3% Irrtumswahrscheinlichkeit (Grenzfall).

Contents of reducing sugars and titratable acidity after spraying the grape-bearing zone of the vine six times with respiratory inhibitors and uncouplers during the ripening period. — Ko = non-treated control.

Concentration of the agents in the spraying fluid: Az 0,005 mol/l; CCP 0,05 mmol/l; Mal 0,02 mol/l; Fac 0,005 mol/l; Flu 0,05 mol/l; Gly 0,01 mol/l.

x = significant at the 5% level,
 xx = significant at the 1% level,
 xxx = significant at the 0,1% level,
 o = significant at the 6,3% level (critical border).

Unter den Versuchsbedingungen nahmen die Zuckergehalte in der Beerenmasse generell um 0 bis 20% (meist um ca. 10%) zu, die Säuregehalte um 3 bis 20% (meist um ca. 10%) ab.

Die Abb. 1 zeigt nun, daß unter der Einwirkung von Flu und Fac die Säuregehalte statistisch signifikant weniger abnehmen als bei der Kontrolle. Bei den Zuckergehalten ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den behandelten und den nicht behandelten Beeren feststellen.

Verfahren III (Zufuhr der Mittel durch ein Bespritzen der Weinstöcke in der Traubenzone)

In der Zeit vom 12. bis zum 23. September besprützten wir die Traubenzone von 3 Weinstöcken insgesamt sechsmal mit der Lösung eines Mittels. 3 benachbarte Stöcke des gleichen Klones blieben unbehandelt. Von ihnen wurden die Kontrollproben genommen. Zur Verbesserung der Benetzung enthielten die Spritzlösungen 0,5% Tween 20.

Am 25., 26. und 27. September entnahmen wir von jedem Versuchsglied jeweils 300 Beeren und gaben sie nach einer Wägung in Drahtbügelverschlußflaschen. Mit einer Wasserzugabe wurden die Beeren pasteurisiert.

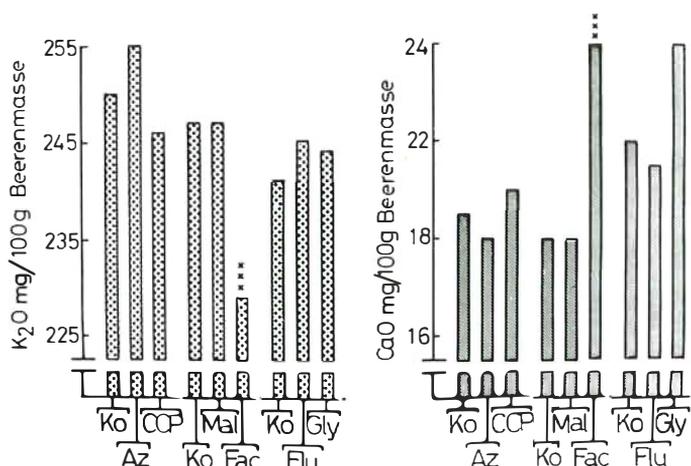


Abb. 3: Die Gehalte an Kalium und Calcium nach sechsmaliger Besprühung der traubentragenden Zonen der Weinstöcke mit Atmungshemmstoffen und Entkopplern während der Reifephase. Weitere Angaben siehe Abb. 2.

Contents of potassium and calcium after spraying the grape-bearing zone of the vine six times with respiratory inhibitors and uncouplers during the ripening period. Further informations see Abb. 2.

Die Organe der Weinreben reagierten in unterschiedlicher Weise auf die Behandlungen. In der Übersicht 1 sind diese Wirkungen dargestellt. Aus den Abb. 2, 3, 4 und der Tabelle 3 ist zu ersehen, welche Veränderungen bestimmte Inhaltsstoffe der Beeren durch die Behandlungen erfahren haben.

Die Spritzungen mit Fac und in geringerem Umfange auch die mit Flu, Mal und CCP führten häufig zu signifikanten bis hochsignifikanten Differenzen zwischen behandelten und unbehandelten Proben.

Übersicht 1

Effekte der Behandlung mit Wirkstoffen, die die Dissimilation beeinflussen
Effects of treatments with agents influencing plant respiration

Behandlung	Wirkungen der Spritzung an	
	Blättern	Trauben
Az	undeutlich	undeutlich, vielleicht etwas mehr faule Trauben
CCP	keine Wirkungen	keine Wirkungen
Mal	starke Bräunung und Absterben	undeutlich, vielleicht etwas mehr faule Trauben
Fac	undeutlich, etwas stärkere Neigung zum Absterben	sehr starkes Auftreten der Stiellähme nach der Behandlung
Flu	undeutlich	Bei einem Teil der Beeren nimmt die Beerenhaut eine braune Farbe an wie nach dem Befall durch <i>Botrytis cinerea</i>
Gly	keine Wirkungen	keine Wirkungen

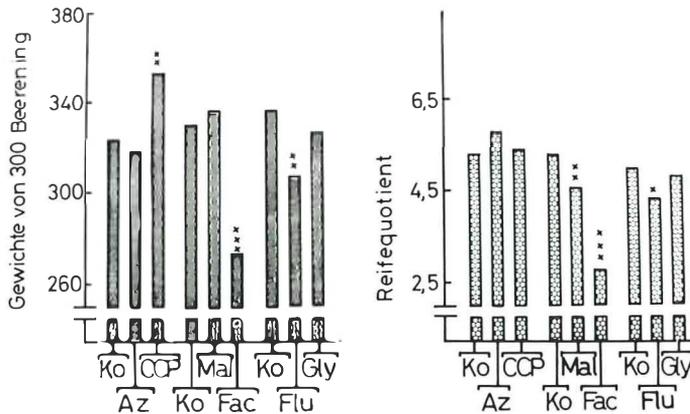


Abb. 4: Das Gewicht von 300 Weinbeeren und der Reifequotient (Gehalt an red. Zucker : Gehalt an titrierbarer Säure als Äpfelsäure; beides in 100 g Beerenmasse) nach sechs-maliger Besprühung der traubentragenden Zonen der Weinstöcke mit Atmungshem-mstoffen und Entkopplern während der Reifephase. Weitere Angaben siehe Abb. 2.

Weight of 300 berries and ripening quotient (i. e. content of reducing sugars divided by amount of titrable acidity estimated as malate, both calculated in 100 g berry quantities) after spraying the grape-bearing zone of the vine six times with respiratory inhibitors and uncouplers during the ripening period. Further informations see Abb. 2.

Diskussion der Ergebnisse

Während der IV. Entwicklungsphase wird die Hauptmenge des Zuckers in die Weinbeeren eingelagert. Die Trauben sind dann die wesentlichen sink-Zonen des Weinstockes geworden. Dieser Assimilateinstrom verläuft hauptsächlich über die Phloemelemente (12). Die Gehalte der Beeren an Äpfelsäure gehen in diesem Stadium durch verstärkte Atmung und verminderte Synthese erheblich zurück, die Weinsäuregehalte nehmen hingegen nur geringfügig ab (33). Außerdem ist in dieser Phase ein weiteres Wachstum der Beeren und ein Ansteigen der Kaliumgehalte im Fruchtfleisch festzustellen (15, 23, 24, 34). Nach verschiedentlich mitgeteilten Beobachtungen ist K^+ in den Siebröhren besonders gut, Ca^{++} hingegen fast nicht transportierbar. Mg^{++} nimmt in dieser Hinsicht eine mittlere Position zwischen beiden genannten Kationen ein (8). Weiterhin reagiert Siebröhren-Zellsaft im allgemeinen neutral bis alkalisch. Er ist reich an K^+ und sehr arm an Ca^{++} (36).

Aus diesen physiologischen Fakten und Vorgängen ergeben sich die Gründe für den Rückgang der titrierbaren Säure: das Abnehmen der Äpfelsäuremengen und die Neutralisation eines Teiles der vorhandenen organischen Säuren durch K^+ .

Im folgenden soll nun diskutiert werden, auf welche Weise die verschiedenen Mittel auf dieses Geschehen Einfluß nehmen.

Az, das wie Cyanid speziell in die Endoxydation eingreift, zeigte keine sichtbaren Wirkungen bei den Reifesymptomen. Kürzlich ist bei Messungen an Weinbeerscheiben im Warburg-Apparat mit Az und Cyanid eine Atmungshemmung besonders im Reifestadium festgestellt worden (14). Wenn trotz dieses Effektes die Zucker- und Säuregehalte in unseren Versuchen keine Reaktion zeigten, so kann als Erklärung ein unvollständiges Eindringen des Wirkstoffes in die Beere oder eine zu große Streuung unserer Meßwerte angenommen werden.

Tabelle 3

Die quantitativen Effekte der Mittel als prozentuale Veränderungen gegenüber den Kontrollwerten

Quantitative effects of the agents. Ciphers mean percentage differences to the control values

Behandlung	Gewichte v. 300 Beeren	red. ¹⁾ Zucker	titrierb. ¹⁾ Säure	Reife- ¹⁾ quotient	K ₂ O ¹⁾	CaO ¹⁾
Az	(- 2)	(+ 4)	(-5)	(+ 9)	(0)	(- 9)
CCP	+ 9	(+11)	+9	(+ 2)	(+ 7)	+12
Mal	(+ 2)	(- 9)	+6	- 4	(+ 2)	(0)
Fac	-17	-47	(+1)	-48	-23	(+12)
Flu	- 9	-19	-7	-12	(- 7)	-14
Gly	(- 3)	(- 5)	(-3)	(- 2)	(- 2)	(+ 4)

¹⁾ Die Mengenwerte für diese Berechnung wurden auf eine konstante Beerenzahl bezogen. Für die eingeklammerten Werte ergab sich bei der Varianzanalyse keine Signifikanz.

Die mit CCP gespritzten Weinstöcke hatten größere Beeren ausgebildet. Ein signifikanter Einfluß auf die Konzentrationen der Inhaltsstoffe in der Beerenmasse (d. h. im Zellsaft) ist hier nicht nachweisbar (Abb. 2, 3, 4). Errechnet man die in einer bestimmten Beerenzahl vorhandenen Mengen, so zeigt sich, daß die Wirkungen von CCP in Tendenz und Ausmaß bei allen untersuchten Reifekriterien etwa gleichartig sind (Tabelle 3). Ein starker Entkoppler kann unter Umständen die Atmung erhöhen, weil ja durch die Entkopplung der Wirkungsgrad der oxydativen Phosphorylierung herabgesetzt wird, die Pflanze aber zur Sicherstellung des ATP-Bedarfs mehr Substrat umsetzt. In unseren Versuchen weisen jedoch die Resultate der Zucker- und Säureanalysen nicht auf einen verstärkten Abbau dieser Inhaltsstoffe hin. Mit einem anderen Entkoppler der oxydativen Phosphorylierung, dem 2,4-Dinitrophenol wurde kürzlich bei Weinbeeren die auch nach Versuchen mit anderen Früchten nicht erwartete Feststellung gemacht, daß dieser Wirkstoff in keinem Entwicklungsstadium der Beere die O₂-Aufnahme stimuliert, sie hingegen unter bestimmten Bedingungen herabsetzt (14).

Spritzungen mit Mal, das wie Fac zur Gruppe der Hemmstoffe des Zitronensäurecyclus gehört, hatten verminderte Zuckergehalte je Gewichtseinheit Beerenmasse zur Folge (Abb. 2). Desgleichen ist, da das Beerengewicht durch die Behandlung kaum beeinflußt wird, die in einer bestimmten Beerenzahl enthaltene Zuckermenge niedriger, die dort festgestellte Säuremenge höher als bei den Kontrollen. Somit wird auch der Ausreifungsgrad (Reifequotient) der Beeren durch dieses Mittel vermindert (Abb. 4, Tabelle 3). Es liegt nahe, die geringere Zuckerakkumulation auf die starke Schädigung der Blätter in der Traubenzone zurückzuführen. Die Vermehrung der titrierbaren Säure (Abb. 2, Tabelle 3) könnte man mit der Drosselung des Krebscyclus und der Anhäufung von Zwischenprodukten (organischen Säuren) erklären.

Die Verringerung der Zuckergehalte und der Kaliumgehalte nach einer Spritzung mit Fac (Abb. 2, 3, Tabelle 3) wird vermutlich durch die induzierte Stielähme und die damit verbundene Unterbrechung der Assimilatleitung verursacht worden sein. Diese Erkrankung der Traubenziele hat zwangsläufig auch ein vermindertes Wachstum und eine Wasserverdunstung aus der Frucht ohne Wassernachlieferung zur Folge. Damit wäre eine Erklärung für das niedrige Beerengewicht nach Fac-Einwirkung gegeben. Andererseits haben sich die Gehalte an CaO und an

titrierbarer Säure signifikant erhöht, wenn man als Bezugsgröße eine Gewichtseinheit der Beerenmasse benutzt (Abb. 2, 3). Wird hingegen der Berechnung als Bezugsgröße eine bestimmte Beerenzahl zugrunde gelegt, so ergeben sich keine signifikanten Veränderungen für die Meßwerte dieser Inhaltsstoffe (Tabelle 3). Für den Fall des CaO läßt sich dieses Phänomen eindeutig erklären: Eine Vermehrung der CaO-Gehalte in den Beeren hat sowohl bei der Kontrolle wie auch nach der Fac-Behandlung nicht mehr stattgefunden. Durch die starke Wasserverdunstung, die Fac verursacht, tritt dieser Mineralstoff dann aber im Fleisch der behandelten Beeren in höherer Konzentration auf als bei den Kontrollen.

Ein solcher Konzentrationsprozeß könnte natürlich auch als Grund für die Steigerung der titrierbaren Säure im Fruchtfleisch angenommen werden. Es muß allerdings in diesem Zusammenhang auf die Berichte hingewiesen werden, nach denen der Eingriff von Fac in den Metabolismus zu erhöhten Citratgehalten in den Zellen führt (32). Als mögliche weitere Ursachen für die hohen Gehalte an titrierbarer Säure muß man den verminderten Einstrom von Kalium und die Unterbrechung des Zitronensäurecyclus (also die Unterbrechung des Malatabbaues) berücksichtigen. Ohne diese beiden Teilwirkungen der Fac nimmt bei den Kontrollen die titrierbare Säure im Reifeverlauf ab.

Unter den Versuchsbedingungen, die beim Applikationsverfahren II gegeben waren, ließ sich nach dem Einsatz von Fac eine nicht signifikante Erhöhung des Zuckerabbaues und ein signifikant verminderter Rückgang der titrierbaren Säure feststellen. Unter diesen Bedingungen war der Assimilateinstrom auch bei den Kontrollen im Versuchszeitraum verschwindend gering. Der in den Beeren vorhandene Zucker ist hier möglicherweise unter dem Einfluß von Fac verstärkt zu organischen Säuren umgesetzt worden. Die Unterbrechung des Säureabbaues und ein geringerer Kaliumeinstrom könnten auch in diesem Falle als weitere Stoffwechselvorgänge, die die Abnahme der titrierbaren Säure vermindern, in Betracht gezogen werden. Auf die Existenz eines Konzentrationsprozesses deuten schließlich auch die Versuche mit Fac beim Applikationsverfahren I hin.

Unter den Hemmstoffen der Glykolyse war Gly, wenn die Applikation über die Bespritzung der Traubenzone erfolgte, in jeder Beziehung unwirksam. Flu reduzierte das Beerenwachstum signifikant (Abb. 4). Mit dieser Erscheinung dürften auch die beim Bezug auf eine konstante Beerenzahl teilweise signifikanten Verminderungen der Gehalte an reduzierendem Zucker und K_2O zusammenhängen (Tabelle 3). Als weitere Wirkungen von Flu waren bei der Verrechnung auf die Beerenzahl eine verstärkte Abnahme der titrierbaren Säure und ein geringerer CaO-Gehalt nachweisbar. Während sich für die letztgenannte Beobachtung keine plausible Erklärung anbietet, könnten die niedrigeren Säuregehalte durch eine verminderte Äpfelsäure-Neubildung aus Zucker oder durch eine stärkere Veratmung der intrazellulären Säurevorräte unter dem Einfluß des Hemmstoffes verursacht worden sein. Bei einem Teil der Früchte zeigte sich eine Schädigung der Beerenhaut, die der nach einer Botrytis-Infektion auftretenden Bräunung sehr ähnlich war. Der verminderte Abbau an titrierbarer Säure in einer Gewichtseinheit Beerenmasse, der nach Flu-Zufuhr über das Applikationsverfahren II festgestellt wurde, konnte mit dem Verfahren III nicht reproduziert werden. Die Anwendung dieser Glycolysehemmstoffe hat nicht, wie die Ergebnisse dieser Versuche zeigen, über eine Drosselung des Zuckerabbaues zu höheren Zuckergehalten im Beerenfleisch geführt.

Weiterhin kann man aus diesen Versuchen ersehen, daß die von der Hemmstoffbehandlung betroffenen sehr verschiedenartigen Zellen des Weinstocks auch sehr unterschiedlich reagieren. Besondere Aufmerksamkeit muß man den Nekrosen an

den Beerenstielen, die mit dem Krankheitsbild der Stielähme übereinstimmen, schenken.

Zur Ätiologie der Stielähme sind in letzter Zeit mehrere Beobachtungen und Ansichten publiziert worden. Fac ist nach meinem Wissen bisher in der Literatur noch nicht als auslösendes Agens genannt worden. Der sehr gut bekannte Hemmmechanismus von Fac gibt Anlaß, eine neue Interpretation der zellphysiologischen Vorgänge während der Entstehung dieser Krankheit vorzulegen. Die Hemmung des Citratcyclus kann generell nicht als Voraussetzung für das Auftreten dieser Krankheit angesehen werden, weil sonst auch Mal Stielähn esymptome hätte hervorrufen müssen. Die Ursachen dieser Krankheit müssen vielmehr im Bereich der Folgen zu suchen sein, die mit der Hemmung des Enzyms Aconitase auftreten. Vor allen Dingen ist wohl in diesem Zusammenhang der vermehrte Citratbildung, die die Folge einer Fac-Hemmung sein kann (11, 32), Aufmerksamkeit zu schenken. Vermehrte Gehalte an Zitronensäure können in der Zelle hemmende oder toxische Wirkungen haben, da zwei den glykolytischen Umsatz regelnde Enzyme, die Phosphofruktokinase (35) und die Pyruvatkinase (10, 17) leicht durch Citrat hemmbar sind. In Zellen mit photosynthetischer Aktivität sind allerdings komplexere Verhältnisse gegeben als in Hefezellen, aus denen diese beiden Kinasen gewonnen wurden. Jedoch werden über den Citrat Spiegel auch unter solchen Bedingungen wichtige Vorgänge des Zellstoffwechsels kontrolliert, wie Untersuchungen mit der Phosphoenolpyruvat-Carboxylase aus *Euglena gracilis* zeigen. Dieses Enzym soll besonders in den Zellen höher organisierter Pflanzen eine wichtige Funktion haben. Es stellt das für den Ablauf des Krebscyclus notwendige Oxalacetat bereit und ermöglicht so den Abzug bestimmter Zwischenprodukte dieses Kreislaufprozesses für Synthesezwecke (31).

KOBLET und THEILER (26) beobachteten kürzlich ein verstärktes Auftreten der Stielähme nach Behandlung der Trauben mit Essigsäure. Es läßt sich leicht vorstellen, daß unter diesen Bedingungen ebenfalls erhöhte Gehalte an Zitronensäure in den Zellen auftreten. Zitronensäure ist das Kondensationsprodukt nach der Einschleusung der Acetylgruppe in den Krebscyclus. Die citratumsetzende Aconitase stellt dann ein Fließgleichgewicht zwischen 89% Zitronensäure, 8% Isozitronensäure und 3% Cisaconitsäure her (21). So könnte nach starken Acetatgaben in den Zellen ein Citratstau auftreten. Eine direkte Behandlung der Trauben mit Zitronensäure induziert allerdings diese Krankheit, wie die Versuche von THEILER und KOBLET weiter zeigten, nur in geringem Ausmaß. In diesem Fall glichen jedoch die histologischen Befunde besonders weitgehend dem Bild, das bei natürlich auftretender Stielähme zu beobachten ist. Bei Folgerungen aus diesen Ergebnissen sollte berücksichtigt werden, daß Plasmamembranen fast impermeabel für Zitronensäure sind. Die Essigsäure hingegen kann sehr leicht in die Pflanzenzelle eindringen (7).

Nach HIFNY und ALLEWELDT (19) tritt die Stielähme im allgemeinen makroskopisch zu Beginn der Reifephase IV in Erscheinung. Anatomische Veränderungen können schon etwas früher festgestellt werden. Es ist dies der Zeitpunkt, in dem die Zuckereinlagerung einsetzt und die Traube daraufhin vermutlich über den Assimilatstrom in den Siebröhren mit Mineralstoffen versorgt wird. Schon vor längerer Zeit hatte STELLWAAG-KITTLER (37) erkannt, daß auch ein Mangel an Mg^{++} die Ursache für das Auftreten der Stielähme sein kann. Mit geringerer Wirksamkeit soll auch Ca^{++} -Mangel dieses Schadbild herbeiführen.

Diese Feststellung gibt Veranlassung zu vermuten, daß die Aktivität vieler phosphatübertragender Enzyme unter solchen Bedingungen unzureichend sein könnte, da die Anwesenheit von Mg^{++} -Ionen eine z. T. unzugängliche Vorausset-

zung für den Ablauf solcher Reaktionen ist. Auch die katalytische Wirksamkeit der oben im Zusammenhang mit der Citrathemmung genannten Enzyme Phosphofruktokinase, Pyruvatkinase und Phosphoenolpyruvat-Carboxylase zeigt eine starke Abhängigkeit vom Cofaktor Magnesium. Zwar unterscheidet sich der Phosphoenolpyruvat-Stoffwechsel von Pflanzenzellen mit Photosynthese recht erheblich von dem der tierischen und pilzlichen Zellen. Dennoch ist in beiden Fällen der Substratumsatz und damit die Speisung des Krebszyclus über die Gehalte an Mg^{++} , Ca^{++} und Citrat regelbar (6, 10, 17, 30, 31, 35, 38).

Die Ergebnisse der Versuche mit Flu sollten allerdings Veranlassung geben, eine distanzierte Haltung zu diesen naheliegenden Folgerungen einzunehmen. Flu kann (nach 11) verschiedene Mg^{++} -bedürftige Enzyme über die Bildung eines Mg-Fluorphosphat-Enzymkomplexes oder auch auf andere Weise hemmen. Es erwies sich aber im Versuch nicht als besonders auffälliger Induktor der Stiellähme.

BANGERTH (2) fand im stippigen Gewebe des Apfels erhöhte Zitronensäuregehalte. Diese Feststellung und die obigen Hinweise können als Indizien für eine Beteiligung der Zitronensäure beim Auslösen der Stippigkeit unter normalen krankheitsfördernden Bedingungen angesehen werden. Ob auch im stiellähme-kranken Gewebe mehr Zitronensäure enthalten ist, was wegen der vielfältigen Ähnlichkeiten beider Erkrankungen und der auslösenden Wirkung von Fac durchaus möglich wäre, sollen jetzt anschließende Versuche klären.

Zusammenfassung

Sechs Wirkstoffe, die in verschiedenartiger Weise die Dissimilation beeinflussen, wurden nach drei unterschiedlichen Verfahren Beeren und anderen Organen des Weinstockes zugeführt. Die Applikationsmethode bestimmte weitgehend die Wirkung der Mittel. Unwirksam in fast jeder Hinsicht waren Gly und Az.

Fac rief in ausgeprägtem Umfang Stiellähme hervor. Die beobachtete Verringerung der Beerengewichte, die niedrigeren Zucker- und Kaliumgehalte und die erhöhten Mengen an titrierbarer Säure und an Calcium in den Früchten können teils als Folge der Stiellähmeerkrankung, teils auch als direkte Wirkungen dieses Atmungshemmstoffes angesehen werden.

Nach einer Behandlung mit Mal war eine signifikante Veränderung der Beerengewichte nicht zu beobachten. Jedoch scheinen durch das Mittel zwei reifebestimmende Faktoren beeinflusst zu werden: Die Zuckerakkumulation und die Säureabnahme in den Beeren erreichten nicht die bei den Kontrollen ermittelten Meßzahlen.

Unter dem Einfluß von Flu verfärbte sich bei einer zunehmenden Zahl der Früchte die Beerenhaut braun. Auch hier wurden gegenüber der Kontrolle geringere Beerengewichte festgestellt. Die Zuckereinlagerung in die Beeren scheint durch Flu herabgesetzt worden zu sein. Im übrigen traten als signifikante Wirkungen des Mittels verminderte Mengen an titrierbarer Säure und an Calcium bei Bezug auf eine bestimmte Beerenzahl in Erscheinung.

Nach CCP-Gaben wurden erhöhte Beerengewichte und mit dieser Ertragsvermehrung gleichlaufende z. T. signifikante Steigerungen der Zucker-, Säure-, Kalium- und Calciummengen in den Beeren festgestellt. Eine Wirkung des Mittels auf die Konzentrationen aller geprüften Inhaltsstoffe in der Beerenmasse ließ sich hingegen in keinem Fall signifikant nachweisen.

Die Ursachen für die Entstehung der Stiellähme wurden unter besonderer Berücksichtigung zellphysiologischer Aspekte und der krankheitsfördernden Wirkung von Fac diskutiert.

Frau Dr. E. LEIDENFROST sei für die Hilfe bei der flammenphotometrischen Kationenbestimmung und Herrn Dr. E. SIEVERS für wertvolle Hinweise bei der varianzaalytischen Verrechnung der Versuchsergebnisse gedankt. — Das Institut für Weinbau der FA Geisenheim stellte die Weinstöcke zur Verfügung. Auch dafür möchte ich meinen Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis

1. AMERINE, M. A., 1956: The maturation of wine grapes. *Wines and Vines* 37, 27—38.
2. BANGERTH, F., 1970: Die Stippigkeit der Äpfel, ein noch immer ungelöstes Problem der Fruchtphysiologie. *Gartenbauwiss.* 35 (17), 91—120.
3. BARTLETT, G. R. and BARRON, E. S. G., 1947: The effect of fluoroacetat on enzymes and on tissue metabolism. Its use for the study of the oxydative pathway of pyruvate metabolism. *J. Biol. Chem.* 170, 67—82.
4. BRESNICK, E. and SCHWARTZ, A., 1968: Functional dynamics of the cell. Acad. Press, New York, 123.
5. BUTTROSE, M. S., HALE, C. R. and KLIOWER, W. M., 1971: Effect of temperature on the composition of 'Cabernet Sauvignon' berries. *Amer. J. Enol. Viticult.* 22, 71—75.
6. BYGRAVE, F. L., 1967: The ionic environment and metabolic control. *Nature* 214, 667—671.
7. COLLANDER, R., 1959: Cell membrane: Their resistance to penetration and their capacity for transport. In: STEWARD, F. C. (Ed.): *Plant Physiology a Treatise*. Acad. Press, New York, 3—102.
8. FISCHER, H., 1967: Der Mineralstofftransport. In: RUHLAND, W. (Ed.): *Handbuch der Pflanzenphysiologie* 13, 200—268. Springer Verl., Berlin.
9. GERBER, C., 1896: Recherches sur la maturation des fruits charnus. *Ann. Sci. Natur. Bot.* 8, Sér. 4, 1—280.
10. HAECKEL, R., HESS, B., LAUTERBORN, W. and WÜSTER, K. H., 1968: Purification and alosteric properties of yeast pyruvate kinase. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 349, 699—714.
11. HACKETT, D. P., 1960: Respiratory inhibitors. In: RUHLAND, W. (Ed.): *Handbuch der Pflanzenphysiologie* 12 (2), 23—41. Springer Verl., Berlin.
12. HALE, C. R. and WEAVER, R. J., 1962: The effect of developmental stage on direction of translocation of photosynthate in *Vitis vinifera*. *Hilgardia* 33, 89—131.
13. HARDY, P. J., 1967: Sucrose breakdown and synthesis in ripening grape berry. *Austral. J. Biol. Sci.* 20, 465—470.
14. HARRIS, J. M., KRIEDEMANN, P. E. and POSSINGHAM, J. V., 1971: Grape berry respiration: effects of metabolic inhibitors. *Vitis* 9, 291—298.
15. HEIDE, C. VON DER und SCHMITTNER, F., 1922: *Der Wein*. Verl. Fr. Vieweg u. Sohn AG., Braunschweig, 36—39.
16. HENNIG, K., 1962: *Chemische Untersuchungsmethoden für Weinbereiter und Süßmosthersteller*. 5. Neubearb. Aufl. Verl. Eugen Ulmer, Stuttgart, 28—32.
17. HESS, B., HAECKEL, R. and BRAND, K., 1966: FDP-activation of yeast pyruvate kinase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 24, 824—831.
18. HEYTLER, P. G. and PRICHARD, W. W., 1962: A new class of uncoupling agents - carbonylcyamid-phenylhydrazones. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 7, 272—275.
19. HIFNY, H. A. A. und ALLEWELDT, G., 1972: Untersuchungen zur Stielähme der Reben. I. *Symptomatologie der Krankheit. Vitis* 10, 298—313.
20. JAMES, W. O., 1953: The use of respiratory inhibitors. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 4, 59—90.
21. KARLSON, P., 1962: *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 66.
22. KLIOWER, W. M., 1964: Influence of environment on metabolism of organic acids and carbohydrates in *Vitis vinifera*. I. Temperature. *Plant Physiol.* 39, 869—880.
23. — — —, 1965: Changes in the concentration of malates, tartrates and total free acids in flowers and berries of *Vitis vinifera*. *Amer. J. Enol. Viticult.* 18, 92—100.
24. — — —, HOWARTH, L. and OMORI, M., 1967: Concentrations of tartaric acid and malic acid and their salts in *Vitis vinifera* grapes. *Amer. J. Enol. Viticult.* 18, 42—54.
25. KOBAYASHI, A., NIU, N., HARADA, K. and KADOWAKI, K., 1968: Effects of a difference of temperature between day and night on the berry growth of Delaware grapes. *Mem. Coll. Agric. Kyoto Univ.* 93, 35—42.
26. KOBLET, W. und THEILER, R., 1970: Vorläufige Resultate zur künstlichen Auslösung der Stielähme. *Weinwiss.* 25, 429—446.
27. MARTIUS, C., 1949: Über die Unterbrechung des Citronensäure-Cyclus durch Fluoressigsäure. *Justus Liebigs Ann. Chem.* 561, 227—232.
28. MING-HO, YU and MILLER, G. W., 1967: Effect of fluoride on the respiration of leaves from higher plants. *Plant and Cell Physiol.* 8, 483—493.

29. NITSCH, J. P., PRATT, C., NITSCH, C. and SHAULIS, N. J., 1960: Natural growth substances in Concord and Concord Seedless grapes in relation to berry development. *Amer. J. Bot.* **47**, 566—576.
30. OHMANN, E., 1969: Die Regulation der Pyruvat-Kinase in *Euglena gracilis*. *Arch. Mikrobiol.* **67**, 273—292.
31. — — und PLHÁK, F., 1969: Reinigung und Eigenschaften von Phosphoenolpyruvat-Carboxylase aus *Euglena gracilis*. *Europ. J. Biochem.* **10**, 43—55.
32. POLTER, C., 1967: Einfluß von Monofluoressigsäure auf die Sauerstoffaufnahme von Erbsenwurzeln nach Anzucht unter verschiedenen Bedingungen. *Biol. Zentralbl.* **86**, 567—581.
33. RAPP, A., STEFFAN, H., KUPFER, G. und ULLEMAYER, H., 1971: Über den Säurestoffwechsel in Weinbeeren. *Angew. Chem.* **83**, 925.
34. RIBÉREAU-GAYON, J. et PEYNAUD, E., 1960: *Traité d'Oenologie*. Tome premier, 71—150. Librairie Polytechnique Ch. Béranger, Paris.
35. SALAS, M., L., VINUELA, E., SALAS, M. and SOLS, A., 1965: Citrate inhibition of phosphofructokinase and the Pasteur effect. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **19**, 371—376.
36. SCHUMACHER, W., 1967: Die Fernleitung der Stoffe im Pflanzenkörper. In: RUHLAND, W. (Ed.): *Handbuch der Pflanzenphysiologie* **13**, 61—177. Springer Verl., Berlin.
37. STELLWAAG-KITTLER, F., 1967: Die Stielähme der Trauben. *Dt. Weinbau* **22**, 794—796.
38. WALKER, D. A., 1961: Pyruvate carboxylation and plant metabolism. In: FOX, H. M. (Ed.): *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* **37** (1962), 215—256.
39. WEBB, J. L., 1966: Enzyme and metabolic inhibitors. Vol. 2, 377—379. Acad. Press, New York.

Eingegangen am 6. 9. 1972

Dr. H. WIENHAUS
Hess. Forschungsanst. f.
Wein-, Obst- u. Gartenbau
Botanisches Institut
6222 Geisenheim