Vitis 8, 105—113 (1969)

Institut für Botanik der Hessischen Lehr- und Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau, Geisenheim

Die Aktivität der Phosphatasen im Rebholz und deren Beziehungen zum Kohlenhydratmetabolismus während verschiedener Temperaturbedingungen in der winterlichen Ruheperiode

von

H. Wienhaus

Einleitung

Nach Tumanov (19) müssen holzige Pflanzen, bevor sie den Zustand maximaler Frosthärte erreichen, nacheinander folgenden drei Phasen ausgesetzt werden: 1. Einer Ruheperiode, in der das Wachstum weitgehend eingestellt wird und in der es in den Speichergeweben zur Akkumulation von Stärke kommt. Auslösende Faktoren für diesen Zustand sollen die photoperiodischen Verhältnisse im Herbst sein. 2. Der ersten Härtungsphase, in der Schutzsubstanzen — besonders Mono- und Oligosaccharide — durch die Stärkehydrolyse gebildet werden und in der alle Wachstumsprozesse zur Ruhe kommen. In diesem Falle sind Temperaturen in der Nähe des Gefrierpunktes die auslösenden Faktoren. 3. Der zweiten Härtungsphase, in der sich physikalische und molekulare Zustände des Protoplasmas verändern, wodurch eine fast völlige Entwässerung des Protoplasmas bei Erhaltung seiner Lebensfähigkeit ermöglicht wird. Begünstigende Faktoren sind hier langsam absinkende Temperaturen unterhalb von etwa —10° C.

Bei der Rebe, die im allgemeinen in unserem Klima während langer Perioden im Winter Temperaturen zwischen +5 und —5° ausgesetzt ist, beobachtete Reuther (14) einen Wechsel im Stärke-Zuckerverhältnis, der den jeweiligen Temperaturschwankungen folgte. Mit zunehmender Kälte erhöhten sich die Zuckergehalte auf Kosten der Stärkegehalte. Bei Erwärmung zeigte dieser Vorgang eine rückläufige Tendenz. Dieser Mechanismus funktionierte allerdings nur bis Ende Januar. Eine strenge jahreszeitlich bestimmte Folge von Ruheperiode und erster Härtungsphase ist hier also nicht gegeben. Die Ursachen für diesen Wechsel sind schwer zu erklären.

Die sauren Phosphatasen des Pflanzengewebes, die mit den unten genannten Methoden erfaßt werden, gehören zur Gruppe der Phosphomonoesterasen. Sie können die Phosphorsäure, wenn sie einfach esterartig an sehr unterschiedliche organische Substanzen gebunden ist, freisetzen (6); so spalten sie z. B. Phosphorsäureester mit phenolischen Substanzen, mit Aminosäuren und deren Derivaten, mit Zuckern und Zuckerabbauprodukten, mit Inosit (Phytin). Außerdem werden auch Nucleotide und anorganische höhermolekulare Phosphorverbindungen zerlegt (18).

In der Literatur gibt es viele Hinweise, die der Vermutung Berechtigung geben, daß die sauren Phosphatasen beim winterlichen Wechsel zwischen Stärkezerlegung und Stärkebildung eine wesentliche Rolle spielen. Bei der Amylolyse fällt diesen Enzymen einerseits die Aufgabe zu, die Phosphodextrine abzubauen (9), andererseits müssen diejenigen Endprodukte, die bei der durch Phosphorylase vermittelten Stärkezerlegung entstehen, mit Hilfe der Phosphatasen dephosphoryliert werden [für den Fall des Rohrzuckers s. (2)]. Im Holz wird nach heutiger Ansicht der Stärkeabbau vornehmlich oder ausschließlich durch die Phosphorylasen ausgeführt, wobei stets das Zwischenprodukt Glucose-1-Phosphat ensteht (1). Bei histochemi-

schen Untersuchungen fand SAUTER (17) auf Stärkekörnern in Pappelholzmarkstrahlen zur Zeit der winterlichen und frühjährlichen Stärkeauflösung tatsächlich eine besondere Aktivität der sauren Phosphatasen.

Im Widerspruch hierzu stehen Ergebnisse von LI *et al.* (8) mit dem Versuchsobjekt *Cornus stolonifera*. Hier wurde während der Frosthärtung neben der sehr auffälligen Produktion von Mono- und Oligosacchariden eine Abnahme an anorganischem Phosphat und eine Zunahme derjenigen Phosphatfraktionen, die Phosphatzucker, Nucleotide und lösliche Nucleoside enthalten, beobachtet. Die Phosphatasen müßten somit ihre Aktivität eingeschränkt haben.

Weiterhin ist den Phosphatasen auch eine Funktion im Regulierungsmechanismus des Stärkeabbaues zugeschrieben worden. Die Vorstellung von PFANKUCH (11), wonach die Glycolyse durch Dephosphorylierung der Zwischenprodukte oder durch Spaltung phosporsäurehaltiger Cofermente gesteuert wird, ist heute wohl überholt. Bekannt ist außerdem ein Aktivierungs-Inaktivierungs-Mechanismus der Phosphorylase, in dem eine spezielle Phosphatase die Inaktivierung dieses stärkeabbauenden Enzyms besorgt (1). In jüngster Zeit ist schließlich postuliert worden, daß ansteigende Gehalte an organischem Phosphat das auslösende Moment für die Stärkehydrolyse in den Chloroplasten sei (16). Diese Steigerung der Phosphatgehalte müßte durch eine Verstärkung der Phosphataseaktivität zustande gebracht werden.

FREY (4) und später auch SAUTER (17) fanden viele Indizien, die auf die Bedeutung der Phosphatasen bei der Kohlenhydrattranslokation hinwiesen. In den am Transport beteiligten Zellen war die Phosphataseaktivität an den Durchgangsstellen der Wände (Siebplatten, Tüpfel) besonders stark. Nach Meinung dieser Autoren soll der Zucker beim Eintritt in das Plasma phosphoryliert und außerdem vielleicht auch an einen Carrier-Mechanismus gebunden werden. Vor dem Eintritt in die Vakuole der Nachbarzelle erfolgt dann eine Dephosphorylierung durch Phosphatasen.

Material und Methoden

Für die histochemische Lokalisation der Phosphataseaktivität wandten wir das GOMORI-GLICK-Verfahren an, mit dem schon FREY (4) und in leicht abgewandelter Form auch SAUTER (17) ihre Untersuchungen durchgeführt haben. Beide Autoren hatten die Eignung dieser Methode für die Untersuchung verschiedener Pflanzengewebe gründlich geprüft. Im einzelnen wird dabei wie folgt vorgegangen: Zweistündige Inkubation der Holz-Frischschnitte in bleinitrathaltiger gepufferter α-Glycerophosphat-Lösung bei 37° C, dreimalige Auswaschung mit Aqua dest. und einmalige Waschung mit 2%iger Essigsäure, Überführung der Schnitte in Ammoniumsulfid-Lösung, nochmaliges Waschen, Auflegen der Schnitte auf den Objektträger in Glycerin.

Bei der quantitativen Erfassung der Phosphataseaktivität bedienten wir uns der Methode von LOWRY und LOPEZ (7). Dieses Verfahren besteht aus folgenden Schritten: 1. Einstündige Inkubation der frischen Holzschnitte in gepufferter, Mg^{++}-haltiger β-Glycerophosphat-Lösung, 2. Inaktivierung der Enzymaktivität durch Kälte und Trichloressigäure, 3. kolorimetrische Bestimmung des freigesetzten Phosphates mit dem Molybdat-Reagenz.

Die Sichtbarmachung der Stärke in den Holzschnitten erfolgte wie üblich mit Jod-Lösung. Als Untersuchungsmaterial dienten diejenigen Schnitte, die zur Kontrolle ohne Glycerophosphat-Lösung inkubiert worden waren. Der Stärkeabbau im Gewebe kann eventuell während der Inkubation noch forciert weiter gegangen sein, wodurch die beobachteten Unterschiede eine Verstärkung erfahren haben könnten.

Die Untersuchungen wurden an Rebholz der Sorten Riesling, Perle von Alzey und Sämling 88 durchgeführt. Die Reben standen von Oktober bis Dezember 1967 im Freiland. Anfang Januar wurden sie ins Gewächshaus überführt, wo sie bei 20° gehalten wurden. Von Januar bis März setzten wir außerdem einzelne Pflanzen nach einer vorausgegangenen Behandlung bei Gewächshaus- oder Härtungstemperaturen im Sproß- und Wurzelraum plötzlich stärkerer Kälte (bis —7°) aus. — Eine für diesen Zweck konstruierte Kühlvorrichtung, die an einen Kältethermostat angeschlossen wurde, ermöglichte diese Versuchsanstellung.

Ergebnisse

Stellen besonderer Phosphatase- und Stärkeabbauaktivität im Sproßgewebe

Starke Phosphataseaktivitäten, die sich im Sproßquerschnitt als Bleisulfidschwärzungen bemerkbar machten, findet man im Rindenbereich der Markstrahlen und in einer Reihe von Parenchymzellen, die das Phloem kranzförmig umgeben (Abb. 1). Nur dort tritt außerdem auch ein deutlicher Wechsel des Stärkevorkom-

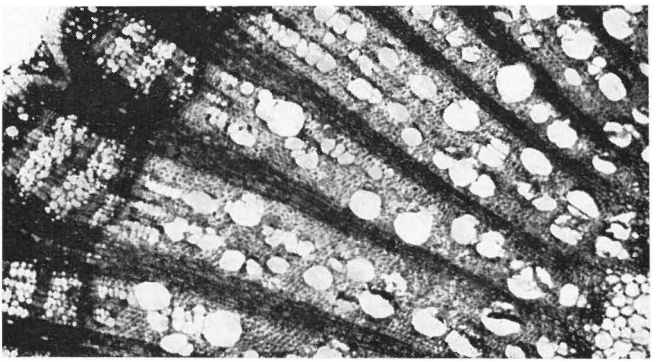

Abb. 1: Verteilung der Phosphataseaktivität im Sproßquerschnitt (Aufn. 10. 3. 68).

mens während der verschiedenen winterlichen Mobilisierungs- und Resynthesephasen auf (Abb. 2). Die Phosphatasen anzeigenden Schwärzungen waren in anderen Gewebebereichen des Sprosses geringer. In der Reihenfolge

Rindenbereich der Markstrahlen und Phloemparenchym
Übrige Phloemzellen
Holzparenchymzellen nahe der großen Gefäße
Holzbereich der Markstrahlen
Übrige Xylemzellen
Stärkeführende Markzellen

läßt sich ein vermindertes Auftreten dieser Färbung feststellen.

Im einzelnen ist hierzu folgendes auszuführen: Die Schnittechnik mag das Zustandekommen der besonders auffallenden Schwärzung der Rinden-Markstrahlzellen gefördert haben, weil sich ja beim Querschnitt die Längswände und ihre Protoplasmabeläge in der Schnittebene befinden. Die Siebzellen verlaufen hingegen anders. Sie werden quer geschnitten und zeigen nur dann eine besondere Schwärzung, wenn, was ziemlich selten vorkommt, eine Siebplatte im Schnitt liegt. Die Lage der Markstrahlzellen des Xylems dürfte die gleiche sein wie die der Markstrahlzellen der Rinde; die auftretenden Schwärzungen sind hier jedoch im ganzen wesentlich geringer. Auch ein Wechsel der Stärkegehalte, wie oben beschrieben, ist hier nicht zu erkennen. Über die Verteilung der Enzymaktivitäten innerhalb dieses Gewebe-

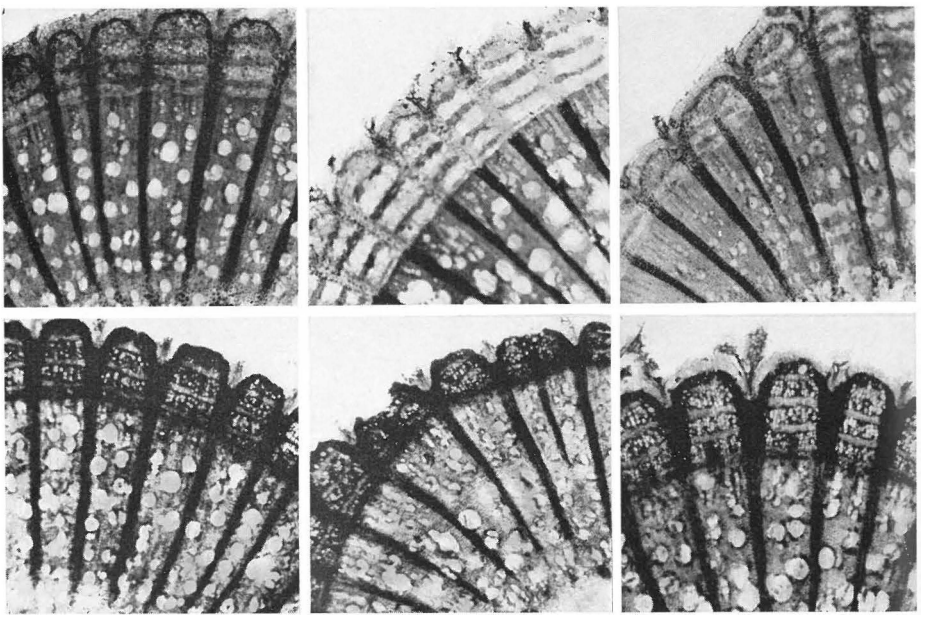

Abb. 2: Obere Reihe: Stärkegehalte; untere Reihe: Phosphataseaktivität.
Probenahme: Links 20. 10. 1967 (herbstliches Stärkemaximum), Mitte 14. 12. 1967 (winterliche Zuckerbildung bei Temperaturen um 0° C), rechts 31. 1. 1968 (Stärkesynthese nach 11tägigem Gewächshausaufenthalt bei 20° C).
Diese Untersuchungen wurden an der Sorte Riesling durchgeführt. Völlig gleiche Erscheinungen ließen sich bei den Sorten S 88 und Perle von Alzey feststellen.

bereiches ist zu sagen, daß hier oft einzelne radiär verlaufende Zellstränge schwarz gefärbt sind (Abb. 3).

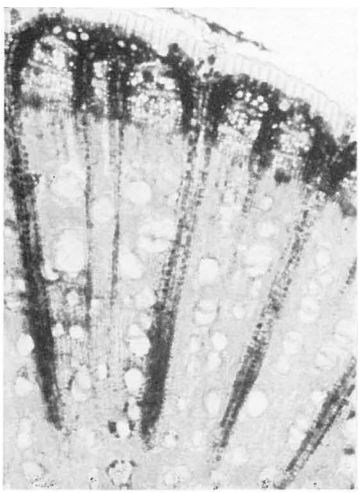

Abb. 3

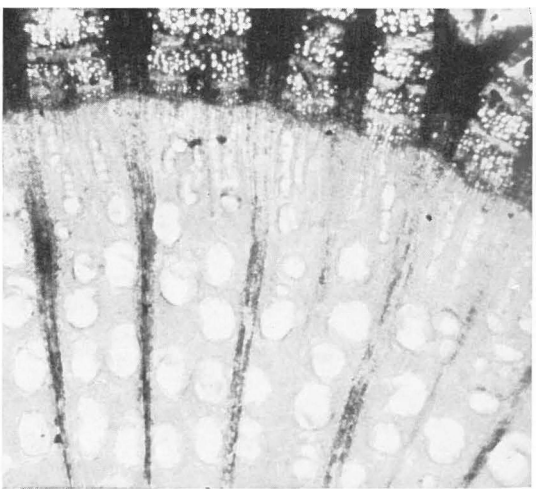

Abb. 4

Abb. 3: Einzelne Zellreihen der Holzmarkstrahlen zeigen eine besonders auffällige Phosphatasereaktion (Aufn. 8. 2. 68).
Abb. 4: Geringere Phosphataseaktivität im äußeren Teil der Holzmarkstrahlen (Aufn. 8. 2. 68).

Weiter tritt unmittelbar hinter dem Kambium in den Xylem-Markstrahlen im allgemeinen eine schwächere Aktivität auf als in dem inneren Bereich dieser Strahlen (Abb. 4). Auffallende Phosphataseaktivitäten sind weiterhin in den Holzparenchymzellen zu erkennen, die die großen Gefäße umgeben (Abb. 5). Bemerkenswert ist schließlich noch, daß die mit Stärkekörnern gefüllten Markzellen fast keine Phosphataseaktivität besitzen (Abb. 6).

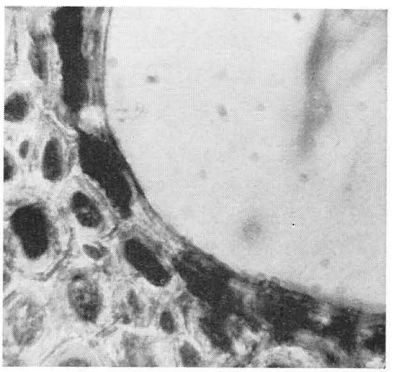

Abb. 5: Starke Phosphataseaktivität in den den großen Gefäßen benachbarten Parenchymzellen (Aufn. Anf. März 68).

Nach den Feststellungen von SAUTER (17), der bei der Pappel während der Perioden, in denen die Holzstärke mobilisiert wird, besonders intensive Aktivitäten auf der Oberfläche der Stärkekörner beobachtete, lag es nahe, mit dieser Erscheinung auch bei der Rebe zu rechnen. Wie bei vielen anderen Holzgewächsen, so zeigt sich bei der Rebe ebenfalls eine Zuckeranreicherung im Sproß während der ersten Härtungsphase. Weiterhin tritt aber auch später im Hochwinter eine kurzfristige Zuckerbildung aus Stärke bei starken Frösten ein. Unsere Phosphataseuntersuchungen wurden am gleichen Holzmaterial zur gleichen Zeit ausgeführt wie die Zucker-Stärkeuntersuchungen, die REUTHER (13) veröffentlichte. Wir konnten allerdings in keinem Fall eine mit der Zuckermobilisation gleichlaufende Veränderung der Phosphataseaktivität in den stärkeführenden Zellen feststellen. Auch nach einer längeren Wärmebehandlung, die eine Stärkeresynthese zur Folge hat, war kein Wechsel der Enzymaktivität zu bemerken (Abb. 2). Besonders deutlich treten in diesem Zustand allerdings die Schwärzungen in den Holzparenchymzellen, die die großen Gefäße umgeben, in Erscheinung. Es ist anzunehmen, daß dieser Effekt mit der Überführung der Zucker in die Gefäße im Zusammenhang steht. In diesem Stadium

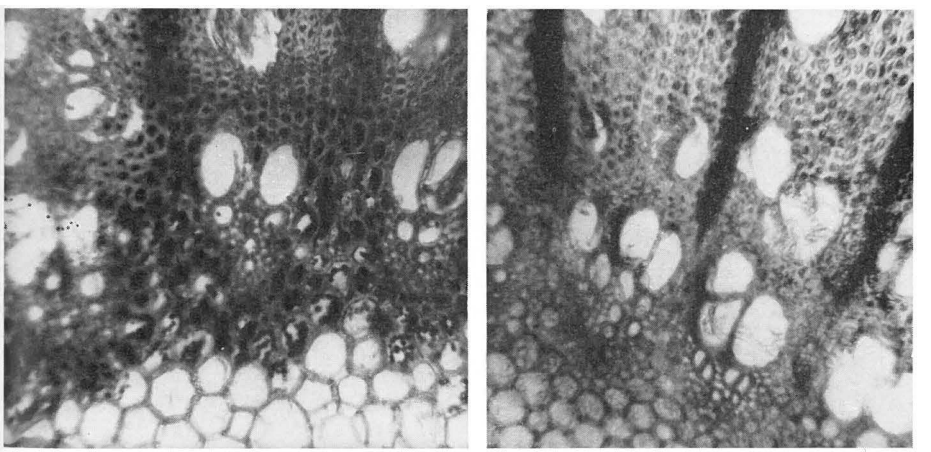

Abb. 6: Die innersten Bereiche der Holzmarkstrahlen und die stärkeführenden Markzellen zeigen trotz des Stärkereichtums (linke Abb., Aufn. 14. 12. 67) eine geringe Phosphataseaktivität (rechte Abb., Aufn. 22. 1. 68).

vollziehen sich die ersten physiologischen Schritte des Austriebs und gerade dann ist der Xylemsaft (Blutungssaft) ziemlich zuckerreich, was REUTHER und REICHARDT (14) und andere Autoren bei der Rebe feststellten.

Die Quantität der Phosphataseaktivität

Solange eine Befähigung zur Stärkehydrolyse vorliegt, unterscheiden sich die einzelnen Sorten in der Phosphataseaktivität ihrer Sproßgewebe deutlich (Abb. 7). Fast immer zeigen die verhältnismäßig frostresistenten und hinsichtlich der Stärkemobilisation aktiven Sorten Riesling und Perle von Alzey höhere Aktivitäten als die frostempfindliche Scheurebe (S 88). Nach längerer Wärmebehandlung und nach dem wahrscheinlichen Verlust des in der ersten Härtungsphase erworbenen Zustandes (Abb. 8) sind kaum Unterschiede in der Phosphatasereaktion zu erkennen. Auch die Befähigung zur Stärkemobilisierung fehlt dann.

Eine mit der Zuckerbildung konform gehende Zunahme der Phosphataseaktivität unter dem Einfluß plötzlich absinkender Temperaturen ist auch hier nicht feststellbar gewesen.

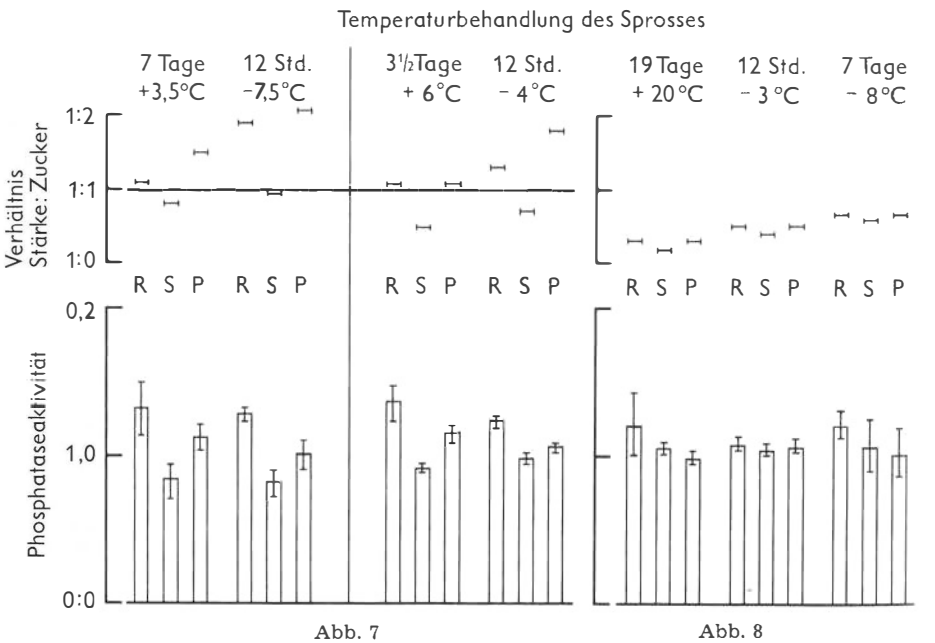

Abb. 7 Abb. 8

Abb. 7: Phosphataseaktivität und Stärke-Zucker-Verhältnis unter den Bedingungen der Frosthärtung (Aufenthalt bei Temperaturen in der Nähe des Gefrierpunktes).

R = Riesling, S = Sämling 88, P = Perle von Alzey. Die Phosphataseaktivität ist angegeben als Extinktionswert, der dem nach der Inkubation freigesetzten anorganischen Phosphat entspricht. Auf dem Größenwert für diese Aktivität ist die Streuung von 3 Parallelbestimmungen angegeben.

Diagramm links: Dauer der Temperaturbehandlung vom 8. 2. 68 bis 15. 2. 68.
Diagramm rechts: Dauer der Temperaturbehandlung vom 19. 2. 68 bis 22. 2. 68.

Abb. 8: Phosphataseaktivität und Stärke-Zucker-Verhältnis nach Enthärtung im Januar (19 Tage + 20° C) und anschließender Kältebehandlung (12 Std. bis auf —3° und 7 Tage bis auf —8° C).

Dauer der Temperaturbehandlung vom 12. 1. bis 8. 2. 68. Weitere Erläuterungen s. Abb. 7.

Diskussion

Die naheliegende Vermutung, daß mit der winterlichen Zuckermobilisation aus Stärke ein Wechsel der Phosphataseaktivitäten einhergeht, haben die vorliegenden Untersuchungen nicht bestätigt. Wenn die Phosphatasen — wie oben angeführt — eine Funktion bei der Steuerung des Stärkeabbaues hätten, müßten solche korrelierenden Veränderungen bei Phosphataseaktivität und Zuckergehalt feststellbar sein. Zu beobachten waren jedoch stets gleichmäßig hohe Aktivitäten während der verschiedenen Temperaturbedingungen, unter denen sich das Zucker:Stärkeverhältnis verändert. In Gewebebereichen (Rindenteil der Markstrahlen und Rindenparenchym), in denen die Stärkehydrolyse deutlich in Erscheinung tritt, waren stets gleichmäßig hohe Enzymaktivitäten zu erkennen. Die stärkeführenden Markstrahlzellen des Holzes zeigten geringere Aktivitäten. Fast ohne enzymatische Aktivität waren die stärkeführenden Markzellen.

Auch die quantitativen Messungen zeigten keine mit der Stärkehydrolyse zusammenhängenden Veränderungen der Phosphataseaktivitäten.

Die frostempfindliche Scheurebe befindet sich in einer besonderen Position. Sie antwortet während der ersten Härtungsphase nicht im gleichen Ausmaß wie die anderen Reben auf Frostzunahme mit verstärkter Zuckerbildung; sie hatte andererseits aber auch geringere Phosphataseaktivitäten aufzuweisen. Alle diese Einzelheiten geben Veranlassung, folgendes Resumé zu ziehen: Der für die Frostresistenz besonders während der ersten Härtungsphase wichtige Kohlenhydratmetabolismus tritt dort auf, wo auch besonders starke Phosphataseaktivitäten anzutreffen sind. Eine Stimulierung der Aktivitäten dieser Enzyme durch Kälte ist jedoch nicht nötig. Sie liegen vielmehr stets in einer ziemlich gleichmäßigen Stärke vor, die dem physiologischen Reaktionsvermögen der betreffenden Gewebe entspricht. Die Phosphatasen könnten somit wohl für den Stärkemetabolismus, nicht aber für die Steuerung dieses Vorganges von Bedeutung sein.

Versuche von Ullrich und Heber (20) zeigten ebenfalls, daß die Aktivität der Phosphatasen aus Weizenblättern auch nach sehr starker Kälte ziemlich konstant bleibt, obwohl im Zustand des Eiweißes schon starke Veränderungen auftraten.

Über die Kälteresistenz der metabolisch besonders aktiven Rinde liegen widersprüchliche Angaben vor. Bei der Rebe soll das Xylem frostresistenter sein als das Phloem (3). Parker (10) fand jedoch bei 7 verschiedenen Holzarten stets eine höhere Kälteresistenz im Phloem als im Xylem (die Rebe prüfte er nicht). Nach diesen Untersuchungen soll das Kambium ebenso frosthart sein wie das Phloem. Nach Pogosian und Sarkisov (12) beginnen bei armenischen Reben die Frostschäden am einjährigen Holz in der Grenzzone zwischen Xylem und Mark, also dort, wo wir stets Stärkekörner, aber nur sehr schwache Phosphataseaktivitäten in den Zellen beobachten konnten. Sakai (15) fand bei *Salix sachalinensis* ebenfalls eine besonders intensive Stärke-Zuckerumwandlung in der Rinde, und eine solche geringeren Ausmaßes im Xylem und in den Markstrahlen. Weil er auch eine geringere Kälteresistenz des Xylems feststellte, folgerte er, daß der Zuckergehalt vor allem des Xylems von ausschlaggebender Bedeutung für die Frosthärte der Zweige ist.

Die fast überall erkennbare Minderung der Phosphataseaktivität in der Holzmarkstrahlzone direkt hinter dem Kambium läßt sich schwer erklären. Dieser Gewebebereich, d. h. die gesamte äußerste Xylemzone, soll verhältnismäßig intensiv atmen. Heber und Santarius (5) berichteten, daß das mit der Atmung zusammenhängende Enzymsystem der oxydativen Phosphorylierung besonders kälteempfindlich und deswegen durch Zucker zu schützen ist. Diese Zellen selbst zeigen jedoch

keinen verstärkten Stärkeabbau. Es liegt somit nahe zu folgern, daß der auffällige Stärkeabbau in den benachbarten Phloem-Markstrahlenzellen zum Schutze dieser empfindlichen Zonen und auch des Kambiums erfolgt. Ebenso kann man für das übrige Phloem, in dem besonders die Geleitzellen eine hohe Vitalität besitzen, ein starkes Schutzbedürfnis annehmen. Es wird bis auf die Grenze zum Kambium vollständig von den Markstrahlen und den stärkeführenden Parenchymzellen umgeben.

Fernerhin ergaben unsere Untersuchungen auch zwei Indizien für die Beteiligung der Phosphatasen bei der Zuckertranslokation:

1. Die radiär verlaufenden Schwärzungsstreifen in einzelnen Zellreihen der Holzmarkstrahlen. [SAUTER (17) fand an Pappelholzmarkstrahlen ganz ähnliche Erscheinungen.]

2. Die starke Phosphataseaktivität in den Holzparenchymzellen, die die großen Gefäße umgeben.

Zusammenfassung

Eine Änderung der Phosphataseaktivität im Rebholz war während der verschiedenen Stärkemobilisierungsperioden im Winter nicht zu beobachten. In Gewebebereichen mit ständig hoher Phosphataseaktivität trat jedoch eine besonders intensive Stärkehydrolyse auf. Solche Gewebe sind die Markstrahlen in der Rinde und die Rindenparenchymzellen. In den Markstrahlzellen des Holzes zeigte sich eine geringere Phosphataseaktivität, in den stärkeführenden Markzellen war sie kaum vorhanden. Auch ein sortentypischer Unterschied der Phosphataseaktivität war feststellbar. Bei den frostresistenten Sorten Riesling und Perle von Alzey wurden im Gegensatz zur weniger frostresistenten Sorte S 88 höhere Aktivitäten ermittelt. Ebenso war der Stärkeumsatz bei den erst genannten Sorten forciert.

Die starken Enzymaktivitäten in den Holzparenchymzellen, die die großen Gefäße umgeben, und die Aktivitäten in einzelnen radial verlaufenden Zellreihen der Holzmarkstrahlen deuten auf eine Mitwirkung dieser Enzyme bei der Zuckertranslokation hin.

Herr Weinbau-Ingenieur F. SCHNEIDER führte die Kühlversuche durch und stellte die mikroskopischen Schnittserien mit der Phosphatasereaktion her. Ihm danke ich für seine Mithilfe herzlich.

Literaturverzeichnis

1. AKAZAWA, T., 1965: Basic metabolism: Starch, Inulin and other Polysaccharides. In: BONNER, J. and VARNER, J. E. (Ed.): Plant Biochemistry. Acad. Press, New York, 258—297.
2. AXELROD, B., 1965: Basic metabolism: Mono- and Oligosaccharides. In: BONNER, J. and VARNER, J. E. (Ed.): Plant Biochemistry. Acad. Press, New York, 231—257.
3. CONSTANTINESCU, G., MORLOVA, I. and COSMIN, S., 1965: Morpho-anatomische Aspekte, die den Frostwiderstand beim Weinstock bestimmen. Lucr. Stiint. Inst. Agron. „N. Bălcescu" Ser. B 8, 209—215. [Ref.: Hort. Abstr. 37 (1967), Nr. 3, 543].
4. FREY, G., 1954: Aktivität und Lokalisation von saurer Phosphatase in den vegetativen Teilen einiger Angiospermen und in einigen Samen. Ber. Schweiz. Botan. Ges. 64, 393—452.
5. HEBER, U. and SANTARIUS, K. A., 1964: Loss of adenosintriphosphate synthesis caused by freezing and its relationship to frost hardiness problems. Plant Physiol. 39, 712—719.
6. HOFFMANN-OSTENHOF, O., 1954: Enzymologie, eine Darstellung für Chemiker, Biologen und Mediziner. Verl. Springer (Wien), 192—200.
7. JENSEN, W. A., 1962: Botanical histochemistry, principles and practice. Ed. Freeman, San Francisco. 319—320.
8. LI, P. H., WEISER, C. J. and VAN HUYSTEE, R.: 1966: Relation of cold resistance to the status of phosphorus and certain metabolites in red-osier dogwood (*Cornus stolonifera* MICHX). Plant and Cell Physiol. 7, 475—484.
9. OHTA, Y. and UEDA, S., 1967: Phosphatase action on phosphate in potato starch. II. Mechanism of complete degradation of phosphodextrin by amylase and phosphatase. Stärke 19, 363—368.

10. Parker, J., 1962: Seasonal changes in cold resistance and free sugars of some hardwood tree barks. Forest Sci. **8**, 255—262.
11. Pfankuch, E., 1936: Über die Phosphatase der Kartoffel und der Zuckerrübe. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **241**, 34—46.
12. Pogosian, K. S. und Sarkisov, M. M., 1967: Die Frostresistenz der Rebsorten in Abhängigkeit von Abhärtungsverhältnissen. Fiziol. Rast. (Moskau) **14**, 1057—1064. [Ref.: Vitis **7**, 158 (1968)].
13. Reuther, G., 1968: Zur Physiologie der Frostresistenz bei *Vitis*. Wein-Wiss. **23**, 372—379.
14. — — und Reichardt, A., 1963: Temperatureinflüsse auf Blutung und Stoffwechsel bei *Vitis vinifera*. Planta **59**, 391—410.
15. Sakai, A., 1966: Studies of frost hardiness in woody plants. II. Effect of temperature on hardening. Plant Physiol. **41**, 353—359.
16. Sanwal, G. G., Greenberg, E., Hardie, J., Cameron, E. C. and Preiss, J., 1968: Regulation of starch biosynthesis in plant leaves: Activation and inhibition of ADP glucosepyrophosphorylase. Plant Physiol. **43**, 417—427.
17. 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. (Stuttgart) **55**, 349—362.
18. Schormüller, J., Papamichalis, D. und Belitz, H.-D., 1967: Über pflanzliche Phosphatasen. IV. Eigenschaften der Haferphosphatasen. Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch. **135**, 49—55.
19. Tumanov, I. I., 1967: The frost-hardening process of plants. In: Troshin, A. S. (Ed.): The cell and environmental temperature. Pergamon Press, Oxford 6—14.
20. Ullrich, H. und Heber, U., 1961: Ursachen der Frostresistenz bei Winterweizen. IV. Das Verhalten von Fermenten und Fermentsystemen gegenüber tiefen Temperaturen. Planta **57**, 370—390.

Eingegangen am 22. 1. 1969

Dr. H. Wienhaus
Institut für Botanik
Hessische Lehr- und Forschungsanstalt
für Wein-, Obst- und Gartenbau
6222 Geisenheim