

Kurze Mitteilung

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn

ÜBER DIE SCHUTZWIRKUNG DER ZUCKER  
BEI DER FROSTRESISTENZ VON WINTERWEIZEN

Von

HERMANN ULLRICH und ULRICH HEBER

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. Dezember 1956)

Ein verstärktes Auftreten von Zuckern im Verlaufe der Härtung gegen Frostschäden in überwinternden Pflanzen wurde schon früh festgestellt (MÜLLER-THURGAU 1882). Seitdem wurde dieses Phänomen wiederholt beobachtet, ohne daß sich immer Proportionalität zwischen erreichter Zuckerkonzentration und Frosthärte zeigte. Die Bedeutung der Zuckeranhäufung wurde z. T. darin gesehen, daß durch die Erhöhung des osmotischen Wertes die Gefriertemperatur des Zellinhaltes herabgesetzt und dadurch die Frostresistenz erhöht wird. Von anderer Seite nahm man eine „Schutzkolloidwirkung“ der Zucker an (ANDERSON 1944). Neuerdings vermutet JEREMIAS (1956) eine spezifische Schutzwirkung stark hydratisierter Glykoproteide auf das Plasma.

Die zerstörende Wirkung des Frostes wird von den meisten Autoren einer Schädigung (Denaturierung) von Plasmaeiweißsubstanzen zugeschrieben, worauf auch schon Befunde von ULLRICH und VAN VEEN (1942) hindeuten (s. a. FUCHS 1935). Die Berechtigung zu dieser Annahme konnte nunmehr experimentell in Gefrierversuchen mit Weizenpflanzen sehr wahrscheinlich gemacht werden. Nach dem Gefriertod dieser Pflanzen ließen sich nämlich etwa 20% weniger Eiweiß extrahieren als bei den nicht mit Frost behandelten Kontrollpflanzen. Parallelversuche mit vorher frostgehärteten Weizenpflanzen, die 10 Std bei  $-8^{\circ}\text{C}$  gefroren wurden und den Gefrierversuch überlebten, zeigten, daß hier innerhalb der Fehlergrenzen die Extrahierbarkeit der Eiweiße bei gefrorenen Pflanzen und bei frisch verarbeiteten Kontrollpflanzen praktisch gleich war.

Die Extraktionen wurden durch Homogenisieren in schwach alkalischem wäßrigen Milieu, anschließendes Abzentrifugieren der unlöslichen Bestandteile und Einengen der Lösung im Vakuum vorgenommen.

Entgegen der nach dem damaligen Stande der Forschung von KESSLER und RUHLAND (1943) geäußerten Meinung geht aus den Ergebnissen der oben mitgeteilten Befunde hervor, daß hier eine Denaturierung von Eiweißen durch bloßes Ausfrieren stattfindet, was sich übrigens auch leicht an Blatteiweißextrakten zeigen läßt.

Neuerdings wurde nun die Bedeutung des Zuckergehaltes für die Frostresistenz weitgehend bezweifelt und angenommen, daß die Zuckeranhäufung im Verlaufe der Härtung nur eine Begleiterscheinung des durch andere Ursachen bedingten Resistenzerwerbes sei, daß also kein kausaler Zusammenhang zwischen Zuckergehalt einerseits und Resistenzgrad andererseits bestehe (u. a. PISEK 1953; SIMINOVITCH, BRIGGS 1954). Diese Auffassung gründet sich auf die schon eingangs erwähnte Beobachtung, daß bei verschiedenen Pflanzen geringe Widerstandsfähigkeit gegen Frost bei hohem Zuckergehalt festgestellt wurde, und umgekehrt, daß auch beim Vergleiche verschiedener Pflanzenarten unter gleichen Umweltbedingungen resistente Arten mit niedrigem Zuckerspiegel und empfindliche Arten mit hohem Zuckerspiegel gefunden wurden. Solche Feststellungen konnten von uns auch an verschiedenen resistenten Weizensorten gemacht werden. Der Zuckergehalt ging eindeutig nicht parallel mit dem erblichen Resistenzgrad der einzelnen Sorten. Dies beweisen auch die eingetretenen Frostschäden.

Aus diesen Widersprüchen heraus mußte nunmehr vordringlich interessieren, ob und inwieweit eine direkte Schutzwirkung von Zuckern auf Plasmaeiweiße im Gefrierversuch *in vitro* festzustellen ist. Eine wesentliche unmittelbare Schutzwirkung des Zuckers auf Eiweißkörper wurde offenbar noch nicht beobachtet (vgl. SCARTH 1944). An der Pflanze selbst ist leider aus methodischen Gründen eine direkte Schutzwirkung von Zuckern auf Eiweiße nur schwer zu prüfen. Deshalb wurden Gefrierversuche an Extrakten (Homogenisaten) durchgeführt, die je nach den Extraktionsbedingungen nur eine Eiweißfraktion oder den größten Teil des Gesamtproteingehalts, immer aber den gesamten in der Pflanze enthaltenen Zucker enthielten, soweit dieser nicht adsorptiv vom Extraktionsrückstand zurückgehalten wurde. Diese Mengen dürften aber zu vernachlässigen sein. Gefrierversuche bei  $-25^{\circ}\text{C}$  zeigten, daß Zucker auch im Homogenisat, also nach dem Herauslösen der Eiweiße aus dem Strukturverbande, eine die Denaturierung verhindernde Wirkung auf pflanzliche Plasmaeiweiße auszuüben vermögen. Untersucht wurden die Weizensorten Ciewener 192 (sehr frosthart), Carsten V (weniger hart) und Hauter II (wenig hart). Der Gehalt an einem etwa 2% des Trockengewichtes der Pflanzen betragenden kochstabilen Eiweiß ging in den Homogenisaten nach dem Gefrieren innerhalb der Fehlergrenzen parallel mit dem Zuckergehalt der analysierten Blätter (Abb. 1 und 2).

Die Zucker wurden mit Anthron nach MORRIS (MORRIS 1948) bestimmt, während die durch Kälteeinwirkung denaturierten und gefällten Eiweißkörper getrocknet und ausgewogen wurden. Die in Lösung verbliebenen Eiweißanteile wurden mit Trichloressigsäure gefällt und ebenfalls gravimetrisch erfaßt. Dies erscheint zulässig, da es sich bei den Messungen um Vergleichs-, nicht um Absolutbestimmungen handelt.

In Abb. 1 ist der auf die Gesamttrockensubstanz bezogene Zuckergehalt gegen die Versuchsdauer aufgetragen. Die Weizensorten wurden

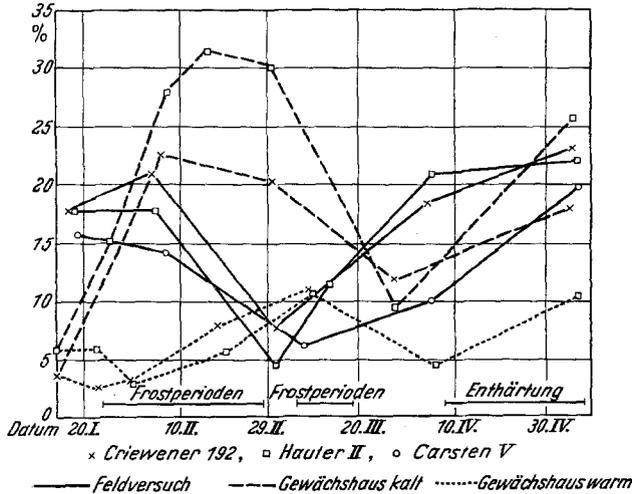


Abb. 1. Auf das Trockengewicht bezogener Gesamtzuckergehalt des Weizens in Abhängigkeit von der Versuchsdauer

unter drei verschiedenen Bedingungen untersucht: Im Feldversuch wurde unter natürlichen Härtungsbedingungen geprüft (Alter der

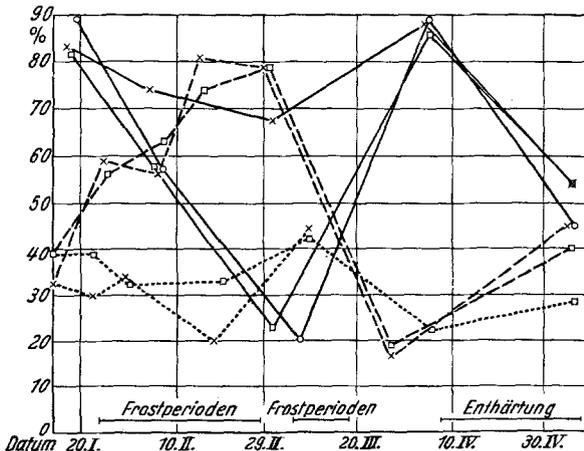


Abb. 2. Zeichen wie in Abb. 1. Gefrierversuche an gekochten Homogenisaten der drei Weizensorten: Prozentsatz des durch das Gefrieren nicht denaturierten kochstabilen Eiwisses in Abhängigkeit von der Versuchsdauer. Vergleich zu Abb. 1

Pflanzen bei Versuchsbeginn 9 Wochen), während im Gewächshausversuch die Pflanzen bei etwa 16° C 5 Wochen angezogen wurden.

Bei Versuchsbeginn wurde ein Teil dieser Pflanzen den Außenbedingungen durch Öffnen des Gewächshauses ausgesetzt („Gewächshaus

kalt“), wobei Frosthärtung eintrat, während der andere Teil bei etwa 16° C verblieb („Gewächshaus warm“).

In Abb. 2 wurde der froststabilisierte Anteil der kochstabilen Eiweißfraktion, ausgedrückt in Prozenten der Gesamtfraktion, gegen die Versuchsdauer aufgetragen.

Auch bei anderen Eiweißen, die nicht fraktioniert werden konnten, ließ sich klar eine Abhängigkeit des Proteingehaltes in der Lösung nach dem Gefrieren vom Zuckergehalt, d. h. eine Schutzwirkung der Zucker, feststellen. In Abb. 3 ist der auf das Gesamttrockengewicht bezogene

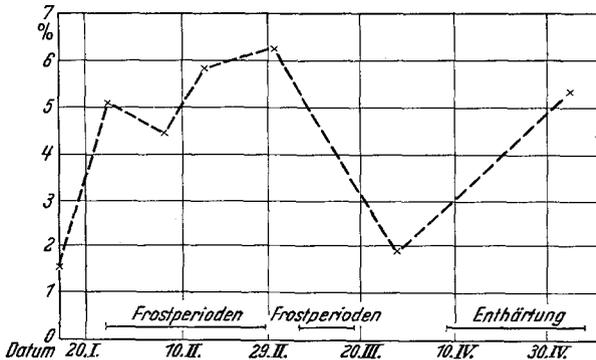


Abb. 3. Zeichen wie in Abb. 1. Gefrierversuche an schwach alkalischen Homogenisaten von Crieewener 192: Prozentsatz des durch das Gefrieren nicht denaturierten Gesamteiweißes, bezogen auf die Trockensubstanz, in Abhängigkeit von der Versuchsdauer. Vergleich zu Abb. 1

Eiweißgehalt gegen die Versuchsdauer aufgetragen. Aus dem Vergleich des Diagramms mit Abb. 1 geht hervor, daß sich die Schutzwirkung von Zuckern nicht auf eine Fraktion beschränkt — in Abb. 2 wird die protektive Wirkung an einer Fraktion gezeigt —, sondern sich offenbar überhaupt auf frostempfindliche Eiweiße erstreckt.

Die quantitative Bestimmung der Eiweiße wurde hier elektrophoretisch vorgenommen. Alle Gefrierversuche wurden in vergleichbaren Lösungsvolumina durchgeführt.

Die Erklärung der Schutzwirkung von Zuckern kann wohl darin gesucht werden, daß diese in ähnlicher Weise wie Wassersolvathüllen Eiweiße zu „solvatisieren“ vermögen und so die der Dehydratation folgende Fällung und Denaturierung zu hindern imstande sind. So dürfte auch die Frostschutzwirkung von Glykol oder Glycerin zu erklären sein (ULLRICH 1943). Die stabilisierende Wirkung ist, wie jetzt schon gesagt werden kann, wahrscheinlich nicht auf einen bestimmten Zucker beschränkt.

Mit dem Nachweis der Schutzwirkung von Zuckern auf Plasmaeiweiße ist der oben vorgebrachte Befund noch nicht erklärt, daß der

Zuckergehalt nicht in direkter Parallelität zur Frostresistenz der einzelnen Sorten steht. Zu diesem Problem, bei dessen Klärung noch weitere Faktoren eine Rolle spielen, wird der eine von uns (H.) Stellung nehmen und ausführlichere Versuchsdaten geben.

### Literatur

- ANDERSSON, G.: Gas change and frost hardening studies in winter cereals. Lund 1944. FUCHS, W. H.: Die Veränderung der Struktur und Reaktion der Zelle bei Abkühlung. *Kühn-Arch.* **39**, 1 (1935). — JEREMIAS, K.: Zur Physiologie der Frosthärtung. *Planta (Berl.)* **47**, 81 (1956). — KESSLER, W., u. W. RUHLAND: Über die inneren Ursachen der Kälteresistenz der Pflanzen. *Forschungsdienst (Sonderh.)* **16**, 345 (1943). — MORRIS, D. L.: Zit. in TH. PLOETZ, Kohlenhydrate. In HOPPE-SEYLER/THIERFELDERS Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, Bd. III/1, S. 694. 1955. — MÜLLER-THURGAU, H.: Über Zuckeranhäufung in Pflanzenteilen infolge niederer Temperaturen. *Landwirtsch. Jb.* **11**, 751 (1882). — PISEK, A.: Zur Kenntnis der Frosthärte alpiner Pflanzen. *Naturwiss.* **39**, 73 (1952). SCARTH, G. W.: Cell physiological studies of frost resistance. *New Phytologist* **43**, 1 (1944). — SIMINOVITCH, D., and D. R. BRIGGS: Studies on the chemistry of the living bark of the black locust tree in relation to its frost hardness. VII. *Plant Physiol.* **29**, 331 (1954). — ULLRICH, H.: Biologische Kältewirkungen und plasmatische Frostresistenz. *Protoplasma (Berl.)* **38**, 165 (1943). — ULLRICH, H., u. P. VAN VEEN: Weitere Untersuchungen über das Ausfrieren von Kolloiden und Kolloidgemischen im Hinblick auf die plasmatische Frostresistenzforschung an Pflanzen. *Kolloid-Z.* **100**, 389 (1942).

Prof. Dr. H. ULLRICH u. Dipl.-Chem. U. HEBER, Bonn, Meckenheimer Allee 176,  
Institut für Landwirtsch. Botanik