©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Phyton (Austria)	Vol. 27	Fasc. 2	221–240	30. 11. 1987

Untersuchungen über die jahreszeitlichen Schwankungen von Nadelinhaltsstoffen unter besonderer Berücksichtigung von Frosthärtefaktoren

Von

Dieter GRILL*), Hartwig PFEIFHOFER*) und Andrea TSCHULIK

Mit 7 Abbildungen

Eingegangen am 17. Dezember 1986

Key words: Seasonal variations, needle compounds, frost hardiness, osmotic pressure, *Picea abies*.

Summary

GRILL D., PFEIFHOFER H. & TSCHULIK A. 1987. Investigation of seasonal variations of spruce needle compounds in relation to frost hardiness. – Phyton (Austria) 27 (2): 221–240, with 7 figures. – German with English summary.

Needles of spruce (*Picea abies* [L.] KARST.) from two different sites in the vicinity of Graz (Styria, about 300–400 m above sea-level) were investigated with regard to seasonal variations of some compounds (water soluble and protein bound thiols, ascorbic acid, diverse sugars and amino acids), which are assumed to be involved in adaptation to freezing resistance. Concomitantly the osmotic pressure and the frost hardiness were determined.

The needles survived 0° C all through the year. Freezing temperatures were resisted only during the winter months. As could be shown, the induction and maintenance of frost hardiness is a complex metabolic process. When temperatures were still far above 0° C (September) the first step of the adaptation process occurred which resulted in an increase of the osmotic pressure. The content of water soluble thiols and ascorbic acid was increased at the beginning of October whereas the amount of sugars elevated in November. Thus at the prime stages of the acclimation process osmotically active substances other than sugars, e. g. organic acids, glycosides and probably inorganic salts contribute to the raising of the osmotic pressure. In contrast to earlier results, characteristic seasonal variations of the content of protein bound SH-groups were not observed. Furthermore, during autumn and winter no accumulation of amino acids was detectable. This could be due to the extraordinary mild winter during which the measurements were carried out.

*) Prof. Dr. D. GRILL, Dr. H. PFEIFHOFER, Institut für Pflanzenphysiologie, Karl-Franzens-Universität Graz, Schubertstraße 51, A-8010 Graz (Austria).

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

At the end of the winter all recorded substances showed maximal concentrations. Even the amino acids, the amount of which remained quite constant during the other seasons, reached a higher level at that time. With the flushing of the young needles the substances lowered their concentration to levels typical for summer.

Zusammenfassung

GRILL D., PFEIFHOFER H. & TSCHULIK A. 1987. Untersuchungen über jahreszeitliche Schwankungen von Nadelinhaltsstoffen unter besonderer Berücksichtigung von Frosthärtefaktoren. – Phyton (Austria) 27 (2): 221–240, mit 7 Abbildungen. – Deutsch mit englischer Zusammenfassung.

An Nadeln zweier Fichten (*Picea abies* [L.] KARST.) von klimatisch etwas verschiedenen Standorten in der Umgebung von Graz (Steiermark, 300–400 m ü. NN) wurde das jahreszeitliche Verhalten einiger Inhaltsstoffe, denen eine Funktion als Frosthärtefaktoren nachgesagt wird (wasserlösliche und proteingebundene Thiole, Ascorbinsäure, verschiedene Zucker und Aminosäuren) untersucht. Begleitend wurden der osmotische Wert und die Frosthärte bestimmt.

0° C wurde von den Fichten das ganze Jahr über vertragen, tiefere Temperaturen hingegen nur im Winter. Wie sich zeigte, führen komplexe physiologische Vorgänge zur Abhärtung der Pflanzen, wobei man weder einzelne Faktoren allein verantwortlich machen, noch ihr Verhalten isoliert betrachten kann. In der ersten Phase der Abhärtung zu einem Zeitpunkt ohne tiefe Temperaturen oder Nachtfröste (September), reagiert zunächst nur der osmotische Wert in Form eines Anstiegs. Die anderen Faktoren, wie die wasserlöslichen SH-Verbindungen als Eiweißschutz und die Ascorbinsäure als Oxidationsschutz, erhöhen ihre Konzentration Anfang Oktober, der Zuckergehalt steigt erst im November. In den Anfangsstadien der Abhärtung sind daher andere osmotisch wirksame Substanzen, wie z. B. organische Säuren, Glycoside und vielleicht auch anorganische Salze am Ansteigen des osmotischen Wertes beteiligt. Entgegen früheren Untersuchungen fand sich beim proteingebundenen SH-Gehalt kein charakteristischer Jahresgang. Weiters blieb eine Akkumulation von Aminosäuren im Herbst und Frühwinter aus. Beides könnte eventuell auf den ungewöhnlich milden Winter im Untersuchungszeitraum zurückzuführen sein.

Am Ende der Winterperiode erreichen alle untersuchten Substanzen ihr Maximum. Auch die Aminosäuren, bei denen in den übrigen Monaten keine Schwankungen nachzuweisen waren, treten hier verstärkt auf. Mit dem Austrieb der jungen Nadeln sinken die Werte auf die niederen Konzentrationen der Sommermonate.

Einleitung

Der winterliche Klimastreß stellt große Anforderungen an den Stoffwechsel und die Zellstrukturen von immergrünen Bäumen. Sie müssen einerseits eine Eisbildung verhindern oder tolerieren können, andererseits eine Denaturierung von Substanzen durch Wasserentzug bei der Eisbildung vermeiden oder, sollte eine derartige Schädigung doch auftreten, wieder reparieren können. Insbesondere ist die Gefahr beim Auftauen gegeben. Die Gefrierpunktsdepression ist einer der am längsten bekannten Schutzmechanismen, hervorgerufen durch eine Reihe gelöster und osmotisch wirksamer Substanzen. Da ein derartiger Mechanismus die Pflanze aber nur für relativ

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

geringe Minusgrade schützen kann (LARCHER 1980), viele Immergrüne und namentlich die Fichte aber sehr niedrige Temperaturen ertragen können (SCHMIDT-VOGT 1977), ist die Frage von zusätzlichen Mechanismen und deren Zusammenhänge wichtig, jedoch wenig untersucht. Von einer Reihe chemischer Verbindungen, die als Schutzsubstanzen für die Resistenz gegen Frostdehydration des Plasmas gelten, sind diejenigen mit SH-Gruppen funktionell bedeutend. Nach LEVITT & Mitarbeitern (cf. LEVITT 1980) können sie durch Frosteinwirkung oxidierte Thiole reparieren und funktionelle Gruppen (vgl. RENNENBERG 1982, ESTERBAUER 1976) aktiv erhalten. Die Pflanzen versuchen ein für sie typisches SH-SS-Verhältnis beizubehalten, denn bereits relativ geringe Änderungen können zu weitgreifenden Einflüssen in den Stoffwechselaktivität sowie in der Zellstruktur führen (RENNENBERG 1984). Gleichzeitig berichten GRILL & ESTERBAUER 1973 a, b, ESTERBAUER & GRILL 1978 von einer beträchtlichen Zunahme an wasserlöslichen Thiolen insbesondere von Glutathion während des Winters und bringen diese mit dem Temperaturverlauf während des Jahres in einen ursächlichen Zusammenhang. Wie weit nun diese Thiolzunahme auch mit anderen Substanzen, welche als Frosthärtefaktoren gelten, korreliert oder wie sie im zeitlichen Auftreten sich gegenüber diesen verhält, soll hier überprüft werden. Sicherlich ist nicht eine Substanz allein für die Frosthärte ausschlaggebend und man muß bedenken, daß auch die Abhärtung auf niedere Temperaturen in mehreren Phasen erfolgt (KREEB 1974).

Material und Methoden

Untersucht wurde einerseits Material einer ca. 30jährigen Fichte (*Picea abies* (L.) KARST.) einer Aufforstung aus dem Grüngürtel von Graz (= Baum „Graz"). Der Baum wuchs am Bestandesrand in geschützter Lage und war nach Süden und Westen exponiert. Weitere Nadelproben stammten von einem Individuum aus einem annähernd gleich alten Bestand nördlich von Graz, allerdings in der klimatisch weniger begünstigten Lage eines alpinen Tales („Gratwein"). In jedem Fall waren Exposition und Seehöhe (zwischen 300 und 400 m über NN) vergleichbar.

Der Gesamtgehalt an wasserlöslichen Thiolen wurde nach GRILL & al. 1980 kolorimetrisch mit DTNB bei pH 7,0 und λ = 412 nm bestimmt.

Die Messung des osmotischen Wertes erfolgte zum einen mit dem HR-33T Taupunkt-Mikrovoltmeter (Wescor Ins.). Dazu wurden 4,5 g Nadeln 30 min. im Wasserbad gekocht und anschließend mit einer Tinkturenpresse ausgepreßt. 1 Tropfen Preßsaft wurde für die Messung benötigt. Zum anderen wurde der osmotische Wert auch mittels der Scholander-Bombe (RICHTER 1978) bestimmt. Ein Fichtenzweig wird 24 Stunden im Wasser eingefrischt und zur vollen Wassersättigung in einem Einsiedeglas gut verschlossen im Kühlschrank aufbewahrt. Am darauffolgenden Tag wird der Zweig gerade geschnitten und sein Gewicht bestimmt (es wird jeweils ein Stück mit dem

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

jüngsten bzw. den letzten beiden Jahrgängen benutzt). Der Zweig wird in die Apparatur eingespannt und wie üblich behandelt. Die Abstände zwischen den einzelnen Messungen betragen zunächst 10 min. und steigern sich im Verlauf des Meßtages auf 1½ bis 2 Stunden. Nach der letzten Messung wird der Zweig, um sein Trockengewicht bestimmen zu können, 24 Stunden bei 100° C getrocknet. Aus der Druckvolumenkurve kann der osmotische Wert bestimmt werden (RICHTER 1978).

Die Bestimmung des Zuckers erfolgte gaschromatographisch nach ESTERBAUER & al. 1975 bzw. SCHWARZL 1977 oder mittels HPLC: Aminex HPX-87P-Säule (Biorad), als Laufmittel Wasser, Temperatur 80° C, Detektion mit dem Berechnungsindexdetektor. In beiden Fällen erfolgte die Identifizierung durch Vergleich der Retentionszeiten der unbekannten Verbindungen mit jenen von Referenzsubstanzen. Der Vergleich der durch HPLC und GC erhaltenen Daten ergab eine Übereinstimmung von ± 2 mg/g FG.

Die Aminosäuren wurden zuerst qualitativ mittels zweidimensionaler Dünnschichtchromatographie auf Merck-Kieselgel-Fertigplatten (URBACH & al. 1983) sowie quantitativ mittels Aminosäurenanalysator BC 100 (LKB-Bio Cal München) bestimmt (vgl. JÄGER & GRILL 1975). Die Extraktion der Aminosäuren aus den Pflanzen erfolgte nach BIELSKI & TURNER 1966.

Die Ascorbinsäurebestimmung erfolgte nach AEBI 1965 und ESTERBAUER & al. 1980 durch Titration mit Dichlorphenolindophenol.

Die Probennahme erfolgte in der Regel alle 14 Tage, wobei getrachtet wurde, daß stets Nadeln gleicher Exposition, d. h. ausschließlich Lichtnadeln für die Versuche herangezogen wurden. Die Temperaturwerte wurden uns vom Institut für Meteorologie der Universität Graz zur Verfügung gestellt, wobei die Maxima, Minima und Mittelwerte des jeweiligen Untersuchungszeitraumes ermittelt wurden. Die Proben wurden möglichst schnell ins Institut gebracht und sofort aufgearbeitet. Mußte jedoch bei einer großen Probenmenge das Material gelagert werden, dann ergab eine eintägige Aufbewahrung des ganzen Zweiges in einem kühlen dunklen Raum keine Änderung. Für längere Lagerung empfiehlt sich jedoch, insbesondere für stoffwechselphysiologische Untersuchungen, das Material mit flüssigem Stickstoff gefrierzuschocken und bei −30° C in der Tiefkühltruhe aufzubewahren (GRILL, PFEIFHOFER & ESTERBAUER unveröffentlicht).

Während der jahreszeitlichen Untersuchungen wurde orientierend die Frosthärte nach TESCHE & al. 1979 bestimmt, indem Zweige Temperaturen von −27° C, −13° C, −5° C bzw. 0° C durch 24 Stunden ausgesetzt (gefrostet) und die nach weiteren 48 Stunden bei 20° C auftretenden Veränderungen beurteilt werden.

Ergebnisse

Nach den niedrigen Werten im Sommer (Baum „Graz") steigt der Gehalt an wasserlöslichen Thiolen in den beiden letzten Jahrgängen Anfang

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

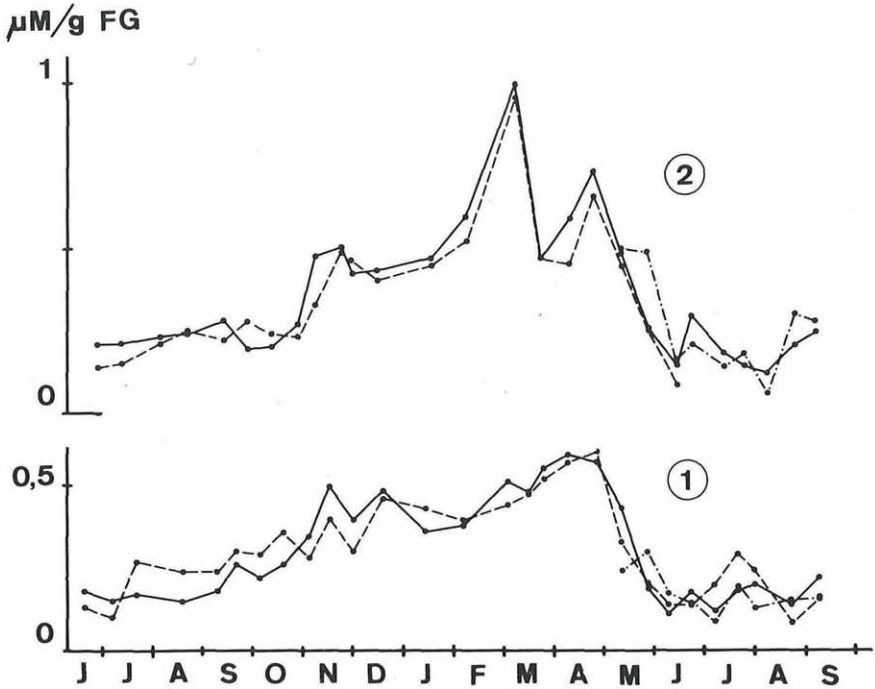

Abb. 1. Jahresgang des Gehaltes wasserlöslicher SH-Gruppen (µMol pro 1 g Frischgewicht); Untersuchungszeitraum Juni 1982 – September 1983; 1 = Baum „Graz" 2 = Baum „Gratwein"; Nadeljahrgang 1981 ----, Nadeljahrgang 1982 ——, Nadeljahrgang 1983 -·-·-·.

Oktober an, wobei der durchschnittliche SH-Gehalt für den jüngsten Nadeljahrgang 0,371 µM/g FG beträgt (Abb. 1). Die wasserlöslichen Thiole korrelieren mit der Durchschnittstemperatur mit $r = -0{,}723$ signifikant negativ. Der durchschnittliche SH-Gehalt der jüngsten Nadeln beträgt im Sommer 0,2 µM/g FG. Das Absinken der hohen Wintergehalte auf die niedrigen Sommerwerte erfolgt zur Zeit des Austriebs Ende April bis Anfang Mai. Auch im Sommer ist der Zusammenhang zwischen SH-Gehalt und Temperatur mit $r = -0{,}758$ hoch negativ signifikant. Der 2. Jahrgang weist den gleichen Kurvenverlauf auf, wobei der SH-Gehalt um ca. 4,3% höher ist als im 1. Jahrgang. Bei den ganz jungen Nadeln findet sich knapp nach dem Austrieb ein hoher SH-Gehalt, der auf den um 68% geringeren Trockengewichtsanteil der jüngsten Nadeln zurückzuführen ist. Bereits im Juni wird er mit dem der älteren Jahrgänge wieder vergleichbar.

Der Jahresgang beim Baum „Gratwein" ist prinzipiell gleich, doch liegt hier der Gehalt an wasserlöslichen Thiolen um 10–20% höher als bei Vergleichsbaum „Graz". Auffällig ist das hohe Wintermaximum im 1. und 2.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

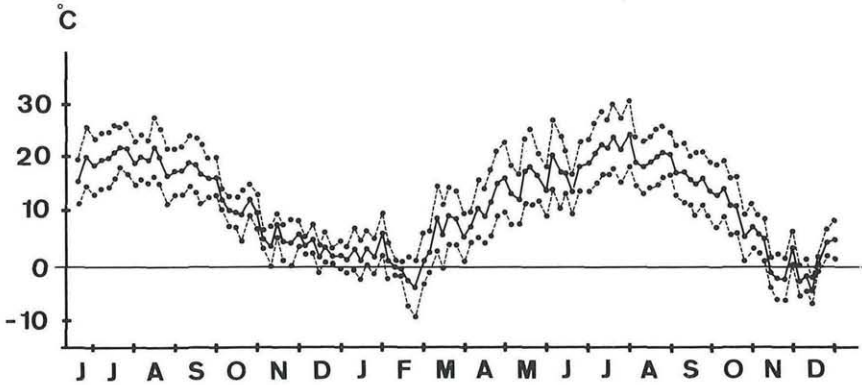

Abb. 2. Temperaturverlauf für den Untersuchsungszeitraum Juni 1982 – Dezember 1983; Meßstation Univesität Graz; Tagesmittelwerte ——, Maximal- bzw. Minimalwerte ----.

Jahrgang im Februar, das zeitmäßig mit einem winterlichen Temperaturminimum zusammenfällt (vgl. Abb. 2). Der Protein-SH-Gehalt beider Versuchsbäume zeigte bei den durchgeführten Untersuchungen kein jahreszeitliches Verhalten. Die Werte bewegen sich zwischen 3,9 und 2,135 µM/g FG, der Jahresmittelwert des Protein-SH-Gehaltes beträgt 2,571 µM/g FG. Sämtliche Schwankungen lagen innerhalb des methodischen Fehlers.

Der osmotische Wert beim Baum „Graz", gemessen mit dem Taupunkt-Mikrovoltmeter (es wurde hier nur der jüngste Nadeljahrgang untersucht), unterliegt ebenfalls jahreszeitlichen Schwankungen (Abb. 3). Nach niedri-

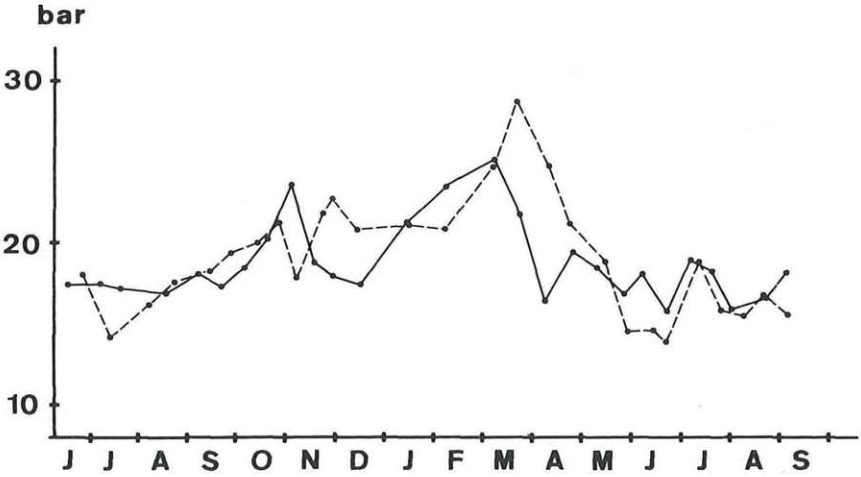

Abb. 3. Jahresgang des osmotischen Wertes (bar), gemessen mit dem Mikrovoltmeter; Untersuchungszeitraum Juni 1982 – September 1983; Baum „Graz" Nadeljahrgang 1982 —— Baum „Gratwein" Nadeljahrgang 1982 ----.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

gen Werten im Sommer steigt der osmotische Wert ab September kontinuierlich an und erreicht nach einer vorübergehenden Absenkung im November das Wintermaximum Anfang März (25 bar). Das Absinken auf die Sommerwerte (15,7 bar im Mittel) erfolgt Ende März.

Der osmotische Wert beim Baum „Gratwein" verhält sich nahezu gleich wie der Baum „Graz", wenn auch einige auffällige Schwankungen zeitlich abweichend auftreten. Außerdem besitzt er ein höheres Wintermaximum mit 28,6 bar und keine deutliche Verringerung des osmotischen Wertes im November. Zwischen osmotischem Wert und der Temperatur ergibt sich mit $r = -0{,}773$ eine signifikante negative Korrelation. Ohne Berücksichtigung der Umstellungsmonate September, März und April erhöht sich der Korrelationskoeffizient auf $-0{,}82$. Ermittelt man den osmotischen Wert bei bei-

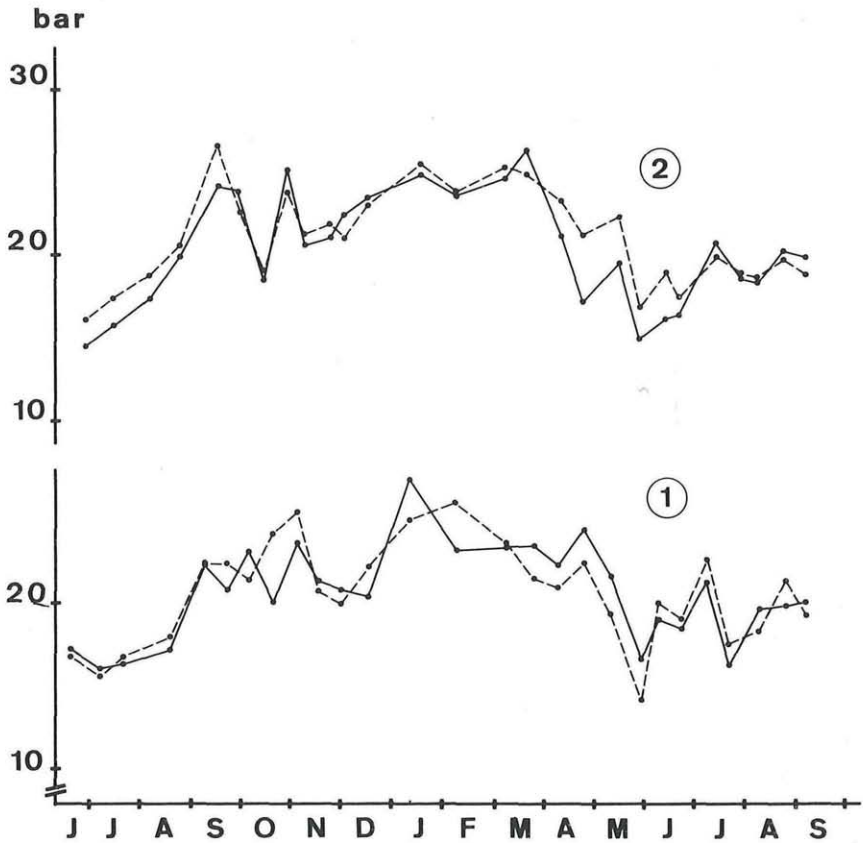

Abb. 4. Jahresgang des osmotischen Wertes (bar), gemessen mittels Druckkammertechnik; Untersuchungszeitraum Juni 1982 – September 1983; 1 = Baum „Graz", 2 = Baum „Gratwein"; Nadeljahrgang 1981 ---- Nadeljahrgang 1982 ——.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

den Versuchsbäumen durch Anlegen einer Druck-Volumenkurve, sind ebenfalls jahreszeitlich bedingte Schwankungen erkennbar (Abb. 4). Er beginnt bereits Ende August kontinuierlich anzusteigen und erreicht Winterwerte über 27 bar. Zur Zeit des Austriebs nimmt er auf 16 bar ab. Die ersten und zweiten Nadeljahrgänge verhalten sich dabei prinzipiell ähnlich. Wenn man die Ergebnisse in einen direkten Vergleich zur Durchschnittstemperatur setzt, ohne jedoch die Umstellungsmonate September, März und April zu berücksichtigen, dann ergibt sich eine deutliche negative Korrelation von $r = -0{,}8$. Die Ergebnisse, die man durch Messung mit dem Taupunkt-Mikrovoltmeter erhält, liegen im Durchschnitt um $2{,}4 \pm 1{,}5$ bar

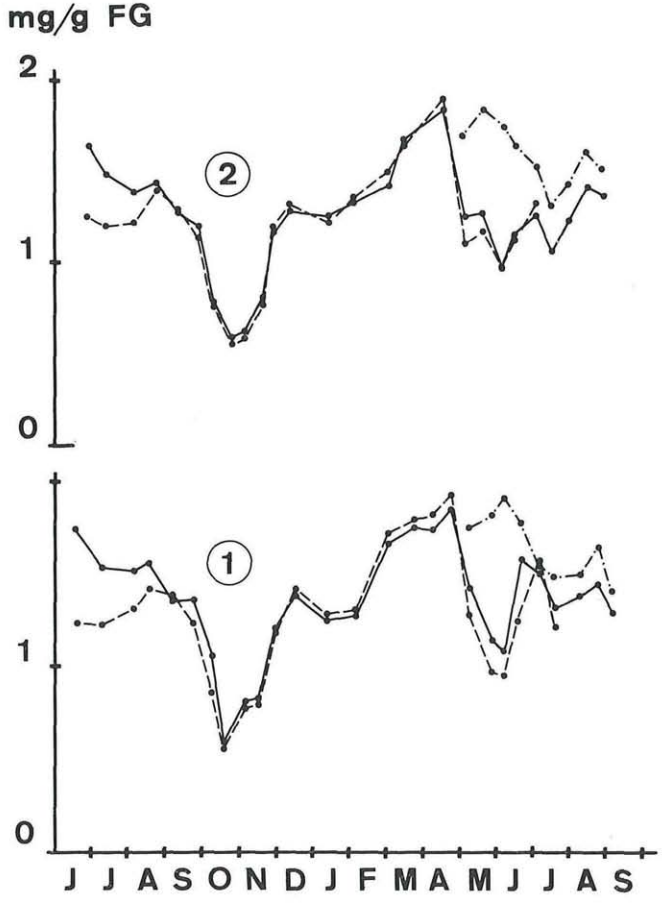

Abb. 5. Jahresgang des Ascorbinsäuregehaltes (mg pro 1 g Frischgewicht); Untersuchungszeitraum Juni 1982–September 1983; 1 = Baum „Graz", 2 = Baum „Gratwein"; Nadeljahrgang 1981 ---- Nadeljahrgang 1982 ——, Nadeljahrgang 1983 -·-·-·-.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

unter den mit der Scholander-Bombe gewonnenen Werten, weisen sonst aber deutliche Parallelen auf. Ferner steigen die Werte, die mit der Scholander-Bombe ermittelt wurden, in beiden Versuchsbäumen um ca. 1 Monat früher auf das Winterniveau an und erniedrigen ihren osmotischen Wert ebenfalls mit Verzögerung (Abb. 4). Eine Korrelation zwischen beiden Ergebnissen läßt sich nur beim Baum „Gratwein" mit ausreichender Signifikanz feststellen ($r = 0{,}72$, ohne Umstellungsmonate September, März bis April: $r = 0{,}87$).

Auch beim Ascorbinsäuregehalt ist ein Jahresgang zu beobachten (Abb. 5), der in beiden Bäumen weitgehend übereinstimmt. Kennzeichnend sind zwei deutliche Minima, eines Ende September und ein zweites Ende April. Beide fallen mit der Umstellungsphase der Fichtennadeln auf den Winter bzw. das Frühjahr zusammen. Die AS-Gehalte im Winter sind um 40–60% höher als im Sommer. Der Korrelationskoeffizient zwischen dem Jahresgang des Ascorbinsäuregehaltes und der Temperatur mit Ausnahme der Umstellungsmonate beträgt $-0{,}79$ und ist statistisch hoch signifikant.

In Abb. 6 ist der jahreszeitliche Gehalt und die Zusammensetzung der wichtigsten Zucker, sowie Pinit (5-Methyläther von D-Inosit) dargestellt. Raffinose ist nur im Winter, vor allem vor dem Austrieb der neuen Nadeln, nachzuweisen, von Mitte Juni bis November, außer zwei Nachweisen im Juli

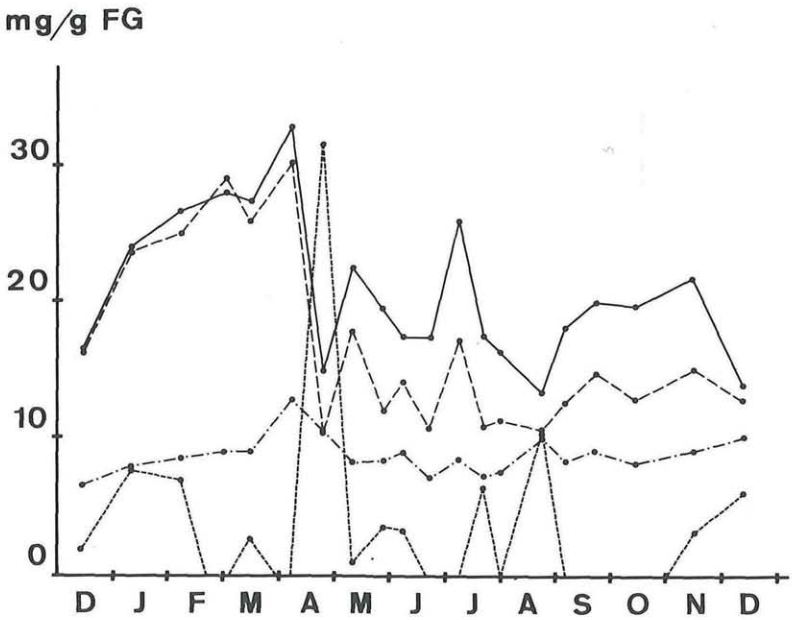

Abb. 6. Jahresgang der in den Fichtennadeln mit dem HPLC nachgewiesenen Zucker; Baum „Graz", Nadeljahrgang 1982, Untersuchungszeitraum Dezember 1982 – Dezember 1983; Glucose + Saccharose ——, Fructose ----, Pinit -·-·-·-, Raffinose ----.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

bzw. August, jedoch kaum aufzufinden. Glucose + Saccharose und Fructose zeigen einen nahezu parallelen Verlauf, wobei Fructose im Durchschnitt um 24% niedrigere Werte als Glucose + Saccharose aufweist. Beide haben um 17% höhere Werte in den Wintermonaten, ein Maximum Anfang April und sinken anschließend rasch auf das Sommerniveau. Pinit zeigt wohl einen höheren Wert Anfang April, aber keinen ausgeprägten Jahresgang. In den zwei jüngsten Nadeljahrgängen schwankt der Zuckergehalt im gleichen jahreszeitlichen Rhythmus, wobei er in den einjährigen Nadeln im Durchschnitt um 10% niedriger ist als im 2. Nadeljahrgang.

Der Gehalt von 14 quantitativ bestimmten, freien Aminosäuren ist kaum jahreszeitigen Schwankungen unterworfen. Nur in den Monaten März bis April ist auffällig viel freie Aminosäure vorhanden (bis 2,2 µM/g FG).

Orientierende Messungen über die Frosthärte wurden mittels eines Schnellverfahrens nach TESCHE & al. 1979 durchgeführt. Die Ergebnisse sind tabellarisch dargestellt, wobei der Schädigungsgrad anhand einer fünfstufigen Skala wiedergegeben wird (Abb. 7). Die Fichtennadeln können lediglich 0° C das ganze Jahr ungeschädigt überstehen. −5° C und −13° C konnten in den Wintermonaten meist ohne Schaden überdauert werden. Nadeln, die −5° C ausgesetzt sind, reagieren in den Monaten Mai bis August mit deutlichen Verfärbungen auf diese für die Jahreszeit ungewöhnlich niedrigen Temperaturen, gegenüber −13° C sind sie von April bis Anfang Oktober empfindlich. Im Hinblick auf dieses Ergebnis muß aber darauf verwiesen werden, daß der Winter in diesen Versuchsjahren sehr mild war und keine extremen Fröste mit sich brachte (vgl. Abb. 2).

Besprechung der Ergebnisse

Fichten müssen als Immergrüne die winterlichen Streßbedingungen überdauern können. Dies hängt von ihrem Vermögen ab, rechtzeitig eine ausreichende Frostresistenz zu entwickeln und sie solange beizubehalten, bis eine Gefährdung durch tiefe Temperaturen nicht mehr besteht. Eine vollständige Frostresistenz kann nur dann erreicht werden, wenn eine lokale Dehydration vermieden wird, da die größte Gefahr für die Pflanze der Wasserentzug, die nachfolgende Austrocknung und die Verformung bzw. Zerstörung der Zellorganellen durch intrazelluläre Eisbildung darstellt.

Es ist nachgewiesen, daß das komplexe Zusammenwirken verschiedener, in der Zelle vorhandener nieder- und hochmolekularer Stoffe eine Gefrierinaktivierung von biologischen Membranen verhindert und ein Ansteigen der toxisch wirkenden Substanzen in der ungefrorenen Restlösung unterbindet (SANTARIUS 1971, KREEB 1971, LARCHER 1980).

WEISER 1970 und KREEB 1971 kommen bei Untersuchungen an holzigen Pflanzen zu dem Schluß, daß die Abhärtung in drei Phasen abläuft. Die

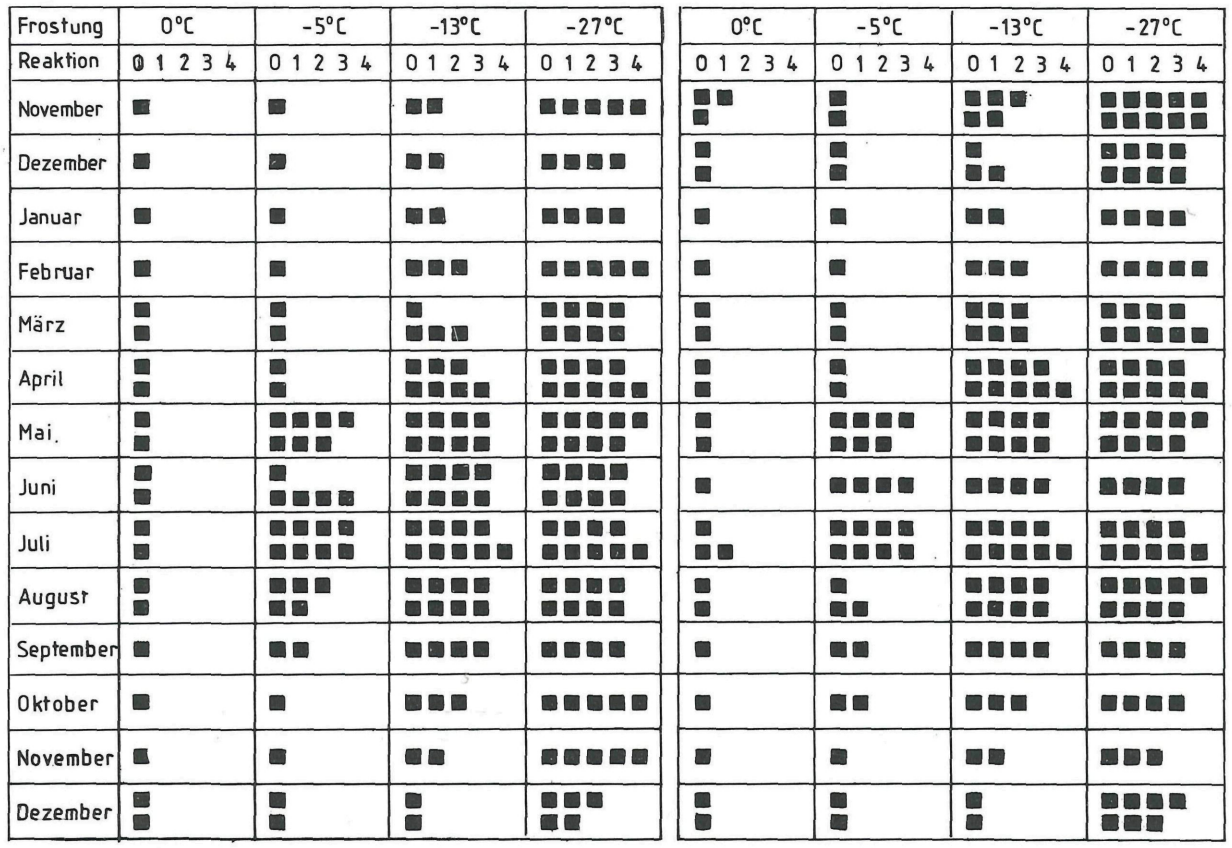

Abb. 7. Schädigung der Fichtennadeln nach Frostung bei verschiedenen Temperaturen im Laufe eines Jahres: 0 = keine sichtbare Veränderung gegenüber der unbehandelten Kontrolle; 1 = grau-grüne Verfärbung mit scharfer Grenze in der Nadelmitte; 2 = deutliche Verfärbung und braune Spitzen; 3 = totale Entfärbung der Nadeln, dunkle Flecken auf hellem Grund; 4 = Nadelfall.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

erste Phase ist eine Kurztagsperzeptionswirkung, die im Frühherbst bei noch hoher Tages-, aber bereits verhältnismäßig niedriger Nachttemperatur einsetzt. Die zweite Phase ist der Abschnitt der physikalischen oder metabolischen Vorgänge, charakterisiert durch Fröste, Laubfall und beginnende Ruhepause. Die dritte Phase ist die Periode der Dauerfröste im Winter. Sie wurde aber im Untersuchungszeitraum dieser Arbeit aufgrund der relativ hohen Außentemperaturen – lediglich im Februar herrschte eine durchgehende Kälteperiode (siehe Abb. 2) – wahrscheinlich nie erreicht.

Versucht man die Ergebnisse dieser Arbeit in den oben genannten stufenweisen Aufbau der Frosthärte einzubeziehen, so reagiert in der ersten Phase ausschließlich der osmotische Wert. Er erhöht sich bereits im September über das durchschnittliche Niveau der Sommermonate.

Die nach zwei verschiedenen Methoden ermittelten osmotischen Werte unterscheiden sich, und zwar derart, daß die Werte, die mit der Scholander-Bombe gemessen wurden, um ca. 10% höher sind als die mit dem Mikrovoltmeter erhaltenen Daten. Außerdem beobachtet man mit der Scholander-Bombe bereits Anfang September einen Anstieg des osmotischen Wertes, mit dem Mikrovoltmeter hingegen erst einen Monat später.

Die Ursachen für diese Differenzen, auf die bereits BOYER 1967, KAUFMANN 1968 und TALBOT & al. 1975 aufmerksam machten, sind in der Versuchsdurchführung zu suchen: Mit der Scholander-Bombe werden ganze Fichtenzweige untersucht. Man erhält sogenannte Druck-Volumen-Kurven, die nach RICHTER & al. 1979 und KYRIAKOPOULOS & RICHTER 1981 Veränderungen im Wasserpotential von Zellen, Geweben und Organen zum Ausdruck bringen. Bei der Taupunktbestimmung mit dem Mikrovoltmeter (CAMPBELL & al. 1973) wird hingegen nur der aus den Nadeln gewonnene Preßsaft verwendet. Bei der Messung mit der Druckkammertechnik spielen daher Adsorptionserscheinungen und Widerstände, die das Wasser bei der Wanderung durch das Xylem erfährt, eine Rolle, Faktoren also, die bei der Messung des Preßsaftes von vornherein auszuschließen sind.

Das Ansteigen des osmotischen Wertes in den Wintermonaten ist bereits von vielen Autoren beschrieben worden und wurde auch hier wiederum bestätigt. Uns interessiert jedoch auch, wie sich der osmotische Wert im Vergleich zu den anderen Frosthärtefaktoren wie Zuckergehalt, SH-Gehalt und zur Ascorbinsäure verhält.

Der Zuckergehalt ist mit durchschnittlich 30% am osmotischen Wert beteiligt (vgl. ULMER 1937). Aus seinem Jahresgang geht hervor, daß er erst im November, also zwei Monate später als der osmotische Wert, seine Konzentration erhöht. Am osmotischen Wert müssen daher noch andere Substanzen, wie organische Säuren, bei denen ebenfalls jahreszeitliche Schwankungen nachgewiesen wurden (OECHSSLER 1968), oder auch anorganische Salze beteiligt sein.

Eine Erhöhung der Speicherkohlenhydrate ist ebenfalls in der Literatur schon weitgehend bekannt (BRECKLE & KULL 1971, SENSER & al. 1971,

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

ESTERBAUER & al. 1975, KANDLER & al. 1979, DIAMANTOGLOU 1980 u. a.). Mit dem steht im Einklang, daß das Trisaccharid Raffinose nur in den Wintermonaten verstärkt auftritt, während es in der übrigen Zeit nicht oder nur in geringem Ausmaß nachzuweisen ist. Auf dieses temperaturabhängige Auftreten der Raffinose, die eine wichtige Kohlenhydratreserve bei fallenden Temperaturen darstellt, wiesen u. a. JEREMIAS 1964, JEREMIAS & FRANK 1967, HIDA et al. 1962, NEISH 1958, HÖLL 1981, KANDLER & al. 1979, SENSER & al. 1971 hin.

Über die Rolle der Zuckeranhäufung selbst liegen widersprüchliche Ansichten vor. So behaupten ULLRICH & HEBER 1958, BÖRTITZ & WEISE 1963, daß die Zucker die ausschlaggebenden Faktoren bei der Frostresistenz darstellen und in der Lage sind, die Eiweiße vor einer Dehydration zu schützen. Auf der anderen Seite sprechen KESSLER & RUHLAND 1938, PISEK 1950, 1952 und SIMINOVITCH & BRIGGS 1959 den Zuckern keine wesentliche Rolle bei der Frostresistenz zu. Nach den Ergebnissen dieser Arbeit kann angenommen werden, daß die Zucker keinesfalls die alleinige Ursache der Frostresistenz darstellen, da sie erst viel später auf eine Veränderung der Temperaturen und der Tageslänge reagieren als der osmotische Wert. Sie sind aber wichtige Begleitfaktoren, die wahrscheinlich einen positiven Einfluß auf die Frosthärte bei schon eingeleitetem Resistenzverhalten ausüben, wie auch KANDLER & al. 1979 betonen.

Mit dem Absinken der Temperaturen und einsetzenden Nachtfrösten ändert sich der Gehalt weiterer Substanzen, denen eine Rolle bei der Frosthärtung zugesprochen wird. Dazu gehören SH-Verbindungen, deren Gehalt in den Wintermonaten bekanntlich ansteigt (IVANOV 1939, LEVITT 1962 a, b, 1980, GRILL & ESTERBAUER 1973 a, ESTERBAUER & GRILL 1978).

Zwischen der Konzentrationserhöhung von SH-Gruppen, die als Schutzfunktion gegen die Bildung intermolekularer S-S-Brücken aufgefaßt werden (LEVITT 1962 b), und der Frostresistenz besteht eine deutliche Übereinstimmung. Nicht zufällig trifft daher der maximale Gehalt an wasserlöslichen Thiolen mit dem Temperaturminimum im Februar zusammen. Besonders deutlich ist das beim klimatisch wenig begünstigtem Baum „Gratwein" zu sehen. Bei keinem anderen Parameter trat in dieser Zeit eine derart starke Veränderung auf. Da der SH-Gehalt erst einen Monat später als der osmotische Wert seine Konzentration erhöht, kann man annehmen, daß die schützende Wirkung der Sulfhydrilgruppen erst nach einer Gefrierpunkterniedrigung durch den osmotischen Wert zum Tragen kommt. Dafür spricht auch, daß abgasbelastete Bäume zwar einen sehr hohen SH-Gehalt, aber einen geringeren osmotischen Wert aufweisen und infolgedessen sehr frostempfindlich sind (TESCHE & al. 1979). Demnach ist der SH-Gehalt ein stabilisierender Faktor für Eiweiße, aber nicht der alleinige Resistenzmechanismus für die Frosthärte, weil sonst SO_2-belastete Bäume durch ihren hohen SH-Gehalt sehr kälteresistent sein müßten.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Gleichzeitig mit dem SH-Gehalt beginnt auch der Ascorbinsäuregehalt, der ebenfalls mit der Frosthärte in Verbindung stehen soll (KELLER & SCHWAGER 1977 und LEVITT 1980), auf die tieferen Temperaturen zu reagieren. Er erreicht im Oktober sein charakteristisches Minimum, steigt dann stetig an und erzielt Ende April seinen höchsten Wert. In der Literatur finden wir Angaben über erhöhte AS-Werte in den Wintermonaten bei MOLDTMANN 1939, BUKATSCH 1943, FRANKE 1968/69, ESTERBAUER & al. 1980 und GRILL & al. 1980.

Es gibt aber auch Vermutungen, wonach der hohe Ascorbinsäuregehalt im Winter auf ein Konzentrationsmaximum der Glucose zurückzuführen sei, da die Synthese der Ascorbinsäure auch von Glucose ausgehen kann (BARKER 1950, ISHERWOOD & al. 1954, LOEWUS 1961). Nach ESTERBAUER & al. 1980 ist die AS aber eine Schutzsubstanz bei der Frosthärte, die eine Denaturierung von Eiweißen verhindert. Sie stellt außerdem einen Oxidationsschutz für SH-Verbindungen der (GRILL & al. 1977), die ihrerseits stabilisierend auf die Struktur von Proteinen wirken. Durch ihren komplexen Aufgabenbereich kann die Ascorbinsäure daher zu den Faktoren des Abhärtungsprozesses gezählt werden.

Die Bestimmung der in den Fichtennadeln vorhandenen Aminosäuren ergab im Gegensatz zu EDER & KINZEL 1983, die bei *Vaccinium myrtillus* und *V. uliginosum* ein Maximum gewisser Aminosäuren im Winter feststellten, keine jahresperiodischen Schwankungen. Nur Mitte März und Mitte April kommt es zu einem drastischen Ansteigen der Aminosäurekonzentration. Diese zwei Maxima, die auch in den Untersuchungen von TROMP & OVAA 1967 und SAUTER 1976, 1981 festgestellt wurden, dürften mit dem Blattaustrieb zu erklären sein. Mit besonderem Interesse verfolgten wir im Zusammenhang mit der Reaktion der Pflanze auf die wechselnden Umweltbedingungen das Verhalten der Aminosäure Prolin, da ihr als C- und N-Speicher (BARNETT & NAYLOR 1966) von zahlreichen Autoren eine Schutzfunktion bei jeder Art von Streß zugesprochen wird. Einen Zusammenhang zwischen Frosthärte und Anreicherung freien Prolins erwägen u. a. YELENOSKY 1979, POPP & ALBERT 1981 und VAN SWAAIJ & al. 1985. Die Prolinakkumulation hält man generell für unspezifisch (KAPPEN, NÖVIG & MAIER 1978, PRIEBE & JÄGER 1978, IVANOVA 1982) und nur bei Rettich und Gerste wird ein Ansteigen des Prolins mit steigendem osmotischen Druck in Verbindung gebracht (CHU & al. 1974, 1978, SCHOBERT 1979). Doch bei Fichtennadeln konnten ähnlich wie bei Flechten (WEIGEL & JÄGER 1979) weder eine Prolinakkumulation mit dem Einsetzen tieferer Temperaturen noch erhöhte Aminosäurewerte in den Wintermonaten ermittelt werden.

Aminosäuren kann man deshalb als wichtige Schutzfaktoren bei der Frostresistenz ausschließen, was schon HEBER 1958 nach Versuchen mit Weizenpflanzen gefolgert hat. Er stellte weder bei Peptiden noch bei Aminosäuren eine positive mengenmäßige Relation zur Frostresistenz fest und

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

brachte einen Anstieg von Asparagin und Prolin mit dem Abbau frostdenaturierter Eiweiße in Verbindung.

Beim Gehalt proteingebundener SH-Gruppen konnte entgegen den Untersuchungen von GRILL & al. 1980 kein charakteristischer Jahresgang mit einem Wintermaximum und einem Minimum im Sommer gefunden werden.

Dies könnte, eventuell auch bei den Aminosäuren, auf den ungewöhnlich warmen Winter zurückzuführen sein und somit bedeuten, daß der proteingebundene SH-Gehalt erst bei Temperaturen unter 0° C oder bei einer höheren als der vorliegenden GSH-Menge ansteigt. Der Unterschied Sommer-Winter im GSH-Gehalt ist hier mit rund 80% relativ gering, wenn man andere Versuchsreihen als Vergleich heranzieht, wo Unterschiede bis zu 300% angegeben werden (GRILL & ESTERBAUER 1973 a, b, ESTERBAUER & GRILL 1978).

Wie alle diese Untersuchungen gezeigt haben, führen komplexe physiologische Vorgänge zu einer Abhärtung der Pflanzen. Man kann daher keinen der untersuchten Schutzmechanismen isoliert betrachten, sondern nur im Wechselspiel zueinander. Der osmotische Wert bewirkt offensichtlich zunächst eine Gefrierpunkterniedrigung und erst in der Folge werden weitere Substanzen gebildet, die eine spezielle Funktion ausüben. Der osmotische Druck erhöht nämlich seinen Wert zu einem Zeitpunkt ohne tiefe Temperaturen oder beginnende Nachtfröste. Er ist anscheinend mit der Tageslänge gekoppelt.

Die anderen Faktoren, wie der SH-Gehalt als Eiweißschutz oder der Ascorbinsäuregehalt als Oxidationsschutz, treten hingegen erst Anfang Oktober einem Absinken der Temperaturen, also einem beginnenden Kältestreß, mit einer Erhöhung ihrer Konzentration entgegen. Auch der Zuckergehalt, der ebenfalls als stabilisierender Faktor wirkt, steigt erst im November, wenn sich die Pflanzen schon in der Ruheperiode befinden. In den Anfangsstadien der Abhärtung sind daher andere osmotisch wirksame Substanzen, wie organische Säuren, Glycoside und vielleicht doch auch anorganische Salze am Ansteigen des osmotischen Wertes beteiligt.

Am Ende der Winterperiode erreichen alle untersuchten Schutzmechanismen ihr Maximum. Auch die Aminosäuren, bei denen in den übrigen Monaten keine Schwankungen nachzuweisen waren, treten hier verstärkt auf. Mit dem Austrieb der jungen Nadeln sinken die Werte auf die niederen Konzentrationen der Sommermonate.

Es liegt nahe, daß die Schutzsubstanzen, die für eine Überwinterung aufgebaut wurden, nun für den Austrieb und die verstärkte Aktivität der Pflanzen im Frühjahr verwendet werden.

Bei den orientierenden Frosthärtetests vertrugen Fichtennadeln das ganze Jahr über 0° C, die anderen Temperaturen hingegen nur in den Wintermonaten. −27° C führte bis auf zwei Ausnahmen im Dezember 1983 jedesmal zum Tod der Pflanzen, obwohl nach TRANQULLINI 1979, PISEK 1952

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

und HOLZER 1978 diese Temperatur in den Wintermonaten keine Schäden verursachen dürfte. Als Erklärung dafür ist jedoch sicherlich wieder der warme Winter im Versuchsjahr heranzuziehen, der mit Plusgraden in den Monaten November bis Jänner eine Einstellung der Fichten auf extrem niedere Temperaturen verhinderte.

Die Frosthärte läßt sich zu den oben erwähnten physiologischen Resistenzmechanismen in eine deutliche Verbindung setzen. Zu gleicher Zeit wie der osmotische Wert, der nach den vorliegenden Untersuchungen Anfang September mit abnehmender Tageslänge seinen Betrag erhöht und somit eine Gefrierpunkterniedrigung des Zellsaftes bewirkt, ist die Fichte in der Lage −5° C zu ertragen. Mit dem Anstieg der anderen Substanzen wie SH-Gehalt, Ascorbinsäure überdauern die Nadeln auch −13° C, womit diese Substanzen der 2. Abhärtungsphase zuzuzählen sind. Mit der Erhöhung des Zuckergehaltes im November wird die Frosthärte erreicht. An der Wende April/Mai, wo der SH-Gehalt, osmotischer Wert, Ascorbinsäure- und Zuckergehalt sehr rasch sinken, tritt die Enthärtung ein. Von diesem Zeitpunkt an erleiden daher auch die −5° C bzw. −13° C und −27° C ausgesetzten Nadeln irreparable Schäden, während 0° C weiterhin ohne Schadensmerkmals vertragen wird.

Danksagung

Wir danken Herrn Univ.-Prof. Dr. Hermann ESTERBAUER (Graz) für die Analysen hinsichtlich des Zuckergehaltes und Herrn Univ.-Prof. Dr. Jürgen JÄGER (Braunschweig) für die Bestimmung der Aminosäuren. Für die Realisierung dieser Arbeit wurden zum Teil Mittel aus einem Projekt der Forschungsinitiative gegen das Waldsterben (FIW) eingesetzt.

Literatur

AEBI H. 1965. Einführung in die praktische Biochemie für Studierende der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie und Biologie. – Akad. Verlagsges., Frankfurt/M.

BARKER J. 1950. The ascorbic acid content of potato tubers. I. The relation between ascorbic acid content and the sugar content, as influenced by the maturity at lifting and by storage. – New Phytologist 49: 11–22.

BARNETT N. M. & NAYLOR A. W. 1966. Amino acid protein metabolism in Bermuda grass during water stress. – Plant Physiol. 41: 1222–1230.

BIELESKI R. L. & TURNER N. A. 1966. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoesis and chromatography. – Anal. Biochem. 17: 278–293.

BÖRTITZ S. & WEISE G. 1963. Biochemische und gasstoffwechsel-physiologische Untersuchungen an einigen Gehölzen nach Frostung unter standardisierten Bedingungen. – Biol. Zentralbl. 82: 733–747.

BOYER J.S. 1967. Leaf water potentials measured with a pressure chamber. – Plant Physiol. 42: 133–137.

BRECKLE S. W. & KULL U. 1971. Osmotische Verhältnisse und Zuckergehalte im Jahresgang bei Bäumen Ost – Afghanistans. – Flora 160: 43–59.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

BUKATSCH F. 1943. Über den Ascorbinsäuregehalt der Coniferennadeln. – Vit. u. Horm. 4: 192–207.

CAMPBELL E. C., CAMPBELL G. S. & BARLOW W. K. 1973. A dewpoint hygrometer for water potential measurement. – Agricultural Meteorology 12: 113–121.

CHU T. M., ASPINALL D. & PALEG L. G. 1974. Stress Metabolism. VI. Temperature stress and the accumulation of proline in barley and radish. – Aust. J. Plant Physiol. 1: 87–97.

– , JUSAITIS M., ASPINALL D. & PALEG L. G. 1978. Accumulation of free proline at low temperatures. – Physiol. Plant. 43: 254–260.

DIAMANTOGLOU S. 1980. Kohlenhydrate und osmotische Verhältnisse bei Blättern und Rinden von *Pinus halepensis* MILL. und *Schinus molle* L. im Jahresgang. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 93: 449–457.

EDER M. & KINZEL N. 1983. Seasonal variations in free amino acid contents of deciduous *Ericaceae* leaves. – Z. Pflanzenphysiol. 112: 269–273.

ESTERBAUER H. 1976. Biochemische Wirkungsmechanismen von Abgasen. – Umschau 76: 349–350.

– & GRILL D. 1978. Seasonal variation of glutathione and glutathione reductase in needles of *Picea abies*. – Plant Physiol. 61: 119–121.

– , – & BECK G. 1975. Untersuchungen über Phenole in Nadeln von *Picea abies*. – Phyton (Austria) 17: 87–99.

– , – & WELT R. 1980. Der jahreszeitliche Rhythmus des Ascorbinsäuresystems in Nadeln von *Picea abies*. – Z. Pflanzenphysiol. 98: 393–402.

FRANKE W. 1968/69. Der jahreszeitlich unterschiedliche Vitamin-C-Gehalt in Koniferennadeln als Folge von Ascorbinsäurebiosynthese und -abbau. – Z. Pflanzenphysiol. 60: 30–37.

GRILL D. & ESTERBAUER H. 1973 a. Quantitative Bestimmung wasserlöslicher Sulfhydrylverbindungen in gesunden und SO_2-geschädigten Nadeln von *Picea abies*. – Phyton (Austria) 15: 87–101.

– & – 1973 b. Cystein und Glutathion in gesunden und SO_2-geschädigten Fichtennadeln. – Eur. J. For. Path. 3: 65–71.

– , – , SCHARNER M. & FELGITSCH CH. 1980. Effect of sulfur – dioxide on protein – SH in needles of *Picea abies*. – Eur. J. For. Path. 10: 263–267.

– , – & WELT R. 1977. Stabilisierung von Sulfhydrilverbindungen in Pflanzenextrakten durch Ascorbinsäure. – Phyton (Austria) 18: 127–135.

HEBER U. 1958. Ursachen der Frostresistenz bei Winterweizen. II. Die Bedeutung von Aminosäuren und Pepsiden für die Frostresistenz. – Planta 52: 431–446.

HIDA M., OHO S. & HARADA E. 1962. Studies ou sugars in the leaves of conifers. – Bot. Mag. Tokyo 75: 153–157.

HÖLL W. 1981. Eine dünnschichtchromatographische Darstellung des Jahresgangs löslicher Zucker im Stammholz von drei Angiospermen und einer Gymnosperme. – Holzforschung 35: 173–175.

HOLZER H. 1978. Die Kulturkammertestung zur Erkennung des Erbwertes bei Fichte (*Picea abies* [L.] KARSTEN), 2. Merkmale des Vegetationsablaufes. – Cbl. ges. Forstw. 95: 30–51.

ISHERWOOD F. A., CHEN Y. T. & MAPSON L. W. 1954. Synthesis of L – ascorbic acid in plants and animals. – Biochem. J. 56: 1–15.

IVANOV S. M. 1939. Activity of growth process – principal factor in frost resistance of citrus plants. – C. R. Acad. SCI. USSR 22: 277–281.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

IVANOVA A. 1982. Prolinakkumulation – Reaktion von Pflanzen auf Streßsituationen. – Wiss. Z. TU Dresden 31: 273–275.

JÄGER H. J. & GRILL D. 1975. Einfluß von SO_2 und HF auf freie Aminosäuren der Fichte. – Eur. J. For. Path. 5: 279–286.

JEREMIAS K. 1964. Über die jahresperiodisch bedingten Veränderungen der Ablagerungsform der Kohlenhydrate in vegetativen Pflanzenteilen (unter besonderer Berücksichtigung der Zucker der Raffinose-Gruppe). – Bot. Studien 15, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.

– & FRANK E. 1967. Das jahresperiodische Verhalten der Zucker und der Stärke in Wedeln und Rhizomen von *Athyrium filix-femina* und *Dryopteria dilatata*. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 80: 722–728.

KANDLER O., DOVER C. & ZIEGLER P. 1979. Kälteresistenz der Fichte. I. Steuerung von Kälteresistenz, Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsel durch Photoperiode und Temperatur. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 92: 225–241.

KAPPEN L., NÖVIG N. & MAIER M. 1978. Seasonal relations between the content of amino acids and freezing tolerance of leaves of *Halimione portulacoides* under different salt stress. – Biochem. Physiol. Pflanzen 172: 297–304.

KAUFMANN M. R. 1968. Evaluation of the pressure chamber technique for estimating plant water potential of forest tree species. – Forest Sci. 14: 369–374.

KELLER TH. & SCHWAGER H. 1977. Air pollution and ascorbic acid. – Eur. J. For. Path. 7: 338–350.

KESSLER W. & RUHLANDW. 1938. Weitere Untersuchungen über die inneren Ursachen der Kälteresistenz. – Planta 28: 159–204.

KREEB K. 1971. Ökophysiologie natürlicher Streßeinwirkungen. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 84: 485–496.

– 1974. Ökophysiologie der Pflanzen. – Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

KYRIAKOPOULOS E. & RICHTER H. 1981. Pressure – volume curves and drought injury. – Physiol. Plant. 52: 124–128.

LARCHER W. 1980. Okologie der Pflanzen auf physiologischer Grundlage, 3. Aufl. – Ulmer Verlag, Stuttgart.

LEVITT J. 1962 a. Sulfhydryl – a new factor in frost resistance. III. The relation of SH – increase during harding to protein glutatione and glutathione oxidizing activity. – Plant Physiol. 32: 266–271.

– 1962 b. A sulfhydryl – disulfid hypothesis of frost injury and resistance in plants. – J. Theoret. Biol. 3: 355–391.

– 1980. Responses of plants to environomental stresses. – Academic Press, New York–London–Toronto–Sydney–San Francisco.

LOEWUS F. A. 1961. Aspects of ascorbic acid biosynthesis in plants. – Ann. N. Y. Acad. Sci. 92: 57–78.

MOLDTMANN H. G. 1939. Untersuchungen über den Ascorbinsäuregehalt der Pflanzen in seiner Abhängigkeit von inneren und äußeren Faktoren. – Planta 30: 297–342.

NEISH A. C. 1958. Seasonal changes in metabolism of spruce leaves. – Can. J. Bot. 36: 649–662.

OECHSSLER G. 1968. Jahreszeitliche Schwankungen des Gehaltes an organischen Säuren in den Nadeln von *Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO, *Picea abies* (L.) KARSTEN und *Larix decidua* MILL. – Z. Pflanzenphysiol. 59: 213–225.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

PISEK A. 1950. Frosthärte und Zusammensetzung des Zellsaftes bei *Rhododendron ferrugineum, Pinus cembra* und *Picea excelsa*. – Protoplasma 39: 129–146.

– 1952. Zur Kenntnis der Frosthärte alpiner Pflanzen. – Naturwiss. 39: 73–78.

POPP M. & ALBERT R. 1981. Jahreszeitlich und altersbedingte Variationen im Stickstoffhaushalt von Halophyten. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 94: 171–180.

PRIEBE A. & JÄGER H. J. 1978. Einfluß von NaCl auf die freien Aminosäuren von Pflanzen unterschiedlicher Salztoleranz. – Phyton (Austria) 19: 113–122.

RENNENBERG H. 1982. Glutathione metabolism and possible biological roles in higher plants. – Phytochemistry 21: 2771–2781.

– 1984. The fate of excess sulfur in higher plants. – Ann. Rev. Plant Physiol. 35: 121–153.

RICHTER H. 1978. A diagram for the description of water relations in plant cells and organs. – J. Exp. Bot. 29: 1197–1203.

– , DULME F., GLATZEL G., HINCKLEY TH. H. & KARLIC H. 1979. Some limitations and applications of the pressure – volume curve technique in ecophysiological research. In: GRACE J., FORD E. D., JARVIS P. G., (Eds), Plants and their atmospheric environment. – Blackwell Scientific Publication Oxford–London–Edinburgh–Boston–Melbourne, pp. 263–272.

SANTARIUS K. A. 1971. Ursachen der Frostschäden und Frostadaption bei Pflanzen. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 84: 425–436.

SAUTER J. J. 1976. Analysis of the amino acids and amides in the xylem sap of *Salix caprea* L. in early spring. – Z. Pflanzenphysiol. 79: 276–280.

– 1981. Seasonal variations of amino acids and amides in the xylem sap of *Salix*. – Z. Pflanzenphysiol. 101: 399–411.

SCHMIDT-VOGT H. 1977. Die Fichte Bd. 1 – Parey, Hamburg–Berlin.

SCHOBERT B. 1979. Die Akkumulierung von Prolin in *Phaeodactylum tricornutum* und die Funktion der compatible solutes in Pflanzenzellen unter Wasserstreß. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 92: 23–30.

SCHWARZL E. 1977. Untersuchungen über Enzyme und Inhaltsstoffe in Nadeln von *Picea abies* (K.). – Diss. Graz.

SENSER M., DITTRICH P., KANDLER O., THANBICHLER A. & KUHN B. 1971. Isotopenstudien über den Einfluß der Jahreszeiten auf den Oligosaccharidumsatz bei Coniferen. – Ber. Deutsch Bot. Ges. 84: 445–455.

SIMINOVITCH D. & BRIGGS D. R. 1959. The chemistry of the living bark of the black locust tree in relation to frost hardiness. I. Seasonal variations in protein content. – Arch. Biochem. 23: 8–17.

TALBOT A. J. B., TYREE M. T. & DAINTY J. 1975. Some notes concerning the measurement of water potential of leaf tissue with specific reference to *Tsuga canadensis* and *Picea abies*. – Can. J. Bot. 53: 784–788.

TESCHE M., FEILER S., MICHAEL G. & RANFT H. 1979. Zur Indikation von komplexen SO_2 – plus Frost – Stress bei *Picea abies* (L.) KARST. – Kongreß- u. Tagungsber. d. Martin-Luther Univ. Halle – Wittenberg, Bioindikation T. 2: 46–57.

TRANQUILLINI W. 1979. Über die Frostgefährdung von Fichten in verschiedenen Höhenlagen. – Wiss. Mitt. Meteorol. Inst. Univ. München 35: 51–57.

TROMP J. & OVAA J. C. 1967. Seasonal variations in the amino acid composition of xylem sap of apple. – Z. Pflanzenphysiol. 57: 11–21.

ULMER W. 1937. Über den Jahresgang der Frosthärte einiger immergrüner Arten der

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

alpinen Stufe, sowie der Zirbe und Fichte. Unter Berücksichtigung von osmotischem Wert, Zuckerspiegel und Wassergehalt. – Jb. wiss. Bot. 84: 553–592.

ULLRICH H. & HEBER U. 1958. Über das Denaturieren pflanzlicher Eiweiße durch Ausfrieren und seine Verhinderung. Ein Beitrag zur Klärung der Frostresistenz bei Pflanzen. – Planta 51: 339–413.

URBACH W., RUPP W. & STURM H. 1983. Experimente zur Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. – Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York.

VAN SWAAIJ A. C., JACOBSEN E. & FEENSTRA W. J. 1985. Effect of cold hardening, wilting and exogenously applied proline on leaf proline content and frost tolerance of several genotypes of *Solanum*. – Physiol. Plant. 64: 230–236.

WEIGEL H. J. & JÄGER H. J. 1979. Changes in proline concentration of the lichen *Pseudevernia furfuracea* during drought stress. – Phyton (Austria) 19: 163–167.

WEISER C. J. 1970. Cold resistance and injury in woody plants. – Science 169: 1269–1278.

YELENOSKY G. 1979. Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young trees in controlled temperature regimes. – Plant Physiol. 64: 425–427.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1987

Band/Volume: 27_2

Autor(en)/Author(s): Grill Dieter, Pfeifhofer Hartwig Wilfried, Tschulik Andrea

Artikel/Article: Untersuchungen über die jahreszeitlichen Schwankungen von Nadelinhaltsstoffen unter besonderer Berücksichtigung von Frosthärtefaktoren. 221-240