

Zeitschrift:	Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse
Herausgeber:	Schweizerische Botanische Gesellschaft
Band:	78 (1968)
Artikel:	Die Verteilung der Sauerstoffkonzentrationen in fleischigen Speicherorganen (Äpfel, Bananen und Kartoffelknollen)
Autor:	Brändle, Roland
DOI:	https://doi.org/10.5169/seals-54882

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 09.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Die Verteilung der Sauerstoffkonzentrationen in fleischigen Speicherorganen (Äpfel, Bananen und Kartoffelknollen)

Von *Roland Brändle*

(Institut für Allgemeine Botanik der Universität Zürich)

Manuskript eingegangen am 14. März 1968

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	330
2. Methode	333
3. Vorversuche an essreifen Äpfeln	338
4. Hauptversuche während der Entwicklung und Reifung	339
5. Ergänzende Versuche und Untersuchungen	343
6. Diskussion der Ergebnisse	357
7. Zusammenfassung.....	362
8. Summary	362
Literatur	

1. Einleitung

Molekularer Sauerstoff wird von Pflanzenzellen für etliche Stoffwechselreaktionen gebraucht, die sich je nach Reaktionstyp in drei Gruppen unterteilen lassen (Karlson, 1966, l. c.). Der grösste Anteil des aufgenommenen Sauerstoffs findet als Elektronen-akzeptor Verwendung und wird dabei zu Wasser oder Wasserstoffperoxid reduziert. Katalysatoren solcher Reaktionen sind Oxydasen. Geringere Mengen werden direkt in organische Verbindungen eingebaut. Charakteristisch für derartige Reaktionen ist die Spaltung einer Ringdoppelbindung und die Anlagerung von je einem Sauerstoffatom an die beiden Kohlenstoffatome. Einbaureaktionen, katalysiert durch Oxygenasen, trifft man im Stoffwechsel der aromatischen Aminosäuren. Eine weitere Verwendungsart für molekularen Sauerstoff sind die Hydroxylierungsreaktionen, welche durch Hydroxylasen katalysiert werden. Dabei wird in Anwesenheit eines Wasserstoffdonators, in der Regel reduziertes Nicotin-adenin-di-nucleotid-phosphat (NADPH), ein Sauerstoffatom zu Wasser reduziert, das andere in ein Substratmolekül eingebaut. Nach diesem Prinzip verlaufen die Hydroxylierungen an aromatischen Ringen.

Der sauerstoffverbrauchende Vorgang von grösster Bedeutung in der Zelle ist die Wasserbildung über die Atmungskette. Wasserstoff wird über eine Reihe von Redoxreaktionen auf aktivierte Sauerstoff übertragen. Die gebildete, freie Energie wird grösstenteils im Adenosin-tri-phosphat (ATP) gespeichert, welches der Zelle als

universale Energiequelle für Stoffwechselleistungen zur Verfügung steht. Gemäss der Potentialdifferenz von 1,23 Volt zwischen der Wasserstoff- und der Sauerstoffelektrode bei pH 7 müsste der Energiebetrag von 57 kcal/Mol resultieren (Slater, 1960). In der Zelle wird aber anstelle von molekularem Wasserstoff NADPH und NADH oxydiert. Daher verringert sich die Potentialdifferenz auf 1,13 Volt, entsprechend einer Energie von 52 kcal/Mol. Die angeführten Redoxpotentiale gelten nur für Redoxreaktionen in homogenen Systemen. Redoxpotentiale in lebenden Zellen unterscheiden sich beträchtlich von diesen (Wurmser, 1930; Oppenheimer et al., 1939). Die Ursachen liegen einerseits in der Partikelgebundenheit vieler Redoxpartner und der zugehörigen Enzyme, andererseits in grossen Konzentrationsunterschieden. Diese können in biologischen Systemen zum Verlangsamen, Stoppen oder sogar zur Umkehr von Redoxreaktionen führen.

Zieht man die Atmung als zentralen Energiegewinnungsmechanismus in Betracht und berücksichtigt man die unbedingt erforderliche Anwesenheit von molekularem Sauerstoff für gewisse Reaktionen, erkennt man die Bedeutung, welche Sauerstoffkonzentrationsmessungen in höheren Pflanzen zukommt.

Unter normalen Bedingungen befindet sich in einer lebenden Zelle genügend Sauerstoff. Erstens erfolgt die Diffusion von Sauerstoff aus der Luft in dünne Zellschichten rascher als der Verbrauch (Jacobs, 1935). Zweitens sind viele Vorgänge, vor allem die Atmung (Wanner, 1945), innerhalb gewisser Grenzen von der Sauerstoffkonzentration unabhängig.

Sauerstoffkonzentrationen in Geweben von fleischigen Organen liegen aber oft beträchtlich unter denjenigen der Luft (Ulrich et al., 1949; Ulrich, 1952). Als naheliegende Erklärung wird angenommen, dass in diesen Fällen die Sauerstoffdiffusion nicht genügt, um den Verbrauch in tieferen Zellschichten auch nur annähernd auszugleichen. Aufschlüsse über mögliche Wege des Sauerstoffs im Organinnern sind zusammen mit Gaswechselmessungen an Gewebeproben notwendig zur Beantwortung der Frage nach den Ursachen dieser Erscheinung. In Verbindung mit der Messung der Verteilung der Sauerstoffkonzentrationen ergibt sich die Möglichkeit, unter anderem Rückschlüsse auf die Art der Dissimulationsvorgänge in den einzelnen Gewebebezirken zu ziehen.

In der Literatur findet man viele Versuchsergebnisse, die durch Änderung des äusseren Sauerstoffangebots sichtbar gemacht wurden. Doch gelang es nur selten (Ulrich, 1952), diese auch mit der am Verbrauchsraum wirksamen Sauerstoffmenge in Beziehung zu bringen. Schumacher (1967) berichtet von der Sauerstoffabhängigkeit des Stofftransports, insbesondere wieweit er durch Atmungsvorgänge beeinflusst wird. Etliche Autoren fanden eine erheblich höhere Sauerstoffatmung in isolierten Leitbündeln gegenüber dem Parenchym. Ulrich (1961) gelang der Nachweis, dass isolierte Leitbündel unter Luftabschluss ihren Energiebedarf durch Gärung decken. Über die tatsächlichen Vorgänge im Organinnern, zum Beispiel ob Atmung oder Gärung stattfindet, können nur Sauerstoffkonzentrationsmessungen an Ort und Stelle Auskunft geben. Burton (1950) zeigte an Kartoffeln, dass der Sauerstoffgehalt tiefgreifende Wirkung auf deren Lagerung und Keimung ausübt. Niedrige Sauerstoffkonzentrationen führten zur Gärung und hemmten die Keimung. Zahlreiche gleichlautende Befunde an anderen Objekten sind bekannt. Wardlaw et al. (1936, 1940) glaubten, die von ihnen beobachteten sehr geringen Sauerstoffkonzentrationen von

etwa 1 Vol.-% in Bananen und Früchten des Melonenbaumes (*Carica papaya*) seien die Ursache für den charakteristischen Verlauf der Atmung während des Reifungsvorganges. Solche und ähnliche Folgerungen sind aus verschiedenen Gründen noch verfrüht (Biale, 1960), vor allem aber, weil es bisher nicht möglich war, die effektiv vorhandenen Sauerstoffkonzentrationen genau zu messen.

Für alle Verfahren wurden viel zu grosse Proben benötigt, oder der Messvorgang dauerte allzu lange. Wie aus der Beschreibung der gebräuchlichen Methoden bei Ulrich (1952) hervorgeht, können die damit erhaltenen Werte nicht einmal als Durchschnittswerte des Sauerstoffgehaltes in einem Organ betrachtet werden. Auch wurde in den meisten Arbeiten nur der interzelluläre Sauerstoffanteil gemessen (Ulrich, 1952; Biale, 1960) und dabei nicht berücksichtigt, dass jeder Zelle der Sauerstoff in verschiedenen Formen zur Verfügung stehen kann (Burton, 1950): nämlich als Luftsauerstoff, interzellulärer Sauerstoff, gelöster Sauerstoff oder als chemisch gebundener Sauerstoff. Die drei ersten Formen stehen miteinander im Gleichgewicht. Für die beschriebenen, sauerstoffabhängigen Reaktionen kommt nur der molekulare Sauerstoff in Betracht, das heisst, im Organinnern der interzelluläre und der gelöste Sauerstoff. Die Messung der Gleichgewichtskonzentration des ungebundenen Sauerstoffs im Innern erweist sich daher aufschlussreicher als die Kenntnis des interzellulären Anteils allein (Burton, 1950). Mittels der polarographischen Sauerstoffbestimmung (vgl. 2.1) gelingt es nun, solche Gleichgewichtsmessungen durchzuführen und sich ein Bild über die Sauerstoffverteilung innerhalb verschiedener fleischiger Organe zu machen. Polarographische Bestimmungen mit der tropfenden Quecksilberelektrode (Heyrovsky, 1960; Kolthoff et al., 1946) sind seit Ende des 19. Jahrhunderts bekannt. Sie erlauben aber nur Messungen in Flüssigkeiten. Erweiterte Anwendungsmöglichkeiten ergaben sich mit der grundsätzlich gleich funktionierenden, stationären Elektrode von Davis et al. (1942). Ihnen war es erstmals möglich, Sauerstoffkonzentrationen in tierischem Gewebe «*in vivo*» zu messen. Eine verbesserte Ausführung dieser Elektroden wurde später von Clark et al. (1953) entwickelt. Sie findet heute allgemein Verwendung für Sauerstoffbestimmungen in Körperflüssigkeiten, tierischen und neuerdings auch in pflanzlichen Geweben (Brändle und Wanner, 1965). Clark-Elektroden geringer Größen messen den Sauerstoffgehalt in kleinsten Flüssigkeitstropfen im Gewebeinnern, also jenen Sauerstoffanteil, der unter anderem der Atmung zur Verfügung steht.

In der vorliegenden Arbeit werden die mit einer sehr kleinen Clark-Elektrode an Äpfeln gewonnenen Ergebnisse korreliert mit Atmungsmessungen an ganzen Früchten während der Entwicklung und Reifung. Dadurch ist es möglich, den Sauerstoffgehalt gleichzeitig in Abhängigkeit von der Lage im Fruchtinnern wie auch von der Entwicklungsphase zu erfassen.

Unter Zuhilfenahme ergänzender Versuche und der Literatur wird anschliessend versucht, die Resultate im grösseren Rahmen der Sauerstoffversorgung und Atmung von Äpfeln zu betrachten. Besondere Berücksichtigung finden dabei die Verhältnisse während der Reifungsphase, in welcher bezüglich der Atmung einschneidende Änderungen in den biochemischen Vorgängen gefunden werden konnten (Hulme et al., 1964; Jones et al., 1964; Burg et al., 1965).

2. Methode

2.1 Prinzip und Messapparatur

Die Bestimmung des Sauerstoffs erfolgte polarographisch (Heyrovsky, 1960; Kolthoff und Lingane, 1946). Der Strom einer Silber-Platin-Elektrode stellt bei einer Spannung zwischen $-0,5$ und $-0,8$ Volt eine lineare, vom Sauerstoffpartialdruck einer Lösung abhängige Funktion dar. Diese Tatsache kann zur Sauerstoffanalyse verwendet werden. Wird eine Polarisationsspannung an eine solche Elektrode angelegt, deren Spitze in Kaliumchlorid als Elektrolyt eintaucht, reagiert das Silber mit dem Chlorid. Dabei entsteht Silberchlorid. Ebenso werden Elektronen bereitgestellt, welche am Platin zur Reduktion von Sauerstoff verwendet werden. Abbildung 1 zeigt das Prinzip der Messung und die an der Elektrode ablaufenden Reaktionen. Die Reduktion des Sauerstoffs erfolgt in zwei Stufen. Die erste entspricht der Reduktion des Sauerstoffs zu Wasserstoffperoxid, die zweite der Reduktion zu Wasser (Heyrovsky, 1960). Als Bilanz der Reaktionen gilt die Gleichung: $O_2 + 2H_2O + 4e^- \rightarrow 4OH^-$.

Daraus ergibt sich eine direkte Proportionalität zwischen der Konzentration des molekularen Sauerstoffs und dem Polarisationsstrom.

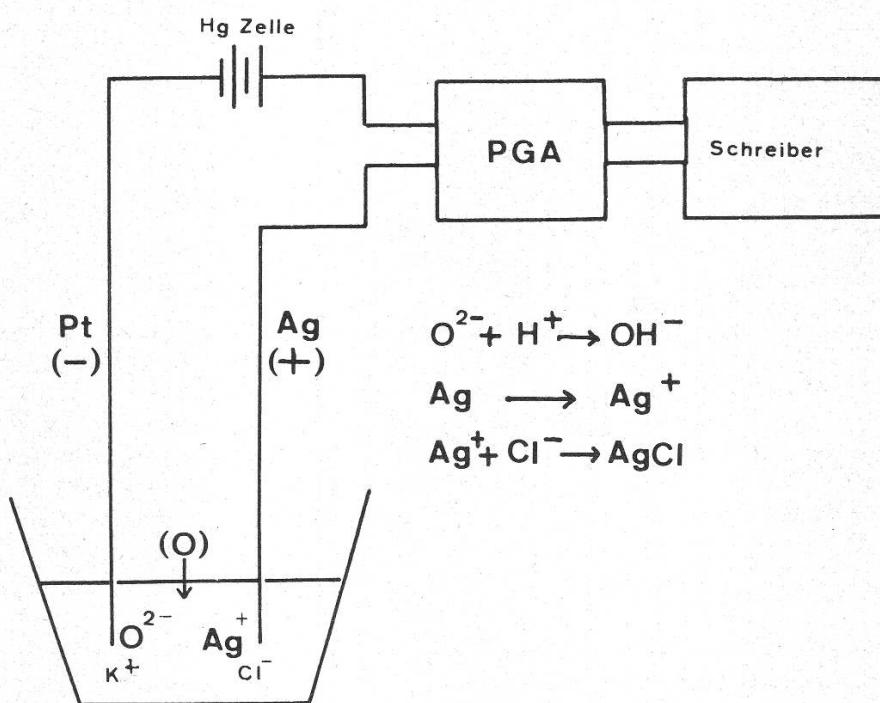


Abbildung 1
Prinzip der Messung und Elektrodenreaktionen

Für unsere Messungen der Sauerstoffkonzentrationen in Geweben wurde ein Beckman Model 160 Physiological Gas Analyzer benutzt. Dessen wesentlicher Bestandteil ist eine miniaturisierte Clark-Elektrode. Sie besteht aus einem 0,0127 mm dicken Pt-Draht, der in einem dünnwandigen Ag-Rohr isoliert eingebettet liegt. Der Pt-Draht wirkt als Kathode, das Ag-Rohr als Anode. Der Pt-Draht ist an der Elektrodenspitze in Glas eingegossen. Nur der blank polierte Querschnitt gelangt an die Oberfläche. Diese Glasspitze wird von einer dünnen, gasdurchlässigen Polyäthylen-membran umgeben.

Zwischen der Membran und der Elektrodenspitze befindet sich als Elektrolyt 3prozentige KCl-Lösung. Dadurch wurden Nachteile vermieden, die sich beim direkten Kontakt blander Elektroden mit Gewebsflüssigkeiten unterschiedlicher Zusammensetzung ergeben können (Naylor und Evans, 1963). Schliesslich wird das empfindliche Silberrohr von einem Mantel aus Stahl geschützt (Abb. 2).

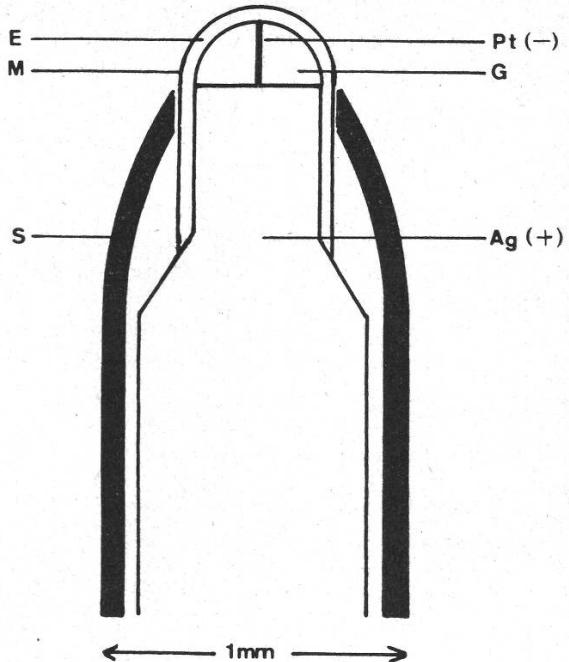


Abbildung 2

Schematische Darstellung der Elektrodenspitze. E = Elektrolyt, M = Membran, S = Stahlmantel, G = Glasspitze

Die ganze Elektrode wird für die Messung in einem Gewebe in eine stählerne Riley-Injektionsnadel eingeführt. In der abgeschrägten Mündung der Nadel ist die Elektrodenspitze sowohl gut geschützt als auch der Gewebsflüssigkeit ausgesetzt. Die Polarisationsspannung der verwendeten Clark-Elektrode beträgt $-0,68$ Volt. Der resultierende Polarisationsstrom wird anschliessend über einen Zerhacker einem Wechselspannungs-Gleichspannungs-Verstärker zugeführt und kann am Gerät abgelesen werden. Infolge der erwähnten Proportionalität zwischen Polarisationsstrom und Sauerstoffpartialdruck wird letzterer auf der Gerätskala direkt in Torr angegeben.

2.2 Versuchsanordnungen und Bedingungen

Für eine Messung der Sauerstoffkonzentration an einer bestimmten Stelle innerhalb einer Frucht wird zunächst die Injektionsnadel, die anstelle der Elektrode einen genau passenden Stahldrahtkern enthält, eingeführt. Der Kern wird darauf aus der Nadel herausgezogen, ohne diese zu bewegen. Anstatt des Drahtkerns wird nun sorgfältig die Sauerstoffelektrode in die Injektionsnadel einge-

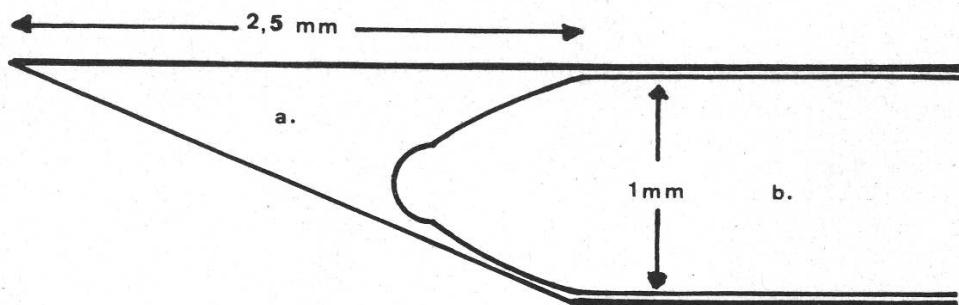


Abbildung 3

Schematische Darstellung der Nadelspitze mit eingeführter Elektrode. a = Nadel, b = Elektrode

setzt. Mit dieser misst man nun die Sauerstoffkonzentration in den geringen Mengen Gewebeflüssigkeit, die sich nach dem Einstechen der Nadel und dem Herausziehen des Drahtkerns in der Spitze der Nadel angesammelt haben. Dabei handelt es sich, wie aus der Beschaffenheit von Nadelspitze und Elektrodenspitze (Abb. 3) hervorgeht, um etwa 1,5 mm³ Saft.

Das Auswechseln des Drahtkerns durch die Elektrode dauert maximal 5 s. Damit ist das Hineindiffundieren von Luftsauerstoff praktisch nicht feststellbar. Die Einstellung des Konzentrationsgleichgewichts zwischen dieser Flüssigkeit, dem umgebenden Gewebe und der Elektrolytlösung ist in der Regel nach 1–2 min erreicht und kann am Gerät abgelesen werden. Die Sauerstoffkonzentration wird als Druck in mm Hg angegeben. Vor der Messung muss das Gerät geeicht werden. Die Eichung erfolgt in sauerstofffreiem Milieu und luftgesättigtem Wasser, das je nach Barometerstand und Luftfeuchtigkeit in der Regel einen Sauerstoffpartialdruck von 148–151 mm Hg aufweist.

Der Partialdruck des Wasserdampfs wird berechnet durch Multiplikation der relativen Feuchtigkeit mit dem Sättigungsdruck bei der entsprechenden Temperatur, der aus Tabelle 1 entnommen werden kann.

Tabelle 1
H₂O-Dampfsättigung: Druck in Torr (aus Documenta Geigy, S. 260)

Temp. °C	Torr	Temp. °C	Torr	Temp. °C	Torr
15	12,8	22	19,8	29	30,0
16	13,6	23	21,1	30	31,8
17	14,5	24	22,4	31	33,6
18	15,5	25	23,7	32	35,6
19	16,5	26	25,2	33	37,7
20	17,5	27	26,7	34	39,9
21	18,6	28	28,3	35	42,1

Der effektive Sauerstoffpartialdruck in Luft berechnet sich nach der Formel

$$pO_2 = \frac{\% O_2 \cdot (p - pH_2O)}{100\%}$$

p = Luftdruck in Torr

pH₂O = Partialdruck des Wasserdampfes in Torr

pO₂ = Partialdruck des Sauerstoffes in Torr

O₂ = Luftsauerstoff in Prozent

Die amperometrische Messung der Sauerstoffkonzentration mit der Mikrosauerstoffelektrode ist temperaturempfindlich. Misst man den Sauerstoffgehalt von luftgesättigtem Wasser, welches kontinuierlich erwärmt und gerührt wird, steigt die pO₂-Wertanzeige am Physiological Gas Analyzer auf ein Grad Temperaturerhöhung um etwa 7 mm Hg (Abb. 4). Dieser starke Anstieg ist nicht ganz leicht einzusehen, da durch die Temperaturerhöhung die Sauerstofflöslichkeit im Wasser sinkt. Dagegen steigt im Elektrodensystem zwischen der Membran und der Kathode die Diffusionsgeschwindigkeit der Sauerstoffmoleküle. Diese beiden Effekte heben sich im Temperaturbereich der biologischen Prozesse auf, sofern ein Ausgleich der Sauerstoffkonzentration des Wassers mit der Luft möglich ist (Stiles, 1960).

Durch die Erwärmung der Elektrodenspitze ergibt sich zusätzlich eine Widerstandsverkleinerung im Elektrolyt. Nach dem Ohmschen Gesetz (Spannung = Stromstärke · Widerstand) muss bei konstant gehaltener Spannung ein Anstieg der am Gerät angezeigten Stromstärke resultieren. Für die praktische Durchführung der Messungen heißt das, dass nach erfolgter Eichung des Gerätes bei einer beliebigen Temperatur gemessen werden kann, falls der Temperaturkorrekturfaktor berücksichtigt wird. Aus physiologischen Gründen ist aber die Messung bei konstanter Temperatur vorzuziehen.

Die Äpfel kamen daher vor der Untersuchung in eine Klimakammer mit einer Temperatur von 20 °C und 40–60 % relativer Feuchtigkeit. In der gleichen Kammer erfolgte nach 24 h die gesamte

Messung. Die Eichlösungen der Elektrode befanden sich in einem Ultrathermostaten von $20 \pm 0,01^\circ\text{C}$.

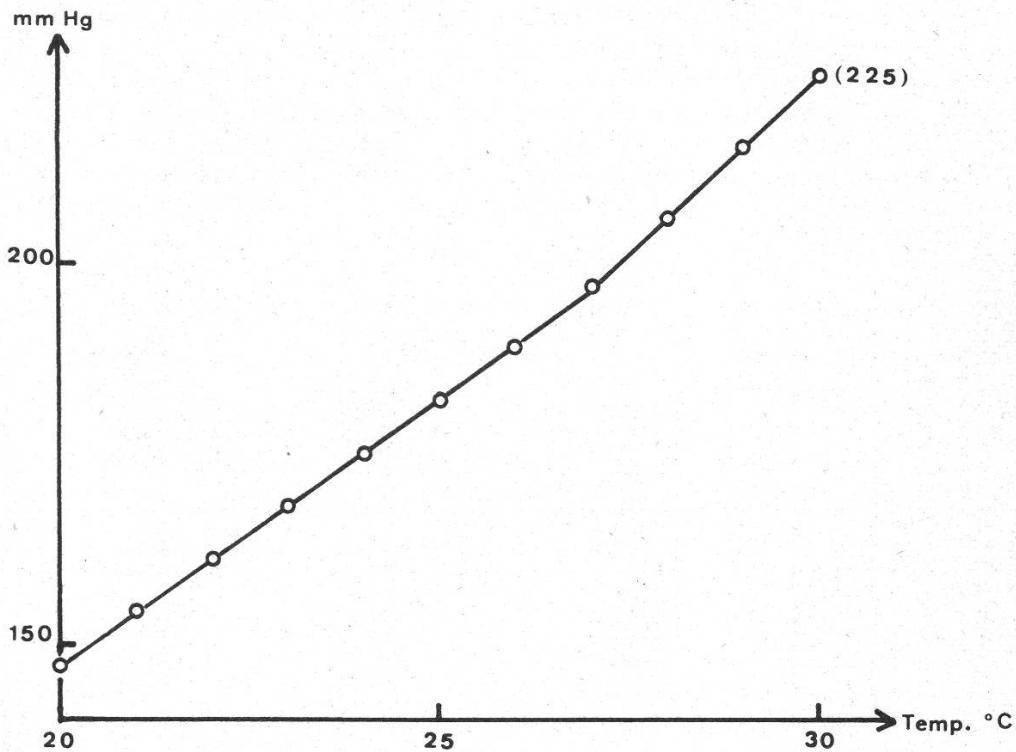


Abbildung 4

Temperaturabhängigkeit der Messung mit der Mikrosauerstoffelektrode

In den Voruntersuchungen wurden reife Äpfel verschiedener Sorten benutzt; bei der Verfolgung der Entwicklung und Reifung hingegen nur Äpfel der Sorte Bismarck. An einem Baum (Standort Meilen, 450 m ü. M.) wurden anfangs Juni 30 gleich exponierte Äpfel markiert und alle zwei Wochen eine entsprechende Anzahl, die sich im gleichen Entwicklungszustand befand, für die Messung gepflückt. Die letzte Ernte vom Baum erfolgte am 10. Oktober 1963. Nachher wurden die Proben von den gelagerten Äpfeln entnommen (Lagerungstemperatur 20°C , relative Feuchtigkeit 40–60 %).

Die Verteilung der Sauerstoffkonzentration im Fruchtfleisch wurde jeweils so ermittelt, dass die Elektrode in der «Äquatorialebene» der Frucht an verschiedenen, gleichmäßig verteilten Punkten des Umfanges in eine genau in mm gemessene Tiefe versenkt wurde. Die abgebildeten Kurven der Sauerstoffverteilung fassen die Messungen an 5 bis 10 Früchten zusammen. Gemessen wurde, neben der Verteilung der inneren Sauerstoffkonzentration während der Entwicklung und Reifung, auch das Frisch- und Trockengewicht (48 h, 96°C), ferner der Sauerstoffverbrauch und die Kohlendioxidproduktion der ganzen Äpfel.

Abbildung 5 zeigt die Einrichtung, mit der diese Versuche durchgeführt wurden.

Die Gaswechselmessungen erfolgten manometrisch, und zwar so, dass man die Früchte zuerst im geschlossenen Gefäß atmen liess (Hahn 1 offen, 2 und 3 geschlossen) und in der Kapillare die Volumenänderung pro Zeiteinheit bestimmte (5-min-Intervalle), anschliessend mit Luft während 5 min spülte (Hahn 1 geschlossen, 2 und 3 offen), 37prozentige Kaliumhydroxidlösung zugab, das System schloss und von neuem die Volumenänderung pro Zeiteinheit bestimmte.

Die Sauerstoffaufnahme ergab sich direkt aus der Volumenänderung der zweiten Messung, die Kohlendioxidproduktion aus der Differenz der beiden.

Messungen ohne Früchte im Versuchsgefäß ergaben keine messbaren Volumenänderungen (Thermobarometer) während der kurzen Versuchszeiten. Die Transpiration der vom Baum abgetrennten Früchte bleibt ebenfalls ohne Einfluss auf die Messresultate.

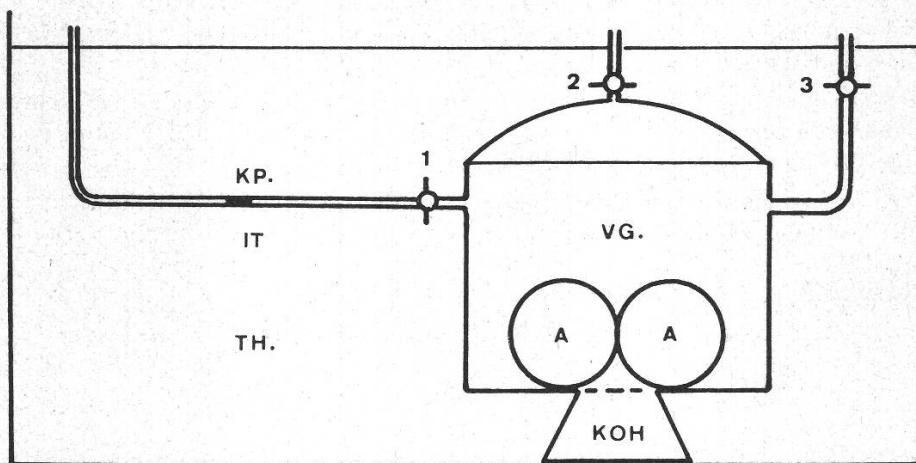


Abbildung 5

Versuchseinrichtung zur Messung des Gaswechsels an ganzen Früchten während der Entwicklung und Reifung. VG = Versuchsgefäß, TH = Thermostat, KP = Kapillare, A = Äpfel, KOH = Kaliumhydroxid, IT = Indextropfen (Dekalin:Paraffinöl = 1:1)

2.3 Einfluss der Polyphenoloxidasen auf die Messung

Der Nadelstich verletzt das Gewebe. Dadurch erhöht sich die Aktivität der Polyphenoloxidasen (Franke, 1960; Beevers, 1961). In ihrer Wirkung als Terminaloxydasen reduzieren sie molekularen Sauerstoff, der damit der Messung verlorenginge.

Um den Einfluss dieser Enzyme auf die Messung abzuklären, wurde enzymhaltiges Gewebe von Äpfeln mit enzymfreiem von Zwiebeln verglichen. Die Messungen mit der beschriebenen Methode ergaben die in Abbildung 6 schematisch dargestellten Sauerstoffkonzentrationen an einem Punkt im entsprechenden Gewebe in Abhängigkeit von der Messzeit.

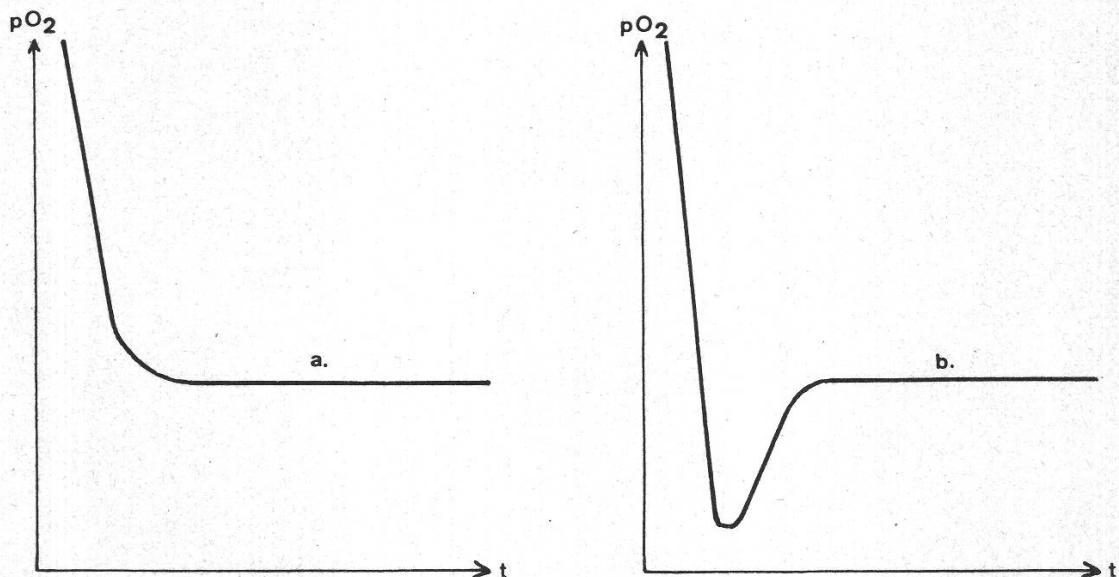


Abbildung 6

Einfluss der Polyphenoloxidasenreaktion auf die Messung (schematisch). a = keine Reaktion, b = starke Reaktion

In der Waagrechten liegt der wirkliche Sauerstoffpartialdruck vor. Falls eine durch die Polyphenoloxydasen katalysierte Reaktion auftritt, ergibt sich ein temporäres Sauerstoffdefizit. Gleichzeitig diffundiert aus der näheren Umgebung neuer Sauerstoff zu.

Nach Reaktionsablauf wird schliesslich durch diesen Sauerstoff die Gleichgewichtslage wieder hergestellt. Sauerstoff der Außenluft vermag nicht einzudringen, da die Öffnung der Injektionsnadel durch die Elektrode vollständig verschlossen wird.

Hohe Enzymaktivitäten wurden hauptsächlich in ganz jungen Äpfeln angetroffen. In alten Früchten verschwand diese Erscheinung. Die gleichen Feststellungen machte auch Hackney (1947).

3. Vorversuche an essreifen Äpfeln

3.1 Ergebnisse am Boskop-Apfel

Die Ziele dieser Vorversuche waren, Richtlinien zur Wahl einer günstigen Sorte für die Hauptversuche herauszufinden und Angaben über die Verteilung der Sauer-

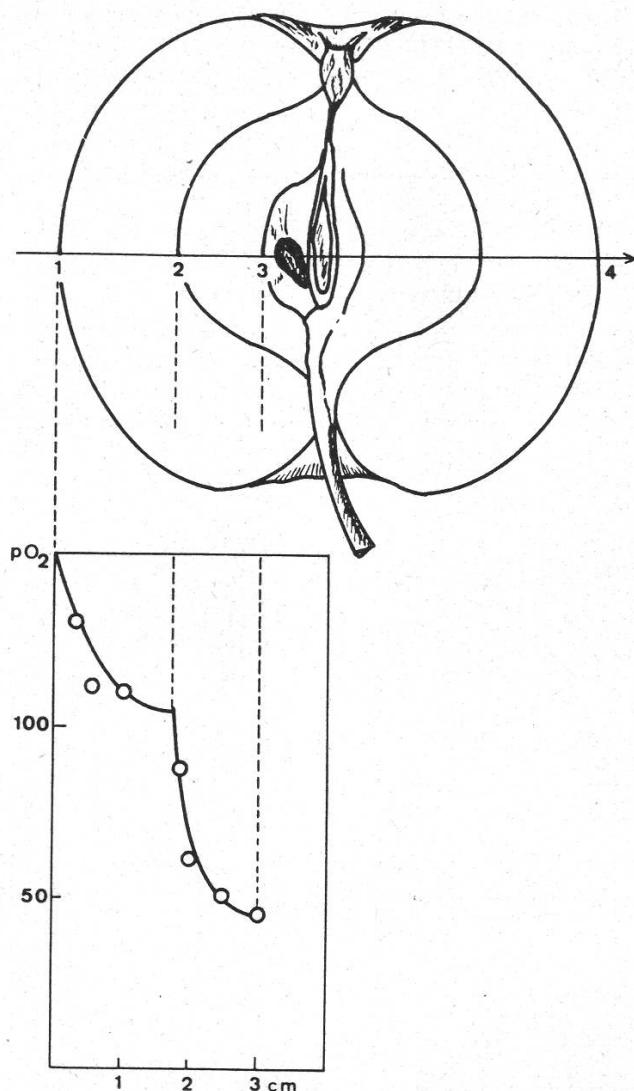


Abbildung 7

Verteilung der Sauerstoffkonzentration in der Äquatorialebene von Boskop-Äpfeln (pO_2 in mm Hg, cm = Distanz von der Oberfläche). 1 = Epidermis, 2 = Leitbündelzone, 3 = Gehäuse, 4 = Einstichebene

stoffkonzentrationen in verschiedenen Zonen des Fruchtfleisches zu erhalten. Abbildung 7 zeigt die Ergebnisse an essreifen Boskop-Äpfeln.

Entgegen der Erwartung (Stiles, 1960) nimmt die Sauerstoffkonzentration in der Äquatorialebene der Frucht nach innen nicht gleichmäßig ab, sondern weist in etwa 2 cm Tiefe eine Unstetigkeit auf. Schnitte durch die Äpfel in der Äquatorialebene (Einstichebene der Sauerstoffelektrode) und in Meridianebenen liessen die Lage dieser Unstetigkeit eindeutig der Zone der Leitbündel zuordnen. Die geringsten Sauerstoffkonzentrationen wurden unmittelbar ausserhalb des Kerngehäuses oder zwischen den Karpellen gemessen.

Das Minimum bei Boskop-Äpfeln betrug dort etwa 40 mm Hg, das heisst ungefähr 27% der Gleichgewichtskonzentration mit Luft ($pO_2 = 148-151$ mm Hg, je nach Luftdruck). Die Clark-Elektrode erlaubt nur die Konzentration von gelöstem Sauerstoff zu ermitteln. Es ist deshalb nicht möglich gewesen, den Sauerstoffpartialdruck in der Innenatmosphäre des Kerngehäuses zu messen. Vermutlich befindet sich aber diese Innenatmosphäre im Gleichgewicht mit den im inneren Fruchtfleisch vorhandenen Gasen. Diese Vermutung wird gestützt durch die Beobachtung, dass bei einzelnen Boskop-Äpfeln unmittelbar an der äusseren Oberfläche des Kerngehäuses Sauerstoffkonzentrationen gemessen werden konnten, die beinahe der Gleichgewichtskonzentration mit Luft entsprachen. Eine genaue Untersuchung dieser Äpfel ergab, dass in diesen Fällen das Kerngehäuse durch einen Kanal über die Fliege mit der Aussenatmosphäre in Verbindung stand.

3.2 Weitere Sorten

Analoge Verteilungen der Sauerstoffkonzentrationen wurden auch bei Äpfeln der Sorten Cox' Orangenreinette, Oetwiler Orangenreinette (Lokalsorte) und Bohnapfel festgestellt (Abb. 8 a-c). In dieser letzteren Sorte konnten minimale Konzentrationen von 20 mm Hg gemessen werden, das sind lediglich 13% der Gleichgewichtskonzentration mit Luft.

Die Unstetigkeit der Kurve der Sauerstoffverteilung war in allen Sorten zu erkennen.

In den Vorversuchen wurden Sorten unterschiedlicher Eignung verwendet. Die ideale Sorte sollte relativ grosse, gleichmässig gebaute Früchte aufweisen und in genügender Menge leicht zu beschaffen sein. Diesen Ansprüchen genügte die Sorte Bismarck. Ausserdem ist sie frühreif. Dadurch lassen sich die Messergebnisse in gedrängteren Darstellungen zusammenfassen. Ausführlicher wurde die Sorte Bismarck von Kessler (1947) beschrieben.

4. Hauptversuche während der Entwicklung und Reifung

4.1 Wachstum

Aus Abbildung 9 kann entnommen werden, dass sich die Äpfel der Sorte Bismarck während des Sommers 1963 stetig und gleichmässig entwickelten.

Die ausgewachsenen Früchte erreichten etwa 180 g Frischgewicht und massen durchschnittlich 8 cm im Durchmesser. Regelmässig runde Äpfel konnten in grosser Anzahl vom Baum, der insgesamt rund 250 kg Früchte trug, gepflückt werden. Die Wachstumsperiode schloss mit der letzten Ernte vom 10.10.63.

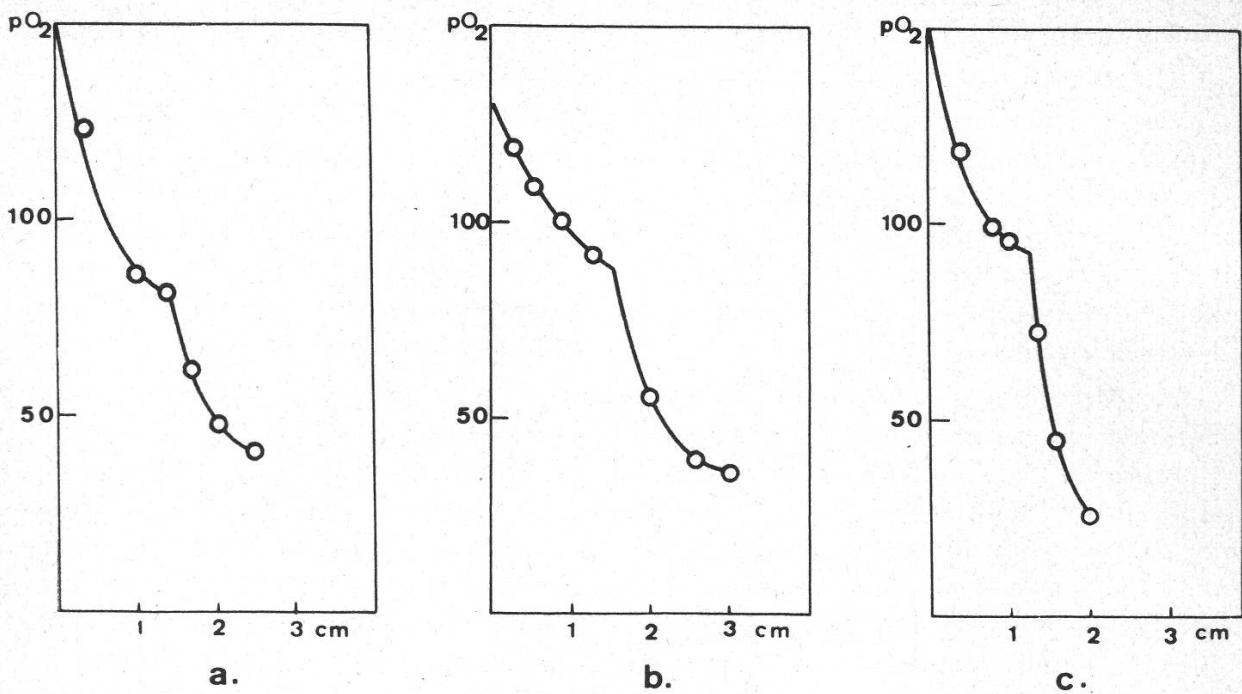


Abbildung 8

Verteilung der Sauerstoffkonzentration in: a = Cox' Orangenreinette, b = Oetwiler Orangenreinette, c = Bohnapfel

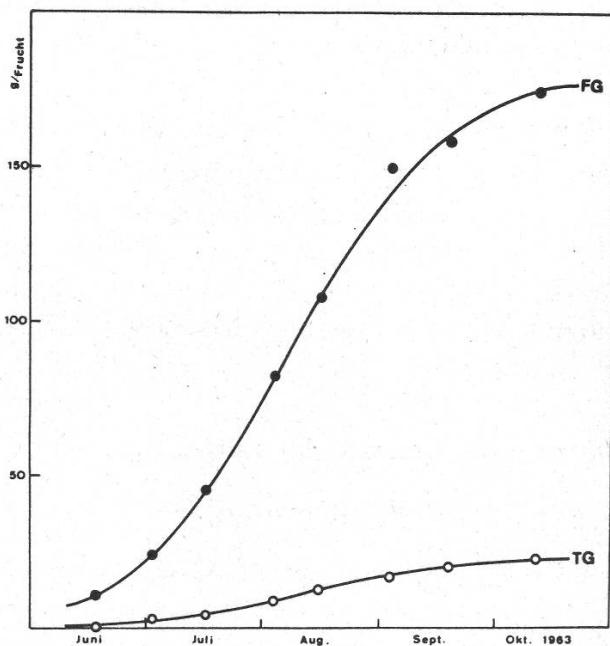


Abbildung 9

Wachstum der Bismarck-Äpfel (Durchschnittswerte aus 10 Früchten). TG = Trockengewicht, FG = Frischgewicht

4.2 Atmungsverlauf

Aus Abbildung 10 geht nochmals die gleichmässige Entwicklung der Früchte in bezug auf den Gaswechsel hervor. Wie schon verschiedentlich festgestellt (Ulrich, 1952), gehören die Äpfel zum Typus der Früchte, die während der Reifung eine vorübergehende Erhöhung der Atmungsintensität zeigen.

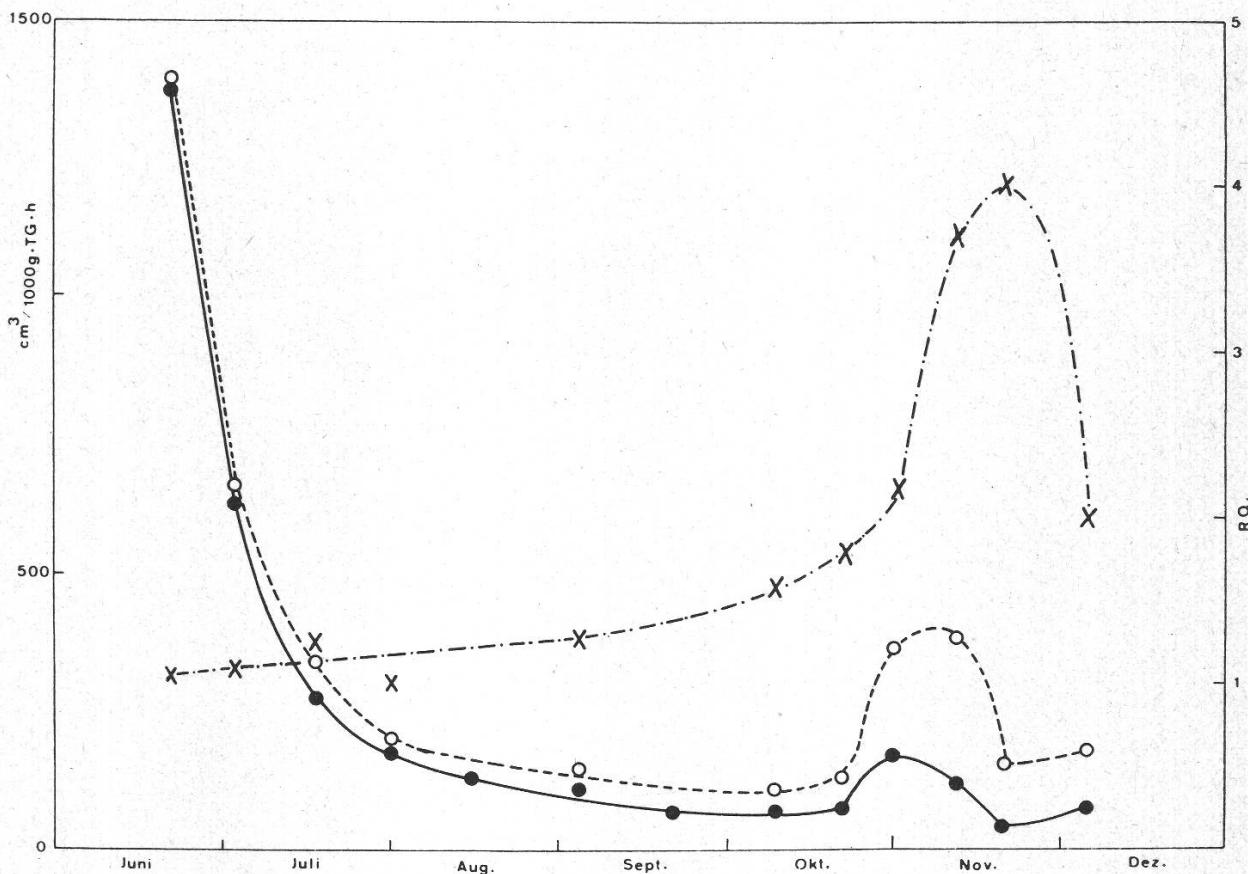


Abbildung 10

Atmungsverlauf der Bismarck-Äpfel während der Entwicklung und Reifung (Ernte 10.10.63).
Ausgezogen: O₂-Aufnahme, gestrichelt: CO₂-Abgabe, strichpunktet: RQ

Dieses Gaswechselmaximum während des Klimakteriums ist für die Kohlendioxidproduktion viel ausgeprägter als für den Sauerstoffverbrauch, so dass sich eine beträchtliche Erhöhung des respiratorischen Quotienten ergibt. Das Klimakterium ist nicht an die Ernte gebunden (Ulrich, 1952). Es trat in der Sorte Bismarck erst nach der Ernte ein.

In Anlehnung an Kidd und West (1930) können in der Sorte Bismarck folgende Entwicklungsphasen unterschieden werden:

Entwicklungsphase	Atmung	Zeitpunkt (1963)
1. Periode: Zellteilung	stark abnehmend	bis Mitte Juli
2. Periode: Zellwachstum	langsam abnehmend	bis Mitte Oktober
3. Periode: Klimakterium	Erhöhung	bis Anfang November
4. Periode: Lagerung	Abnahme	bis Mitte November
5. Periode: Zerfall	leichte Erhöhung, dann Abfall	ab Mitte November

4.3 Sauerstoffverteilung

In Abbildung 11 sind die Ergebnisse von Messungen an Bismarck-Äpfeln in verschiedenen Entwicklungsstadien zusammengestellt.

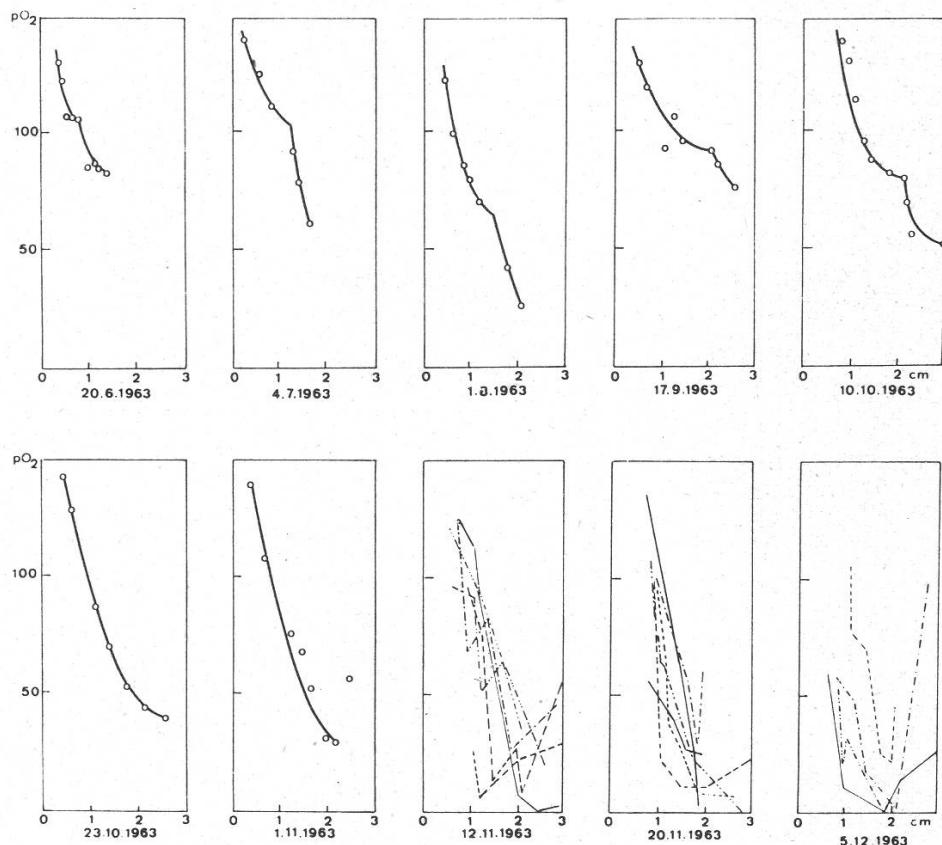


Abbildung 11

Verteilung der Sauerstoffkonzentration in Bismarck-Äpfeln verschiedener Entwicklungsstadien
(Ernte 10.10.63, pO_2 in mm Hg)

Die jungen Früchte wiesen den früher beschriebenen Polyphenoloxidaseeffekt auf. Bis anfangs Oktober zeigen die Sauerstoffkonzentrationen eine ähnliche Abhängigkeit von der Tiefe des Messortes, wie in den Vorversuchen für verschiedene Sorten festgestellt wurde. Die Unstetigkeit der Sauerstoffverteilungskurven ist bis im Oktober überall zu erkennen. Die Messreihe vom 1.8.63 ergab abnormal tiefe Werte.

Nach der Ernte änderten sich die Verhältnisse stark. Bei dieser Sorte scheint zunächst die Unstetigkeit zu verschwinden. In späteren Stadien schwankten die pO_2 -Werte der inneren Fruchtfleischzonen verschiedener Früchte gleichen Alters dermassen, dass sie nicht mehr gemittelt wurden. In den fortgeschrittenen Klimakteriumsstadien wurden auch die niedrigsten Sauerstoffkonzentrationen beobachtet. In einzelnen Fällen konnte in der Nähe des Kerngehäuses kein Sauerstoff mehr nachgewiesen werden.

5. Ergänzende Versuche und Untersuchungen

5.1 Allgemeines

Ulrich (1956) beschreibt eine ganze Anzahl physikalischer, chemischer und physiologischer Faktoren, die die Sauerstoffversorgung einer Frucht beeinflussen können. Manche von ihnen sind schon in ihrer Wirkung als Einzelfaktor schwer erfassbar; ihr Zusammenwirken ist praktisch unbekannt (Biale, 1960; Ulrich, 1952).

Oft werden Gradienten der Messgrößen dieser Faktoren in Abhängigkeit von der Lage festgestellt. Smith (1947), Brändle und Wanner (1965) fanden einen solchen für den Sauerstoffgehalt. Ulrich (1952) beschreibt einen Gradienten für den Kohlendioxidgehalt, und am Rande der Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurde einer für den pH-Wert gefunden. Die Bestimmung des pH-Wertes erfolgte in Saftproben von Gewebestücken aus verschiedenen Tiefen des Fruchtfleisches mittels einer Glaselektrode. Als Resultat ergab sich eine gleichmäßige pH-Zunahme von der Epidermis nach innen bis zu den Karpellen um insgesamt 0,2 pH-Einheiten. Das Maximum betrug pH 3,5; das Minimum pH 3,3. Dies deutet darauf hin, dass im Apfel noch stärkere Säuren als die Ascorbinsäure, wie Ulrich (1952) vermutet, an der Azidität beteiligt sein müssen. Diesbezügliche Untersuchungen wurden im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit keine durchgeführt.

In den folgenden Abschnitten werden mögliche Ursachen für das charakteristische Verteilungsmuster des Sauerstoffgehaltes (vgl. 3.1, 3.2 und 4.2) näher untersucht. Den Befunden sind jeweils kurze methodische Erläuterungen vorangestellt.

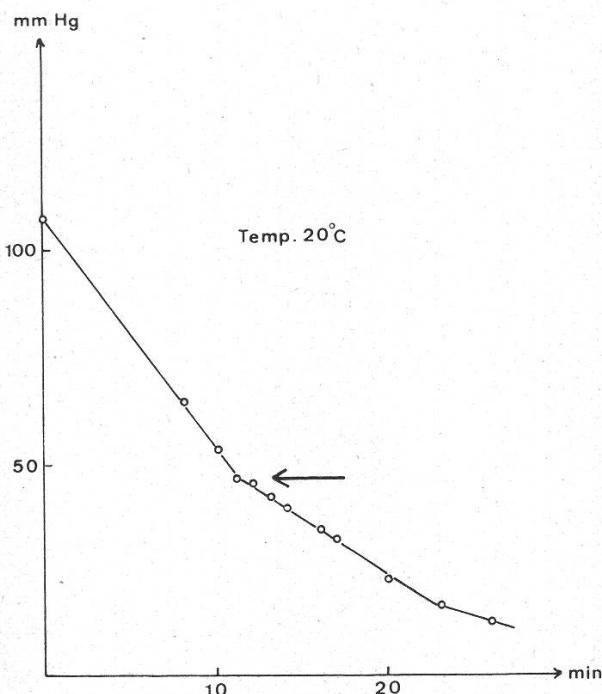


Abbildung 12

Kritische Sauerstoffspannung für Gewebe eines essreifen Boskop-Apfels

5.2 Kritische Sauerstoffspannung für Boskop-Gewebe

Atmende Gewebestücke wechseln bei abnehmendem Sauerstoffangebot, das heisst bei Unterschreitung einer gewissen Konzentration von aerober zu anaerober Atmung. Diese Konzentration heisst kritische Sauerstoffspannung (Wanner, 1945, u. a.). Ihre Kenntnis ist notwendig zur Abklärung der Frage, ob im Apfelgewebe genügend Sauerstoff für eine normale Atmung vorhanden sei.

Die Messungen erfolgten wiederum mit der Mikrosauerstoffelektrode. Die Gewebe-schnitte kamen in ein mit Wasser gefülltes, abgeschlossenes Gefäss, in das die Sauerstoffelektrode eintauchte.

Unter ständiger Umwälzung der Schnitte wurde die Sauerstoffabnahme im Gefäss gemessen. Die Schnittdicke betrug 1 mm. Sie lag somit wesentlich unter der Maximal-dicke für Gewebeschnitte, die nach der von Warburg angegebenen Formel (Umbreit et al., 1949; Stiles, 1960) berechnet werden kann. Dadurch entfallen fehlerhafte Messresultate, die sich aus der nicht genügend raschen Diffusion des Sauerstoffes zur Einzelzelle ergeben könnten.

Aus Abbildung 12 kann im ersten Knickpunkt der Geraden die kritische Sauerstoffkonzentration für Rindengewebe herausgelesen werden.

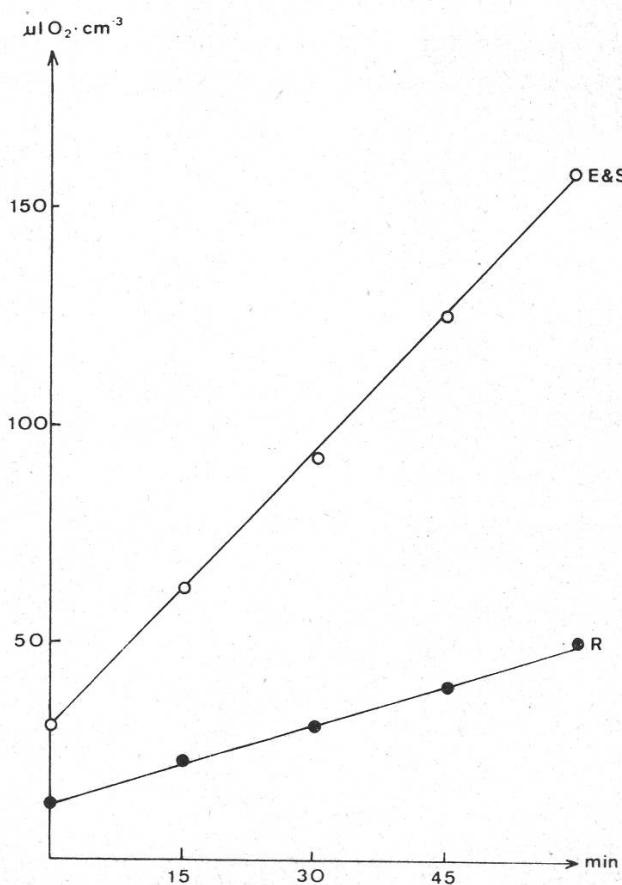


Abbildung 13

Atmungsintensität in verschiedenen Zonen des Fruchtfleisches (Temp. 25 °C, Bohnapfel). E & S = Epidermis und subepidermale Zellen, R = Rinde

Sie beträgt etwa 46 mm Hg, was 6,5 % O₂ entspricht. Dieser Wert stimmt gut mit dem tiefsten Punkt der Sauerstoffverteilungskurve von Boskop-Äpfeln (vgl. Abb. 7) überein. Ähnliche Resultate beschreibt Ulrich (1952), der je nach Sorte 3–10 % Sauerstoff angibt.

Daraus kann geschlossen werden, dass in gesunden Früchten, die die charakteristischen Sauerstoffverteilungskurven aufweisen, keine Gärung stattfindet.

5.3 Atmungsintensität in verschiedenen Zonen des Fruchtfleisches

Der Sauerstoffbedarf ist nicht für alle Zonen des Fruchtfleisches gleich gross. Warburg-Versuche (Methode nach Zoller, 1965) mit Gewebeschnitten aus der Rindenschicht und von der Epidermis mit subepidermalen Zellen ergaben für den Bohnapfel die in Abbildung 13 dargestellten Ergebnisse.

Die äussersten Zellschichten atmen bedeutend stärker als das Rindengewebe ($QO_2 = 3$). Auch die übrigen Zonen weisen verschiedene Atmungsraten auf (Zoller, 1965). Die Leitbündel bilden wiederum eine Zone intensiverer Atmung. Die Ursache der verschiedenen Atmungsintensitäten liegt in der verschieden grossen Zahl von Zellen pro Volumeneinheit. Die Atmungsraten ähnlicher Gewebe ist direkt von der Zellzahl abhängig, nicht von der Zellgrösse (Ulrich, 1952, 1956). Zellgrösse und Form werden unter 5.5 genauer beschrieben.

5.4 Interzellularvolumen

Für die Bestimmung des Interzellularvolumens wurden kleine Zylinder ($\varnothing = 12 \text{ mm}$, $h = 5 \text{ mm}$) aus Apfelgewebe ausgestochen, gewogen, mit einer Saccharoselösung infiltriert, welche die gleiche Saugspannung wie das Gewebe aufwies, anschliessend zurückgewogen. Aus der Gewichtszunahme konnte das Interzellularvolumen ermittelt werden. Die Bestimmung der Saccharoselösung gleicher Saugspannung erfolgte durch Einlegen von Apfelstücken in geringe Mengen von Rohrzuckerlösungen verschiedener Konzentration. Jene Lösung, die nach 4 Stunden keine Konzentrationsänderung aufwies, wurde als Infiltrationslösung (14,8 % Saccharoselösung) gewählt. Die Konzentrationsbestimmungen wurden mit einem Hand-Zuckerrefraktometer ausgeführt (Zeiss-Opton). Tabelle 2 gibt die Resultate eines Versuches an einem essreifen Golden-Delicious-Apfel wieder.

Ähnliche Angaben, ermittelt durch andere Methoden, können der Literatur entnommen werden (Ulrich, 1952). Das totale Interzellularvolumen gleich grosser Früchte unterscheidet sich von Sorte zu Sorte und, wenn auch in geringerem Masse, von Frucht zu Frucht. In der Regel liegt es zwischen 20 und 35 % des Gesamtvolumens der Frucht.

Zum Fruchtgewicht und zur Zellgrösse steht das Interzellularvolumen in keiner Beziehung (Ulrich, 1952). Literaturangaben über die Verteilung der Interzellularen im Fruchtfleisch wurden keine gefunden, obwohl gerade diese Verteilung für den Weg, den der Sauerstoff im Gewebe nimmt, besonders massgebend ist.

Wie aus dem Versuch hervorgeht, ist vor allem in den äusseren Schichten mit einem erheblichen Anteil des Interzellularvolumens am Gesamtvolumen zu rechnen. Falls

Tabelle 2

Tiefe in mm	0-5	5-10	10-15	15-20	20-25
Schnitte frisch in g	1,43	1,53	1,57	1,74	1,74
Schnitte infiltriert in g	2,07	2,32	2,13	2,28	2,27
Aufgenommene Saccharoselösung in g	0,64	0,79	0,56	0,54	0,53
Gesamtvolumen der Schnitte in cm ³	2,26	2,26	2,26	2,26	2,26
Saccharoselösung/cm ³ in g	0,28	0,35	0,25	0,24	0,23
Interzellularvolumen/cm ³ Gewebe in cm ³	0,27	0,33	0,235	0,23	0,22
% des Totalvolumens	27	33	23,5	23	22

die Epidermis und die subepidermalen Zellen entfernt werden, lassen sich die beiden äussersten Schichten nicht mehr unterscheiden. Bei beiden erreicht das Interzellularvolumen ein Drittel des Gesamtvolumens, während die inneren Schichten nur etwa ein Fünftel des Gesamtvolumens an Interzellularen enthalten.

Die Leichtigkeit, mit der man Apfelgewebe, besonders der äusseren Schichten, infiltrieren kann, lässt vermuten, dass die Interzellularräume untereinander verbunden sind.

5.5 Histologie des Apfels

Die Untersuchungen wurden an Mikrotomschnitten durchgeführt. Die Fixierung der Gewebestücke erfolgte in FAA, das Einbetten in Paraffin. Die Dicke der Schnitte betrug 10 μ . Als Färbemittel diente Hämatoxylin Delafield. Verwendet wurden die gleichen Äpfel, die zur Messung der Sauerstoffverteilung während der Entwicklung und Reifung benutzt wurden.

Wie die Schnitte zeigen, weisen die jungen Früchte vom 20.6.63 eine gut ausgebildete Epidermis auf (Abb. 14 a). In dieser Periode treten nach Tetley (1930, l. c.) die Schliesszellen auf. Sie entwickeln sich aus einer vergrösserten Epidermiszelle und sind gleichmässig über die ganze Fruchtoberfläche verteilt.

Unter der Epidermis liegen undifferenzierte Rindenzellen (Abb. 14 b). Darauf folgen die Leitbündel und anschliessend die Markzellen (Abb. 14 c). Nur die Leitbündel weisen vorläufig auf die erst später sichtbare Trennlinie zwischen Rinde und Mark hin, denn beide Gewebe enthalten zu dieser Zeit mehr oder weniger gleichartige Zellen. Die Versorgung der Frucht wird durch zwei Leitbündelsysteme gewährleistet. Beide haben an der Fruchtbasis ihren Ursprung. Das kräftigere, äussere System versorgt den fleischigen Teil des Apfels und das schwächere, innere die Karpelle.

In den mittleren Reifestadien, vom 1.8.63, nachdem die Zellteilungen im Fruchteinern fast überhört haben, ist eine Differenzierung der Zellen bemerkbar. Nur noch die Epidermis (Abb. 14 d) scheint meristematisch zu sein, da sie, ohne zu reissen, mit dem Fruchtwachstum Schritt hält. Die Rinden- und Markzellen (Abb.

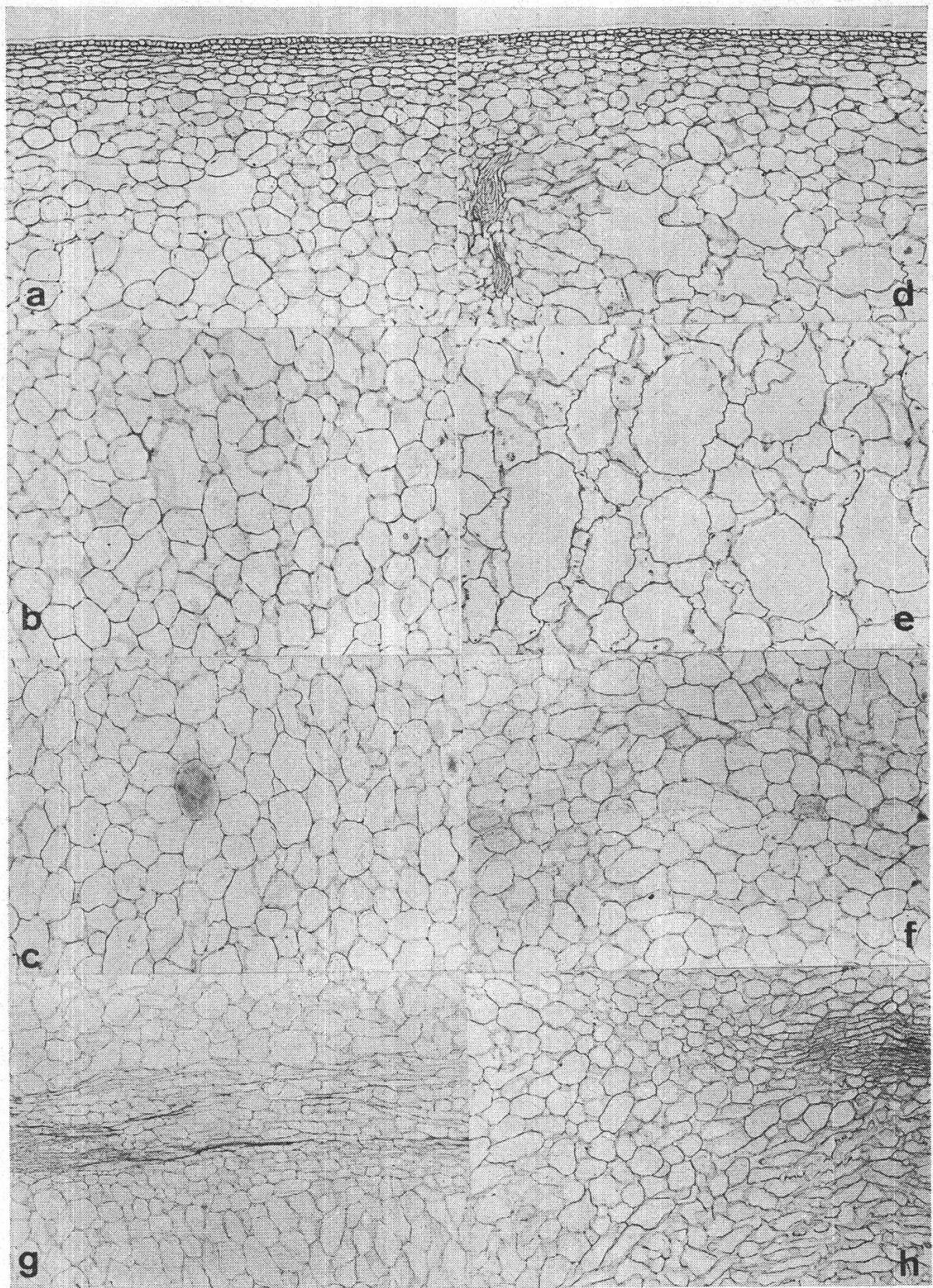


Abbildung 14

Mikrotomschnitte durch Gewebe von Bismarck-Äpfeln. a = Epidermis, b = Rinde, c = Mark (20.6.63); d = Epidermis, e = Rinde, f = Mark, g = Leitbündelzone, h = Karpelle (1.8.63). Vergr. 75

14 e, f) beginnen sich zu vakuolisieren. Die Trennlinie zwischen Rinde und Mark ist immer noch schwer erkennbar (Abb. 14 g). Hingegen erfahren die Interzellularräume eine beträchtliche Vergrösserung. Dabei treten sie in der Rinde viel stärker hervor als im Mark. In den Karpellen (Abb. 14 h) sind sie allerdings kaum sichtbar.

In diesem Entwicklungsstadium tragen die Vakuolisierung der Zellen, die Interzellularvergrösserung und die Kambiumaktivität der Leitbündel zur raschen Volumenzunahme der Frucht bei.

Während des Reifevorganges vakuolisieren auch die Epidermiszellen und vergrössern sich hauptsächlich in tangentialer Richtung. Die subepidermalen Zellen bleiben auch in späteren Stadien noch meristematisch. Ihre Zellwände sind dickwandiger und vermutlich gelatinöser Natur. Interzellularen sind hier selten anzutreffen. Den Beweis für die langanhaltende meristematische Aktivität liefern die Kork- und die Lentizellenbildung in diesen späteren Reifestadien. Im Fruchttinnern hört das Zellwachstum praktisch auf, und jede Volumenzunahme der Frucht beruht auf Vergrösserung der Interzellularen im Mark. Das Gesamtgewicht der Frucht nimmt dementsprechend nur noch leicht zu (vgl. Abb. 9).

Die Trennlinie zwischen Rinde und Mark wird jetzt gut sichtbar. In infiltrierten Apfelstücken kommt sie besonders klar zum Vorschein. Der Grund dazu liegt wohl in der verschiedenen Beschaffenheit von Rinden- und Markgewebe in bezug auf die Interzellularen. Die Ursache dieser Trennlinie ist das Aneinanderstossen der beiden Gewebe, die nach Beendigung der meristematischen Tätigkeit von Epidermis und Leitbündel in Raumnot geraten. Andere Autoren betrachten die Trennlinie als Kambium (Esau, 1958; Smith, 1940).

Schliesslich erkennt man an der Sorte Bismarck bereits an jungen Früchten eine wachsartige Cuticula, die mit der Entwicklung und Reifung an Dicke zunimmt.

5.6 Modellversuch

a) Theorie

Ziel des Modellversuches war, die Sauerstoffverteilungskurven mathematisch und experimentell am Modell zu analysieren. Jacobs (1935) gibt Formeln für die Diffusion von Gasen in lebende Körper von verschiedener Gestalt an. Die Sauerstoffkonzentration an einem beliebigen Punkt innerhalb einer Kugel beträgt:

$$u = c - \frac{\alpha}{6D} (R^2 - r^2) \quad (1)$$

Es bedeuten: u = Konzentration in $\text{g O}_2 \cdot \text{cm}^{-3}$

c = Aussenkonzentration in $\text{g O}_2 \cdot \text{cm}^{-3}$

α = Atmungsrate in $\text{g O}_2 \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$

D = Diffusionskoeffizient in $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

R = Kugelradius in cm

r = Abstand des Punktes mit der Konzentration u vom Zentrum in cm

Damit die Formel Gültigkeit hat, sind von der Gewebekugel eine Reihe von Bedingungen zu erfüllen:

1. Grenzfläche der Kugel ohne Einfluss auf die Diffusionsvorgänge;
2. Gewebe homogen;
3. Atmungsrate in der Kugel konstant.

Aus der Gleichung (1) lässt sich schliessen, dass die Verteilungskurve theoretisch eine Parabel darstellt (Gleichung 2. Grades vom Typus $y = ax^2 + bx + c$).

Sie darf aber nicht ohne weiteres auf einen Apfel angewendet werden, da die geforderten Bedingungen nicht erfüllt sind. Auch wenn der Apfel eine annähernd kugelige Form besitzt, erschwert die Epidermis mit ihrem oft ausgeprägten Wachstum überzug das Eindringen von Sauerstoff erheblich. Das Gewebe ist nicht homogen; Leitbündel durchziehen es, Zellgröße (Smith, 1950) und Interzellularvolumen (vgl. 5.4) ändern ebenfalls. Auch ist die Atmungsrate innerhalb der Frucht nicht überall gleich (vgl. 5.3). Mittels einer geeigneten Versuchsanordnung sollten die geforderten Bedingungen dennoch einigermassen angenähert werden können.

b) Versuchsanordnung und Versuchsbedingungen

Die Experimente wurden an Gewebezylindern von essreifen Äpfeln der Sorte Granny Smith durchgeführt. Sie stammten aus einem homogenen Bereich der Rinde (Smith, 1950) und wurden mit einem scharfen Korkbohrer ausgestanzt. Vor Mess-

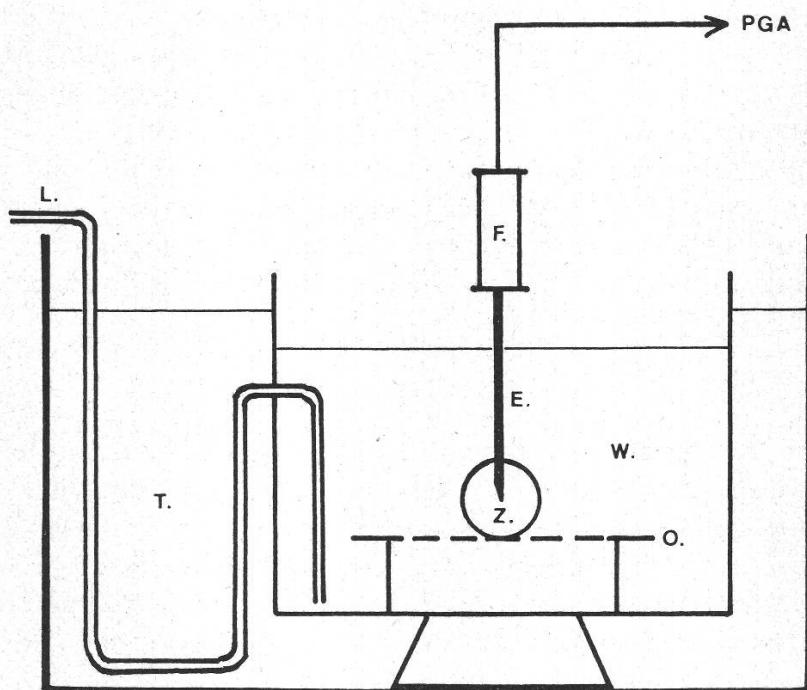


Abbildung 15

Versuchseinrichtung zur Messung des Sauerstoffs im Modellversuch. Z = Gewebezylinder, E = Elektrode, F = Feintrieb eines Mikroskopes, W = Wasserbad, O = Objektisch, T = Thermostat, L = Glasrohr zur Belüftung, PGA = Physiological Gas Analyzer

beginn wurden sie unter luftgesättigtem Wasser gehalten, bis sich das Gleichgewicht von Sauerstoff zwischen Gewebe und umgebender Flüssigkeit eingestellt hatte.

Die Sauerstoffmessungen erfolgten in der dargestellten Versuchsapparatur mit der Mikrosauerstoffelektrode. Der Feintrieb eines Mikroskopes diente zur möglichst genauen Tiefeneinstellung. Der angeführte Versuch wurde unter den nachstehenden Bedingungen ausgeführt: Temperatur = 21,5 °C, pO₂ im Wasser = 150 mm Hg, Anpassungszeit der Gewebeproben = 6 h unter Wasser, Zylinderlänge = 4,5 cm, Durchmesser = 1,2 cm. Zur Verhinderung der Diffusion längs der Achse wurden die Deckflächen mit Wollfett abgedichtet.

c) Ergebnisse und Bemerkungen

Nach Jacobs (1935) lautet die Gleichung für die Diffusion in einen Gewebezylinder:

$$u = c - \frac{\alpha}{4D} (R^2 - r^2) \quad (2)$$

Der Teilradius r stellt die variable Grösse dar. Die theoretische Kurve sollte wiederum eine Parabel ergeben. In Abbildung 16 ist das Resultat eines solchen Versuches wiedergegeben. Die experimentelle Kurve scheint parabelförmig zu verlaufen. Die grosse Streuung der einzelnen Messwerte liegt im Bau der Elektrode (vgl. Abb. 1). Wegen der von Messung zu Messung etwas unterschiedlichen Lage der Elektrodenspitze in der abgeschrägten Mündung der Injektionsnadel und der Distanz zwischen Kathode und Anode sind Tiefenangaben mit einem Fehler von ± 0,5 mm behaftet. Die einzelnen Messwerte von den Gewebezylindern liegen unter jenen von ganzen Früchten an Luft, weil die Gewebestücke mit Wasser infiltriert waren. Die Diffusionsgeschwindigkeit eines gelösten Gases in einer Flüssigkeit ist viel kleiner (Jost, 1957) als die eines Gases in einem Körper, der mit gasgefüllten Hohlräumen durchsetzt ist. Interzellularen enthalten aber selten Flüssigkeit (Ulrich, 1952).

Da lokale Konzentrationsunterschiede von Sauerstoff innerhalb von Gewebeproben bestimmt werden können, ist die Möglichkeit gegeben, in Verbindung mit Messungen von Atmungsraten Diffusionskoeffizienten in pflanzlichen Geweben zu berechnen. Nach Umformung der Formel (2) lautet sie für den Diffusionskoeffizienten:

$$D = \frac{\alpha (R^2 - r^2)}{4(c - u)} \quad (3)$$

Diesbezügliche Berechnungen ergaben die in der Tabelle aufgeführten Werte. Die Ursache der abweichenden Werte, vor allem für den letzten, könnte darin liegen, dass die kritische Sauerstoffspannung unterschritten wurde (vgl. 5.2). Die Werte für die Diffusionskoeffizienten von Rindengewebe sind etwa zehnmal grösser als jene, die Wanner (1945) für Wurzeln (ca. $1,4 \cdot 10^{-6}$ cm²·s⁻¹) bestimmte. Daraus resultiert eine grössere Diffusionsgeschwindigkeit für Sauerstoff in Apfelparenchym als in Wurzeln.

5.7 Andere fleischige Organe (Banane, Kartoffel)

Äpfel waren die Hauptversuchsobjekte. Daneben wurden aber auch einige Untersuchungen an anderen fleischigen Organen durchgeführt. In den folgenden Abschnitten

wird eine Zusammenstellung der Resultate der Untersuchungen an Bananen und Kartoffeln wiedergegeben.

Tabelle zu Abbildung 16

Radius r (cm)	pO ₂ (Torr)	Konzentration u (gO ₂ · cm ⁻³)	Atmungsrate (gO ₂ · cm ⁻³ · s ⁻¹)	Diffusionskoeffizient (cm ² · s ⁻¹)
r=R=0,6	150	u=c=8,7 · 10 ⁻⁶	—	—
0,45	74	4,3 · 10 ⁻⁶	1,3 · 10 ⁻⁹	1,2 · 10 ⁻⁵
0,35	44	2,6 · 10 ⁻⁶	1,3 · 10 ⁻⁹	1,3 · 10 ⁻⁵
0,3	37	2,1 · 10 ⁻⁶	1,3 · 10 ⁻⁹	1,3 · 10 ⁻⁵
0,15	38	2,2 · 10 ⁻⁶	1,3 · 10 ⁻⁹	1,7 · 10 ⁻⁵
0	28	1,6 · 10 ⁻⁶	1,3 · 10 ⁻⁹	1,6 · 10 ⁻⁵

c = Sauerstoffkonzentration in luftgesättigtem Wasser von 21,5 °C (Leonard E. R. 1939. Ann. Bot. 2, 825)

α = Atmungsrate aus 5.3: Atmungsintensität für Rindengewebe

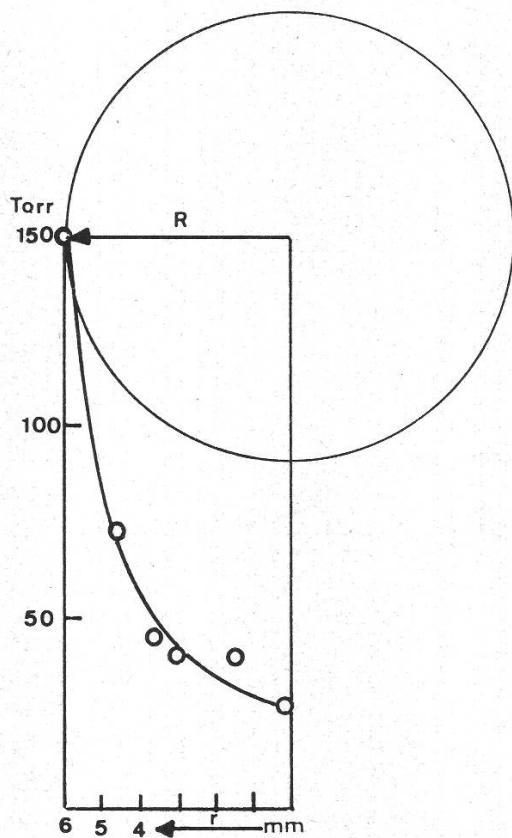


Abbildung 16

Schematische Darstellung eines Gewebezylinders mit Angabe der Verteilung der Sauerstoffkonzentrationen

a) Banane

Die Untersuchungen an Bananen wurden zur Beantwortung von zwei Fragen durchgeführt:

1. Welchen Verlauf hat die Sauerstoffverteilungskurve in Bananen?
2. Können die von Wardlaw und Leonard (1936) ermittelten, tiefen Sauerstoffgehalte im Innern der Frucht mit dieser neuen Methode ebenfalls nachgewiesen werden?

Für die Untersuchungen wurden essreife Bananen verwendet. Die Messungen erfolgten unter den gleichen Voraussetzungen, welche für die Äpfel in den Vorversuchen angewandt wurden (vgl. 2.2).

Die Sauerstoffverteilungskurve stellt eine Kurve dar, wie sie im Modellversuch mit Gewebezylindern aus Äpfeln gefunden wurde (Abb. 17).

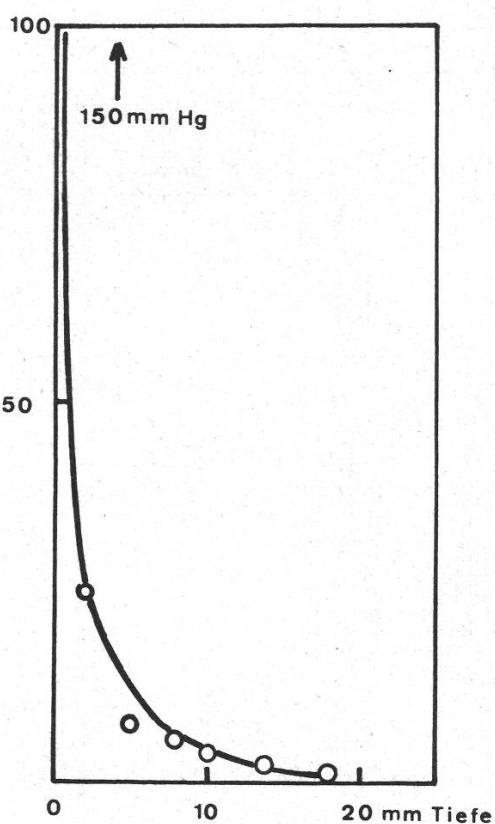


Abbildung 17

Verteilung der Sauerstoffkonzentration in Bananen (pO_2 in mm Hg, Mittelwertskurve aus Messungen an 6 Bananen)

Die Banane lässt sich recht gut mit einem homogenen Gewebezylinder vergleichen, obwohl die Schale nicht entfernt wurde. Diese stellt selbstverständlich ein Diffusionshindernis dar. Wardlaw und Leonard (1936) bemerkten dazu, dass die Permeabilität der äusseren Gewebe stark von der umgebenden Atmosphäre abhängig ist. Dabei spielt die Luftfeuchtigkeit eine wesentliche Rolle, die, neben der Temperatur, auch für die Atmungsintensität der Frucht von grosser Bedeutung ist. Die Respiration der Banane ist äusserst aktiv, daher der Sauerstoffkonsum gross.

Die einzelnen Messwerte lagen extrem tief. In den innersten Schichten konnte beinahe kein Sauerstoff mehr nachgewiesen werden. Die Werte für den pO_2 lagen

zwischen 0 mm Hg und 10 mm Hg, also in der gleichen Größenordnung wie jene von Wardlaw und Leonard (1936). Ihre Angaben werden dadurch bestätigt.

Die Banane gehört in bezug auf den Atmungsverlauf während der Entwicklung und Reifung zum gleichen Fruchtypus wie der Apfel (vgl. 4.2). Die Kurve für die Kohlendioxidabgabe von Wardlaw und Leonard (1939) zeigt den gleichen Verlauf, wie in Abbildung 10 für Äpfel dargestellt wurde. Eine Unstetigkeit konnte nie beobachtet werden, da die ausgeprägten Leitbündelsysteme der Äpfel fehlen.

b) Kartoffel

Für die Versuche wurden im Spätherbst eingekaufte Kartoffeln der Sorten Bintje und Urgenta benutzt. Es darf vorweggenommen werden, dass kein Unterschied zwischen den beiden Sorten festgestellt werden konnte.

Zur Orientierung über die Lage der Messpunkte in der Kartoffel dienten die Beschreibungen von Rauh (1950). Nach seinen Angaben setzt sich die Kartoffel, als Sprossknolle, von aussen nach innen aus folgenden Geweben zusammen:
verkorkte Epidermis, Rinde, Kambium und Mark.

Alle diese Teile sind im Längsschnitt gut sichtbar. Das der Pflanze zugekehrte Ende der Kartoffel ist die Basis, am anderen sitzt die Endknospe. Diese und die auf der ganzen Oberfläche verteilten Achselknospen sind ebenfalls leicht erkennbar.

Sämtliche Messungen erfolgten wieder mit der Mikrosauerstoffelektrode. Sie beziehen sich auf die Abklärung von einigen noch unbeantworteten Fragen, die sich im Zusammenhang mit dem früher Beschriebenen stellten:

1. Findet man in Kartoffeln dieselbe Sauerstoffverteilung wie in Äpfeln und Bananen?
2. Wie verändert sich die Gaspermeabilität der äussersten Schichten durch das Aufbewahren der Kartoffel unter Wasser?
3. Wie verändert sich der Sauerstoffgehalt im Innern bei verschiedenen Atmungsintensitäten?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden verschiedene Versuchsanordnungen getroffen, die nun beschrieben werden sollen.

Es war schwierig, für alle Versuche einigermassen gleichwertiges Pflanzenmaterial zu erhalten, da der Zeitpunkt der Ernte und die Art der anschliessenden Lagerung unbekannt waren. Daher wurden die Versuchsobjekte akklimatisiert. Ein Teil der Kartoffeln war den gleichen Bedingungen ausgesetzt wie die Bananen und die Äpfel in den Vorversuchen, das heisst, die Kartoffeln wurden vor der Untersuchung in einer Klimakammer (20°C , 40–60% rel. Feuchtigkeit, 24 h) aufbewahrt. Die übrigen wurden während acht Tagen in klimatisierten Kammern ($25,4^{\circ}\text{C}$ oder $34,6^{\circ}\text{C}$, 80–90% rel. Feuchtigkeit) gelagert.

Zur Abklärung der ersten Frage wurden die Kartoffeln in Vorversuchen gleich behandelt, wie es mit den Äpfeln und Bananen geschah. Es zeigte sich bald, dass in der Kartoffel kein eindeutiger Gradient für den Sauerstoffgehalt vorliegt. Die einzelnen Werte unterscheiden sich stark von Messpunkt zu Messpunkt. Aus diesem Grunde wurde keine Sauerstoffverteilungskurve abgeleitet. Die Messungen erfolgten darauf

auch nicht mehr in der «Äquatorialebene», sondern im kleinsten Längsschnitt durch Basis und Endknospe der meist ellipsoidförmigen Kartoffel. Dadurch konnte für jeden Messpunkt die kürzeste Distanz zur Oberfläche angegeben werden. Abbildung 18 gibt die Messwerte an zwei Kartoffeln wieder.

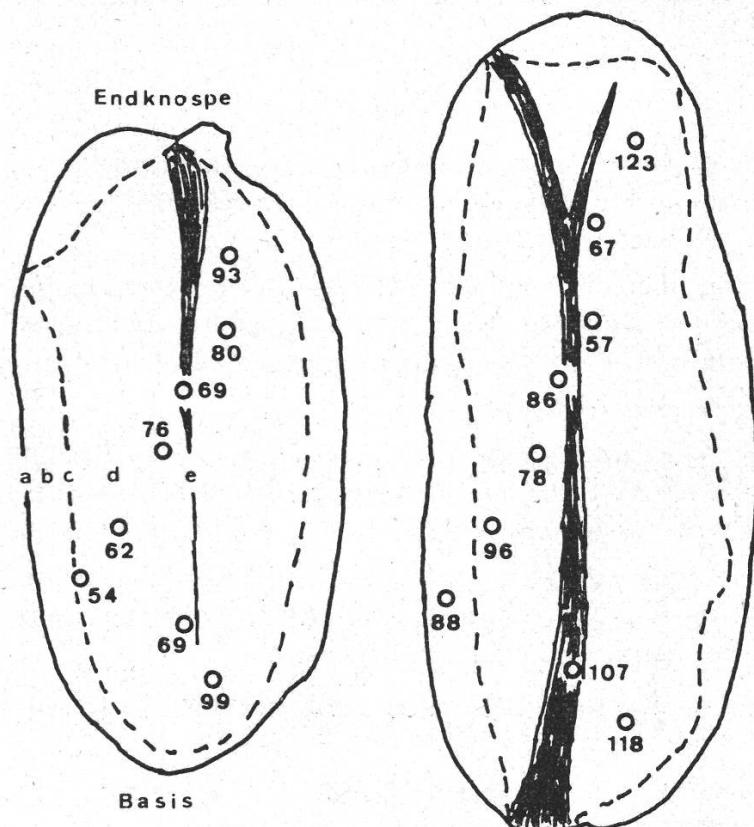


Abbildung 18
Sauerstoffgehalt von Kartoffeln (pO_2 in mm Hg, Temp. 24 °C)

Der Behandlung der zweiten Frage lag der Gedanke zugrunde, dass bei Vergleichsmessungen an Kartoffeln in Luft und in Wasser im zweiten Falle die äussersten Schichten eine Veränderung erfahren, indem sie mit einem Wasserfilm überzogen werden. Dadurch werden sämtliche Poren abgedichtet und die Diffusion durch die Grenzschicht stark gehemmt.

Es ist nicht anzunehmen, dass durch diese Behandlung das Wasser tief einzudringen vermag, denn durch die Aufbewahrung bei der hohen Luftfeuchtigkeit (80–90%) sind die Zellen recht turgeszent und werden kaum weiteres Wasser aufnehmen. Ebensowenig dürften die Interzellularen, die in der Kartoffel bloss 1 Vol.-% ausmachen (Burton et al., 1950), das Eindringen von Wasser feststellbar ermöglichen, obwohl das in den Interzellularen vorhandene Kohlendioxid gut wasserlöslich wäre. Diesbezügliche Beobachtungen an aufgeschnittenen Kartoffeln konnten nicht gemacht werden. Falls Wasser durch die Korkschicht und durch die Interzellularen einge-

drungen wäre, hätte das Gewebe unmittelbar darunter glasartiges Aussehen angenommen (verschiedene Brechungsindices).

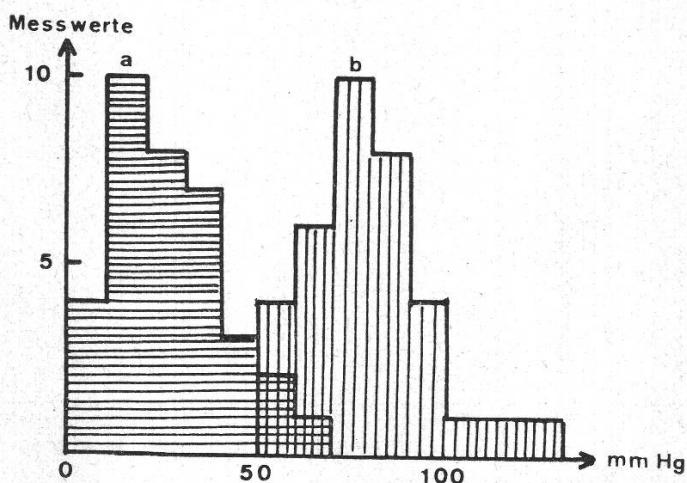
Vorversuche zeigten, dass die Dauer der Aufbewahrung unter luftgesättigtem Wasser erheblichen Einfluss auf die Höhe des Sauerstoffgehaltes hat. Für diese Versuche wurden grosse, gleichmässig gebaute Kartoffeln verwendet. In jeder Kartoffel wurden vier Punkte ausgemessen, die ein Quadrat von 0,5–0,7 cm Kantenlänge bildeten, welches im Zentrum der grösseren Mittelebene lag. Bedingt durch die kleinen Abstände der Messpunkte unter sich, durfte jeweils mit ungefähr gleichen Anfangsgehalten gerechnet werden. Aus Tabelle 3 können die Resultate entnommen werden.

Tabelle 3

t	Kartoffel Nr. 1 Kontrolle: an Luft (Temp. 21 °C)	Kartoffel Nr. 2 an Luft; Stichkanäle abgedichtet (21 °C)	Kartoffel Nr. 3 unter Wasser (21 °C)
	pO ₂ in mm Hg	pO ₂ in mm Hg	pO ₂ in mm Hg
0 h	74, 73, 71, 75	80	94
1 h		82	54
2 h		88	47
4 h		87	34

Aus Spalte 3 der Tabelle kann eine deutliche Abnahme während der ersten zwei Stunden herausgelesen werden. Demnach sollten die Kartoffeln für Vergleichsmessungen so lange unter Wasser gehalten werden, bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat.

Zur Abklärung der Frage 2 wurden nun je 6 Kartoffeln in luftgesättigtem Wasser und an Luft ausgemessen. Die Temperatur betrug 24–25,4 °C. Die Aufbewahrung unter Wasser vor Messbeginn dauerte 3 bis 6 Stunden. Abbildung 19 zeigt die Resultate. Berücksichtigt wurden nur die Messwerte innerhalb des Kambiums. Die einzelnen Werte sind in der Darstellung in Klassen (von pO₂ = 10 mm Hg) zusammengefasst.



Der Sauerstoffgehalt der Kartoffeln in luftgesättigtem Wasser liegt erheblich unter jenem der Kartoffeln an Luft. Die Sauerstoffversorgung wird empfindlich gestört, so dass im Innern, bei gleichbleibender Atmung, ein grosses Sauerstoffdefizit resultieren muss. Ursache der Störung dürfte die Herabsetzung der Permeabilität für den Sauerstoff in den äussersten Schichten sein.

Reziproke Versuche mit Kartoffeln, die zuerst 27 Stunden in luftgesättigtem Wasser gehalten wurden, zeigten nach anschliessender Lagerung in Luft wieder ansteigende Sauerstoffgehalte. Die Differenz zwischen vergleichbaren Punkten in äusseren Schichten war nach sechsstündiger Lagerung in Luft bedeutend grösser als diejenige in tieferen Schichten.

Schliesslich galt es noch, die Frage 3 zu lösen, nämlich den Einfluss der Atmung auf den Sauerstoffgehalt im Innern direkt nachzuweisen. Zu diesem Zweck wurden Kartoffeln im Wasser von verschiedener Temperatur ausgemessen. Durch das Wasser wird die Permeabilität der äusseren Schichten herabgesetzt. Es entsteht das bereits erwähnte Sauerstoffdefizit im Innern. Aufgrund der verschiedenen Temperaturen liegen unterschiedliche Atmungsintensitäten vor, die wiederum verschiedene mittlere Sauerstoffgehalte bewirken müssten.

In Tabelle 4 sind die Messwerte dieses Versuchs dargestellt. Sie stammten alle aus dem Gewebe innerhalb des Kambiums, um allfällige Störungen der Messungen durch das Wasser zu vermeiden, wiesen aber dort eine zufällige Verteilung auf.

Zur Verwendung gelangten für beide Versuchshälften je drei Kartoffeln. Die einzelnen Messwerte wurden der Grösse nach geordnet und numeriert, damit der von Van der Waerden (1956) beschriebene Rangtest zur Prüfung einer Differenz angewendet werden konnte.

Tabelle 4

Messwerte bei 34,6 °C, pO ₂ in mm Hg	Messwerte bei 25 °C, pO ₂ in mm Hg
x ₁ = 0 (1; -1,77)	y ₁ = 9 (6; -0,74)
x ₂ = 3 (2; -1,43)	y ₂ = 16 (11; -0,24)
x ₃ = 5 (3; -1,20)	y ₃ = 17 (13; -0,05)
x ₄ = 5 (4; -1,02)	y ₄ = 21 (15; -0,19)
x ₅ = 6 (5; -0,87)	y ₅ = 32 (17; +0,40)
x ₆ = 12 (7; -0,62)	y ₆ = 33 (18; +0,50)
x ₇ = 12 (8; -0,50)	y ₇ = 33 (19; +0,62)
x ₈ = 14 (9; -0,40)	y ₈ = 34 (20; +0,74)
x ₉ = 16 (10; -0,24)	y ₉ = 40 (22; +1,02)
x ₁₀ = 17 (12; -0,05)	y ₁₀ = 50 (23; +1,20)
x ₁₁ = 18 (14; +0,10)	y ₁₁ = 54 (24; +1,43)
x ₁₂ = 25 (16; +0,29)	y ₁₂ = 56 (25; +1,77)
x ₁₃ = 36 (21; +0,87)	
Mittelwert $\bar{x} = 13$ mm Hg	Mittelwert $\bar{y} = 33$ mm Hg

Es stellt sich nun die Frage, ob die Differenz $D = \bar{y} - \bar{x}$ gesichert oder nur rein zufällig ist. Zur Beantwortung wurde der von Van der Waerden (1956) aufgeführte

x -Test herangezogen. Dementsprechend sind in der Tabelle in Klammern die Rangnummer r der Messung und die Grösse $\psi = \frac{r}{n+1}$ eingetragen (n = Anzahl x + Anzahl y). Falls die Summe aller x oder y eine gewisse Schranke überschreitet, gilt die Differenz als gesichert.

x	
— x	+ x
1,77	0,10
1,43	0,29
1,20	0,87
1,02	
0,87	
0,62	
0,50	
0,40	
0,24	
0,05	

Summe = 6,84
Schranke = 5,68 (1 % zweiseitig)
(siehe Tabelle S. 25 von Van der Waerden, 1956)

Der Temperatureffekt ist somit stark gesichert. Die Atmungsintensität beeinflusst den Sauerstoffgehalt in hohem Ausmass.

Zusammenfassend für die Versuche an Kartoffeln darf folgendes festgehalten werden.

1. Ein eindeutiger Gradient für den Sauerstoffgehalt ist nicht nachweisbar. Die Ursache liegt in der ungleichmässigen Permeabilität der Korkschicht, die nicht überall gleich dick ist (Esau, 1960), und in der kleineren Diffusionsgeschwindigkeit, da das Interzellularvolumen nur 1 Vol.-% beträgt (Burton, 1950).
2. Eine Änderung der Permeabilitätsverhältnisse, hervorgerufen durch einen Wasserfilm auf der Kartoffeloberfläche, bewirkt eine Erniedrigung des Sauerstoffgehaltes im Innern.
3. Trotz des Fehlens eines Gradienten ist der mittlere Sauerstoffgehalt von der Atmungsintensität abhängig.

6. Diskussion

Unter Berücksichtigung der vielseitigen Verwendung von molekularem Sauerstoff, einerseits als Elektronenakzeptor und andererseits als Metabolit, begreift man die Bedeutung von Sauerstoffkonzentrationsmessungen in Geweben. Die Kenntnis der wirksamen Konzentration ist die Voraussetzung zur Aufklärung von sauerstoffabhängigen Reaktionsabläufen.

In blattartigen Pflanzenorganen (Jacobs, 1935) und in dünnen Wurzeln (Wanner, 1945) ist normalerweise genügend Sauerstoff vorhanden. Hier ist die Sauerstoffversorgung durch die Diffusion ausreichend, um den Verbrauch auszugleichen. Im Stengellinnern finden sich oft tote Elemente, oder in einzelnen Fällen wird ein spezielles

Durchlüftungsgewebe ausgebildet. Nicht selten werden tiefere Gewebepartien als Speicher benutzt. Ihr Energieverbrauch ist geringer. Der Sauerstoffkonsum wird dadurch auf ein Minimum beschränkt.

Ganz andere Verhältnisse liegen oft in fleischigen Pflanzenorganen vor. Die Sauerstoffkonzentration unterschreitet häufig das zulässige Minimum, was tiefgreifende Änderungen im Stoffwechsel verursachen muss. Neue Stoffwechselleistungen treten auf, alte fallen weg. Goodwin (1960) zum Beispiel beschreibt einen Wegfall der Carotinoidsynthese in Tomaten in Abwesenheit von molekularem Sauerstoff. Andere äußerlich sichtbare Merkmale, die infolge Sauerstoffmangels auftreten, werden in der Einleitung erwähnt.

Die Ergebnisse mit der polarographischen Methode zeigen, dass die von Ulrich (1952) und Biale (1960) gesammelten «Durchschnittswerte» der Zusammensetzung der inneren Atmosphäre und des in den Zellen gelösten Sauerstoffs ein völlig unzureichendes Bild von der Sauerstoffversorgung geben. Die in der Literatur angegebenen Werte vermochten vor allem nichts darüber auszusagen, wie tief die Sauerstoffkonzentration in den inneren Fruchtschichten sinken kann. Smith (1947) fand bei Äpfeln einen kaum nachweisbaren Gradienten der Sauerstoffkonzentration von aussen nach innen. Auch in diesem Fall ist es ohne Zweifel die unzulängliche Methode der Gasextraktion während längerer Zeit, die zu diesem falschen Resultat geführt hat.

Ebensowenig gelang es bisher, lokale Konzentrationsunterschiede zu messen. Mit der Mikrosauerstoffelektrode ist dies ohne weiteres möglich. Es ergibt sich dadurch eine einfache Möglichkeit, Diffusionskoeffizienten in pflanzlichen Geweben zu berechnen. Diese liegen für Apfelrindengewebe mit $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ etwa eine Zehnerpotenz höher als jene für Wurzelgewebe (Wanner, 1945). Diffusionsvorgänge scheinen in der Apfelrinde rascher abzulaufen als in Wurzelgewebe. Der Grund dazu dürfte in der lockeren Struktur des Apfelrindengewebes zu suchen sein.

Welches sind nun die Hauptursachen für den steilen Gradienten und für den charakteristischen Verlauf der Konzentrationskurven von Sauerstoff im Apfel? Wie aus dem Modellversuch hervorgegangen ist, stellt die Sauerstoffverteilungskurve annähernd eine Parabel dar. Wird diese Modellkurve mit den Verteilungskurven in ganzen Früchten verglichen, fällt in erster Linie der Knickpunkt der Konzentrationskurve in der Leitbündelregion auf. Seine Lage scheint mit der Trennlinie zwischen Rinde und Mark übereinzustimmen. Für diese Unstetigkeit in der Kurve sind verschiedene Erklärungen möglich. Offensichtlich ist diese Zone verantwortlich. Ob aber durch die Leitbündel zusätzlicher Sauerstoff herangeführt wird oder in dieser Zone ein erhöhter Sauerstoffkonsum vorliegt, bedarf weiterer Abklärung.

Alle untersuchten Sorten, ausser den Bismarck-Äpfeln, weisen auch nach der Ernte die Unstetigkeit auf. Da zu diesem Zeitpunkt die Leitbündel im Stiel verschlossen sind, ist anzunehmen, dass kein zusätzlicher Sauerstoff einzudringen vermag. Sauerstofftransport über grössere Strecken wird wegen der geringen Löslichkeit von Sauerstoff in wässrigen Medien ohnehin nicht für wahrscheinlich gehalten. Andererseits konnte nachgewiesen werden, dass isolierte Leitbündel (vgl. Einleitung) und Gewebe-proben aus dieser Zone (Zoller, 1965) eine höhere Atmungsintensität aufweisen. Den Schnittpräparaten dieser Zone kann eine von Rinde und Mark unterschiedliche Gewebestruktur entnommen werden. Die Zellen sind kleiner und dichter, da Interzellularen fehlen. Daraus resultiert eine vom übrigen Gewebe verschiedene Gaspermea-

bilität, was zur Änderung der Diffusionskoeffizienten führen muss. Der Knickpunkt wird folglich durch die geringere Gaspermeabilität und durch die höhere Atmungsintensität dieser Gewebezone hervorgerufen. Sie stellt ein Hindernis für die Sauerstoffversorgung der Frucht dar.

In der Rinde und im Mark verläuft die Kurve parabelförmig, wie aufgrund des Modellversuches erwartet werden konnte.

Da minime Flüssigkeitsmengen für die Sauerstoffmessungen vorhanden sein müssen, ist die direkte Bestimmung der Sauerstoffkonzentration im Fruchtgehäuse nicht möglich. Doch scheint sie mit der Konzentration der innersten Fruchtschichten im Gleichgewicht zu stehen (vgl. Vorversuche).

Ein wichtiger begrenzender Faktor für die Sauerstoffversorgung stellt die Epidermis dar. Direkte Messungen der Permeabilität sind nur schwer durchführbar, so dass keine brauchbaren Ergebnisse vorliegen (Biale, 1960). Indirekte Methoden haben ergeben, dass durch Erniedrigung der Permeabilität der Kartoffelepidermis, durch Abdichten der Poren mit Wasser, die Sauerstoffkonzentration beträchtlich sinkt. Versuche über Permeabilitätsänderungen der Epidermis von Äpfeln hat Hulme (1951) durchgeführt. Er überzog die Früchte mit einer Ölemulsion und bemerkte nach einiger Zeit eine starke Veränderung der inneren Atmosphäre, vor allem ansteigende Kohlendioxidgehalte. Ulrich et al. (1955) beschrieben, dass sich mit fortschreitender Entwicklung ebenfalls eine Permeabilitätsänderung durch die Bildung von Lentizellen und Rissen in der Epidermis einstellt.

Zusammenfassend kann durch die Untersuchungen an Äpfeln, Kartoffeln und Bananen für die Sauerstoffversorgung folgendes gesagt werden:

Die Sauerstoffkonzentration im Innern steht in einem dynamischen Gleichgewicht mit dem Außenmedium (Ulrich et al., 1955). Die Verteilung der Sauerstoffkonzentrationen ist hauptsächlich von den beschriebenen Faktoren (vgl. Ergänzende Untersuchungen) abhängig. Die Konzentrationskurven sind zwischen den untersuchten Organen verschieden und komplexer als bisher angenommen, lassen aber dennoch die Abhängigkeit von Diffusionsvorgängen erkennen.

Interessant wäre es, Kohlendioxidkonzentrationskurven mit jenen für Sauerstoff zu korrelieren. Leider ist es bis heute nicht möglich, derartige Messungen durchzuführen. Die Schwierigkeit liegt in der Konstruktion von genügend kleinen Elektroden. Die gebräuchlichen (Hertz et al., 1959; Siesjo, 1960; Faddel, 1964) eignen sich nicht für Messungen in pflanzlichen Geweben.

Werden die Sauerstoffkonzentrationskurven von verschiedenen Fruchtstadien während der Entwicklung und Reifung miteinander verglichen, gelangt man zur Feststellung, dass sich in der Sorte Bismarck kurz nach der Ernte grosse Änderungen im Stoffwechsel abspielen müssen. Vor der Ernte kommt es trotz der nachgewiesenen steilen Gradienten, während der ersten zwei Perioden der Fruchtentwicklung nicht zu derart niedrigen Konzentrationen, dass ein anaerober Stoffwechsel resultieren müsste. Die kritische Sauerstoffspannung für Boskop-Gewebe liegt bei 46 Torr, entsprechend 6,5% Sauerstoff. Ähnliche Resultate (3—10%) für andere Sorten beschreibt Ulrich (1952).

Andererseits deutet die Lage der pO_2 -Minima nach der Ernte während des Klimakteriums darauf hin, dass nur die inneren Fruchtschichten am Zustandekommen des

hohen RQ von ganzen Früchten beteiligt sein können. Es bestätigt sich daher die schon verschiedentlich aufgestellte Vermutung einer partiellen Gärung in Früchten (Gustavson, 1934; Ulrich, 1952, u. a. m.). Die stark schwankenden Sauerstoffspannungen im späteren Klimakterium und die unregelmässig verlaufenden Konzentrationskurven sind offenbar ein frühes Anzeichen einer beginnenden physiologischen Desorganisation des Fruchtfleisches.

Die biochemische Ursache dieser Desorganisation wurde von Lieberman et al. (1956) experimentell untersucht. Sie vermuten, dass das Eintreten der Zerfallsperiode mit Vorgängen, die zur Anhäufung von oxydierten Phenolen führen, verbunden ist. In der normal aktiven Zelle ist die Oxydation der Phenole mit der Reduktion der gebildeten Chinone gekoppelt. Es wird angenommen, dass unter anderem Ascorbinsäure als reduzierende Substanz mitwirkt, was aufgrund des Redoxpotentials von 0,20 Volt des Redoxpaars Ascorbinsäure/Dehydroascorbinsäure (Karls on, 1966) durchaus möglich ist. Falls solche Reduktionsmittel während der Alterung der Früchte in kleineren Mengen bereitgestellt werden (Ezell et al., 1952) oder ganz fehlen, werden Chinone akkumuliert, welche die oxydative Phosphorylierung zu hemmen vermögen. Die Hemmung führt schliesslich den Zelltod herbei. Die Hypothese von Lieberman wurde bis heute nicht widerlegt. Sie kann daher zur Erklärung der Form der Sauerstoffverteilungskurven nach dem Klimakterium beitragen, denn zur irreversiblen Phenoloxidation in alternden Zellen wird molekularer Sauerstoff verwendet. Die unregelmässigen Kurven machen es wahrscheinlich, dass dieser Prozess wohl im Fruchttinnern, aber nicht überall gleichzeitig beginnt.

Die stellenweise im Fruchttinnern vorhandenen geringen Sauerstoffmengen während der Klimakteriumsphase führten zur Annahme, dass dort ein anaerober Stoffwechsel vorliegt. Charakteristisches Merkmal dafür ist das Auftreten von Alkohol und von Acetaldehyd (Fidler, 1951; Ulrich, 1952). Die gebildeten Mengen dieser Substanzen sind von der Atmosphäre, die die Zellen umgibt, abhängig. Vor allem der Kohlendioxidgehalt scheint daran massgebend beteiligt zu sein (Ulrich, 1952). Fidler (1951) bemerkte, im Vergleich von aerober Atmung in Luft mit anaerober in Stickstoffatmosphäre, während der anaeroben eine beträchtliche Alkoholproduktion parallel zu einem starken Kohlenhydratverlust. Organische Säuren wurden nicht in vermehrtem Masse abgebaut. Der Energiekonsum geht somit ganz auf Kosten der Kohlenhydrate. Gewebeschädigungen, die den Zelltod bewirken, traten zum Beispiel bei der Sorte Sturmer Pippin erst bei Alkoholkonzentrationen von 0,7–1,0 % auf.

Die Ergebnisse von Fidler (1951) geben Auskunft über die Folgen der tiefen Sauerstoffkonzentrationen, vermögen aber keineswegs ihre Ursache zu erklären. Seine Erklärung dazu ist die Annahme von schlechteren Diffusionsverhältnissen, hervorgerufen durch verschiedene strukturelle Veränderungen, wie zum Beispiel die Bildung von langketten Paraffinen als Epidermisüberzug. Obwohl dies recht plausibel erscheint und solche Vorgänge daran beteiligt sein müssen, liegen die Verhältnisse während der Klimakteriumsphase wesentlich komplizierter.

Hulme et al. (1964) und Jones et al. (1964) haben die biochemischen Vorgänge während dieser Phase mittels Mitochondrienpräparaten aus Äpfeln und Kohlenhydraten als Substrat untersucht und sind dabei zu folgenden Schlüssen gekommen: Zu Beginn der Klimakteriumsphase ist eine allgemeine Steigerung der Mitochondrienaktivität feststellbar, die in der Schale beginnt und dann rasch auf das Fleisch über-

greift. Kurz darauf kann eine mehrfache Aktivitätserhöhung des Malatenzyms und der Carboxylase beobachtet werden. Es wird daher postuliert, dass der Klimakteriumsanstieg durch die Mitochondrienaktivität induziert und anschliessend durch die Aktivität des Malatenzyms und der Carboxylase gefördert wird. Die Energie, die durch die Mitochondrienaktivität entsteht, wird zur Synthese von Malatenzym und Carboxylase verwendet. Die Aktivität dieser Enzyme ist schliesslich verantwortlich für die erhöhte Kohlendioxidabgabe gegenüber der Sauerstoffaufnahme gegen den Klimakteriumsgipfel zu.

Dies bedeutet mit anderen Worten: die maximale Mitochondrienaktivität mit der grössten Sauerstoffaufnahme wird vor der maximalen Aktivität des Malatenzyms und der Carboxylase mit der grössten Kohlendioxidabgabe erreicht. In der Abbildung, die den Atmungsverlauf ganzer Früchte wiedergibt, erscheint deshalb eine Vorverschiebung des Sauerstoffpeaks. In diese Zeit fällt nun der Zusammenbruch der regelmässigen Sauerstoffkonzentrationskurven. Er kann mit Berücksichtigung der Arbeiten von Hulme et al. (1964), Jones et al. (1964) und Lieberman et al. (1956) wie folgt begründet werden.

Nach dem Klimakterium verringert sich die Aktivität des Malatenzyms und der Carboxylase, und zwar kurze Zeit nach der Abnahme der Mitochondrienaktivität, die ihrerseits durch die erhöhte Kohlendioxidproduktion und durch die gebildeten Chinone gebremst wurde. Dadurch verkleinert sich die Atmungsrate, was rückwirkend zum Stoppen der Synthese von Malatenzym und Carboxylase führt. Die Chinonbildung geht noch eine Zeitlang weiter und bewirkt in den langsam absterbenden Organen die unregelmässigen Sauerstoffkonzentrationskurven. Diese Prozesse beginnen unregelmässig im Fruchttinnern und wandern darauf nach aussen.

Auch die Frage nach dem primären Induktor des ganzen Reifevorgangs konnte vor kurzem beantwortet werden. Aus der grossen Zahl flüchtiger Substanzen, die im Apfel gebildet wurden, nahm Äthylen stets eine besondere Stellung ein, da es strukturelle und physiologische Veränderungen in Geweben zu verursachen vermag (Ulrich, 1952, u. a.).

Nun haben Burg et al. (1965) nachgewiesen, dass Äthylen auch als das Reifungshormon der Früchte betrachtet werden muss. Obschon es häufig nur in geringen Mengen gefunden werden konnte, war es unter normalen Bedingungen in allen untersuchten Früchten, gleich welchen Alters, vorhanden. Ohne Äthylen erfolgte keine Reifung, durch eine äussere Äthylenzugabe konnte unter gewissen Bedingungen eine beschleunigte Reifung erzwungen werden.

Ihre Theorie über die Induktion des Reifungsvorganges lautet folgendermassen: Nach der Ernte oder nachdem die Frucht am Baum ausgewachsen ist, erhält sie keine reifehemmende Substanz mehr aus dem Sprossystem, und das Äthylen induziert den Reifevorgang. Die unbekannte reifehemmende Substanz reduziert eventuell nur die Empfindlichkeit der Zellen für Äthylen.

Über die Wirkungsweise des Äthylen ist noch nichts Genaues bekannt. Obwohl Burg et al. (1965) plausible Vermutungen aufgestellt haben, fehlen bis heute Beweise. Sicher ist nur, dass Sauerstoff Substrat für die äthylenaktivierte Reaktion ist, Kohlendioxid hingegen ein Inhibitor. Das Äthylen selbst entstammt aus dem Krebszyklus oder aus Acetat, und die erhöhte Abgabe während des Klimakteriums erfolgt durch Autostimulation.

7. Zusammenfassung

Mit einer miniaturisierten Clark-Elektrode kann die Verteilung der Sauerstoffkonzentration in Früchten polarographisch (amperometrisch) genau ermittelt werden.

An Äpfeln verschiedener Sorten wurde festgestellt, dass von der Epidermis nach innen ein steiler Gradient der Sauerstoffkonzentration vorhanden ist. Sie nimmt von aussen nach innen aber nicht gleichmässig ab, sondern zeigt in der Leitbündelzone eine Unstetigkeit. Mögliche Ursachen, die den charakteristischen Verlauf der Sauerstoffkonzentrationskurven bewirken, wurden daher untersucht. Dazu dienten auch die Resultate von anderen fleischigen Organen (Banane, Kartoffel). Dabei zeigten sich wesentliche Unterschiede in bezug auf Sauerstoffgehalt und Sauerstoffverteilungen zwischen diesen Organen.

Sauerstoffkonzentrationskurven von Äpfeln in verschiedenen Entwicklungs- und Reifestadien wurden mit der Atmung der ganzen Früchte im entsprechenden Stadium korreliert. Dabei stellte sich heraus, dass bis zum Klimakterium die maximale Konzentration ausserhalb des Kerngehäuses den Betrag von 10–20% des Gleichgewichts mit Luft nicht unterschreitet. Während und vor allem nach der Klimakteriumsphase kann der Sauerstoffgehalt an diesen Stellen bis auf Null absinken.

Die RQ-Werte steigen dafür stark an. Daher wird untersucht, welcher pO_2 herrschen muss, um eine normale, aerobe Atmung zu gewährleisten. Resultat: Während der Klimakteriumsphase ist zu wenig Sauerstoff vorhanden. Dies bietet Veranlassung, im Fruchttinnern des Apfels eine partiell anaerobe Atmung zu postulieren.

Schliesslich werden aerobe und anaerobe Atmung miteinander verglichen, biochemische Vorgänge in der Klimakteriumsphase beschrieben und die Rolle des Äthylens während der Entwicklung und Reifung diskutiert.

8. Summary

Oxygen Concentration Gradients in Fleshy Storage Organs

Oxygen concentrations in fleshy storage organs can be measured accurately with a miniaturized Clark electrode. As the oxygen consumption of the electrode is practically nil, small local differences can be evaluated.

In apples of different varieties, a steep gradient of oxygen concentration from the peel inwards can be shown. The slope of this gradient decreases with the increasing radial distance from the epidermis. The gradient shows a break in the zone of the vascular bundles.

Possible reasons for the characteristic slope of the oxygen concentration curve have been looked at. Other fleshy organs, bananas and potatoes, have been investigated also. Great differences in oxygen content and distribution are found between these organs. The oxygen distribution curves from apples in various stages of growth and ripening are correlated with the respiration of the entire fruit in each stage. Thereby it is shown that up to the climacteric stage the maximal concentration from carpels outwards does not go above 10–20% of equilibrium with the air. During and often after the climacteric stage the oxygen content at this places can be nil.

The respiratory quotient rises sharply. For this reason an investigation has been made to determine what oxygen concentration is necessary for normal aerobic respiration. Result: During the climacteric phase there is too little oxygen present. Therefore a partial anaerobic respiration within the apple is postulated. Finally aerobic and anaerobic respiration are compared. Biochemical changes in the climacteric phase are reported and the role of ethylene during growth and ripening is discussed.

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Wanner im Institut für Allgemeine Botanik der Universität Zürich. Ich bin Herrn Prof. Dr. H. Wanner für die Überlassung des Themas, für sein stetes, kritisches Interesse an der Arbeit und für seine wertvollen Ratschläge dankbar.

Herr Huber und Herr Schütz haben mich oft in technischen Fragen beraten. Ihnen bin ich ebenfalls zu Dank verpflichtet.

Literatur

- Beevers H. 1961. Respiratory Metabolism in Plants. Row, Peterson & Co., New York.
- Biale J. B. 1960. Respiration of Fruits. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie 12/2, 536–586. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Brändle R. und H. Wanner. 1965. Die Verteilung der Sauerstoffkonzentration in reifenden Äpfeln. *Planta* 65, 65–72.
- Burg S. P. und E. A. Burg. 1965. Ethylene Action and the Ripening of Fruits. *Science* 148, 1190–1195.
- Burton W. G. 1950. Studies in the Dormancy and Sprouting of Potatoes. I. The Oxygen content of the Potato tuber. *New Phytologist* 49, 121–134.
- und W. T. Spragg. 1950. A note on the Intercellular Space of the Potato tuber. *New Phytologist* 49, 8–10.
- Clark L. C., R. Wolf, G. Granger und Z. Taylor. 1953. Summary. *J. Appl. Physiol.* 6, 189.
- Davis P. und F. Brink. 1942. Microelectrodes for measuring local oxygen tension in animal tissues. *Rev. Sci. Instruments* 13, 524–533.
- Esau K. 1958. Plant Anatomy. John Wiley & Sons Inc., New York.
- 1960. Anatomy of Seed Plants. John Wiley & Sons Inc., New York.
- Ezell D. B. und M. S. Wilcox. 1952. Influence of storage temperature on carotene, total carotenoids, and ascorbic acid content of sweet potatoes. *Plant Physiology* 27, 81–94.
- Faddel A. A. 1964. Measurements of the Carbon Dioxide Concentration in the Intercellular Spaces of Wheat Roots. *Physiologia Plantarum* 17, 1–13.
- Fidler J. C. 1951. A Comparison of the Aerobic and Anaerobic Respiration of Apples. *J. Exp. Bot.* 2, 41–64.
- Franke W. 1960. Phenoloxidases und Ascorbinsäureoxydase. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie 12/1, 402–424. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Goodwin T. W. 1960. Carotenoids. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie 10, 189. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Gustafson F. G. 1934. Production of Alcohol and Acetaldehyde by Tomatoes. *Plant Physiology* 4, 359–367.
- Hackney F. M. V. 1947. Studies in the metabolism of apples. VII. A study of the polyphenolase system in apples. *Proc. Linn. Soc. N. S. Wales* 72, 439–453.
- Heyrovsky J. 1960. Polarographisches Praktikum. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Hertz H. C. und B. Siesjo. 1959. A Rapid and Sensitive Electrode for Continuous Measurement of pCO_2 in Liquids and Tissues. *Acta physiol. scand.* 47, 115–123.
- Hulme A. C. 1951. Apparatus for the Measurement of Gaseous Conditions inside an Apple Fruit. *J. Exp. Bot.* 2, 65–85.
- J. D. Jones und L. S. C. Wootterton. 1964. The respiration climacteric in apple fruits: Biochemical changes occurring during the development of the climacteric in fruit on the tree. *New Phytologist* 64, 152–157.

- Jacobs M. H. 1935. Diffusion Processes. *Ergebnisse der Biologie* **12**, 131–142.
- Jones J. D., A. C. Hulme und L. S. C. Wooltorton. 1964. The respiration climacteric in apple fruits: Biochemical changes occurring during the development of the climacteric in fruit detached from the tree. *New Phytologist* **64**, 158–167.
- Jost W. 1957. Diffusion. Dr. Steinkopff, Darmstadt.
- Karlson P. 1966. *Kurzes Lehrbuch der Biochemie*. Georg Thieme, Stuttgart.
- Kessler H. 1947. Apfelsorten der Schweiz. Verbandsdruckerei, Bern.
- Kidd F. und C. West. 1930. Physiology of fruit. I. Changes in the respiratory activity of apples during their senescence at different temperatures. *Proc. Roy. Soc. B*, S. **118**, 93–109.
- Kolthoff J. und J. Lingane. 1946. *Polarography*. Interscience Publishers Inc., New York.
- Lieberman M. und J. B. Biale. 1956. Oxidative Phosphorylation by sweet potato mitochondria and its inhibition by polyphenols. *Plant Physiology* **31**, 420–424.
- Naylor P. F. D. und N. T. S. Evans. 1963. Polystyrene Membranes for Covering Oxygen Electrodes for Use in Tissue. *Nature* **199**, 911–912.
- Oppenheimer C. und K. G. Stern. 1939. *Biological Oxidation*. Dr. W. Junk, The Hague.
- Rauh W. 1950. *Morphologie der Nutzpflanzen*. Quelle & Meyer, Heidelberg.
- Schumacher W. 1967. Der Einfluss von Sauerstoff, Atmungsgiften und Narkose auf den Stofftransport. In: *Handbuch der Pflanzenphysiologie* **13**, 131–134. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Siesjo B. 1961. A Method for Continuous Measurement of the Carbon Dioxide Tension on the Cerebral Cortex. *Acta physiol. scand.* **51**, 297–313.
- Slater E. C. 1960. Oxidation-reduction potentials and their significance in hydrogen transfer. In: *Handbuch der Pflanzenphysiologie* **12/1**, 114–131. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Smith W. H. 1940. The histological structure of the flesh of the apple in relation to growth and senescence. *J. Pom. Hortic. Science* **18**, 249–260.
- 1947. A new method for the determination of the composition of the internal atmosphere of fleshy plant organs. *Ann. Bot. N. S.* **11**, 363–368.
 - 1950. Cell-multiplication and Cell-enlargement in the Development of the Flesh of the Apple Fruit. *Ann. Bot. N. S.* **14**, 23–38.
- Stiles W. 1960. The composition of the atmosphere. In: *Handbuch der Pflanzenphysiologie* **12/2**, 137–146. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Tetley U. 1930. A study of the anatomical development of the apple and some observations on the “peptic constituents” of the cell walls. *J. Pom. Hortic. Science* **8**, 153–172.
- Ullrich W. 1961. Zur Sauerstoffabhängigkeit des Transportes in den Siebröhren. *Planta* **57**, 402–429.
- Ulrich R. 1952. *La vie des fruits*. Masson & C^{ie}, Paris.
- 1956. Gradients physiques, chimiques et physiologiques des fruits. *Fruits* **2**, № 6.
 - und R. Combes. 1949. Extraction et analyse des gaz internes des fruits. *Comptes rend. hebd. séances Acad. Sci.* **228**, 500–502.
 - und P. Marcellin. 1955. Voies et modalités des échanges de gaz carbonique et d'oxygène des fruits avec l'atmosphère ambiante. *J. des Recherches du CNRS* **31**, 241–251.
- Umbreit W. W., R. H. Burris und J. F. Stauffer. 1949. *Manometric Techniques and Tissue Metabolism*. Burgess Publishing Co., Minneapolis.
- Van der Waerden B. L. und E. Nievergelt. 1956. *Tafeln zum Vergleich zweier Stichproben mittels x-Tests und Zeichentests*. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Wanner H. 1945. Sauerstoffdiffusion als begrenzender Faktor der Atmung von Pflanzenwurzeln. *Vierteljahrsschr. Naturf. Ges. Zürich* **90**, 98–119.
- Wardlaw C. W. und E. R. Leonard. 1936. Studies in tropical fruits: I. Preliminary observations in some aspects of development, ripening and senescence, with special reference to respiration. *Ann. Bot.* **50**, 621–653.
- — 1940. Studies in tropical fruits: IX. The respiration of bananas during ripening at tropical temperatures. *Ann. Bot. N. S.* **4**, 269–315.
 - — 1939. Methods in the investigation of respiration with special reference to the banana. In: Ulrich R. 1952. *La vie des fruits*. Masson & C^{ie}, Paris.
- Wurmser R. 1930. *Oxydations et Réductions*. Presse Univers. France, Paris.
- Zoller J. 1965. Diplomarbeit, Universität Zürich.