

Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich

DIE VERTEILUNG DER SAUERSTOFFKONZENTRATION IN REIFENDEN ÄPFELN

Von

ROLAND BRÄNDLE und HANS WANNER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Januar 1965)

Oxygen Concentration Gradients in Ripening Apples

Summary

Oxygen concentrations in fleshy fruits 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 demonstrated. The slope of this gradient decreases with the increasing radial distance from the epidermis. The gradient consistently shows a step in the zone of the vascular bundles. With the exception of the climacteric minimal oxygen concentrations near the carpels are above or near a value corresponding to a p_{O_2} of 40 mm Hg (p_{O_2} in air 148—151 mm Hg depending on barometric pressure). During the climacteric, oxygen concentrations can sink to very low values, accompanied by an irregular radial distribution.

1. Einleitung

Die Sauerstoffkonzentration im Gewebe fleischiger Früchte kann in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand beträchtlich unter diejenige der umgebenden Luft sinken. Als naheliegende Erklärung für diese Erscheinung wird meist angenommen, daß die Diffusion von Sauerstoff aus der Luft in die Frucht nicht rasch genug erfolgt, um die Wirkung des Sauerstoffverbrauchs durch die Atmung des Fruchtfleisches aufzuheben. WARDLAW und LEONARD (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 Atmungsverlauf während des Reifungsvorganges. Wie BIALLE (1960) bemerkt, sind solche Folgerungen auch heute noch aus verschiedenen Gründen verfrüht. Es ist z. B. bisher nicht möglich gewesen, Sauerstoffkonzentrationen in Früchten genau genug zu messen, weil für alle Verfahren viel zu große Proben benötigt wurden. Wie aus der Beschreibung der bis heute verfügbaren Methoden bei ULRICH (1952) hervorgeht, können die damit erhaltenen Resultate nicht einmal als Durchschnittswerte für die Konzentration

des Sauerstoffs in einer Frucht betrachtet werden. Da lokale Konzentrationsunterschiede nicht erfaßt werden konnten, fehlten auch die wesentlichsten Grundlagen für die Ermittlung von „Diffusionskoeffizienten“ für Sauerstoff in pflanzlichen Geweben, obwohl verschiedentlich mit indirekten Methoden versucht wurde, diesbezügliche Schätzungen anzustellen.

Mit Hilfe von Clark-Elektroden geringer Größe ist es uns nun gelungen, ein Bild über die Verteilung der Sauerstoffkonzentration in verschiedenen fleischigen Organen zu gewinnen. Nachfolgend sollen die Ergebnisse der Messungen an Äpfeln verschiedener Reifestadien mitgeteilt werden.

2. Methoden

Für die Messung der Sauerstoffkonzentration in Geweben benützten wir einen „Beckman Model 160 Physiological Gas Analyzer“. Der wesentlichste Bestandteil ist eine miniaturisierte Clark-Elektrode, die aus einem 0,0127 mm dicken Pt-Draht besteht, isoliert eingebettet in einem dünnwandigen Silberrohr, das als Anode funktioniert. Die Spitze der Elektrode wird von einer dünnen gasdurchlässigen Polyäthylenmembran umgeben. Zwischen dieser und der Elektrodenspitze befindet sich als Elektrolyt 3%ige KCl-Lösung. Dadurch werden verschiedene Nachteile vermieden, die sich beim direkten Kontakt blanker Elektroden mit Gewebsflüssigkeiten unterschiedlicher Zusammensetzung ergeben können. 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 beträgt $-0,68$ Volt. Der Polarisationsstrom wird über einen Zerhacker einem Wechselspannungs-Gleichspannungsverstärker zugeführt. Am Meßinstrument kann nach entsprechender Eichung direkt der Sauerstoffpartialdruck in mm Hg abgelesen werden. 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 eingesetzt. Mit dieser mißt man nun eigentlich die Sauerstoffkonzentration in den sehr geringen Mengen Gewebsflüssigkeit, die sich nach dem Einstechen der Nadel und Herausziehen des Drahtkerns in der Spitze der Nadel angesammelt hat. Bei Apfelgewebe kann es sich höchstens um 1 mm^3 Saft handeln. Die Einstellung des Konzentrationsgleichgewichts zwischen dieser Flüssigkeit und dem umgebenden Gewebe ist in den meisten Fällen nach etwa 1—2 min

erreicht. Eine Verzögerung der Anzeige bewirken die in jüngeren Entwicklungsstadien von Äpfeln stark in Erscheinung tretenden Phenoloxidasen. Auf dieses Problem soll in einer späteren Mitteilung eingegangen werden.

In den Voruntersuchungen wurden reife Äpfel verschiedener Sorten benützt; bei der Verfolgung der Entwicklung und Reifung hingegen nur Äpfel der Sorte „Bismarck“. An einem Baum (Standort Meilen, 450 m über Meereshöhe) wurden anfangs Juni 30 Äpfel markiert und alle 2 Wochen eine entsprechende Anzahl, die den gleichen Entwicklungszustand wie die markierten zeigten, für die Messungen gepflückt. Die letzte Ernte vom Baum erfolgte am 10. Oktober 1963. Nachher wurden die Proben von den gelagerten Äpfeln entnommen (Lagerungstemperatur 20° C).

Da die amperometrische Messung der Sauerstoffspannung temperaturempfindlich ist, kamen die Äpfel nach der Ernte in eine Klimakammer mit einer Temperatur von 20° C. In der gleichen Kammer erfolgte dann nach 24 Std die gesamte Untersuchung. Gemessen wurde neben der Verteilung der inneren Sauerstoffkonzentration das Frisch- und Trockengewicht, ferner Sauerstoffverbrauch und Kohlendioxidproduktion der ganzen Äpfel.

Die Verteilung der Sauerstoffkonzentration im Fruchtfleisch wurde in jedem Entwicklungsstadium so ermittelt, daß die Elektrode in der „Äquatorialebene“ der Frucht an verschiedenen, gleichmäßig verteilten Punkten des Umfanges in eine genau (mm) gemessene Tiefe versenkt wurde. Die hier wiedergegebenen Kurven der Sauerstoffverteilung fassen die Messungen an jeweils 5—10 Früchten zusammen.

3. Ergebnisse

a) **Entwicklung der Früchte.** Aus Abb. 1 geht hervor, daß sich die Äpfel während des schönen Sommers 1963 stetig und gleichmäßig entwickelten. Das gleiche zeigt auch die Abb. 2 in bezug auf den Gaswechsel. Wie schon verschiedentlich festgestellt, gehören die Äpfel zum Typus der Früchte, die während der Reifung eine vorübergehende Erhöhung der Atmungsintensität zeigen. Dieses Maximum des Gaswechsels während des Klimakteriums der Frucht ist für die Kohlendioxidproduktion viel ausgeprägter als

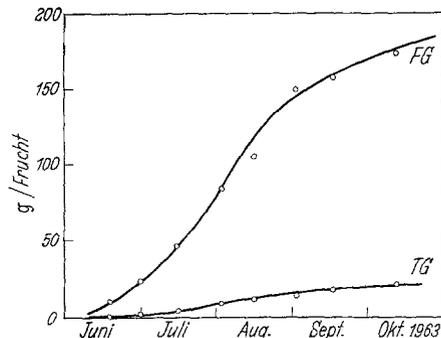


Abb. 1. Wachstum der „Bismarck“-Äpfel. TG = Trockengewicht. FG = Frischgewicht. Durchschnittswerte aus 10 Früchten

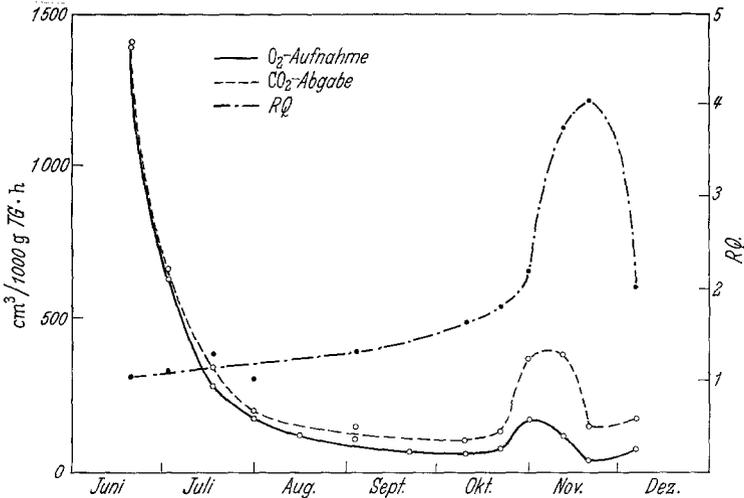


Abb. 2. Der Atmungsverlauf während der Entwicklung der „Bismarck“-Äpfel

für den Sauerstoffverbrauch, so daß sich daraus eine beträchtliche Erhöhung des respiratorischen Quotienten ergibt. In Anlehnung an KIDD und WEST (1930) können bei den von uns untersuchten „Bismarck“-Äpfeln folgende Entwicklungsstufen unterschieden werden:

Tabelle

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

b) Die Verteilung der Sauerstoffkonzentration in verschiedenen Zonen des Fruchtfleisches. Abb. 3 zeigt die Ergebnisse der Vorversuche an eßreifen Boskoop-Äpfeln. Entgegen der ursprünglichen Erwartung nimmt die Sauerstoffkonzentration in der Äquatorialebene der Frucht nach innen nicht gleichmäßig ab, sondern weist eine Unstetigkeit in etwa 2 cm Tiefe auf. Die geringsten Konzentrationen wurden unmittelbar außerhalb oder zwischen den Karpellen des Kerngehäuses gemessen. Das Minimum beträgt dort etwa 40 mm Hg, d.h. ungefähr 27% der Gleichgewichtskonzentration mit Luft (p_{O_2} je nach Luftdruck 148—151 mm Hg).

Ganz analoge Verteilungen der Sauerstoffkonzentration wurden auch bei Äpfeln der Sorten Cox's Orangen-Reinette, Ötzwiler Orangen-

Reinette (Lokalsorte) und Bohnapfel erhalten. Bei dieser letzteren Sorte konnten minimale Konzentrationen von 20 mm Hg (13% der Gleichgewichtskonzentration) gemessen werden. Der Knickpunkt in der Kurve der Sauerstoffverteilung war überall zu erkennen. 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 Clark-Elektrode erlaubt nur die Konzentration von gelöstem Sauerstoff zu ermitteln. Es ist deshalb leider nicht möglich gewesen, p_{O_2} in der Innenatmosphäre des Kerngehäuses zu messen. Der anatomische Bau des Kerngehäuses läßt jedoch vermuten, daß diese Innenatmosphäre sich im Gleichgewicht mit den im inneren Fruchtfleisch gelösten Gasen befinden muß. Diese Vermutung wird unterstützt durch die Beobachtung, daß bei einzelnen Äpfeln der Sorte „Boskoop“ unmittelbar an der äußeren Oberfläche des Kerngehäuses Sauerstoffkonzentrationen gemessen werden konnten, die der Gleichgewichtskonzentration

mit Luft entsprachen. Eine genauere Untersuchung dieser Äpfel ergab, daß in diesen Fällen das Kerngehäuse durch einen Kanal über die Fliege mit der Außenatmosphäre in Verbindung stand.

c) Die Sauerstoffverteilung in den Äpfeln während der Fruchtentwicklung und der Reifung. In Abb. 4 sind einige Ergebnisse der Messungen an Äpfeln der Sorte „Bismarck“ in verschiedenen Entwicklungsstadien zusammengestellt. Während die Sauerstoffkonzentrationen im Fruchtfleisch bis zum Beginn des Monats Oktober eine ähnliche Abhängigkeit von der Tiefe des Meßortes zeigen, wie im vorangehenden Abschnitt für den Boskoopapfel beschrieben, ändern sich die Verhältnisse

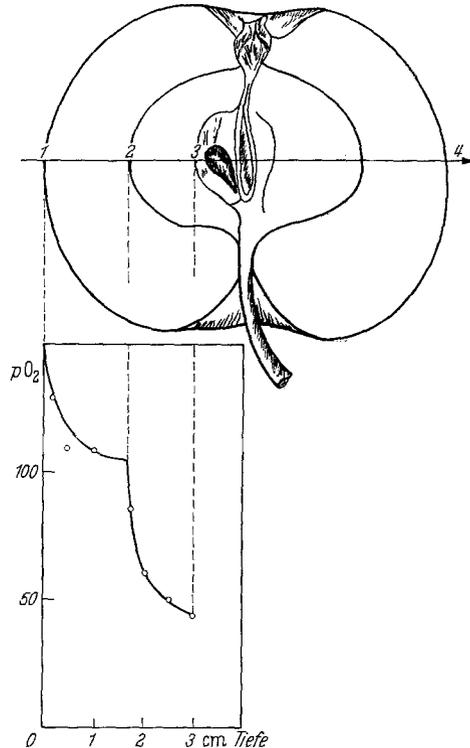


Abb. 3. Verteilung der Sauerstoffkonzentration in der Äquatorialebene von „Boskoop“-Äpfeln. p_{O_2} in mm Hg.
1 Epidermis, 2 Leitbündelzone, 3 Gehäuse,
4 Einstichebene

stark nach der Ernte. Die Unstetigkeit in der Leitbündelzone scheint zunächst zu verschwinden. Später zeigen die p_{O_2} -Werte der inneren Fruchtfleischzonen verschiedener Früchte gleichen Alters so starke Schwankungen, daß sie nicht mehr gemittelt wurden. Vor allem in

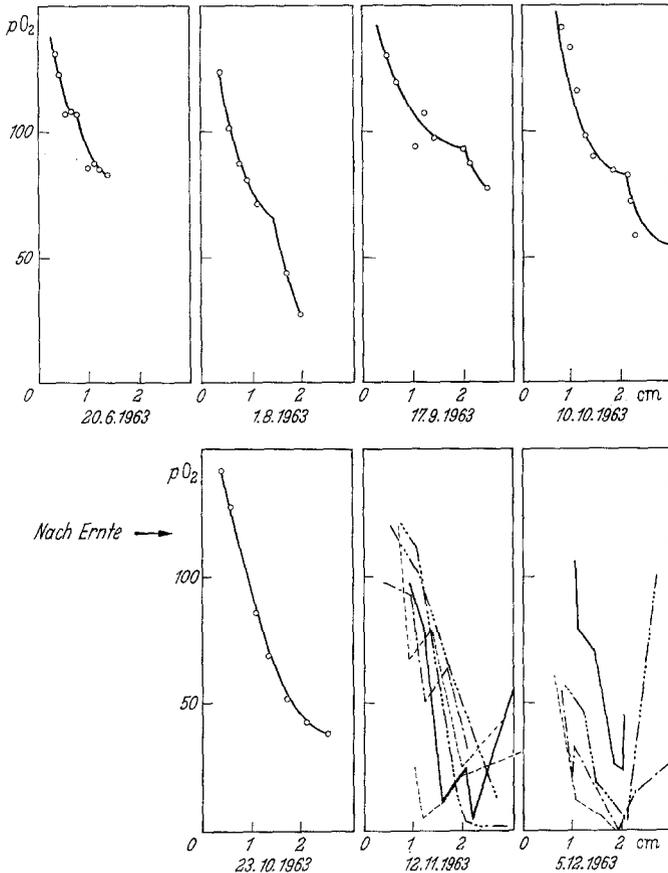


Abb. 4. Verteilung der Sauerstoffkonzentration in „Bismarck“-Äpfeln verschiedener Entwicklungsstadien. p_{O_2} in mm Hg

den späteren Klimakteriumstadien wurden auch die niedrigsten Sauerstoffkonzentrationen dieser Untersuchungsreihe beobachtet; in einzelnen Fällen konnte in der Nähe des Kerngehäuses kein Sauerstoff mehr nachgewiesen werden.

4. Diskussion

Unsere Ergebnisse zeigen, daß „Durchschnittswerte“ der Zusammensetzung der inneren Atmosphäre und der in den Zellen gelösten Gase ein völlig unzureichendes Bild der Gasversorgung einer Frucht geben

müssen. Die bisher in der Literatur mitgeteilten Werte konnten vor allem nichts darüber aussagen, wie tief die Sauerstoffkonzentration in den inneren Fruchtschichten überhaupt sinken konnte. SMITH (1947) fand z. B. bei Äpfeln einen kaum nachweisbaren Gradienten der Sauerstoffkonzentration von außen nach innen. Es ist unzweifelhaft die von ihm angewandte Methode der Gasextraktion während längerer Zeit, die zu diesem falschen Resultat geführt hat.

Trotz der von uns nachgewiesenen steilen Gradienten der Sauerstoffkonzentration kommt es während der ersten zwei Perioden der Fruchtentwicklung nicht zu derart niedrigen Konzentrationen in den inneren Fruchtfleischschichten, daß ein anaerober Stoffwechsel resultieren müßte. Andererseits deutet die Lage der p_{O_2} -Minima während des Klimakteriums darauf hin, daß nur die inneren Fruchtschichten am Zustandekommen des hohen RQ beteiligt sein können. Die stark schwankenden Sauerstoffspannungen im späteren Klimakterium und die oft unregelmäßig verlaufenden Konzentrationskurven sind offenbar ein frühes Anzeichen einer beginnenden physiologischen Desorganisation des Fruchtfleisches.

Eigenartig ist der Knickpunkt der Sauerstoffkonzentrationskurven in der Leitbündelregion. Es sind verschiedene Erklärungen für diese Beobachtung möglich. Eine Änderung der „Diffusionskoeffizienten“ auf Grund verschiedener Gaspermeabilität der einzelnen Zellen oder verschieden großer Interzellularen außerhalb oder innerhalb der Leitbündelzone müßte zu einer Unstetigkeit der Konzentrationsverteilung führen. Eine andere Möglichkeit der Erklärung liegt in der Annahme lokaler Unterschiede der Atmungsintensität im Fruchtfleisch. Zwischen diesen und weiteren Hypothesen kann eine Entscheidung nur durch zusätzliche Experimente über die Art und den Weg des Gastransportes sowie der Intensität der Atmung in verschiedenen Zonen des Fruchtfleisches getroffen werden. Solche Versuche sind im Gange.

Zusammenfassung

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

An Äpfeln verschiedener Sorten wird festgestellt, daß von der Epidermis nach innen ein steiler Gradient der Sauerstoffkonzentration vorhanden ist. Außer im Klimakterium unterschreitet die minimale Konzentration außerhalb des Kerngehäuses nicht den Betrag von 10—20% des Gleichgewichtswertes mit Luft. Während des Klimakteriums kann der Sauerstoffgehalt an diesen Stellen auf Null sinken.

Die Sauerstoffkonzentration nimmt von außen nach innen nicht gleichmäßig ab, sondern zeigt in der Leitbündelzone eine Unstetigkeit.

Literatur

- BIALE, J. B.: Respiration of fruits. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 12/2 S. 536—586. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.
- KIDD, F., and C. WEST: Physiology of fruit. I. Changes in the respiratory activity of apples during their senescence at different temperatures. Proc. roy. Soc. B 93—109 (1930).
- SMITH, W. H.: A new method for the determination of the composition of the internal atmosphere of fleshy plant organs. Ann. Bot., N.S. 11, 363—368 (1947).
- ULRICH, R.: La vie des fruits. Paris: Masson & Cie. 1952.
- WARDLAW, C. W., and E. R. LEONARD: Studies in tropical fruits. I. Preliminary observations on some aspects of development, ripening and senescence, with special reference to respiration. Ann. Bot. 50, 621—653 (1936).
- — Studies in tropical fruits. IX. The respiration of bananas during ripening at tropical temperatures. Ann. Bot., N.S. 4 (1), 269—315 (1940).

Prof. Dr. H. WANNER
Institut für Allgemeine Botanik der Universität
8006 Zürich/Schweiz, Künstlergasse 16