Membranwachstum während der Zellstreckung

Autor(en): **Wirth, Peter**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **56 (1946)**

PDF erstellt am: **02.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-39757

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Membranwachstum während der Zellstreckung.

Von *Peter Wirth.*

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Eidg. Techn. Hochschule in Zürich.)

Eingegangen am 6. März 1946.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
A. Einleitung und Problemstellung	175
B. Die quantitative Bestimmung der Membransubstanzen	178
1. Allgemeines	178
2. Die Methodik der Komplexgruppen-Analyse nach Strepkov	181
a) Die Extraktion der Pflanzenstoffe	181
b) Die Bestimmung der in den Extrakten enthaltenen Kohlehydrate	183
C. Die Analysenergebnisse	186
1. Allgemeines	186
2. Die ätherlöslichen Bestandteile	187
3. Die wasserlöslichen Kohlehydrate	189
4. Die Hemicellulosen	190
5. Die Cellulose	193
6. Der Methoxylgehalt	194
7. Trockensubstanzbestimmungen	198
D. Schlußbetrachtungen	200
E. Zusammenfassung	204
Literaturverzeichnis	205

A. Einleitung und Problemstellung.

Unter dem Streckungswachstum versteht man jene Wachstumsperiode, während der die meristematischen Zellen eine ungewöhnliche Längenzunahme durchmachen, bevor sie in einen Dauerzustand übergehen. In älteren Lehrbüchern faßte man diese Erscheinung als einen einfachen physikalischen Vorgang auf; die Streckung als eine Ausdehnung der Zelle, hervorgerufen durch eine starke Zunahme des Turgordruckes. Die Zellwand, so nahm man an, sei einer Überdehnung unterworfen und das Plasmawachstum erfahre einen Stillstand; das Plasma würde durch die eintretende Vakuolisierung nach Maßgabe des sich vergrößernden Zellvolumens immer mehr an die Wand gedrückt. Erst in neuerer Zeit hat man erkannt, welch große Leistung die Pflanze in der Zellstreckung vollbringt und welch feine und komplizierte Zusammenhänge zwischen Stoffwechsel und Streckungswachstum bestehen.

An Hand einiger Beispiele soll gezeigt werden, welche Leistung die Pflanze und die einzelne Zelle während dem Streckungswachstum voll-

bringt: Die Koleoptile von *Avena sativa* wächst während zwei Tagen mit einer Geschwindigkeit von 3,7 cm pro Tag (Sierp, 1936) oder die Roggenfilamente während 10 Minuten nach der Öffnung des Ährchens mit einer Geschwindigkeit von 2,5 mm in der Minute (Schoch-Bodmer, 1937).

Die Wachstumsgeschwindigkeiten einzelner Zellen erreichen oft ganz erstaunliche Größen. So wächst eine Zelle des Hypanthiums von *Oenothera acaulis* nach Weinland (1941) innerhalb von 14 Tagen um das 20fache ihrer ursprünglichen Länge, die Wurzelenden von *Triticum vulgare* verlängern sich nach Burström (1942) ebenfalls um das 20fache, die Epidermiszellen der Haferkoleoptilen sogar um das 150fache (Avery and Burkholder, 1936), diejenigen der Maiskoleoptile um das 14fache (Blank und Frey-Wyßling, 1941). Eine ganz außergewöhnliche, fast beispiellose Streckung erfährt das einzellige Samenhaar der Baumwolle, welches sich innerhalb von 15 Tagen um das 1000fache verlängert (Anderson und Kerr, 1938). Bei den Gräsern mit ihrem schlanken Bau hat das Streckungswachstum seine höchste Ausbildung gefunden (Frey-Wyßling, 1945). All ihre Organe, besonders aber Filamente und Koleoptile, erfahren eine wesentliche Verlängerung in verhältnismäßig kurzer Zeit. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß gerade die Graskoleoptile ein beliebtes Objekt zum Studium des Streckungswachstum darstellt und von vielen Forschern verwendet wird.

In manchen Zellgeweben wechseln Perioden der Streckung und Perioden der Zellteilung miteinander ab, und oft überlagern sich in den Organen Streckungswachstum und Teilungswachstum. K. und M. Wuhrmann-Meyer (1939) fanden bei der *Avena*-Koleoptile sogar, daß das Dickenwachstum in der Wand der streckungsfähigen Zonen schon während dem Streckungswachstum selbst beginnt.

Aus diesen Darlegungen erhellt, daß das Streckungswachstum nicht als ein physikalischer Mechanismus abläuft, sondern daß es sich hier um einen sehr komplizierten Vorgang handeln muß, an dem der Stoffwechsel mitbeteiligt ist. Frey-Wyßling (1945) sagt darüber, « daß das Streckungswachstum sowohl in zytologischer wie in physiologischer Hinsicht als ein revolutionärer Vorgang zu bezeichnen sei ».

Die meisten Physiologen nehmen bis in die jüngste Zeit kein oder zumindest nur ein sehr geringes Plasmawachstum während der Zellstreckung an (Jost, 1913, F. A. C. Went, 1931, Sierp, 1936, Boysen-Jensen, 1939). Man war der Ansicht, daß die Pflanze wahrscheinlich vor allem wegen der im Minimum zur Verfügung stehenden Stickstoffmenge mit dem Plasma sehr haushälterisch umgehe. Darin sah man den Grund der Vakuolisierung der Zelle gerade während der Streckung. Blank und Frey-Wyßling (1941) konnten diese Auf-

fassung an Hand von zytologischen und chemischen Untersuchungen widerlegen. Die zytologisch festgestellte Vermehrung des Protoplasmas beruht nicht etwa auf Quellung, sondern es wurde durch N-Mikroanalysen festgestellt, daß es sich um eine starke Vermehrung lebender Substanz handelt. Der Totalstickstoff vermehrt sich nach Blank und Frey-Wyßling bis zum Abschluß des Koleoptilenwachstums um das 18fache, während der wasserlösliche Stickstoff in der gleichen Zeit um das 137fache ansteigt. Die koagulierbaren N-Verbindungen, die annähernd mit dem Plasmaeiweiß gleichgesetzt werden dürfen, nehmen um das 9,5fache zu. Durch diese Untersuchungen wurde gezeigt, welch große Stoffumwälzungen während des Streckungswachstums vonstatten gehen. Die Frage, ob während des Streckungswachstums neue Substanz in die Membran eingelagert werde, oder ob die Zellwand einfach eine Dehnung erfahre und in dem Maße dünner werde, wurde früher abgeklärt als diejenige des Plasmawachstums während der Zellstreckung. Denn nur in wenigen Fällen konnte man tatsächlich eine Verringerung der Wanddicke feststellen. Overbeck (1934) fand z. B. bei den Zellen des Sporogonstieles von *Pellia epiphylla* eine deutliche Abnahme der Wanddicke. Trotzdem errechnete er etwa eine 5fache Volumenzunahme der Wandsubstanz nach der Streckung gegenüber dem Volumen vor der Streckung. Die kollenchymatischen Eckenverdickungen waren während der Streckung vollständig verschwunden. Ein einwandfreier Beweis für die Einlagerung neuer Wandsubstanz war damit allerdings noch nicht erbracht, doch wurde seine Vermutung durch die Feststellung bekräftigt, daß die von ihm gemessenen Zerreißfestigkeitswerte der Sporogonstiele viel höher ausfielen als die unter der Voraussetzung errechneten, daß keine Neubildung, sondern ausschließliche Verwendung der ursprünglichen Wandsubstanz im Streckungsmechanismus statthabe.

Jost (1913), Went (1931), Sierp (1936), Boysen-Jensen (1939), Bünning (1939) u. a. betrachten den substantiellen Zuwachs in der Zellwand während der Zellstreckung als gesichert. Dabei sprechen diese Autoren allerdings nur davon, daß es zum Aufbau dieser sich streckenden Wände Kohlehydrate bedürfe.

Man muß heute nach Frey-Wyßling (1945) annehmen, daß in allen Fällen, wo keine Dickenabnahme der Primärwand festgestellt wird, während des ganzen Wachstums Cellulose und andere Membranstoffe, wie Hemicellulosen, Pektin usw. durch Intussuszeption in die sich strekkende Zellwand eingebaut wird.

In der vorliegenden Arbeit soll die junge, sich streckende Zellwand einer quantitativen chemischen Untersuchung unterworfen werden, und es soll versucht werden, damit die Frage nach den stofflichen Veränderungen und Umsetzungen während der Streckung zu beantworten. Als

Versuchsobjekt wurde die Maiskoleoptile gewählt, weil bei diesem Objekt das Plasmawachstum während der Zellstreckung bereits untersucht worden ist.

B. Die quantitative Bestimmung der Membransubstanzen.

1. Allgemeines.

Für unsere Untersuchung war es wichtig, eine quantitativ eindeutige Bestimmungsmöglichkeit der Kohlehydrate zu besitzen. In der Literatur findet man eine fast unübersehbare Zahl von Kohlehydratbestimmungsmethoden. Die wichtigste Ursache für die methodischen Schwierigkeiten liegt darin, daß zur Bestimmung der Kohlehydrate nicht eine nur ihnen zukommende spezifische Reaktion zugrunde gelegt werden kann, sondern daß wir die Menge aus ihrer Reduktionsfähigkeit bestimmen müssen, die sie mit einem völlig unübersichtlichen Gemisch wenig oder gar nicht bekannter Pflanzenstoffe gemeinsam haben.

Daraus ergibt sich vorerst die Notwendigkeit, einen Weg zu finden, Stoffe wie Kohlehydrate und andere reduktionsfähige pflanzliche Substanzen voneinander zu trennen, um sie dann einzeln und nach für sie geeigneten Methoden zu bestimmen.

Die bekannte Differenzierung der Kohlehydrate, die bei der Analyse der Pflanzenstoffe angewendet wird, beruht darauf, daß die zu untersuchende Substanz mit verschiedenen Lösungsmitteln bearbeitet wird. Dann filtriert man die erhaltene Lösung ab, und der Rest wird nach der Übertragung vom Filter in den Kolben der nachfolgenden Behandlung unterzogen. Die Angaben in der Literatur, wie eine systematische Extraktion zu bewerkstelligen sei, sind sehr zahlreich. Die meisten Forscher verwenden die gleichen Lösungsmittel, lediglich ihre Reihenfolge im Extraktionsprozeß, die Versuchsanordnung und die angewandten Konzentrationen sind verschieden.

Das bereits von E. Dragendorf (1882) vorgeschlagene komplexgruppen-analytische Verfahren verlangt die aufeinanderfolgende Behandlung des Analysenmaterials mit folgenden Reagenzien: Petroläther, Äthyläther, Alkohol, Wasser, kochende 1 % HCl, Javellewasser, Salpetersäure mit Kaliumchlorat und ammoniakalisches Wasser. Dieses Verfahren fand aber keine weitere Beachtung. In neuerer Zeit hat sich besonders S. A. Waksman (1939) wieder für diese Methode eingesetzt. Er schlägt folgendes Analysenverfahren vor: Extraktion mit Benzol-Alkohol-Gemisch, kaltes und heißes Wasser und Hydrolyse mit schwacher und nachher starker Säure. Den nicht hydrolysierbaren Rückstand bezeichnet Waksman, nach Berücksichtigung der N-haltigen Substanz, als Ligninkomplex. Den Aschegehalt trennt er in einen löslichen und einen unlöslichen Anteil.

So konnte Waksman 90—95 % der Pflanzensubstanz erfassen. Das Prinzip der Komplexgruppen-Analyse besteht nach Hüni (1944) darin, die Pflanzenbestandteile nach ihrer Löslichkeit zu trennen, und man unterscheidet im allgemeinen folgende Gruppen:

1. löslich in Fettlösungsmitteln,
2. wasserlösliche Stoffe,
3. in schwacher Säure hydrolysierbare Stoffe,
4. in konzentrierter Säure hydrolysierbare Stoffe,
5. nicht hydrolisierbare Stoffe.

Innerhalb der Gruppen mit gleicher Löslichkeit werden ferner Substanzgruppen mit gleichem chemischem oder physiologischem Verhalten voneinander geschieden.

Zur Bestimmung der chemischen Zusammensetzung von Maiskoleoptilen wenden z. B. Nakamura und Heß (1938) folgende Lösungsmittel an:

1. Äther-Alkohol-Gemisch zur Bestimmung des Fettanteiles,
2. Chloroform zur Bestimmung des Wachsanteiles,
3. Wasser bei Zimmertemperatur.

Nach dieser Behandlung enthalten sie noch einen bedeutenden unlöslichen Anteil. Der Wasserauszug und das unlösliche Material werden einer weiteren Behandlung unterzogen, wobei Methoxyl, Phosphor, Pentosan und Stickstoff bestimmt wurden. Der Hexosangehalt wurde nach vorhergehender 2½stündiger Hydrolyse mit 2,5 % HCl unter Berücksichtigung der nach Tollens erhaltenen Pentosenmenge errechnet.

Thimann und Bonner (1933) gingen bei ihren Untersuchungen so vor, daß sie die *Avena*-Koleoptilen, die in einem Mörser zerrieben wurden, zuerst in kaltem Wasser behandelten und nachher mit heißem Wasser auskochten. Den daraus erhaltenen Rückstand bezeichneten sie als reine Zellwandsubstanz, die nacheinander mit 0,5 % Ammoniumoxalat, 2 % Schwefelsäure und 2 % Kalilauge bzw. Natronlauge ausgekocht wurde.

Gäumann (1930) extrahiert Fichten- und Tannenholz mit Alkohol, Äther, Wasser und Sodalösung. Die Hemicellulosen werden dann mit Salzsäure hydrolisiert und als Pentosen (Tollens) und Hexosen (Vergärung) bestimmt. Das Lignin erhält der Autor durch Aufschluß mit Schwefelsäure und Auswaschen mit Wasser, Alkohol und verdünnter Kalilauge. Die Cellulose wird als sog. Rohcellulose durch Mazerieren des Holzes mit Kaliumchlorat und Salpetersäure erhalten. Mit der Bestimmung des Stickstoffes (Kjeldahl) und der Bestimmung des Aschengehaltes erhält Gäumann dann einen guten Einblick in die chemische Zusammensetzung des Holzes.

Hüni (1944) hat für seine Untersuchungen von Dürrfutterproben folgenden Analysengang gewählt: 1. Heißwasserextraktion, worin Zuk-

ker, Gerbstoffe, Pektine, Stärke, Säuren und N-haltige wasserlösliche Stoffe enthalten sein sollen. 2. Benzol-Alkohol-Extraktion, woraus Fette, Öle, Harze, Wachse und Phosphatide bestimmt werden. Aus einer Probe des Rückstandes wurden mit 12 % HCl die Pentosane destilliert. Der benzol-alkohol-extrahierte Rest wurde mit 2 % HCl hydrolysiert, woraus sich die Hemicellulosen und die in 2 % HCl hydrolysierbaren oder löslichen N-haltigen Stoffe ergaben. Schließlich wurde der Rückstand mit 80 % Schwefelsäure behandelt. Aus dem Hydrolysat konnte Cellulose als Glukose bestimmt werden. Der nun noch verbleibende Rest bezeichnete Hüni als Ligninkomplex und resistente N-Verbindungen, wobei er jedoch den Ligninkomplex nicht weiter zu trennen vermochte.

Zeller (1936) hat seine Zuckerbestimmungen direkt aus dem durch Zerreiben des Pflanzenmaterials im Mörser erhaltenen Brei vorgenommen. Pektinstoffe und Cellulose blieben bei dieser Methode unbestimmt.

Die bei der Komplexgruppenanalyse notwendige Überführung des extrahierten Materials auf den Filter und wieder zurück in den Kolben verursacht Verluste, die bei der Mikroanalyse besonders fühlbar sind. Zur Vermeidung solcher Fehler hat Strepkov (1937) einen Apparat entwickelt, der es ermöglicht, das Pflanzenmaterial während des ganzen Analysenganges in ein und demselben Gefäß zu belassen. Strepkovs Apparat arbeitet im Prinzip wie ein Extraktionsapparat nach Soxhlet. Die Extraktionshülse besteht jedoch nicht aus Filterpapier, sondern aus einem Glaszylinder, der unten durch eine Glasfilterplatte abgeschlossen und mittels Schliffs in den Extraktor eingelassen ist. In der Extraktionshülse lassen sich nach vollständiger Extraktion die Restsubstanzen gut mit konzentrierter Säure behandeln. Darauf werden wir in einem spätern Kapitel nochmals zurückkommen.

Die Extraktionshülse läßt sich leicht aus einem Glasfiltertiegel (1 Gl, Schott & Gen.) herstellen, indem man letzterem einen Schliff ansetzt. Durch Absaugen der Luft aus dem Extraktionskölbchen wird auch im Extraktor ein Vakuum erzeugt, wodurch das Lösungsmittel durch den Glasfilter hindurch wieder in das Kölbchen zurück gehebert werden kann. Ohne Unterdruck im Extraktor passiert die Flüssigkeit den Glasfilter nicht. Der Unterdruck wird nach beendeter Extraktion oder dann erzeugt, wenn sich die Extraktionshülse mit Flüssigkeit gefüllt hat.

Muß bei erhöhter Temperatur extrahiert werden, so kann der Extraktor mittels Öl- oder Wasserbades erhitzt werden. Bei siedendem Wasserbad herrscht in der Extraktionshülse eine Temperatur von 75 bis 77° C. Strepkov (1937) hat den Apparat und seine Arbeitsweise genau beschrieben. Wir verweisen auf seine Publikationen in der Biochemischen Zeitschrift und der Zeitschrift für analytische Chemie.

2. Die Methodik der Komplexgruppen-Analyse nach Strepkov.

a) Die Extraktion der Pflanzenstoffe.

Zur Verarbeitung des Koleoptilenmaterials wählten wir den von Strepkov (1937 a) vorgeschlagenen Weg, den wir durch einige prinzipiell unbedeutende Änderungen unseren besonderen Bedürfnissen anpaßten.

Der Kohlehydratkomplex wurde, den gewählten Lösungsmitteln entsprechend, in 5 Gruppen eingeteilt:

Die erste Gruppe enthält Stoffe,. die in Petroläther löslich sind (Wachse, Harze, Öle, Fette) und zur Hauptsache aus der Kutikula stammen.

Die zweite Gruppe enthält Stoffe, die in kaltem Wasser löslich sind. Es sind Monosaccharide und Disaccharide. Pektinstoffe konnten in unserem Falle keine aus dem Kaltwasserextrakt bestimmt werden.

Die dritte Gruppe enthält Stoffe, die in heißem Wasser löslich sind. Der Extraktor wurde in ein mit siedendem Wasser gefülltes Becherglas gestellt. Das Wasserbad wurde mittels Tauchsieders auf stets gleicher Temperatur gehalten. In der Extraktionshülse herrschte eine Temperatur von 75—78° C. Nach Strepkov (1937 a) hätte durch das heiße Wasser das Protopektin oder das wandständige Pektin aus dem Zellverband gelöst werden können. Es gelang jedoch nicht, im erhaltenen Extrakt einwandfrei Pektinstoffe nachzuweisen; allerdings besteht die Möglichkeit, daß sehr kleine, in der Analyse nicht erfaßbare Mengen von Pektinstoffen vorhanden sind. Über die Pektingewinnung wird weiter unten noch berichtet.

Zur vierten Gruppe gehören Kohlehydrate, die mit 2 % Schwefelsäure hydrolytisch gespalten werden können. Die Hydrolyse erfolgt nach der Heißwasserextraktion, indem man heiße 2prozentige Schwefelsäure bei siedendem Wasserbad in die Extraktionshülse bringt und auf das Pflanzenmaterial einwirken läßt. Der Vorgang wird zweimal wiederholt. Die Hydrolyseprodukte sind Hexosen und Pentosen. Durch Vergärung der Hexosen mit Hefe lassen sie sich voneinander trennen.

Die fünfte Gruppe enthält schließlich Wandstoffe, die in schwacher Säure nicht hydrolytisch gespalten werden können. Dazu gehören Lignin und Cellulose. Da in den Koleoptilen mikrochemisch kein Lignin nachgewiesen werden konnte, erübrigte es sich, das Material mit einem Oxydationsmittel, z. B. Natriumhypochlorit, zu behandeln, um die zu bestimmende Cellulose vom Lignin zu befreien. Die Cellulose, die von den bis dahin verwendeten Lösungsmitteln nicht angegriffen wurde und somit in der Extraktionshülse (mit noch andern unlöslichen Bestandteilen, z. B. Eiweißstoffen) verblieb, wurde dann mit 72prozentiger Schwefelsäure behandelt, wodurch sie in eine Reihe noch hoch-

molekularer Zwischenprodukte übergeht. Diese werden beim Erhitzen in 4—4,5prozentiger Schwefelsäure zu Glukose abgebaut. Die zum vollständigen Abbau notwendige Konzentration erhält man durch geeignetes Verdünnen des « Celluloseextraktes ». Seine weitere Behandlung bis zur Bestimmung der Glukose geschieht im Extraktionskölbchen. Ein Umschütten in andere Gefäße, womit stets Verluste verbunden sind, kann damit vermieden werden.

Die Einwirkungsdauer der 72prozentigen Schwefelsäure auf das Pflanzenmaterial wurde viel länger ausgedehnt, als Strepkov angibt. Nach ¼stündiger Einwirkung der Schwefelsäure auf das Koleoptilenmaterial enthielt der nachfolgende Auszug noch bedeutende Mengen Glukose. Wir behandelten deshalb das Pflanzenmaterial zweimal 30 Minuten mit Schwefelsäure. Ein dritter Auszug, der zur Kontrolle angesetzt wurde, enthielt keine Zucker mehr.

Der nach der Auflösung der Cellulose verbleibende, unlösliche Rest wurde nicht mehr weiter untersucht.

Nachdem in den Wasserauszügen keine Pektinstoffe nachgewiesen werden konnten, wurde hierfür eine neue Versuchsserie begonnen. Die Koleoptilen wurden im Mörser zerkleinert, dann mittels Wassers aus dem erhaltenen Brei die wasserlöslichen Zucker entfernt und der Rückstand während 5 Stunden mit 50 ccm 0,5 % Oxalsäurelösung am Rückflußkühler gekocht (Strepkov, 1937c).

Aus den so erhaltenen Extrakten konnte nach Verseifen mit Natronlauge und dreimaliger Destillation der Methylalkohol bestimmt werden.

Stärke konnte im zerkleinerten Material mikrochemisch nicht nachgewiesen werden (Jodnachweis). Es war deshalb nicht notwendig, sie bei der fortlaufenden Extraktion zu berücksichtigen.

Die Mono- und Disaccharide wurden mit Wasser extrahiert. Strepkov (1937b) extrahierte sie mit Alkohol, um die Pektinstoffe im Wasserauszug rein zu erhalten. Der Alkohol als Zuckerextraktionsmittel ließ sich jedoch gut durch Wasser ersetzen, denn eine Verkleisterung durch Stärke oder eine störende reduzierende Wirkung der Pektinstoffe bei der Zuckerbestimmung war nicht zu erwarten. Zudem besitzen wir bei der wässerigen Lösung eine wirksame Reinigungsmöglichkeit durch Fällen mit Schwermetallsalzen (in unserem Falle durch Bleiacetat) und durch Absorption der Verunreinigungen an Tierkohle. Die bei der Alkoholextraktion notwendige Abdestillation des Alkohols, die umständlich ist, fällt bei der Wasserextraktion weg. Lehmann (1931) hat über die Alkohol- bzw. Wasserlöslichkeit der in den Pflanzenstoffen vorhandenen Zucker eingehende Untersuchungen angestellt. Wir verweisen hier auf seine ausführliche, alle Fragen der Kohlehydratbestimmung in Pflanzenstoffen behandelnde Arbeit.

b) Die Bestimmung der in den Extrakten enthaltenen Kohlehydrate.

1. Die wasserlöslichen Zucker. Die im Wasser löslichen Monosaccharide wurden nach der von Hagedorn-Jensen ausgearbeiteten Methode bestimmt. Die Klärung des Extraktes erfolgte durch tropfenweisen Zusatz von 10 % Bleiacetatlösung bis zur vollständigen Bildung des Niederschlages und nachherige Zugabe von 10 % Natriumbiphosphatlösung zur Fällung des Überschusses. Der so geklärte Extrakt wurde dann in einen Meßkolben gebracht und auf 100 ccm aufgefüllt und sofort verarbeitet. 2 ccm wurden mit einem Überschuß an Kaliumferricyanid versetzt, das durch die anwesenden Zucker in der Wärme (15 Min. im siedenden Wasserbad) zu Ferrocyanid reduziert wird. Dieses wird in der abgekühlten Lösung mit Zinksulfat gefällt, um eine Zurückoxydation zu verhindern. Alsdann bestimmt man das restliche, vom Zucker nicht reduzierte Ferricyanid jodometrisch, indem man es durch Kaliumjodid reduziert und das dadurch freiwerdende Jod mit stets frisch eingestellter Natriumthiosulfatlösung, unter Benützung von Stärke als Indikator, titriert. Gleichzeitig wird zur Feststellung des Titers der Kaliumferricyanidlösung eine Blindbestimmung durchgeführt. Aus der Differenz von Blindbestimmung und Zuckerbestimmung ergibt sich die Anzahl ccm verbrauchte, d. h. reduzierte Kaliumferricyanidlösung. Mit Hilfe dieser Zahl läßt sich die entsprechende Anzahl mg Glukose, die zur Reduktion notwendig war, berechnen oder aus einer Tabelle direkt ablesen (Strepkov, 1937b). Alle Zucker wurden als Glukose berechnet.

Das Verfahren bietet den Vorteil, daß sich Kaliumferrocyanid leicht in eine Verbindung überführen läßt, die sich an der Luft nicht spontan zurückoxydiert, wenn es vom Zucker vollständig reduziert worden ist. Sie ist ferner infolge ihrer einfachen Handhabung und der Möglichkeit, Mengen von 0,004 mg Glukose an zu bestimmen und schließlich auch infolge ihrer Anwendbarkeit bei Pentosen zur Kohlehydratbestimmung besonders geeignet.

Die Bestimmung der wasserlöslichen Polysaccharide erfolgte durch Hydrolyse von 5 ccm Extrakt mit 0,5 ccm konzentrierter Salzsäure im Wasserbad von 70° C während 8 Minuten. Nach dem Abkühlen wurde mit Natronlauge auf Lakmus neutralisiert und der Gehalt an Zucker ebenfalls nach Hagedorn-Jensen (ausgedrückt in Glukose) bestimmt.

2. Die Hemicellulosen. Die Hemicellulosen wurden aus dem bereits mit Petroläther und Wasser extrahierten Pflanzenmaterial durch Behandlung mit 2 % heißer (75—78° C) Schwefelsäure erhalten. Nach Schulze sind es diejenigen polymeren Kohlehydrate, die wie Cellulose bei der Totalhydrolyse nur einfache Zucker liefern, z. B. Arabinose und Xylose aus den Pentosanen und Mannose, Galaktose u. a. aus den

Hexosanen. Die Hemicellulosen bilden demnach eine uneinheitliche Gruppe und unterscheiden sich von der Cellulose durch ihre Löslichkeit in verdünnter kochender Säure.

Der Extrakt wurde mit Natronlauge neutralisiert und auf 100 ccm ergänzt. Dann wurden die darin enthaltenen reduzierenden Stoffe wieder nach Hagedorn-Jensen als Glukose bestimmt.

In einer zweiten Probe von 2 ccm des Extraktes wurden mit Hefe unter Zusatz von 1 Tropfen Dinatriumphosphatlösung die Hexosen während 12 Stunden bei 30° C vergoren, so daß die Pentosen ebenfalls nach Hagedorn-Jensen als Arabinose bestimmt werden konnten. Die geeignetste Methode zur Bestimmung der Pentosen ist die bekannte Furfuroldestillationsmethode. Sie ist jedoch zur Mikrobestimmung nicht verwendbar, da in Zuckergemischen auch andere Kohlehydrate beträchtliche Mengen von Furfurol liefern. Den Gehalt an Pentosanen erhält man aus dem bestimmten Pentosengehalt durch Multiplikation mit dem Faktor 0,88. Ebenso läßt sich der Hexosangehalt aus der Hexosenmenge durch Multiplikation mit dem Faktor 0,9 errechnen.

Der bei der Vergärung entstandene Alkohol wirkt nach Lehmann (1931) erst in stärkerer Konzentration reduzierend. Da es sich in unserer Untersuchung nur um sehr kleine Mengen Alkohol handeln kann, darf sein Reduktionswert unberücksichtigt bleiben.

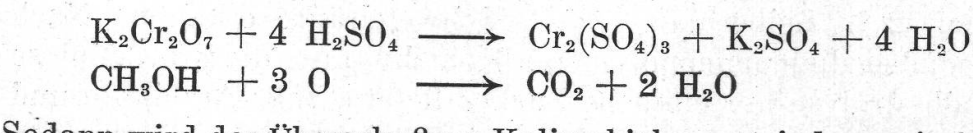
3. Die Cellulose. Nachdem die Cellulose durch konzentrierte Schwefelsäure und nachfolgende Hydrolyse mit schwacher Säure, wie oben beschrieben, bis zur Glukose abgebaut war, wurde der Extrakt mit Natronlauge neutralisiert und auf 100 ccm aufgefüllt. Die Glukose wurde wieder nach Hagedorn-Jensen bestimmt. Die Umrechnung auf Cellulose geschah durch Multiplikation mit dem Faktor 0,9.

Alle Zuckerbestimmungen wurden doppelt gemacht, um etwaige Pipettenfehler auszugleichen. Die Resultate stimmten stets gut überein.

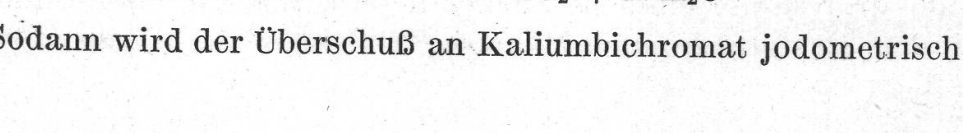
4. Die Pektinstoffe. Nach der heutigen Auffassung bestehen die Pektinstoffe zur Hauptsache aus methylierter Polygalakturonsäure (Schneider-Bock, 1937, Henglein, 1943, Deuel, 1943).

Der Methylalkohol ist aus der Pektinsäure durch Verseifung schon in der Kälte abspaltbar, worauf die Bestimmungsmethode der Pektinstoffe nach Strepkov beruht:

Der abgespaltene Methylalkohol wird nach dreimaliger Destillation (Anreicherungsverfahren) mit Kaliumbichromat in Gegenwart von konzentrierter Schwefelsäure bis zu Kohlendioxyd und Wasser oxydiert:

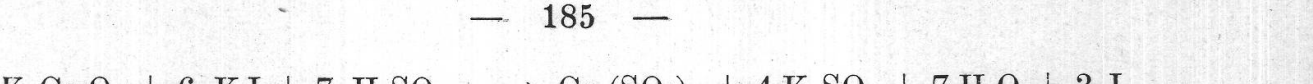


$$K_2Cr_2O_7 + 4\ H_2SO_4 \longrightarrow Cr_2(SO_4)_3 + K_2SO_4 + 4\ H_2O + 3\ O$$

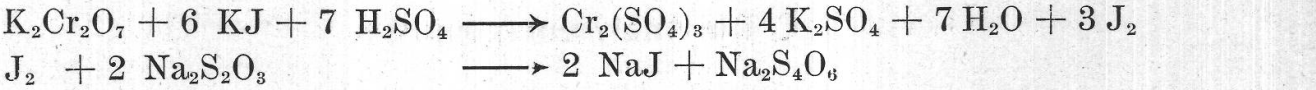


$$CH_3OH + 3\ O \longrightarrow CO_2 + 2\ H_2O$$

Sodann wird der Überschuß an Kaliumbichromat jodometrisch bestimmt:



$$K_2Cr_2O_7 + 6\ KJ + 7\ H_2SO_4 \longrightarrow Cr_2(SO_4)_3 + 4\ K_2SO_4 + 7\ H_2O + 3\ J_2$$



$$J_2 + 2\ Na_2S_2O_3 \longrightarrow 2\ NaJ + Na_2S_4O_6$$

1 Molekül des Alkohols wird somit mit 1 Molekül Kaliumbichromat oxydiert.

Die Verseifungszeit, die Strepkov angibt, reicht nicht aus, um den gesamten Methylalkohol zu befreien. Nach 10 Minuten waren erst 60 % der Methoxylgruppen von der Pektinsäure abgespalten. Nach Deuel (1943) ist übrigens eine theoretisch vollständige Verseifung der Karboxylgruppen auch bei sehr langer Verseifungszeit nicht möglich. In seinen Versuchen wurden höchstens 99 % aller Ester verseift, wobei die Verseifungsgeschwindigkeit gegen das Ende der Reaktion stark abnahm. Aus diesem Grunde war es für uns besonders wichtig und unerläßlich, die Arbeitsvorschriften (Verseifungszeit, Menge und Konzentration der zugegebenen Natronlauge) streng einzuhalten, wollten wir vergleichbare Werte erhalten.

Mit dieser Methode können nach Strepkov (1937b) 0,25—25 mg im Extrakt enthaltene Pektinstoffe bestimmt werden. Die Bestimmung des Methylierungsgrades genügt jedoch noch nicht, um ein bestimmtes Pektin zu charakterisieren und quantitativ zu erfassen, da der Methylierungsgrad der Pektine nicht nur spezifisch für das verwendete Pflanzenmaterial ist, sondern auch in hohem Maße von der Art der Gewinnung abhängt (Schneider-Bock, 1937). Eine genauere und zuverlässigere Methode wäre die Galakturonsäurebestimmung nach Tollens-Lefèvre (Ripa, 1937). Jedoch auch mit der von Freudenberg (1941) und Mitarbeitern entwickelten Halbmikromethode ist es nicht möglich, so kleine Mengen Uronsäure, wie sie in unserem Falle vorlagen, zu bestimmen. Für die Verwendung dieser Apparatur schreibt Freudenberg eine Einwaage von 55—80 mg Pektin vor. Im Zusammenhang mit der Analysenbesprechung soll die Verwendbarkeit der Methode nochmals diskutiert werden.

In der Pektinliteratur sind viele, teils recht unklare und unscharf definierte Bezeichnungen verwendet worden. In dieser Arbeit soll die in amerikanischen Arbeiten übliche Nomenklatur Verwendung finden: Pektin ist partiell oder total mit Methylalkohol veresterte Poly-Galakturonsäure, Protopektin sind wasserunlösliche, im pflanzlichen Gewebe in unbekannter Weise verankerte Pektinstoffe (nach Deuel, 1943). Sofern ein Pektin nach obiger Nomenklatur nicht eindeutig bezeichnet werden kann, soll einfach von Pektinstoffen gesprochen werden.

5. *Der Petrolätherextrakt.* Die frischen Koleoptilen wurden ohne weitere vorherige Bearbeitung mit siedendem Petroläther während 48 Stunden behandelt. Dann wurde der Äther verdunstet und der Rückstand bei 105° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen.

C. Die Analysenergebnisse.

1. Allgemeines.

Zu allen Versuchen wurde die Maissorte « Rheintaler » verwendet. Die Keimlinge wurden im Dunkeln, bei konstanter Temperatur von 20° C, auf Sand herangezogen. Die Samen wurden während 30 Stunden in luftdurchspültem destilliertem Wasser vorgequollen, und da die Gefahr der Verschimmelung bestand, wurden sie vor dem Auslegen während 30 Minuten in eine 0,1prozentige « Ceretan »-Lösung (Alkoxyalkylquecksilberverbindung) getaucht.

Die Auswahl der Samen geschah so, daß zuerst das 1000-Korn-Gewicht des im Handel erworbenen Saatgutes bestimmt und daraus das 10-Korn-Gewicht berechnet wurde. Dann wählte man aus einer großen Menge zehn Körner mittlerer Größe aus, die gewichtsmäßig mit dem 10-Korn-Gewicht übereinstimmten. Individuelle Schwankungen in der Keimungsgeschwindigkeit, Koleoptilendicke usw. konnten so schon zum voraus etwas ausgeglichen werden. Die geernteten Koleoptilen wurden jeweils sofort verarbeitet, um allfällige chemische Veränderungen während der Aufbewahrungszeit, wie fermentativer Abbau, Vergärung usw., möglichst zu verhindern. Die Behandlung des Pflanzenmaterials mit Konservierungsmitteln, wie Äther oder Alkohol zur Abtötung der Enzyme, behindert die nachfolgende Verarbeitung, indem namentlich Alkohol nur mehr schwer aus dem Pflanzenmaterial zu entfernen ist. Lehmann (1931) und auch Smirnov glauben, daß schon beim vorsichtigen Trocknen eine Reihe von Veränderungen möglich ist. Die Verarbeitung frischer Koleoptilen scheint besonders in bezug auf die anwesenden Pektinstoffe wichtig zu sein. Alle Analysen wurden drei- bis vierfach durchgeführt, wodurch Fehler, hervorgerufen etwa durch verschieden dicke Koleoptilen, ausgeglichen werden konnten. Bei genauer Einhaltung aller Bedingungen stimmten die Parallelversuche jeweils gut überein. Unregelmäßigkeiten, etwa in der Dauer der Quellung oder unregelmäßige Wasserzufuhr während der Keimung, können Störungen des Keimungsverlaufes verursachen, die ganz besonders chemisch erfaßbar sind. Diesbezüglich sei auf die eingehende Arbeit von Zeller (1936) hingewiesen.

Für eine Analyse wurden, je nach Länge bzw. Alter der Koleoptilen, 20 bis 100 Stück verwendet. Alle Koleoptilen gleicher Länge mußten gleich alt sein.

Als Bezugsgröße wurde für alle Analysen eine Koleoptile gewählt. Nur so können wir den Aufbau der Zellwand im Verlaufe des Streckungswachstums verfolgen und quantitativ erfassen. Relative Werte, z. B. Prozentgehalte oder Werte, die auf Trockengewicht bezogen werden, geben leicht eine falsche Antwort auf die gestellte Aufgabe. Auf diese Frage wird später nochmals hingewiesen.

2. Die ätherlöslichen Bestandteile.

Im Petrolätherextrakt sind die darin löslichen Bestandteile der Zellwand und des Plasmas vereinigt. Er setzt sich zur Hauptsache aus folgenden Stoffen zusammen: Fette, Öle und Wachse. Wachse sind im allgemeinen Ester höherer Alkohole. Um den Begriff Pflanzenwachs eindeutig zu umgrenzen, reichen weder die chemischen noch die physikalischen Eigenschaften aus. Chemisch betrachtet sind die stark uneinheitlichen Körper zur Hauptsache Gemische von höheren Fettsäuren mit Alkoholen und Kohlenwasserstoffen, unter denen die Ester gewöhnlich überwiegen und die typische Beschaffenheit bedingen. Vom physiologischen Standpunkte aus sind die Wachse pflanzliche Ausscheidungsstoffe, die im innern Stoffwechsel nicht weiter verwendet, sondern abgelagert werden. Die Wachsausscheidung nach ihrem physiologischen Zusammenhang zu erklären, ist schwer. Im allgemeinen nimmt man an, daß Wachs als Sekret der Epidermiszellen die Aufgabe übernimmt, durch Bildung eines « Belages » auf der Celluloseaußenwand die Gewebe nach außen abzuschließen.

Gundermann, Wergin und Heß (1937) konnten in sehr jungen Baumwollhaaren auf röntgenometrischem Wege eine Substanz erkennen, die sie als Primärsubstanz bezeichneten und die sich später als zu den Wachsen gehörig erwies. Die Autoren vermuten, daß dieses Wachs sich nicht im Zellinnern befinde, sondern zur Hauptsache einen Bestandteil der Zellwand bilde. Dem Wachs der cellulosearmen Primärwände kommt offenbar eine besondere Bedeutung für das Streckungswachstum zu. Denn das Primärwand-Wachs konnte auch im Parenchymgewebe der *Avena*-Koleoptile nachgewiesen werden; ferner kommt es in andern sehr jungen Geweben, wie Primärblätter von Hafer, *Taraxacum officinalis* usw. vor, wo eine Verwechslung mit Oberhautwachs nicht ausgeschlossen ist (Weber, E., 1942). Nach den Untersuchungen von Gundermann, Wergin und Heß (1937) kann allerdings nicht entschieden werden, ob auch im Protoplasma Wachs oder dessen Vorstufen vorhanden sind oder nicht. Chibnall und Piper (1934) nehmen an, daß in der Fettphase des Protoplasmas wahrscheinlich Produkte von niedrigem Schmelzpunkt, geringerer Viskosität und größerer Löslichkeit entstehen und nach außen diffundieren. Aus solchen Verbindungen dürften die Zellwand-Wachse in jungen Geweben als Gerüstsubstanzen hervorgehen. Auf die Bedeutung der Fett-Wachs-Komponente in Primärmeristemen soll später in einem anderen Zusammenhang nochmals zurückgekommen werden.

Hansteen-Cranner (1919) hat die Anwesenheit von Phosphatiden in der Zellwand nachgewiesen, die « neben Cellulose und Pektinsubstanzen konstante Bestandteile der Zellwände aller lebenden Pflanzenzellen darstellen ». Nakamura und Heß (1938) konnten diesen Befund bestätigen, während Bonner (1936) hervorhebt, daß in

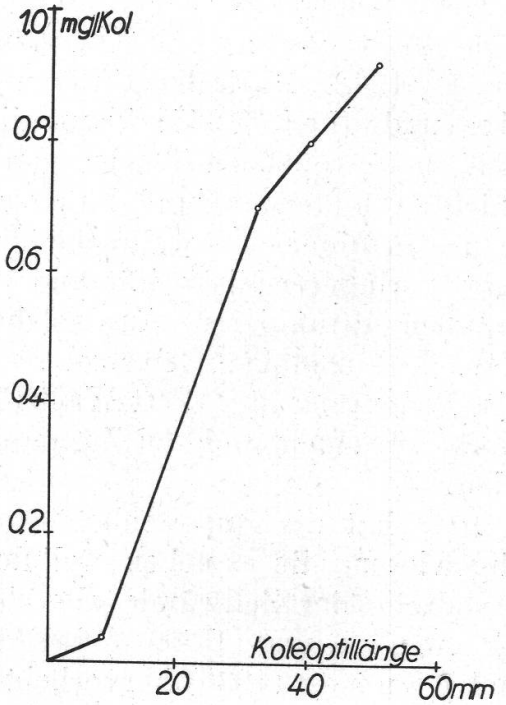
den Wänden keine ätherlöslichen Phosphatide nachweisbar sind. Nakamura und Heß (1938) finden, daß der Fett-Wachs-Anteil der wasserunlöslichen Substanz der Maiskoleoptile 6,71 % ausmacht, « ein Betrag, der auch dann noch erheblich ist, wenn ein Teil davon auf das Zellinnere entfällt ».

Ein Vergleich dieser Angabe mit den eigenen Ergebnissen läßt sich allerdings nicht anstellen, da die Anordnung der Versuche zu verschieden ist. Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, sinkt der prozentuale Anteil der Fett-Wachs-Komponente nach anfänglichem starkem Ansteigen in der jungen Koleoptile mit zunehmendem Alter gleichmäßig ab. Die Abnahme erkennt man allerdings nicht mehr so deutlich, wenn man die ätherlöslichen Stoffe statt in Prozenten der gesamten Trockensubstanz nur in Prozenten der Membransubstanzen betrachtet (Tabelle 10).

Tabelle 1.
Ätherextraktion von 10—55 mm langen Maiskoleoptilen.

Länge in mm	Trockensubstanz pro Kol. in mg	Ätherextrakt pro Kol. in mg	Ätherextrakt in % der Trockensubstanz
9	2,420	0,040	1,20 %
32	6,741	0,701	10,40 %
40	8,138	0,800	9,90 %
55	12,400	0,975	7,90 %

Diese Zahlen weisen darauf hin, daß die Bedeutung der Fett-Wachs-Phase als Anteil der gesamten Trockensubstanz mit zunehmendem Alter der Koleoptile zurückfällt; besonders von jenem Punkt an, wo die reine



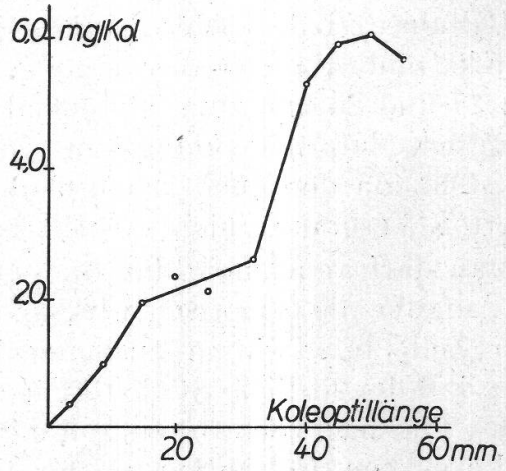
Figur 1.
Zunahme der ätherlöslichen Stoffe während des Koleoptilenwachstums.

Zellstreckung beginnt. Anderseits veranschaulicht Figur 1 deutlich, daß die mit Äther extrahierten Stoffe absolut gemessen, d. h. auch während der reinen Zellstreckung, kontinuierlich zunehmen.

3. Die wasserlöslichen Kohlehydrate.

Die wasserlöslichen Zucker wurden im Kaltwasserauszug und im Heißwasserauszug bestimmt. Im Heißwasserauszug hätte der durch Verseifen mit Natronlauge sich abspaltende Methylalkohol bestimmt werden sollen, um damit über den Pektinstoffgehalt etwas aussagen zu können. Es zeigte sich jedoch, daß im Auszug keine quantitativ erfaßbare Mengen Methoxyl vorhanden waren. Somit hatte man zugleich die Gewißheit, daß Pektinstoffe die erhaltenen Reduktionswerte nicht beeinflußten. (Nach F. Weber kann Pektin, wenn es hydrolytisch aufgespalten ist und dadurch freie Aldehydgruppen erhält, reduzierend wirken.)

Die erhaltenen Werte (für Heiß- und Kaltwasser) wurden addiert und in einer Kurve zur Darstellung gebracht.



Figur 2.
Zunahme der wasserlöslichen Kohlehydrate während des Koleoptilenwachstums.

Die Hydrolyse mit Salzsäure ergab keinen Mehrwert der reduzierenden Substanzen. Der Zuckergehalt bestand also nur aus wasserlöslichen Monosacchariden. Aus diesem Grunde wurde die Bestimmung der wasserlöslichen Polysaccharide nicht mehr weitergeführt. 80 % aller reduzierenden Substanzen ließen sich mit Hefe vergären. Die nachfolgende Tabelle gibt Aufschluß über den Verlauf des Gehaltes an einfachen Zuckern während des Koleoptilenwachstums.

Die wasserlöslichen Zucker machen ungefähr 45 % der Trockensubstanz aus. Dieser Wert ist, verglichen mit den Angaben von Nakamura und Heß (1938), niedriger.

Die in Figur 2 dargestellte Kurve zeigt deutlich, daß auch der Gehalt an wasserlöslichen Zuckern im Laufe des Wachstums der Koleoptilen ständig zunimmt. In der Zone zwischen den Koleoptilenlängen von

Tabelle 2.
Zuckergehalt im Wasserextrakt.

Koleoptilenlänge in mm	Zuckergehalt im Wasserauszug, ausgedrückt in mg Glukose/Kol.
4	0,406
9	1,016
15	1,945
20	2,370
25	2,139
32	2,651
40	5,335
45	5,937
50	6,058
55	5,704

15 und 30 mm verläuft die Kurve etwas flacher, um nachher wieder normal anzusteigen. In alten, fast ausgewachsenen Koleoptilen sinkt der Zuckergehalt wieder, in Übereinstimmung mit der Kurve, die man für den Cellulosegehalt erhält (Figur 4). Nach den Untersuchungen von Blank und Frey-Wyßling (1941) hebt bei Koleoptilen zwischen 17 und 26 mm zum letztenmal eine starke Zellvermehrung an. Es ist möglich, daß die verlangsamte Zuckerzunahme damit in Zusammenhang steht, da der Zuckernachschub aus dem Endosperm mit dem gesteigerten Verbrauch nicht Schritt hält.

Man darf annehmen, daß die erstaunlich hohe Zuckermenge neben ihrer Aufgabe als osmotisch wirksame Substanz mit der Aufbaureaktion in der Zelle in direktem Zusammenhang steht; ähnlich wie man vermutet, daß der lösliche Stickstoff in der Vakuole als Reserve zum Aufbau des Plasmaeiweißes diene. Ruge (1937) hat in diesem Sinne beim Hypokotyl von *Helianthus* nachweisen können, daß die im Preßsaft vorhandenen Zucker wenigstens zum Teil für den Aufbau der Zellwände während des Streckungswachstums verwendet werden.

Welcher Anteil der erhaltenen Werte dem Zellinhalt und welcher der Zellwand zuzuschreiben ist, läßt sich an Hand der Analysen nicht sagen. Der weitaus größte Teil dürfte jedoch im Protoplasma und in der Vakuole enthalten sein.

4. Die Hemicellulosen.

Die Hemicellulosen werden mit schwacher Säure (2% H_2SO_4) durch Hydrolyse aus den Zellwänden herausgelöst, weiter bis zu monomolekularen Zuckern abgebaut und nachher in neutraler Lösung als Glukose und Arabinose bestimmt. Die Umrechnung des Glukosewertes und Arabinosewertes auf Polysaccharide erfolgt durch Multiplikation mit dem

Faktor 0,9, bzw. mit 0,88. Die nachfolgende Tabelle 3 gibt über die erhaltenen Resultate Aufschluß.

Tabelle 3.
Hemicellulosegehalt in der Maiskoleoptile.

Koleoptillänge in mm	Wert pro Koleoptile in mg
4	0,083
9	0,231
15	0,344
20	0,674
25	0,947
32	0,973
40	1,184
45	1,286
50	1,309
55	1,371

Die Hemicellulosen sind kein einheitliches Material, sondern ein Stoffgemisch von Kohlehydraten, das weder begrifflich noch analytisch scharf abgegrenzt ist. Die Polyuronsäuren werden neuerdings vielfach ebenfalls den Hemicellulosen zugerechnet (K. H. Meyer, 1940). Ältere Autoren wollen nicht bloß jene Kohlehydrate, die bei der Hydrolyse Pentosen und Hexosen geben, sondern auch die Pektinstoffe zu den Hemicellulosen zählen. Sicher ist jedenfalls, daß die Hemicellulosen zu den Zellwandstoffen gehören. Sie unterscheiden sich von der Cellulose durch ihre Löslichkeit in verdünnter Säure. Wie stark diese Stoffe von verdünnter (4,5 %) Schwefelsäure angegriffen werden und wie sehr dieses Reagens gleichzeitig auf die noch anwesende Cellulose wirkt, läßt sich nicht sagen.

In der Folge werden die in diesem Extrakt bestimmten reduzierenden Substanzen als Hemicellulosen bezeichnet. Da das Pflanzenmaterial vor der Hydrolyse einer Behandlung mit Äther und Wasser unterzogen worden ist, darf man annehmen, daß andere reduzierende Substanzen (Eiweiße, Monosaccharide) nicht mehr im Extrakt vorhanden sind und das Kaliumferricyanid nur durch die anwesenden Kohlehydrate reduziert wird.

Die aus der Hydrolyse der Hemicellulosen sich ergebenden Hexosen und Pentosen lassen sich leicht voneinander trennen, indem man die Hexosen mittelst Hefe vergären läßt. Aus dem Reduktionswert vor und nach der Vergärung lassen sich die Gehalte der beiden Zuckerarten errechnen.

Link (1929) fand in den Maiskoleoptilen 12 % Xylan. Nach unsern Untersuchungen enthalten die Maiskoleoptilen etwa 14 % Hemi-

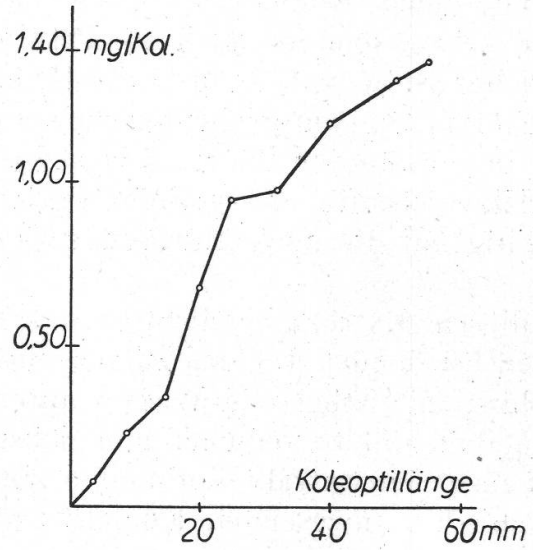
cellulosen. Davon dürften auf die Pentosane etwa 25—30 % entfallen. Der Anteil des Xylans ist nach unsern Befunden also bedeutend geringer, als Link angibt.

Thimann und Bonner (1933) finden durch Behandlung mit schwacher Säure und Lauge 11% Hemicellulosen in der Haferkoleoptile, ein Ergebnis, das mit dem eigenen ziemlich gut übereinstimmt.

Tabelle 4.
Hemicellulosegehalt in % der Trockensubstanz.

Koleoptillänge in mm	Trockensubstanz in mg/Kol.	Hemicellulosen in mg/Kol.	Hemicellulosen in % der Trockensubstanz
9	2,420	0,231	9,6
15	3,346	0,344	10,4
25	5,544	0,947	17,2
35	7,252	1,051	14,6
45	9,025	1,286	14,3
50	10,730	1,309	12,2

Aus Tabelle 4 geht hervor, daß auch die Werte für die Hemicellulosen während des Wachstums stets ansteigen, was durch die Figur 3 veranschaulicht wird.



Figur 3.
Zunahme der Hemicellulosen während des Koleoptilenwachstums.

Ähnlich wie bei den wasserlöslichen Zuckern verflacht sich die Kurve hier bei 25 mm Koleoptillänge, d. h. beim Einsetzen der letzten Zellvermehrungsperiode. Nachher, bei 32 mm, steigt die Kurve wieder, etwas flacher als vorher, bis zum Wachstumsabschluß an.

Der prozentuale Anteil der Hemicellulosen an der Trockensubstanz ist bei ganz jungen Koleoptilen geringer als bei älteren. Wie erwartet, bleibt nach dem Einsetzen des reinen Streckungswachstums der prozen-

tuale Anteil der Hemicellulosen annähernd konstant, um am Schluß noch etwas abzusinken. Eine Erscheinung, die im allgemeinen für die Membransubstanzen charakteristisch zu sein scheint.

5. Die Cellulose.

Die Cellulose ist nach Staudinger (1932) nicht eine chemisch genau definierte und einheitliche Substanz. Der Ausdruck Cellulose dient nach diesem Autor vielmehr zur Kennzeichnung von Präparaten, die neben gemeinsamen Zügen auch erhebliche Unterschiede aufweisen und nicht als einheitliche Verbindungen, sondern als polymer-homologe Gemische aufzufassen sind. Alle Cellulosen werden jedoch durch Behandlung mit starken Säuren praktisch quantitativ in Glukose gespalten. Diese kann an Hand ihrer Reduktionsfähigkeit bestimmt werden. Man darf annehmen, daß die in Tabelle 5 aufgeführten Werte tatsächlich dem Cellulosegehalt der Koleoptilen entsprechen, da vor der Behandlung mit starker Säure alle reduktionsfähigen Kohlehydrate entfernt worden sind.

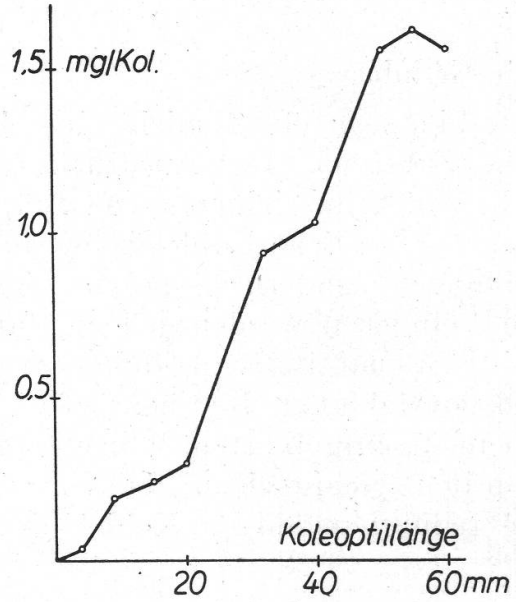
Tabelle 5.
Cellulosegehalt der Koleoptilen.

Koleoptillänge in mm	Cellulosegehalt in mg/Kol.
4	0,035
9	0,191
15	0,238
20	0,294
32	0,930
40	1,021
50	1,558
55	1,616
60	1,568

In Figur 4 ist graphisch dargestellt, wie auch der Cellulosegehalt der Koleoptile während ihres Wachstums stets ansteigt. Anfänglich erfolgt der Zuwachs nur langsam, um dann aber von einer Länge von 20 mm fast ohne Unterbruch gleichmäßig zu steigen.

Bemerkenswert ist das Abfallen des Cellulosegehaltes bei alten, ausgewachsenen Koleoptilen auf einen Wert, der unter dem Maximum liegt. Es ist jedoch nicht denkbar, daß ein so schwer angreifbarer Stoff wie die Cellulose in alten Koleoptilen abgebaut wird. Der Rückgang, der nur 3 % des Höchstwertes ausmacht, beruht offenbar auf der ungünstigen Auswahl des Koleoptilenmaterials. Merkwürdig erscheint die Tatsache, die aus dem Kurvenbild hervorgeht, daß im Gewebe während

einer Zeit stärkster Zellteilung (4—20 mm) verhältnismäßig weniger Cellulose gebildet wird als während einer Zeit reiner Zellstreckung.



Figur 4.
Zunahme der Cellulose während des Koleoptilenwachstums.

Aus der Tabelle 5 ist leicht ersichtlich, daß schon die ganz junge Koleoptile verhältnismäßig viel Cellulose enthält. Es scheint deshalb vom chemisch-analytischen Standpunkte aus eigenartig, daß verschiedene Autoren (Heß, Trogus, Wergin, 1936, Gundermann, Wergin, Heß, 1937, Sisson, 1937) die Bedeutung der Cellulose als Gerüstsubstanz in jungen Zellwänden den Wachssubstanzen unterordnen; Heß und Engel (1940) mögen auch die Bedeutung der Pektinstoffe im Baumwollhaar gegenüber der Cellulose überschätzt haben.

Der Cellulosegehalt der Maiskoleoptile hat im ganzen (von 4 bis 55 mm Länge) um das 44,8fache zugenommen, und während der reinen Zellstreckung um das 30,5fache, gemessen am Gehalt der 4 mm langen Koleoptile. Die Hemicellulosen nehmen im Vergleich dazu während der ganzen Wachstumsperiode um das 16,5fache zu. Diese Zahlen zeigen deutlich, in welch starkem Maße Cellulose während der Zellstreckung gebildet wird.

6. Der Methoxylgehalt.

Die Koleoptilen wurden auch auf ihren Methoxylgehalt geprüft, um daraus etwas über den Gehalt an Protopektin aussagen zu können. Methoxylgruppen können aus den Pektinstoffen oder aus dem Lignin stammen. Äther-Methoxyl des Lignins wird jedoch bei der gewöhnlich milden Verseifung mit Natronlauge nicht abgespalten. Zudem konnte im untersuchten Pflanzenmaterial kein Lignin nachgewiesen werden.

Die Pektinstoffe besitzen je nach Herkunft sehr verschiedene Zusammensetzung; es bedarf zu ihrer Charakterisierung deshalb mehr als

nur die Methoxylgehaltsbestimmung. Jedes Pektin stellt entweder bereits im Pflanzenmaterial oder vor allem bedingt durch den Extraktionsprozeß ein Gemisch dar, in dem verschieden große und verschieden stark veresterte Makromoleküle vorliegen (Deuel, 1943). So ändert sich z. B. nach Ripa (1937) der Methoxylgehalt des gewonnenen Präparates je nach der angewendeten Extraktionstemperatur folgendermaßen:

Extraktionstemperatur	CH_3OH-Gehalt des extrah. Pektins (Äpfelpektin)
20° C	14,2 %
60° C	12,7 %
80° C	10,3 %
100° C	7,2—7,7 %.

Man kann sagen, daß die mit einer Extraktionstemperatur bis zu 60° C aus dem Äpfelpektin ausgelaugten Pektinfraktionen einander sehr ähnlich sind; geht man jedoch mit der Extraktionstemperatur höher, so verändert sich die Zusammensetzung wesentlich. Bei 80° C stieg im Galakturonkomplex der Anteil an Arabinose nach Ripa auf 10—14 %, an Essigsäure auf 10 %, Galaktose auf 15 %; sämtliche Bestandteile, die im freien Pektin nur in Spuren oder in ganz geringen Mengen als Verunreinigungen zugegen waren. Dagegen fiel der Anteil an Galakturonsäure von 80 % auf 72—67 % und der Methoxylgehalt von 11 % auf 7 %.

Die meisten Pektinuntersuchungen beziehen sich auf lösliche Pektine in Früchten und Pflanzensäften. Diese zeichnen sich durch einen großen Methylierungsgrad und große Gelierfähigkeit aus. Die als Protopektine bezeichneten Zellwandstoffe sind dagegen sehr ungenügend bekannt. Nach Henglein (1943) besitzen sie einen geringen Methoxylgehalt und sind durch einen gewissen Ca-Gehalt gekennzeichnet. Das Calcium wird für die Unlöslichkeit des Protopektins verantwortlich gemacht, da es befähigt ist, die Pektinketten miteinander zu vernetzen. Es ist indessen auch denkbar, daß das Protopektin durch Brückenbildungen mit andern Wandstoffen in der Zellwand verankert ist. Das Protopektin junger Zellwände unterscheidet sich nach Henglein (1943) vom Protopektin alter Membranen durch einen etwas größeren Methoxylgehalt und einen geringern Ca-Gehalt. Während der Alterung würde also die Veresterung ab- und die Ca-Salzbildung zunehmen.

Nach neuesten Forschungen von Pallmann, Weber und Deuel (1944) können gewisse Protopektine sehr methoxylreich sein. Diese Autoren konnten durch Aufschluß des Protopektins aus Apfeltrester hochmethylierte Pektine erhalten.

Da der Galakturonsäuregehalt der Koleoptilen aus den auf S. 185 erwähnten Gründen nicht bestimmt werden konnte, muß man versuchen,

an Hand des Methoxylgehaltes etwas über die Pektinstoffe aussagen zu können. Jedenfalls ist es möglich, an Hand des Methoxylgehaltes auf eine Abnahme oder Zunahme des Pektingehaltes während des Koleoptilenwachstums zu schließen, denn eine starke chemische Veränderung im Sinne Hengleins ist bei so jungen Geweben nicht zu erwarten. Anderseits ist es jedoch von größter Wichtigkeit, daß die Analysen immer unter den ganz genau gleichen Bedingungen in bezug auf Extraktionsdauer, Extraktionstemperatur und Konzentration des Extraktionsmittels erfolgen, sonst können sich nach Ripa (1937) große Fehler ergeben.

Tabelle 6 zeigt den Methoxylgehalt der Koleoptilen während des Wachstums.

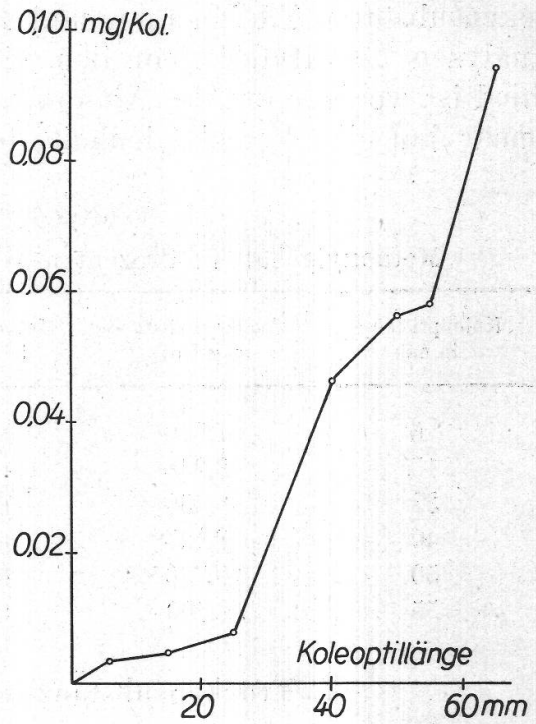
Tabelle 6.
Methoxylgehalt der Koleoptilen.

Koleoptillänge in mm	Methoxylgehalt in mg/Kol.
6	0,0035
15	0,0047
25	0,0078
32	0,0272
40	0,0464
50	0,0571
55	0,0580
65	0,0942

Auch hier, wie bei allen andern Bestimmungen, erhielten wir mit zunehmendem Alter steigende Werte des Methoxylgehaltes. Er wuchs von 6 mm bis 65 mm Koleoptillänge um das 26,9fache und um das 24fache während der reinen Zellstreckung, gemessen am 6-mm-Stadium. Der Methoxylgehalt nimmt nicht so stark zu wie beispielsweise die Cellulose, doch stellen wir fest, daß er anfänglich schwach und gerade während der Zellstreckung stark und stetig zunimmt. Daraus dürfen wir schließen, daß während des Wachstums der Koleoptile auch ein Aufbau von Pektinstoffen stattfindet. Diese Feststellung widerspricht den interessanten Untersuchungen von Heß und Engel (1940). Sie fanden nämlich, daß der Pektingehalt im Baumwollhaar gerade während des stärksten Streckungswachstums abnimmt, um dann bei einsetzendem Dickenwachstum anfänglich wenigstens konstant zu bleiben. Mikrochemisch ließ sich eindeutig nachweisen, daß dieses Protopektin oder « Primärpektin » in die Zellwand eingelagert ist. Den Gehalt berechneten die Autoren zu 10,4 % der gesamten Menge und zu 35 % der Wandsubstanz. Da die Baumwollhaare einzellige Organe sind, besitzen sie keine Mittellamelle. Die Pektinstoffe treten deshalb nicht in ihrer ihnen

üblicherweise zugeschriebenen Funktion als Kittsubstanz auf, sondern stellen hier nach den Angaben von Heß und Engel (1940) einen wichtigen Bestandteil der eigentlichen Zellwand dar, was Anderson und Kerr (1938) bestätigen.

Unsere Ergebnisse sind mit den Analysen von Heß und Engel am jungen Baumwollhaar kaum vergleichbar. Jene Autoren gewannen ihre Pektinstoffe durch Druckextraktion im Wasser bei 120° C. Ferner ist unser Objekt nicht ein einzelliges Haar, sondern ein polyzelluläres Gewebe, dessen Pektinstoffe sich wohl zur Hauptsache aus dem Mittellamellenpektin und nur zum kleinern Teil aus dem Protopektin der Primärwand zusammensetzen. Es ist daher möglich, daß die von uns festgestellte Pektinzunahme in erster Linie mit der Neubildung von Mittellamellen in Zusammenhang steht.



Figur 5.
Der Methoxylgehalt in der wachsenden Maiskoleoptile.

Der Methoxylgehalt der Maiskoleoptile nimmt, ausgedrückt in Prozenten der Trockensubstanz, ebenfalls zu. Eine 15 bis 25 mm lange Koleoptile enthält 0,14 % Methoxyl, während eine 50 mm lange Koleoptile 0,53 % Methoxyl enthält. Dieser Befund widerspricht den Angaben von Griffioen (1938), nach denen beim Wachstum des Sonnenblumenstengels eine allmähliche prozentuale Abnahme des Pektingehaltes erfolgt. Griffioen schloß daraus, daß die Pflanze die Pektinstoffe zum Aufbau des Lignins verbrauche. Obschon der prozentuale Pektingehalt im *Helianthus*-Keimling abnimmt, ist der Beweis keineswegs erbracht, daß die absolute Pektinmenge in der Zellwand abnimmt; vielmehr bleibt es einer genaueren Untersuchung vorbehalten festzustellen,

ob der Pektingehalt der Zellwand bei *Helianthus annuus* während seiner Entwicklung zu- oder abnimmt. Aus dieser Darlegung geht hervor, wie wichtig die richtige Wahl der Bezugsgröße ist. Durch die Bezugnahme auf das Trockengewicht oder etwa auf 1 g trockene Substanz, wie es Griffioen machte, sind wir nicht imstande, quantitativ zu verfolgen, wie ein bestimmter Pflanzenstoff in einem bestimmten Pflanzenorgan (z. B. *Helianthus*-Keimling oder Graskoleoptile) vertreten ist. Blank und Frey-Wyßling (1941) wiesen bei ihrer Untersuchung über das Protoplasmawachstum in recht eindrücklicher Weise darauf hin, wie leicht man bei unrichtiger Bezugsgrößenwahl zu Fehlschlüssen kommen kann.

Eine grobe Schätzung der Pektinmenge läßt sich durch die Multiplikation der Methoxylmenge mit dem Faktor 10 erhalten (Strepkov, 1937 b). Damit kommen wir auf einen Pektingehalt von 1,4 bis 5,4 % der Trockensubstanz. Thimann und Bonner (1933) erhielten bei ihren Analysen der Haferkoleoptilen einen Gehalt von 8 %. Dieser Unterschied ist weniger auf die Art des verwendeten Pflanzenmaterials, als vielmehr auf die Verschiedenheit der Arbeitsmethoden zurückzuführen.

Tabelle 7.

Methoxylgehalt in Prozenten der Trockensubstanz.

Koleoptillänge in mm	Trockensubstanz mg/Kol	Methoxylgehalt in mg/Kol.	Methoxylgehalt in % der Trockensubstanz
6	1,810	0,0035	0,18
15	3,346	0,0047	0,14
32	6,750	0,0272	0,40
40	8,125	0,0464	0,57
50	10,730	0,0571	0,53
55	12,400	0,0580	0,46

7. Trockensubstanzbestimmung.

Das Trockengewicht konnte gut zur Überprüfung der Analysenresultate benützt werden. Zur Vervollständigung der Bilanz (Tabelle 8) wurde der Eiweißgehalt auf Grund der Stickstoffbestimmungen von Blank und Frey-Wyßling (1944) berechnet, indem die Menge an koagulierbarem Stickstoff mit dem Faktor 6,25 multipliziert wurde; denn man nimmt an, daß die nativen Eiweißstoffe im Mittel 16 % Stickstoff enthalten (Wiegner-Pallmann, 1938). Für den Pektingehalt wurde die 10fache Menge des Methoxylgehaltes eingesetzt.

Es kann sich bei der Aufstellung der in Tabelle 8 aufgeführten Bilanz nur um eine grobe Schätzung, die mit vielleicht großen Fehlern behaftet ist, handeln. Aufschluß über die ungefähre Richtigkeit der Analyse kann sie uns trotzdem geben.

Tabelle 8.

Zusammensetzung der Maiskoleoptilen (Werte in mg pro Koleoptile).

mm Koleoptillänge	9	32	55
Fett-Wachs-Anteil (Äther) . .	0,040	0,701	0,975
Wasserlösl. Zucker	1,016	2,651	5,704
Hemicellulosen (2 % H_2SO_4) . .	0,231	0,973	1,371
Cellulose (72 % H_2SO_4) . . .	0,191	0,930	1,616
Pektin (aus CH_3OH berechnet) .	0,052	0,272	0,580
Asche	0,160	0,300	0,444
Summe	1,690	5,827	10,690
Eiweiß	0,510	1,018	1,631
Summe	2,200	6,845	12,321
Trockensubstanz	2,345	6,755	12,400

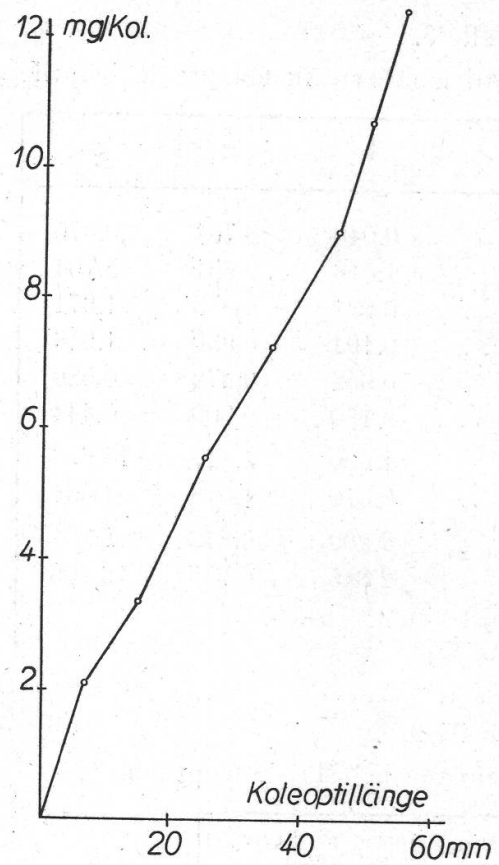
Tabelle 9.

Trockensubstanzbestimmungen bei Maiskoleoptilen.

Koleoptillänge in mm	Gewogene Werte in mg/Kol.
7	2,112
15	3,346
25	5,544
35	7,252
45	9,025
50	10,730
55	12,400

Tabelle 9 und besonders die Kurve in Figur 6 zeigen, wie die Werte von Anfang an steil und fast linear ansteigen.

Der Wertzuwachs ist nicht nur auf die Substanzzunahme der Zellwände zurückzuführen. Während des Streckungswachstums werden auch im Protoplasma ganz bedeutende Mengen Eiweißstoffe aufgebaut, was von Blank und Frey-Wyßling (1941) anschaulich dargelegt wurde. Interessanterweise ist die erhaltene Kurve derjenigen des Protoplasmawachstums sehr ähnlich. Sie zeigt die für andere Kurven (ätherlösliche Stoffe, Cellulose, Hemicellulose) charakteristische Verflachung zwischen 25 und 35 mm Koleoptillänge nicht. In der Kurve der Trockengewicht-Zunahme findet ein Ausgleich aller Werte statt.



Figur 6.
Zunahme der Trockensubstanz während des Koleoptilenwachstums.

D. Schlußbetrachtungen.

Die aus der chemischen Untersuchung erhaltenen Zahlen geben uns nun die Möglichkeit, zusammenfassende Vergleiche mit den Ergebnissen anderer Autoren anzustellen.

In Tabelle 10 sind die prozentualen Anteile der verschiedenen Bestandteile der reinen Zellwand angegeben. Es sind nur jene Stoffe aufgeführt, die wir mit Sicherheit als Bestandteile der Zellmembran bezeichnen dürfen. Die Summe ihrer Mengen wurde als 100 % angenommen und von da ausgehend die prozentualen Werte der einzelnen Bestandteile berechnet.

Tabelle 10.
Zusammensetzung der Zellwand der Maiskoleoptile.

Koleoptillänge in mm	9	32	40	50	55	Vergleich mit Thimann und Bonner
	%	%	%	%	%	%
Fett-Wachs-Komponente .	7,3	22,8	23,2	21,4	21,6	—
Hemicellulosen (2 % H_2SO_4)	45,5	34,3	33,9	30,4	30,4	38
Cellulose (72 % H_2SO_4) .	37,5	32,7	29,6	34,9	35,1	42
Pektinstoffe (aus CH_3OH berechnet)	9,7	10,2	13,3	13,3	12,9	8
Eiweiß	—	—	—	—	—	12
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Die erhaltenen Zahlen stimmen mit denjenigen, die Thimann und Bonner (1933) für die Haferkoleoptile angeben, gut überein, wenn man berücksichtigt, daß die beiden Ergebnisse unter verschiedenen Voraussetzungen gefunden wurden. Thimann und Bonner erhalten wesentlich mehr Hemicellulosen; doch ist dieser Wert vermutlich auf Kosten der Fett-Wachs-Komponente so hoch ausgefallen, da diese bei den erwähnten Autoren unberücksichtigt blieb, obwohl der Fett-Wachs-Anteil vom gesamten Zellwandmaterial nach unsern Befunden mehr als $^1/_5$ ausmacht. Dies bestätigen auch Wuhrmann-Meyer (1939) in ihrer Arbeit. Der Grund, weshalb Thimann und Bonner (1933) die Fett-Wachs-Komponente unberücksichtigt ließen, liegt wohl in der Anlage des Versuches, wahrscheinlich wurden schon in der Vorbehandlung des Pflanzenmaterials zur Gewinnung von reiner Zellwand die fett-wachs-artigen Stoffe ausgewaschen. Das Fehlen dieser Zahl konnte durch Einsetzen eines Eiweißgehaltes von 12 % zum Teil wettgemacht werden. Die restlichen 10 % (immer verglichen mit den eigenen Zahlen) verteilen sich auf die andern Membranstoffe. Deshalb erhielten Thimann und Bonner, verglichen mit den eigenen, auch stets etwas größere Werte. Die Frage nach der Verteilung der Eiweißstoffe auf Plasma und Zellwand kann mit den Stickstoffbestimmungen allein nicht beantwortet werden; darum blieb der Eiweißgehalt der Zellmembran in Tabelle 10 unberücksichtigt. Sicher ist, wie schon erwähnt, daß die Zellwand auch Eiweißstoffe enthält. Die gleiche Frage stellt sich auch für die Zuteilung der löslichen Zucker. Daß besonders Zellwände meristematischer Gewebe neben Gerüstsubstanzen wasserlösliche Zuckerarten enthalten, ist denkbar. Doch ist auch hier eine Zuteilung der Gesamtzuckermenge zu Zellwand und Plasma nicht möglich.

Auffallend ist, daß unter den Membransubstanzen die Hemicellulosen und die Cellulose fast während der ganzen Entwicklung der Koleoptile prozentual abnehmen (Tabelle 10), währenddem die ätherlöslichen Substanzen und die Pektinstoffe anfänglich zunehmen. Für die ätherlöslichen Substanzen ist diese auffallend starke prozentuale Zunahme dadurch zu erklären, daß sich die Kutikula flächenmäßig sehr stark vergrößert und somit auch ihr Wachsgehalt entsprechend zunimmt. Tabelle 10 veranschaulicht die Bedeutung, die die Membransubstanzen unter sich einnehmen. Ein ganz anderes Bild zeigt jedoch Tabelle 11, in der wir alle bestimmten Substanzen mit der Trockensubstanz vergleichen. Tabelle 11 zeigt eine Übersicht über die Zusammensetzung der Maiskoleoptilen verschiedenen Alters, ausgedrückt in Prozenten der Trockensubstanz.

In dieser Aufstellung zeigen unsere Ergebnisse, verglichen mit denen von Thimann und Bonner (1933) an der Haferkoleoptile und Nakamura und Heß (1938) an der Maiskoleoptile, fast überall höhere Werte.

Tabelle 11.

Chemische Zusammensetzung der Maiskoleoptilen.

Länge der Koleoptilen in mm	9	32	55	Thimann und Bonner	Nakamura-Heß
	%	%	%	%	%
Ätherlösliche Substanzen	1,2	10,4	7,8	—	2,43
Wasserlösliche Zucker .	44,1	39,5	46,0	—	61,34
Hemicellulosen	9,0	14,5	11,0	11,0	—
Cellulose	8,3	13,2	13,0	11,9	10,12
Pektin	2,2	4,0	4,7	2,3	—
Eiweiß[1]	22,17	15,2	13,1	3,1	—
Asche	6,90	4,4	3,6	—	—
Trockensubstanz	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

[1] Der Eiweißgehalt wurde auch hier aus den Stickstoffgehalten (Blank und Frey-Wyßling) berechnet (F = 6,25).

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß sich die chemische Zusammensetzung der Maiskoleoptilen während des Wachstums ändert. Alle Membranstoffe nehmen in dieser Aufstellung anfänglich zu, um dann vom 30-mm-Stadium an konstant zu bleiben oder sogar abzusinken. Einen sehr regelmäßigen Verlauf zeigen die ätherlöslichen Stoffe. Nachdem ihr Anteil in der jungen Koleoptile sehr stark ansteigt, nehmen sie während des Streckungswachstums prozentual bis zum Stadium der ausgewachsenen Koleoptile ein wenig ab. Der Anteil der Hemicellulosen steigt zu Beginn von 9 auf 14,5 %, um dann wieder abzunehmen, während der prozentuale Anteil der Cellulose nach anfänglicher Zunahme ziemlich konstant bleibt. Die wasserlöslichen Zucker machen einen erstaunlich hohen Prozentsatz der Trockensubstanz aus. Auffällig sind ihre schwankenden Werte. Sie lassen sich in ihrem Verhalten vielleicht am besten mit dem wasserlöslichen Stickstoff in der Koleoptile vergleichen. Wir müssen annehmen, daß die Mengen dieser sehr leicht mobilisierbaren Zucker größeren Schwankungen unterworfen sind als andere Bestandteile der Koleoptile. Verluste bei der Gewinnung (Saftverlust beim Abschneiden) sind hier am ehesten möglich.

Ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Fett-Wachs-Phase und der Cellulose ist aus den aufgeführten Zahlen nicht zu ersehen. Aus Tabelle 11 ist erneut ersichtlich, daß die Pektinstoffe nicht nur absolut, sondern auch prozentual zunehmen; ihr Anteil an der Trockensubstanz nimmt nicht ab. Dies soll hier im Gegensatz zu den Untersuchungen Griffioens an verholzenden Geweben festgestellt werden.

Bei der Betrachtung aller erhaltenen Kurven erkennt man deutlich, daß die chemischen Bestandteile einer Zelle während ihrer Entwicklung und im besonderen Maße während ihrer Streckung einem starken Stoff-

zuwachs unterworfen sind. Alle Kurven weisen mehr oder weniger die für die Wachstumskurve charakteristische S-Form auf.

Die zytologischen Untersuchungen der Maiskoleoptile von Blank und Frey-Wyßling (1941) geben eine gute Unterlage zur Beurteilung der Kurven. Nach diesen Autoren wechselt, besonders in ganz jungen Stadien, reines Streckungswachstum mit Teilungswachstum ab, und man möchte erwarten, daß diese Entwicklung in der Kurve sichtbar zum Ausdruck kommen würde. Nach Blank und Frey-Wyßling sind in der Entwicklung der Maiskoleoptile hauptsächlich vier Stadien zu unterscheiden :

1. Bis zu 3 mm Länge starke Zellvermehrung,
2. von 3—17 mm Länge schwache Zellvermehrung,
3. von 17—26 mm Länge wieder starke Zellvermehrung,
4. von 26 mm Länge an praktisch keine Zellvermehrung mehr, sondern nur noch reine Zellstreckung.

Die Zellvermehrung beträgt vom Keimling im ruhenden Samen bis zur ausgewachsenen Koleoptile das 2,14fache. In keiner der Kurven läßt sich eindeutig eine Änderung hinsichtlich dieser 4 Stadien feststellen.

Es ist auffallend, daß jede Kurve von einem bestimmten Punkt an während einer bestimmten Strecke flacher, oft fast horizontal verläuft, um dann wieder in normaler Steilheit weiter zu verlaufen. Besonders ausgeprägt ist dies bei den Kurven, die sich ergeben, wenn man die Mengen der wasserlöslichen Zucker bzw. der Hemicellulosen als Funktion der Koleoptillänge im Koordinatensystem aufträgt. Eine Erklärung für diese Periode verminderter Stoffproduktion ist schwer; besonders deshalb, weil der Beginn der Wachstumsverminderung in einem Bereich von 20—35 mm liegt, d. h. zu Beginn des reinen Streckungswachstums. Es ist möglich, daß der Zuckernachschub aus dem Endosperm für den gesteigerten Verbrauch zum Aufbau der Zellwände nicht mehr genügt. In der Kurve für Trockensubstanz läßt sich diese Periode verminderter Stoffproduktion nicht erkennen. Wahrscheinlich gleichen sich die Werte dort bilanzmäßig aus.

Nach K. und M. Wuhrmann-Meyer (1939) setzt das sekundäre Membranwachstum schon zur Zeit des Streckungswachstums in den Basiszellen der Avena-Koleoptile ein. Was bei der Avena-Koleoptile festgestellt wurde, ist auch für die Maiskoleoptile zu erwarten. Das sekundäre Membranwachstum verlangt eine erhöhte Celluloseproduktion, dies sollte im Kurvenbild zum Ausdruck kommen. Aus den erhaltenen Kurven läßt sich jedoch darüber nichts aussagen. Es scheint, daß trotz sehr verschieden schnellem und auch verschieden intensivem Koleoptilwachstum in den verschiedenen Zonen, bezogen auf die ganze Koleoptile, eine große Regelmäßigkeit des Celluloseaufbaues besteht.

In unserer Untersuchung haben wir auf chemisch-analytischem Wege nachzuweisen versucht, daß beim Streckungswachstum nicht nur

der Zellinhalt, d. h. das Protoplasma erstaunlich rasch wächst, sondern daß auch die Zellwand während ihrer Streckung intensiven Stoffumsetzungen unterworfen ist.

Der Satz, daß beim Wachstum dem Formwechsel eine starke Substanzvermehrung parallel gehen muß, gilt wie für die übrigen Zellbestandteile auch für das Streckungswachstum der Zellwände.

E. Zusammenfassung.

Als Untersuchungsmaterial für die Bestimmung des Membranwachstums während der Zellstreckung diente die Koleoptile von *Zea Mays*. Die Frage nach dem quantitativen Verhalten der Membransubstanzen wurde auf chemisch-analytischem Wege zu lösen versucht.

Mit Hilfe eines von Strepkov vorgeschlagenen Apparates wurden die folgenden Stoffgruppen aus den Koleoptilen extrahiert:

1. Ätherlösliche Substanzen,
2. wasserlösliche Zucker,
3. Hemicellulosen,
4. Cellulose,
5. Pektinstoffe.

Die ätherlöslichen Stoffe wurden vom Lösungsmittel getrennt, getrocknet und gewogen. Die Stoffgruppen 2 bis 4 wurden im Extrakt nach Hagedorn-Jensen als Hexosen bzw. Pentosen bestimmt, nachdem sie mit Säure bis zu Monosacchariden hydrolisiert worden sind. Von den Pektinstoffen wurde nur der Methylalkohol bestimmt und versucht, daraus etwas über das Verhalten der Pektinstoffe auszusagen.

Die Analyse wurde an verschiedenen Altersstadien der Koleoptile von 4 bis 60 mm Koleoptillänge durchgeführt. Aus den erhaltenen Werten ergab sich für jede Stoffgruppe eine Kurve. Als Bezugsgröße wurde überall der Wert einer Koleoptile gewählt.

Es zeigte sich, daß alle Membransubstanzen bei wachsender Koleoptile mengenmäßig zunehmen. Während des Streckungswachstums findet also eine starke Stoffeinlagerung in die Zellmembran statt.

Der Stoffzuwachs verläuft nicht linear, sondern erfolgt, graphisch dargestellt, bei den meisten Membransubstanzen in Form einer S-Kurve.

Aufstellungen über den prozentualen Anteil der Stoffgruppen an der gesamten Trockensubstanz und an der Membransubstanz zeigen, daß besonders die Cellulose und auch die Hemicellulosen schon bei der jungen Koleoptile einen großen Teil der Zellwand ausmachen. Es ist sicher, daß die Cellulose von Anfang an am Aufbau der Zellwand stark beteiligt ist. Dagegen haben die Pektinstoffe einen geringeren Anteil an der Wandsubstanz als vermutet wurde.

Jede Kurve zeigt einen etwas anderen Verlauf; der Zuwachs der verschiedenen Substanzgruppen verläuft also nicht parallel. Die Zu-

sammensetzung der Zellwand erfährt einen ständigen Wechsel. Die Zellwand ist während der Streckung in ständigem Umbau begriffen.

Die vorliegende Arbeit wurde am Pflanzenphysiologischen Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule vom Dezember 1943 bis Januar 1946 ausgeführt. Sie entstand auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. A. Frey-Wyßling. Für die vielseitigen Anregungen und die stete Hilfsbereitschaft meines sehr verehrten Lehrers spreche ich ihm den herzlichsten Dank aus.

Résumé.

Nous avons étudié le problème suivant : dépôt de matières membraneuses dans la paroi de la cellule en voie d'allongement. Des examens faits par les moyens de la chimie analytique ont démontré que, durant la période d'allongement, il y a un fort dépôt de substances dans la membrane cellulaire. Ce sont surtout la cellulose et les hémicelluloses qui se forment, mais les pectines et des substances solubles dans l'éther se déposent aussi dans les parois primaires. Contrairement à des opinions antérieures, la cellulose forme déjà dans les jeunes cellules une partie importante de l'armature. La paroi cellulaire est en constante transformation durant la période d'allongement.

Literaturverzeichnis.

Anderson, D. B. and Kerr, Th., 1938 : Growth and structure of cotton fiber. Indust. and Engin. Chem. **30,** 48.

Avery, G. S. and Burkholder, R., 1936 : Polarized growth and cell studies on the Avena coleoptile, phytohormone test object. Bull. of the torrey Botanic. Club **63,** 1.

Blank, F. und Frey-Wyßling, A., 1941 : Protoplasmawachstum und Stickstoffwanderung in der Koleoptile von Zea Mays. Ber. d. schw. Bot. Ges. **51,** 116.

Bonner, James, 1936 : Zum Mechanismus der Zellstreckung auf Grund der Micellarlehre. Jahrb. f. wiss. Bot. **82,** 377.

— 1936 a : The chemistry and physiology of the pectins. Bot. Review **10,** 475.

Boysen-Jensen, P., 1939 : Elemente der Pflanzenphysiologie. Jena.

Bünning, E., 1939 : Physiologie des Wachstums und der Bewegungen. S. 55. Berlin.

Burström, H., 1942 : Die osmotischen Verhältnisse des Streckungswachstums der Wurzel. Ann. d. landw. Hochschule Schwedens **10,** 1.

Chibnall, A. C. and Piper, S. H., 1934 : The metabolism of plant and insect waxes. Biochem. Journ. Cambridge **28,** 2209.

Deuel, H. E., 1943 : Kolloidchemische Untersuchungen an Pektinstoffen. Ber. d. schw. Bot. Ges. **53,** 219.

— 1943 a : Pektin als hochpolymerer Elektrolyt. Mitt. aus dem Gebiete der Lebensmittelforschung und Hygiene **43,** 41. Bern.

Dragendorf, E., 1882: Die qualitative und quantitative Analyse von Pflanzenteilen. Göttingen.

Freudenberg, K., Gudjons, Dumpert, 1941: Bestimmung freier und gebundener Hexuronsäuren. Ber. d. d. chem. Ges. **74**, 245.

Frey-Wyßling, A., 1935: Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen. Berlin. S. 82.

— 1945: Das Streckungswachstum der pflanzlichen Zelle. Arch. d. Jul.-Klaus-Stiftung, Ergänzungsband zu Bd. **20**, 381.

Gäumann, E., 1930: Untersuchungen über den Einfluß der Fällungszeit auf die Eigenschaften des Fichten- und Tannenholzes. II. Teil, Beiheft Nr. 6 zu den Zeitschr. des schw. Forstvereins. S. 80.

Griffioen, K., 1938: On the origin of lignin in the cellwall. Diss. Utrecht, Amsterdam, 1938.

Gundermann, J., Wergin, W., Heß, K., 1937: Über die Natur und das Vorkommen der Primärsubstanz in den Zellwänden der pflanzlichen Gewebe. Ber. d. d. chem. Ges. **70**, 517.

Hansteen-Cranner, B., 1919: Beiträge zur Biochemie und Physiologie der Zellwand und der plasmatischen Grenzschichten. Ber. d. d. chem. Ges. **37**, 380.

Henglein, F. A., 1943: Über Protopektin und Protocellulose. Journ. f. Makromolekularchemie **1**, 121.

Heß, K., Engel, W., 1940: Pektin als Wandbestandteil bei der Ontogenese des Baumwollhaares. Naturwiss. **28**, 143.

— Trogus, C., Wergin, W., 1936: Untersuchungen über die Bildung der pflanzlichen Zellwand. Planta **25**, 419.

— Wergin, W., Kießig, H., Engel, W., Philippoff, W., 1939: Untersuchungen über die Ontogenese und den chemischen Aufbau der pflanzlichen Zellwand. Naturwissenschaften **27**, 622.

— Wergin, W., Kießig, H., 1942: Zur Frage des Aufbaues der Primärwand der Baumwollhaare. Planta **33**, 151.

Hüni, K., 1944: Physikalische und chemische Untersuchungen an Dürrfutter verschiedenen Gärungszustandes. Mitt. aus dem Inst. f. Agrikulturchemie ETH.

Jost, L., 1913: Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. S. 372. Jena.

Lehmann, O., 1931: Die quantitative Erfassung kleinster Mengen biologisch wichtiger Zuckerarten unter Ausschluß nicht kohlehydratartiger Körper. Planta **13**, 575.

Link, K., 1929: The chemical composition of cornseedlings. Journ. Amer. Chem. Soc. **51**, 2506.

Meyer, K. H., 1940: Die hochpolymeren Verbindungen. S. 206, 326. Leipzig.

Nakamura, Y. und Heß, K., 1938: Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung der Maiskoleoptile. Ber. d. d. chem. Ges. **71**, 145.

Normann, A. G., 1937: The biochemistry of cellulose, the polyuronides, lignin etc. Oxford.

Overbeck, F., 1934: Beiträge zur Kenntnis der Zellstreckung. Untersuchungen am Sporogonstiel von Pellia epiphylla. Zs. f. Bot. **27**, 129.

Pallmann, H., Weber, Fr., Deuel, H., 1944: Der Apfeltrester als Rohstoff für die Pektinfabrikation. Schweiz. Landw. Monatshefte **22**, 306, 334.

Ripa, R., 1937: Die Pektinstoffe. Braunschweig.

Ruge, U., 1937: Untersuchungen über den Einfluß von Heteroauxin auf das Streckungswachstum des Hypokotyls von Helianthus annuus. Zs. f. Bot. **31**, 1.

Schneider, G. und Bock, H., 1937: Über die Konstitution der Pektinstoffe. Ber. d. d. chem. Ges. **70**, 1617.

Schoch-Bodmer, H., 1937: Beobachtungen über die Filamentstreckung bei Secale cereale. Verh. d. schw. naturf. Ges., 150.

Schulze, 1890: Klein's Handbuch für Pflanzenanalyse, Bd. III/1, S. 30. Wien 1931.

Sierp, H., 1936: Pflanzenphysiologie, im Lehrbuch für Botanik, begründet von E. Straßburger, Jena.

Sisson, W. A., 1937: Identification of cellulose in young cotton fibers by x-ray diffraction analysis. Contr. Boyce Thompson Inst. **8**, 389.

Smirnov, A. I., 1928: Über die biochemischen Eigentümlichkeiten des Alterns der Laubblätter. Planta **6**, 687.

Staudinger, H., 1932: Die hochpolymeren organischen Verbindungen. Berlin.

Strepkov, S. M., 1937: Apparat zur Extraktion der Kohlehydrate bei der Mikroanalyse der Pflanzenstoffe. Zs. f. anal. Chemie **108**, 406.

— 1937 a: Die Differenzierung des Kohlehydratkomplexes bei der Mikroanalyse der Pflanzenstoffe. Biochem. Zs. **290**, 378.

— 1937 b: Mikroanalyse der Kohlehydrate in Pflanzenstoffen. Zs. f. anal. Chemie **111**, 57.

— 1937 c: Die Bestimmung der Pektinstoffe. Bot. Arch. **38**, 399.

Thimann, K. V. und Bonner, J., 1933: The mechanism of the action of growth substance of plants. Proc. Roy. Soc., London, **113**, 126.

Waksman, S. A., 1939: Verhandlungen der 3. Kommission der intern. bodenkundl. Ges. 1939. Vol. A, 101.

Weber, E., 1942: Über die Optik und die Struktur der Pflanzenwachse. Ber. d. schw. Bot. Ges. **52**, 111.

Weber, F., 1944: Untersuchungen über die Stabilität von Pektin in saurer, wässeriger Lösung. Diss. ETH.

Weinland, H., 1941: Das Wachstum der Hypanthien bei den Oenotheren. Zs. f. Bot. **36**, 401.

Went, F. A. F. C., 1931: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie von S. Kostitschew, Berlin. S. 259.

Wiegner-Pallmann, 1938: Anleitung zum quantitativen agrikulturchemischen Praktikum. 2. Auflage, S. 284. Berlin.

Wuhrmann-Meyer, K. und M., 1939: Über Bau und Entwicklung der Zellwände in der Avena-Koleoptile. Jb. f. wiss. Bot. **87**, 642.

Zeller, A., 1936: Untersuchungen über die Umwandlung höherer Fettsäuren in Kohlehydrate bei der Keimung von Kürbissamen. Jb. f. wiss. Bot. **82**, 123.