

von Verunreinigungen (einschließlich der Bestandteile des Zellinnern) befreit wurde.

Die Methylierung erfolgt mit Dimethylsulfat in 45%iger Natronlauge bei 60° in einem Arbeitsgang (Methoxylgehalt +2—+3 % statt 45,6 %). Nach der Spaltung der Methylcellulose in üblicher Weise etwa durch +1%ige Salzsäure und Glucosidifizierung mit methylalkoholischer Salzsäure erfolgt die Trennung der Methylzucker. Durch Destillation werden Tri- und Tetramethyl-methylglucosid von der Hauptmenge der minder methylierten höhersiedenden Anteile, die im Kolben verbleiben, abgetrennt. Wir entfernen dann aus dem Gemisch von Penta- und Tetra-methylzucker die Hauptmenge der 2.3.6-Trimethyl-glucose durch Verseifen des Gemisches (Abspaltung der Glucosidgruppe) und Kristallisation sowie Umkristallisieren des Trimethylzuckers. Die gesammelten Mutterlaugen werden wieder glucosidifiziert und das Tetramethylmethylglucosid in folgender Weise quantitativ abgetrennt. Mit einem Gemisch von Phosphoroxchlorid und Pyridin, das den Pentaäther unangegriffen läßt, werden die OH-Gruppen enthaltenden Zucker phosphoryliert und die Phosphorsäureester in die in Äther völlig unlöslichen Bariumsalze übergeführt. Der Ätherextrakt der Salze enthält nur Pentamethylglucose, die nach dem Abtreiben des Äthers durch Methoxylzahl, Drehwert usw. gegebenenfalls nach Destillation über Natrium identifiziert und quantitativ bestimmt werden kann. Dieses Verfahren ist durch die Untersuchung künstlicher Mischungen auf seine Genauigkeit geprüft worden.

**Tabelle 1. Bestimmung der Kettenlänge der Cellulose nach der Endgruppenmethode.**

Versuchs-Nr.	Ausgangsmaterial für die Methylierung	2.3.4.6-Tetramethylglucose im Hydrolysenprodukt in %	Kettenlänge in Glucose-Einheiten
1	Cellit ( <i>Haworth</i> u. Mitarb.)	0,60	160
2	Cellit (nach <i>Haworth</i> -Vorschrift von <i>Heß</i> u. Mitarb.)	1,23	80
3	Cellit (besonders gereinigt von <i>Heß</i> u. Mitarb.)	0,70	140
4	Ramie (techn. gebleicht)	0,28	360
5	Baumwolle (schonend gereinigt); 200 cm <sup>3</sup> Dimethylsulfat/20 g Baumwolle	0	∞
6	Baumwolle (schonend gereinigt); 400 cm <sup>3</sup> Dimethylsulfat/20 g Baumwolle	0	∞

In Tab. 1 ist das Ergebnis der Untersuchung zusammengestellt. Versuch Nr. 1 ist der von *Haworth* angegebene Versuch. Versuche Nr. 2 und 3 sind das Ergebnis der Nachprüfung der *Haworth*schen Angaben an Cellit, wobei aber die Anteile an 2.3.4.6-Tetramethyl-glucose mitberücksichtigt sind, die bei der Abtrennung durch Destillation bei der Hauptmenge der Spaltzucker verbleiben. Versuch Nr. 4 entspricht unseren Ergebnissen an technisch gebleichter Ramie, wobei die Ramie unmittelbar mit Dimethylsulfat und Alkali methyliert worden ist. Versuche Nr. 5 und 6 sind die Versuche mit sorgfältigst gereinigter Rohbaumwolle, wobei in Versuch Nr. 5 200 cm<sup>3</sup> Dimethylsulfat je 20 g und in Versuch Nr. 6 400 cm<sup>3</sup> Dimethylsulfat je 20 g verwendet wurden, um gegebenenfalls festzustellen, ob bei der Methylierung durch ungünstige Konzentrationsverhältnisse am Reaktionsort eine partielle Hydrolyse erfolgt.

Nach diesen Ergebnissen ist festzustellen, daß die natürliche Baumwolle bei zweckentsprechender Anwendung der Endgruppenbestimmung eine Endgruppe überhaupt nicht erkennen läßt und daß die von *Haworth* mitgeteilten Ergebnisse auf eine unzuverlässige Wahl des Ausgangsmaterials zurückgeführt werden müssen.

Es erhebt sich die Frage, ob nun die Cellulose auch tatsächlich keine Endgruppe im Sinne der Kettenhypothese besitzt. Mit Hilfe einer von *F. Neumann* entwickelten Mikrotechnik zur Erfassung kleinster Mengen Pentaäther gelingt es, in künstlichen Mischungen noch 10 mg des Pentaäthers praktisch vollständig wiederzufinden. Da selbst bei Verwendung von 250 g Baumwolle (die Methylierung erfolgt in einer Ausbeute von 95—96% d. Th.) kein Pentaäther gefunden wird, so ergibt sich als nächstliegende Folgerung, daß im Cellulosemolekül tatsächlich keine Endgruppe vorhanden ist. Es muß dementsprechend mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß in der Cellulose keine offene Kette sondern ein z. B. vielgliedriges Ringgebilde vorliegt.

Durch die exakte Ausarbeitung der Endgruppenbestimmung bei der Cellulose (bei den übrigen Polysacchariden bedarf die Frage ebenfalls der Überprüfung) ist man jetzt in die Lage versetzt, auch die Um- und Abwandlungsprodukte dieses Polysaccharides sehr genau auf Endgruppen zu untersuchen, die bei einer großen Zahl von Einwirkungen, z. B. Hitzedepolymerisation, Faserreinigung, Lichteinfluß usw., entstehen. Es ist zu erwarten, daß derartige Versuche in der Frage nach der Ringstruktur der Cellulose weiterführen. [A. 116.]

## Über das Wachstum pflanzlicher Zellwände.

Von Dr. WILHELM WERGIN.

(Eingeg. 10. Juli 1936.)

Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie, Abt. K. Heß, Berlin-Dahlem.

Vorgetragen in der Fachgruppe für Organische Chemie auf der 49. Hauptversammlung des V. D. Ch. in München am 10. Juli 1936.

Für die Erforschung der pflanzlichen Zellwand und im besonderen der Cellulose stehen zwei Wege offen: Man kann alte, ausgewachsene Wände analysieren oder das Werden der Zellwand in situ verfolgen. Der zweite Weg stellt eine unbedingt notwendige Ergänzung des ersten dar. Er erscheint heute trotz mancher Schwierigkeiten gangbar und ist von uns beschritten worden. Die vorliegende Untersuchung über das Wachstum pflanzlicher Zellwände zerfällt in zwei Teile. Im ersten Teil wird das Wachstum junger Zellwände röntgenographisch verfolgt, im zweiten Teil wird auf Änderungen der Zellwand in Beziehung zu Vorgängen im Zellplasma eingegangen.

Über die Zeit der Bildung und den Bildungsort der Cellulose ist bisher wenig Sicheres bekannt. Man weiß nicht, ob diese Gerüstsubstanz im Protoplasma gebildet und als fertiges Substrat an die schon gebildete Wand angelagert wird, oder ob Vorstufen der Cellulose an den endgültigen Bestimmungsort gebracht und erst dort zu der

gittermäßig geordneten Cellulose umgebaut werden. Die gebräuchlichen botanischen Diagnostizierungsmethoden sind nicht eindeutig und differenzierend genug. Es müssen exaktere Methoden herangezogen werden. Liegen in den Objekten kristalline Anteile vor, so vermittelt das Röntgendiagramm weitergehende Aufschlüsse. Cellulose kommt bekanntlich in kristalliner Form in der Zellwand vor und liefert ein sehr charakteristisches Interferenzbild. Es ist daher mit Hilfe der Röntgenmethode möglich, den Zeitpunkt zu bestimmen, an dem die Cellulose erstmals im Laufe der Ontogenese einer Zellwand auftritt. Daneben können etwa vorhandene andere kristalline Bestandteile erkannt werden, während amorphe Stoffe der Röntgenanalyse entgehen.

Die bisherigen röntgenographischen Untersuchungen sind kurz folgende: *K. Heß* und *C. Trogus*<sup>1)</sup> haben junge Buchentriebe untersucht und nur schwache, unscharfe

<sup>1)</sup> Liebigs Ann. Chem. 466, 64 [1928].

*Debye-Scherrer*-Interferenzen gefunden, die mit zunehmendem Alter schärfer wurden und das Interferenzbild der Cellulose erkennen lassen. *G. L. Clark*<sup>2)</sup> hat junge Baumwollhaare in verschiedenen Wachstumsstadien untersucht und festgestellt, daß bis zu 35 Tagen nach dem Abfall der Blütenblätter im Röntgendiagramm nur eine breite *Debye-Scherrer*-Interferenz auftritt, von  $d = 4,47 \text{ \AA}$  bis  $d = 3,88 \text{ \AA}$ . Vom 35. Tage an beobachtet *Clark* in dieser Interferenz ein Intensitätsmaximum, das sich im Laufe des fortschreitenden Wachstums unter Verschärfung der Interferenzen im Sinne einer Verkleinerung des Netzebenenabstandes verschiebt und schließlich in die Hauptäquator-Interferenz 002 der Cellulose ( $d = 3,88 \text{ \AA}$ ) übergeht, wobei sich gleichzeitig ein Faserdiagramm entwickelt. *Clark* nimmt an, daß im Laufe der Entwicklung entsprechend der Abnahme des Gitterabstandes eine Entquellung der Cellulose stattfindet und daß dabei eine Einfügung der Cellulosemoleküle in das endgültige Gitter erfolgt.

Eine weitere Untersuchung stammt von *A. N. J. Heyn*<sup>3)</sup>, der die getrocknete Epidermis der Avena-Koleoptile (Hülle des Haferkeimlings) untersucht hat. Auch *Heyn* findet einen breiten Interferenzstreifen (von  $d = 4,26 \text{ \AA}$  bis  $d = 3,60 \text{ \AA}$ ). In diesem breiten Ring erkennt *Heyn* drei Zonen, von denen die mittlere mit der Interferenz 002 der natürlichen Cellulose zusammenfällt. *Heyn* spricht die äußeren Zonengrenzen als charakteristisch für die Zellwand der Avena-Koleoptile an.

Für die Untersuchung der Entwicklung der pflanzlichen Zellwand sind die Samenhaare der Baumwolle besonders geeignet, weil jedes Haar eine einzige, nicht im Gewebeverband liegende Zelle darstellt. Es wurden daher bei den vorliegenden Untersuchungen auf Anregung von Prof. *Heß* in erster Linie **Baumwollhaare** verwendet und zur Aufklärung des Widerspruches in den Ergebnissen von *Clark* und *Heyn* zum Vergleich Avena-Koleoptilen herangezogen. Die Röntgenaufnahmen wurden von Dr. *Trogus* und später von Dr. *Gundermann* ausgeführt, wobei auf die besondere Eigenart der Präparate Rücksicht genommen werden mußte.

Die jungen Haare wurden in verschiedenen Wachstumsstadien, vom 9. Tage nach Abfall der Blütenblätter an, den Kapseln entnommen und senkrecht zur Faserachse durchstrahlt. Es ließen sich bis zum reifen Haar zwei sehr charakteristisch zu unterscheidende Stadien erkennen. Bis zum 35. Tage treten im Röntgendiagramm überhaupt keine Interferenzen von Cellulose auf, sondern *Debye-Scherrer*-Interferenzen, die sich nach Lage und Intensität eindeutig von denen der Cellulose unterscheiden. Besonders typisch für dieses Diagramm sind zwei Ringe  $d = 4,20 \text{ \AA}$  (innerer Ring) und  $d = 3,75 \text{ \AA}$  (äußerer Ring). Vom 35. Tage an treten neben diesen Interferenzen die Interferenzen der Cellulose auf, und zwar sofort als Faserdiagramm. Mit fortschreitendem Wachstum verschärfen sich die Interferenzen der Cellulose, wobei die zuerst vorhandenen Interferenzen zurücktreten, um schließlich gänzlich zu verschwinden. Nach diesen Befunden müssen wir annehmen, daß während des Wachstums der Baumwollhaare zwei kristalline Bestandteile in den Haaren auftreten, die erste Substanz ungeordnet, die zweite längs der Faserachse geordnet. Die erste Substanz ist von Cellulose völlig verschieden. Wir nennen sie vorläufig Primärschubstanz, die zweite Substanz ist die Cellulose (s. Abb. 1).

Nach diesen Feststellungen wird das Ergebnis von *Clark* verständlich. Die *Clarksche* Interferenzwanderung ist sicher durch Superposition von Primärschubstanzring 1 und der Interferenz der in steigendem Maße auftretenden

Cellulose vorgetäuscht worden. Interferenzwanderungen sind von *Heß* und Mitarb. schon mehrfach auf dem Cellulosegebiet bei röntgenographisch verfolgten chemischen Umsetzungen der Cellulose beobachtet worden und konnten stets als Superpositionseffekte nachgewiesen werden (Abb. 2).

Im Anschluß an die Untersuchungen der Baumwollhaare wurden **Avena-Koleoptilen** untersucht, und zwar Epidermis und Parenchymgewebe getrennt. In Abb. 3 ist das Interferenzbild der Epidermis der Avena-Koleoptile wiedergegeben, aus dem hervorgeht, daß die bei Baumwollhaaren aufgedeckte Primärschubstanz auch bei den Avena-Koleoptilen auftritt, und zwar in einer besonders scharfen Ausprägung. Neben

diesen Hauptinterferenzen ( $d = 4,17 \text{ \AA}$  und  $d = 3,80 \text{ \AA}$ ) treten noch mehrere Interferenzlinien auf, die, wie weitere Untersuchungen ergeben haben, auch zum Diagramm der

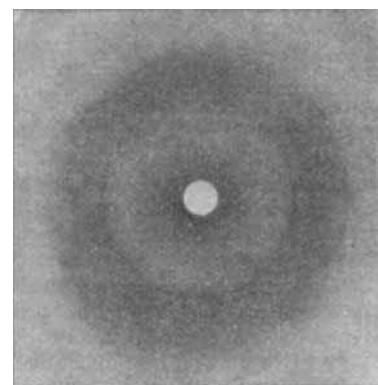


Abb. 1.  
Röntgendiagramm von 24 Tage alten Baumwollhaaren unt. 70%ig. Äthanol.

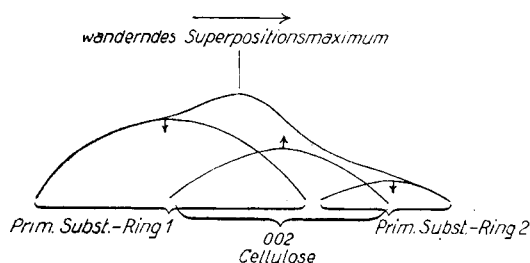


Abb. 2.  
Schematische Darstellung für das Zustandekommen der Wanderung eines Interferenzmaximums durch Superposition im Falle wachsender Baumwollhaare. (Abnahme der Intensitäten von Primärschubstanzring 1 und 2, Zunahme von 002 der Cellulose.)

Primärschubstanz gehören. Damit ist auch das Ergebnis von *Heyn* verständlich geworden. Die Ränder seiner Interferenzzonen entsprechen der Lage der Hauptinterferenzen der Primärschubstanz (Abb. 4). Im Gegensatz zu den *Heynschen* Aufnahmen treten aber bei unseren Kulturen die Interferenzen der Cellulose, namentlich in jungen Stadien, stark zurück. Wir neigen zu der Annahme, daß in den Koleoptilen in den Stadien, in denen sie ihre biologische Funktion zu erfüllen haben, die Primärschubstanz die übergeordnete Bedeutung hat.

Im Anschluß an die Untersuchungen an Baumwolle und Avena-Koleoptilen wurde noch eine Reihe anderer Gewebe auf die Anwesenheit von Primärschubstanz untersucht und festgestellt, daß sie auch im Blattgewebe, z.B. besonders schön bei *Tradescantia*, dann auch in reifen Samenhaaren vom Wollgras (*Eriophorum angustifolium*)

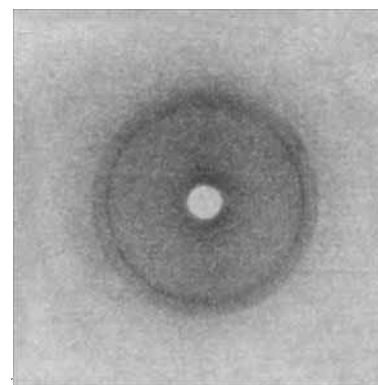


Abb. 3.  
Röntgendiagramm der Epidermis einer jungen Avena-Koleoptile.

<sup>2)</sup> Ind. Engng. Chem. **22**, 481 [1930].

<sup>3)</sup> Protoplasma **21**, 299 [1934].

und vielen anderen Geweben vorkommt. Gerade das Vorhandensein in reifen Wollgrassamenhaaren, die nur noch sehr geringe Reste Zellplasma aufweisen, zeigt, daß die Substanz nicht nur vorübergehend beim Wachstum einer Zelle auftritt.

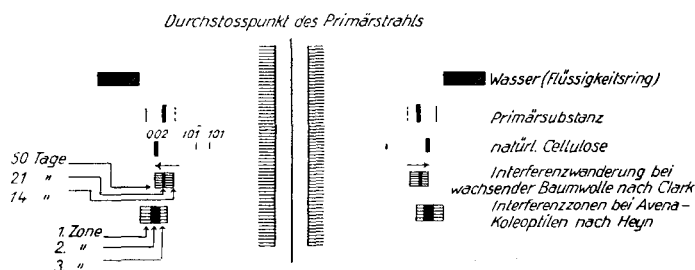


Abb. 4.

Schematische Darstellung der Interferenzlagen von Wasser, Primärsubstanz und natürlicher Cellulose im Vergleich mit der Interferenzwanderung bei wachsender Baumwolle nach Clark und den Interferenzzonen bei Avena-Koleoptilen nach Heyn.

Der Primärsubstanz kommt demnach unzweifelhaft eine allgemeine Bedeutung im Wachstum pflanzlicher Zellwände zu. Versucht man, die Rolle dieser Substanz für die Entwicklung der Zellwand abzugrenzen, dann ergibt sich folgendes: In Abb. 5 sind die Einzelhaare der verschiedenen Wachstumsstadien mikrophotographisch wiedergegeben. Daraus geht zunächst hervor, daß der Zeitpunkt, an dem die Cellulose auftritt, mit dem Beginn des

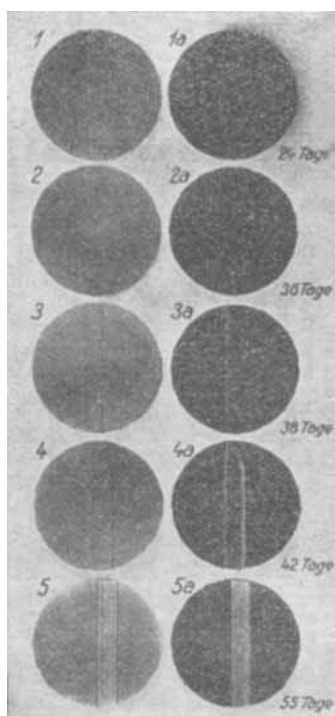


Abb. 5.

Baumwollhaare verschiedenen Alters. Nr. 1—5 im gewöhnlichen Licht, Nr. 1a—5a im polarisierten Licht\*. (Vergröß. etwa 1:100.)

Dickenwachstums der Zellwand zusammenfällt, so daß die Primärsubstanz diejenige Zellwandsubstanz darstellt, an der sich das Streckungswachstum vollzieht. Im besonderen spielen sich also an ihr die durch F. A. F. C. Went und F. Kögl erschlossenen Wirkungen des Auxins ab. Wie aus der gleichen Abbildung ersichtlich ist, ist die Breite

der Haare von vornherein gegeben; sie ändert sich im Laufe des Dickenwachstums grundsätzlich nicht mehr. Die Primärsubstanz dürfte also als die Substanz angesprochen werden, die für die erste Formung der Zellhaut in Frage kommt. Die Cellulose dagegen ist die Komponente, die für die weitere Versteifung bzw. Verstärkung der Wand in Anspruch genommen wird.

Nach diesen Feststellungen kommt für eine Untersuchung der Cellulosebildung im Rahmen der einleitend gegebenen Fragestellung die Zeit nach dem 35. Tage in Frage. Hierfür ist neben der Untersuchung der Zellwand selbst die Untersuchung des Zellplasmas notwendig. Es wurde daher zunächst der Inhalt der Haare in den verschiedenen Reifestadien im Dunkelfeld untersucht. Dabei beobachtet man in der Flüssigkeit des Innenschlauches eine Reihe von schwingenden Teilchen, die in bezug auf Größe nicht gleichwertig sind. Neben größeren, langsamer schwingenden Teilchen fallen kleinere, lebhafter schwingende auf.

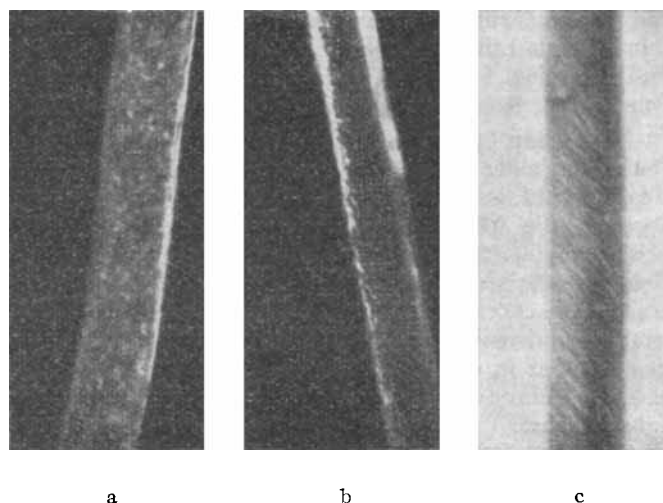


Abb. 6.

Baumwollhaare. 43 Tage alt. 6a und 6b im Dunkelfeld, 6c im Hellfeld nach Färbung mit Chlorzinkjod. (Vergröß. etwa 1:400.)

In den Abb. 6a, b, c sind Einzelaufnahmen eines Kinosfilmes von 43 Tage alten Baumwollhaaren wiedergegeben. Partikelchen, die im Protoplasma lebhaft schwingen, leuchten im Dunkelfeld hell auf (Abb. 6a). Bei Einstellung der optischen Schnittebene auf die Oberseite des Haares wird eine Streifenstruktur erkennbar, die aus scheinbar perlkettenartig angeordneter Zellwandsubstanz besteht und deren Längsrichtung mit der Richtung der Micellarreihen der Cellulose zusammenfällt. Für die Beurteilung dieser Strukturen ist wichtig, daß sie erst nach Anlage der sekundären, cellulosehaltigen Wandschicht auftreten (Abb. 6b). Wie aus der Anfärbung mit Chlorzinkjod hervorgeht, fällt die Richtung der Streifen mit der Längsrichtung der anisotropen Cellulosemicelle zusammen (Abb. 6c).

Welche Beziehungen zwischen den in Frage stehenden, verschiedenartigen, schwingenden Teilchen des Protoplasmas und den perlkettenartigen Aufreihungen in der Wand bzw. dem optisch inhomogenen Aufbau der sekundären Cellulosewand bestehen, ist zurzeit noch ungeklärt. Die im Protoplasma suspendierten frei beweglichen Teilchen werden von Celluloseeagenzien nicht in der für Cellulose charakteristischen Weise gefärbt. So muß man im gegenwärtigen Stadium der Untersuchung in bezug auf die Frage nach dem Entstehungsort der Cellulose noch sehr zurückhaltend sein. Es ist aber sehr wahrscheinlich, daß die aus dem Zellsaft sich abscheidenden Bestandteile nicht chemisch einheitlich sind und daß bei dem Aufbau der Zellwand auch lebendes Protoplasma mit eingebaut wird. [A. 120.]

\*) Entgegen einer früheren Bemerkung (vgl. Planta 25, 432 [1936]) ist die Primärsubstanzhaut positiv doppelbrechend.