

# Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich

unter Mitwirkung von

W. BRUNNER, A.U. DÄNIKER, R. EDER, H. FISCHER, A. FREY-WYSSLING, H. GUTERSOHN,  
P. KARRER, P. NIGGLI, P. SCHERRER, A. SPEISER, FR. STÜSSI UND K. ULRICH

herausgegeben von

HANS STEINER, ZÜRICH 7

Druck und Verlag: Gebr. Fretz AG., Zürich

Nachdruck auch auszugsweise nur mit Quellenangabe gestattet

Jahrgang 88

HEFT 3

30. September 1943

## Abhandlungen

# Der Einfluss von Heteroauxin auf die Quellung von Membransubstanzen

Von

F. BLANK und H. E. DEUEL

(Pflanzenphysiologisches und Agrikulturemisches Institut der E.T.H. in Zürich)

## I. Einleitung

Die Zellstreckung umfasst nicht nur Veränderungen des Protoplasmas und anderer Inhaltsstoffe der sich streckenden Zelle, sondern sie ist auch durch Veränderungen der Zellwände selbst gekennzeichnet. Die für die Streckung notwendige Mitwirkung der Phytohormone darf deshalb nicht in der Beeinflussung eines Teilvorganges allein gesucht werden. Zahlreiche Untersuchungen weisen in der Tat darauf hin, dass die Wuchsstoffwirkung in vielen physiologischen Teilvorgängen ihren Ausdruck finden kann.

So konnten THIMANN und SWEENEY (1937) und SWEENEY und THIMANN (1938) einen Einfluss von Indol-3-Essigsäure auf die Plasmaströmung nachweisen. In einer späteren Untersuchung fanden COMMONER und THIMANN (1941) eine Beziehung der Phytohormone zum Atmungsvorgang. Auch das von BLANK und FREY-WYSSLING (1940, 1941) beobachtete und gemessene Plasmawachstum dürfte in engem Zusammenhang mit dem Wirkungsmechanismus der Phytohormone stehen. Die gleiche Feststellung wird auch die Zunahme des osmotisch wirksamen Materials des Zellsaftes betreffen, wie sie von BECK (1941) und BURSTRÖM (1942 a) während der Zellstreckung beobachtet wurde.

Was die Wirkung der Phytohormone auf die Zellwände anbetrifft, so liegen vor allem Untersuchungen über die Änderungen der Membraneigenschaften von HEYN (1940) und SÖDING (1931, 1932, 1934) vor. BURSTRÖM (1942 a, 1942 b) hat aber den von HEYN benützten Begriff der Plastizität der Zellwand und die von letzterem Forscher angewandten Methoden einer berechtigten Kritik unterzogen. Schon vor ihm hatte FREY-WYSSLING (1939) auf den Unterschied zwischen künstlicher Dehnung, die in HEYN's Arbeiten eine Rolle spielt, und natürlichem Streckungswachstum bezüglich der Orientierung der Zellulose-Mizelle in der Zellwand hingewiesen. Die Ergebnisse der Untersuchungen von ROBBINS und JACKSON (1937), die eine erhöhte Dehnbarkeit der Zellwände von Stengel und Wurzeln durch Einwirkung von Heteroauxin ergaben, konnte STEWART (1938) bei der Nachprüfung nicht bestätigen.

Die Frage, ob und in welcher Weise die Phytohormone direkt den Quellungszustand der Zellwand zu beeinflussen vermögen, kann aus theoretischen und vor allem aus methodischen Überlegungen noch keineswegs als abgeklärt betrachtet werden. Es erschien uns deshalb wünschenswert, diese noch ungeklärte Frage weiter zu verfolgen und den Einfluss der Phytohormone auf die Quellung der Membransubstanzen zu untersuchen.

## II. Methoden und Material

Da es äusserst schwierig ist, den direkten Einfluss des Heteroauxins auf den Quellungszustand der Zellwände *in situ* zu beobachten, wurden Modellversuche angestellt. Dabei wurde besonders Wert darauf gelegt, dass — soweit wie eben möglich — die chemischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften der untersuchten Substanzen näher umschrieben waren.

Wenn das Streckungswachstum der Zellen auch durch den Einfluss der Phytohormone auf den physikalischen Zustand der Zellwände bedingt wäre, sollte die Affinität der hochmolekularen Kohlehydrate aus den Membranen zu Wasser durch die Phytohormone gesteigert werden. Die Messung der Quellungsgeschwindigkeit der trockenen Kohlehydrate in Pulverform und der Viskosität ihrer wässrigen Lösungen gestattet — *ceteris paribus* —, den Einfluss von Phytohormonen festzustellen.

Bis heute ist jedoch der Zusammenhang zwischen der Quellung und der Viskosität noch nicht völlig geklärt; doch hat schon LOEB (1924) auf das parallele Verhalten von Viskosität und Quellung bei Gelatine in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration aufmerksam gemacht. Die Erhöhung beider Grössen beim Wechsel der Quellungs- bzw. Lösungsflüssigkeit entspricht einer vermehrten Lyophilie der untersuchten Membransubstanz.

Es wurde der Einfluss von Heteroauxin, das nun auch von HAAGEN-SMIT, LEECH und BERGREN (1942) aus höheren Pflanzen (Cornmeal) isoliert wer-

den konnte, studiert. Leider standen uns Präparate anderer natürlicher Phytohormone nicht zur Verfügung.

### a) Bestimmung der Quellungsgeschwindigkeit

Die Quellungsmessungen wurden mit dem Enslin-Apparat, der von FREUNDLICH, SCHMIDT und LINDAU (1932) zur Untersuchung der Quellung von Tönen verwendet wurde, durchgeführt. Eine Abbildung und eine ausführliche Beschreibung dieses einfachen und leicht zu bedienenden Messinstrumentes sind in jener Arbeit enthalten.

Das Untersuchungsmaterial (0,1—0,5 Gramm in Pulverform) befindet sich in diesem Apparat auf einem Glasfilter. Das Glasgefäß unterhalb der Filterplatte und die angeschlossene kalibrierte Glaskapillare, die sich in gleicher Höhe mit dem Glasfilter befindet, sind mit Flüssigkeit (destilliertes Wasser, wässrige Heteroauxinlösung etc.) gefüllt. Man bestimmt die vom Membranstoff aufgenommene Flüssigkeitsmenge als Funktion der Zeit.

Das Quellungsmaximum kann nur bei begrenzt quellbaren Substanzen (Bentonite, Lichenin) bestimmt werden. Bei wasserlöslichen Stoffen (Pektin etc.), die theoretisch unbegrenzt quellbar sind, können nur die Anfangsstadien des Quellungsvorganges verfolgt werden. Im letzteren Falle muss zur Charakterisierung des Quellungszustandes die Quellungsgeschwindigkeit herangezogen werden.

Tabelle I

Quellung von 0,5 g Pektin A durch dest. Wasser bei 20° C

Aufgenommene Flüssigkeitsmenge in ccm	Benötigte Zeit	
	Versuch 1	Versuch 2
0,05	4' 46"	4' 30"
0,06	6' 08"	6' 08"
0,07	7' 42"	7' 52"
0,08	10' 10"	10' 30"
0,09	12' 50"	13' 03"
0,10	15' 30"	16' 05"
0,15	40' 40"	41' 52"
0,18	65' 45"	66' 40"
0,20	84' 20"	85' 03"
0,25	140' 40"	141' 50"
0,30	—	213' 00"
0,34	259' 00"	—

Der Enslin-Apparat war in einem grossen Thermostat bei  $20^{\circ} \pm 0,5^{\circ} \text{C}$  aufgestellt. Die Messungen konnten ohne Öffnung des Thermostaten von aussen vorgenommen werden.

Durch Vorversuche war jeweils die passende Menge der betreffenden Zellwandsubstanz für die Versuchsreihen ermittelt worden. Bei dieser Gelegenheit konnten wir uns auch von der Zuverlässigkeit der angewandten Untersuchungsmethode und der guten Reproduzierbarkeit der Resultate überzeugen. Ein Vorversuch, wie er aus Tabelle I ersichtlich ist, zeigt dies am Beispiel des Pektins.

Alle Messungen wurden doppelt ausgeführt.

Von der grossen Anzahl Messungen, die sich manchmal über einen Zeitraum von mehr als einer Woche erstreckten, sind in den folgenden Tabellen der Kürze wegen nur wenige Daten wiedergegeben.

### b) Bestimmung der Viskosität.

Die Viskosität der stark verdünnten, wässrigen Lösungen oder Sole wurde bei  $20^{\circ} \pm 0,03^{\circ}$  im Viskosimeter nach HÖPPLER (1934) bestimmt. Dieses Instrument arbeitet nach dem Prinzip der fallenden Kugel.

Die wasserlöslichen Membransubstanzen sind hydrophile Kolloide oder heteropolare Makromoleküle. Schon bei geringer Konzentration erhöhen sie die Viskosität des Wassers in starkem Masse. Die Viskositätssteigerung durch die gelöste Substanz hängt von deren Konzentration, der Molekülgrösse, Molekülform, des elektrischen Teilchenpotentials, der Temperatur etc. ab. Variiert — wie in unseren Messungen — in einer Versuchsreihe nur die Zusammensetzung des Lösungsmittels (destilliertes Wasser, wässrige Lösungen von Heteroauxin, Essigsäure und Salzsäure), so wird vor allem die elektrische Ladung der gelösten Membranteilchen verändert und dadurch ihre Solvatation, d. h. die von einem Teilchen adsorbierte Wassermenge. Im Gegensatz zu den Quellungsmessungen befinden sich die Systeme bei Bestimmung der Viskosität im Gleichgewicht.

Die Fallzeiten der Kugeln sind den absoluten Viskositäten der untersuchten Lösungen annähernd proportional. Zur Charakterisierung der Viskositätssteigerung durch die gelöste Membransubstanz wird folgende Kennzahl  $V$  verwendet:

$$V = \frac{T - T_0}{T_0 \cdot c},$$

wobei

$T$  = Fallzeit der Kugel im Lösungsmittel mit Membransubstanz in Sekunden,

$T_0$  = Fallzeit der Kugel im Lösungsmittel ohne Membransubstanz in Sekunden,

$c$  = Konzentration der Membransubstanz in Gramm pro 100 ccm Lösung.

### c) U n t e r s u c h t e M e m b r a n s u b s t a n z e n

**Pektin.** Es wurden zwei sehr gut gereinigte, pulverisierte Pektinpräparate aus Apfeltrestern der Unipektin A.-G., Zürich, verwendet. Die Präparate besaßen praktisch keine Beimengungen organischer Substanzen. Sie enthielten vom Fabrikationsgang her etwas Kieselgur und ca. 18 % Wasser. Beide Präparate besaßen sehr hohe Molekulargewichte. Die Pektine sind partiell mit Methylalkohol veresterte Polygalacturonsäuren. Präparat A besaß ein Äquivalentgewicht von 800, Präparat B ein solches von 600 (d. h. auf 800 bzw. 600 Gramm Pektin kamen je ein Äquivalent freie, unveresterte Carboxylgruppen). Die Viskosität dieser beiden Präparate hat DEUEL (1943) eingehend untersucht.

Die Bedeutung des Pektins als Wandbestandteil ist neuerdings wieder von HESS und ENGEL (1940) beim Streckungswachstum von Baumwollhaaren beobachtet worden. Nach diesen Untersuchungen macht das Pektin einen beträchtlichen Teil der jungen, streckungsfähigen Membran aus. Die universelle Verbreitung des Pektins in den Zellwänden, besonders in der Mittellamelle, ist allgemein bekannt. Es war daher naheliegend, das Pektin als Modellsubstanz zu verwenden. Aus der grossen Literatur sei nur auf die schönen Zusammenfassungen von BONNER (1936) und NORMAN (1937) verwiesen.

**Agar-Agar.** Verwendung fand ein für bakteriologische Zwecke bestimmtes Handelspräparat. Es wurde von uns durch Umfällung mit Salzsäure/Alkohol noch weiter gereinigt.

Agar-Agar ist ebenfalls ein hochmolekulares Kohlehydrat, das seinen sauren Charakter neben Carboxylgruppen auch noch seiner Veresterung mit Schwefelsäure verdankt.

Besonders PAULI und STERNBACH (1941) haben diesen aus Rotalgen extrahierten Membranstoff physikalisch-chemisch untersucht.

**Lichenin.** Dieses aus Flechten isolierte Polysaccharid verdanken wir der Zuvorkommenheit von Herrn Prof. Dr. P. KARRER, Chemisches Institut der Universität, Zürich, der es mit seinen Mitarbeitern (1934) aus Flechten (*Evernia vulpina*, *Usnea barbata* und *Parmelia furfuracea* Ach.) isoliert hat. Neuerdings ist dieser der Zellulose sehr ähnliche Membranstoff auch aus *Avena sativa* von MORRIS (1942) isoliert worden. Das Lichenin dürfte auch bei höheren Pflanzen weit verbreitet sein.

**Tuber Salep.** Das von uns untersuchte Pulver entspricht den Vorschriften der Pharmacopoea Helvetica, Editio Quinta (1933). Es wird aus Orchideenknollen gewonnen.

Die Quellbarkeit dürfte dieses Pulver zum grössten Teile seinem Gehalte an Mannan, das nach HUSEMANN (1940) ein mit Essigsäure verestertes Polysaccharid darstellt, verdanken. Mannane sind im Pflanzenreiche allgemein verbreitet und kommen nach GISVOLD und ROGERS (1939) u.a. im Samen von *Trigonella foenum graecum*, *Phoenix dactylifera* etc. vor.

**Stipes Laminariae.** Auch dieses Pulver ist ein nach den Vor-

schriften der Pharmacopoea Helvetica, Editio Quinta (1933) hergestelltes Präparat aus der Braunalge *Laminaria hyperborea* Gunnerus. Es findet seiner grossen Quellfähigkeit wegen für medizinische Zwecke Verwendung und wurde bereits vom Botaniker REINKE (1879) bei seinen Untersuchungen über die Quellung vegetabilischer Substanzen benutzt.

### III. Experimentelle Messungen der Quellung und der Viskosität

#### a) Pektin

In der Tabelle II sind die Resultate der Quellungsversuche mit Pektin A kurz zusammengefasst. Es werden stets nur drei Punkte der Kurve, die den Quellungsverlauf widerspiegelt, angegeben.

Tabelle II

Beeinflussung der Quellung von 0,5 g Pektin A bei 20° C durch Zusatz verschiedener Säuren zum dest. Wasser

Quellungsmittel	pH	Aufgenommene Flüssigkeitsmenge in ccm nach		
		45'	90'	180'
Dest. Wasser	5,3	0,155	0,205	0,276
10 <sup>-6</sup> n Heteroauxin	5,74	0,154	0,205	0,292
10 <sup>-4</sup> n »	5,46	0,152	0,201	0,269
10 <sup>-3</sup> n »	3,91	0,142	0,188	0,249
10 <sup>-2</sup> n »	3,42	0,134	0,177	0,230
10 <sup>-2</sup> n Essigsäure	3,54	0,140	0,192	0,263
10 <sup>-2</sup> n Salzsäure	2,06	0,120	0,192	0,250

Für das Pektin B, das weniger stark mit Methylalkohol verestert ist als das Präparat A, sind einige Messungen in Tabelle III angeführt.

Tabelle III

Beeinflussung der Quellung von 0,5 g Pektin B bei 20° C durch Zusatz verschiedener Säuren zum dest. Wasser

Quellungsmittel	pH	Aufgenommene Flüssigkeitsmenge in ccm nach		
		45'	90'	180'
Dest. Wasser	5,3	0,139	0,184	0,261
10 <sup>-6</sup> n Heteroauxin	5,74	0,132	0,190	0,266
10 <sup>-3</sup> n »	3,91	0,116	0,175	0,240
10 <sup>-3</sup> n Essigsäure	3,90	0,128	0,178	—

Die Viskosität von wässrigen Lösungen wurde nur mit dem Präparat A gemessen. Wie bei der Untersuchung der Quellungsgeschwindigkeit wurde neben dem Einfluss des Heteroauxins auch der von Essigsäure und Salzsäure geprüft.

Die Resultate von Messungen bei einer Pektinkonzentration von 0,062 g pro 100 ccm Lösung sind in Tabelle IV enthalten.

Tabelle IV  
Beeinflussung der Viskosität wässriger Pektinlösungen  
(0,062 g Pektin A in 100 ccm Lösung)  
bei 20,00° C durch Zusatz verschiedener Säuren

Lösungsmittel		pH	V
Dest. Wasser		3,56	8,90
Heteroauxin	1,15 · 10 <sup>-9</sup> n	3,58	8,85
	0,575 · 10 <sup>-8</sup> n	3,57	8,90
	1,15 · 10 <sup>-8</sup> n	3,57	8,90
	0,575 · 10 <sup>-7</sup> n	3,58	8,80
	1,15 · 10 <sup>-7</sup> n	3,58	8,75
	0,575 · 10 <sup>-6</sup> n	3,58	8,75
	1,15 · 10 <sup>-6</sup> n	3,57	8,80
	0,575 · 10 <sup>-5</sup> n	3,57	8,70
	1,15 · 10 <sup>-5</sup> n	3,56	8,90
	0,575 · 10 <sup>-4</sup> n	3,57	8,70
	1,15 · 10 <sup>-4</sup> n	3,61	8,70
	0,575 · 10 <sup>-3</sup> n	3,64	8,40
	1,15 · 10 <sup>-3</sup> n	3,48	8,10
	0,575 · 10 <sup>-2</sup> n	3,38	6,75
1,08 · 10 <sup>-2</sup> n	3,35	6,30	
Essigsäure	1,11 · 10 <sup>-5</sup> n	3,54	9,10
	1,11 · 10 <sup>-4</sup> n	3,56	9,10
	2,22 · 10 <sup>-4</sup> n	3,56	8,80
	5,55 · 10 <sup>-4</sup> n	3,54	8,75
	1,11 · 10 <sup>-3</sup> n	3,53	8,40
	2,22 · 10 <sup>-3</sup> n	3,49	8,10
	5,55 · 10 <sup>-3</sup> n	3,36	7,50
	1,11 · 10 <sup>-2</sup> n	3,22	7,00
Salzsäure	1,04 · 10 <sup>-5</sup> n	3,57	8,90
	1,04 · 10 <sup>-4</sup> n	3,56	8,05
	2,08 · 10 <sup>-4</sup> n	3,38	7,60
	5,21 · 10 <sup>-4</sup> n	3,19	6,55
	1,04 · 10 <sup>-3</sup> n	2,94	5,65
	2,08 · 10 <sup>-3</sup> n	2,66	5,25
	5,21 · 10 <sup>-3</sup> n	2,29	5,00
	1,06 · 10 <sup>-2</sup> n	2,00	5,10

Es erschien uns angebracht, die gleichen Versuche bei einer höheren Pektinkonzentration zu wiederholen. Über die gewonnenen Resultate gibt Tabelle V Auskunft.

Tabelle V  
Beeinflussung der Viskosität wässriger Pektinlösungen  
(0,124 g Pektin A in 100 ccm Lösung)  
bei 20,00° C durch Zusatz verschiedener Säuren

Lösungsmittel	pH	V
Dest. Wasser	3,32	7,90
Heteroauxin 1,15 · 10 <sup>-9</sup> n	3,32	8,00
1,15 · 10 <sup>-8</sup> n	3,32	7,90
1,15 · 10 <sup>-7</sup> n	3,32	7,90
1,15 · 10 <sup>-6</sup> n	3,33	7,90
1,15 · 10 <sup>-5</sup> n	3,31	7,90
1,15 · 10 <sup>-4</sup> n	3,32	7,95
1,15 · 10 <sup>-3</sup> n	3,32	7,60
1,08 · 10 <sup>-2</sup> n	3,24	6,95
Salzsäure 1,04 · 10 <sup>-5</sup> n	3,29	7,80
1,04 · 10 <sup>-4</sup> n	3,27	7,60
2,08 · 10 <sup>-4</sup> n	3,25	7,40
5,21 · 10 <sup>-4</sup> n	3,09	6,85
1,04 · 10 <sup>-3</sup> n	2,92	6,40
2,08 · 10 <sup>-3</sup> n	2,66	6,00
5,21 · 10 <sup>-3</sup> n	2,33	5,70
1,06 · 10 <sup>-2</sup> n	2,05	5,70

Die Resultate aller unserer Messungen lassen in keiner Weise auf einen spezifischen, die Quellung des Pektins begünstigenden Einfluss des Heteroauxins schliessen.

Bei der Messung der Quellungsgeschwindigkeit und der Viskosität zeigte sich bei Konzentrationen des Heteroauxins von  $\frac{1}{1000000000}$  bis  $\frac{1}{1000000}$  kein Einfluss im Vergleich mit destilliertem Wasser. Erst bei Konzentrationen des Heteroauxins von  $\frac{1}{1000}$  bis  $\frac{1}{100}$  — höhere Konzentrationen konnten wegen der geringen Löslichkeit des Heteroauxins in Wasser nicht untersucht werden — ergab sich eine Verminderung sowohl der Flüssigkeitsaufnahme beim Quellungsversuch als auch der Viskosität der Lösungen. Aus beiden Versuchsarrangements kann man also auf eine verminderte Solvation schliessen.

Die zum Vergleich mit Essigsäure und Salzsäure ausgeführten Bestimmungen zeigen, dass die Wirkung des Heteroauxins durchaus nicht spezifisch ist. Das Heteroauxin, die Indol-3-Essigsäure, wirkt nach unseren Messungen entsprechend seinem Säurecharakter. Hiermit bestätigt sich auch



von neuem, dass durch Säuren, die das Pektin in seiner Dissoziation zurückdrängen, die Affinität dieses Membranstoffes zu Wasser vermindert wird. Die Verminderung ist um so grösser, je grösser der Säurezusatz und je stärker die betreffende Säure ist, d. h. je tiefer das pH der Lösung, desto kleiner ist die Hydrophilie des Pektins.

Entsprechend seiner Dissoziationskonstante von  $1 - 3 \times 10^{-5}$ , die von KÖGL und KOSTERMANN (1935) gemessen wurde, wirkt das Heteroauxin ähnlich wie Essigsäure mit einer Dissoziationskonstante von  $1,8 \times 10^{-5}$ . Die Salzsäure, die bei diesen Verdünnungen völlig dissoziiert ist, vermehrt bei gleicher Normalität die Wasserstoffionenkonzentration stärker als Essigsäure und Heteroauxin und bedingt dadurch auch eine deutlichere Verminderung der Viskosität.

Wir wollen in diesem Zusammenhang nicht auf die Theorie der Quellung und Viskosität von Lösungen hochmolekularer Säuren wie Pektin, Agar-Agar etc. eingehen. Das parallele Verhalten des elektrischen Teilchenpotentials einerseits und der Quellung und Viskosität andererseits ist für diese Substanzen charakteristisch. Durch Säurezusatz (Heteroauxin, Essigsäure, Salzsäure) sinkt das Teilchenpotential der negativen Biokolloide und daher auch die Quellung und Viskosität. Das negativ geladene Pektin wird speziell durch die Kationen der zugesetzten Elektrolyte beeinflusst. Die Anionen sind bei den niedrigen, angewandten Konzentrationen von geringer Bedeutung.

Aus den Quellungsmessungen ergibt sich, dass das höher methoxylierte Pektin A nach gleicher Quellungsdauer mehr Wasser aufnimmt als Präparat B. Bei der Messung der Viskosität würden sich beide Präparate in gleicher Weise unterscheiden.

Der Vergleich der Tabellen IV und V zeigt, dass der V-Wert für destilliertes Wasser bei der geringeren Pektinkonzentration wegen höheren Dissoziationsgrades grösser ist. Bei hohen Zusätzen von Heteroauxin oder anderen Säuren sind umgekehrt die V-Werte der konzentrierteren Pektinlösungen höher als die der verdünnteren. Hier ist die Dissoziation ohne Bedeutung. Von Einfluss ist hier die mehr ins Gewicht fallende Strukturbildung der konzentrierteren Pektinlösung.

#### b) Agar - Agar

Für die Untersuchung der Quellung wurden je 0,5 Gramm gereinigter Agar-Agar in Pulverform verwendet. Während der ersten 20 Minuten wurden 1,1—1,8 ccm Flüssigkeit (destilliertes Wasser,  $\frac{1}{1000}$  Heteroauxin und  $\frac{1}{1000}$  Essigsäure) aufgenommen. Diese anfängliche Flüssigkeitsaufnahme ist vor allem auf die Füllung der Kapillaren zurückzuführen und schwer reproduzierbar.

Die Flüssigkeitsaufnahme nach 20 Minuten Versuchsdauer war sehr gering. Es zeigte sich kein gesetzmässiger Einfluss der untersuchten, stark verdünnten Elektrolytzusätze.

Wie aus Tabelle VI hervorgeht, verhält sich Agar-Agar bei den viskosimetrischen Untersuchungen ähnlich wie das Pektin. Der Zusatz der drei untersuchten Säuren (Heteroauxin, Essigsäure und Salzsäure) verminderte deutlich die Viskosität der Agar-Agar-Sole.

Tabelle VI  
Beeinflussung der Viskosität wässriger Agar-Agar-Lösungen  
(0,0151 g in 100 ccm Lösung) bei 20,00° C  
durch Zusatz verschiedener Säuren

Lösungsmittel	V
Dest. Wasser	11,05
$10^{-6}$ n Heteroauxin	10,57
$10^{-5}$ n »	11,67
$10^{-4}$ n »	10,36
$10^{-3}$ n »	8,74
0,75 · $10^{-2}$ n Heteroauxin	7,82
$10^{-4}$ n Essigsäure	9,74
$10^{-3}$ n »	8,28
$10^{-2}$ n »	6,97
$10^{-4}$ n Salzsäure	8,82
$10^{-3}$ n »	6,66

Diese Befunde entsprechen auch den Ergebnissen der elektrochemischen und kolloidchemischen Untersuchungen an Agar-Agar von DOKAN (1924) und PAULI und STERNBACH (1941). DOKAN stellte fest, dass die Quellung durch Zusatz verschiedener Säuren bei gleicher Wasserstoffionenkonzentration auf den gleichen Betrag vermindert wird. Der Einfluss der verschiedenen Anionen macht sich erst in Säurelösungen, die konzentrierter als  $\frac{1}{10}$  sind, bemerkbar.

### c) Lichenin

Die Quellungsversuche wurden mit je 0,1 Gramm Lichenin durchgeführt. Auch hier zeigt sich wieder anfangs eine sehr rasche Flüssigkeitsaufnahme. So wurden während der ersten 30 Sekunden jedes Versuches ca. 0,30 ccm Flüssigkeit (destilliertes Wasser,  $\frac{1}{1000}$  Heteroauxin,  $\frac{1}{1000}$  Salzsäure) aufgenommen. Diese starke Flüssigkeitsaufnahme ist nicht als wahre Quellung zu bezeichnen (Füllung der Kapillaren).

Eine weitere Aufnahme der untersuchten Flüssigkeiten war während der folgenden Stunden nicht messbar. Diese Tatsache ist darauf zurückzuführen, dass das untersuchte Lichenin wegen seiner äusserst geringen Löslichkeit in kaltem Wasser bei unserer Versuchstemperatur von 20° C kaum quillt.

d) Tuber Salep

Von 0,5 Gramm des benutzten Pulvers wurden bei der Untersuchung im Enslin-Apparat während der ersten zwei Minuten des Versuches jeweils im Mittel 0,17 ccm Flüssigkeit (destilliertes Wasser,  $\frac{1}{1000000}$ ,  $\frac{1}{10000}$ ,  $\frac{1}{1000}$  Heteroauxin,  $\frac{1}{1000}$  Essigsäure,  $\frac{1}{1000}$  Salzsäure) aufgenommen (Porenfüllung).

Die darauffolgende Quellung drückte sich bis zur neunzigsten Minute in einer Flüssigkeitsaufnahme von 0,073 bis 0,104 ccm aus. Dabei zeigte sich kein spezifischer und gesetzmässiger Einfluss der zugesetzten Säuren. Die Quellung hatte nach drei weiteren Stunden Versuchsdauer — wie beim Pektin — noch nicht ihr Ende erreicht.

Die für die Wasseraufnahme verantwortlichen Substanzen sind auch hier unbegrenzt quellbar. Die Wasseraufnahme ist hier nur etwa halb so gross wie beim Pektin, da es sich hier nicht um das extrahierte und gereinigte Mannan allein, sondern um die getrockneten und pulverisierten Orchideenknollen handelte.

In der Tabelle VII ist der Quellungsverlauf in destilliertem Wasser wiedergegeben.

Tabelle VII

Quellung von 0,5 g Tuber Salep (Ph. Helv. V.) durch dest. Wasser bei 20° C

Aufgenommene Flüssigkeitsmenge in ccm	Benötigte Zeit	
	Versuch 1	Versuch 2
0,18	3' 40"	4' 05"
0,19	9' 15"	9' 15"
0,20	17' 40"	17' 15"
0,21	28' 50"	24' 35"
0,22	40' 40"	39' 05"
0,24	64' 20"	62' 00"
0,26	92' 30"	89' 45"
0,29	142' 00"	138' 15"
0,32	200' 25"	200' 05"

e) Stipes Laminariae

Von 0,2 Gramm wurden innerhalb der ersten zehn Minuten 0,80 ccm Flüssigkeit (destilliertes Wasser,  $\frac{1}{1000000}$ ,  $\frac{1}{1000}$  Heteroauxin und  $\frac{1}{1000}$  Essigsäure) sorbiert. Die Quellung von der zehnten bis zur hundertsten Minute der betreffenden Versuche war nur noch durch 0,06 bis 0,07 ccm Flüssig-

keitsaufnahme gekennzeichnet. Bei dieser Quellungserscheinung war auch kein Einfluss des Elektrolytzusatzes zu beobachten.

#### IV. Diskussion

Aus den Ergebnissen unserer Untersuchungen geht klar hervor, dass das Heteroauxin keinen spezifischen Einfluss auf die Quellungsgeschwindigkeit der untersuchten Membransubstanzen ausübt. Die gleiche negative Feststellung betrifft den Einfluss des Heteroauxins auf die Viskosität der Lösungen von Membranbestandteilen. Ein spezifischer Einfluss des Heteroauxins ist also weder zu Beginn der Quellung (Messung der Quellungsgeschwindigkeit am Hydrogel) noch in jenem Zustand, in dem das System Quellungsmittel — gequollene Membransubstanz im Gleichgewicht ist (Messung der Viskosität des Hydrosols), feststellbar.

Die Ergebnisse unserer Quellungsversuche stehen im Gegensatz zu den Befunden RUGE's (1937 a, 1937 b, 1937 c, 1937 d, 1942). Letzterer will in seinen Untersuchungen eine wesentliche Steigerung des Quellungsvermögens von Membransubstanzen (Pektine, Lichenin, Tuber Salep etc.) durch Heteroauxin beobachtet haben. Unser gegenteiliger Befund hätte natürlich eine Nachprüfung von RUGE's Versuchen gerechtfertigt. Leider sind aber seine Angaben über die angewandte Versuchsmethodik so unvollkommen, dass wir auf die genaue Wiederholung der Versuche verzichteten.

RUGE hat auf Grund seiner Untersuchungsergebnisse eine neue Theorie über den Mechanismus des Streckungswachstums aufgestellt. Diese Theorie stützt sich weitgehend auf RUGE's Beobachtungen über den Einfluss des Heteroauxins auf die Quellung der Membransubstanzen und den sogenannten «Poreneffekt» CZAJA's (1930, 1933), den RUGE auch bei Avena-Koleoptilen festgestellt hat. RUGE's Theorie ist aber nicht unwidersprochen geblieben. So haben THIMANN und BONNER (1938) die Beweise RUGE's nicht als überzeugend angesehen, und BORRIS spricht sogar von «RUGE's nicht immer einwandfreien Befunden». Unsere eigenen Versuchsergebnisse sprechen, was den Einfluss des Heteroauxins auf die Quellung der Membransubstanzen betrifft, ebenfalls gegen die Auffassung RUGE's, dass die «Quellung der Intermizellarsubstanz die primäre Ursache des Streckungswachstums» ist. Ausserdem wird MICHEL (1943) in seiner These noch ausführlich darlegen, dass die Schlüsse, die CZAJA aus seinen Untersuchungen über die metachromatische Färbungen gezogen hat, der Korrektur bedürfen.

Wir möchten ausdrücklich darauf hinweisen, dass wir aus unseren Modellversuchen nicht den Schluss ziehen, dass bei der Zellstreckung nicht auch ein Quellungsprozess beteiligt sein kann. Desgleichen soll ein Einfluss der Wuchsstoffe auf die Eigenschaften der Zellwände sich streckender Organe nicht bestritten werden.

Der Mechanismus des Streckungswachstums ist trotz der vielen vorliegenden Untersuchungen noch keineswegs abgeklärt. Man darf aber mit

guten Gründen vermuten, dass die primären Ursachen der Zellstreckung im Protoplasma liegen, wie es bereits KLEBS (1888) angenommen hat. Heute wird diese Auffassung auch durch zahlreiche Ergebnisse der Untersuchungen über die Wirkungen der Wuchsstoffe, die in der Einleitung erwähnt wurden, gestützt. BOYSEN JENSEN (1939) bekennt sich ebenfalls zu dieser Auffassung: «Es herrscht also Einigkeit darüber, dass die primäre Auxinwirkung in jedem Fall auf das Plasma ausgeübt wird».

## V. Zusammenfassung

1. Es wurde der Einfluss von Heteroauxin auf die Quellungsgeschwindigkeit (Enslin-Apparat) und Viskosität (Höppler-Viskosimeter) an Membransubstanzen bei 20° C geprüft. Zur Untersuchung gelangten zwei Pektine verschiedenen Äquivalentgewichtes, Agar-Agar, Lichenin, Tuber Salep und Stipes Laminariae.

2. In physiologischen, das Streckungswachstum fördernden Konzentrationen war ein besonderer Einfluss des Heteroauxins im Vergleich zu destilliertem Wasser weder auf die Quellungsgeschwindigkeit noch auf die Viskosität der untersuchten Zellwandsubstanzen messbar.

3. Erst in Versuchen mit einer Heteroauxin-Konzentration von  $\frac{1}{1000}$  aufwärts machte sich eine deutliche Verminderung der Quellungsgeschwindigkeit (Pektin) und Viskosität (Pektin, Agar-Agar) bemerkbar. Diese Depression ist ebenso bei Verwendung anderer Säuren wie Essigsäure und Salzsäure zu beobachten. Der Effekt ist durch die Verminderung des elektrischen Teilchenpotentials durch Elektrolytzusatz bedingt. Von einem spezifischen Einfluss des Heteroauxins auf Quellungsgeschwindigkeit und Viskosität kann hier nicht gesprochen werden.

4. Bei den übrigen Zellwandsubstanzen (Agar-Agar, Tuber Salep und Stipes Laminariae) war ein besonderer Einfluss des Heteroauxins infolge der stärkeren Flüssigkeitsaufnahme in den Hohlräumen am Anfang der Versuchsreihen und des relativ geringen Quellungsvermögens nicht feststellbar.

5. Aus den Untersuchungen wird der Schluss gezogen, dass das Heteroauxin die Zellstreckung nicht auf dem Weg über die Quellung der Membransubstanzen beeinflusst.

Herrn Prof. Dr. A. FREY-WYSSLING (Pflanzenphysiologisches Institut) und Herrn Prof. Dr. H. PALLMANN (Agrikulturchemisches Institut) danken wir bestens für ihr Interesse an der Arbeit und die Überlassung der Institutsmittel.

### Literaturverzeichnis

- BECK, W. A., 1941: Production of Solutes in Growing Epidermal Cells. *Plant Physiology*, XVI . 637—642.
- BLANK, F., und FREY-WYSSLING, A., 1940: Der Stickstoffhaushalt der Roggenfilamente. *Verh. Schweizer. Naturf. Ges., Locarno*, 165—166.
- — 1941: Protoplasmawachstum und Stickstoffwanderung in der Koleoptile von *Zea Mays*. *Ber. Schweizer. Bot. Ges., Li* . 116—142.
- BONNER, J., 1936: The Chemistry and Physiology of the Pectins. *Bot. Rev.*, ii . 475—497.
- BORRIS, H., 1942: Besprechung von "The Physiology of Cell Elongation by A. N. J. Heyn". *Ber. wiss. Biologie*, LViii . 615—617.
- BOYSEN JENSEN, P., 1939: Die Elemente der Pflanzenphysiologie. Jena.
- BURSTRÖM, H., 1942 a: Die osmotischen Verhältnisse während des Streckungswachstums der Wurzel. *Annalen der Landwirtschaftlichen Hochschule Schwedens*, X . 1—30.
- 1942 b: The influence of Heteroauxin on Cell Growth and Root Development. *Ann. Agr. Coll. Sweden*, X . 210—240.
- COMMONER, B., and THIMANN, K.V., 1941: On the Relation between Growth and Respiration in the *Avena* Coleoptile. *J. Gen. Physiol.*, XXIV . 279—296.
- CZAJA, A. TH., 1930: Untersuchungen über metachromatische Färbungen von Pflanzengewebe. I. Substantive Farbstoffe. *Planta (Berl.)*, Xi . 582—626.
- 1933: Untersuchungen über metachromatische Färbungen von Pflanzengewebe. II. Basische Farbstoffe. *Planta (Berl.)*, XXI . 531—601.
- DEUEL, H. E., 1943: Kolloidchemische Untersuchungen an Pektinstoffen. *Ber. Schweizer. Bot. Ges.* Liii . 219—316.
- DOKAN, S., 1924: Die Wirkung der Elektrolyte auf die Quellung des Agar. *Kolloid-Zs.*, XXXIV . 155—161.
- FREUNDLICH, H., SCHMIDT, O., und LINDAU, G., 1932: Über die Thixotropie von Bentonit-Suspensionen. *Kolloidchem. Beih.*, XXXVI . 43—81.
- FREY-WYSSLING, A., 1939: The Submicroscopic Structure of Cell Walls. *Sc. Progr.*, XXXIV . 249—262.
- GISVOLD, O., and ROGERS, C. H., 1939: The Chemistry of Plant Constituents. Minneapolis.
- HAAGEN-SMIT, A. J., LEECH, W. D., and BERGREN, W. R., 1942: The Estimation, Isolation, and Identification of Auxins in Plant Materials. *Amer. J. Bot.*, XXIV . 500—506.
- HESS, K., und ENGEL, W., 1940: Pektin als Wandbestandteil bei der Ontogenese des Baumwollhaares. *Naturw.*, XXViii . 143—144.
- HEYN, A. N. J., 1940: The Physiology of Cell Elongation. *Bot. Rev.*, Vi . 515—574.
- HÖPPLER, F., 1934: The Most Accurate Universal Viscosimeter. *World Petroleum Congress 1933 . Proc.*, ii . 503—507.
- HUSEMANN, E., 1940: Über die Konstitution von Salepmannan. 246. Mitteilung über makromolekulare Verbindungen. *J. prakt. Chem.*, [2], CLV . 241—260.
- KARRER, P., STAUB, M., und STAUB, J., 1934: Über das Vorkommen von Lichenin (Reservezellulose) in Flechten und anderen Pflanzen. (5. Mitteilung über Lichenin.) *Helvetica Chimica Acta*, Vii . 159—162.

- Jahrg. 88. F. BLANK u. H. E. DEUEL. Einfluss v. Heteroauxin auf Membransubstanzen 175
- KLEBS, G., 1888: Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut zu Tübingen, ii . 489—568.
- KÖGL, F., und KOSTERMANN, D. G. F. R., 1935: Über die Konstitutionspezifität des Heteroauxins. 16. Mitteilung über pflanzliche Wachstumsstoffe. Zs. physiol. Chem., CCXXXV. 201—216.
- LOEB, J., 1924: Die Eiweisskörper und die Theorie der kolloidalen Erscheinungen. Berlin.
- MICHEL, W., 1943: Die Metachromasie der Benzidinfarbstoffe. Dissertation, Eidg. Technische Hochschule, Zürich.
- MORRIS, D. L., 1942: Lichenin and Arabin in Oats (*Avena sativa*). J. Biol. Chem., CXXXXii . 881—891.
- NORMAN, A. G., 1937: The Biochemistry of Cellulose, the Polyuronides, Lignin etc. Oxford.
- PAUL, Wo., und STERNBACH, L., 1941: Zur Elektrochemie des Agar-Sols. Helvetica Chimica Acta, XXIV . 317—339.
- PHARMACOPOEA HELVETICA, EDITIO QUINTA, 1933: Bern.
- REINKE, J., 1879: Untersuchungen über die Quellung einiger vegetabilischer Substanzen. Hanstein, Bot. Abh., iv . 1—136.
- ROBBINS, W. J., and JACKSON, J. R., 1937: Effect of 3-Indole Acetic Acid on Cell Walls of Stem and Root. Amer. J. Bot., XXIV . 83—88.
- RUGE, U., 1937a: Untersuchungen über den Einfluss des Heteroauxins auf das Streckenwachstum des Hypokotyls von *Helianthus annuus*. Zs. f. Bot., XXXi . 1—56.
- 1937b: Untersuchungen über die Änderungen der osmotischen Zustandsgrößen und der Membraneigenschaften des Hypokotyls von *Helianthus annuus* beim normalen Streckungswachstum. Planta (Berl.), XXVII . 352—366.
  - 1937c: Über einige Alterungserscheinungen in der Interzellularsubstanz junger, streckungsfähiger Membranen. Planta (Berl.), XXVII . 436—449.
  - 1937d: Zur Charakteristik einer für die Physiologie der Zellstreckung wichtigen Interzellularsubstanz pflanzlicher Membranen. Biochem. Zs., CCXCV . 29—43.
  - 1942: Zur Theorie der Mechanik der Zellstreckung und des Streckungswachstums. Planta (Berl.), XXXii . 571—584.
- SÖDING, H., 1931: Wachstum und Wanddehnbarkeit bei der Haferkoleoptile. Jahrb. wiss. Bot., LXXIV . 127—151.
- 1932: Über das Streckungswachstum der Zellwand. Ber. dt. bot. Ges., L . 117—123.
  - 1934: Über die Wachstumsmechanik der Haferkoleoptile. Jahrb. wiss. Bot., LXXIX . 231—255.
- STEWART, Wm. S., 1938: Extensibility of Cell Wall Material in Indole-3-Acetic Acid. Amer. J. Bot., XXV . 325—328.
- SWEENEY, B. M., and THIMANN, K. V., 1938: The Effect of Auxins on Protoplasmic Streaming. II. J. Gen. Physiol., XXI . 439—461.
- THIMANN, K. V., and BONNER, J., 1938: Plant Growth Hormones. Physiol. Reviews, XVIII . 524—553.
- and SWEENEY, B. M., 1937: The Effect of Auxins upon Protoplasmic Streaming. J. Gen. Physiol., XXI . 123—135.