

Protoplasmawachstum und Stickstoffwanderung in der Koleoptile von *Zea Mays*

Autor(en): **Blank, F. / Frey-Wyssling, A.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **51 (1941)**

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-35117>

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.

Protoplasmawachstum und Stickstoffwanderung in der Koleoptile von *Zea Mays*.

Von *F. Blank* und *A. Frey-Wyssling*.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.)

Eingegangen am 8. Mai 1940.

Inhaltsverzeichnis.		Seite
I. Einleitung		116
II. Zytologische Untersuchungen		117
<i>a</i>) Zellvermehrung durch Querteilung		117
<i>b</i>) Querschnittsgrösse der verschiedenen Gewebeelemente		119
<i>c</i>) Zellstreckung und Wachstumszonen		120
<i>d</i>) Plasmainhalt der Parenchymzellen bei der Streckung		123
III. Mikro-Stickstoffbestimmungen		124
<i>a</i>) Methodik der Stickstoffuntersuchungen		126
<i>b</i>) Ergebnisse der N-Analysen von wachsenden Koleoptilen		128
<i>c</i>) Ergebnisse der N-Analysen von absterbenden Koleoptilen		135
IV. Besprechung der Ergebnisse		136
V. Zusammenfassung		140
Literaturverzeichnis		141

I. Einleitung.

Die Wuchsstoff-Forschung geht, soweit sie sich auf das Problem der Zellstreckung bezieht, von einer Anzahl zytologischer Voraussetzungen aus, die sie ohne genauere Nachprüfung von den klassischen Pflanzenphysiologen als *Axiome* übernommen hat. Für den *Avena*-Test lassen sich diese Axiome folgendermassen umschreiben :

1. Beim Streckungswachstum der Graskoleoptile finden keine Zellteilungen statt;
2. die Zellstreckung erfolgt ohne wesentliche Plasmavermehrung;
3. die Zellstreckung erfolgt ohne wesentliche Vergrösserung des Zellumfanges.

Von diesen drei Voraussetzungen ist die erste durch die Untersuchung von *Avery* und *Burkholder* (1) für die Haferkoleoptile widerlegt worden, wobei sich allerdings ergab, dass der *Avena*-Test i. a. meist nach Abschluss des Teilungswachstums durchgeführt wird.

Die stürmisch vorwärtsdrängende Wuchsstoff-Forschung mit ihren vielen, neu auftauchenden Problemen hat es jedoch bisher unterlassen,

auch die beiden andern Axiome einer genauen Nachprüfung zu unterziehen. Dies soll in der vorliegenden Studie geschehen.

Die Untersuchung ist nach zwei verschiedenen Methoden erfolgt: einerseits auf *zytologischem* Wege durch genaue Verfolgung des Wachstums der einzelnen Zellen und Vermessung ihres Plasmainhaltes und anderseits auf *chemischem* Wege durch Mikrobestimmungen des koagulierbaren Plasmastickstoffes in den Zellen der verschiedenen Koleoptilenabschnitte. Als Untersuchungsobjekt wurde die Maiskoleoptile gewählt, weil sie zufolge ihrer Ausmasse grössere Mengen Stickstoff enthält als die schwächliche Haferkoleoptile, und weil ihre Umfangvergrößerung während der Keimung die Frage zu entscheiden versprach, ob die Zellstreckung ohne wesentliche Vergrößerung des Zellumfanges vor sich gehe. Die Stickstoffanalysen erlaubten, die Wanderung dieses wichtigen Nährstoffes während der Keimung zu verfolgen, wobei erstmals versucht wurde, die chemischen Veränderungen nicht auf das Gewicht oder das Volumen bestimmter Koleoptilteile, sondern auf *einzelne Zellen* zu beziehen.

Die verwendeten Maiskeimlinge stammen von der schweizerischen Landsorte « Rheintaler ». Die Keimlinge wurden im Dunkeln bei konstanter Temperatur (18°) auf Fliesspapier über mit Leitungswasser getränktem Sägemehl herangezogen.

II. Zytologische Untersuchungen.

Die zytologischen Untersuchungen sollten genaue Auskunft über die Zellvermehrung und Zellstreckung in den verschiedenen Zonen der Koleoptile geben und einwandfreie Bezugsgrössen für die quantitativen mikrochemischen Analysen liefern. Ausserdem wurde der Versuch gemacht, den Plasmabelag der ungestreckten und gestreckten Parenchymzellen messend zu erfassen.

a) Zellvermehrung durch Querteilung.

Lange Zeit hatte man angenommen, dass das starke und schnelle Längenwachstum der Koleoptile ausschliesslich auf Zellstreckung beruhe. Wie bereits erwähnt, haben jedoch A v e r y und B u r k h o l d e r (1) für die Koleoptilen von *Avena sativa* und *Triticum vulgare* nachweisen können, dass diese Annahme nicht haltbar ist. Wir haben deshalb auch die *Zea Mays*-Koleoptile in dieser Hinsicht genau untersucht.

Hierzu wurde in den Koleoptilen von 11 verschiedenen Entwicklungsstadien die auf die gesamte Koleoptilenlänge entfallende Anzahl Zellen ermittelt. Zu diesem Behufe wurde die Koleoptilenspitze als 3 mm langer Kegel abgetrennt und der Koleoptilenstumpf in 10 mm lange Teilstücke zerlegt. Je nach der genauen Länge der Koleoptile mass das

unterste Teilstück etwas mehr oder etwas weniger als 10 mm. Die Teilstücke sind in Tabelle 1 von oben nach unten mit römischen Zahlen numeriert. Von diesen Teilstücken wurden Paraffinlängsschnitte hergestellt und die Zellen ausgezählt. Wenn man verschiedene Zellreihen über die Länge eines Teilstückes zählt, ergibt sich die gleiche Anzahl Zellen, trotzdem die Zellen benachbarter Zellreihen gegeneinander verschoben sind. Es wird daher im folgenden von « *Zellagen* » gesprochen, obschon die Zellen nicht in ausgesprochenen Schichten angeordnet sind.

Tabelle 1.

Anzahl der Zellagen je Koleoptilteilstück in der Längsrichtung.

Entwicklungsstadien der Koleoptilen Länge in mm	Spitze	I	II	III	IV	V	VI	Gesamtzahl der Zellagen
2	180							180
3	265							265
6	105	165						270
11	85	180						265
13	72	210						282
17	65	165	65					295
26	60	140	180					380
34	61	93	90	142				386
43	61	93	86	60	80			380
51	60	48	65	60	75	70		378
63	60	40	60	54	50	55	64	383

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, zählt die Koleoptile im ruhenden Samen, die unter der Binokularlupe sorgfältig herauspräpariert wurde, 180 in der Längsrichtung aufeinanderfolgende Zellagen bei einer Gesamtlänge von 2 mm der Koleoptile. Bereits im jüngsten Stadium der Keimung setzt eine starke Zellvermehrung durch Querteilung ein, so dass man in einer 3 mm langen Koleoptile bereits 265 Zellagen im Parenchym feststellen kann; das bedeutet, dass sich die Zahl der Zellschichten proportional der Längenzunahme vermehrt hat. Bis zu einer Länge von 17 mm folgt dann eine schwächere Vermehrung der Zellschichten auf 295, um gleich darauf sprunghaft auf 380 bei einer Koleoptillänge von 26 mm anzusteigen. Von diesem Stadium an bleibt die Zahl der Zellschichten in den Koleoptilen konstant. Es kommen bei den 5 Entwicklungsstadien mit Koleoptillängen von 26 bis 63 mm nur Schwankungen zwischen 378 und 386 Zellagen vor, die man sich aus den individuellen Unterschieden der einzelnen Koleoptilen erklären muss. Bei *Avena sativa* finden nach Avery und Burkholder (1) bereits bei einer Koleoptilenlänge von 18 mm keine Zellteilungen mehr statt.

Vergleicht man die Zahl der Zellagen in der Koleoptile des ungekeimten Samens (2 mm lang) mit derjenigen einer fast ausgewachsenen Koleoptile (63 mm lang), so findet man eine 2,14fache Vermehrung der Zellschichten in der Längsrichtung bei *Zea Mays*, während Tetley und Priestley (17) keine Zellteilungen in der Maiskoleoptile gefunden haben wollen. Dagegen haben Avery und Burkholder (1) bei *Avena sativa* sogar eine 2,9fache Vermehrung der Parenchymzellagen konstatiert. Das von diesen beiden Autoren erwähnte abweichende Verhalten der äusseren Epidermis (keine Zellteilungen!) können wir ebenfalls bestätigen. Mit Hilfe von Querschnitten in verschiedener Höhe durch verschieden alte Koleoptilen konnte festgestellt werden, dass keine Zellvermehrung durch Längsteilung der Zellen stattfindet. Diese Feststellung ist von Avery und Burkholder (1) auch für die *Avena*-Koleoptile gemacht worden; doch ist sie beim Mais, wo die Koleoptile zu Beginn der Keimung an Dicke zunimmt, besonders bedeutsam. Die Zellvermehrung in der Koleoptile geschieht also ausschliesslich durch Querteilungen.

b) Querschnittsgrösse der verschiedenen Gewebeelemente.

Im Durchschnitt von sechs vollständigen Auszählungen auf in verschiedener Höhe durch die Koleoptile geführten Querschnitten fanden wir :

1811 ± 28	Zellen im parenchymatischen Grundgewebe,
618 ± 3	» in der äusseren Epidermis,
215 ± 4	» in der inneren Epidermis,
1360 ± 15	» im Leitgewebe, wovon 100 primäre Schraubentracheiden.
<u>4004 ± 32</u>	» je Querschnitt.

Durch Planimetrierung wurde der Flächenanteil der einzelnen Gewebearten wie folgt ermittelt :

	Querschnittsfläche
Parenchymatisches Grundgewebe	3,10 mm ² = 90,1 %
Aeussere Epidermis	0,13 » = 3,7 %
Innere Epidermis	0,10 » = 3,1 %
Leitgewebe	0,10 » = 3,1 %
	<u>3,43 mm² = 100 %</u>

Aus diesen Daten kann man leicht die mittlere Querschnittsfläche der einzelnen Gewebeelemente berechnen; doch muss man sich klar darüber sein, dass die Grösse der Einzelzellen stark variiert. Die unter der äusseren Epidermis gelegenen parenchymatischen Zellen sind z. B. viel kleiner als die der mittleren Parenchymsschichten. Besonders gross ist natürlich der Unterschied zwischen den verschiedenen Elementen

der Leitbündel, zwischen Geleitzellen, Siebröhren und primären Schraubentracheiden. Im Durchschnitt beträgt nach unsern Messungen die mittlere Querschnittsfläche :

bei den Parenchymzellen des Grundgewebes	1702,2 μ^2
» » Zellen der inneren Epidermis	434,8 »
» » Zellen der äusseren Epidermis	209,7 »
» » Leitzellen	74,1 »

Besonders auffällig ist die Grösse der inneren Epidermiszellen, die eine gut doppelt so grosse Querschnittsfläche besitzen wie die der äusseren Epidermis. Bei den Leitzellen wird natürlich die Querschnittsfläche durch die winzigen Geleitzellen der Siebröhren bedeutend herabgesetzt.

In diesem Zusammenhang ist im Gegensatz zu den Angaben von Tetley und Priestley (17) zu erwähnen, dass wir in den Leitbündeln der noch nicht ausgewachsenen Koleoptilen bereits völlig ausdifferenzierte Siebröhren fanden.

c) Zellstreckung und Wachstumszonen.

Tabelle 2 gibt die Länge der parenchymatischen Zellen in den 10 mm langen Zonen der verschiedenen weitentwickelten Koleoptilen wieder. Da bis zur Erreichung einer Koleoptillänge von 26 mm das Streckungswachstum von Zellteilungen begleitet ist, lassen sich für die jüngeren Stadien keine weitgehenden Schlüsse ziehen.

Tabelle 2.

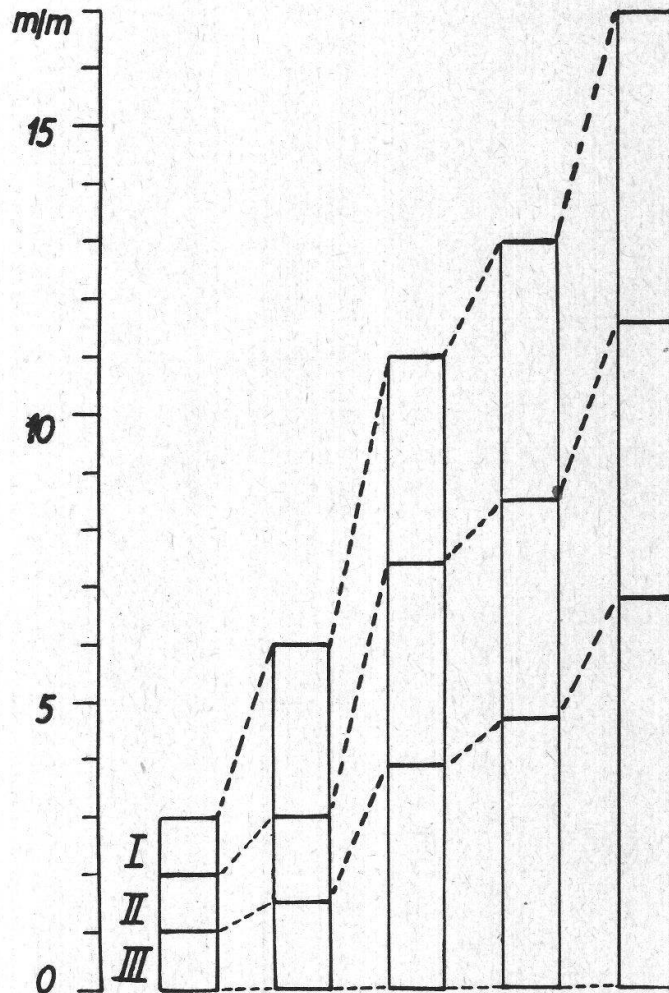
Länge der parenchymatischen Zellen des Koleoptilengrundgewebes in verschiedenen Entwicklungsstadien.

Entwicklungsstadien der Koleoptilen Länge in mm	Spitze	I	II	III	IV	V	VI
2	11 μ						
3	11 μ						
6	29 μ	18 μ					
11	35 μ	44 μ					
13	42 μ	48 μ					
17	46 μ	61 μ	60 μ				
26	50 μ	71 μ	72 μ				
34	49 μ	108 μ	111 μ	77 μ			
43	49 μ	108 μ	116 μ	166 μ	125 μ		
51	50 μ	208 μ	153 μ	166 μ	133 μ	144 μ	
63	50 μ	250 μ	166 μ	185 μ	200 μ	182 μ	156 μ

Immerhin geht aus diesen Zahlen das verschiedenartige Verhalten der apikalen Zellen gegenüber den mehr basal gelegenen Parenchym-

zellen hervor. Letztere können sich mehr als 10fach strecken; die an der Spitze gelegenen erreichen aber nur das 4,5fache ihrer ursprünglichen Länge im ruhenden Samen. Dieses besondere Verhalten der oberen Zellschichten äussert sich auch bei der Vakuolisation und im N-Gehalt wieder, worauf später noch näher eingetreten werden soll.

Fig. 1.
Zonen des Längenwachstums bei der Maiskoleoptile zwischen 3 und 17 mm Koleoptillänge; Ordinate: Länge der Koleoptile in mm; Abszisse: Aufeinanderfolgende Entwicklungsstadien.



Mit Hilfe von Tuschstrichen versuchten wir, an wachsenden Koleoptilen die Zonen des stärksten Längenwachstums festzustellen. Wir fanden dabei eine basipetale Beschleunigung des Längenwachstums, die im Gegensatz zur basifugalen Wachstumsbeschleunigung bei den meisten Hypokotylen dikotyler Pflanzen steht, wie z. B. bei *Caryocar nuciferum* L. (2).

Es erschien uns aber wünschenswert, an Hand von Paraffinschnitten die Streckungszonen der Koleoptile genauer zu ermitteln, als es mit der Tuschstrichmethode möglich ist. In den Figuren 1 und 2 ist versucht worden, die Wachstumszonen graphisch darzustellen. Um den Einfluss der Zellteilungen so gut wie möglich auszuschalten, wurde dabei auf die Erfassung der Entwicklungsstadien zwischen 2 und 3 mm

sowie zwischen 17 und 26 mm Koleoptillänge verzichtet, da gerade in diesen Stadien die meisten Zellteilungen stattfinden.

In Figur 1 haben wir 85—90 Zellagen in den verschiedenen Entwicklungsstadien durch gestrichelte Querlinien miteinander verbunden. So kann festgestellt werden, dass für die Entwicklungsstadien zwischen

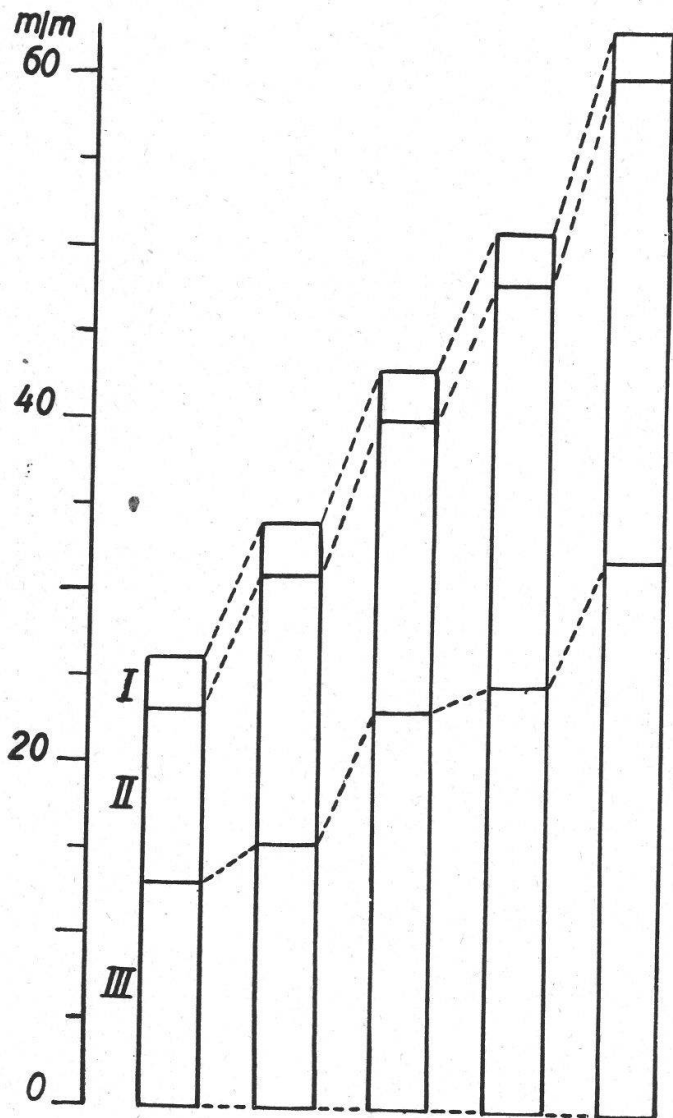


Fig. 2.
Zonen des Längenwachstums bei der Maiskoleoptile zwischen 26 und 63 mm Koleoptillänge; Ordinate: Länge der Koleoptile in mm; Abszisse: Aufeinanderfolgende Entwicklungsstadien.

3 und 17 mm Koleoptillänge fast ausnahmslos basipetale Beschleunigung des Längenwachstums vorliegt. Aus dem unteren basalen Drittel einer 3 mm langen Koleoptile allein gehen 43,3 % einer 17 mm langen Koleoptile hervor; diese Beobachtung stimmt mit den Angaben von Avery und Burkholder (1) überein.

Noch deutlicher kann man die basipetale Beschleunigung des Längenwachstums aus Figur 2 ansehen, da hier bei der Streckung zwischen keine Zellteilungen mehr vorkommen. Der prozentuale Anteil der 3 mm sehen den Entwicklungsstadien von 26 und 63 mm Koleoptilenlänge

lang gewählten Spitze I an der Gesamtlänge der Koleoptile geht dabei — infolge des Ausbleibens jeglicher weiteren Streckung in dieser Zone — von 11,5 % auf 4,8 % zurück.

Das 1 cm lange Teilstück II, das 140 unter der Spitze gelegene Zellagen umfasst, vergrößert seinen Anteil an der Gesamtlänge von 38,5 % auf 42,9 %, während das verbleibende basale, 180 Zellagen umfassende Teilstück III seinen Anteil von 50 auf 52,3 % vermehrt. Wir sehen also, dass sich die Zellen des mittleren Teilstückes II relativ stärker gestreckt haben als die des basalen Teilstückes.

Im Laufe des Längenwachstums findet eine Volumzunahme der Parenchymzellen auch durch Umfangvergrößerung statt. Die Breitenzunahme erreicht zwar nicht die Ausmasse der Längsstreckung und bleibt unbeachtet, da das Grössenverhältnis der Zellbreite zur Zelllänge immer kleiner wird. Doch ist sie gross genug, um berücksichtigt werden zu müssen, wie folgende Maximalwerte klar erkennen lassen :

Tabelle 3.

Breiten/Längenverhältnis einiger maximal gestreckter Parenchymzellen.

Länge der Koleoptile in mm	Breite der Zelle in μ	Länge	Breite/Länge
2	9	11	1 : 1,2
26	41	71	1 : 1,7
51	70	200	1 : 2,85
63	80	250	1 : 3,1

Im Gegensatz zum Wachstum durch Zellteilung, das ausschliesslich in der Längsrichtung erfolgt, geschieht das Streckungswachstum in der Maiskoleoptile sowohl durch Längen- als auch durch Breitenzunahme der Zellen. A very und Burkholder (1) finden dagegen keine Umfangvergrößerung der Zellen beim Streckungswachstum für die *Avena*-Koleoptile.

d) Plasmainhalt der Parenchymzellen bei der Streckung.

Die Zellen des Grundgewebes der Koleoptile sind im ruhenden Samen prall mit Plasma gefüllt; allerdings konnten wir bei etwa 5 % der aus ruhenden Samen präparierten Koleoptilen bereits Anfänge der Vakuolisierung und Anthocyanbildung beobachten.

Mit zunehmender Zellstreckung nimmt die Vakuolisierung zu, und zwar entsteht in den meisten Fällen nur *eine* grosse Vakuole. Bei den Spitzenzellen erreicht die Vakuolisierung schon bei ca. 17 mm Koleoptillänge ihre Grenze, während bei den übrigen Parenchymzellen die Vakuolenbildung schnell weiterschreitet.

Wir haben versucht, die Grösse des Plasmaschlauches der parenchymatischen Zellen messend zu erfassen. Die hierzu benützten Koleoptilen wurden nach N a w a s h i n in einer Lösung von 10 Teilen 1 %-Chromsäure, 4 Teilen 40 %-Formalin und 1 Teil Eisessig fixiert und die Längsschnitte mit Safranin-Anilinwasser gefärbt. Bei den Messungen wurde die Form der Zelle als Zylinder angenommen und der Plasmaschlauch als Hohlzylinder berechnet. Die Resultate von je 10 Messungen seien im folgenden wiedergegeben :

Tabelle 4.
Plasmainhalt der Parenchymzellen.

Länge der Koleoptile	Dicke des Plasmabelages	Plasmmenge der Zelle
2 mm	keine Vakuolisierung	$850 \pm 26 \mu^3$
26 mm	3,2 μ	$1\ 562 \pm 34 \mu^3$
51 mm	1,6 μ	$15\ 016 \pm 607 \mu^3$

Wir haben unsere Messungen nicht auf noch ältere Entwicklungsstadien der Koleoptile ausgedehnt, da es bei fortschreitender Vakuolisierung immer schwieriger wird, den dünnen Plasmabelag genau zu messen. Dieser Verzicht erschien uns um so mehr gerechtfertigt, als aus den in Tabelle 4 angegebenen Messresultaten — gegen welche vielleicht Einwände hinsichtlich der Genauigkeit der Methodik möglich wären — zweifelsfrei eine erhebliche Zunahme der Plasmmenge je Zelle hervorgeht, trotz starker Abnahme der Dicke des Plasmabelages bei fortschreitender Zellstreckung und Vakuolisierung. Wir haben uns aber mit diesen Ergebnissen nicht zufrieden geben wollen und haben versucht, diese Beobachtung durch quantitative N-Analysen zu erhärten.

III. Mikro-Stickstoffbestimmungen.

Durch Mikro-N-Analysen versuchten wir, auf folgende Fragen Antwort zu erhalten :

1. Nimmt der Protoplasmastickstoff bei der Zellstreckung zu; wenn ja, in welchem Masse? Wieviel Stickstoff (Total-N, Plasma-N und wasserlöslicher N) sind in einer Parenchymzelle enthalten?
2. Wie wandert der Stickstoff in der sich streckenden Koleoptile und welche Beziehung besteht dabei zum Wuchsstoff?
3. Wie erfolgt die N-Auswanderung aus der absterbenden Koleoptile, und bestehen Beziehungen zur N-Wanderung beim Laubfall der Bäume?

1. Die erste Frage scheint vor allem einer Abklärung zu bedürfen, da nach den Resultaten unserer zytologischen Untersuchungen eine erhebliche Protoplasmazunahme in der sich streckenden Zelle stattfindet, während von vielen Physiologen gerade das Gegenteil behauptet

wird. So schreibt P f e f f e r (11) in seiner Pflanzenphysiologie: « *Dabei (beim Streckungswachstum) nimmt häufig die absolute Menge des Protoplasmas in der ansehnlich an Volumen gewinnenden Zelle nicht oder doch nicht erheblich zu, während durch die Vergrößerung der Vakuole, und offenbar in ökonomischer Weise, der auf einen dünnen Wandbelag reduzierte Primordialschlauch gegen die Zellwand getrieben wird.* » J o s t (7) äussert sich in ähnlicher Weise: « *Der Vergrößerung der Zellen geht eine Zunahme ihres Protoplasmas durchaus nicht parallel, dafür nimmt die Vakuole an Volumen ganz besonders stark zu, und das geschieht durch Wasseraufnahme; so kann das Wachstum schnell und „billig“ ausgeführt werden.* »

Gleicher Meinung ist auch S i e r p (13): « Um in Funktion treten zu können, müssen sich die embryonalen Anlagen vergrössern und entfalten; das geschieht durch den Prozess der Streckung in höchst eigenartiger, haushälterischer Weise. Die Vergrößerung erfolgt nämlich vor allem durch Einlagerung von Wasser („Schwellwasser“), nur zum Flächenwachstum der Zellhaut muss organische Substanz aufgewandt werden. *Dagegen bedarf es keiner Vermehrung des Protoplasmas bei der Streckung, es wird dabei also gerade die besonders kostbare N-haltige Substanz gespart.* » F. A. F. C. W e n t (19) drückt sich ebenfalls in diesem Sinne aus: « Bei diesem Streckungswachstum ist die Zelle ausserordentlich sparsam mit den ihr zur Verfügung stehenden Bildungsstoffen; *das Protoplasma vermehrt sich nicht, oder fast nicht. Nur die Bildungssubstanz für die Zellhaut und Substanzen in der Vakuolenflüssigkeit gelöst, müssen zuströmen, sonst aber hauptsächlich Wasser.* » M i l l e r (9) vertritt ähnliche Ansichten und schreibt u. a.: « The volume of a plant cell may thus increase several hundred times and yet contain very little more protoplasm than before expansion began. » Noch eindeutiger nimmt B o y s e n J e n s e n (3) Stellung: « Während der Zellstreckung erfolgt also *keine Neubildung von Protoplasma*, und dies ist wohl in jedem Fall eine der Ursachen dafür, dass das Streckungswachstum mit recht grosser, zuweilen mit sehr grosser Geschwindigkeit geschehen kann. »

Zusammenfassend kann man also feststellen, dass alle zitierten Autoren kein oder doch kein wesentliches Protoplasmawachstum während der Zellstreckung annehmen. Dass diese Annahmen nicht in jeder Hinsicht stichhaltig sind, soll an Hand unserer Stickstoffbestimmungen gezeigt werden.

2. Wir bestimmten in allen unsern Untersuchungen auch den wasserlöslichen Teil der N-Verbindungen und hofften so, Schlüsse auf die Wanderung der N-Verbindungen ziehen zu können. Da die Wuchsstoffverteilung in der Gramineenkoleoptile bekannt ist, glaubten wir ausserdem, auch Aussagen über einen eventuellen Einfluss des Wuchsstoffes auf die N-Wanderung machen zu können. Diese Frage ist in der

letzten Zeit von zwei verschiedenen Seiten diskutiert worden. So schreibt S t u a r t (16) im Anschluss an eine Arbeit über die Wirkung der Indoleessigsäure auf den Stickstoffwechsel u. a. : « Further investigation is necessary before it is known whether the mobilizing action of the growth substances is due to the new meristems which arise or to the direction of the growth substances themselves, or to some other reaction not yet recognized. » Auch F. W. W e n t (20 b) regte zu weiteren Untersuchungen an : « From the published data it is difficult to form an opinion as to whether an accumulation of carbohydrates and nitrogenous substances occurs prior to the increased growth. »

3. Die Koleoptile ist als ein ephemeres Organ zu betrachten, das bald nach dem Durchbruch der Primärblätter abzusterben beginnt. Im Anschluss an die Verfolgung des N-Gehaltes der ganzen Koleoptilen beim Längenwachstum lag es nahe, dieselben Bestimmungen auch bei der absterbenden Koleoptile zu wiederholen. Wir erwarteten dabei, Vergleiche zur N-Wanderung beim herbstlichen Laubfall ziehen zu können.

Bei der Besprechung der Versuchsergebnisse sollen diese drei Gesichtspunkte eingehend erörtert werden.

a) Methodik der Stickstoffuntersuchungen.

Zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes in den Koleoptilen wurden die eingeschlossenen Primärblätter sorgfältig entfernt, wobei besonders darauf geachtet wurde, unnötige Verletzungen, die einen N-Verlust zur Folge haben könnten, zu vermeiden. Weiter sorgten wir bei allen N-Untersuchungen für eine sofortige Verarbeitung des Untersuchungsmaterials : Bei den Total-N-Analysen wurden die Koleoptilen sofort verascht und bei der Bestimmung des koagulierbaren und wasserlöslichen Stickstoffes sofort zerrieben und weiterverarbeitet, um Versuchsfehlern durch Zersetzung des Materials zu entgehen.

Die Ergebnisse der Analysen stellen Mittelwerte dar, da immer eine Mehrzahl von Koleoptilen oder Koleoptilteilstücken untersucht wurden. Wir bezogen die Resultate auf ganze Koleoptilen oder deren genau umschriebene Teilstücke, was mit Hilfe der zytologischen Voruntersuchungen eine Umrechnung auf Zellagen und Einzelzellen erlaubte und uns so von biologisch nicht einwandfreien Bezugsgrößen wie Trocken- und Frischgewicht u. a. unabhängig machte. Auf die Wichtigkeit der Wahl richtiger Bezugsgrößen hat G o u w e n t a k (6) bei ihren Untersuchungen über den N-Stoffwechsel nachdrücklich hingewiesen !

In allen Versuchen wurde der Stickstoff mit Hilfe der Mikrokjeldahlmethode bestimmt. Die organische Substanz wurde in Aufschlusskölbchen von 150 cm³ Inhalt mit 3 cm³ konzentrierter Schwefelsäure über der Flamme verascht. Als Katalysator wurde dabei eine Messerspitze eines Gemisches aus einem Teil Selen und sieben Teilen Kaliumsulfat verwendet.

Die Destillation des entstandenen Ammoniaks geschah in der Destillationsapparatur nach Parnas und Wagner, wie sie bei Pregl (12) abgebildet und beschrieben ist.¹

Zur Freisetzung des Ammoniaks wurden der mit destilliertem Wasser verdünnten Aufschlussflüssigkeit 18 cm³ 30 %-Natronlauge zugesetzt. Als Vorlage dienten jeweils 10 cm³ einer n/70-Schwefelsäure, der drei Tropfen Methylrot als Indikator beigegeben waren. Nach beendeter Destillation wurde mit n/70-Natronlauge titriert und so der N-Gehalt der destillierten Flüssigkeit bestimmt.

Die Trennung des koagulierbaren vom wasserlöslichen Stickstoff erfolgte durch Fällung mit Gerbsäure. Wir gaben dieser Methode gegenüber der Kupferhydroxydfällung den Vorzug, da nach den Untersuchungen von Koblet (8) hierbei unter Umständen auch noch Aminosäuren im Filtrerrückstand bleiben können. Dies erschien uns unerwünscht, da wir die Polypeptide, die die Gerüstsubstanzen des Protoplasmas ausmachen (5, S. 110 ff.), zu erfassen suchten. Bei der Trennung der beiden N-Fractionen wandten wir in Anlehnung an Mothes (10) folgendes Verfahren an: Die Koleoptilen wurden in einer Porzellanschale unter Zusatz einiger Tropfen Toluol zerrieben. Dann wurden 10 cm³ kochende 4 %-Gerbsäurelösung und 2 cm³ 0,1 %-Schwefelsäure zugesetzt. Die Koagulation trat immer sofort ein. Nach 15 Minuten Stehenlassen wurden 10 cm³ und nach weiteren 15 Minuten abermals 10 cm³ absoluter Alkohol hinzugefügt. Darauf wurde durch ein hartes Filter (Schleicher und Schüll, Nr. 602) filtriert und mit destilliertem Wasser solange ausgewaschen, bis das in einem Messkolben aufgefangene Filtrat genau 100 cm³ ausmachte. Es wurden dann einerseits genau 50 cm³ des Filtrates und andererseits der Filtrerrückstand der Mikrokjeldahlbestimmung unterworfen, wobei der N-Gehalt des Filtrerrückstandes als koagulierbarer und derjenige des ganzen Filtrates als wasserlöslicher Stickstoff gewertet wurden.

Da wir von allen Koleoptilen immer auch den Totalstickstoffgehalt bestimmten, besaßen wir eine ausgezeichnete Kontrollmöglichkeit unserer Versuchsergebnisse. War die Summe des koagulierbaren und wasserlöslichen Stickstoffs nicht gleich oder fast gleich dem Gehalt an Total-N, wurden die Analysen wiederholt. Wir gaben diesem zwar mühevolleren Verfahren aus Genauigkeitsgründen den Vorzug gegenüber dem sonst üblichen Gebrauch, die Werte der Einzelfractionen durch Subtraktion des wasserlöslichen oder koagulierbaren N vom Total-N oder umgekehrt den Total-N durch Addition von koagulierbarem und wasserlöslichem N zu errechnen.

Diese Kontrollmassnahme wurde nicht nur für ganze Koleoptilen angewendet, sondern auch für deren Teilstücke. Die Summe der letzteren ergab dann eine weitere Kontrolle für die Werte der ganzen Koleoptile und umgekehrt. Natürlich blieben die Summen der Teilstücke meistens etwas unter den für die Gesamtkoleoptile gefundenen Werten, da N-Verluste bei der Zerteilung der Koleoptilen nicht zu umgehen waren.

¹ Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn P.-D. Dr. F. Leuthardt, Vorstand des klinisch-chemischen Laboratoriums der medizinischen Universitätsklinik Zürich, bestens danken für die Erlaubnis, die N-Bestimmungen in seinem Laboratorium auszuführen.

Auch die Summen des koagulierbaren und wasserlöslichen N blieben meistens etwas unter dem Total-N-Gehalt. Betrachten wir als Beispiel aus Tabelle 5 den Total-N-Gehalt einer Koleoptile von 43 mm Länge, so finden wir 0,486 mg, während der koagulierbare N 0,223 mg und der wasserlösliche N 0,260 mg ausmachen; dies ergibt eine Differenz von 0,003 mg zwischen Total-N-Gehalt und der Summe aus den beiden N-Fraktionen.

In der gleichen Tabelle ist der Gehalt an koagulierbarem N mit 0,144 mg für eine 26 mm lange Koleoptile angegeben, während die einzelnen Teilstücke (s. Tabelle 6) bei Umrechnung auf ihre wahre Länge zusammen 0,137 mg koagulierbaren N enthalten. Der wasserlösliche N beträgt im gleichen Falle in der ganzen Koleoptile 0,129, derjenige der drei Teilstücke ebenfalls 0,129 mg.

Kleine Abweichungen beim Vergleich entsprechender N-Werte sind ohne weiteres verständlich, da die einzelnen Ergebnisse immer in verschiedenen Analysen gefunden wurden; trotz dieser Fehlerquellen kann die Uebereinstimmung im allgemeinen als durchaus befriedigend angesehen werden.

Im folgenden Abschnitt seien die Ergebnisse der mikrochemischen N-Analysen im einzelnen wiedergegeben und besprochen.

b) Ergebnisse der N-Analysen von wachsenden Koleoptilen.

Zuerst wurde der Total-N-Gehalt einzelner Maiskörner bestimmt, um nachher feststellen zu können, wieviel Prozente des im Samen aufgespeicherten Stickstoffes in die Koleoptile auswandern. Dieser Gehalt schwankt zwischen 5 und 7,5 mg; er ist von der Korngröße abhängig. Da wir zur Keimung stets gleich schwere Körner auswählten und andererseits den Resultaten immer der mittlere Gehalt mehrerer Koleoptilen zugrunde liegt, glauben wir auch diese Fehlerquelle so gut wie möglich ausgeschaltet zu haben.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde der N-Gehalt ganzer Koleoptilen bestimmt. Wir begannen mit der Untersuchung der 2 mm langen Koleoptilen im ruhenden Samen. Von diesen wurden jeweils 40 Stück für eine Analyse unter der Binokularlupe herauspräpariert. Nach der Keimung verfolgten wir den Gehalt an Total-N, koagulierbarem und wasserlöslichem Stickstoff in den weiteren Entwicklungsstadien, wie aus folgender Tabelle 5 hervorgeht.

Aus den in Tabelle 5 angegebenen Versuchsergebnissen geht die beständige Zunahme der drei ermittelten N-Fraktionen einwandfrei hervor. Die Zunahme des N-Gehaltes der ganzen Koleoptilen verläuft aber nicht immer proportional dem Längenwachstum. Beim Total-N entspricht einer 32fachen Verlängerung der Koleoptile nur eine etwa 18fache Vermehrung des N-Gehaltes, wobei natürlich die Zunahme in den verschiedenen Wachstumsstadien verschieden ist.

Tabelle 5.

Gehalt ganzer Koleoptilen an Total-N, koagulierbarem und wasserlöslichem Stickstoff in verschiedenen Entwicklungsstadien.

Entwicklungsstadien der Koleoptilen Länge in mm	Total-N in mg	Koagulierbarer N in mg	Wasserlöslicher N in mg
2	0,034	0,030	0,002
3	0,048	0,043	0,010
5	—	0,068	0,028
7	0,113	—	—
10	0,140	0,085	0,044
11	0,147	—	—
12	—	0,101	0,055
14	0,169	—	—
16	0,180	—	—
17	—	0,116	0,070
19	0,200	—	—
25	0,256	—	—
26	—	0,144	0,129
30	0,384	—	—
34	—	0,163	0,216
43	0,486	0,223	0,260
54	0,570	0,261	0,304
61	—	0,282	0,346
65	0,630	—	—

Weniger ausgeprägt ist die Vermehrung des koagulierbaren Stickstoffes, bei dem nur eine 9,5fache Zunahme seines Gehaltes während einer 30fachen Verlängerung der Koleoptile stattfindet.

Ganz anders wieder verhält sich der wasserlösliche Stickstoff. Er macht nach der Erreichung des gleichen Entwicklungsstadiums wie der koagulierbare N das 173fache seines ursprünglichen Betrages aus. Im Verlaufe dieses Anstieges erfolgt die stärkste prozentuale Zunahme am Anfang.

Recht interessant ist das Verhältnis von wasserlöslichem und koagulierbarem Stickstoff (s. Figur 3). Während in der Koleoptile des ruhenden Samens der koagulierbare N sich zum wasserlöslichen N wie 15:1 verhält, ändert sich dieses Verhältnis grundlegend im Laufe des Streckungswachstums. Der lösliche N nimmt während des Längenwachstums stärker und schneller zu als der koagulierbare. Auffallend und interessant zugleich ist die Tatsache, dass nach Abschluss der Zellteilungen (bei 26 mm Koleoptillänge) der Gehalt an wasserlöslichem N grösser wird als der an koagulierbarem N. Worauf diese Tatsache zurückzuführen ist, ist nicht ohne weiteres erklärlich; offenbar verlangsamt sich die Plasmabildung nach Abschluss des Teilungswachstums. Nach Beendigung des Längenwachstums ist der Gehalt an löslichem N

größer als an koagulierbarem N, was man der stärkeren Einwanderung von Stickstoff in die Koleoptile zuschreiben muss.

Eine weitere Versuchsserie sollte Aufschluss über die Verteilung des Stickstoffes in den verschiedenen Zonen der Koleoptilen während des Längenwachstums geben. Wir benützten zu diesem Zwecke die-

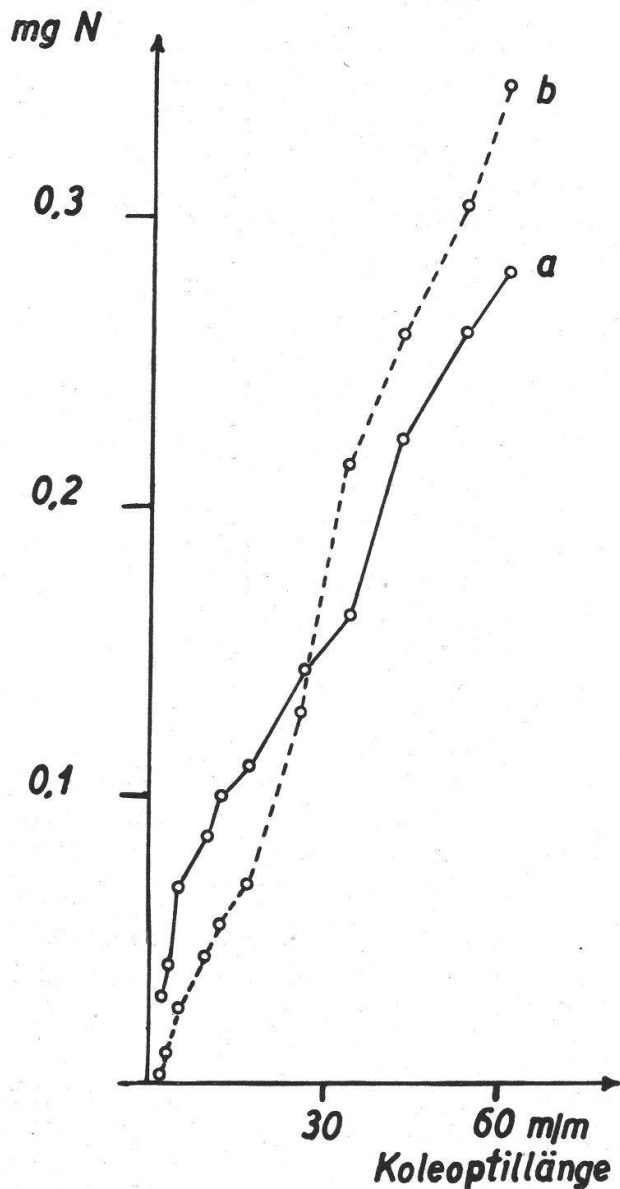


Fig. 3.
Gehalt der ganzen Maiskoleoptile an koagulierbarem (a) und wasserlöslichem (b) Stickstoff in verschiedenen Entwicklungsstadien.

selben Einteilungen der Koleoptilen, wie sie für die zytologische Untersuchung benützt worden waren (s. Tabelle 1). Auf diese Weise sollte ein Einblick einerseits in die *räumliche* und andererseits in die *zeitliche* Verteilung des Stickstoffes in der Koleoptile gewonnen werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen über den Total-N sind in Figur 4 dargestellt.

Betrachten wir den N-Gehalt der Spitze, der auf 10 mm Länge umgerechnet wurde, so können wir in den ersten Entwicklungsstadien eine

starke Abnahme feststellen. Von 13 mm Koleoptillänge an bleibt ihr N-Gehalt mehr oder weniger konstant. Was die weiteren Teilstücke der Koleoptilen betrifft, so können wir in jedem Entwicklungsstadium eine Zunahme des N-Gehaltes nach der Basis hin feststellen; es findet also, räumlich betrachtet, eine Zunahme des N-Gehaltes je Koleoptilteilstück

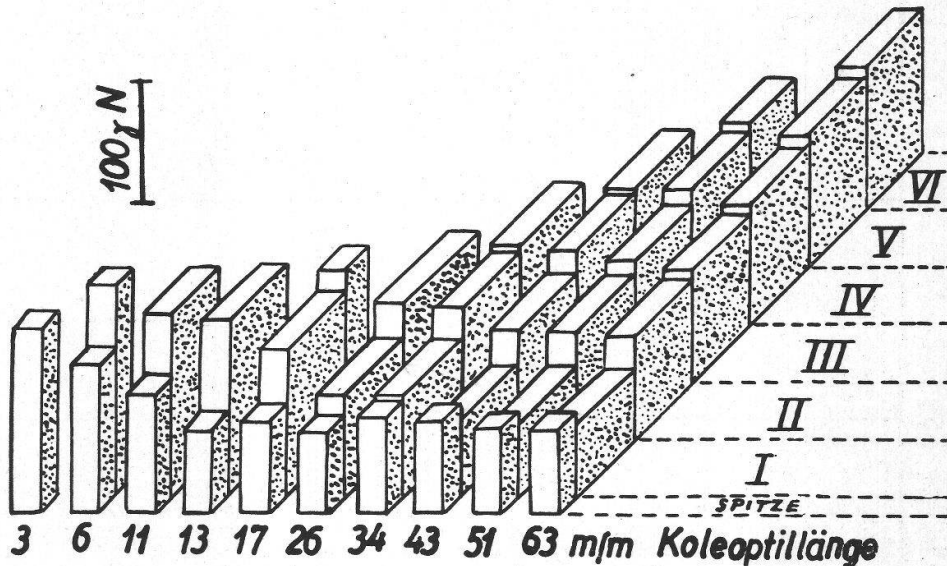


Fig. 4.

Räumliche und zeitliche Verteilung des Totalstickstoffes in verschiedenen Entwicklungsstadien der Maiskoleoptile, bezogen auf 10 mm lange Koleoptilteilstücke; Ordinate: N-Gehalt in %.

nach der Basis hin statt. Zeitlich betrachtet, nimmt aber der Total-N-Gehalt regelmässig ab, d. h. der N-Gehalt desselben Teilstückes wird mit fortschreitendem Längenwachstum kleiner. In allen Teilstücken finden wir diese zeitliche Abnahme des Stickstoffes ausnahmslos bestätigt.

Aehnlich verhalten sich die koagulierbaren und wasserlöslichen N-Verbindungen, wie aus Tabelle 6 hervorgeht. Auch hier können wir im grossen und ganzen die gleiche Verteilung des koagulierbaren und wasserlöslichen N feststellen, wie sie uns aus Figur 4 bekannt ist.

Wir finden, dass sowohl der koagulierbare als auch der wasserlösliche Stickstoff in den Spitzenzellen zuerst abnehmen und dann mehr oder weniger konstant bleiben. Bei der räumlichen Betrachtung der übrigen Koleoptilteilstücke finden wir wieder die regelmässige Zunahme der beiden N-Fractionen je 10 mm Teilstücklänge nach der Basis hin. Zeitlich betrachtet, können wir ebenfalls im Laufe der Entwicklung eine Abnahme sowohl des wasserlöslichen als auch des koagulierbaren N beobachten, wenn auch die Analysenzahlen nicht so regelmässig sinken wie beim Total-N-Gehalt. Jedoch ist überall beim Vergleich des

Tabelle 6.

Gehalt der Koleoptilteilstücke an koagulierbarem (a) und wasserlöslichem (b) Stickstoff in mg in verschiedenen Entwicklungsstadien.

Entwicklungsstadien der Koleoptilen Länge in mm	S (3 mm)		I (10 mm)		II (10 mm)		III (10 mm)		IV (10 mm)		V (10 mm)		VI (10 mm)	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
3	0,043	0,010												
6	0,023	0,005	0,132	0,046										
11	0,022	0,004	0,100	0,047										
13	0,023	0,004	0,086	0,059										
17	0,020	0,002	0,061	0,054	0,087	0,047								
26	0,020	0,001	0,049	0,040	0,052	0,060								
34	0,025	0,001	0,034	0,035	0,048	0,082	0,045	0,080						
43	0,024	0,001	0,029	0,040	0,042	0,056	0,045	0,064	0,050	0,078				
51	0,023	0,001	0,037	0,023	0,043	0,056	0,048	0,060	0,050	0,075	0,048	0,068		
63	0,023	0,001	0,032	0,040	0,040	0,044	0,042	0,050	0,050	0,052	0,052	0,064	0,055	0,071

ersten und des letzten Entwicklungsstadiums eine Abnahme an N erkennbar. Ausserdem wirkt sich die Umrechnung der nicht 10 mm langen Restteilstücke auf obige Länge störend aus. Lässt man diese umgerechneten Werte ausser Betracht, dann ist das Ergebnis fast ebenso eindeutig wie bei den Total-N-Analysen.

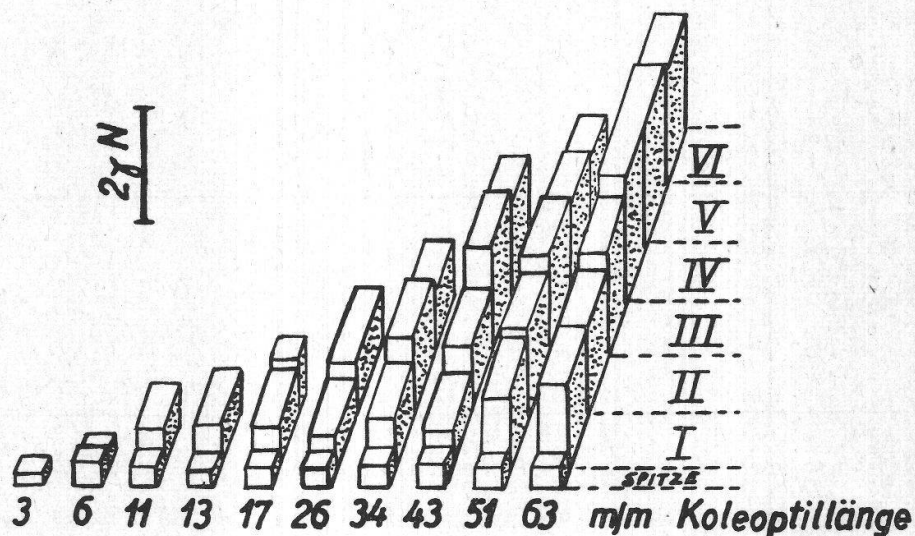


Fig. 5.

Räumliche und zeitliche Verteilung des Totalstickstoffes in verschiedenen Entwicklungsstadien der Maiskoleoptile, bezogen auf eine Zellage des Koleoptilengrundgewebes; Ordinate: N-Gehalt in γ .

Es geht also auch aus diesen Analysen hervor, dass der N-Gehalt, räumlich betrachtet, nach der Basis hin zunimmt. Dagegen findet in Funktion der Zeit eine Abnahme des N-Gehaltes in den entsprechenden Koleoptilteilstücken statt.

Wie bereits mehrfach betont, legten wir vor allem Wert darauf, biologisch einwandfreie Bezugsgrössen für unsere mikrochemischen Analysen zu finden. Wir rechneten daher die Analysenergebnisse aus den Koleoptilteilstücken durch Division der Anzahl Zellagen um und fanden für den Total-N-Gehalt je Zellage die Werte, die in Fig. 5 dargestellt sind.

Aus dieser Figur erkennt man ohne Schwierigkeit, dass der Total-N-Gehalt je Zellage in der 3 mm langen Koleoptilspitze keinen grossen Schwankungen unterliegt. In den übrigen Teilstücken findet man, räumlich betrachtet, eine Zunahme des N-Gehaltes nach der Basis zu. Es nimmt zwar der N-Gehalt in den ein oder zwei letzten basalen Teilstücken wieder ab; doch steht diese Abnahme mit der Zellgrösse im Zusammenhang. Aus Tabelle 2 geht hervor, dass die an der Basis gelegenen Parenchymzellen noch nicht so stark gestreckt sind, und deshalb muss man auch einen kleineren N-Gehalt erwarten.

Tabelle 7.
Gehalt einer Zelle an koagulierbarem (a) und wasserlöslichem (b) Stickstoff in γ in verschiedenen Entwicklungsstadien.

Entwicklungs- stadien der Koleoptilen Länge in mm	S		I		II		III		IV		V		VI	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
3	0,16	0,04												
6	0,22	0,05	0,27	0,09										
11	0,26	0,05	0,44	0,21										
13	0,32	0,06	0,41	0,24										
17	0,31	0,03	0,37	0,33	0,54	0,28								
26	0,33	0,02	0,35	0,36	0,38	0,43								
34	0,41	0,02	0,37	0,38	0,53	0,91	0,35	0,63						
43	0,39	0,02	0,31	0,43	0,49	0,65	0,75	1,07	0,63	0,98				
51	0,38	0,02	0,77	0,48	0,66	0,86	0,80	1,00	0,67	1,00	0,69	0,99		
63	0,38	0,02	0,80	0,75	0,67	0,73	0,78	0,93	1,00	1,04	0,95	1,16	0,86	1,11

Zeitlich betrachtet, überrascht die N-Zunahme in den Teilstücken mit zunehmendem Alter, während wir, bezogen auf 10 mm lange Teilstücke, eine N-Abnahme gefunden haben (s. Figur 4).

Aehnlich verhält sich auch der koagulierbare und wasserlösliche N, bezogen auf eine Zellage (s. Tabelle 7).

In den Spitzen nimmt der koagulierbare Stickstoff von Anfang an ständig zu. Der Gehalt an wasserlöslichem Stickstoff nimmt erst zu und wird dann kleiner, um sich nach Abschluss der Zellteilungen nicht mehr zu verändern.

In den einzelnen Koleoptilteilstücken beobachteten wir, räumlich betrachtet, die gleiche Zunahme des koagulierbaren und wasserlöslichen N wie die des Total-N. An der Basis der Koleoptile sind zufolge der kleineren Zellgrößen die gleichen Abnahmen wie beim Total-N festzustellen.

Beim koagulierbaren N tritt, zeitlich betrachtet, deutlich eine Zunahme im entsprechenden Teilstück mit fortschreitender Entwicklung ein. Man kann dieselbe Tatsache auch an den Analysenzahlen für den wasserlöslichen Stickstoff erkennen, bei denen der erste Wert immer kleiner ist als der letzte der betreffenden Entwicklungsreihe.

Durch Planimetrierung wurde festgestellt, dass die Parenchymzellen 90,1 % der Querschnittsfläche der Koleoptile ausmachen (siehe S. 119). Bei einem durchschnittlichen Gehalt einer Zellage von 0,75 γ koagulierbarem Stickstoff würde — vorausgesetzt, dass die Parenchymzellen gleich gross sind und der Stickstoff gleichmässig verteilt ist — in einer Parenchymzelle 0,375 $m\gamma$ koagulierbarer Stickstoff oder 2,3 $m\gamma$ Reineiweiss vorhanden sein!

c) Ergebnisse der N-Analysen von absterbenden Koleoptilen.

Die Untersuchung des N-Gehaltes der von den Primärblättern durchbrochenen Koleoptilen blieb zwei weiteren Versuchsreihen vorbehalten. Zuerst untersuchten wir den Total-N-Gehalt von verschiedenen langen Koleoptilen nach Durchbruch der Primärblätter und fanden die in Tabelle 8 angegebenen Werte.

Tabelle 8.

Total-N-Gehalt der Koleoptilen nach Durchbruch der Primärblätter in mg.

Entwicklungsstadien der Koleoptilen Länge in mm	Tage nach Durchbruch der Primärblätter					
	0	1	2	4	6	10
55	0,570	0,338	0,295	0,226	0,140	0,136
65	0,630	0,458	0,410	0,264	0,206	0,200

Aus den in Tabelle 8 angegebenen Werten geht zweifelsfrei hervor, dass der Total-N-Gehalt nach Durchbruch der Primärblätter ständig abnimmt. In dieser Versuchsreihe schien der N-Gehalt der ganzen Koleoptilen bereits nach 10 Tagen konstant zu bleiben.

Dieser Versuch wurde wiederholt (s. Tabelle 9), wobei der koagulierbare und wasserlösliche Stickstoff bestimmt wurden.

Tabelle 9.

Gehalt ganzer Koleoptilen an koagulierbarem (a) und wasserlöslichem (b) Stickstoff nach Durchbruch der Primärblätter in mg.

Entwicklungsstadien der Koleoptilen Länge in mm	0	1	2	4	6	10	14	18
	Tage nach Durchbruch der Primärblätter							
61	a 0,282	0,222	0,185	0,115	0,133	0,096	0,080	0,077
	b 0,346	0,282	0,200	0,114	0,060	0,051	0,050	0,048

Auch hier ist die ständige Abnahme des N-Gehaltes ganzer Koleoptilen offenbar. Die Untersuchungen wurden bis 18 Tage nach Durchbruch der Primärblätter ausgedehnt. Eine Weiterführung des Versuchs war unmöglich, da nach diesem Termin sich Zeichen von Fäulnis bemerkbar zu machen begannen.

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Protoplasmawachstum während der Zellstreckung.

Wir haben bereits aus den zytologischen Untersuchungen auf eine Plasmavermehrung während der Zellstreckung geschlossen. Die Zunahme des Gesamtstickstoffgehaltes der ganzen Koleoptilen bei der Streckung (s. Tabelle 5) stützt diese Auffassung. Nachdem nun ausserdem eine starke Vermehrung des koagulierbaren Stickstoffes je Zellage bei der Streckung festgestellt ist, *besteht kein Zweifel mehr, dass das Protoplasma beim Streckungswachstum beträchtlich an Volumen zunimmt, und zwar nicht nur etwa durch Wassereinlagerung (« Schwellwasser »), sondern durch Ausbau seines Eiweissgerüsts.*

Die in Tabelle 7 für die einzelnen Zellagen angegebenen Werte lassen zweifelsfrei erkennen, dass der koagulierbare Plasmastickstoff in *jeder Zone* bei der Zellstreckung zunimmt. Es sollen dabei nur die Zahlen in Betracht gezogen werden, bei denen kein Einfluss von Zellteilungen mehr vorliegt. So nimmt z. B. die Zelllänge in dem direkt unter der Spitze gelegenen Teilstück I (s. Tabelle 2) in den drei letzten geprüften Entwicklungsstadien von 108 auf 250 μ zu. In der gleichen Zeit vermehrt sich der koagulierbare Plasmastickstoff von 0,31 auf

0,80 γ je Zellige. Einer entsprechenden Erscheinung begegnen wir im Teilstück IV, wo die Zelllänge von 125 auf 200 μ steigt und der koagulierbare Plasmastickstoff von 0,63 auf 1,000 γ je Zellige ansteigt.

Die Protoplasmavermehrung kann also beim Streckungswachstum nicht einfach und «billig» durch Wasseraufnahme geschehen, wie einige der erwähnten Autoren annehmen. Wir müssen vielmehr aus unsern Untersuchungen schliessen, dass neben der Wassereinlagerung *auch eine wesentliche Vergrösserung des Eiweissgerüsts* erfolgt.

Mit der Volumenvergrösserung des Protoplasmas (s. Tabelle 4) verläuft die Vermehrung des koagulierbaren N allerdings nicht parallel, so dass im Laufe der Zellstreckung eine «Verdünnung» des Protoplasmas eintritt. Es ist zwar nicht anzunehmen, dass die relative Volumenvermehrung ausschliesslich auf «Wassereinlagerung» zurückzuführen ist. Man darf vielmehr vermuten, dass auch die im Plasmagerüst eingebauten Lipide, Phosphatide und Nukleinsäuren eine Vermehrung erfahren. Der ganze Vorgang der Zellstreckung verläuft also viel komplizierter als vielfach angenommen wird. Aber die Natur vermag diesen komplizierten Entwicklungsprozess mit solcher Geschwindigkeit und auf solch kleinem Raum zu meistern, dass uns nur ein bewunderndes Staunen übrigbleibt.

Membranwachstum während der Zellstreckung.

Bei der Diskussion des Membranwachstums (5, S. 212) ist bisher nur die axiale Längenzunahme der Zellwände in Betracht gezogen worden. Wie aus der Vermessung der Zellen in der Maiskoleoptile hervorgeht, kann indessen neben der Streckung gleichzeitig eine beträchtliche Umfangvergrösserung stattfinden. Die Zellen sind in ausgewachsenen Koleoptilen maximal 23mal länger als in der Koleoptile des Embryos; gleichzeitig ist aber nach Tabelle 3 auch der Zelldurchmesser 9mal grösser geworden! Diese Feststellung muss bei künftigen Betrachtungen über den Wachstumsmechanismus der primären Zellwände mitberücksichtigt werden.

Vergleich zwischen Wuchsstoff- und Eiweissgehalt der Koleoptilspitze.

Von Soeding (15) liegen Untersuchungen über den Wuchsstoffgehalt der Haferkoleoptile vor. Obwohl die Wuchsstoffmenge in der Maiskoleoptile grösser ist, wird sie sich gleichwohl in derselben Grössenordnung halten. Mit gewissen Einschränkungen dürfte daher ein Vergleich des Wuchsstoffgehaltes der *Avena*-Koleoptile mit dem Eiweissgehalt der *Zea Mays*-Koleoptile erlaubt sein.

Bei Umrechnung der *Avena*-Einheiten auf absoluten Wuchsstoffgehalt findet man 4×10^{-6} γ Auxin in einer 2—3 mm langen *Avena*-Koleoptilspitze (26 mm lang), während der Reineiweissgehalt einer

entsprechenden Maiskoleoptilspitze $1,25 \times 10^2 \gamma$ beträgt. Unter Berücksichtigung des höheren Wuchsstoffgehaltes der *Zea Mays*-Koleoptile ergibt sich das Verhältnis der Eiweissmenge zum Wuchsstoffgehalt in der Koleoptilenspitze zu ungefähr $10^7 : 1$.

In diesem Zusammenhang sei auf das besondere Verhalten der Spitzenzellen hingewiesen. Sie strecken sich viel weniger und vakuolisieren auch nicht so stark wie die übrigen Koleoptilzellen. Ihr relativ hoher N-Gehalt ist ein Hinweis auf besondere physiologische Funktionen. Da sie sich trotz ihres meristematischen Charakters nicht mehr teilen, sind sie am ehesten mit den plasmareichen und dünnwandigen Zellen von Drüsengeweben zu vergleichen. Dadurch sind die zytologischen und physiologischen Voraussetzungen für die von Skoog (14) und Went und Thimann (21) angenommene Aktivierung des aus dem Samen einwandernden inaktiven Wuchsstoffes in den Spitzenzellen gegeben.

N-Wanderung und Wuchsstoffwanderung.

Bei der Keimung haben wir feststellen können, dass im Laufe der Entwicklung der N-Gehalt der ganzen Koleoptile bedeutend zunimmt (s. Tabelle 5). Die Zunahme in der Koleoptile kann aber nur aus dem im Samen mobilisierten Stickstoff stammen. Hieraus müsste man natürlich auf einen aufsteigenden N-Strom in der Koleoptile schliessen.

Untersucht man aber die Teilstücke der Koleoptile (s. Figur 4 und Tabelle 6), so findet man eine Abnahme des N-Gehaltes je Teilstück beim Längenwachstum. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen weisen also scheinbar auf einen abwärtsfliessenden N-Strom in der Koleoptile hin, den man nach Beendigung der Streckung der betreffenden Zonen annehmen müsste. Der Stickstoff müsste dabei aus den gestreckten Zellen — die Streckung verläuft basipetal — zu den Zonen weiteren Wachstums herunterwandern. Diese Schlussfolgerung muss man, gestützt auf den N-Gehalt der Koleoptilteilstücke, ziehen. In Wirklichkeit besteht eine solche basipetale Stickstoffwanderung jedoch *nicht*.

In Figur 5 haben wir versucht, den N-Gehalt je Zellschicht darzustellen. Dabei fällt die Tatsache auf, dass der N-Gehalt je Zellschicht mit zunehmender Koleoptillänge zunimmt. Am deutlichsten erkennt man die Zunahme in Tabelle 7, aus der sowohl die Vermehrung des koagulierbaren als auch des wasserlöslichen Stickstoffes je Zellage hervorgeht. Damit ist die Annahme einer Abwärtsbewegung des Stickstoffes widerlegt, und wir kommen zum Schlusse, dass es nur einen *aufsteigenden N-Strom* in der Koleoptile gibt.

Diese Betrachtung zeigt mit aller Deutlichkeit, wie wichtig die Wahl biologisch einwandfreier Bezugsgrössen ist, die allein Gewähr für die richtige Lösung eines biologischen Problems bieten. In unserem Falle ist diese Bezugsgrösse die einzelne Zellschicht. Bezogen auf Zellen

erscheint die N-Wanderung einfach und klar, während sie bei Verwendung willkürlich gewählter Bezugsgrößen (Frischgewicht, Trockengewicht oder Volumen einzelner Koleoptilabschnitte) unnötig kompliziert oder sogar unentwirrbar wird.

Will man die Stickstoffwanderung in der Koleoptile mit der Wuchsstoffwanderung vergleichen, so muss man sich klar darüber sein, dass der Stickstoff nach unsern Untersuchungen, so lange das Wachstum anhält, ausschliesslich aufwärts und der Wuchsstoff nach F. W. Went (20 a) ausschliesslich abwärts wandert. *Die Stoffbewegungen des Auxins und des Stickstoffes sind also entgegengesetzt gerichtet.* Daher ist es wahrscheinlich, dass — wenn überhaupt ein Einfluss des Auxins auf den Stickstoffstrom stattfindet — dieser Einfluss nur indirekt sein kann. In einem solchen Falle müsste man sich vorstellen, dass der Wuchsstoff die Zellstreckung anregt und darauf der Stickstoff aus dem Samen zu den Zonen stärksten Wachstums hinfliesst. Aus unsern N-Analysen (Total-N, koagulierbarer und wasserlöslicher N) geht tatsächlich eine Zunahme des Gehaltes aller drei N-Fractionen der sich streckenden Zellen hervor. Wir glauben daher mit F. W. Went (20 b), dass eine sekundäre Einwirkung des Wuchsstoffes auf die Stickstoffbewegung bestehen kann. Letztere Annahme würde auch die Versuchsergebnisse von Stuart (16) erklären, der bei Behandlung von Bohnenhypokotylen mit Indolelessigsäure eine sofortige Verschiebung der mobilisierten Kohlehydrate und N-Verbindungen nach der Behandlungsstelle hin bemerkte.

Von besonderem Interesse ist ferner die Verteilung des Wuchsstoffes, von der wir durch Thimann (18) und Soeding (15) wissen, dass die Konzentration von der Spitze zur Basis abnimmt. Es würde uns zwar nicht überraschen, wenn die Wuchsstoffverteilung, bezogen auf Zellagen — ähnlich wie bei unsern N-Analysen — anders wäre, als bezogen auf Millimeterzonen. Es könnte dann vielleicht verständlich werden, warum die Zellstreckung zuerst in den scheinbar an Wuchsstoff ärmsten Basiszellen beginnt und erst nachher zu der «wuchsstoffreicheren» Spitzenregion ansteigt, wie dies Avery und Burkholder (1) für die *Avena*-Koleoptile und unsere Tabelle 2 für die *Zea Mays*-Koleoptile feststellen.

Negative N-Wanderung in der absterbenden Koleoptile.

Aehnlich wie beim Laubfall im Herbst findet auch in der Koleoptile eine negative N-Wanderung beim Absterben des Organs statt. Aus den Tabellen 8 und 9 geht diese Tatsache deutlich hervor. Die Abnahme des Total-N-Gehaltes schwankte in unsern Untersuchungen zwischen 20 und 32 % des N-Gehaltes vor dem Durchbruch der Primärblätter. Deleano und Andreesco (4) fanden z. B. bei der Auswanderung des

Stickstoffes aus den Blättern von *Salix fragilis* eine Verminderung der N-Verbindungen um 50 %. Daraus geht hervor, dass der Stickstoff aus der Koleoptile vollständiger als aus den Laubblättern von *Salix fragilis* zurückgenommen wird.

Beim Absterben der Koleoptile wandern vor allem die *wasserlöslichen* N-Verbindungen aus, so dass nach 18 Tagen nur noch ca. 14 % ihres ursprünglichen Gehaltes darin vorhanden sind. Die Verschiebung der *koagulierbaren* N-Verbindungen geschieht dagegen viel langsamer und weniger stark, ähnlich wie bei der Einwanderung in die Koleoptile. 18 Tage nach Durchbruch der Primärblätter sind noch ca. 27 % des koagulierbaren Plasmastickstoffes vorhanden.

Rund ein Viertel bis ein Drittel des N-Gehaltes der Koleoptile wird von der Pflanze geopfert, wobei der grössere Teil aus dem für die Pflanze wertvollen koagulierbaren Protoplasmastickstoff besteht. Verglichen mit dem Gehalt der Koleoptile im ruhenden Samen gehen hierbei ca. das 2,5fache der koagulierbaren und das 24fache der wasserlöslichen N-Verbindungen verloren. Im Vergleich mit dem gesamten Reservestickstoff des ruhenden Samens machen die N-Verluste beim Absterben der Koleoptile trotzdem nur 2 % aus. Wir können deshalb trotz mangelhaften N-Rückzuges eine mehr oder weniger sorgfältige Verwendung der N-Verbindungen feststellen.

V. Zusammenfassung.

Zytologische Ergebnisse.

1. Mit Hilfe von Paraffinschnitten wurden sowohl die Zellteilungen als auch die Zellstreckung in der sich entwickelnden *Zea Mays*-Koleoptile verfolgt. *Es wurde festgestellt, dass von 26 mm Koleoptillänge an keine Zellteilungen mehr stattfinden und das weitere Längenwachstum ausschliesslich auf Zellstreckung beruht. In den Koleoptilen erfolgt keine Zellvermehrung durch Zellteilungen parallel zur Längsrichtung.* Das parenchymatische Grundgewebe nimmt 90 % der gesamten Querschnittsfläche ein, die restliche Fläche verteilt sich gleichmässig auf die äussere und innere Epidermis und das Leitgewebe.

2. Das Längenwachstum der Koleoptile erfolgt am Anfang *basipetal*¹; später erfasst es alle Zellschichten bis zu den unter der Spitze gelegenen Zellen. Aus dem untern Teil der ungestreckten Koleoptile entwickeln sich ungefähr drei Viertel der gestreckten Koleoptile. *Die Parenchymzellen strecken sich nicht nur in der Längsrichtung, sondern es findet auch eine ansehnliche Umfangvergrösserung der Zellen statt.*

¹ Im Gegensatz zum basifugalen Wachstum der meisten Hypokotylen dikotyler Pflanzen, das offenbar durch die fortschreitenden Zellteilungen mitbedingt ist.

3. Trotz fortschreitender Vakuolisierung der Parenchymzellen nimmt ihr Plasmabelag während der Streckung erheblich an Volumen zu.

Ergebnisse der Mikro-Stickstoffbestimmungen.

1. Der Stickstoffgehalt der sich streckenden Koleoptile nimmt ständig, aber nicht proportional mit dem Längenwachstum zu. In jeder Zellschicht findet eine Zunahme an Total-N, koagulierbarem und wasserlöslichem Stickstoff statt. Bei der Streckung müssen also neue Eiweissstoffe in das Protoplasmagerüst eingelagert werden; die bereits zytologisch festgestellte Vermehrung des Protoplasmas kann daher nicht auf Plasmaquellung beruhen, sondern es findet eine ansehnliche Vermehrung von lebender Substanz statt. Die wasserlöslichen N-Verbindungen des Zellinhaltes nehmen bei der Zellstreckung in stärkerer Masse zu als die koagulierbaren. Durchschnittlich findet sich in jeder Parenchymzelle 2,3 mg Eiweiss. Im Vergleich zum Wuchsstoffgehalt der Koleoptilspitze ist der Eiweissgehalt 10⁷mal grösser.

2. Nimmt man die Zellagen als Bezugsgrössen, wandern die N-Verbindungen in der sich streckenden Koleoptile ständig aufwärts. Ein etwaiger Einfluss des Wuchsstoffes auf den N-Strom kann nur sekundärer Natur sein.

3. Beim Absterben der Koleoptile wird ein Viertel bis ein Drittel des Stickstoffes der Koleoptile geopfert; der grössere Teil des nicht von der Pflanze zurückgenommenen Stickstoffes ist koagulierbarer Plasmastickstoff. Aus unsern Versuchen geht keine absolute Stickstoffökonomie hervor. Da aber die N-Verluste 2 % des gesamten Reservestickstoffes nicht überschreiten, ergibt sich aus der vorliegenden Untersuchung trotzdem eine sparsame Verwendung des Stickstoffes durch die Pflanze.

Literaturverzeichnis.

1. Avery, G. S., jr. and Burkholder, P. R. Polarized growth and cell studies on the *Avena*-coleoptile, phytohormone test object. Bull. Torrey Botanical Club, **63**, S. 1 ff., 1936.
2. Blank, F. Beitrag zur Morphologie von *Caryocar nuciferum* L. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **49**, S. 466, 1939.
3. Boysen Jensen, P. Die Elemente der Pflanzenphysiologie, S. 315, Jena 1939.
4. Deleano, N. T. et Andreesco, M. L'absorption et la migration négative de l'azote dans les feuilles de «*Salix fragilis* L.». Bull. Soc. Sciences de Cluj, **6**, S. 220, 1931.
5. Frey-Wyssling, A. Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Protoplasma-Monographien, Bd. 15, Berlin 1938.
6. Gouwentak, C. A. Untersuchungen über den N-Stoffwechsel bei *Helianthus annuus* L. Rec. Trav. Bot. Néerlandais, **26**, S. 29 ff., 1929.

7. Jost, L. Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 3. Auflage, S. 372, Jena 1913.
 8. Koblet, R. Untersuchungen über die stofflichen Veränderungen im wachsenden und reifenden Weizenkorn. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **50**, S. 161, 1940.
 9. Miller, E. C. Plant Physiology, 2nd edition, S. 1022, New York and London 1938.
 10. Mothes, K. Ein Beitrag zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. Planta, **1**, S. 482, 1926.
 11. Pfeffer, W. Pflanzenphysiologie, 1. Band, 2. Auflage, S. 36, Leipzig 1897.
 12. Pregl, F. Die quantitative organische Mikroanalyse, S. 120 ff., Berlin 1930.
 13. Sierp, H. Pflanzenphysiologie in Bonner Lehrbuch für Botanik, 17. Auflage, S. 224, Jena 1928.
 14. Skoog, F. A deseeded *Avena* test method for small amounts of auxin and auxin precursors. Journ. Gen. Physiology, **20**, S. 327 ff., 1937.
 15. Söding, H. Ueber den Wuchsstoff in der Basis der Haferkoleoptile. Ber. Dt. Bot. Ges., **53**, S. 845, 1935.
 16. Stuart, N. W. Nitrogen and carbohydrate metabolism of kidney bean cuttings as affected by treatment with indoleacetic acid. Bot. Gazette, **100**, S. 298 ff., 1938.
 17. Tetley, U. and Priestley, J. H. The histology of the coleoptile in relation to its phototropic response. New Phytologist, **26**, S. 171 ff., 1927.
 18. Thimann, K. V. The distribution of growth substance in plant tissues. Journ. Gen. Physiology, **18**, S. 23 ff., 1934.
 19. Went, F. A. F. C. Wachstum und Bewegungen in Kostytschew, Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, 2. Band, S. 259, Berlin 1931.
 - 20a. Went, F. W. Wuchsstoff und Wachstum. Rec. Trav. Bot. Néerlandais, **25**, S. 58, 1928.
 - 20b. — Analysis and integration of various auxin effects I and II. Proc. Kon. Akad. Wetenschappen, **42**, S. 587, 1939.
 21. Went, F. W. and Thimann, K. V. Phytohormones, S. 64, New York, 1937.
-