

Untersuchungen an Heterotrophen- Material

Autor(en): **Haller, R.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **63 (1953)**

PDF erstellt am: **04.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-44372>

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.

Untersuchungen an Heterotrophen-Material

Von Prof. Dr. R. Haller, Riehen

Eingegangen am 20. Juni 1953

Ich habe schon früher über Untersuchungen berichtet, welche ich an Material vorgenommen hatte, das von der *Orobanche ramosa* L. stammte (1), das ich im selben Jahr auf Tabakfeldern im Puschlaver Tal bei Brusio sammeln und trocknen konnte. Schon damals ist mir aufgefallen, wieviel Extraktivsubstanzen dem Material entnommen werden konnten, besonders reichlich bei der Extraktion mit Alkalien.

Nun beobachtete ich, beim Wiederaufnehmen der gekennzeichneten Versuche, daß auch mit verdünntem Ammoniak sehr erhebliche Mengen Extraktivsubstanzen aus dem getrockneten Pflanzenmaterial gewonnen werden können. Mit verdünntem Ammoniak erhält man schon in der Kälte eine zunächst goldgelbe Lösung, die nach etwa zweimal 24 Stunden tief dunkelbraun-schwarz ist. Wenn man diese abfiltrierte Lösung auf dem Wasserbade eindampft, so scheiden sich, sobald die letzten Spuren Ammoniak verflüchtigt sind, braunschwarze Krusten ab, und beim vollkommenen Eindampfen hinterbleibt ein dunkelbrauner, amorpher Rückstand. Aus dem so mit Ammoniak extrahierten Material lassen sich mit verdünnter Natronlauge weitere erhebliche Anteile einer mit dunkelbrauner Farbe löslichen Substanz extrahieren.

Die Menge der durch Ammoniak extrahierbaren Substanzen beträgt bei einer Menge des zu extrahierenden Materials von 2,42 g 0,58 g, also 24 %. Über die mit Alkalien und Säuren extrahierbaren Mengen habe ich schon in der vorausgegangenen Veröffentlichung berichtet (loc. cit. S. 158).

Aus dem mit Ammoniak extrahierten Material lassen sich nun weiter mit $\frac{1}{10}n$ Natronlauge größere Mengen einer dunkelbraun in Lösung gehenden Substanz extrahieren, wie das schon loc. cit. seinerzeit hervorgehoben wurde.

Behandelt man das Material vorausgehend mit einer mit Essigsäure angesäuerten Lösung von Natriumchlorit in der Dauer von 24 Stunden, so wird dasselbe gebleicht, und man erhält dann nach dem Auswaschen und Weiterbehandeln mit $\frac{1}{10}n$ Natronlauge keinerlei braune Extrakte mehr. Es sind also diese Extraktivsubstanzen durch die oxydierende Wirkung des Chlorperoxyds zerstört oder jedenfalls verändert worden.

Um festzustellen, ob durch die oxydative Behandlung mit ClO_2 diese Extraktivsubstanzen wirklich zerstört und nicht nur verändert

worden sind, wurden 1,67 g Material in einer mit Essigsäure angesäuerten Lösung von Natriumchlorit zweimal 24 Stunden bis zur vollkommenen Ausbleichung des Materials behandelt. Nach dieser Zeit wurde auf gewogenem Filter abfiltriert, wiederholt mit Wasser gewaschen und getrocknet, sodann gewogen. Man stellt einen Gewichtsverlust von 0,42 g fest, was zirka 25 % des ursprünglichen Gewichtes bedeutet. Wir haben es also mit einer wirklichen Zerstörung eines Teiles der inkrustierenden Substanzen zu tun. Dieser Prozentsatz entspricht, wie wir sehen, ziemlich genau dem, der einem Gewichtsverlust von 24 % nach Extraktion mit verdünntem Ammoniak festgestellt wurde.

Um nun die Gesamtmenge der «begleitenden Kohlenhydrate» (2) oder der sog. «Hemicellulosen» zu bestimmen, habe ich eine Rohmaterialmenge von 1,77 g zunächst zweimal 24 Stunden mit verdünntem Ammoniak bei Zimmertemperatur extrahiert und diese Behandlung ein zweitesmal wiederholt. Dieser Behandlung folgte weiter eine solche in Natronlauge $\frac{1}{10}n$, in der Dauer von zweimal 24 Stunden. Auch diese Extraktion wurde in derselben Zeit wiederholt. Zuletzt folgte eine zweimal 24 Stunden dauernde Behandlung in 1prozentiger, mit Essigsäure angesäuerter Natriumchlorit- (NaClO_2 -)Lösung, ebenfalls in der Dauer von zweimal 24 Stunden, dann wurde das nun völlig entfärbte Material gründlich gewaschen und getrocknet.

Nach gründlichem Trocknen des wie oben gekennzeichneten Materials resultiert ein Restgewicht von 0,98 g, welches einem Gehalt an reiner Gerüstsubstanz von 55,4 % entspricht; 44,6 % sind also in das Extrakt gegangen.

Das zurückbleibende Gerüst zerfällt nun leicht in einzelne Zellen, welche sich mit Chlorzink-Jod schmutzig violett und mit Jod zunächst, dann Schwefelsäure von 1,535 sp. Gew. indigoblau färben, also die nahezu reine Cellulosereaktion zeigen, also zweifellos aus Cellulose bestehende Zellwände besitzen. Mit Äthylendiamin-Kupfer quellen die Zellwände und lösen sich langsam, allerdings nicht ohne da und dort die bekannten Cuticularringe zurückzulassen, ein Beweis dafür, daß immer noch gewisse inkrustierende Substanzen, trotz der rigorosen Vorbehandlungen, in den Zellwänden zurückgeblieben sind. Safranin in schwach essigsaurer Lösung färbt die Zellwände noch intensiv rot, Hämalan färbt blaßviolett.

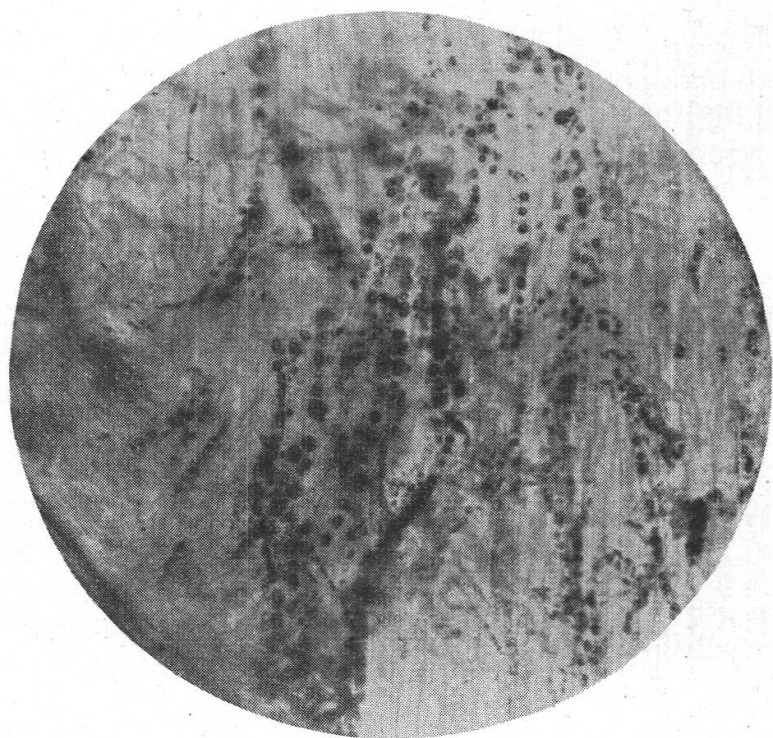
Wenn man ein Schabepreparat nach Reinsch (3) in Neutralviolett färbt, so kann man die massigen Intercellularsubstanzen intensiv violett gefärbt zwischen den Zellen, welche nun hellviolett gefärbt sind, beobachten und wird dann kaum überrascht sein von den ungewöhnlich hohen Mengen von Extraktivsubstanzen, von denen oben die Rede war.

Mit Safranin färben sich diese Substanzen intensiv rotorange, wobei die eigentlichen Zellwände nur sehr blaß rosa erscheinen; besser allerdings noch mit Rutheniumrot lassen sich die mächtigen Ablage-

rungen von Pektinkörpern in den Interzellularräumen sehr gut differenzieren.

Behandelt man in Rutheniumrot gefärbtes Material mit Äthylen-diamin-Kupfer, so quellen die Zellwände stark, und man beobachtet nun, der Zellwand aufgelagert, intensiv rot gefärbte, längsorientierte, plattenförmige Auflagerungen, welche unzweifelhaft aus Pektinkörpern bestehen (vgl. Mikrophotographie).

Was nun das Verhalten der durch Extraktion aus ammoniakalischem Medium in Wasser-Alkohol 1 : 1 einerseits und das entsprechende Extrakt mit $\text{NaOH } \frac{1}{10N}$ andererseits anbelangt, so zeigen die beiden durch



Orobanche ramosa
Ablagerungen «begleitender Kohlenhydrate» auf und zwischen dem Zellgerüst. Quellung in Äthylen-diamin-Kupfer.
Rutheniumrotfärbung.
Dezember 1952

diese Extraktion gewonnenen Substanzen von intensiv braunschwarzer Färbung zunächst gegenüber F e h l i n g scher Lösung eine beachtenswerte Reduktionsfähigkeit. Nicht daß die Lösung, wie beispielsweise bei Glukose, sich beim Erhitzen sofort unter vollkommener Entfärbung gelb färbt und später unter Abscheidung von Cuprooxyd vollkommen entfärbt, aber eine eigentliche Entfärbung erfolgt auch hier, ebenso eine Abscheidung von rotem Cuprooxyd. Entweder haben wir es mit Gemischen verschiedener Substanzen zu tun, von denen eine F e h l i n g sche Lösung reduziert, oder die Reduktionskraft der Substanz ist beschränkt.

Während nun das ammoniakalische Extrakt in Wasser wieder leicht löslich ist, ist das ätzalkalische darin nur sehr schwer löslich und löst sich erst auf Zusatz von etwas Ammoniak.

Kupfervitriollösung fällt die wässrige Lösung der ammoniakalischen Extrakte vollständig, die der ätzalkalischen gar nicht. Das ätz-

alkalische Extrakt löst sich auch nicht in Ammonoxalatlösung, welche bekanntlich ein vorzügliches Lösungsmittel für Pektinstoffe darstellen soll.

Verdünnte Schwefelsäure verändert die Substanz, auch bei Siedehitze, kaum. Brom wird von den Extraktivsubstanzen kräftig aufgenommen; es bildet sich eine orange gefärbte Bromverbindung.

In Ammoniak und verdünntem Ätznatron sind beide Extraktivsubstanzen leicht löslich. Auf Zusatz von Natriumhydrosulfit erfolgt auch beim Erwärmen keine Reduktion oder jedenfalls keine Entfärbung.

Ich habe beide Substanzen auf Stickstoffgehalt untersucht vermittelst der Methode von L a s s a i g n e (4) mit metallischem Natrium und stellte fest, daß das ammoniakalische Extrakt stickstoffhaltig ist im Gegensatz zum Natronlaugeextrakt, das sich als stickstofffrei erwies. Behandelt man in gleicher Weise das Rohmaterial, d. h. Stücke vom Stengel der *Orobanche ramosa*, so stellt man auch hier eindeutig Stickstoffgehalt fest.

Behandelt man die Relikte des *Orobanchen*-Stengels, nach Extraktion mit Ammoniak, dann mit NaOH $\frac{1}{10}n$, zuletzt behandelt in ClO₂ bis zur völligen Entfärbung mit der Stickstoffprobe von L a s s a i g n e, so resultiert nur eine blaue Färbung, die wohl ihre Ursache in dem möglichen Stickstoffgehalt der Spuren inkrustierender Substanzen der Cellulosegerüstsubstanz (5) haben. Bei längerem Stehen bilden sich allerdings dann geringe Mengen flockigen Berliner Blaus. Im Gegensatz dazu zeigen die obenerwähnten zwei Proben des Ammoniakextraktes¹ und des Rohmaterials einen reichlichen blauen Niederschlag.

Bemerkenswert ist ferner, daß sich beim Versetzen der Reaktionsmasse, nach Vornahme der L a s s a i g n e schen Stickstoffprobe mit Salzsäure, beachtliche Mengen von Schwefelwasserstoff entwickeln, wohl herrührend von Sulfaten, welche am Aufbau des Stengels der gekennzeichneten Pflanze teilhaben, da kaum anzunehmen ist, daß die Pflanze elementaren Schwefel enthält. Es ist aber bemerkenswert, daß nur die mit NaOH $\frac{1}{10}n$ extrahierte Substanz diese intensive Schwefelwasserstoffentwicklung bei der L a s s a i g n e schen Probe zeigt, während die mit Ammoniak extrahierte Substanz keine Spur von Schwefelwasserstoff feststellen läßt. Übrigens läßt sich der Schwefel aus dieser Substanz noch in anderer Weise eindeutig nachweisen. Das Filtrat, nach Vornahme der L a s s a i g n e schen Reaktion, gibt auf Zusatz von Bleiacetatlösung eine schwarze Fällung von PbS und beim Zusatz von Ferrosulfat einen schwarzen Niederschlag von FeS.

Behandelt man das Rohmaterial mit S c h u l z e schem Reagenz bis zu völligem Zerfall, so kann man in den Relikten mit Rutheniumrot noch beachtliche Mengen nicht zerstörter Hemizellulosen feststellen.

¹ Die Substanz entwickelte, mit NaOH erwärmt, keine Spur von NH₃.

Man erkennt außerdem an freiliegenden Zellen und Gefäßen eine deutliche Färbung der Zellwand. Behandelt man solche freiliegende Zellen mit Äthylendiamin-Kupfer, so beobachtet man deutlich die Bildung von sogenannten Cuticularingen, welche nach Lösung der Zellwand zurückbleiben und eine unverkennbare Rosafärbung aufweisen. Das S c h u l z e sche Reagenz hat daher die Inkrusten der Primärmembran nicht restlos zerstört, so daß die bekannte Reaktion solcher Zellwände in Äthylendiamin-Kupfer in Erscheinung treten konnte. Solche Zellulosen bezeichnet man nach C r o s s - B e v a n als Pecto-Zellulosen, wie ich das schon andernorts hervorzuheben Gelegenheit hatte (6).

Unterwirft man die Relikte des *Orobanchen*-Stengels der L a s s a i g n e schen Stickstoffprobe, so erfolgt nach dem Zusatz von Salzsäure eine unverkennbare grünblaue Verfärbung der Flüssigkeit, später ein flockiger, blauer Niederschlag von Berliner Blau, Spuren von Stickstoff anzeigend, aber außerdem eine beachtliche Entwicklung von Schwefelwasserstoff, was auf die Anwesenheit von Sulfaten in den Relikten nach der S c h u l z e schen Mazeration deutet.

Behandelt man außerdem eine kleine Menge der mit Natronlauge extrahierten Substanz mit konzentrierter Salpetersäure und einer kleinen Menge Natriumchlorat und erhitzt bis zur vollständigen Entfärbung zum Kochen, so fällt aus dieser Lösung Bariumchloridlösung einen sehr reichlichen, weißen Niederschlag. Der Schwefel ist offenbar in diesem Natronlaugeextrakt in verhältnismäßig hoher Konzentration, möglicherweise als Sulfat, enthalten, denn die wässrige Lösung des Natronlaugeextraktes wird von Bariumsulfat gefällt und der Niederschlag ist in Salpetersäure unlöslich.

Wenn von dem Natronlaugeextrakt auf dem Platinblech verascht wird, so hinterbleibt ein unverhältnismäßig hoher Anteil weißer Asche, welche in Wasser löslich ist und deren Lösung mit Bariumchlorid einen reichlichen, in Salpetersäure unlöslichen Niederschlag gibt und die gelbe Natriumflamme zeigt. Wir haben es also mit Natriumsulfat zu tun.

Wenn wir die Ergebnisse obenstehender Versuche mit dem *Orobanchen*-Material zusammenfassen, so muß der schon in der ersten Publikation festgestellte übernormale Gehalt an, wie sich H e s s (7) ausdrückt, «begleitenden Kohlehydraten» in erster Linie betont werden. Mindestens 50 Prozent der trockenen Substanz fällt auf diesen Anteil. Ob man berechtigt ist, im vorliegenden Fall von «Kohlehydraten» zu sprechen, erscheint, wenigstens teilweise, fraglich deshalb, weil der Rückstand des Extraktes mit Ammoniak eindeutig einen Stickstoffgehalt zeigt, der, wie ich nachwies, nicht aus dem Ammoniak der Extraktionsflüssigkeit stammen kann. Merkwürdigerweise läßt sich an den Extraktivsubstanzen mit verdünnter Natronlauge kein Stickstoff mehr nachweisen, hier kann eher von Kohlenhydraten gesprochen werden, dagegen ist darin ein außerordentlich hoher Gehalt an Sulfaten

festgestellt worden. Bemerkenswert ist ferner, daß die Relikte nach der Behandlung in Schulzeschem Mazerationsgemisch weiter eine schwache Färbung in Rutheniumrot zeigen, wie sie den nach Cross und Bevan als «Pectozellulosen» bezeichneten pflanzlichen Membranen eigen sind.

Über die Anordnung der inkrustierenden Substanzen in den Geweben der *Orobanchen*-Pflanze gibt die beiliegende Mikrophotographie Aufschluß. Die inkrustierenden Substanzen sind keineswegs in der Mittellamelle allein abgelagert, sondern sind als massige Auf- und Zwischenlagerungen im gesamten Gewebe der Pflanze verteilt, wie sie in Rutheniumrot, auch in Safranin, gefärbt auf der Mikrophotographie deutlich zu erkennen sind.

Über den chemischen Charakter der extrahierten Substanzen ist nichts Eindeutiges auszusagen. Von den eigentlichen Pektinkörpern unterscheiden sie sich durch völlige Unlöslichkeit in Ammonoxalat, dann ferner in einer ausgesprochenen Reduktionsfähigkeit in Fehling'scher Lösung. Die für Pektinsubstanzen charakteristische Affinität zu Rutheniumrot, dann bestimmten basischen Farbstoffen, wie Safranin und Neutralviolett, ist vorhanden. Der chemische Charakter dieser Extraktivsubstanzen muß weiteren Studien vorbehalten bleiben.

Literaturverzeichnis

1. Haller, R., 1949. Über den Charakter der Zellsubstanz heterotropher Pflanzen. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **59**, 155 (1).
 2. Hess, 1928. Zellulosechemie, 36.
 3. Reinsch, 1903. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, **20**, 28.
 4. Hollemann, 1916. Einfache Versuche auf dem Gebiete der organischen Chemie. Veit & Co., Leipzig, 2. Auflage, 2.
 5. Vgl. Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft, **50**, 159 (1949).
 6. Diese Berichte, **59**, 161 (1949).
 7. Hess, 1928, Loc. cit., 36.
-