

Rückstand:

0.1202 g Sbst.: 0.2239 g CO₂, 0.0662 g H₂O.

Gef. C 50.8, H 6.2, OCH₃-Zahl 5.0³⁾ (dieser Wert ist möglicherweise etwas zu hoch, da die Subst. Spuren von Schwefel enthielt).

Gefälltes Produkt:

0.1640 g Sbst.: 0.2842 g CO₂, 0.0930 g H₂O.

Gef. C 47.3, H 6.4, OCH₃-Zahl 4.7.

101. Josef Gundermann, Wilhelm Wergin und Kurt Hess: Über die Natur und das Vorkommen der Primärsubstanz in den Zellwänden der pflanzlichen Gewebe¹⁾.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 6. Februar 1937.)

1) Einleitung.

In einer vorangehenden Untersuchung²⁾ über die Ontogenese der pflanzlichen Zellwand ist an Baumwollhaaren verschiedenen Alters festgestellt worden, daß im Stadium der Zellstreckung die stoffliche Zusammensetzung der Zellwand eine andere ist als im Stadium des Dickenwachstums. Junge, im Warmhaus kultivierte Baumwollhaare zeigen bis etwa zum 35. Tag nach Abfall der Blütenblätter im Röntgen-Diagramm zwei charakteristische, starke Interferenzen ($d_1 = 4.14 \text{ \AA}$, $d_2 = 3.73 \text{ \AA}$), die nicht im Röntgen-Diagramm der Cellulose vorkommen, während bis zu diesem Zeitpunkt die Interferenzen der Cellulose zunächst überhaupt nicht und später nur mehr oder weniger schwach angedeutet erkennbar sind. Mit fortschreitender Entwicklung der Zellwand, d. h. im besonderen im Stadium des Dickenwachstums nach dem 35. Tag, treten die fremden Interferenzen zugunsten der Interferenzen der Cellulose zurück, um schließlich bei den reifen Haaren praktisch völlig zu verschwinden.

Die Natur der den fremden Interferenzen zugrunde liegenden Substanz, die wir vorläufig Primärsubstanz genannt haben, blieb zunächst unbekannt.

Die weitere Untersuchung hat ergeben, daß diese Substanz kein Kohlenhydrat ist. Auf Grund einer präparativen Aufteilung der jungen Zellwände und vergleichender Röntgen-Aufnahmen geht hervor, daß es sich in der Primärsubstanz um eine Zellwandkomponente handelt, die langkettige Kohlenwasserstoffgruppen enthält und die, wie im folgenden gezeigt wird, der Wachstgruppe angehört.

³⁾ nach Vieböck u. Schwappach, B. **63**, 2818 [1930].

¹⁾ Vorgetragen von K. Hess, Hauptversammlung Zellstoff-Chemiker, Berlin, 10. Dezember 1936; vergl. Papierfabrikant **34**, 501 [1936]. Im Colloquium des Kaiser-Wilhelm-Institutes für physikalische Chemie und Elektrochemie vorgetragen von W. Wergin am 19. Januar 1937.

²⁾ K. Hess, C. Trogus u. W. Wergin, *Planta* **25**, 432 [1936]; W. Wergin, *Angew. Chem.* **49**, 843 [1936]; in Anm. 4 auf S. 845 dieser Mitteilung muß es heißen „negativ“ statt „positiv“ doppelbrechend.

2) Nachweis der Wachsnatur der Primärsubstanz.

Infolge des ausgezeichneten Krystallisationsvermögens und dementsprechend einer großen Reflexionsfähigkeit³⁾ der fett- und wachsartigen Stoffe ist ihre Anwesenheit auch im Falle geringer Konzentration in Gemischen selbst bei örtlich begrenztem Vorkommen (z. B. in verschiedenen Pflanzenteilen mit Wachsgehalten von nur 1 bis 2% und weniger) schnell und sicher röntgenographisch nachweisbar. Auch ist man bei Berücksichtigung der Reflexe mit kleinem Glanzwinkel in der Nähe des Durchstoßpunktes mit röntgenographischen Methoden bekanntlich in der Lage, sicherer und schneller als mit präparativen Methoden einen Anhaltspunkt für die mittlere Kettenlänge der betreffenden Wachsart zu gewinnen. Im folgenden berücksichtigen wir daher zunächst in erster Linie die röntgenographischen Ergebnisse und werden erst gelegentlich einer Wiedergabe der quantitativen Verhältnisse für die Zusammensetzung der jungen Zellwände von Baumwollhaaren auf weitere Eigenschaften dieser Zellwandbestandteile zurückkommen.

Wachs, Harz und Fett lösende Flüssigkeiten entziehen den jungen Haaren wesentliche Mengen eines Bestandteiles, der dieselben Röntgen-Interferenzen wie die jungen Haare aufweist. In dem Extrakt ist also die Substanz enthalten, die die Interferenzen in dem Röntgen-Diagramm der jungen Haare verursacht.

Um die diesen Interferenzen zugrundeliegende Substanz näher zu identifizieren, wurde zunächst das Röntgen-Diagramm der Primärsubstanz mit dem von Paraffin, Fett, Fettsäure und verschiedenen Wachsarten verglichen. Die beiden für die Primärsubstanz charakteristischen Linien, entsprechend den Netzebenen-Abständen $d_1 = 4.14 \text{ \AA}$ und $d_2 = 3.73 \text{ \AA}$, kommen in den Röntgen-Diagrammen von Grenzkohlenwasserstoffen, Fettsäuren, Fettalkoholen und Wachsen in gleicher bzw. sehr ähnlicher Weise vor und sind für höherhomologe Kohlenwasserstoffgruppen typisch⁴⁾.

In Fig. 1, Streifen 1—7, sind die für die Identifizierung entscheidenden Röntgen-Diagramme zusammengestellt.

Um auch die für derartige Stoffe charakteristischen Interferenzen in der Nähe des Durchstoßpunktes (Basisreflexe) vergleichen zu können, wurden Aufnahmen mit weitem Abstand Präparat-Platte (120 mm) in der üblichen Weise sowie auch nach der Methode von A. Müller⁵⁾ gemacht und mit entsprechenden Aufnahmen bekannter Wachse und Fette verglichen.

Der Vergleich zeigt, daß bei Wachsen die Basis-Interferenzen in der Nähe des Durchstoßpunktes im allgemeinen nur mit schwacher Intensität

³⁾ In Ullmann, Enzyklopädie der technischen Chemie (Ausgabe 1932, Bd. 10, S. 296) ist angegeben, daß reines Bienenwachs amorph sei. Wir benutzen die Gelegenheit darauf hinzuweisen, daß wir bei Bienenwachs ein besonders gutes und schleierfreies Krystallgitter-Spektrum mit sehr scharfen Interferenzen beobachtet haben, das keine amorphen Bestandteile erkennen läßt.

⁴⁾ vergl. Ztschr. Kristallogr., Strukturbericht 1913—1926, Ergänzungsband S. 683ff. [1931].

⁵⁾ A. Müller u. G. Shearer, Trans. Chem. Soc. London **123**, 2043, 3152, 3156 [1923]; vergl. ferner J. J. Trillat, Les applications des rayons X (Presses Universitaires de France, Paris 1930).

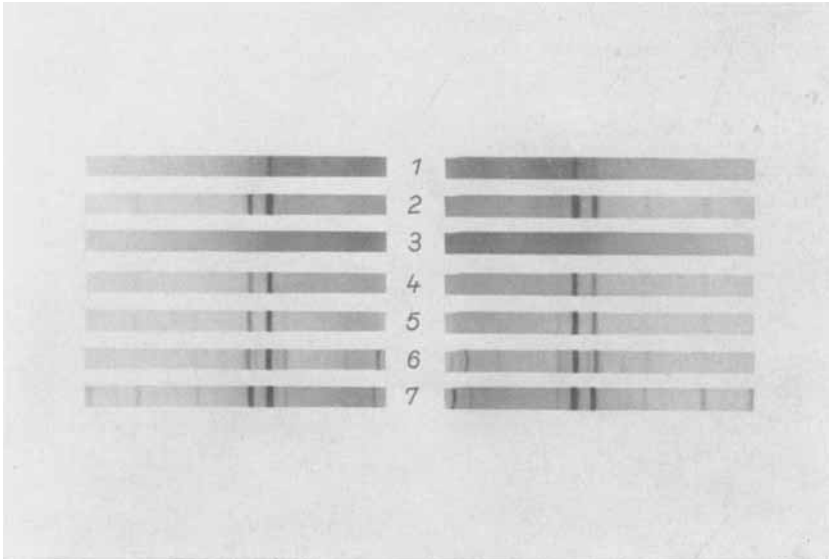


Fig. 1.

- 1) 15 Tage alte Baumwollhaare (nach der Ernte unmittelbar getrocknet),
- 2) Benzol-Extrakt aus 15 Tage alten Haaren,
- 3) 15 Tage alte Haare nach der Extraktion,
- 4) Extrakt aus reifen Baumwollhaaren,
- 5) Carnauba-Wachs,
- 6) Stearinsäure (Kahlbaum),
- 7) Paraffin (Schmp. 56—58°).

und teilweise auch unscharf ausgebildet sind⁶⁾, während sie bei Fetten und Kohlenwasserstoff-Derivaten mit ähnlicher Kettenlänge wie bei Fetten, durchgehend intensiver auftreten. Die geringere Intensität dieser Wachs-Interferenzen bietet infolgedessen neben den ihnen zugehörigen größeren Netzebenen-Abständen ein zuverlässiges Unterscheidungsmerkmal zwischen den eigentlichen Wachsen und den kürzerkettigen Komponenten der Fettphase der Pflanzengewebe.

Aus der Vermessung dieser Interferenzen ergibt sich für den Benzol-Extrakt aus den Junghaaren eine Periode von $\sim 83 \text{ \AA}$ (vergl. auch Tab. 1).

Bei dem Extrakt aus reifen Baumwollhaaren beobachtet man unmittelbar um den Durchstoßpunkt einen breiten Interferenzring, dem eine scharfe, intensive Interferenz entsprechend einem d-Wert von $\sim 58 \text{ \AA}$ überlagert ist, die in dem Diagramm des Wachses aus Junghaaren nicht erkannt wird. Auf Grund der bekannten Erfahrungen von A. Müller, S. H. Piper und anderen muß man dementsprechend folgern, daß in dem Extrakt der reifen Haare Komponenten mit Kettenlängen vorkommen, die kürzer sind als sie entsprechend dem Röntgen-Diagramm im Jungwachs beobachtet werden. Der Extrakt läßt sich durch Methanol in einen unlöslichen Bestandteil zerlegen, dessen Röntgen-Diagramm auch in bezug auf die Interferenzen nächst dem Durchstoßpunkt dem des Wachses der jungen Haare ähnelt und in einen methanol-löslichen Anteil, der nunmehr die oben angegebene Interferenz von $\sim 58 \text{ \AA}$ sehr intensiv und gut ausgebildet (55 \AA) erkennen läßt.

Außer dem Röntgen-Bild deutet auch der Schmelzpunkt (77 bis 79°) daraufhin, daß der Wachs-Extrakt der Junghaare⁷⁾ einheitlicher als der der alten Haare (Schmp. sehr unscharf, 68 bis 78°) ist.

Die Vermessung der Interferenzen, z. B. der Wachs-Ausscheidung auf der Blattoberfläche von *Copernicia cerifera* (Carnauba-Wachs) zeigt eine weitgehende Übereinstimmung mit denen des Jungwachses der Baumwollhaare, indem auch beim Carnauba-Wachs die Periode von 83 \AA auftritt. Auch die Intensitätsverhältnisse in den drei zu beobachtenden Ordnungen dieser Periode sind ähnlich, wobei allerdings die einzelnen Interferenzen bei dem Jungwachs der Baumwolle schärfer ausgebildet sind als beim Carnauba-Wachs. Dies deutet darauf hin, daß das Carnauba-Wachs uneinheitlicher ist als das von uns gewonnene Wachs der jungen Baumwollhaare.

Da die absoluten Intensitäten der erwähnten Basisreflexe nur gering sind, ist nicht verwunderlich, daß sie — wie wir festgestellt haben — bei

⁶⁾ Wenn diese Interferenzen bei genügend langer Belichtung der Präparate auf den Negativen auch einwandfrei zu erkennen und zu vermessen sind, so sind die Diagramme doch für eine Reproduktion weniger geeignet, weshalb auf eine Wiedergabe verzichtet wird. Die geringe Intensität und teilweise auch geringe Schärfe dieser Interferenzen ist wohl im wesentlichen durch den Mischcharakter der natürlichen Wachse bedingt (vergl. S. 5).

⁷⁾ Wir können dabei allerdings noch nicht ausschließen, daß dieser Unterschied zum Teil durch die Art der Aufarbeitung bedingt ist; die Junghaare mußten zur Konservierung teilweise in Methanol eingelegt werden, wobei möglicherweise niedrigere Homologe von Methanol aufgenommen wurden.

direkter Durchstrahlung der jungen Haare trotz langer Belichtungszeiten nicht hervortreten⁸⁾).

Tabelle 1. Vergleich der Röntgen-Interferenzen von Carnaubawachs, Wachs junger und reifer Baumwollhaare und Wachs aus Avena-Koleoptilen.

Carnaubawachs			Benzol-Extrakt aus jungen Haaren			Benzol-Alkohol-Extrakt aus reifen Haaren			Wachsanteil aus Avena-Koleoptilen		
d	Int.	I	d	Int.	I	d	Int.	I	d	Int.	I
in Å	gesch.	in Å	in Å	gesch.	in Å	in Å	gesch.	in Å	in Å	gesch.	in Å
83.0	sch.	83.0	82.7	sch.	83.0	58.9	m.	59.0	~60	st.	60
42.0	s. sch.	84.0	42.1	ss. sch.	84.0	29.0	s. sch.	58.0			
27.5	ss. sch.	82.5	27.8	sch.	83.4						
		83.0			83.0			58.5			
4.51	s. sch.		4.51	s. sch.		4.51	s. sch.		4.53	s. sch.	
4.14	s. st.		4.13	s. st.		4.14	s. st.		4.14	s. st.	
3.75	st.		3.73	st.		3.73	st.		3.72	st.	
2.98	s. sch.		2.98	s. sch.		2.99	s. sch.		2.99	s. sch.	
2.48	m.		2.48	m.		2.48	m.		2.48	m.	
2.24	sch.		2.24	sch.		2.23	sch.		2.24	sch.	

Wie aus dem Vergleich der in Frage stehenden Wachs-Diagramme einerseits, mit denen von Stearinsäure und Paraffin andererseits, in Fig. 1 hervorgeht, zeigen auch die Interferenzen mit höheren Glanzwinkeln (keine Basisreflexe) so deutliche Unterschiede, daß allein hierdurch schon eine Verwechslung ausgeschlossen ist.

Rechnet man die beobachtete Periode von 83 Å für das Primärhautwachs auf Kettenlänge um, indem man je CH₂-Gruppe den üblichen Wert von 1.3 Å zugrunde legt, so ergibt sich eine Gesamtkettenlänge von 64 C-Atomen, wobei in erster Näherung die Estergruppe vernachlässigt ist. Diese Kettenlänge, die entsprechend den Erfahrungen A. C. Chibnalls und Mitarbeitern über Pflanzenwachse (vergl. unten) als mittlerer Wert verschiedener Individuen aufzufassen ist, stellt einen unteren Wert dar, indem angenommen ist, daß die Ketten senkrecht zur Basis stehen. Im Falle monokliner Symmetrie, die ja bei diesen Stoffen sehr häufig auftritt, würde die Kettenlänge entsprechend dem monoklinen Winkel länger anzusetzen sein. Nimmt man für die Alkohol- und Säure-Komponente im Wachs-Ester gleiche Kettenlänge an, so erhält man für die einzelne Komponente des Jungwachses der Baumwollhaare eine mittlere Kohlenstoffzahl von etwa 32 C.

Aus den umfassenden und kritischen Untersuchungen von A. C. Chibnall, S. H. Piper und ihren Mitarbeitern⁹⁾ geht hervor, daß jeder der bekannten Bestandteile der natürlichen Wachse (höhere Fettsäure-ester, freie Fettsäure,

⁸⁾ Unter diesen Bedingungen beobachtet man bei den jungen Haaren (11 Tage) nur eine, verhältnismäßig intensive Interferenz in der Nähe des Durchstoßpunktes ($d = 44.0\text{Å}$), die in dem durch Benzol extrahierten Wachsanteil nicht beobachtet wird und die von weiteren Wachsbestandteilen der Jungfaser herrühren dürfte, über die erst gelegentlich einer Veröffentlichung der gesamten Zellwand-Analyse dieser Präparate berichtet werden wird.

⁹⁾ S. H. Piper, A. C. Chibnall u. E. F. Williams, *Biochem. Journ.* **28**, 2175 [1934]; A. C. Chibnall, S. H. Piper, A. Pollard, E. F. Williams u. P. N. Sahai, *Biochem. Journ.* **28**, 2189 [1934]; vergl. auch S. H. Piper, A. C. Chibnall, S. J. Hobkins, A. Pollard, J. A. B. Smith u. E. F. Williams, *Biochem. Journ.* **25**, 2072 [1931].

freie Fett-Alkohole, höhere Grenzkohlenwasserstoffe) nur als Gemisch von mehreren, infolge der ähnlichen Eigenschaften im allgemeinen nicht trennbaren Homologen vorkommt. Für Carnauba-Wachs kommen in erster Linie nur Fett-Säure und Fett-Alkohole bzw. deren Veresterungsprodukte in Betracht. Durch Vergleich mit künstlichen Mischungen der in Frage kommenden synthetisch hergestellten Homologen haben die angelsächsischen Forscher festgestellt, daß jeder dieser Bestandteile des Carnauba-Waxes¹⁰⁾ aus den entsprechenden geradzahigen Homologen zwischen C_{24} und C_{34} besteht, was mit unseren Feststellungen in guter Übereinstimmung ist.

Auch auf Grund präparativer Untersuchungen lassen sich über die Zusammensetzung des Waxes der jungen Baumwollhaare gewisse Aussagen machen. Offenbar steht die in der vorliegenden Untersuchung gekennzeichnete Zellwand der Junghaare mit der im reifen Stadium der Haare als äußerste Schicht der verdickten Wand erkennbaren, lange bekannten „Cuticula“ in nahem Zusammenhang, indem diese aus der Wand der jungen Haare hervorgegangen ist. Wenn auch sicher damit gerechnet werden muß, daß sich die stoffliche Zusammensetzung der jungen Zellhaut im Laufe der späteren Entwicklung des Haares noch ändert, das heißt also, wenn die junge Zellhaut im Laufe des Dickenwachstums zur „Cuticula“ des Haares wird, so ist doch recht wahrscheinlich, daß die Stoffe der Cuticula ihrer chemischen Natur nach denen der jungen Zellwand noch nahestehen. Man wird also in der Frage nach der näheren Konstitution der Primärsubstanz zunächst auch einen Anschluß an die präparativen Untersuchungen der wachsartigen Extraktstoffe reifer Haare suchen können, über die einiges bekannt ist.

Eine gründliche Untersuchung über das Wachs reifer Baumwollhaare verdanken wir Fargher und Probert¹¹⁾, die amerikanische Baumwolle mit überhitztem Benzol extrahiert und den Extrakt zu Fettsäuren, Fett-Alkoholen und Grenzkohlenwasserstoffen aufgeteilt haben. Die von ihnen beschriebenen Präparate sind später von Chibnall und Mitarbeitern¹²⁾ auf Grund ihrer Erfahrungen an anderen Wachsen neu beurteilt und ebenfalls als Gemische von geradzahigen Homologen „wahrscheinlich“ zwischen C_{24} und C_{34} erkannt worden.

Die auf Grund der verglichenen Gitter-Konstanten des Primärwand-Waxes der jungen Baumwollhaare und des Waxes reifer Haare zu ziehende Folgerung über die Zusammensetzung der beiden Wachsarten, läßt erwarten, daß von diesen Homologen im Wachs der Junghaare die höheren Glieder angereichert sind, also etwa C_{30} , C_{32} und C_{34} .

Nachdem die Primärsubstanz der jungen Baumwollhaare als ein Bestandteil der Fett-Wachs-Phase der Haare erkannt ist, sind wir der in der ersten Mitteilung¹³⁾ aufgeworfenen Frage nähergetreten, ob die Primärsubstanz der Zellwand oder dem Zell-Innern zuzuordnen ist. Da es sich in diesem Zellbestandteil, dem Röntgen-Bild entsprechend, um eine Abscheidung in

¹⁰⁾ A. C. Chibnall u. a., Biochem. Journ. **28**, 2198, 2211 [1934].

¹¹⁾ Journ. Text. Inst. **14**, 49 [1923]; **15**, 337 [1924]; vergl. auch die früheren Untersuchungen über Baumwollwachs von E. Schunk, Memoires Manchester Lit. Phil. Soc. **24**, 95 [1871]; Knecht u. Allan, Journ. Soc. Dyers Colourists **27**, 142 [1911]; Knecht u. Streat, Journ. Soc. Dyers Colourists **39**, 73 [1923].

¹²⁾ Biochem. Journ. **28**, 2200; vergl. auch ebenda S. 2211.

¹³⁾ Hess, Trogus u. Wergin, Planta **25**, 436 [1936]; W. Wergin, Angew. Chem. **49**, 843 [1936].

krystalliner Form handelt, haben wir den Zell-Inhalt der Haare auf krystalline Anteile von Fett-Wachs untersucht. Während man in fett- und wachsführenden Zellen, z. B. im Oberhautgewebe von *Clivia nobilis* durch Anfärbung mit den gebräuchlichen Reagenzien die Abscheidungen der Fett-Wachs-Phase leicht im Zell-Innern erkennen kann, haben wir bei einer vergleichenden Untersuchung des Inneren der jungen Baumwollhaare derartige Abscheidungen nicht beobachten können. Da der Fett-Wachs-Nachweis durch Anfärbung im Falle nur geringer Mengen bekanntlich schwierig und nicht eindeutig ist, so folgt aus dem negativen Befund gewiß nicht, daß im Zell-Innern des von uns untersuchten Materials überhaupt kein Fett oder Wachs vorkommt. Aus dem negativen Befund ist lediglich zu folgern, daß Fett-Wachs im Zell-Innern nur in geringer Menge, bzw. in einer Verteilung vorliegt, die für das Zustandekommen der Röntgen-Interferenzen nicht in Betracht kommt, so daß das im Röntgen-Diagramm erkennbare Wachs tatsächlich eine Komponente der Zellwand ist.

Tabelle 2. Röntgenographischer Nachweis von Wachs in Pflanzenteilen.
Primärwand-Wachs.

a) Junge Samenhaare:

Gossypium barbadense (Baumwolle) [9 bis ~ 30 Tage alt],

b) Junge Gewebe:

- 1) *Pseudotsuga Douglasii* (Douglas-Tanne) [junge Nadeln, kurz nach dem Durchbrechen der Knospenhülle],
- 2) *Avena sativa* (Hafer) [Koleoptile, Parenchym],
- 3) *Fagus silvatica* (Buche) [Xylem, entrindeter junger Trieb]*),
- 4) *Pirus malus* (Apfel) [Blütenblätter],
- 5) *Aesculus hippocastanum* (Roßkastanie) [Xylem eines jungen Triebes unter dem zweiten Blattpaar und unter dem dritten Blattpaar]*).

Wachs in reifen Samenhaaren.

- 1) *Eriophorum angustifolium* (Wollgras),
- 2) *Populus spec.* (Pappel)*),
- 3) *Salix spec.* (Bergweide)*),
- 4) *Epilobium spec.* (Weidenröschen),
- 5) *Asclepias syriaca* (Seidenpflanze)*),
- 6) *Asclepias incarnata**),
- 7) *Cirsium spec.* (Distel),
- 8) *Taraxacum officinale* (Löwenzahn),
- 9) *Hieracium spec.* (Habichtskraut).

Wachs in jungen Geweben

(Epidermis nicht entfernt).

- 1) *Avena sativa* [Koleoptile, Epidermis],
- 2) *Avena sativa* [Blätter],
- 3) *Tradescantia virginiana* [Blatt-Epidermis],
- 4) *Aesculus hippocastanum* [Rinde eines jungen Triebes unter dem ersten Blattpaar und unter dem zweiten Blattpaar],
- 5) *Taraxacum officinale* (Löwenzahn) [Stiel einer jungen Knospe].

*) Primärsubstanz — Ring 1 und 2 im Röntgenbild undeutlich.

Dies ließ sich auch in folgender Weise auf direktem Wege bestätigen. Die 15 Tage alten Haare wurden mit Quarzsand unter Wasser zerrieben und die beim Zerreißen der Haare austretenden Inhaltsstoffe des Zell-Innern durch häufiges Waschen mit Wasser abgeschlämmt. Nachdem unter dem Mikroskop festgestellt worden war, daß im wesentlichen nur Fetzen der Zellwand vorlagen, wurde das Präparat abfiltriert, getrocknet und in einer Handpresse zwischen zwei Kunststoff-Platten zu einer dichten kompakten Masse zusammengedrückt. In dieser Form ist das Material für den direkten Fett-Wachs-Nachweis durch Sudan III geeignet. Die infolge der geringen Wanddicke bei den unbehandelten Haaren nur schwer erkennbare Reaktion der Wand ist bei dem kompakten Präparat ohne weiteres festzustellen.

3) Über weitere Bestandteile der Primärwand.

Es bedarf einer eingehenderen Untersuchung um festzustellen, welche Bestandteile neben der Wachskomponente noch in der Jungwand der im Streckungsstadium befindlichen Baumwollhaare vorliegen. Zunächst sei nur auf die für weitere Folgerungen wichtige Beobachtung hingewiesen, daß in den Jungstadien der Wände, in denen die Hauptinterferenzen der Cellulose (101, 10 $\bar{1}$ und 002) überhaupt noch nicht oder nur als undeutliche Schatten zu erkennen sind, eine recht scharfe Interferenz im Röntgen-Diagramm dieser Wände auffällt, die sicher nicht der Wachsphase angehört, sondern der Lage nach der 4. Ordnung der Basis der Cellulose entspricht und die auch nach der Extraktion der Zellwände mit wachslösenden Mitteln erhalten bleibt. Dies bedeutet, daß in diesen Entwicklungsstadien der Zellwand neben der Wachskomponente dünne Cellulosefäden vorliegen, deren Länge in der Schärfe der Basisreflexe und deren geringe Dicke in den nur sehr verschwommenen und sehr schwachen Äquator-Interferenzen zum Ausdruck kommen.

Die erst nach der Erkennung der Primärsubstanz als Wachs möglich gewordene Zuordnung dieser Interferenz zur Cellulose führt jetzt zu einer weiteren Aussage über den Zeitpunkt, an dem im Laufe der Ontogenese der Zellwand Cellulose in kristallin erkennbarer Form zum ersten Male auftritt. In der ersten Abhandlung¹⁴⁾ ist als Zeitpunkt hierfür entsprechend der Ausbildung der Äquator-Interferenzen der Cellulose etwa der 35. Tag bei unseren Warmhaus-Kulturen angegeben worden. Die oben erwähnte Basis-Interferenz 040 beobachtet man indessen auch in den von uns untersuchten jüngsten Wachstumsstadien (bisher 9 Tage alte Haare). Man muß daher annehmen, daß die Cellulose in Form der langen Fäden schon sehr frühzeitig in der Entwicklung auftritt und in dieser Form auch die Gerüstsubstanz der Jungwände darstellt, die im Gegensatz zu den Wandschichten des Dickenwachstums durch wesentliche Mengen wachstartiger Substanzen imprägniert ist¹⁵⁾. Die Äquator-Interferenzen der Cellulose sind also nur für eine Beurteilung des Dickenwachstums (Ausbildung der Sekundärschichten der Wand) geeignet und nicht für eine Beurteilung des Zeitpunktes, an dem in der Zellwand Cellulose überhaupt erstmalig auftritt. Wie an inzwischen erhaltenem Freilandmaterial (Ägypten) festgestellt wurde, ist der Zeitpunkt, an dem das Dicken-

¹⁴⁾ K. Hess, C. Trogus u. W. Wergin, *Planta* **25**, 435f. [1936].

¹⁵⁾ Vermutlich trägt die Gegenwart der wachstartigen Substanzen auch dazu bei, daß die botanisch üblichen Farbreaktionen auf Cellulose in diesen Jungstadien der Wände versagen können.

wachstum einsetzt, gegenüber den Warmhaus-Kulturen erwartungsgemäß¹⁶⁾ früher erreicht (zwischen dem 20. und 25. Tag¹⁷⁾).

Die gute Ausbildung der Interferenz 040 der Cellulose haben wir auch bei Avena-Koleoptilen im Jungstadium (vergl. nächsten Abschnitt) und auffallenderweise auch bei einer größeren Zahl von reifen Samenhaaren einheimischer Pflanzen (vergl. Tab. 2) beobachtet. Trotzdem in diesen Samenhaaren ein Endstadium der Entwicklung vorliegt, sind im Röntgen-Diagramm neben den zum Teil sehr intensiven Wachs-Interferenzen die Hauptinterferenzen der Cellulose unscharf und von geringer Intensität, während 040 der Cellulose auffallend scharf ist. Die Entwicklung dieser Haare erscheint gegenüber der Baumwolle im Stadium des Streckungswachstums unterbrochen (geringe Ausbildung des Dickenwachstums).

Es sei bemerkt, daß wir ferner eine auffallend scharfe Ausbildung der Interferenz 040 der Cellulose¹⁸⁾ gegenüber den anderen Interferenzen bei unreifen und reifen Spelzen von Getreidekörnern beobachtet haben, und zwar besonders gut bei Hafer; bei Roggenspelzen treten daneben übrigens auch die Wachs-Interferenzen deutlich hervor.

Die vorangehenden Feststellungen ermöglichen weiterhin eine Entscheidung in der früher aufgeworfenen Frage, warum die Interferenzen der Primärsubstanz mit fortschreitendem Dickenwachstum verschwinden. Die Erscheinung ist nicht so zu deuten, daß die Primärsubstanz als solche verschwindet, sondern das Verhältnis der Mengen von Primärsubstanz zu der gesamten Zellwandssubstanz wird im Laufe des Dickenwachstums immer ungünstiger, indem schließlich in den reifen Haaren nur noch etwa 0.2 bis 0.3% Wachsbestandteile enthalten sind, die naturgemäß dem röntgenographischen Nachweis entgehen. Außerdem ist an die Möglichkeit zu denken, daß das Wachs im Verlaufe des Wachstums in so feiner Form in den Wänden verteilt wird, daß für diesen Zellwandbestandteil keine interferenzfähigen Bereiche mehr vorliegen.

4) Abgrenzung des Primärwand-Wachses gegenüber anderen Wachs-Vorkommen in Pflanzenteilen.

Durchmustert man das alte und neuzeitliche botanische Schrifttum auf Angaben über Vorkommen und Bedeutung von Wachs in Pflanzenteilen, dann findet man durchweg die Auffassung vertreten, daß Wachs bzw. „Cutin“ und „Suberin“ als Sekret alternder Epidermiszellen in den Pflanzengewebe auftreten und dazu dienen, durch „Infiltration“ und Belegen der Cellulose-Außenwand die Gewebe nach außen abzuschließen. In dem jüngst erschienenen Standardwerk von E. Küster¹⁹⁾ kommt diese Auffassung in folgender Weise zum Ausdruck: „Die Cuticula ist eine der Membran aufgelagerte Masse, nicht ein irgendwie verwandelter Teil der Zellwand. Wir müssen annehmen, daß das Cutin in den Epidermiszellen entsteht und die Außenwand der Epidermen durchdringen kann: ein Teil bleibt in der Membran liegen, ein anderer dringt nach außen und bedeckt die Membran wie eine zarte oder derbe Firnissschicht.“

¹⁶⁾ Hess u. Mitarb., l. c. S. 435.

¹⁷⁾ vergl. eine später erscheinende Abhandlung.

¹⁸⁾ Die Röntgen-Diagramme der Getreidespelzen fallen auch deshalb besonders auf, weil in ihnen eine doppelte Faserstruktur beobachtet wird.

¹⁹⁾ Die Pflanzenzelle, G. Fischer, Jena 1935, S. 497.

Dem Wachs in der cellulosefreien bzw. cellulosearmen Zellwand von im Streckungswachstum befindlichen Baumwollhaaren kommt offenbar eine andere Bedeutung zu.

Um diese Bedeutung beurteilen zu können, ist es notwendig, die Verbreitung dieses Primärsubstanz-Wachses in den Pflanzengeweben kennenzulernen. Dabei besteht für die Untersuchung von ganzen Geweben gegenüber den einzelligen Samenhaaren in den geschlossenen Kapseln die Schwierigkeit, Epidermis-Wachs mit genügender Sicherheit auszuschließen. Solange charakteristische Unterschiede in der Zusammensetzung von Primärwand-Wachs und Epidermis-Wachs fehlen, wird man bei der Untersuchung von ganzen Geweben Gefahr laufen, zusammen mit Primärwand-Wachs auch Epidermis-Wachs zu bestimmen. Wir haben uns dieser Fehlerquelle möglichst dadurch zu entziehen versucht, daß wir einerseits sehr junge Gewebe untersucht haben, und soweit bisher möglich solche Gewebeteile, von denen die Epidermis abgezogen worden war.

Von besonderem Interesse ist das bereits in der ersten Mitteilung von uns festgestellte Auftreten der Primärsubstanz im Jungstadium der Zellwände der Hüllen (Koleoptile) von Haferkeimlingen, an denen bekanntlich durch F. A. F. C. Went, F. W. Went und F. Kögl²⁰⁾ die Wirkung der Wuchshormone (in erster Linie Zellstreckung) der Auxingruppe untersucht worden sind. Bei den aus Avena-Koleoptilen durch fett- und wachslösende Mittel hergestellten Präparaten ergab sich für die Wachskomponente (in Äther-Alkohol unlöslicher Rückstand des Gesamtfettes) eine intensive, etwas verbreiterte Interferenz von $d \approx 60 \text{ \AA}$ (vergl. auch die Vermessungsergebnisse in Tab. 1); über eine vollständige Zellwand-Analyse der Avena-Koleoptilen wird in anderem Zusammenhang berichtet.

Das Primärwand-Wachs kommt auch im Parenchymgewebe der Koleoptilen vor, das für die Zellstreckung in erster Linie in Betracht kommt. Es wird dadurch wahrscheinlich, daß dem Primärwachs eine allgemeine Bedeutung für das Wachstum der pflanzlichen Gewebe zukommt und daß es im besonderen eine Rolle bei dem bisher noch völlig unbekanntem Mechanismus der Auxinwirkung spielt (Verleihung plastischer Eigenschaften²¹⁾).

In Tab. 2 unter b) sind noch weitere Beispiele für das Vorkommen von Primärwand-Wachs in Geweben angegeben, bei denen eine Verwechslung mit Oberhaut-Wachs auch nicht in Frage kommen dürfte. Man wird demzufolge annehmen können, daß das Primärwand-Wachs auch in den Frühstadien anderer bisher noch nicht darauf untersuchter Gewebe gefunden wird.

Zusammenfassend ergibt sich, daß das Vorkommen einer wesentlichen Menge von Wachs in den Jungstadien der Zellwände während der Zellstreckung den Wachssubstanzen in der Pflanzenwelt neben der bekannten Bedeutung als Abschlußmittel gegen äußere Einflüsse eine weitere, neuartige Rolle zuweist. Nach den vorangehenden Feststellungen ist das Wachs der jungen Zellwände nicht ein Produkt alternder Zellen, es wird nicht mit dem Zweck sekretiert, die Epidermen von Pflanzenorganen nach außen abzuschließen, es ist nicht beschränkt auf die Zellen der Epidermis, sondern dieses Wachs steht am Anfang der Zellwand-Entwicklung und ist eng verknüpft mit den ersten und entscheidenden Vorgängen zur Formung der Zelle.

²⁰⁾ vergl. F. Kögl, *Angew. Chem.* **46**, 469 [1933].

²¹⁾ Die Cellulose-kristallite selbst sind im Gegensatz zu einer oft geäußerten irrtümlichen Annahme unplastisch.

Auch in den erwähnten Untersuchungen von Chibnall und Mitarbeitern²²⁾ wird von zweierlei Arten Pflanzenwachs gesprochen. Die Autoren unterscheiden zwischen dem Wachs der Cuticula und einem Wachs, das „an integral part of the general fatphase of the plantcells“ ist und dem nach ihrer Auffassung möglicherweise die Aufgabe zufällt, „to help control the liquidity of the fatphase“.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchung möchten wir die Bedeutung der zweiten Wachst Art der angelsächsischen Autoren nunmehr dahin präzisieren, daß mindestens einem Teil dieser Wachst Art beim Aufbau der Zellwand im Stadium der Zellstreckung eine wichtige Rolle zufällt.

Trifft die Folgerung zu, daß in dem Stadium der Zellformung neben der wachsartigen Substanz noch lange und dünne Cellulosekrystallite in der Membran vorkommen, dann müssen wir annehmen, daß mindestens in diesem Stadium der Zellwandbildung Bildung von wachsartigen Membranstoffen und Bildung von Cellulose aus dem Plasma der Zelle zu gleicher Zeit erfolgten.

5) Isolierung der Wachs-Präparate.

a) Junge Baumwollhaare: Als Ausgangsmaterial diente in erster Linie der Inhalt 15 Tage alter Baumwollkapseln (gerechnet vom Tage des Abfallens der Blütenblätter ab), der auf einer Versuchspflanzung (Ägypten) geerntet und für den Versand zur Konservierung unter Methanol gebracht worden war. Die Haare wurden methanolflecht von den Kernen mit Pinzetten abgezogen, mit Methanol gewaschen und über Phosphorpentoxyd getrocknet. Das Material wurde 24 Stdn. am Soxhlet mit reinem Benzol extrahiert. Der Benzol-Rückstand war schwach verfärbt und zeigte die typische Beschaffenheit eines höheren Wachsesters. Das Präparat wurde unmittelbar für die Röntgen-Analyse verwendet.

b) Reife Baumwollhaare: Die reifen Haare wurden in Form von rohem Baumwoll-Kardenband 10 Stdn. mit einer Mischung von 60% Benzol und 40% Äthylalkohol am Soxhlet extrahiert. Nach dem Abdunsten des Benzols und Trocknen über Phosphorpentoxyd wurde ein hellbrauner wachsartiger Rückstand erhalten, der teilweise direkt, teilweise nach Behandlung mit kaltem Methanol für die Röntgen-Untersuchung verwendet wurde.

c) Avena-Koleoptile: Die Koleoptilen waren von 5 Tage alten Keimlingen in üblicher Weise abgezogen und unter Methanol einige Tage aufbewahrt worden. Nach dem Abpressen und mehrmaligen Waschen mit Methanol wurde das Material über Phosphorpentoxyd getrocknet, mit heißem Benzol wie oben extrahiert und der Rückstand sowohl unmittelbar als auch nach Behandeln mit Äthanol-Äther (1:1) der Röntgen-Analyse unterworfen.

In allen Fällen wurde die Röntgen-Analyse vorläufig mit Cu-K α -Strahlung durchgeführt; bei der Bestrahlung nach A. Müller wurden die Präparate auf dünne Glasplättchen aufgeschmolzen.

Der I.-G. Farbenindustrie A.-G., Werk Leverkusen, sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Mittel zur Durchführung der vorliegenden Untersuchung.

²²⁾ A. C. Chibnall u. S. H. Piper, Biochem. Journ. 28, 2215 [1934].