

DET KGL. DANSKE VIDENSKABERNES SELSKAB
BIOLOGISKE MEDDELELSER, BIND XVIII, NR. 10

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DETERMINATION UND DIFFERENZIERUNG

1. ÜBER DEN NACHWEIS DER ZELLULOSENBLÄNDER
UND ÜBER DAS VORKOMMEN UND DIE LAGE
DERSELBEN IN WURZELHAAREN
UND TRICHOBLASTEN

VON

P. BOYSEN JENSEN

WITH AN ENGLISH SUMMARY



KØBENHAVN
I KOMMISSION HOS EJNAR MUNKSGAARD
1950

Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskabs publikationer i 8^{vo}:

Oversigt over selskabets virksomhed,
Historisk-filologiske Meddelelser,
Arkæologisk-kunsthistoriske Meddelelser,
Filosofiske Meddelelser,
Matematisk-fysiske Meddelelser,
Biologiske Meddelelser.

Selskabet udgiver desuden efter behov i 4^{to} »Skrifter« med samme underinddeling som i »Meddelelser«.

Selskabets sekretariat og postadresse: Ny vestergade 23,
København V.

Selskabets kommissionær: *Ejnar Munksgaard*, Nørregade 6,
København K.

DET KGL. DANSKE VIDENSKABERNES SELSKAB
BIOLOGISKE MEDDELELSER, BIND XVIII, NR. 10

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DETERMINATION UND DIFFERENZIERUNG

1. ÜBER DEN NACHWEIS DER ZELLULOSENBIKDNER
UND ÜBER DAS VORKOMMEN UND DIE LAGE
DERSELBEN IN WURZELHAAREN
UND TRICHOBLASTEN

VON

P. BOYSEN JENSEN

WITH AN ENGLISH SUMMARY



KØBENHAVN

I KOMMISSION HOS EJNAR MUNKSGAARD

1950

Printed in Denmark
Bianco Lunos Bogtrykkeri

1. Einleitung.

In einer Abhandlung »A Determination Theory« (1948) stellte ich die Hypothese auf, dass ein lokalisiertes Flächenwachstum der Zellwand, durch welches z. B. die Wurzelhaare gebildet werden, durch eine Anhäufung von Zellulosenbildnern an dem betreffenden Ort zustande kommt.

Dass solche Zellulosenbildner wirklich vorhanden sind, geht aus der Weise, in welcher Stärke gebildet wird, hervor. CORI, HANES und andere (vgl. PEAT 1946) haben nachgewiesen, dass sowohl in Tieren als in Pflanzen Enzyme vorhanden sind, die Polysaccharide, Glykogen und Stärke, aus Glukose-1-phosphat bilden können, und zwar mit besonderer Schnelligkeit, wenn ein Polysaccharidstarter vorhanden ist. Weil der Bau der Zellulosemoleküle eine grosse Ähnlichkeit mit demjenigen der Stärke hat, muss man annehmen, dass auch die Bildung der Zellulose durch enzymatische Vorgänge zustande kommt. Da die Zellulosebildung aus Glukose ein unfreiwilliger Vorgang ist, muss die notwendige Energie durch eine Verknüpfung der zellulosenbildenden Enzymvorgänge mit den Atmungsvorgängen zuwegegebracht werden. Die Enzymkomplexe, die die Zellulosebildung hervorrufen, sollen als Zellulosenbildner bezeichnet werden.

Um die Zellulosenbildner nachzuweisen, wird man zwei Wege gehen können. Entweder könnte man, wenn sie, wie FARR (1941, 1949) annimmt, in morphologischen Gebilden, d. h. in Plastiden, eingeschlossen sind, untersuchen, ob man diese Gebilde direkt unter dem Mikroskope beobachten kann, oder man würde vielleicht die Lage der Zellulosenbildner durch ihre Wirkung, d. h. durch ihre Fähigkeit Zellulose zu bilden, nachweisen können. Man wird nämlich schliessen können, dass überall da, wo eine Zellulosebildung vorkommt, nicht nur die Zellulosenbildner,

sondern auch die Stoffe, die für die Zellulosenbildung notwendig sind, anwesend sein müssen.

Eine Zellulosenbildung findet immer während des Wachstums der Zellwand statt. Man könnte daher geneigt sein zu schliessen, dass man einfach das Wachstum als Test für das Vorkommen der Zellulosenbildner benutzen könnte. Es ist aber möglich, dass Zellulosenbildner auch an Orten, wo kein Wachstum stattfindet, vorkommen können. Beispiele dafür sollen später erwähnt werden. Man wird sich daher nach einem anderen Test für das Vorkommen der Zellulosenbildner umsehen müssen.

Durch eine Reihe von Untersuchungen hat sich herausgestellt, dass man durch äussere Eingriffe eine Zellulosenbildung in der Spitze von Wurzelhaaren auf der inneren Seite der Zellmembran hervorrufen kann.

KLEBS (1887) hat gefunden, dass Kongorot in eigentümlicher Weise das Wachstum der Zellwände von Algen beeinflusst, indem »das Längenwachstum beschränkt, bez. vollständig verhindert wird, während das Dickenwachstum ungestört, ja um so lebhafter vor sich geht«. Die Einwirkung von Kongorot auf das Wachstum der Wurzelhaare von *Lepidium* ist von ZACHARIAS (1891) untersucht worden; er fand, dass das Wachstum aufhörte, und dass eine Verdickungsschicht in der Spitze der Haare gebildet wurde.

WORTMANN (1889) zeigte, dass Wurzelhaare, die in starken Rohrzuckerlösungen kultiviert wurden, sich wiederholt verzweigten. Daneben entstanden starke Verdickungen in den Spitzen, wo das Wachstum aufgehört hatte.

ZACHARIAS (1891) hat nachgewiesen, dass Wurzelhaare von *Lepidium*, die sich in feuchter Luft entwickelt hatten, aufhörten zu wachsen, wenn sie in Wasser gebracht wurden. In kurzer Zeit wurde eine Verdickung in der Spitze der Wurzelhaare gebildet.

GORTER (1945, 1949) zeigte, dass man auch durch Behandlung der Wurzelhaare von *Lepidium* und anderen Pflanzen mit Colchicin oder Trijodbenzoesäure neben anderen Wachstumsstörungen Verdickungen in der Spitze der Wurzelhaare hervorrufen kann.

Die Verdickungen färben sich nach GORTER mit Chlorzinkjod, Kongorot und Rutheniumrot, dagegen nicht mit Resoblau. In Cuoxam lösen sie sich nicht.

Die Verdickungen in der Spitze der Wurzelhaare entstehen nach ZACHARIAS (1891) in folgender Weise: »Es ist anzunehmen, dass unter normalen Verhältnissen bei *Lepidium* Flächenwachstum der Membran nur am Scheitel des Wurzelhaares stattfindet. Die weiter rückwärts gelegenen Theile der Membran des Haares erfahren anscheinend auch kein Dickenwachstum, so dass die Ablagerung von Cellulose sich wahrscheinlich auf die Spitze des Haares beschränkt. Nach dem Übertragen aus Luft in Leitungswasser hört in vielen Fällen das Flächenwachstum der vorhandenen Membran auf, das Haar verlängert sich weder, noch verändert es im übrigen seine Gestalt. Die Bildung von Cellulose wird aber fortgesetzt und es entsteht die Verdickungsschicht, welche meist nur am Scheitel des Haares auftritt. Diejenigen Stoffe, welche unter normalen Verhältnissen für das mit Flächenvergrößerung verbundene Wachstum der Membran am Scheitel des Wurzelhaares verwendet werden, werden auch jetzt am Scheitel des Haares, jedoch für den Aufbau einer in die Dicke wachsenden Neubildung verwendet«.

Nach der von mir vertretenen Auffassung muss man annehmen, dass die Zellulosemassen durch Enzyme, d. h. Zellulosenbildner, erzeugt werden. Wenn man von der Annahme ausgeht, dass das Flächenwachstum in der Spitze der Wurzelhaare durch Intussusception zustande kommt, kann man sich vorstellen, dass die Zellulosenbildner, wenn das Wachstum ungestört ist, in der Membran eingelagert sind, und ferner, dass das Plasma durch Übertragung der Wurzelhaare in Wasser oder in eine Lösung von Kongorot sich aus der Membran herauszieht. Die Zellulosenbildner erhalten dann ihre Lage an der Oberfläche des Plasmas (endo- oder exoplasmatisch) auf der inneren Seite der Membran, wo sie ihre Tätigkeit fortsetzen. Die Zellulosenbildungen, die dabei entstehen, ermöglichen es somit, das Vorkommen der Zellulosenbildner in der Membran nachzuweisen.

2. Versuche.

Als Versuchspflanzen wurden *Lepidium* und *Phleum* gewählt. Zwei bzw. vier Samen wurden — ohne eingeweicht zu sein — auf Objektträger, die auf beiden Seiten mit feuchtem Japonais- oder Filtrierpapier bekleidet waren, angebracht. Die Objektträger

wurden senkrecht in viereckige Färbekästchen gestellt. Die Küvetten wurden mit Leitungswasser, das in Kopenhagen stark kalkhaltig ist, beschickt, so dass die Samen sich 0,5—5 cm über die Wasseroberfläche befanden. Im ersten Fall entwickelten die Wurzelhaare sich in Wasser, in den übrigen Fällen in Luft. Die beiden Typen von Wurzelhaaren sollen in dem folgenden als Wasser- bez. Lufthaare bezeichnet werden. Die Keimung der Samen fand bei Zimmertemperatur statt. Die Länge der Wurzeln, die für die Versuche benutzt wurden, betrug etwa 1 cm.

Wenn die Pflanzen sofort, nachdem sie von dem Filtrierpapier abgenommen sind, unter das Mikroskop gelegt werden, findet man nicht (oder jedenfalls sehr selten) Verdickungen in der Spitze der Wurzelhaare oder an den Aussenwänden der Epidermiszellen. Um Verdickungen hervorzurufen muss das Wachstum zum Stillstand gebracht werden. Dies geschah durch eine Vorbehandlung der Pflanzen mit einer Lösung von Kongorot oder Colchicin oder einfach durch Übertragung der Pflanzen in Wasser. In ähnlicher Weise wirken auch Lösungen von β -Indolylessigsäure (im folgenden als β IE bezeichnet). Für die Herstellung der Lö-

Tab. 1.

Vorbehandlung mit der Lösung	Reaktion in der Lösung.
0,01 % Kongorot (30 Minuten)	Leitungswasser 0,01 % Kongorotlösung 0,01 % Kongorotlösung + Dextrose (Konz. 0,1 mol.)
β IE (10, 100 oder 1000 γ pro 100 ccm) 1 Stunde	Dieselbe Lösung wie bei der Vorbehandlung + Dextrose (Konz. 0,1 mol.)
Colchicin (0,05 und 0,5 %) 30 Minuten	Dieselbe Lösung wie bei der Vorbehandlung + Dextrose (Konz. 0,1 mol.)
Leitungswasser (8°—12°) 2 Stunden	0,1 mol. Dextroslösung

sungen wurde Leitungswasser benutzt. Die Vorbehandlung dauerte $\frac{1}{2}$ —2 Stunden. Nachher wurden die Pflanzen in eine neue Flüssigkeit übertragen, in welcher die Reaktion, die Bildung der Verdickungen, eintrat. Die Flüssigkeit bestand entweder aus Leitungswasser oder aus einer neuen Portion derselben Lösung, die für die Vorbehandlung verwendet wurde. In den meisten Fällen wurde so viel Dextrose zugesetzt, dass die Konzentration 0,1 molar wurde. Ich habe den Eindruck, dass die Zellulosemasse, die sich bildet, durch den Zusatz von Dextrose vergrößert wird. Die Verdickungen entwickeln sich im Laufe von 24 Stunden.

Eine schematische Übersicht der angeordneten Versuche findet sich in Tab. 1.

Um das Ergebnis der Behandlung festzustellen, braucht man nur die intakten Wurzeln unter das Mikroskop zu legen. Die Verdickungen in den Wurzelhaaren treten scharf hervor. Noch deutlicher werden sie nach Färbung mit Kongorot oder nach Plasmolyse mit 0,6 mol. Dextroselösung.

Die Verdickungen in den Trichoblasten, die später erwähnt werden sollen, kann man kaum in den Lepidiumwurzeln beobachten, dagegen sehr leicht in den dünnen Wurzeln von Phleum. Diese Pflanze, die neben anderen kleinsamigen Gräsern zuerst von SINNOTT und BLOCH für Untersuchungen über Wachstum und Entwicklung der einzelnen Wurzelzellen benutzt wurde, hat sich als besonders wertvoll für den Nachweis der Zellulosenbildner erwiesen.

Durch die Vorbehandlung wird das Wachstum der Wurzelhaare, die im Begriffe sind sich zu entwickeln, im allgemeinen zum Stillstand gebracht und die Entwicklung neuer Wurzelhaare wird verhindert. Die apikalen Epidermiszellen der Wurzel sind doch mehr resistent als die wurzelhaartragenden Zellen. In einzelnen Fällen sind sie imstande, eine sekundäre Zone von Wurzelhaaren zu bilden (vgl. Abb. 1).

Es sollen nun kurz die Ergebnisse der Versuche dargestellt werden.

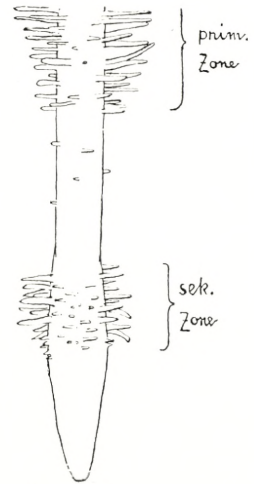


Abb. 1. Wurzel von Lepidium mit einer sekundären Zone von Wurzelhaaren.

- a. Versuche mit Kongorot. Die Lösungen von Kongorot werden täglich frisch hergestellt, indem man eine starke Lösung von Kongorot in destilliertem Wasser mit Leitungswasser verdünnt, bis man schätzungsweise die richtige Konzentration erreicht hat.
1. *Lepidium*, Lufthaare.
 Vorbehandl. 0,01 %iger Lösung von Kongorot, 30 Min.
 Reaktion in Leitungswasser, 24 Stunden.
 Schwache Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare.
 Keine Verdickungen in den älteren.
 Keine nachweisbaren Verdickungen in den Epidermiszellen.
 Keine sekundäre Zone von Wurzelhaaren.
 2. *Lepidium*, Lufthaare.
 Vorbehandl. 0,01 %iger Lösung von Kongorot, 30 Min.
 Reaktion in 0,1 mol. Dextroselösung, 24 Stunden.
 Starke Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare (Abb. 3, 2, 6).
 Vereinzelte Verdickungen in den älteren.
 Keine wahrnehmbare Verdickungen in den Epidermiszellen.
 Eine sekundäre Zone von Wurzelhaaren.
 3. *Lepidium*, Lufthaare.
 Vorbehandl. 0,01 %iger Lösung von Kongorot, 30 Min.
 Reaktion in derselben Lösung mit Zusatz von Dextrose (Konz. 0,1 mol.).
 Mittelmässige Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare (Abb. 3, 2).
 Keine Verdickungen in den älteren.
 Keine sekundäre Zone von Wurzelhaaren.
 4. *Phleum*, Wasserhaare.
 Vorbehandl. 0,01 %iger Lösung von Kongorot, 30 Min.
 Reaktion in Leitungswasser, 24 Stunden.
 Schwache—ziemlich starke Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare (Abb. 3, 3, 5).
 Vereinzelte Verdickungen in den älteren.
 Vereinzelte Verdickungen in den Epidermiszellen (Abb. 4 IVa, b).
 Keine sekundäre Zone von Wurzelhaaren.
 5. *Phleum*, Wasserhaare.
 Vorbehandl. 0,01 %iger Lösung von Kongorot, 30 Min.
 Reaktion in derselben Lösung mit Zusatz von Dextrose (Konz. 0,1 mol.), 24 Stunden.
 Starke Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare (Abb. 3, 3).
 Vereinzelte Verdickungen in den älteren.
 Vereinzelte Verdickungen in den Epidermiszellen (Abb. 4 II c, III c).
 Keine sekundäre Zone von Wurzelhaaren.

Die Epidermiszellen der Wachstumszone war zum grossen Teil zerstört.

b. Versuche mit β -Indolylessigsäure.

1. *Lepidium*, Wasserhaare.

Vorbehdl. Lösung von β IE, 10 γ pro 100 ccm, 1 Stunde.

Reaktion in derselben Lösung mit Zusatz von Dextrose (Konz. 0,1 mol.), 24 Stunden.

Starke Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare (Abb. 3, 2, 3, 5).

Schwache Verdickungen in den älteren.

Vielleicht eine vereinzelt Verdickung in den Epidermiszellen.

Eine sekundäre Zone von Wurzelhaaren, schwache Verdickungen.

2. *Lepidium*, Wasserhaare.

Vorbehdl. Lösung von β IE, 100 γ pro 100 ccm, 1 Stunde.

Reaktion in derselben Lösung mit Zusatz von Dextrose (Konz. 0,1 mol.), 24 Stunden.

Starke Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare (Abb. 3, 5).

Schwächere Verdickungen in den älteren.

Vereinzelt Verdickung in einer Epidermiszelle.

Eine sekundäre Zone von Wurzelhaaren mit schwachen Verdickungen.

3. *Lepidium*, Wasserhaare.

Vorbehdl. Lösung von β IE, 1000 γ pro 100 ccm, 1 Stunde.

Reaktion in derselben Lösung mit Zusatz von Dextrose (Konz. 0,1 mol.), 24 Stunden.

Mittelgrosse Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare (Abb. 3, 3).

Mittelgrosse Verdickungen in den älteren.

Vereinzelt Verdickung in einer Epidermiszelle.

Keine sekundäre Zone von Wurzelhaaren.

4. *Phleum*, Lufthaare.

Vorbehdl. Lösung von β IE, 100 γ pro 100 ccm, 1 Stunde.

Reaktion in derselben Lösung mit Zusatz von Dextrose (Konz. 0,1 mol.), 24 Stunden.

Starke Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare (Abb. 3, 2-8).

Schwache Verdickungen in den älteren.

Viele Verdickungen in den Epidermiszellen (Abb. 4, Serie III und IV).

Keine sekundäre Zone von Wurzelhaaren.

c. Versuche mit Colchicin.

1. *Lepidium*, Wasserhaare.

Vorbehdl. 0,05%iger Lösung von Colchicin, 30 Min.

Reaktion in derselben Lösung mit Zusatz von Dextrose (Konz. 0,1 mol.), 24 Stunden.

Die jungen Wurzelhaare stark deformiert und verzweigt mit mittelgrossen Verdickungen.

Mittelgrosse Verdickungen in den älteren.

Keine nachweisbaren Verdickungen in den Epidermiszellen.

Eine sekundäre Zone von Wurzelhaaren, dieselben waren stark deformiert und verzweigt mit Verdickungen in der Spitze.

2. *Lepidium*, Wasserhaare

Vorbehdl. 0,5⁰/₁₀iger Lösung von Colchicin, 30 Min.

Reaktion in derselben Lösung mit Zusatz von Dextrose (Konz. 0,1 mol.), 24 Stunden.

Starke Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare (Abb. 3, 5).

Schwache—mittelgrosse Verdickungen in den älteren.

Keine Verdickungen in den Epidermiszellen.

Keine sekundäre Zone von Wurzelhaaren.

d. Versuche mit Wasser. Die Pflanzen müssen ziemlich trocken gezüchtet werden. Wenn die Zimmerluft feucht ist, muss der Deckel der Färbekästchen abgenommen werden.

1. *Phleum*, Lufthaare.

Vorbehdl. Leitungswasser, 2 Stunden.

Reaktion in einer 0,1 mol. Dextroslösung, 24 Stunden.

Starke Verdickungen in der Spitze der jungen Wurzelhaare (Abb. 3, 3).

Mittelgrosse Verdickungen in den älteren.

Viele Verdickungen in den Epidermiszellen (Abb. 4, Serie II und V).

Aus obigen Angaben geht hervor, dass man durch die betreffende Behandlung die angeführten Ergebnisse erhalten kann, nicht aber, dass man sie immer erhält. Die Wurzelhaare sind sehr empfindliche Organe, die nicht immer in derselben Weise reagieren. Es tritt im allgemeinen als Folge der Vorbehandlung ein Stillstand des Wachstums ein, aber man kann auch beobachten, dass einzelne Wurzelhaare das Wachstum fortsetzen, ja sogar, dass bestimmte Konzentrationen von β IE und Colchicin das Wachstum beschleunigen können. Entsprechend findet man, dass zwischen Wurzelhaaren mit starken Verdickungen auch solche ohne Verdickungen vorkommen können. Im allgemeinen tritt jedoch die Reaktion mit ziemlich grosser Sicherheit ein. Die zuverlässigste Methode, die Verdickungen bei *Phleum* hervorzurufen, ist die Behandlung mit Kongorot; aber auch bei Übertra-

gung der Pflanzen in Wasser erhält man durchgehend gute Erfolge. Wurzeln, die sich 4—5 cm über die Wasseroberfläche entwickelt haben, geben fast immer Verdickungen.

Weshalb die Wurzeln, die von Filtrierpapier in Wasser übertragen werden, aufhören zu wachsen, ist noch nicht geklärt. Es findet in den Wurzelhaaren eine starke Wasseraufnahme statt, die zu einer vorübergehenden Stockung der Plasmaströmung, in einigen Fällen auch zu einer Plasmoptyse führen kann. Es ist wahrscheinlich, dass die durch diese Wasseraufnahme hervorgerufenen Störungen Ursache des Stillstands des Flächenwachstums in den Wurzelhaaren sind.

Dass grössere Konzentrationen von β IE und Colchicin das Wachstum aufheben und dadurch Verdickungen in der Spitze der Wurzelhaare hervorrufen können, ist leicht verständlich. Es ist wohl auch recht einleuchtend, dass Kongorot dadurch, dass es an die in der Zellwand vorhandenen Zellulosefäden haftet, das Auseinanderrücken derselben unmöglich machen kann, und dass es auf diese Weise das Flächenwachstum der Zellwand zum Stillstand bringen kann. Die Behandlung mit Kongorot wirkt somit als eine Abfangmethode.

Die chemische Beschaffenheit der Wandverdickungen. Bei mikroskopischer Untersuchung ungefärbter Wurzelhaare mit Verdickungen kann man keine Trennungslinie zwischen Primärmembran und Verdickung beobachten, und man hat, namentlich bei kleinen Verdickungen, den Eindruck, dass dieselben durch Einlagerung von Stoffen in die Primärmembran entstanden sind. Eine Trennungslinie tritt aber sofort auf, wenn man mit Kongorot färbt, und namentlich, wenn man die Wurzelhaare im Dunkelfelde untersucht, indem nur die Primärmembran aufleuchtet, während die Verdickung dunkel ist. Die Verdickungen bestehen somit aus organischen Massen, die der inneren Seite der Primärmembran angelagert sind. Die Verdickungen werden mit Kongorot intensiv rot und mit Anilinblau (in 3 %iger Essigsäure gelöst) blau gefärbt. Mit Rutheniumrot färben sie sich kaum.

Es wird von verschiedenen Forschern behauptet, dass die Verdickungen sich mit Chlorzinkjod blau färben. Das stimmt nicht ganz zu meinen Erfahrungen. Der grösste Teil der Verdickungen, die mit β IE oder Wasser erzeugt sind, wird, sowohl bei *Lepidium* als bei *Phleum*, mit Chlorzinkjod entweder nicht

oder sehr schwach blau gefärbt, der innere Saum der Verdickungen, der unmittelbar an das Plasma stösst, wird dagegen in vielen Fällen intensiv blau gefärbt. Mit Jodjodkalium und Schwefelsäure erhält man dasselbe Ergebnis.

Im Dunkelfelde leuchtet, wie oben erwähnt, die Primärmembran stark auf, während die Verdickungen dunkel sind. Daneben tritt in vielen Fällen auch der innere Saum der Verdickung als eine leuchtende Linie hervor (Abb. 2). Der leuchtende Teil der Verdickung ist offenbar derselbe, der durch Chlorzinkjod blau gefärbt wird.



Abb. 2.
Die leuchtenden
Linien eines Wur-
zelhaares von
Phleum in Dun-
kelfeldbeleuch-
tung.

Im Polarisationsmikroskop kann bei gekreuzten Nicols und Einschaltung eines Quarzplättchens (Rot I Ordnung) in dem unteren Teil der Primärmembran eine Doppelbrechung nachgewiesen werden. Die Verdickungen geben weder Additions- noch Subtraktionsfarben.

Aus dem angeführten wird man schliessen können, dass die Verdickungen aus den gewöhnlichen Bestandteilen der Zellwand aufgebaut sind. Der grössere Teil enthält nur eine geringe Menge Zellulose, möglicherweise gar keine. Dieser Teil ist wahrscheinlich ziemlich locker gebaut und kann somit nicht mit den Zelluloseschichten, die bei dem gewöhnlichen Dickenwachstum entstehen, verglichen werden.¹ Der innere Saum der Verdickung dagegen hat eine festere Konsistenz und besteht vorwiegend aus Zellulose.

Zusammenfassung. Wie frühere Forscher gefunden haben, können durch verschiedene äussere Einwirkungen Verdickungen in der Spitze der Wurzelhaare hervorgerufen werden. Diese Verdickungen bestehen aus einem Gemisch verschiedener Verbindungen der Zellulosegruppe.

Nach meiner Auffassung sind die Verdickungen ein Beweis dafür, dass in der Spitze der Wurzelhaare Zellulosebildner vorhanden sind, d. h. Enzymssysteme, die entweder aus Verbindungen, die dort vorkommen, oder aus Stoffen, die künstlich zugeführt

¹ Verdickungen, die mit Kongorot hervorgerufen und mit diesem Stoffe gefärbt sind, erhalten mit Chlorzinkjod häufig eine blaue Farbe; in einigen Fällen wird doch nur der innere Saum blau gefärbt, während der übrige Teil der Verdickung die rote Farbe behält. Es ist möglich, dass die mit Kongorot hervorgerufenen Verdickungen mehr Zellulose enthalten als diejenigen, die mit Wasser oder β IE erzeugt sind.

werden, Verbindungen der Zellulosegruppe bilden können. Die Bildung der Verdickungsschichten kann somit als ein qualitativer Test für die Anwesenheit von Zellulosebildnern benutzt werden.

Wie oben erwähnt können Verdickungen auch in den Epidermiszellen auftreten.

Es soll nun im folgenden eine Übersicht über das Vorkommen und die Lage der Verdickungen gegeben werden. Es wird sich zeigen, dass es möglich ist, der Lösung des Problems, in welcher Weise die Wurzelhaare erzeugt werden, einen Schritt näher zu kommen.

3. Vorkommen und Lage der Zellulosebildner in Wurzelhaaren und Trichoblasten.

Wurzelhaare mittlerer Länge. Wie HABERLANDT (1887) und andere nachgewiesen haben, wachsen die Wurzelhaare durch Spitzenwachstum. Man darf daher erwarten, dass auch das Vorkommen der Zellulosebildner auf die Spitze beschränkt ist. Das ist tatsächlich auch der Fall; die Verdickungen werden ausschliesslich in der Spitze erzeugt. In vielen Fällen sind sie so stark entwickelt, dass die ganze Spitze ausgefüllt ist. Die wachsende Zone beträgt bei *Polygonum fagopyrum* nach HABERLANDT 0,013 mm, die Länge der Verdickungen bei *Lepidium* etwa 0,015 mm, bei *Pleum* etwa 0,017 mm (vgl. Abb. 3, 5), in einigen Fällen können sie etwas kürzer oder länger sein. Die Länge der Wachstumszone und der Verdickungen ist somit von derselben Grössenordnung.

Es erhebt sich nun die Frage, ob die Zellulosebildner, welche die Verdickungen erzeugen, an der inneren Seite der Primärmembran oder an oder in der Oberfläche des Plasmas liegen. Die erstere Annahme ist nicht wahrscheinlich. Die erst gebildeten Verdickungsschichten müssten dann an der inneren Seite der Verdickung liegen, und man müsste erwarten, dass sie stark gefaltet wären, was nicht der Fall ist. Direkt widerlegt wird diese Annahme durch ein Versuch von WORTMANN (1889). Wurzelhaare von *Lepidium*, die in 6—9 %iger Rohrzuckerlösungen kultiviert waren, wurden plasmolysiert und nachher in einer Lösung, in welcher die Haare wieder turgescient wurden, weiter kultiviert. Das Ergebnis der Versuche beschreibt er mit folgenden Worten: »In allen, auch den jüngsten Haaren, haben sich lebhaft Mem-

branverdickungen am Scheitel eingestellt, wobei in vielen Fällen durch allmähliches Zurückweichen des Plasmas vom Scheitel 2—3 Membrankappen gebildet waren, diese entweder zwischen sich einen freien Raum lassend, oder auch, wie in einigen Fällen beobachtet werden konnte, durch weniger dichte Cellulose kontinuierlich mit einander verbunden«. Aus diesem Versuch kann man schliessen, dass die Zellulosenbildner an der Oberfläche

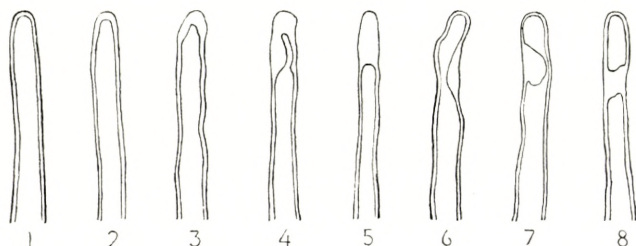


Abb. 3. Verdickungen in der Spitze von Wurzelhaaren mittlerer Länge von Phleum. 1 Kontrolle, 2—8 Wurzelhaare mit Verdickungen, alle aus derselben Wurzel. Die Verdickungen sind mit β IE hervorgerufen. (Vergr. $\frac{400}{1}$).

des Plasmas liegen, ob endo- oder exoplasmatisch mag vorläufig dahingestellt bleiben.

Die Form der Verdickungen kann sehr verschiedenartig sein. Man wird jedoch vielleicht zwei Gruppen unterscheiden können.

In der ersten Gruppe (Abb. 3, 2—5) befindet die Hauptmasse der Verdickung sich in der Spitze des Wurzelhaares und nimmt entweder abwärts allmählich ab (2—3) oder die ganze Spitze ist von der Verdickung ausgefüllt (5); doch kann im letzteren Fall ein Kanal, der mit Plasma gefüllt ist, sich in die Verdickung hineinerstrecken (4). Man darf annehmen, dass in dieser Gruppe die Zellulosenbildner sich hauptsächlich an der Spitze des Plasmas befinden, an der Stelle, wo das Flächenwachstum der Zellmembran am stärksten ist.

In der zweiten Gruppe (Abb. 3, 6—8) wird die Hauptmasse der Verdickung unterhalb der Spitze gebildet. Entweder entsteht eine einseitige Verdickung oder ein ringförmiger Wulst ungefähr an der Grenze, wo das Flächenwachstum des Wurzelhaares aufhört (6, 7). Die Wülste können zu einem geschlossenen Zylinder zusammenfließen, so dass zwischen Spitze der Primärmembran und Verdickung ein mit Plasma gefüllter Raum eingeschlossen

wird (8). Man darf annehmen, dass in dieser Gruppe eine Verschiebung der Zellulosenbildner stattgefunden hat, so dass sie sich an der Basis der Wachstumszone angehäuft haben. Dieser Typus ist weit seltener als der erst erwähnte.

Weiter unten im Wurzelhaar finden sich nicht oder jedenfalls ausserordentlich selten Verdickungen.

Ältere Wurzelhaare. Auch in älteren Wurzelhaaren, sowohl von *Lepidium* als von *Phleum*, können Verdickungen gebildet werden, dieselben sind jedoch meistens kleiner als in den jüngeren. Es ist wahrscheinlich, dass Wurzelhaare Verdickungen bilden können, auch nachdem sie aufgehört haben zu wachsen; sie enthalten somit auch Zellulosenbildner. Wenn sie trotzdem nicht wachsen, ist die Ursache wahrscheinlich in dem Mangel an Stoffen zu suchen, die für das Flächenwachstum notwendig sind.

Junge Wurzelhaare und Trichoblasten von *Phleum*. Die Lage der Verdickungen in denselben ist in Abb. 4 dargestellt. In dem jungen Wurzelhaar (IIa) liegt eine kugelförmige Verdickung in der Spitze. Wenn man nun von diesem Wurzelhaar weiter in Richtung auf die Wurzelspitze geht, trifft man auf ein jüngeres Stadium (IIb); in dieser Zelle ist die Aussenwand nur schwach vorgewölbt, sie enthält aber eine Verdickung von ungefähr derselben Grösse wie in IIa. Die jungen Wurzelhaare liegen an dem apikalen Ende der Zellen. In den folgenden Stadien ist die Aussenwand der Epidermiszellen vollkommen plan. Von ganz besonderer Bedeutung ist es nun, dass man auch in einigen von diesen Zellen an der inneren Seite der Aussenwand kegelförmige oder halbkugelförmige Verdickungen von ganz derselben Beschaffenheit wie in den jungen Wurzelhaaren finden kann. Sie färben sich mit Kongorot und liegen ebenfalls mit seltenen Ausnahmen an dem apikalen Ende der Zellen (IIc, d). Es finden sich alle Übergänge zwischen diesen Verdickungen und den Verdickungen in den jungen Wurzelhaaren, und man wird daher nicht bezweifeln können, dass sich ein Wurzelhaar an diesen Stellen gebildet hätte, wenn die Entwicklung nicht abgebrochen worden wäre. Die in den Serien III und IV dargestellten Entwicklungsreihen entsprechen ganz derjenigen in Serie II. Nur sind die Verdickungen in den Trichoblasten mehr länglich.

Wie SINNOTT und BLOCH (1939) nachgewiesen haben, teilen

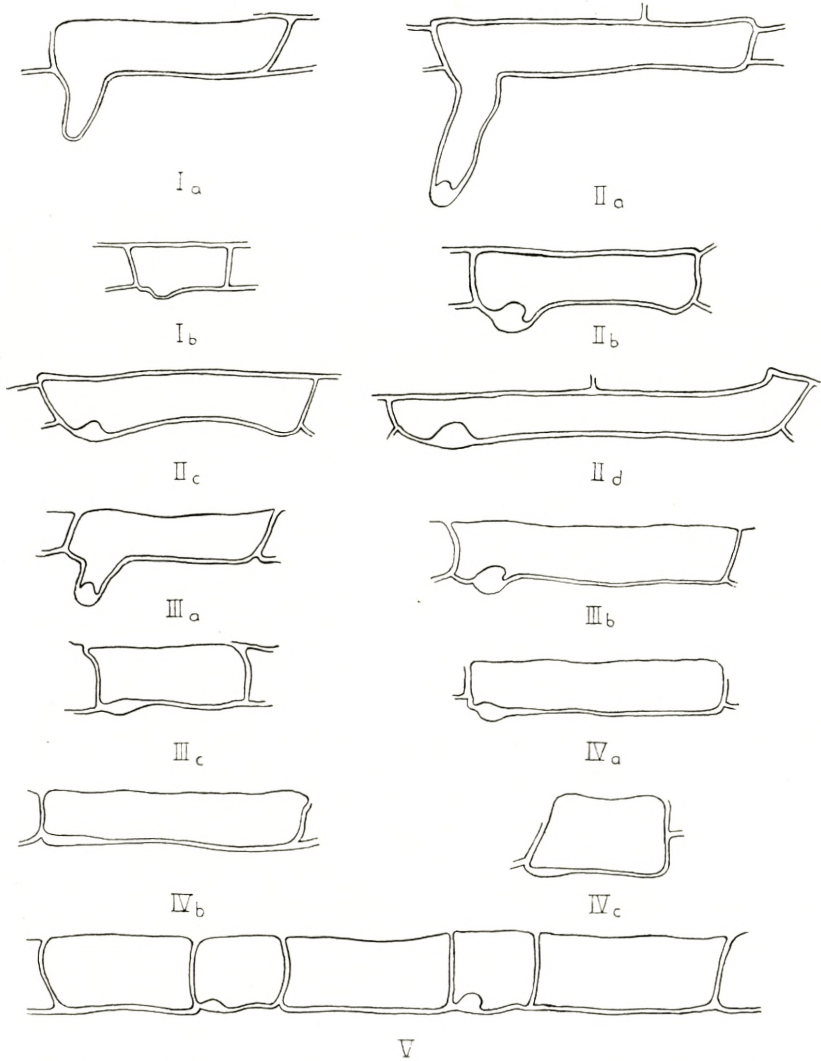


Abb. 4. Verdickungen in jungen Wurzelhaaren und Trichoblasten von Phleum. Die Wurzelspitze liegt links. Jede Serie enthält Abbildungen von Zellen aus derselben Wurzel in der Reihenfolge Basis→Spitze. Serie I Kontrolle. In den Serien II und V sind die Verdickungen durch Wasser und in den Serien III und IV durch β IE hervorgerufen. (Vergr. $\frac{400}{1}$).

sich die Zellen der Phleumwurzeln in einigem Abstand von der Spitze in zwei ungleichartige Zellen, eine kürzere apikale, die ein Wurzelhaar bilden kann, und eine längere basale, die sich streckt. In einem Fall (Abb. 4, V) ist es gelungen zu zeigen, dass

die Verdickungen in kurzen Zellen, die zwischen längeren Zellen eingeschoben sind, entstehen können.

Da man annehmen muss, dass die Verdickungen in der Spitze der Wurzelhaare durch Zellulosenbildner hervorgerufen sind, wird man weiter schliessen müssen, dass die Verdickungen in den Zellen, die noch kein Wurzelhaar gebildet haben, von Zellulosenbildnern, die an dem betreffenden Ort angehäuft worden sind, erzeugt sind. Bei normaler Entwicklung würden diese Zellulosenbildner die Zellwand eines Wurzelhaares gebildet haben, bei Abbruch der Entwicklung entsteht dagegen eine Verdickung.

Bei Wurzelhaaren besteht somit die Determination, d. h. das Wesen der Vorgänge, welche die bei der Entwicklung der Haare stattfindende Differenzierung hervorrufen, in einer Anhäufung von Zellulosenbildnern an dem Ort, wo das Wurzelhaar gebildet werden soll. Die von dem Verfasser aufgestellte Determinationstheorie (BOYSEN JENSEN 1948) hat somit Gültigkeit für die Bildung der Wurzelhaare.

Dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität und dem Carlsbergfond, die mir die für die Untersuchungen notwendigen Instrumente zur Verfügung gestellt und mich auch in anderer Weise unterstützt haben, spreche ich meinen besten Dank aus.

Meiner Tochter, Frau Margrete Ehlers, die mich mit unermüdlicher Gewissenhaftigkeit bei der Ausführung der Versuche unterstützt hat, möchte ich auch an dieser Stelle herzlich danken.

In einer folgenden Abhandlung soll untersucht werden, ob es möglich ist, die Zellulosenbildner direkt unter dem Mikroskope zu beobachten.

4. Summary.

The cellulose masses produced in the tips of the root hairs of *Lepidium* and *Phleum* by the influence of Congo red or 3-indole acetic acid, or simply by placing plants cultivated on filter paper in water demonstrate that cellulose-building enzymes are located in the tips. Generally a thickening on the inner side of a cell wall can be used as a test indicating that such enzymes are present there.

Besides in the tip of a root hair a cellulose mass can also be produced as a small cone on the inner side of the outer wall of hairless epidermis cells. Such a cone indicates that cellulose-building enzymes have been accumulated in this place and that a root hair would have been produced there, if the development had not been arrested.

Hence it appears that the process determining the development of a root hair is an accumulation of cellulose-building enzymes in a definite place at the apical part of the outer wall of an epidermis cell.

The investigations support the determination theory advanced by the author (BOYSEN JENSEN 1948).

5. Skrifttum.

- BOYSEN JENSEN, P., A Determination Theory. *Physiol. plantarum* 1, 156, 1948.
- FARR, WANDA K., Formation of Microscopic Cellulose Particles in Colorless Plastids of the Cotton Fibre. *Contrib. Boyce Thomps. Inst.* 12(3), 181, 1941.
- The Tertiary Membrane of the Plant Cell Wall. *Journ. Phys. and Colloid. Chemistry* 53, 260, 1949.
- GORTER, CHR. J., De invloed van colchicine op den groei van den celwand van wortelharen. *Kon. Nederl. Akad. van Wet. Proc.* 48, 326, 1945.
- Action of 2-3-5-Trijodobenzoic Acid on Growth of Root Hairs. *Nature* 164, 800, 1949.
- HABERLANDT, G., Über die Beziehungen zwischen Funktion und Lage des Zellkernes bei den Pflanzen. Jena 1887.
- KLEBS, G., Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. *Unters. d. bot. Inst. Tübingen* II, 489, 1887.
- PEAT, S., Plant Carbohydrates. *Ann. Rev. Biochem.* 15, 75, 1946.
- REINHARDT, M. O., Plasmolytische Studien zur Kenntniss des Wachstums der Zellmembran. *Schwendener Festschrift*, S. 425, Berlin 1899.
- SINNOTT, E. W. and BLOCH, R., Changes in Intercellular Relationships during the Growth and Differentiation of Living Plant Tissue. *Am. Journ. Bot.* 26, 625, 1939.
- WORTMANN, J., Beiträge zur Physiologie des Wachstums. *Bot. Ztg.* 47, 229, 245, 261, 277, 293, 1889.
- ZACHARIAS, S., Über Entstehung und Wachstum der Zellhaut. *Jhrb. wiss. Bot.* 20, 107, 1889.
- Über das Wachstum der Zellhaut bei Wurzelhaaren. *Flora, N. F.* 49, 466, 1891.

DET KGL. DANSKE VIDENSKABERNES SELSKAB
BIOLOGISKE MEDDELELSER

BIND XVIII (under pressen):

	kr. ø.
1. BOHR, HANS H.: Measurement of the Blood Volume by Means of Blood Corpuscles Labelled with P ³² . 1950	2.00
2. LARSEN, POUL: The Aspects of Polyploidy in the Genus Solanum. II. Production of dry Matter, Rate of Photosynthesis and Respiration, and Development of Leaf Area in some Diploid, Autotetraploid and Amphidiploid Solanums. 1943	4.50
3. WESTERGAARD, M.: The Aspects of Polyploidy in the Genus Solanum. III. Seed Production in Autopolyploid and Allopolyploid Solanums. 1948	2.00
4. HAGERUP, O.: <i>Thrips</i> Pollination in <i>Calluna</i> . 1950	1.50
5. HAGERUP, O.: Rain-Pollination. 1950	1.50
6. JENSEN, P. BOYSEN: En metodik til undersøgelse af landbrugsplanternes vandøkonomi og stofproduktion. Mit deutscher Zusammenfassung. 1950	3.00
7. JENSEN, P. BOYSEN: Investigations on the Growth and Differentiation of Tobacco Tissue Cultures in Vitro. 1950	1.50
8. BØRGESEN, F.: <i>Vaughaniella</i> . A New Genus of the <i>Dictyotaceae</i> . 1950	1.00
10. JENSEN, P. BOYSEN: Untersuchungen über Determination und Differenzierung. 1. Über den Nachweis der Zellulosenbildner und über das Vorkommen und die Lage derselben in Wurzelhaaren und Trichoblasten. 1950	1.50

BIND XX (KR. 56.00):

1. PETERSEN, JOHS. BOYE: Algae Collected by Eric Hultén on the Swedish Kamtchatka Expedition 1920—22, especially from Hot Springs. 1946	8.00
2. BURSTRÖM, HANS, and KROGH, AUGUST: The Biochemistry of the Development of Buds in Trees and the Bleeding Sap. 1946	2.00
3. JENSEN, AD. S.: Bog og Egern, Bogvikler og Musvitter. With an English Summary. 1946	3.00
4. BRØNDSTED, H. V.: The Existence of a Static, Potential and Graded Regeneration Field in Planarians. 1946	3.00
5. HAGERUP, O.: Studies on the <i>Empetraceae</i> . 1946	4.00
6. BØRGESEN, F.: Some Marine Algae from Mauritius. An Additional List of Species to Part I Chlorophyceae. 1946	6.00
7. BRØDERSER, ROLF, and KLENOW, HANS: Molecular Weight Determinations of Biological Substances by means of Diffusion Measurements. 1947	2.00
8. BÖCHER, TYGE W.: Cytogenetic and Biological Studies in <i>Geranium Robertianum</i> L. 1947	3.00

9. HAGERUP, O.: The Spontaneous Formation of Haploid, Polyploid, and Aneuploid Embryos in some Orchids. 1947.....	2.00
10. JØRGENSEN, C. BARKER: On the Spicule-Formation of <i>Spongilla lacustris</i> (L.) and <i>Ephydatia fluviatilis</i> (L.). 2. The Rate of Growth of the Spicules. 1947	2.50
11. HOLM-JENSEN, IB: Osmotic Regulation in <i>Daphnia magna</i> under Physiological Conditions and in the Presence of Heavy Metals. 1948	5.00
12. BØRGESEN, F.: Some Marine Algae from Mauritius. Additional Lists to the Chlorophyceae and Phaeophyceae. 1948.....	6.00
13. JENSEN, AD. S.: <i>Chermes abietis</i> Galls and Squirrels. 1948	1.50
14. STEENBERG, C. M.: Études sur l'anatomie et la systématique du genre <i>Eremina</i> (Gastéropodes pulmonés). Éditées par G. Mandahl-Barth. 1949	8.00

Bind XXI (under pressen):

1. BØCHER, TYGE W.: Studies on the Sapropelic Flora of the Lake Flyndersø with Special Reference to the Oscillatoriaceae. 1949.....	4.00
2. JENSEN, P. BOYSEN: The Production of Matter in Agricultural Plants and its Limitation. 1949.....	2.00
3. JENSEN, P. BOYSEN: Causal Plant-Geography. 1949.....	2.00
4. LARSEN, ELLINOR BRO: Activity and Migration of <i>Plusia Gamma</i> L. Studies on the Activity of Insects III. 1949.....	3.00
5. BØRGESEN, F.: Some Marine Algae from Mauritius. Additions to the Parts previously published. 1949.....	6.00
6. JENSEN, AD. S., and VOLSØE, HELGE: A Revision of the Genus <i>Icelus</i> (Cottidae). With Remarks on the Structure of its Urogenital Papilla. 1949.	3.00