

Über die longitudinale Verteilung der Saccharaseaktivität in der Wurzelspitze

Autor(en): **Wanner, H. / Leupold, U.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **57 (1947)**

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-40551>

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.

Über die longitudinale Verteilung der Saccharaseaktivität in der Wurzelspitze

Von *H. Wanner* und *U. Leupold*.

Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich.

Eingegangen am 30. Mai 1947.

Die kausale Erforschung der Erscheinung des pflanzlichen Streckungswachstums bewegt sich heute im wesentlichen nur um eine Frage: Welches ist der Wirkungsmechanismus der Auxine? (*Frey-Wyßling*, 1946.) Als Regulatoren des Stoffwechsels der sich streckenden Zellen kann die Rolle der Wuchshormone aber erst dann sicher erklärt werden, wenn die Unterschiede im Stoffwechselverhalten der genetisch aufeinanderfolgenden Stadien einer Pflanzenzelle: meristematische, sich streckende und ausdifferenzierte Zelle, bekannt sind. Die vorliegende Arbeit stellt einen Versuch dar, in dieser vernachlässigten Forschungsrichtung vorzudringen. Als wichtige Ausgangspunkte für solche Untersuchungen müssen die Feststellungen von *Burström* (1942) über die osmotischen Verhältnisse in der Streckungszone von Wurzelzellen berücksichtigt werden. Bei den von ihm untersuchten Weizenkeimlingen beginnt die Zellstreckung mit einer Zunahme der *elastischen* Dehnbarkeit der Zellwand, ein Befund, der schon auf *Ursprung* und *Blum* (1924) zurückgeht. Diese erste, durch die Auxine bewirkte Phase ist gefolgt von einer irreversiblen Streckung der Zellen. Ein Sättigungsdefizit, wie früher vielfach angenommen wurde, ist während der ganzen Streckung bei *Wurzelzellen* unmöglich (Turgor = osmot. Druck), indem jede Veränderung der Zelle, die auf die Entstehung eines Defizits hin arbeitet, sofort durch Wasseraufnahme ausgeglichen wird und als Wachstum zum Vorschein kommt. In der ersten Phase des Wachstums besteht die Veränderung der Zelle in einer Erhöhung der Wanddehnbarkeit, in der zweiten in der *Zufuhr osmotischen Materials* (*Burström*, l. c.). Durch Fütterung von Wurzeln mit Glukose oder Maltose konnte *Burström* tatsächlich ein verstärktes, d. h. länger andauerndes Streckungswachstum erreichen; der osmotische Wert der sich streckenden Zellen wird durch den Eintritt von Zucker in die Vakuolen erhöht, verursacht dadurch eine stärkere Wasseraufnahme und längere Streckung.

Ohne auf die definitiv noch nicht geklärte Frage einzugehen, ob unter *natürlichen* Verhältnissen die Vermehrung des osmotischen Materials in den sich streckenden Zellen *Ursache* (wenigstens teilweise) oder

Folge der Volumenvergrößerung sei, möchten wir hier näher auf das Problem des Mechanismus einer Osmoregulation hinweisen.

Die von B u r s t r ö m festgestellte annähernde Gleichheit des osmotischen Wertes zu Anfang und zu Ende der Streckung erfordert infolge der vielfachen Volumenvergrößerung eine starke Vermehrung des osmotischen Materials. Bei verschiedenen bis jetzt untersuchten Objekten konnte die Art dieses osmotischen Materials approximativ ermittelt werden, so hat R u g e (1937) bei den Hypokotylen von *Helianthus annuus* festgestellt, daß es zum größten Teil aus anorganischen Salzen besteht. Der Elektrolytgehalt bedingt zirka 60—80 % des osmotischen Wertes, während der Rest zu annähernd gleichen Anteilen Monosen und Biosen zuzuschreiben ist. B u r s t r ö m (l. c.) bemerkt dazu allerdings, daß die dekapitierten Hypokotylen an Kohlehydratmangel gelitten haben könnten, verglichen mit normalen Organen. Bei Wurzeln scheint zudem nach B u r s t r ö m s Untersuchungen die Kohlehydratzufuhr zu den wachsenden Zellen von großem Einfluß zu sein, so daß vielleicht bei diesen Objekten auch der Disaccharidhydrolyse als osmoregulativem Mechanismus eine größere Bedeutung zukommt als bei den Hypokotylen von *Helianthus annuus*. Andererseits ist bei Wurzeln theoretisch auch eine Osmoregulation durch direkte Salzaufnahme aus dem Außenmedium möglich. Welcher von diesen beiden Mechanismen quantitativ vorherrscht, läßt sich erst durch genauere Analysen des Zellsaftes ermitteln, was bis jetzt noch nicht durchgeführt wurde. Die Rolle der Auxine in diesem Zusammenhang ist noch durchaus unklar. Auxin scheint (R e i n d e r s, 1938, (C o m m o n e r et al., 1943, und v a n O v e r b e e k, 1944) sowohl die Wasser- wie Salzaufnahme von Kartoffelgewebe zu beeinflussen. Aber wie K. V. T h i m a n n (1946) schreibt: «...it is not the occurrence of such accumulations, but the problem of whether they are causative of growth or not, that remains unsettled.»

Noch nicht veröffentlichte Untersuchungen über zonale Verteilung und Wanderung von Kohlehydraten in *Pisum*keimlingen zeigten, daß in diesen für Disaccharide ein Konzentrationsgefälle von den Kotyledonen zu Sproß- und Wurzelspitze besteht, für Monosaccharide dagegen in umgekehrter Richtung. Es liegt nahe, daraus zu schließen, daß auch hier Disaccharide als Wanderzucker dienen und nicht Monosaccharide, ähnlich wie das von M a s o n und M a s k e l l (1928) für *Gossypium* nachgewiesen wurde. Es stellte sich aus diesen Untersuchungen die weitere Frage: Wo wird die Saccharose, denn diese bildet den Hauptbestandteil, wenn nicht sogar 100 % der gesamten Disaccharidmenge, gespalten? Die nachstehend beschriebenen Versuche an Wurzeln zeigten, daß ein anatomisch gut charakterisierbarer Gradient der Saccharaseaktivität (β -h-Fructosidase) in der Wurzelspitze vorhanden ist. Im Meristem und in der Streckungszone ist je ein deutliches Maximum der Saccharose-spaltung festzustellen!

Material und Methodik.

Die gesamte Methodik lehnt sich eng an die von Linderström-Lang und Holter (1941) beschriebenen Verfahren für ultramikroenzymatische Untersuchungen an. Um gut meßbare Spaltungen zu erhalten, gelangten die 7 Tage alten voluminösen Hauptwurzeln von Vicia-Faba-Keimlingen zur Verwendung. Die 4—8 mm langen Wurzelspitzen wurden vertikal auf dem Tische eines Gefriermikrotoms festgefroren und in Schnitte von $120\ \mu$ Dicke zerlegt. Das Schneiden auf den üblichen Gefriertischen, d. h. unter periodischer Öffnung des Reduzierventils der CO_2 -Zuleitung bereitete insofern Schwierigkeiten, als durch die bei diesem Verfahren natürlich nicht konstante Temperatur der Wurzel die Schnittdicken ziemlich stark schwankten. Um diesem Übelstande abzuweichen, bauten Linderström-Lang und Mogensén (1938) das ganze Mikrotom in eine Gefrierkammer ein. Eine einfachere und für die relativ großen Schnittdicken, die in unseren Versuchen zur Verwendung gelangten, völlig genügende Methode bestand darin, daß wir eine Gefriertrommel folgender Konstruktion benützten: Abbildung 1. Der Tisch besteht

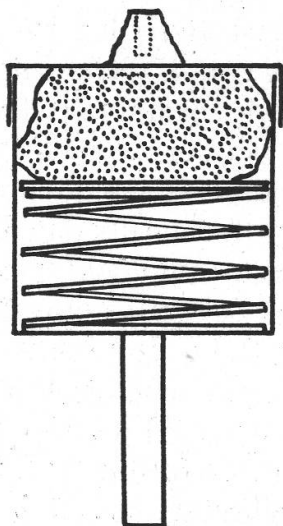


Abbildung 1.
Gefriertrommel des Mikrotoms. Trockeneis punktiert. Auf dem Deckel die eingefrorene Wurzel.

aus einer Trommel mit abnehmbarem Deckel. Innen befindet sich eine Feder, die eine runde Platte nach oben drückt. Zur Benützung als Gefriertisch wird der Deckel abgenommen, die Platte nach unten gedrückt und Kohlensäureschnee oder Kunsteis eingefüllt. Dieses wird durch die Feder ständig an die Innenseite des Deckels gepreßt, weshalb dieser dann als Gefriertisch mit annähernd konstanter Temperatur benützt werden kann. Durch eine solche Anordnung läßt sich die erforderliche Regelmäßigkeit der Schnittdicke in hohem Maße erreichen. Die Bestimmung der Saccharaseaktivität der einzelnen Schnitte geschieht durch deren Wirkung während einer bestimmten Zeit auf eine bestimmte Menge Saccharoselösung und Ermittlung der abgespaltenen Glucose mittels der Aldosenbestimmung nach Willstätter-Schudel.

Im einzelnen wurden folgende Versuchsbedingungen eingehalten: Die Gefrierschnitte werden einzeln in kleine, innen gewachste Reagenzgefäße mit $5,6\ \text{mm}^3$ Azetatpuffer von pH 4,7 und ebensoviel 1,5prozentiger Saccharoselösung übertragen, worauf die Gefäße verschlossen in den Thermostaten bei 30° verbracht werden. Nach Ablauf einer Reaktionszeit von 4 Stunden wird die Reaktion durch Zusatz von $39,4\ \text{mm}^3$ Karbonatpuffer von pH 10,6 sistiert. Anschließend werden $14,0\ \text{mm}^3$ 0,15-n-Jodlösung (Jod/Jodkali) zugegeben und die Gefäße zur Verhinderung der Jodverdampfung sofort durch zwei über dem Bodentropfen angebrachte

Flüssigkeitstropfen von 1,2 n Schwefelsäure (39,4 mm³), bzw. 0,3 % Stärke in 0,01-n-Schwefelsäure (27,4 mm³) verschlossen. Nach 30 Minuten werden alle drei Tropfen durch Zentrifugieren der Reagenzgläschen vereinigt. Die Titration des nicht verbrauchten Jods erfolgt durch 0,05-n-Natriumthiosulfat-Lösung. Der Blindwert der Titration wird ermittelt, indem einige Reagenzgläschen ohne Schnitte, aber sonst genau gleich wie die übrigen behandelt werden.

Das als *Bezugsgröße* verwendete Gewebsvolumen der einzelnen Schnitte wird aus der Schnittdicke und dem Areal der Schnittfläche berechnet. Letzteres wurde durch Projektion mittels mikrosk. Zeichenapparates und Planimetrieren bestimmt.

Es wurden dabei zum Teil die bereits zur Enzymbestimmung benutzten, zum Teil frische Schnitte verwendet. Im letzteren Falle kamen abwechselnd Schnitte zur Enzymbestimmung und zur Volumermittlung. Um den Eigenverbrauch der Gewebeschnitte an Titrationsmittel und den Eigengehalt an reduzierenden Substanzen zu bestimmen, wurde eine Schnittserie ohne Zugabe von Substratlösung, aber sonst gleich, wie oben beschrieben, behandelt.

Der Versuch ergab, daß die gefundenen Titrationswerte im Fehlerbereich der gleichzeitig ermittelten Blindwerte mit Substrat, aber ohne Schnitte, lagen, d. h. daß die Abnahme des Natriumthiosulfat-Verbrauches bei der Titration der Normalproben im wesentlichen nur auf die Spaltung des Rohrzuckers in reduzierende Zucker zurückzuführen ist. Die Lage der Streckungszone wurde durch Messung der Längenzunahme von markierten 0,4-mm-Zonen innerhalb 24 Stunden mittels Horizontalmikroskop ermittelt.

Die Messung der Atmung (O₂-Verbrauch) von 1 mm langen Wurzelsegmenten erfolgte mit Hilfe der schon beschriebenen Kapillarmanometer (W a n n e r 1944). Zur genaueren und rascheren Trennung der Segmente wurde ein Gerät verwendet, das aus 7 parallel im Abstand von 1 mm nebeneinanderstehenden Rasierklingen besteht.

Untersuchungsergebnisse.

Wie zu erwarten war, zeigten sich bezüglich der Saccharaseaktivität in verschiedenen Wurzeln von *Vicia Faba* bedeutende individuelle Schwankungen (Abbildung 2). Die Kurven 18—19—29 zeigen die Saccharaseaktivität ausgedrückt in mm³ Thiosulfat, bezogen auf das Gewebevolumen gemessen in mm³. Trotz der Variationen zeigen aber alle drei Kurven prinzipiell den gleichen Verlauf: *von der äußersten Spitze steigt die Aktivität rasch zu einem ersten Maximum an*, um nachher wieder auf drei Viertel bis zur Hälfte dieses Wertes abzusinken. Das erste Aktivitätsmaximum ist knapp einen halben Millimeter von der Wurzelspitze entfernt. Das darauffolgende Minimum befindet sich etwa beim zweiten Millimeter. In weiterer Entfernung von der Wurzelspitze steigt die Saccharaseaktivität wieder an, so daß *die Kurve einen zweiten, aber bedeutend breiteren Gipfel aufweist*.

Der Vergleich des Kurvenverlaufes mit dem histologischen Bau der Wurzel ergibt folgendes:

Das erste Aktivitätsmaximum der Saccharase stimmt mit der Lage des Vegetationspunktes überein, d. h. offenbar mit dem Ort stärkster

Zellteilungstätigkeit. Das zweite Maximum befindet sich in der Streckungszone und fällt, wie folgender Versuch zeigt, mit dem Maximum der Zellstreckungsgeschwindigkeit zusammen.

Eine 6 cm lange Wurzel von *Vicia Faba* wurde mit Rußparaffin in Abständen von $0,4 \pm 0,1$ mm markiert. Unter den gleichen Bedingun-

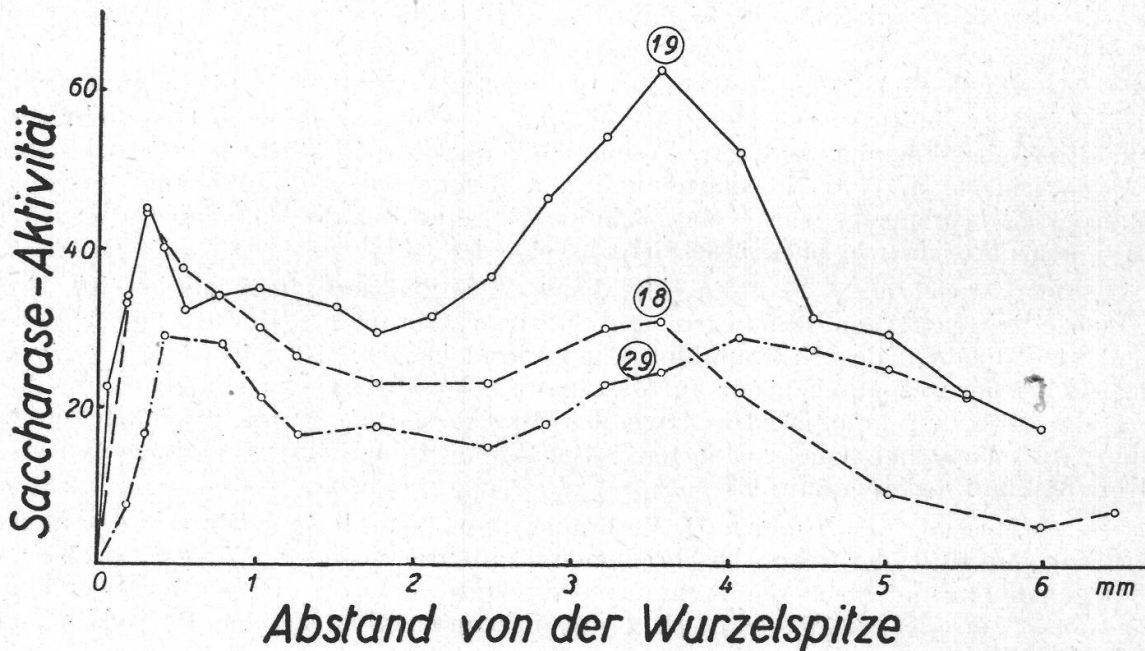


Abbildung 2

Die longitudinale Verteilung der Saccharaseaktivität (Ordinate) in drei 6 mm langen Wurzelspitzen von *Vicia Faba*. Saccharaseaktivität: mm^3 Thio-sulfat/ mm^3 Gewebe.

gen wie zur Anzucht wird der Keimling in einer feuchten Kammer gehalten, 18 Stunden lang bei 20° , und dann der Zuwachs gemessen. Unmittelbar nachher erfolgte die Verarbeitung der Wurzel zur Enzymbestimmung. Das Resultat ist in Abbildung 3 dargestellt, und es ist daraus die Übereinstimmung der Lage des zweiten Aktivitätsmaximums mit dem Maximum der Zellstreckungsgeschwindigkeit zu ersehen. Sowohl Saccharaseaktivität wie Streckungsgeschwindigkeit erreichen einen Höchstwert zwischen dem dritten und vierten Millimeter von der Wurzelspitze aus gemessen.

Diskussion.

Das Auftreten zweier Maxima der Saccharaseaktivität in der Wurzelspitze war unerwartet und kann ohne weitere Untersuchungen weder kausal noch seiner Wirkung nach sicher erklärt werden. Vermuten läßt sich folgendes: Der Vegetationspunkt besitzt, wie Untersuchungen über

den Gradienten des Sauerstoffverbrauches zeigten (Wanner, l. c., Machlis, 1944), eine erhöhte Stoffwechselintensität, es ist demnach ein verstärkter Kohlehydratabbau mit dementsprechender Saccharaseaktivität zu erwarten¹.

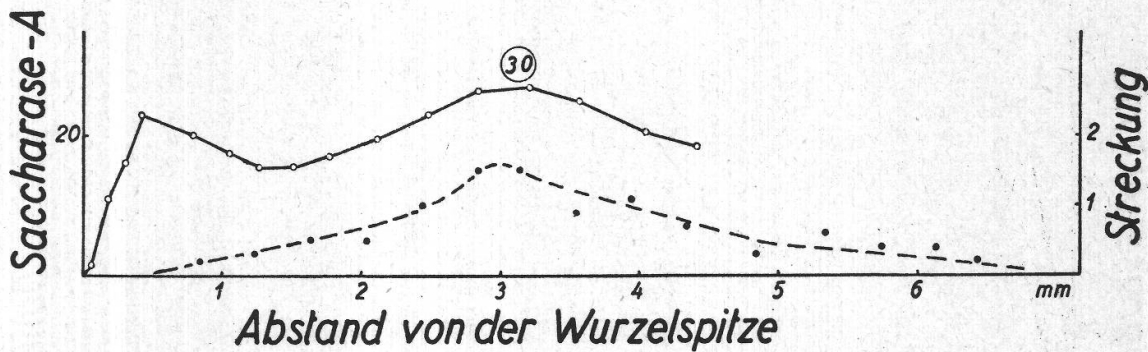
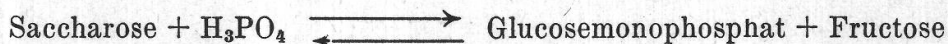


Abbildung 3.

Saccharaseaktivität und Streckungsgeschwindigkeit, gemessen an der gleichen Wurzel von *Vicia Faba*. Saccharaseaktivität: o—o—o mm³ Thiosulfat/mm³ Gewebe. Streckungsgeschwindigkeit: •—•—• mm Zuwachs/mm Wurzellänge × 24 Stunden.

Die Atmungsintensivität nimmt mit zunehmender Entfernung vom Vegetationspunkt ab, damit parallel auch die Saccharaseaktivität (Abbildung 4). Während diese aber von 2—3 Millimetern an wieder zu steigen beginnt, bleibt die Atmungsintensivität auf einem niedrigen Niveau stehen. Die Zunahme der Saccharaseaktivität kann also nicht einem verstärkten Hexosebedarf durch respiratorische Prozesse dienen. Es ist eher an einen Zusammenhang mit der in der Einleitung erwähnten Osmoregulation der sich streckenden Zellen zu denken. Die zweigipflige Kurve der Saccharaseaktivität könnte demnach theoretisch aus zwei Einzelkurven zusammengesetzt gedacht werden, von denen die erste denjenigen Anteil der Saccharaseaktivität umfaßt, der zur Erzeugung der für die Atmung notwendigen Monosaccharide dient (müßte parallel der Kurve

¹ In neuerer Zeit scheint sich über die spezielle Rolle der Stärke und der Furanoside (bes. Rohrzucker) für die Atmung eine veränderte Ansicht durchzusetzen. Die direkte Phosphorylierung von Saccharose



ist reversibel, im Gegensatz zur Phosphorylierung von Monosen, und es findet deshalb im Vergleich zur letzteren nur eine geringe Änderung an freier Energie ΔF statt. Im Gegensatz zur Phosphorylierung von Hexosen ist keine Koppelung an exergonische Reaktionen notwendig.

Sollten sich diese an Bakterien gewonnenen Erkenntnisse auch auf höhere Pflanzen übertragen lassen, so wäre eine andere Interpretation des ersten Kurven Gipfels notwendig.

der Atmungsintensität verlaufen), die zweite Kurve aber die Saccharaseaktivität angibt, die — partiell wenigstens — die Osmoregulation während des Streckungswachstums bedingt.

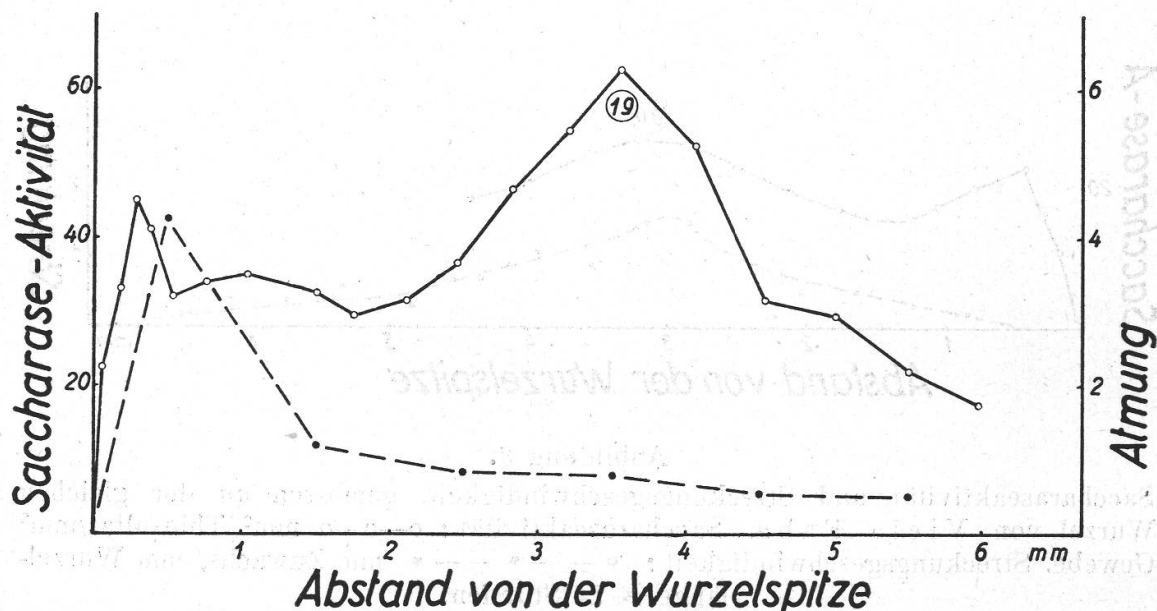


Abbildung 4.

Saccharaseaktivität und Atmungsintensität (an verschiedenen Wurzeln gemessen). Saccharaseaktivität: o—o—o mm₃ Thiosulfat/mm³ Gewebe. Atmungsintensität: • — • — • mm³ O₂/mm³ Gewebe × 1 Stunde.

Zusammenfassung.

Der zonale Gradient der Saccharaseaktivität in 5—7 cm langen Wurzelspitzen von *Vicia Faba* wurde mit der ultramikroenzymatischen Methodik von Linderström-Lang bestimmt. Es ergab sich bei Bezugnahme der Aktivität auf das Gewebevolumen eine zweigipflige Kurve. Das erste Maximum der Saccharaseaktivität befindet sich zirka 0,5 mm von der Wurzelspitze entfernt, offenbar im Vegetationspunkt. Ein zweites Maximum fällt mit der Zone schnellster Zellstreckung zusammen. Die möglichen Beziehungen der Lage dieser Maxima zu den Gradienten der Atmungsintensität und der Zellstreckungsgeschwindigkeit werden diskutiert.

Summary.

With an adaptation of the ultramicro-enzymatic methods of Linderström-Lang the gradient of the saccharase activity was determined in 120 μ sections of roots of *Vicia Faba*. When the results are related to unit volume of root tissue the activity curve showed two maxima: the first at a distance of about 0,5 mm from the ultimate root

tip, the second at a distance of 3—4 mm. The histological investigation and growth measurement showed that *the first maximum coincides with the beginning of the meristematic zone and maximal oxygen consumption, the second with the elongation zone*. The high saccharase activity in the latter zone is considered as part of the osmoregulation mechanism operating during cell-elongation.

Literatur

- Burström H.: Annalen der Landwirtschaftl. Hochschule Schweden, **10**, 1—30, 1942.
- Commoner B., Fogel S. and Müller W. H.: Am. J. Bot. **30**, 23—28, 1943.
- Frey-Wyßling A.: Arch. Jul.-Klaus-Stiftung, Festband A, Ernst, Ergänzungsband zu Bd. XX, 381—402, 1945.
- Linderström-Lang K. und Holter H. in Bamann-Myrbäck, Methoden der Fermentforschung, Bd. 1, 1132—1162, Leipzig, 1941.
- Linderström-Lang K. and Mogensen K. R.: C. R. Trav. Lab. Carlsberg, Sér. chim. **23**, 27—35, 1938.
- Machlis L.: Am. J. Bot. **31**, 281—282, 1944.
- Mason T. G. and Maskell E. J.: Ann. Bot. **42**, 189—253, 1928.
- van Overbeek J.: Am. J. Bot. **31**, 265—269, 1944.
- Reinders D. E.: Proc. Koninkl. Acad. Wetenschappen, Amsterdam, **41**, (7) 820—831, 1938.
- Ruge U.: Z. f. Bot. **31**, 1—56, 1937.
- Thimann K. V.: Currents in biochemical research, 321—533, 1946.
- Ursprung A. und Blum G.: Jb. wiss. Bot. **63**, 1—110, 1924.
- Wanner H.: Arkiv för Botanik, Uppsala, **31 A**, Nr. 9, 1—10, 1944.