



De invloed van electrolyten op de tactische bewegingen van *Chlamydomonas variabilis* Dangeard

<https://hdl.handle.net/1874/269827>

A⁴⁰ 192

Phys 3 Febr 1919

DE INVLOED VAN ELECTROLYTEN OP DE
TACTISCHE BEWEGINGEN VAN
CHLAMYDOMONAS VARIABILIS DANGEARD.



C. SPRUIT P.P.zoon.

A. qu.
192

DE INVLOED VAN ELECTROLYTEN OP DE
:: TACTISCHE BEWEGINGEN VAN ::
CHLAMYDOMONAS VARIABILIS DANGEARD.

DE INVLOED VAN ELECTROLYTEN OP DE TACTISCHE BEWEGINGEN VAN CHLAMYDOMONAS VARIABILIS DANGEARD.

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD
VAN DOCTOR IN DE PLANT- EN DIERKUNDE
AAN DE RIJSUNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG
VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS DR. G. W. KERN-
KAMP, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER
LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT
VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN DE
BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN
NATUURKUNDE TE VERDEDIGEN OP MAANDAG 3
FEBRUARI 1919, DES NAMIDDAGS TE DRIE UUR,

DOOR

CORNELIS SPRUIT P.P.zoon

:: GEBOREN TE BRIELLE. ::



::

UTRECHT — A. OOSTHOEK — 1919

::

AAN
KLAZINA J. VAN DER SLIKKE.

Het voltooien van dit proefschrift is mij een welkome gelegenheid om al degenen, die mij behulpzaam zijn geweest bij mijn studie, mijn oprechten dank te brengen.

In de eerste plaats geldt deze dank mijn Ouders; zonder hun steun zou ik mijn plannen niet hebben kunnen volvoeren.

Aan mijn verblijf te Wageningen heb ik de aangenaamste herinneringen. Speciaal het onderwijs in de plantkunde van U, Hooggeleerde Heeren GILTAY en VALCKENIER SURINGAR, heeft veroorzaakt, dat ik de botanie tot het onderwerp van mijn studie gekozen heb.

De jaren, die ik aan de Utrechtsche Universiteit heb doorgebracht, hebben mij het onderricht door de Hooggeleerden der Wis- en Natuurkundige faculteit zeer leeren waardeeren. In het bijzonder zou ik U, Hooggeleerde Heeren JORDAN, PULLE, NIERSTRASZ, WICHMANN en VAN ROMBURGH voor Uwe persoonlijke leiding mijn oprechten dank willen betuigen.

Het was mij een voorrecht, Hooggeleerde BEYERINCK, dat ik gedurende mijn verblijf te Delft ook Uwe meeningen heb kunnen vernemen.

Zeer dankbaar ben ik U, Hooggeleerde VAN ITERSON, niet alleen hebt Gij mij, terwijl ik Uw assistent was, ruimschoots in de gelegenheid gesteld mijn plannen te verwezenlijken, maar bovendien zijt Gij mij, niet het minst bij de bewerking van dit proefschrift, door Uw belangstelling, Uw aansporing en Uw veelzijdige kennis tot een bijzonderen steun geweest.

Bijzonder erkentelijk ben ik U, Hooggeachte Promotor, Hooggeleerde WENT, Gij hebt mij leeren werken, Gij hebt mij gewezen op de belangrijke rol, die de nauwkeurige proef in de plantenphysiologie speelt en hoe remmend een te lang volgehouden, vooropgezette meening werkt. Uw voortdurende belangstelling, Uw groote hulpvaardigheid en Uw vriendschap heb ik steeds op prijs gesteld.

INHOUD.

	Blz.
Inleiding	I

HOOFDSTUK I.

Beschouwingen over de Chemotaxis.

§ 1. De chemotactische verschijnselen veroorzaakt door een prikkelwerking.	1
§ 2. De bezwaren, die verbonden zijn aan het gebruik van de capillair-methode.	4
§ 3. Een colloïdchemische opvatting van den invloed van electrolyten bij de chemotactische verschijnselen.	9

HOOFDSTUK II.

Chlamydomonas variabilis Dangeard.

§ 1. De gebruikte cultuurmethode in de determinatie van de verkregen wieren.	13
§ 2. Eenige opmerkingen over den aard van de reacties, die men bij levende wezens waarneemt.	14
§ 3. De Geotaxis van <i>Chlamydomonas</i>	16
§ 4. Electrolyten kunnen de reactie op de zwaartekracht verhinderen.	18
§ 5. De Phototaxis van <i>Chlamydomonas</i>	20
§ 6. Thigmotactische verschijnselen.	21
§ 7. De Chemotaxis en de Aërotaxis van <i>Chlamydomonas</i>	24

HOOFDSTUK III.

Het systematisch onderzoek van den invloed van electrolyten op de bewegelijkheid van *Chlamydomonas variabilis* Dangeard.

	Blz.
§ 1. De beoordeeling van de bewegelijkheid van de organismen.	28
§ 2. Voorzorgsmaatregelen, opdat de waargenomen verschillen uitsluitend aan het gewijzigde electrolytgehalte kunnen worden toegeschreven.	29
§ 3. Hoe de wieren overgebracht werden in de electrolytoplossingen.	33
§ 4. De onderlinge verhouding van de verschillende ionen, die in de vloeistoffen aanwezig zijn en het gebruik der oplossingen in reeksen.	35
§ 5. Hoe de uitkomsten graphisch worden voorgesteld.	38
§ 6. Het bereiden van de oplossingen.	40

HOOFDSTUK IV.

Beschouwingen en conclusies, waartoe de proeven aanleiding geven.

§ 1. Het gedrag van <i>Chlamydomonas</i> in oplossingen met gering, constant zoutgehalte en een geleidelijk toenemende H-ionenconcentratie.	43
§ 2. Maatregelen, om betrouwbare uitkomsten te verkrijgen.	45
§ 3. Een overeenkomst tusschen den verschillende invloed van de combinatie zuur en zout en van base en zout op de bewegelijkheid van <i>Chlamydomonas</i> en het weder in oplossing gaan van globulinen in zure en alcalische zoutoplossingen. .	50

	Blz.
§ 4. Beschrijving van het middelste gedeelte van de krommen.	55
§ 5. De invloed van de zouten op de beweeglijkheid van <i>Chlamydomonas</i> kan alleen vergeleken worden met den invloed ervan op suspensoiden.	60
§ 6. Aanwijzingen voor een zwak alcalische reactie in het isoëlectrische punt van de plasmacolloïden.	62
§ 7. Electriche verschijnselen aan de oppervlakte van het glas veroorzaken complicaties bij de reacties van <i>Chlamydomonas</i>	64
Kort overzicht van den inhoud.	71
Litteratuur-overzicht.	78

VOORBERICHT.

Naar het mij toeschijnt, blijkt o.a. uit de litteratuur over de tactische bewegingen der eencellige organismen, hoe men in de physiologie door een eigen terminologie en een speciale methode volstrekt geen voeling heeft weten te verkrijgen met de scheikunde en de natuurkunde.

Dit onderzoek moet dan ook beschouwd worden als een poging, om hierin verandering te brengen.

In de eerste plaats was het noodzakelijk een geschikte methode te vinden. Ik geloof, dat de aangegeven werkwijze inderdaad te gebruiken is.

Verder kan uit dit onderzoek blijken, hoe noodig het is, de tactische verschijnselen zeer uitvoerig na te gaan.

Aan de beschouwingen, die voortgekomen zijn uit de vergelijking van de door mij onderzochte verschijnselen bij *Chlamydomonas* en die, welke zich afspelen bij colloïdale oplossingen, mag niet te veel beteekenis worden toegekend.

Ten eerste zijn de verzamelde gegevens beperkt, al bedraagt het aantal verrichte proeven eenige duizende.

Ten tweede is het zeer lastig een goed overzicht te verkrijgen van de colloïdchemie. Behalve, dat vele verschijnselen eruit nog niet systematisch onderzocht zijn, is een groote moeilijkheid het meeningsverschil tusschen de colloïdchemici over zeer belangrijke vraagstukken. Het is voldoende eens een en ander te lezen over de eiwitchemie om van het laatste door- drongen te worden.

II

Voorzoover het de conclusies betreft, geloof ik echter niet te ver te zijn gegaan.

Men zal er zich misschien over verwonderen, dat in deze dissertatie in het geheel niet gesproken wordt over de onderzoekingen van R. S. LILLIE (1904 enz.). De oorzaak daarvan is gelegen in het feit, dat het mij niet mogelijk was de gegevens van LILLIE direct met de mijne te vergelijken.

HOOFDSTUK I.

BESCHOUWINGEN OVER DE CHEMOTAXIS.

§ 1. *De chemotactische verschijnselen veroorzaakt door een prikkelwerking.*

Aanleiding tot dit onderzoek is geweest een literatuurstudie en eenige voorloopige experimenten over chemotaxis.

Gewoonlijk is men van meening, dat chemotactische verschijnselen optreden, wanneer een stof, die aantlokkend of afstootend werkt, diffusiezônen vormt.

Al zwemmende komt het organisme voortdurend in een ander milieu, doordat het chemotacticum niet overal in dezelfde concentratie aanwezig is. Op deze concentratieverandering reageert het en wijzigt zijn bewegingsrichting.

We moeten aannemen, dat het chemotacticum bestanddeelen van de cel aantast, hetzij dan plaatselijk of in haar geheel. Misschien door deze aantasting, misschien door veranderingen, die daar nauw mee samenhangen, wordt een prikkel uitgeoefend, waarvan het gevolg is, dat de beweging veranderd wordt.

Het eigenlijke prikkelproces wordt geacht te bestaan in de opname der prikkel (de prikkelperceptie), de prikkelgeleiding en daarna onbekende gebeurtenissen, die aanleiding moeten geven tot de reactie. De reactie is het criterium, waarnaar we de chemotaxis beoordeelen. Behalve op 't al of niet optreden der reactie, kunnen we op de intensiteit ervan letten.

Die concentratie van het chemotacticum, die juist

nog in staat is tegenover zuiver water een zoodanige diffusiezône te vormen, dat het object er duidelijk op reageert, noemt men de drempelwaarde voor het chemotacticum.

Vergelijkt men met de bepaling van de drempelwaarde voor een chemotacticum de wijze, waarop men bij de phototropische experimenten een prikkeldrempel vaststelt, dan bemerkt men pas, hoe argeloos men te werk gaat bij de chemotactische proeven. Het is reeds lang bekend, dat voor het verkrijgen van een nog juist zichtbare phototropische kromming de tijd, gedurende welke de prikkel moet inwerken, vaak veel korter is, dan de tijd, die noodig is voor het tot stand komen van de verdere veranderingen, die aanleiding geven tot de kromming. Men zegt, dat de presentatietijd korter is dan de reactietijd, dat de kromming door nawerking ontstaat. De complicaties, die optreden wanneer men blijft prikkelen tot de reactie optreedt, zijn zeer lastig te beoordeelen. Men krijgt te doen met zoogenaamde stemmingsveranderingen. De proefplanten worden gedurende de prikkeling voortdurend ongevoeliger, ja, het is zelfs mogelijk, dat de reactie daardoor van teeken verandert. Al wordt het in den laatsten tijd waarschijnlijk, dat deze complicaties niet zoo onbegrijpelijk zijn, als ze indertijd wel leken (ARISZ, 1914), het is noodzakelijk om er rekenschap mee te houden. Als we nu veronderstellen, dat we bij de chemotactische verschijnselen met processen te doen hebben, die te vergelijken zijn met die uit de phototropie, dan is het duidelijk, dat we in onze proeven de verschijnselen niet op zijn eenvoudigst waarnemen. Op de mogelijke overeenkomst tusschen chemotactische verschijnselen en phototropische wees PFEFFER reeds: „Überhaupt liegen hier analoge Beziehungen vor, wie in anderen Reizwirkungen, z. B. im Heliotropismus” (W. PFEFFER 1888, pag. 624).

Over de perceptie tracht men nader op de hoogte

te komen door met combinaties van chemotactica te werken. Men meent daardoor te kunnen uitmaken of de prikkels, die de samenstellende stoffen van het mengsel uitoefenen ieder afzonderlijk, dan wel als één prikkel worden gepercipieerd. Is het eerste het geval, dan spreekt men van verschillende gevoeligheden, een gevoeligheid voor stof a en een gevoeligheid voor stof b, die niet door elkaar beïnvloed worden. Men heeft zich ervan rekenschap gegeven, dat men dit alleen dan kan concluderen, wanneer men eerst van beide stoffen a en b de drempelwaarde bepaalt, daarna combineert men ze zóó, dat van a een te kleine concentratie aanwezig is om alleen een reactie te veroorzaken en van b eveneens. (PFEFFER, 1888, KNIEP, 1905.) Het is dus de vraag, of we de twee verschillende prikkels kunnen summeeren. In de phototropie en de geotropie wordt op dezelfde wijze gewerkt als men wil nagaan of daar verschillende prikkels gesummeerd kunnen worden. Het is daar zelfs gelukt een zwaartekracht-prikkel te combineeren met een lichtprikkel door eenvoudige summatie. Men moet dan echter nog iets anders in acht nemen behalve de drempelwaarden. (C. E. B. BREMEKAMP, 1915.) Het is namelijk gebleken, dat de tijd, die verloopt tusschen het begin van de prikkeling en de reactie, ook al werkt men met drempelwaarden, bij een geotropisch proces korter is dan bij een phototropisch proces. Men zegt, dat de reactietijden niet gelijk zijn. Dient men de beide prikkels in zoodanige volgorde toe, dat voor beide de reactie tegelijkertijd zou moeten intreden, dan heeft eenvoudige summatie plaats. Toen men nog niet op de reactietijden gelet had, nam men aan, op grond van proeven van mevrouw C. J. RUTTEN—PEKELHARING (1910), dat een lichtprikkel en een zwaartekracht-prikkel niet eenvoudig gesummeerd konden worden.

De kans is nu niet uitgesloten, dat twee chemo-

tactische prikkels niet even snel hun invloed doen gelden. In dit geval staan we voor overeenkomstige moeilijkheden voor de summatie ervan als bij de summatie van licht- en zwaartekrachtprikkels. Al ligt het voor de hand te veronderstellen, dat de reactietijden in onze chemotactische proeven zeer kort zijn, principieel maakt het geen verschil met het bovenstaande geval, als die tijden niet gelijk zijn.

Het is natuurlijk van te voren niet mogelijk te zeggen of de aangegeven bezwaren bestaan.

§ 2. De bezwaren, die verbonden zijn aan het gebruik van de capillair-methode.

De methode, die tot nu tot nu gevolgd is voor de experimenten over chemotaxis, bestaat hierin, dat men een capillair buisje met één open einde en gevuld met het chemotacticum, steekt in een preparaat, dat de organismen bevat, wier gedrag men wil onderzoeken. Men wacht nu bijvoorbeeld tien minuten en kijkt daarna of de organismen reageeren, door na te gaan, waar zij zich bevinden. Het groote voordeel van deze methode is, dat PFEFFER ze ontleend heeft aan de natuur, we kunnen dus wel aannemen, dat ze in staat moet zijn, althans voor de varenspermatozoïden, aan te geven, welke chemotactica biologisch een rol zouden kunnen spelen. Bovendien is de methode zeer demonstratief.

Op den duur is men te veel gaan vergen van de capillair-methode. Hoe meer men werkte over chemotaxis, hoe meer men bemerkte, dat men met een zeer ingewikkeld verschijnsel te doen had. De methode bleef intusschen dezelfde. Toch is het gemakkelijk aan te toonen, dat dit jammer is geweest. Intusschen moeten we bekennen, dat sommige auteurs er wonderen mee verricht hebben (PFEFFER, KNIEP, SHIBATA). KNIEP

heeft zeer belangwekkende vondsten gedaan met deze methode. KUSANO wijzigde ze zoodanig, dat hij in staat was op zeer veel fijner wijze de drempelwaarde te bepalen.

Juist uit de publicatie van KUSANO (1909) ziet men het best, waar de moeilijkheden zitten. Reeds voor kwalitatieve doeleinden is de methode zeer gevaarlijk. STANGE (1890) had met hetzelfde organisme gewerkt als KUSANO namelijk met de zwermsporen van *Aethalium septicum*. STANGE geeft op, dat deze positief chemotactisch zijn ten opzichte van de volgende vrije zuren: melkzuur, boterzuur, valeriaanzuur, propionzuur, appelzuur en wijnsteenzuur. KUSANO daarentegen vindt de zwermsporen positief chemotactisch voor bijna alle zuren. Hij ziet de verklaring van deze verschillende uitkomsten in het feit, dat STANGE veel nauwer capillairen gebruikte dan hij zelf. Om dit nader aan te toonen geeft hij een lijstje (blz. 38). Capillaire buisjes met een diameter van 10 tot 240 μ werden alle gevuld met $\frac{1}{20}$ mol oplossing van monokaliumphosfaat, en gebracht in preparaten van *Aethalium*-zwermsporen. Na 5 of 10 minuten was bij de buisjes van 100 μ of nog geringer diameter niets of zeer weinig te zien van een positieve reactie, terwijl bij de wijdere buisjes een duidelijke reactie werd waargenomen. Als we nu nog weten, dat STANGE werkte met capillaire buisjes, die een diameter hadden van 13—15 μ , dan kan men zich gemakkelijk een voorstelling maken van de verschillende resultaten van STANGE en KUSANO. Als we verder bedenken, dat, hoe grooter de diameter wordt, hoe meer de diffusie een rol gaat spelen en dat daardoor gedurende de proef de concentratie van het chemotacticum in de capillair werkelijk moet veranderen, dan komen we vanzelf tot het inzicht, dat ook het bepalen van een drempelwaarde met de capillair-methode groote bezwaren ondervindt.

Het is weer in het onderzoek van KUSANO, dat we daarvan een duidelijke voorstelling krijgen (blz. 69). Hij gaat aldus te werk. Door de zwermsporen in zuuroplossingen van verschillende concentraties te brengen, bepaalt hij de minimumconcentratie voor elk zuur, waarbij alle zwermsporen onmiddellijk tot rust komen en zich contraheeren als gevolg van de schadelijke werking van het zuur. Op blz. 60 vinden we daarvan een tabel. Vergelijkt hij deze concentraties met de sterkten der zuuroplossingen, die hij in de capillaire buisjes moet doen om nog juist een zichtbare ophooping aan den mond te verkrijgen, dan blijkt hem, dat deze „drempelwaarden” veel schadelijker zijn dan de oplossingen van blz. 60.

Hij wijzigt nu de methode en doet het object in 't capillaire buisje, dat met gedestilleerd water gevuld is en brengt dit onder het dekglas in een druppel, die uit de zure oplossing bestaat. Wanneer hij constateert, dat een zwermspoor, die de capillair wil verlaten nog juist aan den mond de „motorreflex-beweging” maakt (KUSANO toont aan dat zijn zwermsporen uitsluitend phobochemotactisch reageeren, evenals *Paramaecium*), moet de zuuroplossing onder het dekglas een concentratie bezitten, die overeenkomt met de drempelwaarde voor dat zuur. Zoo vindt hij de drempelwaarde voor zwavelzuur $\frac{1}{20000}$ mol, voor zoutzuur $\frac{1}{10000}$ mol, voor wijnsteenzuur $\frac{1}{8000}$ — $\frac{1}{10000}$ mol, voor appelzuur $\frac{1}{4000}$ — $\frac{1}{8000}$ mol en voor azijnzuur $\frac{1}{1000}$ mol. Eigenaardig is nog, hoe hij zelf zich over zijn gewijzigde methode uitlaat of liever over de gevonden drempelwaarden: „We can not yet by all means determine this critical concentration (de drempelwaarde) but we will satisfy ourselves in accepting the following method, which may give, at least in my case, more accurate result for our purpose than by the usual capillary method”.

Ik zelf heb óók getracht een inzicht te krijgen in de

grootte van de drempelwaarde. Mijn proef-organisme was *Chlamydomonas variabilis* Dangeard. Het reageert positief op alle zuren, die ik onderzocht heb (sterke minerale zuren, fosforzuur, koolzuur, azijnzuur, appelzuur). In de capillairen deed ik bijvoorbeeld 0,1 normaal zuur. Voor den mond van 't capillaire buisje kreeg ik een ringvormige ophooping. In een dergelijk preparaat, maar zonder de wieren, werd het water voorzien van een bepaalde hoeveelheid van een methylroodoplossing. Het werd hierdoor tamelijk duidelijk orangegeel gekleurd. Onder invloed van het zuur, dat uit 't capillaire buisje diffundeerde ontstond voor den mond ervan een roode ring. De plaats van dezen ring viel ongeveer samen met den ring, die in het andere preparaat door de organismen gevormd werd. De optimale zuurconcentratie voor *Chlamydomonas* moet dus liggen in de buurt van het omslagpunt van methylrood. De omslag heeft plaats bij een H-ionenconcentratie van omstreeks 10^{-5} . Deze oplossing bevat dus ongeveer 0,00001 gram-ion aan waterstofionen. We zien uit dit alles wel met welke minimale concentraties we hier te doen hebben.

Nog op andere wijze kan ik duidelijk maken, dat voor *Chlamydomonas* de optimum-zuurconcentratie zeer klein moet zijn. Wanneer ik het wier bracht in een oplossing, waarvan langs elektrometrischen weg de H-ionenconcentratie bepaald was, dan bleek mij, dat bij een waterstofionen-concentratie van 10^{-5} , de wieren zich ongeveer niet meer bewogen, dat ze niet meer op het licht reageerden en ook niet meer op de zwaartekracht. Bij de proeven met een capillaire buis, die met zuur gevuld is en waarbij men een ringvormige ophooping krijgt, hebben de wieren aan de binnenzijde van den ring wel de neiging om tot rust te komen. Het grootste gedeelte in het midden en aan den buitenrand van den ring vertoont deze neiging niet.

De toestand, die ik vind bij een H-ionenconcentratie van 10^{-5} , ligt dus waarschijnlijk nog boven het optimum. Hoe deze proeven verricht werden, zal verderop blijken. We komen tot de conclusie, dat *Chlamydomonas* gevoelig moet zijn voor zuurconcentraties kleiner dan $\frac{1}{100000}$ gram-ion aan H-ionen per L.

Uit het bovenstaande kunnen we de gevolgtrekking maken, dat niet van de kapillair-methode verwacht kan worden:

1°. dat ze ons eenigszins bruikbare bepalingen kan leveren van de drempelwaarden.

2°. dat bij 't kwalitatief onderzoek naar de chemotactische werkzaamheid van oplossingen een negatieve uitkomst met de methode werkelijk ongevoeligheid voor de opgeloste stof aangeeft.

Gebruikt men de capillair-methode voor biologische onderzoekingen, dan geloof ik, dat ze daarvoor zeer geschikt is. Zoo ligt het natuurlijk voor de hand, dat een zoo zwakke gevoeligheid voor de een of andere stof, dat ze met de capillair-methode niet aan te toonen is, in biologische questies (zoo bijv. bij de bevruchting) van geen belang is. Om echter theoretische questies op te lossen, lijkt ze mij slechts onder zeer veel voorbehoud geschikt. Ik wijs hier nogmaals op het verschil tusschen de zuurgevoeligheid bij STANGE en bij KUSANO. *We kunnen natuurlijk niet met zekerheid beweren, dat KUSANO het werkelijk bij het rechte eind heeft met zijn verklaring van het verschil, zeer waarschijnlijk is het intusschen wel.* Maar het heeft zijn nut eens verder te zien, wat voor gevolg deze onjuistheid bij STANGE gehad heeft. STANGE kwam natuurlijk niet tot de conclusie, dat het de H-ionen waren, die aantlokkend werkten, maar dat het juist de anionen der zuren moesten zijn. KUSANO bewijst het tegendeel.

We komen nu vanzelf op de questie, welke ionen de grootste rol spelen in de verschillende chemotactica.

Op dit punt heerscht tamelijk veel oneenigheid. Ik zal geen poging doen, daarvan een overzicht te geven. Het komt mij voor, dat de verschillende auteurs ten onrechte meenen, dat de invloed van het anion of het kation zoozeer overweegt, dat men gerechtigd is om den invloed van het andere ion over het hoofd te zien. Bladert men in de verschillende verhandelingen, dan krijgt men den indruk, dat elk ion haar aandeel heeft, al is dat niet altijd duidelijk voor een beperkt aantal gevallen.

§ 3. *Een colloïdchemische opvatting van den invloed van electrolyten bij de chemotactische verschijnselen.*

De bezwaren, die we tot nu toe besproken hebben, zijn zoodanig, dat de mogelijkheid niet uitgesloten is, dat we juist door de gebrekkige methode een verkeerde voorstelling hebben van den invloed der chemotactica. De oudere onderzoekingen gaven een verkeerden indruk van de werkzame concentraties. Verder lijkt het aantal werkzame verbindingen voor elk object zeer begrensd. Een en ander heeft tot gevolg gehad, dat men nog nooit den invloed der chemotactica vergeleken heeft met de werking van electrolyten op colloïden. Het is nu mijn bedoeling aan te toonen, dat we bij de bestudeering der chemotaxis niet mogen nalaten kennis te nemen van de colloïdchemische verschijnselen.

Het allereerste argument voor een colloïdchemische opvatting bestaat hierin, dat men algemeen aanneemt, dat het protoplasma colloïdaal is. Het ligt dan voor de hand te veronderstellen, dat de invloed der chemotactica een colloïdchemische is. Verder kunnen de werkzame concentraties zeer klein zijn. Wanneer we zuurconcentraties van 0,0001 normaal en nog geringer chemotactisch werkzaam vinden op talrijke organismen, dan kunnen we ons daar het beste een voorstelling

van maken, wanneer we aannemen, dat we te doen hebben met verschijnselen uit de colloïdchemie. Een verder argument zou te vinden zijn in den aard der stoffen. Het is bekend, dat bepaalde ionen vaak van grooten invloed zijn op de colloïden. Zoo het waterstof-ion en het hydroxylion. We zagen reeds, dat het H-ion ook in de chemotaxis een groote rol speelt, wanneer we ten minste mogen aannemen, dat bij de werkzaamheid der zuren het waterstofion den grootsten invloed uitoefent. Voor het hydroxylion kunnen we ook een voorbeeld vinden. SHIBATA geeft aan, dat de spermatozoïden van *Isoëtes* door het hydroxylion worden aangelokt. Behalve deze beide ionen zijn er nog talrijke andere, die soms zeer werkzaam zijn. Ten opzichte daarvan is het echter moeilijker overeenkomsten te vinden in de colloïdchemie en bij de chemotaxis. Dit wordt veroorzaakt door het feit, dat we niet goed kunnen uitmaken met wat voor soort van colloïden we het plasma zouden moeten vergelijken. In de colloïdchemie onderscheidt men twee groote groepen van colloïden. De suspensioïden zijn gevoelig voor zeer kleine hoeveelheden neutraal zout. De waardigheid der ionen speelt een groote rol; meerwaardige ionen hebben een zeer sterke uitwerking. De suspensioïden zijn of positief of negatief geladen. Vooral ionen met tegengestelde lading zijn van invloed op de stabiliteit; van den invloed van het andere ion is niet veel waar te nemen. Het zijn meestal anorganische verbindingen, die in colloïdalen toestand tot de suspensioïden behooren.

De emulsoïden hebben totaal andere eigenschappen. Slechts zeer groote zoutconcentraties zijn van invloed op de stabiliteit. De uitvloeking van deze colloïden wordt uitzouting genoemd. Anionen en kationen zijn beide werkzaam. De waardigheid der ionen speelt geen groote rol. Anionen en kationen kunnen, wat hun invloed aangaat in reeksen geplaatst worden. (Voor de

anionen de reeks van HOFMEISTER.) De lading der emulsoïden verandert van teeken al naar gelang het dispersiemiddel zuur of alcalisch is. Tot de emulsoïden behooren allerlei organische verbindingen bijvoorbeeld eiwitten.

Wanneer we ons nu afvragen tot welke groep de plasmacolloïden gerekend zouden moeten worden, dan is daarop niet goed een antwoord te geven. Uit het weinige, wat bekend geworden is, lijkt het wel, alsof we meestal te doen hebben met emulsoïden, die echter eenige eigenschappen van de suspensioïden bezitten, dus met overgangen tusschen emulsoïden en suspensioïden. De lading der plasmacolloïden is afhankelijk van de reactie van de omgevende vloeistof. Kleine zoutconcentraties zijn van invloed. Ook de waardigheid der ionen speelt een rol.

Het is op het oogenblik dan ook niet mogelijk te zeggen, of de reactie op fosfaten of op malaten toe te schrijven is aan de bijzondere plaats, die deze verbindingen innemen in de reeks van HOFMEISTER, dan wel, of we meer moeten letten op de meerwaardigheid van het anion.

Nog een ander argument kan voor de colloïdchemische opvatting gevonden worden. De publicatië van KNIEP (1905) geeft door talrijke voorbeelden aan, hoe de chemotactische invloed van een zout door de aanwezigheid van andere zouten kan worden gewijzigd. We vinden daarin, dat KCl en NH_4Cl elkanders werking kunnen opheffen. Eveneens K_2SO_4 en $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. De sulfaten zijn echter niet in staat de werking der chloriden tegen te gaan. Eigenaardig is de werking van mengsels van KCl en CaCl_2 . KCl beïnvloedt de werking van CaCl_2 slechts weinig, CaCl_2 heeft daarentegen een geduchten invloed op KCl . Op K_2SO_4 heeft CaCl_2 nu echter weer geen invloed. Het is hier duidelijk, dat de waardigheid en het teeken der ionen hun onder-

lingen invloed bepaalt. In de colloïdchemie kan men een dergelijke verhouding terugvinden. Ziet men geen verband tusschen de colloïdchemische verschijnselen en de chemotaxis, dan kan het niet anders of men moet zich met KNIEP voorstellen, dat het organisme voor verschillende chemotactica verschillende gevoeligheden bezit, tenzij men aanneemt, dat verschillende chemotactica een verschillenden tijd van inwerking behoeven.

Ik geloof, dat hiermede duidelijk genoeg het goede recht van een colloïdchemische behandeling van de chemotactische verschijnselen gebleken is.

Wanneer inderdaad colloïdchemische processen zoo'n groote rol spelen bij de chemotaxis, dan ligt het voor de hand te veronderstellen, dat er geen specifieke chemotactica zijn. Waarschijnlijk doen alle electrolyten hun invloed gelden, al zullen de als chemotactica aangeduide wel bijzonder sterk werken. De gegevens van KNIEP zijn met deze opvatting wel in overeenstemming. Zoo ook wat hij bij *Spirillum rubrum* waarnam. *Spirillum rubrum* reageerde niet op nitraat; intusschen waren nitraten wel in staat de werking van chloriden tegen te gaan.

Uitgaande van de meening, dat er geen specifieke chemotactica zijn, beginnen we met na te gaan, hoe het gedrag der proef-organismen is tegenover electrolytoplossingen, die alzijdig inwerken. Zijn we daar eenmaal mee op de hoogte, dan moeten we verder trachten uit te maken, of het gedrag tegenover de als chemotactica aangegeven electrolyten bijzonderheden vertoont.

HOOFDSTUK II.

CHLAMYDOMONAS VARIABILIS DANGEARD.

§ 1. De gebruikte cultuurmethode en de determinatie van de verkregen wieren.

Voor mijn proeven heb ik gebruik gemaakt van een eencellig beweeglijk groen wier, *Chlamydomonas variabilis* Dangeard. Voor vertegenwoordigers van het geslacht *Chlamydomonas* en van eenige zeer verwante geslachten bestaat een geschikte cultuurmethode. Deze is aangegeven door JACOBSEN (1910). In een bekerglas brengt men wat fibrine in water. Geënt wordt met een flinke hoeveelheid goeden tuingrond. Nadat eerst rottingsbacteriën de fibrine hebben aangetast, begint langzamerhand het wier zich te ontwikkelen. Bij gunstig verloop wordt op den duur de geheele vloeistof flink groen. Heeft men eenmaal een goede cultuur verkregen, dan kan men door overenten in leidingwater met fibrine en gesteriliseerden grond spoedig een nieuwe cultuur verkrijgen. Nadat ik eerst gedurende eenigen tijd fibrine gebruikt had, werd later op aanwijzing van BUDER (1914) gedroogd kippeneiwit toegevoegd. Daardoor wordt de tijd, die noodig is om een cultuur tot ontwikkeling te brengen, belangrijk verkort. Soms worden zeer dichte culturen verkregen, in andere gevallen echter is het veel moeilijker goed materiaal ter beschikking te hebben. Vooral was dat het geval in den herfst en het begin van den winter.

Van alle culturen werd een gedeelte afgezonderd en met formaline gefixeerd. Bij de determinatie van het

materiaal bleek, dat ik bijna uitsluitend gewerkt had met een en dezelfde soort. Een determinatietabel van WILLE (1903) gaf aan, dat ik met *Chlamydomonas variabilis* Dangeard te doen had. De beschrijving, die DANGEARD (1898, blz. 135) er van geeft, en ook diens afbeeldingen bevestigden dit nader. De beschrijving en de afbeeldingen, die JACOBSEN van *Chlamydomonas variabilis* geeft waren er minder mee in overeenstemming. Het is daarom misschien wenschelijk een korte beschrijving van het wier te geven.

De zwermsporen zijn tot $20\ \mu$ groot, de cel is meestal cilindrisch-eivormig. Er zijn twee trilharen, die ontspringen aan de basis van een duidelijke wrat. De oogvlek is schijfvormig en ligt ongeveer in het midden. De chloroplast vult meestal de geheele cel. Vaak zijn vele groote zetmeelkorrels aanwezig. Een pyrenoid is niet waar te nemen. Deelingsstadia werden vaak aangetroffen. Meer dan vier dochterindividuen heb ik niet gevonden. De eerste deeling geschiedt loodrecht op de lengte-as. Ook copulatiestadia trof ik af en toe aan.

§ 2. Eenige opmerkingen over den aard van de reacties, die men bij levende wezens waarneemt.

Achtereenvolgens zullen nu ter sprake komen de verschillende reacties, die *Chlamydomonas variabilis* uit kan voeren. Voornamelijk zal daarbij gelet worden op die reacties, welke voor mijn verdere proeven van veel belang zijn geweest. Zoo zal gesproken worden over de phototaxis, de geotaxis, de thigmotaxis, de chemotaxis en de aërotaxis.

Alvorens hier echter toe over te gaan is het noodzakelijk, dat we ons rekenschap geven van den aard van deze reacties. We zouden daarbij te doen kunnen hebben met physische, chemische en met physiologische

processen. Onder de physiologische verschijnselen nemen de prikkelwerkingen nog een bijzondere plaats in.

Van veel beteekenis zijn deze onderscheidingen echter niet. In de eerste plaats dan is het niet mogelijk een grens te trekken tusschen zuiver physische of chemische processen en physiologische verschijnselen. Physiologische processen zijn hoogstwaarschijnlijk niets anders dan natuurkundige of scheikundige verschijnselen. Dit blijkt genoeg uit de omschrijving van het begrip physiologisch proces. Het wordt gebruikt om aan te geven, dat we het proces nog niet hebben kunnen terugbrengen tot een physisch of chemisch proces of ook wel, dat het geen eenvoudig physisch of chemisch verschijnsel is. Wanneer we verder onder de meer ingewikkelde, dus physiologische reacties der levende organismen nog een onderscheid maken tusschen prikkelwerkingen en anders verloopende processen, dan is ook daar het onderscheid niet zeer scherp.

Er is eigenlijk geen definitie te geven van een prikkelwerking. Het lijkt mij, dat dit in hoofdzaak veroorzaakt wordt, doordat vele zoogenaamde prikkelprocessen samengestelde reacties zijn. Bij een chemotactische reactie heeft men met een verandering van een bestaande beweging te doen. Voor de geotropie en de phototropie heeft men te maken met groeireacties, die gewijzigd worden onder invloed van éénzijdige licht- of zwaartekranchprikkelers. Wanneer men deze reacties niet beschouwt als een wijziging van reeds voorhanden reacties, dan krijgt men er een zeer ingewikkelde voorstelling van.

Al heeft men geen definitie voor een prikkelwerking, men acht zich toch overtuigd van het voorhanden zijn ervan, wanneer er een verband wordt opgemerkt tusschen prikkel en reactie, dat herinnert aan de betrekking, die de wet van WEBER aangeeft voor prikkelprocessen uit de physiologie der dieren en de experimenteele

psychologie. Ook het omkeeren der reactie bij toename van de prikkelintensiteit of de prikkelhoeveelheid zou kenmerkend zijn voor prikkelwerkingen.

Ik acht het beter aan beide eigenaardigheden, die voor kunnen komen bij prikkelprocessen niet te groote waarde te hechten. De wet van WEBER gaat voor verschijnselen uit de plantenfysiologie voorzoover het onderzocht is, slechts in omstandigheden op, die niet te veel uiteenloopen. Daar komt nog bij, dat het verband, dat deze wet aangeeft, volstrekt niet behoeft te wijzen op een fysiologisch of een psychologisch proces, in ieder geval niet, wanneer het verband slechts ten naastenbij bestaat.

Ook de beteekenis van het omkeeren van de reactie is ons totaal onbekend.

Uit een en ander blijkt genoeg, dat de term prikkelwerking slechts zeer vaag is.

De termen fysisch proces, chemisch proces, fysiologisch proces en prikkelproces zijn ongeschikt om de verschillende verschijnselen uit de fysiologie uit elkander te houden.

§ 3. *De Geotaxis van Chlamydomonas.*

Over geotaxis bestaat niet veel litteratuur. De negatieve geotaxis van *Paramaecium* is overbekend, dank zij het boek van JENNINGS. Het is voor een ieder gemakkelijk waar te nemen, dat *Paramaecium* in een buis met zuiver water naar boven zwemt, vaak decimeters ver zonder zich te laten storen of ook maar een oogenblikje te verpoozen. Over de geotaxis van *Chlamydomonas pulvisculus* kan men wat vinden bij F. SCHWARTZ (1884, blz. 51). Wat daar verteld wordt, is niet erg overtuigend. De meeste proeven worden uitgevoerd in nat zand. In water zijn de verschijnselen niet zeer duidelijk. Vermengt men nat zand

met water, waarin *Chlamydomonas* zich bevindt en laat men dit een tijdlang (bijv. zes uur) in het donker staan, dan ziet men, dat vele wieren boven het zand gekomen zijn. Uit het feit, dat onder invloed van geringe en middelmatige centrifugaalkrachten *Chlamydomonas pulvisculus* zich gedraagt, als ten opzichte van de zwaartekracht en dat wanneer de versnelling van de centrifugaalkracht groter dan $8\frac{1}{2} \times g$ wordt, het object onder invloed van die kracht hare beweging omkeert, besluit SCHWARTZ, dat we te doen hebben met negatieve geotaxis.

Verder vindt men iets over *Chlamydomonas pulvisculus* bij MASSART (1891, blz. 148). Ook hij besluit, dat *Chlamydomonas pulvisculus* in het donker negatief geotactisch is. Er is altijd een gedeelte van de organismen, dat zich niet naar boven begeeft in de vertikaal geplaatste buis. Deze individuen zijn zeer weinig beweeglijk. Bij MASSART duurt de proef meestal een uur. Ten slotte vinden we nog iets over de geotaxis van *Chlamydomonas pulvisculus* bij P. JENSEN (1893, blz. 428). Ook hij vindt, dat het object negatief geotactisch is, dat men de proeven moet doen in een buisje, dat niet langer is dan een viertal centimeters en dat er vaak individuen gevonden worden, die blijkbaar passief naar den bodem zinken.

We zien uit dit alles wel, dat de individuen van *Chlamydomonas pulvisculus* in den toestand, waarin de aangehaalde onderzoekers ze gebruikten, niet zoo bijzonder mooi reageerden.

Bij *Chlamydomonas variabilis* Dangeard heb ik een zeer duidelijke beweging naar den bodem van het vat waargenomen. Binnen tien minuten hadden alle wieren den bodem bereikt. In het donker had het verschijnsel meestal op dezelfde wijze plaats. In sommige gevallen lukte de proef in het donker niet. Of dit een gevolg was van de plotselinge verandering licht-donker, kan ik niet beslissen. Het is niet zoo gemakkelijk waar te

nemen, dat we hier met positieve geotaxis te doen hebben, omdat het wier tegelijkertijd negatief phototactisch reageert. In helder licht krijgt men door beide bewegingen, wanneer men de wieren, overgebracht in gedestilleerd water in een dunne glazen buis doet, die verticaal wordt opgesteld, aan de niet-lichtzijde een dichte groene streep, die betrekkelijk snel naar den bodem zakt (zie fig. 1 B en C). Met het microscoop kan men bij kleine vergrooting de beweging der wieren volgen. Het lijkt dan, dat *Chlamydomonas* zich volkomen passief naar beneden beweegt d.w.z. men ziet de wieren naar voren, naar achteren, naar beneden en naar boven zwemmen. Werkt men in zeer zwak wit licht of in rood licht, dan bemerkt men echter, dat de algemeene bewegingsrichting naar beneden is. Ik spreek dan ook van positieve geotaxis, maar wil daarmee niets anders zeggen, dan dat *Chlamydomonas variabilis* zich onder invloed van de zwaartekracht, actief naar beneden beweegt. Dat we bij sterk licht den indruk krijgen van passieve beweging naar den bodem, vindt zijn oorzaak in de negatieve phototaxis. Daardoor blijven de objecten steeds in de buurt van den glazen wand. Onder invloed van de phototaxis, de geotaxis en van de belemmering door den wand, wordt de bewegingsrichting nog al onregelmatig.

§ 4. *Electrolyten kunnen de reactie op de zwaartekracht verhinderen.*

Ik heb mij er over verwonderd, dat ik nergens iets gevonden heb over deze positieve geotaxis van *Chlamydomonas* en denk, dat dit gelegen is in de omstandigheid, dat deze eigenschap alleen maar voor den dag komt, wanneer de vloeistof ongeveer neutraal is en er niet te veel zout in de oplossing aanwezig is. In gedestilleerd water verloopt het verschijnsel zeer

mooi. Ten slotte vormen de wieren dan een groen bezinksel onder in het buisje (zie fig. 1 C, blz. 34).

Ik gebruikte voor deze proeven nauwe glazen buisjes, die aan de onderzijde eenigszins puntig toeliepen en daar waren toegesmolten. Daardoor was het bezinksel zeer mooi te zien, het maakte volkomen den indruk van een bezonken neerslag (zie fig. 1 C, blz. 34). Microscopisch kon men waarnemen, dat de beweging volstrekt niet opgehouden had, de wieren bleven zeer bewegelijk en wemelden door elkaar in de punt der buis.

Zet men de buis met de bezonken wieren in het donker en laat men dit nu een half uur of een uur staan, dan bemerkt men, dat het bezinksel zich uitgezet heeft; op den duur verspreiden de wieren zich diffuus onder in de buis.

Geleid door opgaven in de litteratuur, meende ik, dat dit diffuus verspreiden iets te maken zou kunnen hebben met gebrek aan zuurstof of met aërotaxis. Ik gebruikte nu inplaats van gewoon gedestilleerd water, uitgekookt gedestilleerd water. Speelde het zuurstofgebrek een rol, dan moest het bezinken, op zijn minst, niet mooi verlopen. Het hielp intusschen totaal niets. Het eenige, waar toen nog aan gedacht kon worden, was de toename van het koolzuur in de vloeistof, ten gevolge van de ademhaling, terwijl assimilatie van CO_2 uitgesloten was. Ik voegde daarom aan het water kleine hoeveelheden spuitwater, waaruit de overmaat CO_2 ontweken was, toe¹⁾. Het bleek, dat het koolzuurgehalte de wieren er toe kon brengen absoluut niet meer te bezinken (zie fig. 1 D, blz. 34). Men zou misschien nog kunnen denken, dat de zouten uit het spuitwater de oorzaak van dit verschijnsel zouden kunnen zijn. (Spuitwater wordt uit leidingwater bereid.) Dit kan

¹⁾ Spuitwater is een gemakkelijk te verkrijgen, koolzuurhoudende oplossing.

echter niet het geval zijn, aangezien de wieren zich in leidingwater ongeveer op dezelfde wijze gedragen als in gedestilleerd water; in ieder geval vertoonen ze daarin prachtig het bezinken. Verder bleek mij, dat allerlei zuren in staat zijn de positieve geotaxis teniet te doen, bovendien verdunde alcaliën en allerlei zouten, die echter in wat hooger concentratie werkzaam waren.

Met het microscoop kan men waarnemen, dat de bewegelijkheid der wieren sterk is verminderd, wanneer ze niet meer bezinken.

Ik heb den indruk gekregen, dat de verandering bewegelijk-onbewegelijk niet plotseling optreedt, dat integendeel de afname van de bewegelijkheid met de toename van het electrolyt-gehalte geleidelijk verandert. Met zekerheid is dit intusschen niet uit te maken, omdat complicaties optreden, die later nader besproken zullen worden (zie Hoofdstuk IV § 7). Bezie men met het microscoop overgangsgevallen in zwak wit of in rood licht, dan is de bewegingsrichting voor de verschillende individuen uit een preparaat verschillend. Het aantal diergene, die naar boven zwemmen is klaarblijkelijk tamelijk groot. Vaak heeft er dan in de bovenste laag van de vloeistof eenigszins een ophooping plaats. Of dit misschien een aanduiding van negatieve geotaxis is, durf ik niet te beslissen. Eigenaardig is, dat voor de phototaxis, dergelijke vreemde verschijnselen waar te nemen zijn in het overgangsstadium van negatieve phototaxis tot ongevoeligheid voor licht.

§ 5. *De Phototaxis van Chlamydomonas.*

Kort geleden is er een publicatie van BUDER verschenen (1917), waarin nogal veel over *Chlamydomonas variabilis* gesproken wordt. De gegevens, die daar over de phototactische bewegingen van dit wier te vinden zijn, kloppen geheel met wat ik er van heb

waargenomen. In gedestilleerd water en waterige oplossingen, waar niet te veel zuur, base of zout in opgelost is, reageert *Chlamydomonas* negatief op het licht. BUDER merkte op, dat de wieren niet altijd even zeker reageerden. Voor het geval, dat de reactie niet erg prompt verliep, voerde hij den term „Streuung” in. Ik heb gevonden, dat „Streuung” optreedt wanneer zuur, base of zout aan het water wordt toegevoegd. Dit gaat zoo ver, dat de gevoeligheid voor licht geheel verdwijnt. Evenals bij de geotaxis gaat dit gepaard met een sterk verminderde bewegelijkheid. De concentratie, die noodig is om te veroorzaken, dat het object niet meer op 't licht reageert, komt ongeveer overeen met de concentratie, die de geotaxis teniet doet. Behalve dat het wier negatief phototactisch reageert, kan het voorkomen, dat het object positief phototactisch is. Ik ben niet in staat, dezen toestand naar willekeur te voorschijn te roepen. Echter kan ik verzekeren, dat de positieve phototaxis alleen optreedt in het overgangsgeval van negatief phototactisch tot ongevoelig voor licht. In de culturen komt deze toestand zeer vaak voor en soms eenige dagen achtereen in dezelfde cultuur. Voor dien tijd reageerden de wieren negatief op het licht, daarna kunnen ze ongevoelig voor licht worden. Verder staat het vast, dat gebrek aan zuurstof niet in staat is de positieve phototaxis teweeg te brengen.

§ 6. *Thigmotactische verschijnselen.*

Chlamydomonas variabilis Dangeard heeft onder bepaalde omstandigheden zeer sterk de neiging om zich met de trilharen vast te hechten aan den glazen wand (zie fig. 1 A). Dit verschijnsel wordt bij vele eencelligen waargenomen. Een gemakkelijk object, om er wat meer van te weten te komen vindt men in *Paramecium* (JENNINGS 1914, blz. 87). Het vastkleven

heeft bij dit protozoon plaats aan het slot van een reeks bewegingsveranderingen. Het dier zwemt tegen een vast voorwerp aan, maakt de „motorreflex”-beweging, zwemt er nu met verminderde vaart tegen aan en komt tegen het voorwerp tot rust, terwijl het met eenige trilharen er aan vastkleeft. Het geheele verschijnsel noemt men wel thigmotaxis. Bij *Chlamydomonas* heb ik van de geheele reeks van verschijnselen alleen kunnen waarnemen dat het wier zich vast hechtte. Dit heeft blijkbaar plaats aan de uiteinden der trilharen. Na het vasthechten behoeft de bewegelijkheid niet op te houden. Aan individuen, die zich nog bewegen, nadat ze vastgekleefd zijn, is waar te nemen, dat de ruimte, waarin zich het lichaam beweegt veel grooter is, dan het volumen ervan, waaruit we kunnen besluiten, dat het object niet met eenig deel van de lichaamsoppervlakte vastgehecht is, doch met een of met beide trilharen. De heen en weer trillende beweging, die nog gemaakt kan worden bewijst, dat de trilharen nog bewegen. Een en ander maakt het waarschijnlijk, dat het vasthechten plaats heeft aan de einden der trilharen.

In dit vastkleven meen ik een zuiver fysisch-chemisch proces te zien. Kleine deeltjes doode materie kunnen zich in sommige omstandigheden eveneens vasthechten aan den wand van het vat. PERRIN (1914, blz. 139) maakte hiervan gebruik om in een suspensie van guttegomdeeltjes het aantal te tellen. Daarvoor voegde hij aan het water een kleine hoeveelheid zuur toe. Elk deeltje, dat door de Brownsche beweging tegen den wand gedreven werd, bleef daaraan kleven.

Ook in de colloïdchemie kent men het verschijnsel van vastkleven; men gebruikt daar den term „kleefkans” en vermoedt, dat deze kleefkans nauw verband houdt met de electrische lading.

Het vasthechten van *Paramaecium* wordt zeer in de hand gewerkt door een betrekkelijk hoog koolzuur-gehalte van het milieu. Ook *Chlamydomonas* kan zich zeer goed vasthechten in zeer zwakzure oplossingen. Voordat de zuurgraad zoo hoog wordt, dat de bewegelijkheid zeer verminderd is, bestaat er bij talrijke zuren een concentratiegebied, waar de neiging tot blijven kleven, zeer sterk is. De reactie op 't licht wordt dan nog zeer goed uitgevoerd, ook is de bewegelijkheid groot genoeg om op de zwaartekracht te reageeren. Dat er intusschen geen bezinking plaats heeft, wordt veroorzaakt, doordat de wieren bij contact met den wand zich vasthechten. In die omstandigheden krijgt men dan ook een groene streep te zien, die niet naar den bodem zakt (zie fig. 1 A, blz. 34). Bijzonder mooi trad in mijn proeven dit verschijnsel op, toen ik werkte met kaliumsulfaat-oplossingen, die door geringe hoeveelheden zwavelzuur zuur gemaakt waren. In oplossingen van bekende samenstelling trof ik de neiging tot vasthechten nooit aan bij duidelijk alcalische reactie.

Ook in de culturen van *Chlamydomonas* treedt de neiging tot vasthechten vaak op. Dagenlang kan de cultuurvloeistof de daarvoor geschikte samenstelling bezitten. Ik ben niet in staat geweest te bepalen of in zoo'n periode de cultuurvloeistof eveneens zwak zuur was. Dit vindt zijn oorzaak in de aanwezigheid van allerlei stoffen in de cultuurvloeistof, die maken, dat electrometrisch daarvan de zuurgraad niet gemakkelijk bepaald kan worden. Hoe groot de kleefkracht wel is mag blijken uit de mededeeling, dat men na het vasthechten met een pipet de cultuurvloeistof kan wegzuigen, zonder dat de wieren door het vocht worden meegenomen. Ik wil er nog even op wijzen, dat de meer genoemde toestand van de wieren alleen optreedt bij concentraties, die zeer dicht naderen tot de concentraties,

die de bewegelijkheid doen ophouden; we zijn dan altijd even voor de grens van negatief phototactisch tot ongevoelig voor licht en van positief geotactisch tot ongevoelig voor zwaartekranchtprikkels.

Behalve dat de individuen van *Chlamydomonas* met de trilharen aan den glazen wand vastkleven, kan het ook voorkomen, dat de trilharen van verschillende individuen aan elkander vastgehecht zijn. Onder het microscoop ziet men vaak wieren, die op deze wijze aan elkaar gekleefd zijn. Bij de proeven over de reactie op de zwaartekracht was dit onderling aaneenkleven vaak zoo algemeen, dat het macroscopisch zichtbaar werd. In de groene streep, die onder invloed van het licht aan de schaduwzijde der buisjes gevormd werd, waren dan dichte groene stippen te zien, die zich vaak veel sneller dan de rest van de streep naar beneden bewogen. Met het microscoop kon waargenomen worden, dat de groene stippen uit aggregaten van wieren bestonden.

§ 7. De Chemotaxis en de Aërotaxis van *Chlamydomonas*.

Met behulp van de capillair-methode vond ik de wieren positief chemotactisch voor allerlei zuren (anorganische zuren, koolzuur, azijnzuur, appelzuur, fosforzuur), verder positief chemotactisch voor zure en alcalische fosfaten; niet voor malaten. Op basen reageerden de wieren uitsluitend negatief.

Telkens vindt men in de litteratuur opgaven over complicaties bij de reacties van *Chlamydomonas*, die aan positieve chemotaxis ten opzichte van de zuurstof van de lucht (aërotaxis) worden toegeschreven. Ik heb dan ook getracht uit te maken, of we inderdaad aan *Chlamydomonas* aërotactische gevoeligheid mogen toeschrijven. Daarvoor is de aangewezen weg te beproeven of we onder het dekglas een zuurstoflijn kunnen krijgen, een en ander overeenkomstig de gegevens van ENGEL-

MANN (1881). Aangezien we hier echter met een groen wier te doen hebben, dat in het licht koolzuur assimileert en daarbij zuurstof afscheidt, werkte ik in het donker. Inderdaad kreeg ik dan na eenigen tijd een prachtige zuurstoflijn gevormd door *Chlamydomonas*. In verband met mijn ervaringen over het onverschillige gedrag van het wier bij de geotaxis ten opzichte van uitgekookt water, was ik nog niet geheel overtuigd. Het is mij namelijk altijd wat verdacht voorgekomen, dat de „zuurstoflijnen”, die bacteriën en protozoën onder een dekglas vormen, door gebrek aan zuurstof zouden worden veroorzaakt. Bij nadere beschouwing van de omstandigheden, waaronder de zuurstoflijn gevormd wordt, moet men bekennen, dat daar niet alleen sprake is van de vermindering van het zuurstofgehalte, maar dat daar steeds ook andere stoffen van concentratie moeten veranderen. Vooral het koolzuur zou een groote rol kunnen spelen, aangezien verdwijnen van zuurstof-parallel moet gaan met ontstaan van koolzuur. Dezelfde opmerking vindt men bij PRINGSHEIM (1912, blz. 275). Ik heb dan ook getracht te bewijzen, dat inderdaad het koolzuur bij de vorming der zuurstoflijnen een groote rol zoo niet de eenige rol speelt. Daartoe heb ik culturen van spirillen ingezet. Ik nam een druppel van de cultuurvloei-stof, bedekte deze met een dekglas, dat aan eene zijde door een platinadraadje wat verder van het objectglas verwijderd was en liet dit preparaat eenigen tijd staan. Nadat zich een mooie lijn gevormd had, samengesteld uit het meerendeel der bacteriën, werd het object-glas met het preparaat omgekeerd en als deksel gebruikt voor een glazen kamertje; met een paar rubberringen en wat vaseline werd het deksel luchtdicht gesloten. Door het kamertje kon gas geleid worden. Tot mijn beschikking had ik koolzuur, zuurstof en stikstof. Het koolzuur werd in een toestel van Kipp bereid uit marmer en zoutzuur. De zuurstof was af-

komstig uit een bombe. De stikstof werd uit nitriet verkregen. Voor zoover dat noodig was, werden de gassen zooveel mogelijk door wasschen met de vereischte reagentia gezuiverd. Alleen met koolzuur was het mij mogelijk beweging te krijgen in de lijn gevormd door de bacteriën. Werd koolzuur doorgeleid, dan verplaatste de lijn zich naar het midden van het preparaat, werd spoedig daarna weer lucht of een ander gas (stikstof of zuurstof) doorgeleid, dan verplaatste de lijn zich weer naar buiten. In sommige gevallen gelukte het drie keer achtereen met hetzelfde preparaat, om de lijn naar binnen te verplaatsen en dan weer naar buiten. Dit verplaatsen geschiedde zeer snel.

Behalve met spirillen werden deze proeven met boterzuurbacteriën verricht. Met deze organismen was het niet mogelijk een duidelijke verplaatsing van een eenmaal gevormde zuurstoflijn onder invloed van koolzuur te bewerken. Ik wil van de negatieve uitkomst van de proeven met boterzuurbacteriën echter geen gebruik maken om aan boterzuurbacteriën een ander gedrag ten opzichte van koolzuur toe te schrijven dan aan spirillen. We moeten namelijk bedenken, dat het experiment in het glazen kamertje ingewikkelder was, dan het misschien lijkt. We hebben te doen met het afgeven en opnemen van gassen door de cultuurvloei-stof. Dit zijn vrij gecompliceerde processen. Voor de proef met de boterzuurbacteriën komt daar nog bij, dat deze laatste boterzuur in de cultuurvloei-stof brengen. Het is te begrijpen dat de aanwezigheid van dit zuur van grooten invloed kan zijn op de uitwerking van koolzuurgas op de plaats van de bacteriënljn.

Intusschen meen ik, dat de experimenten met de spirillen bewijzen, dat althans voor spirillen het bestaan van aërotaxis zeer onwaarschijnlijk is.

Uit de gegevens, die ik verkregen heb over de geotaxis, de phototaxis en de neiging tot vastkleven

van *Chlamydomonas* blijkt genoeg, hoezeer deze verschijnselen op overeenkomstige wijze beïnvloed worden door het electrolyt-gehalte van de omringende vloeistof. Vooral de afzetting op den glazen wand en de positieve phototaxis, die beide voorkomen bij hooge electrolyt-concentraties, al zijn die concentraties nog niet zoo hoog, dat onbewegelijkheid optreedt, toonen aan, dat we in den invloed van het electrolytgehalte van het milieu op de bewegelijkheid een belangrijk verschijnsel te zien hebben. Uit een en ander is met zekerheid af te leiden, dat hier van schadelijke werking zeker niet in de eerste plaats sprake is.

HOOFDSTUK III.

HET SYSTEMATISCH ONDERZOEK VAN DEN INVLOED VAN ELECTROLYTEN OP DE BEWEGELIJKHEID VAN *CHLAMYDOMONAS VARIABILIS* DANGEARD.

§ 1. *De beoordeeling van de bewegelijkheid van de organismen.*

In het vorige hoofdstuk is het ons duidelijk geworden, dat het electrolytgehalte van het waterige milieu, waarin *Chlamydomonas* zich bevindt, van zeer grooten invloed is op zijn activiteit d. w. z. het vermogen om te reageeren op licht, zwaartekracht, chemotactica en contact.

Om nu over dezen invloed van het electrolytgehalte wat meer te weten te komen, leek het mij gewenscht, systematisch de bewegelijkheid van *Chlamydomonas* in electrolytoplossingen na te gaan. Dit is dan ook voornamelijk het doel mijner proeven geweest.

In de eerste plaats werd gezocht naar een methode om gemakkelijk, liefst macroscopisch, den invloed van het electrolytgehalte waar te nemen. De bewegelijkheid van de trilharen neemt gaandeweg af bij de toename van de concentratie der oplossing. De bewegelijkheidsgraad voor ieder geval in een getal uit te drukken, leek mij niet gemakkelijk. Intusschen was het zeer eenvoudig twee bewegelijkheidstoestanden waar te nemen, namelijk een zóódanige bewegelijkheid, dat de reacties op 't licht, de zwaartekracht, enz., duidelijk waarneembaar waren en een toestand van onbewegelijkheid of zóózeer verminderde bewegelijkheid, dat deze reacties niet meer

uitgevoerd werden. We zoeken nu de concentratie, waarin de reactie nog juist duidelijk waarneembaar is en de concentratie, waar van een duidelijke reactie juist geen sprake meer is. Tusschen deze beide grensconcentraties ligt er een, die het punt aangeeft, waarbij theoretisch de overgang van den eenen bewegelijkheids-toestand in den anderen moet plaats hebben. We noemen deze concentratie de *critische overgangsconcentratie* of de *critische concentratie*. Zij wordt berekend uit de grensconcentraties. Alle concentraties, die tusschen de grensconcentraties gelegen zijn noemen we *overgangsconcentraties*.

Of we na voor het vaststellen van de grensconcentraties gebruik maken van de reactie op de zwaartekracht, op het licht of op chemotactica doet practisch niets ter zake. Het is gebleken, dat de reactie op de zwaartekracht zeer gemakkelijk macroscopisch waar te nemen is. Bij voldoende bewegelijkheid vormt zich spoedig een duidelijke ophooping der wieren onder in het vat. Als grensconcentraties werden nu aangenomen de concentratie, waarbij nog juist een duidelijke ophooping in de onderste lagen van de vloeistof plaats vond (zie fig. 1 B en C, blz. 34) en de concentratie, waar juist geen ophooping meer plaats vond (zie fig. 1 D, blz. 34). Er werd aangenomen, dat bij de critische overgangsconcentratie de bewegelijkheidstoestand steeds dezelfde was.

§ 2. Voorzorgsmaatregelen, opdat de waargenomen verschillen uitsluitend aan het gewijzigde electrolytgehalte kunnen worden toegeschreven.

Er dient voor gezorgd te worden, dat de omstandigheden, waaronder de proef verloopt zóódanig zijn, dat de verschillen, die waargenomen worden, uitsluitend aan het verschillende electrolytgehalte kunnen worden

toegeschreven. We moeten dus letten op de temperatuur en op de lichtsterkte, maar behalve dat, is het gewenscht te werken met glazen vaten, die steeds dezelfde diameter hebben. Bij proeven, waar elk experiment zesvoudig verricht werd, viel mij op, dat verschil in diameter der buisjes, tot afwijkende uitkomsten aanleiding gaf ¹⁾. Gewerkt werd met nauwe glazen buisjes, die onderaan wat puntig toeliepen en daar dichtgesmolten waren (zie fig. 1, blz. 34). Door waar te nemen, dat de verschillende buisjes even ver gevuld waren, als ze dezelfde hoeveelheid vloeistof bevatten, had ik een waarborg, dat de diameter de vereischte afmeting had.

Het is niet waarschijnlijk, dat de temperatuur een grooten invloed heeft op het verschijnsel, dat wij bestudeeren.

Toen ik nog bezig was met voorloopige proeven over de verschillende reacties van *Chlamydomonas*, heb ik den invloed van de temperatuur nagegaan. Met behulp van leidingwater, dat met koolzuur verzadigd was (spuitwater, waaruit de overmaat CO_2 ontweken was), werden door vermenging met uitgekookt duinwater oplossingen verkregen, die regelmatig veranderden, wat het koolzuurgehalte betrof. Door op de wijze, die ook later werd toegepast de bewegelijkheid der wieren aan de reactie op de zwaartekracht te toetsen, was het mogelijk voor de koolzuurhoudende oplossingen de grensconcentraties te bepalen. De proeven werden bij

¹⁾ Hier kan ook vermeld worden, dat de reacties op 't licht en op de zwaartekracht in een reageerbuis nooit een duidelijke streep of een mooie ophooping op den bodem veroorzaakten. Krijgen we voor een electrolytoplossing in een bepaald vat juist geen reactie meer te zien, dan kunnen we niet besluiten, dat er heelemaal geen reactie plaats heeft; slechts onder de bijzondere omstandigheden van de proef is er macroscopisch geen reactie waar te nemen.

25° C. en bij omstreeks 0° C. uitgevoerd; om de laatste temperatuur te verkrijgen, werden de buisjes, waarin de reactie moest plaats grijpen, in ijswater gedompeld. Voor de lage temperatuur werden dezelfde grensconcentraties gevonden als voor 25° C.

Wel werd waargenomen, dat de wieren zich bij de lage temperatuur niet vasthechten in dezelfde oplossing, waarin ze het bij 25° C. zeer mooi deden.

Ik meen, dat mijn voorloopige proef voldoende aan toont, dat de invloed van de temperatuur op de bewegelijkheid van *Chlamydomonas* in electrolytoplossingen niet groot is.

Deze opvatting is in overeenstemming met de opgaven van VOEGLER (1891) over den invloed van de temperatuur op het bedrag voor de drempelwaarde van chemotactica voor spermatozoïden van *Dicksonia antarctica*. Tusschen 14° C. en 28° C. bleef de drempelwaarde onveranderd.

Aangezien de uitkomsten van mijn verdere proeven een duidelijke overeenkomst aangeven tusschen de verschijnselen, die ik aan *Chlamydomonas* bestudeerde en het uitvlokken en oplossen van colloïden, is het van belang er op te wijzen, dat bijvoorbeeld de invloed van de temperatuur op de stabiliteit van suspensioïden van weinig beteekenis is (FREUNDLICH, blz. 368.).

De temperatuur, waarbij mijn proeven verricht werden, varieerde van 14° C.—28° C. Steeds werd de temperatuur opgeteekend. De temperatuur varieerde voor alle proeven met hetzelfde zout veel minder. Zoo bedroeg zij voor mijn bepalingen met KNO_3 20,5° C.—24° C.

Aanvankelijk leek het mij beter de proeven in het donker te verrichten. Eventueele wijzigingen onder invloed van veranderde lichtsterkte zouden dan uitgesloten zijn. Zeer spoedig bleek het echter, dat het niet wenschelijk was, in het donker te experimenteren. Zoo viel het al dadelijk op, dat het gedrag der wieren

in gedestilleerd water in het donker zeer onzeker was. Soms had in dit milieu de bezinking zeer mooi plaats; in andere gevallen kon het echter gebeuren, dat de reactie op de zwaartekracht, onder die omstandigheden, in gedestilleerd water geheel uitbleef.

Intusschen moeten we niet vergeten, dat we steeds op een verandering van het koolzuurgehalte gedurende de proef bedacht moeten zijn. In diffuus daglicht heeft zoowel assimilatie van koolzuur als ademhaling plaats, waardoor het koolzuurgehalte verminderen, vermeerderen of gelijk blijven kan. In het donker kan alleen een vermeerdering van het koolzuurgehalte onder invloed van de ademhaling plaats vinden. Nu kan uit de later te geven graphische voorstellingen afgeleid worden, dat het gedrag in gedestilleerd water door toevoeging van geringe hoeveelheden zuur zeer sterk gewijzigd wordt.

Echter kan voor het onzeker gedrag der wieren in het donker de toename van het koolzuurgehalte alléén niet aansprakelijk zijn. In de eerste plaats duurt de proef slechts kort (tien minuten). Bovendien is dit te zien uit het volgende voorbeeld: Voor oplossingen, die behalve 0,00010 n. KOH nog KNO_3 bevatten, werden op zekeren dag de grensconcentraties van het KNO_3 bepaald voor objecten uit een bepaalde cultuur. De grensconcentraties waren 0,08 n. KNO_3 en 0,09 n. KNO_3 . Den volgenden dag werd opnieuw voor oplossingen, die naast 0,00010 n. KOH, KNO_3 bevatten, dezelfde grensconcentraties bepaald met wieren uit dezelfde cultuur. Het bleek nu, dat zelfs in 0,005 n. KNO_3 nog steeds geen reactie op de zwaartekracht waar te nemen was. Ook andere proeven uit de serie van den vorigen dag werden toen herhaald en hierbij bleek het gedrag der wieren totaal veranderd.

Nadat aldus de bezwaren van het werken in het donker duidelijk te voorschijn gekomen waren, heb ik nagegaan, of in het licht minder ongeregelde uitkomsten

verkregen werden. Inderdaad bleek dat het geval te zijn. Voor zoover ik werkte met wieren uit dezelfde cultuur, heb ik bij mijn proeven in het licht nooit meer iets gemerkt van dergelijke plotselinge veranderingen. Steeds werden de buisjes zóó opgesteld, dat ze aan eenzijdig diffuus daglicht waren blootgesteld. Uit den aard der zaak was de lichtsterkte nogal uiteenlopend.

§ 3. *Hoe de wieren overgebracht werden in de electrolytoplossingen.*

We hebben nu een geschikte methode gevonden om den bewegelijkheidstoestand te beoordeelen. Voor we echter verder kunnen gaan en den invloed van verschillende electrolytoplossingen kunnen nagaan, moet er nog een middel gezocht worden, waarmee we de wieren vrij van bijmengsels en samen met zoo weinig mogelijk vloeistof, in de oplossingen, waar we den invloed van willen onderzoeken, kunnen overbrengen. Dit overbrengen van de wieren gaat zeer gemakkelijk, wanneer we profiteeren van de neiging tot vasthechten en de reactie op de zwaartekracht. Altijd was in culturen, waarin het object in voldoende aantal aanwezig was, de neiging tot vasthechten aan den wand zeer groot.

De buisjes werden met een pipet met de cultuurvloeistof gevuld. Nu liet ik ze rustig een tiental minuten vertikaal opgesteld staan, blootgesteld aan eenzijdig diffuus daglicht. Onder invloed van het licht bewogen de wieren zich naar de ééne zijde van de glazen buis, waar ze zich afzetten. (zie fig. 1 A.) Na tien minuten werd met een pipet de cultuurvloeistof weggezogen. De wieren bleven aan den wand vastgehecht. Aangezien er altijd nog van de cultuurvloeistof achterbleef aan de wanden van de buis, werd gewasschen met een bepaalde hoeveelheid gedestilleerd

water. Nadat dit water in de buisjes gebracht was, werden de wieren ermede opgeschud. Daarna kwamen de buisjes weer verticaal te staan. De neiging tot afzetten was nu verdwenen, maar de reactie op de zwaartekracht zorgde er voor, dat binnen korten tijd alle wieren onder in het buisje dicht opeengehoopt waren (zie fig. 1 B en C). Met een pipet kon de



Figuur 1.

bovenstaande waschvloeistof gemakkelijk weggenomen worden. Het verblijf gedurende korten tijd in gedestilleerd water was niet van invloed op de gevoeligheid van de wieren voor de electrolytoplossingen. Slechts wanneer het verblijf erin langer dan een half uur duurde, kon ik bemerken, dat de wieren een kleiner electrolytconcentratie konden verdragen. Na deze voorbereidingen werden de buisjes gevuld met de oplossingen,

waarvan de invloed moest worden nagegaan. Steeds werd $0,6 \text{ cm}^3$. van deze oplossingen bij de wieren gebracht. Door meer of minder cultuurvloei-stof te gebruiken voor het vullen der buisjes, kon het aantal wieren, dat aan elke proef deelnam, voor het oog gelijk genomen worden.

§ 4. De onderlinge verhouding van de verschillende ionen, die in de vloeistoffen aanwezig zijn en het gebruik der oplossingen in reeksen.

Verder verdienen de bestanddeelen der oplossingen een nadere bespreking. In het vorige hoofdstuk is reeds gebleken, dat kleine hoeveelheden zuur of base en oplossingen van neutrale zouten in wat grooter concentratie van invloed zijn op de bewegelijkheid van het wier. De electrolyten zijn in verdunde, waterige oplossingen voor een groot gedeelte in ionen gesplitst. Het ligt voor de hand te veronderstellen, dat de invloed, die de electrolytoplossing uitoefent, veroorzaakt wordt door de aanwezigheid van de ionen. In elke waterige electrolytoplossing zijn, behalve de ionen van de opgeloste stof, nog waterstofionen en hydroxylionen aanwezig, doordat het water steeds voor een klein gedeelte gedissocieerd is in H-ionen en in OH-ionen. In werkelijk neutrale oplossingen is het aantal H-ionen en het aantal OH-ionen even groot. Echter zijn kleine hoeveelheden koolzuur, die gemakkelijk in het water oplossen de oorzaak, dat het zeer moeilijk is er voor te zorgen, dat het aantal H-ionen en OH-ionen even groot is in een oplossing. Bovendien is de hoeveelheid opgelost CO_2 dan eens grooter dan weer kleiner. Een en ander heeft ten gevolge, dat het water, waarmee we onze oplossingen maken geen gedefinieerd gehalte aan H- en OH-ionen bevat.

Men is gewoon te zeggen, dat oplossingen, die men

met gedestilleerd water van neutrale zouten maakt, neutraal zijn. Inderdaad loopt voor deze oplossingen de zuurgraad toch uiteen, doordat van het gedestilleerde water de zuurgraad varieert. Voor het door ons bestudeerde verschijnsel zijn deze kleine wijzigingen in den zuurgraad van zeer groote beteekenis. Het is daarom gewenscht bij een systematisch onderzoek naar den invloed der electrolyten op de bewegelijkheid van *Chlamydomonas* gebruik te maken van seriën van oplossingen, die niet alleen opeenvolgen, wat betreft de concentratie van de electrolyt, die men onderzoekt, maar ook ten opzichte van het H- en OH-ionen gehalte.

De oplossingen worden zóó samengesteld, dat ze reeksen vormen. Alle oplossingen uit één reeks bezitten dezelfde H-ionenconcentratie d. w. z. dezelfde aciditeit of dezelfde alcaliniteit, al naar mate de H-ionen of de OH-ionen in grooter aantal aanwezig zijn. ¹⁾ De opeenvolgende oplossingen uit elke reeks bezitten een toenemend gehalte aan zout. De reeksen volgen elkaar zóódanig op, dat de H-ionenconcentratie van een ervan kleiner is dan die van de volgende.

We kunnen de oplossingen ook zóó rangschikken, dat in elke reeks de zoutconcentratie constant is, terwijl het H-ionengehalte van de opeenvolgende oplossingen regelmatig verandert.

Door het experiment bepalen we uit een reeks, waarin het H-ionengehalte constant is, de grensconcentraties voor het zout. Uit die grensconcentraties berekenen we de critische concentratie voor het zout bij die bepaalde H-ionenconcentratie. Op overeenkomstige wijze kunnen we met behulp van de reeksen met constant zoutgehalte de grensconcentraties en de

¹⁾ Zooals verderop nog blijken zal, is de concentratie van de OH-ionen bepaald door de concentratie van de H-ionen, zoodat we ook een alcalische reactie van een oplossing door de H-ionenconcentratie kunnen aanduiden.

critische concentratie van de H-ionen vinden. Beide werkwijzen moeten dezelfde uitkomsten geven, want een oplossing, die de critische concentratie voor een zout bij een bepaalde H-ionenconcentratie bevat, kan ook beschouwd worden de critische H-ionenconcentratie te bevatten bij een constant zoutgehalte.

In de meeste van onze proeven hebben we gewerkt met reeksen met constante H-ionenconcentratie. De grensconcentraties, die daarmee bepaald zijn, stellen dus eigenlijk grensconcentraties van het zout voor en dienen dan ook gebruikt te worden om de critische zoutconcentraties telkens bij een bepaalde H-ionenconcentratie, te berekenen. Een enkele maal gaf dit echter tot moeilijkheden aanleiding. In die gevallen werden de gevonden grensconcentraties voor zout gebruikt als grensconcentraties van H-ionen en werden zij gebruikt om critische H-ionenconcentraties te berekenen. Principieel bestaat daar geen bezwaar tegen.

In een reeks met constante H-ionenconcentratie vinden we één critische concentratie. Bij de reeksen met constant zoutgehalte vinden we er twee, één voor zure oplossingen en één voor alcalische oplossingen (H-ionenconcentratie groot en H-ionenconcentratie klein).

Dat we nu in het ééne geval één en in het andere geval twee critische concentraties vinden is begrijpelijk, wanneer we rekening houden met de verhouding der concentraties van de verschillende ionen in een oplossing.

In een oplossing van een zout (met éénwaardig anion en éénwaardig kation) is het aantal negatieve ionen van het zout even groot als het aantal positieve ionen. Wat het zout betreft hebben we dus steeds te doen met den gezamenlijken invloed van een gelijk aantal kationen en anionen.

In een reeks oplossingen, waar de H-ionenconcentratie verandert, hebben we steeds te maken met den gezamenlijken invloed van H-ionen en OH-ionen. De

onderlinge verhouding van deze ionen is nu zóódanig, dat de concentraties ervan een constant product geven, wanneer tenminste bij constante temperatuur gewerkt wordt. Zijn de concentraties in gramionen per liter uitgedrukt, dan is het constante product bij 18° C. ongeveer 10^{-14} .

We kunnen nu het geval hebben, dat de H-ionen-concentratie groot en het OH-ionengehalte klein is. Onder die omstandigheden zal voornamelijk de invloed van het H-ion tot uiting komen. Is het aantal OH-ionen groot ten opzichte van de concentratie der H-ionen, dan zien we in hoofdzaak den invloed der OH-ionen.

Het betrekkelijk ingewikkeld verband tusschen de H-ionen en de OH-ionen geeft ons gelegenheid den invloed van elk der ionen afzonderlijk na te gaan. Vandaar dat we in de reeks met constant zoutgehalte twee critische concentraties voor de H-ionen vinden.

Het constante product van H-ionen en OH-ionen veroorzaakt, dat de concentratie van het hydroxylion berekend kan worden uit de concentratie van het waterstofion. Aangezien bovendien van een oplossing de H-ionenconcentratie direct gemeten kan worden, de OH-ionenconcentratie niet, heeft men zich tot gewoonte gemaakt ook de reactie van een alcalische vloeistof door de H-ionenconcentratie aan te geven. Wanneer we zeggen, dat we voor een reeks met constant zoutgehalte twee critische concentraties, wat betreft het H-ionengehalte, vinden, dan beteekent dit niet, dat het in beide gevallen de H-ionen zijn, die het door ons bestudeerde verschijnsel veroorzaken.

§ 5. *Hoe de uitkomsten graphisch worden voorgesteld.*

De uitkomsten van de proeven met de reeksen verkregen, kunnen gemakkelijk graphisch in een plat

vlak worden voorgesteld (zie fig. 2, blz. 51; fig. 4, blz. 56, fig. 5 blz. 57). Op de abscis-as van een rechthoekig tweeassig coördinatenstelsel zetten we de concentratie van het zout af. Op de ordinaat-as wordt de H-ionenconcentratie of de aciditeit en de alcaliniteit van de oplossingen aangegeven. De punten, die de kritische concentraties voorstellen, worden onderling verbonden; de verkregen lijn bevat alle combinaties van zout en H-ionen en OH-ionen, waarbij *Chlamydomonas variabilis* een bepaalde bewegelijkheid bezit. De lijnen, die verkregen worden door de lage grensconcentraties of de hoge grensconcentraties te verbinden, geven ieder eveneens een bepaalden toestand van bewegelijkheid aan.

Bij den oorsprong zetten we op de abscis-as het cijfer nul; de punten op de ordinaat-as geven dan oplossingen aan, die geen zout bevatten.

Vanuit den oorsprong wordt op de ordinaat-as naar boven de concentratie van het toegevoegde zuur en naar beneden de concentratie van de toegevoegde base aangegeven. Alleen bij de figuur voor natriumacetaat-azijnzuurmengsels (zie fig. 3, blz. 52) wordt op de ordinaat-as de aciditeit door de H-ionenconcentratie aangegeven; bij den oorsprong komt daar 10^{-7} te staan d. i. de waterstof-ionenconcentratie van zeer zuiver water.

Worden de concentraties op deze wijze aangegeven, dan snijden de drie lijnen, die we verkrijgen door de lage grensconcentraties, de kritische concentraties en de hoge grensconcentraties te verbinden, de ordinaat-as twee keer, de abscis-as wordt éénmaal gesneden. De snijpunten met de ordinaat-as komen overeen met de grensconcentraties en de kritische concentraties van oplossingen, die alleen zuur of base bevatten; de snijpunten met de abscis-as komen overeen met de grensconcentraties en de kritische concentratie van oplossingen, die alleen zout bevatten.

Tusschen de lijnen, die de grensconcentraties verbinden, ligt een gebied, dat alle punten bevat, welke overgangsconcentraties voorstellen. Het gebied binnen de kromme voor de lage grensconcentraties geeft alle oplossingen aan, waarin de wieren zoo bewegelijk zijn, dat ze in de proef duidelijk de reactie op de zwaartekracht vertoonen. Buiten de kromme voor de hooge grensconcentraties vinden we alle oplossingen van het zout, waarin de wieren de reactie op de zwaartekracht niet vertoonen.

§ 6. *Het bereiden van de oplossingen.*

Het samenstellen der oplossingen vereischt een nadere bespreking. Over het verkrijgen van de gewenschte concentraties van de neutrale zouten kunnen we kort zijn. Daarvoor maken we normaaloplossingen (is dat niet mogelijk, dan oplossingen met de normaliteit $\frac{1}{2}$). De concentraties van de opeenvolgende oplossingen van een serie verschilden meestal 0,01 normaal. Zoo werden al naar behoefte oplossingen van 0,01 normaal tot 0,20 normaal bereid, door met een pipet 1—20 cm³. van de normaalvloeistof te nemen en deze hoeveelheid met gedestilleerd water aan te vullen tot 100 cm³. Eigenlijk zou het noodzakelijk zijn, inplaats van de concentratie in de normaliteit aan te geven, de ionenconcentratie te bepalen. Voor de verschillende neutrale zouten is de ionisatie echter steeds ongeveer even sterk voor elke bepaalde concentratie. Dit geldt zeker voor de kleine concentraties, die wij gebruikten. Wij hebben daarom afgezien van het bepalen van de ionenconcentraties.

Voor het verkrijgen van oplossingen met verschillende H-ionenconcentratie staan verschillende wegen open. Het eenvoudigste middel is aan de oplossingen kleine hoeveelheden zuur of base toe te voegen. Deze wijze

van werken is alleen geschikt, wanneer de oplossingen verder niets dan neutraal zout bevatten. Ik heb van dit middel veel gebruik gemaakt. We moeten hierbij echter rekening houden met allerlei bijzonderheden. Wanneer we op deze wijze een serie oplossingen willen maken met toenemende H-ionenconcentratie, moeten we bijvoorbeeld een oplossing van 0,001 normaal zuur maken. Zij moet zoo bewaard worden, dat de sterkte van het zuur zoo weinig mogelijk veranderen kan. Van deze oplossing moet voldoende zijn voor het samenstellen van alle oplossingen met hetzelfde zout. Oplossingen van verschillende H-ionenconcentratie worden nu verkregen door per 100 cm^3 . vloeistof 5, 10, enz. cm^3 . 0,001 normaal zuur toe te voegen. Zoo worden oplossingen verkregen, die bijv. 0,00005, 0,00010, enz. normaal zuur bevatten. Het gedestilleerd water, dat gebruikt wordt, mag niet te zeer wisselen, wat betreft het koolzuurgehalte. Werken we op de aangegeven wijze, dan is de methode te gebruiken.

De bezwaren der methode zijn de volgende. De aldus verkregen zwak zure oplossingen zijn niet reproduceerbaar, d.w.z. maakt men dezelfde oplossingen met een andere 0,001 n. zuuroplossing, dan kan de H-ionenconcentratie tamelijk veel afwijken van die van de vroeger gemaakte oplossingen. Kleine fouten geven zeer groote verschillen ten opzichte van den zuurgraad. De H-ionenconcentratie van deze oplossingen is niet te berekenen. Bovendien kan men ze hierin niet electrometrisch bepalen. Alleen met de indicatorenmethode is hier een bedrag voor den zuurgraad te vinden. Deze methode heb ik echter niet toegepast.

De oorzaak van de moeilijkheden moet gezocht worden in het feit, dat kleine hoeveelheden zuur of base de H-ionenconcentratie enorm veranderen. Daarbij komt, dat daardoor kleine hoeveelheden koolzuur eveneens een groote verandering teweeg kunnen brengen.

Voor den invloed van den zuurgraad op de bewegelijkheid van onze wieren was de methode geschikt, wanneer we ten minste tevreden zijn met de kennis van het verloop der veranderingen. Al mijn krommen, behalve die voor natriumacetaat zijn met behulp van deze methode verkregen. Ze kunnen dus alleen van dienst zijn om het kwalitatief verloop van het verschijnsel na te gaan. Conclusies over de absolute waarde voor de H-ionenconcentraties, moeten onder zekere reserve beschouwd worden.

Een methode, die toelaat, reproduceerbare oplossingen met kleine H-ionenconcentraties te maken, bestaat hierin, dat men gebruik maakt van zoogenaamde bufferoplossingen. Men verkrijgt deze door aan oplossingen van zouten van zwakke zuren met sterke basen en van sterke zuren met zwakke basen het bijbehorende, vrije zuur of de bijbehorende, vrije base toe te voegen. Een bekende bufferoplossing is natriumacetaat. Doordat het natriumacetaat hydrolytisch gesplitst is, moet men aan een oplossing daarvan betrekkelijk veel azijnzuur toevoegen om een geringe verandering in de H-ionenconcentratie der oplossing te veroorzaken. Het acetaat doet de dissociatie van het vrije azijnzuur in H-ionen en zuuranionen voor een groot deel teruggaan. Dit veroorzaakt de bufferwerking. In bufferoplossingen is de H-ionenconcentratie gemakkelijk electrometrisch te bepalen. De nadeelen van deze methode bestaan daarin, dat het aantal bufferoplossingen beperkt is, en dat zij meestal slechts te gebruiken zijn voor oplossingen, waarvan de zuurgraad in een tamelijk beperkt gebied ligt. Bovendien zijn er altijd ionen in de oplossingen, die mede invloed op het verschijnsel kunnen hebben en waarvan de concentratie zóó hoog is, dat hun invloed niet geheel uitgeschakeld kan worden.

HOOFDSTUK IV.

BESCHOUWINGEN EN CONCLUSIES, WAAR- TOE DE PROEVEN AANLEIDING GEVEN.

§ 1. *Het gedrag van Chlamydomonas in oplossingen met gering, constant zoutgehalte en een geleidelijk toenemende H-ionenconcentratie.*

In de eerste plaats heb ik zoo goed mogelijk aangetoond, dat het uitblijven van de reactie op de zwaartekracht veroorzaakt kan worden door wijziging van het gehalte aan waterstofionen en hydroxylionen. Daartoe werd een serie oplossingen gemaakt, die alle 0,01 normaal natriumacetaat bevatten en wisselende hoeveelheden vrij azijnzuur of vrij natriumhydroxyde. In deze oplossingen kan men het H-ionengehalte regelmatig doen veranderen, terwijl het aantal der andere ionen ten naastenbij constant blijft. De niet gedissocieerde moleculen azijnzuur zijn niet steeds in hetzelfde aantal aanwezig. We moeten hier vertrouwen op de ondervinding, die leert, dat dergelijke kleine hoeveelheden niet gedissocieerde moleculen toch geen invloed van beteekenis hebben.

Brengen we de wieren in deze oplossingen, dan vinden wij, dat ze de reactie op de zwaartekracht niet vertoonen in die nummers van de serie, die het meest zuur zijn en evenmin in die oplossingen, welke het meest alkalisch zijn. Het spreekt van zelf, dat het niet vooruit te zeggen is, of een serie oplossingen, die men gemaakt heeft, reeds de eerste keer zoodanige

oplossingen omvat, dat de proef naar wensch verloopt. Heeft men een geschikte serie verkregen, dan wordt van de zure oplossingen de oplossing gezocht, die nog juist aan de wieren veroorlooft, de reactie op de zwaartekracht te vertoonen en de oplossing, die de reactie juist niet meer doet verlopen. Hetzelfde wordt herhaald met de alcalische oplossingen. Van deze oplossingen wordt electrometrisch de H-ionenconcentratie bepaald ¹⁾.

Voor de zure oplossingen werd gevonden, dat bij een waterstofionenconcentratie van $10^{-5.9}$ de reactie nog juist plaats vond, terwijl bij een concentratie van $10^{-5.5}$ gram-ion waterstofionen per L. de reactie juist niet meer plaats greep. Voor de alcalische oplossingen bedroegen deze cijfers $10^{-10.7}$ en $10^{-11.2}$.

Hiermee is inderdaad aangetoond, dat het althans ten deele van de H-ionenconcentratie van een oplossing afhangt, of de reactie op de zwaartekracht al dan niet door de individuen van *Chlamydomonas variabilis* Dangeard wordt uitgevoerd.

Een herhaling van deze proef met mengsels van natriummalaat en vrij appelzuur of vrij natriumhydroxyde gaf de volgende uitkomsten. In de zure oplossingen van 0,01 molair natriummalaat bedroegen de grensconcentraties voor de H-ionen respectievelijk $10^{-5.1}$ en $10^{-4.9}$. Voor de alcalische malaatoplossingen waren de cijfers $10^{-10.6}$ en $10^{-11.1}$. Het blijkt, dat in de zure oplossingen van natriummalaat de zuurgraad groter was dan in de zure natriumacetaatoplossingen. In de alcalische oplossingen waren de grenswaarden niet verschoven. We zien hier uit, dat behalve de H- en de OH-ionen ook andere ionen op de reactie van invloed

¹⁾ Voor de bepaling van de H-ionenconcentratie werd als leiddraad genomen L. MICHAËLIS, Die Wasserstoffionenkonzentration; echter werd een gesloten electrode gebruikt.

zijn, zelfs in de geringe concentratie van 0,01 molair. Het is van beteekenis, dat de grensconcentraties in de alcalische oplossingen niet (in ieder geval zeer weinig) verschoven zijn. Dit zal later nog ter sprake komen.

§ 2. *Maatregelen, om betrouwbare uitkomsten te verkrijgen.*

Nadat aldus voldoende duidelijk geworden is, dat H-ionen, OH-ionen, anionen en kationen van zouten van invloed zijn op het reactievermogen van het object, kunnen we overgaan tot de bespreking van het gedrag van het wier in zure en alcalische oplossingen van kaliumnitraat, kaliumchloride, natriumacetaat en kaliumsulfaat. Afgezien van verschillende hoeveelheden van de opgeloste zouten bevatten deze oplossingen regelmatig toe- en afnemende hoeveelheden waterstofionen en hydroxylionen. In het vorige hoofdstuk vindt men aangegeven, hoe de oplossingen werden samengesteld. Verder wordt daar opgenoemd, welke bezwaren aan het werken met deze oplossingen verbonden zijn. Ook wordt er op gewezen, dat we steeds bij het overbrengen van de wieren in de vloeistoffen, waarvan de invloed wordt nagegaan, kleine hoeveelheden vocht met de oplossingen vermengen, waardoor een onnauwkeurigheid ontstaat.

Behalve door de voorzorgen, waarover in het vorige hoofdstuk gesproken is, zijn de uitkomsten veel zekerder geworden, doordat alle experimenten zesvoudig werden uitgevoerd. Ieder der uitkomsten is daardoor een gemiddelde uit zes proeven. Een voorbeeld kan deze werkwijze nader toelichten. Er werd een serie oplossingen bereid, die alle 0,00040

normaal kaliumhydroxyde bevatten en verschillende hoeveelheden kaliumnitraat namelijk:

0,07, 0,08, 0,09, 0,10 en 0,11 normaal.

We noemen deze oplossingen achtereenvolgens:

A, B, C, D en E.

Oplossing A gaf in zes buisjes een duidelijk bezinksel. Bij de oplossingen B, C, D en E werd in 4, 3, 1, 0 van de zes buisjes een duidelijke ophooping waargenomen. In de graphische voorstellingen wordt een ophooping in zes buisjes door • aangegeven; wanneer in geen der buisjes een bezinksel waargenomen werd, is het teeken o gebruikt. Voor alle gevallen waar een gedeelte der proeven een bezinksel en de rest geen ophooping gaf, wordt deze uitkomst met een X aangegeven ¹⁾. In het voorbeeld krijgen we dus:

Nummer van de oplossing.	A.	B.	C.	D.	E.
gehalte aan KOH $\times 100000$	40.	40.	40.	40.	40.
gehalte aan KNO ₃ $\times 100$	7.	8.	9.	10.	11.
aantal buisjes, waar een ophooping ontstaat.	6.	4.	3.	1.	0.
uitkomst voor de graphiek	•	X	X	X	o

Er dient nog even op gewezen te worden, dat bij de beoordeeling van de uitkomst in elk der buisjes een volkomen bezinken en een tamelijk duidelijk bezinken als een positief resultaat werd aangezien, terwijl het ontstaan van een geringe ophooping en het uitblijven daarvan als een negatieve uitkomst werd beoordeeld. Met behulp van het voorbeeld is nu ook gemakkelijk aan te geven, hoe het gemiddelde werd berekend.

¹⁾ Op de plaatsen, waar de lijn, die de critische concentraties verbindt, geteekend is, wordt het teeken X weggelaten.

Oplossing A met 0,07 normaal KNO_3 gaf een positieve uitkomst, oplossing E met 0,11 normaal gaf een negatieve uitkomst, terwijl B, C en D overgangsgevallen aangaven; 0,07 normaal en 0,11 normaal zijn dan de grensconcentraties, terwijl:

$$\frac{0,07 + 0,11}{2} \times 1 \text{ normaal} = 0,09 \text{ normaal}$$

als de critische concentratie beschouwd wordt.

Verder dient vooraf te worden vermeld, dat we aan de absolute waarde van de concentraties niet te veel waarde mogen hechten. In het vorige hoofdstuk is daar reeds op gewezen in verband met de wijze, waarop de oplossingen werden samengesteld. Behalve door deze bereidingswijze van de oplossingen echter, is de absolute waarde der grensconcentraties van betrekkelijk weinig beteekenis, doordat voor verschillende culturen vooral voor culturen uit perioden, die sterk verschillen wat licht en temperatuur betreft, de grenswaarden voor hetzelfde zout en bij denzelfden zuurgraad zeer veel uiteen konden lopen. Ik heb er in het vorige hoofdstuk uitdrukkelijk op gewezen, dat ik bij de gevolgde werkwijze voor dezelfde cultuur geen last had van plotselinge veranderingen van het wier, wat de zoutgevoeligheid betreft, wanneer in het licht gewerkt werd. Moest echter een nieuwe cultuur gebruikt worden, dan was het zeer noodzakelijk steeds de laatste serie proeven, die met de oude cultuur verricht waren, te herhalen met de nieuwe cultuur, om te zien of de uitkomsten met de nieuwe cultuur aansloten bij die met de oude cultuur. In de meeste gevallen was het verschil zoo gering, dat de nieuwe cultuur gebruikt kan worden om de bepalingen voort te zetten, zonder dat een onderbreking in de kromme ontstond. In sommige gevallen echter gaf de nieuwe cultuur zeer afwijkende waarden. Dit

geval wordt verduidelijkt door de kromme voor kaliumchloride (fig. 4, blz. 56). Bij 0,00065 normaal kaliumhydroxyde werden proeven gedaan met een nieuwe cultuur. De organismen uit deze cultuur bleken minder gevoelig voor kaliumchloride dan die uit de oude cultuur. De critische concentratie was verschoven van 0,10 normaal naar 0,14 normaal. Vermoedelijk heeft de verschuiving niet alleen in horizontalen zin plaats gehad maar eveneens in verticalen zin. Ik vermoed, dat een gedeelte van het nieuwe stuk van de kromme overeenkomt met het laatste stuk van de oude kromme. De overeenkomstige stukken werden door stippellijnen verbonden. Voorbeelden van minder belangrijke verschuivingen geeft de kromme voor de acetaat-azijnzuurmengsels (fig. 2). In dit geval werden wieren uit drie verschillende culturen gebruikt. De critische concentraties verkregen met organismen uit elke cultuur, werden onderling verbonden. Zoo zijn de krommen I, II en III ontstaan.

Vragen we naar de oorzaak van het verschillend gedrag van wieren uit verschillende culturen, dan kunnen we er zeker van zijn, dat de electrolytconcentratie der verschillende culturen niet steeds dezelfde is. Wel werden de onregelmatigheden in dit opzicht verminderd door de cultuurvloeistoffen te bereiden met een bepaalde hoeveelheid gesteriliseerden grond, eiwit en leidingwater. Het feit echter, dat de rotting van het eiwit niet altijd even snel en op dezelfde wijze verliep moet veroorzaken, dat bijv. de hoeveelheid ammoniumcarbonaat niet steeds even groot is geweest in de verschillende culturen. Daarbij komt, dat de geheele behandeling van de wieren, alvorens ze over te brengen in de oplossing, waarvan de invloed onderzocht werd, ten doel had oppervlakkige verontreinigingen weg te nemen en er voor te zorgen, dat de te onderzoeken

vloeistof niet veranderd zou worden door vermenging met kleine hoeveelheden van de cultuurvloeistof. Ingrijpende veranderingen werden steeds bij de voorbehandeling vermeden, zoodat we kunnen aannemen, dat de wieren gebruikt werden in den toestand, waarin ze zich bevonden in de culturen. Belangrijke veranderingen traden op, wanneer het verblijf in gedestilleerd water langer dan een half uur duurde. De organismen werden dan zeer veel gevoeliger voor zout. Misschien is men geneigd deze verandering door gedestilleerd water als een schadelijke werking aan te zien. Het is niet noodig ons tegen deze opvatting te verzetten. We kunnen er echter bij opmerken, dat de term schadelijke werking ons niet veel verder brengt. Ik maak mij van de werking van het gedestilleerde water een andere voorstelling. Alles, wat we tot nu toe weten van het gedrag van *Chlamydomonas* ten opzichte van electrolyten wijst er op, dat de invloed der opgeloste stoffen op het protoplasma een colloïdchemische is. Met zuur en base vormen de plasma-colloïden verbindingen, die waarschijnlijk wel chemische verbindingen zijn. Met neutraal zout worden waarschijnlijk adsorbtieverbindingen gevormd. Van deze veronderstellingen uitgaande, meenen we, dat de veranderingen bij het langdurig wasschen met gedestilleerd water op een gedeeltelijke wegname van de geadsorbeerde zouten en het verschillend gedrag der wieren uit verschillende culturen op verschillen tusschen de hoeveelheid en den aard der door de plasmacolloïden geadsorbeerde stoffen berust.

Een verschijnsel, dat ook nog vermeld dient te worden, treedt op, wanneer de objecten langer dan tien minuten in een oplossing, waarin geen bezinken plaats heeft, worden gelaten. Is de oplossing niet al te sterk, dan worden de wieren op den duur weer

bewegelijk. Ook dit verschijnsel zou een gevolg kunnen zijn van adsorbtieprocessen, die langzaam verlopen. We zullen ons echter niet verder in deze beschouwingen verdiepen, willen er intusschen nog op wijzen, dat we hier weer met „stemmingsverschijnselen” te doen hebben.

§ 3. *Een overeenkomst tusschen den verschillenden invloed van de combinatie zuur en zout en van base en zout op de bewegelijkheid van Chlamydomonas en het weder in oplossing gaan van globulinen in zure en alcalische zoutoplossingen.*

We gaan nu over tot het bespreken van de graphische voorstellingen. Alleen de kromme voor kaliumsulfaat is ongeveer volledig (zie fig. 2). We zien er uit, dat het verloop zeer gecompliceerd is.

Het valt al dadelijk op, dat de vorm van de kromme in de zuurste oplossingen (vanaf 0,00015 n. H_2SO_4) totaal anders is dan in de meest basische oplossingen (vanaf 0,00100 n. KOH). Een verloop van de lijn, zooals in de meest alcalische oplossingen, kan ontstaan, wanneer de invloed van base en zout additief is. Voor den vorm van de lijn in de zuurste oplossingen is een dergelijke veronderstelling niet mogelijk. Hier lijkt het alsof het zout den invloed van het zuur vermindert, terwijl omgekeerd de H-ionen ook den invloed van het zout verminderen. Wanneer we namelijk de kromme vanaf de ordinaat-as in het zuurste gebied vervolgen, dan zien we, dat de lijn twee bochten maakt. De eerste bocht brengt de kromme hoger in het zure gebied (bij 0,01 molair K_2SO_4); hier wordt onder invloed van kleine hoeveelheden neutraal zout de gevoeligheid voor het zuur verminderd. De lijn gaat daarna weer terug om spoedig daarop opnieuw een bocht te maken (tot

0,00015 n. H_2SO_4 , 0,06 m. K_2SO_4), welke we ontstaan kunnen denken door een tegenwerking, die het zout van het zuur ondervindt.

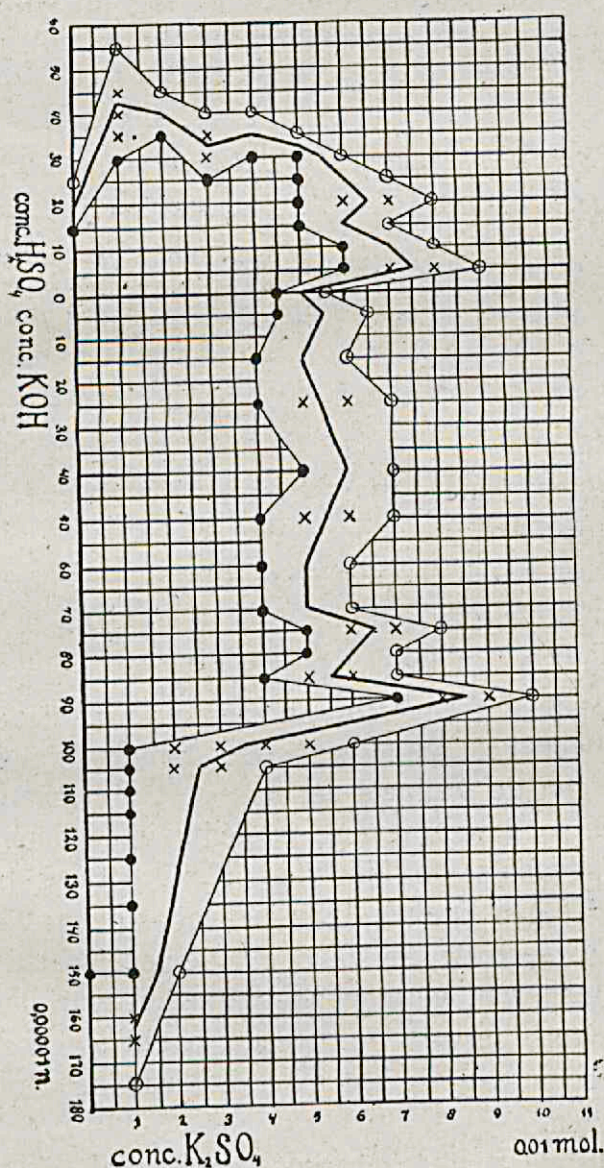


Fig. 2.

De kromme voor K_2SO_4 is niet het eenige argument voor het verschillend gedrag van zuur en zout en van

base en zout onderling op de bewegelijkheid van *Chlamydomonas*. Het verloop van de lijn voor natrium-acetaat (fig. 3) in de meest zure oplossingen (tusschen $[H] = 10^{-5.2}$ en $[H] = 10^{-6.4}$) strookt geheel met de

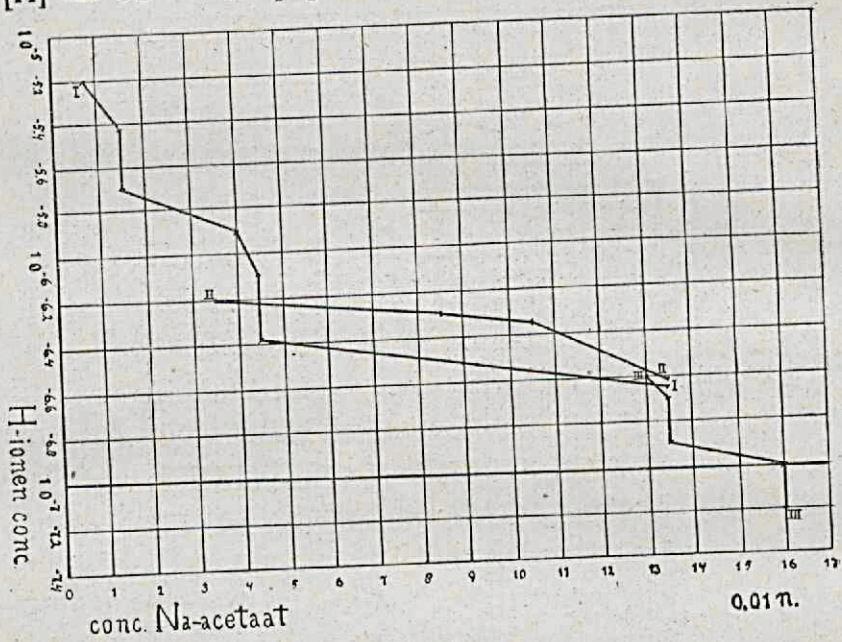


Fig. 3.

meening, dat de invloed van zuur en zout niet additief is. Hoewel het punt, waar de kromme in de zure oplossingen de ordinaat-as bereikt, niet bepaald werd, kan men toch waarnemen, dat de lijn in het aangegeven gebied, evenals de lijn voor K_2SO_4 , twee bochten maakt. Volgen we de kromme vanaf de ordinaat-as, dan illustreert de eerste bocht de tegenwerking, die de H-ionen van geringe hoeveelheden natriumacetaat ondervinden, terwijl de tweede bocht toegeschreven kan worden aan de tegenwerking van het zout door de H-ionen.

Dat in de alcalische oplossingen sprake is van de additiviteit van den invloed van base en zout, terwijl dit niet geldt voor den gezamenlijken invloed van zuur en zout is een zeer belangrijk feit.

Een overeenkomstig verschijnsel wordt waargenomen bij het gedrag van proteïnen tegenover base en zout en zuur en zout. In een publicatie van HARDY over colloïdale oplossingen van globulinen wordt dit verschijnsel zeer uitvoerig besproken (HARDY, 1905).

Globulinen zijn amphotere stoffen, zij kunnen zich met zuur en base verbinden. Globulineoplossingen kunnen geprecipiteerd worden door neutrale zouten. In dit opzicht vertoonen ze karakteristieke eigenschappen. Elk zout geeft bij geringe concentratie een neerslag, en ook bij een groote concentratie. Bij middelmatige concentratie werken de zouten oplossend. Bij geringe concentratie werken de zouten alleen op globuline verbonden met base of zuur. De werking der zouten is in dit geval in overeenstemming met die op suspensoiden: de colloïdale deeltjes zijn electrisch geladen en worden door de ionen van het zout, die een tegenovergestelde lading bezitten, ontladen. Meerwaardige ionen hebben grooter invloed dan éénwaardige ionen. Bij groote concentraties werken de zouten op verbindingen van globuline met zout, die colloïdale deeltjes geven zonder lading. In dit geval kan men een vergelijking maken met het uitzouten van emulsoïden.

De concentraties die HARDY gebruikte bij de bestudeering van het neerslaan der globulinen door kleine hoeveelheden electrolyt en van het weder oplossen door middelmatige zoutconcentraties zijn te vergelijken met de concentraties, die van invloed zijn op de bewegelijkheid van *Chlamydomonas*.

Het is nu bij de experimenten over het weder in oplossing gaan van de globulinen, dat HARDY het verschillend gedrag van de combinaties zuur en zout en base en zout opmerkte. Hij drukt dit op blz. 323 op de volgende wijze uit:

„there is however one feature of fundamental importance which is never obscured, and that is the antagonism between the solvent actions of salts and acids, and the additive nature of the combined solvent action of salts and alkali.”

Een van de feiten, die HARDY tot deze conclusie brachten, bestond daarin, dat bij het weder in oplossing gaan van globuline bij aanwezigheid van zout, de hoeveelheden zuur, die vereischt werden met den aard van het zout sterk varieerden, terwijl de quantiteiten baseoplossing zeer weinig veranderden bij de verschillende zouten. De concentratie der zouten was in deze experimenten nogal uiteenlopend. Aanvankelijk werd aan 10 cM³. globulinesuspensie 1,5 cM³. normaal zout toegevoegd, waardoor een concentratie van zoowat 0,13 n. ontstond. Daarna werd de vereischte hoeveelheid zuur- of baseoplossing toegevoegd, waardoor vooral in de zuurste oplossingen de concentratie van het zout nog belangrijk verminderd werd (0,06 n. of minder).

Een overeenkomstig resultaat hebben wij verkregen met de proeven over het gedrag van *Chlamydomonas* in acetaatoplossingen en malaatoplossingen (van 0,01 molair), waarin de H-ionenconcentratie regelmatig veranderde. Wij hebben toen opgemerkt, dat de grensconcentraties voor de H-ionen in de zure malaatoplossingen belangrijk gestegen waren ten opzichte van die in de zure acetaatoplossingen. De grensconcentraties waren in de alcalische malaatoplossingen niet verschoven ten opzichte van die in de acetaatoplossingen. We zien hierin een nieuw argument voor het verschillend gedrag van zuur en zout en van base en zout ten opzichte van de bewegelijkheid van *Chlamydomonas* en bovendien nogmaals de overeenkomst tusschen den invloed van electrolyten op het oplossen van globulinen

en de bewegelijkheid van de door ons gebruikte organismen.

In zoover werd een verschil gevonden tusschen den invloed van electrolyten op de bewegelijkheid van *Chlamydomonas* en op het weder in oplossing gaan van globuline, dat de H-ionenconcentratie, waarbij de verschijnselen plaats vonden voor de globulinen wat grooter waren, waardoor de processen in hoofdzaak in zeer zwakke zure oplossing plaats vonden, terwijl onze verschijnselen voornamelijk in zeer zwak alcalische oplossing waargenomen werden.

De overeenkomst in het gedrag van *Chlamydomonas* en van de globulinen tén opzichte van zure en alcalische oplossingen van zouten brengt ons tot de veronderstelling, dat de invloed van electrolyten op de bewegelijkheid van ons object veroorzaakt wordt door dat de electrolyten inwerken op de colloïden, die in de cel van *Chlamydomonas* aanwezig zijn, waarschijnlijk de plasmacolloïden. Onverwacht is deze hypothese niet, we hebben reeds gezien, dat er vele feiten zijn, die daarmee eenigszins begrijpelijk worden. Bovendien is men algemeen van meening, dat het protoplasma colloïdaal is.

§ 4. *Beschrijving van het middelste gedeelte van de krommen.*

Nadat we den invloed van zouten hebben nagegaan in de meest alcalische en in de zuurste oplossingen gaan we over tot de bespreking van de middelste gedeelten der krommen. We meenen, dat we in het nu te bespreken gebied vooral te doen hebben met den invloed van 't zout, terwijl de H-ionen en de OH-ionen een minder groote uitwerking bezitten.

Voor K_2SO_4 (fig. 2, blz. 51) loopt dit gedeelte van

0,00015 n. H_2SO_4 tot 0,00100 n. KOH. Voor KNO_3 (fig. 5, blz. 57) en voor KCl (fig. 4) behoren de krommen voor zoover die geteekend zijn geheel tot dit gebied.

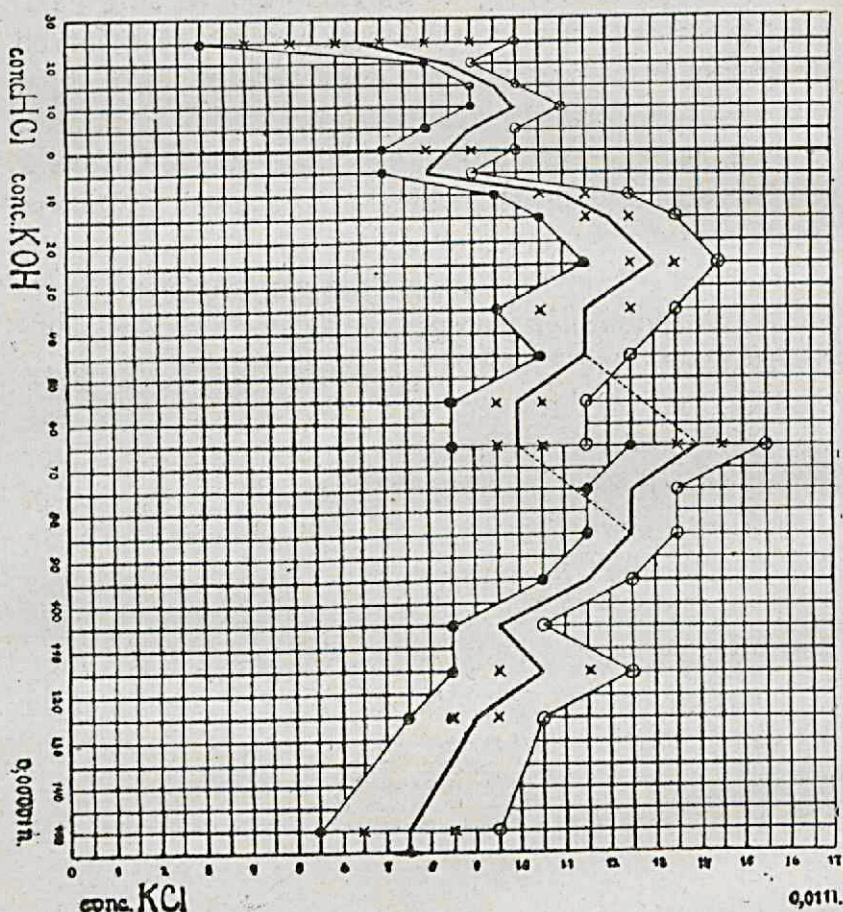


Fig. 4.

Het verloop van deze lijnen is meer of minder grillig. Dit wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van toppen.

Bij K_2SO_4 (fig. 2, blz. 51) onderscheiden wij er vijf (bij 0,00005 n. H_2SO_4 , 0,00005 n. KOH, 0,00040 n. KOH, 0,00075 n. KOH en 0,00090 n. KOH). Bij KCl (fig. 4, blz. 56) zien we er eveneens vijf (bij 0,00010 n. HCl, 0,00025 n. KOH, 0,00045 n. KOH, 0,00065 n. KOH

voor het bovenste stuk en 0,00085 n. KOH voor het onderste gedeelte en bij 0,00115 n. KOH), als we tenminste aannemen, dat het onderste stuk door verschuiving in horizontalen en in verticalen zin aan het bovenste gedeelte mag worden aangesloten. Bij KNO_3 (fig. 5) is het aanvankelijk of we met een breed maximum te doen hebben. Zien we nader toe en letten we daarbij ook op de lijnen, die de grensconcentraties verbinden, dan zijn er aanwijzingen voor eveneens 5 toppen (bij 0,00010 n. HNO_3 , 0,00015 n. KOH, 0,00030 n. KOH, 0,00050 n. KOH en 0,00065 n. KOH).

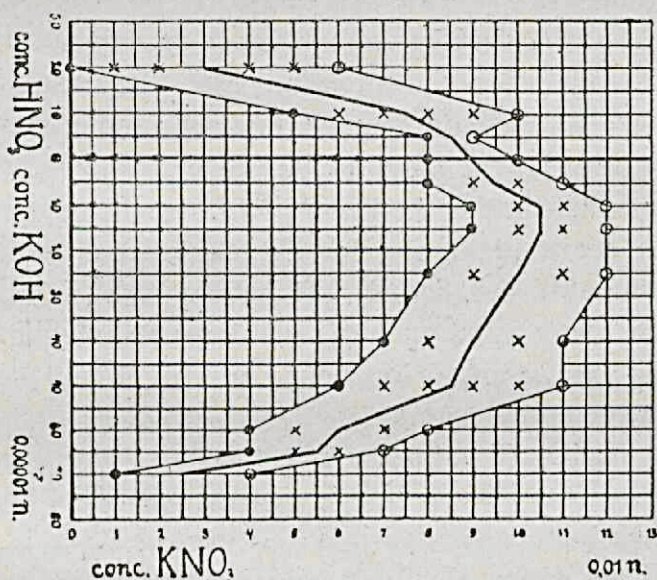


Fig. 5.

Voor al bij K_2SO_4 zien we, dat deze toppen ongeveer symmetrisch gerangschikt zijn, we kunnen namelijk door de figuur een as van symmetrie trekken, die verloopt langs de lijn, die een concentratie van 0,00040 n. KOH aangeeft. Voor KNO_3 (fig. 5) is de symmetrie ook goed waar te nemen. De as van symmetrie snijdt hier de kromme bij 0,00030 n. KOH. Zij loopt hier niet horizontaal. Bij KCl (fig. 4, blz. 56) ligt het snijpunt

van de as van symmetrie (althans voor het bovenste stuk, dat verlengd wordt met het verplaatste onderste gedeelte) bij 0,00045 n. KOH. Ook hier verloopt de as van symmetrie niet horizontaal.

De besproken symmetrie is voor ons een aanwijzing, dat de grilligheid der figuren niet aan onnauwkeurigheid kan worden toegeschreven. De zesvoudigheid der experimenten benevens het feit, dat we voor het bepalen van een punt van de kromme meestal 18 of nog meer waarnemingen deden, zijn daarvoor bovendien een zeer goeden waarborg.

De beteekenis van de symmetrie kan gezocht worden in het feit, dat we met den invloed van ionen te doen hebben. Bij een positieve lading der plasmacolloïden zullen de anionen der zouten in dit geval den meesten invloed uitoefenen, terwijl bij een negatieve lading de kationen het meest werkzaam zijn. In het algemeen zal van een zoodanige werking van anionen en kationen een symmetrie der figuren het gevolg zijn.

Is de werking van het eene ion veel sterker dan die van het andere ion, dan kan de figuur scheef worden.

Voor K_2SO_4 (fig. 2, blz. 51) staat een tweewaardig anion tegenover een éénwaardig kation. Hier is de hoofdrichting van de kromme verticaal. Bij KCl (fig. 4, blz. 56) en bij KNO_3 (fig. 5, blz. 57) is de hoofdrichting van de lijn van boven naar onder scheef naar links. Hier staat een éénwaardig anion tegenover een éénwaardig kation. Bepalingen, die gedaan werden voor $Ca(NO_3)_2$, met een éénwaardig anion tegenover een tweewaardig kation, deden zien, dat voor de kromme voor $Ca(NO_3)_2$ de richting nog veel scheever zou zijn dan voor de krommen voor KCl en voor KNO_3 en ook weer indezelfde richting.

De opeenvolging K_2SO_4 — KCl en KNO_3 — $Ca(NO_3)_2$

is in overeenstemming met de meening, dat de scheeve richting van de lijnen het gevolg is van de waardigheid der an- en kationen, die in de zoutoplossing voorhanden zijn.

In de colloïdchemische litteratuur heb ik geen figuren kunnen vinden, die veel gelijkenis vertoonden met de lijnen, die we zoo juist hebben besproken. De oorzaak hiervoor zou misschien te vinden zijn in het feit, dat over het algemeen de invloed van zouten bij verschillende zuurgraad op colloïden niet vaak systematisch onderzocht is, terwijl in die gevallen, waar dit wel geschied is, de concentraties van het zuur en van de base veel sterker toenamen dan in mijn proeven.

De aanwezigheid der toppen in onze figuren kan misschien veroorzaakt worden, doordat de plasmacolloïden, die we verantwoordelijk gesteld hebben voor het gedrag van *Chlamydomonas* ten opzichte van zuur, base en zout eiwitachtige stoffen zijn. Van de eiwitten is het bekend, dat zij zich met verschillende hoeveelheden base of zuur kunnen verbinden. Al naarmate ze één molecule zuur of een ander aantal opnemen ontstaan verschillende verbindingen. Over de stabiliteit van de aldus ontstane verbindingen is men het niet eens. T. B. ROBERTSON meent bewezen te hebben, dat zij stabiel zijn bij een bepaalde H-ionenconcentratie. Bovendien kunnen deze verbindingen zich zeer verschillend gedragen tegenover zouten. Is de meening van ROBERTSON juist, dan zouden de H-concentraties, waar de maxima of waar de minima in onze figuren te vinden zijn, misschien overeenkomen met de H-ionenconcentraties, waarbij de colloïdale stoffen uit het protoplasma stabiele verbindingen vormen met verschillende hoeveelheden zuur of base. Ter nadere toelichting kan nog vermeld worden, dat de verschijnselen, die wij aan *Chlamydomonas* bestudeeren, plaats hebben

in een gebied van H-ionenconcentraties ongeveer gelegen tusschen $[H] = 10^{-5.5}$ en $[H] = 10^{-11.2}$. In een boek van ROBERTSON wordt verder opgegeven, dat bij neutraliteit tegenover lakmoes ($[H] = 10^{-7}$) een verbinding van caseïne met $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 1,5% CaO bevat, terwijl caseïne bij neutraliteit tegenover phenolphthaleïne ($[H] = 10^{-9}$) 2,4% CaO bindt. Hoewel het waarschijnlijk is, dat we in beide gevallen te doen hebben met mengsels van verschillende verbindingen tusschen caseïne en calciumhydroxyde, kunnen we uit de gegevens toch opmaken, dat in het gebied van de H-ionenconcentraties, waarin *Chlamydomonas* bewegelijk is, verschillende verbindingen tusschen de plasmaeiwitstoffen en base en zuur verwacht kunnen worden.

§ 5. *De invloed van de zouten op de bewegelijkheid van Chlamydomonas kan alleen vergeleken worden met den invloed ervan op suspensoiden.*

De voorstelling, die we ons aan de hand van de figuren van het gedrag van *Chlamydomonas* onder invloed van zouten bij verschillende H-ionenconcentratie hebben gevormd is alleen aannemelijk, wanneer de onderstelde plasmacolloïden zich tegenover zouten als suspensoiden colloïden gedragen.

De suspensoiden eigenschappen van de plasmacolloïden van *Chlamydomonas* openbaren zich door den invloed van kleine zoutconcentraties. In onze proeven waren zeer geringe hoeveelheden fosfaat noodig om de organismen onbewegelijk te maken. De hoogste concentraties werden vereischt voor $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ namelijk 0,40 n. Bij de binaire zouten waren concentraties van 0,10—0,20 normaal noodig.

Uit deze opgaven blijkt eenigszins de invloed van de waardigheid der ionen. De meerwaardige anionen

van het fosfaat vereischten de laagste concentraties, het meerwaardige kation van het calciumnitraat de hoogste concentratie. Ook de invloed van de waar- digheid der ionen wijst op suspensioïde eigenschappen.

Voor het geval, dat er meer overeenkomst tusschen de verschijnselen bij *Chlamydomonas* en het uitzouten van emulsoïden bestond, zouden de anionen en de kationen der zouten volgens een bepaalde volgorde meer of minder invloed moeten uitoefenen. De anionen en de kationen vormen, wat hun invloed bij de uitzouting betreft, de z.g. lyotrope reeksen. Voor de anionen is de reeks (de reeks van HOFMEISTER) de volgende:

SO_4 , acetaat, Cl, ClO_3 , NO_3 , Br, J, CNS.

Om na te gaan of de invloed der zouten op de bewegelijkheid van *Chlamydomonas* volgens deze reeks verminderde of vermeerderde, werden proeven gedaan in KCl, KNO_3 , KBr, KJ en KCNS. Al deze proeven werden verricht met individuen van *Chlamydomonas* uit één cultuur. De volgende volgorde werd geconstateerd:

J, NO_3 , Cl, Br, CNS.

Het is duidelijk, dat deze volgorde niets lijkt op die in de reeks van HOFMEISTER. Intusschen bewijst deze uitkomst niet veel. De reeksen der ionen vertoonen de omgekeerde volgorde wanneer het milieu van alcalisch zuur wordt. In neutrale oplossingen krijgt men overgangsreeksen, waarin de volgorde veranderd is. De proeven met *Chlamydomonas* werden uitgevoerd in zwak alcalisch milieu, veel kans bestond er dus niet, dat we de reeks zouden terugvinden. Het was echter noodzakelijk in zwak alcalisch milieu te werken, omdat er anders veel kans bestaan had, dat we de zouten bij een H-ionenconcentratie vergeleken, waar voor het eene zout een maximum en voor een ander zout een

minimum in de lijn, die de critische concentraties verbindt, te vinden was.

We hebben bij den invloed van zouten op de bewegelijkheid van *Chlamydomonas* geen argument kunnen vinden, dat aanleiding geeft om een vergelijking te maken met de uitzouting van emulsoïden. Alle bijzonderheden, die we hebben opgemerkt doen ons denken aan verschijnselen, zooals die bij suspensoiden worden waargenomen. Aangezien we echter met amphotere stoffen te maken hebben, zijn we genoodzaakt de plasmacolloïden te vergelijken met colloïdale stoffen, die wel door hun positieve of negatieve lading, naarmate ze in zuur of alcalisch milieu vertoeven, tot de emulsoïden gerekend moeten worden, maar in verband met de andere eigenschappen, die ze vertoonen, zich als suspensoiden gedragen. Veel keus is er nu niet meer. Tot de weinige colloïdale stoffen, die voor een vergelijking in aanmerking komen, behooren de globulinen, waarop wij reeds de aandacht vestigden. De eigenschappen der plasmacolloïden van *Chlamydomonas* vertoonen dus ten opzichte van zuur, base en zout veel overeenkomst met de eigenschappen der globulinen.

§ 6. *Aanwijzingen voor een zwak alcalische reactie in het isoëlectrische punt van de plasmacolloïden.*

De H-ionenconcentratie, waarbij een colloïdale stof niet met zuur of met base verbonden is, noemt men het isoëlectrische punt. Volgens MICHAËLIS (1914, blz. 39) zijn amphotere stoffen isoëlectrisch, wanneer bij een bepaalde concentratie van de ampholyt de som van anionen en kationen ervan een minimum bereikt heeft; voegt men zuur toe, dan gedraagt de stof zich als een base, bij toevoeging van een base als een zuur.

In vele gevallen kan men constateeren, dat het isoëlectrische punt bereikt is, wanneer de colloïdale deeltjes bij kataphorese zich niet verplaatsen of ten deele naar de kathode, ten deele naar de anode gedreven worden.

Het isoëlectrische punt kan men ook indirect bepalen. In den isoëlectrischen toestand heeft vaak uitvloeking plaats. Bij de zwelling van colloïdale stoffen valt het isoëlectrische punt samen met het minimum van zwelling. Van een colloïdale oplossing zou de inwendige wrijving een minimum zijn in het isoëlectrische punt.

In vele gevallen zijn voornamelijk de H-ionen en de OH-ionen van invloed op den electrischen toestand van de colloïdale deeltjes. Zij bepalen dan de plaats van het isoëlectrische punt. Heeft het amphotere colloïd echter suspensioïde eigenschappen, dan zijn de ionen der zouten eveneens van grooten invloed op de ligging van het isoëlectrische punt.

Het was niet mogelijk het isoëlectrische punt van de plasmacolloïden van *Chlamydomonas* direct te bepalen. De groote spanning tusschen de electroden, die noodig geweest zou zijn, om het organisme in zijn geheel aan de kataphorese-proef te onderwerpen, zou den dood van de wieren veroorzaakt hebben.

Een poging om door middel van de galvanotactische reactie in oplossingen van verschillende H-ionen-concentratie iets te weten te komen omtrent de ligging van het isoëlectrische punt mislukte, doordat *Chlamydomonas* niet op zwakke electrische stroomen reageerde.

Indirect kunnen we in de krommen de plaats bepalen, waarbij de plasmacolloïden isoëlectrisch zijn.

Is onze voorstelling omtrent de symmetrie van het middelste gedeelte van de krommen juist, dan moet het isoëlectrische punt ongetwijfeld gevonden worden op de plaats, waar de as van symmetrie de kromme

snijdt. Voor K_2SO_4 (fig. 2, blz. 51) bij 0,00040 n. KOH, voor KCl (fig. 4, blz. 56) bij 0,00045 n. KOH en voor KNO_3 (fig. 5, blz. 57) bij 0,00030 n. KOH.

Al zou men zich niet kunnen vereenigen met de voorstelling, die wij van het verloop van het middelste gedeelte van de krommen gegeven hebben, dan blijft toch de kans groot, dat in de oplossingen van KNO_3 en van KCl de plasmacolloïden respectievelijk bij 0,00010 n. KOH (fig. 5, blz. 57) en bij 0,00025 n. KOH (fig. 4, blz. 56) isoëlectrisch zijn. We vinden namelijk, dat de zouten bij deze concentraties van kaliumhydroxyde den minsten invloed hebben.

In beide gevallen vinden we het isoëlectrische punt in een zwak alcalische oplossing.

Dat het isoëlectrische punt niet op dezelfde plaats gevonden wordt voor de verschillende zouten, zal in hoofdzaak wel veroorzaakt worden, doordat de ionen der zouten van invloed zijn op den electricen toestand van de plasmacolloïden. Bovendien is in hoofdstuk III betoogd, dat de uitkomsten voor de oplossingen van verschillende zouten slechts onder voorbehoud mogen worden vergeleken.

Ik meen intusschen, dat de figuren uitwijzen, dat de isoëlectrische toestand bij zwak alcalische reactie te vinden is.

§ 7. *Electriche verschijnselen aan de oppervlakte van het glas veroorzaken complicaties bij de reacties van Chlamydomonas.*

Er zijn nog eenige verschijnselen, die een aanwijzing zouden kunnen geven over de ligging van het isoëlectrische punt. Ontladen of bijna ontladen deeltjes kleven aan een, wanneer ze met elkaar in aanraking komen. Ook kunnen ze zich afzetten op een vast voorwerp,

dat niet of slechts weinig geladen is. De trilharen van *Chlamydomonas* bestaan uit naakt protoplasma. Bezitten de plasmacolloïden een bepaalde lading, dan kunnen ook de trilharen in hun geheel die lading vertoonen. In een oplossing, waarin de plasmacolloïden isoëlectrisch zijn, zou men dus kunnen verwachten, dat de wieren met de trilharen aan den wand of onderling vastkleefden. Beide verschijnselen treden inderdaad onder bepaalde omstandigheden op.

Over het vastkleven van *Chlamydomonas* aan den glazen wand is reeds in hoofdstuk II gesproken. We hebben het verschijnsel daar een thigmotactische reactie genoemd. Bij de verschillende zouten trad het niet altijd even duidelijk op. Bij KCl werd slechts in enkele oplossingen een onduidelijke thigmotactische reactie waargenomen. In de acetaatoplossingen werd het verschijnsel heelemaal niet opgemerkt. Voor K_2SO_4 en KNO_3 is in de figuren 6, blz. 66, en 7, blz. 68, met het teeken $\times$ aangegeven bij welke concentraties het verschijnsel zeer duidelijk waar te nemen was.

Uit de figuren is te zien, dat de vereischte oplossingen voor het meerendeel zwak zuur waren. In ieder geval zijn de oplossingen steeds zuurder dan de oplossingen, waarin we de plasmacolloïden isoëlectrisch verondersteld hebben. Voor dit verschil is echter een verklaring te vinden.

Brengt men water in een glazen vat, dan krijgt het glas een lading. FREUNDLICH meent, dat de lading veroorzaakt wordt doordat het glas ionen adsorbeert. Electrolyten, die in het water opgelost zijn, hebben invloed op de lading van het glas. In alcalische, neutrale en uiterst zwak zure oplossingen, die geen zout bevatten is de lading van het glas ten opzichte van het water negatief. In de overige zure oplossingen neemt de lading sterk af.

De toestand is nu waarschijnlijk deze: de trilharen zijn isoëlectrisch, dus ontladen in zwak alcalische

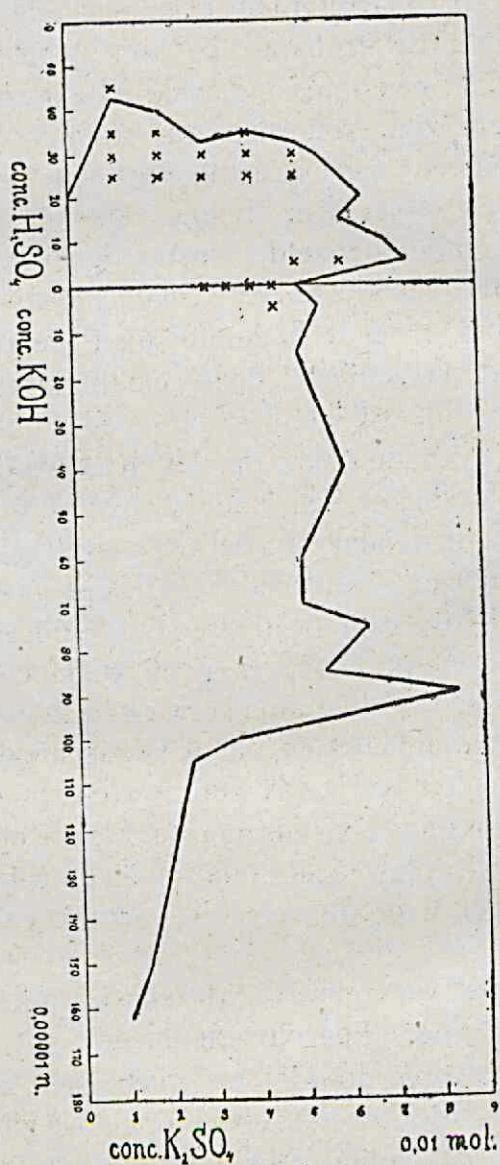


Fig. 6.

oplossing; het glas heeft een geringe lading in zure oplossingen. Het is dan niet vreemd, dat het verschijnsel in zwak zure oplossing plaats vindt. Voor K₂SO₄ (fig.

6), waar we het verschijnsel ook waarnemen in oplossingen die weinig zout bevatten, zien we, dat deze oplossingen 0,00020 — 0,00045 n. H_2SO_4 bevatten.

Ter vergelijking kunnen we het gedrag vermelden van de guttegomdeeltjes uit de suspensies van PERRIN (zie: les Atomes, blz. 139.) Deze suspensies gedragen zich als oplossingen van negatieve suspensoïden. Zij zijn in zuuroplossingen, sterker dan 0.01 normaal, ontladen. Hierin kleven de deeltjes aaneen. Ze zetten zich echter reeds in minder zure oplossingen op het glas vast. In deze oplossingen is de lading van het glas reeds veel verminderd. Hier heeft dus onder invloed van de elektrische verschijnselen aan de oppervlakte van het glas een verschuiving van de afzetting plaats naar minder sterke zuuroplossingen.

Bij de afzetting van *Clamydomonas* was de verschuiving in omgekeerden zin; daar waren de trilharen dan ook in zwak alkalische oplossing ontladen.

We kunnen aannemen, dat de thigmotactische reactie van *Chlamydomonas* ten opzichte van den glazen wand zeer waarschijnlijk onder invloed van elektrische verschijnselen aan de oppervlakte van het glas in zure oplossingen plaats vindt.

Het tweede verschijnsel, dat in verband zou kunnen staan met den isoëlectrischen toestand van de plasma-colloïden n.l. het onderling aaneenkleven van de individuen van *Chlamydomonas*, openbaarde zich in de proeven, doordat de wieren bij de reactie op de zwaartekracht vaak aggregaten vormden (zie hoofdstuk II, § 6.)

In welke oplossingen het aaneenkleven plaats vond, werd niet opgeteekend, alleen meen ik opgemerkt te hebben, dat het in de meest alkalische oplossingen niet voorkwam.

Het vormen van aggregaten, doordat de wieren met de trilharen aaneen kleven, en de afzetting op den wand zijn verschijnselen, die ongetwijfeld met den electrischen toestand van de plasmacolloïden in verband

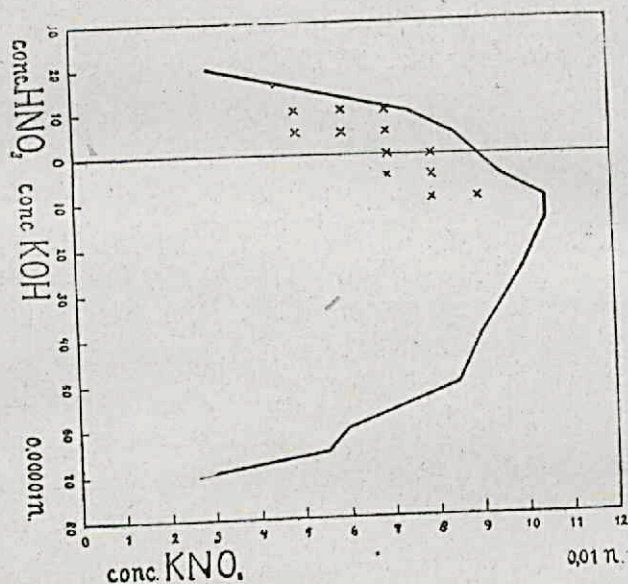


Fig. 7.

staan. Toch hebben deze verschijnselen ons geen middel aan de hand gedaan, om de ligging van het isoëlectrische punt te contrôleeren. Daarom moeten we bij de beoordeeling van andere verschijnselen in verband met den electrischen toestand van de plasmacolloïden zeer voorzichtig zijn.

Van de verschijnselen, die we nog meer opgemerkt hebben, zijn er twee in verband met 't voorgaande van groote beteekenis. In de eerste plaats hebben we in hoofdstuk I, § 2 waargenomen, dat er voor de chemotactische reactie van *Chlamydomonas* een zuur-optimum bestaat. Dit moet liggen in de buurt van $[H] = 10^{-5}$. Verder merkten we op (hoofdstuk II, § 5 en § 6), dat in oplossingen, waar vasthechting op het glas plaats heeft, positieve phototaxis kan

optreden, terwijl in alle andere oplossingen, waarin de bewegelijkheid groot genoeg is, negatieve phototaxis waargenomen wordt.

Zoowel de H-ionenconcentratie, die de wieren uit zichzelf opzoeken (de optimum-H-ionenconcentratie of de optimumzuurconcentratie) als de H-ionenconcentratie, waarbij de overgang van positieve naar negatieve phototaxis plaats heeft, liggen evenals de concentratie, waar de afzetting op glas het duidelijkst waargenomen wordt, in de zuurste oplossingen. De mogelijkheid bestaat, dat evenals de H-ionenconcentratie, waar de afzetting zeer duidelijk is, ook de beide andere H-ionenconcentraties onder invloed van de lading van het glas te groot worden waargenomen. Immers, in alle gevallen, waar de bewegelijkheid groot is, komen de wieren, hetzij door de reactie op het licht of door die op de zwaartekracht voortdurend met de trilharen in botsing met den glazen wand. Zij zullen daarbij zeer waarschijnlijk lading afstaan of lading opnemen; het resultaat kan zijn, dat vele verschijnselen in een meer zure oplossing plaats vinden, dan wanneer de invloed van het glas ware uitgeschakeld.

De gevolgen hiervan zullen we niet alle bespreken. Slechts één ervan is te belangrijk, dan dat het niet ter sprake gebracht zou moeten worden: de positieve chemotaxis van *Chlamydomonas* ten opzichte van zuren wordt misschien slechts veroorzaakt onder invloed van de negatieve lading van het glas. De optimum-H-ionenconcentratie zou zelfs verwacht kunnen worden in het isoëlectrische punt, dat is in zwak alcalische vloeistoffen, waardoor de positieve chemotaxis ten opzichte van zuren veranderen zou in een positieve chemotaxis ten opzichte van basen.

De lading van het glas zou ook van invloed geweest kunnen zijn op de waarden, die we voor de grens-

concentraties gevonden hebben. Hierdoor zou een verschuiving van de krommen naar een groter H-ionenconcentratie veroorzaakt kunnen zijn. Deze verschuiving kan echter niet zeer groot geweest zijn, aangezien de bewegelijkheid van *Chlamydomonas* in de oplossingen met de grensconcentraties niet groot was, waardoor botsingen met den glazen wand niet of betrekkelijk weinig voorkwamen.

BEKNOPT OVERZICHT VAN DEN INHOUD.

HOOFDSTUK I.

§ 1. De wijze van werken, die men volgt bij de bestudeering van chemotactische verschijnselen wordt vergeleken met de werkwijze voor het onderzoek van phototropische en geotropische processen. Hierdoor is het mogelijk, de veronderstelling over de gescheiden gevoeligheden voor verschillende chemotactisch werkzame stoffen voorbarig te noemen.

§ 2. Aan de hand van gegevens uit de litteratuur wordt aangetoond, dat de capillair-methode geen zeer geschikte methode is, om nader inzicht te verkrijgen in het wezen van de chemotactische verschijnselen.

§ 3. Besproken wordt, dat men zich een colloïd-chemische voorstelling van den invloed der chemotactica kan vormen.

HOOFDSTUK II.

§ 1. Aangegeven wordt, hoe de wieren, die voor de proeven gediend hebben, gekweekt werden. Bij determinatie bleek, dat het gebruikte wier *Chlamydomonas variabilis* was.

§ 2. Besproken wordt, dat de termen physisch proces, chemisch proces, physiologisch proces en prikkelproces ongeschikt zijn om de verschillende verschijnselen uit de physiologie uit elkander te houden.

§ 3. Voor *Chlamydomonas variabilis* Dangeard werd een zeer duidelijke positieve geotaxis waargenomen, terwijl uit de litteratuur blijkt, dat eenige onderzoekers *Chlamydomonas pulvisculus* negatief geotactisch bevonden hebben.

§ 4. Besproken wordt, dat de reactie op de zwaartekracht niet meer plaats heeft na toevoeging van kleine hoeveelheden zuur, base of zout aan het water, waarin de wieren zich bevinden.

§ 5. Er wordt meegedeeld, dat de gevoeligheid van *Chlamydomonas* voor het licht, evenals die voor de zwaartekracht onder invloed van toegevoegde electrolyten verminderd wordt. Behalve een negatieve phototactische reactie, kan een positieve reactie optreden.

Steeds bevatten de oplossingen, waarin de positieve phototaxis optreedt een zoo groot electrolytgehalte, dat een zeer kleine concentratieverhooging ongevoeligheid voor het licht en voor de zwaartekracht veroorzaakt.

§ 6. De afzetting van *Chlamydomonas* op den wand (thigmotaxis) geschiedt, doordat de uiteinden der trilharen aan het glas vastkleven. De thigmotactische verschijnselen hebben alleen plaats in oplossingen, die niet duidelijk alcalisch zijn. In oplossingen, die alleen zuur, althans weinig zout bevatten, komt het verschijnsel vaak voor, wanneer het zuurgehalte bijna zoo groot is, dat de bewegelijkheid zeer gering is en dus ook ongevoeligheid voor licht en zwaartekracht optreedt.

De individuen van *Chlamydomonas* kunnen ook onderling aaneenkleven met de trilharen. Dit verschijnsel kan zoo algemeen in een preparaat optreden, dat het ook macroscopisch zichtbaar wordt.

§ 7. Besproken wordt, op welke stoffen *Chlamydomonas* chemotactisch reageert.

Het is mogelijk in het donker onder het dekglas met *Chlamydomonas* een zuurstoflijn te doen ontstaan. Dit wordt nog niet als een bewijs aangezien, dat *Chlamydomonas* werkelijk op de zuurstof van de lucht reageert. Besproken wordt, hoe bij de proef onder het dekglas ook de koolzuurconcentratie moet veranderen. Met behulp van spirillen kon worden aangetoond, dat onder invloed van koolzuurgas een verplaatsing van de zuurstoflijn, gevormd door spirillen was te veroorzaken; met stikstof, zuurstof en lucht was dat niet mogelijk.

HOOFDSTUK III.

§ 1. Het is gemakkelijk waar te nemen, of de organismen zeer bewegelijk of slechts weinig bewegelijk zijn. Door grensconcentraties te bepalen, was het mogelijk de critische concentratie te berekenen, waar theoretisch de overgang van zeer bewegelijk naar weinig bewegelijk plaats vond. De bewegelijkheid werd beoordeeld met behulp van de reactie op de zwaartekracht.

§ 2. Het bleek noodzakelijk de proeven in buisjes met denzelfden diameter te doen plaats hebben. De invloed van de temperatuur was van weinig beteekenis. De proeven werden uitgevoerd, blootgesteld aan eenzijdig diffuus daglicht; een poging om in het donker te experimenteren mislukte, doordat daarbij zeer ongeregelde uitkomsten verkregen werden.

§ 3. Behandeld wordt, hoe de wieren, bevrijd van de cultuurvloei-stof in de electrolytoplossingen gebracht werden. Hierbij werden ze gedurende korten tijd met gedestilleerd water gewasschen. De gevoeligheid voor electrolytoplossingen, veranderde daardoor niet. Steeds werden ongeveer evenveel organismen voor elke proef gebruikt.

§ 4. In verband met den grooten invloed van de H-ionen en van de OH-ionen, was het wenschelijk, de oplossingen, behalve ten opzichte van de zoutconcentratie ook regelmatig te laten veranderen ten opzichte van het H- en het OH-ionengehalte.

De oplossingen werden in reeksen gebruikt. In elke reeks was de H-ionenconcentratie constant. De verschillende reeksen varieerden, wat betreft het waterstof-ionengehalte. Met behulp van de reeksen werden grensconcentraties bepaald en daaruit critische concentraties berekend.

De electrolyten zijn grootendeels in ionen gesplitst; het ligt voor de hand den invloed van de electrolyten aan de ionen toe te schrijven. Bij neutrale zouten zijn de anionen en de kationen steeds in dezelfde verhouding aanwezig. In zoutoplossingen neemt men dus steeds den invloed waar van gelijke hoeveelheden anionen en kationen gezamenlijk.

Het product van het aantal H-ionen en OH-ionen is constant. Hierdoor is het mogelijk den invloed van de H-ionen en van de OH-ionen ieder afzonderlijk na te gaan. Ten gevolge daarvan worden ook in een reeks met constant zoutgehalte, maar met regelmatig toeneemende H-ionenconcentratie twee critische concentraties gevonden, terwijl in een reeks met constante H-ionenconcentratie één critische concentratie gevonden werd.

§ 5. De critische concentraties en de grensconcentraties worden aangegeven in een rechthoekig tweeassig coördinaten stelsel; op de ordinaat-as wordt de zuur- of baseconcentratie en op de abscis-as wordt de zoutconcentratie aangegeven.

§ 6. Zoutoplossingen met regelmatig uiteenlopende H-ionenconcentratie werden verkregen door kleine hoeveelheden zuur of base toe te voegen. Hierbij moeten bepaalde voorzorgsmaatregelen in acht genomen worden.

Bij de acetaatoplossingen werden de oplossingen zuur gemaakt met azijnzuur. In dit geval verkrijgt men bufferoplossingen, hetgeen bepaalde voordeelen biedt.

HOOFDSTUK IV.

§ 1. Besproken wordt, dat de H-ionen en de OH-ionen van grooten invloed zijn op de beweeglijkheid van *Chlamydomonas*. Om dit aan te toonen werd gebruik gemaakt van mengsels van natriumacetaat met azijnzuur en met kaliumhydroxyde, waarin het acetaatgehalte constant was, terwijl de H-ionenconcentratie regelmatig veranderde.

§ 2. De proeven over den invloed van zure en alcalische oplossingen van K_2SO_4 , KCl en KNO_3 werden zesvoudig uitgevoerd, waardoor de uitkomsten veel betrouwbaarder werden.

Aangegeven wordt, hoe de critische concentratie berekend werd. Bij het gebruik van een nieuwe cultuur werden de onmiddellijk voorafgaande proeven herhaald om te zien, of de organismen uit de nieuwe cultuur even gevoelig waren voor electrolyten als die uit de oude cultuur. Meestal waren de verschillen onbeteekenend.

Voor KCl werd éénmaal een belangrijke verandering van de gevoeligheid waargenomen. Besproken wordt, hoe de gewijzigde gevoeligheid veroorzaakt zou kunnen zijn onder invloed van een cultuurvloei-stof van eenigszins andere samenstelling.

§ 3. Besproken wordt, hoe de invloed van base en zout volgens het verloop van de kromme voor K_2SO_4 in de meest alcalische oplossingen ongeveer additief is, terwijl de invloed van mengsels van zuur en zout niet additief kan zijn. Zuur en zout gaan elkaars invloed tegen. Dit blijkt ook uit de figuur van natrium-acetaat in de meest zure oplossingen.

Een overeenkomstig gedrag ten opzichte van mengsels van zout en base en van zout en zuur, werd door HARDY geconstateerd bij het weder in oplossing gaan van colloïdale globulinen, die door kleine electrolyt-hoeveelheden waren uitgevlokt.

§ 4. Besproken wordt, hoe het middelste gedeelte van de krommen vaak een grillig uiterlijk heeft, door de aanwezigheid van maxima en minima. Meestal zijn vijf maxima te onderscheiden.

Door dit gedeelte van de kromme kan een as van symmetrie getrokken worden. Deze as loopt vaak niet horizontaal. De mogelijkheid bestaat, dat de symmetrie veroorzaakt wordt, doordat we te doen hebben met de werking van ionen.

De hoofdrichting van het middelste gedeelte der kromme wordt misschien beïnvloed door de waardigheid der ionen.

De aanwezigheid der toppen kan niet onmiddellijk verklaard worden.

§ 5. Aangetoond wordt, hoe de plasmacolloïden

alleen vergeleken kunnen worden met colloïden, die zich als zuur en base kunnen gedragen, maar verder eigenschappen van de suspensoiden bezitten. Voor een vergelijking komen weer de globulinen in aanmerking.

§ 6. Uit de figuren wordt afgeleid, dat het isoëlectrische punt (volgens MICHAËLIS) van de plasmacolloïden verwacht kan worden in zwak alcalische oplossing. Direct was de ligging van dit punt niet te bepalen.

§ 7. Besproken wordt, hoe er nog twee andere verschijnselen zijn, die aanwijzingen zouden kunnen geven over de ligging van het isoëlectrische punt, n.l. de vasthechting op het glas en het onderling aaneenkleven van de wieren met de trilharen. Het eerste verschijnsel had echter in oplossingen plaats, die meer zuur waren, dan die, waarin de wieren volgens het verloop der krommen isoëlectrisch zijn. Dit wordt toegeschreven aan de negatieve lading van het glas ten opzichte van alcalische, neutrale en zeer zwak zure oplossingen.

In welke oplossingen het onderling aaneenhechten plaats vond, werd niet aangeteekend.

Behalve dat bij vasthechting aan het glas, de invloed van de lading van het grensvlak glas — water een rol speelt, kan een verschuiving van de verschijnselen naar meer zure oplossingen verwacht worden in alle gevallen, waar de bewegelijkheid der wieren zeer groot is. Onder invloed van het licht of van de zwaartekracht komen de wieren dan steeds voortdurend met de trilharen met het glas in contact, waardoor opname of afgave van electriciteit plaats kan hebben.

Er wordt op gewezen, hoe het zuuroptimum van *Chlamydomonas* bij chemotactische proeven wellicht ook alleen onder invloed van het glas een zuuroptimum is.

LITTERATUUR-OVERZICHT.

- W. H. ARISZ. 1914. Onderzoekingen over Fototropie. Dissertatie, Utrecht.
- C. E. B. BREMEKAMP. 1915. Over den invloed, dien licht- en zwaartekrachtreacties bij planten op elkaar uitoefenen. Verslag van de Wis- en Natuurkundige Afdeeling van de Koninklijke Academie van Wetenschappen te Amsterdam van 27 Maart 1915. Deel XXIII.
- J. BUDER. 1914. Fortschritte aus dem Gebiete der Botanischen Physiologie und Vererbungslehre. Biologenkalender, 1914.
- J. BUDER. 1917. Zur Kenntniss der phototaktischen Richtungsbewegungen. Jahrbücher für Wissenschaftliche Botanik, Band 58, 1917.
- P. A. DANGEARD. 1898. Mémoire sur les *Chlamydomonadinées*. Le Botaniste, sixième série, 1898.
- F. W. ENGELMANN. 1881. Neue Methode zur Untersuchung der Sauerstoffausscheidung pflanzlicher und thierischer Organismen. Botanische Zeitung, 39ter Jahrgang, 1881.
- H. FREUNDLICH. 1909. Kapillarchemie. Leipzig.
- W. B. HARDY. 1905. Colloïdal solution. The Globulins. The Journal of Physiology. Vol. XXXIII, 1905—'06.
- H. C. JACOBSEN. 1910. Kulturversuche mit einigen niederen *Volvocaceën*. Zeitschrift für Botanik, zweiter Jahrgang, 1910.
- H. S. JENNINGS. 1914. Die niederen Organismen, deutsche Uebersetzung von E. Mangold, Leipzig.
- P. JENSEN. 1893. Ueber den Geotropismus niederer Organismen. Archiv für die gesammte Physiologie, Band LIII, 1893.

- H. KNIPEL. 1906. Untersuchungen über die Chemotaxis von *Bacteriën*. Jahrbücher für Wissenschaftliche Botanik, Band LIII, 1906.
- H. R. KRUYT. 1918. Strömungspotentiale und Kolloïd-stabilität. Kolloïd-Zeitschrift, Band XXII, 1918.
- S. KUSANO. 1909. Studies on the Chemotactic and other related reactions of the Swarmspores of *Myxomycetes*. Journal of the College of Agriculture, Imperial University of Tokyo, Volume II, 1909.
- R. S. LILLIE. 1904. The Relation of Ions to Ciliary Movement. The American Journal of Physiology, volume X, 1904.
- R. S. LILLIE. 1906. The relation of Ions to contractile processes, I. The Action of Salt-solutions on the ciliated Epithelium of *Mytilus edulis*. The American Journal of Physiology, volume XVII, 1906.
- J. MASSART. 1890. Recherches sur les organismes inférieurs. III, La sensibilité à la gravitation. Bulletin de l'Académie Royale de Belgique, troisième série, Tome 22, 1890.
- L. MICHAELIS. 1914. Die Wasserstoffionenkonzentration, Berlin.
- J. PERRIN. 1914. Les Atomes. quatrième édition revue, Paris.
- W. PFEFFER. 1884. Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut Tübingen, I.
- W. PFEFFER. 1888. Ueber chemotactische Bewegungen von *Bacteriën*, *Flagellaten* und *Volvocineën*. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut Tübingen, II.
- E. G. PRINGSHEIM. 1912. Die Reizbewegungen der Pflanzen, Berlin.
- T. B. ROBERTSON. 1912. Die physikalische Chemie der Proteïne. Deutsche Uebersetzung von F. A. Wynnck, Dresden.

- C. J. RUTTEN—PEKELHARING. 1910. Untersuchungen über die Perception des Schwerkraftreizes. Recueil des Travaux Botaniques Néerlandais. Volume VII, 1910.
- F. SCHWARZ. 1884. Der Einfluss der Schwerkraft auf die Bewegungsrichtung von *Chlamydomonas* und *Euglena*. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. Band 2, 1884.
- K. SHIBATA. 1905. Studien über die Chemotaxis der *Isoëtes*-spermatozoïden. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Band XLI, 1905.
- K. SHIBATA. 1911. Untersuchungen über die Chemotaxis der *Pteridophyten*-spermatozoïden. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Band XLI, 1911.
- B. STANGE. 1890. Über Chemotactische Reizbewegungen, Botanische Zeitung, 48ter Jahrgang, 1890.
- C. VOEGLER. 1891. Beiträge zur Kenntniss der Reizerscheinungen. Botanische Zeitung, 49ter Jahrgang, 1891.
- N. WILLE. 1903. Algologische Notizen IX. Nyt Magasin for Naturvindenskaberne, Band 41, 1903.



STELLINGEN.

- I. De verklaring van MORGAN van de verhouding tusschen de gevallen, waar wel en waar niet „crossing-over” plaats heeft, is zeer aannemelijk. (MORGAN. Mechanism of mendelian heredity.)
- II. De zoogenaamde zuurstoflijnen, die bacteriën onder een dekglas vormen, worden niet veroorzaakt door de diffusie van zuurstof.
- III. Op welke wijze een Protozoön reageert op zwakke gelijkstroomen, hangt af van de lading van de plasmacolloïden van het dier.
- IV. Het ontbreken of voorkomen van pyrenoïden kan niet als een systematisch kenmerk gelden.
- V. WILLIS heeft overtuigend aangetoond, dat er bij de *Podostemonaceeën* geen questie van aanpassing is.
- VI. Het is van belang na te gaan, of voor de onderscheiding der granen overeenkomstige kenmerken bruikbaar zijn als voor de onderscheiding van de individuen uit het geslacht *Saccharum*. (JESWIET. Archief voor de suikerindustrie in Ned. Indië, 1916—1918.)
- VII. Chiastoneurie is geen deugdelijk systematisch verschil tusschen *Pulmonaten* en *Prosobranchiaten*.

- VIII. De neiging tot copulatie van eencellige, bewegelijke organismen wordt beïnvloed door het electrolyt-gehalte van het milieu.
- IX. De heterocysten van de *Cyanophyceen* zouden kunnen worden opgevat als gereduceerde sporangiën.
- X. Dat de buizen der *Scolithus*-zandsteen door wormen veroorzaakt zouden zijn, is onwaarschijnlijk.
- XI. De thigmotaxis van *Paramecium* kan voorloopig niet als een ingewikkeld fysiologisch verschijnsel beschouwd worden.
- XII. Er is geen enkel argument gevonden voor de veronderstelling dat de asymmetrie van den schedel der *Odontoceten* samenhangt met de asymmetrie van de staart.
- XIII. De potklei is van zuidelijken oorsprong.
- XIV. De term „kernchimaere” is misleidend.
- XV. Er is nog niet aangetoond, dat het licht of de zwaartekracht als een prikkel kan werken op groeiende plantendeelen.
-



A