



Groei, groeistof en pH

<https://hdl.handle.net/1874/346464>

A. qu. 192. 1940

**GROEI, GROEISTOF
EN pH**

A. M. A. VAN SANTEN

GROEI, GROEISTOF EN pH

RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT



0885 6308

Diss. Utrecht, 1940

GROEI, GROEISTOF EN pH

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE AAN
DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT OP
GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
Dr. F. H. QUIX, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE, VOLGENS
BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNIVERSITEIT
TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT
DER WIS- EN NATUURKUNDE TE VERDEDIGEN
OP MAANDAG 8 JULI 1940 TE 17 UUR

DOOR

ANNA MARTINA ADRIANA VAN SANTEN
GEBOREN TE 's GRAVENHAGE

N.V. DRUKKERIJ P. DEN BOER - UTRECHT



AAN MIJN OUDERS

Op dit voor mij zoo belangrijke tijdstip gaat mijn dank in de eerste plaats uit naar mijn Ouders. De jaren aan de Universiteit, die zij mij gegeven hebben en waarin zij mij ook zoo ten volle van het studentenleven hebben laten genieten, maken dat alleen aan hen de in die jaren vergaarde kennis kan worden opgedragen.

De duizenden haverkorrels, die zij voor mijn proeven gepeld hebben, zijn voor mij een symbool van de liefde en zorg, waarmee zij mij mijn heele leven hebben omringd.

In mijn dankbare herinnering leeft het beeld van Dr. Blokhuys, de Rector, die mijn gymnasiumjaren tot zulk een gelukkigen tijd maakte. Het voorrecht, een klassikale opleiding te hebben genoten, zal ik nooit genoeg kunnen waardeeren.

Hoogleraren in de faculteit der Wis- en Natuurkunde, in de afgelopen jaren hebt gij mij veel gegeven, dat niemand mij in de toekomst zal kunnen ontnemen. Het is mij een vreugdevolle taak, U hiervoor bij het einde van mijn studie te mogen danken.

Hooggeleerde Westerdijk, Jordan, Pulle, Honing, Ornstein en Kruyt, het vele, dat ik van U leerde in colleges en practica, op refereravonden en excursies, is mij toch nooit genoeg geweest. Hoe gaarne had ik niet in elk van de door U onderwezen vakken veel dieper willen doordringen, ware het niet, dat een klein probleem onze gansche aandacht vergt, wil het grondig onderzocht worden.

Steeds zal ik blijven beseffen, welk een voorrecht het was, te hebben mogen studeeren onder de leiding van wijlen de Hoogleraren Went en Nierstrasz.

Hooggeleerde Koningsberger, Hooggeachte Promotor, reeds in de eerste klasse van het gymnasium hebt gij in mij de nieuwsgierigheid naar de wonderen van het leven wakker geroepen, die sommige menschen noopt om bioloog te worden. De jaren, waarin ik als assistent op Uw laboratorium werkzaam mocht zijn en waarin gij mij tevens in staat stelde dit proefschrift te bewerken, zullen altijd tot de rijkste jaren van mijn leven blijven behooren. Ik dank U wel zeer in het bijzonder voor Uw steun en leiding in de laatste maanden, zonder welke dit proefschrift thans niet versche-

nen zou zijn. Voor de groote gastvrijheid, die ik steeds in Uw huis mocht genieten, ben ik Mevrouw Koningsberger en U diep erkentelijk.

Mijn mede-assistenten en hen, die dit thans niet meer zijn, dank ik voor hun vriendschap, hun stimuleerende samenwerking en het vele, dat ik van hen geleerd heb.

Waarde Gombert, het was tot ons beider teleurstelling, dat de proeven met de wortels van *Lupinus luteus* een negatief resultaat gaven. Ik dank U voor de maanden van arbeid, waarop ik voort mocht bouwen.

De velen, die door hun vriendschap mijn jaren onder den St. Maarten tot zoo'n heel bijzonderen tijd gemaakt hebben, kan ik niet allen persoonlijk danken. Het is mij een vreugde te weten, dat zij meer dan woorden van mij verwachten.

Het heele personeel van het Botanisch Laboratorium en den Hortus Botanicus dank ik voor hun hulpvaardigheid en den opgewekten geest, die steeds tusschen ons heeft geheerscht.

Waarde Visser, de analyses, die gij voor mij uitvoerde, zijn voor dit proefschrift van groote waarde geweest.

Waarde P. A. de Bouter, U dank ik voor Uw niet genoeg te waardeeren technische hulp en vindingrijkheid.

Tenslotte ben ik U, waarde A. de Bouter, zeer erkentelijk voor de keurige verzorging van het teekenwerk.

INHOUD.

	Blz.
Hoofdstuk I. Inleiding	3
Hoofdstuk II. Literatuur over den invloed van de waterstof-ionenconcentratie op den groei . . .	9
Hoofdstuk III. De tweetoppige krommen van Strugg er voor den invloed van de pH op den groei van <i>Helianthus annuus</i>	23
A. De kromme voor <i>Helianthus</i> wortels.	
B. De kromme voor <i>Helianthus</i> hypocotylen.	
Hoofdstuk IV. De invloed van de pH op den wortelgroei	30
A. Literatuur over wortelgroei.	
B. Methode.	
C. Proeven met <i>Pisum sativum</i> .	
D. Proeven met <i>Helianthus annuus</i> .	
Hoofdstuk V. Bestaat er een groeiproces zonder groeistof?	44
A. De groei van geïsoleerde cilindervan <i>Avena</i> coleoptielen.	
B. Onderzoek naar het verdwijnen van groeistof met de „deseeded test” van Sk o o g.	
C. Proeven met <i>Lupinus luteus</i> als groeistof-testobject.	
D. Onderzoek naar het verdwijnen van groeistof met de „quartered coleoptile test” van Thimann en Schneider.	
Hoofdstuk VI. Groeistof en pH	63
Samenvatting	69
Literatuuroverzicht	71

Als gevolg van de tijdsomstandigheden verschijnt dit proefschrift in den vorm van een samenvatting van een uitvoerige publicatie, welke ter gelegener tijd zal verschijnen in het „Recueil des Travaux botaniques néerlandais”.

Ter wille van de internationale verspreiding is de volledige publicatie in de Engelsche taal geschreven. Uit praktische overwegingen zijn daarom de bijschriften in de figuren in deze taal gesteld.

HOOFDSTUK I.

INLEIDING.

„Zonder groeistof geen groei”.

Dit veel omstreden axioma van *Went* (1928) vormt het thema van deze dissertatie.

Volgens de gangbare opvatting wordt groeistof in het licht gevormd in jonge organen van groene planten en tijdens de vruchtrijping opgehoopt in het zaad. Wanneer het zaad ontkiemt, wordt de groeistof in onwerkzamen vorm naar den top van het kiemplantje gevoerd, daar geactiveerd en in actieven vorm getransporteerd naar de zone van maximalen groei vlak onder den top.

Hier regelt groeistof de strekking van de jonge cellen door de rekbaarheid van de celwanden te vergrooten, waarna de turgor de plastisch gemaakte wanden gemakkelijk kan uitrekken. Tevens veroorzaakt zij de vorming van nieuwe cellulose micellen in de intermicellaire wandsubstantie. Hierdoor wordt de rekking gefixeerd en de celstrekking is voltooid.

In 1931 werd de stof in zuiveren vorm geïsoleerd door *Kögl* en *Hagen Smit*, die haar den naam *auxine* gaven. Een aantal chemisch zuivere stoffen hebben een werking analoog aan die van *auxine*. Van deze stoffen is heteroauxine of indol-3-azijnzuur zeer belangrijk geworden, omdat het gemakkelijk in grootere hoeveelheden zuiver te verkrijgen is en niet zoo snel als *auxine* onwerkzaam wordt gemaakt door licht en andere factoren. Om deze redenen en omdat indol-3-azijnzuur in veel groeiprocessen ten naaste bij dezelfde orde van activiteit heeft als *auxine*, worden de meeste proeven over groeistofproblemen gedaan met deze stof, die echter in hogere planten in werkelijkheid niet is aangetoond.

Voor een overzicht van het uitgebreide groeistofonderzoek der laatste kwarteeuw mag ik verder verwijzen naar de meest recente samenvattingen (*Boysen Jensen*, *Avery* en *Burkholder* 1936; *von Guttenberg* 1932—1939; *Jost* 1935, 1937; *Otte*

1937; Schlenker en Rosenthal 1937; Went en Thimann 1937; Söding 1938; Bünning 1939).

Kunnen planten nu werkelijk niet groeien, wanneer deze groeistof ontbreekt?

Went (1928) concludeerde, dat groeistof noodzakelijk was uit de overweging van de volgende feiten.

Ten eerste zag hij, dat tot een bepaalde grens de groei van het coleoptiel van *Avena sativa* evenredig was met de hoeveelheid aanwezige groeistof. Dit werd bevestigd door Thimann en J. Bonner (1933) voor *Avena* coleoptielen, door van Overbeek (1933) voor *Raphanus* hypocotylen en door Dijkman (1934) voor *Lupinus* hypocotylen.

In de tweede plaats was Dolk erin geslaagd om den groei van haver-coleoptielen te doen ophouden door de onttrekking van groeistof en dezen opnieuw te doen beginnen door de toevoeging daarvan (Dolk 1930, vermeld door Went 1928).

Went zelf echter constateert in zijn samenvatting van 1937: „Op zichzelf beschouwd, is de directe evenredigheid tusschen de toegediende auxine en den daardoor veroorzaakten groei geen absoluut bewijs, dat auxine onmisbaar voor den groei is. Het bewijs is pas volledig, wanneer aangetoond kan worden, dat de groei van een plant stopt, wanneer zij vrij van auxine gemaakt is, en vervolgens weer hervat wordt na het aanbrengen van groeistof.”

Niemand heeft echter ooit kunnen aantonen, dat een plant vrij van groeistof was. We kunnen dus ook niet weten, hoe een dergelijke plant op groeistof zou reageeren.

Wel slaagden een aantal onderzoekers erin om planten te verkrijgen, waarvan de groei *bijna* stilstond. Bij critische beschouwing van deze gegevens valt echter op, dat de groei nooit *geheel* stilstond.

Dolk (1930) liet gedecapiteerde haver-coleoptielen de in hun cellen aanwezige groeistof opgebruiken en decapiteerde na 150 minuten den geregenereerden physiologischen top om te voorkomen, dat de cellen daaruit nieuwe auxine zouden kunnen ontvangen. Volgens hem kon men zeggen, dat deze coleoptielen niet meer groeiden, maar gemiddeld bedroeg hun groeisnelheid nog 5% van de groeisnelheid der onbehandelde coleoptielen.

J. Bonner (1933) mat den groei van geïsoleerde coleoptiel-cylindertjes in water. Omdat deze kleine stengelstukjes alleen de auxine in de cellen op kunnen gebruiken, „daalt hun groeisnelheid gestadig, tot zij na 7—8 uur een zeer lage waarde bereikt”. Maar deze inderdaad zeer lage, gemeten waarde is nog 22 % van de beginsnelheid.

In de proeven van Thimann (1935) groeiden zulke cylindertjes in een zure bufferoplossing, waarin men mag verwachten, dat alle in de cellen aanwezige groeistof opgebruikt wordt (J. Bonner 1934, zie hoofdstuk II). De groei stond vrijwel stil, maar was na 18 uur nog 5—15 % van den groei in het eerste uur.

Went (1935) constateerde, dat zones aan de basis van het coleoptiel na 12 uur niet meer groeiden. Deze metingen waren echter niet fijn genoeg, om te kunnen beslissen, of de groei werkelijk stilstond of nog in een uiterst vertraagd tempo doorging.

In een voorloopige mededeeling (van Santen 1938) heb ik vermeld, dat de groei van geïsoleerde cylindertjes van *Avena* coleoptielen zelfs na drie dagen in water nog niet geheel stilstaat. Ook door de coleoptielen vóór het snijden van de cylindertjes zoveel mogelijk groeistofvrij te maken, kon ik er niet in slagen den groei absoluut stop te zetten.

Schneider (1938) zag, dat coleoptiel-cylindertjes, die in water bijna niet meer groeiden, hun groei hervatten na de toevoeging van suiker. Het was nu de vraag, of in dit geval het axioma van Went niet opging, of dat de cellen in suiker opnieuw begonnen te groeien, omdat wel hun suikervoorraad maar niet de auxine-reserve uitgeput was geweest.

Went (1928, 1935) concludeerde nl., dat niet alleen groeistof, maar ook de zg. „food factor” onmisbaar was voor den groei. Volgens Schneider bestaat deze food factor voornamelijk uit suiker.

Bij cylindertjes, die in suiker groeiden, daalde de groeisnelheid geleidelijk en was na 20 uur practisch nul. De groei werd hervat na de toevoeging van heteroauxine, terwijl heteroauxine plus suiker den groei nog meer versnelde, waarschijnlijk omdat van tevoren het suikerverbruik in de cellen grooter was dan de mogelijke aanvulling uit het omringende milieu. Evenzoo kon Schneider

cylinders hun suiker voorraad laten uitputten, door ze in heteroauxine te laten groeien.

Niettemin toonen Schneider's curven duidelijk, dat de groei onder geen enkele voorwaarde absoluut stilstaat. Toen hij heteroauxine toevoegde aan groeistof-arme cylinders, die 20 uur in suiker geweest waren en bijna niet meer groeiden, was hun groei op dat tijdstip toch nog $\pm 16\%$ van den groei in het eerste uur. Zelfs na 48 uur in suiker groeiden de cylindertjes nog heel langzaam.

We hebben dus gezien, dat er bij een aangenomen gebrek aan groeistof geen groeistilstand intreedt en dat toevoeging van groeistof niet anders doet dan het zeer langzame groeitempo versnellen.

Over den aard van deze zeer langzame restgroei zijn twee theoriën mogelijk.

De eerste is, dat er een fundamenteel langzaam groeiproces bestaat, dat geen groeistof noodig heeft maar er wel zeer door versneld wordt. (Cholodny 1931).

De tweede, dat de restgroei te wijten is aan zeer kleine hoeveelheden auxine, die nog in de cellen zijn achtergebleven.

Aangezien de vraag, of groeistof werkelijk noodig is voor den groei, op de bovenbeschreven wijzen niet opgelost kon worden, staan er nu nog twee wegen open.

In de eerste plaats kunnen we onderzoeken, of groeistof als groeibevorderend agens vervangen kan worden door andere factoren.

Strugger (1932, 1933, 1934) concludeerde, dat elke factor, die den ionisatiegraad van het protoplasma verandert, een primaire groeifactor kan worden. Volgens hem is auxine geen primaire groeifactor, omdat het alleen invloed uitoefent op den toestand van het protoplasma via zijn invloed op het cel metabolisme.

Strugger's theorie is gebaseerd op tweetoppige krommen, die hij vond voor den invloed van de H-ionenconcentratie op den groei van wortels en hypocotylen van *Helianthus annuus*. Deze krommen vertoonden gelijkenis met de tweetoppige krommen voor den invloed van de cH op den zwellingsgraad van het protoplasma.

Verder vond hij bij een aantal verschillende objecten, dat altijd een intensief groeiende cel aanmerkelijk zuurder is en visceuzer protoplasma heeft dan een niet groeiende.

Hij concludeerde, dat elk groeiproces begint met een door vrije waterstof-ionen veroorzaakte zwelling van het protoplasma. Door deze zwelling wordt de turgor langs anosmotischen weg verhoogd. Hierdoor worden de celwanden elastisch gerekend en tenslotte wordt deze rekking door afzetting van celwandsubstantie gefixeerd.

Of *Strugger's* theorie juist is, hangt af van de betrouwbaarheid van zijn tweetoppige krommen. Want de door hem geconstateerde verhoogde viscositeit en aciditeit in groeiende cellen kan evengoed oorzaak als gevolg van den groei zijn en bewijst daarom niets.

Die tweetoppige kromme is voor het *Avena* coleoptiel ontkennd door *J. Bonner* (1934). Deze zag, dat de pH alleen invloed uitoefent op den groei, door de dissociatie van het zwakke zuur auxine terug te dringen. Het ongedissocieerde molecule is de werkzame vorm. Met nauwkeuriger feitenmateriaal kon ik deze conclusie bevestigen (*van Santen* 1938) voor het coleoptiel van *Avena*, terwijl eenige maanden later *D. M. Bonner* de bevestiging voor het epicotyl van *Pisum* bracht. Voor het *Helianthus* hypocotyl vond *Schulte* (1937) een ééntoppige i.p.v. een tweetoppige kromme.

Hoewel een aantal onderzoekers de theorie van *Strugger* als weerlegd beschouwt, is dit toch niet juist, want na hem is de invloed van de pH op den groei van wortels nog nooit onderzocht. Wanneer bij wortels inderdaad een tweetoppige kromme bleek te bestaan, dan zou dit beteekenen, dat groei zonder groeistof althans bij wortels mogelijk was.

Sinds gebleken is, dat groeistof den groei bij stengel en wortel op dezelfde wijze bevordert, is het noodzakelijk geworden om ook hier de rol van de waterstof-ionen op te helderen.

Jarenlang is het verband tusschen groeistof en groei bij wortels onbegrijpelijk geweest. Het had er allen schijn van of auxine hier niet alleen niet noodzakelijk was, maar zelfs de wortels in hun groei belemmerde (zie hoofdstuk IV).

In den laatsten tijd hebben verschillende onderzoekers de theorie van *Bonner* in twijfel getrokken, omdat de remmende werking van groeistof op den wortelgroei door een lage pH niet versterkt werd (*Lane* 1936, *Meesters* 1936, *Marmer* 1937). We zullen straks zien of deze bezwaren gegrond zijn.

Maar eerlijkheidshalve moeten we de theoriën van *Strugger* en *Bonner* naast elkaar plaatsen en zeggen, dat tot nu toe elk nog zijn vóór en zijn tegen heeft. Het is echter ontoelaatbaar, dat de eene of de andere theorie geciteerd wordt, naarmate het in iemands kraam te pas komt. Want de beide theoriën kunnen niet gelijktijdig juist zijn.

Naast het onderzoek naar den invloed van de pH als mogelijke groeifactor staat ons nog een tweede weg open om te weten te komen of er groei zonder groeistof mogelijk is, nl. het onderzoek naar het verdwijnen van de groeistof tijdens den groei.

HOOFDSTUK II.

LITERATUUR OVER DEN INVLOED VAN DE WATERSTOF-IONENCONCENTRATIE OP DEN GROEI.

De pH van den bodem. De vegetatie staat in verband met de bodemreactie. Sommige plantensoorten groeien het beste op zure, andere op alkalische gronden, terwijl verreweg de meeste soorten voorkomen op standplaatsen met ten naaste bij neutrale reactie. Deze physiologische verschillen zijn evenzeer genetisch bepaald als de morphologische kenmerken, die de soorten van elkaar onderscheiden.

Is deze invloed van de pH op de ontwikkeling van de planten een *directe* of *indirecte*? Uit de omvangrijke literatuur, die over deze vraag bestaat, is wel gebleken, dat elk van de volgende factoren op zijn beurt aansprakelijk kan zijn voor een indirect effect van de bodemreactie op den groei:

de concentratie van anorganische voedingsstoffen in den bodem,
de concentratie van toxische elementen, vooral aluminium en mangaan,

de vorming van opneembare stikstof-verbindingen door bodembacteriën,

de physische gesteldheid van den bodem,

de kans, dat *Leguminosen* door knolletjesbacteriën geïnfecteerd worden,

het optreden van sommige parasitaire plantenziekten,

het optreden van sommige physiologische plantenziekten.

Een zure grond is krachtens zijn genese arm aan mineralen. Zeer waarschijnlijk is naast licht en klimaat de voedingswaarde van den bodem de belangrijkste oecologische factor en niet de pH als gevolg van een specifieke gevoeligheid van de vegetatie voor waterstof-ionen (Å s l a n d e r 1932).

Sinds men in de bodemkunde tot de overtuiging is gekomen, dat plantenwortels in den bodem niet alleen met opgeloste, maar ook in hooge mate met geadsorbeerde ionen te maken hebben, hebben de

oudere onderzoekingen op dit gebied veel van hun waarde verloren. De pH van het bodemvocht, die doorgaans gemeten werd, geeft nl. slechts indirecte aanwijzingen over de waterstof-ionen concentratie in de grenslaag van de negatief geladen bodemcolloïden. Het bodemcomplex is als regel sterk gebufferd en zolang het bodemvocht nog opgeloste zouten bevat, hebben de H-ionen weinig kans om geadsorbeerd te worden.

De pH van oplossingen. Terwijl het dus uiterst moeilijk is om het effect van de geadsorbeerde H-ionen op de plant nauwkeurig na te gaan, kan de pH in oplossingen met groote nauwkeurigheid gemeten worden. Alleen mogen we de conclusie uit watercultures niet zonder meer toepassen op de plant in haar natuurlijk milieu, zooals vroeger gedaan werd.

Ook in oplossingen kan de invloed van de waterstof-ionen op den groei slechts indirect zijn, aangezien de opneembaarheid van zouten voor de plantenwortels door de cH verschoven wordt.

Zoo zag van den Honert (1933), dat een lage pH gunstig is voor de fosphaatopname door suikerriet. In een zure oplossing wordt het evenwicht $H_2PO_4^- \rightleftharpoons HPO_4^{--}$ verschoven ten gunste van het monovalente ion, dat door suikerriet bij voorkeur opgenomen wordt. Onder deze omstandigheden werd de groei dus indirect bevorderd door de lage pH.

In een volledige, gebufferde voedingsoplossing, waarin de onontbeerlijke ionen in overmaat aanwezig zijn, is er een redelijke kans om het *directe* effect van de waterstof-ionen te kunnen nagaan. Hierover zijn een aantal gegevens in de literatuur, waarbij we de resultaten met ongebufferde oplossingen buiten beschouwing kunnen laten, aangezien in dergelijke oplossingen de pH door de planten zelf spoedig verschoven wordt.

Hoagland (1917) mat gedurende 14 dagen den groei van gerst in potcultures, begoten met gebufferde oplossingen van één-, twee- en drie-basisch K-phosfaat. Hij vond een kromme met één optimum bij ongeveer 5.16 pH. Aangezien de oplossing gebufferd was, werd hier een pH-effect en niet de fosphaatopname gemeten.

Salter en McIlvaine (1920) maten gedurende 16 dagen den groei van tarwe, mais, sojaboonen en lucerne in gemodificeerde

gebufferde Shive-oplossingen. Zij vonden in alle gevallen krommen met één optimum, maar deze top lag voor verschillende planten bij een andere pH.

Tarr en Noble (1922) verbeterden deze proeven nog, door 4 weken waar te nemen en de pH gedurende al dezen tijd constant te houden. De resultaten waren dezelfde als die der vorige schrijvers.

Theron (1924) vond bij vergelijkbare proefomstandigheden krommen met één optimum voor een groot aantal planten, bij uiteenlopende pH waarden.

Olsen (1923, 1925, 1934, 1935, 1936, 1938) onderzocht het effect van de pH op den groei van een groot aantal wilde planten en cultuurplanten in doorstromingscultures van volledige voedingsoplossingen. Hij vond practisch altijd optimum krommen met één top. Wanneer zich twee optima voordeden, was dit altijd te wijten aan een secundaire factor, b.v. de ijzeropname (1935). Het optimum ligt voor verschillende soorten bij zeer uiteenlopende pH-waarden en er bleek een treffende overeenkomst te bestaan tusschen de optimum pH in watercultures en de bodem pH van de natuurlijke standplaats. Hoewel we hebben gezien, dat we hieruit geen overhaaste conclusies mogen trekken, zijn er toch wel enkele gevallen bekend, waar de pH van den bodem de primaire oecologische factor is. Met name geldt dit voor die planten, die op neutralen of alkalischen bodem niet kunnen groeien, b.v. *Deschampsia flexuosa* (Olsen 1923, 1938) en verschillende *Vaccinium*-soorten (Coville 1913, 1921).

De pH metingen van de bovengenoemde onderzoekers geschieden met behulp van waterstof-electroden. Olsen geeft soms de voorkeur aan zeer nauwkeurige colorimetrische metingen.

Borowikow (1913) mat den groei van geïsoleerde hypocotylen van *Helianthus annuus* in verschillende zuren, dus in niet gebufferd milieu. Hij vond ééntoppige krommen.

Schulte (1937) vond ééntoppige krommen voor den invloed van de pH op den groei van *Helianthus* hypocotylen, wortels van *Lupinus albus*, *Spirogyra* en pollenbuizen van *Impatiens Olivieri*. Voor *Helianthus* werd dit bevestigd in fosphaatbuffers.

Ook vom Berg (1929) vond steeds ééntoppige krommen voor den groei van pollenbuizen onder invloed van de pH.

In alle bovengenoemde gevallen lag het optimum in het zure gebied.

Hiertegenover vinden we in de literatuur een aantal gegevens over groeikrommen met twee *pH* optima. Hierover kunnen wij kort zijn, daar deze meerendeels reeds door anderen zijn weerlegd. Voor den invloed van de *pH* op den groei werden tweetoppige krommen gevonden door:

Arrhenius (1922, 1926) voor een groot aantal planten in grond- en watercultures; grootendeels weerlegd door Olsen.

Hixon (1923) voor kieming en groei van verschillende Dicotyle planten; de proefomstandigheden zijn niet eenvormig, soms werden ééntoppige krommen gevonden.

Lundegårdh (1923, 1924) voor kieming en groei van tarwe, in ongebufferd milieu; de twee toppen zijn niet reëel.

Lundegårdh (1923) voor den groei van *Fusarium*; weerlegd door Lindfors (1924).

Hercik (1924) voor wortels van *Pharbitis hispida* in Na-phosphaatbuffer; één top lag in het zure, de andere in het alkalische gebied, de onderlinge verschillen in groei waren klein.

Strugger (1926) voor protoplasmastrooming en zwelling van het protoplasma bij wortelharen van *Hordeum* in acetaat- en fosphaat-buffer (in 1928 voor hetzelfde object in fosphaatbuffer een drietoppige kromme); weerlegd door Sakamura en Kanamori (1935) voor wortelharen van *Brassica chinensis*.

Strugger (1932, 1933, 1934) voor wortels en hypocotylen van *Helianthus annuus* in acetaatbuffers; voor het hypocotyl weerlegd door Borowikow (1913), Brecht (1936) en Schulte (1937).

Amlong (1936) voor wortels van *Vicia Faba* in azijnzuur-oplossingen bij verschillende verdunning; in alle oplossingen groeiden de wortels slechter dan in water!

We mogen dus uit de beschikbare proeven concludeeren, dat waterstof-ionen den groei bevorderen in gebufferde oplossingen en dat het verband tusschen *pH* en groei graphisch kan worden weergegeven door een kromme met één optimum in het zure gebied.

In strijd met deze conclusie zijn de resultaten der proeven van Strugger met wortels van *Helianthus annuus*. Hierop zal in het volgende hoofdstuk nader worden ingegaan.

Hoe wordt de groei door waterstof-ionen versneld? Over deze vraag bestaan een aantal theoriën, waarvan de volgende de belangrijkste zijn:

Strugger (1926—1934) denkt, dat de H-ionen het protoplasma doen zwellen en daardoor anosmotisch den turgor in de cellen verhoogen, waardoor deze gestrekt worden.

J. Bonner (1934) ziet, dat het zwakke zuur auxine in neutraal gebufferd milieu bijna geheel in zijn ionen gesplitst is en dat deze dissociatie met toenemende waterstof-ionenconcentratie teruggedrongen wordt. Als dan de graphiek voor den invloed van de pH op den groei blijkt overeen te komen met de dissociatiekromme van heteroauxine, is de conclusie gerechtvaardigd, dat groeistof slechts als ongedissocieerd molecule werkzaam is en dat de concentratie van deze moleculen stijgt met stijgende cH . Deze beide theorieën werden genoemd in het voorafgaande hoofdstuk.

Brecht (1936) gelooft, dat groeistof en waterstof-ionen onafhankelijk van elkaar den groei bevorderen, maar omschrijft niet, hoe hij zich dat voorstelt.

Ruge (1937) beschouwt de door H-ionen veroorzaakte zwelling van de intermicellaire substantie van den celwand als de primaire oorzaak van den groei. Deze theorie, waarbij groei tot stand zou komen zonder medewerking van het levende protoplasma, is in strijd met alle feiten.

Schulte (1937) verklaart den invloed van de waterstof-ionen op den groei als een gevolg van electro-osmose. Wanneer een plantencel zich in een oplossing bevindt en de H-ionenconcentratie aan weerskanten van de semipermeabele protoplasma-membraan is niet gelijk, dan ontstaat een diffusiepotentiaal tusschen beide oplossingen tengevolge van de hooge adsorbeerbaarheid der H-ionen aan de membraan.

Het negatief geladen water in de membraanporiën wordt daarom, tegen het verval in H-ionenconcentratie in, gezogen naar de minst geconcentreerde oplossing.

In zuur milieu zal een cel op deze wijze water op kunnen nemen en Schulte ziet deze wateropname als de verklaring van alle door hem waargenomen groei- en zwellingsverschijnselen. Ook de

werking van groeistof, volgens hem een „relatief sterk” zuur (!), schrijft hij voor een groot deel toe aan electro-osmose. Men kan zich niet goed voorstellen, wat dat „relatief sterke zuur” dan binnen in een cel zou uitrichten. Volgens de theorie zou het moeten veroorzaken, dat water aan de cel onttrokken wordt, aangezien de celinhoud van een groeiende cel meestal zuurder is dan het milieu. Deze theorie staat zoo alleen, dat het moeilijk is haar te beoordeelen, voordat er meer proeven op dit gebied zijn gedaan.

Wanneer men de gegevens van Schulte over den invloed van de pH op den groei van *Helianthus* hypocotylen en *Lupinus* wortels graphisch uitzet, ontstaan er krommen, die merkwaardig goed overeenkomen met de dissociatie kromme van auxine (fig. 7), zoodat althans de experimenteele gegevens van Schulte geen bezwaar opleveren tegen de theorie van Bonner.

Het verband tusschen groeistof en pH. Dolk en Thimann (1932) hadden gevonden, dat de relatieve activiteit van een groeistof-extract in alkalische en in zure bufferoplossing was als 1:4. Zij konden aantoonen, dat bij alkalische reactie een zout was gevormd, dat zijn groeistofwerking en zijn oplosbaarheid in aether verloren had.

Dit gaf Bonner (1934) aanleiding om na te gaan of groeistof een rol speelde bij de zg. „zuurkrommen” van Strugger (1932). Daartoe herhaalde hij Strugger's proeven, maar met gedecapiteerde, geïsoleerde coleoptielen van *Avena*, in plaats van met hypocotylen van *Helianthus*. De coleoptielen werden ondergedompeld in bufferoplossingen van verschillende pH, nadat een smalle epidermistrook eenzijdig verwijderd was. De H-ionen drongen sneller binnen aan de verwonde zijde, waardoor deze harder begon te groeien. De kromming, die hierdoor ontstond, was een maat voor den groei. Het resultaat was, dat de groei toenam met stijgende H-ionenconcentratie. Ook bij met buffers geïnfiltreerde, niet eenzijdig verwonde coleoptielen bestond hetzelfde verband tusschen groei en pH. Zooals in het voorafgaande besproken werd, concludeerde hij uit deze proeven, dat de groei wordt bevorderd door het auxine-zuur, dat door de H-ionen uit zijn zout wordt vrijgemaakt.

Thimann (1935) liet geïsoleerde cilindertjes van *Avena* hun eigen groeistof opgebruiken in een zure bufferoplossing. Wanneer na 18 uur de groei ongeveer stilstond, had toevoeging van nieuwe buffer geen effect, toevoeging van groeistof deed den groei weer stijgen.

Brecht (1936) bracht eenzijdig azijnzuurpasta's of groeistofpasta's aan op coleoptielen van *Avena* en hypocotylen van *Helianthus*. Aan den kant, waar het zuur binnendrong, werd de groei versneld en het resultaat was een negatieve kromming (van de pasta weg). Brecht concludeerde, dat de invloed van het zuur niets met groeistof te maken had, omdat de zuurkrommingen zoo-veel sneller optraden dan de groeistofkrommingen. Mijns inziens beteekent dit alleen, dat het azijnzuur sneller binnendringt en de daar aanwezige groeistof activeert.

Ruge (1937) zag, dat de groei van gedecapiteerde hypocotylen van *Helianthus* door azijnzuurpasta's versneld werd. De graphiek hiervoor heeft één optimum, maar er zijn te weinig gegevens, om te kunnen opmaken, of er verband bestaat met de dissociatiekromme van groeistof.

In ongebufferde oplossingen hebben waterstof-ionen over het algemeen geen invloed op den groei. Dit is ook niet te verwachten, aangezien de pH van het goed gebufferde celsap in een ongebufferd milieu geen verandering ondergaat. Negatieve uitkomsten met ongebufferde oplossingen vormen dus geen bezwaar tegen de theorie van Bonner. Met vermelding van de auteurs kan hier daarom worden volstaan: Nielsen (1930), Jost en Reiss (1936), Meesters (1936), Borriss (1937).

Door verschillende onderzoekers is tegen de dissociatie-theorie het bezwaar geopperd, dat oplossingen van groeistoffen en van hun zouten of esters den groei *in dezelfde mate* versnellen. Ook dit feit vindt echter zijn verklaring in de zwak zure reactie van het gebufferde celsap. Daardoor wordt *in* de cel het groeistofzuur uit het opgenomen zout vrijgemaakt. De volgende schrijvers vonden een gelijk effect van groeistofzuur en groeistofzout of -ester: Thimann (1935); Laibach (cit. in Fitting 1937); Zimmerman, Hitchcock en Wilcoxon (1936); J. Bonner en Koepfli (1939).

Een ernstiger bezwaar vormden de conclusies van een aantal schrijvers, die vonden, dat groeistofzouten *grooter* activiteit bezaten dan de overeenkomstige zuren (Avery, Burkholder en Creighton 1937; Jost (cit. in Fitting 1937); Scheer 1937; Zimmerman en Hitchcock 1937).

D. M. Bonner (1937) vergeleek daarom de activiteit van indol-3-azijnzuur en zijn K- en Na-zout in gebufferde oplossingen bij pH 6 (ongeveer de pH van het celsap van *Avena*, waarmee de proeven gedaan werden). De activiteit was precies gelijk, in ongebufferde oplossingen waren de zouten daarentegen minder actief.

Hetzelfde vonden Thimann en Schneider (1938) voor indol-3-azijnzuur en indol-3-boterzuur en hun K-zouten. De zouten waren iets minder actief. Een bevredigende verklaring van de tegenstrijdigheid van deze resultaten is nog niet gegeven. Thimann en Schneider veronderstellen, dat misschien geen zuivere chemicaliën werden gebruikt. Ook is het zout niet zoo gauw toxisch als het groeistofzuur in hogere concentraties.

Sommige onderzoekers (o.a. Haagen Smit en Went 1935) hebben de in het Boyce Thompson Instituut ontdekte groeistofwerking van enkele organische zuren willen toeschrijven aan een pH-effect. Deze veronderstelling, afdoende weerlegd door het feit, dat de zouten van deze zuren dezelfde groeistofwerking vertoonen, was alleen daarom al ongerijmd, omdat theoretisch niet eens te verwachten was, dat de ongebufferde oplossingen van zwakke zuren eenige verandering zouden teweeg brengen in de pH van het celsap.

Thimann en Sweeney (1937) en Thimann en Schneider (1938) zagen, dat de protoplasmastrooming in het *Avena* coleoptiel meer wordt versneld door indol-3-azijnzuur dan door K-indol-3-acetaat, in tegenstelling met den groei van hetzelfde object, die door beide stoffen gelijkelijk versneld wordt.

Zij geven hiervan de volgende verklaring: het effect van groeistof op de protoplasmastrooming is van korten duur, na 30 minuten stroomt het protoplasma weer met zijn vroegere snelheid. Het spreekt dus vanzelf, dat de stof, die het snelste binnendringt, ook het meeste effect heeft. Over het algemeen permeëren electrolyten het snelste in ongedissocieerden vorm en in dit geval dringt dus het vrije zuur het snelste binnen.

Deze theorie vindt steun in een onderzoek van Albaum, Kaiser en Nestler (1937), die den invloed van de pH op de opname van indol-3-azijnzuur door *Nitella* bestudeerden in proeven, die 1 uur duurden. Uit de gebufferde oplossingen drong heteroauxine de cel in toenemende mate binnen met stijgende H-ionenconcentratie. De curve voor de snelheid van penetratie in afhankelijkheid van de pH viel samen met de dissociatiekromme van indol-3-azijnzuur. Dat wil zeggen, dat de ongedissocieerde moleculen sneller binnen dringen.

Ook Skoog (1938) zag, dat tomatenplanten groeistof het snelste opnamen uit een zure oplossing.

Wanneer dus groeistof van buiten af aan een plant wordt toegevoegd, dan neemt zij het zuur sneller op dan het zout. Deze voorsprong in groei zullen we kunnen constateeren in proeven van korten duur, zooals in de standaard *Avena*-test (Dolk en Thimann 1932) en in de bovengenoemde onderzoekingen.

In proeven van langeren duur heeft het verschil in penetratiesnelheid daarentegen betrekkelijk weinig invloed. Dit verklaart, waarom Hitchcock en Zimmerman (1938) vonden, dat de pH geen invloed had op de epinastie van tomatenbladstelen, waaruit zij concludeerden, dat de dissociatie-hypothese voor volwassen groene planten geen geldigheid heeft. Het verklaart ook, waarom dezelfde schrijvers moesten constateeren, dat de pH van een gebufferde groeistofoplossing van *geen belang* is voor de door groeistof veroorzaakte wortelvorming.

Het feitenmateriaal van Hubert (1938) is veel te gering, om zijn conclusie te rechtvaardigen, dat de wortelvorming van *Pisum* door een zwak zure reactie bevorderd wordt.

De theorie van Bonner veronderstelt, dat de *dissociatiegraad van de groeistof in de cel* veranderd wordt doordat de *pH van den celinhoud* een verandering ondergaat.

Kan inderdaad de celinhoud de pH van het uitwendig milieu aannemen? Hoe belangrijk deze vraag is, blijkt uit het feit, dat Hitchcock en Zimmerman (1938) haar niet bewezen achten en mede op grond daarvan de heele dissociatie-hypothese in twijfel trekken.

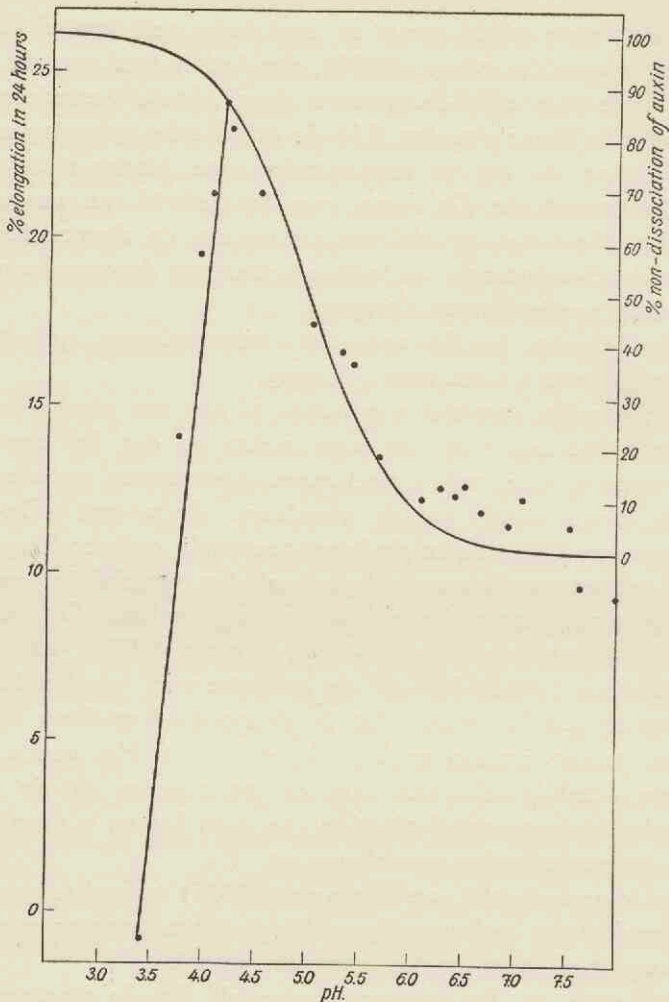


Fig. 1.

De invloed van de pH op den groei van *Avena* coleoptiel-cylinders.

In 1938 heb ik eenige voorloopige resultaten medegedeeld, die de proeven van Bonner bevestigden. Deze resultaten zijn nogmaals weergegeven in fig. 1. Geïsoleerde cilindertjes van *Avena* coleoptielen groeiden in een fosfaatbufferoplossing. Met dalende pH van de oplossing nam de groei van de cilindertjes toe, in overeenstemming met het percentage ongedissocieerde auxine

moleculen. Terwijl Bonner's groeicurve vergeleken werd met de dissociatiecurve van indol-3-azijnzuur ($pK = 4.75$), is hier de dissociatiecurve van auxine ($pK = 5.0$) gebruikt. Mr. Bonner maakte mij na het verschijnen van mijn publicatie er op opmerkelijk, dat de pK van auxine door Kostermans (1935) zeer onnauwkeurig bepaald was en daarom niet noemenswaard verschillend van de pK van heteroauxine mocht worden geacht. Went (1939) maakte dezelfde opmerking. Ik ben de waarde 5.0 voor de pK van auxine blijven gebruiken, maar stel er prijs op mijn vroegere critiek op het gebruik van de dissociatiekromme van indol-3-azijnzuur hierbij terug te nemen.

Voor het *Avena* coleoptiel blijkt de invloed van de pH op den groei dus te kunnen worden weergegeven door een kromme met een optimum bij pH 4.18. Beneden deze pH werden de cilindertjes spoedig beschadigd. In een buffer van pH 3.42 beginnen ze na 1 uur zelfs te krimpen (fig. 2). Bonner's figuur vertoont geen

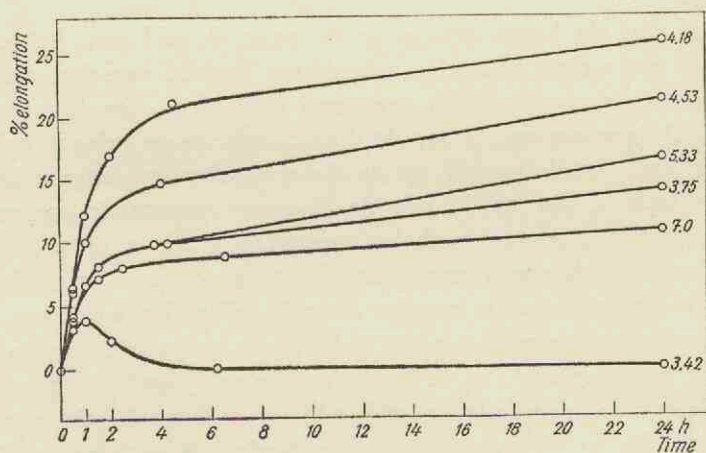


Fig. 2.

De groei van *Avena* coleoptiel-cylinders bij een aantal karakteristieke waarden van de pH.

optimum: met dalende pH neemt de groei van zijn coleoptielen steeds toe. Maar wel beschrijft hij, dat oplossingen zuurder dan pH 4.1 toxisch waren na 2 uur. Dus ook bij hem is er een optimum

bij pH 4.1, hetgeen merkwaardig goed klopt met mijn waarde 4.18.

Albaum c.s. (1937) vonden ook voor *Nitella* een optimum pH = 4.1. Wanneer de pH daarbeneden daalde, verloren de cellen hun turgor. Blijkbaar wordt in al deze gevallen de semi-permeabiliteit van den protoplast verstoord; hierop wijst ook de uiterst scherpe val van de kromme aan den zuren kant van het optimum in fig. 1.

Dat inderdaad de cellen de pH van de proefvloeistof aannemen, is volgens mij gebleken uit het feit, dat de punten, die den groei bij verschillende pH weergeven, zoo precies op de dissociatie-curve liggen.

Stel, dat het celsap zoo sterk gebufferd was, dat de binnendringende H-ionen niets aan de pH konden veranderen. Dan had ik over het heele pH-gebied een groei moeten meten van ca. 12 % in 24 uur, wanneer de pH van het celsap van *Avena* tusschen 6 en 7 ligt, zooals uit vele bepalingen is gebleken (Hurd-Karrer 1939).

Stel, dat de binnendringende H-ionen de pH van het celsap slechts een weinig naar den zuren kant konden verschuiven. Dan had ik een versnelling van den groei gevonden, maar dan zou de graphiek hiervoor *rechts van* de dissociatiekromme gelegen hebben.

Het feit, dat de punten op de dissociatiekromme liggen, bewijst mijns inziens, dat na 24 uur de H-ionenconcentratie aan weerszijden van den semipermeabelen protoplast gelijk is, op veel dwingender wijze, dan wanneer ik na afloop van de proef getracht had de pH van het celsap te bepalen door de cellen fijn te wrijven.

Hoe het celsap met den tijd de pH van de proefoplossing aanneemt, blijkt uit fig. 2 en 3. Na $\frac{1}{2}$ uur en na 1 uur is de groei over het heele pH-gebied nog vrijwel gelijk. Na 2 uur is echter in den zuursten buffer al beschadiging opgetreden en het verschil in de andere buffers komt steeds duidelijker tot uiting. In fig. 2 wijken de verschillende curven met toenemenden tijd steeds wijder uit elkaar, in fig. 3 wordt de verhouding tusschen de bereikte eindlengten steeds meer geprononceerd.

Op grond hiervan herhaal ik met klem, dat in mijn proeven de pH van den celinhoud wel veranderd werd en ten naastenbij de pH van de proefoplossing aannam.

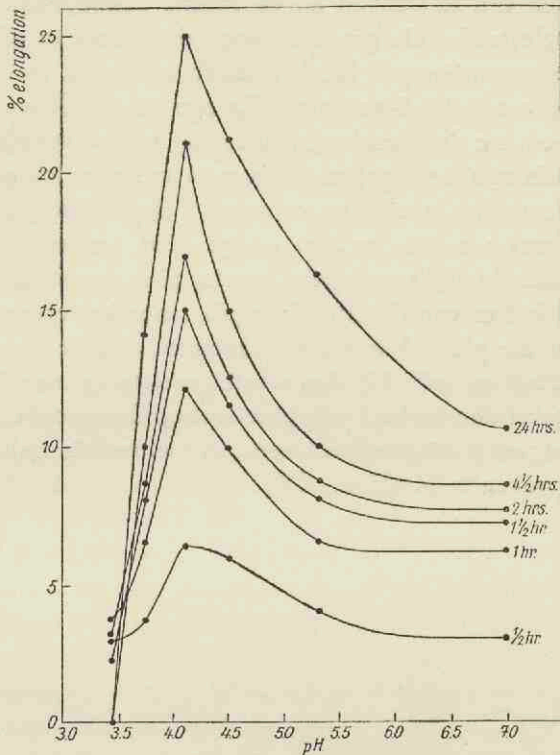


Fig. 3.

De invloed van den tijd op het verband tusschen groei en pH bij *Avena* coleoptielen.

De twijfel van Hitchcock en Zimmerman is ongegrond. Ten onrechte halen zij de proeven van Albaum c.s. (1937) aan, die vonden, dat de pH van het celsap van *Nitella* niet veranderde met de pH van de proefoplossing. Maar de proeven van Albaum duurden maar 1 uur, een veel te kort tijdsbestek om een pH verandering te kunnen verwachten.

D. M. Bonner (1938) constateerde, dat de pH van den celinhoud van overlans gespleten erwten-epicotylen door de reactie van de omringende bufferoplossing slechts weinig veranderd werd. Zoo was bv. in een buffer van pH 4.0 de pH van den celinhoud van 6.25 in 18 uur slechts tot 5.7 gedaald. Hij bepaalde deze pH

door de cellen fijn te wrijven en de reactie onmiddellijk te meten met de glaselectrode. De graphiek voor den groei in afhankelijkheid van de *inwendige pH* bleek overeen te komen met de dissociatiekromme van indol-3-azijnzuur. Er zijn twee redenen mogelijk, waarom Bonner's resultaten van de mijne verschillen. De erwtenstengels zijn veel groter dan mijn cylindertjes en een pH evenwicht komt dus moeilijker tot stand. Bovendien werden mijn oplossingen met een fijne luchtstroom geroerd, omdat de plant zelf direct haar onmiddellijke omgeving minder zuur maakt. Stroomt niet voortdurend buffer van dezelfde lage pH langs het object, dan kan de celinhoud die pH ook moeilijk aannemen. Om het verband tusschen groeistof en pH bij den wortelgroei te kunnen bespreken, moeten we eerst den invloed van groeistof op den groei van wortels kennen. Aangezien dit een probleem op zichzelf is, zal het apart worden besproken in hoofdstuk IV.

HOOFDSTUK III.

DE TWEETOPPIGE KROMMEN VAN STRUGGER VOOR DEN INVLOED VAN DE pH OP DEN GROEI VAN HELIANTHUS.

A. De kromme voor *Helianthus* wortels.

De betrouwbaarheid van de veel geciteerde tweetoppige groeikrommen van Strugger (1932) kon alleen worden gecontroleerd door zijn proeven te herhalen. Hiertoe werd de groei van 1—2 cm lange kiemwortels van *Helianthus annuus* in bufferoplossingen van verschillende pH met een horizontaal microscoop gemeten.

Uit een nauwkeurige beschouwing van Strugger's resultaten bleek, dat hij niet met gezonde wortels gewerkt kan hebben. Ik kon nl. constateeren, dat normale wortels in leidingwater uren lang met constante snelheid doorgroeien, zooals te verwachten was. Daarentegen is de wortelgroei in Strugger's proeven na 10 minuten al duidelijk geremd.

In fig. 4 is het snelste en het langzaamste tempo, dat ik tijdens mijn proeven waarnam, aangegeven. Er bestond een belangrijke variabiliteit tusschen de verschillende waargenomen groeisnelheden. Nu bleek, dat al Strugger's waarnemingen voor groei bij verschillende pH, vallen binnen het variatiegebied van den normalen wortelgroei in leidingwater. De groeiversnelling, die hij constateert, berust op foutieve waarneming, want hij gebruikt een beschadigde wortel als controle.

Bovendien kon ik zijn resultaten, verkregen met de bufferoplossing volgens Michaelis (Na-acetaat en azijnzuur), niet bevestigen.

Bij een verdunning van 1/3000 N bleek de buffercapaciteit nog juist voldoende te zijn, om een gewenschte pH-waarde te verkrijgen en deze min of meer in stand te houden. Nadat een wortel een tijdlang met constante snelheid in gedestilleerd water gegroeid

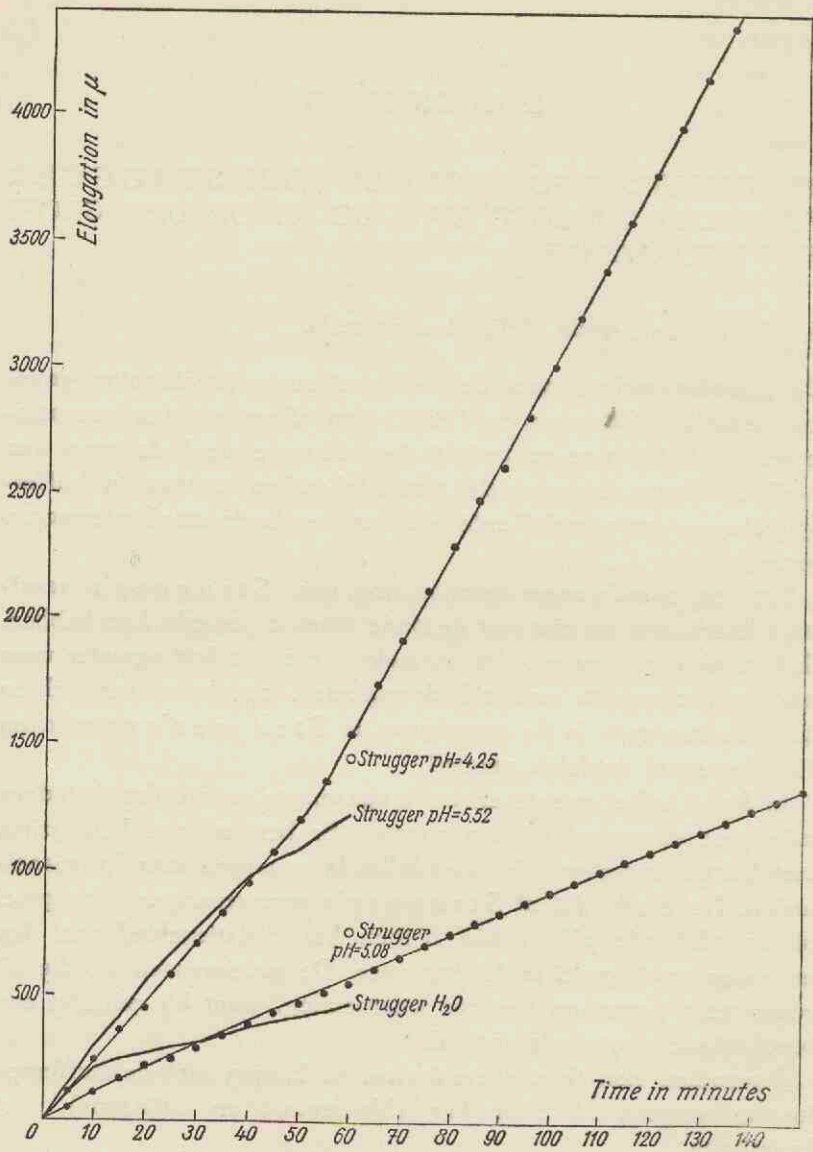


Fig. 4.

De groei van wortels van *Helianthus annuus*.

- — · de groei in leidingwater uit eigen onderzoek.
- de groei bij verschillende pH volgens Strugger (1932).

had, werd dit vervangen door de bufferoplossing van een bepaalde pH.

Dit water was gedestilleerd over glas, aangezien bekend is, dat water gedestilleerd in een koperen ketel voor planten toxisch is (literatuuroverzicht over deze quaestie bij True 1914, verder Coggeshall 1931).

Zelfs in deze sterk verdunde bufferoplossingen werden de wortels beschadigd en wel des te sterker, naarmate de oplossing zuurder was. (fig. 5). Deze beschadiging uitte zich, doordat de groei stopte en de worteltoppen bruin werden in de zuurste oplossingen.

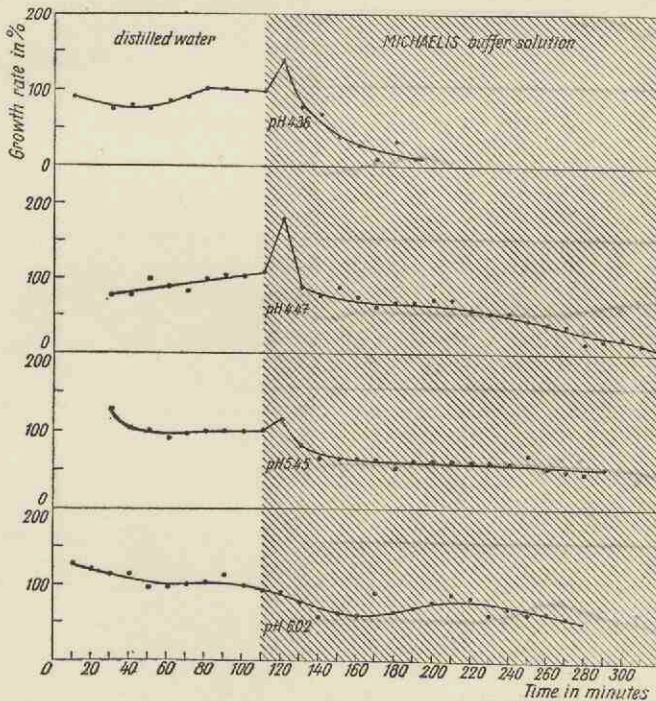


Fig. 5.

De invloed van de pH op de groeisnelheid van wortels van *Helianthus annuus*. De pH werd gevarieerd in bufferoplossingen volgens Michaelis (Na-acetaat + azijnzuur) van $\frac{1}{3000}$ N.

De mogelijkheid bestond, dat de beschadiging in den buffer van Michaelis niet te wijten was aan de H-ionen, maar aan de bekende toxiciteit van het acetaat-ion (Coggeshall 1931, e.a.). Daarom werden de proeven herhaald met den buffer van McIlvaine (Na_2HPO_4 en citroenzuur, eveneens 1/3000 N) en een 0.01 molaire buffer van primaire en secundaire fosphaten.

In beide proefreeksen werd dezelfde groeiremming in de zure bufferoplossingen geconstateerd, hoewel minder dan in den buffer van Michaelis.

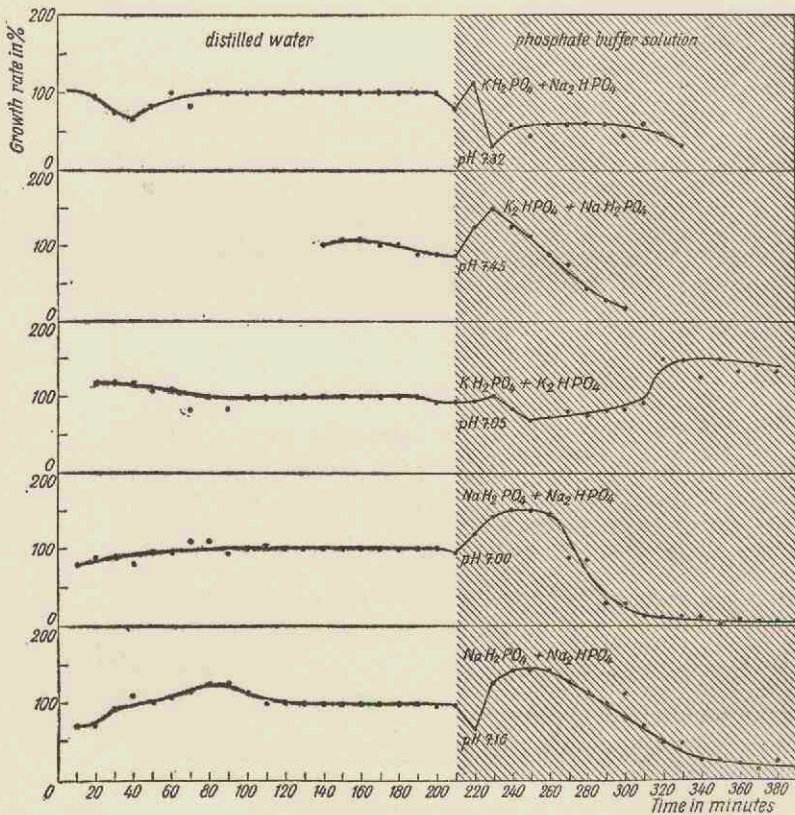


Fig. 6.

De invloed van de samenstelling van een neutrale fosphaat-bufferoplossing op de groeisnelheid van wortels van *Helianthus annuus*.

Klaarblijkelijk hebben we niet alleen met H-ionen te maken, maar zijn de andere aanwezige ionen, onafhankelijk daarvan, remmende factoren. Om dit te onderzoeken voor den fosfaatbuffer, de oplossing, waarin de wortels het minst geremd werden, werd de concentratie van Na- en K-ionen gevarieerd in buffers van ten naaste bij neutrale reactie (fig. 6). Het blijkt, dat de groeiremming veroorzaakt wordt door het Na-ion, dat waarschijnlijk de intrabiliteit van het protoplasma verhoogt.

Hoe dan ook, het door Str u g g e r geconstateerde groei-bevorderende effect van de waterstof-ionen kwam in geen van mijn proeven te voorschijn. Waarschijnlijk is de remming van den groei hem niet opgevallen, omdat zijn groeiingen slechts een uur duurden. Na een uur haalde hij de wortels uit de oplossing en plaatste ze in vochtige lucht, om den invloed van de pH op de geotropische reactie na te gaan. Hierbij bleek, dat de reactietijd voor geotropie toenam met toenemende cH, waaruit hij concludeerde, dat de invloed van de cH op den groei en op de geotropie twee totaal verschillende processen moesten zijn. Het ligt echter voor de hand, dat de meest beschadigde wortels den langsten tijd noodig hebben om zich voldoende te herstellen voor het tot stand komen van een geotropische kromming. Het toxische effect van den buffer van M i c h a e l i s blijkt dus eveneens uit Str u g g e r 's proeven van langeren duur.

De proeven werden niet voortgezet met een buffer van de twee K-phosphaten, omdat ik intusschen een veel betrouwbaarder methode gevonden had om den groei van wortels te meten, die in het volgende hoofdstuk beschreven zal worden.

Str u g g e r 's conclusie over den invloed van de pH op den wortelgroei is onjuist en kan beter in de toekomst niet meer geciteerd worden. Bij herhaling van zijn proeven met drie verschillende bufferoplossingen kon bevordering van den wortelgroei door waterstof-ionen niet aangetoond worden.

B. De kromme voor *Helianthus hypocotylen*.

Str u g g e r verwijderde eenzijdig de epidermis van geïsoleerde hypocotylen en bracht ze dan in M i c h a e l i s buffer bij verschillende pH. Doordat de H-ionen aan de verwonde zijde gemakkelij-

ker konden binnendringen, begon deze harder te groeien en het gevolg was een „zuurkromming” van de wond weg. Wanneer de grootte van deze zuurkromming, als maat voor den groei, bij verschillende pH werd vergeleken, kon dit graphisch worden weergegeven door een tweetoppige kromme. Dit scheen dus voor stengels de resultaten met wortels te bevestigen.

Bij herhaling van deze proeven kreeg ik zeer inconstante resultaten, die te wijten waren aan de gebrekkigheid van de methode.

In het vorige hoofdstuk zagen we, dat Bonner (1934), na Strugger's methode technisch verbeterd te hebben, diens tweetoppige kromme niet kon bevestigen voor het *Avena* coleoptiel.

Voor het *Helianthus* hypocotyl vond Schulte (1937) een eentoppige kromme, die overeenkomt met de curve voor het *Avena*

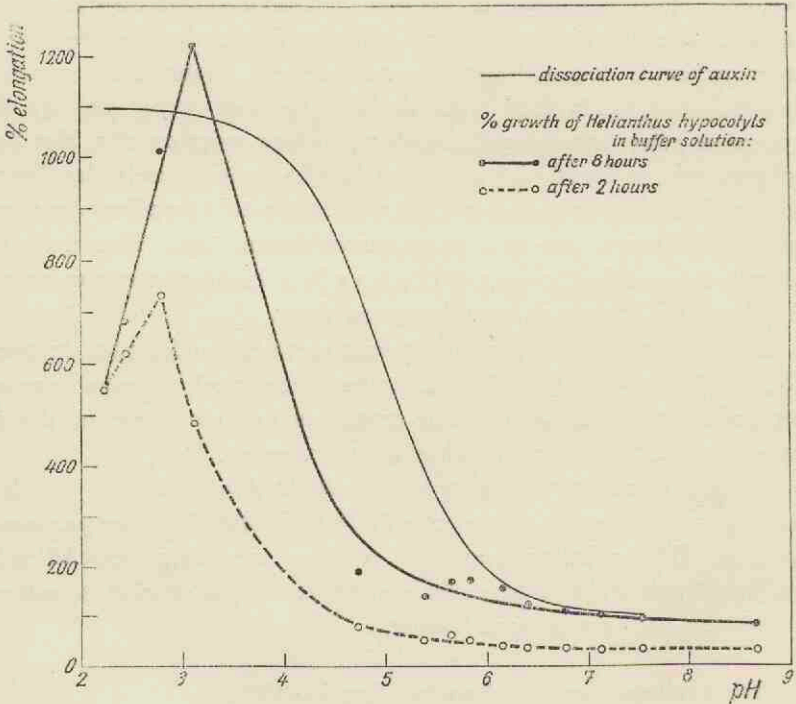


Fig. 7.

De groei van hypocotylen van *Helianthus annuus* in fosphaat-bufferoplossing van verschillende pH (naar de gegevens van Schulte 1937), vergeleken met de dissociatiekromme van auxine.

coleoptiel van Bonner en van mijzelf (1938), hoewel Schulte zijn resultaten anders verklaart.

De gegevens uit Schulte's publicatie zijn uitgezet in fig. 7, voor den invloed van de pH op den groei van *Helianthus hypocotylen*, vergeleken met de dissociatiekromme van auxine. Evenals in fig. 3 benadert de groei-kromme de dissociatiekromme steeds meer, naarmate de H-ionen langer inwerken.

Wij zien dus, dat de methode, waarmee Strugger's resultaten verkregen werden, aan groote proeffouten onderhevig is, dat zijn conclusies door een recent onderzoek met hetzelfde object zijn weerlegd en dat bij zorgvuldiger toepassing van zijn eigen methode geen bevestiging van zijn resultaten gevonden kon worden bij *Avena*.

Wij mogen daarom met vrij groote zekerheid concludeeren, dat de bovengenoemde foutenbronnen aansprakelijk waren voor het tot stand komen van een tweetoppige, in plaats van een eentoppige kromme voor den invloed van de pH op den groei van het *Helianthus hypocotyl*.

HOOFDSTUK IV.

DE INVLOED VAN DE pH OP DEN WORTELGROEI.

A. Literatuur over wortelgroei.

Als een stengel van zijn groeistofproduceerenden top beroofd wordt, staat de groei tijdelijk vrijwel stil. Wordt de stomp weer van groeistof voorzien, dan begint de groei opnieuw.

Een gedecapiteerde wortel daarentegen begint juist harder te groeien, terwijl deze groei weer geremd wordt door het aanbrengen van een worteltop of coleoptieltop of een groeistofhoudend agarplaatje op den wortelstomp (Choldny 1924—1929, e.a.).

Moeten we ons dan voorstellen, dat binnen een plant naast elkaar twee totaal verschillende groeiprocessen bestaan, waarbij dezelfde stof de celstrekking bevordert of remt in naburige cellen?

In 1936 vonden Fiedler, Amlong en Geiger-Huber en Burlet vrijwel gelijktijdig het antwoord op deze ongerijmde vraag: *het heele probleem is alleen een quaestie van concentratie.*

Nielsen (1930) had al gevonden, dat lagere groeistofconcentraties den wortelgroei minder remmen dan hoogere.

Faber (1936) en Thimann (1936) dachten, dat groeistof de celstrekking in groeistof-arme wortels bevordert, in groeistofrijke wortels daarentegen remt.

Fiedler (1936) zag, dat de groei van geïsoleerde maiswortels in steriele voedingsoplossing bevorderd werd door indol-3-azijnzuur in een concentratie van 10^{-10} (0.1 γ per l), terwijl 10^{-9} den groei al remde.

Hetzelfde bleek uit de zeer nauwkeurige proeven van Geiger-Huber en Burlet (1936), eveneens met geïsoleerde maiswortels in steriele voedingsoplossing. Zij vonden een maximale groeibevordering bij een heteroauxineconcentratie 10^{-12} , terwijl 10^{-11} al eenigszins remmend werkte.

Dat voor hetzelfde object in beide gevallen niet dezelfde concentratiegrens tusschen remming en bevordering gevonden werd,

kan zijn verklaring vinden in de grootere nauwkeurigheid van de proeven van Geiger-Huber en Burlet. Mogelijk was ook het groeistofgehalte van de maiswortels van verschillende herkomst niet gelijk.

Amlog (1936) vond, dat de groei van *Vicia Faba* wortels in een indol-3-azijnzuur oplossing van 1.75×10^{-10} versneld werd. Hij gebruikte geen geïsoleerde wortels, maar decapiteerde ze drie uur van tevoren om ze zooveel mogelijk groeistofvrij te maken.

Deze proeven met indol-3-azijnzuur werden voor auxine bevestigd door Weiler (1938). Haar onderzoek ging uit van het eigenaardige gedrag van *Lupinus luteus* wortels. Als men deze decapiteert en den top vervangt door een *Avena* coleoptieltop, dan krommen ze uit den horizontalen stand *negatief* in plaats van *positief* geotropisch.

Het bleek, dat de *richting* van de geotropische kromming eveneens uitsluitend een quaestie van *groeistofconcentratie* is.

Een agarblokje, dat de hoeveelheid groeistof uit 5 *Avena* coleoptoppen bevatte, deed den lupine wortel normaal positief geotropisch krommen.

De verklaring ligt voor de hand, dat de negatieve krommingen ontstaan, doordat lage groeistofconcentraties de celstrekking aan den onderkant van den wortel bevorderen, terwijl hogere concentraties den groei aan den onderkant remmen en daardoor positieve krommingen veroorzaken.

Weiler ging tevens na, waarom de wortels van *Lupinus luteus* zich zoo anders gedragen dan andere wortels, die normaal positief geotropisch krommen onder invloed van een *Avena* coleoptieltop.

Waarschijnlijk kan men alle wortels negatief geotropisch laten krommen, als men den worteltop maar vervangt door een agarblokje met een relatief zeer lage groeistofconcentratie. Zoo vond zij bv. negatieve krommingen bij gedecapiteerde maiswortels onder invloed van een agarblokje met $\frac{1}{4}$ *Avena* coleoptiel eenheid, terwijl de krommingen bij $\frac{1}{2}$ eenheid al positief waren.

Hieruit blijkt, dat de wortels van *Zea Mays* veel gevoeliger voor groeistof zijn dan de wortels van *Lupinus luteus*. De eersten worden al geremd bij $\frac{1}{2}$ *Avena* coleoptiel eenheid, de laatsten pas bij 5 eenheden.

Hoewel Weiler zelf dit niet uitdrukkelijk zegt, kunnen we uit haar proeven gemakkelijk concludeeren, dat de uiteenlopende gevoeligheid voor groeistof van verschillende wortels een gevolg is van hun uiteenlopend groeistofgehalte.

Zoo geldt b.v. voor de gele lupine, dat de wortelgroei geremd wordt door de hoeveelheid groeistof uit:

1 *Lupinus luteus* worteltop of 5 *Avena* coleoptieltoppen of 1 *Zea Mays* coleoptieltop.

Terwijl de groei van de witte lupine wortel geremd wordt door de hoeveelheid groeistof uit:

1 *Lupinus albus* worteltop of $\frac{1}{2}$ *Avena* coleoptieltop of $\frac{1}{4}$ *Zea Mays* coleoptieltop.

Het is duidelijk, dat het groeistofgehalte van de wortels van gele lupinen grooter moet zijn dan dat van de witte soort. Het zou de moeite waard zijn om dit door extractieproeven na te gaan.

We zien dus, dat lage groeistofconcentraties den groei kunnen bevorderen van wortels met een verlaagd auxine-gehalte, wanneer dat gehalte oorspronkelijk hoog was. Terwijl dezelfde concentraties onder dezelfde omstandigheden den groei remmen van wortels met een laag eigen groeistofgehalte.

Deze conclusie moet niet verward worden met die van Thimann (1936), Faber (1936) en Amlong (1936), dat toedienen van groeistof gemakkelijker tot groeibevordering leidt, wanneer het groeistofgehalte van de wortels vooraf verlaagd is. Dit ligt voor de hand, maar mijn conclusie heeft betrekking op een uiteenlopende gevoeligheid voor groeistof, samenhangend met het soort-eigen groeistofgehalte.

Hiermee kunnen nu ook een aantal tegenstrijdige gegevens verklaarbaar worden.

Kögl, Haagen-Smit en Erxleben (1934), Lane (1936) en Bonner en Koepfli (1939) onderzochten den groei van *Avena* wortels in zeer verdunde groeistofoplossingen en zagen slechts een afnemende remming bij dalende groeistofconcentratie. Er zijn twee redenen mogelijk, waarom hier geen bevordering van den wortelgroei waargenomen werd.

Ten eerste is het groeistofgehalte van *Avena* wortels lager dan dat van *Zea Mays*- of *Vicia Faba* wortels (Boysen Jensen

(1933). Dit zou dus beteekenen, dat de wortelgroei van *Avena* geremd kan worden door groeistofconcentraties, waarin die van *Zea Mays* en *Vicia Faba* versneld wordt.

Ten tweede werden de proeven op *Avena* wortels gedaan met *heele kiemplanten* en bevatten de wortels dus veel groeistof.

Dezelfde overwegingen gelden voor de resultaten van Meesters (1936) met wortels van *Agrostemma Cithago*, Marmer (1937) met *Triticum* wortels en Segelitz (1938) met *Zea Mays* wortels, waarbij eveneens geen groeibevordering gevonden kon worden.

Zeer waarschijnlijk zal herhaling van deze proeven met *geïsoleerde* wortels van *Avena*, *Triticum* en *Agrostemma* aantonen, dat ook hier zeer lage groeistofconcentraties den groei bevorderen.

Er is dus geen bezwaar om als algemeen geldend te beschouwen de uitspraak van Geiger-Huber en Burlet: „die Wurzeln wachsen, weil sie den Wuchsstoff in einer wachstumsfördernden Menge enthalten”.

Het gedrag van stengels en wortels ten opzichte van groeistof is nu niet langer paradoxaal. En wanneer groeistof een onontbeerlijke schakel is bij het tot stand komen van de celstrekking in den stengel, dan moet dit bij den wortel evenzeer het geval zijn.

Voor de juistheid van deze veronderstelling bezitten wij echter geen bewijzen. Tot nu toe werd zelfs nooit groeibevordering door groeistof waargenomen in intacte wortels.

Nauendorf (1940) meent aangetoond te hebben, dat intacte wortels van *Helianthus annuus* een groeiversnelling vertoonen in zeer verdunde groeistof oplossingen.

Hij vond, dat 2.5 à 3 cm lange kiemwortels na 5 uur in water 1.3 mm gegroeid waren, daarentegen 2.7 mm in de optimale concentratie van K-indol-acetaat (1.75×10^{-12}). Uit dergelijke kleine verschillen leidt hij een optimumkromme af, die mijns inziens niet op werkelijkheid berust.

Het onderzoek naar den invloed van de pH op den wortelgroei bood een kans om iets naders over deze belangrijke vraag te weten te komen. Immers een lage pH veroorzaakt binnen in den wortel een verhooging van de auxineconcentratie en zou dus den wortelgroei moeten bevorderen in gelijken zin als den stengelgroei.

Over den invloed van de pH op den wortelgroei weten we zoo goed als niets. De gegevens van Struggler (1932) zijn gebleken op onjuiste gegevens te berusten (hoofdstuk IV).

Lane (1936) vond, dat de groei van *Avena* wortels een weinig bevorderd werd in lage concentraties HCl.

Volgens Meesters (1936) heeft de pH geen invloed op den groei van *Agrostemma* wortels. Deze conclusie is ongegrond, want de wortels groeiden in 0.001 N azijnzuur-oplossingen, waarin de pH slechts gevarieerd werd van 4 tot 5.2. In deze ongebufferde oplossingen kon de pH van het goed gebufferde celsap geen verandering van beteekenis ondergaan.

Marmier (1937) onderzocht de remmende werking van indol-3-azijnzuur en andere groeistoffen in bufferoplossingen van pH 4.6 en 7.5. Zij vond, dat bv. indol-3-azijnzuur den groei van tarwe-wortels ca. 1500 \times sterker remt bij zure reactie.

Bonner en Koepfli (1939) vonden hetzelfde voor haver-wortels. Bij pH 3.8 remde indol-3-azijnzuur ca. 33 \times zoo sterk als bij pH 7.0.

Dit beteekent alleen, dat deze auteurs evenals Marmier de reeds remmende concentratie van ongedissocieerde heteroauxinemoleculen in de oplossing verhoogden, en geeft dus geen aanwijzing over den invloed van de pH op de groeiende wortelcel.

Schulte (1937) zag, dat diverse sterk verdunde zuren den groei van *Lupinus albus* wortels bevorderden, altijd in den vorm van een eentoppige kromme. Maar het is niet na te gaan, of deze ongebufferde oplossingen de dissociatie van groeistof binnen de wortelcellen beïnvloedden.

Daarom heb ik onderzocht, hoe wortels groeien in bufferoplossingen van verschillende pH, zonder toevoeging van groeistof.

B. Methode.

De groeimetingen werden gedaan volgens de methode van J. Bonner (1933). Deze auteur mat microscopisch den groei van uitgesneden cilindertjes van *Avena* coleoptielen. In een voorloopige mededeeling (1938) heb ik deze techniek, aangepast aan de meting van niet holle wortels, reeds beschreven.

Uit de groeizone van tien kiemwortels van *Pisum sativum* of

Helianthus annuus tegelijk, werden met het coleoptielmicrotoom van van der Wey (1932) cilindertjes van 1.5 mm lengte gesneden. Met behulp van een fijn penseel werden deze cilindertjes geplakt op een smalle streep vaseline op een voorwerpglasje. Twee van deze glaasjes, dus 20 wortelcilindertjes, werden in een petrischaal gelegd en juist bedekt met de proefoplossing. De groei van deze cylinders werd microscopisch gemeten.

De proeven zijn dus gedaan met geïsoleerde worteldeelens, die van alle groeistofoevoer afgesneden waren. Ik ben hier slechts toe overgegaan, toen alle proeven met onbeschadigde wortels faalden uit hoofde van de groote variabiliteit van het wortelmateriaal (zie hoofdstuk IV).

Tijdens de proef groeiden de wortels in het donker bij 23° C. en werd de oplossing voortdurend geroerd met een fijne luchtstroom. Dit is belangrijk, omdat we het sterk gebufferde celsap de pH van de zwak gebufferde proefoplossing willen laten aannemen. Wanneer niet voortdurend nieuwe oplossing langs de wortels stroomt, zouden we het omgekeerde resultaat verkrijgen. En in het vorige hoofdstuk zagen we, dat alleen sterk verdunde oplossingen gebruikt mochten worden, omdat de zonnebloemwortels zoo snel beschadigd worden.

Een buffermengsel van K_2HPO_4 en H_3PO_4 werd gebruikt in plaats van den buffer, gebruikt in de proeven met *Avena* coleoptielcylinders ($K_2HPO_4 + Na_2HPO_4$, 0.01 M), om het schadelijk gebleken Na-ion te vermijden.

De *Helianthus* wortels bleken nog goed te kunnen groeien in een $1/50$ N oplossing. Voor *Pisum* wortels moest dit tot $1/250$ N verdund worden. De pH metingen werden gedaan met een chinhydron electrode in duplo of triplo en waren, voor deze moeilijk meetbare, zeer verdunde oplossingen nauwkeurig tot op 0.05 pH eenheden.

C. Proeven met *Pisum sativum*.

De erwtwortels werden gebruikt als ze 17 à 20 mm lang waren, omdat ze dan in het begin van hun groote groeiperiode zijn.

De ligging van de zone van maximalen groei op dezen leeftijd (ca. 67 uur) moest eerst door proeven uitgemaakt worden. Hier-

toe werden verschillende zones op de beschreven wijze uitgesneden en de groei in gedestilleerd water nagegaan.

Wortels hebben over het algemeen een vrij korte groeizone vlak onder den top. Bij *Pisum* wortels van 17 à 20 mm bleek deze te liggen op $1\frac{1}{2}$ —5 mm van den top van het wortelmutsje. De zone 3— $4\frac{1}{2}$ mm van dezen top bleef het langste met regelmatige snelheid doorgroeien en werd daarom voor de proeven in buffers gebruikt.

Steeds werd *alleen deze eene zone* genomen en niet eenige opeenvolgende zones, zooals o.a. Schneider (1938) doet. Bij wortels, nog meer dan bij stengels, zijn uit hoofde van de korte groeizone uitsluitend zones op gelijken afstand van den top onderling vergelijkbaar.

In tabel 1 zijn de resultaten van 20 proeven samengevat. Elke proef omvatte steeds verschillende pH-waarden.

Tabel 1. De invloed van de pH op den groei van *Pisum* wortels.

pH	% groei in 24 uur	aantal cilinders	pH	% groei in 24 uur	aantal cilinders
4.16	28.5	17	5.63	54.6	27
4.34	34.0	16	5.89	41.9	20
4.38	36.5	17	5.99	37.9	57
4.45	49.4	16	6.22	36.1	54
4.53	57.4	33	6.38	41.3	23
4.62	50.3	18	6.44	40.3	26
4.83	55.6	19	6.65	32.9	38
4.92	53.9	27	6.75	32.3	20
5.02	61.4	22	6.81	31.6	16
5.22	55.3	20	6.90	30.9	75
5.32	58.7	46	7.00	31.5	20
5.49	46.6	19			

Bij vergelijking van de lengtetoe name na 24 uur groei in bufferoplossingen blijkt, dat de cilindertjes bij pH 5 tweemaal zoo hard groeien als in den neutralen buffer.

In fig. 8 is de lengtetoe name na 24 uur bij verschillende pH ver-geleken met de dissociatie-curve van auxine.

Het is duidelijk dat voor wortels van *Pisum sativum* hetzelfde geldt als voor coleoptielen van *Avena sativa*.

De invloed van de pH op den groei van *Pisum* wortels kan wor-

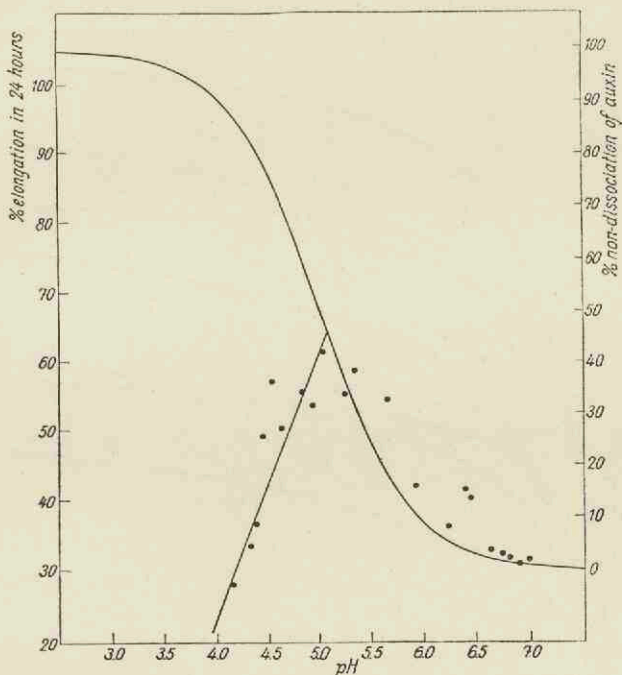


Fig. 8.

De invloed van de pH op den groei van wortelcilindfers van *Pisum sativum*.

den weergegeven door een eentoppige kromme, die samenvalt met de dissociatie-curve van auxine.

Ook voor erwtenwortels is de waterstof-ionenconcentratie dus slechts een secundaire groeifactor; de groeibevordering in den zuren buffer is te danken aan een verhoogde concentratie van werkzame groeistof binnen in de wortelcellen.

Dat inderdaad de pH *binnen* in de cellen veranderd is, blijkt uit fig. 9 en 10 op dezelfde wijze als dat voor *Avena* uitgewerkt werd. (fig. 2 en 3).

Als de wortelcilindrs zich pas $\frac{1}{2}$ uur in de buffer-oplossing bevinden, is de invloed van de pH nog maar gering. Naarmate echter de H-ionen in den wortel binnendringen, wordt hun invloed steeds duidelijker merkbaar. Dit uit zich in het feit, dat de verschillende curven steeds verder divergeeren (fig. 9). Kenmerkend

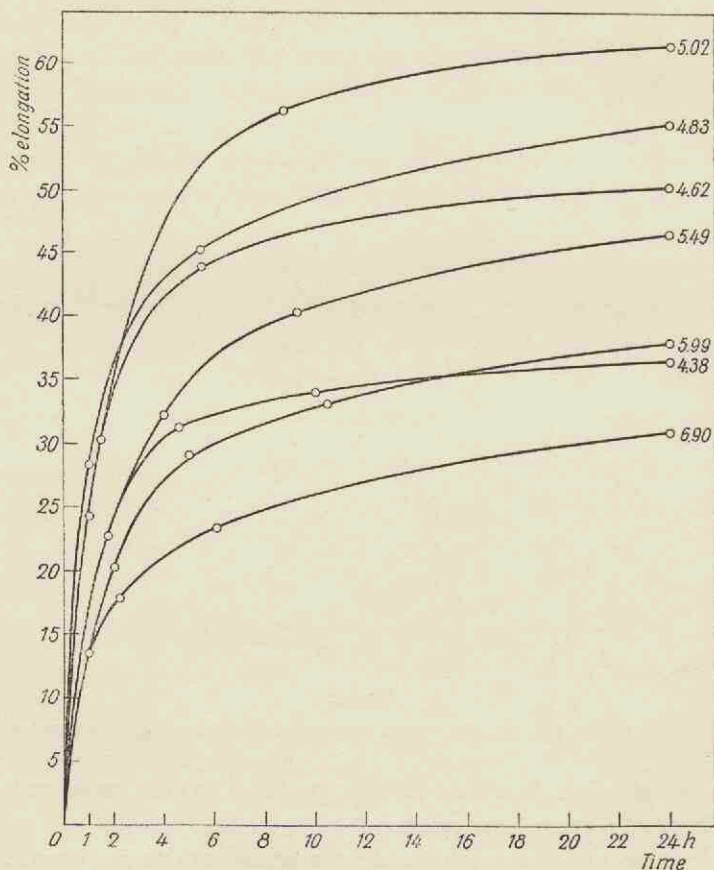


Fig. 9.

De groei van wortelcilindrs van *Pisum sativum* bij een aantal karakteristieke waarden van de pH.

is ook, dat er in het begin geen verschil blijkt te bestaan tusschen den groei bij pH 6 en pH 7 (fig. 10). Dit is n.l. het gebied van de eigen pH van het celsap. (Hurd—Karrer 1939). Pas na 1½ uur begint het kleine pH-verschil met het milieu zijn invloed te doen gelden, om daarna steeds sterker te worden.

Opvallend is verder, dat de top van de curve eerst bij pH 4.62

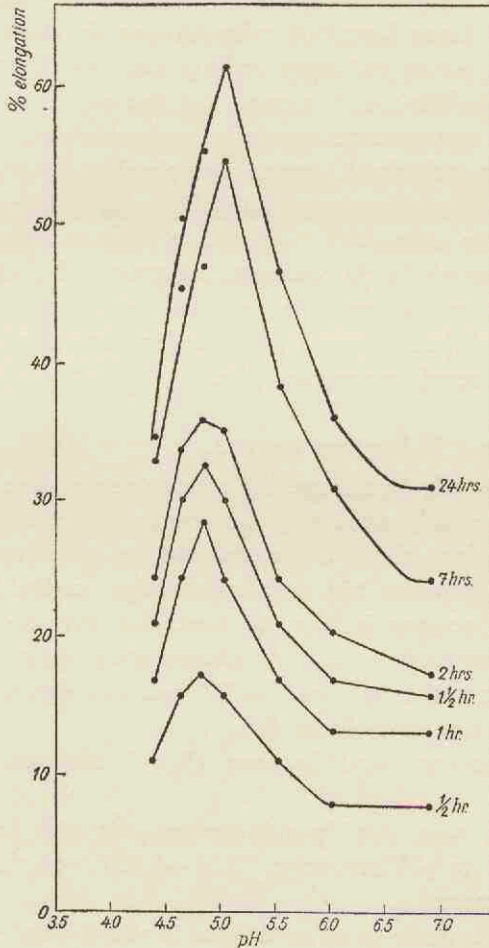


Fig. 10.

De invloed van den tijd op het verband tusschen groei en pH bij wortels van *Pisum sativum*.

ligt, om later naar 5.02 te verschuiven. Bij langere inwerking wordt deze hoge H-ionenconcentratie dus schadelijk.

Als we fig. 1 en fig. 8 vergelijken valt op, dat de *Pisum* wortels gevoeliger voor zuur zijn dan de *Avena* coleoptielen.

Waar voor het coleoptiel pH 4 ongeveer de grens van het beschadigende gebied was, ligt voor den wortel die grens al bij pH 5.

Dat wil dus zeggen, dat de coleoptielcellen een $10 \times$ grootere concentratie H-ionen kunnen verdragen dan de wortelcellen.

Ook hier is, gezien het steile verloop van den dalenden tak van de curve, nauwelijks aan te nemen, dat we met een groeiremning door te hoge auxine-concentratie te maken hebben.

Wel is de mogelijkheid hiervan niet absoluut uitgesloten, vooral omdat het verloop van de remmingslijn veel minder steil is dan voor het *Avena* coleoptiel. Om dit te kunnen uitmaken zullen proeven met verschillende concentraties groeistof genomen moeten worden met dezelfde methode, om dan den vorm van de beide curven te vergelijken. Naar ik hoop, zullen binnenkort hierover gegevens gepubliceerd kunnen worden.

D. Proeven met *Helianthus annuus*.

De ligging van de groeizone bij zonnebloemwortels van 14–18 mm (± 60 uur oud) werd nagegaan op dezelfde wijze als voor de erwtenwortels. Het bleek, dat uitsluitend de zone van $1-3\frac{1}{2}$ mm van den top langeren tijd met regelmatige snelheid door bleef groeien. De groeizone is hier zóó kort, dat zelfs de zone $2\frac{1}{2}-4$ mm van den top na 6 uur in gedestilleerd water ophoudt te groeien. Daarentegen groeide de zone $1-2\frac{1}{2}$ mm van den top na 48 uur nog met regelmatige snelheid door.

Voor de proeven werd de zone $1\frac{1}{2}-3$ mm van den top gebruikt.

Eigenaardig was, dat de cilindertjes, die zich in oplossingen met een gunstige pH bevonden (5.31–6.55), verschillende malen wortelharen vormden.

In tabel 2 wordt de groei na 24 uur in verschillende bufferoplossingen vergeleken (resultaten van 11 proeven).

Na de ontkenning van de juistheid van Strugger's tweetoppige pH-kromme voor *Helianthus* wortels, blijkt deze kromme nu inderdaad eentoppig te zijn. (fig. 11).

Tabel 2.

De invloed van de pH op den groei van *Helianthus* wortels.

pH	% groei in 24 uur	aantal cilindrs	pH	% groei in 24 uur	aantal cilindrs
3.37	9.5	19	5.84	63.2	45
3.95	22.6	16	6.09	54.2	19
4.53	58.6	8	6.24	61.8	28
4.86	57.0	10	6.55	58.5	32
4.96	57.8	19	6.90	36.2	8
5.06	60.2	14	6.96	38.1	29
5.19	57.5	20	7.07	49.3	10
5.31	61.3	44	7.19	39.7	18
5.47	72.9	28			

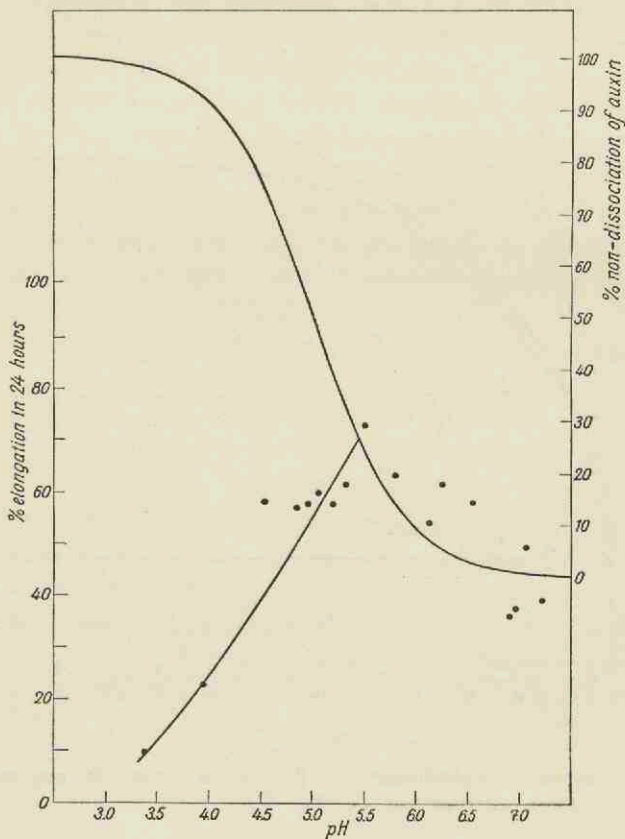


Fig. 11.

De invloed van de pH op den groei van wortelcilindrs van *Helianthus annuus*.

De overeenkomst met de dissociatiekromme van auxine is bij den wortel van *Helianthus* minder duidelijk dan bij den *Pisum* wortel en het *Avena* coleoptiel. Tusschen pH 4.5 en 6.5 ligt een gebied, waar de groei vrij constant blijft.

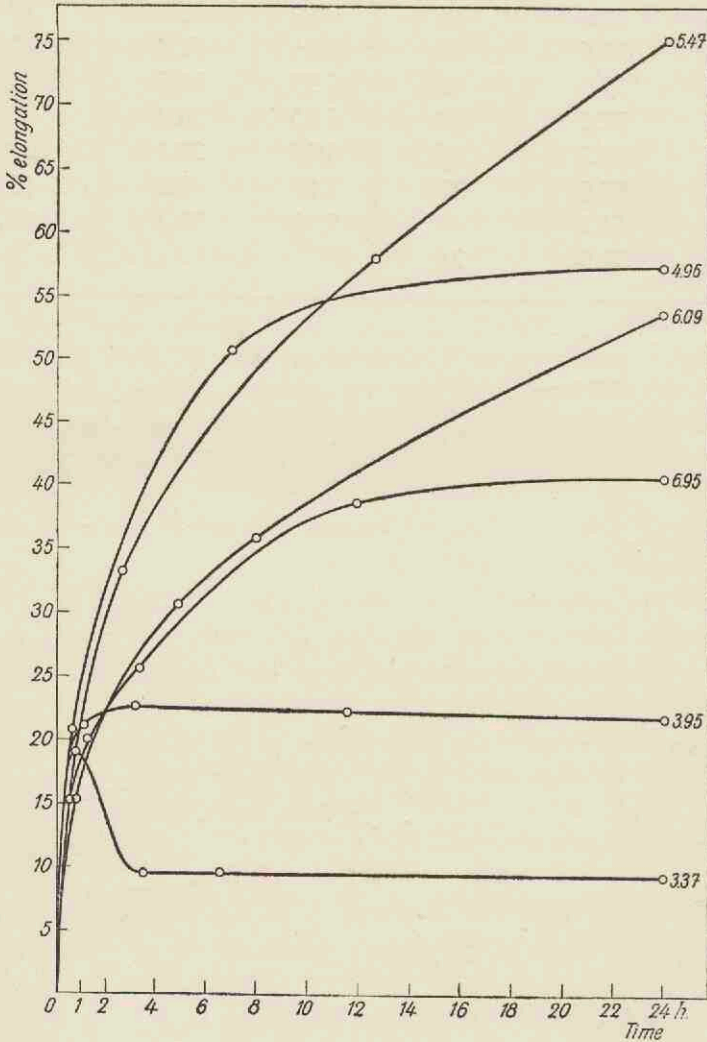


Fig. 12.

De groei van wortelcylinders van *Helianthus annuus* bij een aantal karakteristieke waarden van de pH.

Echter mogen we, steunend op de resultaten bij *Avena* en *Pisum*, concludeeren, dat ook bij *Helianthus* wortels de invloed van de pH uitsluitend bestaat in het vrijmaken van auxine uit zijn gedissocieerden vorm.

Meer dan bij *Pisum* bestaat hier de mogelijkheid, dat de dalende tak van de curve een groeivertraging door te hooge auxine-concentratie weergeeft. Alleen proeven met verschillende groeistofconcentraties kunnen uitmaken, of daaruit een curve met een vlakke top te voorschijn komt, die overeenkomst vertoont met de gevonden curve voor *Helianthus* wortels.

Uit de steeds verder uiteenwijkende krommen van fig. 12 blijkt weer, hoe het celsap geleidelijk de pH van de proefoplossing aanneemt.

Hier komt tevens heel duidelijk uit, hoe in de extreem zure oplossingen, na een kortstondige sterke groeibevordering, de beschadigende werking van de waterstof-ionen intreedt.

Samenvattend kunnen we uit dit hoofdstuk dus concludeeren, dat de theorie, dat de waterstof-ionenconcentratie een primaire groeifactor zou zijn, ook voor wortels onjuist is.

Bij geïsoleerde, sterk groeiende wortelcylinders, die dus hun eigen groeistof geleidelijk opgebruiken, bleek de groei bevorderd te worden door verhooging van de werkzame auxine-concentratie binnen in de cel door middel van H-ionen.

Hieruit mogen we concludeeren, dat de groeibevordering door zuren van onbeschadigde *Lupinus* wortels (Schulte 1937) en *Avena* wortels (Lane 1936) eveneens te danken was aan vrijmaking van de groeistof in de wortelcellen, hoewel deze schrijvers geen buffer-oplossingen gebruikten. Wanneer de gegevens van Schulte graphisch uitgezet worden, ontstaat een eentoppige kromme, die overeenkomt met de bovenbeschreven curven voor *Pisum*- en *Helianthus* wortels.

Hiermee is dus aangetoond, dat ook bij onbeschadigde wortels een verhooging van de groeistofconcentratie binnen een bepaald gebied den groei bevordert.

HOOFDSTUK V.

BESTAAT ER EEN GROEI PROCES ZONDER GROEISTOF ?

A. De groei van geïsoleerde cilindres van *Avena coleoptilen*.

In de inleiding werd besproken, dat de groei na verwijdering van de groeistofbron niet geheel stilstaat.

Bij de nauwkeurige microscopische metingen aan cilindertjes uit de groeizone van *Avena coleoptilen*, uitgesneden met de techniek beschreven in 1938 en in het vorige hoofdstuk voor de wortels, kon ik vaststellen, dat deze cilindertjes in gedestilleerd water na 3 tot 4 dagen nog in een zeer langzaam tempo doorgroeien.

Aangezien algemeen wordt aangenomen, dat een plant binnen een paar uur de in haar cellen aanwezige groeistof opgebruikt, wanneer de groeistoftoevoer onderbroken wordt, rees vanzelf de vraag naar den aard van dit lang aanhoudende, uiterst vertraagde groeiproces.

Hebben we hier dan misschien inderdaad te maken met een groei zonder groeistof? Het antwoord op deze vraag kan alleen gevonden worden door het verdwijnen van de groeistof tijdens den groei te onderzoeken.

De proeven werden gedaan met *Avena coleoptilen*, omdat de groei van dit object het minst variabel is. Na de conclusies uit het vorige hoofdstuk gelden de resultaten echter even goed voor wortels als voor de coleoptilen.

In de eerste plaats dienen we het tijdelijk verloop van het groeiproces te kennen. Dit is graphisch weergegeven in fig. 13 voor cilindertjes met een verschillend groeistofgehalte, groeiend in gedestilleerd water.

Tweemaal decapiteeren van de coleoptilen, met een tusschenpoos van 110 minuten, heeft het auxinegehalte van de nogmaals 110 minuten later uit de groeizone gesneden cilindertjes slechts weinig verlaagd (curven 2 en 3). De al of niet aanwezigheid van het primaire blad in de cilindres heeft bijna geen invloed.

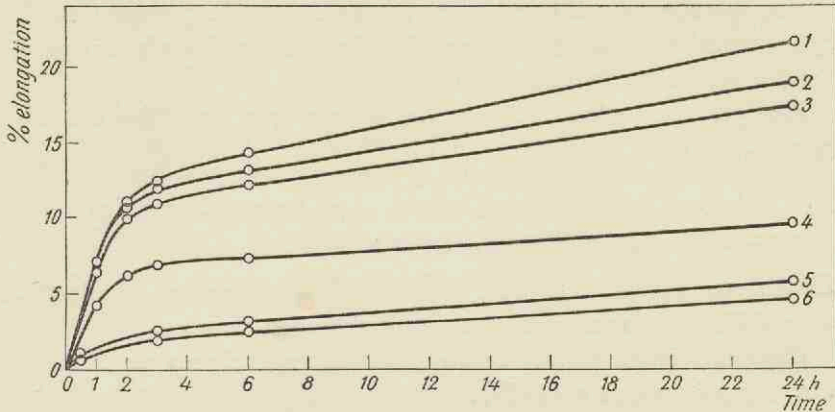


Fig. 13.

De invloed van het auxinegehalte op den groei van *Avena* coleoptielcylinders.

1. Cylinders uit 3 dagen oude coleoptielen; controle.
2. Idem; 2 × gedecapiteerd, met primair blad.
3. Idem; 2 × gedecapiteerd, zonder primair blad.
4. Idem; 18 uur van te voren van het zaad ontdaan, 2 × gedecapiteerd.
5. Cylinders uit 4 dagen oude coleoptielen; 18 uur van te voren van het zaad ontdaan, niet gedecapiteerd.
6. Idem; 18 uur van te voren van het zaad ontdaan, 2 × gedecapiteerd.

Wanneer *Avena* kiemplanten 18 uur van te voren van het zaad zijn ontdaan volgens de techniek beschreven door Skoog (1937), wordt verondersteld, dat zij bijna geheel groeistof-vrij zijn. Hier blijkt echter, dat zelfs cylinders uit zaadloze coleoptielen nog groeien (curven 4, 5 en 6), hoewel veel minder dan de controle.

Aangezien er slechts een relatief verschil in groeisnelheid bestaat tusschen de cylinders uit zaadloze en normale coleoptielen, zijn altijd onbehandelde coleoptielen voor de proeven gebruikt.

Den laatsten tijd zijn van verschillende kanten publicaties over groeiremmende stoffen verschenen. De mogelijkheid bestond, dat de sterke daling van de groeisnelheid na 3 uur, te wijten was aan de ophooping van gevormde remmende stoffen in het water. Om dit na te gaan werd een proef gedaan, waarbij het water na 2 uur ververscht werd. Dit bleek geen invloed op de groeisnelheid te hebben.

Een tweede mogelijkheid was, dat na 3 uur de groeistof in de cilindertjes opgebruikt was en dat de daaropvolgende restgroei zonder auxine plaats vond.

Het groeistofverbruik tijdens het groeiproces werd daarom nagegaan.

B. Onderzoek naar het verdwijnen van groeistof met de „deseeded *Avena* test” van Skoog.

Zoals te verwachten was, kon uit de geïsoleerde cilindertjes door diffusie in agar geen groeistof verkregen worden.

Daarom werden zij met aether geëxtraheerd volgens de methode van Oppenoorth (1939).

250 cilindertjes uit 3 dagen oude planten van ± 17 mm werden geëxtraheerd in ijs-gekoelde peroxyd-vrije aether. De zone 6–7½ mm van den top werd gebruikt, omdat hier op dezen leeftijd volgens Avery en Burkholder (1936) de groeizone ligt.

Na minstens 5 uur werd de geëxtraheerde groeistof, door afdampen van de aether boven een waterbad, overgevoerd in een agarplaatje, dat in een gesloten buisje in een stikstof-atmosfeer een nacht in de ijskast bleef staan.

Den volgenden dag werd het groeistofgehalte van de agarplaatjes op de gebruikelijke wijze bepaald in de *Avena*-test. Als voorzorgsmaatregel werden alle extractie-manipulaties uitgevoerd in een donkere kamer bij oranje licht.

In de eerste plaats werd het groeistofgehalte onderzocht van 5 opeenvolgende zones van 1½ mm met de standaard *Avena*-test (zie Went en Thimann 1937). Deze test bleek echter niet gevoelig genoeg te zijn. De hoeveelheid groeistof uit 250 cilindertjes van de zone 6–7½ mm van den top, gaf in deze test krommingen van 0 tot 2°.

Daarom werd overgegaan tot de gevoeliger test-methode op zaadloze *Avena* coleoptielen volgens Skoog (1937). Inderdaad gaf nu dezelfde zone een kromming van 3 tot 8°.

Om de resultaten van verschillende proefdagen onderling te kunnen vergelijken, werd het groeistofgehalte uitgedrukt in equivalente concentraties van indol-3-azijnzuur, zoals dit is voorgesteld door van Overbeek (1938). Weliswaar is gebleken, dat

deze auteur zich vergiste, toen hij meende, dat men resultaten met verschillende test-methoden, uitgedrukt in aequivalenten heteroauxine, onderling zou kunnen vergelijken, omdat de gevoeligheid van verschillende test-objecten voor heteroauxine niet gelijk is (Thimann en Schneider 1939 a). Maar voor een serie resultaten met een bepaalde test is het uitdrukken in heteroauxine aequivalenten geoorloofd en biedt het voordeel, dat men resultaten van verschillende proefdagen kan vergelijken zonder rekening te moeten houden met de wisselende gevoeligheid van de test-planten.

Van Overbeek heeft de volgende formule bepaald voor het berekenen van de groeistofconcentratie in de geëxtraheerde plantendeelen:

$$\frac{C \times I_{10} \times V_a}{W} \quad \text{gammas indol-3-azijnzuur aequivalenten per}$$

liter plantenvocht.

C is de door het extract veroorzaakte krommingshoek van de *Avena* testplanten.

I_{10} is de concentratie indol-3-azijnzuur, die de kromming met 1° vermeerderd (in γ/l).

V_a is het volume van het agarplaatje, waarin het extract opgenomen wordt (in cm^3).

W is het vochtgehalte (in grammen) van het geëxtraheerde plantenmateriaal.

Tabel 3. Vochtgehalte van *Avena* coleoptielcylinders.

Zone (afstand van den top)	per cylinder			Vochtgehalte % van versch gewicht
	versch gewicht	droog- gewicht	vocht	
0 $-1\frac{1}{2}$ mm	440 \pm 11.9 γ	47 \pm 1.7 γ	393 \pm 10.7 γ	89.4 %
$1\frac{1}{2}$ -3 mm	918 \pm 19.6	88 \pm 1.6	830 \pm 18.8	90.4
3 $-4\frac{1}{2}$ mm	1186 \pm 16.8	110 \pm 2.8	1076 \pm 14.4	90.7
$4\frac{1}{2}$ -6 mm	1374 \pm 18.8	122 \pm 2.8	1252 \pm 17.2	91.1
6 $-7\frac{1}{2}$ mm	1513 \pm 14.0	136 \pm 2.8	1377 \pm 12.8	91.0

Om W te berekenen werden telkens 5 opeenvolgende zones uit 100 coleoptielen van ± 17 mm gesneden. De gemiddelde waarden uit 800 coleoptielen met de middelbare fout $\left(\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum \Delta^2}{n(n-1)}}\right)$ zijn samengesteld in tabel 3.

De waarde van I_{10} werd berekend uit de krommingshoeken, veroorzaakt door de dagelijks mee geteste standaardoplossingen van indol-3-azijnzuur.

In achtereenvolgende proeven werden de cylinders uit de groei-zone geëxtraheerd direct na het snijden (controle) en na 24, 3, 2, 1 en $\frac{1}{2}$ uur groei in gedestilleerd water. Als vergelijking werden tevens de zones 0— $\frac{1}{2}$ (toppen) en $4\frac{1}{2}$ —6 mm van den top, geëxtraheerd. In de voorafgaande proeven met de standaard *Avena*-test was gebleken, dat het groeistofgehalte van de zones $4\frac{1}{2}$ —6 en 6— $7\frac{1}{2}$ mm van den top ongeveer gelijk was.

De resultaten zijn samengevat in tabel 4, uitgedrukt in γ hetero-auxine aequivalenten per liter plantenvocht.

De conclusie uit deze proeven is, dat zelfs na een $\frac{1}{2}$ uur groei in gedestilleerd water geen groeistof in de cilindertjes meer aan te toonen is.

Aangezien uit fig. 13 blijkt, dat ze op dit tijdstip nog hard groeien, is het waarschijnlijk, dat zelfs de zaadloze *Avena*-test, tot voor kort de gevoeligste groeistof-test, niet gevoelig genoeg is om zulke minimale hoeveelheden auxine aan te toonen. We moesten daarom zoeken naar een gevoeliger test-methode.

C. Proeven met *Lupinus luteus* als groeistof test-object.

Waarschijnlijk hebben reeds verschillende onderzoekers de mogelijkheid overwogen om wortels als groeistof test-object te gebruiken, sinds de ontdekking, dat wortels zooveel gevoeliger voor groeistof zijn dan stengels.

Publicaties hierover zijn echter alleen verschenen van de hand van Segelitz (1938) en Naundorf (1940). Segelitz kweekte wortels van *Zea Mays* steriel in agar en spoot met een lange injectienaald groeistofoplossingen vlak naast den wortel in. De groei-vertraging, die hier het gevolg van was, was dan een maat voor de

Tabel 4. Groeistofconcentratie in *Avena* coleoptielcylinders
vóór en tijdens den groei in gedestilleerd water.

Datum	Zone, afstand van den top, mm			Behandeling van zone 6-7½	Gevoeligheid van test-planten	Aantal coleoptielen geëxtraheerd
	0-1½	4½-6	6-7½			
21-3-'39	21.4 γ /l	—	4.3 γ /l	controle	normaal	200
24-3-'39	26.8	—	4.3	"	gevoelig	280
25-3-'39	18.6	—	5.3	"	ongevoelig	280
14-4-'39	14.0	1.8	—	24 uur in gedest. water	ongevoelig	250
15-4-'39	—	—	0		ongevoelig	"
18-4-'39	—	3.8	—	idem	normaal	240
19-4-'39	—	—	0		normaal	"
21-4-'39	38.8	6.8	—	3 uur in gedest. water	normaal	250
22-4-'39	—	—	0		normaal	"
25-4-'39	25.6	4.9	1.5	idem	normaal	250
29-4-'39	14.0	3.1	0	idem	normaal	250
28-4-'39	28.0	2.8	0	2 uur in gedest. water	normaal	250
6-5-'39	15.6	4.3	0	idem	normaal	250
9-5-'39	40.0	5.8	0	1 uur in gedest. water	normaal	250
12-5-'39	14.5	2.5	0	idem	normaal	250
13-5-'39	33.8	3.6	0	½ uur in gedest. water	zeer gevoelig	250
16-5-'39	44.0	5.3	0	idem	ongevoelig	250

onderzochte auxineconcentratie. Deze test was echter nog verre van kwantitatief.

N a u n d o r f gebruikte geïsoleerde gedecapiteerde wortels van *Lens sativa* als test-object. Of deze methode inderdaad gevoeliger is dan de bekende groeistofbepalingsmethoden, kan niet worden

gecontroleerd, omdat deze auteur geen vergelijkingswaarden voor zuivere auxine of indol-3-azijnzuur aangeeft.

De proeven van Weiler (1938) waren voor mij aanleiding om te probeeren, of gedecapiteerde wortels van *Lupinus luteus* geschikt waren om zeer kleine hoeveelheden groeistof mee aan te toonen.

In het vorige hoofdstuk werd besproken, dat deze wortels negatief geotropisch reageeren op uiterst geringe auxineconcentraties, terwijl de reactie op hogere concentraties positief geotropisch wordt.

De proeven werden genomen met intacte wortels van ± 2 cm, waarop na decapitatie een agarblokje met heteroauxine aangebracht werd. Hierna werd gedurende 24 uur de kromming uit den horizontalen stand nagegaan.

De wortels groeiden in een donkere kamer bij 23° C. en 100 % vochtigheid.

De reactie op indol-3-azijnzuur werd nagegaan in concentraties van 10^{-10} tot 10^{-15} .

De resultaten uit deze proeven waren geheel negatief, zooals blijkt uit tabel 5.

Tabel 5.

De geotropische reactie van *Lupinus luteus* wortels, waarvan de top was vervangen door agarblokjes met indol-3-azijnzuur.

concentratie indol-3-azijnzuur	10^{-10}	10^{-11}	10^{-12}	10^{-13}	10^{-14}	10^{-15}
positief	13 %	21 %	18 %	15 %	25 %	10 %
negatief	13 %	5 %	8 %	9 %	16 %	14 %
niet gekromd	70 %	74 %	74 %	76 %	59 %	76 %
Totaal aantal wortels	24	43	39	87	56	108

Het meerendeel der wortels bleef geheel recht doorgroeien en het percentage negatief en positief gekromde wortels is in alle concentraties ongeveer gelijk.

De mogelijkheid bestond nu nog, dat de *Lupinus luteus* wortels voor auxine gevoeliger zouden zijn dan voor heteroauxine. Daarom werden toch nog 4 proeven genomen met extracten van de zones 0—1½, 4½—6 en 6—7½ mm van den top uit 250 *Avena* coleoptielen elk. In drie van de vier proeven werd de zone 6—7½ mm pas geëxtraheerd na 3 uur groei in gedestilleerd water. De resultaten met deze extracten waren even weinig zeggend als die met indol-3-azijnzuur.

Het meest overtuigende bewijs van de onbruikbaarheid van deze methode zijn de resultaten met blanco agarblokjes zonder groeistof. Hiermee bleven 91 wortels recht doorgroeien (soms wel 12 mm in 24 uur in horizontalen stand), 4 wortels kromden positief en 1 negatief geotropisch.

Het blijkt dus, dat de geotropische reactie na decapitatie ook afhankelijk is van de in de wortels achterblijvende, zeer variabele hoeveelheid groeistof. Deze resultaten zijn dan ook uitsluitend vermeld als waarschuwing tegen snelle conclusies uit gering proeven-materiaal, wanneer het wortels betreft.

Van de definitieve onbruikbaarheid van deze methode was ik pas overtuigd door het onderzoek van een groot statistisch materiaal (ruim 600 wortels), terwijl het aanvankelijk leek, of er een duidelijk verband was tusschen de heteroauxine-concentratie en de richting van de geotropische reactie.

Hoewel ik Weiler's mooie resultaten niet in het minst in twijfel trek, lijkt het met het oog op het bovenstaande toch wenselijk om haar proeven te herhalen.

D. Onderzoek naar het verdwijnen van groeistof met de „quartered coleoptile test” van Thimann en Schneider.

Na het afsluiten van de proeven voor deze dissertatie verscheen een publicatie van Thimann en Schneider (1939 b), waarin zij een gevoelige groeistof-test beschreven met overlans in vieren gespleten coleoptielen van *Avena*.

Daarom moest nog worden nagegaan, of deze techniek inderdaad gevoeliger is dan de „deseeded coleoptile test” van Skoog en of langs dezen weg dan misschien het tijdstip vastgesteld kon worden, waarop alle groeistof uit de *Avena* cilindertjes verdwenen was.

De test berust op het volgende principe: wanneer groeiende stengels of andere plantenorganen overlans gespleten worden, buigen de slippen naar buiten om tengevolge van de weefselspanning. In water wordt deze — negatieve — kromming naar buiten versterkt.

Het ontstaan van de weefselspanningskrommingen hebben Thimann en Schneider (1938) verklaard uit een verschillende gevoeligheid voor groeistof van de binnenste en buitenste weefsel-lagen.

Went zag, dat de slippen van overlans gespleten erwten-epicotylen zich in groeistofoplossingen naar binnen krommen, dus tegen de weefselspanningskromming in. Door de binnendringende groeistof groeien de buitenste lagen harder dan de binnenste. De grootte van de positieve kromming is een maat voor de concentratie van de onderzochte groeistofoplossing. Dit is de z.g. *Pisum* test van Went (1934).

Onder vele andere planten vertoont het *Avena* coleoptiel hetzelfde verschijnsel. De verbetering, die Thimann en Schneider aanbrachten, bestond hierin, dat zij het coleoptiel in vieren in plaats van in tweeën spleten. Terwijl bij de gehalveerde coleoptielen pas bij een concentratie 10^{-6} heteroauxine een vermindering van de negatieve kromming optrad, die bij hogere concentraties geleidelijk overging in een positieve kromming, was dit bij de in vieren gespleten coleoptielen al bij 10^{-10} het geval. Zeer waarschijnlijk berust deze verhoogde gevoeligheid uitsluitend op een vermindering van den mechanischen weerstand van de slippen.

Met kleine wijzigingen van de techniek van Thimann en Schneider ging ik als volgt te werk.

Avena coleoptielen van 22—26 mm werden afgesneden op de grens van het mesocotyl en gebracht in het verdeelings-apparaatje, dat afgebeeld is in fig. 14.

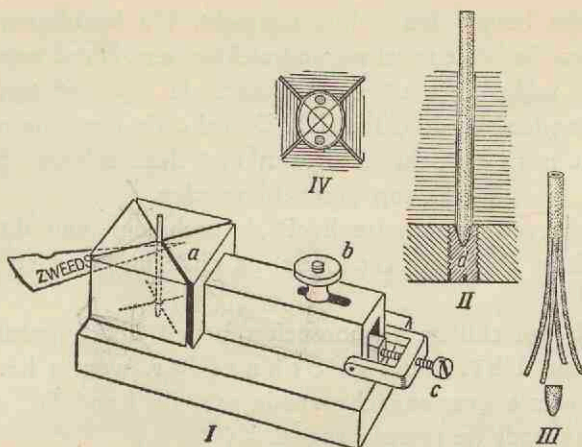


Fig. 14.

Apparaatje voor het overlans in vieren splejten van een *Avena* coleoptiel.
Beschrijving in tekst.

Dit bestaat uit een, volgens de diagonaalvlakken in vieren verdeelden, koperen kubus (afb. I), waarvan één driekantig prisma (a) beweegbaar is, wanneer de schroef b niet aangedraaid is.

De lijn, waar de vier prisma's elkaar ontmoeten, is nauwkeurig uitgevijld, zoodat een coleoptiel van de gewenschte lengte er precies in past. In doorsnede is dit verduidelijkt in afb. II. De top van het coleoptiel verdwijnt onder den verdeelden kubus in een conische holte, die aangebracht is in een schroefje d.

Het coleoptiel wordt in het apparaatje gebracht, terwijl het prisma a uitgeschoven is, daarna wordt a aangeschoven en de schroef b vastgedraaid. Door den druk van a en door het feit, dat de top in de conische holte rust, wordt het coleoptiel nu onbewegelijk vastgehouden, zonder dat het in het minst beschadigd wordt. De druk van het beweegbare prisma kan nl. geregeld worden door de instelschroef c. De groeven tusschen de vier prisma's zijn zoo gemaakt, dat het aangepunte lemnet van een scheermesje er net doorheen kan glijden.

Hiermee wordt nu het coleoptiel overlans in vier precies even breede slippen verdeeld over een lengte van 1.5 cm. De top, die in de conische holte rust, blijft intact, evenals de basis van het

coleoptiel, die boven den kubus uitsteekt. Na losdraaien van de schroef b kan het coleoptiel nu voorzichtig verwijderd worden. De vier slippen wijken pas uiteen, wanneer de top met een scheermesje afgesneden wordt (afb. III). Doordat de conische uitholling aangebracht is in de schroef d, kan met deze schroef de lengte van den te decapiteeren top geregeld worden.

Het beschreven apparaatje heeft de technicus van dit laboratorium, de heer P. A. de Bouter, na onderling overleg voor mij vervaardigd.

Het biedt verschillende voordeelen boven het apparaatje, beschreven door Thimann en Schneider, waarin het coleoptiel na de eerste overlansche snede met de hand 90° gedraaid moet worden voor de tweede snede.

Wanneer de vier slippen niet precies even breed zijn, is de mechanische weerstand van een smalle slip veel kleiner dan van een breede. Het gevolg is, dat de smalle slip veel sterker kromt.

Ik begon te werken met het Amerikaansche apparaatje en onder vond dezelfde moeilijkheden als de ontwerpers daarvan, die ik hierbij citeer: „Most of the sources of error lie in the slitting process. Variation in length of the slit and in width of the quarters is hard to avoid”.

Na eenige oefening worden bij het gebruik van mijn apparaatje deze beide fouten geheel vermeden.

Nog een ander voordeel wordt verduidelijkt in afb. IV, die de elliptische doorsnede van het holle coleoptiel met de ligging van de beide vaatbundels toont. De meest rationeele wijze om het coleoptiel in vier gelijke deelen te splijten, is volgens de diagonalen in de tekening.

Met het apparaatje van Thimann en Schneider is het nu practisch onmogelijk om bij het snijden te zorgen, dat de vaatbundels zich precies midden in de slippen bevinden, terwijl dit toch zeer belangrijk is voor het tot stand komen van even groote krommingen. Met mijn methode worden de sneden onveranderlijk op de juiste plaats aangebracht.

Na het decapiteeren van een top van 3 mm brak ik de slippen met vaatbundel bij de basis met een pincet af, in tegenstelling met Thimann en Schneider. Dit had de volgende reden: de

kromming van de slippen met vaatbundel is constant 100 tot 150° meer negatief dan die van de slippen zonder vaatbundel. Thimann en Schneider beschreven hetzelfde verschijnsel, doch zij vonden het geoorloofd om de resultaten niettemin te middelen, omdat het verschil steeds een constante waarde bleef behouden. Het bezwaar hiervan is, dat de middelbare fout groot wordt.

Het verwijderen van twee slippen heeft bovendien dit voordeel, dat de beide overblijvende slippen ongehinderd kunnen krommen in een vloeistoflaagje van slechts 2 mm dik, zoodat men met veel kleinere hoeveelheden test-vloeistof volstaan kan. Laat men vier slippen intact, dan heeft men meer vloeistof noodig en de krommende coleoptielslippen hinderen elkaar voortdurend. Deze mechanische hindering bleek in belangrijke mate bij te dragen tot de variabiliteit van de resultaten.

In de eerste plaats werd nu de kromming in oplossingen van indol-3-azijnzuur in gedestilleerd water in concentraties van 10^{-7} tot 10^{-11} nagegaan. De proeven werden eerst gedaan in petrischalen in 30 cm³ oplossing, daarna in plasmolyseschaaltjes in 2 cm³ en 1 cm³ oplossing, aangezien men voor het onderzoek van extracten zoo weinig mogelijk oplosmiddel moet gebruiken. Tijdens de proef stonden de schaaltes in het donker bij 23° C. De krommingen werden herhaaldelijk gemeten met een gradenboog van 360° en na 24 uur werden schaduwbeelden gemaakt.

Tabel 6 geeft de resultaten weer van een proef, die kenmerkend is voor verscheidene analoge proeven. Hieruit blijkt, dat de coleoptielen niet reageeren op heteroauxine-concentraties lager dan 10^{-9} . Dit is slechts schijnbaar in tegenspraak met de conclusie van Thimann en Schneider, dat er nog een duidelijk verschil met de controle blijkt in een concentratie 10^{-11} .

In werkelijkheid liggen in hun figuur 4 de waarden voor 10^{-10} en 10^{-11} binnen de foutengrens van de controle. Ook in hun proeven gaf pas 10^{-9} een duidelijk verschil.

Dit leek niet erg hoopvol voor het onderzoek van de extracten van cilindertjes. Met de test van Skoog was immers gebleken, dat de groeistofconcentratie in cilindertjes uit de groeizone na

Tabel 6. IJking van de „quartered coleoptile test” met oplossingen van indol-3-azijnzuur.

Vergelijking van krommingen in oplossingen van indol-3-azijnzuur in gedestilleerd water. Gemiddelde waarden van telkens 4 coleoptielen (8 krommingen in 30 cm³ oplossing na 24 uur. 13-4-'40.

concentratie indol-3-azijnzuur	0	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷
graden kromming	-43 ± 9	-50 ± 9	-73 ± 12	-14 ± 14	+126 ± 15	+370 ± 27

$\frac{1}{2}$ uur groeien in water minder dan 1 γ /l heteroauxine aequivalenten was.

Dit zou beteekenen, dat een extract van 250 cilindertjes uit de zone 6-7 $\frac{1}{2}$ mm van den top, opgelost in 1 cm³ water, een concentratie kleiner dan $\frac{250 \times 0.001377}{1000} \gamma$ per cm³ = 0.35 γ /l heteroauxine aequivalenten zou hebben.

Toch heb ik extracten getest, met verrassend resultaat.

250 cilindertjes werden gedurende 7 uur in aether geëxtraheerd, waarna de groeistof door afdampen van den aether overgevoerd werd in 1 of 2 cm³ gedestilleerd water. Den volgenden dag werden 2 tot 4 coleoptielen (4 tot 8 krommingen) onderzocht in deze extracten in plasmolyse-schaaltjes. Naast de extracten werd in elke proef een serie heteroauxine-oplossingen van 10⁻⁵ tot 10⁻¹¹ getest. De onderstaande tabellen bevatten de proefresultaten, terwijl de krommingen van tabel 7 zijn weergegeven in fig. 15.

De eenige manier om vergelijkbare cylinder-extracten op verschillende tijdstippen van het groeiproces te verkrijgen, bestond uit het gebruiken van opeenvolgende zones van dezelfde coleoptielen. Dit was waarschijnlijk ook wel geoorloofd, omdat met de standaard *Avena* test nagegaan was, dat het groeistofgehalte van verschillende 1 $\frac{1}{2}$ mm lange zones onder den top ongeveer gelijk was (tabel 10).

In de eerste proef werd voorzichtigheidshalve de geëxtraheerde groeistof opgelost in 1 cm³ water (tabel 7).

Tabel 7. De groeistofconcentratie in *Avena* cilindres na 0 en $\frac{1}{2}$ uur groei in gedestilleerd water.

Vergelijking van extracten uit 250 toppen en cilindres (opgelost in 1 cm^3 gedestilleerd water) met heteroauxine oplossingen (1 cm^3).

Gemiddelde waarden van telkens 2 coleoptielen (4 krommingen) na 24 uur.
27-4-'40.

Extract uit zone:	Verdunning van extract	Tijdsduur groei in water	Kromming in graden	Groeistofconcentratie in cilindres in γ heteroauxine aequivalenten per l. plantenvocht
0 $-1\frac{1}{2}$ mm	1 : 2	0 uur	+ 42 ± 7	1405 γ/l
"	1 ; 20	0	- 11 ± 3	0
"	1 : 200	0	- 15 ± 2	0
"	1 : 2000	0	- 19 ± 3	0
3 $-4\frac{1}{2}$ mm	1 : 1	0	+ 102 ± 30	1155
$4\frac{1}{2}$ -6 mm	1 : 1	0	+ 20 ± 4	93*
6 $-7\frac{1}{2}$ mm	1 : 1	$\frac{1}{2}$	+ 105 ± 42	958
concentratie indol-3-azijnzuur				
	0		- 12 ± 3	
	10^{-11}		- 12 ± 3	
	10^{-10}		- 16 ± 3	
	10^{-9}		- 7 ± 4	
	10^{-8}		+ 10 ± 5	
	10^{-7}		+ 60 ± 6	
	10^{-6}		+ 240 ± 22	

*) extract waarschijnlijk gedeeltelijk geïnactiveerd.

Tabel 8. De groeistofconcentratie in *Avena* cylinders na 0, 1/2, 1 1/2 en 3 uur groei in gedestilleerd water.

Vergelijking van extracten uit 250 toppen en cylinders (opgelost in 2 cm³ gedestilleerd water) met heteroauxine oplossingen (2 cm³).

Gemiddelde waarden van telkens 2 coleoptielen (4 krommingen) na 24 uur. 4-5-'40.

Extract uit zone:	Tijdsduur groei in water	Kromming in graden	Groeistofconcentratie in cylinders in γ heteroauxine aequivalenten per l. plantenvocht
0 -1 1/2 mm	0 uur	+ 127 \pm 25	1384 γ /l
1 1/2 -3 mm	0	+ 200 \pm 12	1002
3 -4 1/2 mm	1/2	+ 45 \pm 5	219
4 1/2 -6 mm	1 1/2	[- 112 \pm 13]	[0]*
6 -7 1/2 mm	3	+ 17 \pm 14	142
concentratie indol-3-azijnzuur			
	0	- 64 \pm 2	
	10 ⁻¹¹	- 57 \pm 9	
	10 ⁻¹⁰	- 65 \pm 10	
	10 ⁻⁹	- 37 \pm 7	
	10 ⁻⁸	+ 3 \pm 14	
	10 ⁻⁷	+ 196 \pm 12	
	10 ⁻⁶	+ 511 \pm 45	
	10 ⁻⁵	+ 936 \pm 59	

*) extract waarschijnlijk geïnactiveerd.

Tabel 9. De groeistofconcentratie in *Avena* cilindres na 0, 1½, 3 en 24 uur groei in gedestilleerd water.

Vergelijking van extracten uit 250 toppen en cilindres (opgelost in 2 cm³ gedestilleerd water) met heteroauxine oplossingen (2 cm³).

Gemiddelde waarden van telkens 2 coleoptielen (4 krommingen) na 24 uur. 11-5-'40.

Extract uit zone:	Tijdsduur groei in water	Kromming in graden	Groeistofconcentratie in cilindres in γ heteroauxine aequivalenten per l. plantenvocht
0 - 1½ mm	0 uur	+ 310 ± 25	3664 γ /l
1½ - 3 mm	0	+ 447 ± 58	5060
3 - 4½ mm	1½	+ 130 ± 32	580
4½ - 6 mm	3	+ 73 ± 12	319
6 - 7½ mm	24	+ 47 ± 9	261
concentratie indol-3-azijnzuur			
	0	- 42 ± 13	
	10 ⁻¹¹	- 50 ± 15	
	10 ⁻¹⁰	- 40 ± 4	
	10 ⁻⁹	- 40 ± 6	
	10 ⁻⁸	+ 184 ± 15	
	10 ⁻⁷	+ 281 ± 22	
	10 ⁻⁶	+ 634 ± 33	
	10 ⁻⁵	+ 931 ± 53	

Toen het extract voldoende auxine bleek te bevatten, werd 2 cm³ water gebruikt, aangezien hierin de krommingen zoowel als de verschillen tusschen de krommingen grooter zijn (tabel 8 en 9).

Dit op zichzelf merkwaardige feit is ook door Thimann en Schneider geconstateerd en vindt nog geen verklaring.

De heteroauxine aequivalenten in de tabellen werden berekend volgens de formule van van Overbeek (zie pag. 47). De middelbare fout van de krommingshoeken is aangegeven.

Het belangrijkste resultaat uit de drie bovenstaande tabellen is het feit, dat we tijdens het groeiproces de groeistof geleidelijk zien verdwijnen, maar dat geïsoleerde cilindertjes zelfs na 24 uur groei in water nog groeistof bevatten.

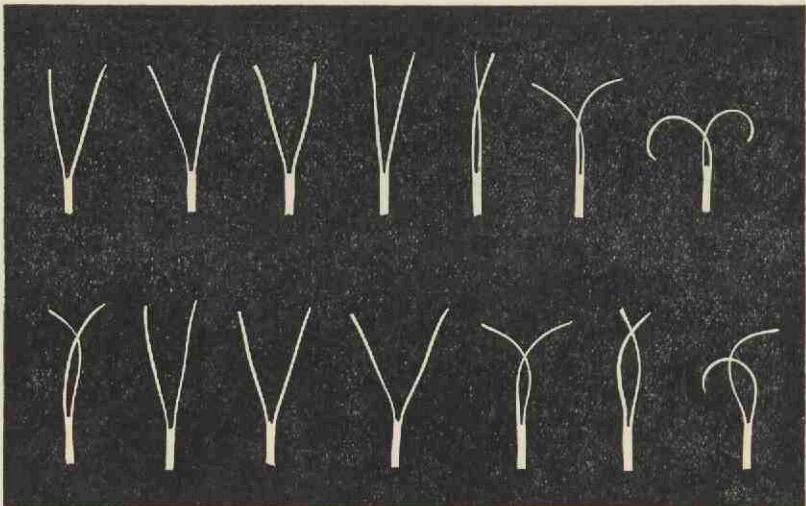


Fig. 15.

Krommingen van twee slippen (zonder vaatbundel) van overlangs in vieren gespleten *Avena coleoptili* in oplossingen van groeistof in gedestilleerd water. (Zie tabel 8).

Bovenste rij: krommingen in indol-3-azijnzuur
concentratie van links naar rechts: 0; 10⁻¹¹; 10⁻¹⁰; 10⁻⁹; 10⁻⁸; 10⁻⁷; 10⁻⁶.

Onderste rij: krommingen in groeistofextracten
van links naar rechts extract uit zone (mm afstand van den top): 0-1½ (1:2);
0-1½ (1:20); 0-1½ (1:200); 0-1½ (1:2000); 3-4½; 4½-6; 6-7½.

Het extract uit 24 uur tevoren geïsoleerde cilindertjes geeft in de „quartered coleoptile test” nog een positieve kromming van 47° (tabel 9). Merkwaardig zijn de onwaarschijnlijk hoge heteroauxine aequivalenten.

In de onderstaande tabel worden de waarden voor groeistofconcentraties, uitgedrukt in γ heteroauxine aequivalenten per l coleoptielcelvocht, vergeleken, zooals zij werden verkregen in de standaard *Avena* test, de zaadloze *Avena* test en de „gevierendeelde *Avena* test”.

Tabel 11.

Zone	Standaard <i>Avena</i> test	„Deseeded coleoptile test”	„Quartered coleoptile test”
0 — $1\frac{1}{2}$ mm	16.1—24.8 γ /l	14.0—44.0 γ /l	1384—3664 γ /l
$1\frac{1}{2}$ —3 mm	1.4— 5.7	—	1002—5060
3 — $4\frac{1}{2}$ mm	1.0— 4.6	—	1155
$4\frac{1}{2}$ —6 mm	1.7— 7.3	1.8— 6.8	—
6 — $7\frac{1}{2}$ mm	1.3— 3.5	4.3— 5.3	—

Duidelijk blijkt weer, dat de omrekening in heteroauxine aequivalenten niet veroorlooft, om de resultaten van verschillende testmethoden onderling te vergelijken. De ongeveer $100 \times$ te hoge waarden in de „quartered coleoptile test” beteekenen alleen, dat deze test veel gevoeliger is voor auxine dan voor heteroauxine. Vandaar dat hiermee de uiterst kleine hoeveelheden groeistof aangetoond konden worden, terwijl de resultaten met indol-3-azijnzuur dit aanvankelijk niet deden verwachten.

Samenvattend zien we dus, dat het dalen van de groeisnelheid bij geïsoleerde cilindertjes parallel loopt met het verdwijnen van de groeistof: *zoolang er nog celstrekking meetbaar is, zoolang is er ook nog groeistof aanwezig.*

De zeer vertraagde groeifase, die zich ongeveer 3 uur na de isolatie instelt, is *niet een restgroei zonder groeistof.*

Dat zelfs deze minimale groei onder groeistofverbruik plaats vindt, is wel het sterkste argument voor Went's „geen groei zonder groeistof”, dat nog ooit ten berde gebracht is. Daar staat tegenover, dat alle „groeistofvrije” planten, die vroeger gebruikt zijn om dit axioma te bewijzen, nooit geheel groeistofvrij zijn geweest. Het bewijs, dat een werkelijk groeistofvrij orgaan weer gaat groeien na toevoeging van groeistof, is daarom nog nooit geleverd.

HOOFDSTUK VI.

GROEISTOF EN pH.

Er is dus gebleken, dat ten opzichte van den tijd de curve voor den groei en de curve voor het groeistofgehalte van geïsoleerde *Avena* cilindertjes ongeveer elkaars spiegelbeeld zijn.

Het was daarom interessant om op verschillende tijdstippen van dit groeiproces het effect van groeistof en van de pH te onderzoeken.

Hiertoe moest eerst worden nagegaan, welke concentratie van indol-3-azijnzuur optimaal is voor den groei van geïsoleerde cilindertjes. Uit metingen aan 250 cilindertjes bleek, dat dit optimum lag bij een concentratie van 1 mgr per liter gedestilleerd water (fig. 16), in overeenstemming met de resultaten van Schneider (1938).

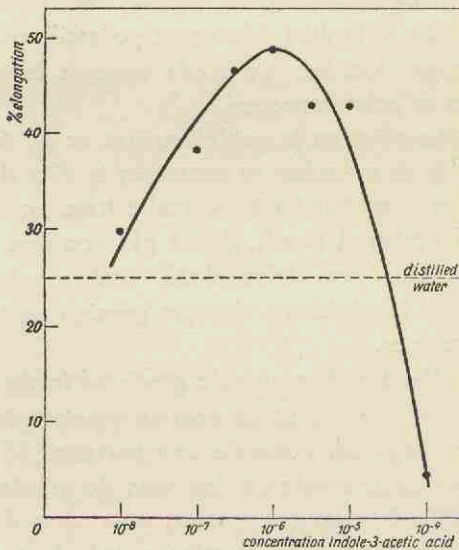


Fig. 16.

Vergelijking van den groei van *Avena* coleoptielcylinders na 24 uur in oplossingen van indol-3-azijnzuur van verschillende concentratie in gedestilleerd water.

Thimann (1935) liet cilindertjes hun eigen groeistof opgebruiken in een zure bufferoplossing (pH 4.0). Toen na 18 uur het groeitempo zeer langzaam geworden was, kon hij het versnellen door toevoeging van indol-3-azijnzuur (2.2×10^{-7}) of indeen-3-azijnzuur (7×10^{-6}), maar niet door verversching van den zuren buffer.

In fig. 17 is een proef weergegeven, waarin het effect van groeistof en van waterstof-ionen, beide in optimale concentratie, vergeleken is.

60 *Avena* cilindertjes groeiden eerst gedurende 6 uur in gedestilleerd water en verbruikten daarbij grootendeels de groeistof, die bij de pH van het celsap in ongedissocieerden toestand aanwezig was. In gedestilleerd water behoudt de celinhoud vanzelfsprekend zijn eigen pH.

Na 6 uur werden 20 cilindertjes overgebracht in een oplossing van indol-3-azijnzuur (10^{-6}), die, wat pH betreft, beschouwd kan worden als gedestilleerd water. 20 Cilindertjes werden overgebracht in een fosfaatbuffer ($K_2HPO_4 + H_3PO_4$, 1/50 N) van pH 4.05 en de overige 20 cilindertjes bleven in gedestilleerd water liggen. Voor het overige werden de reeds vroeger beschreven proefomstandigheden in acht genomen.

Uit de extractie-proeven is gebleken, dat er na 6 uur toch nog vrij veel auxine in de cilindertjes aanwezig is. Dat dit voornamelijk auxine-zout moet zijn, blijkt uit de snelle toename van den groei, wanneer de pH verlaagd wordt. Bij de pH van den celinhoud krijgen de cilindertjes per tijdseenheid veel minder auxine-zuur moleculen tot hun beschikking, daarom groeien ze in gedestilleerd water veel langzamer.

Dat de hoeveelheid gedissocieerde groeistof in de cilindertjes echter toch beperkt was, blijkt uit de enorme groeistijging in de indol-3-azijnzuur oplossing van optimale concentratie. Maar ook in de groeizone van de intacte coleoptielen was de groeistofconcentratie niet optimaal. Uit de extractieproeven was voor die concentratie een waarde van ca. 5 γ /l heteroauxine equivalenten gebleken. In fig. 16 klopt deze waarde vrij goed voor de concentratie, waarbij de groei in gedestilleerd water plaats vindt.

Toch is ook bij optimale verzorging met groeistof de groei niet

onbeperkt. Na 18 uur in groeistofoplossing daalde de groei vrij plotseling heel sterk. Uit de proeven van Schneider (1938) weten we, dat de „food factor” hier beperkend is geworden en dat de groei weer zou stijgen na toevoeging van suiker (zie hoofdstuk I).

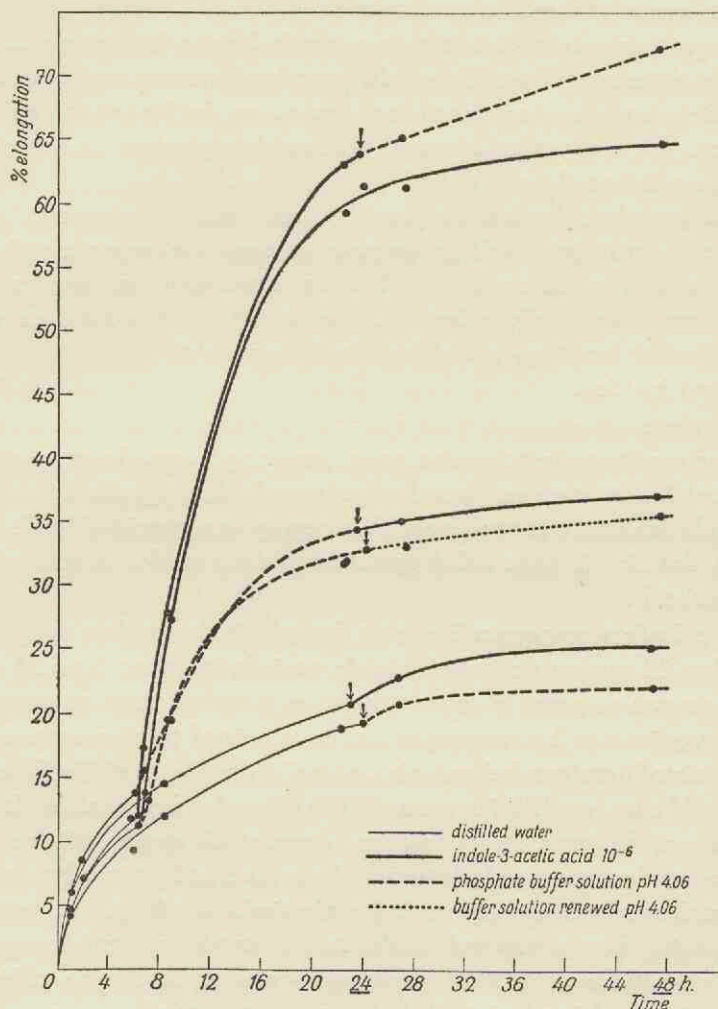


Fig. 17.

Vergelijking van den invloed van de waterstof-ionenconcentratie en van indol-3-azijnzuur op den groei van *Avena coleoptelcylinders*.

Niettemin heeft overbrenging in zuren buffer op dit tijdstip het gevolg, dat de groeisnelheid iets stijgt en de volgende 24 uur vrijwel constant blijft. Verdere proeven, die het effect van pH, groeistof, suiker en andere nog onbekende componenten van den „food factor” combineeren, zijn hier gewenscht en zullen naar ik hoop binnenkort uitgevoerd kunnen worden.

De groei van de cylindertjes in zuren buffer ondergaat na ca. 18 uur dezelfde beperking. En op dit punt heeft *noch toevoeging van groeistof, noch verversching van den zuren buffer meer eenigen invloed*. De volgende 24 uur groeien de cylinders in hetzelfde langzame tempo door.

Hoe komt het, dat hier de groei bij toevoeging van groeistof niet versneld wordt, terwijl dit in de proeven van *Thimann* wèl het geval was? Om deze vraag te kunnen beantwoorden, moeten we eerst nog zien, welk effect de toevoeging van groeistof en van zuren buffer heeft op cylinders, die 24 uur in gedestilleerd water gegroeid hadden.

In overeenstemming met de extractiegegevens is zelfs na 24 uur nog auxine in gedissocieerden vorm aanwezig, want de groei stijgt in zuren buffer even en gaat dan gedurende de volgende 24 uur in het oude langzame tempo door. Toevoeging van groeistof heeft een effect, dat zich in geen enkel opzicht van dat van den zuren buffer onderscheidt.

De cylinders reageeren 6 uur na de isolatie dus anders op groeistof dan 24 uur na de isolatie. In de periode tusschen 6 en 24 uur na begin van de proef is de reactiviteit op groeistof verloren gegaan.

Dit verlies van het vermogen om op groeistof te reageeren is in de groeistofliteratuur bekend als „aging” (*du Buy* 1933; *Went* 1935; *Went en Thimann* 1937). Zooals menschelijke ledematen met de jaren stram worden, doordat zij steeds minder bewogen worden, zoo wordt de celwand star, omdat hij met afnemende groeistofconcentratie steeds minder plastisch wordt gerekt, terwijl de vorming van nieuw celwandmateriaal onafgebroken doorgaat.

Volgens *Went* (1938) vertoonen geïsoleerde *Avena coleoptili* dit verschijnsel niet. Ik heb niet kunnen vinden, waarop hij deze conclusie baseert, maar in mijn proeven verouderen de geïsoleerde cylinders wèl.

Na 24 uur groei in gedestilleerd water zijn de celwanden blijkbaar zoo verstard, dat het niet eens meer van invloed is, of de groeistof wordt verstrekt in optimale of in veel lagere concentratie (zure buffer). Wanneer de cilindertjes in 24 uur niet physiologisch ouder geworden waren, zou toevoeging van 1 mgr/l heteroauxine den groei hebben moeten versnellen, tot het niveau van de cilindertjes, die 18 uur vroeger groeistof kregen, was bereikt.

Cellen, waaraan voortdurend zooveel groeistof toegevoerd wordt als ze maar kunnen gebruiken, worden physiologisch niet ouder, maar verhongeren uit gebrek aan „food factor”.

De celwanden worden plastisch gerekt in zoo'n snel tempo, dat elke gevormde cellulose micel in den wand een plaats kan vinden, net zoolang tot de cellulose-vorming zelf beperkende factor wordt uit gebrek aan suiker.

~ Toch kan blijkbaar de *snelheid*, waarmee de groeistof aan de cel ter beschikking wordt gesteld, dus ook de snelheid, waarmee de wand plastisch gerekt kan worden, van invloed zijn.

In 1938 heb ik in de samenvatting gezegd, dat de werking van waterstof-ionen en van groeistof, die van buiten af werd toegevoerd, gesummeerd werd.

Deze formuleering was onjuist. Ik had gezien, dat een heteroauxine-oplossing (10^{-8}) bij een pH van 4.18 meer verlenging veroorzaakte dan bij een pH van 7.0. Dit was een gevolg van het feit, dat bij pH 4.18 de dissociatiegraad in de oplossing werd teruggedrongen, tengevolge waarvan meer ongedissocieerde groeistof-ionen in de cilindertjes konden dringen. Dit was dus een bevestiging van het door A l b a u m c.s. (1937) voor *Nitella* waargenomen verschijnsel en had met summatie niets te maken.

B o n n e r (1934) zag, dat de plastische rekbaarheid van *Avena coleoptilen* het grootste was bij pH 4.0, terwijl de elastische rekbaarheid geen invloed van de pH ondervond.

R u g e (1937) vond bij *Helianthus hypocotylen* een maximale plastische en elastische rekbaarheid bij pH 3.0 en deze verhouding bleef bestaan bij gedooide of met aether genarcotiseerde hypocotylen.

De mogelijkheid bestaat, dat de pH, onafhankelijk van haar invloed op de dissociatie van groeistof, tevens invloed uitoefent op

de plasticiteit van den celwand, maar dat dit onder normale omstandigheden door het effect van groeistof overdekt wordt.

Wanneer de cellen minder groeistof krijgen, dan ze gebruiken kunnen, worden de wanden minder snel gerekt en een gedeelte van de nieuwe cellulose-micellen wordt *tegen* den wand in plaats van *in* den wand gevormd. Door deze appositie wordt de celwand dik en de cel fysiologisch ouder.

In den zuren buffer is de suikervoorraad verbruikt, daarom heeft toevoeging van groeistof geen effect meer. Een gedeelte van die suiker moet echter in geëpponeerde cellulose omgezet zijn, want de grootst mogelijke strekking van den celwand is niet bereikt.

Wanneer we nu de resultaten van Thimann (1935) bekijken, valt in de eerste plaats op, dat zijn cilindres zooveel minder hard groeien dan de mijne. Na 18 uur in bufferoplossing (McIlvaine) van pH 4.0 zijn de 3 mm lange cilindres slechts 10 % gegroeid. In mijn proeven was dit gemiddeld 24 %. De oorzaak hiervan ligt waarschijnlijk in het materiaal zelf. Thimann en zijn medewerkers (1935, 1938, 1939) gebruikten uit een coleoptiel drie opeenvolgende zones van 3 mm, totaal dus 9 mm, terwijl ik slechts de zone van $1\frac{1}{2}$ mm, die het hardste groeit, gebruikte. Daardoor hebben in Thimann's proeven de cilindertjes na 18 uur hun „food factor” nog niet uitgeput en kunnen nog op groeistof reageren. Mijn resultaten zijn dus essentiëel dezelfde als die van Thimann.

Verhooging van de H-ionenconcentratie kan den groei slechts versnellen, zoolang er gedissocieerde groeistof-ionen in de cel aanwezig zijn.

SAMENVATTING.

Op de vraag, of planten zonder groeistof kunnen groeien, geeft dit proefschrift het volgende antwoord:

Zoolang met de fijnste metingen nog celstrekking aangetoond kan worden, is ook nog groeistof in de cellen aanwezig.

De theorie, dat waterstof-ionen de aanwezigheid van groeistof overbodig maken (theorie van Strugger), is ook voor wortels weerlegd. Hiermee is het bewijs volledig, dat de pH van den celinhoud slechts invloed op den groei heeft, zoolang er groeistof in den vorm van auxine-zout in de cel aanwezig is (theorie van Bonner).

Bij geïsoleerde cilindertjes van coleoptielen en wortels in stroomende bufferoplossingen kan de celinhoud ten naaste bij de pH van de oplossing aannemen.

In de literatuur geopperde bezwaren tegen de theorie van Bonner vinden hun verklaring in de sterke buffering van het celsap.

De theorie van Strugger werd weerlegd, door aan te toonen, dat diens tweetoppige kromme voor den invloed van de pH op den groei van *Helianthus* wortels berust op onjuiste gegevens.

Dat de theorie van Bonner ook voor wortels juist is, werd aangetoond in proeven met geïsoleerde wortelcilindertjes van *Pisum* en *Helianthus*.

Zoowel voor deze wortels als voor het coleoptiel van *Avena* kan de invloed van de pH op den groei graphisch worden weergegeven door een curve met één optimum in het zure gebied.

Dit optimum ontstaat, doordat de concentratie van ongedissocieerde groeistofmoleculen in de cellen toeneemt met stijgende concentratie van de waterstof-ionen, tot het punt, waar deze het protoplasma beschadigen.

De *Avena* coleoptielen verdragen een lagere pH dan de onderzochte wortels.

De wortels van *Pisum* zijn beter tegen zuur bestand dan de wortels van *Helianthus*.

De zeer karakteristieke vorm van deze krommen vinden we

terug in een drietal oudere onderzoekingen over den invloed van de pH op den groei van verschillende planten in gebufferde volledige voedingsoplossingen (Salter en McIlvaine 1920; Tarr en Noble 1922; Theron 1924). Het is waarschijnlijk, dat ook in deze proeven met *geheele planten* de invloed van de pH op de dissociatie van groeistof werd waargenomen.

Ook de krommen van Schulte (1937) voor hypocotylen van *Helianthus* en wortels van *Lupinus albus* moeten zeer waarschijnlijk van uit dit gezichtspunt beschouwd worden.

De „quartered coleoptile test” van Thimann en Schneider stelt ons in staat om groeistofhoeveelheden aan te toonen, kleiner dan tot nu toe met eenige andere test-methode het geval was. De groote gevoeligheid heeft echter alleen betrekking op auxine, niet op indol-3-azijnzuur.

Een poging om gedecapiteerde wortels van *Lupinus luteus* te gebruiken als test-object voor lage groeistofconcentraties faalde tengevolge van de groote variabiliteit van de wortels.

Bij geïsoleerde *Avena* coleoptiel-cylindertjes daalde de groei evenredig met het groeistofverbruik. Lang voordat de groeistof in de cellen verbruikt was, was het vermogen om op groeistof te reageren, verloren gegaan. Dit verouderingsverschijnsel, slechts indirect een gevolg van groeistofgebrek, maakt het ons voorloopig onmogelijk om het absolute bewijs voor de onontbeerlijkheid van groeistof te leveren, door het hervatten van den groei na toevoeging van groeistof aan te toonen bij een cel, die geen groeistof meer bevatte.

Verder onderzoek in deze richting is gewenscht.

LITERATUUROVERZICHT.

- Albaum, H. G., S. Kaiser en H. A. Nestler, 1937, The relation of hydrogen-ion concentration to the penetration of 3-indole acetic acid into *Nitella* cells. *Am. J. Bot.* 24, 513.
- Amlong, H. U., 1936, Zur Frage der Wuchsstoffwirkung auf das Wurzelwachstum. *Jahrb. wiss. Bot.* 83, 773.
- Arrhenius, O., 1922, Hydrogenion concentration, soilproperties and growth of higher plants. *Ark. f. Botanik* 18, 1.
- , 1926, Bodenreaktion und Pflanzenleben mit spezieller Berücksichtigung des Kalkbedarfes für die Pflanzenproduktion. *Leipzig*.
- Åsländer, A., 1932, Die Abhängigkeit unserer Kulturpflanzen von der Reaktion und dem Nährstoffgehalt des Bodens. *Ztschr. Pfl. Ern.* 23, 362.
- Avery Jr., G. S. en P. R. Burkholder, 1936, Polarized growth and cell studies on the *Avena* coleoptile, phytohormone test object. *Bull. Torrey Bot. Club* 63, 1.
- Avery Jr., G. S., P. R. Burkholder en H. B. Creighton, 1937, *Avena* coleoptile curvature in relation to different concentrations of certain synthetic substances. *Am. J. Bot.* 24, 226.
- Berg, H. vom, 1929, Beiträge zur Kenntnis der Pollenphysiologie. *Planta* 9, 105.
- Bonner, D. M., 1937, Activity of the potassium salt of indole (3) acetic acid in the *Avena* test. *Bot. Gaz.* 99, 408.
- , 1938, Relation of environment and of the physical properties of synthetic growth substances to the growth reaction. *Bot. Gaz.* 100, 200.
- Bonner, J., 1933, The action of the plant growth hormone. *J. gen. Physiol.* 17, 63.
- , 1934, The relation of hydrogen ions to the growth rate of the *Avena* coleoptile. *Protoplasma* 21, 406.
- Bonner, J. en J. B. Koepfli, 1939, The inhibition of root growth by auxins. *Am. J. Bot.* 26, 557.
- Borowikow, G. A., 1913 a en b, Über die Ursachen des Wachstums der Pflanzen, I en II. *Biochem. Ztschr.* 48, 230 en 50, 119.
- Borriss, H., 1937, Die Beeinflussung des Streckungswachstums durch Salze, I. Die Wirkung von reinen Salzlösungen auf das Wachstum etiolierter Keimlinge. *Jahrb. wiss. Bot.* 85, 732.
- Boysen Jensen, P., 1933, Über den Nachweis von Wuchsstoff in Wurzeln. *Planta* 19, 345.
- Boysen Jensen, P., G. S. Avery Jr. en P. R. Burkholder, 1936, Growth hormones in plants. *New York*.
- Brecht, F., 1936, Der Einfluss von Wuchsstoff- und Säurepasten auf das Wachstum von *Avena* und *Helianthus*-Keimlingen und seine Abhängigkeit vom Sauerstoffgehalt der Luft. *Jahrb. wiss. Bot.* 82, 58.
- Bünning, E., 1939, Die Physiologie des Wachstums und der Bewegungen. *Berlin*.
- Buy, H. G. du, 1933, Über Wachstum und Phototropismus von *Avena sativa*. *Rec. trav. bot. néerl.* 30, 798.

- Cholodny, N., 1924, Über die hormonale Wirkung der Organspitze bei der geotropischen Krümmung. *Ber. d. d. bot. Ges.* 42, 356.
- , 1926, Beiträge zur Analyse der geotropischen Reaktion. *Jahrb. wiss. Bot.* 65, 446.
- , 1928, Beiträge zur hormonalen Theorie von Tropismen. *Planta* 6, 118.
- , 1929, Einige Bemerkungen zum Problem der Tropismen. *Planta* 7, 461.
- , 1931, Zur Physiologie des pflanzlichen Wuchshormons. *Planta* 14, 207.
- Coggeshall, M., 1931, Influence of acetic, propionic, normal butyric and sulphuric acids and potassium acetate on elongation of primary roots of seedlings of white lupine. *Plant Physiol.* 6, 389.
- Coville, F. V., 1913, The agricultural utilization of acid lands by means of acid tolerant crops. *Bull. U.S.A. Dept. Agric.* 6.
- , 1921, Directions for blueberry culture. *U.S. Dept. Agric. Bull. Nr.* 974. Washington.
- Dolk, H. E., 1930, Geotropie en groeistof. *Diss. Utrecht. Engelsche vertaling in Rec. trav. bot. néerl.* 33, 509, 1936.
- Dolk, H. E. en K. V. Thimann, 1932, Studies on the growth hormone of plants I. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 18, 30.
- Dijkman, M. J., 1934, Wuchsstoff und geotropische Krümmung bei *Lupinus*. *Rec. trav. bot. néerl.* 31, 391.
- Faber, E. R., 1936, Wuchsstoffversuche an Wurzeln. *Jahrb. wiss. Bot.* 83, 439.
- Fiedler, H., 1936, Entwicklungs- und reizphysiologische Untersuchungen an Kulturen isolierter Wurzelspitzen. *Ztschr. f. Bot.* 30, 385.
- Fitting, H., 1937, Beiträge zur Physiologie der Protoplasmaströmung in den Blättern von *Vallisneria spiralis*. *Ber. d. d. bot. Ges.* 55, 255.
- Geiger-Huber, M. en E. Burlet, 1936, Über den hormonalen Einfluss der β -Indolylessigsäure auf das Wachstum isolierter Wurzeln in keimfreier Organkultur. *Jahrb. wiss. Bot.* 84, 233.
- Guttenberg, H. von, 1932—1939, Wachstum und Bewegung. in: *Fortschritte der Botanik I—VIII*.
- Haagen Smit, A. J. en F. W. Went, 1935, A physiological analysis of the growth substance. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam.* 38, 852.
- Hercik, F., 1924, On the growing reactions, produced by the change of hydrogen-ion concentration in germinating roots of *Pharbitis hispida*. *Pub. Fac. Sci. Univ. Masaryk* 49.
- Hitchcock, A. E. en P. W. Zimmerman, 1938, The use of green test objects for determining the physiological activity of growth substances. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 9, 463.
- Hixon, R. M., 1923, The effect of the reaction of a nutritive solution on germination and the first stages of plant growth. *Medd. K. Vetensk. Nobel Inst.* 4, 1.
- Hoagland, D. R., 1917, The effect of hydrogen and hydroxyl-ion concentration on the growth of barley seedlings. *Soil Science* 3, 547.
- Honert, T. H. van den, 1933, Onderzoekingen over de voedingsphysiologie van het suikerriet II. Proeven over fosphaatopname. *Med. Proefstat. Java Suiker Ind.* 3, 1119.
- Hubert, B., 1938, The influence of the hydrogen ion concentration of hetero-auxin solutions on root formation. *Biol. Jb. Dodonaea* 5, 321.
- Hurd-Karrer, A. M., 1939, Hydrogen-ion concentration of leaf juice in relation to environment. *Am. J. Bot.* 26, 834.

- Jost, L., 1935, 1937. Über Wuchsstoffe I en II. *Ztschr. f. Bot.* 28, 260 en 31, 95.
- Jost, L. en E. Reiss, 1936. Zur Physiologie der Wuchsstoffe II. Einfluss des Heteroauxins auf Längen- und Dickenwachstum. *Ztschr. f. Bot.* 30, 335.
- , 1937. Zur Physiologie der Wuchsstoffe III. *Ztschr. f. Bot.* 31, 65.
- Kögl, F. en A. J. Haagen Smit, 1931, Über die Chemie des Wuchsstoffs. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam.* 34, 1411.
- Kögl, F., A. J. Haagen Smit en H. Erxleben, 1934, Über den Einfluss der Auxine auf das Wurzelwachstum und über die chemische Natur des Auxins der Graskoleoptilen. *Ztschr. f. physiol. Chemie* 228, 104.
- Kostermans, D. G. F. R., 1935, Over heteroauxine. *Diss. Utrecht.*
- Lane, R. H., 1936, The inhibition of roots by growth hormone. *Am. J. Bot.* 23, 532.
- Lindfors, Th., 1924, Kulturversuche mit *Fusarium*-Arten in Nährlösungen von verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. *Bot. Notiser*, 161.
- Lundegårdh, H., 1923, Die Bedeutung des Kohlensäuregehalts und der Wasserstoffionkonzentration des Bodens für die Entwicklung der Fusariosen. *Bot. Notiser*, 40.
- , 1924, Über die Interferenzwirkung von Wasserstoffionen und Neutralsalzen auf Keimung und Wachstum des Weizens. *Biochem. Ztschr.* 149, 207.
- Marmar, D. A., 1937, Growth of wheat seedlings in solutions containing chemical growth substances. *Am. J. Bot.* 24, 139.
- Meesters, A., 1936, The influence of hetero-auxin on the growth of root-hairs and roots of *Agrostemma Cithago*. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, 39, 91.
- Naundorf, G., 1940, Untersuchungen über den Phototropismus der Keimwurzel von *Helianthus annuus*. *Planta* 30, 639.
- Nielsen, N., 1930, Untersuchungen über einen neuen Wachstumsregulierenden Stoff: Rhizopin. *Jahrb. wiss. Bot.* 73, 125.
- Olsen, C., 1923, Studies on the hydrogen ion concentration of the soil and its significance to the vegetation, especially to the natural distribution of plants. *C. R. Lab. Carlsberg* 15, Nr. 1.
- , 1925, Studies on the growth of some Danish agricultural plants in soils with different concentrations of hydrogen ions. *C. R. Lab. Carlsberg* 16, Nr. 3.
- , 1934, The absorption of manganese by plants. *C. R. Lab. Carlsberg* 20, Nr. 2.
- , 1935, Iron absorption and chlorosis in green plants. *C. R. Lab. Carlsberg* 21, 15.
- , 1936, Absorption of manganese by plants II. Toxicity of manganese to various plant species. *C. R. Lab. Carlsberg*, 21, 129.
- , 1938, Growth of *Deschampsia flexuosa* in culture solutions (waterculture experiments) and in soils with different pH values. *C. R. Lab. Carlsberg* 22, 405.
- Oppenoorth W. F. F., 1939, Photo-inactivation of auxin in the coleoptile of *Avena* and its bearing on phototropism. (Preliminary note). *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, 42, 902.
- Otte, K., 1937, Die Wuchsstoffe im Leben der höheren Pflanzen. *Braunschweig.*
- Overbeek, J. van, 1933, Wuchsstoff, Lichtwachstumsreaktion und Phototropismus bei *Raphanus*. *Rec. trav. bot. néerl.* 30, 537.

- Overbeek, J. van, 1938, Auxin distribution in seedlings and its bearing on the problem of budinhibition. *Bot. Gaz.* 100, 133.
- Ruge, U., 1937, Untersuchungen über den Einfluss des Heteroauxins auf das Streckungswachstum des Hypokotyls von *Helianthus annuus*. *Ztschr. f. Bot.* 31, 1.
- Sakamura, T. en H. Kanamori, 1935, Über die Wirkung der Essigsäure, des Ammoniaks und ihre Salze auf das Protoplasma des Wurzelhaares. *J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Ser. V. Bot.* 4, 2.
- Salter, R. M. en T. C. McIlvaine, 1920, Effect of reaction of solution on germination of seeds and on growth of seedlings. *J. Agric. Sci.* 19, 73.
- Santen, A. M. A. van, 1938, Influence of hydrogen-ion concentration on the growth rate of the *Avena* coleoptile (Preliminary note). *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam.* 41, 513.
- Scheer, B. A., 1937, Straight growth of the *Avena* coleoptile in relation to different concentrations of certain organic acids and their potassium salts. *Am. J. Bot.* 24, 559.
- Schlenker, G. en Ch. Rosenthal, 1937, Die Wuchsstoffe der Pflanzen. *München.*
- Schneider, Ch. L., 1938, The interdependence of auxin and sugar for growth. *Am. J. Bot.* 25, 258.
- Schulte, E., 1937, Untersuchungen über das Auftreten von anomaler (negativer) Osmose im Pflanzenkörper. *Protoplasma* 29, 60.
- Segelitz, G., 1938, Der Einfluss von Licht und Dunkelheit auf Wurzelbildung und Wurzelwachstum. *Planta* 28, 617.
- Skoog, F., 1937, A deseeded *Avena* test method for small amounts of auxin and auxin precursors. *J. gen. Physiol.* 20, 311.
- , 1938, Absorption and translocation of auxin. *Am. J. Bot.* 25, 361.
- Strugger, S., 1926, 1928, Untersuchungen über den Einfluss der Wasserstoffionen auf das Protoplasma der Wurzelhaare von *Hordeum vulgare*, I en II. *Sitzber. Akad. Wiss. Wien. Math.-nat.wiss. Kl. Abt I*, 135, 453, en 137, 143.
- , 1932, Die Beeinflussung des Wachstums und des Geotropismus durch die Wasserstoffionen. *Ber. d. d. bot. Ges.* 50, (77).
- , 1933, Über das Wachstum dekapitierter Keimpflanzen. *Ber. d. d. bot. Ges.* 51, 193.
- , 1934, Beiträge zur Physiologie des Wachstums I. Zur protoplasma-physiologischen Kausalanalyse des Streckungswachstums. *Jahrb. wiss. Bot.* 79, 406.
- Tarr, L. W. en S. C. Noble, 1922, The effect of hydrogen ion concentration upon the growth of seedlings. *Univ. Delaware Agric. Exp. Sta. Techn. Bull.* 131.
- Theron, J. J., 1924, Influence of reaction on the inter-relations between the plant and its culture medium. *Univ. Calif. Pub. Agric. Sci.* 4, 413.
- Thimann, K. V. en J. Bonner, 1933, The mechanism of the action of the growth substance of plants. *Proc. Roy. Soc. London B.* 113, 126.
- Thimann, K. V., 1935, On an analysis of the activity of two growth-promoting substances on plant tissues. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam* 38, 896.

- Thimann, K. V., 1936, Auxins and the growth of roots. *Am. J. Bot.* 23, 561.
- Thimann, K. V. en Ch. L. Schneider, 1938, Differential growth in plant tissues. *Am. J. Bot.* 25, 627.
- , 1939 a, The relative activity of different auxins. *Am. J. Bot.* 26, 328.
- , 1939 b, Differential growth in plant tissues II. A modified auxin test of high sensitivity. *Am. J. Bot.* 26, 792.
- Thimann, K. V. en B. M. Sweeney, 1937, The effect of auxins upon protoplasmic streaming. *J. gen. Physiol.* 21, 123.
- True, R. H., 1914, The harmful action of distilled water. *Am. J. Bot.* 1, 255.
- Weiler, Fr., 1938, Das Verhalten der Wurzeln unter der Einwirkung von Wuchsstoffen der *Avena*- und der *Zea*-Koleoptilspitzen. *Bull. Acad. Pol. Sci. et Lettr. Classe Sci. Math. Nat. Ser. B.* 1938.
- Went, F. W., 1928, Wuchsstoff und Wachstum. *Rec. trav. bot. néerl.* 25, 1.
- , 1934, On the pea test method for auxin, the plant growth hormone. *Proc. Kon. Acad. Wetensch. Amsterdam* 37, 547.
- , 1935, Coleoptile growth as affected by auxin, aging and food. *Proc. Kon. Acad. Wetensch. Amsterdam* 38, 752.
- , 1938, Transplantation experiments with peas. *Am. J. Bot.* 25, 44.
- , 1939, Analysis and integration of various auxin effects II. *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam* 42, 731.
- Went, F. W. en K. V. Thimann, 1937, Phytohormones. *New York.*
- Wey, H. G. van der, 1932, Der Mechanismus des Wuchsstofftransportes. *Rec. trav. bot. néerl.* 29, 379.
- Zimmerman, P. W. en A. E. Hitchcock, 1937, Comparative effectiveness of acids, esters and salts as growth substances and methods of evaluating them. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 8, 337.
- Zimmerman, P. W., A. E. Hitchcock en F. Wilcoxon, 1936, Several esters as plant hormones. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 8, 105.
-

STELLINGEN.

I.

Voor schimmels is het axioma: „zonder groeistof geen groei“, tot zekerheid geworden, met dien verstande, dat hier onder groeistof vitamine B₁ moet worden verstaan.

II.

Ten onrechte meent Hubert bewezen te hebben, dat de pH van een groeistofoplossing invloed uitoefent op de vorming van wortels aan stekken.

Hubert, *Biol. Jb. Dodonaea* 5, 321, 1938.

III.

De door Heilbrunn c.s. bij Amoeben waargenomen verschijnselen zijn te verklaren met de coacervatie-theorie.

IV.

Het is waarschijnlijk, dat de verhoogde magnesiumspiegel in het bloed de directe aanleiding is voor het optreden van den winterslaap bij *Helix pomatia*. Deze winterslaap is op te vatten als een magnesium-narcose.

Lustig, Ernst en Reuss, *Biochem. Ztschr.* 290, 95, 1937.

V.

De erfelijke factoren, die bij bastaarden van *Epilobium hirsutum* remming van de ontwikkeling veroorzaken, zijn niet in het plasma doch in de kern gelocaliseerd.

Lehmann, *Jahrb. wiss. Bot.* 88, 284, 1939.

VI.

Wisselingen in de watervoorziening van planten kunnen de vorming van polyploïde gameten veroorzaken en daardoor een belangrijke factor zijn voor het ontstaan van polyploïde soorten in de natuur.

Giles, *Am. J. Bot.* 26, 334, 1939.

VII.

De zaadknoppen der Angiospermen zijn aan de bloemas staande bladachtige deelen.

VIII.

De invloed van de stikstofvoeding op de gevoeligheid van tabakplanten voor infectie met tabak-mozaiek virus, moet in de eerste plaats worden toegeschreven aan de concurrentie tusschen plant en virus om de beschikbare stikstof.

Spencer, *Plant Physiol.* 14, 769, 1939.

IX.

N. Fries heeft waarschijnlijk gemaakt, dat symbiontische bacteriën de destructieve werking van sommige parasitaire houtschimmels stimuleeren.

N. Fries, *Symbolae Bot. Upsalienses* III : 2, 1938.

X.

In biochemisch opzicht vertoonen sommige door *Pseudomonas tumefaciens* veroorzaakte kankers meer overeenkomst met dierlijke en menselijke carcinomen, dan met plantaardige tumoren van anderen oorsprong.

Stapp en Pfeil, *Zentr.bl. Bakt. Abt. II*, 101, 261, 1939.

XI.

Het Pasteur-effect in wortels van *Daucus carota* wordt verklaarbaar met de oxydatieve resynthese theorie van Meyerhof.

Marsh en Goddard, *Am. J. Bot.* 26, 767, 1939.

XII.

De groei van Gramineeënkiemplanten wordt in het licht geremd. Deze remming heeft bij het mesocotyl een anderen oorzaak dan bij het coleoptiel. In het mesocotyl verminderen in het licht gevormde remmende stoffen de reactiviteit op groeistof. In het coleoptiel wordt de afzetting van secundaire celwand in het licht versneld, waardoor de wand zijn plasticiteit verliest.

Ut

1