



# **De auxine van een lichtgevoelige schimmel en onderzoekingen over antipoden van een synthetische groeistof**

<https://hdl.handle.net/1874/362552>

A. g. m. 192, 1942

**DE AUXINE VAN EEN LICHTGEVOELIGE  
SCHIMMEL EN ONDERZOEKINGEN OVER  
ANTIPODEN VAN EEN SYNTHETISCHE  
GROEISTOF**

s.  
echt

2

**B. VERKAAIK**





RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT



1778 3758

*Diss. Utrecht 1942*

DE AUXINE VAN EEN LICHTGEVOELIGE  
SCHIMMEL EN ONDERZOEKINGEN OVER  
ANTIPODEN VAN EEN SYNTHETISCHE  
GROEISTOF

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR  
IN DE WIS- EN NATUURKUNDE AAN DE RIJKS-  
UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN  
WAARNEMENDEN RECTOR MAGNIFICUS L. VAN  
VUUREN, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER  
LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT  
VAN DE SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN DE  
BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN  
NATUURKUNDE TE VERDEDIGEN OP MAANDAG  
16 MAART 1942, DES NAMIDDAGS TE 3 UUR

DOOR

BERNARDUS VERKAAIK

GEBOREN TE SCHIEDAM

1942

DRUKKERIJ Fa. SCHOTANUS & JENS — UTRECHT



*Aan mijn Ouders.*





Bij het verschijnen van dit proefschrift is het mij een behoefte in de eerste plaats mijn ouders dank te zeggen. Zij toch hebben het mij mogelijk gemaakt een zoo aangename studententijd aan de Utrechtsche Alma Mater te beleven en thans is het ook dank zij hen dat deze dissertatie het licht ziet.

Altijd zal ik erkentelijk zijn voor de klassieke vooropleiding, welke ik onder Uw rectoraat, Zeergeleerde ROGGE, van de leeraren van het Erasmiaansch Gymnasium te Rotterdam mocht ontvangen.

Uw lessen, Gestrenghe ESSER, zijn de hechte grondslag geweest, waarop ik bij de universitaire studie verder kon bouwen.

Vervolgens gaat mijn dank uit naar U, oud-Hoogleraren, Hoogleraren en Lectoren van de Faculteit der Wis- en Natuurkunde, voor al hetgeen U hebt bijgedragen tot mijn wetenschappelijke vorming.

Hooggeleerde COHEN, Hooggeleerde KRUIJT, voor Uw lessen in de physische chemie wil ik U op deze plaats mijn dank betuigen.

Hooggeleerde KÖGL, Hooggeachte Promotor, het was voor mij een groot voorrecht deze dissertatie op Uw laboratorium en onder Uw leiding te mogen bewerken. Uw belangstelling voor mijn experimenten en Uw waardevolle suggesties hebben mijn werklust steeds gestimuleerd. Ik ben U bijzonder erkentelijk, omdat U mij waardig keurde voor de functie van assistent in de biochemische afdeling van Uw laboratorium. Dit heeft mij mede in staat gesteld dit proefschrift te voltooien.

Hooggeleerde KONINGSBERGER, vele zijn ook de redenen tot dankbaarheid jegens U. Het werk voor mijn bijvak, onder Uw directe leiding, hetwelk een gemeenschappelijke publicatie opleverde, heeft mijn belangstelling naar biochemische problemen doen uitgaan. Steeds weer was het een genoegen, ook voor vele deelen van dit onderzoek, gastvrijheid te mogen genieten in Uw laboratorium. De prettige sfeer van onderlinge samenwerking en hulpvaardigheid, die Gij daar hebt weten te scheppen, zal ik niet licht vergeten. Ook ben ik U erkentelijk voor Uw voortdurende interesse in mijn werk en de raadgevingen, welke ik van U mocht ontvangen.

Het personeel van het Organisch Chemisch en het Botanisch Laboratorium dank ik voor de onontbeerlijke technische hulp.

Dat jij, COKS, mij zoowel bij de redactie van dit proefschrift, als bij verschillende experimenten, die er aan ten grondslag liggen, terzijde hebt gestaan, stemt mij tot groote vreugde. Het is hierdoor ons gemeenschappelijk werk geworden.



# INHOUD

BLADZ.

## DEEL I.

### Over de groeistof van *Phycomyces Blakesleeanus*.

Hoofdstuk I. Inleiding . . . . .	9
Hoofdstuk II. Probleemstelling . . . . .	13
Hoofdstuk III. Resultaten der proefnemingen . . . . .	20
A. Keuze van het plantenmateriaal . . . . .	20
B. Het kweken van de schimmel . . . . .	20
C. Extractie der sporangiëndragers . . . . .	21
D. De test . . . . .	22
E. Moleculairgewichtsbepaling . . . . .	22
F. Gedrag der groeistof tegenover zuur en loog . . . . .	22
G. Kan de remanente activiteit door auxine-a worden veroorzaakt?	24
H. Bepaling van het moleculairgewicht van de niet met zuur te vernietigen groeistof . . . . .	25
I. Physiologische proeven met de remanent actieve groeistof . . . . .	25
J. Conclusies . . . . .	29
Summary . . . . .	32

## DEEL II.

### De physiologische werking van de antipoden van $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur.

Hoofdstuk IV. Inleiding . . . . .	33
Hoofdstuk V. Groei of transport? . . . . .	37
A. Inleiding . . . . .	37
B. Methodiek van de cilindertest . . . . .	37
C. Proeven en resultaten . . . . .	38
Hoofdstuk VI. Lateraal of basipetaal? . . . . .	46
A. Inleiding . . . . .	46
B. Methodiek van de meting van de rechte groei . . . . .	47
C. Proeven en resultaten . . . . .	48
D. Discussie . . . . .	50

Hoofdstuk VII. De juistheid der adsorptie-hypothese . . . . .	54
A. Inleiding . . . . .	54
B. Methodiek . . . . .	54
C. Proeven en resultaten . . . . .	56
D. Discussie . . . . .	56
Hoofdstuk VIII. Blokkeert (—) $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl) propionzuur het transportmechanisme? . . . . .	59
A. Inleiding . . . . .	59
B. Proeven en resultaten . . . . .	60
Hoofdstuk IX. Wortelvorming . . . . .	63
A. Inleiding . . . . .	63
B. Methodiek . . . . .	65
C. Proeven en resultaten . . . . .	66
D. Discussie . . . . .	68
Summary . . . . .	70
Litteratuuroverzicht . . . . .	71

## DEEL I.

# OVER DE GROEISTOF VAN PHYCOMYCES BLAKESLEEANUS.

---

## HOOFDSTUK I.

### INLEIDING.

Hoewel het groeistofprobleem slechts ongeveer een kwart eeuw oud is, heeft het speciaal de laatste 15 jaren zoozeer de belangstelling van de botanische en chemische onderzoekers opgewekt, dat een vrij omvangrijk boekdeel noodig is om een overzicht van resultaten te geven.

Aangezien vele zulke samenvattende monografiën verschenen zijn, wil ik hier volstaan naar enkele der meest recente hiervan te verwijzen (Boysen Jensen 1935; Avery en Burkholder 1936; Went en Thimann 1937; Söding 1938; Bünning 1939; von Guttenberg 1932—1940).

In deze inleiding zullen we ons beperken tot het bespreken van die publicaties, welke in meer direct verband staan met het hier te behandelen onderzoek.

Nadat Kögl, Haagen Smit en Erxleben (1932, 1934) uit urine 2 groeistoffen, auxine-a en hetero-auxine, hadden geïsoleerd benevens een derde, auxine-b, uit maïs-olie en mout (Kögl, Erxleben en Haagen Smit, 1934) en de structuur dezer verbindingen was vastgesteld (Kögl en Erxleben, 1934 en 1935), rees natuurlijk direct de vraag of de reeds in verschillende plantaardige organen gevonden groeistoffen identiek met een van bovengenoemde phytohormonen zouden zijn.

Aangezien de hoeveelheden groeistof, die in de plant voorkomen,

altijd uiterst gering zijn, kon de meest directe weg om tot de beantwoording van deze vraag te komen, n.l. zuiver isoleeren van de groeistof door extractie uit de plant, niet worden bewandeld.

Derhalve zijn twee indirecte methoden door de verschillende onderzoekers in gebruik genomen, met behulp waarvan een oriëntatie omtrent de aard van onbekende groeistoffen, reeds als deze in groote verdunning aanwezig zijn, mogelijk is.

De eerste van deze methoden bestaat in de bepaling van het moleculairgewicht. *Went* (1928) maakte als eerste hiervan gebruik. Hij liet gedurende zekere tijd groeistof uit een agar-agarplaatje diffundeeren in drie even groote, op elkaar gelegde, dito plaatjes. Vervolgens werden de vier plaatjes van elkaar genomen, elk in twaalf blokjes gesneden en op vier rekjes *Avena*-coleoptielen getest. De gemiddelde krommingen der vier rekjes zijn nu een maat voor de relatieve concentraties der groeistof in de vier agarplaatjes.

De diffusieconstante  $D$  is dan te berekenen uit de formule

$$D = \frac{h}{4tx}, \text{ waarin: } h = \text{dikte der gebruikte agarplaatjes in cm}$$

$t$  = diffusietijd in etmalen

$x$  = waarde, welke berekend kan worden uit

de relatieve concentraties, volgens tabellen, gegeven door *Stefan* (1879, later verbeterd door *Kawalki*, 1894) en interpolatieformules, uitgewerkt door *Bruins* (1922).

Uit de diffusieconstante kan het moleculairgewicht worden berekend met behulp van de formule  $M = \frac{7,0}{D_{25}^{0.5}}$ , experimenteel bepaald door *Öholm* (1912). Deze formule heeft volgens genoemden auteur een algemeene geldigheid voor moleculairgewichten tusschen 50 en 500.

De nauwkeurigheid van deze methode van moleculairgewichtsbepaling is niet erg groot. Men moet rekening houden met een mogelijke fout van ongeveer 20 %, welke hoofdzakelijk zijn oorzaak vindt in het feit, dat men bij de bepaling der relatieve concentratie met *Avena*-coleoptielen werkt, waarvan de gevoeligheid bij de *Went*-test niet alleen aan dagelijksche variabiliteit onderhevig is, maar ook een individuele veranderlijkheid vertoont. Een tweede foutenbron is aan te wijzen bij de diffusie zelf. Zijn de agarplaatjes

te droog of te nat, dan vindt men verkeerde waarden voor de diffusie-coëfficiënt.

Het zal derhalve niet mogelijk zijn kleine verschillen in moleculairgewicht, zooals van auxine-a (328) en auxine-b (310), op deze wijze op te sporen. Wel kan hetero-auxine ( $M = 175$ ) van beide andere genoemde stoffen worden onderscheiden.

De belangrijkste resultaten der moleculairgewichtsbepalingen van verschillende auteurs zijn in onderstaande tabel samengevat:

	$M$ (gevonden)	Auteur
Auxine-a kristallen .....	376	Kögl, Haagen Smit en Erxleben (1934)
Auxine-b kristallen .....	303	id.
Hetero-auxine kristallen .	177; 190	id.
Hetero-auxine kristallen .	193; 240; 169; 172; 204; 180	Heyn*) (1935)
Groeistof uit:		
top van <i>Avena</i> -coleoptiel .	376	Went (1927)
top van <i>Avena</i> -coleoptiel .	380; 325; 342; 289	Heyn (1935)
top van <i>Avena</i> -wortel ...	404; 331	id.
top van <i>Maïs</i> -coleoptiel .	346	Kögl, Haagen Smit en Erxleben (1934)
geregenereerde top van het		
<i>Avena</i> -coleoptiel .....	306; 287; 302	Heyn (1935)
gist .....	193	Kögl en Kostermans (1934)
<i>Rhizopus nigricans</i> .....	176; 190	id.
<i>Aspergillus niger</i> .....	169	id.
sporangieëndragers van <i>Phycomyces Blakesleeanus</i>	149	Heyn (1935)

\*) Heyn geeft in zijn publicatie slechts waarden voor de diffusiecoëfficiënt bij 22°, welke hier met de formule  $M = \frac{7,0 \times 1,07}{D_{22}}$  tot waarden voor  $M$  zijn omgerekend.



De tweede methode om iets over een onbekende groeistof te weten te komen is beschreven door K ö g l, H a a g e n S m i t en E r x l e b e n (1934). Het bleek hen n.l. dat de activiteit van hetero-auxine door koken met verdund zoutzuur geheel verdwijnt, terwijl zij bij koken met verdunde loog nauwelijks verandert.

Bij auxine-a vonden zij juist het omgekeerde. Deze stof is bestendig tegen zuren, maar door loog wordt de activiteit te niet gedaan.

Auxine-b is onbestendig zoowel tegen zuur als tegen loog.

Door dit gedrag van de drie groeistoffen hebben we dus een middel hen van elkaar te onderscheiden en kunnen we een aanwijzing vinden omtrent de aard van onbekende groeistoffen.

Zoo vonden K ö g l, H a a g e n S m i t en E r x l e b e n (1934) dat de groeistof uit de coleoptielen van *Gramineeën* zich in dit opzicht als auxine-a gedraagt, terwijl de groeistoffen uit gist, *Rhizopus* en *Aspergillus* volgens K ö g l en K o s t e r m a n s (1934) in hun gedrag tegenover zuur en loog met hetero-auxine overeenkomen.

Uit de resultaten met beide methoden verkregen kan men zien, dat met groote waarschijnlijkheid aan te nemen is, dat zich in de coleoptielen en wortels van grassen (dus in hogere planten) auxine-a bevindt, terwijl in cultures van schimmels hetero-auxine voorkomt.

Algemeen wordt thans aangenomen dat deze laatste stof als „slak” bij de stofwisseling der schimmels — als afbraakproduct van tryptophaan — moet worden beschouwd en dat zij niet essentieel is voor de groei van het organisme (K ö g l en K o s t e r m a n s, 1934). Waarschijnlijk is vitamine B<sub>1</sub> hier de groeistof of een van de voornaamste groeistoffen, zonder welke geen groei plaats vindt.

Bij de huidige stand der wetenschap moeten we echter aannemen dat auxine voor de hogere planten een groeistof is, zonder welke geen groei mogelijk is (W e n t (1928), v a n S a n t e n (1940), e.a.). Het absolute bewijs hiervoor kan echter pas worden geleverd als het gelukt, levende planten of plantendeelen volledig groeistofvrij te maken.

## HOOFDSTUK II.

### PROBLEEMSTELLING.

Nu doet zich de vraag voor: hoe moeten de phototropische groei-bewegingen bij de lagere planten worden verklaard?

Bij de hoogere planten is dit geschied door een ongelijke verdeeling aan te nemen van de auxine aan licht- en schaduwzijde.

Hoe deze teweegebracht wordt is nog steeds een twistpunt. Deels meenen de onderzoekers dat door de belichting een lateraal transport van de auxine van licht- naar schaduwzijde wordt veroorzaakt. (Choldny-Went-theorie; vgl. Went en Thimann (1937) blz. 166 e.v.). Nadat echter in 1936 door Kögl de hypothese was uitgesproken, dat ook in de cel auxine-a via het lacton geïnactiveerd kan worden, is een ander deel een ongelijke photo-inactivering aan licht- en schaduwzijde als oorzaak van de ongelijke verdeeling gaan beschouwen. Latere experimenteële gegevens verleen ook steun aan deze opvatting.

De meening hieromtrent van schrijver dezes is reeds in 1938 medegedeeld (Koningsberger en Verkaaik, 1938). In deze publicatie zijn proeven beschreven waarbij *Avena*-coleoptielen door ontzaden volgens de methode van Skoog (1937) zooveel mogelijk groeistofvrij werden gemaakt. Werd na tweemaal decapiteeren een agarblokje met auxine-a plat op het coleoptiel gelegd dan trad bij continue belichting met 100 M.K. een positief phototropische kromming op, welke achterwege bleef, indien het blokje hetero-auxine bevatte. Verder werden vier proefseries vergeleken, waarbij aan ontzaadde coleoptielen auxine-a resp. alzijdig, aan de lichtzijde en aan de schaduwzijde werd toegevoerd, terwijl de vierde serie in het donker eenzijdig van auxine-a werd voorzien.

In het donker werd de grootste kromming verkregen; werd de auxine aan de schaduwzijde toegevoerd, dan was de kromming

ongeveer 25 % kleiner evenals bij alzijdig toevoeren der auxine, terwijl belichten aan de agarzijde een zeer geringe negatieve kromming gaf, die misschien zonder beteekenis is.

Uit deze proeven moest worden geconcludeerd dat de phototropische basisreactie veroorzaakt wordt door photo-inactivering van auxine-a, welke aan de lichtzijde grooter is dan aan de schaduwzijde.

Hiertoe moet auxine-a in de plant, evenals in vitro (Kögl, C. Koningsberger en Erxleben 1936), in evenwicht zijn met zijn lacton (vgl. Kögl 1936) dat volgens C. Koningsberger (1936) door ultraviolet licht geïnactiveerd wordt. Nu kan auxine-a geen zichtbaar licht absorberen, zoodat een „sensibilisator”, die zulks wel kan, in de plant aanwezig moet zijn. Door proeven van Wald en du Buy (1936) en Bünning (1937), die vonden dat de golflengten, welke het grootste phototropisch effect veroorzaakten, ook het meest door carotine geabsorbeerd worden, was het waarschijnlijk geworden dat  $\beta$ -carotine deze rol vervult. Dit is vrijwel vast komen te staan door het werk van Schuringa (1941), die ook in vitro inactivering van auxine-a vond, indien hij  $\beta$ -carotine aan zijn groeistof-oplossingen toevoegde. De inactivering was weder het grootst bij gebruik van golflengten, die door carotine het sterkst worden geabsorbeerd.

Wij willen er hier op wijzen dat Koningsberger en Verkaaik bovenstaande conclusies trokken voor de phototropische basisreactie, waarop hun proeven slechts betrekking hadden, terwijl zij aannamen dat in de coleoptiel-toppen, die zoo geheel verschillend van bouw zijn, photo-inactivering wel voor zal komen, maar dat daarnaast andere factoren in het spel kwamen. Zij lieten in het midden, of de herverdeeling, die door de Cholodny-Went-theorie wordt aangenomen, hier ook een rol kan spelen, zooals uit proeven van vele onderzoekers is afgeleid. Oppenorth (1939) bevestigt deze zienswijze grotendeels, daar hij bij extractie van belichte *Avena*-toppen een ongeveer 30 % geringere hoeveelheid groeistof vindt dan bij onbelichte; dit is echter zoowel aan de licht- als aan de schaduwzijde het geval. Hij geeft op grond van zijn experimenten verschillende redenen aan, waarom in de uiterste top herverdeeling der auxine voor het phototropisch effect verantwoordelijk zou kunnen zijn, maar in het

overige, holle deel van het coleoptiel de grootere inactivering aan de lichtzijde dit effect veroorzaakt.

Op de publicatie van Koningsberger en Verkaaik is door twee auteurs n.l. Laibach (1938) en von Guttenberg (1938) critiek geleverd. Wij willen deze gelegenheid gebruiken om hierop te antwoorden.

Laibach decapiteert zijns inziens groeistofarme hypocotylen van in het licht gekweekte *Cucumis*-kiemplantjes en voorziet de snijvlakte met een pasta, waarin het kaliumzout van  $\beta$ -indolylazijnzuur verwerkt is, en vergelijkt dit met gelijk behandelde plantjes, voorzien van pasta zonder groeistof. Aangezien de eerstgenoemde series grootere krommingen geven dan de laatste, wordt besloten, dat de conclusies van Koningsberger en Verkaaik verkeerd zijn. Dit besluit wordt kracht bijgezet door vergelijking van op bovenstaande wijze met het kaliumzout van hetero-auxine behandelde *Cucumis*-hypocotylen met series hiervan, die hij besmeerde met een pasta van Orchideeën-pollinia, welke volgens Laibach (1932) auxine bevatten. De verkregen krommingen zijn voor beide series gelijk, waaruit geconcludeerd wordt, dat de phototropische gevoeligheid door auxine en hetero-auxine op dezelfde wijze wordt beïnvloed.

Tegen Laibach's werk zijn vele bezwaren aan te voeren. *Cucumis*-hypocotylen is een materiaal, waarvan het gedrag ten opzichte van de groeistof heel weinig bekend is. Het eenige, dat men er van kan zeggen is, dat ze meer groeistof moeten bevatten dan de volgens Skoog ontzaadde *Avena*-coleoptielen, daar de blanco proeven krommingen tot  $12^\circ$  geven. Verder werkt Laibach met pasta's, die zulke abnormaal hoge concentraties bevatten, dat ze nooit vergeleken mogen worden met die, welke in de levende plant voorkomen. Bovendien is nauwkeurig quantitief werk met deze pasta's geheel uitgesloten. Dat Orchideeën-pollinia auxine en niet hetero-auxine bevatten is o.i. door Laibach geenszins bewezen. Laibach smeert ook nog hetero-auxinepasta en blanco pasta op geïsoleerde, gedecapiteerde *Avena*-coleoptielen en verkrijgt bij de eerste behandeling iets grootere krommingen dan bij de laatstgenoemde; doch ook hierbij geven de blanco contrôleplanten nog krommingen van  $8^\circ$ — $12^\circ$ . Dit is volmaakt onbegrijpelijk. Laibach's bewering dat inactivering

door licht van zichtbare golflengten in de plant onwaarschijnlijk is, moet sinds de eerder genoemde onderzoeken van Oppenorth (1939) worden teruggenomen, terwijl het niet juist is gebleken, dat de resultaten van Koningsberger en Verkaaik door vermindering der auxine-concentraties anders worden, zooals later zal worden beschreven (blz. 27). Verhooging der concentratie schijnt ons zinloos om bovengenoemde redenen; tot verlaging van de concentratie tot een fysiologisch voorkomende zijn wij overgegaan, daar men terecht zou kunnen zeggen, dat ook de concentraties door Koningsberger en Verkaaik gebruikt aan de hooge kant zijn. De invloed van de licht-intensiteit hebben we tot onze spijt nog niet kunnen nagaan, aangezien deze quaestie slechts in zijdelingsch verband met het onderhavige onderzoek staat.

Von Guttenberg's kritiek berust niet op eigen experimenten, maar op oudere litteratuurgegevens, waarvan het zijn grootste bezwaar is, dat ze niet alle door Koningsberger en Verkaaik zijn aangehaald. We willen echter opmerken, dat in laatstgenoemde publicatie, die een voorloopig karakter draagt, slechts de direct op het onderzoek betrekking hebbende litteratuur is genoemd. Verder schijnt von Guttenberg de strekking van het stuk niet goed begrepen te hebben, want hij stelt de vraag, of de auteurs aannemen dat de photo-inactivering slechts in de top plaats vindt, terwijl zij deze juist voor de rest van de plant bewezen hebben. Het door von Guttenberg aangehaalde werk van Koch (1934) gaat er van uit, dat reeds vast zou staan, dat phototropie door lateraal auxintransport teweeg wordt gebracht, maar al zijn resultaten zijn ook door inactivering te verklaren. Hij krijgt n.l. bij eenzijdig toevoeren van auxine aan de schaduwzijde (door de plantjes alleen aan de lichtzijde te decapiteeren) grootere kromming dan bij de contrôles in het donker, terwijl Koningsberger en Verkaaik dit andersom vinden. Dit is duidelijk, als men bedenkt dat Koch met niet-ontzaadde planten werkt, die meer eigen groeistof bevatten en dus in het donker minder gevoelig zijn, terwijl bij belichting ook de reeds in de plant aanwezige auxine aan de lichtzijde geïnactiveerd wordt, waardoor de kromming naar het licht dus grooter wordt. Het feit, dat ook ontzaadde planten niet geheel groeistofvrij zijn, is niet als tegen-

argument aan te voeren, daar zij wel zoo weinig groeistof blijken te bevatten, dat ze onder de heerschende omstandigheden geen phototropische reactie meer vertoonen. Wanneer Koch aan de schaduwzijde decapiteert zijn de negatieve krommingen groter dan wanneer Koningsberger en Verkaaik agar aan de lichtzijde opzetten. Koch's belichtingstijden zijn kleiner, waardoor minder auxine geïnactiveerd kan zijn. Een proef, waarbij slechts het halve topje belicht werd onder afscherming van de rest van de plant, geeft een S-vormige kromming, die zonder moeite verklaard kan worden, doordat slechts het basisgedeelte onder de intacte helft van de top groeistof krijgt en dus van het licht af kromt, terwijl in de top inactivering plaats kan hebben met als gevolg: positieve phototropie. In deze halve top is echter lateraal transport, zooals reeds vroeger betoogd, zeer wel mogelijk. Bij de overige proeven van Koch, waar groeistof-agar wordt aangebracht, is niet vermeld welke groeistof gebruikt is. Daar „progynon“, *Penicillium*- en *Avena*-groeistof door elkaar worden gebruikt, kan over de resultaten niet verder gediscussieerd worden, temeer daar meestal met 5 à 7 planten geëxperimenteerd is, waarvan vaak slechts de helft een kromming te zien gaf.

Von Guttenberg haalt bovendien nog een proef aan van Brauner (1922), die aantoonde dat gedecapiteerde *Avena*-coleoptielen, na kort belichten, in het donker recht blijven, maar na wederopzetten van de top een positieve kromming geven. Deze proef kon bij herhaling op het Botanisch Laboratorium te Utrecht niet worden bevestigd. De conclusie van Boysen Jensen (1928), dat in de top lateraal transport van groeistof moet plaats vinden, berust op experimenten, waarbij *Avena*-coleoptielen met gespleten toppen, die in de spleet van een dekglasje voorzien waren, positief phototropisch krommen, indien de spleet parallel aan de lichtrichting is aangebracht, maar zulks nauwelijks doen, indien het licht loodrecht op het glasje invalt. Deze proef is onaanvechtbaar. Het is dan ook een der argumenten waardoor Koningsberger en Verkaaik lateraal transport in de top mogelijk bleven achten.

Ook van Overbeek (1939) kent transversaal transport bij phototropische reacties een beperkte rol toe en acht het slechts in massieve plantendeelen mogelijk; d.w.z. bij *Avena*-coleoptielen

alleen in de top. Hij komt tot deze zienswijze op grond van het feit dat het door hem (1933) in massieve cilindertjes van *Raphanus-hypocotylen* aangetoonde transversale transport niet optreedt in holle coleoptielcilindertjes van *Avena* (du Buy, 1933) en hypocotylen van *Helianthus*. Photo-inactivering van auxine-a en -b \*) via hun lacton kan, volgens van Overbeek, alleen of tezamen met lateraal transport, de oorzaak zijn van een phototropische kromming.

Een recente publicatie van Oppenoorth (1941) werpt nieuw licht op het mechanisme van de phototropische topreactie. Oppenoorth stelt vast dat bij gebruik van lichtintensiteiten, die de eerste positieve of eerste negatieve phototropische kromming te voorschijn roepen, naast inactivering van groeistof, steeds een vermeerdering van de auxineproductie optreedt, waarvan de grootte afhankelijk is van de lichtintensiteit. Bij de eerste negatieve kromming is de totale hoeveelheid groeistof zelfs direct na de belichting al groter dan er voor. Oppenoorth is de meening toegedaan, dat de productie aan licht- en schaduwzijde altijd even groot en een lateraal transport voor de kromming aansprakelijk is, maar geeft toe, dat al zijn proeven ook een verklaring op grond van een ongelijke productie aan licht- en schaduwzijde toestaan. Daar zeker een verval van de intensiteit in het coleoptiel moet optreden, lijkt het ons mogelijk, dat een ongelijke productie althans medewerkt aan het tot stand komen van de phototropische kromming. De resultaten van de meeste vorige auteurs (b.v. Went, 1928), die tot het bestaan van lateraal transport concludeerden, kunnen ook door ongelijke auxineproductie naast inactivatie worden verklaard. De reeds genoemde proeven van Boysen Jensen (1928) en van Overbeek (1933) maken het echter onmogelijk, het bestaan van het zoo moeilijk begrijpelijke laterale transport te ontkennen en in de beschouwingen over phototropie geheel te

---

\*) Van Overbeek neemt, evenals Stewart en Went (1939), als vaststaand aan dat auxine-b op dezelfde wijze door licht geïnactiveerd kan worden als auxine-a. Tot nu toe is echter geen poging gedaan om bij experimenten in vitro aan te toonen, of auxine-b-lacton door licht al dan niet wordt geïnactiveerd. Dientengevolge lijkt het noodzakelijk, bij experimenten met maïs als bron van groeistoffen, geen vergaande conclusies te trekken.

vervangen door de begrippen: inactivatie en productie, waarvan men zich een duidelijke voorstelling kan maken.

Met het bovenstaande meenen we, dat het ons gelukt is de kritiek van von Guttenberg en Laibach te ontzenuwen.

Terugkomende op de in het begin van dit hoofdstuk gestelde vraag, wat het mechanisme der phototropie bij lagere organismen is, moet gezegd worden, dat dit slechts dan analoog kan zijn aan dat der hoogere planten, wanneer ook bij eerstgenoemden auxine-a (resp. een nauw verwante verbinding) en carotine in de cellen aanwezig zijn.

Derhalve hebben we ons tot taak gesteld dit te onderzoeken. De resultaten er van worden in de volgende hoofdstukken beschreven.

---



### HOOFDSTUK III.

## RESULTATEN DER PROEFNEMINGEN.

### A. Keuze van het plantenmateriaal.

Op grond van de in hoofdstuk I gegeven beschouwingen weten wij, dat door onderzoek naar de gevoeligheid der verschillende groeistoffen voor zuur en alkali en door moleculairgewichtsbepalingen is komen vast te staan, dat in alle onderzochte schimmels hetero-auxine voorkomt.

De meeste schimmels zijn phototropisch ongevoelig, er zijn echter enkele uitzonderingen. Zoo vertoonen de sporangiëndragers van *Phycomyces*, *Pilobolus* en *Mucor* een sterke phototropische reactie waardoor speciaal de eerstgenoemden, reeds lang als proefobject ter bestudeering der phototropie in gebruik zijn.

Om twee redenen hebben ook wij voor dit onderzoek onze keuze op deze schimmelsoort laten vallen; in de eerste plaats is *Phycomyces* een gemakkelijk in reïncultuur te kweken schimmel en ten tweede levert zij dikke bossen hoog opschietende sporangiëndragers, die eenvoudig van het substraat te scheiden zijn.

### B. Het kweken van de schimmel.

Tachtig Petri-schalen van 1 cm hoogte en 20 cm doorsnede werden elk met 30 cm<sup>3</sup> rijstkorrels en 100 cm<sup>3</sup> water gevuld en gedurende  $\frac{1}{2}$  uur bij 120° gesteriliseerd. De aldus gemaakte voedingsbodems werden na afkoelen geënt met een minus-cultuur van *Phycomyces Blakesleeanus* \*), door 10 cm<sup>3</sup> van een sporensuspensie van deze schimmel over iedere voedingsbodem uit te gieten. De schimmel kreeg nu gelegenheid zich in de gesloten schalen

\*) De reïncultuur werd ons welwillend door Prof. Dr. V. J. Koningsberger ter beschikking gesteld.

te ontwikkelen, waarvoor we deze in een geheel verduisterd vertrek bij kamertemperatuur hadden opgesteld. Hier kon slechts rood licht worden gemaakt; derhalve is photo-inactivering van eventueel aanwezige auxine tijdens het kweeken uitgesloten. Vijf à zes dagen na het enten zijn de sporangiëndragers zoo lang, dat ze het deksel van de P e t r i-schaal raken. Om hen gelegenheid te geven langer uit te groeien, werd er vervolgens van afgezien steriel te kweeken en werden de deksels verwijderd. Het gevaar voor infectie is op dat moment niet groot meer; het mycelium is zoo door de rijst heen gegroeid, dat vreemde sporen hierop moeilijk tot ontwikkeling komen. Acht à negen dagen na het enten hadden wij cultures verkregen met vier à vijf cm lange sporangiëndragers, die sterk phototropisch gevoelig waren. Deze gebruiken we voor onze proeven.

### C. Extractie der sporangiëndragers.

Allereerst moest worden nagegaan welke groeistof in de *Phycomyces*-sporangieëndragers voorkomt. Hierover geeft de literatuur slechts één aanwijzing. H e y n (1935) bepaalde reeds het moleculairgewicht van deze groeistof en vond een waarde 149 (zie Hoofdstuk I). Hij volstond met één bepaling; deze wijst er op, dat we hier, evenals bij andere onderzochte schimmels, met heteroauxine te doen zouden hebben.

Voor ons onderzoek knipten we de sporangiëndragers vlak boven het substraat af, er voor zorgend dat geen rijstkorrels medegenomen werden, en wreven hen in een mortier met zoutzuurhoudend water zoo goed mogelijk fijn. Dit waterige extract werd afgezogen en driemaal met peroxyde-vrije aether \*) uitgeaetherd. Het residu werd ook nog driemaal met aether geëxtraheerd, waarna de vereenigde extracten tweemaal met een verzadigde oplossing van natriumbicarbonaat werden uitgeschud. De bicarbonaatfractie werd, na aanzuren met zoutzuur, wederom driemaal uitgeaetherd. Ten slotte is dit extract in vacuo ingedampt en de overblijvende stroop boven phosphorpentaoxyde in een vacuum-exsiccator gedroogd. Al deze bewerkingen zijn steeds bij oranje licht uitgevoerd ter voorkoming van eventueele photo-inactivatie.

\*) Voor alle verdere extracties werd eveneens peroxyde-vrije aether gebruikt hoewel dit er niet steeds weer bij zal worden vermeld.

#### D. De test.

Voor de hierna volgende activiteitsbepalingen maakten we gebruik van de standaard *Avena*-test volgens *Went*. Deze werd uitgevoerd met „Siegshafer” uit Svälöv, oogst 1938, in een kamer van constante temperatuur en vochtigheid, welke respectievelijk 23° C. en 92 % bedroegen.

Van de uit de schimmels verkregen extracten werd een afgevoegen hoeveelheid in enkele druppels aethanol opgelost en verdund met water, dat 160 mg kaliumchloride en 0,2 cm<sup>3</sup> azijnzuur per liter bevatte. In series oplossingen van verschillende concentratie werden agar-agarplaatjes van 6 × 8 × 0,45 mm gelegd, zoodat de testplanten van blokjes van 2 × 2 × 0,45 mm konden worden voorzien. Voor iedere bepaling gebruikten wij 9—12 planten en alle bepalingen werden minstens in tweevoud uitgevoerd. Gelijktijdig met iedere activiteitsbepaling werd steeds een standaardoplossing van  $\beta$ -indolyl-azijnzuur in concentraties  $10^{-7}$  en  $\frac{1}{2} \cdot 10^{-7}$  getest.

#### E. Moleculairgewichtsbepaling.

Ten einde het moleculairgewicht van de zich in de verkregen stroop bevindende groeistof te bepalen, maakten we gebruik van de reeds beschreven diffusiemethode.

Als resultaat van deze bepalingen vonden we als waarden voor het moleculairgewicht achtereenvolgens 168, 165 en 167. Ter contrôle van onze techniek uitgevoerde parallelproeven met  $\beta$ -indolyl-azijnzuur leverden de waarden 188 en 170 op. In overeenstemming met *Heyn* (1935), die  $M = 149$  vond, wijzen dus ook deze bepalingen er op, dat we in de sporangiëndragers van *Phycomyces* met hetero-auxine te maken hebben.

#### F. Gedrag der groeistof tegenover zuur en loog.

Om dit nader te onderzoeken werd een hoeveelheid actieve stroop gedurende drie uur met 5 %-ig zoutzuur gekookt, terwijl een even-groote hoeveelheid diezelfde behandeling met 5 %-ig natriumhydroxyde onderging. Nadat de beide reactiemengsels — het laatste na aanzuren — uitgeetherd waren en de aether afgedestilleerd was, werden hun activiteiten opnieuw bepaald. Volgens de verwachting had de behandeling met loog geen invloed op de activiteit gehad,

maar de werkzaamheid van de met zuur gekookte portie was niet geheel verdwenen; een dertigste deel der oorspronkelijke activiteit bleek nog aanwezig. Daar wij vermoedden met een proeffout te doen te hebben, kookten we de reeds behandelde portie nogmaals drie uren met zoutzuur; hierdoor veranderde de werkzaamheid niet meer. Een klein deel der groeistof is dus tegen zuur bestand, echter niet tegen loog, want na drie uren daarmee te hebben gekookt, konden we nog slechts een onwerkzaam praeparaat uit het reactiemengsel extraheeren. Ook de activiteit, die we voortaan de remanente zullen noemen, was dan dus verdwenen. Een en ander kon zoowel bij volgende hoeveelheden stroop als bij nieuw bereide *Phycomyces*-extracten bevestigd worden. Een overzicht van de gevonden waarden is in tabel I opgenomen.

TABEL I.

	Gewicht pasta	Activiteit per mg pasta	Remanente activiteit per mg pasta	Remanente act. als fractie van totale	Drooggewicht schimmel	Act. per mg drooggewicht	Remanente act. per mg drooggewicht
Extract I	250 mg	2200 AE	90 AE	$\frac{1}{35}$	27 g	18 AE	0,8 AE
Extract II	1800 "	65 "	2,4 "	$\frac{1}{27}$	11 "	11 "	0,4 "
Extract III	210 "	2800 "	100 "	$\frac{1}{28}$	22 "	25 "	1,0 "
Extract IV	190 mg	2800 AE	—	—	30 g	20 AE	—

We zien hieruit dat de remanente activiteiten, evenals de totale, een vrij constante waarde hebben, terwijl hun verhouding tusschen  $\frac{1}{25}$  en  $\frac{1}{30}$  ligt. In de twee laatste kolommen zijn de totale en remanente activiteiten per mg droge schimmel opgenomen, welke ook mooi constant zijn.

De drooggewichten, noodig voor het berekenen van deze waarden, zijn bepaald door de sporangiëndragers na de extractie in een droogstoof bij  $110^{\circ}$  te drogen en, na afkoelen in een exsiccator boven phosphor-pentaoxyde, snel te wegen. Het drogen werd voortgezet, tot constant gewicht bereikt was.

Extract IV is, op dezelfde wijze als de andere, bereid uit sporangiëndragers van een cultuur, die een maand oud was en geen phototropische gevoeligheid meer vertoonde. Hierbij bleek geen remanente activiteit aanwezig te zijn.

### G. Kan de remanente activiteit door auxine-a worden veroorzaakt?

Deze vraag komt op grond van bovenstaande resultaten natuurlijk direct naar voren. Allereerst omdat de remanente activiteit veroorzaakt wordt door een stof, die wel door loog maar niet door zuur te vernietigen is; in de tweede plaats, omdat deze stof slechts in de jonge, phototropisch gevoelige, cultures voorkomt, maar niet in oude, ongevoelige.

Als echter auxine-a in de sporangiëndragers van *Phycomyces* verantwoordelijk zou zijn voor de phototropische gevoeligheid, lijkt het vreemd dat slechts  $\frac{1}{25}$  à  $\frac{1}{30}$  van de totale werkzaamheid door deze stof wordt teweeggebracht. Wanneer men echter bedenkt, dat de hetero-auxine als „slak” bij de stofwisseling van de schimmel moet worden beschouwd, ziet men, dat het foutief is de eventueel van auxine-a afkomstige activiteit met de totale te vergelijken. Of hier veel of weinig „auxine-a” aanwezig is, kan beter beoordeeld worden door de remanente activiteit per mg drooggewicht te stellen tegenover deze zelfde grootte van auxine-a in toppen van *Avena-coleoptielen*.

Door aetherextractie werd gevonden dat zeven dozijn *Avena-coleoptiel*toppen (lengte 3 mm) met een drooggewicht van 3 mg een activiteit hebben van 10,2 AE. Deze waarden zijn gemiddelden van 12 bepalingen \*). Per mg drooggewicht heeft auxine-a uit *Avena*-toppen dus een activiteit van 3,4 AE tegenover waarden tusschen 0,4 en 1,0 AE voor de niet met zuur te ontleden groeistof in *Phycomyces*. Men ziet dus, dat concentraties van dezelfde orde van grootte in beide objecten aanwezig zijn, zoodat het fysiologisch niet onmogelijk is, dat in *Phycomyces* auxine-a bij de phototropie een analoge rol vervult als in *Avena*.

Dat een ongeveer vier maal zoo geringe concentratie als in coleoptielen geen beletsel behoeft te zijn voor fysiologische werkzaamheid is duidelijk, als men zich de auxine-concentratie van

---

\*) Dr. W. F. F. Oppenoorth willen wij dank zeggen voor het uitvoeren van deze extracties volgens de door hem (1939) uitgewerkte methode. Tevens zij opgemerkt, dat de hoeveelheid auxine-a in *Avena-coleoptielen* nogal variabel is. Derhalve zijn deze proeven gelijktijdig uitgevoerd met de extracties van *Phycomyces*.

*Avena*-wortels, welke ongeveer  $10^5$  maal zoo klein is als in stengels, voor oogen stelt.

Daar er dus wel argumenten uit onze proeven naar voren komen, die er voor pleiten de boven deze paragraaf gestelde vraag bevestigend te beantwoorden, terwijl er geen redenen te vinden zijn voor een ontkennend antwoord, hebben we getracht de aanwezigheid van auxine-a in sporangiëndragers van *Phycomyces* nader te bevestigen.

#### H. Bepaling moleculairgewicht van de niet met zuur te vernietigen groeistof.

Allereerst hebben we daartoe, wederom van de diffusie-methode gebruik makend, het moleculairgewicht bepaald van de groeistof, die de remanente activiteit veroorzaakt.

Daarvoor is weer een hoeveelheid uit sporangiëndragers bereide actieve stroop met 5 %-ig zoutzuur behandeld en van het uitgeetherde residu een oplossing in de vloeistof van Kögl en Haagen Smit gemaakt, welke theoretisch ongeveer  $40^\circ$  kromming geeft. Hiermede zijn de diffusieproeven op de reeds beschreven wijze uitgevoerd. Ook nu controleerden we weder onze techniek door deze moleculairgewichtsbepalingen af te wisselen met dito bepalingen uitgevoerd met hetero-auxine.

Het resultaat van deze experimenten was, dat wij, behoudens een mislukte bepaling, voor de met zuur gekookte groeistof uit *Phycomyces* achtereenvolgens  $M = 311; 369; 359; 299$  en  $312$  vonden, terwijl hetero-auxine de waarden  $195; 122; 135$  en  $178$  opleverde.

Daar nu het gemiddelde van de gevonden moleculairgewichten  $330$  bedraagt en de voor auxine-a berekende waarden  $328$  is, steunen deze proeven de hypothese, dat hier ook in een lager organisme auxine-a voorkomt.

#### I. Physiologische proeven met de remanent actieve groeistof.

Om nog meer zekerheid te verkrijgen over de identiteit van de groeistof, waarvan het gedrag tot dusver steeds met auxine-a overeenkwam, hebben we, daar verdere chemische methoden ontbreken, physiologische proeven genomen.

Zooals reeds in hoofdstuk II nader is besproken, vonden

Koningsberger en Verkaaik (1938) een herstel der phototropische gevoeligheid bij ontzaadde, tweemaal gedecapiteerde haver-coleoptielen, indien men auxine-a uit plat op de snijvlakte gelegde agarblokjes in de stomp laat diffundeeren, terwijl de planten bij gebruik van hetero-auxine phototropisch ongevoelig blijven. Om nu na te gaan of ook in dit opzicht het gedrag van de te onderzoeken groeistof analoog is aan dat van auxine-a, drenkten we agarplaatjes in oplossingen van met zuur gekookt *Phycomyces*-extract, welke theoretisch een kromming van  $40^\circ$  in de W e n t-test gaven. De gebruikte haverplantjes werden 18 uren voor de eerste decapitatie ontzaad. Anderhalf uur na de eerste volgde een tweede decapitatie, waarna we onmiddellijk de agarblokjes \*) opzetten. Dan werden de plantjes een half uur in het donker gelaten om de groeistof gelegenheid te geven in de cellen te diffundeeren en vervolgens gedurende vijf uren eenzijdig belicht met 100 M.K. Ter contrôle zijn altijd parallelproeven met hetero-auxine van physiologisch even groote concentratie genomen, terwijl de beide oplossingen  $5 \times$  verdund in het donker op ontzaadde planten werden getest. De resultaten zijn in tabel II samengevat.

TABEL II.

Datum	A	B	C	D
14/10	8,5; 8,0; 8,1; 8,7	1,2; 2,9	6,8	6,3
15/10	6,4; 6,4; 6,4	0; 0	7,2	8,4
18/10	8,6; 9,2	0; 0	9,2	9,4
29/10	8,2; 8,3	0	8,2	9,7
1/11	10,0	0	9,8	12,1

In deze tabel stelt ieder getal in de kolommen A tot D de gemiddelde kromming van een rekje (9—12 planten) voor, vijf uren na opzetten der agarblokjes.

\*) Daar de in deze paragraaf beschreven proeven op het Botanisch Laboratorium zijn uitgevoerd, werden agarblokjes van  $2 \times 2 \times 0,9$  mm gebruikt, zooals daar gewoonte is. Tevens is hierdoor een betere vergelijking mogelijk met de resultaten van Koningsberger en Verkaaik (1938), die eveneens blokjes van deze grootte gebruikten.

- A. *Phycomyces*-extract alzijdig toegevoerd, eenzijdig belicht (phototropische kromming).
- B. Hetero-auxine ( $5 : 10^7$ ) alzijdig toegevoerd, eenzijdig belicht (phototropische kromming).
- C. *Phycomyces*-extract; contrôletest met  $\frac{1}{5}$  der bij A gebruikte concentratie.
- D. Hetero-auxine ( $1 : 10^7$ ); contrôletest.

We zien dus, dat ons extract een herstel der phototropische gevoeligheid te voorschijn roept in tegenstelling tot hetero-auxine. De kleine kromming met deze stof op 14/10 verkregen is te wijten aan te laat ontzaden der haverplanten, waardoor er nog te veel eigen groeistof in is achtergebleven.

Een tweede reeks physiologische experimenten bestaande uit acht series en eveneens berustende op resultaten van Koningsberger en Verkaaik is daarna begonnen.

Vier series omvatten planten, die evenzoo zijn behandeld als de series A tot D in de voorafgaande proeven. Om echter kritiek op de vrij hoge concentraties, welke daar in navolging van Koningsberger en Verkaaik zijn gebruikt, te voorkomen, pasten we thans ook voor de behandelingen A en B de physiologisch normale, vijf maal zoo kleine concentratie toe. Verder zijn er, zoowel voor *Phycomyces*-extract als voor hetero-auxine, twee series aan toegevoegd, waarbij de groeistof-agar respectievelijk aan de licht- en aan de schaduwzijde van eenzijdig belichte planten is opgezet. In tabel III zijn wederom de krommingen aangegeven, welke vijf uren na het aanbrengen van de agar-blokjes verkregen zijn. Voor de belichting is ook weer een intensiteit van 100 M.K. gebruikt.

Allereerst geeft deze tabel in de kolommen P en W hetzelfde resultaat te zien als de vorige in de kolommen A en B.

Bovendien ziet men, dat ons *Phycomyces*-extract zich ook verder gedraagt als de zuivere auxine-a, welke Koningsberger en Verkaaik gebruikten. Terwijl hetero-auxine, onafhankelijk van belichting, bij eenzijdige toevoer steeds dezelfde kromming geeft (X, Y en Z), is deze bij planten, die van ons extract zijn voorzien, in het licht (R en S) kleiner dan in het donker (Q). De kromming is vrijwel \*) geheel verdwenen, als de auxinetoevoer aan de lichtzijde

\*) Aangezien krommingen kleiner dan  $1^\circ$  niet reël behoeven te zijn, leek het aanbevelenswaardig deze met 0 aan te duiden.



plaats vond (S), terwijl zij slechts 15—20 % verminderd is bij toevoer aan de schaduwzijde (R). Noemt men, in overeenstemming met Koningsberger en Verkaaik, de hoeveelheid auxine aan de schaduwzijde p en aan de lichtzijde q, dan vinden we dus in Tabel III sub R de krommingen door p en sub S die door q veroorzaakt. Hoewel de door aftrekking berekende waarde voor p—q niet in elk afzonderlijk geval zoo mooi klopt met de gevondene (kolom P) als in het „schoolvoorbeeld” van Koningsberger en Verkaaik, is dit bij het gemiddelde wel het geval en wij zijn de meening toegedaan, dat de beide hier beschreven physiologische proevenreeksen niet alleen een nieuw punt van overeenkomst tusschen auxine-a en de onderzochte *Phycomyces*-groeistof hebben aangetoond, maar dat zij tevens steun verleen en aan de opvatting over het mechanisme der phototropie in het basale deel van coleoptielen, zooals die door Koningsberger en Verkaaik wordt gegeven. Het feit, dat thans ook met concentraties gewerkt is, die voor de plant physiologisch normaal zijn, is in dit verband o.i. belangrijk.

TABEL III.

Datum	P	Q	R	S	W	X	Y	Z
1/11	8,7	9,8	8,2	0	0	12,1	12,3	12,0
5/11	7,6	9,3	7,8	0	0	9,5	—	8,9
7/11	5,9	6,5	5,6	0	—	7,6	—	—
8/11	7,8	11,2	8,3	0	—	10,7	—	—

- P. *Phycomyces*-extract alzijdig toegevoerd, eenzijdig belicht  
(phototropische kromming).
- Q. *Phycomyces*-extract eenzijdig toegevoerd, niet belicht.
- R. *Phycomyces*-extract aan schaduwzijde toegevoerd.
- S. *Phycomyces*-extract aan lichtzijde toegevoegd.
- W. Hetero-auxine alzijdig toegevoerd, eenzijdig belicht  
(phototropische kromming).
- X. Hetero-auxine eenzijdig toegevoerd, niet belicht.
- Y. Hetero-auxine aan schaduwzijde toegevoerd.
- Z. Hetero-auxine aan lichtzijde toegevoegd.

## J. Conclusies.

Wanneer men de gegevens uit de in dit hoofdstuk beschreven proeven beschouwt, dan ziet men, dat de groeistof, die naast hetero-auxine in sporangiëndragers van *Phycomyces* aanwezig is en aanleiding geeft tot remanente activiteit, de volgende punten van overeenkomst heeft met auxine-a:

1. Zij is niet te inactiveren door koken met 5 %-ig zoutzuur.
2. Zij is gemakkelijk te inactiveren door koken met 5 %-ig natriumhydroxyde.
3. Zij heeft een moleculairgewicht in de buurt van 330.
4. Zij kan herstel der phototropische gevoeligheid bewerken bij ontzaadde, tweemaal gedecapiteerde havercoleoptielen.
5. Zij wordt, als deze coleoptielen eenzijdig worden belicht, hierin aan de lichtzijde sterker geïnactiveerd dan aan de schaduwzijde.

Daarentegen hebben wij geen verschilpunt kunnen aantoonen.

De conclusie, dat in sporangiëndragers van *Phycomyces* auxine-a voorkomt, lijkt derhalve niet gewaagd; toch zullen we voorzichtigheidshalve zeggen: „auxine-a of een ten nauwste daarmee verwante stof.”

Terloops zij opgemerkt, dat de in het vierde en vijfde punt genoemde argumenten voor de aanwezigheid van auxine-a in *Phycomyces* onafhankelijk zijn van de beschouwingen, in hoofdstuk II gewijd aan de photo-inactivering van auxine-a als oorzaak van phototropische reacties. Immers deze argumenten berusten niet op bedoelde theoretische beschouwingen, maar op een feit: *Phycomyces*-groeistof gedraagt zich bij de beschreven proeven geheel anders dan hetero-auxine en vertoont dezelfde eigenschappen als Koningsberger en Verkaaik bij zuivere auxine-a vonden.

Nu de aanwezigheid van auxine-a in de sporangiëndragers van *Phycomyces* met vrij groote zekerheid is vastgesteld, zal men zich afvragen, of het hierin dezelfde rol bij de phototropie speelt als in de hogere planten. Voor een positief antwoord op deze vraag pleiten twee argumenten. Ten eerste bleek de concentratie van de groeistof in de sporangiëndragers van dezelfde orde van grootte als die van auxine-a in coleoptieltoppen van *Avena*; ten tweede is deze groeistof slechts in jonge, phototropisch gevoelige cultures

aanwezig, niet in oude, ongevoelige. Er moet echter carotine in de cellen der sporangiëndragers aanwezig zijn, wil het mogelijk zijn, dat de aanwezige auxine-a de rol speelt, welke we haar hier hebben toegedacht.

De literatuur geeft hierover uitkomst. Castle (1931) en Buder (1932) bepaalden bij sporangiëndragers van *Phycomyces* de afhankelijkheid der phototropische gevoeligheid van de golflengte van het gebruikte licht, waarbij een tweetoppige curve werd verkregen met maxima bij 450 en 475  $m\mu$ . Deze vond Castle (1935) ook bij het bepalen van een absorptiespectrum van een carotinoïde-extract in hexaan, uit deze sporangiëndragers bereid. Bünnig (1937) reageerde in een sporangiëndrager onder het microscoop op carotine en vond een positieve Carr-Price-reactie, terwijl hij tevens door toevoegen van methanol kristallen verkreeg, welke op die van  $\beta$ -carotine lijken. Bünnig voerde zijn experimenten hoofdzakelijk aan *Pilobolus* uit. Hij bepaalde bij deze schimmel een absorptiespectrum van de sporangiëndrager zelf en geeft maxima bij 445 en 470—480  $m\mu$  op. Tevens meldt hij, dat *Phycomyces* eenzelfde resultaat opleverde. Schopfer (1935), tenslotte, heeft het absorptiespectrum van *Phycomyces*-extract in zwavelkoolstof gemeten en de door hem gevonden curve met maxima bij 487 en 517  $m\mu$  klopt eveneens mooi met die, welke Kuhn en Lederer (1931) bepaalden voor zuivere  $\beta$ -carotine in hetzelfde oplosmiddel. Laatstgenoemde kromme heeft maxima bij 450, 485 en 521  $m\mu$ .

Op grond van al deze gegevens staat het derhalve vast, dat  $\beta$ -carotine in sporangiophoren van *Phycomyces* aanwezig is. Bij deze schimmel is een verklaring, overeenkomend met die voor de phototropie van hogere planten gegeven, dus mogelijk.

Inactivering en versnelde productie van auxine onder invloed van het licht zullen bij sporangiëndragers van *Phycomyces* uitsluitend aansprakelijk zijn voor de phototropische reactie. Transversaal transport, dat in *Avena*-coleoptieltoppen op kan treden, is hier uitgesloten, aangezien dit steeds als gevolg van polaire permeabiliteitsveranderingen wordt verklaard en deze in een eencellig orgaan niet goed denkbaar zijn. Bovendien kan worden opgemerkt, dat, wanneer positieve krommingen worden verkregen, de versnelde productie, althans aan de achterzijde, moet overheerschen. Immers deze krijgt, door de lenswerking van het orgaan,

het meeste licht en groeit toch sneller. Blaauw (1918) vond ook bij alzijdige belichting eerst een vermeerdering van de groeisnelheid. Derhalve moet ook dan de auxineproductie sneller plaats grijpen dan de inactivering.

Gaarne hadden wij ook in een andere phototropisch gevoelige schimmel b.v. *Pilobolus*, het voorkomen van auxine-a nagegaan. Zoowel de sporangiëndragers van *Pilobolus* als die van *Mucor* hebben een veel geringere afmeting dan de voor dit onderzoek gebruikte *Phycomyces*-sporangieëndragers en hierdoor is een veel te groot aantal cultures noodig om een eventueele, toch al geringe, hoeveelheid auxine-a aan te toonen. Bovendien is *Pilobolus* moeilijk op groote schaal in reïncultuur te kweken en nog moeilijker te oogsten, terwijl *Mucor* slechts een geringe phototropische reactie vertoont.

Derhalve hebben wij er van af gezien om onze proeven met een andere schimmel te herhalen. Hierdoor is de stelling: *zonder auxine-a geen phototropie*, slechts met groote waarschijnlijkheid, niet met zekerheid, te formuleeren.

---

## SUMMARY.

An investigation was made on the nature of the growth substance in young *Phycomyces*-sporangiophores, which show phototropic response.

According to its molecular weight and its behaviour against acid and alkali, the bulk of the growth substance is similar to indole-3-acetic acid.

About  $\frac{1}{25}$  to  $\frac{1}{30}$  of the total activity cannot be destroyed by acid.

Alkali rapidly inactivates the product, causing this rest-activity.

The molecular weight of this product is proved to be about 330.

It returns the sensibility for light to deseeded *Avena*-coleoptiles, while in these coleoptiles its activity is destroyed by light, more so when it flows at the light-side than when it flows at the dark-side of the stump.

Because of these similarities it seems very likely that auxin-a is present in *Phycomyces*-sporangiophores.

The rest-activity is only found in young sporangiophores, not in old ones, which do not show phototropic sensibility.

The concentration of the remanently active substance in the sporangiophores is shown to be of the same order of magnitude as that of auxine-a in tips of *Avena*-coleoptiles.

These two facts, together with the occurrence of  $\beta$ -carotene in the sporangiophores, make it highly probable that phototropic curvatures of *Phycomyces* should be explained in the same terms as those of shoots of higher plants.

The vision of Koningberger and Verkaarik on the latter problem is discussed and defended against the criticism by von Guttenberg and Laibach.

---

## DEEL II.

# DE PHYSIOLOGISCHE WERKING VAN DE ANTIPODEN VAN $\alpha$ -( $\beta'$ -INDOLYL)PROPIONZUUR.

## HOOFDSTUK IV.

### INLEIDING.

In 1937 deelde K ö g l in een voordracht te Weenen mede dat bij een onderzoek in zijn laboratorium was gebleken, dat de beide antipoden van  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)-propionzuur ( $\alpha$ -methyl- $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)-azijnzuur) in de *Avena*-test volgens W e n t een verschillende werkzaamheid vertoonden. \*)

De gemiddelde waarden voor de activiteit, bepaald nadat enkele maanden getest was, bedroegen:

48	milliard	AE	per	gram	voor	het	(+)	zuur,
1,6	"	"	"	"	"	"	(—)	" en
23	"	"	"	"	"	"	racemaat.	

Het (+)zuur is dus 30 maal actiever dan het (—)zuur. Dit resultaat is daarom zoo merkwaardig, omdat vele verbindingen bekend zijn geworden, welke een met auxine-a en -b te vergelijken activiteit bezitten, ofschoon ze in structureel opzicht nauwelijks met de echte auxinen verwant zijn. Hier heeft nu echter een klein stereochemisch verschil bij dezelfde structuur groote invloed en wel bij een normaliter niet door de plant zelf gevormde verbinding!

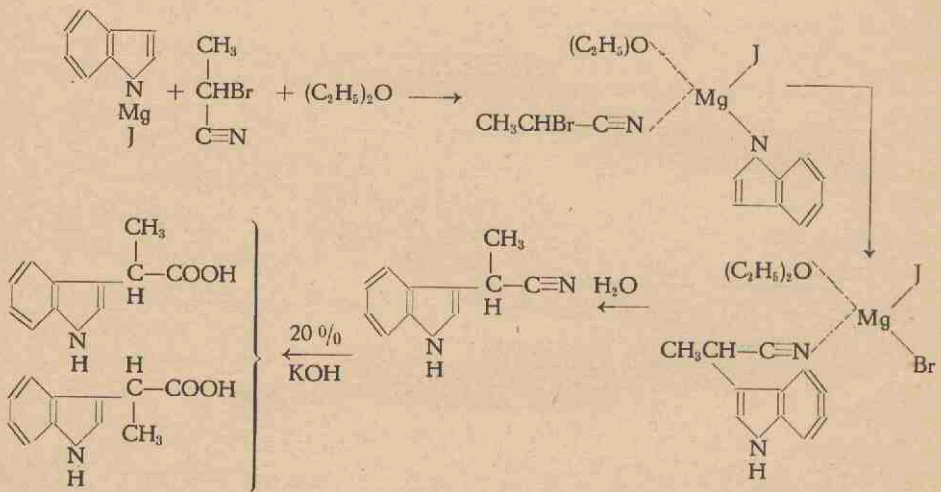
---

\*) Het racemaat, door Dr. J. K. Bottema bereid, was door Mej. Dr. M. A. M. Klompé in de antipoden gesplitst. De splitsingsmethoden voor (+) en (—) zuur zijn respectievelijk door den heer C. van Wessem en Dr. J. K. Bottema uitgewerkt.

Kögl concludeert, dat bovengenoemde antipoden in de plant met asymmetrische stoffen, waarschijnlijk eiwitbestanddeelen van het protoplasma, reageeren en geeft op grond hiervan een mogelijk schema voor het mechanisme.

We hebben ons thans tot taak gesteld de physiologische betekenis van het verschijnsel nader te onderzoeken. Hiertoe stonden ons de praeparaten, die voor bovenstaand onderzoek hadden gediend, ter beschikking.

Het racemaat was bereid op een wijze, analoog aan die, welke Majima en Hoshino (1925) voor  $\beta$ -indolylazijnzuur hebben beschreven:



De laatste trap, de verzeeping, mislukte bij volgen van Majima's voorschrift. Een goed resultaat werd verkregen, wanneer het gezuiverde  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionitril gedurende 7 uur gekookt werd met 10%-ig bariumhydroxyde. Het reactiemengsel werd, om nevenproducten te verwijderen, uitgaetherd en vervolgens geneutraliseerd met 2 n zoutzuur; dan eenige malen afwisselend met aether geëxtraheerd en verder aangezuurd. Na drogen der vereenigde extracten op natriumsulfaat en verdrijven van de aether bleef een taaie lichtbruine stroop over, welke na eenige dagen in een vacuumexsiccator boven calciumchloride gestaan te

hebben, bij krassen vast werd. Door 3 maal omkristalliseeren uit benzol kon het racemische  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur zuiver worden verkregen. Het zijn witte kristallen die bij  $111^{\circ}$  \*) smelten.

Om uit het racemaat de antipoden zuiver te bereiden is voor de (—) component gebruik gemaakt van cinchonine, voor de (+) component van chinine. Aequimoleculaire hoeveelheden van racemaat en alkaloiden werden droog gemengd en opgelost in alcohol; aan de oplossing werd water toegevoegd tot blijvende troebeling, waarna het mengsel eenige weken in de frigidaire werd gezet. Dan scheidde zich een gele stroop af, die, na decanteeren van de moederloog, door krassen spoedig vast werd. Dit alkaloidzout werd omgekristalliseerd uit 96%-ige alcohol tot constante draaiing. Voor het cinchoninezout was dan  $[\alpha]_D = +108^{\circ}$ ; voor het chininezout  $[\alpha]_D = -104^{\circ}$ . Hierna zijn de zouten ontleed door hen in een weinig alcohol op te lossen en aan deze oplossing 2 n natriumhydroxyde toe te voegen. De alkaloiden sloegen neer en werden afgefiltreerd. Uit de oplossingen, die de natriumzouten der optisch actieve zuren bevatten, werden deze zelf door aanzuren met zoutzuur en uitschudden met aether vrijgemaakt. De zuren kunnen uit benzol worden omgekristalliseerd en hebben de volgende physische constanten: Smp.  $138^{\circ}$ ,  $[\alpha]_D$  respectievelijk  $-77^{\circ}$  en  $+77^{\circ}$ .

De vijf jaar oude praeparaten waren eenigszins verkleurd en hun smeltpunten ongeveer vier graden gedaald. Door eenige malen omkristalliseeren uit benzol konden de stoffen weer wit verkregen worden, terwijl dan ook smeltpunt en draaiing wederom de opgegeven waarden hadden.

De analyse (Hubers) van de verbindingen had tot resultaat:

$C_{11}H_{11}O_2N(191,21)$	Berekend:	69,83 % C.	5,86 % H.	7,40 % N.
	Gevonden: (+)zuur	70,09 % C.	5,53 % H.	7,07 % N.
	(—) „	70,09 % C.	5,76 % H.	7,11 % N.
	racemaat	69,75 % C.	5,84 % H.	7,21 % N.

Om na te gaan of de physiologische werkzaamheid van de stoffen in de loop der jaren constant was gebleven, zijn de antipoden en het racemaat gedurende enkele weken aan de *Avena*-test onderworpen, waarbij wij de onderstaande gemiddelde activiteiten vonden:

\*) Smeltpunten zijn ongecorrigeerd.



(+)	zuur	50	AE	per	gram	*)
(—)	„	1,1	„	„	„	„
racemisch	„	24	„	„	„	„

Deze getallen stemmen goed overeen met de vroeger gevonden waarden.

---

\*) Het is gebleken, dat de gevoeligheid der nu gebruikte *Avena*-kiemplantjes voor hetero-auxine 5 à 10 maal geringer is dan tijdens de onderzoeken, die ongeveer 5 jaar geleden in ons laboratorium zijn uitgevoerd. Daar is komen vast te staan, dat we hier met niet te controleeren variaties in het plantenmateriaal te doen hebben, zijn de AE in deze publicatie steeds betrokken op hetero-auxine als standaard, waarbij 1 mg hetero-auxine een activiteit van 25 miljoen AE is toegekend. Dit is in overeenstemming met de wijziging van de oorspronkelijke definitie van de AE, welke vroeger reeds noodzakelijk werd door de dagelijksche variatie in de gevoeligheid van de planten.

---

## HOOFDSTUK V.

### GROEI OF TRANSPORT ?

#### A. Inleiding.

De eerste vraag, die wij ons stelden, was: „Is het waar, dat het verschil in activiteit van de beide antipoden van  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)-propionzuur in de *Avena*-test berust op een verschillende mate van deelnemen aan een of meer der reacties, die samen het celstrekingsproces vormen?”

Men zou geneigd zijn deze vraag bevestigend te beantwoorden, aangezien de kromming in de *Avena*-test toch veroorzaakt wordt door verschil in strekkingsgroei tusschen de zijde van het havercoleoptiel, waar groeistof toegevoerd wordt, en de zijde waar zulks niet geschiedt. Indien men deze redeneering volgt, neemt men echter aan, dat de beide antipoden op dezelfde wijze en met dezelfde snelheid in het coleoptiel vervoerd worden naar de plaatsen, waar ze hun werking uitoefenen. Dit behoeft a priori niet zoo te zijn. Om nu tot een antwoord op de gestelde vraag te komen, moest dus de groei onder invloed van de twee antipoden zoodanig worden nagegaan, dat eventuele transportverschillen onze resultaten niet kunnen vertroebelen. Hiertoe is de methode van B o n n e r (1933) zeer geschikt, aangezien daarbij transport in de physiologische zin van het woord geheel uitgeschakeld is; de groeistof wordt toegediend op de plaats waar zij werkzaam is. De techniek van deze testmethode, zooals die door ons is toegepast, willen wij hier in het kort weergeven; zij is dezelfde als die, welke door v a n S a n t e n (1940) werd gebruikt.

#### B. Methodiek van de cilindertest.

Kiemplantjes van *Avena* worden gekweekt in een donkere kamer

van 23° en 92 % relatieve vochtigheid, zooals dat bij de W e n t-test gebruikelijk is. Wanneer zij precies 3 dagen oud zijn, worden coleoptielen van 16—20 mm lengte (gemeten van top tot mesocotyl) afgeknipt en van telkens 10 stuks tegelijk wordt, met behulp van een coleoptiel-microtoom van v a n d e r W e y (1932) 1½ mm uit de groeizone gesneden. We kozen hiervoor steeds de zone, die 6 tot 7½ mm onder de top ligt. De cilindertjes worden dan met een fijn penseel van het scheermesje op een sliertje vaseline, aangebracht op een objectglas, gestreken, waarbij zorg gedragen moet worden, dat zij zoo goed mogelijk evenwijdig aan het glas komen te liggen. Deze sliertjes kunnen het best gemaakt worden door vaseline uit een tube met nauwe opening op de voorwerpglasjes te persen en deze dan een half uur in een droogstoof van 30° te leggen, opdat de vaseline goed aan het glas hecht en de breedte der sliertjes toch zoo klein mogelijk blijft. De objectglasjes met de cilindertjes worden dan zoodanig in P e t r i-schalen met groeistofoplossing gelegd, dat ze net geheel ondergedompeld zijn. Onder een microscoop wordt dan telkens de lengte gemeten met een oculairmicrometer bij gebruik van een oranje lichtbron. Wanneer niet wordt gemeten blaast een fijne luchtstroom steeds versche oplossing langs de cilindertjes. Bij deze behandeling wordt er voor gezorgd, dat het celvocht door diffusie van alle zijden snel de concentratie van de groeistofoplossing aanneemt en deze gedurende de proef houdt (v a n S a n t e n, 1938 en 1940).

### C. Proeven en resultaten.

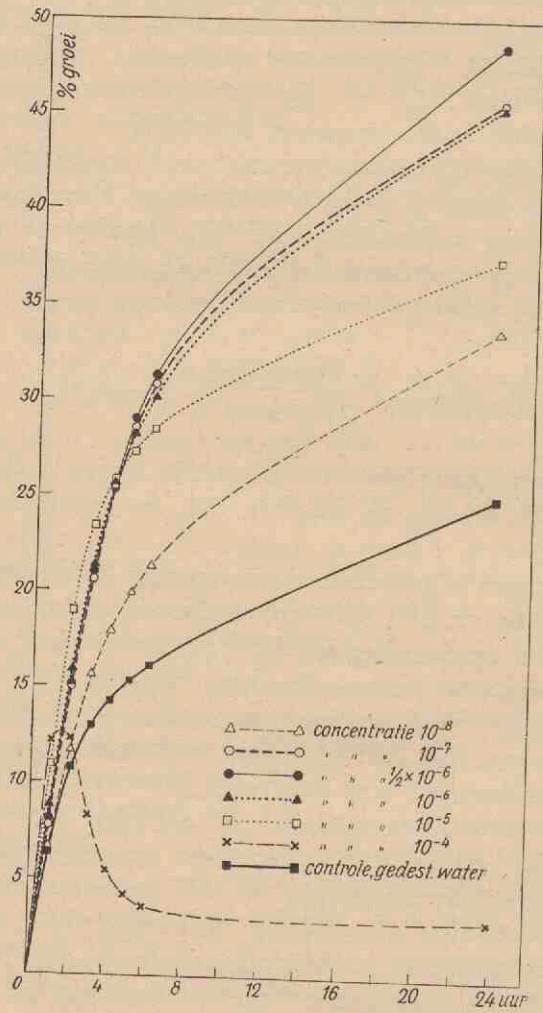
Op boven beschreven wijze gingen wij nu de invloed op de groei na van het racemaat en de optische antipoden van ons  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur in verschillende concentraties. We richtten onze proeven zoo in, dat we de lengte der cilindertjes maten 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 en 24 uur na het dompelen in de oplossingen. Op één dag vergeleken wij de groei in gedestilleerd water met die in oplossingen, bevattende concentraties van respectievelijk  $10^{-4}$  (= 100 mg per liter),  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $\frac{1}{2} \cdot 10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  en  $10^{-8}$  aan een der te onderzoeken stoffen. Dit geschiedde, met het oog op de variabiliteit van de test, tien maal voor elk der drie substanties, zoodat de proeven zich uitstrekten over een tijdvak van enkele maanden. De gemiddelde relatieve groei werd berekend en voor

iedere proefdag in een grafische voorstelling tegen de tijd uitgezet. De tien grafieken, die op dezelfde stof betrekking hadden en waarvan de curven slechts quantitative verschillen vertoonden, werden wederom gemiddeld, zoodat er drie resulteerden (figuur 1, 2, 3), elk met zeven lijnen (voor zes concentraties en voor gedestilleerd water). Aangezien de drie lijnen voor gedestilleerd water nog enkele procenten uit elkaar liepen moesten wij om de resultaten vergelijkbaar te maken, nog een correctie aanbrengen. Hiertoe middelden we de lijnen voor gedestilleerd water en rekenden de andere op de aldus verkregen standaard (tabel IV) om. Voor ieder punt kan deze bewerking aldus worden geformuleerd:

$$A_{\text{gecorrigeerd}} = \frac{A_{\text{gevonden}}}{B_{\text{gevonden}}} \times B_{\text{gemiddeld}},$$

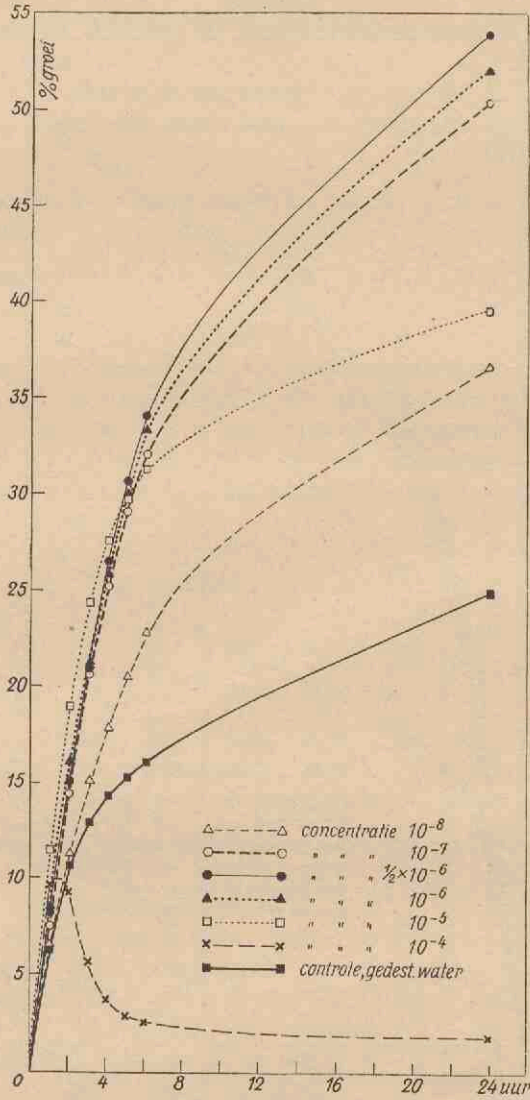
waarin A de relatieve groei na zekere tijd in een der groeistofoplossingen en B die, na dezelfde tijd, in gedestilleerd water aangeeft.

De gecorrigeerde grafieken, die nu vergelijkbaar zijn, worden hierbij weergegeven. We zien er uit, dat de curven voor iedere concentratie in de drie figuren elkaar vrijwel dekken, zoodat we de groeibevorderende werking der drie praeparaten, indien we met de variabiliteit in het gedrag van ons proefobject rekening houden, gelijk kunnen noemen. Aangezien een vergelijking van de figuren 1, 2 en 3 misschien niet voor ieder even gemakkelijk is, hebben wij de resultaten der proeven ook in tabel V samengevat, waarin de, bij elke gebruikte concentratie behorende, gecorrigeerde relatieve groei na ieder tijdsverloop voor de drie stoffen naast elkaar is opgegeven. Zoowel uit de grafieken als uit tabel V is af te lezen, dat een concentratie  $10^{-4}$  slechts in het eerste uur groeibevorderend werkt. Daarnaast treedt een schadelijke werking op, die bij het voortzetten der proef de overhand krijgt. Bij concentratie  $10^{-5}$  zien we, dat de schadelijke invloed nog bestaat en zich manifesteert in een vrij scherpe knik in de curven, nadat de groei gedurende de eerste uren zeer groot is geweest; bij  $10^{-6}$  is deze knik nauwelijks en bij  $\frac{1}{2} \times 10^{-6}$  in het geheel niet meer merkbaar. De laatste curve is de optimale. Kleinere concentraties geven dan ook krommen, die over hun geheele lengte lager liggen.



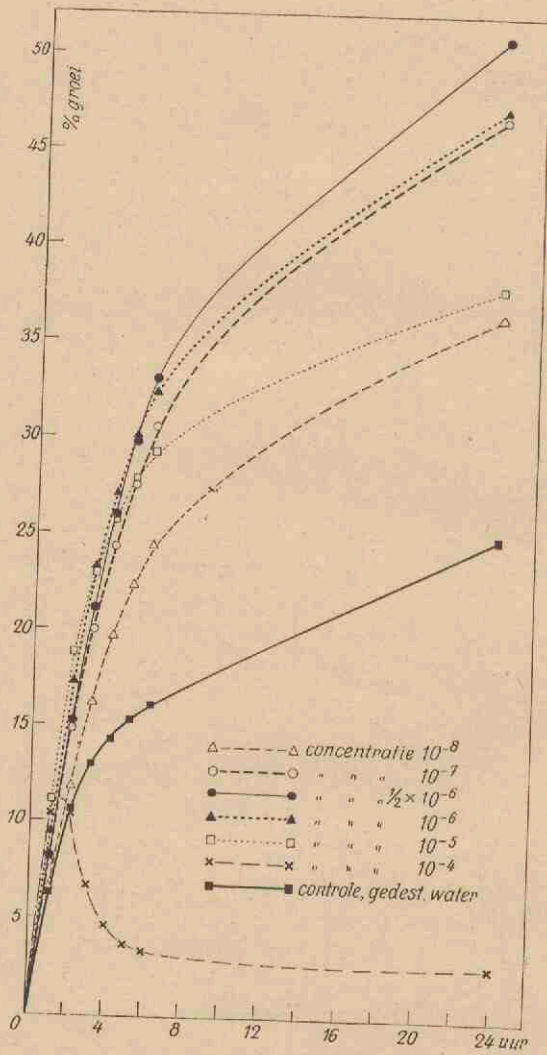
Figuur 1.

Groei-tijd curven van cilindertjes uit *Avena*-coleoptielen ( $1\frac{1}{2}$  mm lang en  $6-7\frac{1}{2}$  mm van de top gesneden) in oplossingen van (+)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur (Gemiddelde van 100 cilindertjes).



Figuur 2.

Groei-tijd curven van cylindertjes uit *Avena-copeoptielen* ( $1\frac{1}{2}$  mm lang en  $6-7\frac{1}{2}$  mm van de top gesneden) in oplossingen van (—)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur (Gemiddelde van 100 cylindertjes).



Figuur 3.

Groei-tijd curven van cilindertjes uit *Avena*-coleoptielen ( $1\frac{1}{2}$  mm lang en  $6-7\frac{1}{2}$  mm van de top gesneden) in oplossingen van racemisch  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur (Gemiddelde van 100 cilindertjes).

TABEL IV.

Gemiddelde groei in procenten van *Avena-coleoptielcylindertjes* in gedestilleerd water.

Elke waarde is een gemiddelde van metingen aan 300 cylindertjes.

Na uren	1	2	3	4	5	6	24
% groei	6,3	10,7	13,0	14,3	15,3	16,1	25,0

TABEL V.

Gemiddelde groei in procenten van *Avena-coleoptielcylindertjes* in verschillende concentraties (+), (—) en racemisch  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur na 1, 2, 3, 4, 5, 6 en 24 uur (omgerekend op de standaardproef in gedestilleerd water).

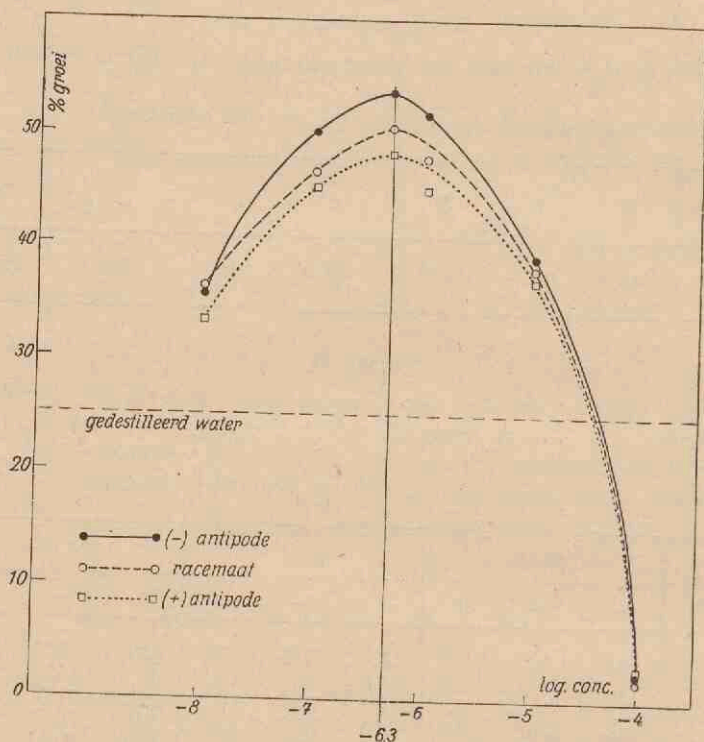
Elke waarde is een gemiddelde van metingen aan 100 cylindertjes.

Tijd in uren	$10^{-8}$			$10^{-7}$			$\frac{1}{2} \times 10^{-6}$		
	+	—	R	+	—	—	+	—	R
1	6,4	6,5	6,5	7,8	7,5	7,8	8,0	8,2	8,1
2	11,7	11,3	11,8	15,0	14,5	14,8	15,1	15,1	15,2
3	15,7	15,2	16,2	20,6	20,6	20,0	21,0	21,0	21,1
4	17,9	17,9	19,7	25,5	25,2	24,3	25,4	26,5	25,9
5	19,9	20,5	22,4	28,5	29,1	27,5	29,0	30,6	29,8
6	21,3	22,8	24,4	30,8	32,0	30,5	31,2	34,1	33,0
24	33,6	36,6	36,5	45,6	50,3	46,7	48,6	53,9	50,8

Tijd in uren	$10^{-6}$			$10^{-5}$			$10^{-4}$		
	+	—	R	+	—	R	+	—	R
1	8,8	8,4	9,5	10,9	11,5	11,1	12,1	9,6	10,4
2	15,9	16,1	17,3	19,0	19,0	18,8	12,3	9,3	10,4
3	21,3	21,1	23,2	23,4	24,4	23,0	8,3	5,7	6,7
4	25,5	25,8	27,1	25,8	27,6	25,8	5,5	3,8	4,6
5	28,2	30,0	30,0	27,3	29,8	27,9	4,2	2,9	3,7
6	30,1	33,2	32,3	28,3	31,3	29,2	3,7	2,7	3,4
24	45,4	52,0	47,1	37,4	39,6	38,0	3,0	2,0	2,8

In figuur 4 is de groei na 24 uur uitgezet tegen de logaritmie van de concentratie. Hier krijgen we dus optimum-krommen, die elkaar vrijwel dekken en hun top bij  $-6,3$  hebben. Aan de hand





Figuur 4.

Relatieve groei (na 24 uur) van *Avena*-coleoptielcylindertjes in oplossingen van  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur van verschillende concentratie.

van deze figuur willen wij onze conclusie, dat de drie gebruikte stoffen even sterk groeibevorderend werken, nader toelichten, door te discussieeren, hoe zij er uit zou zien, indien het (+) zuur 30 maal zoo sterk werkzaam zou zijn als het (-) zuur, gelijk het resultaat van de *Avena*-test deed vermoeden. We moeten dan met twee mogelijkheden rekening houden. In de eerste plaats kunnen de groeistofwerking en de schadelijke werking „gekoppelde factoren” zijn; d.w.z. dat voor de gebruikte stoffen een groeibevorderende activiteit van een bepaalde grootte steeds met een even grootte schadelijke werking gepaard gaat. Wanneer we dit aannemen, moet de curve voor het (+) zuur zoodanig ten opzichte van die voor het (-) zuur horizontaal naar links verschoven liggen, dat de overeenkomstige punten een afstand 1,5 (= log. 30), langs de abscis gemeten,

uit elkaar liggen. Een tweede mogelijkheid is, dat de schadelijke werking bij gelijke concentraties voor de drie verschillende substanties even groot is en dus onafhankelijk van de groei-bevorderende; dan kunnen de drie curven rechts van de top, waar eerstgenoemde invloed overheerscht, elkaar benaderen en wel het dichtst bij de sterkste concentratie, maar moet de 30 maal sterkere groeistofwerking links van de top tot uiting komen in een verschuiving als boven beschreven.

Aangezien echter de onderlinge spreiding der curven in figuur 4 veel kleiner is dan op grond van de twee hier besproken veronderstellingen verwacht kan worden en tevens van geheel andere aard is — immers de lijn voor de (—)antipode ligt het hoogst — moeten we besluiten, *dat de groeibevorderende activiteit van onze drie praeparaten gelijk is, maar hun transport in het coleoptiel op verschillende wijze wordt beïnvloed.*

Interessant is ook een vergelijking van figuur 4 met de analoge, door van Santen (1940, p. 63) voor  $\beta$ -indolylazijnzuur bepaalde curve. We zien dan, dat de thans onderzochte verbindingen in kleine concentraties actiever zijn dan hetero-auxine, terwijl de krommen elkaar benaderen bij supra-optimale, waaruit blijkt, dat de schadelijke invloed in beide gevallen even groot is. De top is bijgevolg voor hetero-auxine iets smaller en lager; tevens ligt hij bij een ongeveer tweemaal zoo hoge concentratie, waaruit volgt, dat de groeibevorderende activiteit ook ongeveer de helft bedraagt van die, welke ieder der drie soorten  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur bezitten. In de *Avena*-test vinden we deze verhouding slechts terug ten opzichte van de (+)antipode, hetgeen ons tot de conclusie brengt dat deze in het coleoptiel op dezelfde wijze getransporteerd wordt als hetero-auxine, zoodat het (—)zuur de antipode is, die een bijzonder gedrag vertoont op zijn weg uit het agar-agarblokje naar de cellen, waar zijn werkzaamheid tot uiting kan komen.

Daar de activiteit van het racemaat het midden houdt tusschen die van (+) en (—)zuur, zal zijn gedrag waarschijnlijk voortvloeien uit dat van de (—)bouwsteen in deze verbinding. Daarom willen wij ons bij het verder onderzoek tot de beide optisch actieve stoffen beperken.

## HOOFDSTUK VI.

### LATERAAL OF BASIPETAAL?

#### A. Inleiding.

Als we nagaan, wat er met ons (—)zuur op zijn weg in het coleoptiel kan gebeuren om aanleiding te geven tot het bij de *Avena*-test waargenomen verschijnsel, dan zullen we een keus moeten doen uit twee mogelijkheden.

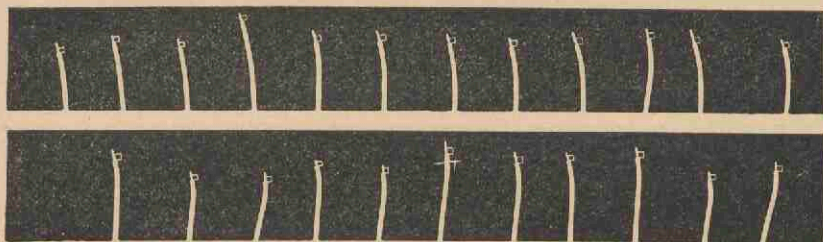
Ten eerste kan een lateraal transport optreden, waardoor de groeistof ten deele weglekt naar de van het agarblokje afgekeerde zijde van het coleoptiel. Het verschil aan groeistof in de beide helften is dan kleiner met als resultaat een geringere kromming; dit verschijnsel zou overeenkomen met hetgeen optreedt bij toedienen van te hooge groeistofconcentratie met dien verstande, dat nu niet een gewone diffusie maar een asymmetrische reactie in de plant er de oorzaak van is.

Het alternatief is, dat het basipetale transport van het (—)zuur op ongunstige wijze wordt beïnvloed, zoodat de groeizone niet, of althans in veel mindere mate, van groeistof wordt voorzien, dan bij toedienen van het (+)zuur.

Een aanwijzing, dat de tweede veronderstelling juist is, hebben we in het feit, dat de kromming in de *Avena*-test, door de (—)antipode veroorzaakt, beperkt is tot de direct onder de top gelegen zone, terwijl het (+)zuur het coleoptiel over veel grootere lengte doet krommen (zie figuur 5).

Om echter tot een definitief bewijs te komen, zijn metingen gedaan van de rechte groei van gedecapiteerde havercoleoptielen, die onmiddellijk na de decapitatie voorzien werden van agarblokjes, gedrenkt in oplossingen van een van de beide antipoden. Daar de coleoptielen nu aan alle zijden evenveel groeistof toegediend krijgen,

is lateraal transport uitgesloten. Wanneer derhalve de beide stoffen bij deze proef wederom een verschillende activiteit zouden vertoonen, moet dit op rekening van ongelijk basipetaal transport worden geschreven; zou nu echter blijken, dat hun werkzaamheid even groot is, dan moet tijdens de *Avena*-test een lateraal transport van de (—)antipode plaats vinden.



Figuur 5.

Boven: Kromming van *Avena*-coleoptielen, 2 uur na toedienen van (+)- $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur. Concentratie:  $5 \times 10^{-7}$ .

Onder: Idem voor (—)- $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur. Concentratie:  $2 \times 10^{-5}$ .

## B. Methodiek van de meting van de rechte groei.

In de eerste jaren van het groeistofonderzoek was meting van rechte groei een door velen toegepaste methode, die op verschillende manieren werd uitgevoerd. Thimann en Bonner (1933) geven het principe aan, waarvan ook bij dit onderzoek gebruik gemaakt is. Een korte samenvatting ervan, met de wijzigingen erop aangebracht, moge hier volgen.

Kieplanten van haver worden wederom op de gebruikelijke wijze in een donkere kamer van 23° en 92 % vochtigheid gekweekt. Ze kunnen het best voor de proeven worden gebruikt, als zij drie dagen oud zijn; de coleoptielen, die een lengte van ongeveer dertig millimeter hebben, vertoonen dan namelijk volgens Koningsberger (1922) hun maximale groeisnelheid. Na een decapitatie van 3 mm wordt het primaire blad losgetrokken en geheel verwijderd; onmiddellijk daarop worden de stompen voorzien van agaragarblokjes ( $2 \times 2 \times 0,45$  mm), die tevoren in groeistofoplossingen gedrenkt zijn. Een rekje met aldus behandelde planten, geklemd in een zware koperen houder, waarop ook een zinken bakje met

water staat, kan nu zoodanig over een slede heen en weer worden geschoven, dat de planten beurtelings een horizontaal opgesteld microscoop passeeren. Met behulp van een geijkte oculairmicrometer kan, door herhaalde meting, de groeisnelheid worden bepaald. De microscoop is in verticale richting verstelbaar, terwijl de afstand, waarover zulks geschiedt, met een nonius in tienden van millimeters kan worden afgelezen. Dit geeft de mogelijkheid de proeven te kunnen voortzetten, ook al groeien de planten buiten de schaalverdeeling van de micrometer. Het belangrijkste verschil tusschen de hier toegepaste techniek en die van Thimann en Bonner is dus, dat laatstgenoemde auteurs een fotografische registratie van de groei toepasten, terwijl thans microscopische aflezingen worden genoteerd.

### C. Proeven en resultaten.

Bij het onderzoek naar het gedrag van de beide antipoden van  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur maakten wij gebruik van een rekje met 24 planten, waarvan de helft met het (+)zuur, de andere helft met het (—)zuur werd behandeld. De eerste aflezing kon 15 minuten na de decapitatie geschieden; daarna werd ieder kwartier de lengte-toeneming gemeten, totdat de proef 3 uur later afgebroken moest worden wegens uitdrogen van de agarblokjes. Het bleek het nauwkeurigst steeds de plaats van het grensvlak tusschen coleoptiel en agarblokje af te lezen.

Bij iedere proef gebruikten wij steeds dezelfde concentratie van beide zuren en constateerden in alle gevallen een sterkere groei bij de planten, die met de (+)component waren behandeld. Hieruit moet dus worden geconcludeerd, dat inderdaad een verschil in mate van basipetale transporteerbaarheid de oorzaak is van de verschillende activiteit in de *Avena*-test, hetgeen figuur 5 ons reeds suggereerde. De resultaten van de proeven met concentraties  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  en  $10^{-4}$  alsmede met blanco-agar zijn in tabel VI samengevat. Iedere waarde is een gemiddelde van 5 proeven, dus van 60 planten.

Vergelijken we het resultaat van de blanco proef met de waarden, die Thimann en Bonner (1933) vonden voor niet van agar voorziene gedecapiteerde coleoptielen, dan zien we een goede

overeenstemming gedurende de eerste twee uur, tijdens welke we een vertraging van de groei door het verbruiken van de nog aanwezige groeistof waarnemen. Dan treedt echter bij de Amerikaansche onderzoekers een toenemen van de groeisnelheid op tengevolge van regeneratie van groeistof, terwijl deze nu, althans gedurende de eerste drie uren, achterwege blijft. Dit komt omdat bij onze proeven agarblokjes zijn opgezet, die volgens Skoog (1937) regeneratie grootendeels tegengaan. Gorter's (1927) positieve krommingen in de *Avena*-test, welke bij gebruik van blanco agar 2½ uur na de decapitatie optraden, berusten hier eveneens op. De verklaring van het verschijnsel moet waarschijnlijk worden gezocht in het feit, dat acropetaal getransporteerde auxine-precursor in het agarblokje diffundeert en daar niet kan worden geactiveerd.

TABEL VI.

Groeisnelheid van gedecapiteerde *Avena*-coleoptielen (in mm per kwartier) na behandeling met verschillende concentraties (+) en (—)  $\alpha$ -( $\beta$ '-indolyl)-propionzuur of met blanco-agar.

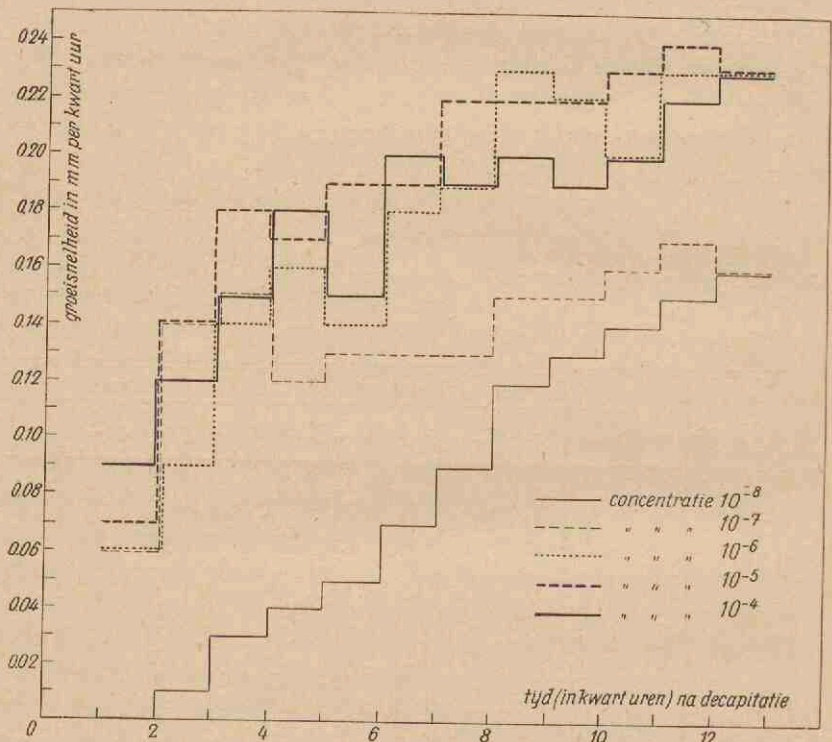
Concentratie	10 <sup>-8</sup>		10 <sup>-7</sup>		10 <sup>-6</sup>		10 <sup>-5</sup>		10 <sup>-4</sup>		0
	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	
2	14	14	21	19	21	17	22	18	24	22	15
3	10	9	23	20	18	14	23	14	21	18	9
4	8	8	20	14	19	13	23	12	20	21	5
5	8	8	16	9	20	13	21	13	22	17	4
6	9	8	17	9	18	10	23	12	19	17	4
7	10	9	16	9	21	9	22	14	23	17	3
8	12	10	16	8	22	11	25	14	21	15	3
9	14	10	17	7	25	11	24	15	21	17	2
10	16	11	18	7	25	12	25	15	21	17	3
11	16	10	18	8	22	11	25	15	22	18	2
12	16	10	18	9	24	11	25	15	23	19	1
13	17	9	17	8	24	11	24	14	24	18	1

Bij het beoordeelen der getallen in tabel VI behoeven we derhalve geen rekening te houden met regeneratie; wel is het noodig de werking van de nog in de stomp aanwezige auxine in mindering te brengen, indien men zich een juist beeld wil vormen van het effect, door de antipoden van onze synthetische groeistof veroor-

zaakt. De aldus gecorrigeerde waarden zijn hier in twee grafische voorstellingen weergegeven (figuur 6 en 7).

#### D. Discussie.

De beteekenis van deze grafieken is aan de hand van de reeds eerder getrokken conclusie, n.l. dat de verschillende activiteit der antipoden berust op een verschil in mate van basipetale transporteerbaarheid, gemakkelijk te verklaren.

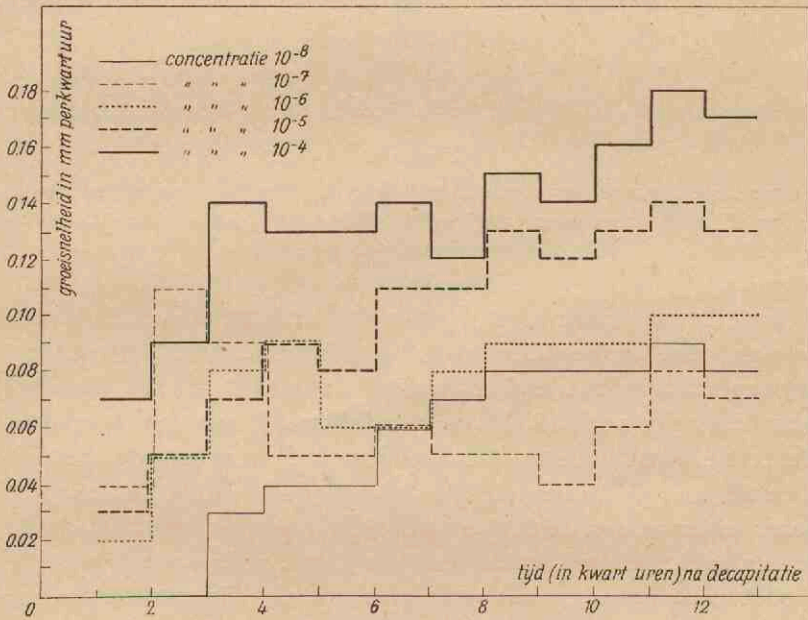


Figuur 6.

Toeneming der groeisnelheid van gedecapiteerde *Avena*-coleoptielen, veroorzaakt door onmiddellijk na de decapitatie opgezette agarblokjes, waarin (+)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur (Gemiddelde van 60 planten).

In physiologische concentraties ( $10^{-6}$  en  $10^{-7}$ ) bereikt het (+)zuur binnen een uur de groeizone, die bij de gebruikte planten volgens Avery en Burkholder (1936) 6 tot 8 mm onder

de top, dus 3—5 mm onder het agarblokje, ligt. Dit gaat gepaard met een sterk toenemen van de groeisnelheid, welke bij verder transport van de groeistof in de richting van de basis nog slechts in geringe mate stijgt. Bij gebruik van hogere concentraties is nauwelijks enig verschil waarneembaar; groeistof is geen beperkende factor meer. Lagere concentraties ( $10^{-8}$ ) brengen een kleinere transportintensiteit, hetgeen zich uit in een langzamer stijging van de groeisnelheid \*).



Figuur 7.

Toeneming der groeisnelheid van gedecapiteerde *Avena*-coleoptielen, veroorzaakt door onmiddellijk na de decapitatie opgezette agarblokjes, waarin (—)  $\alpha$ - $\beta'$ -indolyl-propionzuur (Gemiddelde van 60 planten).

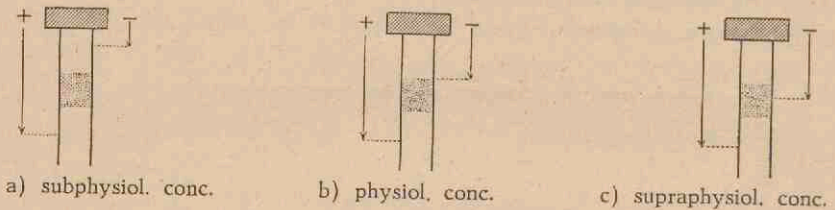
Het (—)zuur bereikt daarentegen de groeizone niet, indien we het in physiologische concentraties toedienen. Het wordt boven in het coleoptiel door asymmetrische reactie geadsorbeerd. Derhalve is de groeiversnelling klein. Terwijl hier verlagings van de concen-

\*) Uit enkele afzonderlijke proeven bleek  $10^{-9}$  bij geen van beide antipoden eenige merkbare activiteit te hebben.



tratie dus geen groote invloed zal hebben, zien we, dat verhooging een duidelijke versnelling van de groei geeft. De groeizone wordt nu wel bereikt. Bij  $10^{-5}$  dringt nog slechts weinig stof door; bij  $10^{-4}$  zooveel, dat reeds gedurende het eerste uur een flink toenemen van de groeisnelheid te zien is.

Schematisch is een en ander in figuur 8 tot uitdrukking gebracht.



Figuur 8.

De groeizone is steeds gepunteerd, terwijl door de pijlen aan weerszijden van het coleoptiel wordt aangegeven, over welke afstand (+) en (—) zuur tijdens de proef worden getransporteerd.

Voor het (+) zuur, dat afgezien van een gering verbruik voor de groeireactie ongehinderd wordt getransporteerd, kunnen de begrippen transportsnelheid en transportintensiteit, zooals die door van der Wey (1932) zijn gedefinieerd, worden toegepast. De eerste grootte is onafhankelijk van de concentratie, hetgeen Went en White (1939) bevestigden. Derhalve zijn de linker pijlen in figuur 8 even lang. De transportintensiteit neemt daarentegen, tot een zeker maximum, toe met de concentratie, zoodat er in geval c en b meer groeistof per tijdseenheid omlaag wordt getransporteerd dan in geval a.

Schijnbaar in tegenspraak met de definities van van der Wey zijn de rechter pijlen ongelijk van lengte. Men bedenke echter dat, wanneer een stof geadsorbeerd wordt, niet de snelheid van ieder molecule afzonderlijk een maat is voor de afstand, waarover deze na een gegeven tijd doorgedrongen zal zijn. Voor een juist begrip diene de volgende vergelijking: Een colonne geniesoldaten marcheert in constant marschtempo van A naar B. Bij iedere telegraafpaal blijft er één staan ter verrichting van reparatiën. Op deze wijze zullen er slechts soldaten in B arriveeren als de colonne meer menschen bevat dan er telegraafpalen langs de weg staan. Hoe

zwakker het contingent, des te verder blijft het van B verwijderd. Toch is de snelheid van iedere soldaat onafhankelijk van de numerieke sterkte van de troep. Zoo is ook in onze *Avena*-coleoptielen de snelheid van elk groeistofmolecule onafhankelijk van de concentratie; de transportintensiteit neemt in basale richting tot nul af en de afstand, waarover zulks geschiedt, wordt met toenemende concentratie grooter.

De „transporteerbaarheid”, welke term we ter vermijding van begripsverwarring invoerden, is het omgekeerde van het verval der transportintensiteit.

We kunnen aan de hand van de genomen proeven niet beoordeelen, of de adsorptie van het (—)zuur het transportmechanisme al dan niet blokkeert. Mocht zulks het geval zijn, dan is het, alsof de achterblijvende soldaten van onze colonne niet rustig hun reparatiewerkzaamheden verrichten, maar de telegraafpalen dwars over de weg laten vallen. Hun makkers kunnen dan niet langs de normale route verder en worden tegengehouden. Wanneer hun aantal groot is, worden ze echter van de weg afgedrongen en bereiken hun doel door de belendende weilanden.

Zoo kan ook voor het geval van een stopzetten van het fysiologisch transportmechanisme verklaard worden, dat de groei-zone bij hooge concentraties toch bereikt wordt. Dit geschiedt dan op een abnormale manier, b.v. door diffusie.

Voor echter op dit probleem in te gaan hebben wij eerst getracht de juistheid der adsorptie-hypothese, waarop onze verklaring der waargenomen verschijnselen voor een goed deel berust, nader te toetsen.

## HOOFDSTUK VII.

### DE JUISTHEID DER ADSORPTIE-HYPOTHESE.

#### A. Inleiding.

We hebben aangenomen, dat de (—)component van  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur slecht door het coleoptielweefsel wordt getransporteerd, omdat het door een reactie met een der asymmetrische bestanddeelen van de cellen wordt vastgehouden. Het lijkt dan het meest waarschijnlijk, dat eiwitten, die vele asymmetrische koolstofatomen bevatten, hiervoor aansprakelijk zijn. Koolhydraten en lipoiden komen echter eveneens in aanmerking. We weten derhalve ook niet, of de betreffende stof uit coleoptielen te extraheeren is, of dat zij deel uitmaakt van de celwanden.

Om moeilijkheden van deze aard te omzeilen hebben we nagegaan, of een brij van coleoptielen in staat is om uit een oplossing van (—) $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur een merkbare hoeveelheid van deze stof te binden.

#### B. Methodiek.

Drie porties van elk 250 coleoptielen (4 dagen oud) werden in een mortier met een weinig kwartszand tot brij gewreven. Aan twee porties werd 5 cm<sup>3</sup> respectievelijk (+) en (—)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur toegevoegd, waarna bij alle drie zooveel water werd gedaan, dat de totale hoeveelheid water inclusief het plantenvocht 50 cm<sup>3</sup> bedroeg. De concentratie is dan 10<sup>-7</sup>. De suspensies werden bij daglicht twee uur aan zichzelf overgelaten en, na zoo goed mogelijk afcentrifugeeren van de brij, werd met de oplossingen een cylindertest uitgevoerd. Eveneens werden met onbehandelde oplossingen van het (+) en (—)zuur (concentratie 10<sup>-7</sup>) en water parallelproeven genomen.

Is onze hypothese juist, dan moet de met brij behandelde (+)zuur-oplossing vrijwel dezelfde activiteit hebben als de contrôle. Het (—)zuur moet daarentegen practisch geheel gebonden zijn door de brij, zoodat de curve voor het behandelde (—)zuur samen zal vallen met die voor water, tenzij het additieproduct weinig stabiel en in water oplosbaar is.

Dat van 250 coleoptielen voldoende effect mag worden verwacht, blijkt uit de volgende berekening:

Uit de *Avena*-test blijkt, dat 3 mm van een coleoptielhelft het (—)zuur uit  $2 \times 2 \times 0,5 = 2 \text{ mm}^3$ , concentratie  $10^{-6}$ , bindt. 250 coleoptielen van 30 mm binden dus de groeistof uit  $250 \times 2 \times 10 \times 2 \text{ mm}^3 = 10 \text{ cm}^3$  van die concentratie. Dit komt overeen met  $100 \text{ cm}^3$  van de concentratie  $10^{-7}$ . Wij gebruikten slechts  $50 \text{ cm}^3$  zoodat volledige adsorptie te verwachten is.

De eerste proeven mislukten door het gebruik van leidingwater voor de extracties en het verdunnen. Waarschijnlijk werken kleine hoeveelheden hierin voorkomend koper toxisch op de test-cylindertjes, welke bijna geen groei vertoonden. Daarom is voor verdere proeven steeds gedestilleerd water gebruikt. Doch ook dan trad in de met brij behandelde oplossingen gisting en bederf op, gepaard met uitvlokking van eiwitten. Deze bezwaren konden niet worden ondervangen door de oplossingen voor de test eenige tijd op  $80^\circ$  te verhitten. Wel ontstond bij die behandeling een neerslag, dat kon worden verwijderd, maar toch bedierven de oplossingen nog tijdens de test.

De methodiek is toen als volgt gewijzigd: Na afcentrifugeeren van de brij werd deze eenige malen uitgewasschen met water. De vereenigde oplossingen werden een half uur op  $80^\circ$  verhit, wederom gecentrifugeerd en daarna uitgaetherd. De aether-extracten moesten worden gedroogd op natriumsulfaat, waarbij ontmenging van ontstane emulsies plaats vond. Vervolgens werden zij in vacuo ingedampt na toevoegen van enkele  $\text{cm}^3$  water. Zoo kregen wij tenslotte van de eventueel uitgaetherde groeistoffen weer waterige oplossingen, welke tot  $50 \text{ cm}^3$  werden aangevuld. Schadelijke stoffen bleken nu te zijn verdwenen. Zij zijn dus onoplosbaar in aether. De toegepaste procedure brengt echter het gevaar mede, dat de aether de gebonden groeistof, indien deze niet met de brij of het

uitgevlakte neerslag is afgecentrifugeerd, weder vrijmaakt en oplost. Deze mogelijkheid moest nader worden beschouwd, indien zou blijken, dat de brij de activiteit van het (—)zuur in de cilindertest niet beïnvloedt.

### C. Proeven en resultaten.

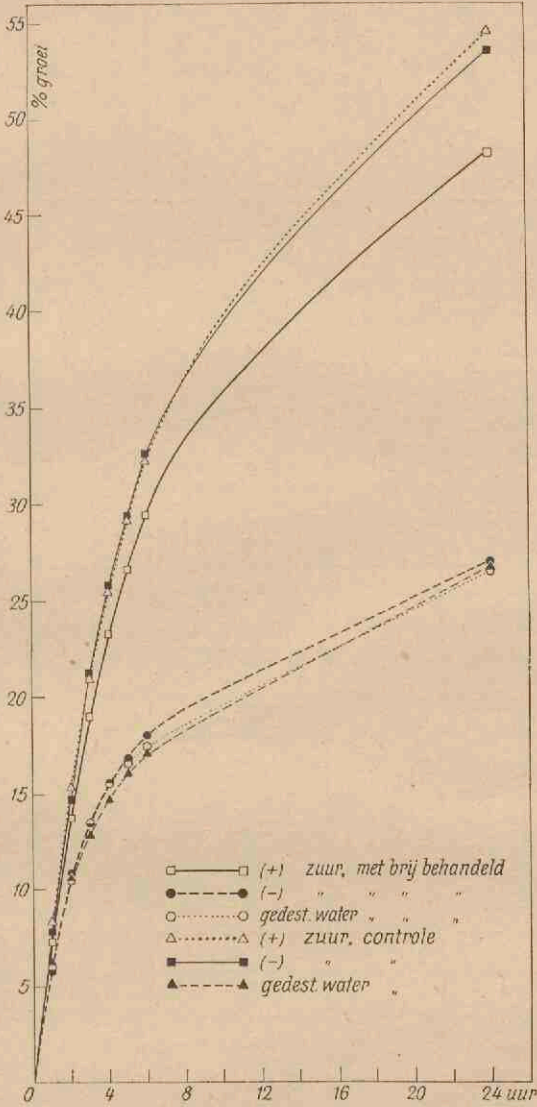
Zes tests zijn uitgevoerd, waarbij de groei van 10 cilindertjes in met coleoptielbrij behandelde en onbehandelde oplossingen (conc.  $10^{-7}$ ) van (+) en (—)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur alsmede in water werd vergeleken. Tabel VII geeft de resultaten van deze proeven, terwijl in figuur 9 de daaruit berekende gemiddelde groei van de cilindertjes na verschillende tijden kan worden afgelezen.

We zien nu in de eerste plaats, dat de twee curven voor gedestilleerd water samenvallen, waaruit volgt, dat de natieve auxine-a uit de coleoptielen geïnactiveerd is of althans in zoo'n kleine concentratie aanwezig is, dat de groeibevorderende werking geen effect sorteert. Verder zien we, dat de activiteit van de (+)antipode door de behandeling slechts in geringe mate beïnvloed wordt, terwijl de (—)antipode, die onbehandeld even actief is als het (+)zuur, na de behandeling een curve geeft, die nauwelijks van die voor gedestilleerd water verschilt.

### D. Discussie.

De conclusie uit deze resultaten is, dat onze hypothese juist was. Het weefsel bevat een component, die wel het (—)zuur vasthoudt, maar het (+)zuur niet of bijna niet. Het lager liggen van de curve voor de behandelde (+)antipode kan n.l. te wijten zijn aan de onmogelijkheid om de brij grondig uit te wasschen.

Wat de aard van de voor het verschijnsel verantwoordelijke asymmetrische weefselcomponent is, is moeilijk uit te maken. Een lipoïde stof lijkt onwaarschijnlijk, nu het aether-extract van de met (—)zuur behandelde brij inactief bleek. Tusschen koolhydraten en eiwitten is geen keuze te maken, terwijl natuurlijk ook nog andere mogelijkheden kunnen bestaan.



Figuur 9.

Groei-tijd curven van *Avena*-coleoptielcylindertjes ( $1\frac{1}{2}$  mm lang,  $6-7\frac{1}{2}$  mm van de top gesneden) in oplossingen van (+) en (-)  $\alpha$ -( $\beta$ '-indolyl)propionzuur (concentratie  $10^{-7}$ ), al dan niet behandeld met brij van 250 *Avena*-coleoptielen (Gemiddelde van 60 cylindertjes).

TABEL VII.

Gemiddelde groei (in procenten) van tien coleoptielcylindertes in (+) en (—)  $\alpha$ - $\beta$ -indolyl<sup>1)</sup>propionzuur en water benevens in deze stoffen na behandeling met coleoptielbrif, Concentrate der grootstofoplossingen: 10—1.

Tijd na begin der proef in uren	1				2				3																											
	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—																
Medium	beh.				beh.				beh.				beh.																							
Experiment No. 1	8,9	9,0	8,0	5,5	7,0	6,2	13,4	16,6	15,2	10,3	11,3	12,0	19,8	23,1	22,5	12,8	14,2	14,2	14,9	19,8	23,1	22,5	12,8	14,2	14,9											
" 2	7,3	6,5	8,1	5,0	5,8	4,5	15,2	13,5	15,5	9,6	10,3	8,3	21,7	18,4	22,9	12,5	12,4	11,7	21,7	18,4	22,9	12,5	12,4	11,7	21,7	18,4										
" 3	8,2	8,0	8,2	5,7	5,7	5,7	16,0	15,0	15,1	11,5	9,1	9,1	21,0	20,0	21,6	13,8	10,3	11,5	21,0	20,0	21,6	13,8	10,3	11,5	21,0	20,0										
" 4	7,6	6,8	7,0	5,4	5,0	7,5	15,8	13,8	13,9	12,0	9,8	13,0	21,6	19,8	20,5	16,6	12,4	17,1	23,9	17,7	22,0	12,8	12,4	14,4	23,9	17,7										
" 5	10,5	7,9	9,0	7,2	6,7	6,1	17,5	13,2	16,4	11,4	11,1	10,0	23,9	17,7	22,0	12,8	12,8	12,4	23,9	17,7	22,0	12,8	12,4	14,4	23,9	17,7										
" 6	7,5	5,8	6,6	5,2	6,2	5,5	13,9	10,9	12,8	9,1	11,9	11,3	18,1	14,8	19,0	11,7	15,0	14,9	18,1	14,8	19,0	11,7	15,0	14,9	18,1	14,8										
Tijd na begin der proef in uren	4																				6				24											
Medium	+	+	—	—	W	W	+	+	—	—	W	W	+	+	—	—	W	W	+	+	—	—	W	W	+	+	—	—	W	W						
Experiment No. 1	25,6		28,8		28,0		14,0		15,9		16,6		36,4		39,8		37,2		16,6		18,0		18,8		71,3		66,2		66,8		31,1		33,7		34,2	
" 2	25,7		22,0		25,7		14,6		15,4		13,6		32,4		28,2		32,1		16,9		17,3		15,5		52,1		45,4		51,3		24,0		26,0		23,1	
" 3	24,9		22,4		24,1		15,3		12,4		13,4		30,6		27,0		30,0		17,6		15,0		16,1		47,7		39,5		47,0		24,6		24,3		24,2	
" 4	26,4		25,0		26,3		20,3		14,6		20,0		33,9		32,5		34,8		24,6		17,2		22,2		53,6		51,8		54,4		34,5		25,7		28,7	
" 5	28,2		22,2		26,1		14,0		13,4		12,3		32,8		26,8		30,6		15,6		14,8		13,8		53,6		46,1		51,6		23,0		24,6		23,6	
" 6	22,0		18,6		23,9		14,0		17,1		16,1		27,2		23,0		30,6		17,0		19,8		18,1		46,1		41,2		49,6		23,7		25,6		25,2	

## HOOFDSTUK VIII.

### BLOKKEERT (—) $\alpha$ -( $\beta'$ -INDOLYL)PROPIONZUUR HET TRANSPORTMECHANISME ?

#### A. Inleiding.

Deze vraag, welke wij reeds in de voorafgaande beschouwingen aanroerden, kon op grond van de tot dusver beschreven proeven nog niet worden beantwoord. Toen gebleken was, dat (—)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur inderdaad boven in het *Avena*-coleoptiel wordt vastgehouden, hebben we getracht vast te stellen, of zulks gepaard gaat met een beschadiging of blokkeering van het physiologisch transportmechanisme. Is dit het geval, dan zal een goed transporteerbare groeistof, in physiologische concentratie toegediend, niet in staat zijn de groeizone te bereiken in een coleoptiel, dat eerst voorzien is van (—)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur. Op deze gevolgtrekking hebben we onze experimenten gebaseerd.

Kiemplantjes van haver kweekten we zooals dat voor de standaardtest te doen gebruikelijk is; toen ze ongeveer 90 uur oud waren, werden zij gedecapiteerd, waarna de primaire bladeren geheel werden uitgetrokken. Deze bewaarden we in een Petri-schaal op vochtig filtreerpapier, waar zij zoodanig in rijen van twaalf werden gerangschikt, dat hun volgorde correspondeerde met die van de kiemplantjes, waaruit zij afkomstig waren. Anderhalf uur na de eerste decapitatie volgde een tweede, waarna wij onmiddellijk agarblokjes met (—)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur plat op de stompen legden, zoodat het coleoptiel deze stof alzijdig toegediend kreeg. Parallels series werden voorzien van agarblokjes met de (+) antipode of van blanco agar. Twee uur na deze behandeling zijn de blokjes verwijderd en de primaire bladeren weer voorzichtig in de bijbehorende coleoptielcilinders geschoven. Dan werden



nieuwe agarblokjes met een goed transporteerbare groeistof, waarvoor we  $\beta$ -indolylazijnzuur en (+)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur kozen, eenzijdig opgezet. Wederom twee uur later werden de planten gefotografeerd.

Welke resultaten kunnen nu worden verwacht?

Indien het transportmechanisme door de voorbehandeling met (—)zuur ongunstig wordt beïnvloed, zal vervolgens toegediende hetero-auxine of (+)zuur in physiologische concentratie niet of minder goed worden getransporteerd. De coleoptielen zullen dan niet krommen of minder krommen dan de contrôles, die een voorbehandeling met (+)zuur hebben ondergaan, mits dit in dezelfde verdunning is toegediend als het (—)zuur.

Wordt het transportmechanisme daarentegen door (—)zuur niet aangetast, dan zullen de krommingen onafhankelijk van de voorbehandeling zijn. Eventueel kan zelfs de voorbehandeling met (+)zuur tot een kleinere kromming aanleiding geven, daar het mogelijk is, dat de planten, wanneer een zekere hoeveelheid groeistof over het geheele coleoptiel verdeeld is en zich dus ook in de groeizone bevindt, ongevoeliger zijn dan wanneer evenveel groeistof in de uiterste top gebonden is.

De eerste veronderstelling brengt tevens mede, dat, indien planten, die met (—)zuur voorbehandeld zijn, krommen, hun krommingen veel geringer moeten zijn dan die van planten, welke een voorbehandeling met blanco agar ondergingen. Is echter de tweede veronderstelling juist, dan zal dat verschil slechts klein mogen zijn en geweten moeten worden aan een grotere gevoeligheid van planten, die minder groeistof bevatten.

## B. Proeven en resultaten.

In tabel VIII vindt men de resultaten van proeven, waarbij de groeistoffen zoowel voor de alzijdige toevoer van de voorbehandeling, als voor de eenzijdige toevoer van de nabehandeling in een concentratie van 0,1 mg per liter ( $10^{-7}$ ) werden gebruikt.

We kunnen uit deze tabel concluderen, dat de voorbehandeling geen invloed heeft gehad op de werking van de daarna toegediende groeistof. Hieruit volgt, dat het binden van het (—)zuur door weefselbestanddeelen boven in het coleoptiel niet gepaard gaat met een blokkeering of een beschadiging van het transportmechanisme.

Het verschijnsel, dat aan (—)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur eigen is, heeft dus geen algemeene beteekenis. Tevens toont de tabel, dat een alzijdige groeistoefoevoer in een concentratie  $10^{-7}$  geen merkbare invloed heeft op de gevoeligheid van de coleoptielen; immers de kromming na voorbehandeling met blanco agar is niet grooter dan na de voorbehandeling met groeistof. Tenslotte willen wij nog opmerken, dat ook hier weer tot uitdrukking komt, dat (+)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur een dubbel zoo groote groeibevorderende werking heeft als  $\beta$ -indolylazijnzuur.

TABEL VIII.

Voorbehandeling	+	—	Blanco	+	—	Blanco
Nabehandeling	+	+	+	H.A.	H.A.	H.A.
Datum	Gemiddelde kromming van 12 col. in graden					
25 November. .	5,4	6,5	—	—	—	0
27 November. .	8,0	5,8	6,5	—	—	4,4
27 November. .	8,8	7,0	8,5	—	—	2,8
28 November. .	7,0	7,3	7,6	—	—	—
28 November. .	6,0	6,9	6,1	—	—	5,2
1 December. .	8,2	8,4	8,1	2,3	5,7	5,6
2 December. .	8,8	6,7	5,3	2,9	5,6	4,2
2 December. .	—	—	—	4,4	1,9	4,5
Gemiddelde. . .	7,5	7,0	7,1	3,2	4,4	3,7

Eén tegenwerping zou nog tegen onze conclusies kunnen worden gemaakt, n.l. dat de concentratie van het (—) zuur bij de voorbehandeling te klein is om een effectieve blokkade te verkrijgen. Derhalve hebben we dezelfde proeven herhaald bij gebruik van een 10 maal zoo groote groeistofconcentratie ( $10^{-6}$ ) voor de alzijdige toevoer. Tabel IX toont hiervan het resultaat.

De waarden van deze tabel zijn minder nauwkeurig dan die van tabel VIII, omdat bij de alzijdige toevoer van deze hooge concentratie een minder goed contact tusschen coleoptiel en agar-agar op een punt aanleiding tot een aanzienlijke kromming kan geven.

TABEL IX.

Voorbehandeling. . .	+	—	Blanco
Nabehandeling. . .	+	+	+
Datum	Gemiddelde kromming van 12 coleoptielen in graden		
28 November . . .	—	7,1	4,3
28 November . . .	6,0	6,9	4,5
1 December . . .	5,5	5,0	10,5
1 December . . .	4,9	5,3	10,3
2 December . . .	4,5	5,3	9,6
Gemiddeld . . . .	5,2	5,9	7,8

Desalniettemin kunnen we concludeeren, dat ook nu het (—)zuur geen invloed heeft op het transportmechanisme, omdat de voorbehandeling met (—) en (+)zuur tot vrijwel gelijke krommingen leidt. Het is natuurlijk niet te verwonderen, dat, nu zooveel groeistof alzijdig toegevoerd is, de planten, waarbij zulks geschied is, minder gevoelig zijn dan de blanco contrôles. Als het verschil tusschen de waarden 5,2 en 5,9 in de beide eerste kolommen van tabel IX reëel is, kan dit op analoge wijze worden verklaard. Zooals reeds uiteengezet is, moet dan worden aangenomen, dat die planten in de test het gevoeligst zijn, die speciaal in de groeizone het armst aan groeistof zijn.

Tenslotte zijn nog enkele proeven genomen, waarbij voor de nabehandeling auxine-a gebruikt werd; hiertoe hadden we de beschikking over een uit urine bereid praeparaat van een sterkte van ongeveer 4 miljoen AE per mg. Uit deze experimenten bleek, dat ook auxine-a bij het transport geen hinder ondervindt van vooraf toegediend (—)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur.

## HOOFDSTUK IX.

### WORTELVORMING.

#### A. Inleiding.

In verband met de resultaten, ten aanzien van de groei-bevorderende werking verkregen, kwam het ons interessant voor tevens na te gaan of de antipoden van  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur een verschillende dan wel een even groote wortelvormende activiteit vertoonen.

Het is immers door de onderzoeken van Thimann en Went (1934), Kögl (1935), Thimann en Koepfli (1935), Thimann (1935) en Haagen Smit en Went (1935) komen vast te staan, dat vrijwel alle stoffen, die als groeistof werkzaam zijn, tevens wortelvormende eigenschappen bezitten en dat het z.g. rhizocaline van Bouillenne en Went (1939) identiek is met natuurlijk auxine. Later heeft Went (1938) waarschijnlijk gemaakt, dat nog andere specifieke factoren de wortelvorming beïnvloeden, terwijl hij (1939), mede op grond van proeven van Cooper (1936, 1938), de groeistoffen gaat beschouwen als regulatoren en activatoren van het eigenlijke phytohormoon van de wortelvorming, waarvoor hij wederom de naam rhizocaline kiest. Het zou te ver voeren hier nader op deze hypothese in te gaan, temeer daar zij geen verband houdt met hetgeen volgt.

De eenige quantitatief uitgewerkte methode, die de litteratuur voor het bepalen van de wortelvormende werking oplevert, is de erwtentest van Went (1934).

Hierbij wordt aan stekken van geëtiolerde kiemplantjes van *Pisum sativum* groeistof apicaal toegediend. Vervolgens worden de stekken met hun basis eerst een week in saccharose-oplossing en

dan een week in water geplaatst. Na afloop van deze periode worden de wortels, die zich aan het basale einde gevormd hebben, geteld. Het best geschiedt dit in dwarscoupes van de stengels, daar, speciaal bij gebruik van hooge groeistofconcentraties, niet alle wortelbeginsels tot uitwendig zichtbare wortels uitgroeien. Het aantal gevormde wortels per stek blijkt nu, binnen zekere grenzen, evenredig te zijn met de gebezigde groeistofconcentratie. Voor  $\beta$ -indolylazijnzuur bestaat deze proportionaliteit bij oplossingen sterker verdund dan 0,05 %.

Terwijl dus tijdens de hier weergegeven uitvoering van de erwtentest een polair basipetaal groeistoftransport optreedt, is het bij gebruik van  $\pm 100$  maal sterkere oplossingen mogelijk gebleken wortelvorming te verkrijgen op de plaats van toedienen (Went, 1936). Zoo verkreeg Thimann (1935) dan ook wel wortelvorming aan de basis bij basaal toedienen van  $\beta$ -indeny-lazijnzuur, welke stof in de erwtentest onwerkzaam is wegens zijn geringe transportsnelheid.

Daar nu, door de in de vorige hoofdstukken beschreven proeven, is komen vast te staan, dat de verschillende activiteit van (+) en (—)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur in de *Avena*-test wordt veroorzaakt, doordat eerstgenoemde stof beter wordt getransporteerd, verwachten wij een sterkere wortelvormende activiteit van het (+)zuur bij apicale en een gelijke werkzaamheid der beide stoffen bij basale behandeling der testplanten. Immers in het eerste geval zal transport plaats moeten vinden; in het tweede geval is zulks niet noodig.

Het is echter niet mogelijk geweest deze veronderstelling proefondervindelijk te toetsen. De stekken der *Pisum*-soorten, die als testmateriaal dienst moesten doen, beschimmelden of verrotten reeds op de vierde of vijfde proefdag, hoewel alle voorzorgen werden genomen om infectie tegen te gaan. Steriliseeren van oplossingen en glaswerk, noch ontsmetten der erwten leverden resultaat op, zoodat van de erwt als testobject moest worden afgezien. Experimenten met *Lupinus albus*, die hoopvoller perspectieven openden, konden nog niet worden uitgevoerd, wegens vertraging van de aanvoer der zaden uit Frankrijk.

Aangezien de wortelvormende werking van basaal toegediende groeistoffen door land- en tuinbouwkundigen tegenwoordig veelvuldig in praktijk wordt gebracht voor de beworteling van stekken

van velerlei planten, hebben we in de betreffende publicaties naar een andere testplant omgezien. Hoewel we nergens een quantitatief uitgewerkte test vinden, omdat de praktijk zich met kwalitatieve en semi-quantitatieve methoden tevreden stelt, zijn er enkele opgaven, waaruit blijkt, dat ook bij gebruik van groene planten een evenredigheid bestaat tusschen het aantal gevormde wortels en de gebezigde groeistofconcentratie. De totale lengte der wortels is hiervan echter onafhankelijk. Van der Lek en Krijthe (1940) vinden dit b.v. voor *Tsuga heterophylla* en *Bougainvillea glabra*, behandeld met indolylazijnzuur. Deze planten zijn als testobject niet wel bruikbaar, doordat ze moeilijk in groote hoeveelheid te kweken zijn en de test er mede eenige maanden duurt.

We hebben bij het onderhavige onderzoek onze toevlucht genomen tot de tomatentest van Hitchcock en Zimmermann (1938). Deze test is weliswaar, evenmin als de van tabaksplanten gebruik makende test van Hitchcock (1935), met een voldoende variatie van de groeistofconcentratie uitgevoerd om zeker te zijn van een evenredig verband tusschen het aantal gevormde wortels en de sterkte van de gebruikte groeistofoplossingen, maar biedt anderzijds verschillende voordeelen. De korte proefduur en het gemakkelijk verkrijgen van voldoende materiaal zijn hiervan de belangrijkste. We hebben getracht bovengenoemde onzekerheid zoo goed mogelijk uit onze resultaten te elimineeren door de experimenten met een groot aantal tomatenbladeren uit te voeren. Dit moet noodzakelijk worden geacht met het oog op de grootere variabiliteit van dit soort materiaal, vergeleken met onder standaardcondities gekweekte planten. Het is in dit verband jammer, dat Hitchcock en Zimmermann nergens aangeven op hoeveel waarnemingen hun resultaten zijn gebaseerd.

Daar zij evenmin een volledige beschrijving van hun techniek geven, volgt hier de methode, zooals die bij onze proeven is toegepast.

## B. Methodiek.

Tomatenplanten (*Lycopersicum esculentum*) werden gedurende de zomer gekweekt in een onverwarmde broeikas. Voor de test werden bladeren van 20—30 cm lengte geheel onder aan de blad-

steel afgeknipt. Dit zijn de jongste stevige bladeren boven aan de planten. Onmiddellijk na het afknippen werd het bladoppervlak gereduceerd door verwijdering van het apicale einde van de bladsteel met drie blaadjes. De andere blaadjes werden loodrecht op de middennerf gehalveerd. De aldus behandelde stekken zijn steeds direct bij vier stuks tezamen in erlenmeyers van 50 cm<sup>3</sup> inhoud, die met 30 cm<sup>3</sup> groeistofoplossing gevuld waren, geplaatst. De erlenmeyers werden dan in een zinken bak gezet, welke met glazen platen afgedekt was. Na 24 uur werd de groeistofoplossing vervangen door leidingwater, terwijl de opstelling verder ongewijzigd bleef. De geheele proef vond plaats in de broeikas. Indien men zorg draagt, dat de bodem van de zinken bak steeds met een dun laagje water bedekt is en tusschen de glazen platen openingen van ½ cm blijven, treedt geen verwelken van de bladeren op, tenzij de proeven op bijzonder warme dagen plaats vinden.

Bij oriënterend werk bleek, dat het aantal zichtbare wortels tot de negende dag na het begin van de proef toenam en daarna niet meer veranderde. Derhalve zijn de tellingen steeds op de negende dag verricht. Aan de onbehandelde contrôles vertoonden de wortels zich het eerst en werden het langst.

Hoe grooter de gebruikte groeistofconcentratie was, des te korter bleven de wortels; dit is in overeenstemming met de resultaten van van der Lek en Krijthe (1940) bij verschillende houtige stekken en van Went (1938) bij *Pisum*-kiemplanten. Laatstgenoemde auteur schrijft dit toe aan de remmende werking van groeistoffen op de lengtegroei van wortels.

### C. Proeven en resultaten.

De experimenten werden 's zomers uitgevoerd in een periode van voortdurend bedekte lucht. Iedere proefdag werden gelijke aantallen stekken met (+) en (—)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur behandeld. Afhankelijk van het aantal beschikbare bladeren werden per dag een of meer concentraties getest. Over de geheele periode zijn de concentraties gevarieerd tusschen 10<sup>-4</sup> en 10<sup>-8</sup>, terwijl naast iedere proef contrôles van onbehandelde en met hetero-auxine behandelde stekken werden aangezet. De gedetailleerde resultaten vindt men in tabel X opgenomen.

TABEL X.

Concentratie	Datum	Aantal stekken	Totaal aantal gevormde wortels in			
			(+) zuur	(-) zuur	hetero- auxine	water
$10^{-4}$	11 Juli	4	0	0	50	10
$5.10^{-5}$	23 Juli	4	0	0	40	0
$10^{-5}$	9 Juli	4	149	15	3	8
	11	4	110	0	5	10
	14	4	53	8	47	0
	18	8	158	0	25	18
	25	4	23	0	27	5
$5.10^{-6}$	15 Juli	12	173	21	3	0
	17	12	111	19	8	0
	24	8	35	2	29	1
	25	4	58	0	58	5
$2.10^{-6}$	9 Juli	4	73	20	5	8
	24	4	129	77	18	1
	25	4	92	0	2	5
	29	4	44	6	9	1
$10^{-6}$	9 Juli	4	29	37	22	8
	11	4	85	77	11	10
	14	8	77	42	101	0
	22	4	56	4	7	0
	29	4	70	2	1	1
$5.10^{-7}$	28 Juli	12	111	45	35	12
$2.10^{-7}$	28 Juli	12	63	23	21	2
		4	51	6	6	1
$10^{-7}$	22 Juli	4	27	4	1	0
	28	12	31	14	7	4
	30	4	13	8	6	1
$10^{-8}$	29 Juli	12	3	2	2	2



In tabel XI zijn de op verschillende data verkregen waarden gecombineerd en is voor elke concentratie het gemiddelde aantal wortels per stek berekend.

TABEL XI.

Concentratie	Aantal stekken waaruit gemiddeld	Gemiddeld aantal wortels per stek bij behandeling met			
		(+) zuur	(-) zuur	hetero-auxine	water
$10^{-4}$	4	—	—	12	2
$5.10^{-5}$	4	—	—	10	0
$10^{-5}$	24	21	1	4	2
$5.10^{-6}$	36	11	1	3	0
$2.10^{-6}$	16	21	6	2	1
$10^{-6}$	24	13	7	6	1
$5.10^{-7}$	12	9	4	3	1
$2.10^{-7}$	16	7	2	2	0
$10^{-7}$	20	4	1	1	0
$10^{-8}$	12	0	0	0	0

Met de twee sterkste concentraties is slechts eenmaal gewerkt, omdat deze een toxische werking hebben. De bladstelen rotten dan geheel weg, wanneer ze met  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur werden behandeld, terwijl hetero-auxine nog onschadelijk is. Verder ziet men uit de tabellen X en XI, dat, tegen de verwachting, (+) en (—)zuur een ongelijke activiteit vertoonen. Volgens tabel XI zou eerstgenoemde stof 5 maal zoo actief zijn als de tweede. Indien men echter de variaties tusschen de afzonderlijke proeven in tabel X beziet, is het geenszins uitgesloten, dat ook hier het (+)zuur de dertigvoudige activiteit van de (—)antipode heeft, temeer daar soms vrijwel alle wortels aan slechts een of twee van de vier stekken in eenzelfde erlenmeyer ontstaan waren. Dit was speciaal daar, waar het (—)zuur veel wortels gevormd had, n.l. op 11 Juli bij concentratie  $10^{-6}$  en op 24 Juli bij concentratie  $2.10^{-6}$ .

#### D. Discussie.

Dat het gevonden verschil tusschen de beide antipoden toegeschreven moet worden aan een ongelijke wortelvormende werking is onwaarschijnlijk. Immers tot dusver is steeds gevonden, dat, bij

uitsluiting van transportverschillen, groeibevorderende en wortelvormende activiteit bij verschillende verbindingen evenredig zijn. Bovendien weten we uit het voorafgaande, dat de groeibevorderende werking van de twee stoffen gelijk is.

Nu waren de met (+)  $\alpha$ -( $\beta'$ -indolyl)propionzuur behandelde stekken, wanneer de oplossingen sterker dan  $2 \cdot 10^{-7}$  waren, over een afstand van 5—8 cm beworteld, terwijl de met (—)zuur voorziene bladeren (behoudens de twee genoemde uitzonderingen), evenals die met hetero-auxine, slechts aan de onderste centimeter wortels kregen. We mogen echter niet zeggen, dat dus ook hier hetzelfde verschil in mate van transporteerbaarheid een rol speelt als bij de groeiproeven met *Avena*-coleoptielen. Door Went en White (1939) is n.l. wederom bevestigd, dat in laatstgenoemde geval het transport strict polair basipetaal is, zoals van der Wey (1932, 1934) dit reeds eerder had gevonden.

Een en ander blijkt moeilijk verklaarbaar; grootere bekendheid met het mechanisme der wortelvorming in het algemeen en bij groene stekken in het bijzonder zal in de toekomst mogelijk opheldering brengen. Thans kunnen we slechts een speculatieve hypothese geven: Beide antipoden worden in de transpiratiestroom van de groene stek omhoog gevoerd. In de vaatbundels zal de concentratie van beide stoffen op gelijke hoogte even groot zijn. Op hun weg van de vaatbundels naar de pericykel, waar zij hun werking uitoefenen, wordt het (—)zuur door asymmetrische reactie sterker gebonden dan het (+)zuur, waardoor het laatste actiever schijnt. Terwijl het aantal gevormde wortels onderaan de stek, waar ook groeistof door de epidermis en door het snijvlak naar de pericykel diffundeert, in beide gevallen vrijwel gelijk is, kan het (+)zuur daarenboven nog wortels hoger aan de stengel vormen.

## SUMMARY.

It has been investigated why (+)indole-3-2'-propionic acid has an activity in the *Avena* test, thirty times stronger than its (—)antipode.

The actual growth promoting activity was measured and proved to be equal for both compounds.

On the contrary a difference in basipetal transport was found.

This has to be ascribed to an adsorption of the (—)acid by an asymmetrical reaction with a cell-constituent, possibly a protein, in the upper zones of the coleoptile, because it proved possible to inactivate solutions of the acid by means of crushed *Avena* coleoptiles. Neither the (+)acid nor hetero-auxin can be inactivated in the same way.

The adsorbed (—)indole-3-2'-propionic acid does not interfere with the mechanism of transport for other growth substances.

The adsorption, mentioned above can fully explain the different behaviour of the two antipodes in the *Avena*-test.

As transport velocity and transport intensity, as defined by van der Wey, cannot describe the differences in transport discovered here, a new term: "transportability" was introduced.

Attention has also been paid to the root forming activity of the optical antipodes. A difference of the same order of magnitude as found in the *Avena*-test was discovered. Only a highly speculative explanation of this phenomenon can be given.

---

## LITTERATUUROVERZICHT.

- Avery, G. S. en P. R. Burkholder (1936), Bull. Torrey Bot. Club **63**, 1.  
Blaauw, A. H. (1918), Med. Landbouwhoogeschool **15**, 89.  
Bonner, J. (1933), J. gen. Physiol. **17**, 63.  
Bouillenne, R. en F. W. Went (1939), Ann. Jard. bot. Buitenzorg **43**, 25.  
Boysen Jensen, P. (1928), Planta **5**, 464.  
—, G. S. Avery Jr. en P. R. Burkholder (1936), Growth Hormones in Plants. New York.  
Brauner, L. (1922), Zeitschr. f. Bot. **14**, 540.  
Bruins, H. R. (1922), Diss. Utrecht.  
Buder, J. (1932), Beitr. Biol. Pflanzen **19**, 420.  
Bünning, E. (1937), Planta **26**, 719 en Planta **27**, 148.  
—, (1939), Die Physiologie des Wachstums und der Bewegungen. Berlin.  
Buy, H. G. du (1939), Rec. trav. bot. néerl. **30**, 798.  
Castle, E. S. (1931), J. gen. Physiol. **14**, 701.  
—, (1935), Cold Spring Harbor Symp. **3**, 224.  
Cooper, W. C. (1936), Plant Physiol. **11**, 779.  
—, (1938), Bot. Gaz. **99**, 599.  
Gorter, C. J. (1927), Proc. Kon. Akad. Wet. Amsterdam **30**, 728.  
Guttenberg, H. von (1932—1940), Wachstum und Bewegung. Fortschritte der Botanik I—IX.  
—, (1939), Fortschritte der Botanik VIII, 280.  
Haagen Smit, A. J. en F. W. Went (1935), Proc. Kon. Akad. Wet. Amsterdam **38**, 852.  
Heyn, A. N. J. (1935), Proc. Kon. Akad. Wet. Amsterdam **38**, 1074.  
Hitchcock, A. E. (1935), Contrib. Boyce Thompson Inst. **7**, 87.  
— en P. W. Zimmermann (1938), Contrib. Boyce Thompson Inst. **9**, 463.  
Kawalki, W. (1894), Ann. Phys. und Chem. **52**, 166.  
Koch, K. (1934), Planta **22**, 190.  
Kögl, F. (1935), Ber. deut. Chem. Ges. **68**, 16.  
—, (1936), Voordracht aan de Technische Hoogeschool te München op 5 December.  
—, (1937), Naturwiss. **25**, 465.  
— en H. Erxleben (1934), H. Sey. Z. Physiol. Chem. **227**, 51.  
— en —, (1935), H. Sey. Z. Physiol. Chem. **235**, 181.  
—, — en A. J. Haagen Smit (1934), H. Sey. Z. Physiol. Chem. **225**, 215.

- , A. J. Haagen Smit en H. Erxleben (1932), *H. Sey. Z. Physiol. Chem.* **214**, 241.
- , — en — (1934), *H. Sey. Physiol. Chem.* **228**, 104.
- , C. Koningsberger en H. Erxleben (1936), *H. Sey. Z. Physiol. Chem.* **244**, 266.
- en D. G. F. R. Kostermans (1934), *H. Sey. Physiol. Chem.* **228**, 113.
- Koningsberger, C. (1936), *Diss. Utrecht.*
- Koningsberger, V. J. (1922), *Rec. trav. bot. néerl.* **12**, 1.
- en B. Verkaaik (1938), *Rec. trav. bot. néerl.* **35**, 1.
- Kuhn, R. en E. Lederer (1931), *Ber. deut. chem. Ges.* **64**, 1349.
- Laibach, F. (1932), *Ber. deut. bot. Ges.* **50**, 383.
- , (1938), *Ber. deut. bot. Ges.* **56**, 280.
- Lek, H. A. A. van der en E. Krijthe (1940), *Med. Landbouwhoogeschool* **44**, Verh. 7.
- Majima, R. en T. Hoshino (1925), *Ber. deut. chem. Ges.* **58**, 2044.
- Öholm, L. W. (1912), *Meddel. fra. Vet. Acad. Nobelinstit.* **2**, No. 3.
- Oppenoorth, W. F. F. (1939), *Proc. Kon. Akad. Wet. Amsterdam* **42**, 902.
- , (1941), *Rec. trav. bot. néerl.* **38**, 287.
- Overbeek, J. van (1939), *Bot. Rev.* **5**, 655.
- , (1939), *Rec. trav. bot. néerl.* **30**, 537.
- Santen, A. M. A. van (1938), *Proc. Kon. Akad. Wet. Amsterdam* **41**, 513.
- , (1940), *Diss. Utrecht.*
- Schopfer, W. H. (1935), *C. r. Soc. Biol. Paris* **118**, 3.
- Schuringa, G. J. (1941), *Diss. Utrecht.*
- Skoog, F. (1937), *J. gen. Physiol.* **20**, 311.
- Stefan, M. J. (1879), *Sitzungsber. Akad. Wien* **79**, 161.
- Stewart, W. S. en F. W. Went (1939), *Bot. Gaz.* **101**, 706.
- Thimann, K. V. (1935), *Proc. Kon. Akad. Wet. Amsterdam* **38**, 896.
- en J. Bonner (1933), *Proc. Roy. Soc. London B.* **133**, 126.
- en J. B. Koepfli (1935), *Nature* **135**, 101.
- en F. W. Went (1934), *Proc. Kon. Akad. Wet. Amsterdam* **37**, 456.
- Wald, G. en H. G. du Buy (1936), *Science* **84**, 247.
- Went, F. W. (1928), *Rec. trav. bot. néerl.* **25**, 1.
- , (1934), *Proc. Kon. Akad. Wet. Amsterdam* **37**, 445.
- , (1936), *Biol. Zentralbl.* **56**, 449.
- , (1938), *Plant Physiol.* **13**, 55.
- , (1939), *Am. J. Bot.* **26**, 24.
- en K. V. Thimann (1937), *Phytohormones*. New York.
- en R. White (1939), *Bot. Gaz.* **100**, 465.
- Wey, H. G. van der (1932), *Rec. trav. bot. néerl.* **29**, 379.
- , (1934), *Rec. trav. bot. néerl.* **31**, 810.
- Zimmermann, P. W. en W. Wilcoxon (1935), *Contrib. Boyce Thompson Inst.* **7**, 209.

## STELLINGEN

### I

De door van Overbeek gegeven verklaring voor de phototropische gevoeligheid van *Phycomyces* is onjuist.

J. van Overbeek, Bot. Rev. 5, 676 (1939).

### II

Reductie door zinkstofdestillatie van di-substitutieproducten van phenol geeft niet altijd een betrouwbare aanwijzing omtrent de plaats der substituenten ten opzichte van elkaar.

A. Lüttringhaus en G. von Säaf, B. 72, 2026 (1939).

### III

Uit de proeven van Avery en medewerkers moet de conclusie worden getrokken, dat auxine in verschillende toestanden in de cel voorkomt.

G. S. Avery, H. B. Creighton en B. Shalucha, Am. J. Bot. 27, 289 (1940).

### IV

Het is aan twijfel onderhevig, of Kuhn en Morris vitamine-A uit  $\beta$ -ionylideen-acetaldehyde hebben gesynthetiseerd.

R. Kuhn en C. J. O. R. Morris, B. 70, 853 (1937).  
P. Karrer en A. Rügger, Helv. 23, 284 (1940).

### V

Voor het onderzoek naar het verband tusschen deeltjesgrootte en concentratie bij AgJ-solen is een andere reeks oplossingen noodig, dan Hermann heeft gebruikt.

F. J. Hermann, Diss. Utrecht (1938).

## VI

De beteekenis van het door Warburg en Negelein bepaalde quantenrendement van de  $\text{CO}_2$ -assimilatie is door onderzoekingen van Emerson en Lewis aanvechtbaar geworden.

R. Emerson en C. M. Lewis, *Am. J. Bot.* 26, 808 (1939).

## VII

De onderzoekingen van Mall en Bersin pleiten voor de opvatting, dat bij lijdens aan schizofrenie geen organische afwijkingen optreden.

G. Mall en Th. Bersin, *H.S.* 268, 129 (1941).

---









U  
1