



De jongste toestanden der vacuolen

<https://hdl.handle.net/1874/9887>

Diss Amsterdam GU
1886 wen.

DE JONGSTE TOESTANDEN

DER

VACUOLEN.

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN

Doctor in de Plant- en Dierkunde,

AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM,

OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS

Dr. T. PLACE,

Hoogleeraar in de Faculteit der Geneeskunde,

VOOR DE FACULTEIT TE VERDEDIGEN

op Zaterdag den 2^{en} October 1886, des namiddags te 3 ure,

DOOR

FRIEDRICH AUGUST FERDINAND CHRISTIAN WENT

GEBOREN TE AMSTERDAM.



AMSTERDAM,

M. J. PORTIELJE.

1886.

THE UNIVERSITY OF CHICAGO

PHYSICS DEPARTMENT

REPORT OF THE

COMMISSION ON THE ORGANIZATION OF THE

PHYSICS DEPARTMENT

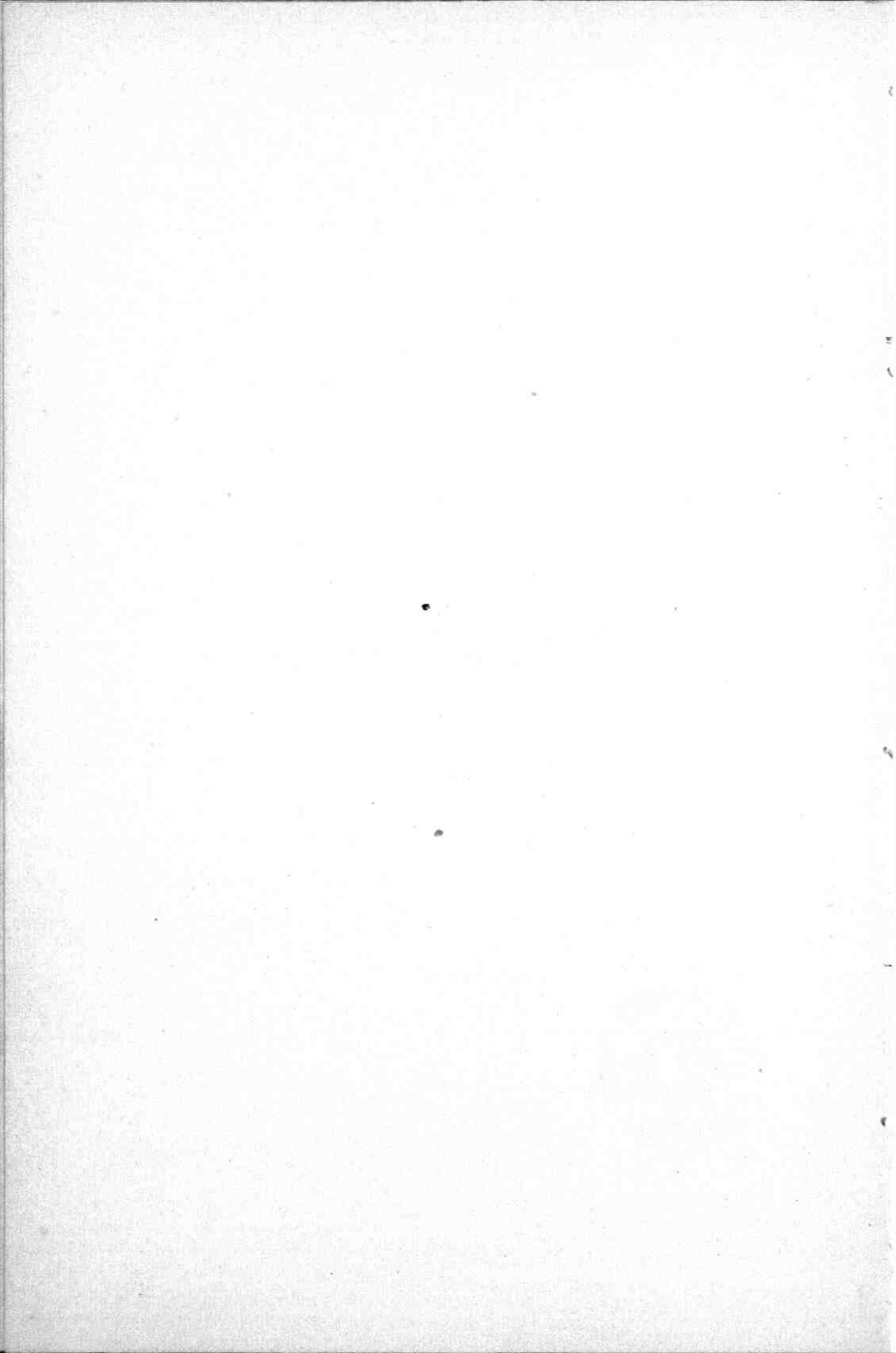
1954-1955

BY THE COMMISSION ON THE ORGANIZATION OF THE

PHYSICS DEPARTMENT



Aan mijne Moeder.



INHOUD.

	Bladz.
Inleiding.	
Historisch overzicht. Doel van het onderzoek.	1

HOOFDSTUK I.

Alle levende cellen bevatten vacuolen.

§ 1. Meristeam der Phanerogamen	7
§ 2. Topcellen van Cryptogamen.	12
§ 3. Algae en Fungi	15
§ 4. Voortplantingswerktuigen der lagere planten	16
§ 5. Eicel en embryozak	19
§ 6. Cambiumcellen, Pollenkorrels, Spermatozoiden.	23
§ 7. Conclusie.	24

HOOFDSTUK II.

De deeling en samensmelting van vacuolen.

§ 1. Fungi.	26
§ 2. Pollenkorrels.	30
§ 3. Jonge haren.	32
§ 4. Meristeamcellen.	34
§ 5. Verband met reeds bekende feiten.	36
§ 6. Vacuoledeeling gevolgd door celdeeling.	38
§ 7. Conclusie	40

HOOFDSTUK III.

Bladz.

Vorming van vacuolen uit protoplasma heeft niet plaats.

§ 1. Inleiding.	45
§ 2. Uittreden van protoplasma uit cellen, die een aantal vacuolen bevatten.	50
§ 3. Uittreden van protoplasma uit cellen, die één vacuole bevatten.	55
§ 4. Opzwellen van kernen en trophoplasten.	61
§ 5. Conclusie.	63

HOOFDSTUK IV.

Het voorkomen van meer dan één vacuole in een cel. Adventieve vacuolen.

§ 1. Inleiding.	65
§ 2. Het voorkomen van verschillende ongekleurde vacuolen in dezelfde cel.	68
§ 3. Gekleurde en ongekleurde vacuolen in dezelfde cel.	70
§ 4. Langzaam sterven van den vacuolewand	75
§ 5. Optreden van vacuolen, die eerst onzichtbaar waren	79
§ 6. Looistofgehalte als onderscheidingskenmerk in jonge cellen.	85
§ 7. Conclusie.	89
Algemeene Resultaten	91
Verklaring der Figuren.	94
Stellingen.	101

INLEIDING.

Toen in het midden van deze eeuw de levenskracht uit de wetenschap verbannen was, meende men, dat nu ook alle verschijnselen, die men in plant of dier waarnam, te verklaren waren door middel van bekende physische en chemische wetten. Zoo werd ook het protoplasma dikwijls geheel als een gewone vloeistof beschouwd, waarop men slechts de physische wetten, die op vloeistoffen betrekking hebben, had toe te passen, om een verklaring te vinden van alles, wat men er aan waarnam. Zoo verklaarde Hofmeister¹ de buitenlaag van het protoplasma eenvoudig uit de grootere dichtheid van de oppervlakte van vloeistoffen.

Hanstein² wees er nu echter op, dat wij hier met een georganiseerd lichaam te doen hebben, dat uit verschillende organen is samengesteld. Van deze organen waren de celkern en de

¹ Pflanzenzelle pag. 3.

² Das Protoplasma. Heidelberg. 1880.

Fig. 1.

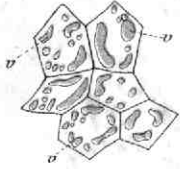


Fig. 2.

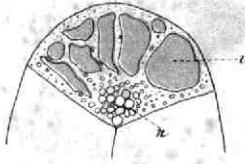


Fig. 3.

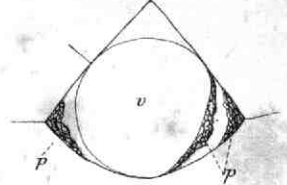


Fig. 4^a.

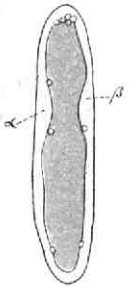


Fig. 4^b.

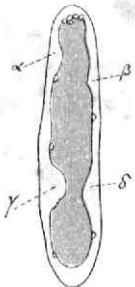


Fig. 4^c.

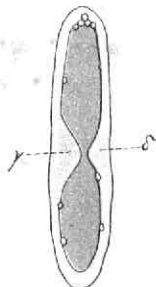


Fig. 4^d.

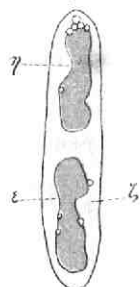


Fig. 4^e.

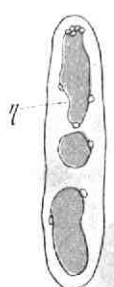


Fig. 5^a.

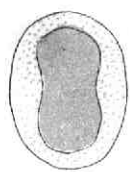


Fig. 5^b.

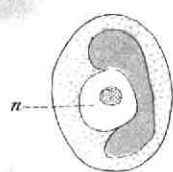


Fig. 5^c.

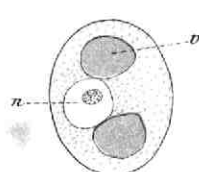


Fig. 7^a.



Fig. 6^a.

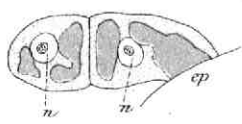


Fig. 8^a.

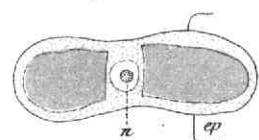


Fig. 7^b.

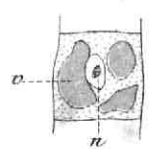


Fig. 6^b.

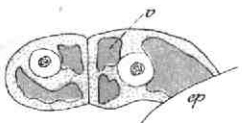


Fig. 8^b.

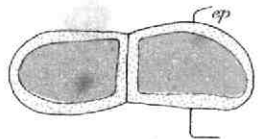
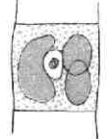


Fig. 7^c.



chlorophylkorrels reeds lang bekend; door de onderzoekingen van Pringsheim was de buitenlaag van het protoplasma als een afzonderlijk orgaan erkend, terwijl Schimper¹ door zijn ontdekking der amyloplasten wel het meeste heeft bijgedragen, om de vroegere meeningen als onjuist ter zijde te stellen.

De ideeën, die men omtrent vacuolen had, waren evenwel nog zeer vaag; alleen Hanstein² had gewezen op een levenden vacuolewand, hoewel slechts als vermoeden. Daarentegen hadden Nägeli³ en Pfeffer zich voorgesteld, dat de vacuole door een neêrslagmembraan omgeven was; deze zou evenwel geen levend deel van het protoplasma zijn, maar een dood vlies.⁴

Door de verschijning der „Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen”⁵ werd de aandacht weêr meer op de vacuolen gevestigd. De Vries toonde hier aan, dat elke vacuole omgeven is door een eigen wand; door verschillende middelen kon hij het wandstandig protoplasma doden en toch de vacuolewand in leven houden; het beste gelukte dit door plasmolyse met een 10^o/_o salpeteroplossing; bij daaropvolgende verwarming kon hij de vacuolen doen barsten. In overeenstem-

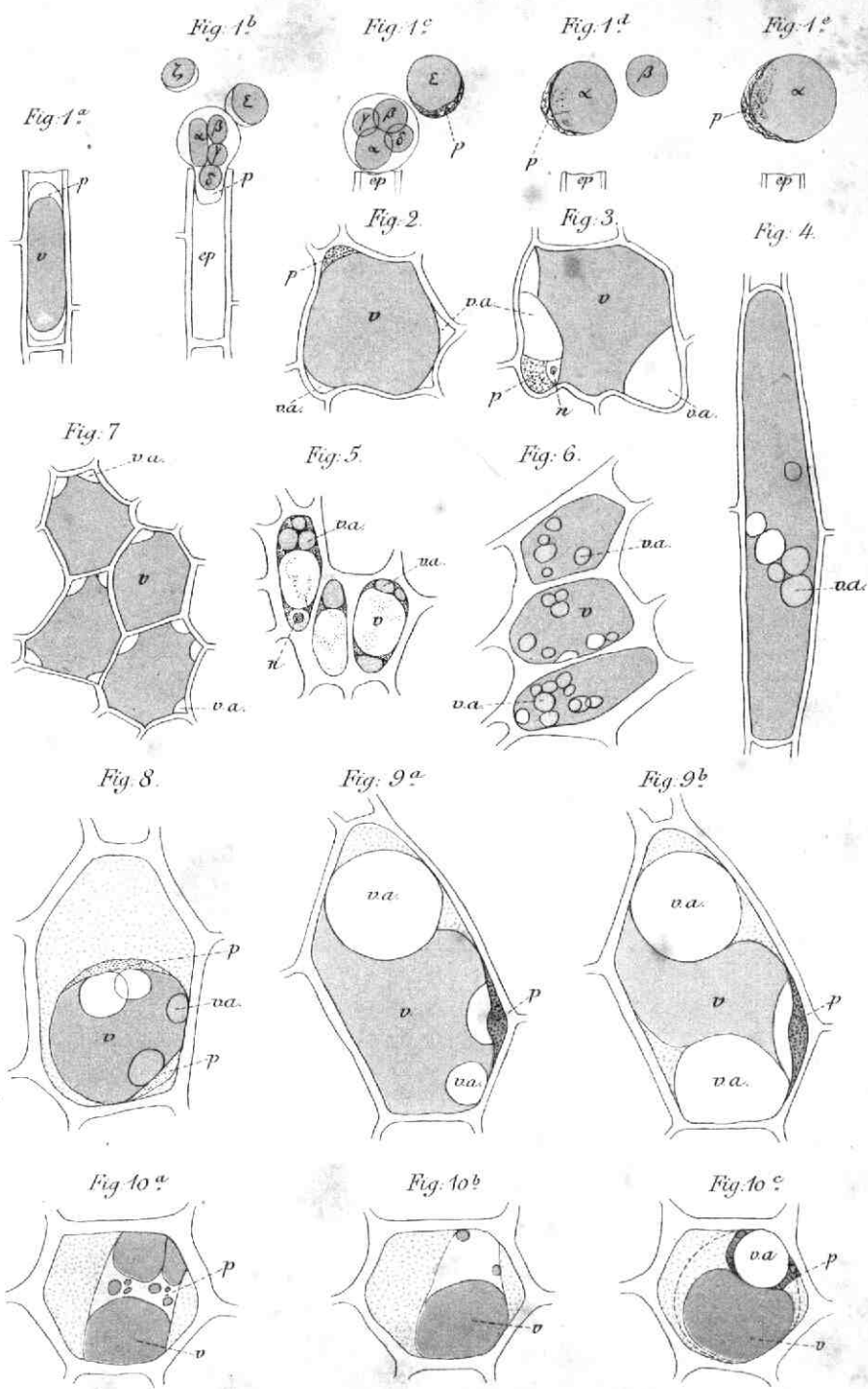
¹ Untersuchungen über die Entstehung der Stärkekörner, Bot. Zeitg. 1880. N^o. 52; Untersuchungen über die Entwicklung der Chlorophyllkörner und Farbkörper, Bot. Zeitg. 1883. N^o. 7. 8, 9, 10.

² l. c. pag. 157.

³ Nägeli und Cramer, Pflanzenphysiologische Untersuchungen. Zürich* 1855. I.

⁴ Zie o. a. Pfeffer, Osmotische Untersuchungen. pag. 139: „Die faktisch beobachteten diosmotischen Eigenschaften des lebenden Protoplasmas sind aber thatsächlich nur solche, welche auch gewisse von Traube's Niederschlagsmembranen darbieten, mit deren Kenntniss somit jene Eigenschaften unbedingt nicht mehr als ausschliessliche Eigenthümlichkeit des lebenden Organismus angesprochen werden konnten,” zie overigens nog Pfeffer, Kritische Besprechung von „de Vries, Plasm. Studien über die Wand der Vacuolen,” Bot. Zeitg. 1886. pag. 120.

⁵ De Vries, Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. XVI. 1885. pag. 465.



ming met de nomenclatuur van Strasburger, Arthur Meijer en anderen (trophoplasten, amyloplasten, chromoplasten) gebruikt De Vries voor den vacuolewand den naam tonoplast.

Het is natuurlijk dat men zich bij dezen stand van de wetenschap, ten minste zooals die nog een jaar geleden was, geen heldere voorstellingen kon maken omtrent de jongste toestanden der vacuolen. Hofmeister¹ en na hem de meeste andere onderzoekers meenden dat vacuolen zouden optreden in cellen, waar het protoplasma te sterk geïmbibeerd was met water. Nu is overtollig imbibitiewater hier niet zeer waarschijnlijk, maar bovendien bevat de vacuole niet alleen water, maar ook opgeloste stoffen, die osmotisch werkzaam zijn, waardoor deze opvatting onhoudbaar wordt. Toch bleef de algemeene meening, dat de jongste cellen geen vacuolen bevatten, maar deze pas later optreden, wanneer de cel begint te groeien. Uit de volgende citaten zal dit nader blijken.

Sachs zeide in 1874:² „Anfangs aber fehlt der Zellsaft; untersucht man dieselben Zellen in einem sehr frühen Entwicklungszustand, so sind sie kleiner, ihre Haut dünner, das Protoplasma stellt einen soliden Körper dar, in dessen Mitte der verhältnismässig sehr grosse Zellkern liegt. Der Zellsaft findet sich erst dann ein, wenn die ganze Zelle an Volumen rasch zunimmt; er tritt anfangs in Form von Tropfen (Vacuolen) im Inneren des Protoplasmakörpers auf, später fließen diese gewöhnlich zusammen und bilden einen einzigen Saft Raum, welcher von dem nun sackartig hohl gewordenen Protoplasma-körper umschlossen wird.“

In 1882 staat Sachs³ nog geheel op hetzelfde standpunt.

¹ l. c. pag. 5, 6.

² Lehrbuch der Botanik. 4e Auflage. 1874. pag. 2.

³ Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 1882. pag. 96, 513, 687 en 741.

Hetzelfde zeggen ook Nägeli en Schwendener¹ en Hanstein, de laatste o. a. in de volgende woorden:² „In diesem Zustande erscheint die plasmatische Masse ganz solide und als ein inniges Gemenge von Hyaloplasma und Mikrosomen.” Vervolgens vinden wij bij de Bary³ nog eens hetzelfde: „Der anfangs den Zellraum meist gleichförmig füllende Protoplasmakörper umschliesst auch hier in der erwachsenen Zelle einen oder mehrere Safräume (Vacuolen),” en evenzoo wat betreft Schimmelsporen.⁴

Eindelijk lezen wij bij Van Tieghem⁵: „Mais plus fréquemment on voit dans la jeune cellule le protoplasma former une masse pleine et continue. C'est plus tard seulement, quand la cellule grandit, que le suc y fait son apparition.”

Bij dezen stand van zaken was een nieuw onderzoek van de jongste toestanden der vacuolen, in verband met de uitkomsten van de Vries noodzakelijk. Deze had slechts terloops dit onderwerp besproken en daarbij een hypothese opgesteld,⁶ die tot uitgangspunt van mijne onderzoekingen heeft gediend. Deze onderstelling kan aldus worden samengevat: In de allerjongste cellen (topeel of primordiaalcellen) zijn tonoplasten aanwezig; deze vermenigvuldigen zich door deeling evenals kernen en trophoplasten; zoodoende zal elke dochtercel een of meer vacuolen bevatten afkomstig uit de moedercel, en nieuwvorming van vacuolen uit het protoplasma komt dus niet voor.

¹ Das Mikroskop. pag. 548.

² Das Protoplasma. pag. 201.

³ Vergl. Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozen und Bacterien. Leipzig. 1884. pag. 6.

⁴ l. c. pag. 113 en 122.

⁵ Traité de Botanique. 1884. pag. 585.

⁶ l. c. pag. 489.

Uitgaande van de heerschende meening omtrent de afwezigheid van druppels vocht in de jongste cellen, nam de Vries hierbij aan, dat de tonoplasten in dezen toestand niet hol doch massief zouden zijn, en dat zij eerst later vacuolen zouden voortbrengen.

Het zal ons blijken, dat werkelijk reeds in de allerjongste cellen tonoplasten gevonden worden, dat deze zich door deeling vermenigvuldigen en zoo het aanzijn aan alle later in de cellen voorhanden vacuolen geven. In dat opzicht komen dus de feiten met deze hypothese overeen. Doch tevens zullen wij zien, dat de heerschende meening omtrent het ontbreken van vacuolen in de jongste cellen onjuist is, daar deze bij een bepaalde methode van onderzoek daarin met volkomen zekerheid kunnen worden aangetoond. Op dit punt moet dus ook de genoemde hypothese wijziging ondergaan. Mijne stelling wordt dus:

Ook de jongste cellen bevatten vacuolen met een eigen wand; deze vacuolen vermenigvuldigen zich door deeling, en daaruit ontstaan alle later in de cellen voorhanden vacuolen.

Aan het bewijs van deze stelling zijn de beide eerste hoofdstukken van dit Proefschrift gewijd. In Hoofdstuk I heb ik namelijk m. i. bewezen, dat alle levende plantencellen vacuolen bevatten; daartoe had ik mij natuurlijk alleen bezig te houden met de zeer jonge cellen, voor welke tot nog toe afwezigheid van vacuolen werd aangenomen. Het is mij nu gelukt vacuolen waar te nemen in de allerjongste meristecellen van wortel of stengel der Phanerogamen (zie Plaat I, fig. 1), in topcellen van Cryptogamen (Pl. I, fig. 2 en 3) en ook in de voortplantingswerktuigen der hoogere en lagere planten, dus eicellen, sporen, pollenkorrels enz. (alleen in spermatozoïden kon ik geen vacuolen ontdekken). In de meeste gevallen kon ik ook de aanwezig-

heid van een vacuolewand aantoonen. In het 2e Hoofdstuk zal ik trachten te bewijzen, dat de vacuolen algemeen het vermogen hebben zich te deelen, en dit wel bij Schimmeldraden (Pl. I, fig. 4), pollenkorrels (Pl. I, fig. 5), jonge haren (Pl. I, fig. 6) en meristeeencellen (Pl. I, fig. 7). Het 3^e Hoofdstuk zal de onjuistheid moeten bewijzen der vroegere meening, die aannam, dat vacuolen door inwerking van water op willekeurige plaatsen van het protoplasma zouden kunnen ontstaan; ik zal trachten aan te toonen, dat men in alle gevallen, die vroeger ten gunste van die meening werden aangevoerd, steeds te doen heeft met een opzwellen van reeds aanwezige vacuolen (Pl. II, fig. 1). Men lette er evenwel op, dat ik, zooals ik nader nog zal mededeelen, hierbij niet het oog heb op de zoogenaamde vacuolevorming bij de desorganisatie van kernen en trophoplasten; dit toch is een pathologisch verschijnsel, dat niet vergeleken kan worden met hetgeen in het normale leven plaats heeft. Als gevolgtrekking uit deze 3 hoofdstukken meen ik te mogen concludeeren, dat alle vacuolen van een plant afkomstig zijn door deeling uit de vacuole van de eicel der moederplant.


Het laatste hoofdstuk zal betrekking hebben op eenige feiten, die niet in direct verband staan met het vorige, namelijk het voorkomen van verschillende soorten van vacuolen in volwassen cellen. Ik zal aantoonen, dat vooral in gekleurde cellen naast de groote gekleurde vacuole nog kleine kleurlooze vacuolen aanwezig zijn (Pl. II, fig. 2—10); aan deze laatste heb ik den naam gegeven van adventieve vacuolen. Dikwijls zijn deze reeds op het eerste gezicht te zien, maar somtijds moet men ze eerst door bepaalde praeparatiemethoden zichtbaar maken.

HOOFDSTUK I.

ALLE LEVENDE CELLEN BEVATTEN VACUOLEN.

§ 1. MERISTEEM DER PHANEROGAMEN.

Om te bewijzen, dat alle levende plantencellen vacuolen bevatten, hebben wij ons natuurlijk alleen bezig te houden met die, welke zich nog in meristematischen toestand bevinden. Tot nog toe werden de allerjongste cellen van wortel en stengel der Phanerogamen steeds afgebeeld zonder vacuolen; bij nadere beschouwing zal het blijken, dat dit op onvolkomen waarnemingen berustte. Hierbij kwam, dat men de meening had vooropgesteld, dat in meristeeencellen nog geen differentiatie van het protoplasma had plaats gegrepen; bovendien zijn de meristeeencellen zoo dicht met protoplasma gevuld, dat van den inhoud dikwijls niets is waartenemen. Eindelijk werden de praeparaten vroeger meestal in water onderzocht, niettegenstaande reeds Nägeli er op gewezen had, dat hierbij de celinhoud wordt gedesorganiseerd. Men dient dus



het voorschrift door Strasburger in het Botanisches Praktikum gegeven, op te volgen d. w. z. de doorsneden te leggen in een oplossing van 3—5 % suiker in water; heeft men daarbij de voorzorg genomen de praeparaten niet dunner, maar ook niet veel dikker dan 1 cel te maken, dan zal het blijken, dat alle meristeemcellen en ook de initiaalcellen van stengel en wortel vol zitten met kleine vacuolen; het beste bedient men zich voor deze waarneming van overlangsche doorsneden, daar men bij de dwarsche dikwijls niet geheel en al zeker is, dat men met de allerjongste cellen te doen heeft. Het was mij nu ook wel niet altijd mogelijk op overlangsche coupes de initiaalcellen te vinden, maar in dergelijke gevallen bleek toch duidelijk, dat daar, waar men het vroeger niet verwacht had, wel degelijk vacuolen aanwezig waren. Daar ik dus in verschillende initiaalcellen vacuolen heb gevonden, mag men dit zeker uitbreiden tot alle initiaalcellen, vooral daar deze meening gesteund wordt door de aanwezigheid van vacuolen in eenigzins oudere cellen bij tal van planten, waar men ze vroeger ook niet had waargenomen. Men lette er verder op, dat wanneer men geen vacuolen ziet, dit nog geen bewijs is voor hare afwezigheid; vooreerst kan het protoplasma reeds gestorven zijn tijdens het praepareeren, hetgeen evenwel spoedig is te bemerken, wanneer men de suikeroplossing met een weinig eosine rood gekleurd heeft, daar dan het gestorven protoplasma een donkerroode tint aanneemt; maar in een groot aantal gevallen is het protoplasma òf te sterk lichtbrekend òf te korrelig, om

iets van den inhoud te kunnen zien. Dikwijls vindt men bij dezelfde soort nu eens de cellen van wortel- en stengeltop gevuld met een geheel ondoorschijnend protoplasma, dan weer zijn er zeer duidelijke vacuolen te zien. Ik wensch thans de gevallen op te noemen, waarin het mij gelukte tusschen amyloplasten en korrels van het protoplasma zeer duidelijk vacuolen te zien in wortel- of stengeltop.

Beginnen wij met de beschouwing der wortels. In de jongste cellen van wortels van *Allium Cepa*, die ongeveer een dikte van 2—3 mM. hadden, zag ik een groot aantal zeer kleine vacuolen; de grootste hadden ongeveer een doorsnede van 4 mikr., de kleinste 1 mikr. Bij behandeling met een 10 % oplossing van salpeter in water, gekleurd met eosine, trok zich het protoplasma van den celwand terug, en stierf daarbij, zooals bleek uit de donkerroode kleur, die het aannam. Wegens de groote hoeveelheid protoplasma was het nu meestal niet mogelijk nog iets van de vacuolen te zien; toch kon ik ze in enkele gevallen door drukking uit het doode protoplasma doen uittreden, waarbij zij zich als kleurloze blaasjes in de roode eosineoplossing voordeden. Hieruit bleek mij dus de aanwezigheid van een vacuolewand, die in leven bleef, nadat het overige protoplasma reeds gedood was. Bij voorzichtige verwarming onder het mikroskoop barstten de tonoplasten plotseling, zoodra de temperatuurgrens van het leven overschreden werd. In den top van den hoofdwortel van kiemplantjes van *Vicia Faba* vond ik vacuolen, wier middellijn 1—3 mikr. bedroeg, die in groot aantal in elke cel aanwezig waren; éénmaal

telde ik er zelfs 23 in één cel. Ook bij kiemwortels van *Lupinus luteus* en *Zea Mais* vond ik in de initiaalcellen vacuolen; bij de laatste plant kon ik de aanwezigheid van een vacuolewand, evenals bij *Allium Cepa* door barsten aantonen. Een zeer geschikt voorwerp om de vacuolen in de jongste meristemcellen te zien, is ook de wortel van *Hydrocharis Morsus Ranae*.

In fig. 1, Plaat I zijn afgebeeld 6 van de jongste cellen van een luchtwortel van *Phoenix reclinata* op een overlansche doorsnede gezien. De worteltop bevond zich ongeveer 1 dM. diep in den grond; men ziet, dat elke cel een aantal vacuolen bevat van allerlei grootte (ongeveer 1—6 mikr. in doorsnede). De overige worteltoppen, die nog onderzocht werden, gaven steeds hetzelfde resultaat; in alle cellen werden vacuolen gezien, zoo bij de luchtwortels van *Phalangium lineare*, *Vanda tricolor*, *Tradescantia Warscewizii* en *Scindapsus pertusus*; bij deze laatste plant kon ik de vacuolen door middel van een 10 % salpeteroplossing isoleeren van het doode protoplasma, en daarna door verwarming of uitwasschen met water doen barsten.

Het geschiktste voorbeeld voor het voorkomen van vacuolen in de initiaalcellen van den stengeltop is *Asparagus officinalis*. Men maakt hiervoor overlansche coupes door een knop van een aspergiestengel, die op het punt staat boven den grond te komen. Men ziet dan terstond in alle cellen een aantal vacuolen, wier doorsnede in de initiaalcellen gewoonlijk $\frac{1}{2}$ — 3 mikr. bedraagt, een enkele maal echter tot 8 mikr. stijgt. In de cellen zit zooveel protoplasma, dat de vacuolen

bij plasmolyse geheel onzichtbaar worden; dat er een holte met vocht gevuld aanwezig is, blijkt evenwel reeds bij verwarming van de normale cel, daar men de vacuolen bij overschrijding van de temperatuurgrens plotseling ziet verdwijnen; dit is natuurlijk een gevolg van hun barsten. In de jongste cellen van den stengeltop van *Aristolochia Clematitis* en *Tecoma radicans* zitten 4—8 vacuolen, wier doorsnede 1—8 mikr. bedraagt. In de jongste cellen van knoppen van *Acer Pseudoplatanus* en *Fraxinus excelsior* is dikwijls niets van den inhoud te zien door de ondoorschijnendheid van het protoplasma; een paar maal gelukte het mij evenwel toch, er vacuolen in te ontdekken; hetzelfde geldt ook van *Geranium pyrenaicum*. Beter geschikt is de stengeltop van *Bryonia dioica*, waar ik ook door een 10 % salpeteroplossing het uitwendig protoplasma kon dooden, waarbij de tonoplast bleef leven; bij verwarming kon ik daarop de vacuole doen barsten. Hetzelfde gelukte bij de vacuolen in de jongste cellen van den stengel van *Hippuris vulgaris*, een zeer geschikt voorwerp tot onderzoek.

Uit de voorgaande feiten mag men, naar mij toeschijnt, wel besluiten tot het algemeen voorkomen van vacuolen in de allerjongste meristeeencellen, zoowel van den wortel als van den stengel der Phanerogamen. Bij het grooter worden der cel neemt het aantal vacuolen af; zij versmelten met elkaâr, en in vele gevallen vindt men later slechts een enkele vacuole; de uitzonderingen hierop zullen in het laatste hoofdstuk besproken worden.

§ 2. TOPCELLEN VAN CRYPTOGRAMEN.

Daar men bij meristemen der hoogere planten natuurlijk niet altijd met zekerheid kan zeggen, wat de initiaalcellen zijn, (er wordt zelfs nog over getwist, of deze er wel zijn, dan wel of ook de Phanerogamen een topcel hebben) werden topcellen van Cryptogamen onderzocht. De topcel van den stengel van kiemplantjes van *Salvinia natans* (fig. 2, Pl. I) bevat meestal een groote hoeveelheid korrelig protoplasma; de mikrosomen maken soms den geheelen celinhoud onzichtbaar; meestal evenwel liggen zij rondom de kern tegen den laatsten deelingswand, zooals Pringsheim¹ het reeds heeft afgebeeld. Van deze korrelige massa in het midden der cel ziet men armpjes naar alle zijden loopen, soms vertakt, dan weêr onvertakt. Op het eerste gezicht is het niet duidelijk, wat zich tusschen deze armpjes bevindt; bij plasmolyse blijkt evenwel, dat men hier met een groote vacuole te doen heeft. De protoplasmaarmpjes begeven zich dus van den kern naar het wandstandig protoplasma; of zij daarbij zich niet wel eens verbreden tot vlakken en zoo de vacuole in eenige kleinere verdeelen, was niet uit te maken, en daarbij ook van minder belang. Bij plasmolyse met een oplossing van 10 % salpeter in water bleef het protoplasma eerst nog eenigen tijd leven, maar na een half uur was het toch dood. Nu trad de nog levende tonoplast gedeeltelijk uit het protoplasma; bij verwarming onder het mikroskoop

¹ Pringsh. Jahrb. f. Wiss. Bot. Bd III. Taf. XXIV. fig. 2.

kon ik hem doen barsten; er is dus in de topcel van *Salvinia* een vacuole met eigen wand aanwezig.

In de topcel van een uitlooper van *Polypodium Paradiseae* werd een groote vacuole gevonden. Ditzelfde bleek ook het geval te zijn bij luchtwortels van boomvarens; onderzocht werden *Alsophila australis* en *Cyathea medullaris*. De laatstgenoemde plant heeft een tamelijk groote topcel, die meestal slechts één groote vacuole bevat; alleen in een geval zag ik naast de groote nog een paar kleinere. In fig. 3, Pl. I is een topcel van *Cyathea* afgebeeld, waar de inhoud geplasmolyseerd was geweest met een 8% salpeteroplossing, die daarna werd uitgewasschen met water. Men ziet, dat hierbij het protoplasma gestorven is, zooals nog nader bleek uit de roodkleuring met eosine; het lag daarbij gedeeltelijk tegen den tonoplast aan, gedeeltelijk in twee van de hoeken der cel; de vacuole had zich reeds voor het teekenen sterk vergroot en barstte even daarna. Ook de cellen, die rondom de topcel lagen, vertoonden volkomen hetzelfde verschijnsel, dus een levende vacuole liggende tusschen gestorven protoplasma.

De topcel van een species van *Jungermannia*, die op de *Todea rivularis* van den Amsterdamschen Hortus Botanicus groeit, bevat één groote en een paar kleinere vacuolen.

Van de *Characeae* werd hoofdzakelijk *Nitella flexilis* onderzocht, hoewel het mij toch gebleken is, dat, wat hier voor *Nitella* gezegd wordt, ook voor *Chara* geldt. Den meesten last heeft men met het praepareeren, daar men zorg moet dragen, de topcel in het geheel

niet te kwetsen; bij de minste verwonding is van den inhoud namelijk niets meer waar te nemen. Soms is de topcel zoo gevuld met amyloplasten en andere mikrosomen, dat men de vacuolen niet kan zien; in de meeste gevallen echter vindt men deze in groot aantal (15—25) rondom den kern liggen; hun diameter bedraagt hoogstens 10 mikr., hoewel er ook bij zijn, wier doorsnede nauwelijks gelijk is aan 2 mikr. Den vacuolewand zichtbaar te maken, is mij slechts eenmaal gelukt; de groote hoeveelheid protoplasma verbergt bij plasmolyse namelijk den geheelen celinhoud voor het oog. Wanneer men geplasmolyseerd heeft met een 6 % salpeteroplossing, kan men de vacuolen evenwel door verwarming onder het mikroskoop van tijd tot tijd doen barsten. In oudere cellen is hun aantal gewoonlijk verminderd, terwijl zij daarbij in grootte zijn toegenomen (in de cellen van den jongsten bladkrans vindt men er 6—10, die een doorsnede hebben van 4—20 mikr.) Dit is een gevolg van een gedeeltelijk ineensmelten der vacuolen, zooals wij in het volgende hoofdstuk nader zullen zien; daarbij vinden evenwel toch ook weer deelingen plaats. Een van de vacuolen neemt in volwassen cellen het geheele midden der cel in, terwijl de anderen door het stroomend protoplasma worden meêgevoerd. Om zich een voorstelling te maken, hoe de inhoud van de topcel van een Characea er uitziet, beschouwe men de afbeeldingen die Pringsheim ¹ van takvoorkiemen van Chara geeft.

¹ Pringsh. Jahrb. f. Wiss. Bot. Bd. III. Taf. XII, fig. 3, 4.

Er is dus uit deze § gebleken, dat topcellen algemeen vacuolen bevatten, omgeven door een levenden wand; gewoonlijk zijn deze vacuolen tamelijk groot, ten minste veel grooter, dan die welke in de initiaalcellen der Phanerogamen voorkomen.

§ 3. ALGAE EN FUNGI.

Dat bij de lagere Algae algemeen vacuolen voorkomen, ook in de jongste cellen, en in het algemeen in de cellen, die bestemd zijn zich later te deelen, is genoegzaam bekend; ik behoef hier slechts te herinneren aan Spirogyra, Conferva, Vaucheria en andere draadwieren. Hiervan zijn evenwel uitgesloten de Cyanophyceae, die, naar het schijnt, nog geen vacuolen bezitten.

Bij Fungi zijn de jongste cellen dikwijls gevuld met een protoplasma, dat zoo sterk lichtbrekend is, dat men van den inhoud niets kan waarnemen. Dit bracht dan ook de Bary er toe, sprekende over *Peziza Sclerotiorum*, te zeggen: ¹ „Der Protoplasmakörper der lebenden Hyphen ist farblos, an den dünnen und jungen Verzweigungen van sehr homogenem Ansehen, an seinen stärksten Aesten dagegen oft durch sehr viele kleine wasserhelle Vacuolen in charakteristischer Weise fein netzförmig-schaumig.” Toch vindt men dikwijls aan dezelfde plant draden, van wier inhoud niets te onderscheiden is, en andere, waar men duidelijk de jongste

¹ Ueber einige Sclerotinien und Sclerotienkrankheiten. Bot. Zeitg. 1886. p. 381.

cellen gevuld ziet met tallooze vacuolen; zoo b. v. bij *Cladosporium herbarum*. Ook bij *Penicillium*, *Mucor* en *Stilbum* zag ik ze in de jongste cellen van het mycelium in groot aantal.

§ 4. VOORTPLANTINGSWERKTUIGEN DER
LAGERE PLANTEN.

Om aan te toonen, dat de voortplantingswerktuigen van *Algae* en *Fungi* ook vacuolen bevatten, zal ik enkele voorbeelden behandelen, waar hun aanwezigheid of reeds bekend was, of mij nu pas gebleken is. In het algemeen zal men de eicellen van dit onderzoek moeten uitsluiten, daar hun protoplasma meestal te ondoorschijnend is, om iets zekers omtrent den inhoud te kunnen zeggen; ditzelfde is dikwijls met sporen het geval, terwijl er dan somtijds nog bijkomt, dat de wand gekleurd is, of met lijsten of teekeningen bezet, waardoor van den inhoud niets meer is waar te nemen.

Beschouwen wij eerst eenige *Algen*. Bij *Spirogyra* bevatten de twee protoplasten, die de zygospore zullen vormen, ieder een vacuole, die zij meegebracht hebben uit de cel, waaruit zij afkomstig zijn. Het blijkt uit de figuren, dat de vacuole in de eicel bij de kieming zeer duidelijk is te zien. Bij *Vaucheria* bevat het oögonium een vacuole afkomstig van de groote vacuole, die de geheele plant vult. Oösporen en Zoösporen beide bevatten eveneens een groote vacuole, zooals reeds bekend is sedert de onderzoekingen van Hofmeister en Strasburger over het uittreden van den inhoud der zoösporen, die in het 3^e hoofdstuk nader besproken

zullen worden. Evenals elke andere cel bevat ook het oögonium van Oedogonium een vacuole, die later in de oöspore blijft en bij de kieming het materiaal levert voor de tonoplasten der nieuwe plant.

Bij *Saccharomyces* bevatten de afgesnoerde cellen steeds eenige vacuolen, nog voordat de verbinding met de moedercel is opgeheven. In sommige gevallen is dit wel niet duidelijk te zien, daar *Saccharomyces* zeer dikwijls zoo sterk lichtbrekende protoplasten heeft, dat van den inhoud niets te onderscheiden is. Daarom is beter te gebruiken *Dematium pullulans*, zooals bekend is, de spuitzwamachtige vorm van *Cladosporium herbarum*. Hoewel ook hier soms van den inhoud der cellen niet veel is waar te nemen, heeft men er toch minder last van dan bij *Saccharomyces*, terwijl bovendien de plant veel grooter is. Men ziet nu, dat de uitspruitende cellen bij hun ontstaan nog een homogenen inhoud hebben, maar dat er na eenigen tijd vacuolen zichtbaar worden, die waarschijnlijk uit de moedercel afkomstig zijn. Pas nadat dit heeft plaats gehad, ontstaat de deelingswand, waardoor de jonge cel van de moedercel gescheiden wordt. Door middel van een 10% salpeteroplossing was het mogelijk, de vacuolen te isoleeren, nadat het overige protoplasma gedood was, en zoo de aanwezigheid van een tonoplast te constateeren door de vacuolen te doen barsten. Bij *Mucor* zijn in jongen toestand zeer gemakkelijk vacuolen in de sporen te zien; bij *Pilobolus cristallinus* zijn de volwassen sporen vol met een massa oranje-kleurige oliedruppeltjes, vandaar dat van den inhoud niets is waar te nemen; onderzoekt men de sporen

evenwel, terwijl zij nog jong zijn, dan blijkt, dat er wel degelijk vacuolen in zitten. *Phytophthora infestans* heb ik wel niet onderzocht, maar men ziet duidelijk genoeg uit de afbeeldingen, dat zoowel het sporangium als de zwerm-sporen kleine vacuolen bevatten. Bij een species van *Achlya* was in het oögonium het protoplasma zoo dicht, dat van den inhoud niets te zien was, daarentegen waren de zoösporangien in jeugdige toestand vol vacuolen; deze gaven het protoplasma een schuimachtig uiterlijk. Door middel van een 10% salpeteroplossing, gelukte het mij ook nu den tonoplast te isoleeren, nadat het protoplasma gedood was, en hem daarop door middel van water te doen barsten. In de zwerm-sporen zelf zijn ook zeer duidelijk één of meer vacuolen waar te nemen. Bij *Pencilium glaucum* zijn de rijpe sporen sterk lichtbrekend en daardoor niet geschikt voor onderzoek; daarentegen vindt men in alle sporen, terwijl zij nog jong zijn, vacuolen; zoo ook bij *Stilbum*. Bij *Ascomyceten* zitten de jonge asci vol met een aantal vacuolen; dit bleek mij o. a. bij *Hypocöpra stercoraria*. Ook in de jonge sporen ziet men enkele vacuolen; later wanneer de wand gekleurd is, is van den inhoud niets waar te nemen. Het beste voorwerp, om de vacuolen in de asci te zien, is *Ascobolus furfuraceus*; het is echter onjuist, zooals dikwijls geschiedt, de allerjongste asci af te beelden zonder vacuolen. Het is waar, dat hier het protoplasma in de meeste gevallen zoo dicht en korrelig is, dat van den inhoud niets is waar te nemen, dit neemt evenwel niet weg, dat men in enkele gevallen meer doorschijnende jonge asci vindt en daarin

dan ook zeer duidelijk vacuolen kan onderscheiden. Ook de jonge sporen bevatten, zoo als dadelijk te zien is, celvocht; later wordt dit evenwel aan het oog onttrokken, eerst door het korrelig worden van het protoplasma, daarna door de kleuring van den celwand. de Bary heeft vacuolen afgebeeld in de asci van *Peziza confluens*,¹ hoewel de sporen met een homogenen inhoud zijn voorgesteld.

Wanneer wij den inhoud van deze § kort samenvatten, dan blijkt, dat men in allerlei voortplantingswerktuigen van *Thallophyta* vacuolen vindt, ook waar men ze vroeger niet vermoedde. Het is zeker geen al te gewaagde generalisatie, wanneer wij dit toepassen op alle andere gevallen, ook daar, waar om verschillende redenen niets van den celinhoud te zien is.

De overige *Cryptogamen* zijn door mij niet onderzocht; men heeft hier ook hoofdzakelijk te doen met eicellen met een zeer ondoorschijnenden celinhoud. Wanneer men ziet dat de eicellen der *Phanerogamen* steeds vacuolen bevatten, zooals uit de volgende § zal blijken, en daarbij in aanmerking neemt, dat ook in de voortplantingswerktuigen der *Thallophyta* vacuolen te vinden zijn, dan zal men er wel niet aan twijfelen, dat ditzelfde het geval is met de generatieorganen van *Mossen* en *Vaatcryptogamen*.

§ 5. EICEL EN EMBRYOZAK.

Wanneer wij nu over het voorkomen van vacuolen in eicel en embryozak spreken, dan is dit onderwerp

¹ *Morph. und Biologie der Pilze*. fig. 39.

niet geheel nieuw, want al heeft niemand meêgedeeld dat hij in de eicel vacuolen heeft gezien, toch hebben verschillende onderzoekers ze afgebeeld. Zoo gaf Sachs in 1874 afbeeldingen van vacuolen in de corpuscula van *Taxus canadensis* ¹ en *Juniperus communis* ² beide naar Hofmeister, en in de eicel en*de jonge embryonen van *Funkia cordata*, ³ en Strasburger in de eicel van *Monotropa Hypopitys* ⁴ en later in archegoniën van *Picea vulgaris* ⁵ en de eicel van *Orchis pallens* ⁶.

Reeds Nägeli en Hofmeister wisten, dat de embryozak groote hoeveelheden vacuolen bevat, en zij maakten daarvan dan ook gebruik, om den inhoud in water te brengen, zooals in het 3^e Hoofdstuk nader beschreven zal worden.

Ik wensch nu nog eenige eigen waarnemingen hieraan toe te voegen. Vooreerst zag ik in de corpuscula van *Larix europaea* een tiental vacuolen liggen, die lang niet de geheele celruimte vulden. In de eicel van *Imantophyllum miniatum* vindt men 1 of 2 groote vacuolen, terwijl zij daarentegen tamelijk klein zijn bij *Scilla bifolia*. De embryozak van *Fritillaria Meleagris* is gevuld met een groote hoeveelheid protoplasma, daartusschen bevinden zich tallooze vacuolen, die in grootte zeer kunnen verschillen, zoodat sommige $\frac{1}{3}$ van den geheelen embryozak innemen, en andere

¹ Lehrbuch der Botanik. 1874. fig. 354.

² l. c. fig. 355.

³ l. c. fig. 399.

⁴ Zellbildung und Zelltheilung. 3e Auflage. 1880. Taf. V. fig. 124—136

⁵ Botanisches Praktikum. 1884. fig. 153.

⁶ l. c. fig. 168.

nauwelijks $\frac{1}{200}$ — $\frac{1}{300}$ van de grootte van den kiemzak bereiken. Ook de eicel van *Fritillaria* bevat 1—3 vacuolen; het gelukte mij hierbij, het protoplasma door middel van een 10 % salpeteroplossing te dooden en zoo de aanwezigheid van een vacuolewand aan te toonen, die bij toevoeging van water barstte. Embryozakken van *Tulipa spec.*, *Hemerocallis fulva* en *Arum maculatum* vertoonden geheel hetzelfde beeld als *Fritillaria*. De eicel van dezelfde soort van *Tulipa* bevatte één groote vacuole, waarbij het mij weder gelukte, de aanwezigheid van den tonoplast aan te toonen. Ook in eicellen van *Narcissus poëticus* en *Iris germanica* werden vacuolen gevonden.

De meest geschikte plant voor het bestudeeren der vacuolen in embryozak, eicel en embryo is *Draba verna*, daar hier alle ontwikkelingsstadiën naast elkaâr aanwezig zijn. De embryozak is ook hier weer opgevuld met vacuolen; wanneer men deze in water laat uittreden, door een zachte drukking op het dekglas uit te oefenen, en wanneer men de voorzorg genomen heeft, dit water met eosine te kleuren, dan ziet men de vacuolen opzwellen, maar ongekleurd blijven; daarentegen begint het protoplasma langzaam te sterven, zichtbaar aan het absorbeeren van de eosine; een aantal vacuolen kunnen dan geheel vrijkomen en in het water rondrijven, totdat zij eindelijk barsten. Dit geheele verschijnsel zal in het 3^e Hoofdstuk nog nader besproken worden; het was hier slechts mijn doel, er op te wijzen, dat ook in den embryozak een levende tonoplast aanwezig is. Onderzoekt men de eicel van *Draba verna*, dan vindt men ook hier eenige vacuo-

len; neemt men oudere toestanden, dan ziet men in de embryonen, die nog slechts uit weinige cellen bestaan, dat alle cellen eenige vacuolen bevatten; daarop wordt het protoplasma korreliger, zoodat van den inhoud der cellen meestal niets meer te zien is; in het rijpe zaad evenwel kon ik de vacuolen in de jongste cellen van den worteltop toch weér vinden. Ook in embryonen van *Cardamine hirsuta* en *Capsella Bursa Pastoris* gelukte het mij, de vacuolen te zien en bij deze laatste plant ook den levenden tonoplast van het doode protoplasma te isoleeren door middel van een 10 % salpeteroplossing. Reeds Sachs heeft het voorkomen van vacuolen in embryonen van *Allium Cepa*¹ en *Viola tricolor*² afgebeeld.

Het resultaat uit deze en de vorige § afteleiden, is dus: De vrouwelijke voortplantingsorganen van alle planten bevatten vacuolen, die omgeven zijn door een eigen wand. Deze tonoplasten zijn afkomstig van de moederplant. Men zal dit laatste zeker wel toestemmen, wat betreft de afkomst der vacuolen van de eicel uit den embryozak, van de sporen der Ascomyceten uit de asci, van de zwerm-sporen van *Achlya* uit het zoösporangium en in het algemeen bij de behandelde voorbeelden onder de Algen. In de overige gevallen zal men uit analogie wel tot hetzelfde moeten besluiten.

¹ Lehrbuch der Botanik. 1874. fig. 15.

² l. c. fig. 400.

§ 6. CAMBIUMCELLEN, POLLENKORRELS,
SPERMATOZOÏDEN.

Ieder, die de protoplasmastrooming in cambiumcellen gezien heeft, weet, dat er vacuolen in voorkomen; het bleek mij dan ook bij *Betula*, *Acer* en *Aesculus*, dat de cambiumcellen een centrale vacuole bevatten, waar armpjes doorheen loopen van het wandstandig protoplasma naar den kern en omgekeerd. Bij plasmolyse met een 10 % salpeteroplossing stierf het uitwendig protoplasma; in sommige gevallen kwamen nu de nog levende tonoplasten vrij.

Dat pollenkorrels vacuolen bevatten, hoewel deze soms onzichtbaar zijn door teekening en kleur van de exine, is genoegzaam bekend; alleen volledigheidshalve zij hier dan ook nog mededeeling gedaan van een paar voorbeelden: pollenmoedercellen van *Doronicum macrophyllum*, en stuifmeelkorrels van dezelfde plant, evenzoo pollenkorrels van *Fritillaria imperialis*, *Polygonatum vulgare*, *Tulipa spec.*, *Glycine sinensis* en *Cucurbita Pepo*. Bij de vier laatstgenoemde planten gelukte het mij, door drukking op het dekglas den inhoud van de pollencellen in water te doen uittreden; daarbij stierf het protoplasma zeer spoedig, terwijl de vacuolen opzwellen, eindelijk barstten en daardoor de aanwezigheid van een tonoplast aantoonde.

Bij de Cryptogamen zijn de mannelijke voortplantingsorganen zoo klein, dat het mij niet mogelijk was met de geringe vergrootingen, die mij ten dienste stonden, (sterkste objectief F van Zeiss met apparaat van Abbe) iets te besluiten omtrent de aanwezigheid

van vacuolen in de spermatozoïden. In de literatuur vindt men evenwel een paar opmerkingen van Strasburger¹ over dit onderwerp. Deze veronderstelt namelijk, dat de blaas, die de spermatozoïden der varens dragen, niets anders is dan de vacuole der spermatozoïdmoedereel. In elk geval is het zeker, dat die blaas niet noodzakelijk is voor de bevruchting, daar zij zich voor dien tijd kan losmaken, en men waarneemt, dat een spermatozoïd zonder blaas even goed als een ander in staat is, de eicel voldoende te bevruchten. Hetzelfde geldt volgens Strasburger² ook voor despermatozoïden van *Equisetum*.

Hofmeister deelt mede, dat er bij spermatozoïden der *Characeae*, van *Pellia*, *Varens* en *Equisetum*, die na het rondzwermen in water tot rust zijn gekomen, vacuolen optreden. Het blijkt evenwel niet, of wij hier met normale vacuolen te doen hebben, of met het optreden van zoogenaamde vacuolen bij kernen en trophoplasten, dit is namelijk een pathologisch verschijnsel, zooals nader zal blijken uit Hoofdstuk III.

§ 7. CONCLUSIE.

Overzien wij nog eens de hoofduitkomsten van de onderzoekingen in dit hoofdstuk meêgedeeld, dan kunnen wij deze op de volgende wijze samenvatten:

¹ *Jenaische Zeitschr. f. Naturw.* Bd X. Neue Folge Bd III. Heft IV. 1876. pag. 401.

² *l. c.* pag. 402.

1. Alle meristeeencellen bevatten vacuolen omgeven door een eigen wand; deze zijn meestal tamelijk klein en komen in vrij groot aantal in elke cel voor.

2. Alle topcellen bevatten een groote vacuole en soms nog eenige kleine, alleen bij *Nitella* en *Chara* hebben zij ongeveer dezelfde grootte; ook hier is elke vacuole door een eigen wand omgeven.

3. Alle vrouwelijke voortplantingswerktuigen, zoowel van hoogere als lagere planten, zijn in het bezit van vacuolen; misschien zijn zij afwezig bij de spermatozoïden.

Vatten wij dit zoo kort mogelijk samen, dan komen wij tot de algemeene conclusie:

Alle levende plantencellen bevatten vacuolen (misschien uitgezonderd Spermatozoïden, Cyanophyceae en Bacteriën).

HOOFDSTUK II.

DE DEELING EN SAMENSMELTING VAN VACUOLEN.

§ 1. FUNGI.

De beste voorwerpen, om de deeling en ineensmelting van vacuolen te zien, zijn myceliumcellen van Fungi. Men wordt hier bij de waarneming namelijk niet gehinderd door omliggende cellen, zoodat alle verschijnselen zonder de minste moeite bestudeerd kunnen worden; een groot voordeel is hierbij ook, dat men schimmels onderzoeken kan in hunne natuurlijke levensomstandigheden. Ik kweekte de Fungi in een verdund afkooksel van rozijnen; een paar maal maakte ik voor het onderzoek onder het mikroskoop gebruik van Strasburgersche vochtige kamers; daar ik evenwel meestal tamelijk sterke vergrootingen noodig had, was het beter, de Fungi gewoon onder dekglas te beschouwen, waarbij ik zorg droeg, de vloeistof, waarin zij lagen, van tijd tot tijd te ververschen; de verschijnselen, die ik waarnam, waren in beide gevallen volko-

men gelijk. Men ziet namelijk, dat een vacuole zich van tijd tot tijd in een paar kleinere kan splitsen, en dat deze op hunne beurt hetzelfde verschijnsel weer kunnen voortzetten; daartegenover ziet men ook weer sommige vacuolen tot grootere ineensmelten.

Laten wij het verschijnsel wat nader beschouwen bij *Dematium pullulans*. Op Plaat I heb ik in fig. 4 dezelfde cel eenige malen achtereenvolgens afgebeeld, om de veranderingen te doen zien, die daarin hadden plaats-gegrepen in den tijd van drie kwartier ongeveer; 2 uur 45 min. vroeger bevatte de cel 4 groote en 5 kleinere vacuolen, die langzamerhand ineengesmolten waren tot twee groote; de wand van protoplasma tusschen deze twee werd steeds dunner en scheurde eindelijk door, daarop werd fig. 4a geteekend. Men ziet, dat het wandstandig protoplasma geen gelijkmatige laag vormt rondom de vacuole, maar dat het zich op twee plaatsen α en β eenigzins heeft opgehoopt; deze ophooping nu zijn niets anders dan de laatste overblijfselen van den wand, die de vacuole in tweeën had gedeeld; α en β worden nu steeds kleiner en verplaatsen zich tegelijkertijd langs de vacuole, zooals in fig. 4b is te zien; in fig. 4c eindelijk zijn zij geheel verdwenen. Ondertuschen heeft zich een ringvormige uitstulping in de vacuole gevormd, die in de optische doorsnede natuurlijk volkomen het uiterlijk heeft van twee tegenover elkaar liggende uitstulpingen γ en δ in fig. 4b; deze verplaatsen zich langzamerhand naar boven, terwijl zij steeds grooter worden, en zoodoende slechts een eng kanaal overblijft tusschen de twee helften van de vacuole (fig. 4c). Men ziet daarop, dat deze uitstul-

pingen ineensmelten en daardoor de vacuole in twee kleinere verdeelen (fig. 4*d*); in de bovenste van deze twee ziet men weêr twee uitstulpingen van protoplasma ontstaan; de eene η vormt zich bovenin, en verplaatst zich langzamerhand naar beneden toe (fig. 4*d* en *e*); de andere daarentegen ontstaat juist onderaan aan den anderen kant, verplaatst zich naar boven en verdwijnt. In de onderste vacuole wordt de tonoplast ringvormig ingestulpt (fig. 4*d* ε en ζ); ε en ζ vereenigen zich met elkaâr, zoodat er nu drie vacuolen in de cel liggen (fig. 4*e*). Deze toestand duurde toen eenige uren, waarop de waarneming werd afgebroken. Dergelijke verschijnselen kan men nu, zooveel als men wil, bij *Dematium* zien, hoewel zij niet altijd zoo snel achter elkaâr plaats hebben als in het hier beschrevene geval. Zooals ik reeds in het vorige hoofdstuk heb meêgedeeld, bleek het mij bij plasmolyse met een 10% salpeteroplossing, dat de vacuolen van *Dematium pullulans* omgeven zijn door een eigen wand.

Bij *Saccharomyces* is de waarneming veel moeilijker, vooreerst wegens de kleinheid van de cellen, maar vooral, omdat eenzelfde cel nu eens een sterk lichtbrekend protoplasma bevat en dan weêr niet, zoodat de inhoud beurtelings goed te onderscheiden kan zijn, of niet. De vacuoledeeling gaat hier bovendien veel langzamer.

In de myceliumcellen van *Penicillium glaucum* is het ineensmelten en deelen van vacuolen, verbonden met het uitstulpen van protoplasma-armpjes, zeer fraai waar te nemen. Men ziet van tijd tot tijd een uitstulping

van het wandstandig protoplasma optreden, zich voortbewegen langs de vacuole en weêr verdwijnen; een ander maal wordt de vacuole ringvormig ingestulpt en door de vergrooting der uitstulping in twee kleinere vacuolen gedeeld. Hetzelfde is ook te zien in de myceliumcellen van *Stilbum*.

In de topcel van een blad van den jongsten krans van *Nitella flexilis* nam ik ook eenmaal waar, dat een vacuole zich deelde; het verschijnsel ging hier evenwel plotseling, terwijl ik bezig was de cel te teekenen. Bij daaropvolgende plasmolyse met een salpeteroplossing van 10 % bleek het mij, dat een tonoplast aanwezig was.

Wanneer men fig. 4 nog eens beschouwt, zal men opmerken, dat het protoplasma op de plaatsen, waar uitstulpingen ontstaan, minder sterk lichtbrekend is, dan in het verdere deel der cel; het is dus daar meer waterhoudend. Hiermeê in verband doet zich de vraag voor, wat actief is bij de vacuoledeeling, de tonoplast of het stroomend protoplasma. Ontstaan dus die uitstulpingen, doordien het protoplasma zich daar met water imbibeert, of wordt het protoplasma uitgerekt door den tonoplast, en heeft dit tengevolge, dat het water opneemt? Rechtstreeks heb ik deze vraag niet kunnen oplossen; de vacuolewand is zoo dun, dat ik met de vergrootingen, die mij ten dienste stonden, haar in de normale cel niet heb kunnen waarnemen. Wanneer men een vergelijking maakt van tonoplasten met celkernen en trophoplasten, dan zal men, waar deze, wanneer zij zich deelen, zelf actief zijn, zeker geneigd zijn, ditzelfde ook te veronderstellen

van tonoplasten. Laat ik verder opmerkzaam maken op de overeenkomst tusschen het ontstaan van protoplasma-arpjes en vacuoledeeling; het verschil tusschen deze beide is werkelijk alleen quantitatief, men behoeft zich de arpjes slechts in de vlakke uitgebreid te denken, om een vacuole in twee deelen te splitsen; men vergelijk ook de beschrijving die in de Pflanzenzelle¹ wordt gegeven van het ontstaan en weêr in-trekken van protoplasma-arpjes. De volgende waarneming van Hofmeister, die betrekking heeft op het optreden van protoplasma-arpjes in cellen van de haren op de meeldraden van *Tradescantia Virginica*, mag dus ook worden toegepast op de deeling van vacuolen. Woordelijk zegt Hofmeister het volgende²: „Sie bestehen zunächst nur aus hyaliner, körnchenloser Substanz; erst nachdem sie eine gewisse Länge erreichten, treten die dem Protoplasma eingelagerten körnigen Bildungen mit in sie ein”. Al zijn dus de gegevens niet talrijk genoeg, wat dit punt betreft, zoo geloof ik toch, dat het wel het waarschijnlijkste is, dat de vacuolewand zelf actief deelneemt aan de deeling.

§ 2. POLLENKORRELS.

Pollenkorrels kan men onderzoeken, terwijl zij buiten den helmknop onder het mikroskoop liggen; men heeft dus ook hier, evenals bij *Fungi*, het voordeel, dat men bij zijne waarnemingen niet gestoord wordt

¹ Hofmeister, pag. 45.

² Pflanzenzelle. pag. 44, 45.

door omliggende weefsels. Bovendien wijkt een 3—5 % suikeroplossing zoo weinig van het stempelvocht af, dat stuifmeel zich bijna geheel in een natuurlijk medium bevindt, wanneer men het in zulk een oplossing brengt. Het eenige, wat schimmels boven pollenkorrels voorhebben, is, dat de vacuoledeeling veel sneller plaats heeft en dus gemakkelijker gezien kan worden. Men moet zich evenwel bedienen van jonge pollen-cellen, daar het protoplasma ondoorschijnender wordt, naarmate zij ouder worden, en ook de exine dan dikwijls door wratten of lijsten, of wel door een donkere kleur den inhoud geheel onzichtbaar maakt.

Bij jonge pollenkorrels van *Polygonatum vulgare* kan men het ineensmelten van vacuolen elk oogenblik waarnemen. Ook de deeling is van tijd tot tijd te zien; zoo b. v. in het geval op Plaat I in fig. 5 a—c afgebeeld. Toen ik de vacuole het eerst zag (fig. 5a), had zij een langwerpige gedaante en vertoonde daarbij in het midden een insnoering. De protoplasmauitstulping links begon zich nu langzamerhand te vergrooten, en tegelijkertijd werd de kern zichtbaar; deze had tot nu toe waarschijnlijk onder de vacuole gelegen (fig. 5b). De protoplasmauitstulping rechts, die eerst weer bijna geheel verdwenen was, begon zich daarop te vergrooten en vereenigde zich eindelijk met die aan de andere zijde, waardoor men nu twee vacuolen ziet, waartusschen de kern ligt (fig. 5c). Met een 10 % salpeteroplossing werden nu het protoplasma en de kern gedood, terwijl de tonoplast in leven bleef; bij daaropvolgende verwarming onder het mikroskoop barstte de vacuole. Bij jonge pollenkorrels van *Glycine*

sinensis nam ik deeling en ineensmelting van vacuolen een aantal malen waar, evenzoo bij zeer jonge cellen uit een helmknop van *Lilium candidum*.

§ 3. JONGE HAREN.

Jonge haren zijn uitstekend geschikt voor het waarnemen van de deeling van vacuolen; ook hier heeft men geen last van omliggende cellen; men kan ze daarentegen niet in hun natuurlijk medium onderzoeken, maar moet ze steeds brengen in een 3—5 % suikeroplossing. De vacuoledeeling heeft hier dikwijls zeer snel plaats, zoo b. v. bij de jonge haren uit een knop van *Bryonia dioica* (fig. 6a—b, Plaat I). Men ziet op de afbeelding een haar, waarvan een cel geheel zichtbaar is, terwijl van de andere een gedeelte door de epidermis bedekt wordt. Toen ik de cellen het eerst teekende, had de linksche twee vacuolen, waartusschen de kern lag; een van deze twee, de rechtsche in de figuur, vertoonde een insnoering, veroorzaakt door een protoplasmauitstulping, die van den kant van den kern afkwam. Deze uitstulping deelde na 10 minuten de vacuole geheel in tweeën; de onderste van deze twee smolt daarop ineen met de linksche vacuole, zoodat een kwartier na de eerste waarneming, de cel er uitzag, zooals in fig. 6b geteekend is. De andere cel bevatte in het eerst 2 vacuolen; hiervan had de linksche zich na 15 minuten eveneens gedeeld (fig. 6b). Men lette hier tevens op de vormverandering, die de groote vacuole in dien tijd had ondergaan; er blijkt, dat het protoplasma nooit stil-

staat, maar voortdurend in beweging is. Een andere keer zag ik bij *Bryonia* een vacuole zich plotseling in tweeën splitsen; dit geschiedde, terwijl ik bezig was ze te teekenen.

Ook bij jonge haren van *Cucurbita Pepo* zag ik zeer fraaie vacuoledeeling. Ik gebruikte hiertoe kiemplantjes, waarbij meestal nog slechts de cotylen geopend waren. Ik vond hier b. v. een haar, dat drie groote vacuolen, *a*, *b* en *c* bevatte en in den top nog 5 of 6 kleine; na anderhalf uur waren *b* en *c* ineengesmolten, en evenzoo vormden nu ook de kleine een enkele vacuole *d*; twee uur later waren *a* en *d* nog aanwezig, maar de vacuole uit *b* en *c* ontstaan, had zich weêr gedeeld. Op de bekende wijze kon ik ook hier het aanwezig zijn van een tonoplast aantoonen.

In jonge haren van een knop van *Rhododendrum* was ook weêr zeer duidelijk vacuoledeeling te zien; hierdoor ontstaan daar een aantal vacuolen. De meeste blijven de grootte behouden, die zij dan hebben, slechts een wordt in de volwassen cel de hoofdvacuole, de andere blijven daar rondom liggen; in het laatste hoofdstuk kom ik daar nog op terug. Ook hier bezit de vacuole een eigen wand.

De overige jonge haren, waar ik vacuoledeeling waarnam, kwamen voor in knoppen van *Lycium europaeum*, *Lupinus luteus* en *Ribes aureum*. Evenzoo zag ik hetzelfde verschijnsel in de haren, die rondom de topcel staan van dezelfde species van *Jungermania*, die ik reeds in het vorige hoofdstuk besprak.

Ten laatste noem ik nog de paraphysen in de vrouwelijke bloemen van *Funiaria hygrometrica*. Men

vindt daar meestal een groote hoeveelheid protoplasma en een aantal tamelijk kleine vacuolen. Dat deze van tijd tot tijd ineensmelten, is zeer gemakkelijk waar te nemen; eenmaal zag ik ook, dat een kleine vacuole zich plotseling van een grootere afsnoerde en eenigen tijd daarna weêr met een andere versmolt.

§ 4. MERISTEEMCELLEN.

Bij de gevallen in deze § te behandelen, moet men doorsneden maken van de plantendeelen, die men onderzoeken wil. Hierdoor is het meestal niet zeer gemakkelijk vacuoledeeling te zien, vooral ook omdat het verschijnsel hier veel langzamer gaat, dan in andere gevallen; wanneer men evenwel maar genoeg praeparaten beschouwt, vindt men van tijd tot tijd wel eens een vacuole, die zich deelt. Het is natuurlijk duidelijk, dat men ook hier de coupes in een 3—5 % suikeroplossing moet brengen, en dat deze van tijd tot tijd ververscht moet worden.

Bij het eerste voorbeeld, dat ik hier wensch te bespreken, behoeften eigenlijk nog geen doorsneden gemaakt te worden; het betreft embryonen van *Capsella Bursa Pastoris*. Vacuoledeeling werd hier verschillende malen waargenomen, het gemakkelijkste in den kiemdrager; in fig. 7a—c Pl. I heb ik een cel van den kiemdrager in drie verschillende stadiën afgebeeld. In fig. 7a ziet men, dat er twee vacuolen aanwezig zijn, waartusschen de kern ligt. De vacuole rechts is in het midden eenigszins ingesnoerd. Deze insnoering werd nu voortdurend sterker, totdat de vacuole ge-

heel in tweeën gedeeld was, en na $1\frac{1}{2}$ uur de cel zich vertoonde, zooals in fig. 7b is afgebeeld. De onderste van deze twee vacuolen had een tamelijk onregelmatige gedaante, maar nam in den tijd van een uur een meer elliptischen vorm aan, waarbij de twee vacuolen met hunne uiteinden gedeeltelijk over elkaâr kwamen te liggen (fig. 7c). Wat overigens bloemdeelen betreft, nam ik vacuoledeeling nog waar bij cellen uit een jong ovulum van *Limnanthemum cordatum*, en uit jonge bloemknoppen van *Aristolochia Clematitis*. Ook in zeer jonge meeldraden van *Hippuris vulgaris*, die zich nog in meristematischen toestand bevonden, zag ik een paar maal deeling van vacuolen plaats hebben.

Jonge epidermiscellen van de bladeren van *Vitis vinifera* bevatten vacuolen, die een tamelijk sterk lichtbrekenden inhoud vertoonen; het was daarom vrij gemakkelijk, hier eenige malen vacuoledeeling waar te nemen. Het verschijnsel werd eveneens gezien in de jonge epidermiscellen van de bladeren van *Geranium pyrenaicum*.

Ook in cellen uit het meristeem van den stengeltop van *Asparagus officinalis* zag ik deeling van vacuolen plaats hebben; zoo lag b. v. in een cel een vacuole, die langzamerhand werd ingesnoerd door een ringvormige protoplasmaitstulping, die zich in de optische doorsnede als twee uitstulpingen tegenover elkaâr vertoonde; deze verplaatsten zich langzamerhand en werden daarbij voortdurend grooter, zoodat nog slechts een nauw kanaal de verbinding tusschen de twee deelen der vacuole onderhield; eindelijk na $1\frac{1}{2}$ uur waren

de protoplasmauitstulpingen ineengesmolten en hadden zoo de vacuole in twee kleinere gedeeld. Ik herinner er hier aan, dat het mij ook in het meristeem van *Asparagus* is mogen gelukken, de aanwezigheid van een tonoplast aan te toonen. Deeling van vacuolen werd ook waargenomen in de jongste meristeemcellen van den stengeltop van *Hydrocharis Morsus Ranae*.

Vacuoledeeling zag ik ten laatste ook nog in de jongste meristeemcellen van den worteltop bij *Phoenix reclinata* en *Vicia Faba*. Laat ik van het verschijnsel bij deze laatste plant nog een voorbeeld geven. Een cel bevatte rondom den kern twee groote en 4 kleine vacuolen; in den tijd van een uur zag ik een van de kleinere incensmelten met een groote vacuole; de andere groote had zich in tweeën gedeeld, terwijl een van deze twee weêr met een van de drie nog overgeblevene kleine vacuolen ineengesmolten was.

§ 5. VERBAND MET REEDS BEKENDE FEITEN.

Dat het niet onmogelijk was, dat vacuolen zich zouden kunnen deelen, was uit de bekende feiten reeds op te maken; kunstmatig toch had men reeds lang vacuolen er toe gebracht, zich in twee of meer deelen te splitsen.

Reeds Dutrochet ¹ toonde aan, dat men den inhoud van de cellen van internodien van *Chara fragilis* in twee deelen kan splitsen; hij maakte er namelijk ligaturen rondom heen, nadat hij eerst de schorseellen

¹ Sur la circulation des fluides chez le *Chara fragilis*. Ann. d. Sc. nat. 2^e série. t. 9. 1838.

had weggenomen. Daarbij gedroeg zich het protoplasma, alsof er nu twee cellen aanwezig waren; elke afdeeling bevatte een vacuole; daar rondom had de protoplasmastrooming op de gewone wijze plaats. Pringsheim¹ kreeg hetzelfde resultaat bij *Nitella flexilis*; hij maakte echter geen ligatuur rondom de cel, maar richtte op een bepaald punt het brandpunt van een lens, waar hij een bundel zonnestralen door liet vallen. Hierdoor stierf dit deel van de cel, maar de inhoud van het overige deel gedroeg zich nu weêr, alsof er twee cellen waren.

Het was ook reeds lang bekend, dat men bij normale plasmolyse een protoplast zich in twee of meer deelen kon zien splitsen; hierbij verdeelt zich natuurlijk ook de vacuole. Vooral in langgerekte cellen is dit verschijnsel zeer dikwijls waar te nemen, zoo b. v. in wortelharen, waar Hofmeister het reeds 20 jaar geleden gezien heeft, zooals uit zijn bekende figuur² van de plasmolyse van wortelharen van *Hydrocharis Morsus Ranae* blijkt.

In al deze gevallen wist men echter nog niets van een vacuolewand; het spreekt evenwel van zelf, dat deze zich bij de zoeven genoemde verschijnselen in twee of meer deelen moet splitsen. De Vries³ heeft dit dan ook waargenomen, nadat het overige protoplasma gedood was, b. v. bij *Spirogyra*.⁴

¹ Pringsh. Jahrb. f. Wiss. Bot. Bd. XII. pag. 324.

² Pflanzenzelle. fig. 11.

³ Plasm. Studien über die Wand der Vacuolen. Pringsh. Jahrb. Bd. XVI. pag. 499.

⁴ l. c. Taf. XXIV. fig. 1 A—C.

Wij zijn pas sedert een half jaar bekend met een geval van vacuoledeeling in het normale leven, namelijk bij de tentakels van *Drosera*. De Vries ¹ ontdekte, dat de door Darwin het eerst geziene agregatie hoofdzakelijk bestaat in een voortdurende deeling van de groote roodgekleurde vacuole in een aantal andere, en daarbij een afname in volumen van deze vacuolen. Met het laatste hebben wij hier niets te maken; nu wij echter weten, dat het eerste feit niet op zichzelf staat, maar het een algemeene eigenschap van levende tonoplasten is, zich te deelen, moeten wij in het geval van *Drosera* alleen aan een bijzonder geval van een algemeenen regel denken; hier werkt dus eiwit als een prikkel tot het doen optreden der vacuoledeeling, die dan veel sneller plaats heeft dan gewoonlijk in meristemen of cellen, die zich nog moeten deelen. Misschien staat dit daarmee in verband, dat ook de circulatie van het protoplasma veel vlugger gaat dan ergens anders bij vacuoledeeling.

§ 6. VACUOLEDEELING GEVOLGD DOOR CELDEELING.

Eenmaal zag ik bij *Cladosporium herbarum* een celdeeling plaats hebben; hier had zich de vacuole eerst in een aantal kleinere gesplitst, en daarna had zich een wand in de cel gevormd, zoodat elk van de beide nieuwe cellen sommige van de vacuolen bevatte.

Iets dergelijks nam ik tweemaal waar bij haren op de epidermis van zeer jonge blaadjes in den knop van

¹ Bot. Zeitg 1886. pag. 1.

kiemplantjes van *Cucurbita Pepo*. Het eene geval is afgebeeld in fig. 8a—b op Plaat I; eenige uren voor dat ik fig. 8a teekende (dit geschiedde 's middags te 4 uur), bevatte het haar een enkele vacuole; deze deelde zich in twee andere, waartusschen de kern kwam te liggen (fig. 8a); toen ik den volgenden morgen het praeparaat weder beschouwde, zag ik, dat de cel zich gedeeld had, en nu elk van de beide cellen een vacuole bevatte, blijkbaar dezelfde, die zich eerst door deeling uit de oorspronkelijke vacuole hadden gevormd. In het andere geval had ik geen vacuoledeeling zien voorafgaan; het was een jong haar, dat ééncellig was en 3 vacuolen bevatte; den volgenden dag was ook hier weêr een deelwand ontstaan, zoodat er één cel aanwezig was met 1 vacuole, en een andere met 2.

Ik geloof, dat men wel als een algemeene regel mag beschouwen, dat celdeeling voorafgegaan wordt door vacuoledeeling, of wel dat zij gelijktijdig plaats hebben. Het eerste is misschien niet altijd noodig in meristeenncellen, waar een aantal vacuolen aanwezig is, en zoo bij celdeeling elke dochtercel ook weer meer dan een vacuole zal bevatten; hierdoor is het mogelijk, dat ook die dochtercellen zich nog eens deelen, zonder dat vacuoledeeling er aan is voorafgegaan. Waarschijnlijk is dit evenwel niet, daar men in alle meristeenncellen een zoo groot aantal vacuolen vindt, en deze zich zoo algemeen deelen.

Wat het gelijktijdig voorkomen van celdeeling en vacuoledeeling betreft, dit heeft zeker plaats bij draadwieren, en wellicht in sommige andere gevallen, waar

een enkele vacuole in de cel aanwezig is, die zich op zichzelf niet zou splitsen, zooals misschien in enkele haren en in het geval van celdeeling, dat Treub¹ heeft afgebeeld bij een integumenteel van een zaadknop van *Epipactis palustris*. Voor draadwieren kunnen wij als voorbeeld nemen *Spirogyra*; men weet, dat hier een enkele vacuole aanwezig is; bij de celdeelig wordt deze door den nieuw ontstanen celwand ingesnoerd, en zoodoende zal tegelijk met de celdeeling ook de vacuoledeeling zijn afgeloopen.

§ 7. CONCLUSIE.

De conclusie, die men trekken moet uit de feiten in dit Hoofdstuk meêgedeeld, is, dat vacuoledeeling een algemeene eigenschap is van alle jonge cellen. In Hoofdstuk I is ons gebleken, dat alle levende cellen vacuolen bevatten, omgeven door een eigen wand. Een nieuwvorming van vacuolen behoeft dus niet meer te worden aangenomen; integendeel, uit de hier meêgedeelde onderzoekingen blijkt, dat tonoplasten zich geheel gedragen als kernen en trophoplasten, en dus de eigenschap hebben zich in jonge cellen door deeling te vermenigvuldigen, ten einde bij de celdeeling te zorgen, dat elke cel de organen van het protoplasma bezit, die zij noodig heeft. Dus zijn alle vacuolen van een plant ontstaan door deeling uit de

¹ Quelques recherches sur le rôle du noyau dans la division des cellules végétales. Pl. III. fig. 12.

vacuole van de eicel der moederplant; deze vacuole is evenwel weêr afkomstig uit den embryozak en dus ook weêr uit de eicel van de vorige moederplant, enz.

Het is nu evenwel nog de vraag, of de vacuole van de bevruchte eicel onveranderd dezelfde is als die van de onbevruchte; bezit dus de tonoplast in de bevruchte eicel eigenschappen van vader- en moederplant, of alleen van de laatste? Dezelfde vraag geldt natuurlijk ook voor trophoplasten; laten wij ons hier evenwel speciaal met vacuolen bezighouden. Er bestaan bastaarden van gekleurde planten, waar de kleuren van vader- en moederplant vereenigd worden gevonden in den bastaard, hetzij in dezelfde of in verschillende cellen. Zoo deelt Darwin ¹ mede, dat Kölreuter bastaarden heeft verkregen van een witte en een gele variëteit van *Verbascum Lychnitis*, die een kleur vertoonden, tusschen die der beide ouderlijke planten in gelegen; het is bekend, dat bij *Verbascum* de gele kleurstof opgelost is in het celvocht. Evenzoo deelt Darwin ² mede dat het Knight gelukte, bonte druiven te krijgen, door de witte druif te bestuiven met pollen van de gevlekte blauwe *Aleppodruif*. Zoo doet Hoffman ³ ons eenige waarnemingen kennen omtrent kruising van *Mimulus cardinalis* en *moschatus*; hij kreeg daarbij een bastaard, die oranjerood van kleur was met een donkerroode keel. Deze werd daarop bestoven met pollen van de donkerblauwe *Torenia*

¹ *Animals and Plants under Domestication*. 2nd edition. 1882. II. pag. 81.

² *l. c. I.* pag. 419.

³ *Bot. Zeitg.* 1884. pag. 216.

asiatica; uit de daarbij verkregen zaden ontstonden planten met bloemen, waarvan de kleur een mengsel was van lazuurblauw en vuurrood.

Wij zullen in het 4^e Hoofdstuk zien, dat de oorzaak van de kleur van het celvocht gelegen is in den vacuolewand, en waar men dus bij een bastaard een anders gekleurd celvocht krijgt, moet dit een gevolg zijn van andere eigenschappen van den tonoplast.

Daar dus de vacuolewand bij bastaarden de eigenschappen van vader- en moederplant aanneemt, zal dit ook bij de normale bevruchting moeten plaats hebben. Vindt dus misschien bij de bevruchting een vereeniging plaats van de vacuole uit de eicel met die uit de mannelijke cel? Op zichzelf zou dit zeker niet onmogelijk zijn. Aan directe waarneming valt op het oogenblik nog niet te denken; wanneer men nagaat, hoe moeilijk het is, de vereeniging van vrouwelijken en mannelijken kern te zien, dan zal men nog wel wanhopen, iets omtrent vereeniging van mannelijke en vrouwelijke vacuole waar te nemen. Wij kunnen echter wel eenige gissingen wagen, wanneer wij meer de lagere planten in het oog houden. Bevatten daar namelijk de spermatozoiden vacuolen? Wat de pollenkorrels der Phanerogamen betreft, daar hebben wij gezien, dat steeds vacuolen aanwezig zijn; maar nu de spermatozoiden? Ik herinner hier nog eens aan de opmerkingen van Strasburger omtrent de spermatozoiden der varens en Equiseta. Wanneer deze geen andere vacuolen bevatten dan de blaas, die zij dragen, en die dikwijls voor de bevruchting weêr verloren gaat, dan zou hieruit blijken, dat de mannelijke vacuole voor de

bevruchting niet noodzakelijk is, en dus vermoedelijk ook bij de hoogere planten de vacuole der eicel niet ineensmelt met die van de pollenbuis.

Ik heb in dit hoofdstuk herhaaldelijk gewezen op de vormveranderingen der vacuolen, ook in de allerjongste meristeemcellen; niet alleen vinden telkens deelingen en ineensmeltingen van vacuolen plaats, maar elk oogenblik ontstaan protoplasmauitstulpingen en worden er weêr ingetrokken. Het protoplasma is dus ook in zeer jonge cellen voortdurend in beweging. Volgens de algemeene meening zou protoplasma-beweging eerst in eenigszins oudere cellen optreden; hierin volgt men Hofmeister, die hieromtrent zeide: ¹ „Derartige Anordnung des Protoplasmas, und strömende Bewegungen in den Streifen und Strängen desselben treten nicht früher ein, als bis das Volumen des von wässeriger Flüssigkeit erfüllten Innenraumes der Zelle dasjenige des Protoplasmas derselben erheblich übertrifft. So lange die Vacuole in der jungen Zelle noch nicht vorhanden, oder so lange ihr Durchmesser nicht um ein Vielfaches den des Wandbeleges aus Protoplasma übertrifft, wird das Protoplasma stets in Ruhe gefunden.”

Wanneer wij dus nog eens den inhoud van dit hoofdstuk in verband met het voorgaande kort samenvatten, dan krijgen wij de volgende resultaten:

1. In alle jonge cellen vindt deeling en ineensmelting van vacuolen plaats.

¹ Pflanzenzelle. pag. 35.

2. Alle vacuolen in een plant zijn door deeling afkomstig van die uit de eicel der moederplant.

3. De tonoplasten staan dus als organen van het protoplasma gelijk met kernen, trophoplasten en buitenlaag.

4. Reeds in de allerjongste cellen vindt protoplasmabeweging plaats; levend protoplasma is dus voortdurend in beweging.

HOOFDSTUK III.

VORMING VAN VACUOLEN UIT PROTOPLASMA HEEFT NIET PLAATS.

§ 1. INLEIDING.

In het vorige Hoofdstuk is de juistheid der hypothese van de Vries aangetoond, volgens welke vacuolen zich door deeling zouden vermenigvuldigen. In een korte kritiek van de verhandeling van de Vries had Pfeffer¹ zich als volgt over deze meening uitgelaten: „Diese allerdings hypothetisch vorgetragene Annahme ist jedenfalls durch die derzeitigen Thatsachen nicht bewiesen, doch lässt sich auch das Gegentheil nicht behaupten. Erwägt man übrigens, dass das etwa aus einer Internodialzelle von *Nitella* hervorgequetschte Protoplasma zahlreiche Vacuolen bildet, die sich sogleich auf der Aussenfläche mit Plasmahaut umkleiden (und diese ist ja wesentlich übereinstimmend mit Va-

¹ Bot. Zeitg. 1886. pag. 117.

cuolenwand), dass bei niederer Temperatur das Protoplasma in der Zelle eines Staubfadenhaares van *Tradescantia* in zahlreiche Ballen zerfällt, die ohne Aufnahme van Farbstoff, gleichsam amöbenartig in dem gefärbten Zellsaft sich bewegen, so wird man zunächst mehr geneigt sein, dem Könerplasma als solchem die Fähigkeit zuzuschreiben, das peripherische Hautplasma zu bilden." Hoe het laatstgenoemde feit bij eenige mogelijkheid tegen de meening van de Vries zou kunnen pleiten, is mij totaal onbegrijpelijk. Het eerste bezwaar zal ik in dit hoofdstuk nader trachten te weêrleggen.

Nägeli ¹ was de eerste, die den inhoud van verschillende cellen in water deed uittreden. Hiertoe bezigde hij internodiencellen van *Chara* en de cellen met gekleurd celvocht van verschillende vruchten; ook deed hij hetzelfde met pollenmoedercellen, jonge pollenkorrels en embryozakken. ² Hij zag nu vacuolen optreden en zich vergrooten; dit laatste vond niet plaats, wanneer hij in plaats van water een suikeroplossing van voldoende sterkte gebruikte. Nägeli houdt het er in de meeste gevallen voor, dat de vacuolen als zoodanig voorhanden waren in de cel, waarvan de inhoud in water wordt gebracht, hoewel hij toch ook van tijd tot tijd spreekt van een ontstaan van nieuwe vacuolen op plaatsen, waar zij vroeger niet aanwezig waren. Later heeft Nägeli deze meening nog eens verdedigd ³;

¹ Nägeli und Cramer, Pflanzenphysiologische Untersuchungen. 1855. I. pag. 9.

² l. c. I. pag. 24.

³ Das Mikroskop. pag. 549.

het idee van het ontstaan van een neerslagmembraan, door hem het eerst opgeworpen, werd hier nader uiteengezet, en het optreden van vacuolen in protoplasma vergeleken met het opzwellen van chlorophyllkorrels en celkernen in water. Op het laatstgenoemde verschijnsel komen wij in § 3 van dit hoofdstuk terug.

Hofmeister¹ is eigenlijk oorzaak geweest, dat men zoo algemeen geloofd heeft, dat bij het brengen van protoplasma in water, vacuolen zouden ontstaan. Ik wil namelijk reeds nu opmerken, dat deze meening onjuist is; waar geen vacuolen aanwezig waren, ontstaan er ook geen bij het brengen van protoplasma in water. Hofmeister vertelt namelijk, dat hij het optreden van nieuwe vacuolen in een aantal gevallen gezien heeft, zoo bij verwonding aan de bevruchte embryozakken van Leguminosen. Het ontstaan van vacuolen in de cellen is volgens hem waar te nemen bij de sporenmoedercellen van *Phascum*, *Pottia* en *Encalypta*, aan spermatozoiden van *Characeae*, *Pellia*, *Varens* en *Equiseta*. Het toenemen in omvang van reeds voorhanden vacuolen, tengevolge van wateropname en het daaropvolgende barsten vindt plaats bij alle in zuiver water gebrachte meristeemcellen, behalve bij degene, die bestemd zijn, om in water te leven. Bij deze laatste (o. a. zwermsporen van *Algae* en *Fungi*) moet eerst de eigenaardige organisatie van het wandstandig protoplasma verwoest worden door een begin van indrogen, door lichte verwonding, door plotseling tot op 50° verhoogde temperatuur, of door

¹ Pflanzenzelle. pag. 6.

onttrekking van zuurstof. Het uittreden van den celinhoud in water en het daarbij optreden van vacuolen, meende Hofmeister verder nog te zien ¹ bij *Vaucheria*, *Cladophora*, *Hydrodictyon*, *Chara*, wortelharen van *Hydrocharis* en cellen uit sappige vruchten.

Sachs droeg er vervolgens veel toe bij, om de meening van Hofmeister ingang te doen vinden. Hij gaf een afbeelding ² van het uittreden van den inhoud eener cel van *Vaucheria* in water en verklaarde die afbeelding zoodanig, alsof daar vacuolen bij zouden optreden.

Pfeffer ging in zijne *Osmotische Untersuchungen* ³ weêr van dezelfde verschijnselen uit; hij deelt hier de waarneming mede, dat in suikeroplossing wel vacuolen te zien zijn, maar dat deze zich niet vergrooten; dit gebeurt wel, wanneer later water wordt toegevoegd. Hij heeft echter later dat feit weêr ontkend ⁴ en beweerd, dat de vacuolen in het geheel niet optreden, wanneer men, in plaats van den celinhoud in water uit te drukken, een oplossing van Cl Na of suiker van voldoende sterkte gebruikt. Pfeffer experimenteerde later hoofdzakelijk met wortelharen van *Hydrocharis Morsus Ranae*; hij geeft ook een afbeelding van het verschijnsel, zooals het zich bij deze plant voordoet ⁵; hieruit laat zich evenwel volstrekt niet afleiden, dat er werkelijk nieuwe vacuolen ontstaan. Die

¹ l. c. pag. 73.

² *Lehrbuch der Botanik*. 4e Aufl. pag. 42. fig. 40.

³ *Osmotische Untersuchungen*. 1877. pag. 127.

⁴ *Pflanzenphysiologie*. 1884. I. pag. 35.

⁵ *Pflanzenphysiologie*. I. fig. 4.

waarnemingen stonden in verband met zijne meening omtrent het ontstaan van een neerslagmembraan; om zijne ideeën juistert aan te toonen, haal ik hier zijn eigen woorden aan¹: „Die Bildung von Vacuolen, welche vielfach an Protoplasmakörpern stattfindet, wenn sie aus verletzten Zellen in Wasser übertreten (z. B. bei Vaucheria, Nitella, Wurzelhaaren von Hydrocharis), ist übrigens selbst ein Beispiel begrenzter Imbibitionsfähigkeit des Protoplasmas. Denn die Vacuolen entstehen, indem wässrige Flüssigkeit innerhalb des Protoplasmas sich absondert, und solches ist nur möglich, weil das Protoplasma sich nicht wie ein löslicher Körper, mit beliebig viel Wasser mengt. Gemäss seinen Eigenschaften wird die in seinem Innern ausgeschiedene Flüssigkeit ebenso gut, wie gegen einen gewaltsam in das Plasmodium von Aethalium eingeführten Wassertropfen, durch Plasmamembran sofort abgegrenzt. Sind in der ausgeschiedenen Vacuolenflüssigkeit Stoffe gelöst, so bringt deren osmotische Wirkung einen hydrostatischen Druck zuwege, welcher, wenn genügend, eine Ausdehnung der umhüllenden Plasmaschicht und eventuell deren Zerreiſung und Desorganisation herbeiführt. Diese Bildung und Vergrößerung und die damit zusammenhängende Zerstörung der Struktur unterbleibt aber, wenn statt des reinen Wassers eine genügend concentrirte Lösung von Kochsalz, Zucker oder anderen Stoffen genommen wird, und damit ist die Richtigkeit obiger Erklärung der Vacuolenbildung erwiesen.“

¹ l. c. I. pag. 35.

Strasburger, die in 1876 nog dezelfde meening omtrent het ontstaan van vacuolen in water was toege-
daan, en dit dacht te zien bij zwerm-sporen en gewone
celdraden van *Vaucheria*¹, is de eerste geweest, die
een juiste voorstelling heeft gegeven, van hetgeen bij
Vaucheria plaats heeft². Hij zag, dat, wanneer men
een draad van *Vaucheria* in water brengt en dan door-
sniijdt, zich telkens deelen van de groote vacuole af-
snoeren en door protoplasma en chlorophylkorrels
omgeven in vrijheid komen; daarna zag hij ze op-
zwellen en eindelijk barsten. Van een optreden van
nieuwe vacuolen wordt geen gewag gemaakt.

Na dit historisch overzicht wensch ik over te gaan
tot mijn eigen waarnemingen over dit onderwerp;
hierbij zal ik eerst behandelen het uittreden van proto-
plasma uit cellen, die meer dan één vacuole bevatten,
daarna uit die, welke er slechts een enkele bezitten,
en eindelijk hieraan toevoegen eenige opmerkingen
over het opzwellen van kernen en trophoplasten in
water.

§ 2. UITTREDEN VAN PROTOPLASMA UIT CELLEN, DIE EEN AANTAL VACUOLEN BEVATTEN.

Beschouwt men een vruchtsteel van *Pilobolus cristal-
linus* onder het mikroskoop in een 5% suikeroplos-
sing, dan ziet men, dat hij gevuld is met wat men
vroeger schuimachtig protoplasma zou genoemd heb-

¹ Studien über das Protoplasma. pag. 415, 416.

² Botanisches Praktikum. 1884. pag. 45, 46.

ben, dat wil zeggen, protoplasma waarin een groot aantal vacuolen liggen. Tusschen deze vacuolen ziet men protoplasmastroomingen plaats hebben; deze worden wel in het begin door de praeparatie gestoord, maar na eenigen tijd treden zij weêr op. De grootte der vacuolen is zeer verschillend; terwijl de doorsnede van vele niet grooter is dan 10 mikr., kunnen andere een diameter bereiken, die weinig verschilt van 150 mikr. Het aantal vacuolen is moeilijk te schatten; bij een oppervlakkige telling bleek het opgeblazen deel van een jongen vruchtsteel er niet minder dan 150—200 te bevatten. Wanneer men nu een zachte drukking op het dekglas uitoefent, barst de vruchtsteel, en de inhoud treedt langzamerhand uit de cel. In een 5 % of $2\frac{1}{2}$ % suikeroplossing, waarin een weinig eosine is opgelost, blijkt het protoplasma zeer spoedig te sterven, zooals gezien kan worden aan de roode kleur, die het aanneemt. De vacuolen daarentegen blijven kleurloos en behouden daarbij hun grootte, hoewel zij zooveel mogelijk een bolvormige gedaante aannemen. Voegt men nu water toe, dan beginnen de vacuolen sterk op te zwellen en maken zich zoodoende dikwijls vrij van het omringende gestorven protoplasma. Nadat zij eenigen tijd in omvang zijn toegenomen, ziet men ze plotseling barsten en den tonoplast samenschrompelen. Van een optreden van nieuwe vacuolen is nooit iets waar te nemen.

De embryozak van *Draba verna* bevat een groote hoeveelheid protoplasma, en daartusschen bevinden zich een aantal vacuolen. Wanneer men den kiemzak geopend, in 5% suikeroplossing onder het mikroskoop

heeft gebracht en daarna een zachte drukking op het dekglas uitoefent, kan men den geheelen inhoud in de omringende vloeistof doen uittreden; men ziet geen verandering plaats hebben. Anders wordt het, wanneer men de suikeroplossing door water vervangt; langzamerhand beginnen nu de vacuolen, die buiten aan den rand van de geheele protoplasmamassa liggen, op te zwellen en zich zoodoende allengs vrij te maken van het protoplasma. Heeft men gezorgd in het water een weinig eosine op te lossen, dan blijkt uit de roodkleuring, dat de buitenste deelen van den protoplast gestorven zijn, terwijl de vacuolen nog als kleurlooze bollen in de roode oplossing drijven; kort daarop barsten zij. Ondertusschen dringt het water steeds meer naar binnen; voortdurend zwellen er andere vacuolen op en sterft er meer protoplasma, totdat eindelijk al het protoplasma dood is en ook de laatste tonoplast gebarsten; van een optreden van nieuwe vacuolen is ook hier niets te zien. Het geheele verschijnsel gaat zeer langzaam, en het kan eenige uren duren voordat het geheel is afgelopen.

Jonge pollenkorrels van *Tulipa*, *Glycine sinensis*, *Cucurbita Pepo* en *Polygonatum vulgare* bevatten meestal meer dan één vacuole, zooals ik dit reeds in de vorige hoofdstukken heb uiteengezet. Wanneer men ze in 5% suikeroplossing brengt en dan onder het dekglas stuk drukt, barsten meestal door de drukking ook de vacuolen; een enkele maal evenwel vindt men een stuifmeelkorrel, die opengebarsten is, en waar nu langzamerhand de inhoud uittreedt. Men ziet nu dadelijk het protoplasma uiteenvallen, zoodra het uit de

cel komt; daarentegen blijven de vacuolen dezelfde grootte behouden, al nemen zij ook den kogelvorm aan; zij drijven daarbij vrij rond in de suikeroplossing. Het gelukte mij niet, de vloeistof onder het dekglas door water te vervangen, zónder de vacuolen uit het oog te verliezen, daarom moest ik de stuifmeelkorrels direct in water stuk drukken. Hierbij treden, wat het protoplasma betreft, dezelfde verschijnselen op als in de suikeroplossing, de vacuolen evenwel nemen zeer sterk in omvang toe, totdat de tonoplast barst.

Jonge zoösporangien van *Achlya* bevatten een groote hoeveelheid protoplasma met daartusschen liggende vacuolen. Het is nu zeer gemakkelijk den inhoud in water te doen uittreden, waarop het protoplasma sterft en tegelijkertijd de vacuolen opzwellen en eenigen tijd later barsten. Ook hier ontstaan geen nieuwe vacuolen.

Bij *Nitella flexilis*, en in mindere mate bij *Chara* kan men een soortgelijk verschijnsel zeer fraai waarnemen. Brengt men namelijk een aangesneden internodiaalcel in water, dan ziet men groote hoeveelheden protoplasma met chlorophylkorrels uittreden. Tegelijkertijd komen een groot aantal zeer kleine vacuolen uit de cel; deze vacuolen zwellen op en barsten na eenigen tijd; zij zijn in het bezit van een eigen wand, die in leven blijft, nadat het protoplasma reeds gestorven is. Waar komen nu deze vacuolen vandaan? Men ziet zeer duidelijk, dat zij uit de cel afkomstig zijn en dus niet door de werking van het water op het protoplasma zijn ontstaan, zooals dit volgens Hofmeis-

ter en Pfeffer het geval zou moeten zijn. Ongelukkig bevatten de cellen van *Nitella* een zeer groote massa protoplasma; dit hoopt zich bij het uittreden nog sterker op, waardoor niet met volkomen zekerheid is uit te maken, waar deze vacuolen zich in de cel bevinden. Zooals reeds gezegd is, vergrooten zij zich in water, evenwel niet zeer sterk; zij kunnen dus in de cel zelf ook niet zeer groot zijn geweest. Dit blijkt duidelijk, wanneer men den inhoud van een cel brengt in een 5 % suikeroplossing, waar de grootte dier vacuolen constant blijft; men ziet dan ook, dat zij ongeveer een gelijke doorsnede hebben als sommige van de kogels, die door het stroomend protoplasma worden meêgevoerd. Het is dan ook wel waarschijnlijk, dat een aantal van die tot nu toe zoo geheimzinnige lichamen niets anders zijn, dan kleine vacuolen, die niet ineengesmolten zijn met de groote. Wij weten immers, dat in jonge cellen van *Nitella* een groot aantal vacuolen aanwezig zijn; wanneer de meeste daarvan nu later meêgevoerd worden door het stroomend protoplasma, na zich eerst nog eenige malen gedeeld te hebben, dan is het verschijnsel, zooals het zich bij *Nitella* voordoet, verklaard. Dit zou in overeenstemming zijn met de meening van Nägeli en Pfeffer¹, dat het korrelig protoplasma zijn uiterlijk hoofdzakelijk te danken heeft aan zeer kleine vacuolen, die door de protoplasmastrooming zouden meêgevoerd worden.

¹ Pflanzenphysiologie I. pag. 32.

§ 3. UITTREDEN VAN PROTOPLASMA UIT CELLEN,
DIE ÉÉN VACUOLE BEVATTEN.

Deze § heeft betrekking op *Vaucheria* en op cellen met gekleurd celvocht; ik wensch deze laatste het eerst te bespreken, daar dan het verschijnsel bij *Vaucheria* beter begrepen zal worden. Ik nam het uittreden van vacuolen in water vooreerst waar bij de roodgekleurde haren op de epidermis van *Coleus* en de paarsgekleurde op de epidermis der bladeren van *Gynura aurantiaca*; in beide gevallen kan men, nadat een cel van een haar in water is opengesneden, de vacuole zien uittreden, zich daarbij in verschillende kleinere splitsen, en na eenigen tijd barsten; daar deze beide planten evenwel niet zoo geschikt zijn als de derde, die door mij onderzocht werd, zal ik er niet langer bij stilstaan. Een uitstekend voorbeeld voor het uittreden van vacuolen in water levert namelijk de epidermis van den onderkant der bladeren van *Passiflora trifasciata*. Deze bestaat uit tamelijk langgerekte, rechthoekige cellen, wier vacuole een donkerrood of roodviolet celvocht bevat. Wanneer men deze epidermis overlans van de plant neemt en dan in 10 % suikeroplossing legt, vindt slechts een geringe plasmolyse plaats. Vervangt men die vloeistof door een 6 % salpeteroplossing, dan ziet men oogenblikkelijk een sterke plasmolyse intreden, waarbij de vacuole zich in een aantal kleinere splitst. Wanneer men nu met een scherp scheermes het praeparaat doorsnijdt, loodrecht op de lengterichting der cellen, dan zullen sommige cellen geopend zijn, en in enkele daarvan

ligt toch nog de geplasmolyseerde inhoud. Wascht men nu met water uit, dan vliegen plotseling de vacuolen uit de cel; zij vergrooten zich daarbij zeer sterk en barsten plotseling. Eenigszins anders doet zich het verschijnsel voor, wanneer men de cellen reeds in de 10 % suikeroplossing doorsnijdt. Een dergelijk geval heb ik afgebeeld op Pl. II fig. 1*a*—*e*; in fig. 1*a* ligt de cel in 10 % suikeroplossing, men ziet de roodgekleurde vacuole *v* en het kleurlooze protoplasma, aan beide kanten daarvan gelegen. Ik zag nu, dat de vacuole zich langzamerhand naar de opening bewoog en eindelijk gedeeltelijk daaruit te voorschijn kwam; het gedeelte, dat nu buiten de cel lag, nam dadelijk een bolvormige gedaante aan en snoerde zich spoedig geheel van de oorspronkelijke vacuole af; de zoo vrij gekomen bol (ζ) was bovendien nog omgeven door protoplasma, dat aan één zijde duidelijk als een hyaline zoom te zien was. De groote vacuole was ondertusschen steeds verder uit de cel te voorschijn gekomen, waarbij nog eens een vacuole met een weinig protoplasma (ε) was afgesnoerd. De geheele verdere inhoudsmassa bleef bijeen, omgeven door protoplasma; maar daar binnen snoerde de vacuole toch telkens, wanneer zij weér een weinig buiten de cel was gekomen, een vacuole af (α , β , γ en δ); zoo ontstond het beeld, dat in fig. 1*b* te zien is; tusschen het teekenen van fig. 1*a* en 1*b* verliepen ongeveer 5 minnten. Nu bleef de toestand stabiel; anders werd het echter, toen de suikeroplossing door water vervangen werd; bij het doorzuigen van water onder het dekglas verdween helaas ζ uit het gezichtsveld. De andere vacuolen daarentegen begon-

nen op te zwellen en zich zooveel mogelijk af te ronden; zooals men ziet, verbleekte de kleur van ε langzamerhand (fig. 1c), de tonoplast begon dus te sterven, daar hij permeabel werd voor kleurstoffen; eerst was evenwel het uitwendig protoplasma gestorven, dat tegen ε aanlag, zooals ook in de teekening is aangeduid; nadat ε eindelijk bijna geheel kleurloos was geworden, barstte zij plotseling. De 4 nog overgeblevene vacuolen vergrootten zich zoo sterk, dat drie er van β , γ en δ geheel vrij buiten het protoplasma kwamen te liggen; γ en δ barstten daarop, terwijl zij nog tamelijk donker gekleurd waren, terwijl β zich sterk vergrootte evenals α ; tegen deze laatste vacuole lag het overige protoplasma, dit stierf evenwel zeer spoedig, terwijl α en β reeds tamelijk ontkleurd waren (fig. 1d). Kort na het teekenen van fig. 1d barstte β ; α nam nog steeds in omvang toe (fig. 1e), maar nadat de kleur van deze vacuole bijna geheel verloren was gegaan, barstte ook zij. Het zal iedereen duidelijk zijn, dat men hier niet met een nieuwvorming van vacuolen te doen heeft; men zou dan ook zeker geen gekleurde, maar wel kleurlooze vacuolen moeten zien optreden; daarom zijn gekleurde cellen zoo uitstekend geschikt, om dit verschijnsel te bestudeeren.

Nu wij gezien hebben, wat er gebeurt bij het uit treden in water van den celinhoud van epidermiscellen van *Passiflora trifasciata*, kunnen wij het bekende verschijnsel bij *Vaucheria* beter begrijpen, omdat daar volkomen hetzelfde plaats heeft als bij *Passiflora*. Wanneer men een gewone celdraad van *Vaucheria* plasmolyseert, bemerkt men, dat in de cel een groote

vacuole aanwezig is, die zich dan meestal in eenige kleinere splitst. Plasmolyseert men met een 10 % salpeteroplossing gekleurd door eosine, dan sterft de buitenlaag van het protoplasma, en blijft daarbij meestal met de chlorophylkorrels tegen den celwand liggen, terwijl de tonoplast zich in verschillende deelen heeft gesplitst, waardoor binnen in de cel een aantal kleurlooze bollen te midden van de roode oplossing te vinden zijn. Ik geloof, dat het nu het beste zal zijn, wanneer ik een van de gevallen, die ik gezien heb bij het uittreden van den inhoud van een cel van *Vaucheria* in water, iets nader beschrijf. Een celdraad van *Vaucheria* was gebracht in 30 % suikeroplossing en daarna doorgesneden; ik zag nu de vacuole gedeeltelijk naar buiten gedreven en daarop zich een stuk nog in de cel afsnoeren; de groote vacuole veranderde verder niet, maar het protoplasma, dat er tegen aan lag, vertoonde het bekende verschijnsel van celwandvorming, nadat de suikeroplossing was uitgewassen. Keeren wij tot de afgesnoerde vacuole terug; deze had een tamelijk onregelmatige langwerpige gedaante, en had ook weêr gedeeltelijk een kleine vacuole a afgesnoerd; er bleef evenwel nog een communicatie tusschen beide over. Zoodra ik nu de 30 % suikeroplossing verving door een suikeroplossing van een sterkte van 15 %, trad er dadelijk een verandering in; een gedeelte van de vacuole vereenigde zich met a, het andere gedeelte snoerde zich zelfstandig af tot een tweede vacuole b, terwijl bovendien nog 5 kleinere vacuolen waren afgesnoerd; a had in 30 % suikeroplossing een diameter van 36 mikr., in 15 % suikeroplossing 49 mikr., b in

de laatstgenoemde vloeistof 35 mikr., en de kleine vacuolen 5—10 mikr. Nu werd ook de 15 % suikeroplossing vervangen door water, dat roodgekleurd was door middel van eosine; 2 kleine vacuolen verdwenen dadelijk, de 3 andere zwollen sterk op en barstten spoedig. De diameter van a bereikte een grootte van 67 mikr.; in de vorige phase was a bijna geheel ingesloten geweest door protoplasma en chlorophylkorrels, zoodat slechts op twee plekken de hyaline blaas, die zich daarbinnen bevond, duidelijk te zien was; nu evenwel schoof de vacuolewand voortdurend chlorophylkorrels van zich af, zoodat de eene kant bijna geheel doorschijnend was geworden. Het protoplasma omgaf de vacuole nu zoodanig, dat zij zich niet geheel vrij kon uitzetten; dit had tengevolge, dat zij langzamerhand een uitstulping begon te vormen, die steeds grooter en grooter werd, en volkomen doorschijnend was op een rij chlorophylkorrels na, die er buiten tegen aanlag; noemen wij deze vacuole a_2 . Na eenigen tijd snoerde a_2 zich van a af, en kwam zoo geheel vrij; de doorsnede van a was op dat oogenblik 73 mikr., die van a_2 60 mikr.; a_2 nam nu voortdurend in omvang toe en barstte eindelijk op het oogenblik, dat zij een grootte van ongeveer 140 mikr. had bereikt. Eenigzins anders gedroeg zich a; deze vergrootte zich ook wel, maar toen zij een doorsnede had gekregen van 120 mikr., werd zij langzamerhand permeabel voor de eosine en stierf eindelijk geheel te gelijker tijd met het omliggende protoplasma, zonder samen te schrompelen; zij werd daarin waarschijnlijk verhinderd door protoplasma en chlorophylkorrels. De

vacuole b , die in 15 % suikeroplossing geheel omgeven was geweest door chlorophylkorrels, begon in water een kleinen hyalinen zoom te vertoonen, toen de geheele vacuole een doorsnede had van 42 mikr.; de vacuole b schoof nu hoe langer hoe meer uit de chlorophylkorrels, totdat zij een diameter van 60 mikr. had bereikt, toen zich een vacuole b_2 van haar begon aftesnoeren. Toen b_2 een doorsnede had gekregen van 58 mikr., maakte zij zich geheel vrij en snoerde een kleine vacuole b_3 af; evenzoo vormde zich een deel van b tot een vacuoletje b_4 ; b_3 en b_4 barstten vrij snel, daarna ook b_2 . Nu kleurden zich het protoplasma en de chlorophylkorrels rondom b door de eosine, maar de tonoplast b bleef nog ongeveer een uur leven, en barstte toen, maar schrompelde daarbij niet samen, hierin waarschijnlijk verhinderd door het omringende doode protoplasma. Wanneer men nu nog eens de afbeelding van Sachs nauwkeurig beschouwt, dan zal men zien, dat ook daar het verschijnsel volkomen zoo was, als het hier beschrevene: vacuolen eerst voor het oog verborgen door de chlorophyl- en protoplasmamassa's, waardoor ze omringd werden, zwellen in water op en worden zodoende zichtbaar; nieuwvorming van vacuolen heeft evenwel niet plaats.

Tot deze categorie behooren ook de wortelharen van *Hydrocharis Morsus Ranae*; hoewel ik ze niet zelf onderzocht heb, kan men toch uit analogie met het voorgaande hier tot volkomen hetzelfde resultaat komen, dat namelijk ook hier geen nieuwe vacuolen optreden, maar degene, die zichtbaar worden, afkomstig

zijn van de groote vacuole in het wortelhaar. Een vergelijking van Pfeffer's figuur ¹ met mijne fig. 1a—e Plaat II, zal de overeenkomst van dit geval met dat van *Passiflora* nog beter illustreeren.

§ 4. OPZWELLEN VAN KERNEN EN

TROPHOPLASTEN.

Het eenige geval, waarin werkelijk zoogenaamde vacuolen ontstaan op plaatsen, waar zij niet aanwezig waren, vindt plaats bij het brengen van kernen en trophoplasten in water. Het eerst stelde Hofmeister ² dit verschijnsel gelijk met dat, wat ik zooeven bij *Vaucheria* beschreven heb, daarna deden ook Nägeli en Schwendener ³ hetzelfde; deze gaven daarbij tevens een zeer juiste afbeelding van het opzwellen van chlorophylkorrels in water. Schimper wees reeds in zijn eerste verhandeling ⁴ op de onbestendigheid der amyloplasten; is een cel aangesneden, dan zwellen zij dadelijk in water op. Later ⁵ gaf hij eenige afbeeldingen, waar ook weêr de overeenkomst schijnt te blijken met het opzwellen van vacuolen.

Wij moeten nu bedenken, dat alle organen van het protoplasma water met een zekere kracht moeten aantrekken, en wel met dezelfde kracht, waarmee het celvocht dit doet; deden zij dit niet, dan zou het celvocht hun gebonden water tot zich trekken totdat er

¹ Pflanzenphysiologie. I. fig. 4.

² Pflanzenzelle. pag. 369.

³ Das Mikroskop. pag. 550.

⁴ Bot. Zeitg. 1880. N^o. 52.

⁵ Bot. Zeitg. 1883. Pl. I. fig. 18, 19, 27 en 56.

weër evenwicht was. Vervolgens hebben wij hier te doen met organen, die omgeven zijn door een wand, of beter gezegd, wier buitenste lagen een eenigzins dichtere consistentie hebben dan de inwendige. Schimper heeft hier herhaalde malen op gewezen, wat amyloplasten betreft, in zijn vroeger genoemde verhandelingen; van de kernen is het genoeg bekend, dat zij een tamelijk hyaline buitenlaag bezitten, waarvan men over het algemeen aanneemt, dat zij dichter is dan het inwendige. Denken wij ons nu, dat zulke organen aan den invloed van hun omgeving worden onttrokken, of ook zonder dat in staat gesteld water op te nemen, dan zullen zij noodzakelijk tot een zeker volumen moeten aanzwellen. Zeer groot worden zij daarbij echter niet, dit kan dan ook niet anders, daar zij zoo weinig wateraantrekkende stoffen bevatten.

Laat ik een geval, dat tot deze § behoort, beschrijven: het doet zich voor bij *Tradescantia undata*. Eén van de meeldraden is daar met haren bezet, die aan de basis paars en van boven geel gekleurd zijn. Bij mikroskopisch onderzoek blijken de onderste cellen een paarse vacuole te bevatten, en daar rondom enkele gele bollen, die het uiterlijk van vacuolen hebben, en dan ook in water gebracht opzwellen en barsten, waarbij men den inhoud naar buiten ziet treden. De bovenste cellen bevatten op het eerste gezicht niets dan zulke gele lichamen; bij plasmolyse blijkt evenwel, dat in de cellen aan den top een ongekleurde vacuole voorkomt, geheel omgeven door gele bollen. Tusschen de onderste en bovenste cellen vindt men alle mogelijke overgangen. Bij de plasmolyse ziet men

ook dat de gele lichamen ineenschrompelen, en daaruit blijkt reeds, dat men geen normale vacuolen voor zich heeft. Het verschijnsel wordt dan ook door de ontwikkelingsgeschiedenis opgehelderd; in zeer jonge haren ziet men een aantal ongekleurde trophoplasten, die in iets ouderen toestand zijn overgegaan in gele chromoplasten. Wanneer de bloem zich opent, worden deze gedesororganiseerd en vertoonen zich als gele vacuolen; dit duurt evenwel niet lang, want een halven dag later zijn zij reeds geheel ineengeschrompeld, terwijl de werkelijke vacuolen nog in leven zijn. Men heeft hier dus een stervensverschijnsel voor zich, dat in het normale leven nooit voorkomt; evenzoo is het ook met het opzwellen van kernen en chlorophylkorrels; in een goed levende cel wordt dit niet waargenomen.

Wat moeten wij dus voortaan vacuolen noemen? Het komt mij voor, dat men dezen naam in het vervolg alleen mag toepassen op de physiologische organen, omgeven door een tonoplast, die in de normale cel aanwezig zijn en door deeling uit de vacuole in de eicel ontstaan zijn. De bollen met vloeistof gevuld, die optreden bij de desorganisatie van kernen en trophoplasten, en in het normale leven van deze organen niet voorkomen, maar pas bij hunnen dood zichtbaar worden, zou men dan kunnen bestempelen met den naam „pathologische vacuolen.”

§ 5. CONCLUSIE.

Vatten wij de uitkomsten van dit Hoofdstuk in korte woorden samen:

1. Vacuolen kunnen niet ontstaan uit protoplasma; waar men dit tot nog toe meende waar te nemen, had men te doen met een opzwellen van reeds bestaande vacuolen.

2. Het opzwellen van kernen en trophoplasten is een pathologisch verschijnsel, dat in niet het minste verband staat met het optreden van normale vacuolen.

HOOFDSTUK IV.

HET VOORKOMEN VAN MEER DAN ÉÉN VACUOLE IN EEN CEL. ADVENTIEVE VACUOLEN.

§ 1. INLEIDING.

Op het oogenblik heerscht tamelijk algemeen de overtuiging, dat volwassen cellen slechts een enkele vacuole bevatten. Wel zijn enkele malen verschijnselen waargenomen, die met deze meening niet in overeenstemming waren, maar deze werden of verkeerd verklaard, of voor uitzonderingen aangezien. Nägeli¹ beschreef cellen van een bloemblad van *Tulipa Gessneriana*, die een gekleurde vacuole bevatten, die slechts de helft van de ruimte der cel innam; bij plasmolyse bleek evenwel, dat het wandstandig protoplasma overal tegen den wand aanlag. Nägeli spreekt dan ook van de aanwezigheid van een ongekleurde

¹ Nägeli und Cramer, Pflanzenphysiologische Untersuchungen. 1855. Tafel II. fig. 1, 2.

blaas; hij beweert echter, dat deze in het gekleurde celvocht ontstaan en zich dan met een neerslagmembraan omgeven zou.

Hildebrand ¹ beschrijft ook drie gevallen, die m. i. voor het voorkomen* van meer dan een vacuole in volwassen cellen pleiten. Vooreerst nam hij waar ², dat de buitenste cellen van de bloembladeren van *Strelitzia Reginae* hun kleur te danken hebben aan een aantal blauwe bollen; deze zouden in het kleurlooze celvocht zweven en hoofdzakelijk in hun buitenste lagen de kleurstof bevatten. Zooals wij straks zullen zien, heeft Schimper aangetoond, dat wij hier met blauwe vacuolen te doen hebben. Bij *Tillandsia amoena* vond Hildebrand ³ de toppen der bloemdek-slippen gekleurd door blauwe kogels, waarvan elke cel er gewoonlijk één, soms meer bevatte; hun kleur was nu eens lichter, dan weêr donkerder. Hildebrand meende, dat het soliede kogels waren, die in het celvocht lagen, maar daar bij behandeling met alcohol de kleur ook overging op het ongekleurde deel van de cel, komt het mij zeer waarschijnlijk voor, dat hier een kleine blauwe en een of meer grootere ongekleurde vacuolen aanwezig zijn. De onderzoekingen van Schimper bevestigen dit vermoeden. Eindelijk zag Hildebrand ⁴, dat de gele kleur van de bloemkroon en de meeldraden van verschillende *Acacia*soorten ver-

¹ Anat. Unters. über die Farben der Blüthen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. III. pag. 61.

² l. c. Taf. IV. fig. 1.

³ l. c. Taf. IV. fig. 2.

⁴ l. c. Taf. IV. fig. 8.

oorzaakt werd door een gele, vloeibare massa, die ongeveer de helft van de cel innam en door een zeer scherpe lijn gescheiden werd van het ongekleurde gedeelte. Bij behandeling met alcohol of kali nam ook het ongekleurde deel van de cel een gele kleur aan; hier komen dus waarschijnlijk ook weér twee vacuolen in elke cel voor, een gele en een ongekleurde.

Schimper¹ deelt het volgende mede over de blauwe kogels, die Hildebrand bij *Bilbergia* (*Tillandsia*) amoena zag: „Unversehrte Zellen dieser Pflanze besitzen einen wandständigen Plasmakörper, der den blaugefärbten Saft Raum umgiebt; erst bei beginnendem Absterben, in Folge der Präparation oder in welkenden Blüthen, finden, wie ich es auch in anderen Fällen häufig beobachtet habe, Veränderungen in der Gestalt des Plasmakörpers statt, in Folge welcher neue Vacuolen auftreten und der bisher allein vorhandene Saft Raum entsprechend an Grösze abnimmt, und nicht selten durch Plasmawände getheilt wird. Der Farbstoff, der durch das Plasma nicht zu diffundiren vermag, bleibt in der ursprünglichen reducirten Vacuole, resp. den Theilungsproducten derselben, während die neu auftretenden Vacuolen nur farblosen Saft enthalten.” Wij zullen later zien, dat die ongekleurde vacuolen vroeger ook aanwezig waren. Van de blauwe kogels van *Streitzia Reginae* deelt Schimper de ontwikkelingsgeschiedenis mede; de jonge witte bloemdekbladeren bevatten een netvormigen protoplast, waarvan de holten gevuld

¹ Ueber die Entwicklung der Chlorophyllkörner und Farbkörper. Bot. Zeitg. 1883. pag. 127.

zijn met een kleurloos celvocht. Later neemt dit een roode, en daarop een steeds donkerder wordende blauwe kleur aan, waardoor in volwassen cellen een groot aantal blauwe vacuolen aanwezig zijn.

Het was mij niet mogelijk, *Strelitzia Reginae* of *Bilbergia amoena* te onderzoeken, en de andere soorten van dit geslacht vertoonen het verschijnsel niet. Uit hetgeen ik bij andere planten zag, volgt evenwel toch met zekerheid, dat die kleurlooze vacuolen reeds vroeger aanwezig waren en zich bij het sterven van de cel slechts vergroot hebben, doordien zij hierin niet meer verhinderd werden door de groote vacuole, waarvan de turgor voortdurend afnam.

§ 2. HET VOORKOMEN VAN VERSCHILLENDE ONGE- KLEURDE VACUOLEN IN DEZELFDE CEL.

Het kan voorkomen, dat volwassen cellen meer dan een ongekleurde vacuole bevatten; het is natuurlijk, dat dit verschijnsel lang niet zoo opvallend is, als wanneer verschillend gekleurde vacuolen aanwezig zijn; ik wijt het dan ook daaraan, dat ik het slechts in enkele gevallen heb kunnen waarnemen.

Wanneer men een blad van *Funaria hygrometrica* beschouwt, zal men zien, dat de meeste cellen 2 of 3 vacuolen bezitten, die gescheiden zijn door protoplasma-wanden. Evenzoo zag ik, dat enkele parenchym-cellen van een blad van *Blechnum brasiliense* meer dan een vacuole bevatten.

Zeer geschikte voorwerpen, om dit verschijnsel te

zien, zijn de haren in den knop van verschillende soorten van *Rhododendrum*. De jongste toestanden vertoonen ons een zeer groot aantal vacuolen van allerlei grootte, zoodat zij bij een haar, dat van de epidermis af 17 mikr. lang was, een doorsnede hadden, die wisselde van 0,5 tot 7 mikr. In oudere cellen ziet men meestal 2—3 groote vacuolen en een groot aantal kleinere; dat deze zich door deeling gevormd hebben, is ons reeds in Hoofdstuk II gebleken. De groote vacuolen vloeien nu eindelijk tot één groote ineen; en daar rondomheen liggen dan groote hoeveelheden kleinere. In een haar, dat een dikte had van 13 mikr., lagen er omtrent 60 kleine, die een gemiddelde doorsnede hadden van 0,5—2 mikr. Bij plasmolyse van ditzelfde haar met 4% salpeteroplossing, kon men op die plaatsen, waar het protoplasma zich had opgehoopt tegen den tonoplast, de kleine vacuolen zeer duidelijk als bolletjes in het korrelig protoplasma zien liggen. Na het vervangen van de 4% door een 10% salpeteroplossing, stierf het protoplasma, maar zoowel de groote als de kleine vacuolen bleven in leven. In volwassen haren, die een dikte van ongeveer 20 mikr. hebben, liggen veel minder kleine vacuolen, maar zij zijn daarentegen ook grooter; waarschijnlijk ontstonden zij dus door gedeeltelijke ineensmelting van de kleine vacuolen in de jonge haren. Zoo zag ik er b. v. 26 in een volwassen haar; terwijl de diameter van enkele niet meer bedroeg dan 2 mikr., hadden de meeste een doorsnede van 5—8 mikr. Wat de kleine vacuolen hier zoo bijzonder duidelijk maakt, is hun sterk lichtbrekend ver-

mogen, waardoor zij zich zeer kennelijk onderscheiden van de groote vacuole.

Ook de internodiaalcellen van *Nitella* en *Chara* bevatten, zooals ik in het vorige hoofdstuk heb trachten aan te toonen, nevens de groote nog een aantal kleine vacuolen, die door het stroomend protoplasma worden meêgevoerd, bij het openen van de cel in groot aantal naar buiten komen, en in water gebracht sterk in volumen toenemen.

Een paar andere gevallen van het aanwezig zijn van meerdere ongekleurde vacuolen in dezelfde cel zullen meer in hun verband in § 6 worden besproken.

§ 3. GEKLEURDE EN ONGEKLEURDE VACUOLEN

IN DEZELFDE CEL.

Wanneer men de roodgekleurde cellen der bloembladeren van *Camellia japonica* onder het mikroskoop brengt, zal men waarnemen, dat de roode vacuole niet de geheele celholte vult, maar op verschillende plaatsen — meestal in de hoeken der cel — nog ongekleurde ruimten zijn overgebleven. Wanneer men nu plasmolyseert, bemerkt men, dat deze ruimten zich nog binnen het wandstandig protoplasma bevinden, en dus, wanneer het protoplasma zich terugtrekt van den celwand, ook de ongekleurde holten worden meêgenomen. Men neemt dan waar, dat men te doen heeft met bolvormige lichamen, die bij verwarming barsten, meestal pas na de groote vacuole. Plasmolyseert men met een 10 % salpeteroplossing, dan sterft het wandstandig protoplasma en de kern, maar de ongekleurde bollen blijven in

leven; bij uitwasschen met water zwellen zij op en barsten eindelijk. Uit de hiergenoemde kenmerken blijkt, dat die ongekleurde holten niets zijn dan vacuolen, omgeven door een eigen wand, die in elke cel ten getale van een of meer aanwezig zijn. Wij zullen spoedig zien, dat een aantal planten dergelijke verschijnselen vertoonen. Het zal dus van nut zijn, de kleine vacuolen, die naast de groote in een cel aanwezig zijn, een naam te geven; ik zal daarvoor den naam „adventieve vacuolen” gebruiken, daar zij in de meeste gevallen een bijkomend bestanddeel van de cel zijn naast de groote vacuole. Wanneer men meer het oog heeft op den vacuolewand, kan men van „adventieve tonoplasten” spreken. Keeren wij thans nog eens tot *Camellia* terug; in fig. 7 Plaat II zijn 4 cellen van de epidermis van een bloemblad afgebeeld; zooals men ziet, heeft de bovenste cel 2 adventieve vacuolen, de daaropvolgende rechts 1 en de twee andere ieder 4. In fig. 8 is een geplasmolyseerde cel geteekend; de cel was gebracht in een 7% salpeteroplossing, die gekleurd was met eosine. De roode stippling stelt hier de ingedrongen eosine voor; men ziet de gecontraheerde groote vacuole, waar aan twee kanten het protoplasma in een tamelijk dichte laag tegen aan ligt. Aan de bovenzijde ziet men twee vrij groote adventieve vacuolen; de twee andere, die in werkelijkheid ook ongekleurd zijn, liggen boven op de roode vacuole, en zijn daardoor schijnbaar eenigzins rose van kleur. Om de adventieve vacuolen geheel te isoleeren, maakt men het beste gebruik van oplossingen van azijnzure natron. Zoo zag ik bij een praeparaat,

dat 24 uur in een 8 % oplossing gekleurd door eosine had gelegen, het protoplasma gestorven, maar de normale en adventieve tonoplasten nog in leven; de laatste waren of geheel of gedeeltelijk uit het doode protoplasma getreden, zoodat sommige geheel vrij in de cel lagen.

De epidermis van de bloemkroon der paarse *Primula sinensis* heeft celwanden, waarvanuit lijsten naar het inwendige van de cel gaan, zooals men dat zoo dikwijls bij een bloembladepidermis ziet. Daardoor is de inhoud niet zoo duidelijk te onderscheiden als bij *Camellia*; toch ziet men dikwijls tusschen die lijsten ongekleurde adventieve vacuolen, naast de paarse normale. Bij plasmolyse wordt het verschijnsel nog veel duidelijker; men kan ook nu weér het wandstandig protoplasma doden, en de tonoplasten daarbij in leven houden, waarbij zij dikwijls, vooral bij een zachte drukking op het dekglas uitgeoefend, naar buiten treden; bij toevoeging van water vergrooten zij zich en barsten.

De epidermiscellen der bloembladeren van *Impatiens Sultani* bevatten ook naast de groote roode vacuole een aantal kleine ongekleurde, zooals op Plaat II in fig. 2 is afgebeeld; zooals men ziet, lag in een hoek van de cel een groote hoeveelheid protoplasma, terwijl in 3 andere hoeken adventieve vacuolen aanwezig waren. Bij plasmolyse bleken deze laatste veel kleiner te zijn dan bij *Camellia*, zoodat zij zich bij die bewerking slechts zeer zelden geheel ongekleurd voordoen.

De donkerroode meeldraden van *Callistemon lanceolatum* bestaan uit zeer langgerekte cellen, die een

roode normale vacuole bevatten, en bovendien nog een of meer ongekleurde adventieve; deze liggen hier meestal niet in de hoeken, maar verspreid door de geheele cel, zoodat zij dan ook dikwijls lichtgekleurd schijnen, wanneer zij niet de dikte van de cel bereiken; bij plasmolyse blijkt evenwel, dat ook deze schijnbaar lichtrose vacuolen kleurloos zijn. In fig. 4 Pl. II is een dergelijke cel afgebeeld; met ziet twee geheel ongekleurde adventieve vacuolen en 4 andere, die lichtrood schijnen te zijn. Ook de cellen der paarse meeldraden van *Mimosa pudica* blijken, behalve de groote vacuole, nog een aantal kleinere kleurlooze te bevatten.

Zeer fraaie adventieve kleurlooze vacuolen komen voor in de roode haren op de epidermis der bladeren van *Campylobotrys refulgens*. *Papaver Argemone* heeft in de uitstekende hoeken van sommige bloembladepidermiscellen zeer kleine adventieve vacuolen; deze zijn duidelijker te zien, wanneer men plasmolyseert. Hetzelfde kan gezegd worden van de bloemkroon van *Dicentra formosa* en *Fumaria officinalis*. Zeer duidelijk zijn de adventieve vacuolen in de hoeken der epidermiscellen van de kroonbladeren van *Malva sylvestris*.

De overige gevallen, waarin ik nog kleurlooze adventieve vacuolen zag, zijn de roode cellen van de vrouwelijke bloemen van *Larix europaea*, en van de bloemkroon van *Dianthus barbatus*, *Anemone Hepatica*, *Lopezia miniata* en *Correa speciosa*, en de blauwe cellen van het bloemdek van *Scilla bifolia* en van de bloemkroon van *Lupinus polyphyllus* en *Campanula*

Trachelium. Bij de laatstgenoemde plant zijn zij buitengewoon klein, maar toch meestal ten getale van een of meer in elke cel aanwezig.

In tegenstelling met de tot nu toe genoemde planten, waar de adventieve vacuolen zeer klein zijn, vond ik bij de bloembladeren van *Cercis Siliquastrum* en *Robinia hispida* in elke cel twee vacuolen, een roode en een kleurlooze, waarvan ieder ongeveer de grootte had van de helft der cel; dit wisselde echter nog al af, zoodat nu eens de roode en dan weêr de ongekleurde vacuole grooter was. Bij *Cercis* gelukte het mij door plasmolyse met een 10 % salpeteroplossing en daaropvolgend uitwasschen met water, de aanwezigheid van een levenden tonoplast bij beide vacuolen aan te toonen, terwijl het protoplasma reeds dood was. Wanneer Hildebrand bij de meeldraden van *Acacia* en *Nägeli* bij de bloemdekbladeren van *Tulipa Gessneriana* een normaal verschijnsel voor zich hadden, dan heeft men bij deze twee planten met hetzelfde geval te doen.

De bloemen van *Glycine sinensis* zijn, zooals bekend is, op sommige plekken donkerder gekleurd dan op andere. Onderzoekt men nu de lichtblauwe gedeelten, dan vindt men cellen, die meestal een kleurlooze en een of meer lichtblauwe vacuolen bevatten, die $\frac{1}{3}$ tot $\frac{1}{2}$ van de celholte innemen. De donkere plekken daarentegen bezitten een kleurlooze of een lichtblauwe groote vacuole, en daarnaast een aantal kleinere, die zoo donker gekleurd zijn, dat de kleurstof dikwijls uitgekristalliseerd is in kristalgroepen, die in vorm gelijken op de hoorntjes van het hypochlorine. Tusschen deze beide uitersten vindt men nu alle mogelijke over-

gangen, zoodat sommige cellen drie soorten van vacuolen kunnen bezitten; evenzoo kan men van de verschillende vacuolen een onafgebroken reeks vormen, die begint met ongekleurde en eindigt met donkerblauwe vacuolen. Plasmolyseert men met een 10% salpeteroplossing, dan sterft het wandstandig protoplasma, terwijl de verschillende tonoplasten in leven blijven; bij daaropvolgende verwarming barsten zij zonder regelmatige volgorde. Het is wel mogelijk, dat deze vacuolen in staat zijn, gedurende het leven van grootte te veranderen, en dat zodoende een kleine donkerblauwe vacuole zich zoover kan vergrooten, dat zij lichtblauw van kleur wordt. Kunnen zij misschien op deze wijze de kleur der bloemen regelen? Tot nog toe staat het bij Glycine waargenomen geval op zich zelf; het is echter niet onmogelijk, dat er later meer planten gevonden worden, die hetzelfde verschijnsel vertoonen.

§ 4. LANGZAAM STERVEN VAN DEN VACUOLENWAND.

Het celvocht van de adventieve vacuolen moet natuurlijk isotonisch zijn met dat van de groote gekleurde vacuole; immers ware dit niet het geval, maar had het eene een sterker wateraantrekkende kracht dan het andere, dan zou het juist zoolang aan de andere water onttrekken, totdat beide oplossingen weêr volkomen isotonisch waren. De twee vloeistoffen moeten elkaâr dus juist in evenwicht houden; wordt dit verbroken, doordien één vacuole een hoe-

veelheid nieuwe inhoudsstoffen krijgt, dan zal het zich toch dadelijk weêr moeten herstellen. Het is zeer waarschijnlijk, dat wij hier met een voortdurend schommelend evenwicht te doen hebben; ik heb er reeds op gewezen, dat dit misschien bij de bloembladeren van *Glycine sinensis* zoo is, maar nog duidelijker blijkt het, wanneer men let op de verschillende grootte, die de adventieve vacuolen bij één plant kunnen hebben in verschillende ontwikkelingstoestanden; ik wees daar reeds op bij de haren in den knop van *Rhododendrum*, maar ook in andere gevallen nam ik het waar. Zoo hebben b. v. de adventieve vacuolen in de bloembladcellen van *Camellia japonica* gewoonlijk een doorsnede van 5—6 mikr., een enkele maal zelfs 8 mikr.; daarentegen zag ik in jonge toestanden gewoonlijk veel grootere adventieve vacuolen, zoodat hunne doorsnede in een bloem, die juist bezig was zich te openen, gewoonlijk 8—10 mikr. bedroeg en enkele malen zelfs tot 20 mikr. kon stijgen. Dus wordt de inhoud van de groote vacuole later meer geconcentreerd, en daardoor de adventieve vacuole kleiner, of omgekeerd de adventieve vacuole verliest inhoudsstoffen.

Stellen wij ons nu voor, dat de groote vacuole wateraantrekkende stoffen verliest, dan zullen zich de adventieve vacuolen moeten vergrooten. Een dergelijk verschijnsel heb ik nu herhaalde malen gezien bij het langzaam sterven der tonoplasten; het beste middel, om dit te bewerken, is, de cellen eenvoudig in water te leggen. Het blijkt dan, dat de tonoplast van de groote vacuole dikwijls sneller sterft dan de adventieve tonoplasten. Soms echter keert later de verhouding om,

de adventieve vacuolewand sterft sneller en de groote vacuole neemt weêr in omvang toe ten koste van de adventieve. De tonoplasten worden hier, evenals altijd, eerst permeabel voor stoffen, die gemakkelijk diffundeeren, en het allerlaatst voor kleurstoffen. De groote vacuole blijft dan ook tamelijk lang haar kleur behouden, totdat zij op het laatst voortdurend flauwer van tint wordt, en eindelijk, zoodra zij geheel kleurloos is geworden, ineenschrompelt en sterft. De turgor van de cellen, die in water liggen moet dus voortdurend afnemen, en wij zullen dan ook in een paar gevallen daarvoor bewijzen aanhalen. Ik zal thans overgaan tot het bespreken van de planten, waar ik het hierboven genoemde verschijnsel heb gezien.

Bij *Impatiens Sultani* vergrooten de adventieve vacuolen zich langzamerhand, wanneer een bloemblad in water ligt; pas van de plant genomen, hebben zij een doorsnede van 4—6 mikr., na twee dagen in water te hebben gelegen, is deze reeds gestegen tot 8—12 mikr., na 5 dagen is de diameter geworden 20—30 mikr., en na 6 dagen nemen zij reeds de helft van de celholte in. Het verschil is b. v. zeer merkbaar in fig. 2 en 3 op Plaat II; de eerste cel toont het normale verschijnsel, de tweede was genomen van een bloemblad, dat vijf dagen in water had gelegen; men ziet hier reeds drie zeer groote adventieve vacuolen. De turgor is niet zeer gemakkelijk te meten, daar de cellen zich niet gelijk gedragen. Er bleek evenwel toch, dat dadelijk van de plant genomen epidermiscellen isotonisch zijn met 0,11—0,12 aeq. salpeter, terwijl de wateraantrekkende kracht van cellen, die 7

dagen in water hadden gelegen en op het punt waren te sterven, gelijk stond met 0,07—0,08 aeq. KNO_3 .

Evenals bij *Impatiens* vergrootten zich, in water liggende, ook de adventieve vacuolen van bloembladcellen van *Primula sinensis* en *Campanula Trachelium*, maar bijzonder duidelijk was het verschijnsel waar te nemen bij de epidermiscellen van bloembladeren van *Camellia japonica*. Terwijl de adventieve vacuolen hier gewoonlijk een grootte hebben van 5—6 mikr., bedroeg de doorsnede bij cellen, die 14 dagen in water hadden gelegen, 20—40 mikr. Eén cel, die 14 dagen in water lag, had 2 adventieve vacuolen; de daaropvolgende 2 dagen vergrootten deze zich nog voortdurend, maar daarna begon hun volumen weêr af te nemen, totdat 2 dagen daarna de cel geheel gestorven was. In fig. 9a—b, Pl. II heb ik een cel uit een bloemblad van *Camellia* geteekend, dat 9 dagen in water had gelegen; op het oogenblik der waarneming lag de cel in een 2½ % suikeroplossing, gekleurd met eosine. Men ziet een groote vacuole v, die haar kleurstof reeds gedeeltelijk heeft verloren, en 3 adventieve vacuolen; protoplasma en kern zijn gestorven en hebben zich daarbij door de eosine rood gekleurd. Men merkt verder op, dat er plasmolyse heeft plaats gehad, en dat de eosine op twee plaatsen in de cel is gedrongen, zooals hier door roode stippen is aangeduid. De turgor van deze cel was dus sterk verminderd, want een normale cel vertoont nog geen plasmolyse in 5 % suikeroplossing. Nadat fig. 9a geteekend was, werd de cel weêr in water gebracht en 2 uur daarna weêr in de 2½ % suikeroplossing met eosine onderzocht

(fig. 9*b*). De groote vacuole was bijna geheel ontkleurd en daarbij veel kleiner geworden; de bovenste adventieve vacuole was ongeveer even groot gebleven, terwijl degene, die tegen het protoplasma lag, van vorm geheel was veranderd, waardoor omtrent de grootte niets was uit te maken; de onderste adventieve vacuole was daarentegen aanzienlijk in omvang toegenomen, zoodat haar diameter $2\frac{1}{2}$ maal grooter was geworden. Verder blijkt uit de figuren nog, dat de plasmolyse sterker was geworden, hetgeen ook noodzakelijk volgt, uit hetgeen in het begin van deze § werd opgemerkt.

Van andere middelen, om een cel zeer langzaam te doen sterven, gebruikte ik zeer verdund zoutzuur; de concentratie was zoo gering, dat lakmoes er zich nog nauwelijks meê roodkleurde. Op deze wijze kreeg ik meestal geen resultaat, waarschijnlijk omdat beide soorten van vacuolen even snel stierven. Slechts eenmaal mocht het mij gelukken, in 2 uur een geringe vergrooting van de adventieve vacuolen te veroorzaken; hun diameter was ongeveer $1\frac{1}{2}$ maal grooter geworden. Daarna bleven zij nog 3 uur denzelfden vorm behouden, waarna de geheele cel stierf.

§ 5. OPTREDEN VAN VACUOLEN, DIE EERST ONZICHTBAAR WAREN.

Ik wensch deze § te beginnen met de beschrijving van een verschijnsel, dat ik bij de epidermis van de onderzijde der bladeren van *Tradescantia discolor* waarnam, en in fig. 10*a-c* heb afgebeeld. De cel fig. 10*a*

had 2 uur gelegen in 4 % salpeteroplossing, gekleurd met eosine; men ziet, dat de vacuole (in werkelijkheid paars, maar hier grijs voorgesteld) zich in 3 groote en 6 kleinere had verdeeld, en dat de buitenlaag van het protoplasma niet overal tegen den vacuolenwand aanlag, maar een tamelijk groote ruimte tusschen beide aanwezig was; in deze ruimte drong het eosine, hier weêr door roode stippen aangeduid, niet door. Nu werd het praeparaat zacht onder het mikroskoop verwarmd; daarbij vloeiden de 3 groote en 4 van de kleine vacuolen ineen, terwijl de twee andere tegen de buitenlaag van het protoplasma kwamen te liggen (fig. 10*b*). Bij verder voortgezette verwarming stierf het protoplasma en kleurde zich donkerrood door absorbtie van eosine, maar nu bleek ook, dat de kleurlooze ruimte, tot nog toe door de buitenlaag omgeven, een vacuole bevatte, die nu vrij kwam te liggen naast de gekleurde (fig. 10*c*). Na eenigen tijd vloeiden de ongekleurde en de paarse vacuolen ineen, en de daardoor ontstane vacuole had den vorm, aangegeven door de zwarte stippellijn. Van nu af begon deze vacuole, voortdurend in 4 % salpeteroplossing liggende, zich te vergrooten, totdat zij bijna de geheele ruimte van de cel innam; toen ontkleurde zij langzamerhand en schrompelde samen. De verklaring van het geheele verschijnsel, dat ik hier beschreven heb, zal ik later geven.

Gewoonlijk ziet men bij plasmolyse van *Tradescantia* de buitenlaag niet geheel tegen den tonoplast liggen, maar dikwijls is daartusschen nog een tamelijke ruimte over; dit is zeer natuurlijk, daar het korrelig proto-

plasma toch ook een plaats moet vinden. Wanneer men nu echter het praeparat langer in de plasmolyseerende oplossing laat liggen, ziet men soms de ruimte tusschen buitenlaag en vacuolewand grooter worden; hetzelfde resultaat verkrijgt men bij verwarming of uitwasschen. Worden nu deze beide laatste bewerkingen verder voortgezet, dan kan men verschillende zaken zien gebeuren: 1°. Zooals hierboven beschreven is, het protoplasma sterft, en men ziet naast de gewone een adventieve vacuole liggen. 2°. De buitenlaag barst, en de geheele ruimte wordt opgevuld met water of met de plasmolyseerende oplossing; eenigen tijd daarna barst ook de vacuole. 3°. De gewone tonoplast barst, en de buitenlaag omgeeft dus nu het celvocht; eenigen tijd daarna barst ook deze. Het laatste geval is zeker het meest belangrijke, daar het ons in staat stelt, de buitenlaag te isoleeren en deze als afzonderlijk orgaan van het protoplasma te leeren kennen; het komt vooral voor, wanneer men een oplossing van azijnzure natron gebruikt, om te plasmolyseeren. Ik zal het door een voorbeeld nader illustreeren: Een cel had 48 uur in 8 % $C_2 H_3 O_2 Na$ -oplossing gelegen, daarbij had de tonoplast zich in tweeën gedeeld; het eene deel was een kleine vacuole, omringd door protoplasma, het andere de geheele verdere vacuole, op eenigen afstand omgeven door de buitenlaag; die vacuole was evenwel in één groote en zes kleinere gedeeld. Nu werd met water uitgewasschen, waarop de kleine vacuole, die afzonderlijk lag, barstte, en de verschillende gekleurde vacuolen ineenvloeiden. Eenigen tijd daarna barstte de tonoplast,

zoodat de buitenlaag nu dienst deed als vacuolewand; daarbij absorbeerden het protoplasma en de kern oogenblikkelijk het gekleurde celvocht; zoodat het geheele protoplasma gestorven was met uitzondering van de buitenlaag; deze leefde nog, zooals bleek uit het niet doorlaten van de kleurstof. Na ongeveer 10 minuten in dezen toestand te zijn gebleven, barstte nu ook de buitenlaag, en het geheel schrompelde samen. Wij hebben hier dus juist het omgekeerde, van hetgeen de Vries zag; terwijl bij hem eerst de buitenlaag stierf en toen de vacuolewand, barstte hier eerst de tonoplast en pas daarna de buitenlaag. Een enkele maal ging het sterven van den vacuolewand zeer langzaam, waarbij dan de kleurstof diffundeerde naar de ruimte tusschen tonoplast en buitenlaag.

Al deze verschijnselen zijn nu te verklaren uit een langzaam sterven van den vacuolewand. De ruimte tusschen tonoplast en buitenlaag zal in het normale leven natuurlijk een stof moeten bevatten, die isotonisch is met het celvocht; plasmolyseert men nu, dan zal deze ruimte dus kleiner moeten worden. Het tegendeel gebeurt echter, zij vergroot zich na eenigen tijd weêr; dit is niet anders te verklaren, dan door aan te nemen, dat er meer wateraantrekkende stoffen in die ruimte komen. Deze zouden afkomstig kunnen zijn uit de plasmolyseerende oplossing, maar daar suikeroplossingen dezelfde resultaten geven als salpeter, zal men deze mogelijkheid wel mogen uitsluiten. Er blijft dus over, dat de wateraantrekkende stoffen afkomstig zijn uit het celvocht, m. a. w. dat de vacuolewand eerder sterft dan de buitenlaag; dit komt

overeen, met hetgeen hierboven gezegd is. Blijft deze verhouding ook bij uitwasschen met water of verwarmen stand houden, dan zal geval N^o. 3 optreden. Wanneer door de plotselinge inwerking van water of warmte de buitenlaag toch nog eerder sterft, dan zal men geval N^o. 1 of 2 zien intreden, en wel het eerste, wanneer tusschen buitenlaag en tonoplast nog kleine adventieve vacuolen aanwezig waren, die bij de verwarming of het uitwasschen in leven blijven, en 2 wanneer deze dadelijk barsten, of geheel afwezig waren. Dergelijke vacuolen kunnen zeer goed zoo klein zijn, dat men ze in het normale leven niet ziet, of wel geheel platgedrukt tusschen tonoplast en buitenlaag. In elk geval blijkt uit fig. 10a—c, dat men ze ook dan nog zichtbaar kan maken. Meestal barsten buitenlaag en vacuolewand tegelijkertijd, en dan is natuurlijk omtrent de aanwezigheid van adventieve vacuolen niets te besluiten, al treden ook de verdere verschijnselen, die men bij *Tradescantia* ziet, bij andere planten op. De cellen, waar ik een dergelijke vergrooting van de ruimte tusschen tonoplast en buitenlaag waarnam, zonder dat het mij mogelijk was, iets te zien van adventieve vacuolen, waren de gekleurde cellen der bladeren van *Cissus discolor*, *Echeveria metallica*, *Rheum raponticum* en *Passiflora trifasciata*. Een blauwe hyacinth gedroeg zich bij plasmolyse evenals *Tradescantia*, maar daar was de aanwezigheid van adventieve vacuolen te constateeren door de vergrooting, die zij in water ondergaan, zoodat een cel uit een bloemdek, dat 8 dagen in water had gelegen, een groote blauwe vacuole bevatte, die een diameter

had van 100 mikr., en twee ongekleurde adventieve vacuolen, de eene met een doorsnede van 20 mikr., de andere van 30 mikr. Bij *Tradescantia* mocht het mij nooit gelukken, de vergrooting der adventieve vacuolen bij langzaam sterven van de cel te zien; waarschijnlijk sterven zij dus hier te gelijk met de groote vacuole.

Daarentegen zag ik bij de haren op de epidermis der bladeren van *Gynura aurantiaca*, verschillende soorten van *Coleus* en *Begonia Rex*, hoewel daar in normale cellen ook slechts een enkele vacuole te zien is, na plasmolyse en verwarmen of uitwasschen, of wel na langdurige plasmolyse verschillende adventieve vacuolen. Zoo vertoonde een cel van een haar van *Begonia Rex*, dat 20 uur in 7% KNO_3 oplossing lag, een groote roode vacuole en 4 kleinere ongekleurde, terwijl het protoplasma gestorven was.

Het komt mij nu voor, dat *Bilbergia amoena* ook adventieve vacuolen heeft, die zoo klein zijn, dat men ze gewoonlijk niet ziet, zooals Schimper dat beschrijft, en dat pas bij sterven van de cel deze zich zoodanig vergrooten, dat zij zichtbaar worden en zoodoende zoodoewel door Hildebrand als Schimper gezien zijn. Het was mij niet mogelijk, deze plant zelf te onderzoeken; wel kon ik dat doen met *Bilbergia Liboniana*. De blauwe cellen van het bloemdek van deze plant vormen nu een zeer fraaien overgang tusschen de reeds dadelijk zichtbare adventieve vacuolen en degene, waarover in deze § gesproken werd, en bewijzen daardoor rechtstreeks, hetgeen hierboven over deze laatste werd gezegd. Sommige cellen vertoonen namelijk reeds

dadelijk, wanneer men ze onder het mikroskoop brengt, duidelijke, hoewel zeer kleine adventieve vacuolen; in andere cellen is daarvan echter geen spoor te ontdekken. Plasmolyseert men nu, dan verandert het beeld, en men ziet geen onderscheid meer tusschen de eene en de andere cel; alle vertoonen duidelijk naast de groote donkerblauwe vacuole, kleinere ongekleurde; bij voortdurende plasmolyse kunnen deze laatste zich vergrooten. Bezigt men een 10 % salpeteroplossing, dan kan men het wandstandig protoplasma dooden en de twee soorten van tonoplasten zichtbaar maken. In sommige cellen zijn dus de adventieve vacuolen verborgen voor het oog, hoewel zij wel degelijk aanwezig zijn, en pas door kunstmidelen gelukt het, ze zichtbaar te maken. Ditzelfde geldt nu ook voor *Tradescantia*, *Begonia*, *Gynura* en *Coleus*; het is dus zeer wel mogelijk, dat het voorkomen van adventieve vacuolen een zeer algemeen verschijnsel is, dat zich echter lang niet altijd dadelijk vertoont en daardoor dikwijls over het hoofd wordt gezien.

§ 6. LOOISTOFGEHALTE ALS ONDERSCHIEDINGS- KENMERK IN JONGE CELLEN.

Reeds uit de verschillende kleur van de gewone en de adventieve vacuolen blijkt, dat hun inhoud verschillend is. Dit is echter nog anders, dan alleen voor kleurstoffen aan te toonen, en wel voor het looizuur. Ik wendde daartoe de reactie van Moll aan, zooals die door de Vries is gebezigd, om den inhoud van een

vacuole te onderzoeken op looistof. Een epidermiscel van een bloemblad van *Camellia japonica* werd geplasmolyseerd, daarna werd de vloeistof onder het dekglas vervangen door een oplossing van azijnzuur koper; langzamerhand drong dit in de cel en ook in de verschillende vacuolen; de adventieve toonden geen verandering, maar in de groote gekleurde vacuole ontstond een bruin neêrslag; na vervanging van het azijnzuur koper door azijnzuur ijzer werd de kleur van het neerslag blauw. Evenzoo bevat ook de groote vacuole in de cellen van de meeldraden van *Callistemon lanceolatum* looistof, terwijl door middel van de reactie van Moll geen spoor hiervan te vinden is in de adventieve vacuolen.

Onderzoekt men nu bloembladepidermiscellen van de witte *Camellia japonica*, dan blijken ook deze één groote normale en eenige kleine adventieve vacuolen te bevatten; beide soorten zijn echter ongekleurd. Daarom is evenwel de inhoud nog niet gelijk, want bij het toepassen van Moll's reactie ziet men, dat ook hier de gewone vacuole looistofhoudend is, en de adventieve niet. Dit bracht mij tot de meening, dat wellicht de looistofblazen niets anders zouden zijn dan adventieve vacuolen. Ik onderzocht hiertoe de gewrichten der bladeren van *Mimosa pudica*; bij plasmolyse is het niet dadelijk duidelijk, of de looistofblaas buiten of binnen de vacuole ligt, zoodat men allicht den indruk krijgt, dat zij in het celvocht zou liggen, zooals Pfeffer¹ beweert. Plasmolyseert men echter met een

¹ Pflanzenphysiologie I. pag. 34.

15 % salpeteroplossing gekleurd met eosine, dan sterft het protoplasma, maar de looistofblaas en de vacuole blijven leven; zij liggen nu geheel vrij van elkâar, en kunnen beide uit het protoplasma uittreden. Bij daaropvolgende verwarming barsten zoowel de gewone vacuole als de looistofblaas. Men heeft hier dus met hetzelfde verschijnsel te doen als bij de witte *Camellia*, en ik meen dan ook geen te gewaagde hypothese op te stellen, wanneer ik de looistofblazen in het algemeen voor vacuolen houdt.

In verband met het looistofgehalte wensch ik de jonge toestanden der adventieve vacuolen te bespreken, en wel meer speciaal bij de epidermiscellen der bloembladeren van *Camellia japonica*. Zonder het looistofgehalte in aanmerking te nemen, is dit reeds gebeurd bij de haren van *Rhododendrum*. Een jonge bloemknop van *Camellia* had van buiten roodgekleurde bloembladeren, terwijl deze van binnen nog kleurloos waren. De epidermiscellen der buitenste kroonbladeren zijn afgebeeld in fig. 6 Pl. II; men ziet, dat zij een groote lichtroode vacuole bevatten, maar bovendien nog 5—10 ongekleurde adventieve vacuolen. Deze lagen hier nog niet in de hoeken van de cel, maar boven op de groote vacuole, en schenen daardoor alle gekleurd te zijn; bij plasmolyse bleek evenwel, dat zij in werkelijkheid geheel kleurloos waren. Van de binnenste kroonbladeren heb ik 3 epidermiscellen geteekend in fig. 5 Pl. II; zooals men ziet, bevatten deze een groote sterk lichtbrekende vacuole, en daarnaast een of meer andere, die het licht ongeveer even sterk breken als de omgevende vloeistof; daar het proto-

plasma hier veel korreliger is, kan men den inhoud niet altijd duidelijk onderscheiden, vooral in nog jongere toestanden. Met azijnzuur koper en -ijzer behandeld, blijkt de sterk lichtbrekende vacuole looistof te bevatten, de overige daarentegen niet; hier is dus reeds verschil tusschen de normale en de adventieve vacuolen waar te nemen. Nog jongere toestanden heb ik bij *Camellia* ongelukkig niet kunnen onderzoeken, zoodat ik daar niet het absolute bewijs kan leveren, dat beide soorten van vacuolen uit één en dezelfde vacuole door deeling zijn ontstaan. Wel zag ik in de eicel van *Scilla* of één of een paar schijnbaar gelijke vacuolen, terwijl toch de bloemdekcellen naast de blauwe normale ook ongekleurde adventieve vacuolen bevatten. Wanneer men daarbij bedenkt, dat bij *Glycine sinensis* alle mogelijke overgangen tusschen ongekleurde en blauwe vacuolen voorkomen, dan zal men er wel niet meer aan twifelen, dat alle vacuolen van een plant door deeling uit dezelfde vacuole zijn ontstaan, ook al hebben zij later niet meer dezelfde eigenschappen. Dit wordt nog meer tot zekerheid, wanneer men op de overeenkomst let met de trophoplasten; deze laatste toch, die in meristeemcellen alleen als amyloplasten te vinden zijn, kunnen later, of dezelfde eigenschappen behouden, die zij in het meristeem hadden, of wel overgaan in chlorophylkorrels en in chromoplasten.

Men vindt dus in dezelfde cel vacuolen met verschillenden inhoud; nu worden de inhoudsstoffen aangebracht door het stroomend protoplasma, en dit zal zeker in een cel wel overal dezelfde eigenschappen

hebben; of nemen wij zelfs eens aan, dat dit niet zoo is, dan zou het bij *Camellia* juist daar, waar het aan de groote vacuole grenst, looistof moeten bevatten, maar op de plaatsen, waar de adventieve vacuolen liggen, zou het andere eigenschappen moeten hebben. Lagen nu de adventieve vacuolen alle aan één zijde van de cel, dan zou men met deze voorstelling, hoe onwaarschijnlijk zij ook zijn moge, nog eenigzins vrede kunnen hebben; nu echter de adventieve vacuolen door de geheele cel verspreid liggen, is deze opvatting natuurlijk niet meer vol te houden. De oorzaak van het verschil in inhoud van gewone en adventieve vacuolen moet dus hoogstwaarschijnlijk in den vacuolewand worden gezocht; dus zal men in het algemeen wel mogen aannemen, dat de samenstelling van den inhoud eener vacuole bepaald wordt door de eigenschappen van den tonoplast. Dit pleit er dus voor, dat de vacuolewand een levend orgaan van het protoplasma is.

§ 7. CONCLUSIE.

In dit Hoofdstuk is ons gebleken, dat vele volwassen cellen meer dan één soort van vacuolen bevatten; dit meen ik vooral bewezen te hebben voor cellen met gekleurd celvocht, waar meestal een groote gekleurde vacuole aanwezig is, en een aantal kleinere kleurlooze; ik meende deze laatste te moeten onderscheiden door den naam adventieve vacuolen. Het is ons ook gebleken, dat het gewone en het adventieve celvocht niet alleen in kleur verschillen, maar dat het

eene ook nog opgeloste stoffen kan bevatten, die in het andere niet aanwezig zijn, en wel meer speciaal looistoffen.

Wanneer wij nu nog eens de verschillende resultaten, in dit Hoofdstuk verkregen, kort resumeeren, dan kunnen wij deze op de volgende wijze samenvatten:

1. Vele volwassen cellen bevatten meer dan één soort vacuolen, die een verschillenden inhoud kunnen hebben; zij zijn echter door deeling afkomstig uit dezelfde vacuole.

2. De kleinere vacuolen in een cel (adventieve vacuolen) sterven in het algemeen langzamer dan de groote tonoplast.

3. De buitenlaag van het protoplasma is een afzonderlijk orgaan, dat eenigen tijd in leven kan blijven, terwijl het overige protoplasma reeds gestorven is.

4. Looistofblazen zijn adventieve vacuolen.

ALGEMEENE RESULTATEN.

Wanneer wij nog eens de hoofduitkomsten van dit onderzoek in korte woorden samenvatten, dan kunnen wij deze op de volgende wijze formuleeren:

1. In alle meristeemcellen, zoowel initiaalcellen als topcellen vond ik vacuolen, zoo ook in de jongste cellen van Algae en Fungi; vervolgens toonde ik hunne aanwezigheid aan in embryozakken, eicellen en pollenkorrels. Tot nog toe meende men te moeten besluiten tot de afwezigheid van vacuolen in de meeste van deze weefsels en hield het er alleen voor, dat alle volwassen levende cellen vacuolen bevatten. Daar het mij in de meeste gevallen ook gelukte, den vacuolewand te isoleeren van het omringende protoplasma, kunnen wij dus in het kort zeggen:

Alle levende plantencellen bevatten vacuolen, omgeven door een eigen wand (misschien uitgezonderd Spermatozöiden, Cyanophyceae en Bacteriën).

2. In allerlei jonge weefsels zag ik, dat vacuolen in kleinere gesplitst werden; meestal ontstaan uitstulpin-

gen van het protoplasma in de vacuolen, die zich vereenigen, en zoodoende de vacuole in tweeën deelen; het was mij niet mogelijk te beslissen, wat hierbij actief is, de vacuolewand of het stroomend protoplasma. Daar ik naast de deeling ook telkens ineensmelting van vacuolen zag plaats hebben, is dus het tweede resultaat van dit onderzoek in de volgende woorden samen te vatten:

In alle jonge cellen vindt deeling en ineensmelting van vacuolen plaats.

3. Uit de beide voorgaande uitkomsten volgt oogenblikkelijk het derde resultaat; daar de vacuolen van een dochtercel afkomstig zijn uit de moedercel, dus:

Alle vacuolen in een plant zijn door deeling afkomstig van die uit de eicel der moederplant.

4. Vergelijkt men dus de tonoplasten als de levende wanden der vacuolen met de overige deelen van het protoplasma, dan blijken zij zich geheel overeenkomstig met deze te gedragen, dus:

De tonoplasten staan als organen van het protoplasma gelijk met kernen, trophoplasten en buitenlaag.

5. Daar in jonge cellen de vacuolen telkens van vorm veranderen, moet dus ook het protoplasma voortdurend in beweging zijn, of m. a. w.:

De protoplasmabeweging begint niet, zooals Hofmeister meende, aan het einde van den meristematischen toestand, maar komt reeds in de allerjongste cellen voor.

6. Waar men tot nu toe meende, dat vacuolen zouden ontstaan door inwerking van water op protoplasma, had men in werkelijkheid met niets anders te doen,

dan met een opzwellen van reeds voorhanden vacuolen; in het algemeen bleek mij:

Vacuolen kunnen niet uit protoplasma ontstaan.

7. In vele volwassen cellen vindt men meer dan één vacuole; deze hebben meestal een verschillenden inhoud, zoodat b. v. één vacuole gekleurd kan zijn en de overige ongekleurd, of één vacuole looistofhoudend en de andere niet; niettegenstaande dit zijn zij toch uit dezelfde vacuole afkomstig. De kleinere vacuolen in een cel kan men met den naam van adventieve vacuolen bestempelen. Dus als laatste resultaat van dit onderzoek:

Vele volwassen cellen bevatten meer dan één soort vacuolen.

VERKLARING DER FIGUREN.

PLAAT I.

In alle figuren beteekent *v* vacuole, *p* protoplasma, *n* kern, *ep* epidermis. Wanneer er niets naders van gezegd wordt, zijn de cellen onderzocht en geteekend, liggende in 3—5 % suikeroplossing.

- Fig. 1. Vergr. 750/1. Jongste cellen van het meristeem van den worteltop van *Phoenix reclinata*; in de cellen zijn alleen de vacuolen geteekend.
- Fig. 2. Vergr. 750/1. Topcel van den stengel van een jong kiemplantje van *Salvinia natans*; de kern *n* is geheel onzichtbaar door de omringende korrels van het protoplasma; van den kern uit gaan protoplasma-arpjes door de vacuole *v* heen naar het wandstandig protoplasma.
- Fig. 3. Vergr. 500/1. Topcel van een luchtwortel van *Cyathea medullaris*. Deze cel was geplasmolyseerd geweest met een 8 % salpeteroplossing en daarna uitgewassen met water, waarbij het protoplasma gestorven was; dit ligt in de teekening in 2 hoeken van de cel en op één plaats tegen de vacuole aan. Kort na het teekenen barstte de vacuole.

Fig. 4. Vergr. 1080/1. Cel van *Dematium pullulans*, geteekend met tusschenpoozen van telkens ongeveer 10 minuten. De cel lag in een verdund afkooksel van rozijnen. De kleine korreltjes zijn oliedruppeltjes.

- a. Eén vacuole is zichtbaar met twee protoplasmauitstulpingen α en β .
- b. α en β hebben zich langzamerhand naar boven verplaatst, terwijl onder in de cel twee uitstulpingen γ en δ zijn opgetreden.
- c. α en β zijn geheel verdwenen; γ en δ hebben zich naar het midden van de cel voortbewogen, en zijn daarbij zoodanig in grootte toegenomen, dat nog slechts een nauw kanaal de twee deelen van de vacuole verbindt.
- d. γ en δ zijn ineengesmolten, en de vacuole is dus in twee kleinere gesplitst. In de bovenste vacuole is een uitstulping η ontstaan, in de onderste zijn twee protoplasmauitstulpingen tegenover elkaar opgetreden, ϵ en ζ .
- e. ϵ en ζ zijn samengesmolten en hebben zoo de onderste vacuole weér in twee kleinere gesplitst. De uitstulping η heeft zich in de bovenste vacuole langzamerhand naar beneden toe verplaatst.

Fig. 5. Vergr. 500 1. Jonge pollenkorrel van *Polygonatum vulgare*, met tusschenpoozen van telkens $1\frac{1}{2}$ uur geteekend.

- a. De pollenkorrel bevat één vacuole, in het midden ingesnoerd.
- b. De protoplasmauitstulping heeft zich aan de eene zijde sterk vergroot, daarbij is de kern, die eerst onzichtbaar was, te voorschijn gekomen.
- c. De beide protoplasmauitstulpingen zijn ineengesmolten, waardoor de vacuole in twee kleinere is gesplitst.

Fig. 6. Vergr. 500/1. Haar uit een knop van *Bryonia dioica*.

- a. De cel links bevat een kleine vacuole en een grootere, die een instulping vertoont. De andere cel is eveneens in het bezit van twee vacuolen.
- b. 15 minuten later; in de cel links heeft zich de groote

vacuole in tweeën gedeeld; daarop is de onderste van die 2 ineengesmolten met de meest linksche vacuole. In de andere cel is de groote vacuole eenigzins van vorm veranderd, terwijl de andere zich gedeeld heeft.

Fig. 7. Vergr. 500/1. Cel van den kiemdrager van *Capsella Bursa Pastoris*.

- a. De cel bevat twee vacuolen, waartusschen de kern ligt; de vacuole rechts vertoont een insnoering.
- b. $1\frac{1}{2}$ uur later; de vacuole rechts heeft zich in twee kleinere gedeeld.
- c. 1 uur later; de ongedeelde vacuole is van vorm veranderd; evenzoo de onderste van de twee nieuwe vacuolen, waardoor deze elkaâr gedeeltelijk bedekken.

Fig. 8. Vergr. 750/1. Haar uit den knop van een kiemplantje van *Cucurbita Pepo*.

- a. 's Middags te 4 uur; het haar is eencellig, en bevat twee vacuolen, waartusschen de kern ligt; 's morgens te 10 uur was de vacuole nog onverdeeld, zij had zich echter in den loop van den dag gesplitst.
- b. Den volgenden morgen te 9 u. 30 m.; tusschen de twee vacuolen is een celwand ontstaan; de kernen zijn onzichtbaar geworden.

PLAAT II.

In alle cellen beteekent *v* groote vacuole, *v. a.* adventieve vacuole, *p* protoplasma, *n* kern, *ep* epidermis.

Fig. 1. Vergr. 500/1. Epidermiscel van de onderzijde van een blad van *Passiflora trifasciata*, in 10% suikeroplossing gebracht, en daarop doorgesneden.

- a. In de cel ligt een groote roode vacuole; aan de twee uiteinden ziet men het protoplasma als een dun laagje tegen de vacuole aanliggen.

- b. De inhoud van de cel is in de omgevende vloeistof uitgetreden. Eerst heeft zich de vacuole ζ met een weinig protoplasma afgesnoerd, daarna gebeurde hetzelfde met ε ; vervolgens kwam de geheele verdere inhoudsmassa, omgeven door protoplasma, uit de cel te voorschijn, waarbij de vacuole zich in 4 kleinere, α , β , γ en δ , had gedeeld.
- c. De 10 % suikeroplossing is vervangen door water; hierbij verdween ζ uit het gezichtsveld; ε vergrootte zich sterk en ontkleurt langzamerhand, terwijl het protoplasma rondom deze vacuole gestorven is; ook α , β , γ en δ , nog omgeven door protoplasma, hebben zich vergroot.
- d. ε is gebarsten; kort daarop zijn β , γ en δ uit het protoplasma te voorschijn getreden, waarna γ en δ barstten; het protoplasma bleef aan de eene zijde van α liggen en stierf. Ook α heeft zich sterk vergroot en is daarbij veel zwakker van kleur geworden.
- e. β is gebarsten, α sterk in omvang toegenomen; kort daarna barst ook α , na bijna geheel ontkleurd te zijn.

Fig. 2. Vergr. 500/1. Epidermiscel van een bloemblad van *Impatiens Sultani*, direct van de plant in 3 % suikeroplossing gebracht. De cel bevat, behalve de groote roode vacuole, nog drie kleine kleurlooze adventieve vacuolen.

Fig. 3. Vergr. 500/1. Epidermiscel van een bloemblad van *Impatiens Sultani*, dat 5 dagen in water had gelegen. De 3 adventieve vacuolen hebben zich sterk vergroot.

Fig. 4. Vergr. 500/1. Cel van een meeldraad van *Callistemon lanceolatum* in 5 % suikeroplossing; er zijn 6 adventieve vacuolen zichtbaar.

Fig. 5. Vergr. 500/1. Drie epidermiscellen van een jong bloemblad van de roode *Camellia japonica* in 5 % suikeroplossing. De cellen bevatten een groote, sterk lichtbrekende looistofhoudende vacuole en verschillende kleinere, zwakker lichtbrekende adventieve vacuolen.

- Fig. 6. Vergr. 500/1. Drie epidermiscellen van een bloemblad van *Camellia japonica*, dat iets ouder was, dan het in fig. 5 afgebeelde, in 5 % suikeroplossing. Elke cel bevat een aantal ongekleurde adventieve vacuolen.
- Fig. 7. Vergr. 180/1. Epidermis van een volwassen bloemblad van *Camellia japonica* in 5 % suikeroplossing. In de hoeken der cellen liggen verscheidene adventieve vacuolen.
- Fig. 8. Vergr. 500/1. Epidermiscel van een bloemblad van *Camellia japonica* geplasmolyseerd met 7 % salpeteroplossing, gekleurd door eosine. Het roodgestippelde deel van de cel stelt de ingedrongen eosine voor. Het protoplasma ligt op twee plaatsen in een eenigzins dikkere laag tegen de groote vacuole. Er zijn 4 adventieve vacuolen zichtbaar.
- Fig. 9. Vergr. 500/1. Epidermiscel van een bloemblad van *Camellia japonica*, dat 9 dagen in water had gelegen. De roode stippen stellen eosine voor.
- a. De cel wordt gebracht in een 2½ % suikeroplossing gekleurd met eosine. Het protoplasma blijkt gestorven te zijn; er zijn 3 adventieve vacuolen, die zich sterk vergroot hebben; de cel is geplasmolyseerd. Hierop wordt de cel weêr in water gebracht.
 - b. Dezelfde cel na 2 uur, weer in 2½ % suikeroplossing onderzocht. De plasmolyse is sterker geworden; de bovenste adventieve vacuole is ongeveer even groot gebleven, de middelste heeft een geheel anderen vorm aangenomen, daarentegen is de onderste sterk in omvang toegenomen. Een uur later was de geheele cel gestorven.
- Fig. 10. Vergr. 180/1. Epidermiscel van den onderkant van een blad van *Tradescantia discolor*, die 2 uur in 4 % salpeteroplossing gekleurd met eosine heeft gelegen. De roode stippen duiden eosine aan; de paarse vacuole is hier grijs voorgesteld.

- a. De vacuole heeft zich in 9 deelen gesplitst, die alle gezamenlijk omgeven worden door de buitenlaag van het protoplasma.
- b. De cel wordt onder het mikroskoop verwarmd, de verschillende vacuolen smelten, op twee kleine na, samen; tusschen vacuolewand en uitwendig protoplasma is een groote ruimte aanwezig.
- c. Het protoplasma is bij voortgezette verwarming gestorven en heeft zich daarbij rood gekleurd met eosine; het blijkt, dat er een adventieve vacuole aanwezig was, die nu in vrijheid komt. Kort daarna smelten de paarse en de ongekleurde vacuole samen, en nemen daarbij een omvang aan, die door de zwarte stippellijn is voorgesteld. Nadat zij zich nog eenigen tijd vergroot heeft, verliest de zoo ontstane vacuole langzamerhand haar kleur en schrompelt samen.

STELLINGEN.

I.

De tonoplasten van verschillende plantensoorten zijn specifiek verschillend.

II.

De tonoplasten spelen een actieve rol bij de deeling der vacuolen.

III.

De bladgroenkorrels zijn phylogenetisch ontstaan uit de pyrenoïden der Algen.

IV.

De intramoleculaire ademhaling is bij hogere planten rudimentair.

V.

De lengtegroei der cellen berust slechts in zeer geringe mate op veranderingen in de isotoniciteit van het celvocht.

VI.

Wondhout ontstaat onder den invloed eener veranderde richting van den voedingstroom.

VII.

Looistoffen dienen hoofdzakelijk, om verschillende plantendeelen tegen dieren te beschermen.

VIII.

Hoofdfunctie van de haren is, de plant te beschermen tegen te sterke verdamping.

IX.

De groote verspreiding der zoetwaterplanten wordt hoofdzakelijk veroorzaakt door het slik, dat vogels en waterinsecten met hunne pooten meenemen.

X.

Tremellinei zijn saprophytische Uredineae.

XI.

De Ascomyceten stammen af van vormen, die nauw verwant waren met de Peronosporeae.

XII.

De verdeeling der Dicotylen in Choripetalae en Syn-petalae is uiterst kunstmatig.

XIII.

Een tak van *Vitis* is een monopodium.

XIV.

Bij de voorouders der Gewervelde Dieren lag dicht achter het voorste uiteinde van het lichaam, aan de buikzijde, een zuigorgaan.

XV.

Het is verkeerdt, de Tracheata en de Crustacea tot één typus te vereenigen.

XVI.

De Tracheata stammen af van vormen, die nauw verwant waren met Peripatus.

XVII.

De Graptolithen waren Bryozoa.

XVIII.

Koolstof is in benzol driewaardig.
