

HET GROEISTOFPROBLEEM IN VERBAND MET ZIJN TOEPASSINGEN.

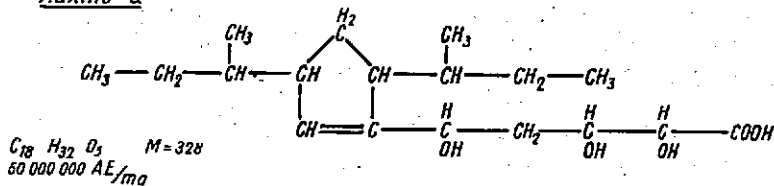
(Voordracht voor de Nederl. Boschbouwvereniging,
gehouden ter gelegenheid van de Najaarsvergadering
op 4 October 1941 te Wageningen)

door

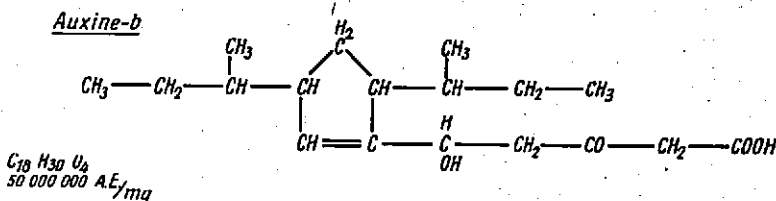
Prof. Dr. V. J. KONINGSBERGER.

Wel zelden heeft in de geschiedenis der biologie een ontdekking zoo snel de algemeene belangstelling getrokken als die van F. W. Went (1928), toen hij voor het eerst het onomstootelijk bewijs leverde, dat de lengtegroei van hoogere planten onder invloed staat van zeer geringe hoeveelheden van bepaalde stoffen, die den naam van groeistoffen verkregen. Deze belangstelling is begrijpelijk, wanneer men denkt aan de vele triomphen, die in korten tijd op deze ontdekking volgden. Went gaf zelf al dadelijk een betrekkelijk eenvoudige physiologische bepalingsmethode om hoeveelheden van deze stof te kunnen schatten. Voorts scheen het,

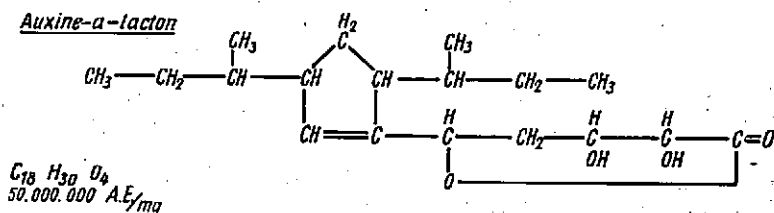
Auxine-a



Auxine-b



Auxine-a-lacton

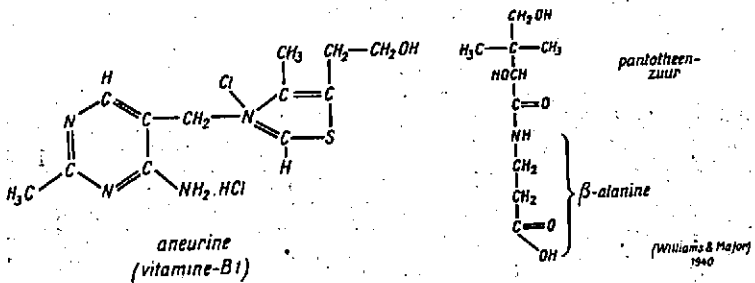


alsof de groeistof niet alleen voor den groei, maar ook voor bewegingsverschijnselen als de phototropie en de geotropie een eenvoudige verklaring zou kunnen brengen. Ondanks de uiterst geringe concentraties, waarin deze stof werkzaam bleek te zijn, slaagden toch Kögl, Erxleben en Haagen Smit (1933) erin haar spoedig in zuiveren vorm te isoleren en haar chemische structuur te bepalen; de stof heette voortaan auxine, waarvan een *a*- en een *b*-vorm bekend zijn, die slechts zeer weinig onderling verschillen, terwijl van auxine-*a* een even werkzaam lacton bekend is, dat isomeer is met auxine-*b*. Vlak daarop bleek, dat verschillende stoffen, die synthetisch te bereiden zijn, een analoge werking uitoefenen. Hierdoor werd de mogelijkheid om met groeistoffen te experimenteeren voor breede kringen geopend, want in plaats van de moeilijk te isoleeren natuurlijke groeistoffen te gebruiken, kocht men deze zg. synthetische groeistoffen kant en klaar. Toen dan ook bekend werd, dat groeistoffen tal van nevenwerkingen uitoefenen, die voor de practijk wijde perspectieven openen, barstte er een ware lawine los van op de practijk gerichte onderzoekingen, van nieuwe preparaten, van publicaties en brochures, waarvan niemand meer geheel op de hoogte kan blijven. Geen wonder, dat dit voor de groote massa „het” groeistofprobleem is. Toch is het slechts een betrekkelijk klein gedeelte ervan.

Een ander deel is veel ouder, maar omdat het tot voor kort alleen aan micro-organismen onderzocht werd, bleef het minder algemeen bekend. Dit vraagstuk gaat eigenlijk terug op een meeningsverschil tusschen Pasteur en Von Liebig. Pasteur was de eerste, die erin slaagde gist te kweken in een voedingsoplossing, die uitsluitend enkele minerale zouten en een geschikte suiker bevatte. Deze kweekproeven werden nagedaan door den toen al bejaarden Von Liebig, die echter negatieve resultaten verkreeg. Er ontstond hierover tusschen beide groote mannen een correspondentie, doch Von Liebig overleed, voordat de zaak was opgehelderd. Zoo bleef er een controverse bestaan, welke pas in 1901 door Wildiers werd verklaard. Wanneer deze den voedingsbodem met weinig gistcellen entte, kreeg hij het negatieve resultaat van Von Liebig; de cultuur ontwikkelde zich nauwelijks. Indien hij echter van vrij veel entmateriaal uitging, verkreeg hij een weelderigen groei en dus het resultaat van Pasteur, die zelf ook reeds had vermeld, dat de cultuur des te beter slaagde, naarmate hij met meer materiaal had geënt. Wildiers veronderstelde nu, dat er bij enting met veel cellen een aantal dooden cellen tusschen de levende zich zouden bevinden en dat uit die doode cellen stoffen zouden diffundeeren, die noodzakelijk zijn voor den groei van de levende. Inderdaad toonde hij aan, dat men na enting met één enkele cel een voortreffelijke

ontwikkeling kreeg, indien aan het substraat een spoortje extract van gistcellen werd toegevoegd. De vooralsnog raadselachtige stof uit het gistextract noemde hij „bios”.

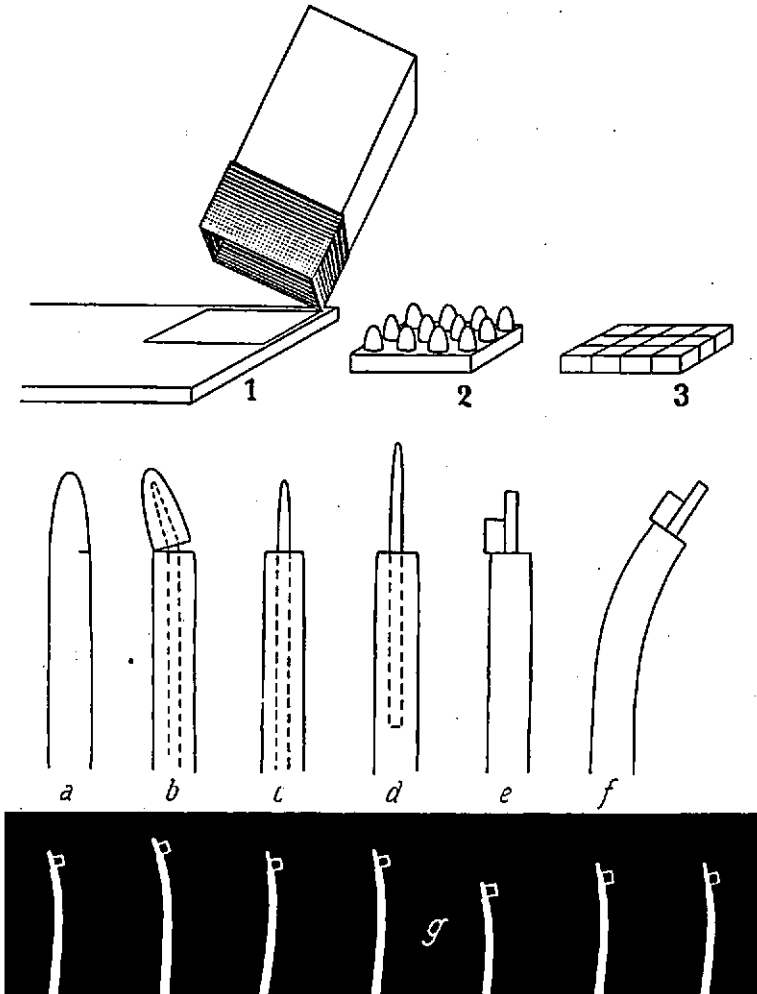
Over het biosvraagstuk ontbrandde een nieuwe strijd, met name over de vraag, of bios alleen in levende cellen kan worden gevormd. Veel later werd in het laboratorium van Lash Miller aangetoond, dat bios geen enkelvoudige stof was, maar uit een aantal componenten bestaat. In 1928 bewees Eastcott, dat één dier stoffen het *meso-inositol* (bios I) is. De isolatie van andere bios-factoren leverde zeer groote moeilijkheden op. Het stond vast, dat het biosgehalte van gist zelf zoo ontzettend laag is, dat er niet aan te denken viel om de gezochte componenten hieruit te isoleren. Kögl en Tönnis vonden, dat eigeel relatief een sterke bioswerking vertoont, en trachtten hieruit een volgenden bios-factor te isoleren. In 1933 werden uit eenige honderden kilogrammen eigeel een paar milligram van een kristallijne stof verkregen, die een zeer hooge bioswerking bezat en den naam *biotine* (bios II) kreeg. Het uitgangsmateriaal moest hiertoe ruim 3 miljoen maal geconcentreerd worden. Biotine bleek in een concentratie van 1 op 400.000.000 nog een enorm effect te bezitten op den groei van gist; een concentratie van 0,167 γ /l is reeds voldoende voor een normale ontwikkeling. Tot nu toe is het, vanwege de geringe hoeveelheid verkregen kristallijn product, niet mogelijk geweest de structuur van biotine geheel op te helderen; de empirische formule is $C_{10}H_{16}O_2N_3S$ en er komt een ureum-ring (Kögl en Pons, 1941) en een zwavelhoudende ring (Kögl en de Man, 1941) in voor.



Intusschen gaf ruw gistextract een nog sterkere werking te zien dan toevoeging van *meso-inositol* en *biotine* samen, waaruit bleek, dat bios nog meer factoren bevat. Inderdaad bleek ook *aneurine* (= vitamine B-1) een sterke bioswerking te vertoonen (Williams en Roehm, 1930), benevens een als *pantotheenzuur* aangeduide factor, waarvan onlangs ook de chemische structuur werd gevonden (Williams en Major, 1940). Tenslotte is er een nog ongedefinieerde

„factor Z”, terwijl kort geleden bleek, dat biotine identiek is met het vitamine H.

De bios-factoren werken intusschen volstrekt niet alleen op den groei van micro-organismen. Kögl en Haagen Smit (1936) ontdeken de kiemen van erwten van de cotylen, waar het reservevoedsel in zit, en kweekten deze



Het aantoonen (ev. analyseeren) van auxine met behulp van de *Avena*-toets volgens F. W. Went. 1) het uitponsen van een agarplaatje van bepaalde afmetingen, 2) 12 topjes van *Avena*-coleoptielen geven hun auxine af aan dat plaatje, dat 3) daarna in 12 gelijke blokjes wordt verdeeld. Het gereed maken van de analyseplantjes: a) door een insnijding wordt b) de top verwijderd c). Dan wordt d) het eerste groene blad los getrokken en e) een agarblokje éénzijdig op het coleoptiel gebracht; bevat het blokje groeistof dan treedt f) een kromming op. g) een schaduwbeeld van een serie analyseplantjes.

embryo's steriel in donker op een synthetische voedingsbodern, waaraan natuurlijk suiker was toegevoegd, en die met agar-agar was vast gemaakt. Alle biosfactoren hadden een grooten invloed op den groei der embryo's; toevoeging van alle factoren tezamen gaf een vermeerdering van ongeveer 60 % aan drooggewicht na 42 dagen.

Hiernaast staat de ontdekking der groeistoffen van de auxine-groep, waarvan het bestaan reeds in 1911 door Boy-sen Jensen en vooral in 1919 door Paál vermoed was. F. W. Went ging als volgt te werk. Wanneer men den top van het coleoptiel van een haverkiemplantje verwijderd, houdt de groei ervan op. Went plaatste nu zulk een afgesneden top éénzijdig weer op de stomp van een gedecapiteerd coleoptiel, dat daarna een kromming uitvoerde. Deze kromming laat zich verklaren, doordat de groei éénzijdig, d.w.z. alleen onder het topje, wordt hervat. Uit dien top moet dus iets in het coleoptiel gekomen zijn, waardoor de groei wordt veroorzaakt. Went plaatste nu vervolgens zulke topjes niet dadelijk op de coleoptielstompen, maar eerst op plaatjes gelatine of agar-agar. Wanneer ze daar 1 à 2 uur op hadden gestaan, werd het plaatje gelatine of agar-agar in kleine blokjes verdeeld en deze blokjes werden éénzijdig op van te voren gedecapiteerde coleoptielen geplaatst. Inderdaad trad er ook nu een van het blokje af gerichte kromming op, waarmede bewezen was, dat er uit de toppen der coleoptielen een groei veroorzakende stof in de gelatine of agar-agar was gediffundeerd. Went toonde eveneens aan, dat de grootte van de kromming binnen zekere grenzen evenredig is met de hoeveelheid in het blokje aanwezige groeistof. De hoeveelheid groeistof, die onder gestandari-seerde omstandigheden een kromming veroorzaakt van 10° wordt een *Avena*-eenheid genoemd. Eenige jaren na dit onderzoek volgde de isolatie van de groeistof, alweer door Kögl met zijn medewerkers. Ook ditmaal bleek het ondoenlijk de groeistof uit het haver-coleoptiel te isoleeren; bij het zoeken naar een ander uitgangsmateriaal bleek, dat urine relatief rijk is aan groeistof en zoo gelukte het na 40.000-voudige concentratie een kristallijn product te krijgen, dat den naam *auxine-a* kreeg. Zooals reeds gezegd, slaagde men erin de structuur ervan op te helderen. Later werd uit maisolie het *auxine-b* geïsoleerd. Zuivere auxine bleek een geweldige activiteit te bezitten; 1 milligram auxine-a is voldoende om 50.000.000 havercoleoptielen 10° te doen krommen en bevat dus 50 millioen *Avena*-eenheden (A.E.), m.a.w. één coleoptiel heeft voor zulk een kromming 0,000 02 γ nodig.

Men zal begrijpen, dat het hier gaat om zulke kleine hoeveelheden van de groeistoffen, waarin deze physiologisch werkzaam zijn, dat er geen chemische reagentia zijn, gevoelig genoeg om deze stoffen aan te toonen. Het organisme is een

veel gevoeliger indicator en daarom is men steeds op physiologische toetsen aangewezen. Voor de bios-factoren gebruikt men micro-organismen, die zelf voor de te bepalen bios-factor zeer gevoelig zijn; dat zullen dus die organismen zijn, die niet in staat zijn zelf dien bios-factor te synthetiseeren. Zoo is *Phycomyces* een goed toetsobject voor aneurine, waarvoor intusschen ook een gevoelige microchemische bepalingsmethode bestaat. Het biotine-gehalte van preparaten en organen wordt bepaald met behulp van de groeisnelheid van een zeker gistras (ras „M”, dat uit vier stammen bestaat). Auxine wordt doorgaans bepaald volgens de door *Went* aangegeven *Avena*-toets, die zoo juist in het kort werd beschreven (zie figuur) en die sedertdien voor massaal werk werd uitgewerkt. Daarbij is het verkieslijker organen met aether te extraheeren om de auxine eruit te krijgen en geen gebruik te maken van de oorspronkelijke diffusie-methode. Er bestaan intusschen ook nog andere methodes om het auxine-gehalte te bepalen. Bij de zg. erwten-toets (*Went*, 1934) maakt men gebruik van stukken epicotylen van erwtenkiemplanten, die gedeeltelijk overlans gespleten worden en dan gedurende 24 uur in de groeistofoplossingen (tegenover water als controle) worden gelegd. In water buigen de gespleten helften, als gevolg van de weefselspanning, concaaf naar buiten. In groeistofoplossingen worden deze krommingen convex als gevolg van den hervatten groei. Tenslotte kan men uit de groeiende zone van coleoptielen kleine cilindertjes snijden, deze in groeistofoplossingen leggen en hun lengtegroei meten in vergelijking tot dien van in water gelegde blanco's. Zooals straks zal blijken, kan een parallel gebruik van de verschillende analyse-methodes nog tot belangrijke conclusies leiden.

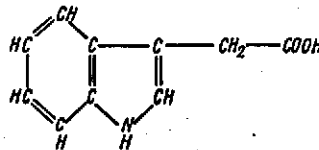
Vraagt men zich nu af, welke de werking is van beide zoo sterk verschillende soorten van groeistoffen, die van het bios-complex en die van de auxine-groep, dan lijkt het verantwoord, daarvan het volgende te zeggen. Wanneer men den groei van een enkele cel beschouwt, dan kunnen wij daarbij met *Sachs* drie verschillende stadia onderscheiden: dat van de celdeeling, dat van den plasmagroei (*Sachs*' embryonale groei) en dat van de celstrekking. Bij den groei door celdeeling treedt er feitelijk nog geen groei op: er heeft een kerndeeling plaats en daarna wordt de cel door een nieuwen celwand in tweeën gedeeld. Wat hier in zeer korten tijd in massa toeneemt is het kernplasma en wij moeten ronduit erkennen, dat wij van dit geheele proces nog niets weten. De jonge cel, die pas uit de deeling is ontstaan, neemt dan in volume toe, totdat zij de grootte heeft bereikt van de cel, waaruit zij door deeling ontstond. Er kunnen nu twee dingen gebeuren: de cel kan zich of opnieuw gaan deelen, dus weer overgaan in stadium I, of zich gaan strekken en

overgaan in stadium III. Geeft men er zich rekenschap van, wat er intusschen is gebeurd, dan blijkt, dat in het tweede stadium vrijwel uitsluitend de massa aan cytoplasma is vermeerderd. Kögl en ik noemden daarom dit stadium dat van den plasmagroei. Gaat een cel hierop over in het strekkingsstadium, dat bijna uitsluitend tot den uitwendig zichtbaren, vaak snellen groei leidt, dan kan het volume vele malen grooter worden, in hoofdzaak, doordat zich uit de vele kleine alveolen één groote centrale vacuole vormt, terwijl er cellulose in en tegen de primaire celwanden wordt afgezet. Hierbij neemt dus het volume aan „goedkoop” materiaal toe: water en cellulose. Het schijnt nu, alsof het tweede groei stadium, dat van den plasmagroei, door de factoren van het bios-complex wordt geregeld en alsof de groei door celstrekking van de groeistoffen van het auxine-type afhankelijk is. Men krijgt dan het volgende schematische overzicht:

groeistadium :		toenemen van :	groeistoffen :
I celdeeling	kernplasma	nog geheel	onbekend
II plasmagroei	cytoplasma	bios-factoren :	meso-inosiet biotine aneurine pantotheenzuur „factor-Z”
III celstrekking	water cellulose	auxine-groep :	auxine-a auxine-b auxine-a-lacton hetero-auxine

Het is een merkwaardig toeval, dat kort na de moeilijke isolatie van auxine-a, eveneens uit urine, door Kögl c.s. een tweede stof, die veel gemakkelijker te winnen was, werd geïsoleerd en die eveneens een sterke groeistofwerking heeft.

heteroauxine
(β -indolyl-azijnzuur)



$C_{10} H_9 O_2 N$ $M=175$
25.000.000 A.E./mg

Ongeveer tegelijk werd diezelfde stof door Dolk en Thimann uit de schimmel *Rhizopus suinus* verkregen. Zij bleek een geheel andere chemische samenstelling te bezitten en werd *hetero-auxine* gedoopt; reeds spoedig bleek zij indoliek met het reeds bekende en synthetisch te bereiden indol-3-azijnzuur, dat per mg 25.000.000 A.E. bleek te bezitten. Intusschen komt het indol-3-azijnzuur, voor zoover wij weten,

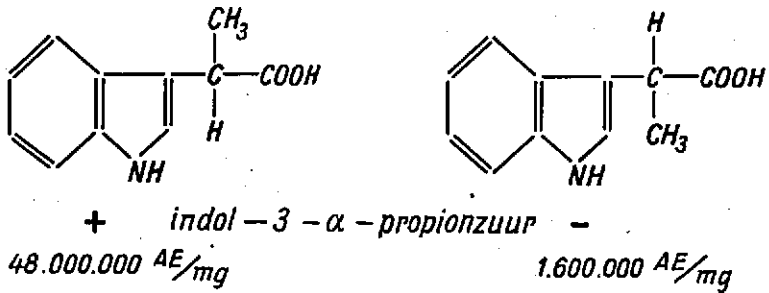
niet als groeistof in hogere planten voor, hoewel het daarin gemakkelijk zou kunnen ontstaan door oxydatieve desaminering en decarboxyleering van *tryptophaan*.

Zooals reeds in het begin werd opgemerkt, beteekende de ontdekking van de hetero-auxine, dat nu iedereen in staat werd gesteld, met behulp van hetero-auxine over groeistoffen te gaan werken. Van verschillende kanten werd getracht nog meer synthetische producten te vinden, die groeistofwerking vertoonen. Zoo bleek deze werking aan tal van andere indol-derivaten eigen te zijn. Bovendien werd, vooral door toedoen van de medewerkers aan het Boye Thompson Institute te Yonkers (N.Y.-U.S.A.), ook groeistofwerking gevonden bij tal van phenyl-, naphthaleen-, naphthyl-, fluoreen- en anthraceen-derivaten; zeer uiteenlopende stoffen dus, die slechts daarin overeenstemmen, dat zij — evenals met auxine-a het geval is, — naast het ringsysteem een zure zijketen bezitten (azijn-, propion- of boterzuur). Maar zelfs ook het neutrale gas aethyleen bleek groeistofwerking uit te oefenen.

Het is echter goed erop te wijzen, dat het volstrekt niet zeker is, dat de werking van al die stoffen, al voert deze tot hetzelfde resultaat, werkelijk een groeistofwerking is. Men dient zeer voorzichtig te zijn met te besluiten tot een aan die van auxine identieke werking; hoogstens mag men spreken van een in enkele opzichten analoge werking. Zoo is bijv. een aantal van die zg. synthetische groeistoffen onwerkzaam in de *Avena*-toets, doch ze werken wel in de erwten- en in de cylinder-toets. Nu worden auxine en ook hetero-auxine in het plantenweefsel getransporteerd en wel, merkwaardigerwijze, uitsluitend in basale richting (Went, 1928; Van der Wey, 1932). In de *Avena*-toets moet nu de groeistof uit de agar-agar via de wondvlakte in het coleoptiel diffundeeren en daarin naar de groeiende zône worden getransporteerd. Noch in de erwten-toets, noch in de cylindertoets is er sprake van eenig transport; de groeistoffen kunnen daarbij direct uit de oplossing in het weefsel diffundeeren. De stoffen, die voorwaardelijk groeistofwerking vertoonen, zijn blijkbaar in de plant niet transportabel en kunnen alleen als groeistof werken, wanneer zij niet eerst behoeven te worden getransporteerd.

Van hoe groote beteekenis in dit opzicht de stereo-structuur van het groeistofmolecule is, blijkt uit het volgende. Het gewone indol-3-propionzuur geeft een flinke groeistofwerking in de *Avena*-proef. Van het indol-3-*a*-propionzuur of methylhetero-auxine bestaan twee isomeren, die alleen verschillen in den stand van de methylgroep in den zijketen. De + vorm heeft een zeer hooge groeistofwerking, de — vorm is in de *Avena*-proef 30 maal minder actief. Het blijkt nu, dat beiden in de cylinder-toets dezelfde activiteit hebben (Verkalk,

1941), zoodat hier het kleine verschil in stereo-structuur uitmaakt, of de stof transportabel is of niet. Men zal begrijpen, dat zulke details van groote beteekenis zijn voor het verder onderzoek naar het wezen der groeistofwerking.



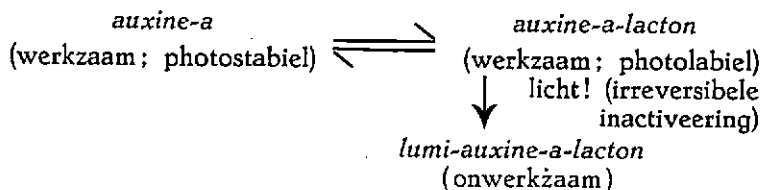
In andere gevallen is de waargenomen groeistofwerking waarschijnlijk een indirecte. Het kan bijv. zijn, dat de kwasi-groeistof in werkelijkheid niet anders doet dan het transport van de echte, in een orgaan aanwezige auxine blokkeeren, waardoor plaatselijke ophooping ervan ontstaat, die weer tot ongewone groeiverschijnselen aanleiding geeft. In weer andere gevallen, zooals bijv. met aethyleen waarschijnlijk is, wordt door de kwasi-groeistof de stofwisseling van het orgaan in kwestie gewijzigd en daarmee de synthese van auxine. Neemt deze synthese toe, dan lijkt het alsof het van buiten aangebrachte agens zelf voor optredende groeiverschijnselen aansprakelijk is.

Het zal duidelijk zijn, dat het zeer moeilijk, vaak zelfs onmogelijk is, uit te maken, wat er precies gebeurt en dat hier nog veel détailonderzoek noodig is. Van wetenschappelijk standpunt bezien, is het niet te veel gezegd, dat de zg. synthetische groeistoffen — vooral in Amerika vaak zonder meer als „auxin” aangeduid — een hopelooze verwarring hebben gesticht in het toch reeds gecompliceerde groeistofonderzoek.

Intusschen zou als tegenwerping de vraag begrijpelijk zijn, op welke gronden men moet aannemen, dat nu juist auxine-a, dat uit urine werd geïsoleerd, met zijn lacton en auxine-b de van nature in de plant voorkomende groeistoffen zijn en waarom niet bijv. het indol-3-azijnzuur. In de eerste plaats blijkt dit uit de diffusiesnelheid. Het moleculairgewicht van auxine-a is 328, dat van hetero-auxine 175; de uit *Avena*-coleoptielen afkomstige groeistof diffundeert met dezelfde snelheid in agar-agar als auxine-a, terwijl de diffusiesnelheid van hetero-auxine veel grooter is.

Maar er is nog een directer bewijs. In zwak zuur milieu komt naast auxine-a — daarmee in evenwicht — auxine-a-lacton voor. Het bleek nu (C. Koningsberger, 1936),

dat auxine-a-lacton door ultra-violet licht onmiddellijk wordt omgezet in een als groeistof onwerkzaam product, dat in het ultra-violette spectrum een sterke absorptie vertoont en den naam lumi-auxine-a-lacton verkreeg. De absorptie wijst er op, dat de dubbele binding uit den 5-ring naar den zijketen is versprongen, terwijl daarin door wateruittreding nog een tweede, geconjugeerde, dubbele binding moet zijn opgetreden. De groeistofactiviteit schijnt dus afhankelijk te zijn van een dubbele binding in den 5-ring. Het was nu interessant na te gaan, in hoeverre een dergelijke photo-inactivering physiologische beteekenis kon hebben en dan met name een rol zou spelen bij de phototropie. Coleoptielen, die door een vóórbehandeling en een voorafgaande decapitatie practisch vrij waren gemaakt van eigen groeistof, werden deels voorzien van agar-agar blokjes met indol-3-azijnzuur, deels van blokjes met een physiologisch aequivalente hoeveelheid auxine-a. Wanneer deze planten daarna éézijdig werden belicht, vertoonden die met indol-3-azijnzuur geen phototropische kromming, hoewel zij wel hun groei hervatten; hun phototropie was dus verloren gegaan. De met auxine-a behandelde coleoptielen, daarentegen, kromden wel, wat slechts te verklaren is door aan te nemen, dat auxine-a ook in de plant in evenwicht voorkomt naast zijn lacton en dat dit laatste aan de lichtzijde sterker geïnactiveerd wordt door de belichting dan aan de schaduwzijde (Königsberger en Verkaaik, 1938), volgens een met de toegeende lichthoeveelheid naar rechts verschuivend evenwicht:



Daar in vitro de inactivering alleen plaats vindt door ultra-violet licht, moest worden aangenomen, dat in de plant een sensibilisator aanwezig is, die deze inactivering door zichtbaar licht mogelijk maakt. De spectrale gevoeligheidsverdeeling voor de phototropie en het daarmede overeenstemmende absorptiespectrum van carotine, die reeds eerder was opgevallen (Bünnig, 1937; Wald en Du Buy, 1937), deed veronderstellen, dat carotinoiden in dit geval als sensibilisatoren zouden optreden. Deze veronderstelling vond krachtigen steun in het recente onderzoek van Schuringa (1941), die inderdaad ook in vitro een photochemische inactivering van auxine-a-lacton door zichtbaar licht vond, mits carotinoiden mede in de oplossing aanwezig zijn. Dit alles vormt wel een zeer fraai bewijs, dat auxine-a-auxine-a-lacton inderdaad de groeistof van het *Avena*-coleoptiel is.

Ik moest deze uitweiding over vraagstukken betreffende de rol van groeistoffen in het eigenlijke groeiproces laten voorafgaan, om duidelijk te doen uitkomen, hoeveel moeilijkheden er nog gelegen zijn in de zg. nevenwerkingen van auxine en physiologisch verwante stoffen. Al spoedig bleek namelijk, dat deze groeistoffen volstrekt niet uitsluitend op den groei zelf werken, maar dat zij ook tal van andere processen inleiden, die men — eigenlijk zonder grond — als nevenwerkingen beschouwt. Het zijn nu juist deze nevenwerkingen, wier practische toepassing in het bijzonder veel beloften voor de toekomst inhoudt, maar daarnaast zeker ook gevaren en teleurstellingen.

Wortelvorming. Went (1933) constateerde, dat stekken van *Acalypha* alleen wortels vormden, wanneer er een of meer bladeren aan de stek werden gelaten. Werden bladlooze stekken behandeld met een in agar-agar opgenomen diffusie uit bladeren, dan was de beworteling gelijk aan die van bebladerde stekken. Hij concludeerde hieruit, dat er in de bladeren een wortelvormende stof wordt geproduceerd, welke, afgevoerd naar de basis der stekken, daar het ontstaan en uitloopen van wortels veroorzaakt. Hij noemde deze stof *rhizocaline*, maar al gauw bleek, dat groeistoffen van het auxine-type eenzelfde werking uitoefenen. Aanvankelijk werd de groeistof aan het apicale eind van de stek toegediend, zoodat deze eerst getransporteerd moest worden naar de basis. Dit bleek echter niet noodig: ook een basale behandeling geeft goede resultaten, waardoor tal van niet transportabele synthetische groeistoffen voor de behandeling van stekken mede in aanmerking kwamen. Sedertdien is bij zoo vele gewassen, zoowel bij jonge kruidachtige stengelstukken als bij overjarige verhoutte stekken, eenzelfde groeistofwerking in den vorm van een bevordering der beworteling gevonden, dat ik U niet met een opsomming van deze gewassen zal vermoeien. Zelfs *Taxus*, *Citrus*, *Ilex* en veel andere planten, waarbij dit voor onmogelijk gold, lieten zich na een groeistofbehandeling gemakkelijk stekken. Het practische belang, dat deze behandeling van stekken inhoudt, is zoo opvallend, dat ik er nauwelijks op behoef in te gaan. Men denke bijv. aan de groote vereenvoudiging, die de mogelijkheid van stekken zou beteekenen voor een klonencultuur bij onze vruchtboomen en tropische cultuurgewassen zooals thee, rubber, koffie, cacao en kina.

Geen wonder, dat men zich van alle kanten op de oplossing van het vraagstuk der practische toepassing heeft geworpen en tal van groeistofpreparaten met dit doel aan de markt heeft gebracht. Soms, zooals hier te Wageningen onder bekwame leiding van Dr. van der Lek, is de zaak in veilige handen, maar heel dikwijls wordt er ook maar „raak” gewerkt. Een van de meest algemeene fouten is, dat men

met veel te hooge, schadelijke concentraties werkt, waaraan ook begrijpelijkerwijze de practijk zich vaak schuldig maakt. Eigenaardig is, dat het over het algemeen als groeistof weinig actieve indol-3-boterzuur op de wortelvorming veelal een sterker effect uitoeft dan het indol-3-azijnzuur; dit is stellig een aanwijzing, dat het effect van groeistoffen op groei en wortelvorming niet hetzelfde is.

In sommige gevallen nu gelukt het niet met een van deze soort groeistoffen beworteling van stekken te verkrijgen. In zulke gevallen verdient het zeker aanbeveling om factoren van het bios-complex te probeeren. Zoo vond **Bonner** (1938), dat in veel gevallen aneurine tot krachtige wortelvorming leidt, zoowel bij planten, waarbij ook indol-3-azijnzuur gunstig effect geeft, als bij zulke, waarbij hetero-auxine volkomen faalt. Alleen bij planten, die van nature rijk zijn aan aneurine, zoals de tomaat, geeft deze stof geen verbetering van het resultaat. Dit wordt bevestigd door de ervaring van **Robbins** (1940), die wel een effect vond van aneurine in orgaancultures, verkregen uit de uiterste worteltoppen van de tomaat. In Utrecht slaagden wij erin *Camellia*-stekken met behulp van aneurine keurig te laten aanslaan, doch daarbij kregen wij het merkwaardige nevenresultaat, dat de stekjes terstond bloemknoppen gingen vormen en reeds na korten tijd overvloedig bloeiden! Er werd ook een geval beschreven, waarin *nicotinezuuramide* (een der factoren uit het vitamine-B-6 complex) tezamen met aneurine een betere beworteling van stekken gaf, dan aneurine alleen (**Addicott**, 1939). Tenslotte wordt er nog melding gemaakt van een bevorderende werking op de wortelvorming van *carotine* (**Lazar**, 1936), terwijl **Dragone-Testi** (1938) beweert, dat een aantal alkaloiden (morphine, cafeïne, chinine, coniïne) gunstig op de wortelvorming van stekken werken. Ik kom er straks nog op terug, wat dit zou kunnen beteekenen.

Aanslaan van entingen. Behalve een werking op de eigenlijke beworteling werd door **Evenari en Konis** (1938) vastgesteld, dat het aanslaan van enten bij de vijg, olijf, peer, appel, kwee en wijnstok door groeistofoediening aan het entrijs wordt bevorderd, hetgeen ook voor de sering door **Söding** (1939) werd gevonden. Van sommige kanten wordt beschreven, dat de ontwikkeling van zaailingen begunstigd wordt, wanneer het zaad met groeistoffen wordt vóórbehandeld. Dit wordt echter ook tegengesproken. Het lijkt evenwel niet onmogelijk, dat men, met het oog op het voorgaande, zaailingen door de moeilijkheden na het verspenen heen kan helpen door een juiste groeistofbehandeling, die hun wortelvorming aanzet.

Verkorting der rustperiode. Tal van onderzoekers beschreven een verkorting van de rustperiode door middel van een behandeling met groeistoffen. Dit geldt zoowel voor de rust-

periode van zaden, rhizomen, bollen, enz., als ook voor die van het cambium en voor een vervroeging van den bloei en de vruchtzetting.

Vervroegde cambium-werkzaamheid als gevolg van groeistoediening werd in vele gevallen geconstateerd, alsmede een bevordering van callusvorming op de wondvlakken van stekken enz. Hierbij schijnt het dus, alsof groeistoffen van de auxine-groep ook invloed uitoefenen op de celdeeling. Zelfs in hypocotylen van zonnebloem-zaailingen kon door groeistoediening reeds het cambium tot de vorming van secundair xyleem en -phloëm worden gebracht. Andere gevallen wijzen erop, dat deze zaak echter veel ingewikkelder is dan zij lijkt en dat groeistof alléén toch niet in staat is, om de cambium-werkzaamheid te verwekken. Ook op dit punt kom ik straks nog terug.

Correlatieve inhibitie. Tot de problemen, die de wetenschap reeds lang hebben bezig gehouden, behoort dat van de zg. *correlatieve inhibitie*. Hiertoe behoort o.a. het algemeen bekende verschijnsel, dat bij een spar, die om een of andere reden zijn top heeft verloren, één der zijloten uit de bovenste vertakkingskrans zijn plagiotrope geotropie opgeeft, rechttop gaat groeien en de plaats van den hoofdspruit gaat innemen. Hieruit werd sinds lang geconcludeerd, dat er van den hoofdspruit een invloed uitgaat op de lagere zijspruiten, waardoor deze een zeker hoek met de verticale maken. Zij worden in zekeren zin door den top onderdrukt en pas als de hoofdspruit wordt verwijderd, wordt één der zijspruiten orthotroop om dan dadelijk op zijn beurt de overige spruiten te gaan onderdrukken.

Bij kruidachtige planten, die zich van nature niet vertakken (bijv. *Pisum*, *Vicia Faba*, *Lupinus*, *Helianthus*), omdat de okselknoppen niet uitloopen, heeft men iets dergelijks. Want zoodra de top wordt verwijderd, loopen de okselknoppen wél uit; ook hier wordt dus door den top de ontwikkeling der zijknoppen onderdrukt. Snijdt men nu den top af, maar vervangt men deze door een groeistofpreparaat, dan loopen de zijknoppen evenmin uit. De groeistof, die normaaliter uit den top in basale richting wordt getransporteerd, remt dus het uitloopen van de okselknoppen. Thimann en Skoog (1934), die het eerst de groeistofwerking bij de correlatieve inhibitie vonden, stelden zich voor, dat deze werking een directe was. De hooge groeistofconcentratie in den normalen stengel (en in dien na decapitatie met groeistoediening) zou de okselknoppen remmen. Anderen dachten, dat de groeistofwerking een indirecte was en dit laatste is juist gebleken, daar Ferman (1938) bewees, dat het groeistofgehalte van de okselknoppen juist het hoogst is, wanneer zij uitloopen en niet zoo lang als zij geremd worden. Bij planten met tegenoverstaande bladeren loopen na ver-

wijdering van den top de beide bovenste okselknoppen uit. Dit gebeurt echter niet altijd met gelijke snelheid; één der spruiten is soms wat vóór op den andere. In dat geval bleek de verst ontwikkelde loot het hoogste groeistofgehalte te bezitten, vóór te blijven en zijn achterlijken lotgenoot steeds verder te onderdrukken. Ook dit is niet met een rechtstreeksche werking van de groeistof te rijmen. Ook deze zaak is dus veel ingewikkelder dan aanvankelijk werd aangenomen.

Delisle (1937, 1938) heeft waarschijnlijk gemaakt, in een bij verschillende *Aster*-soorten ingesteld onderzoek, dat het vertakkingstype van de plant in hooge mate afhankelijk is van de groeistofproductie van den hoofdspruit. Vormt deze weinig groeistof, dan zou de stengel sterker vertakt zijn dan bij soorten, waarbij een hoog auxinegehalte in den top wordt gevonden.

Wellicht staat ook het omgekeerde verschijnsel met correlatieve inhibitie in verband. Het is een algemeen bekend verschijnsel, dat bij sommige planten de eindbloem veel groter wordt, wanneer men een uitloopen der zijknoppen belet door deze tijdig weg te nemen. In de praktijk wordt dit o.a. bij *Dahlia's* en chrysanthen veelvuldig toegepast. De voor dit verschijnsel gemeenlijk gegeven verklaring is, dat alle voedingsstoffen, die anders ook naar de zijspruiten zouden gaan, nu aan den eindknop ten goede komen. Het lijkt mij echter zeer wel mogelijk, dat ook hierbij groeistoffen of de chemische „voorloopers” (*praecursors*), waaruit zij in den top ontstaan, een rol spelen.

Parthenocarpie. Tenslotte moet melding worden gemaakt van de mogelijkheid om bij sommige planten met behulp van groeistoffen vruchten te doen ontstaan uit onbevuchte vruchtbeginsels. Men verwijdert dan stijl en stempels en vervangt deze — onder voorwaarde, die een eventuele bestuiving uitsluiten — door een groeistofpreparaat. Bij een aantal planten, o.a. bij tomaten, meloenen, komkommers, ontstaan dan parthenocarpe, pitlooze vruchten. Hieruit zou men moeten afleiden, dat normaliter òf het pollen òf de bevruchte ovula groeistoffen afscheiden, die tot het uitgroeien van het vruchtbeginsel tot een vrucht aanleiding geven. Waar parthenocarpie in de natuur voorkomt, bijv. bij *Citrus* en banaan, is dus waarschijnlijk een andere groeistofbron aanwezig, die het vruchtbeginsel doet uitgroeien. Wellicht, dat ook hierin toekomstmogelijkheden voor de praktijk schuilen, al waren onze met tomaten opgedane ervaringen in dit opzicht niet bemoedigend.

Zeker is dit echter het geval met een andere ervaring, die opgedaan werd bij de besproeiing van vruchtboomen met groeistofoplossingen met de bedoeling na te gaan, of de vruchtrijping door deze behandeling kon worden bespoedigd. Na deze behandeling bleef de anders zoo veelvuldig voor-

komende ontijdige val van de vruchten achterwege. Deze kwestie is thans ongetwijfeld nog slecht gefundeerd, maar het is zeker niet onwaarschijnlijk, dat het verschijnsel juist is waargenomen en geïnterpreteerd. Immers bij tal van proeven, waarbij groeistof via een bladsteel werd toegediend, is toevalligerwijze het volgende gebleken. Wanneer men een bladschijf afsnijdt boven aan de bladsteel, dan wordt deze steel na korten tijd afgeworpen. Dit gebeurt echter niet, wanneer de bladschijf door een groeistofpreparaat wordt vervangen.

Na deze opsomming van groeistofwerkingen, welke voor een praktische toepassing misschien nog meer beloften inhouden dan tot nu toe gerealiseerd zijn, zou ik nog iets willen zeggen over de tegenwoordige opvattingen omtrent de vraag, waarop deze werkingen berusten.

Het meest onbegrijpelijke was de veelheid van effecten, die door groeistoffen kunnen worden teweeggebracht. In één opzicht nu is deze puzzle aanzienlijk opgehelderd sinds vaststaat, dat de concentratie, waarin groeistof verschillende werkingen uitoefent, sterk verschillend is. Steeds zijn deze concentraties laag, maar voor elke werking bestaat er een zekere concentratie, waar beneden en waar boven één bepaalde werking of veel geringer is, of geheel achterwege blijft. De verschillende optima loopden in den regel ver in grootte-orde uiteen.

Zoo heeft het lang geduurd, voordat de meening de wereld uit was, dat groeistoffen den groei van wortels zouden remmen. Volgens de tot nu toe steeds juist bevonden stelling van Went (1928): „zonder groeistof geen groei”, was het immers geheel onbegrijpelijk, hoe een wortel zou moeten groeien, wanneer de groei-veroorzakende stof dien groei remde. Toch werd dit steeds geconstateerd in alle proeven, waarin wortels werden behandeld met de voor stengels gebruikelijke groeistofconcentraties (in de orde van 5 op 10^8 à 1 op 10^7). Eind 1936 bewezen Geiger-Huber en Bulet, dat groeistof wel degelijk een — zelfs zeer sterk — versnellend effect op den wortelgroei heeft, mits de concentratie ongeveer 20.000 maal lager wordt gekozen dan voor stengels gebruikelijk. Zeer schematisch — het zal trouwens voor elke plantensoort weer anders zijn — kunnen voor eenige werkingen de volgende orden van optimale concentraties worden aangeduid:

Voor den lengtegroei van den wortel:

1 op 10.000.000.000.000

voor den lengtegroei van den stengel:

1 op 500.000.000

voor correlatieve inhibitie: 1 op 100.000

voor wortelvorming: 1 op 10.000

voor cambiumwerkzaamheid: 1 op 1.000

Grafisch voorgesteld, zou dit schema dus een schaar van optimum-krommen te zien geven, met ver uit elkaar liggende toppen.

Een ander punt, dat uit het voorgaande volgt, is echter nog volkomen duister en dat is, w a a r o m de effecten door verschillen in concentratie zoo verschillend zijn. Men zal begrijpen, dat men, om dit te willen verklaren, moet aannemen, dat groeistof geen directe werking uitoefent, maar een indirecte. Waaruit die indirecte werking bestaat is echter niet te zeggen. Ik moet volstaan met kort eenige der moderne, maar onderling nog zeer tegenstrijdige hypothesen hieromtrent aan te duiden.

W e n t meent, dat alle werkingen van groeistoffen, behalve hun werking op den lengtegroei, daarop berusten, dat groeistoffen van geheel anderen aard — het is beter hier in meer algemeen zin van phytohormonen te spreken — zich ophoopen op die plaatsen, waar de auxine-concentratie het hoogst is. Auxine zou dus als het ware andere phytohormonen aantrekken en daardoor ten opzichte van die hormonen distribueerend optreden. Deze theorie is dan ook bekend onder den naam van „diversion”-theorie. W e n t stelt zich voor, dat het werkelijk wortelvormend hormoon — *rhizocaline* — zich daar ophoopt, waar de groeistof zich na de behandeling van de stek in de hoogste concentratie bevindt. Zijn experimenten bewijzen echter niet, dat zich inderdaad andere stoffen ophoopen, dus zeker niet, dat dit het geval zou zijn met andere hormonen, zooals *rhizocaline*. Daarom lijkt het voorbarig aan deze hypothetische hormonen namen te geven als *rhizocaline* en *phyllocaline* voor een blad-vormende stof en *caulocaline* voor een stengelvormende stof enz. Er zit zelfs in zulk een hypothese een groot gevaar: men kan namelijk, telkens wanneer men bij een verklaring van zijn resultaten vastloopt, een nieuwe „caline” aannemen, hieraan een passende naam geven en daarmee de zaak verklaren. Dat is echter slechts een schijnverklaring. De mogelijkheid, dat W e n t's theorie juist is, moet echter volstrekt niet worden uitgesloten.

Het is bijv. niet te ontkennen, dat, terwijl auxine geen invloed schijnt te hebben op den groei van het mesophyl (wèl op dien der bladnerven), *adenine* wèl den groei van het mesophyl bevordert (B o n n e r en H a a g e n S m i t, 1939). Deze stof, de werkzame groep van het enzym *phosphatase* en bestanddeel van de *codehydrase* en de *cozymase*, kwam echter uit de chemicaliënkast en werd niet als *phyllocaline* uit bladweefsel geïsoleerd.

Voorts is in de laatste jaren het bestaan van stoffen aangetoond, die tot orgaanvorming leiden en zeker niet tot de groeistoffen van de auxine-groep behooren. Ik denk in

de eerste plaats aan de bloeihormonen (*florigenen*), waarvan het bestaan werd aangetoond door Kuyp er en Wier sum (1937) voor *Soja Max*, door Hamner en Bonner (1938) voor *Xanthium pennsylvanicum* en door Melchers (1938) voor *Hyoscyamus niger* en tabak. Weliswaar zijn deze stoffen zelf nog niet geïsoleerd, maar hun verband met het verschijnsel der *photoperiodiciteit* is duidelijk aangetoond. Het zoo buitengewoon gevoelig zijn van een aantal planten voor de afwisseling van dag- en nachtperiodes van zeer bepaalde tijdsduur schijnt ten nauwste samen te hangen met de productie van de juist noodige hoeveelheid dezer bloeihormonen.

In ditzelfde verband wil ik wijzen op de welhaast sensationele wijze, waarop Moewus, Kuhn en Wendt (1938) de geslachtsbepalende-, copulatieveroorzakende- en bewegingshormonen van het éencellige wier *Clamydomonas eugametos* hebben geanalyseerd en al deze stoffen hebben herleid tot één gemeenschappelijken „praecursor”, het zg. *protocrocine*, waaruit al deze hormonen automatisch in bepaalde verhoudingen door hydrolyse ontstaan.

De kans, dat Went's „diversion”-theorie door verdere en betere experimenten aan waarschijnlijkheid zal winnen, lijkt zeker niet gering.

Een geheel andere verklaringsooging gaat in de richting, dat men het primaire, directe effect der groeistoffen zoekt in een der voor alle andere levensuitingen fundamenteele processen of fundamenteele eigenschappen der levende cel. Daarbij is vooral gedacht aan een directe werking op de stofwisseling, waaruit dan al het andere als een indirecte werking zou voortvloeien. Ondanks alle zoeken is zulk een effect op de stofwisseling voor groeistoffen van de auxine-groep nimmer aangetoond kunnen worden. Voor de factoren van de bios-groep is dit echter anders: aneurine is, zooals bekend (Lohmann, 1937), de werkzame groep van de *carboxylase*. Nicotinezuuramide is de waterstof-overgedragende groep van de *dehydrase* en van de *zymase* en het is dus zeer goed mogelijk, dat stoffen als deze, waar zij als „groeistof” optreden, dit primair doen door hun werking in het hydrogenatie/dehydrogenatie-systeem der stofwisseling. Gegeven de chemische geaardheid van de groeistoffen van de auxine-groep, is zulk een werking bij hen, als primair effect, zeker niet te verwachten.

Eveneens is het een vage onderstelling (Alexander, 1938), dat deze primaire werking zou bestaan uit de mobilisatie van reservestoffen, wat neer zou komen op een activering van *hydrolasen*.

Een andere mogelijkheid is nu, dat dit primaire effect een verandering is van de fysisch-chemische eigenschappen van het protoplasma. Gegeven het zwak zure, dus polaire en

sterk op den voorgrond tredend lipophile karakter der groeistoffen van de auxine-groep, zou het dan voor de hand liggen, dat deze werking zich zou afspelen in de lipoidrijke grenslagen van het protoplasma, dus in de eerste plaats in den ectoplast en wellicht ook in den tonoplast. Het is denkbaar, dat de eigenschappen van deze grensmembranen, met name de permeabiliteit van den ectoplast, sterk veranderen door adsorptie van zeer geringe hoeveelheden groeistof. Gegeven eenmaal zulk een verandering, dan kunnen daaruit tal van andere wijzigingen voortvloeien, o.a. van de stofwisseling, van den turgor en groei enz. Ook de uiteenlopende chemische samenstelling van de auxinen en van de kunstmatige, synthetische groeistoffen en de groeistofwerking, door sommigen aan carotinoiden en alkaloiden toegeschreven, worden dan minder vreemd en kunnen zelfs op ongedwongen wijze worden verklaard.

In de laatste vier jaren is door mijn jongere medewerkers in het Utrechtsche Laboratorium veel onderzoek in deze richting gedaan, dat echter door de omstandigheden helaas telkens moest worden onderbroken. De techniek van dit onderzoek, waarop thans niet kan worden ingegaan, is buitengewoon moeilijk, maar erger is, dat al gauw bleek, dat de permeabiliteit ook door suikers en vooral door ionen allerlei onverwachte veranderingen ondergaat, zoodat talrijke proeven onder nieuwe voorzorgsmaatregelen moeten worden herhaald, voordat er met zekerheid uitkomsten kunnen worden medegedeeld. Wel schijnt het verantwoord onder voorbehoud mede te delen, dat er inderdaad een invloed van groeistoffen in de uiterst lage, fysiologisch werkzame concentraties op de eigenschappen van de plasmamembraan bestaat.

Een dergelijk primair effect opent de mogelijkheid om een eenvoudige verklaring van het concentratie-effect en van de boven besproken optimumkrommen te geven. In zeer geringe concentraties zou bijv. auxine openend op de plasmamembraan kunnen werken en in hogere concentraties verdichtend. Uitsluitel hierover is echter nog niet te geven.

Tenslotte zou deze nog zeer vage mogelijkheid ook een verklaring kunnen geven van nieuwe ontdekkingen, die mijns inziens met geen enkele andere verklaring zijn te rijmen. Van verschillende zijden is namelijk aangetoond, dat naast groeistoffen ook *remstoffen* bestaan (Fröschel, 1938; Ruge, 1939; Voss, 1939; Snow, 1939; Steward, 1939; Larsen, 1939; Linser, 1940). Om welke chemische stoffen het gaat is nog onbekend, maar zeker is, dat zij algemeen voorkomen in zaden en cotylen. Bovendien is het zeer waarschijnlijk gemaakt, dat deze remstoffen niet zelf den groei rechtstreeks remmen, maar de gevoeligheid van het groeiend weefsel voor auxine verminderen, resp. opheffen.

Het zouden dus als het ware desensibilisatoren zijn, die — in den hierboven ontwikkelden gedachtengang — plaatsen in de plasmamembraan zouden kunnen bezetten, die anders door groeistof hadden kunnen worden ingenomen. Intusschen is dit alles nog fantasie, die ik mij veroorloofde om een duidelijk licht te laten vallen op de geweldige hoeveelheid wetenschappelijk onderzoek, die er nog verricht moet worden, voordat wij werkelijk iets zullen begrijpen van alles, waarover ik een kort overzicht gaf. Tevens zou ik er den nadruk op willen leggen, dat zulk onderzoek een voorwaarde is, om de practische toepassingen op een juiste basis te stellen en daaruit te halen, wat erin zit. Nog menigmaal zullen de boomen des winters hun grillig silhouet tegen de luchten doen afsteken, nog vele lentes zullen zij hun bladeren ontplooien, voordat volmaakte kennis het woud van zijn mysteries en den boschbouw van zijn romantiek heeft beroofd!

Literatuur (voor zoover deze niet op zuivere praktijkproeven betrekking heeft) :

Algemeene overzichtswerken : G. S. Avery & P. R. Burkholder, 1936 : Growth hormones in plants (translated edition of Boysen Jensen); P. Boysen Jensen, 1935 : Die Wuchsstofftheorie und ihre Bedeutung für die Analyse des Wachstums und der Wachstumsbewegungen der Pflanzen; F. W. Went & K. V. Thimann, 1937 : Phytohormones.

Wortelvorming : aanslaan van entingen : H. U. Amlong, 1938 : Ber. d. d. bot. Ges. 56, 239; W. C. Cooper, 1935 : Plant Physiol. 10, 789; 1938 : Bot. Gaz. 99, 599; G. Dragone-Testi, 1938 : Annali di Botanica 21, 378; M. Eversari & Konis, 1938 : Palest. Jl. of Bot. J. Ser. 1, 13; O. Fischnich, 1938 : Ber. d. d. bot. Ges. 56, 144; 1939 : ibid. 57, 122; J. D. Guthrie, 1939 : Contrib. Boyce Thompson Inst. 11, 29; A. E. Hitchcock & P. W. Zimmerman, 1938 : Contrib. Boyce Thompson Inst. 9, 463; 1939 : ibid. 10, 461; 1940 : ibid. 11, 143; W. H. Howard, 1938 : Ann. of Bot. 102, 933; B. Hubert & J. Rappaport, 1939 : Natuurwet. Tijdschr. 21, 56; B. Hubert, J. Rappaport & A. Beke, 1939 : Meded. Landbouw Hoogesch. en Onderzoekstat. Gent, 7, 1; F. Laibach, A. Müller & W. Schäfer, 1934 : Naturwiss. 22, 588; O. Lazar, 1936 : Mém. Soc. Roy. d. Sci. Liège, Sér. IV, 1, No. 1, 2 et 3; Arch. Inst. Bot. de Liège, No. 12, 13, 14 et 15; J. Moureau, 1939 : Bullet. de la Soc. Roy. d. Sci., Liège, No. 2, 41; 1940 : ibid. No. 12, 561; A. M. Müller, 1935 : Jahrb. f. wiss. Bot. 81, 497; H. Söding, 1939 : Ber. d. d. bot. Ges. 57, 185; K. V. Thimann, 1936 : Amer. Jl. of Bot. 23, 561; F. W. Went, 1933 :

Ann. Jardin Bot. de Buitenzorg, 43, 110; 1939: Amer. Jl. of Bot. 26, 24.

Verkorting rustperiode: H. U. Amlong & G. Naundorf, 1938: Planta 12, 116; J. P. Bennett & F. Skoog, 1938: Plant. Physiol. 13, 219; A. B. Brown & R. G. H. Cormack, 1937: Canad. Jl. of Research, C 15, 433; L. P. Miller & F. E. Denny, 1936: Contrib. Boyce Thompson Inst. 8, 121; T. Shibuya, 1938: Jl. Soc. tropic. Agric. 10, 1; A. Vegis, 1937: Bullet. d. l. Soc. de Biol. de Lettonie, 7, 87.

Cambium en callusontwikkeling: C. A. Gouwentak & G. Hellinga, 1935: Meded. L.H.S., Wageningen, 39, 3; C. A. Gouwentak, 1936: *ibid.* 40, 3; G. A. Gouwentak & A. L. Mes, 1940: *ibid.* 44, 3; G. A. Gouwentak, 1941: Proc. Ned. Ak. v. Wet. Amsterdam 44, 654; L. Jost, 1935: Ber. d. d. bot. Ges. 53, 733; G. Rogenhofer, 1936: Sitz. ber. d. Akad. d. Wiss. Math.-Naturwiss. Kl. Abt. I, 145, 81; R. Snow, 1935: New Phytol. 34, 347; H. Söding, 1936: Ber. d. d. bot. Ges. 54, 291; 1937: Jahrb. f. wiss. Bot. 84, 6; 1938: Zschr. f. Bot. 32, 498; 1940: *ibid.* 36, 113.

Correlatieve inhibitie: G. S. Avery, P. R. Burkholder & H. B. Creighton, 1937: Amer. Jl. of Bot. 24, 51; A. L. Delisle, 1937: Amer. Jl. of Bot. 24, 159; 1938: *ibid.* 25, 420; B. le Fanu, 1936: New Phytol. 35, 205; H. G. Ferman, 1938: Rec. trav. bot néerl. 35, 177; A. M. Müller, 1935: Jahrb. f. wiss. Bot. 81, 497; J. van Overbeek, 1938: Bot. Gazette 100, 133; R. Snow, 1937: New Phytol. 36, 283; K. V. Thimann & F. Skoog, 1934: Proc. Roy. Soc. London, B, 114, 317; F. W. Went, 1939: Amer. Jl. of Bot. 26, 109, 505.

Parthenocarpie: F. E. Gardner & E. J. Kraus, 1937: Bot. Gazette, 99, 355; F. E. Gardner & M. C. Marth, 1937: Bot. Gazette, 99, 184; 1939: *ibid.* 101, 226; F. G. Gustafson, 1938: Bot. Gazette 99, 840; 1938: Am. Jl. of Bot. 25, 237; 1939: *ibid.* 26, 135.