Biologische Raad Reeks

Plantehormonen

03-140

CENTRALE LANDBOUWCATALOGUS

0000 0568 7500

ISN 118 114 -

Opgedragen aan F. W. Went ter gelegenheid van het 50-jarig jubileum van zijn proefschrift

De voordrachten uitgesproken tijdens het symposium 'Plantehormonen – 50 jaar na Wents dissertatie' leverden het materiaal voor deze uitgave. Het symposium vond plaats op 13 oktober 1978 in Amsterdam, en werd georganiseerd door de Biologische Raad van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen in samenwerking met de Koninklijke Nederlandse Botanische Vereniging.
In redactiecommissie voor deze uitgave hadden zitting: prof. dr. J. Bruinsma, drs. H. M. van Emden (Biologische Raad) en drs. F. O. Dorgelo (Pudoc).

plantehormonen

J. Bruinsma (redactie)

Centrum voor Landbouwpublikaties en Landbouwdocumentatie

Wageningen – 1979

Laboratorium voor
Plantensystematiek en -geografie
WAGENINGEN

Op de omslag: *Malus* × *platycarpa* Rehd., getekend door G. J. Langedijk, Vakgroep Plantensystematiek en -geografie, Landbouwhogeschool Wageningen.

ISBN 90 220 0714 6
© Pudoc, Centrum voor Landbouwpublikaties en Landbouwdocumentatie, Wageningen, 1979
Druk: Boek- en Offsetdrukkerij Modern b.v., Bennekom

Inhoud

Plantehormonen, vijftig jaar voor en na Wents dissertatie
prof. dr. J. Bruinsma *Vakgroep Plantenfysiologie, Landbouwhogeschool, Wageningen* 7

Primordia, polariteit en plantehormonen
prof. dr. M.H. van Raalte *Oud-hoogleraar Afdeling Plantenfysiologie, Botanisch Laboratorium, Rijksuniversiteit Groningen, Haren*. 25

Moleculaire herkennings- en werkingsmechanismen voor auxinen
prof. dr. K.R. Libbenga en drs. R.J. Bogers *Botanisch Laboratorium, Rijksuniversiteit Leiden, Leiden* 41

Overlevingsstrategieën en hormonen
dr. C.M. Karssen *Vakgroep Plantenfysiologie, Landbouwhogeschool, Wageningen* 54

Bloeiinductie, bloemontwikkeling en vruchtvorming
dr. G.J.H. Bennink *Plantenfysiologisch Laboratorium, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam* 74

De hormonale regulatie van de veroudering
dr. H. Veen *Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO), Wageningen* 84

Onvoltooide taak
prof. dr. F.W. Went *Desert Research Institute, University of Nevada, Reno/Nevada 89507, USA* 104

Literatuur 107

Register. 116

Plantehormonen, vijftig jaar voor en na Wents proefschrift

J. Bruinsma

'Oats, peas, beans and barley grow,
Oats, peas, beans, and barley grow,
Can you, or I, or anyone know
How oats, peas, beans and barley grow?'

Inleiding

Met dit oude Engelse wiegeliedje openen Went en Thimann in 1937 hun boek 'Phytohormones'. Speelde dit liedje Charles Darwin door het hoofd toen hij, vijftig jaar voor Went, de groei van juist deze planten onderzocht? In zijn boek 'The power of movement in plants' (1880) beschrijft Darwin hoe haverkiemplanten bij zijdelingse belichting over hun gehele lengte naar de lichtbron toe krommen. Deze kromming werd toen reeds toegeschreven aan een snellere groei aan de schaduwzijde dan aan de belichte kant van de kiemplant. De belangrijke ontdekking van Darwin was, dat de kromming van de kiemplant over de gehele lengte in de regel sterk verminderd was, als hij het topje van de kiemplant bedekte met een stukje zwartgeverfde schacht van een ganzeveer (fig. 1). Als het stukje schacht niet geverfd was en dus licht doorliet, kromde het kiemplantje normaal.

Uit deze proeven, die ook bij andere plantesoorten soortgelijke effecten opleverden, concludeerde Darwin dat licht niet direct inwerkt op het krommende deel van de kiemplant, doch slechts op het topje ervan, en daar een effect veroorzaakt dat vervolgens naar beneden toe wordt doorgegeven en tot kromming leidt. Hiermede ontdekte Darwin de *correlatieve aard* van de fototrope kromming. Deze wisselwerking tussen top en onderliggend weefsel onder invloed van belichting deed hem denken aan de prikkelgeleiding door zenuwen bij dieren. Ook voor de geotrope reactie van wortels, dat is het groeien van wortels in de richting van de zwaartekracht, vond Darwin een onderscheid tussen de uiterste top, die de zwaartekrachtprikkel ontvangt, en de op enige afstand daarvan gelegen strekkingszone, waarin de buigingsreactie optreedt. Darwin achtte deze *tropistische reacties,* waarvan de grootte ruwweg door de grootte van de

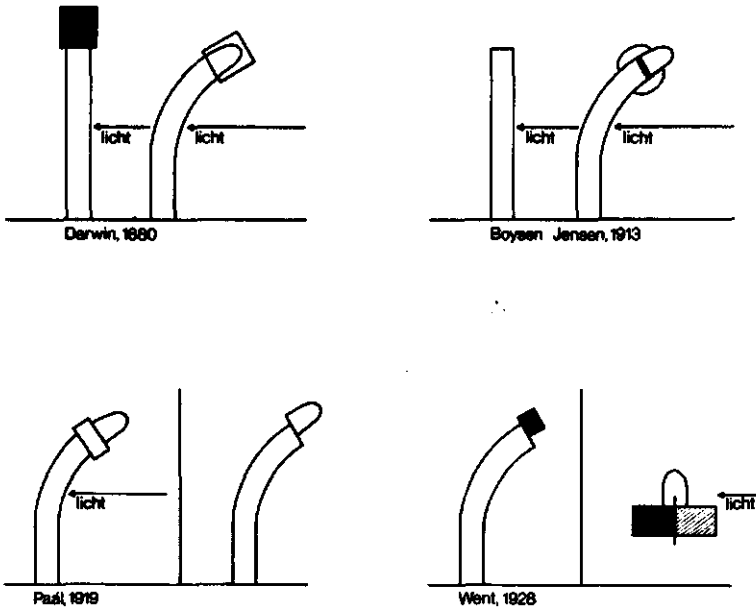


Fig. 1. Groei als correlatieverschijnsel en de isolatie van groeibevorderend hormoon (schematisch).

prikkel wordt bepaald, nuttige aanpassingen van de soort in diens 'struggle for life'.

In het begin van deze eeuw bewees Boysen Jensen dat de prikkelgeleiding bij de fototrope kromming van haverkiemplanten van materiële aard is. Hij liet zien dat onttopte kiemplanten niet meer tot fototrope kromming in staat zijn, maar weer wel indien de afgesneden top rechtstreeks op het snijvlak werd teruggeplaatst en met wat cacaoboter of gelatine werd vastgezet (fig. 1). Op grond van deze waarnemingen suggereerde Boysen Jensen dat er een chemische geleiding van de prikkel van de top uit naar beneden toe plaatsvindt, maar de conclusie dat een specifieke groeistof werd verplaatst trok hij nog niet.

Dit idee was voorbehouden aan Paál, die tijdens de Eerste Wereldoorlog de proeven van Boysen Jensen herhaalde, en ook daarbij tussen de beide snijvlakken van de top en de rest van de kiemplant gelatine of cacaoboter aanbracht. Paál vond dat de stimulus wel gelatine kon passeren, doch niet cacaoboter, mica of platinafolie. Hij ontwikkelde nog een

interessante variant door kromming te laten optreden zonder eenzijdige belichting door de afgesneden top slechts met een deel van het snijvlak van de plant contact te laten maken. De kiemplant kromt dan naar de tegenovergestelde zijde toe, omdat onder de top de meeste groei optreedt (fig. 1). Dit leidde bij Paál tot de veronderstelling dat de top een 'groeiregulerend centrum' is, dat een correlatiedragende stof vormt en naar beneden toe afscheidt. Bij eenzijdige belichting zou deze stof minder gevormd of fotochemisch geïnactiveerd worden, dan wel in zijn benedenwaarts transport geremd worden. Paál verplaatste hiermede de correlatiedrager van de nerveuze sfeer naar die van de *hormonen,* zoals men sinds Bayliss & Starling (1904) de stoffen noemt die bij dieren worden gevormd in klieren met interne secretie. Deze dierlijke hormonen kunnen na transport in het circulatiesysteem in zeer geringe hoeveelheden hun specifieke werking op bepaalde organen uitoefenen (Lever & De Wilde, 1978).

In de twintiger jaren is meermalen getracht de groeibevorderende stof te isoleren, die waarschijnlijk in slechts hormonale hoeveelheid de plantegroei zou beïnvloeden. Deze poging is voor het eerst met succes uitgevoerd door Frits Went, die hierover reeds voorlopig berichtte in 1926 in een in het Nederlands gesteld artikel. Daarin noemt hij de geïsoleerde stof(fen) *groeiregulaar(s).* Na zijn promotie op 14 november 1927, wordt het onderzoek dan internationaal bekend gemaakt in het artikel 'Wuchstoff und Wachstum', verschenen in het Recueil des Traveaux botanique Néerlandais van 1928.

De eerste hormoonisolering

Voorgangers van Went hadden getracht, *extracten* van planteweefsels te toetsen op groeibevorderende activiteit. Stark (1921) toetste deze extracten door ze te mengen met agar en dan een agarblokje op een deel van het snijvlak van een onttopt haverkiemplantje te plaatsen. Hij nam echter alleen groeiremming waar, en geen groeibevordering. Went slaagde met in principe dezelfde techniek wel, niet door extracten te gebruiken, maar *diffusaat.* Agar, waarop een topje heeft gestaan, blijkt de groeibevorderende stof te bevatten door een kromming te veroorzaken bij eenzijdige plaatsing op het onttopte coleoptiel.

De haverkiemplant komt boven de grond met een coleoptiel dat het eerste blaadje omsluit als een schede die van boven dicht is. De celdelingen in het coleoptiel zijn reeds zeer vroegtijdig beëindigd; de verdere coleoptielgroei is uitsluitend een kwestie van de voor plantegroei zo karakte-

ristieke *celstrekking*. Bij de celstrekking neemt het celvolume vooral in de lengterichting zeer sterk toe, doordat de sterk groeiende celwand tijdelijk veel minder weerstand biedt aan de druk van de zich door wateropname uitbreidende vacuole. Het is het door Went geïsoleerde hormoon dat deze celstrekking reguleert (zie het hoofdstuk van Libbenga).

Went kweekte de haverkiemplanten op gedurende 2 à 3 dagen bij 25° C in volstrekt donker tot een lengte van 4 à 6 cm. Het materiaal dat topjes moest leveren kon in grond gekweekt worden, maar de toetsplanten waarvan de kromming gemeten moest worden vergden een zorgvuldiger opkweek in voedingsoplossing (fig. 2). Van de in grond gekweekte plantjes werden in rood licht de coleoptieltoppen afgesneden met een 'decapitatiemes' en de topjes werden geplaatst op een met een microtoommes gesne-

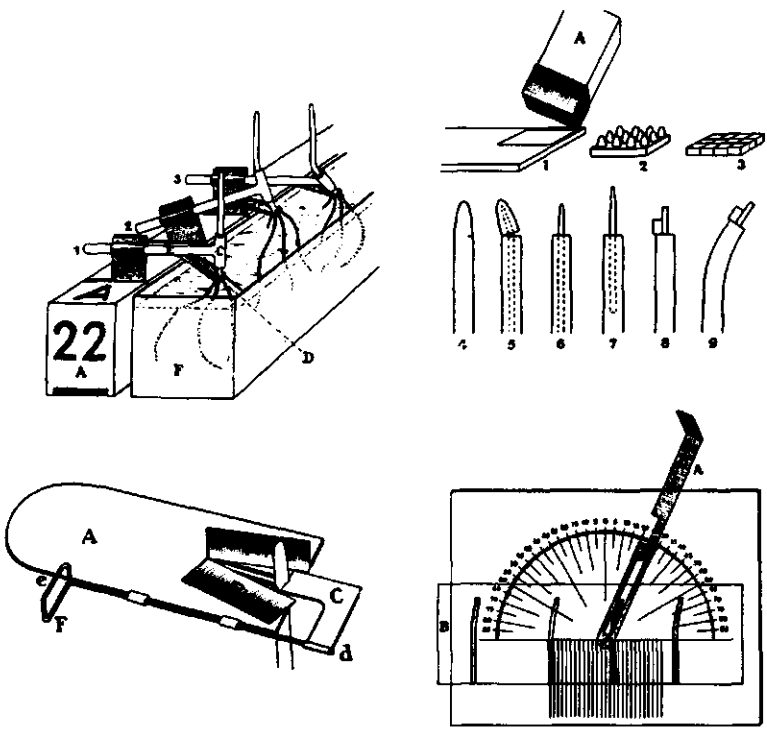


Fig. 2. Overzicht van de door Went gebruikte methoden.

den agarplaatje, 0,6 mm dik, ongeveer 2¼ mm^2 per topje. Na bijv. 2 uur werd het agarplaatje in evenveel gelijke stukjes gesneden als er topjes waren en elk stukje éénzijdig op een gedecapiteerd coleoptiel geplaatst, tegen het wat opgetrokken eerste blaadje aan. Na bijv. 2 uur werd dan de kromming van schaduwbeelden gemeten met een gradenboog.

Met behulp van deze methode toonde Went o.a. aan dat in de top van het *Avena*-coleoptiel voortdurend een groeistof wordt gevormd, die zich naar beneden toe verplaatst en aldaar de celstrekking bevordert door invloed uit te oefenen op de rekbaarheid van de celwanden. Voor zover deze groeistof de beperkende factor is, is de groei evenredig met de hoeveelheid ervan, en geldt 'ohne Wuchstoff kein Wachstum': geen groei zonder groeistof. De groeistof werd ook wel *auxine* genoemd.

Went onderzocht de fototropie door een afgesneden topje eenzijdig te belichten, met onder de licht- en schaduwzijde elk een agarblokje, van elkaar gescheiden door een plaatje glimmer (fig. 1). Daar het blokje onder de schaduwzijde ongeveer tweemaal zoveel kromming induceerde bij onttopte coleoptielen dan dat onder de lichtzijde, en belichting van agarblokjes op zich de kromming niet beïnvloedde, concludeerde Went dat eenzijdige belichting het benedenwaarts transport van het lichtstabiele auxine naar de schaduwkant doet afbuigen. Aldus ontstaat in de strekkingszone een dwarse auxinegradiënt die voor het kromgroeien verantwoordelijk is. Deze hypothese, die aansluit bij een eerder door Cholodny gegeven verklaring van de geotrope kromming, is bekend als de Cholodny-Wenttheorie van tropistische krommingen.

De chemische aard van het auxine bleef voorlopig onopgehelderd; de stof was foto- en thermostabiel en volgens de diffusieconstante laagmoleculair. Eerst de analysetechnieken van na de Tweede Wereldoorlog maakten het mogelijk de van nature in plantemateriaal voorkomende auxine(n) te identificeren.

Plantehormonen als signaalstoffen

Het door Went geïsoleerde, nog niet chemisch gedetermineerde auxine was dus het eerste plantaardige hormoon. In hun definitie van plantehormonen in hun eerder aangehaalde boek 'Phytohormones', sluiten Went en Thimann aan bij de definitie die Bayliss en Starling in 1904 van dierlijke hormonen gaven: "Een hormoon is een chemische stof, die in één deel van het organisme wordt gevormd, naar een ander deel wordt vervoerd en daar een specifiek fysiologisch proces beïnvloedt". Plantaardige hormo-

nen komen in zoverre met dierlijke hormonen overeen, dat het organische stoffen zijn, die hun specifieke effecten op overeenkomstige wijze in zeer geringe hoeveelheid kunnen uitoefenen (zie hiertoe het hoofdstuk van Libbenga). Zij verschillen echter ook in enkele opzichten van dierlijke hormonen. Hun transport vindt uiteraard niet via de bloedbaan plaats maar via hout- en zeefvaten, alsook van cel tot cel in het parenchymweefsel. Bovendien worden zij niet elk in één specifieke klier gevormd om na transport in één specifiek orgaan een bepaalde werking uit te oefenen: de plantehormonen *(fytohormonen)* worden in meerdere, soms in alle plantedelen gevormd en oefenen zeer verschillende werkingen uit, zowel tussen verschillende organen als binnen één orgaan in de tijd. Elk plantehormoon is dus drager van verscheidene correlaties, is boodschapper van verschillende berichten. Deze boodschappen kunnen interne signalen betreffen, doch ook reacties op stimuli uit de omgeving. De zojuist besproken fototrope kromming is volgens de Cholodny-Wenttheorie het gevolg van een signaal op een milieufactor, in dit geval eenzijdige belichting.

In het nu volgende overzicht zullen de vijf groepen van thans bekende plantehormonen kort worden behandeld. Het zijn de auxinen, de cytokininen, de gibberellinen, de abscisinen en het ethyleen.

Auxinen

De groep der auxinen omvat die stoffen, die actief zijn in de zojuist besproken, door Went ontwikkelde coleoptieltoets of daarmee verwante biotoetsen *(bioassays)*. Ze bevorderen de groei in lage concentraties en remmen deze in hoge concentraties. De auxinen zijn indol- of fenylderivaten, die gevormd worden uit twee aminozuren, tryptofaan en fenylalanine (fig. 3). De primair actieve auxinen zijn het indol- en fenylazijnzuur *(indole- and phenylacetic acid,* IAA resp. PAA), waarvan de activiteit al in de dertiger jaren bekend was, maar die toen niet als natuurlijke auxinen herkend werden (Went, 1939). De andere auxinen ontlenen waarschijnlijk hun activiteit aan de omzetting in deze twee stoffen. Ook gechloreerde derivaten van IAA zijn als natuurlijke auxinen werkzaam.

Het spreekt vanzelf, dat men geen gehalte meer kan bepalen met een biotoets wanneer zovele verschillende stoffen in plantaardige extracten en diffusaten auxineactiviteit bezitten. Dit te meer omdat naast deze groeistoffen ook remstoffen voorkomen, die de werking min of meer, of zelfs geheel kunnen verhullen. Moderne vloeistofverdelings- en chromatografische technieken zijn nodig, om de zeer geringe hoeveelheden van

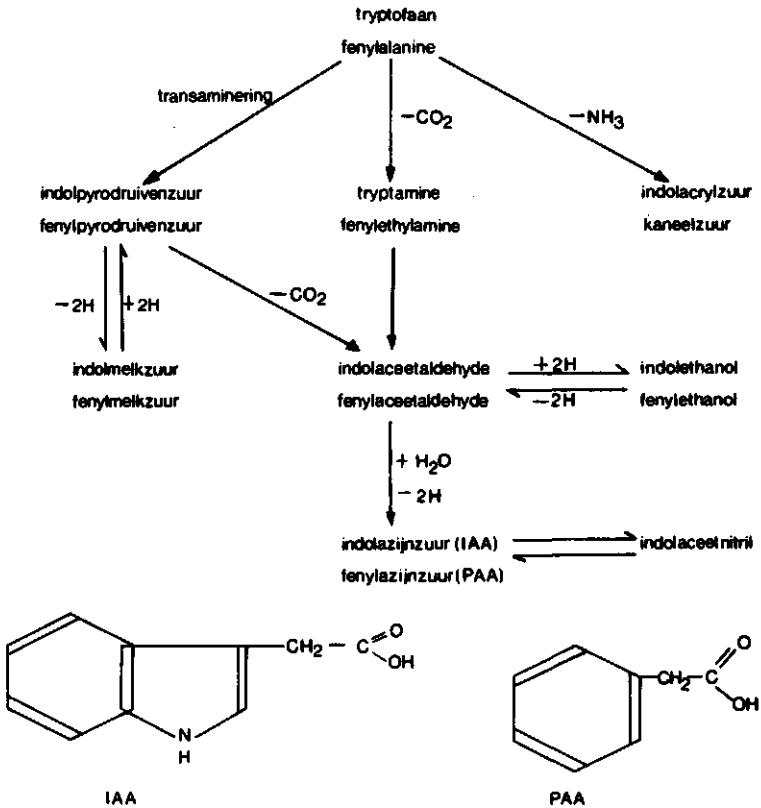


Fig. 3. Biosynthesewegen van auxinen.

deze stoffen (delen per miljoen of miljard) te scheiden van de overmaat aan andere opgeloste stoffen, en van elkaar. Met uiterst gevoelige fysische detectiemethoden wordt vervolgens de activiteit der gezuiverde fracties bepaald (fig. 4). Daarbij dient rekening te worden gehouden met de verliezen tijdens extractie, opzuivering en scheiding. Deze verliezen kunnen worden bepaald door isotoopverdunning, d.i. door onmiddellijk na extractie een bepaalde hoeveelheid radioactief gemerkt hormoon toe te voegen, waarvan de resterende radioactiviteit bij de uiteindelijke bepaling opnieuw wordt gemeten. Bij al deze geavanceerde technieken blijft de relatief tijdrovende, onnauwkeurige en voor remstoffen gevoelige biotoets

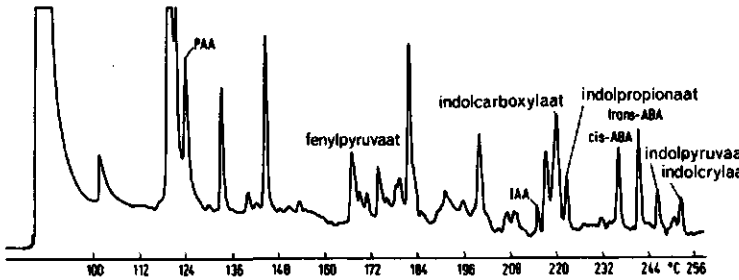


Fig. 4. Gaschromatografische scheiding van indol- en fenylderivaten in een extract van tabaksblad.

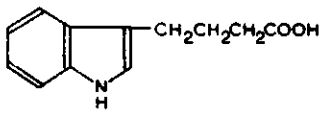
het onmisbare hulpmiddel ter controle van de biologische activiteit van het gezuiverde monster.

Went toonde aan dat auxine wordt gevormd in de top van het coleoptiel en vandaar naar beneden toe verplaatst wordt. Zijn voorganger Darwin had al voor vele plantesoorten laten zien, dat de top de daaronder verlopende celstrekking reguleert. Dit nu is zeer algemeen: auxine wordt gevormd in de groeitoppen van stengels, in bladeren, bloemen en zaden van vruchten, en wordt van daaruit vervoerd. Dit transport verloopt ten dele van cel tot cel, op polaire wijze van boven naar beneden, en vanuit de bladeren ook via de gebruikelijke exportkanalen, de zeefvaten. Dit auxine vervult velerlei functies: het regelt de groei van stengels, bladeren, bloemen en vruchten, hun vatvoorziening en voeding, o.a. door stimulering van de cambiumcellen tot vorming van hout- en bastweefsel. De auxineproduktie van deze organen is een teken van hun fysiologische activiteit en remt hun veroudering, zoals de rijping van vruchten. Zo lang een gradiënt van auxine door de stelen van bladeren, bloemen en vruchten verloopt, wordt het afvallen van deze organen verhinderd. Wordt een blad afgesneden, dan kan het zich in de bladsteel ophopend auxine de vorming van adventiefwortels bevorderen. Deze auxinewerking is van belang voor stekbeworteling, bijv. bij vegetatieve vermeerdering in de tuinbouw; zij werd reeds in 1938 gepatenteerd. De verschillende correlatieve ontwikkelingsprocessen zullen door Van Raalte, Karssen, Bennink en Veen nader worden uitgewerkt.

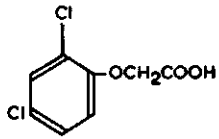
Nog één aspect verdient vermelding. Naast de natuurlijke indol- en fenylauxinen zijn in chemische laboratoria nog vele organische stoffen gesynthetiseerd die auxineactiviteit in biotoetsen vertonen. Omdat de naam

hormoon is gereserveerd voor natuurlijk voorkomende stoffen, gebruiken we ter aanduiding van de natuurlijke zowel als kunstmatige auxinen de door Went in 1926 voorgestelde verzamelnaam *regulatoren* (in het Engels *plant growth regulators, PGR).* De naam 'regulatoren' verdient om twee redenen de voorkeur boven 'groeistoffen': regulatoren beïnvloeden niet alleen de groei, maar vooral ook de ontwikkeling van planteorganen. De groei wordt door hen niet alleen bevorderd, doch ook geremd, afhankelijk van de soort regulator, diens concentratie en het orgaan waaraan het is toegediend.

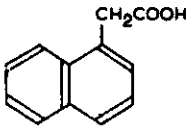
Kunstmatige auxinen vinden veel toepassing in land- en tuinbouw (fig. 5). Enerzijds worden zij gebruikt om natuurlijk auxine te vervangen of te versterken, bijv. bij stekbeworteling in de boomteelt en vruchtzetting of -dunning in de fruitteelt. Anderzijds kunnen zij door overdosering leiden tot ernstige, zelfs fatale groeiverstoringen, omdat ze veel minder goed in



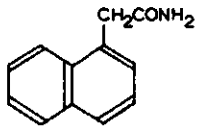
(IBA) indol - 3 - boterzuur



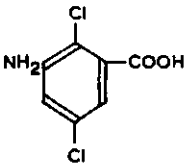
2,4-dichloorfenoxyazijnzuur (2,4-D)



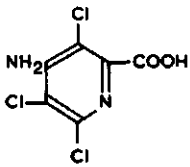
(NAA) 1-nafthylazijnzuur



(NAAm) 1-nafthylazijnzuuramide



2,5-dichloor-3-aminobenzoëzuur (amiben)



3,5,6-trichloor-4-aminopicolinezuur (picloram)

Fig. 5. Enkele kunstmatige auxinen.

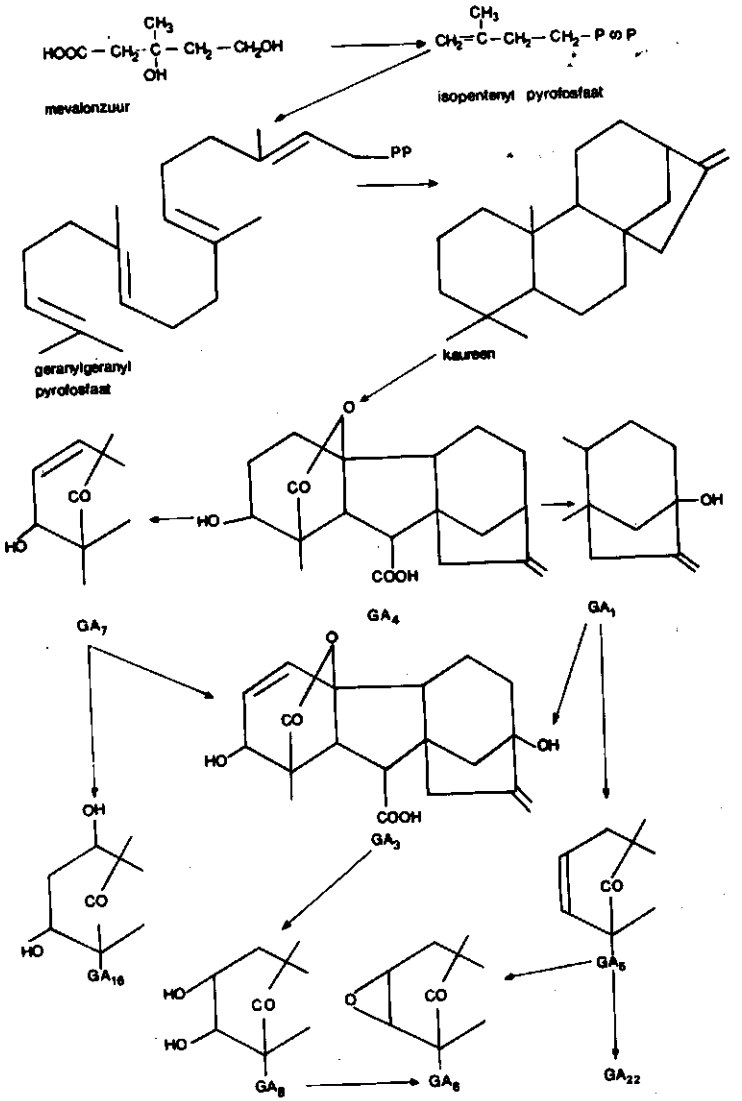


Fig. 7. Biosynthese van gibberellinen.

(C_{20}), dat ringsluiting ondergaat tot kaureen (fig. 7). Via omleggingen worden hieruit C_{20}-gibberellinen gevormd en door decarboxylatie C_{19}-gibberellinen. Er zijn thans ruim vijftig verschillende gibberellinen bekend, met onderling geringe structurele, doch vaak grote fysiologische verschillen. Bovendien verschilt per gibberelline dikwijls de fysiologische activiteit aanzienlijk in de verschillende biotoetsen, hetgeen de bruikbaarheid van deze toetsen erg betrekkelijk maakt (fig. 8). Doch de fysicochemische bepaling is eveneens bezwaarlijk, juist omdat de zeer vele chemisch sterk verwante gibberellinen zich uiterst moeilijk laten (onder)scheiden.

De biosynthese van gibberellinen kan in vrijwel alle plantedelen plaatsvinden en gibberellinen, gevormd in groeiende wortel- en stengeltoppen, bladeren en zaden, circuleren door de gehele plant via hout- en zeefvaten. Tot hun specifieke functies behoren de bevordering van de zaadkieming, vooral van de mobilisatie van de in het zaad opgeslagen reservestoffen voor de kiemplantgroei, alsook de inductie van celdelingen in de subapicale en intercalaire meristemen, die nodig zijn voor de lengtegroei van de stengel. Dwergplanten hebben meestal een verminderde gibberellinesynthese of een geremde vorming van actieve gibberellinen uit minder actieve gibberellinen.

Rozetplanten hebben een volledig geblokkeerde gibberellinesynthese. Rozetplanten zijn één- of tweejarige planten, waarvan de bladeren zonder zichtbare internodiën op elkaar zitten. Bij éénjarige planten zijn òf zomerse dagen met een lichtperiode van meer dan 12 uur per etmaal

toetsplant	GA_1	GA_3	GA_4	GA_5	GA_7	GA_8
gerst (amylase)	+ + +	+ + +	+ +	+	+ +	+
dwergmais d-1 (groei)	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	o
boon (groei)	+	+ + +	o	+ + +	+ + +	o
dwergerwt (groei)	+ + +	+ + +		o		
komkommer (groei)	+ +	+ +	+ + +	+	+ + +	o
myosotis (bloei)	+ +	o	o	o	+ + +	o
silene (bloei)	o	o	o	o	+ + +	

o inactief; + weinig actief

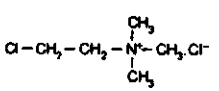
++ actief; +++ zeer actief

Fig. 8. Activiteiten van enkele gibberellinen in verschillende biotoetsen.

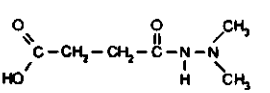
(langedagplanten, zoals sla) òf koude dagen tussen 0° en 10° C *(winterannuellen,* zoals wintertarwe) nodig om de gibberellinesynthese op gang te brengen, zodat de planten kunnen gaan doorschieten en bloeien. Bij tweejarige planten (*biannuellen,* zoals biet) wordt het eerste jaar een rozet gevormd op een verdikte penwortel, die na winterkoude, waarin de gibberellinesynthese start, de energie levert voor het doorschieten. In al deze gevallen kan een gibberellinetoediening de behoefte aan lange dagen of koude vervangen.

Kunstmatige regulatoren, die de gibberellinesynthese en/of -activering remmen, geven aanleiding tot dwerggroei. Dergelijke *groeivertragers (growth retardants),* die overigens geen nadelige invloeden uitoefenen, worden veel toegepast in de landbouw, om bijv. legering van granen te vermijden, en in de tuinbouw, met name in de sier- en fruitteelt (fig. 9). Tal van siergewassen, als chrysant en kerstster, worden m.b.v. groeivertragers tot handzame potplanten gereduceerd, terwijl in de fruitteelt de scheutgroei wordt afgeremd ten behoeve van de vruchtbaarheid.

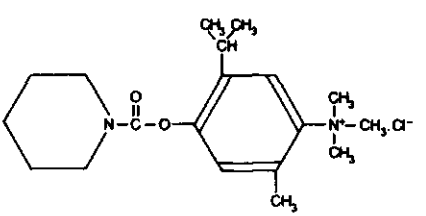
Gibberellinen oefenen behalve bevorderende, ook remmende invloeden uit op de vorming van de organen van generatieve en vegetatieve voortplanting. De gibberellinevorming door groeiende scheuten en bladeren, door zaden in ontwikkelende vruchten en door actieve wortelstelsels, remt de ontwikkeling van de bloemaanleg bij vruchtbomen. Groeiremmende maatregelen in de fruitteelt, zoals het tot horizontaal uitbuigen van takken, het enten op zwakke onderstammen, en het rondsteken van seringen,



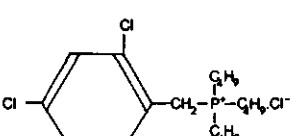
chloormequat (CCC)



daminozide (SADH, Alar, B-9)



ACPC (Amo-1618)



CBBP (phosfon)

Fig. 9. Enkele groeivertragers.

vinden hierin hun grond. Ook het beurtjaareffect, waarbij groeiende vruchten de bloemvorming voor het volgend seizoen belemmeren, wordt hierdoor verklaard. Bij planten met eenslachtige bloemen remt gibberelline specifiek de vorming van vrouwelijke bloemen, waardoor meer manlijke bloemen kunnen ontstaan. Bij geheel vrouwelijke lijnen van bijv. komkommer, levert een gibberellinebespuiting dan ook de enkele manlijke bloemen op die nodig zijn voor de teelt van het zaad van deze lijnen.

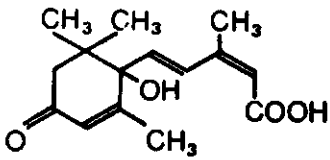
De remming van organen voor vegetatieve vermeerdering blijkt o.a. uit de belemmering van de knolgroei bij de aardappel, die zich bijv. uit in doorwas bij mooi warm weer. Het dan in de bladeren gevormde gibberelline doet de knollen ondergronds weer uitlopen, waardoor de knolvorming wordt onderbroken.

Abscisinen

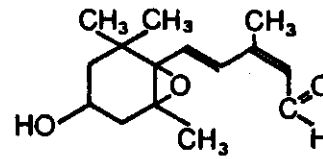
Bij de knolvorming uit zich een antagonistische interactie van gibberelline met een vertegenwoordiger van de vierde groep der plantehormonen: het abscisinezuur. Bij het korter en koeler worden der dagen gaat de vorming van abscisinezuur in de bladeren die van gibberelline overheersen. Deze verandering van het hormoonpatroon bevordert niet alleen de knolgroei bij bijv. de aardappel, doch beëindigt bij bomen en heesters ook de cambiumactiviteit en doet de bladaanleg in de groeitop omslaan in de aanleg van knopschubben, die de knoppen afsluiten en afschermen tegen de naderende winter. Abscisinen zijn signaalstoffen die de planteorganen zich tijdig doen beschermen tegen ongunstige omstandigheden. Zij behoren tot de stoffen die zaden en knoppen in rust houden en die bij droogte de huidmondjes van de bladeren snel doen sluiten en gesloten houden.

Hoewel de abscisinen in menig opzicht lijnrecht tegenover de gibberellinen staan, zijn hun biosynthesewegen verwant: ook deze stoffen resulteren uit de mevalonzuur-stofwisseling; zij zijn opgebouwd uit drie isopreeneenheden. Evenals de gibberellinen kunnen zij zowel onder- als bovengronds gevormd worden. Naast het abscisinezuur is vooral het neutrale xanthoxine van belang (fig. 10).

Tegenover gibberellinen, cytokininen en auxinen werken de abscisinen inactiverend, doen volwassen organen verouderen en remmen de groei van jonge organen. In dit opzicht is onlangs de eerder besproken Cholodny-Wenttheorie betreffende tropistische krommingen op losse schroeven komen te staan. Moderne methoden maken directe toetsing



abscisinezuur (ABA)



xanthoxine

Fig. 10. Enkele abscisinen.

mogelijk van deze hypothese, die de krommingen toeschrijft aan het optreden van een overdwarse auxinegradiënt in de krommende organen. De bepaling van indolazijnzuur in de schaduw- en belichte zijden van éénzijdig belichte zonnebloemkiemplanten toonde aan weerszijden eenzelfde concentratie aan. De remming van stengelgroei door licht is vooral toe te schrijven aan de vorming van de remstof xanthoxine in het licht. De geringere activiteit in de coleoptieltoets van diffusaat uit de belichte zijde van een coleoptieltop t.o.v. het diffusaat uit de schaduwzijde, zoals door Went in zijn proefschrift werd aangetoond, kan in principe evenzeer aan een verhoogd remstof- als aan een verlaagd auxinegehalte worden toegeschreven. Thans wordt dan ook onderzocht in hoeverre de fototrope kromming berust op een overdwarse xanthoxine-gradiënt bij gelijkblijvend auxinegehalte (Bruinsma, 1977b). Een parallele ontwikkeling treedt op bij het onderzoek naar de geotrope kromming van wortels, waar de buiging waarschijnlijk moet worden toegeschreven aan een gradiënt van abscisinezuur (Wilkins, 1977). Het lijkt er op, dat het adagio van Went: 'geen groei zonder groeistof', na vijftig jaar moet worden gemodificeerd tot: 'geen groei zonder regulatie', een regulatie door interactie tussen groeibevorderende èn groeiremmende hormonen.

Dit lijkt algemeen te gelden voor de hormonale regulatie van de plantaardige ontwikkeling. Een proces is veel beter te sturen door een combinatie van bevorderende en remmende factoren dan door één van deze factoren afzonderlijk. De interactie tussen abscisinen en andere groepen van hormonen, doch ook die tussen de laatsten onderling, kan aldus goed begrepen worden.

Ethyleen

In deze interacties speelt tenslotte een vijfde stof een rol, van een zo eenvoudige structuur, dat het slechts geleidelijk erkenning vond als plante-

hormoon: de gasvormige koolwaterstof ethyleen ($H_2C=CH_2$). Dat dit gas ontwikkelingseffecten heeft was al tientallen jaren bekend door schadelijke effecten van lekkende gasbuizen en door de rijpende werking van uitlaatgassen op vruchten, hetgeen door citrustelers werd benut door hun auto's in vrijloop te laten draaien in de bewaarplaatsen van hun fruit. Dat het een echt hormoon is blijkt uit zijn vorming in alle delen van de plant, en door de werking in zeer lage dosering op precies dezelfde moleculaire wijze als de andere plantaardige en dierlijke hormonen. Uitzonderlijk is de transportweg, die voor ethyleen grotendeels door de intercellulaire ruimten tussen de cellen en langs het oppervlak van de plant plaatsvindt. Toch kan ethyleen juist langs die wegen zijn specifieke signaalfuncties uitoefenen.

In het patroon der hormonale interacties werkt ethyleen op soortgelijke wijze als de abscisinen: het remt de groei van jonge delen en bevordert de veroudering van volwassen organen. De rol als verouderingshormoon voor bladeren, bloemen en vruchten, wordt door Veen nader belicht. De groeiremmende werking op jonge delen houdt vooral verband met de vorming van ethyleen als reactie op stresscondities. Verwonding, of zelfs al lichte aanraking of beweging door wind, leiden tot groeiremming door ethyleenvorming. Remming van de lengtegroei gaat daarbij dikwijls gepaard met extra diktegroei. Hierdoor kunnen stengels en zelfs stammen van bomen hun elastische eigenschappen afstemmen op de milieucondities. Ook een natuurlijke of kunstmatige overmaat aan auxine roept ethyleenontwikkeling op. Dit kan de remmende werking van supraoptimale auxinedoseringen geheel of ten dele verklaren, en speelt tevens een rol als signaal tot bijv. bloemverwelking, als na de bestuiving het auxinegehalte in de stamper stijgt.

Bij kiemplantgroei is de ethyleenvorming van belang als het zaad ondergronds kiemt. In het donker wordt onder het pluimpje of de cotylen ethyleen gevormd, waardoor deze blaadjes samengevouwen en tegen het stengeltje aangedrukt blijven. Aldus groeien ze met zo min mogelijk beschadiging door de grond heen. Als het kiemplantje op weg naar het licht tegen een obstakel groeit, neemt de ethyleenvorming toe, waardoor de groei in de lengte wordt geremd, maar de groei overdwars bevorderd wordt. Het aldus steviger stengeltje kan zo langzamer maar krachtiger het obstakel wegduwen. Lukt dit niet, dan gaat door nog meer ethyleenproduktie het stengeltje kromgroeien, waardoor het kans krijgt onder het obstakel weg te buigen.

Wanneer het kiemplantje het licht bereikt, houdt de ethyleenvorming

op en ontvouwen de blaadjes zich. De lichtperceptie van het dan nog bleke plantje vindt plaats door een kleurstof, die in de gehele morfogenese van de plant een zeer belangrijke rol speelt, zoals bij de meting van de daglengte door planten die onder invloed daarvan tot bloei overgaan (zie het hoofdstuk van Bennink). Hoewel dit pigment, het *fytochroom,* bij tal van hormonaal gereguleerde ontwikkelingsprocessen betrokken is, wordt het niet extracellulair getransporteerd en heeft het dus geen functie als correlatiedrager in de wisselwerking tussen verschillende delen van de plant. Het blijft hier dus verder buiten beschouwing.

Besluit

Honderd jaar geleden is door Darwin ontdekt dat groei een correlatief verschijnsel is. Vijftig jaar geleden isoleerde Went de eerste correlatiedrager, het plantehormoon auxine. Thans lijkt het beeld veel ingewikkelder en boeiender dan toen kon worden vermoed. De groei van een planteorgaan is veel plastischer, veel minder aan genetische grenzen gebonden, dan dat van een dierlijk orgaan. Een verwaarloosd hondje mag wat kleiner blijven dan zijn weldoorvoede nestgenoot die thuis het troeteldier werd; een in volle ruimte gezaaide roggekorrel produceert ruim tien keer zoveel graan als een plant uit een korrel uit dezelfde aar, die zich in een normaal gezaaid veld moet ontwikkelen. Ondanks het feit dat elk onderdeel van een plant, hetzij in de vrije natuur of gecultiveerd, tot slechts een deel van zijn genetisch potentiële omvang uitgroeit, is toch elk planteindividu harmonisch opgebouwd en samengesteld uit organen die met elkaar een evenwichtig geheel vormen. Dit is te danken aan de veelvoudige interactie van plantehormonen, die in een zowel bevorderend als remmend patroon de groei en ontwikkeling reguleren.

Hoe dit beeld zich in de toekomst ontwikkelen zal? Het vele onderzoek sluit ingrijpende modificaties niet uit, mogelijk komen er nog groepen hormonen bij die groei, bloei en veroudering mede blijken te reguleren. Het werkingsmechanisme zal verder worden opgehelderd. En de toepassingen van natuurlijke en kunsmatige regulatoren zullen zich ongetwijfeld sterk gaan ontwikkelen om de produktie te bevorderen van voedsel, vezels en energie voor een wereldbevolking die toeneemt in aantal en hopelijk ook in welvaart.

Primordia, polariteit en plantehormonen

M. H. van Raalte

Inleiding

In 1891 scheidde Driesch de twee cellen van elkaar die uit de eerste deling van een zeeëgelei waren ontstaan. Bij de verdere ontwikkeling ontstond uit iedere cel een zeeëgellarve, die slechts in grootte van een normale larve verschilde. Een soortgelijke proef met overeenkomstig resultaat werd in 1903 uitgevoerd door Spemann met het tweecellig stadium van een salamanderei (Raven, 1961).

Deze beide proeven illustreren een belangrijk probleem van de morfogenese, nl. dat van de *correlatie*. De twee cellen waren blijkbaar totipotent, d.w.z. ieder had het vermogen om een volledig organisme te vormen. Indien ze echter met elkaar in contact gebleven waren, en dat is in de normale ontwikkeling het geval, was uit ieder slechts een deel van een organisme ontstaan. Er moet dus informatie over en weer tussen de beide ontwikkelende delen overgaan waardoor ze elkaar beïnvloeden. Hoe deze informatie wordt overgebracht, waar hij ontstaat, op welke plaats hij zijn invloed uitoefent en van welke aard die invloed is, zijn vragen die zich niet alleen bij het dierlijk organisme voordoen, doch overal waar jonge cellen uitgroeien tot organen.

Bij de ontwikkeling van de hogere plant doet het probleem zich in een andere vorm voor dan bij het hogere dier, doordat de plant een geheel andere wijze van groeien heeft. De plant groeit met vegetatiepunten. Hier ontstaan bladeren en wortels als groepjes van cellen die zich door rangschikking of vorm onderscheiden van het aangrenzende weefsel. Zulke bladeren en wortels in aanleg noemt men *primordia*. Primordia kunnen ook ontstaan uit reeds gedifferentiëerde volwassen cellen. Het ontstaan en het uitgroeien van primordia staan beide onder invloed van andere, soms ver verwijderde, delen van de plant.

Het idee dat deze invloed door bepaalde stoffen wordt overgebracht is al zeer oud. Oorspronkelijk dacht men hier aan een sapstroom die

voedingsstoffen distribueert. Sachs (1880) was waarschijnlijk de eerste die sprak van orgaanvormende stoffen. Hij beschouwde deze als specifieke 'Bildungsstoffe', die door hun chemische eigenschappen de vorm bepaalden van het orgaan waarvan ze een bestanddeel waren.

Veel dichter bij ons tegenwoordige hormoonbegrip kwam Beyerinck (1888), die door zijn onderzoekingen over de vorming van insectegallen op planten tot de overtuiging kwam, dat deze gallen ontstaan onder invloed van stoffen die worden gevormd door het eitje dat de galmug in het weefsel legt. Deze stoffen kunnen niet beschouwd worden "als gewöhnliche Eiweiszkörper . . ., welche die Rolle spielen einer sehr substantiellen Nahrung", maar als "enzymatische Körper, welche ein Effekt verursachen, der quantitativ durchaus nicht proportional ist mit der wirksamen Menge". Hij spreekt in dit verband van 'Wuchsenzyme'.

Vermoedelijk is de eerste theorie over de wijze waarop stoffen die de vorm van de plant i.c. de bladstand bepalen, en die wij thans hormonen zouden noemen gegeven door de Groningse hoogleraar J. C. Schoute (1913). De bladeren van een plant staan vaak langs spiralen op de stengel ingeplant. De inplantingspunten staan op zo'n spiraal op zeer bepaalde afstanden, zodat twee opeenvolgende bladeren een hoek maken die een bepaald deel van de stengelomtrek is. Bij planten voorkomende hoeken zijn 1/2, 1/3, 2/5, 3/8, 5/13, 8/21, enz. van de stengelomtrek. Om het ontstaan van deze bladstanden te verklaren ging Schoute uit van twee onderstellingen. De eerste is, dat op de plaats van het vegetatiepunt waar een bladprimordium ontstaat een stof gevormd wordt, die naar alle kanten diffundeert en in een cirkel rond het zich vormende primordium de vorming van een ander bladprimordium belet (fig. 1, u en v). Behalve

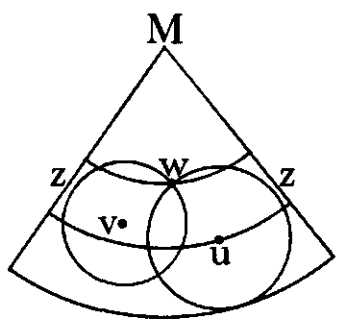


Fig. 1. Voor verklaring zie tekst. Naar Schoute, 1913.

deze 'bladstof' neemt Schoute het bestaan van een tweede stof aan, de 'knopstof'. Deze ontstaat in de top van het vegetatiepunt en diffundeert van daar naar beneden (fig. 1, M). Ook deze stof zou het ontstaan van bladprimordia beletten, doch zijn remmende werking zou afnemen met de afstand tot het vegetatiepunt. Nieuwe bladprimordia ontstaan aan de rand van de elkaar overlappende, cirkelvormige diffusiezones van de bladstof, mits deze randen zover van het uiteinde van het vegetatiepunt liggen, dat de remmende werking van de knopstof niet meer aanwezig is (fig. 1, w). Schoute construeert verschillende bladstanden door aannamen te maken over de diffusiesnelheid van beide, hypothetische stoffen en de groeisnelheid van het vegetatiepunt. De theorie is een grondig doordachte poging om de vorm van de plant te verklaren op grond van hormonale invloeden op het ontstaan van primordia. Hij is later in gewijzigde vorm overgenomen door Richards (1948) en, op grond van experimenten waarbij insnijdingen in het vegetatiepunt veranderingen van de bladstand tengevolge hadden, door Wardlaw (1965).

Ontdekking van wortelvormende stoffen

Het eerste grote onderzoek op het gebied van wortelvormende stoffen werd verricht door Van der Lek (1925), die de wortelvorming aan stekken onderzocht. Bij de meeste plantesoorten ontstonden de adventiefwortels uit reeds in de stengel aanwezige wortelprimordia. Bij vier van de onderzochte soorten waren die niet aanwezig en werden de adventiefwortels geheel nieuw gevormd. Uit de verdeling van de wortels over de stek bleek duidelijk een *polariteit:* de wortels ontstonden uitsluitend aan het uiteinde dat vóór het snijden van de stek naar de wortels van de plant gericht was (het basale uiteinde), òf ze ontwikkelden zich daar eerder. Deze verdeling was onafhankelijk van de stand van de stek ten opzichte van de zwaartekracht.

Van der Lek vond ook dat de knoppen aan de stek een grote invloed hadden: wegnemen van de knoppen had tot gevolg dat bijna geen nieuwe wortels werden gevormd. Op grond hiervan nam Van der Lek aan, dat wortelvormende hormonen in de knoppen ontstaan en naar het basale eind van de stek worden getransporteerd.

F. W. Went, die na het voltooien van zijn proefschrift directeur was geworden van het Treub Laboratorium van 's Lands Plantentuin in Buitenzorg (Java), begon daar met een onderzoek naar deze wortelvormende stoffen. Een deel van dit werk werd verricht in samenwerking met de Bel-

gische plantenfysioloog Raymond Bouillenne (1933).

Wents techniek was als volgt. Afgesneden bladeren van *Acalypha* of van *Carica papaya* werden met de bladsteel in water geplaatst. Na enige tijd werd van dit water met agar een gel gemaakt en schijfjes van deze gel werden op stengelstukken van *Acalypha* gezet. De zo behandelde stengels maakten meer wortels dan de controles, die met pure agar waren behandeld. Niet slechts uit bladeren, ook uit rijstzemelen (het vliesje dat om de rijstkorrel zit en in de fabriek wordt verwijderd) werd een wortelvormende stof verkregen. Went en Bouillenne noemden de wortelvormende stof 'rhizocaline'. Ze konden aannemelijk maken dat het geen voedingsstof was, en dat in de stengel polair transport plaatsvond van top naar basis.

Kort daarop ontwikkelde Went een kwantitatieve toets van de wortelvormende stof, waarbij het aantal wortels dat aan stekjes van jonge erwtestengels ontstond als maat gold. Hiermee vonden Went & Thimann (1934) dat rhizocaline en auxine een aantal eigenschappen gemeen hebben. Onderzoek van Thimann en Koepfli en van Kögl heeft later aangetoond dat de wortelvormende stof identiek is met indolazijnzuur, een van de auxinen.

Anatomisch onderzoek

De primordia van adventiefwortels, die in een volwassen stengel nieuw worden gevormd, ontstaan meestal uit op het oog volwassen parenchymcellen met een grote vacuole en een dunne laag wandstandig cytoplasma. Hoe uit dergelijke cellen onder invloed van auxine wortelprimordia ontstaan is o.a. onderzocht door Kraus et al. (1936) en Moureau (1939). In de cellen heeft kerndeling plaats, gevolgd door de vorming van celwanden, die de cel in ongelijke delen verdelen. Het resultaat is een groepje kleine onregelmatige cellen. Enige tijd later blijken deze cellen zich anders gerangschikt te hebben. Ze vertonen dan het patroon van een meristeem in een vegetatiepunt. Buvat (1950) noemt de overgang van volgroeide parenchymcellen tot jonge cellen van een primordium *dedifferentiatie*. Het lijkt juister alleen de overgang van volwassen cel tot het groepje kleine cellen zo te noemen, want zodra een herkenbaar primordium aanwezig is heeft al opnieuw een differentiatie plaats gehad.

Adventief- en zijwortels ontstaan niet op willekeurige plaatsen. Meestal begint de vorming in het pericykel, dat is een laag cellen in de wortel op de grens van de centrale cilinder en de schors, die in vorm enigszins van de aangrenzende parenchymcellen verschillen. De cellen van het pericykel,

waarin de wortelvorming begint, liggen dikwijls vóór een vaatbundel en in de wortel vóór een van de radiale rijen houtvaten. Daardoor staan adventiefwortels vaak in overlangse rijen op het oppervlak van de wortel waaruit ze tevoorschijn komen.

Een onderzoek naar de plaats waar adventiefwortels ontstaan indien er geen pericykel aanwezig is, werd door Gramberg (1971) en Oppenoorth (1976) verricht bij de bladsteel van de boon. Zij kleurden hun preparaten met acridineoranje, een stof waarmee nucleïnezuren geel tot oranje fluoresceren. De eerste zichtbare verandering in cellen, die gingen dedifferentiëren was een sterk verhoogde fluorescentie van de kern, speciaal van de nucleolus en van het cytoplasma, veroorzaakt door RNA. Pas in een later stadium begonnen de kern- en celdeling, waarbij de gehele cel in onregelmatige stukken werd gedeeld. De cellen, waaruit na dedifferentiatie een primordium van een adventiefwortel ontstaat, liggen meestal naast het floëem van de vaatbundel. Een enkele maal ontstaat een wortel in het floëem.

Waarom groeien bepaalde cellen uit tot wortels en andere niet?

Het antwoord op deze vraag is in twee richtingen gezocht, nl. in intrinsieke verschillen tussen de cellen en in hun ligging ten opzichte van andere weefsels, speciaal ten opzichte van de vaatbundels.

Een intrinsiek verschil, dat langzamerhand ontstaat tussen de cellen van een weefsel, is dat ze in verschillende graad polyploïde worden, dat is een veelvoud van het oorspronkelijke aantal chromosomen krijgen. Zo vond Torrey (1959) in erwtewortels, die steriel werden gekweekt in een voedingsoplossing, dat na twee dagen 80% van de cellen normaal diploïde (2n) was, doch dat na 15 dagen 75% van de cellen 4n chromosomen had en de rest 8n of zelfs 12n. Pericykelcellen blijven echter meestal diploïde, en hierin zocht Torrey in de genoemde publikatie de reden dat juist uit deze cellen de adventiefwortels ontstaan.

De ligging van de plaatsen van de adventiefwortels in de buurt van de vaatbundels doet onderstellen, dat van hieruit stoffen komen die noodzakelijk zijn voor de dedifferentiatie en wat daarop volgt. De ligging in de bladsteel dicht bij het floëem doet vermoeden dat in dit geval het floëem de bron van dergelijke stoffen is.

Een stoffelijke invloed van het floëem wordt ook zeer waarschijnlijk uit het werk van Borthwick et al. (1937) over de wortelvorming in tomate-

stengels. De tomaat heeft, behalve het floëem aan de buitenkant van de vaatbundel, ook een intern floëem aan de mergzijde ervan. Terwijl nu bij planten met één floëem de advertentiefwortels in de schors ontstaan, worden ze bij de tomaat ook aan de binnenzijde gevormd uit floëem- en mergcellen.

Een morfogenetische invloed van stoffen uit de centrale cilinder van erwtewortels volgt ook uit het werk van Libbenga et al. (1973). In cultures op een bepaalde voedingsbodem van de gehele schors waaruit de centrale cilinder was verwijderd, traden op drie plaatsen celdelingen op. Deze lagen juist tegenover de plaatsen, waar in de intacte wortel de drie radiale rijen xyleemvaten van de centrale cilinder dicht bij de schors eindigden. Wanneer geïsoleerde schorspreparaten werden geplaatst op eenzelfde voedingsbodem, waaraan echter ook nog een extract uit de centrale cilinders van wortels was toegevoegd, dan ontstonden celdelingen door de gehele schors heen. De centrale cilinder bevat dus voor de celdeling noodzakelijke stoffen, die hier in de buurt van xyleemvaten in de schors kunnen komen.

Het wijst erop dat ook andere stoffen dan auxine de wortelvorming kunnen beïnvloeden. Hiertoe behoren zeker de cytokininen (zie het hoofdstuk van Bruinsma). Tezamen met indolazijnzuur toegediend verlagen ze het aantal gevormde wortels, vergeleken met het aantal dat geïnduceerd zou worden door indolazijnzuur alléén in dezelfde concentratie. Zelfs kan cytokinine bij een geschikte verhouding van zijn concentratie ten opzichte van die van indolazijnzuur de wortelvorming geheel verhinderen. Worden cytokininen echter toegediend nadat de wortelvorming al is begonnen, dan bevorderen ze de ontwikkeling van de wortels.

De overgang van schorsparenchymcel tot wortelprimordiumcel

Uit de proeven van Steward et al. (1971), die als eersten erin slaagden uit geïsoleerde volwassen cellen gehele planten te kweken, weten we dat plantecellen totipotent kunnen zijn. Ze bezitten dezelfde vermogens, doch bij de differentiatie die tijdens de ontwikkeling van de plant optreedt wordt een groot deel van deze vermogens uitgeschakeld en ontwikkelt de cel zich op een zeer bepaalde wijze. Het is alsof de ontwikkeling van de cel geprogrammeerd verloopt, zoals een automatische wasmachine die op een bepaald programma is ingesteld. Evenals de wasmachine werkt de cel het gehele programma af en blijkbaar is het niet gemakkelijk een ander pro-

gramma te activeren. Dit gaat gepaard met het gehele proces van dedifferentiatie en celdeling.

Het is niet waarschijnlijk dat de celdelingen in dit proces essentieel zijn voor de vorm van het nieuwe orgaan. Uit het werk van Haber (1962) is gebleken dat deze vorm niet afhankelijk is van het aantal cellen. Haber bestraalde kiemende tarwekorrels met gammastralen. Dit had tot gevolg dat geen celdelingen meer optraden. Toch groeide daarna het eerste blad door sterke celvergroting. Het resultaat was een blad van dezelfde vorm als een normaal blad, maar dat uit veel minder en veel grotere cellen bestond.

Foard et al. (1965) deden iets dergelijks met de wortels van tarwekiemplanten. De eerste wortel vormt spontaan zijwortels; deze ontstaan uit de pericykel. In plaats van te bestralen met gammastralen behandelde Foard de plantjes met colchicine. Deze stof verhindert het uiteengaan van de chromosomen in de anafase van de kerndeling, waardoor de vorming van een wand achterwege blijft en de cel het dubbele aantal chromosomen krijgt. In zo behandelde planten vonden Foard et al. plaatsen waar een pericykelcel en de aangrenzende schorscellen zich sterk hadden vergroot, voornamelijk in radiale richting. Omdat deze vergrote cellen op de plaatsen lagen waar in het normale geval de zijwortels ontstaan, noemde Foard deze structuren 'primordiomorfen'. Als het colchicine werd uitgespoeld groeiden deze primordiomorfen uit tot wortels, waarvan de cellen polyploïde waren. Deze proeven wijzen er op dat de celdelingen die we bij dedifferentiatie zien, niet wezenlijk zijn voor de inductie van een nieuw orgaan. Het is echter ook mogelijk, dat in dit geval de inductie van een zijwortel veel eerder in de ontwikkeling heeft plaats gevonden, en dat sommige pericykelcellen beschouwd kunnen worden als de eerste cel van een zijwortel waarvan de ontwikkeling geremd is.

Mw. Oppenoorth (1978) heeft deze colchicineproeven herhaald bij de bladsteel van de boon. Hier is geen pericykel, en de adventiefwortels ontstaan hier niet uit cellen die door hun ligging verraden dat ze primordia kunnen worden. Als colchicine hier tegelijk met het indolazijnzuur werd gegeven (dit laatste is nodig om de wortelvorming te stimuleren), werden in het geheel geen primordia gevormd. Als colchicine later werd toegediend, wanneer reeds wortelprimordia waren aangelegd, hadden hierin geen celdelingen meer plaats, doch de cellen van de primordia vergrootten zich sterk.

Grote primordia, van meer dan 90 cellen, groeiden bij deze celstrekking in radiale richting en kregen de voor een wortelprimordium karakteristie-

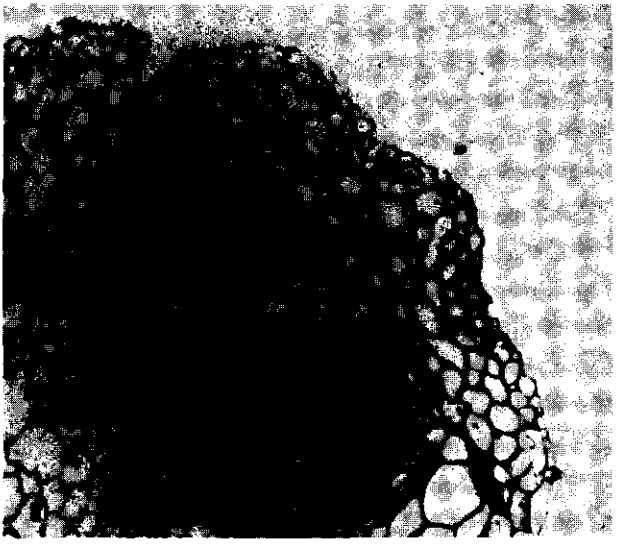


Fig. 2. Wortelprimordium in een bladsteel van een boon.

ke torpedovorm (fig. 2). Kleinere primordia, tot 30 cellen, waren min of meer bolvormig, terwijl celhoopjes van minder dan 30 cellen, waaraan wel te zien was dat de cellen meristematisch waren geweest en zich hadden vergroot, geen bepaalde vorm hadden. Wanneer hier de richting waarin de cellen zich strekken als kenmerk van een programmering tot adventiefwortel wordt beschouwd, zou deze programmering in groepen van 90 cellen reeds geschied zijn, maar in de bolvormige groepen van minder dan 90 cellen nog niet.

Polariteit

De strekkingsrichting van de cellen, waarover in de vorige paragraaf werd gesproken, is een uiting van hun polariteit. In principe is polariteit niets anders dan de aanwezigheid van een as met verschillende uiteinden en vaak met een bepaalde stand in de ruimte, bijv. de hoofdas van de plant met bladeren en knoppen aan de top en wortels aan de basis. De polariteit van een orgaan bepaalt in hoge mate zijn vorm. Een nieuw orgaan heeft dikwijls een eigen polariteit (Sinnott, 1960).

Vöchting, die tussen 1878 en 1918 zeer veel over polariteit heeft gepu-

bliceerd, wees er op dat de polariteit van een orgaan moet berusten op de polariteit van de afzonderlijke cellen, zoals die van een magneet berust op het magnetisme van de elementaire magneetjes in het metaal. Bekend is zijn proef waarin hij blokjes weefsel uit een koolrabiknol sneed en ze er dan weer in terugzette. Blokjes die in dezelfde stand waren teruggezet, vergroeiden snel weer met de knol, waarbij nieuwe vaatbundelverbindingen ontstonden. Omgekeerd teruggezette stukjes vergroeiden minder gemakkelijk. Als het gebeurde waren de nieuwe vaatbundelverbindingen in het knolweefsel zo gebogen dat de bundels uit het basale eind van het weefselstuk weer in basale richting op de vaatbundels van de knol aansloten, en die uit het apikale eind in apikale richting. Ofschoon het weefselblokje omgekeerd lag behield het toch zijn oorspronkelijke polariteit.

Een dergelijke methode werd door Siebers (1971) gebruikt om de radiale polariteit van het interfasciculaire cambium van *Ricinus* te onderzoeken. Dit cambium ontwikkelt zich tussen de vaatbundels uit ogenschijnlijk volwassen parenchymcellen. Na zijn ontstaan maakt het cambium xyleem aan de binnenzijde en floëem aan de buitenkant. Siebers slaagde erin blokjes weefsel te snijden uit de plaats waar het interfasciculaire cambium zich later zou ontwikkelen, en deze stukjes binnenstebuiten op hun normale plaats terug te zetten. Daar waar een goede vergroeiing plaatsvond ontstond een cambium dat nu xyleem aan de buitenzijde maakte en floëem aan de binnenkant. De radiale polariteit van floëem was dus vóór de cambiumvorming al in de cellen aanwezig en, zoals uit later onderzoek van Siebers is gebleken, in een vroeg stadium van de ontwikkeling ontstaan.

De proeven van Siebers doen vermoeden dat ook in pericykelcellen, waaruit een wortel ontstaat, reeds radiale polariteit aanwezig is. Voor de cellen van de bladsteel van de boon, die het uiterlijk hebben van normale schorscellen, lijkt dit niet erg waarschijnlijk. Wanneer deze cellen tot wortelvorming overgaan zal dit gepaard moeten gaan met een verandering van hun longitudinale polariteit in een radiale.

Inductie van polariteit

Het bovenstaande doet de vraag rijzen hoe een nieuwe polariteit geïnduceerd wordt. Een zeer voor de hand liggende verklaring is, dat de nieuwe polariteit geïnduceerd wordt door de mechanische invloeden die de cellen bij hun groei ondervinden. Bij deze groei, die met volumevergroting gepaard gaat, ondervinden de cellen een tegendruk van de omgeving. Deze

mechanische weerstand is zeer waarschijnlijk het kleinst in de richting naar buiten, dus naar de epidermis. Aan de binnenzijde bevindt zich de centrale cilinder, die door een laag dikwandige cellen is omgeven, en ter weerszijden liggen de vaatbundels, die evenmin gemakkelijk weggedrukt kunnen worden. De groei van het jonge primordium in de richting van de epidermis is dus tevens groei in de richting van de minste weerstand. Het is zeer wel mogelijk, dat deze groeirichting als polariteit in de cellen gefixeerd wordt.

Een mechanische invloed op de polariteit van cellen werd gevonden door Brown et al. (1962). Zij sneden van de stam van een populier een strook los van 1½ cm breed en 8 cm lang, op een wijze dat het boveneinde van de strook in verbinding met de stam bleef. Het snijvlak lag iets binnen het cambium, zodat het cambium en een laagje jong xyleem in de losgesneden strook lagen. Deze werd vervolgend met een plastic zakje omhult tegen uitdrogen. In het zakje ontwikkelde de losgesneden strook zich tot een stengelachtige vorm, waarin rondom xyleem, cambium en floëem lagen, zoals ook in een normale stengel het geval is. Iets geheel anders gebeurde indien het polytheen zakje met de baststrook erin door een rubberband stevig tegen de stam werd aangedrukt, op de plaats waar de strook tevoren was losgesneden. Het cambium in de strook maakte dan naar de stamzijde een laagje xyleem en naar de andere kant een laagje floëem, precies wat het ook gedaan zou hebben wanneer het niet van de stam zou zijn losgesneden. Omdat het polytheen het stoftransport vanuit de stam naar de weefselstrook in het zakje verhindert, nemen Brown et al. aan, dat hier de al of niet aanwezigheid van mechanische druk de oorzaak was van de zeer verschillende morfogenese.

Mechanische krachten van de grootte zoals hier door de rubberband werden uitgeoefend, komen ongetwijfeld in de plant voor; ze zouden dus bij het bepalen van de groeirichting van een wortelprimordium wel een rol kunnen spelen.

Er zijn echter ook andere invloeden bekend die de polariteit van cellen kunnen richten (Wessels, 1975; Quatrano, 1978). De eieren van *Fucus* en andere bruinwieren vormen aan één zijde een uitstulping die later uitgroeit tot het zogenaamde rhizoïd. De cel deelt zich door een wand loodrecht op de richting van de uitstulping. Zo ontstaat een tweecellig embryo met een polariteit waarvan de as loodrecht staat op de eerste delingswand. De plaats waar aan de ronde eicel de uitstulping zal komen kan men beïnvloeden door het toepassen van uitwendige factoren, zoals eenzijdig licht, een verschil in elektrische potentiaal, in pH, of in de con-

centratie van K^+- of Ca^{2+}-ionen aan weerszijden van de eicel.

De richting van de as van de polariteit wordt in deze gevallen door een invloed van buiten de cel bepaald. Waarschijnlijk is dit ook het geval bij het ontstaan van nieuwe organen in de plant. De cellen van de schors worden vanuit de centrale cilinder van voedingsstoffen en water voorzien. Ook embryonale cellen, die door dedifferentiatie uit schorscellen ontstaan, zullen hun voedsel van één kant ontvangen, vooral als ze dichtbij de vaatbundels liggen. De polariteit van het nieuwe primordium kan zeer wel door de richting van die voedselstroom worden bepaald.

De polariteit van het auxinetransport

In de vorige paragraaf werd een verband ondersteld tussen de richting van de voedingsstroom in een weefsel en de polariteit van in dat weefsel ontstaande nieuwe organen. Merkwaardig is in dit verband dat het transport van auxine eveneens een polariteit vertoont. Reeds Van der Lek, alsook Went en Bouillenne onderstelden, dat de polaire verdeling van de wortels en uitlopende knoppen aan een stek het gevolg was van het transport in basale richting van een wortelvormende stof.

Het polaire transport van auxine werd aangetoond door Van der Wey (1932, 1934) met een proefopzet die ook thans nog wordt gebruikt in proeven over auxinetransport. Hierbij wordt het bovenste en onderste snijvlak van een stukje plantestengel, bladsteel of coleoptiel in contact gebracht met een blokje agar. Het ene blokje bevat auxine, het andere alleen water. Na enige tijd wordt geanalyseerd hoeveel auxine in het andere blokje is aangekomen. In zulke proeven met coleoptielen vond Van der Wey, dat auxine wel werd getransporteerd in de richting van top naar basis maar niet in omgekeerde richting. Dit bleef zo, wanneer het coleoptielstuk ondersteboven werd geplaatst: de zwaartekracht had geen invloed op de polariteit van het transport. Bovendien kon Van der Wey aantonen dat ook transport plaatsvond wanneer het basale blokje reeds een hoge concentratie auxine bevatte.

Over de wijze waarop polair transport van auxine tot stand komt bestaan verscheidene theorieën, waarvan hier een drietal wordt vermeld. Bij de proeven, waarop deze theorieën berusten, werd gebruik gemaakt van indolazijnzuur of een ander auxine, waarvan het molecule een radioactief koolstofatoom bevatte. Door het meten van de radioactiviteit kan een veel kleinere hoeveelheid auxine worden bepaald dan met de oudere methoden, die de groei of kromming van haverplantjes als maat voor de

auxineconcentratie gebruikten. Bovendien is het molecule door de radioactiviteit 'gemerkt', waardoor men bijv. getransporteerde auxine kan onderscheiden van reeds in de ontvangende agar aanwezige, niet-radioactieve auxine.

Volgens de hypothese van Hertel & Leopold (1963) is het auxinetransport polair doordat de membraan aan de basale buitenkant van iedere cel de in die cel aanwezige auxine naar buiten uitscheidt. Deze mening berust op hun waarneming dat radioactief indolazijnzuur, dat door stukjes plantestengel was opgenomen, werd afgegeven aan een oplossing van (niet-radioactief) indolazijnzuur waarvan de concentratie veel hoger was dan de concentratie van het auxine in de cellen. Transport van een stof uit een oplossing met een lage concentratie naar een hoger concentratie vereist energie. Herstel en Leopold meenden, dat deze energie geleverd wordt door de stofwisselingsprocessen (ademhaling) in het cytoplasma dat tegen de basale buitenmembraan van de cel aanligt.

De Engelse onderzoeker Raven (1975) heeft erop gewezen, dat transport van een stof tegen een concentratieverval in geen voldoende reden is om een secretiemechanisme te veronderstellen. Indolazijnzuur is een zwak zuur. Bij de pH die in de cel heerst zal het voor een belangrijk deel dissociëren volgens $IAAH = IAA^- + H^+$ (IAA is de internationaal gebruikelijke afkorting voor indoleacetic acid = indolazijnzuur). Een plantecel heeft, tengevolge van de aanwezigheid van vele andere ionen, een negatieve potentiaal van -70 tot -140 mV. Deze potentiaal zal de IAA^--ionen naar buiten drijven, zelfs indien de concentratie buiten de cel hoger is dan binnen.

Buiten de cel, met name in de celwand, is de pH aanmerkelijk lager dan in de cel. Indolazijnzuur zal hierdoor in veel mindere mate gedissocieerd zijn, waardoor het ongedissocieerde IAAH buiten in hogere concentratie aanwezig zal zijn dan in de cel. Er ontstaat nu de volgende circulatie. Door de hogere concentratie buiten de cel diffundeert het ongedissocieerde IAAH de cel in. Hier dissociëert het tot IAA^-, en dit wordt tengevolge van de negatieve celpotentiaal weer naar buiten gedreven. Wanneer nu de doorlaatbaarheid van de celmembraan voor het indolazijnzuurion aan de basale kant van de cel groter is dan aan de naar de top van de stengel gerichte zijde, ontstaat een polaire auxinestroom door de cel, die niet berust op een secretiemechanisme waarvan de energie door het aangrenzende cytoplasma moet worden geleverd.

De derde hypothese over het mechanisme van het polaire auxinetransport is afkomstig van Rubery en Shelldrake (1974). Zij menen dat het

indolazijnzuur, wanneer het in lage concentraties aanwezig is, niet vrij door de celmembraan heen diffunderen kan, doch dat het is gebonden aan een groot eiwitmolecule, een zogenaamde 'carrier', en door de membraan getransporteerd wordt. De polariteit van het transport door de cel moet dan tot stand komen door een verschillende activiteit van de carriers in de buitenmembranen aan tegenovergestelde zijden van de cel (zie de bijdrage van Libbenga voor eiwitmoleculen die auxine binden).

Het langeafstandtransport van auxine

In de proeven over de polariteit van het auxinetransport volgens de methode van Van der Wey wordt voorbijgegaan aan het feit dat hierbij transport door zeefvaten niet mogelijk is. De zeefvaten transporteren stoffen over lange afstand met een relatief grote snelheid (15-100 cm per uur). Dit transport stopt meestal zodra de zeefvaten worden doorgesneden zoals in geïsoleerde stukjes stengel het geval is. Hypothesen over de rol van auxine bij de verdeling van bladeren en knoppen over de stengel kunnen niet volledig zijn wanneer niet bekend is hoe het auxinetransport in de zeefvaten verloopt.

Assimilaten uit de bladeren of reservestoffen worden door de zeefvaten niet polair getransporteerd. Ze gaan zowel in de richting van de wortels als naar de top van de stengel, waar ze voor groei en stofwisseling worden gebruikt. Het auxinetransport in het floëem van tabaksblad werd door Avery (1935) onderzocht, door de hoeveelheid auxine op verschillende plaatsen te bepalen. Hij kwam tot de conclusie dat de auxine die in het blad wordt gemaakt via de zijnerven naar de hoofdnerf gaat, en in de basis daarvan accumuleert. Goldsmith et al. (1974) brachten indolazijnzuur dat een radioactief ^{14}C-atoom bevatte, en glucose gemerkt met een radioactief ^{3}H-atoom, in het floëem van een *Coleus*-blad door een losgesneden bladslip met een zijnerf erin in een capillair te brengen waarin zich een oplossing van deze beide stoffen bevond. Uit de radioactiviteit op verschillende plaatsen kregen zij een indruk van het transport. Evenals Avery vonden zij een hoog gehalte in de bladbasis. Vandaar ging het transport door de stengel in twee richtingen. Zowel voor het transport van de suiker als van de auxine vonden zij een snelheid van 16-20 cm per uur. Dat is veel meer dan de 1 cm per uur die voor het polaire auxinetransport door parenchymcellen werd gevonden. Beide stoffen kwamen terecht in jonge, nog groeiende delen. In volwassen bladeren konden ze niet worden aangetoond. Dat laatste bewijst, dat ze niet door de houtvaten werden ver-

voerd, want in dat geval zouden ze met de transpiratiestroom juist in de sterk verdampende oudere bladeren terecht zijn gekomen.

Dat het zogenaamde langeafstandtransport van auxine in de intacte plant inderdaad door de zeefvaten gaat werd reeds in 1968 aangetoond door Eschrich. Hij bracht hiertoe bladluizen op de stengel van een erwteplant die in een van de bovenste bladeren radioactief indolazijnzuur had opgenomen. Bladluizen boren met hun zuigsnuit door de epidermis en manoevreren hem dan tussen de schorscellen door tot hij een zeefvat heeft bereikt. Zo ontstaat een verbinding tussen het zeefvat en het darmkanaal van de bladluis. Waarschijnlijk wordt de inhoud van het zeefvat tengevolge van de erin heersende druk in de zuigsnuit geperst. De bladluis krijgt tenminste een teveel aan vocht, dat aan de achterkant als druppels 'honingdauw' het lichaam weer verlaat. In deze honingdauw kon Eschrich radioactief indolazijnzuur aantonen.

Uit deze en andere proeven is gebleken dat de auxine die door volwassen bladeren wordt gesynthetiseerd naar andere delen van de plant getransporteerd wordt tezamen met andere assimilaten en met dezelfde snelheid als deze.

Er is echter een belangrijk verschil tussen het assimilatentransport en dat van auxine, zoals is gebleken uit proeven van Morris et al. (1972, 1974). Zij brachten een aantal radioactieve organische stoffen op de eindknop van een erwteplant, en plaatsten bladluizen op het vijfde internodium. Op gezette tijden werd nagegaan of de toegediende verbinding in de honingdauw van de bladluis aanwezig was, en tevens werd onderzocht of en waar de verbinding in het planteweefsel kon worden aangetoond. De volgende verbindingen konden alleen in de eindknop worden aangetoond: sorbose, leucine, adenine, kinetine en rietsuiker. Deze verbindingen werden dus niet uit de eindknop naar meer basaal gelegen delen getransporteerd. Wel echter de auxinen indolazijnzuur, nafthylazijnzuur en 2,4-dichloorfenoxyazijnzuur. Deze werden in lagere delen van de stengel teruggevonden, en moesten dus de zone van strekkingsgroei onder de top gepasseerd zijn, waar deze stoffen hun effect op de celstrekking uitoefenen. De transportsnelheid was gering: voor indolazijnzuur werd 11 mm per uur gevonden. Dit wijst op transport door parenchymcellen. Bovendien bleek dat bladluizen uit de zeefvaten van een stengel waarin radioactief indolazijnzuur vanuit de top naar beneden werd getransporteerd geen radioactiviteit opnamen. Er is geen zeefvattransport vanuit de top, en evenmin nemen zeefvaten auxine op uit de aangrenzende weefsels van de stengel.

Besluit

Uit de hierboven beschreven proeven krijgen we het volgende beeld van het auxinetransport in de stengel van de intacte plant. Er zijn twee auxinestromen; de eerste gaat door de zeefvaten en vervoert auxine uit de volwassen bladeren door de gehele plant met een snelheid van 15-20 cm per uur. Dit transport is niet polair en eindigt, evenals de assimilatenstroom, in de jonge, nog groeiende delen van de plant. De tweede auxinestroom gaat met een snelheid van ongeveer een centimeter per uur door weefsels die voornamelijk bestaan uit parenchymcellen. Dit transport is wel polair en gericht van top naar basis.

Het is deze langzame stroom die veroorzaakt dat in stekken de wortels aan de basis verschijnen en niet aan de top. Doordat het transport tegen een concentratieverval in kan verlopen hoopt auxine uit de gehele stengel zich op boven het basale snijvlak. De hoge concentratie die hier ontstaat induceert in een aantal cellen dedifferentiatie en vervolgens wortelvorming. Hetzelfde treedt ook op wanneer van een wortel de top verloren gaat. De inductie van zijwortels berust dan enerzijds op de ophoping van auxine uit de spruit, anderzijds op de afwezigheid van het in de worteltop gevormde cytokinine.

Dat alleen de auxineconcentratie en niet een of andere intrinsieke eigenschap van de cellen de oorzaak is van de wortelvorming blijkt heel fraai uit proeven van Went (1941) en van Shelldrake (1974) met omgekeerde stekken. In deze proeven werden stekken van afrikaantjes *(Tagetes)* of tomaat aan het topeinde met een hoge concentratie auxine behandeld. Het gevolg was dat nu op deze plaats de wortels ontstonden in plaats van aan de basis. Deze stekken werden met hun bewortelde apicale uiteinde in grond geplant. Na enige tijd liepen knoppen aan het basale eind (dat nu boven was) uit en vormden zijtakken. In de proeven van Shelldrake kwamen de tomaten tot bloei en vormden vruchten. Deze ontwikkeling aan het basale einde is mede toe te schrijven aan het transport omhoog van cytokinine gevormd door de adventiefwortels. Merkwaardig is dat in deze omgekeerde stekken de cellen hun oorspronkelijke polariteit behielden. Zelfs na drie maanden, waarin het transport in de zeefvaten van de bladeren naar de wortels tegen de oorspronkelijke richting in ging, bleken stukken, uit de oorspronkelijke stengel gesneden, auxine nog steeds polair te transporteren van top naar basis.

Men kan zich afvragen waarom door dit polaire auxinetransport het auxine, waarmee de stekken aan de top waren behandeld, niet naar het

basale uiteinde is afgevoerd, zodat daar de adventiefwortels ontstonden, zoals bij de normale beworteling van stekken gebeurt. Een voor de hand liggende verklaring is dat de capaciteit van het polaire transportsysteem onvoldoende was om de aan de top gegeven, abnormaal grote hoeveelheid auxine zo snel af te voeren dat de cellen op die plaats niet tot wortelvorming konden worden aangezet.

Auxine induceert dus in de cellen de eerste processen die tot wortelvorming leiden. Wanneer de auxine niet experimenteel van buitenaf wordt toegediend is het de endogene auxine die de cellen tot wortelvorming aanzet. Deze auxine bereikt de cellen waarschijnlijk vanuit het floëem van de vaatbundels. De eerste zichtbare veranderingen zijn RNA-vermeerdering en celdeling. In hoeverre de auxine een rol speelt bij het tot-stand-komen van de wortelvorm is niet bekend. Het is denkbaar dat de bolvormige rangschikking van de cellen in het zeer jonge primordium ontstaat doordat de auxine vanuit één punt in alle richtingen diffundeert, en dat de nieuwe celwanden loodrecht op die diffusierichting komen te staan.

Deze, en vele andere vragen, zijn onderwerpen voor het onderzoek van de rol van hormonen in de plantaardige differentiatie in de tweede vijftig jaren na het proefschrift van Went.

Moleculaire herkennings- en werkingsmechanismen voor auxinen

K. R. Libbenga en R. J. Bogers

Inleiding

De groei en differentiatie van individuele cellen, weefsels en organen zijn nauwkeurig op elkaar afgestemd. Het organisme beschikt over communicatiesystemen die de ontwikkeling van zijn diverse onderdelen in ruimte en tijd coördineren. Ontwikkelingsbiologen onderscheiden ruwweg twee soorten communicatiesystemen, nl.:

1 systemen die de verbinding verzorgen over korte afstand tussen individuele cellen. Deze *korte-afstandsystemen* spelen een belangrijke rol bij de vroege embryogenese en bij de ontwikkeling van plaatselijke patronen, zoals de ruimtelijke verdeling van de bladprimordia op een vegetatietop (zie ook het hoofdstuk van Van Raalte). Deze communicatiesystemen zijn van fundamentele betekenis, ook voor overwegend zoölogische concepten als morfogenetisch veld en positie-informatie). zie ook de uitgave 'Ontwikkelingsbiologie' in de biologische Raad Reeks);

2 systemen die de verbinding verzorgen over lange afstand tussen individuele weefsels en organen. Deze *lange-afstandsystemen* spelen naast de korte-afstandsystemen een belangrijke rol bij de late en postembryogenese, wanneer reeds verschillende weefsels en organen zijn aangelegd. Aangezien de signalen lange afstanden moeten overbruggen zijn er speciale transportsystemen en -mechanismen aanwezig.

In tegenstelling tot de korte-afstandsignalen is de aard van de lange-afstandsignalen bij planten en dieren betrekkelijk goed bekend. Per definitie (zie het hoofdstuk van Bruinsma) zijn plantehormonen bij uitstek lange-afstandsignalen, die een belangrijke rol spelen bij o.a. de postembryonale ontwikkeling van hogere planten.

In andere hoofdstukken worden problemen behandeld die betrekking hebben op de plaats waar de hormonen worden geproduceerd, de invloed van inwendige en vooral uitwendige factoren (licht, temperatuur, zwaartekracht) op produktie en transport van hormonen, en de wisselwerkingen

tussen de verschillende hormonen. Een ander probleemgebied omvat de wijze waarop de cellen in de verschillende groeiende en zich differentiërende weefsels en organen de hormonen herkennen, alsmede de moleculaire wisselwerkingen die uiteindelijk leiden tot de meetbare en/of (microscopisch) waarneembare respons op de hormonen. In dit hoofdstuk gaan we in op dit laatste probleemgebied.

Moleculaire herkenningsmechanismen

Indien een cel in staat is om een bepaald signaal te herkennen, dan moet hij een specifiek herkenningsmechanisme voor dat signaal bezitten. In het geval van een hormoon betekent dit dat de cel specifieke bindingsplaatsen *(receptoren)* voor dat hormoon moet bevatten. De hormoonreceptorcomplexen die zich bij de perceptie van het signaal vormen, moeten geactiveerde structuren zijn, die een schakel vormen in de keten van moleculaire wisselwerkingen die leidt tot de respons. Uit onderzoek aan dierlijke hormonen (Van der Molen et al., 1978; Hekkelman, 1978) weten we dat doelwitcellen inderdaad over specifieke receptoren (in alle gevallen eiwitmoleculen) beschikken. Of dit ook het geval is bij doelwitcellen voor plantehormonen is tot voor kort een strijdvraag geweest, waarin door recent onderzoek enig licht is gebracht (Kende & Gardner, 1976; Venis, 1977; Lamb, 1978; Libbenga, 1978). We zullen hier onze huidige kennis kort samenvatten.

Om receptoren op te sporen, bijvoorbeeld voor auxine, zijn we in eerste instantie aangewezen op binding van (radioactief gemerkt) hormoon aan bestanddelen van ruwe celhomogenaten. We verwachten hierbij een reversibele, niet-covalente binding van het type: $H + R \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} HR$, waarin H = hormoon, R = receptor, HR = hormoon-receptorcomplex. Bij evenwicht is de dissociatieconstante $K_D = k_2/k_1 = ([H] \,.\, [R])/[HR]$.

Uit deze formule blijkt dat indien [R] = [HR] (d.w.z. 50% van de totale hoeveelheid receptormoleculen is aanwezig in de vorm HR), K_D gelijk is aan [H]. Dus die hormoonconcentratie waarbij 50% van R_{totaal} aanwezig is als HR, is gelijk aan de dissociatieconstante (uit te drukken in $mol.l^{-1}$). Het is duidelijk dat deze constante een maat is voor de affiniteit van de receptor voor het hormoon (aangezien de affiniteit omgekeerd evenredig is met K_D, gebruikt men liever $1/K_D = K_A$, de affiniteitsconstante, uit te drukken in $l.mol^{-1}$). Om uit de bindingsresultaten te kunnen besluiten of we al of niet met receptoren te maken hebben, moeten we over criteria beschikken waarmee we de binding aan receptoren kunnen onderscheiden

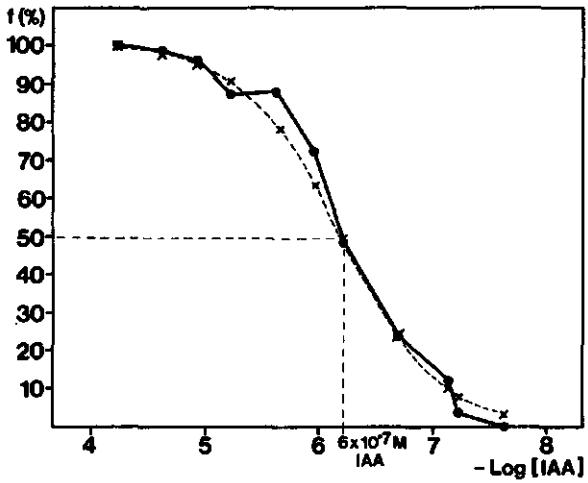


Fig. 1. Dosis-responscurve voor havercoleoptielsegmenten in de biologische strekkingstoets voor auxine (IAA). Ordinaat: fractie (%) lengtetoename ten opzichte van de maximale lengtetoename in 24 uur. Abscis: negatieve logaritme van de IAA-concentratie. De getrokken lijn geeft de gevonden kromme, de gebroken lijn de theoretische kromme volgens: $f(\%) = 100/(1 + K_D/[IAA])$.

van de binding aan allerlei andere celbestanddelen. Die criteria kunnen we afleiden uit de dosis-responscurven voor hormoongevoelige weefsels. Als voorbeeld nemen we de dosis-responscurve voor havercoleoptielsegmenten in de biotoets voor het auxine indolazijnzuur (IAA) (fig. 1).

Indien de grootte van de biologische respons wordt bepaald door het percentage hormoon-receptorcomplexen ($[HR]/[R_{totaal}] \times 100$), en indien de totale concentratie van de receptoren aanmerkelijk lager is dan de hormoonconcentratie, dan hangt de biologische respons, gemeten als fractie (f) van de maximale respons, als volgt samen met de toegediende hormoonconcentratie: $f(\%) = 100/(1 + K_D/[H])$.
Deze formule levert als f(%) wordt uitgezet tegen $-\log[H]$ een symmetrische, S-vormige kromme op. In dit geval is die hormoonconcentratie waarbij 50% van de maximale respons optreedt gelijk aan K_D van het hormoon-receptorcomplex. Uit fig. 1 zou blijken dat in het geval van coleoptielsegmenten K_D voor R-IAA-complexen ca. 6×10^{-7} mol.l^{-1} bedraagt (aangezien er allerlei complicaties kunnen optreden geven dosis-responscurven over het algemeen slechts de te verwachten orde van grootte van K_D). De gezochte criteria voor hormoon-receptorbinding zijn nu:

1 de binding is verzadigbaar binnen het fysiologisch actieve concentratiegebied van het hormoon; in ons voorbeeld is K_D $10^{-8} - 10^{-4}$ mol.l^{-1};
2 aangezien hormonen zonder uitzondering in zeer lage concentraties werkzaam zijn, moet de receptor een hoge affiniteit voor het hormoon vertonen; in ons voorbeeld is K_A ca. 1,6 x 10^6 l.mol^{-1};
3 de vermoedelijke receptoren mogen alleen werkzame auxineanaloga (agonisten en antagonisten) binden. Hierbij moet eenzelfde structuur-activiteitsrelatie naar voren komen als bij de biologische respons.

Op grond van deze criteria zijn er de laatste jaren receptoreiwitten beschreven voor auxinen, gibberellinen, cytokininen en abscisinen. Hiervan zijn de auxinereceptoren tot nu toe het best onderzocht. We zullen ons beperken tot een bespreking van die receptoren.

Aan membranen gebonden auxinereceptoren De onderzochte auxinegevoelige weefsels blijken receptoren te bezitten die stevig gebonden zijn aan membranen. Het best onderzochte weefsel is tot nu toe het maïscoleoptiel. Vooral door het onderzoek van Hertel et al., Ray et al. en Venis et al. (Libbenga, 1978), weten we nu dat de celmembranen van dit weefsel specifieke bindingsplaatsen voor auxine bevatten. Het is nog niet duidelijk of de receptoren behoren tot één of tot verscheidene klassen van eiwitten. Indien geïsoleerde membranen worden behandeld met aceton of een detergens zoals Triton-X100, dan kunnen de receptoren worden geïsoleerd en (gedeeltelijk) gezuiverd. In geïsoleerde toestand vertonen zij dan dezelfde bindingskarakteristieken voor auxinen als in gebonden toestand. De thans beschikbare gegevens wijzen erop dat de receptoren voorkomen in de plasmamembraan, het endoplasmatisch reticulum (ER) en de tonoplast. De meeste receptoren komen waarschijnlijk voor in het ER. De K_A-waarden voor auxineanaloga liggen tussen 10^6 en 10^7 l.mol^{-1}.

Vrije auxinereceptoren Onder vrije auxinereceptoren verstaan we receptoren die niet zijn ingebouwd in membranen of andere organellen en die dus vrij voorkomen in het grondplasma. Vrije en aan membranen gebonden receptoren kunnen in dezelfde cellen voorkomen, zoals wij hebben aangetoond voor weefselkweken van stengelmerg van tabak (fig. 2). Aangezien de bindingskarakteristieken van de vrije receptoren (pH-optimum = 7,5; $K_{A(NAA)}$ = 10^8 l. mol^{-1}) aanmerkelijk verschillen van die van de aan membranen gebonden receptoren (pH-optimum = 5; $K_{A(NAA)}$ = 3,5 x 10^6 l.mol^{-1}), is het waarschijnlijk dat het hier gaat om twee verschillende klassen van auxinereceptoren. Immers, uit het onderzoek van aan

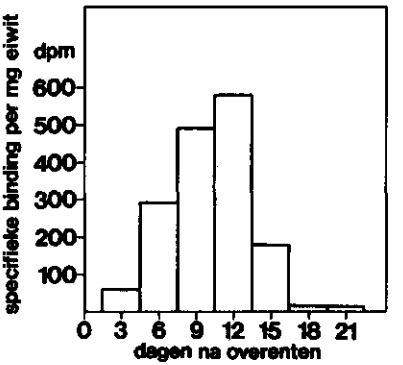


Fig. 2. Tijdsverloop van vrije-receptorconcentratie in tabaksmergcallusweefsel.

membranen gebonden receptoren van maïscoleoptielen is gebleken dat de bindingskarakteristieken van de receptoren niet veranderen als ze uit de membranen worden gehaald. Ook uit enkele andere weefsels zijn vrije auxinereceptoren geïsoleerd, maar het aantal publikaties over deze receptoren is nog zeer gering. We noemen hier slechts de auxinereceptor (pH-optimum = 8,5; $K_{A(NAA)} = 0{,}6 \times 10^6$ l.mol^{-1}, $K_{A(IAA)} = 1{,}1 \times 10^7$ l.mol^{-1}; MW = 315.000) in de primaire bladeren van kiemplanten van de dwergboon (Wardrop & Polya, 1977) en de auxinereceptor ($K_{A(IAA)} = 1{,}3 \times 10^5$ l.mol^{-1}; MW = 94.000) in het nucleoplasma van endospermkernen van de kokosnoot (Roy & Biswas, 1977).

Moleculaire werkingsmechanismen

Activering van aan membranen gebonden functies Eigenlijk kunnen we pas over receptoren spreken als we kunnen aantonen dat ze een schakel vormen in de processen die door het hormoon beïnvloed worden. Deze processen worden al veel langer bestudeerd dan de receptoren. Als voorbeeld nemen we wederom het coleoptiel. Zoals Bruinsma reeds heeft uiteengezet is de groei van het coleoptiel vooral een kwestie van celstrekking.

Bij zich strekkende cellen vertoont de celwand bij constante belasting door een nauwkeurig gereguleerde turgor een langzame, constante, plastische rek. De snelheid waarmee dit proces plaatsvindt hangt bij een gegeven belasting af van de mate waarin de elastische microfibrillen langs elkaar kunnen glijden in een meer of minder viskeuze matrix. Auxinen blijken nu de plastische rekbaarheid van de celwand te vergroten evenredig

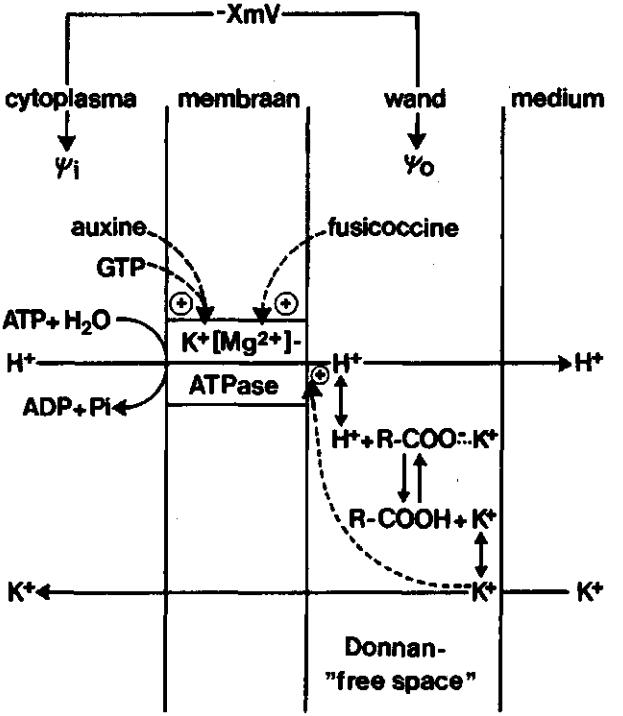
met de stimulering van de groeisnelheid. Hager et al. (1971) en Rayle & Cleland (1970) hebben hiervoor een verklaring gegeven die bekend staat als de *protonenexcretiehypothese*. Deze hypothese heeft tot op heden het onderzoek over het werkingsmechanisme van auxinen sterk beïnvloed. De hypothese is schematisch weergegeven in fig. 3. In de plasmamembraan zou zich een eiwit-lipidecomplex bevinden dat in staat is om ATP om te zetten in ADP, en de hierbij vrijkomende energie te benutten om H^+-ionen tegen hun elektrochemische potentiaal in naar buiten te pompen. Het katalytisch deel van deze protonenpompen kan een door K^+ gestimuleerde, van Mg^{2+} of soms van Ca^{2+} afhankelijke ATPase, een K^+ (Mg^{2+})-ATPase, zijn. Volgens de huidige opvattingen over de ionenopname bij planten is de actieve opname van kationen zoals K^+ waarschijnlijk gekoppeld aan dergelijke protonenpompen. Indien de pompen worden geactiveerd worden protonen uitgescheiden en K^+-ionen opgenomen en kan, indien dit niet geschiedt in een verhouding 1 : 1, het negatieve elektrische potentiaalverschil over de plasmamembraan toenemen (hyperpolarisatie). Volgens de protonenexcretiehypothese worden deze protonenpompen direct geactiveerd door auxinen. De als gevolg hiervan toenemende H^+-concentratie in de celwand zou de plastische rekbaarheid van de celwand verhogen, waardoor de groeisnelheid zou toenemen. De protonen zouden in dit geval dus de functie van tweede boodschapper vervullen (Hekkelman, 1978). Hoe we ons precies de invloed van de H^+-ionen op de celwand op moleculair niveau moeten voorstellen, is nog niet geheel duidelijk. De mogelijkheden die geopperd zijn houden in: stimulering van enzymatische verbreking van covalente banden door celwandhydrolasen met een laag pH-optimum, directe verbreking van waterstofgevoelige covalente banden, en directe verbreking van zout- en waterstofbruggen.

Belangrijke argumenten die de protonenexcretiehypothese steunen, zijn:

1 weefsels waarvan de (lengte)groei door auxinen wordt gestimuleerd reageren binnen 20 minuten op toegevoegd auxine met een toename van de groeisnelheid. Deze betrekkelijk snelle respons wijst op een directe activering van systemen die betrokken zijn bij de regulatie van de plastische rekbaarheid van de celwand;

2 in de aanloopfase vindt een duidelijk meetbare verlaging van de pH van het medium plaats, die gepaard gaat met een hyperpolarisatie van de plasmamembraan en een toename van de K^+-opname;

3 de door auxine teweeggebrachte vergroting van de groeisnelheid kan



Bij passief flux-evenwicht : $\mathrm{Ln}\frac{[K^+]^o}{[K^+]^i} = \frac{ZF}{RT}(\psi i - \psi o)$

Fig. 3. Protonenexcretiehypothese. In de plasmamembraan gelokaliseerde protonenpompen met als katalytisch onderdeel een $K^+(Mg^{2+})$-ATPase worden gestimuleerd door auxine. Volgens Hager et al. (1971) is daarbij GTP noodzakelijk. Het diterpeenglucoside fusicoccine – een toxine dat afgescheiden wordt door bepaalde schimmels – activeert volgens Marrè et al. (1975) eveneens de protonenpompen en kan (gedeeltelijk) de snelle respons op auxine nabootsen. De opname van K^+-ionen en andere kationen kan het gevolg zijn van verstoring van het elektrochemisch evenwicht ten gevolge van de protonenuitscheiding; de opname van K^+-ionen kan ook berusten op uitwisseling via de protonenpomp. Bij elektrochemisch evenwicht wordt de verhouding van $[K^+]$ buiten en binnen de cel gegeven door de formule in de figuur. $[K^+]^o$ en $[K^+]^i$ zijn de K^+-concentraties respectievelijk buiten en binnen de cel, Z = de elektrische valentie van het betreffende ion, F = getal van Faraday (hoeveelheid lading per mol van het ion), R = universele gasconstante, T = absolute temperatuur en $(\psi_i - \psi_o)$ is het verschil in elektrische potentiaal binnen en buiten de cel. De elektrische potentiaal wordt bepaald door de volledige ionensamenstelling van het systeem.

worden nagebootst door verlaging van de pH van het medium met een waarde die overeenkomt met de verlaging van de pH onder invloed van auxine;

4 de plastische rekbaarheid van de celwand neemt toe bij toename van de H^+-concentratie in de wand.

Algemeen wordt aangenomen dat de protonenpompen voorkomen in de plasmamembraan. Echter, volgens Ray (1977) zou een door auxine geactiveerde protonenuitscheiding in het lumen van het ER ook zeer goed verenigbaar zijn met de protonenexcretiehypothese. We hebben gezien dat in coleoptielweefsel beide membranen auxinereceptoren bevatten. We kunnen ons onderzoek naar de functie van deze receptoren dan ook toespitsen op de vraag: worden protonenpompen geactiveerd via binding van auxine aan receptoren in de plasmamembraan en/of het ER? Teneinde deze vraag te beantwoorden is in verschillende laboratoria getracht protonenpompen in geïsoleerde membranen te stimuleren met auxinen, waarbij als maat de activiteit van $K^+(Mg^{2+}$ of $Ca^{2+})$-ATPase werd genomen. Tot nu toe hebben deze proeven slechts enkele positieve resultaten opgeleverd (Kasamo & Yamaki, 1974, 1976; Erdei et al., 1978), terwijl we stellig mogen aannemen dat hier negatieve resultaten van andere onderzoekers tegenover staan.

Zeer onlangs hebben Cross et al. (1978) aangetoond dat de receptoren in coleoptielmembranen geen (vast) deel uitmaken van de $K^+(Mg^{2+})$-ATPasen: na behandeling van de membranen met Triton-X100 bleken de opgeloste receptoren en de $K^+(Mg^{2+})$-ATPasen in verschillende eiwitfracties voor te komen. Dit hoeft niet te betekenen dat receptoren en protonenpompen niets met elkaar te maken hebben. Er bestaan nl. sterke aanwijzingen dat aan membranen gebonden receptoren voor dierlijke hormonen eveneens gescheiden voorkomen van aan membranen gebonden enzymen zoals adenylcyclase, die door die hormonen worden geactiveerd of geremd. Dit heeft geleid tot de opstelling van de zogenaamde *mobiele-receptorhypothese* door Cuatrecasas (Jacobs & Cuatrecasas, 1977). Volgens deze hypothese 'drijven' receptoren en enzymen los van elkaar in het vlak van de 'vloeibare' membraan (zie de uitgave 'Biomembranen' in de Biologische Raad Reeks). Indien de receptoren door binding van een hormoon worden geactiveerd, dan vormen zij met bepaalde enzymen aggregaten, waardoor de enzymactiviteit wordt gestimuleerd of onderdrukt (Hekkelman, 1978). Interessant is dat tijdens het bereiden van membraanpreparaten de receptoren en doelwitenzymen in verschillende blaasjes terecht kunnen komen. Als dat ook het geval zou zijn bij auxine-

receptoren en $K^+(Mg^{2+})$-ATPasen, dan kunnen we uiteraard verwachten dat toevoeging van auxine aan membraanpreparaten géén stimulering van de basale $K^+(Mg^{2+})$-ATPase-activiteit veroorzaakt.

De protonenexcretiehypothese geeft een elegante verklaring voor de snelle reactie van groeiende weefsels op auxine. Door activering van de protonenpompen wordt niet allen de plastische rekbaarheid van de celwand vergroot, maar worden tevens voor de groei noodzakelijke transportprocessen geactiveerd, zoals K^+-opname en – indien de hypothese van Raven juist is – het polair transport van het auxine zelf (zie het hoofdstuk van Van Raalte). De protonenexcretiehypothese is echter nog niet bewezen.

Het lijkt ons bovendien waarschijnlijk dat de protonenpomp niet de enige aan membranen gebonden functie is die door auxine wordt gereguleerd. Wij denken onder meer aan enzymensystemen die betrokken zijn bij de celwandsynthese. Van dierlijke hormonen is bekend dat één hormoon verschillende aan membranen gebonden functies kan beïnvloeden. Zo reguleert insuline via binding aan één homogene klasse van aan membranen gebonden receptoren de enzymen adenylcyclase, fosfodiësterase, Na^+-K^+-ATPase, van Ca^{2+} afhankelijke ATPase, alsmede het glucose- en aminozuurtransport. De mobiele-receptorhypothese geeft hiervoor een elegante verklaring (Jacobs & Cuatrecasas, 1977).

Activering van chromosomale functies Strekkingsgroei is een gecompliceerd proces, dat bovendien nauw verbonden is met de celdifferentiatie. Dit proces is ongetwijfeld slechts mogelijk indien steeds de juiste genetische informatie (DNA → RNA → eiwitten) aanwezig is. Bij de meeste experimenten wordt de werking van auxine bestudeerd aan weefsels die geïsoleerd worden op het moment dat ze actieve strekkingsgroei vertonen. Door de isolatie daalt het endogene auxinegehalte, waardoor de groeisnelheid drastisch afneemt. De strekkingsgroei neemt echter weer aanmerkelijk toe als auxine wordt toegevoegd. De respons op het toegevoegde auxine is zo snel ('lag'-fase minder dan 20 minuten) dat hij niet het gevolg kan zijn van de stimulering van mRNA-synthese gevolgd door vertaling van de mRNA's tot eiwitten ('lag'-fase daarvan is minstens 40 minuten). Blokkering van de mRNA-synthese door actinomycine-D heeft dan ook geen enkel effect op deze *snelle respons*. Als de aanwezigheid van dit antibioticum echter te lang gaat duren dan daalt de groeisnelheid weer. Dit wijst erop dat over langere tijd toch weer een ongestoorde mRNA-synthese noodzakelijk is.

Bij analyse van de respons van het weefsel op toegediend auxine zien we dan ook dat na de snelle respons een tweede, relatief *langzame respons* optreedt die bestaat uit een verhoging van de RNA-synthese, gevolgd door een toename van eiwit. Heel fraai is deze langzame respons geanalyseerd door Verma et al. (1975). Deze onderzoekers behandelden intacte erwtekiemplanten met het synthetische auxine 2,4-dichloorfenoxyazijnzuur en bepaalden op verschillende tijdstippen na het begin van de behandeling de hoeveelheid cellulase in het weefsel. Zij namen een sterke, lineaire toename van de activiteit van dit enzym waar na een aanloopfase van omstreeks 24 uur, waarin al synthese van boodschapper-RNA plaatsvond. Bovendien steeg in deze periode het percentage van het totale boodschapper-RNA dat codeert voor cellulase aanzienlijk. Het feit dat de toename van het mRNA voor cellulase zo ruim voorafging aan de toename van de enzymactiviteit zou erop kunnen wijzen dat in dit geval, naast de beïnvloeding van de transcriptie door het auxine, ook een regulatie plaatsvond op het niveau van de vertaling tot eiwit (translatie). Deze behoeft echter niet noodzakelijkerwijs een gevolg van de toediening van het auxine te zijn geweest.

Het lijkt ons waarschijnlijk dat bij experimenten met geïsoleerde weefsels, die reeds in de intacte plant actieve strekkingsgroei vertoonden, onder invloed van uitwendig toegediend auxine geen nieuwe genetische informatie ter beschikking komt, maar dat het oorspronkelijke patroon van de RNA-synthese, zoals dat in vivo aanwezig was, in grote lijnen wordt hersteld. Dit neemt niet weg dat we toch moeten concluderen dat auxine zijn groeistimulerende werking uitoefent zowel op het niveau van de activering van protonenpompen en eventuele andere aan membranen gebonden functies, als op het niveau van de transcriptie.

Bruinsma heeft erop gewezen dat plantehormonen, dus ook auxinen, een breed werkingsspectrum vertonen. De thans beschikbare gegevens wijzen erop, dat in het algemeen auxine zijn werking uitoefent op onder andere het transcriptieniveau, waarbij het patroon van de mRNA-synthese wordt gewijzigd en de activiteit van de RNA-polymerasen (enzymen die de transcripie katalyseren) toeneemt (Jacobsen, 1977). De vraag is echter, waar de auxinen precies aangrijpen. In het geval van de strekkingsgroei zou de werking op transcriptieniveau het indirecte gevolg kunnen zijn van de snelle respons.

Uit de literatuur over het werkingsmechanisme van dierlijke hormonen weten we echter dat de werking op transcriptieniveau op betrekkelijk directe wijze kan plaatsvinden. De steroïd-geslachtshormonen staan hier-

Tabel 1. Eigenschappen van auxinereceptoren in weefselkweken van stengelmerg van tabak. De callusweefsels werden gekweekt op medium volgens Murashige en Skoog met 10^{-5} mol.l^{-1} IAA en 10^{-6} mol.l.$^{-1}$ kinetine. De weefsels werden steeds na 21 dagen overgezet op vers medium. NAA = α-naftaleenazijnzuur; 2,4-D = 2,4-dichloorfenoxyazijnzuur.

Gegevens	*Vrije receptor*	*Membraangebonden receptor*
Affiniteitsconstante	$K_{A(IAA)} = 10^8$ l.mol^{-1} $K_{A(NAA)} = 4 \times 10^7$ l.mol^{-1}	$K_{A(NAA)} = 3{,}5 \times 10^6$ l.mol^{-1}
Verzadigbaarheid	uit vers merg: niet aantoonbaar uit callus: 0,01 nmol/g eiwit	uit vers merg: 30 nmol/g eiwit uit callus: 70 nmol/g eiwit
Competitie	2,4-D	IAA, 2,4-D β-naftaleenazijnzuur, 2,3,5-tri- joodbenzoëzuur
Geen competitie met	3,5-dichloorfenoxy- azijnzuur	indol-3-aceton, indol- 3-propionzuur
Gunstigste bindings- omstandigheden	24-30 °C, geen binding bij 0 °C of 40 °C pH = 7,5; ongeveer 25% binding resteert bij pH = 6,0 en pH = 8,5	36 °C, geen binding bij 0 °C pH = 5,0; ongeveer 25% binding resteert bij pH = 4,0 en pH = 5,5
Moleculair gewicht	750.000 (bepaald d.m.v. chromatografie op Sepharose-6B)	onbekend
Tijdsverloop van receptor- concentratie in tabaks- mergcallusweefsel	zie figuur 2	geen significante veranderingen
Verdere karakteristieken	wordt vernietigd door verhitting en door be- behandeling met pronase; geen afbraak van IAA en NAA tijdens incubatie	geen verschil met vrije receptor

voor model. Het cytoplasma van doelwitcellen voor deze hormonen bevat vrije receptoren die, nadat zij geactiveerd zijn door het hormoon, naar de kern migreren, waar de hormoon-receptorcomplexen zich binden aan specifieke chromatine-eiwitten. De binding van de HR-complexen aan deze zogenaamde acceptoren heeft tot gevolg dat nieuwe mRNA's worden gevormd die vervolgens in het cytoplasma vertaald worden tot eiwitten. Hierop volgt een toename van de activiteit van de RNA-polymerasen (Hekkelman, 1978). Opvallend is dat binding van hormoon-receptorcomplexen aan deze *acceptoreiwitten* in het chromatine overeenstemt met het principe van de mobiele-receptorhypothese voor aan membranen gebonden functies. Op grond van dit model is in fig. 4 een hypothetisch mechanisme weergegeven voor de werking van auxine op transcriptieniveau.

Dit mechanisme roept uiteraard de belangrijke vraag op of er in auxinegevoelige weefsels vrije cytoplasmatische receptoren voorkomen. We hebben reeds uiteengezet dat dergelijke receptoren inderdaad voorkomen. Hebben ze echter ook een functie bij de transcriptie? De eerste aanwijzingen dat dit mogelijk het geval is, dateren van omstreeks 1970 (Matthyse & Phillips, 1969). Indien kernen werden geïsoleerd uit tabakscallusweefsel, dat voor zijn groei auxine en cytokinine nodig heeft, dan waren die kernen in staat om in vitro RNA te synthetiseren. Hierbij werd ontdekt dat tijdens de isolering een eiwitfractie vrij kon komen, die in staat bleek om in combinatie met auxine de RNA-synthese in het celvrije systeem (gemeten als verhoging van de inbouw van radioactieve bouwstenen van RNA per tijdseenheid) aanmerkelijk te stimuleren. Aangezien de technieken toen nog niet ver genoeg ontwikkeld waren, was het niet mogelijk om aan te tonen dat de bewuste eiwitfractie voldeed aan de criteria van een auxinereceptor. In ons laboratorium is de lijn van het onderzoek van Matthyse doorgetrokken, met als object weefselkweken van het stengelmerg van tabak. Het is ons gebleken dat de resultaten van Matthyse niet zonder meer te herhalen zijn (Mennes et al., 1978). Dit heeft geresulteerd in een nieuwe opzet, waarbij we enerzijds een systematisch onderzoek doen naar de aanwezigheid van o.a. vrije auxinereceptoren (fig. 2), anderzijds een grondige studie verrichten over de gecompliceerde kinetiek van de RNA-synthese in celvrije systemen, om betrouwbare toetsingssystemen te ontwikkelen voor vrije auxinereceptoren. In hoeverre de in het callusweefsel aangetoonde vrije auxinereceptoren passen in het model van fig. 4, zal in de komende jaren moeten blijken.

Onlangs werden in principe (indien zij door anderen bevestigd kunnen worden) belangwekkende resultaten verkregen door Roy & Biswas (1977).

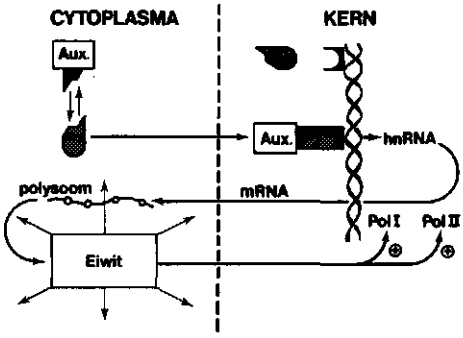


Fig. 4 Hypothetisch mechanisme van de werking van auxine op transcriptieniveau. Volgens Teissère et al. (1975) zouden de mRNA's die onder invloed van auxine worden gevormd, coderen voor o.a. initiatiefactoren voor de RNA-polymerasen. In weefsels die strekkingsgroei vertonen zou voorts één van de mRNA's coderen voor een cellulase (Verma et al., 1975). hnRNA = heterogeen nucleair RNA; Pol I = polymerase dat betrokken is bij de synthese van ribosomaal RNA; Pol II = polymerase dat betrokken is bij de synthese van boodschapper-RNA (mRNA).

De reeds door ons genoemde vrije auxinereceptor in het nucleoplasma van kernen uit het endosperm van de kokosnoot bleek in staat om na binding met auxine de RNA-synthese in een celvrij transcriptiesysteem te stimuleren, waarbij het patroon van de gevormde RNA-soorten aanmerkelijk werd gewijzigd. De auxine-receptorcomplexen bonden zich aan het chromatine, vermoedelijk aan acceptoreiwitten met een MW = 70.000.

Slot

Uit hetgeen we nu weten over het werkingsmechanisme van diere- en plantehormonen komt het volgende beeld naar voren: het vermogen om hormonale signalen te vertalen hangt af van de aanwezigheid van specifieke receptoreiwitten. De wijze waarop de cellen zullen reageren op de hormonen hangt af van de aard en functie(s) van specifieke acceptoreiwitten voor hormoon-receptorcomplexen. Welke receptor- en acceptoreiwitten aanwezig zijn, is onderdeel van de genetische programmering van de verschillende doelwitweefsels. Indien een hormoon een breed werkingsspectrum heeft, dan betekent dit dat vele weefsels het hormoon kunnen binden, maar dat zij, al naar gelang hun genetische programmering, het signaal op verschillende wijze interpreteren door de aanwezigheid van verschillende receptor- en/of acceptoreiwitten.

Overlevingsstrategieën en hormonen

C. M. Karssen

Probleemstelling

In tegenstelling tot dieren en eencellige organismen kunnen planten zich niet verplaatsen. Ze zijn gebonden aan hun standplaats en daardoor onderworpen aan de daar heersende uitwendige omstandigheden. Met name de fysische milieufactoren kunnen zowel binnen een etmaal, als in de loop van een jaar sterk wisselen. Voor de handhaving van een plant in het milieu van zijn standplaats is het daarom noodzakelijk dat de plant zich kan aanpassen aan de dagelijkse en jaarlijkse ritmen in het klimaat.

Na een korte beschrijving van de voornaamste klimaatritmen en van de daarbij passende activiteitswisselingen in de levenscyclus van planten, zal in dit hoofdstuk worden nagegaan, welke aanwijzingen er zijn voor een intermediaire rol van plantehormonen tussen milieu en ontwikkelingspatroon.

Klimaatritmen

De repeterende veranderingen in de fysische milieufactoren zijn alle terug te voeren op het cylische verloop van de instraling van zonneënergie op het aardoppervlak. Zowel de dagelijkse rotatie van de aarde, als de baan die onze planeet in het zonnestelsel beschrijft, veroorzaken cyclische veranderingen in temperatuur, vochtigheid en lichtcondities die zeer ingrijpend kunnen zijn voor de organismen die haar bewonen.

In de gebieden buiten de keerkringen zijn de seizoensgebonden wisselingen in de uitwendige omstandigheden het meest ingrijpend. De daglengte wisselt in de loop van het jaar tot aan de extreme verschillen van de arctische streken. De korte dagen zijn ook de koude dagen omdat de stralingsbalans door de sterke uitstraling 's nachts negatief wordt.

In het gebied rond de evenaar is het dagelijkse ritme meestal de belangrijkste klimatologische cyclus. Zelfs bij de keerkringen is het verschil

tussen de langste en de kortste dag nog slechts twee uur. Binnen het dagnachtritme kunnen de temperatuurverschillen zeer geprononceerd zijn: van het vriespunt 's nachts tot boven 30° C overdag.

De seizoensgebonden verschillen tussen de negatieve stralingsbalans op hogere breedtegraden en de constant sterke uitstraling in de gebieden rond de evenaar veroorzaken grote wisselingen in de atmosferische circulatie. Daardoor kennen vele tropische gebieden toch een seizoenscyclus in de vorm van een nat en een droog seizoen.

Activiteitswisselingen

Door de periodieke wisselingen in zonnestraling, temperatuur, daglengte en neerslag wisselen perioden met gunstige condities regelmatig af met perioden die ongunstig tot zeer ongunstig zijn voor de groei en ontwikkeling van planten. Planten passen zich aan deze klimatologische periodiciteit aan door cyclische wisselingen in hun weerstand tegen stresscondities, zowel op cellulair niveau door veranderingen in stofwisseling en membraanfuncties, als op orgaanniveau door wijzigingen in hun morfogenese.

De levenscyclus van een plant wordt primair bepaald door de lengte en de aard van de gunstige periode in het klimaat. Die periode kan verschillen van de enkele weken met regenval in de woestijn of de korte periode zonder vorst boven de poolcirkel of in het hooggebergte, tot het bijna ononderbroken gunstige klimaat van de vochtige subtropen en tropen.

Om zich te kunnen handhaven in een bepaald milieu zal de plant zich echter aan de gehele cyclus van uitwendige factoren moeten aanpassen, dus juist ook aan de ongunstige periode.

Om zich tegen de bedreiging door kou, hitte of droogte te kunnen verweren, kennen veel planten in hun levenscyclus naast een actieve fase ook een aan het ongunstige seizoen aangepaste rustperiode. Sommige planten, zoals *Seneco vulgaris* in onze klimaatzone, kunnen het zich permiteren om bij het dalen van de temperatuur alleen maar te stoppen met groeien. Bij het terugkeren van de gunstige klimaatcondities hervatten ze eenvoudigweg de groei. Er is dan slechts sprake van een *opgelegde rust (enforced dormancy, quiescence),* die geheel door de uitwendige factoren wordt bepaald. Bij veel andere soorten verschilt de rustfase echter zowel fysiologisch als morfologisch aanzienlijk van de actieve fase. Fysiologisch, door de vele met het ontstaan van rust en vorst-, kou-, of droogteresistentie samenhangende veranderingen; morfologisch door het ontstaan van speciale *rustorganen.*

Er zijn verschillende soorten rustorganen. Alle zaadplanten vormen, min of meer regelmatig, tijdens hun levenscyclus *zaden,* die behalve als verspreidingsvorm, ook als rustvorm het voortbestaan van de soort dienen. Zaden zijn zeer gespecialiseerde rustvormen, die een hoge mate van resistentie tegen uitdroging bezitten, maar in vele gevallen ook lang kunnen overleven in vochtige grond bij zeer uiteenlopende temperaturen (Roberts, 1972). Zaden zijn te beschouwen als zorgvuldig verpakte meristematische embryo's.

Bij eenjarige planten (annuellen) zijn de zaden het enige deel van de plant dat de rustfase overleeft. Tweejarige en overblijvende planten kennen nog een tweede overlevingsstrategie. Grotere of kleinere delen van deze planten ontwikkelen bij de nadering van het ongunstige seizoen resistentie en gaan in rust. De planten kunnen daarbij proberen de stresscondities te *vermijden* door alleen ondergronds te overleven. Daarbij functioneren wortelstokken (rhizomen), knollen of bollen en andere metamorfosen van stengel en wortel als rustorganen. Overblijvende planten kunnen ook proberen het ongunstige seizoen te *tolereren* door tevens bovengronds, meestal gedeeltelijk, te overleven. Daarbij beschermen ze de groeipunten door de vorming van *knoppen.*

Synchronisatie tussen klimaat- en activiteitsritme

Om zich te kunnen handhaven op een bepaalde standplaats zal een plant het vermogen moeten bezitten om de afwisseling van actieve fase en rustfase *synchroon* te laten verlopen met de heersende klimaatcyclus. Dit betekent dat de actieve fase zoveel mogelijk zal moeten samenvallen met het gunstige klimaat om een optimale ontwikkeling te garanderen; anderzijds moet de rust op tijd ontstaan en mag niet te vroeg worden verbroken om schade te voorkomen. Een plant zal dus vooral adequaat moeten kunnen reageren op de overgangen van de seizoenen.

In de gebieden buiten de keerkringen, waar de zomer de gunstige periode is, functioneren vooral daglengte- en temperatuursovergangen als klimatologische signalen.

Bij vele eenjarige planten, in dit geval *zomerannuellen* genoemd, bestuurt de daglengte de overgang van de vegetatieve naar de generatieve fase. Meestal is het langer worden van de dagen het signaal, zeker op de hogere breedtegraden, waar de actieve periode slechts kort duurt (zie het hoofdstuk van Bennink). Dichter bij de keerkringen kan het korter worden van de dagen tot bloei induceren. In ieder geval moet de genera-

tieve fase zodanig op tijd beginnen dat de zaadvorming nog klaar komt voor het begin van de ongunstige periode. Het onstaan van kiemrust in de ontwikkelende zaden is, op enkele beschreven daglengteëffecten na (Karssen, 1970), tot nu toe niet duidelijk in verband gebracht met deze uitwendige signalen.

Het ontstaan van knoppen en knoprust in overblijvende planten wordt wel duidelijk gestuurd door het korter worden van de dagen. De ontwikkeling is een geleidelijk proces dat, evenals bij kiemrust, kan uitmonden in een toestand van *ware rust (true dormancy)* (Vegis, 1964). Tijdens de ontwikkeling van de rust versmalt het temperatuurgebied waarin de reeds gevormde knoppen nog kunnen uitlopen. Tenslotte gelukt dat bij geen enkele temperatuur meer. Dan is de toestand van ware rust bereikt, die geheel door inwendige factoren wordt bepaald. Naast de daglengte speelt de tegelijkertijd invallende kou waarschijnlijk een versnellende en modificerende rol. De koude zorgt in ieder geval voor het ontstaan van koude-en vorstresistentie.

De rust van knoppen en zaden wordt in ons klimaat verbroken door de winterkou, met een optimum rond 2 tot 4° C. Het verbreken van de rust uit zich in het verbreden van de temperatuurgrenzen voor ontwikkeling. Wanneer de dalende lijn van de kritische minimumtemperatuur de stijgende curve van de buitentemperatuur snijdt, kan het uitlopen van de knoppen of het kiemen van de zaden plaatsvinden. Dergelijke kritische drempeltemperaturen kunnen zeer scherp zijn afgebakend. Zaden van het herderstasje *(Capsella bursa-pastoris)* bijvoorbeeld, kiemen in het voorjaar zodra een temperatuur van 9° C wordt bereikt (Popay & Roberts, 1970).

In streken waar de overgangen tussen natte en droge perioden de belangrijkste seizoensovergangen vormen, is de koele vochtige winter de periode van actieve plantengroei. De rustvormen ontstaan bij het naderen van de droge periode. Ook hier zien we dat het temperatuurbereik zich eerst versmalt en na de rust weer verbreedt. In deze klimaatstreken volgt de reactivering wanneer de dalende buitentemperatuur de stijgende tendens van de maximumtemperatuur snijdt, en er bovendien weer watervoorziening is.

Voor de kieming van zaden zijn een geschikte temperatuur en een goede vochtvoorziening echter niet de enige milieufactoren. Er moet ook een goede zuurstofvoorziening zijn, terwijl er bij veel soorten bovendien behoefte is aan (kortdurende) belichting. In zaden die na het afvallen bedekt zijn geraakt met een laagje grond of met bladresten wordt na het verbre-

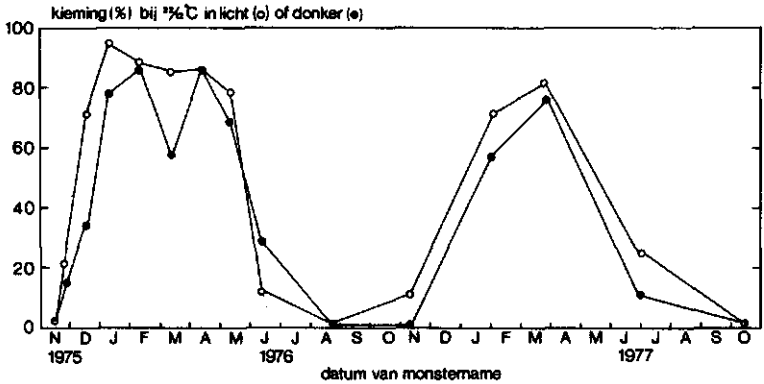


Fig. 1. De kieming bij standaardcondities (afwisselend 12 uur bij 22 °C in licht of donker en 12 uur bij 12 °C in donker, in petrischalen op filtreerpapier) van zaden van Polygonum persicaria, *die in november 1975 waren begraven in lemig zand (10 cm diep) onder natuurlijke klimaatcondities te Wageningen en na korte of lange tijd in de loop van 2 jaar werden opgegraven en getest (Karssen, ongepubliceerd).*

ken van de winterrust niet aan al deze voorwaarden voor kieming voldaan. Wanneer de kieming daardoor in de gematigde klimaatzone niet direct in het voorjaar plaatsvindt, kan zich onder invloed van de stijgende temperaturen een *secundaire rust (secondary dormancy)* ontwikkelen, die opnieuw wintercondities nodig heeft om verbroken te kunnen worden (fig. 1). De secundaire rust is er verantwoordelijk voor dat zaden die midden in de zomer worden opgegraven slechter kiemen dan in het voorjaar. Dit mechanisme beschermt de soort tegen een te late start van de actieve levensfase. Het mechanisme speelt bovendien waarschijnlijk een rol bij de soms zeer lange overlevingsduur van zaden (Roberts, 1972). Ook in rhizomen en andere ondergrondse rustorganen kan secundaire rust worden geïnduceerd.

Ecotypische aanpassingen

Hoe belangrijk de synchronisatie tussen activiteitswisseling en seizoen is blijkt duidelijk wanneer men vertegenwoordigers van een soort met een breed geografisch verspreidingsgebied verplaatst naar streken met een afwijkend klimaatpatroon.

Exemplaren van de sitkaspar *(Picea sitchensis)* uit het noorden van Canada en uit Alaska stopten op lagere breedtegraden hun groei nog

steeds bij dezelfde vrij lange kritische daglengte als op hun oorspronkelijke standplaats gebruikelijk was (Wareing, 1976). Daardoor misten ze in het zuiden echter een groot deel van het gunstige seizoen met als gevolg een geremde ontwikkeling. Op hun noordelijke standplaats was deze reactie wel functioneel, omdat daar de dagen zoveel sneller verkorten dat het signaal voor de rust dus ook eerder gegeven moet worden.

Het optreden van deze ecotypen in het fotoperiodieke gedrag toont aan dat het ritme van de levenscyclus genetisch vastligt, inclusief de drempelwaarden van de daglengte. Uitblijven van zo'n signaal betekent dan het uitblijven van bloei- of rustinductie.

Het komt echter ook voor dat planten behalve een reactie op uitwendige signalen, ook een *endogeen ritme* vertonen. Deze endogene ritmiek verklaart wellicht de zelfs in tropische regenwouden voorkomende periodiciteit in de groei van altijdgroene bomen.

De rol van hormonen

Groei en ontwikkeling verlopen dus volgens een genetisch patroon, dat gestuurd wordt door in- en uitwendige signalen. De centrale vraag die we in deze bijdrage aan de orde stellen luidt: spelen hormonen hierin de rol van intermediair, van boodschapper tussen het milieu en het genetische apparaat?

De vroegste antwoorden op deze vraag komen bijna steeds uit onderzoekingen waarbij men regulatoren van buiten af toediende aan het te onderzoeken materiaal. Uit dat werk zijn belangrijke aanwijzingen gekomen over de mogelijke rol van hormonen bij de activiteitswisselingen. Zo blijkt bijv. dat exogeen ABA (abscisinezuur) het uitlopen van knoppen en het kiemen van zaden remt. Over de rustbrekende werking van toegevoegd gibberelline bestaat weinig twijfel, terwijl cytokininen in veel gevallen antagonerend werken op endogene of toegevoegde remstoffen.

Toch vormen zulke resultaten geen doorslaggevend bewijs voor een rol van hormonen. Het exogeen toevoegen blijft toch altijd een wat ongenuanceerd ingrijpen in een systeem dat vooral een subtiel samenspel lijkt te zijn tussen tenminste drie tot vier groepen hormonen, waarbij kleine verschillen in concentratie en lokalisatie van groot belang kunnen zijn.

Het is daarom voor de voortgang van het onderzoek van grote betekenis om de endogene gehalten van de hormonen te kennen, en met name de relatie tussen wisselingen in die gehalten en de uitwendige factoren. Vooral door het baanbrekend werk van Wareing en zijn medewerkers te Aberyst-

wyth in Wales, is op dit gebied de laatste 20 jaar goede vooruitgang geboekt. Aanvankelijk werden alle bepalingen nog uitgevoerd met biotoetsen. Zoals in het hoofdstuk van Bruinsma al werd aangegeven kleeft aan deze techniek het nadeel van de geringe specificiteit. Dit wreekt zich met name wanneer remmende en bevorderende stoffen samen in een extract voorkomen en de toets daar niet goed tussen onderscheidt. Het is daarom gelukkig dat voor de bepaling van ABA, IAA (indolazijnzuur) en ethyleen reeds routinematig toepasbare fysicochemische methoden beschikbaar zijn, terwijl gibberellinen en cytokininen tijdens een onderzoek in ieder geval kunnen worden geïdentificeerd, al zijn voor de kwantitatieve bepaling nog biotoetsen nodig.

Hormonen en knoprustinductie

De knoprust in houtige gewassen wordt in de gematigde klimaatzone, zoals reeds werd opgemerkt, primair geïnduceerd door het verkorten van de daglengte. Voor de perceptie van de daglengteverandering is de aanwezigheid van bladeren vereist. Het onderzoek heeft zich daarom in het begin vooral gericht op het opsporen van een transportabele factor, die onder invloed van de korte dagen (KD) wordt gevormd in de bladeren en vandaar naar de takken wordt getransporteerd om daar groeiremming, knopvorming, rustinductie en kouderesistentie te veroorzaken.

Met behulp van biotoetsmethoden werd in enkele houtige gewassen aangetoond dat in het najaar onder natuurlijke omstandigheden een hoge concentratie remstoffen in de knoppen voorkwam (Phillips & Wareing, 1958; Tinklin & Schwabe, 1970). Onder geconditioneerde omstandigheden bleken jonge esdoornbomen *(Acer pseudoplatanus)* bij overzetten van lange dag (LD) naar korte dag (KD) reeds na 2 KD-cycli een verhoogd remstofgehalte in de bladeren te vertonen, na 5 KD-cycli trad de toename ook op in de knoppen (Phillips & Wareing, 1958).

Pogingen tot isolering en identificatie van de remmende stof(fen) leidden tot een van de eerste isoleringen van abscisinezuur, dat aanvankelijk in deze lijn van onderzoek overigens nog dormine werd genoemd. ABA bleek de belangrijkste remstof in de extracten te zijn.

Het mogelijke belang van ABA werd onderstreept toen het gelukte door toediening van deze regulator aan bladeren van berk, zwarte bes en esdoorn onder LD-omstandigheden rustende knoppen te induceren (El-Antably et al., 1967). Met moderne analysemethoden werd bovendien meerdere malen aangetoond dat in het najaar onder veldcondities het

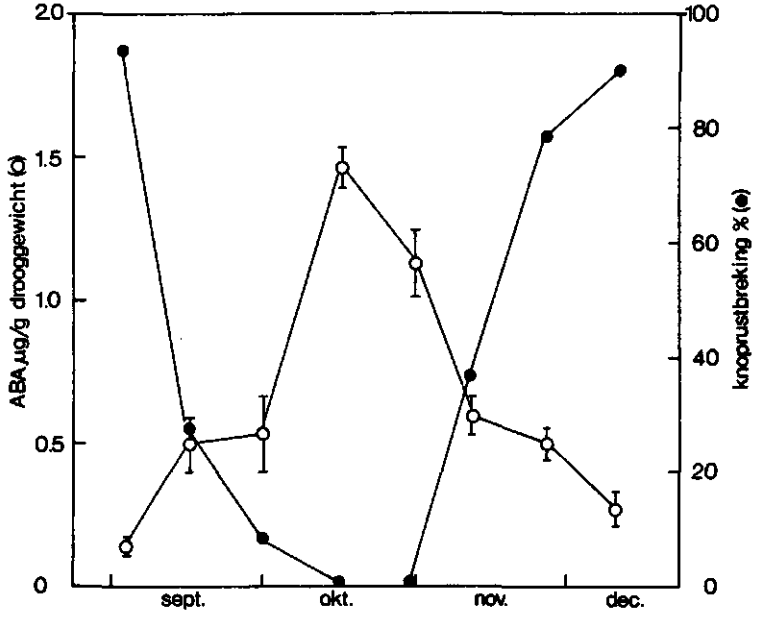


Fig. 2. Veranderingen in de knoprustbreking en het ABA-gehalte in knoppen met bijbehorende knopen van Vitis vinifera *cv Riesling, gedurende het najaar onder natuurlijke condities. De knoprustbreking werd getest gedurende 30 dagen bij 22 °C en 95% relatieve luchtvochtigheid (naar Düring & Bachmann, 1975).*

gehalte van ABA in knoppen sterk toeneemt (Harrison & Saunders, 1975; Düring & Bachman, 1975) (fig. 2). Hetzelfde geldt voor het xyleemsap. Dit vocht bevat bij de wilg óók in de zomer gedurende korte tijd een sterk verhoogd ABA-gehalte. De zomerpiek valt samen met het beëindigen van de strekkingsgroei van de boom, de herfstpiek met de bladval (Alvim et al., 1976).

Deze onder veldcondities waargenomen fluctuaties in het ABA-gehalte konden experimenteel niet in verband worden gebracht met de daglengteverkorting. In dezelfde houtige gewassen die eerder door Phillips en Wareing werden onderzocht, bleek het ABA-gehalte niet te veranderen door de overgang van LD naar KD (Lenton et al., 1972). De discrepantie met het vroegere remstofonderzoek is nog niet opgehelderd.

ABA neemt wel toe door daling van de temperatuur en door toenemende droogtestress. Wortels reageren op een temperatuurdaling van de bodem door een ingrijpende wijziging van de hormoonhuishouding. In

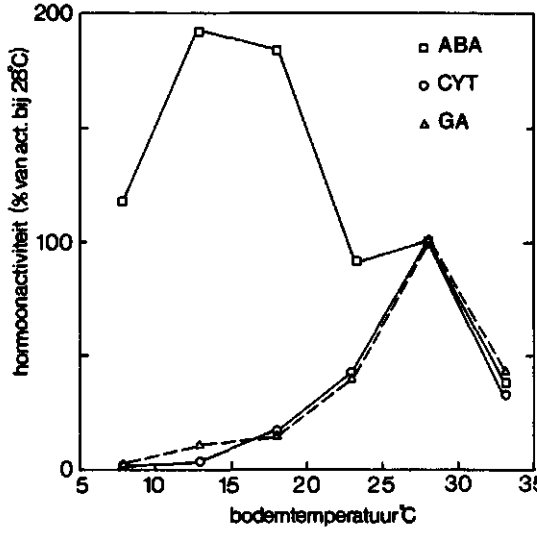


Fig. 3. De activiteit van gibberellinen, cytokininen en ABA in het wortelexudaat van maïsplanten, die gedurende 17 dagen gekweekt waren in een geaëreerde voedingsoplossing welke op constante temperaturen tussen 8 en 33 °C werd gehouden, terwijl de bovengrondse delen bij normale kascondities verbleven (naar Atkin et al., 1973).

maïsplanten steeg het ABA-gehalte in het xyleemsap, vergeleken met de toestand bij 28°C, tot het tweevoudige, terwijl GA's (gibberellinen) en cytokininen zeer sterk afnamen (Atkin et al., 1973) (fig. 3).

Het ABA-gehalte in bladeren stijgt zeer snel en zeer sterk bij een daling van het versgewicht. Een waterverlies van 10% leidde in tarwebladeren binnen enkele minuten tot een 40-voudige toename van ABA (Wright & Hiron, 1969). De stijging is allereerst een snel werkende bescherming tegen verdere uitdroging, doordat ABA de sluiting van de huidmondjes bevordert. Dit mechanisme speelt een grote rol bij de aanpassing van de plant aan de dagelijkse fluctuaties in vochtigheid en temperatuur. Het gestegen ABA-gehalte in de bladen deelt zich via het floëem op de duur mee aan andere delen van de plant, zoals zaden en vruchten (Goldbach & Goldbach, 1976). Daardoor speelt dit reactiemechanisme waarschijnlijk ook een rol bij de seizoensgebonden veranderingen in de plant. Dit geldt uiteraard met name in streken waar de overgangen tussen natte en droge perioden de belangrijkste seizoenswisselingen uitmaken. Het is mogelijk dat ook in gematigde streken het ABA-gehalte in planten door dit mecha-

nisme mede wordt gestuurd. Hierbij is o.a. van betekenis dat de daling van de bodemtemperatuur een afname van de opname en het transport van water tot gevolg heeft en daardoor ook op indirecte wijze ABA kan doen toenemen.

Hoewel ABA in de plant dus seizoensgebonden wisselingen doormaakt is daarmee niet bewezen dat het hormoon betrokken is bij rustinductie en -handhaving. In bloemknoppen van de kers ontstaat de rust reeds in september, terwijl ABA in de knoppen pas in oktober en november toeneemt ten tijde van de bladval. Deze toename kon worden voorkomen door de bomen mechanisch te ontbladeren; de diepte van de knoprust werd hierdoor echter niet beïnvloed (Mielke & Dennis, 1978). Het verdient op grond van deze resultaten aanbeveling het onderzoek naar de rol van ABA bij rustinductie in overblijvende planten te verleggen van het najaar naar de periode in de zomer wanneer in vele soorten de stengelgroei al stopt.

Terwijl de voor rustinductie meestal essentiële daglengteverkorting dus niet in verband is gebracht met veranderingen in het ABA-gehalte, is er wel een relatie aangetoond met gibberellinen en cytokininen (Van Staden & Wareing, 1972). In de stekelnoot *(Xanthium strumarium)* was slechts één KD-cyclus voldoende om het gehalte van de twee cytokininen zeatine en zeatineriboside, in knoppen, bladen, wortels en in de xyleemstroom aanzienlijk te verlagen (Henson & Wareing, 1974) (fig. 4). Deze reactie trad alleen in de intacte plant op. De onderzoekers veronderstellen dat de daglengteverandering zich via een onbekend signaal vanuit de bladen meedeelt aan de wortels en daar de synthese van cytokinine remt (Wareing et al., 1977). Deze effecten van een overgang naar KD en de hiervoor genoemde temperatuurseffecten zijn in overeenstemming met het lage cytokininegehalte dat in het najaar voorkomt in het xyleemsap (Alvin et al., 1976) en de bladen (Van Staden, 1977) van de wilg.

Ook de gibberellinehuishouding wordt door KD beïnvloed. Gibberellinen zijn in vele gevallen in staat het effect van een LD-behandeling te stimuleren. Daarnaast is in meerdere biotoetsexperimenten aangetoond dat het GA-gehalte onder LD stijgt en onder KD daalt (Vince-Pruce, 1975). Er zijn echter ook nog al wat tegenstrijdige resultaten. Deze tegenstrijdigheden kunnen voor een deel veroorzaakt worden door het samenvallen van GA_4 en GA_7 met ABA in vele chromatografische scheidingsmethoden. Zeevaart (1971) toonde bovendien aan dat een overgang van KD naar LD in het rozetplantstadium van spinazie weliswaar geen verandering in het totale GA-gehalte tot gevolg had, maar wel leidde tot een

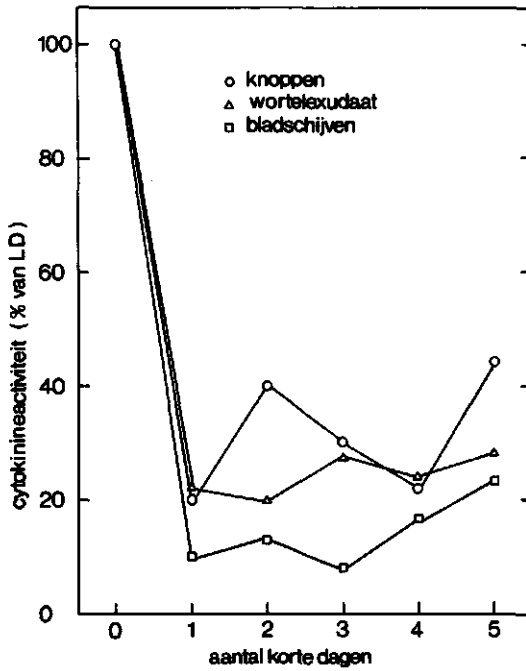


Fig. 4. De cytokinineactiviteit in extracten van knoppen en bladschijven en in het wortelexudaat van Xanthium strumarium, *nadat de planten tijdens een daglengteregiem van 18 uur (LD) aan één of meerdere korte dagen (8 uur) waren onderworpen (naar Henson & Wareing, 1974).*

verhoogde omzettingssnelheid van de GA's, hetgeen kan duiden op een toegenomen functionering. Hij toonde dit aan door met de groeivertrager ACPC (zie het hoofdstuk van Bruinsma) de GA-synthese stil te leggen.

Het wegvallen van gibberellinen en vooral cytokininen werkt de veroudering van de plant in de hand. Een directe experimentele relatie met het induceren van knoprust is echter nog niet geleverd.

De gegevens over de rustinductie in houtige gewassen in het najaar zijn samengevat in figuur 5.

Hormonen en zaadontwikkeling

Het ontstaan van zaden is slechts indirect in verband te brengen met veranderingen in het klimaat, doordat zaden een natuurlijk gevolg zijn van

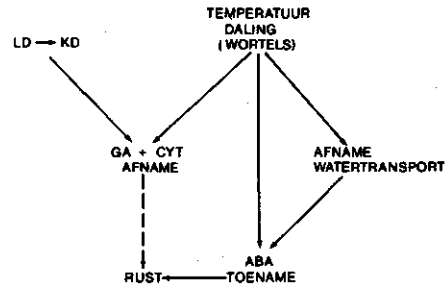


Fig. 5. Mogelijke correlaties van oorzaak en gevolg in een overblijvende plant in het najaar.

de bloei.

Jonge, zich ontwikkelende zaden zijn de rijkste bron van hormonen in een plant (Bewley & Black, 1978). Groei en opslag van reservevoedsel worden gereguleerd door een krachtige synthese van IAA en GA's in de zaden, waarbij o.a. cytokininen worden aangetrokken (Varga & Bruinsma, 1974). Voor het eind van de ontwikkeling nemen de gehalten van deze hormonen weer af. Van de gibberellinen is aangetoond dat ze daarbij worden opgeslagen in geglucosideerde vorm als een soort reservehormoon, dat bij de imbibitie tijdens de kieming weer snel kan worden vrijgemaakt.

Het gehalte aan ABA neemt pas tegen het eind van de zaadvorming toe (Eeuwens & Schwabe, 1975). Daarbij speelt naast aanvoer vanuit de moederplant ook synthese een rol, die met name plaatsvindt in de structuren die het embryo omringen. In tarwe werd aangetoond dat deze stijging samenvalt met het begin van het natuurlijke waterverlies dat alle zaden tegen het eind van de ontwikkeling vertonen. Dit werd experimenteel bevestigd: dopen van de jonge aren in een oplossing van ABA (10^{-4} mol.l^{-1}) gedurende 30 seconden op twee opeenvolgende dagen, leidde tot een vroeger begin van de dehydratatie en een vroeger stoppen van de drooggewichttoename (King, 1976) (fig. 6).

ABA voorkomt ook de vroegtijdige kieming van de zaden, in het bijzonder in die zaden waar het kiemrustmechanisme pas laat in de ontwikkeling ontstaat. In sojabonen was het kiemingsvermogen van jonge uitgeprepareerde embryo's, waarvan de cotylen werden verwijderd, direct gecorreleerd met het ABA-gehalte (Quebedeaux et al., 1976). De voortijdige kieming van katoenzaden wordt o.a. voorkomen doordat ABA de translatie verhindert van het mRNA van bepaalde enzymen, die bij de

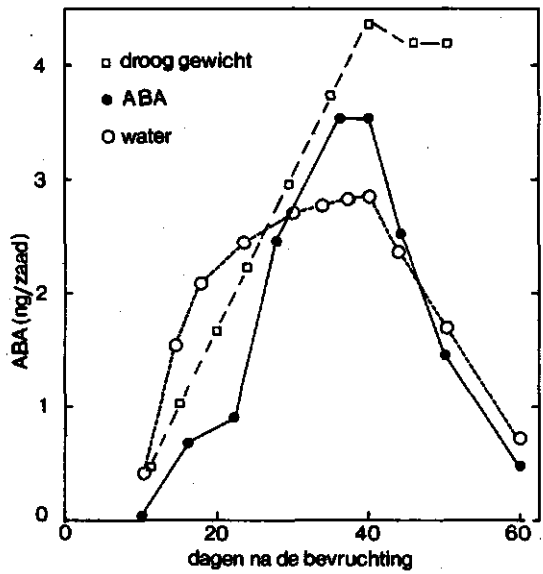


Fig. 6. Watergehalte, drooggewicht en ABA-gehalte van zich onder veldcondities ontwikkelende tarwezaden (cv WW15) (naar King, 1976).

kieming een rol spelen. De transcriptie van dit RNA vindt al tijdens de zaadontwikkeling plaats als voorbereiding op de kieming (Dure, 1977).

ABA heeft bij de ontwikkeling van zaden dus een functie bij de beëindiging van het groeiproces. Het werkt pas nadat de andere hormonen hun werking hebben uitgeoefend. We zullen straks zien of dat ook betekent dat ABA verantwoordelijk is voor de kiemrust.

Hormonen en knoprustbreking

Zoals reeds werd beschreven is voor de breking van de knoprust van overwinterende planten een per soort wisselende periode met lage temperatuur nodig. Het is overtuigend aangetoond dat tijdens deze koudeperiode het gehalte remstof in de knoppen (Tinklin & Schwabe, 1970; Phillips & Wareing, 1958) en het gehalte van ABA in knoppen (Düring & Bachman, (1975) en in het xyleemsap (Alvim et al., 1976; Davison & Young, 1974) zeer sterk afneemt. In berkenknoppen speelt hierbij glucosidering van het vrije ABA een rol (Harrison & Saunders, 1975). De afname van het ABA-

gehalte is gecorreleerd met een toenemend vermogen van de knoppen om uit te lopen onder voorjaarscondities. Opnieuw moet er echter op worden gewezen dat dergelijke correlaties nog geen bewijs zijn voor een rustregulerende functie van ABA. In bloemknoppen van de kers blijkt het ABA-gehalte behalve onder veldcondities in de winter en bij 2°C ook bij 22°C te dalen en zelfs met gelijke snelheid. De rust wordt in de laatst genoemde omstandigheid echter niet gebroken (Mielke & Dennis, 1978).

Gedurende de winter neemt het vermogen van exogeen GA en cytokininen toe om de knoprust te breken. Met biotoetsmethoden werd gevonden dat in die periode in de knoppen van de zwarte bes het gehalte aan stoffen met GA-activiteit toenam. Dit vond ook plaats wanneer de takken in januari werden afgesneden en verder bij 2°C verbleven (Wareing, 1969). Bevestiging van deze resultaten met moderne methoden ontbreekt nog.

Uit recent onderzoek blijkt echter duidelijk dat het te beperkt is om bij de knoprustbreking alleen naar de gebeurtenissen in de knoppen te kijken. De heractivering van de plant in het voorjaar begint nl. vooral in de wortels, die door de wat hogere bodemtemperaturen tegen het voorjaar enkele weken eerder actief worden dan de bovengrondse delen. Zo gauw de bodemtemperatuur boven het vriespunt is, beginnen de wortels weer te groeien. Een toename in versgewicht vinden we spoedig ook in de knoppen (Taylor & Dumbroff, 1975), waar eveneens een heractivering van de stofwisseling plaatsvindt, in het begin vooral ten koste van de aanwezige reservestoffen (Bachelard & Wightman, 1973). Deze inleidende processen doen een *sink*activiteit ontstaan. Na het dalen van het gehalte reservestoffen vindt namelijk vrij plotseling een sterke stijging van de import van stoffen in de knoppen plaats, die bovendien nog bevorderd wordt door het verder stijgen van de omgevingstemperatuur.

Met het water en de voedingsstoffen komen ook de bij de stijging van de temperatuur in de wortels weer gevormde gibberellinen en cytokininen naar de knoppen. Reeds enkele malen werd aangetoond dat het cytokininegehalte in het xyleemsap en in de knoppen enkele weken voor het uitlopen van de knoppen zeer sterk toeneemt (Hewett & Wareing, 1973; Dumbroff & Brown, 1976) (fig. 7). Ditzelfde werd geconstateerd voor gibberellinen (Lavender et al., 1973). Het uitlopen van de knoppen leidt tot een actieve groeifase, die weer gepaard gaat met de produktie van nieuwe hormonen, vooral auxinen. De door de uitlopende knoppen afgescheiden hormonen veroorzaken o.a. reactivering van het cambium. Indien de jonge knoppen worden verwijderd, hervatten houtige gewassen hun diktegroei niet.

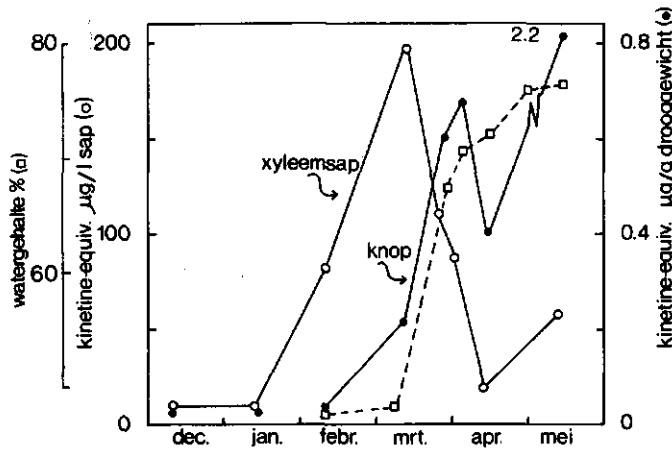


Fig. 7. Watergehalte van knoppen en cytokininegehalte van xyleemsap en knoppen van de populier (Populus *x* robusta) *verzameld onder natuurlijke condities gedurende winter en voorjaar. De knoppen begonnen uit te lopen in april (naar Hewett & Wareing, 1973).*

Bij veel soorten betreft het uitlopen van de knoppen na de winterrust alleen de apicale knoppen. De takken hervatten het groeipatroon op de plaats waar ze in het najaar waren gebleven. Het uitlopen van de zijknoppen wordt in die gevallen geremd door de aanwezigheid van de top van de stengel *(apicale dominantie),* zoals duidelijk blijkt bij het afsnijden van de actief groeiende top. Als de top vervangen wordt door een blokje agar met auxine blijft de dominantie gehandhaafd. In de winter gaan deze zijknoppen overigens op gelijke wijze als de eindknoppen in rust (Tinklin & Schwabe, 1970). In het voorjaar delen ze echter niet in de stroom van activerende stoffen uit de wortels. De eindknop verwerft zich, door zijn goede vatverbindingen, en wellicht door een lagere temperatuurdrempel, een voorsprong, die met name door de aldaar plaatsvindende synthese van auxine leidt tot een krachtige sink die de hormonenstroom uit de wortels en later ook uit de bladeren naar zich toe blijft trekken. Het belang van de hormonen uit de wortels bleek in een experiment waarbij de top én de wortels van erwtenplantjes werden verwijderd. Ondanks de afwezigheid van de top volgde geen uitlopen van de zijknoppen (fig. 8). Dit gebeurde wel indien er gibberellinen en vooral cytokininen werden toegediend via de afgesneden onderzijde (Chang & Goodin, 1974). Plan-

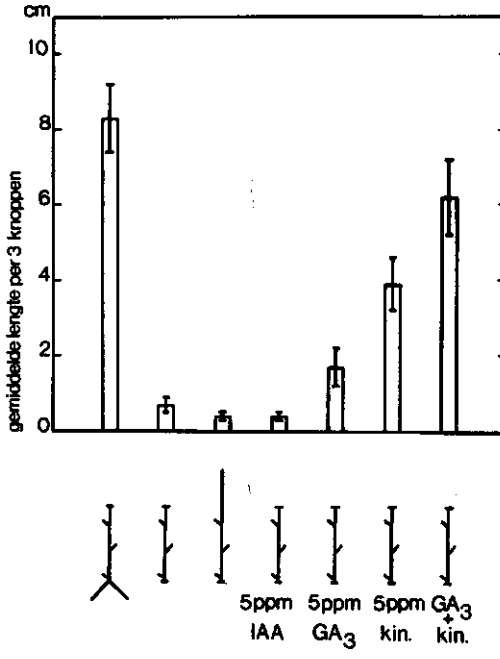


Fig. 8. De lengte van de zijknoppen van erwtekiemplanten (cv Alaska) onder invloed van (links naar rechts): verwijdering van de apex; van apex en wortels; van wortels; van apex en wortels met toediening van regulatoren aan het wortelmedium (kin. = kinitine). De lengten werden bepaald 8 dagen na begin van de behandeling (naar Chang & Goodin, 1974).

ten met apicale dominantie beschikken dus steeds over een aantal in een vorm van opgelegde rust verkerende zijknoppen. Bij beschadiging van de top kan de groei direct vanuit de zijknoppen worden voortgezet, een belangrijk overlevingsmechanisme.

Hormonen en zaadkieming

Het bestuderen van de hormonale regulatie van rustbreking en kieming in zaden is in aanleg minder gecompliceerd, doordat zaden zelfstandige eenheden zijn, los van de sapstroom van de moederplant. Hormonen spelen ongetwijfeld een belangrijke rol bij de regulatie van de kieming. De functie van endogene GA's bij de synthese van hydrolasen voor de mobilisering van het reservevoedsel in het endosperm van gerstzaden is daarvan

het best onderzocht. Een rol voor de hormonen bij de kiemrustbreking ligt ook voor de hand omdat met name toegevoegd GA alle soorten kiemingsbarrières kan verbreken: afhankelijkheid van licht, van wisseltemperaturen, en van bodemzouten als nitraat, maar ook een remming door een te geringe zuurstofdiffusie of een te harde zaadhuid.

Het onderzoek naar een mogelijke correlatie met endogene hormoongehalten heeft zich tot nu toe bijna geheel beperkt tot zaden die, evenals knoppen, voor het breken van de rust, een koudebehandeling nodig hebben, met een optimum bij 2 tot 4°C. In veel van deze koudebehoeftige zaden werd bij het begin van het imbibitieproces ABA aangetoond, dat in de loop van de vochtige bewaring in de kou verdween. De kieming vond echter vaak pas weken later plaats. Er verandert kennelijk nog meer tijdens lage-temperatuurbehandeling. Bij zaden van *Acer* (Webb et al., 1972) en appel (Lewak & Rudnicki, 1977) zijn er duidelijke aanwijzingen dat, na het dalen van het ABA-gehalte, tijdens de voortgezette koudestratificatie een stijging plaatsvindt van het GA_4-enhet cytokininegehalte(fig. 9). Tegen de tijd dat deze gehalten weer dalen is het volledige vermogen om bij hogere temperatuur te kiemen tot ontwikkeling gekomen. In zaden van de hazelaar *(Corylus)* vindt de GA-synthese niet tijdens de lage temperatuur plaats maar erna. De kou is echter wel vereist om dit syntheseproces mogelijk te maken.

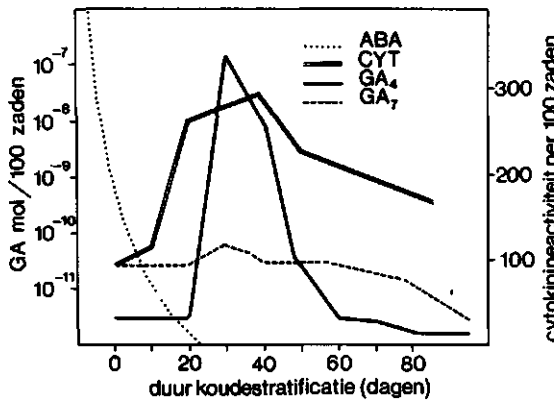


Fig. 9. Veranderingen in de hormoongehalten van appelzaden gedurende koudestratificatie. De ABA- en cytokininegehalten zijn uitgedrukt in relatieve eenheden (uit Lewak & Rudnicki, 1977).

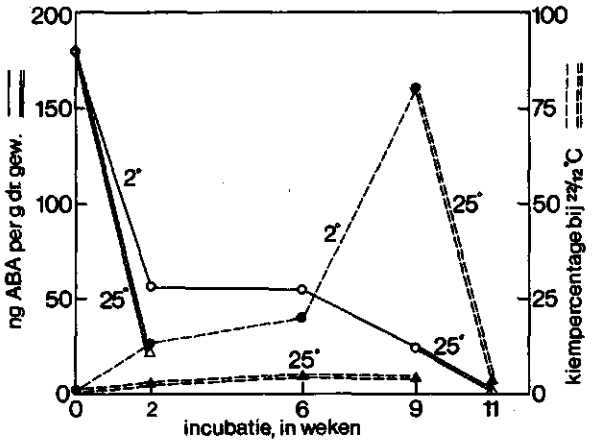


Fig. 10. Het verloop van het abscisinezuurgehalte en het vermogen om te kiemen van zaden van Polygonum persicaria *gedurende incubatie bij hoge en lage temperatuur in lemig zand op 10 cm diepte (Karssen, ongepubliceerd).*

Kortgeleden werd aangetoond dat in verschillende koudebehoeftige zaden het ABA-gehalte ook daalt bij hogere temperaturen, die echter niet kiemrustbrekend werken (Bonamy & Dennis, 1977) (fig. 10). De stijging van andere hormonen tijdens de koudestratificatie is dus kennenlijk een meer cruciale rustbrekende verandering. Het is nu de vraag of de aanwezigheid van ABA in deze zaden nog enige betekenis heeft voor het handhaven van de kiemrust. Waarschijnlijk heeft ABA zijn rol reeds tijdens de zaadontwikkeling gespeeld en kan daarom tijdens de imbibitie zonder meer verdwijnen. In overeenstemming met deze zienswijze is het gehalte aan ABA in rijpe zaden zelden zo hoog als in zich nog ontwikkelende zaden; het gehalte in rijp zaad kan als een restant worden beschouwd.

Wel remt exogeen toegevoegd ABA de kieming. Dit is meestal echter alleen een remming van groeiprocessen, d.w.z. van het laatste stadium van de kieming. Dit kon in de zaden van *Chenopodium album* worden aangetoond, doordat bij het kiemingsproces in die zaden de inductie van de groei gemakkelijk te onderscheiden is van het eigenlijke groeiproces (Karssen, 1976). Indien ABA na het opnemen van water toch op de een of andere wijze in de zaden aanwezig blijft, of wanneer er in de wand of het vruchtweefsel een grote buffervoorraad ABA voorhanden is, kan dit hor-

moon dus toch remmend werken op het begin van de groei.

Wanneer deze toestand van geremde groei te lang aanhoudt ontstaat *secundaire kiemrust*. Slazaden die 24 uur geïncubeerd werden in een ABA-oplossing kiemden na spoelen niet meer in water. Dit gebeurde ook niet wanneer na enkele dagen al het overgebleven ABA was omgezet in onwerkzame afbraakprodukten (Karssen, ter perse). Ook voor het handhaven van deze secundaire rust is de blijvende aanwezigheid van ABA dus niet vereist. Een dergelijke secundaire rust is overigens ook met verschillende andere stressfactoren die de groei belemmeren, op te wekken. Zaden van *Chenopodium bonus-henricus* en van *Polygonum persicaria*, die na het aanvankelijk verbreken van de primaire rust door een behandeling bij 25°C in secundaire rust waren gebracht, bevatten geen verhoogd ABA-gehalte (fig. 10).

Behalve de koudestratificatie kan ook belichting een stijging van het cytokininegehalte in zaden veroorzaken. In de lichtbehoeftige zaden van *Rumex obtusifolius* (van Staden et al., 1973) trad zeer snel een toename van zeatine op na een roodbelichting, ver-rood (nabij infra-rood) werkte deze toename tegen. Een dergelijk effect werd in zaden nog niet aangetoond voor gibberellinen.

Epiloog

Uit de in deze bijdrage vermelde onderzoeksresultaten mag worden geconcludeerd dat hormonen inderdaad kunnen functioneren als intermediairen tussen de wisselingen in uitwendige factoren en het genetisch bepaalde ontwikkelingspatroon. Aan een nauwkeurige invulling van de correlatieve verbanden ontbreekt echter nog veel. Dit wordt onder andere in de hand gewerkt doordat de onderzoekers met zeer veel verschillende objecten werken.

Onze conclusies over de rol van hormonen bij de activiteitswisselingen moeten ook voorlopig zijn, omdat bijna al onze kennis nog alleen berust op correlaties tussen wisselingen in gehalten en morfogenetische gebeurtenissen. We zullen er voor open moeten staan dat daar nonsenscorrelaties bij kunnen zijn. Niet alleen is er aan de gebruikte technieken nog veel te verbeteren, ook ontbreekt er nog zeer veel aan onze kennis omtrent het metabolisme van de hormonen. Met name bij de gibberellinen zijn de omzettingen van actieve in inactieve GA's en omgekeerd van groot belang. Met behulp van biotoetsmethoden zijn dergelijke overgangen echter nauwelijks op te sporen.

In het algemeen lijkt de tegengestelde werking van gibberellinen, cytokininen en IAA enerzijds, en ABA en wellicht andere remstoffen anderzijds, van essentiële betekenis bij de regulering van de verschillende activiteitswisselingen. Vele auteurs spreken in dit verband van een *hormoonbalans*. Deze term lijkt echter niet geheel adequaat. Er wordt teveel door gesuggereerd dat de verschillende hormonen op hetzelfde 'draaipunt' of, anders gezegd, op hetzelfde mechanisme ingrijpen. Niet alleen is er over het mechanisme van de hormoonwerking nog te weinig bekend, maar ook maken de boven beschreven gegevens over het breken van kiemrust en knoprust duidelijk dat er sprake is van een bepaalde *volgorde* in de hormoonwerking, een gefaseerde werking. Zo is ABA in zaden vooral betrokken bij de rustinductie. Dit rustpatroon is na de inductie kennelijk vastgelegd in bepaalde stofwisselingspatronen, waardoor voor de handhaving van de rust de remstof niet meer nodig is. GA en cytokininen zijn daarna verantwoordelijk voor de heractivering van de rustende weefsels. Ze antagoneren niet ABA, maar het dank zij ABA ontstane rustpatroon. Er zijn aanwijzingen dat in knoppen eenzelfde fasering optreedt.

Bloeiinductie, bloemontwikkeling en vruchtvorming

G. J. H. Bennink

Inleiding

Wanneer in het najaar de laatste groep herfstasters buiten in het warme licht en de vochtige atmosfeer in bloei staat, associëren we dit beeld bewust of onbewust met de naderende periode van afsterven, van rust voor de plantenwereld en met de aanbrekende periode van koude, kille winterdagen.

Wanneer die periode met vorst, regen, sneeuw, korte en sombere dagen op een eind gaat lopen en we soms al in januari en februari de eerste winteraconiet, toverhazelaar, krokus en sneeuwklokje zien, dan slaan we dit beeld met veel genoegen gade, omdat we weten dat op het juiste ogenblik bepaalde planten weer tot bloei komen.

Speciaal in het voorjaar en in de herfst valt het op dat zeer bepaalde planten tot bloei komen en deze planten associëren we daardoor dan ook met voorjaar en herfst, met hernieuwde groei en met het ingaan in een rustperiode.

In het volle groeiseizoen is er een immense rijkdom aan bloemen die, als we er op letten, steeds in dezelfde volgorde verschijnen. Dit geldt zowel voor de bloemen in de tuin als voor de planten in de vrije natuur. We weten dat ze komen en ook wanneer ze komen. Aan de hand van de bloei van al deze planten zou men een dienstregeling kunnen opstellen. Als men deze dienstregeling van het verschijnen van de bloemen, gekoppeld aan onze dag- en maandindeling, van jaar tot jaar zou vergelijken, zou men zien dat die dienstregeling, die tijd van verschijnen van de eerste bloem, van jaar tot jaar gelijk is en niet of nauwelijks wordt beïnvloed door de van jaar tot jaar vrij sterke wisselende weersomstandigheden. Op grond hiervan kunnen we ons afvragen, hoe komt het dat een bepaalde plant steeds weer op hetzelfde moment tot bloei komt, hoe 'weet' deze plant welke tijd van het jaar het is?

Het heeft vrij lang geduurd voordat de mens iets van de achtergronden

hiervan heeft begrepen. Niet dat de bloem en de bloeiende plant niet in de belangstelling stond. Die belangstelling is er al eeuwenlang geweest, getuige de kunstvoortbrengselen uit oudheid, middeleeuwen en latere perioden uit de geschiedenis van de mensheid. Beeldhouwwerken, schilderijen, boeken met illustraties in zwart-wit en later in de meest fraaie kleuren laten ons kennis maken met planten en bloemen. Niet alleen als voedsel, versiering of geneeskrachtig kruid, maar ook als symbool en als middel om onze sympathie, onze waardering, ons medeleven uit te drukken jegens anderen.

Oorspronkelijk was de studie van de bloem alleen descriptief en beperkte zich vooral tot de morfologie en de anatomie. Pas later interesseerde men zich voor de ontwikkeling als voortplantingsorgaan en voor de beïnvloeding en uitbreiding van de periode waarin een bloem beschikbaar is. Dit kon pas nadat in 1879 Edison de gloeilamp had uitgevonden en Bailey in 1893 als eerste experimenten uitvoerde waarbij hij de natuurlijke daglengte kon uitbreiden met gloeilamplicht, experimenten die in deze periode werden aangeduid met de term 'Electro Horticulture'.

Ontdekking van de fotoperiodiciteit

In de vorige eeuw en in het begin van de 20e eeuw hielden verschillende onderzoekers zoals Georg Klebs in Duitsland en Julien Tournois in Frankrijk zich bezig met bloei als fase in de ontwikkeling van de hogere plant. Zij bestudeerden vooral de rol van chemische factoren als oorzaken die leiden tot de bloei van planten. Tournois experimenteerde bovendien met planten gezaaid onder verschillende belichtingsomstandigheden en op verschillende tijdstippen in relatie met bloei. Waarschijnlijk heeft hij al enig vermoeden gehad over het effect van daglengte op bloei, doch in zijn artikelen vermeldt hij dit niet uitdrukkelijk. Eerst in 1920 toonden Garner en Allard in de V.S. aan dat de relatieve lengte van dag en nacht kon bepalen of bloei optrad of dat een plant vegetatief bleef. Beide onderzoekers werkten in de omgeving van Washington aan tabak. Ze beschikten over een nieuwe variëteit, Maryland Mammoth, die in het groeiseizoen volledig vegetatief bleef, in tegenstelling tot de andere tabaksplanten. Maryland Mammoth kwam pas tot bloei en tot zaadvorming in de kas tijdens de wintermaanden en het vroege voorjaar. Garner en Allard namen daarbij waar dat op een bepaald moment in het voorjaar uit de oude stronk zich zich plotseling jonge scheuten ontwikkelden, die geen bloei vertoonden en volledig vegetatief bleven. Zij konden dit niet verklaren; lichtintensiteit,

spectrale samenstelling van het licht en ook temperatuursinvloed konden ze uitsluiten op grond van voorgaande experimenten uitgevoerd met tabak en met sojaboon. De enig overblijvende oorzaak was dan een seizoensinvloed. Doch welke was dat?

Toen zij op zekere dag in juli 1918 samen lunchten en het verschijnsel voor de zoveelste maal bespraken, kwam het idee op tafel dat de relatieve lengte van dag en nacht een rol zou kunnen spelen. Het cruciale experiment werd binnen enkele minuten bedacht en om hun hypothese te testen werden drie zuiver vegetatieve planten van Maryland Mammoth geplaatst in een wat zij noemden "primitief hondehok van eigen vinding". Deze planten kregen 7 uur licht per dag. Een aantal vergelijkbare planten bleven buiten op het veld staan bij de volle daglengte van de zomer. Bovendien werd in het hok een kistje geplaatst waarin sojabonen gezaaid werden, terwijl een vergelijkbaar kistje met sojabonen buiten werd geplaatst.

De tabaksplanten in het hok met 7 uur licht per dag bloeiden prompt en de planten buiten bleven vegetatief. Ook de sojabonen vertoonden in 7 uur licht een duidelijke versnelde ontwikkeling in bloei ten opzichte van de planten buiten, die vegetatief bleven. De experimenten werden uiteraard herhaald en daarna verscheen hun eerste publikatie in 1920 in Journal of Agricultural Research. Het is een klassieke publikatie, niet alleen wat betreft de uitvoerige beschrijving van het experiment, maar ook vanwege de discussie die een breed gebied aansneed, zoals de verspreiding van planten, oogstopbrengst, gedrag van algen en gedrag van vogels ten opzichte van de daglengte. Zij waren het die de begrippen *fotoperiode* en *fotoperiodiciteit* introduceerden.

Na hun onderzoek met tabak en sojaboon onderzochten Garner en Allard de reacties van een groot aantal gewassen en tuinplanten op lichtperioden van verschillende lengte. Daarbij bleek niet alleen de bloei onder invloed te staan van de relatieve daglengte, maar ook de vorming van bollen en knollen, de synthese van kleurstoffen, de bladval en nog diverse andere aspecten van de groei en ontwikkeling van planten. Op grond van hun experimenten werden de planten verdeeld in korte-dag planten, langedag planten en dag-neutrale planten. Doch deze indeling bleek niet voldoende te zijn. Er bleken ook nog intermediaire planten te zijn: planten die bloeien bij een daglengte van 12 tot 14 uur en die niet bloeien bij een daglengte korter dan 12 uur of langer dan 14 uur. Als tegenhanger vond men ook zogenaamde ambi-fotoperiodische planten die bloeien bij een daglengte van minder dan 12 uur en ook bij meer dan 14 uur. Tenslotte vond men ook lange-korte-dag planten: planten die om tot bloei te komen

een aantal lange dagen nodig hebben gevolgd door een aantal korte dagen, zoals dit plaatsvindt in de nazomer en het begin van de herfst. Daarnaast werden aangetroffen korte-lange-dag planten: planten die bloeien na een aantal korte dagen gevolgd door een aantal lange dagen, zoals in het voorjaar plaatsvindt. In overzicht:

korte-dag planten	KDP
lange-dag planten	LDP
dag-neutrale planten	DNP
intermediaire planten	IP
ambi-fotoperiodische planten	AFP
lange-korte-dag planten	LKDP
korte-lange-dag planten	KLDP

Uitvoerige lijsten van planten behorend tot de verschillende groepen vindt men in reviews en handboeken: Biale (1978), Evans (1969), Hillman (1961), Murneek & White (1948), Salisbury (1963), Salisbury & Ross (1978), Vince-Prue (1975), Zeevaart (1976). Bovendien wordt voor elke plant de *kritische* daglengte aangegeven, d.w.z. de duur van de lichtperiode per 24 uur die de verschillende typen nodig hebben om tot bloei te komen.

Naast de indeling in de diverse groepen moeten we bedenken dat de kritische daglengte afhankelijk is van andere omstandigheden zoals leeftijd van de plant, voedingstoestand, temperatuur en lichtintensiteit.

Aanvankelijk lette men alleen op de duur van de lichtperiode. Uit experimenten van Bonner en Hamner in 1938 bleek echter dat ook de donkerperiode zeer belangrijk is, zowel voor KD-planten als voor LD-planten. Zij voerden experimenten uit waarbij de donkerperiode enkele minuten werd onderbroken door een belichting met vrij zwak wit licht. Door deze onderbreking in het midden van de donkerperiode werd bij KD-planten de bloei volledig geremd en bij LD-planten de bloei bevorderd (fig. 1).

Later onderzoek heeft aangetoond dat het nachtonderbrekingsverschijnsel, dat bloei bij KD-planten volledig remt, onder invloed staat van het fytochroomsysteem. Het bleek nl. dat het remmend effect van vooral rood licht weer ongedaan gemaakt kan worden door een aansluitende bestraling met ver-rood.

In de dertiger jaren werd o.a. door Chaylakhyan in Rusland vastgesteld dat de bladeren van de plant de organen zijn die de lengte van dag en nacht kunnen meten. Daartoe moet een blad een zekere rijpheid bezitten, mogelijk een zeker fytochroomniveau hebben bereikt. Bij de meeste plantesoorten bleek het volledig ontwikkelde jonge blad het gevoeligst te

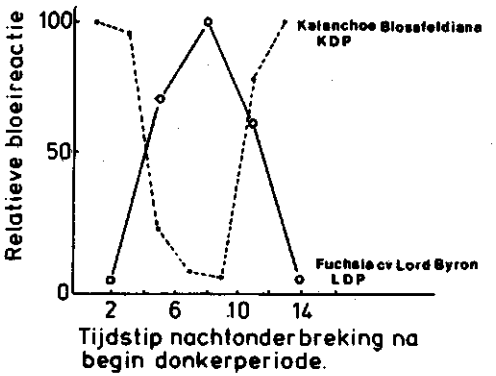


Fig. 1. Het effect van de nachtonderbreking bij een KDP en bij een LDP op de bloeireactie (naar Vince-Prue, 1975).

zijn voor inductie. In sommige soorten echter zijn het half volgroeide blad, heel jonge blaadjes en zelfs cotylen al gevoelig voor de lichtperiode. Bovendien bleek dat niet alleen het blad een zekere rijpheid moest bezitten, doch eveneens het topmeristeem van de plant, dat immers de bloem produceert.

Vernalisatie

Het is echter ook bekend dat niet alleen de daglengte verantwoordelijk is voor bloei en bloeiinductie. Graangewasen reageren sterk op de lage temperatuur gedurende de winterperiode. Men kent bijv. wintertarwe en zomertarwe alsmede winterrogge en zomerrogge. Wintertarwe en winterrogge komen alleen tot bloei als ze gezaaid worden in de herfst en dus een koudeperiode ondergaan. Wanneer deze winterannuellen (winteréénjarigen) gezaaid worden in het voorjaar komen ze in hetzelfde groeiseizoen niet tot bloei en gedragen ze zich als tweejarige planten. Een dergelijke koudebehandeling die resulteert in bloei duidt men aan als vernalisatie of thermoïnductie. Ook voor de bloei van in de herfst gevormde scheuten van (overjarige) grassen en voor tweejarige planten als gele toorts *(Verbascum)* en vingerhoedskruid *(Digitalis)* is een soortgelijke koudeperiode vereist.

Uit onderzoek is gebleken dat vernalisatie en fotoperiodisme nauw met elkaar verbonden zijn, doch dat de relatie tussen beide fenomenen zeer

complex is. Zo zijn er gevallen bekend waarbij vernalisatie in de plaats kan treden van een bepaalde daglengtebehandeling, maar er zijn eveneens planten waarbij zowel vernalisatie als daglengte behandeling nodig zijn om bloei te realiseren.

Hormonale inductie van bloei

In 1937 ondernam Chaylakhyan experimenten o.a. met de KD-plant *Chrysanthemum,* waarbij hij de bladeren omsloot met zwart papier en deze zo onder KD-condities bracht, terwijl de rest van de plant onder LD-omstandigheden bleef. Ook omgekeerde experimenten met bladeren onder LD-condities en de rest van de plant onder inductieve omstandigheden brachten hem tot de overtuiging dat het blad onder inductieve omstandigheden een stimulus produceerde die naar het topmeristeem werd vervoerd via de sapstroom (fig. 2). Bovendien toonde Chaylakhyan met entingsexperimenten, waarbij een geïnduceerde plant geënt werd op een niet-geïnduceerde plant, aan dat de stimulans van de geïnduceerde plant naar de niet-geïnduceerde plant werd getransporteerd en daar het meristeem tot bloemproduktie bracht. Deze hypothetische stimulus of bloeihormoon werd door Chaylakhyan 'florigeen' genoemd. Door verschillende onderzoekers, o.a. Melchers, Lang en Zeevaart, werden entingsexperimenten uitgevoerd waarbij diverse planten als onderstam en als ent

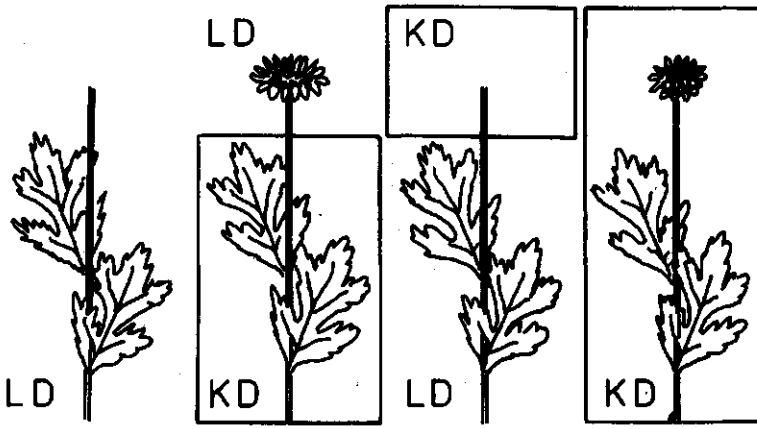


Fig. 2. Schema van Chaylakhyans experiment met chrysant om het transport van een bloeistimulus van het blad naar de top aan te tonen.

functioneerden. Hierbij werden zeer markante resultaten geboekt, die de theorie van Chaylakhyan ondersteunen, nl. dat een bloeihormoon, florigeen, van de bladeren naar het meristeem wordt gevoerd, en daar de celdifferentiatie zodanig wijzigt dat de plant van vegetatieve groei overgaat naar generatieve ontwikkeling.

De mogelijkheid is niet uitgesloten dat niet één enkel bloeihormoon wordt geproduceerd doch dat er meer positief werkende verbindingen bestaan. Andere onderzoekers menen dat we niet alleen te maken hebben met bloeistimulerende hormonen, doch dat er ook bloeiremmende verbindingen bestaan. Deze bloeiremmende stoffen zouden het vegetatieve stadium van de plant handhaven. Experimenten waarin extracten van geïnduceerde en van niet-geïnduceerde planten, bladeren of stengeldelen werden onderzocht op bloeistimulerende of bloeiremmende reacties in proefplanten, hebben tot dusverre weinig succes opgeleverd en tot nu toe is nog niemand erin geslaagd een florigeen of een bloeiremstof te isoleren en te identificeren.

We kunnen ons afvragen of hiervoor een oorzaak is aan te wijzen. Zo zouden we ons kunnen voorstellen dat de hoeveelheid florigeen zeer klein is en dat de plant deze zeer kleine hoeveelheid naar slechts enkele cellen in de apex dirigeert. In de apex zullen nl. slechts enkele cellen differentiëren tot een volledige bloem. Door de zeer geringe concentratie zou bij extractie florigeen een speld in de hooiberg zijn en bovendien door gebrek aan een zeer gevoelige biologische toets niet aangetoond kunnen worden. Verder zou florigeen een instabiele stof kunnen zijn en zou in verband hiermee de extractiemethode niet de juiste kunnen zijn.

Ook zouden we ons kunnen voorstellen, zoals in 1939 door Cholodny werd gepostuleerd, dat reeds bekende plantehormonen, in dit geval de auxinen, verantwoordelijk zijn voor de inductie van de generatieve fase in de plant. Op grond van dit idee werden vele experimenten gestart waarbij auxinen en later ook andere plantehormonen werden toegediend aan niet-geïnduceerde planten in de vorm van druppels of pasta op de apex, via injecties in stengels of bladeren en via andere opnamemethoden. Als belangrijk en hoopgevend resultaat werd gevonden dat een bespuiting met het auxine naftaleenazijnzuur (NAA) ananasplanten tot bloei induceert. Dit maakt een regulatie, en daarmee spreiding van de bloei over het hele jaar, mogelijk, zodat de verwerkende industrie in plaats van in één piek de oogst gelijkmatig kan verwerken.

Gibberellinen bleken effectief te zijn in het tot bloei brengen van rozetplanten. Deze planten behoeven hetzij vernalisatie, hetzij lange dag voor

bloeiinductie; gibberelline is in staat deze milieucondities te vervangen. Op grond van deze GA-effecten is Chaylakhyan van mening dat het bloeihormoon wordt gevormd uit de gecombineerde werking van gibberellinen en een hypothetische verbinding, anthesine. Voor deze hypothese is echter geen bewijs voorhanden.

Ook het toedienen van andere planteregulatoren bleek duidelijke effecten te hebben op bloeiinductie en bloemontwikkeling. Bij een chrysant, die voor volledige bloemontwikkeling 24 KD-cycli nodig heeft, konden de laatste 6 KD-cycli worden vervangen door de planten onder LD-omstandigheden injecties te geven met het synthetische cytokinine benzyladenine (Bennink, 1974). Soortgelijke effecten werden bereikt bij Lemna, waar eveneens het laatste deel van de KD-cycli door benzyladenine kon worden vervangen (Bennink, 1975). Deze experimenten duiden er op dat de laatste fase van bloemontwikkeling bij deze planten onder natuurlijke omstandigheden onder controle van cytokinine zou kunnen staan.

Ten behoeve van land- en tuinbouw is een grote hoeveelheid praktische kennis over het gebruik van regulatoren beschikbaar gekomen door dit soort onderzoek, doch tot dusverre moeten we constateren dat geen van de bekende plantehormonen kan worden aangeduid als *het* bloeihormoon, ondanks de zeer vele waarnemingen over stimulering en remming van bloei en bloeiinductie. Deze informatie, waarbij door het toedienen van planteregulatoren de endogene hormoonconcentraties gewijzigd werden, bracht verschillende onderzoekers tot de mening dat bloeiinductie en bloemontwikkeling het gevolg zijn van een zeer specifiek patroon van de verschillende plantehormonen. Dit hormoonpatroon zou tijdens de ontwikkeling zodanig gewijzigd kunnen worden dat een inductie en harmonische ontwikkeling van de bloem plaatsvindt. Ook zou men kunnen denken aan het na elkaar optreden van verschillende endogene plantehormonen tijdens de bloemvorming. Om dit te kunnen nagaan dienen we over zeer nauwkeurige methoden te beschikken om de concentraties van de verschillende endogene hormonen in een klein aantal cellen te kunnen vaststellen. Misschien dat nieuwe technieken hier uitkomst kunnen bieden. Wanneer we het voorgaande overzien moeten we concluderen dat, ondanks het beschikbaar zijn van veel informatie, een groot aantal vragen betreffende bloeiinductie nog steeds geheel open staan en op een gedetailleerd antwoord wachten, zoals: Bestaat er een speciaal bloeihormoon? Wat gebeurt er bij de inductie in de cellen van de apex? Hoe is de plant in staat de daglengte te meten? Hoe wordt het resultaat van deze meting vertaald?

Wanneer we de literatuur van de laatste 20 jaar doornemen, krijgt men het gevoel in een doodlopende straat te zijn beland, dat er in deze periode geen echte doorbraken zijn gemaakt, dat het onderzoek op het gebied van fotoperiodiciteit minder attractief geworden is en weinig perspectief biedt. Zelfs vergeleken met 1948, toen een symposium over 'Vernalisation and Photoperiodism' werd gepubliceerd moeten we constateren dat weinig voortgang gemaakt is, met uitzondering van het fytochroomonderzoek in relatie met fotoperiodiciteit. Daarbij moeten we helaas constateren dat het fytochroomonderzoek momenteel ook de indruk wekt tot een zekere stilstand te zijn gekomen en samen met het onderzoek naar fotoperiodiciteit vraagt om een spoedige doorbraak, een nieuwe aanpak om de fascinerende problemen weer in de algemene belangstelling te plaatsen.

Bloem- en vruchtontwikkeling

Onderzoek dat aansluit op dat van de bloeiinductie en waaraan verhoudingsgewijs minder aandacht is besteed, is het gebied van bloem- en vruchtontwikkeling. In de dertiger jaren zijn de auxinen, zowel natuurlijke als synthetische, bekend geworden. Het is begrijpelijk dat men in kringen van land- en tuinbouw aandacht besteedde aan de mogelijkheid deze stoffen te gebruiken voor vergroting van de oogst en voor methoden om efficiënter en economischer te kunnen produceren. In 1940 werd gevonden dat een behandeling met NAA de late val verhinderde, d.w.z. het afvallen van bijna rijpe appels. Naast auxinen worden ook gibberellinen toegepast. Deze verbindingen stimuleren bevruchting, vruchtzetting en het optreden van pathenocarpe vruchten. Ook door toepassing van cytokininen, ethyleen en vooral groeivertragers, zoals chloormequat en daminozide, kan de ontwikkeling bij appels, peren, tomaten, druiven, aardbeien, bessen, kersen en vijgen sterk bevorderd worden. Zo veroorzaakt een bespuiting met gibberellinen bij bepaalde druiverassen verlenging van de steeltjes en vergroting van de afzonderlijke druiven, waardoor een grotere en losser gevormde tros ontstaat die minder snel aangetast wordt door bepaalde schimmels, omdat de ruimte tussen de druiven beduidend groter is en een betere ventilatie toestaat.

De behandelingen zijn steeds zeer specifiek voor de verschillende gewassen voor wat betreft ras, tijdstip van behandeling en concentratie van de gebruikte verbindingen. Spectaculaire toename in produktie en kwaliteit van de vruchten kunnen het gevolg zijn van de behandeling.

Daarnaast wordt gebruik gemaakt van regulatoren bij vruchtdunning en bloemdunning in vruchtbomen, wordt de abscissie van kersen gestimuleerd in verband met mechanisch oogsten en wordt Ethephon (zie p. 102) gebruikt voor fruitrijping en het verkrijgen van een mooie kleur op de vruchten. In de bloemisterij worden groeivertragers toegepast om bij potchrysanten en andere sierplanten mooie gedrongen planten met veel bloemen te verkrijgen. In het algemeen kunnen we zeggen dat het gebruik van een groot aantal natuurlijke en synthetische regulatoren geleidelijk toeneemt, waarbij gebleken is dat vaardigheid en vakkennis van gebruiker, fruitteler en tuinder uiterst belangrijk zijn.

De kennis van de toepassing van deze verbindingen is voornamelijk verkregen langs empirische weg. Het is echter voor beter begrip noodzakelijk onderzoek te verrichten over de effecten van deze verbindingen op de vorming, het transport en de omzetting van de endogene hormonen, alsook op andere stofwisselingsprocessen die een rol spelen bij groei en ontwikkeling.

Veel van deze processen is bekend geworden, vooral wat betreft de biochemische reacties, doch onderzoek naar de onderlinge relatie, integratie, coördinatie en regulatie ervan in de volledige plant is niet of nauwelijks verricht. In de plantenfysiologie is de laatste jaren een tendens te bespeuren zich niet uitsluitend bezig te houden met specifieke processen: men gaat zich meer en meer afvragen hoe de verschillende processen met elkaar in verband staan. Duidelijk komt dit tot uiting in het symposium van de Society for Experimental Biology: Integration of Activity in the Higher Plant (Jennings, 1977). Mogelijk dat de kennis van bloeiinductie, bloem- en vruchtontwikkelingsprocessen, ingepast in de kennis van het totaal van alle andere levensprocessen die in de plant verlopen, informatie kan geven en ons duidelijk kan maken wat zich in de plant als geheel afspeelt en via welke experimentele benadering de plantenfysioloog kan trachten een tipje van de sluier op te lichten. Voorlopig geldt in dit verband de haikoe van Riota:

Geen van hen sprak een woord,
de gastheer, de gast
noch de witte chrysant.

2). De plasmalemma, de memoraan die het plasma omgeeft, blijft nog lange tijd ogenschijnlijk intact.

De hormonale regulatie van de veroudering

Biochemische aspecten van de veroudering

Bij toenemende leeftijd neemt het eiwitgehalte van het blad af. Deze daling zet eerder in dan de afname van het chlorofylgehalte (fig. 1). Voorafgaande aan de daling in het eiwitgehalte constateren we reeds een daling in het gehalte aan nucleïnezuren. Het betreft hier uitsluitend het ribonucleïnezuur (RNA); het desoxyribonucleïnezuur (DNA) neemt tijdens de veroudering niet of nauwelijks af. Teneinde het verouderingsproces verder te kunnen analyseren, dient allereerst aandacht gegeven te worden aan het voorkomen van nucleïnezuren en eiwitten in de chloroplast.

In de chloroplast treffen we DNA aan. Dit DNA kan functioneren als een matrijs voor een membraangebonden RNA-polymerase, welke in de chloroplast aanwezig is. Het gehalte aan ribosomaal RNA in de chloroplast wordt bepaald door de activiteit van het chloroplast-DNA. In de chlororoplast komen ribosomen voor die behoren tot het 70 S-type. Binnen in dit organel is dus een eiwitsynthese mogelijk op deze 70 S-ribosomen (een algemeen schema voor de eiwitsynthese wordt in fig. 2 gegeven). Eiwitsyn-

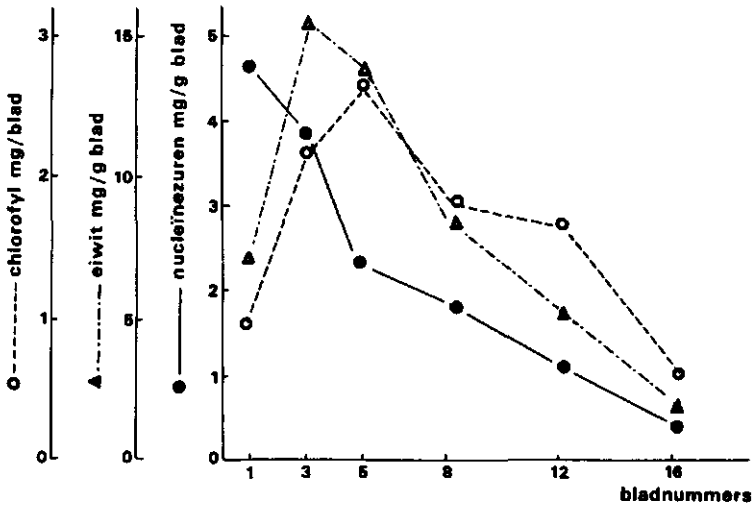


Fig. 1. Daling van het chlorofyl-, eiwit- en nucleïnezuurgehalte in tabaksbladeren van toenemende ouderdom. Het jongste blad wordt aangeduid met no. 1 en heeft een lengte van ca. 4 cm. De leeftijd van de planten bedraagt drie maanden (Van Loon, niet gepubliceerd).

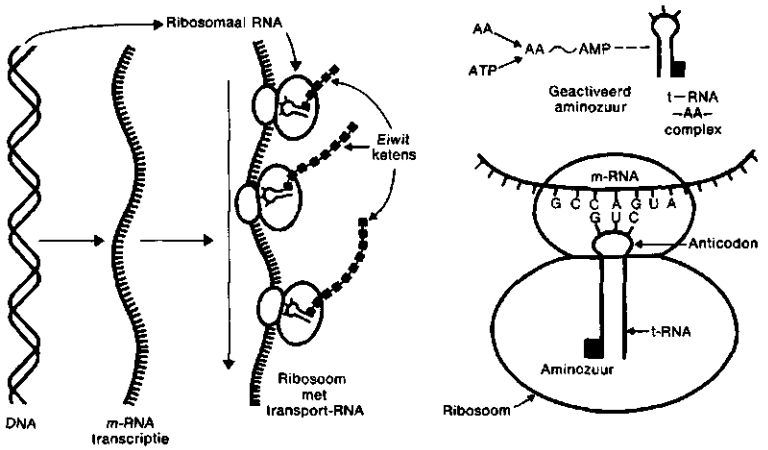


Fig. 2. Schema van de eiwitsynthese. De code aanwezig in de DNA-dubbelspiraal wordt vertaald in de code van het boodschapper-RNA (mRNA). Dit proces wordt transcriptie genoemd. Het mRNA wordt dan verder afgelezen op de ribosomen, waar de eiwitsynthese plaatsvindt (het translatieproces) (Bosch, 1970; Veen, 1977). (Overgenomen uit Natuur en Techniek 45(11), 1977, Maastricht.)

these in het cytoplasma vindt plaats op de zwaardere 80 S-ribosomen (de mitochondriën worden hier buiten beschouwing gelaten). Het voorkomen van nucleïnezuren en van ribosomen in de chloroplast duidt er op dat dit organel in zekere mate in staat is tot synthese van eiwitten. Daar echter het cytoplasma onontbeerlijk is voor synthese van bepaalde chloroplasteiwitten, spreken we van een semi-autonoom organel.

Het grootste deel van het oplosbaar eiwit in bladextracten behoort tot een fractie die kan worden gekarakteriseerd door een hoog moleculair gewicht (tussen $4{,}7 \times 10^5$ en $6{,}6 \times 10^5$ dalton; 1 dalton = $1{,}66 \times 10^{-27}$ kg). Omdat dit eiwit als eerste fractie bij gelfiltratie wordt geïsoleerd, wordt het fractie 1-eiwit genoemd. Dit eiwit is enzymatisch actief en is verantwoordelijk voor de koolzuurfixatie in de donkerreactie van de fotosynthese.

Het gebruik van remstoffen die specifiek de eiwitsynthese remmen, heeft veel inzicht gegeven in de vraag wáár nu de eiwitsynthese plaatsvindt: op de cytoplast- dan wel op de chloroplastribosomen. Chlooramfenicol remt de synthese op 70 S-ribosomen, cycloheximide blokkeert de synthese op het 80 S-type. Experimenten met dit type remstoffen hebben bijgedragen tot het volgende beeld: het fractie 1-eiwit bestaat uit twee

componenten, een groot en een klein; het grote deel wordt afgelezen op chloroplastribosomen, die worden gecodeerd vanuit het chloroplast-DNA; het kleine deel van het fractie 1-eiwit wordt gecodeerd vanuit het kern-DNA en gesynthetiseerd op de cytoplasmatische ribosomen (fig. 3).

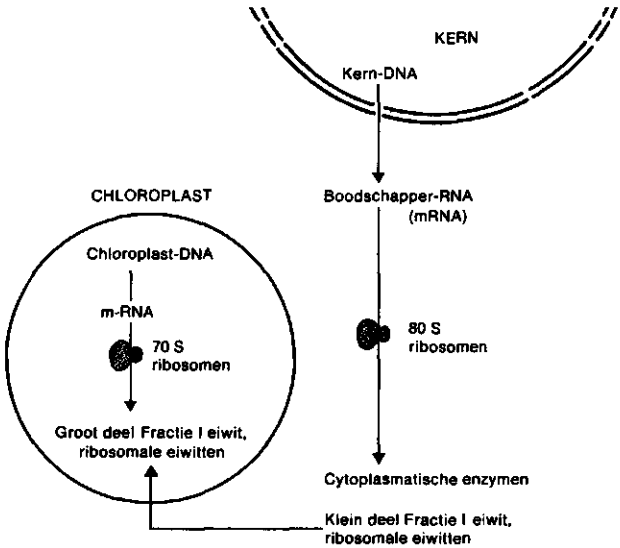
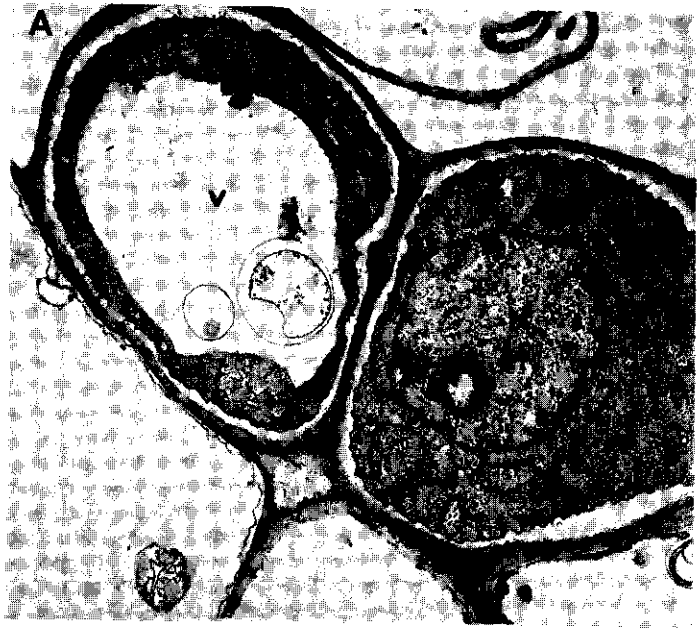
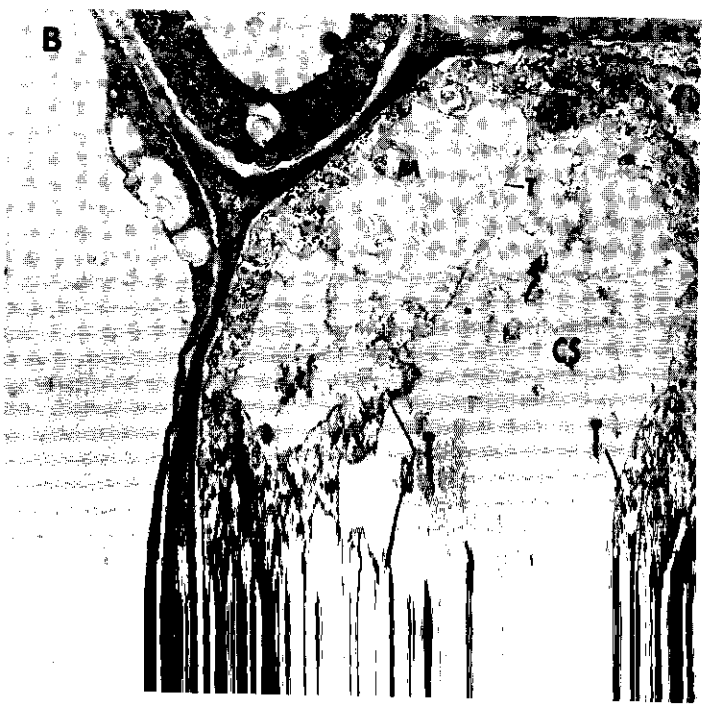


Fig. 3. In het cytoplasma vindt eiwitsynthese plaats op 80 S-ribosomen. Naast de aanmaak van cytoplasmatische eiwitten wordt ook de kleinere eenheid van het fractie 1-eiwit op deze ribosomen aangemaakt. Transport van dit eiwit door de chloroplastmembraan heen is dus noodzakelijk. In de chloroplast wordt de andere, grote eenheid van het fractie 1-eiwit aangemaakt op 70 S-ribosomen. Het gehalte aan deze laatste groep van ribosomen wordt bepaald door de activiteit van het chloroplast-DNA (Veen, 1977). (Overgenomen uit Natuur en Techniek 45(11), 1977, Maastricht.)

Foto 1. Verschillende stadia in de veroudering van de chloroplast in tarwebladeren. a. *Intacte chloroplast. De granathylakoïden zijn dicht opeengepakt. Grana-en stromathylakoïden zijn georiënteerd in de lengterichting van de chloroplast.* b. *Verouderde chloroplast. Er treedt zwelling op en de dichte opeenpakking gaat verloren. De granathylakoïden oriënteren zich in de dwarsrichting, terwijl de stroma thylakoïden een golfachtige structuur vertonen (op de foto aangegeven met een pijl).* c. *Sterk verouderde chloroplast. De membranen verliezen hun onderlinge samenhang en vertonen een vacuoleachtige structuur* (V). *In de chloroplast zijn een aantal zeer kleine osmiofiele plastoglobuli zichtbaar (aangegeven met pijl). Vergrotingen: foto* a *43.000* ×; *foto* b *54.000* ×; *foto* c *20.000* × *(Haber et al., 1969).*

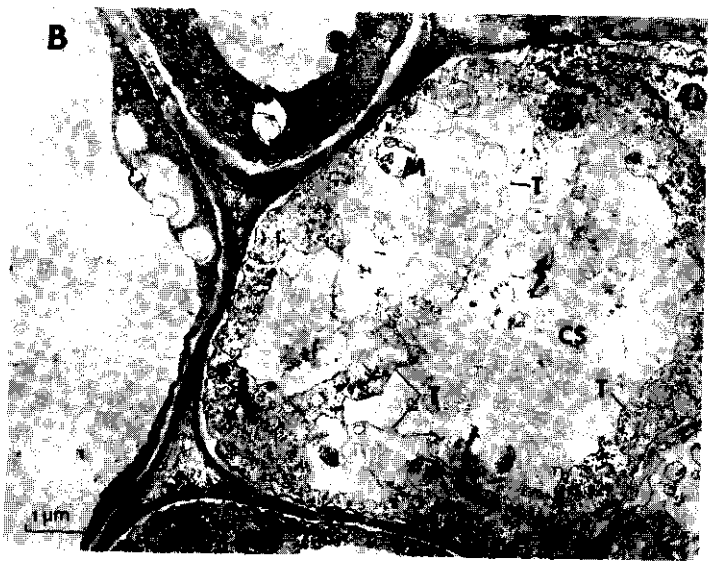
a


A
V


B
T
CS

a

A
V


B
T
CS
T
T
1 µm

De waargenomen afname in de fotosynthesecapaciteit tijdens het ouder worden van het blad verloopt parallel met een daling in het gehalte aan fractie 1-eiwit. De eiwitten met een lager moleculair gewicht (fractie 2) blijven in de beginfase van de veroudering langer op niveau. De afname van het fractie 1-eiwit wordt veroorzaakt door het wegvallen van de synthesecapaciteit, gevolgd door een afbraak. Daar de aanmaak van chloroplastribosomen in de ontwikkeling van het blad veel eerder stopt dan de aanmaak van cytoplasmatische ribosomen (Woolhouse, 1974), zal het gehalte van de eerstgenoemde groep tijdens de veroudering sterk afnemen. Dit leidt er toe dat het grootste deel van het fractie 1-eiwit (dat immers wordt afgelezen op chloroplastribosomen) niet kan worden gesynthetiseerd en door verdergaande proteaseactiviteit in gehalte sterk afneemt.

De oorzaak van het verminderd gehalte aan ribosomaal RNA in de chloroplast lijkt te liggen in een verhoogde activiteit van ribonuclease (RNase). Echter kan het verminderd gehalte aan ribosomaal RNA ook veroorzaakt worden door een toenemende gevoeligheid van het RNA voor het RNase. Ook is het mogelijk dat RNA-polymerase in de chloroplast niet meer voldoende snel nieuw ribosomaal RNA kan aanmaken. Indien dit enzym loskomt van de membranen, mag verwacht worden dat het zijn werking verliest. De vermindering van de fotosynthesecapaciteit van de chloroplast lijkt dus te herleiden op veranderingen in de RNA's van de chloroplast. Het is mogelijk dat hormonen op deze processen een regulerende werking uitoefenen. Hierop wordt later ingegaan.

Hormonale aspecten van de veroudering

Veroudering bij de hogere plant is – na een bepaald stadium – een irreversibel aflopend proces (bijv. bij de rijping van vruchten); soms echter kan men door bepaalde ingrepen de veroudering langzamer laten verlopen

*Foto 2. Veroudering in de bloemblaadjes van de dagbloem (*Ipomoea purpurea *L.). In de nog niet verouderde cel (foto* A*) treffen we een grote vacuole (*V*) aan, die door een membraan (de tonoplast) omgeven wordt. In het wandstandig cytoplasma onderscheiden we de kern (*N*), mitochondriën (*M*) en het endoplasmatisch reticulum (*ER*). Tijdens de veroudering degenereert de tonoplast, waardoor er menging optreedt van het celsap en het cytoplasma (foto* B*).* T *= restanten van de tonoplast,* CS *= celsap. Merk op dat de plasmalemma op deze foto nog geheel intact lijkt, terwijl de mitochondriën reeds sterk zijn gedegenereerd (Matile & Winkenbach, 1971).*

of geheel terugdringen. Dit laatste is met name het geval indien we letten op de bladveroudering en dit bezien als een correlatieverschijnsel. In de gehele plant wordt geconcurreerd om de aanwezige organische en anorganische voedingsstoffen. Jonge groeiende bladeren oefenen een sterke zuigkracht uit (sink), waarbij de volgroeide bladeren als bron (source) kunnen functioneren voor de assimilatorische bouwstenen en de wortels water, mineralen en hormonen toevoeren. Indien we bij planten waarvan de onderste bladeren reeds vergelen, de jonge groeiende stengeltop verwijderen, kunnen deze onderste bladeren weer groen worden, waarbij ook het eiwit- en nucleïnezuurgehalte zich volledig herstellen. Dit wijst er dus op dat het verouderingsproces in het blad in zekere mate reversibel is; hierin lijkt de bladveroudering dus wezenlijk te verschillen van veroudering bij dieren.

Het is hier de plaats enige aandacht te schenken aan de dierlijke veroudering. Behalve mechanische slijtage van niet te vervangen lichaamsonderdelen zijn structuurveranderingen in het been en in het collageen (fibrillaire proteïnen) mogelijke oorzaken van de veroudering bij dieren. Ook puntmutaties in het DNA, chromosoommutaties, fouten bij de translatie en geleidelijke ophoping van toxische stofwisselingsprodukten kunnen het leven van het organisme verkorten. Ten slotte is het denkbaar dat in de informatie opgesloten in het DNA ook die informatie aanwezig is die noodzakelijk is voor het optreden van de verouderingsprocessen bij planten en dieren. In deze laatste gedachtengang is het verouderingsproces een onlosmakelijk deel van de ontogenie, welke als de tijd daar rijp voor is, wordt ingezet door een derepressie van het daarvoor noodzakelijke kernmateriaal. Deze genetische programmering van de veroudering is echter evenzeer van toepassing op andere hypothesen over de veroudering, zoals Lever (1973) terecht stelt.

Zoals andere correlatieverschijnselen wordt ook de plantaardige veroudering hormonaal gereguleerd. De vijf verschillende groepen hormonen: auxinen, gibberellinen, cytokininen, abscisinezuur en ethyleen, zijn alle op een of andere wijze betrokken bij het verouderingsproces. Brengt men een druppel van een cytokinine, bijv. de synthetische regulator kinetine, op een afgesneden haverblad, dan vergeelt het blad op de plaats waar kinetine wordt toegediend niet. Met behulp van experimenten met radioactieve stoffen is aangetoond dat cytokininen plaatselijk een sink creëren, met als gevolg dat naar deze plaats van toediening allerlei bouwstenen worden getransportéerd (fig. 4). Ook auxinen kunnen de vergeling remmen, bijv. bij *Prunus* en *Rhoeo*. In die gevallen waarbij auxinen de verou-

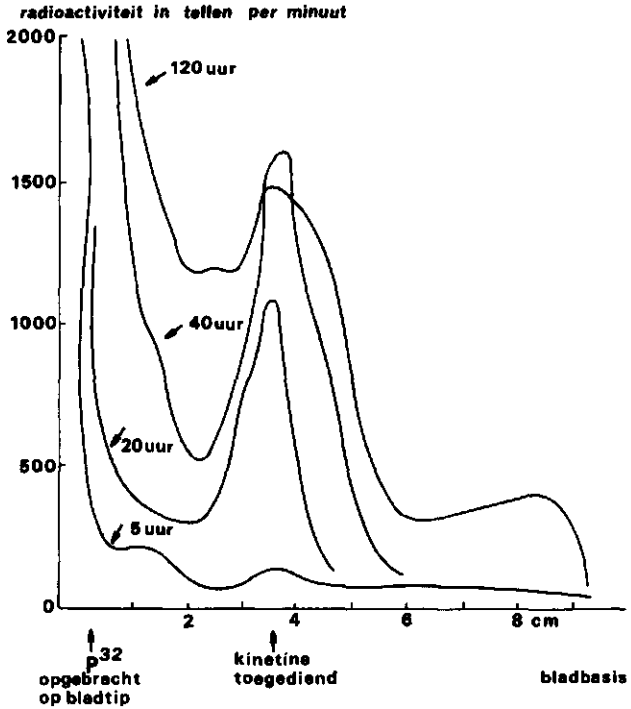


Fig. 4. Aan een afgesneden maisblaadje wordt plaatselijk een druppeltje kinetine toegediend. Tevoren is op de bladtop radioactief fosfaat opgebracht. Reeds na vijf uur kan een accumulatie van radioactief materiaal in het met kinetine behandelde bladgedeelte aangetoond worden (Leopold, 1964).

dering stimuleren, wordt dit veroorzaakt door het vrijkomen van endogeen ethyleen. Dit gasvormig hormoon heeft een grote versnellende invloed op het verouderingsproces en is, zoals later zal blijken, uiterst belangrijk bij de afrijping van vruchten. Ook abscisinezuur kan in een aantal gevallen een versnellend effect hebben op de veroudering. Daarentegen remmen de gibberellinen het vergelen van *Rumex*-bladeren. Omdat bij dit type experimenten bijna altijd gebruik wordt gemaakt van bladschijfjes – waarvan bekend is dat de stofwisseling in velerlei opzichten afwijkt van die in het intacte blad – is het niet gerechtvaardigd de hierboven omschreven hormooneffecten ook voor de intacte plant geldig te verklaren.

Ook wisselwerkingen tussen de genoemde hormonen onderling zijn veelvuldig onderzocht. Zo kan men met cytokininen de verouderings-

bevorderende werking van abscisinezuur tegengaan. Deze experimenten hebben echter weinig bijgedragen tot de opheldering van het werkingsmechanisme van hormonen. Uit de veelheid van onderzoek over de invloeden van hormonen op de veroudering komt duidelijk naar voren dat alle tot nu toe bekende hormonen ingrijpen in het verouderingsproces, maar dat het regulatiemechanisme uiterst complex is en varieert voor de verschillende plantesoorten, waarbij verschillende hormonen in verschillende onderlinge verhoudingen tijdens de ontwikkeling van de plant hun invloed uitoefenen.

Het verouderingsproces

De betekenis van hormonen voor het verouderingsproces zal geïllustreerd worden aan de hand van een drietal voorbeelden:

1 de veroudering van bladeren en bloemen;
2 de veroudering van vruchten;
3 de abscissie van bladeren, bloemen en vruchten.

De veroudering van bladeren en bloemen Reeds eerder werd vermeld dat in het onderzoek veelvuldig gebruik gemaakt wordt van afgesneden bladeren (Veen, 1972). Deze bladeren verouderen snel. Wanneer nu deze bladeren de gelegenheid krijgen te bewortelen, blijkt het verouderingsproces tegengegaan te worden.Een eventuele vergeling verdwijnt weer en het bewortelde blad kan – mits geplaatst in een voedingsoplossing – zelfs jaren oud worden. Dit effect van beworteling op de veroudering is toe te schrijven aan de cytokinineproduktie van de wortels; door het blad af te snijden werd het beroofd van zijn cytokininetoevoer, doch de adventiefbeworteling herstelt deze aanvoer.

Wat betreft het verouderingsremmende effect van cytokininen is het duidelijk dat deze hormonen op enigerlei wijze inspelen op het RNA-metabolisme, waardoor ze er zorg voor dragen dat met name de eiwitsynthese op niveau blijft (fig. 5). Het is echter nog onduidelijk of daarbij het hormoon de activiteit van de nucleasen in de cel onderdrukt dan wel de RNA-synthese activeert door stimulatie van de RNA-polymerase-activiteit. Recent onderzoek door Schneider et al. (1978) laat zien dat deze laatste mogelijkheid zeer waarschijnlijk is.

Onderzoek bij bladeren van *Rhoeo discolor* toonde aan dat auxine de veroudering tegengaat door de biosynthese van RNase te remmen, terwijl juist het abscisinezuur de biosynthese van RNase bevordert, alsmede de

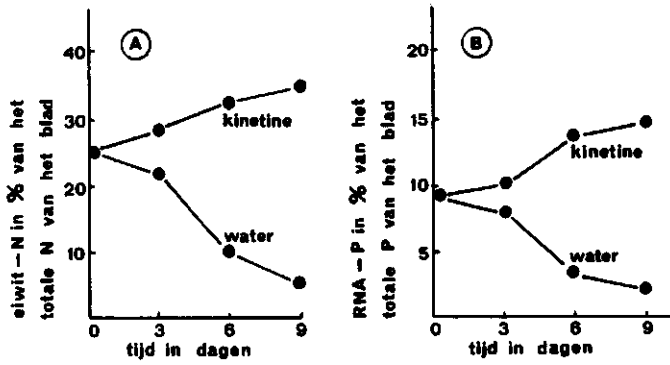


*Fig. 5. Geïsoleerde bladeren van de tabak (*Nicotiana rustica*). Veranderingen in eiwit- (A) en in RNA-gehalte (B) bepaald op basis van eiwit-stikstof resp. RNA-fosfaat, onder invloed van een behandeling met een synthetisch cytokinine, het kinetine (Wollgiehn, 1967).*

labiliteit van celmembranen verhoogt, waardoor lekkages optreden. Ook stoffen sterk verwant aan abscisinezuur lijken een rol te spelen in het verouderingsproces; zo bestaat de 'senescencefactor' uit bladstelen van de boom – die m.b.v. agarblokjes kan worden opgevangen en die de veroudering versnelt – uit een aantal abscisineachtige stoffen, o.a. abscisinezuur en xanthoxine.

Doordat de natuurlijke veroudering van de bloem zich vaak voltrekt in een zeer kort tijdsbestek (de 'dagbloem' *Ipomoea tricolor),* is veel verouderingsonderzoek verricht aan deze organen.

Vele bloemen verouderen zeer snel onder invloed van ethyleen. De anjerbloem is daar welhaast een klassiek voorbeeld van. In elk stadium van de bloemontwikkeling veroorzaakt van buiten af toegediend ethyleen het zogenaamde 'krimpen' van de bloembladeren, een verschijnsel waarschijnlijk veroorzaakt door het verlies van turgescentie van de cellen van de bloembladeren. De anjerbloem zelf produceert weinig ethyleen tijdens de ontwikkeling; vlak voor het krimpen treedt er echter een plotselinge ethyleenproduktie op die dan ook duidelijk in oorzakelijk verband staat met het daaropvolgende krimpen.

Reeds enige tijd wordt er naar middelen gezocht die deze ethyleenproduktie onderdrukken dan wel het ethyleen onwerkzaam maken en daardoor de houdbaarheid van de bloem verbeteren. Recent is aangetoond dat het zilverion een anti-ethyleenwerking heeft bij talrijke proces-

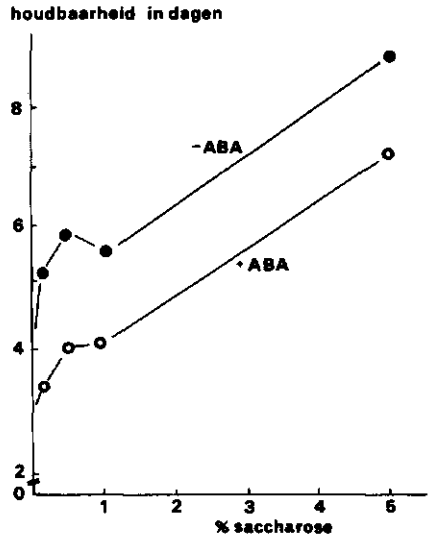


Fig. 6. Het effect op de houdbaarheid van anjers van abscisinezuur (ABA) in een concentratie van 5 × 10^{-5}mol.l^{-1}, in combinatie met saccharose in verschillende concentraties (Mayak & Dilley, 1976).

sen waarbij ethyleen een regulerende rol speelt in de ontwikkeling van de plant. Mogelijkheden tot kwaliteitsbeheersing in dit verband zullen later besproken worden. Abscisinezuur verkort eveneens het leven van de snijbloemen (fig. 6). Opmerkelijk in deze experimenten is dat de verkorting van de houdbaarheid van de anjerbloem, uitgedrukt in dagen, onder invloed van abscisinezuur onafhankelijk is van de concentratie suiker die in het vaaswater wordt gebracht. Tegenover de verouderingsbevorderende effecten van ethyleen en abscisinezuur staat de remmende werking van cytokininen. Het synthetische 6-benzylaminopurine kan een aanzienlijke verlenging van de houdbaarheid geven, vooral in combinatie met suiker (fig. 7). Uit deze grafiek blijkt dat de verbetering van de houdbaarheid onder invloed van 5% saccharose onafhankelijk is van de toediening van het cytokinine. Ook gibberellinen blijken in te grijpen in het verouderingsproces bij anjers. Zeer recent werd aangetoond dat de veroudering van geïsoleerde anjerbloembladeren met vier dagen kan worden vertraagd door toevoeging van gibberellinezuur (GA_3) aan het vloeibare medium waarin deze bloembladeren worden gehouden.

Bij de natuurlijke veroudering van de bloem spelen de volgende proces-

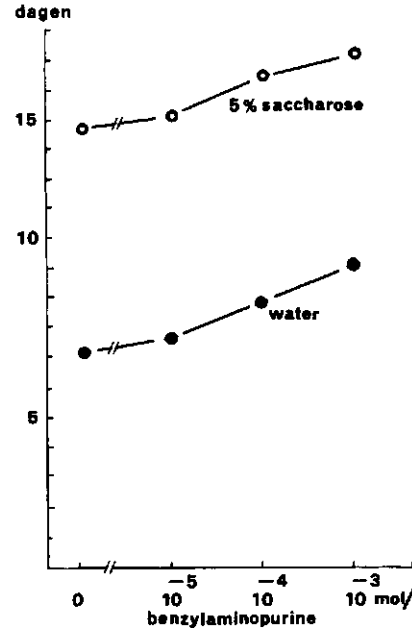


Fig. 7. Het effect van 6-benzylaminopurine in verschillende concentraties, alleen en in combinatie met 5% saccharose, op de houdbaarheid van anjers. Behandeling vond plaats door de stelen gedurende twee minuten in de hormoonoplossingen te plaatsen (Heide & Øydvin, 1969).

sen een rol: kiemende pollenkorrels – gelegen op de stempel – geven hormonen af, met name auxinen. Ook de bevruchte zaadknop bevat auxinen. Deze hoge auxineconcentratie leidt er enerzijds toe dat abscissie van de bloem wordt verhinderd (zie later), anderzijds induceert zij in de stamper ethyleen dat in de bloem verder diffundeert en de bloembladeren doet verwelken. Bij de snijbloem, zoals de anjer, treedt echter geen bevruchting op, terwijl toch onder invloed van endogeen gevormd ethyleen de bloem verwelkt. Nichols (1977) toonde echter aan dat behalve de stijlen ook het basale deel van de bloembladeren veel ethyleen produceert op het moment dat deze bloembladeren verwelken. Deze ethyleenproduktie is onafhankelijk van de ethyleenproduktie door de stamper en is mogelijk een gevolg van de verouderingsprocessen die autonoom in de cellen van de bloembladeren op gang zijn gekomen.

Samengevat: door een verhoogd auxinegehalte treedt ethyleenpro-

duktie op welke leidt tot verwelking van de bloembladeren na bestuiving; bij de verwelking van niet-bestoven bloemen treedt eveneens ethyleenproduktie op, die waarschijnlijk echter meer als een gevolg van de veroudering dan als oorzakelijke factor gezien moet worden.

Eerder werd reeds gesteld dat het werkingsmechanisme van hormonen nog geheel niet duidelijk is. Sommige auteurs (Halevy & Mayak, 1977) menen dat de ethyleenproduktie leidt tot de vorming van abscisinezuur, dat het signaal is voor het aanzetten van de verouderingsprocessen. Anderen (Kende & Hanson, 1977) menen dat de ethyleenproduktie een gevolg is van het verouderingsproces wat door andere oorzaken in gang gezet is, waarbij een kleine hoeveelheid geproduceerd ethyleen – via een autokatalytisch effect – leidt tot veel grotere hoeveelheden, wat dan aanleiding geeft tot een versnelde veroudering. Hoe ethyleen echter de levensduur van de bloem in negatieve zin beïnvloedt is niet duidelijk. De rol van abscisinezuur is eveneens nog onzeker. Sommige auteurs menen dat er zelfs geen directe relatie bestaat tussen de veroudering en abscisinezuurgehalten, maar dat veranderingen in abscisinezuurgehalte een gevolg zijn van veranderingen in de waterpotentiaal zoals die tijdens de veroudering plaatsvinden.

De veroudering van vruchten Ook vruchtrijping dient als een verouderingsfenomeen beschouwd te worden. De eerste fase wordt de 'maturatie' genoemd: de vrucht bereikt zijn uiteindelijke grootte. Daarna spelen zich in de vrucht processen af die leiden tot de eetbaarheid van de vrucht. Deze fase van de 'rijping' is dan ook, zoals Bruinsma (1979) terecht stelt, meer een organoleptisch dan een fysiologisch begrip. In de overrijpe fase treden verouderingsprocessen op die wij ook in andere organen, zoals het blad en de bloem, kunnen constateren, met name een toename van de desintegratie van celmembranen, verlies van water en dergelijke.

Bij zetmeelhoudende vruchten begint de rijpingsfase met een sterke stijging van de ademhaling die cumuleert in het climacterium. Over dit complexe verschijnsel vermeldt Bruinsma (1979) het volgende: '. . . deze ademhalingspiek is geen symptoom van desorganisatie van de stofwisseling, want het niveau van energierijke fosfaten blijft gehandhaafd op een hoog niveau. Er is een sterke synthese van lipiden en eiwitten, de aantallen en activiteiten van verschillende organellen als ribosomen en mitochondriën nemen toe. Tal van enzymen zoals peroxidasen, katalasen, lipoxidasen, fosfatasen en andere hydrolasen, stijgen in activiteit. Voorafgaande of tijdens het climacterium merken we een sterke stijging in de ethyleen-

produktie op'. Evenals bij de bloemveroudering is het ook hier het ethyleen wat het rijpingsfenomeen op gang brengt en wat – op autokatalytische wijze – in grote hoeveelheden door de vrucht kan worden gevormd. Een zekere drempelwaarde voor de interne ethyleenconcentratie is echter noodzakelijk. Ook de rijping van niet-climacterische vruchten wordt bepaald door het ethyleen.

Evenals dat bij de bloemveroudering het geval is, zullen alle maatregelen die ten gevolge hebben dat de ethyleenproduktie achterwege blijft of sterk wordt onderdrukt, een verlenging van de houdbaarheid van de vrucht geven. Andere hormonen kunnen competitief werken t.o.v. het ethyleen. De ontwikkelende zaden bevatten auxinen waardoor vroegtijdige rijping en abscissie van de vrucht worden tegengegaan. Ook cytokininen kunnen de vruchtrijping vertragen. Deze worden, evenals mogelijk een deel van het auxine, vanuit de moederplant aangevoerd. Afplukken versnelt de rijping dan ook, zodat het aannemelijk is dat bepaalde factoren vanuit de plant, met name vanuit wortel en blad, worden aangevoerd.

Naast de hier genoemde sterke stijging in de ademhaling, het climacterium, omvat het verouderingssyndroom bij de rijpende vruchten een aantal andere verschijnselen die genoemd dienen te worden. Het zacht worden van de vrucht, waardoor deze bijv. voor vogels eetbaar wordt en voor een goede zaadverspreiding zorggedragen wordt, komt tot stand doordat de cellen onderling loslaten. De primaire middenlamel, opgebouwd uit pectine, wordt opgelost door het enzym polygalacturonase. Daarnaast kan door activiteit van het cellulase ook de celwand oplossen. Ook de kleurvorming van rijpende vruchten is een duidelijk verouderingsverschijnsel. Evenals bij bladeren berust het geel worden van bijvoorbeeld de peer op de afbraak van chlorofyl, waardoor de groene maskering van reeds aanwezige carotenoïden verdwijnt. Toch merken we ook een carotenoïdsynthese op (bij appel en bij tomaat bijvoorbeeld), welke plaatsvindt in de chromoplasten (chromoplasten zijn gedegenereerde chloroplasten). Deze degeneratie van de chloroplast kan vertraagd, zelfs worden omgekeerd met behulp van gibberellinen, waardoor een hergroening van de vrucht (met name van citrusvruchten) kan worden verkregen. De ontwikkeling van de smaak van de afrijpende vrucht wordt veroorzaakt door omzettingen van organische zuren in suikers, terwijl vele aromatische stoffen bijdragen tot de ontwikkeling van de geur. Het lipoxydase, een enzym dat vetzuren oxydatief afbreekt, speelt daarbij een belangrijke rol.

De laatste fase in de veroudering van de vrucht is het overrijp worden. De membranen verliezen hun semi-permeabiliteit, er treedt menging op

van vacuolevocht en plasmabestanddelen, waardoor allerlei reacties gaan verlopen die voordien niet plaatsvonden. Zo worden in de laatste fase uit fenolglycosiden door activiteit van het enzym glycosidase fenolen vrijgemaakt, die door polyfenoloxydaseactiviteit worden geoxydeerd en vervolgens door condensatie en polymerisatie aanleiding geven tot de donkerkleuring van het weefsel: de zogenaamde melaninevorming. Doordat organische stoffen naar buiten treden krijgen saprofytische schimmels en bacteriën hun kans en het vruchtweefsel rot verder weg.

De abscissie van bladeren, bloemen en vruchten Er bestaat een duidelijke samenhang tussen veroudering en het optreden van abscissie. Klimatologische factoren, die veroudering veroorzaken, leiden eveneens tot het afwerpen van het verouderend orgaan. Zo treedt abscissie op in de herfst, wanneer de bladeren van onze loofbomen door de lage temperaturen en kortere dagen verouderen, en vallen onbestoven bloemen en rijpe vruchten af, indien de verouderingsprocessen in deze organen voldoende ver zijn voortgeschreden.

Alvorens de hormonale regulatie van dit abscissieproces te bespreken, dient aandacht gegeven te worden aan het separatieproces zelf. Abscissie is een specifieke reactie van speciaal daartoe gedifferentieerde cellen, die in een laag voorkomen in het plantedeel waar de abscissie gaat optreden. Soms is deze abscissiezone vanaf de vroege ontwikkeling aanwezig (bijvoorbeeld bij bloemstelen), soms wordt de zone later aangelegd. De cellen van deze abscissiezone hebben een meristematisch uiterlijk: dunne celwand, kleine vacuole en rijk voorzien van cytoplasma. Bij de aanvang van het afstotingsproces laten de cellen van de abscissiezone onderling los door enzymatische hydrolyse van de middenlamel, welke hoofdzakelijk uit pectinen bestaat. Bruinsma (1979) vermeldt daarover het volgende: 'De abscissiecellen hebben cellulolytische enzymen gevormd door ribosomale activiteit op het ruw endoplasmatisch reticulum (RER). De enzymen worden in dictyosomen en Golgivacuolen naar het plasmalemma vervoerd. Als deze membraanstructuren versmelten met het plasmalemma, worden daarbij de betrokken enzymen door een omgekeerde pinocytose (exocytose) naar de celwanden toe afgescheiden. Pectineoplossende enzymen, zoals polygalacturonase, lossen dan de middenlamel op waardoor de cellen van elkaar loslaten, en kunnen ook de celwanden aantasten. Wanneer ook cellulasen worden afgescheiden lossen tevens cellulosefibrillen op, waardoor de drukpotentiaal van de celwanden afneemt. De hierdoor dalende waterpotentiaal van de cellen maakt een volumevergroting

door wateropname mogelijk, waardoor cellen in abscissiegebieden dikwijls opzwellen en zich gaan afronden. Deze celvergroting drukt de niet bij het abscissieproces betrokken cellen, bijv. houtvaten, uit elkaar en het uiteindelijke loslaten van het afvallend orgaan is dan ook niet alleen het gevolg van het verlies van samenhang tussen de intacte cellen in de abscissiezone, maar ook van het scheuren van de niet actief deelnemende elementen, bijv. in de vaatbundels'.

De blad- en vruchtval berusten op een wisselwerking van verschillende hormonen. Cytokininen beïnvloeden het abscissieproces indirect omdat deze hormonen, zoals reeds eerder vermeld werd, een sink doen ontstaan. Cytokinine, toegediend op de plaats van de abscissiezone, vertraagt de vorming van de scheidingslaag.

Zeer direct speelt ethyleen een rol in het abscissieproces. Abscissie treedt op indien het weefsel van de abscissiezone een verhoogde gevoeligheid krijgt voor het door de plant voortdurend geproduceerde ethyleen. Deze verhoogde gevoeligheid ontstaat door de afname in het auxinegehalte. Naarmate het blad ouder wordt neemt de hoeveelheid auxine af, die door de steel wordt geëxporteerd. Toediening van auxine aan de distale zijde van de abscissiezone zal de auxinegradiënt in de blad- of bloemsteel

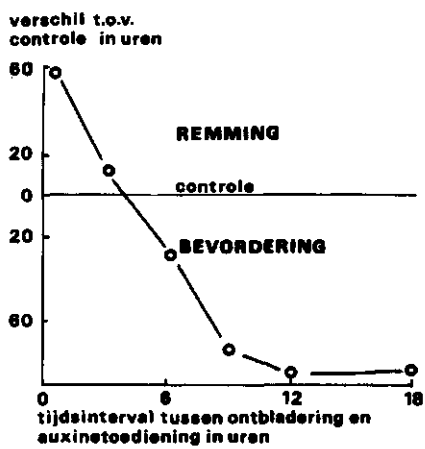


Fig. 8. Het moment van toediening na afsnijden van de bladschijf bepaalt of auxine de abscissie in de resterende bladsteel remt of bevordert. Toegediend binnen drie uur na ontbladering remt auxine de abscissie, later toegediend geeft het een bevordering. In de onbehandelde bladstelen treedt 50% abscissie op na 136 uur (Rubinstein & Leopold, 1963).

handhaven en zo de vorming en werking van ethyleen remmen en de abscissie tegengaan. Echter, auxine kan ook de abscissie bevorderen. Indien het weefsel in zekere mate verouderd is zal toegediend auxine de abscissie bevorderen (fig. 8) door een door dit auxine opgewekte endogene ethyleenproduktie. Ook in bladsteelweefsel wat in zekere mate al verouderd is – en daardoor een verlaagd auxineniveau heeft – zal toediening van ethyleen de abscissie versnellen (fig. 9).

Het mechanisme, waardoor ethyleen de enzymactiviteit in de abscissiezone activeert, is nog onbekend. De verouderende cellen juist distaal gelegen van de abscissiezone produceren ethyleen dat in de aangrenzende cellen van de zone de cellulolytische enzymen activeert. Ethyleen zou daarbij als een 'trigger' voor de synthese van een specifiek boodschapper-RNA kunnen functioneren, wat uiteindelijk leidt tot de 'de novo' synthese van hydrolytische enzymen. Hier zou dus sprake zijn van een effect van het hormoon op transcriptieniveau. Andere onderzoekers menen dat de primaire werking van het ethyleen (en ook van andere plantehormonen) in de celmembraan gezocht moet worden, bijv. via een noncovalente binding met een receptoreiwit. Daar het welbekend is dat ethyleen de permeabiliteit van de celmembraan kan verhogen, is het niet uitgesloten dat de primaire werking van het ethyleen terug te voeren is naar invloeden op de permeabiliteit en eventuele structuurveranderingen van membranen, waardoor de structurele integriteit van de cel afneemt en mogelijkerwijs

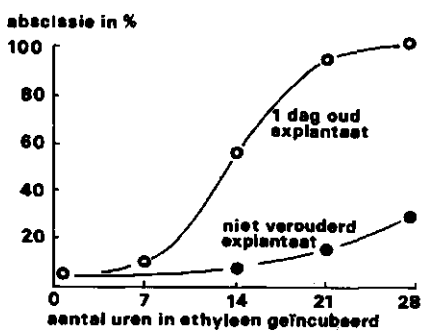


Fig. 9. Indien bladsteelexplantaten (segmenten) worden geïncubeerd in een ethyleenatmosfeer (0,25 µl ethyleen per l lucht) is het gas weinig effectief bij vers gesneden, niet verouderde explantaten. Explantaten welke men laat verouderen gedurende 24 uur ('ageing'), geven wel een snelle reactie op een ethyleenbehandeling (Abeles, 1967).

een activering van enzymsystemen tot stand kan komen (Veen, 1970).

Naast de hierboven genoemde auxine-ethyleen-balans spelen ook mogelijk andere 'verouderingsfactoren' een rol. Verouderende bladeren geven stoffen af, die door de bladsteel heen diffunderen en de aanleg van de abscissiezone versnellen. Het gaat hier om abscisinezuurachtige stoffen zoals het abscisinezuur zelf en het xanthoxine. Hoe deze stoffen de abscissie beïnvloeden is nog onbekend; recent onderzoek van Dörffling et al. (1978) laat echter zien dat toediening van deze hormonen aan *Coleus*-bladstelen niet leidt tot een verhoogde ethyleenproduktie.

Kwaliteitsbeheersing van land- en tuinbouwprodukten

De mogelijkheden tot kwaliteitsbeheersing vallen uiteen in een tweetal groepen:

1 het scheppen van klimatologische condities welke gunstig zijn voor de verbetering van de houdbaarheid, en

2 een chemische regulatie van het verouderingsproces waardoor verbeterde houdbaarheid wordt verkregen.

Wat betreft de eerste methode – waar in het kader van dit artikel niet diep op ingegaan zal worden – kan opgemerkt worden dat lage temperatuur, geforceerde luchtcirculatie, koolzuurdosering, hypobarische bewaring en verlaagd zuurstofgehalte, alle factoren zijn die de veroudering van het geoogste produkt vertragen door de stofwisseling op een laag niveau te brengen, het geproduceerde ethyleen inactief te maken, dan wel de produktie van het ethyleen te verminderen.

Bij de *chemische regulatie* dienen we allereerst de toediening van cytokininen ter verbetering van de houdbaarheid van snijbloemen en van groenten te noemen. Onderzoek in Amerika heeft aangetoond dat in het bijzonder benzyladenine actief is bij anjers, asperge, broccoli en knolselderie. De cytokininen zijn echter (nog) niet vrijgegeven voor gebruik op consumptiegewassen. De bevorderende werking van auxinen (zoals 2,4-dichloorfenoxyazijnzuur) op de veroudering en daarop volgende abscissie zijn welbekend, en hebben tot een zeer grote praktische toepassing geleid als ontbladeringsmiddelen ('defoliants').

Ook langs chemische weg is het mogelijk om de ethyleenproduktie van het geoogste produkt te verminderen, dan wel de werking van dit gas te niet te doen. Eerder werd reeds vermeld dat het zilverion een sterke antiethyleenwerking heeft, die waarschijnlijk berust op een binding van het zilverion met het ethyleen, die concurreert met de binding van ethyleen

aan het metaalion (Cu^+?) in het actieve centrum van het enzym. De praktische mogelijkheden van toepassing van zilverzouten en met name van het zilverthiosulfaatcomplex op het gebied van de sierteelt lijken gunstig te zijn (Veen & Van de Geijn, 1978). Andere stoffen, zoals een aminoethoxyanaloog van het rhizobitoxine, grijpen in in de biosynthese van ethyleen en vertragen daardoor de veroudering.

Speciale aandacht verdient het natriumbenzoaat dat zowel bij snijbloemen als bij tomaten en broccoli de ethyleenproduktie remt. Het natriumbenzoaat is één van een grote groep *free radical scavengers,* waartoe onder meer behoren het natriumisoascorbaat en het α-tocoferol (vitamine E). Deze stoffen zijn bijzonder interessant omdat zij vrije radicalen wegvangen, dat zijn verbindingen met een ongepaard elektron. Bij de biosynthese van ethyleen, waarbij het aminozuur methionine een uitganggstof is, spelen deze vrije radicalen een belangrijke rol. Toevoeging van bijvoorbeeld natriumbenzoaat aan het vaaswater van snijbloemen kan zo de ethyleenproduktie remmen en daarmede de veroudering vertragen. Naast deze specifieke werking van vrije radicalen bij de ethyleenbiosynthese, is het echter ook zeer wel mogelijk dat zij in algemene zin schade berokkenen aan het celmetabolisme. Vrije radicalen zijn namelijk zeer reactief en kunnen abnormale auto-oxidatieve reacties teweegbrengen. Deze processen kunnen zich ook afspelen in de membranen; met name zouden de liniden door deze oxidaties aangetast worden (Knook, 1973). Natriumbenzoaat en andere soorgelijke stoffen zullen door het wegvangen van de vrije radicalen daarmede de oxydatie van lipiden tegengaan, en aldus de integriteit van de membranen handhaven en de veroudering tegengaan (Woolhouse, 1978).

In de praktijk kan een versnelling van de veroudering gewenst zijn. Hier liggen in de toekomst waarschijnlijk goede mogelijkheden in het gebruik van stoffen als abscisinezuur en ethyleen. De beperkte beschikbaarheid van abscisinezuur, de snelle omzetting in de plant en het voorlopig ontbreken van synthetische derivaten beperken echter het onderzoek naar de praktijkmogelijkheden van dit hormoon. Veelbelovend is het praktische gebruik van de fysiologische werking van ethyleen, vooral omdat al geruime tijd het Ethephon (2-chloorethylfosfonzuur) op de markt is, een stof waaruit ethyleen in de cel wordt vrijgemaakt. Toepassingen ter bevordering van de bloemontwikkeling bij Bromeliaceae, chemische bloemdunning bij appels, voorkoming van legering in vlas en het op kleur brengen van appels en tomaten laten zien dat Ethephon een goede mogelijkheid biedt regulerend op te treden in de ontwikkeling van de hogere plant (zie het hoofdstuk van Bennink). Toekomstig onderzoek gericht op het

werkingsmechanisme van verschillende hormonen tijdens het verouderingsproces zal een belangrijke bijdrage kunnen leveren tot meer praktijkmogelijkheden ter regulatie van de veroudering.

Onvoltooide taak

F. W. Went

Terwijl het grootste deel van mijn dissertatie (1927) in de volgende jaren algemene ingang heeft gevonden, is het vierde hoofdstuk volledig over het hoofd gezien, terwijl ik het juist het meest belangrijke vond. In dit hoofdstuk toonde ik voor mijn gevoel overtuigend aan, dat de groeistof, later auxine genaamd, alleen werkzaam was in samenwerking met een andere groeifactor ZSM (Zell Streckungs Material) of *voedingsfactor*. Dit bleek al uit de eerste proef: zodra de concentratie van auxine een zekere hoogte bereikte, kon de groeisnelheid niet verder door auxine verhoogd worden, blijkbaar doordat een andere groeifactor limiterend werd. In dit vierde hoofdstuk probeerde ik, met weinig succes, zoveel mogelijk de eigenschappen van deze voedingsfactor te benaderen.

Het bleek dat deze factor volkomen onafhankelijk van auxine was. Terwijl het auxine in de uiterste coleoptieltop gevormd werd en daar de hoogste concentratie bereikte, werd de voedingsfactor vanuit de basis van het coleoptiel aangevoerd, waarschijnlijk vanuit het wortelstelsel.

Met zulk een tweeledig systeem van groeifactoren kon de groeiverdeling in het coleoptiel (langzaam in de top en aan de basis, met een maximale groeisnelheid ongeveer 8 mm van de top) geheel verklaard worden. Het gaf tevens een mogelijke verklaring voor de waarneming waarom tropistische krommingen pas optreden op enige afstand van de top, hoewel zij veroorzaakt worden door een groeistofverplaatsing beginnend in de coleoptieltop.

Maar waar de auxine ook buiten het coleoptiel, in agar of gelatine gehanteerd kon worden, bleek dit niet mogelijk te zijn met de voedingsfactor. En nu, zelfs na 50 jaar, is me dat nog niet gelukt. Om die reden heb ik dit vierde hoofdstuk over de voedingsfactor de 'onvoltooide taak' genoemd.

In de loop der jaren heb ik enkele malen opnieuw getracht met verschillende methoden die voedingsfactor experimenteel te benaderen en zo mogelijk kwantitatief te meten. Maar telkens tevergeefs, wat normaal ge-

sproken de taak onmogelijk zou maken. En werkelijk, in de oneven jaren geloof ik er niet meer in, om er in de even jaren toch weer op terug te komen.

In 1935 onderzocht ik de groeiverdeling van het coleoptiel opnieuw, 8 jaar na mijn dissertatie, toen indolazijnzuur in onbeperkte hoeveelheden beschikbaar kwam als synthetische groeistof. Dit gaf aanleiding tot het ontstaan van een soort van 'farmacologie' van auxine, aangezien bijna toxische concentraties toegediend konden worden. Zo bleek dat zelfs toediening van onnatuurlijk hoge concentraties auxine geen verandering in conclusies over diens fysiologische eigenschappen noodzakelijk maakte. Wel leek auxine de verdeling van de voedingsfactor te kunnen beïnvloeden, aangezien die factor door een hoge auxineconcentratie scheen te worden aangetrokken. De absolute hoeveelheid voedingsfactor bleek echter niet verhoogd te kunnen worden in de *Avena*-kiemplant, want als door auxinetoediening het coleoptiel méér groeide, nam de groei van het eerste blad evenveel af. Ook werd een derde factor, aangetoond door DuBuy, in aanmerking genomen. Hij had aangetoond dat een vermindering van de auxineconcentratie aanleiding gaf tot veroudering van de coleoptielcellen, waardoor ze minder reageerden op toegediende auxine. Maar aangezien geen van deze proeven in 1935 veel meer licht wierpen op de voedingsfactor hoef ik er niet lang bij stil te staan.

In het midden van de dertiger jaren, toen onderzoekers de beschikking kregen over onbeperkte hoeveelheden synthetische auxinen, vond men dat auxinen op allerlei verschillende morfogenetische processen invloed uitoefenen. Ik kon me niet voorstellen dat auxine op zichzelf zowel lengtegroei als vruchtzetting, alsook allerlei andere processen beïnvloedt. Omdat ik toch al genoodzaakt was een cofactor voor auxine bij de lengtegroei aan te nemen, breidde ik dit begrip uit en veronderstelde dat voor elk proces waarin auxine een rol speelt, er een cofactor moet zijn die het specifieke auxineproces in de juiste richting leidt. Zo kwam het begrip *caline* tot stand, waarbij reeds spoedig bleek dat de calinen, juist als florigeen, niet buiten het planteweefsel van de plant gehanteerd kunnen worden. Alleen in de intacte plant of in het volgroeide onderstam-ent-systeem kan het bestaan van calinen aangetoond worden. Het onderzoek hiervan was niet mogelijk met het *Avena*-coleoptiel als proefobject, aangezien coleoptielen niet geënt kunnen worden. Daartoe was de erwtenkiemplant beter geschikt. Voordat het fytotron proeven met volwassen planten mogelijk maakte, was experimenteren met planten beperkt tot processen die in het donker plaatsvinden, wat met name met kiemplanten het geval is.

Een erwt, met een grote voedselreserve in de cotylen, kan allerlei groei- en ontwikkelingsprocessen doorlopen in het constante milieu van de donkere kamer: wortelvorming, lengtegroei, bladontwikkeling, enz. Hoewel de erwt in het donker auxine produceert, kan een afgesneden erwteplant niet groeien totdat de voedingsfactor, voor stengelgroei caulocaline genaamd, via een functionele floëemverbinding tussen wortel en stengel weer contact met het auxine krijgt. Voor toetsing van deze veronderstelling zijn geen proeven met erwten nodig. Elke keer dat we een boeket plukken en het contact tussen bloemtak en wortelstelsel verbreken, houdt alle stengelgroei op. De bloemtakken reageren niet meer geotropisch, fototropisch of op enigerlei andere prikkel, en een boeket blijft intact zonder hergroepering van de takken. Pas wanneer de takken bewortelen, beginnen ze zich weer te heroriënteren en reageren ze geotropisch en fototropisch.

In 1938 en 1939 voerde ik vele entproeven uit met in het donker opgekweekte, geëtioleerde erwten. Afgesneden stengels groeiden in het geheel niet meer, behalve 5 tot 6 dagen na enting op een actief wortelsysteem. De groei wordt slechts hernomen nadat een functionele vergroeiïng tussen ent en onderstam had plaatsgevonden. Dit werd anatomisch onderzocht door Hayward waarbij bleek dat wanneer de vaatbundels van het ent precies correspondeerden met die van de onderstam, groei onmiddellijk optrad. Anders wachtte de hernieuwde groei van het ent op vernieuwing van floëemverbindingen tussen beide. Evenzo hebben vele onderzoekers aangetoond dat de bloeistimulus (florigeen) van de ene plant op de andere alléén door een functionele floëemverbinding kan worden overgebracht.

Calinen zijn dus nog nooit buiten het weefsel van de intacte plant geïsoleerd, en het zal nog veel experimenteerkunst vragen voor stoffen als caulocaline en florigeen met zekerheid experimentaal kunnen worden aangetoond. Aangezien het momenteel een even jaar is, twijfel ik daar niet aan. Hopelijk zal iemand mijn taak, voorzover het caulocaline betreft, voltooien.

Literatuur[1]

Plantehormonen, vijftig jaar voor en na Wents proefschrift

J. Bruinsma

Bayliss, W.M. & E. Starling, 1904. The chemical regulation of the secretory process. *Proc. R. Soc. London, Ser. B 73:* 310-322.

Boysen Jensen, P., 1913. Über die Leitung des phototropischen Reizes in der *Avena*-Koleoptile. *Ber. dt. bot. Ges. 31:* 559-566.

Bruinsma, J., 1977a. Rolle der Cytokinine bei Blüten- und Früchtenentwicklung. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 140:* 15-23.

Bruinsma, J., 1977b. Hormonal regulation of phototropism in dicotyledonous seedlings. In: P.E. Pilet (Ed.): Plant growth regulation. Springer, Berlin. p. 218-225.

Darwin, C., 1880. The power of movements in plants. John Murray, London. Chap. 9 and 11.

*Hillman, J.R. (Ed.), 1978. Isolation of plant growth substances Cambridge University Press, London.

*Lever, J. & J. de Wilde (red.), 1978. Endocrinologie. Pudoc, Wageningen. 298 pp. – Biologische Raad Reeks.

Paál, A., 1919. Über phototropische Reizleitung *Jb. wiss. Bot. 58:* 406-458.

*Pilet, P.E. (Ed.), 1977. Plant growth regulation. Springer, Berlin.

*Quispel, A., & D. Stegwee (red.), 1979. Leerboek der plantenfysiologie. Bohn, Scheltema & Holkema, Utrecht.

Stark, P., 1921. Studien über traumatrope und haptotrope Reizleitungsvorgänge mit besonderer Berücksichtigung auf fremde Arten und Gattungen. *Jb. wiss. Bot. 60:* 67-134.

Went, F.W., 1926. Over stoffen, die den groei in het coleoptiel van *Avena sativa* versnellen. *Versl. gewone vergad. afd. Natuurk. K. Ned_Akad. Wet. 35:* 1-10.

*Went, F.W., 1928. Wuchsstoff und Wachstum. Proefschrift, Utrecht. *Recl. Trav. Bot. Neerl. 25:* 1-116.

Went, F.W., 1939. Analysis and integration of various auxin effects. I, II. *Proc. K. Ned. Akad. Wet., Ser. C 42:* 581-591, 731-739.

*Went, F.W. & K.V. Thimann, 1937. Phytohormones. MacMillan, New York.

1. De met * aangegeven referenties geven een algemeen overzicht.

Wightman, F., 1977. Gas chromatographic identification and quantitative estimation of natural auxins in developing plant organs. In: P.E. Pilet (Ed.): Plant growth regulation. Springer, Berlin. p. 77-90.
Wilkins, M.B., 1977. Geotropic response mechanisms in roots and shoots. In: P.E. Pilet (Ed.): Plant growth regulation. Springer, Berlin. p. 199-207.

Primordia, polariteit en plantehormonen

M.H. van Raalte

Avery, G.S., 1935. Differential distribution of a phytohormone in the developing leaf of *Nicotiana* and its relation to polarized growth. *Bull. Torrey Bot. Club 62:* 313-330.
Beyerinck, M.W., 1888. Ueber das Cecidium von *Nematis capreae* auf *Salix amygdalina. Bot. Ztg. 46:* 1-11, 17-27.
Borthwick, H.A., K. Hamner & M.W. Parker, 1937. Histological and microchemical studies of the reaction of tomato plants to indoleaetic acid. *Bot. Gaz. 98:* 491-519.
Bouillenne, R. & F. Went, 1933. Recherches expérimentales sur la néoformation des racines dans les plantules et les boutures des plantes supérieures. (Substances formatrices de racines.) *Annls Jard. bot. Buitenz. 43:* 25-201.
Brown, C.L. & K. Sax, 1962. The influence of pressure on the differentiation of secondary tissues. *Am. J. Bot. 49:* 683-691.
Buvat, R., 1950. La dédifférentiation des cellules végétales. *Année biol. 26:* 309-402.
Eschrich, W., 1968. Translokation radioaktiver markierter Indol-3-essigsäure in Siebröhren von *Vicia faba. Planta 78:* 144-157.
Foard, D.E., A.H. Haber & T.N. Fishman, 1965. Initiation of lateral root primordia without completion of mitosis and without cytokinesis in uniseriate pericycle. *Am. J. Bot. 52:* 580-590.
Goldsmith, M.H.M., D.A. Cataldo, J. Karn, T. Brenneman & P. Trip, 1974. The rapid non-polar transport of auxin in the phloem of intact *Coleus* plants. *Planta 116:* 301-318.
Gramberg, J.J., 1971. The first stages of the formation of adventitious roots in petioles of *Phaseolus vulgaris. Proc. K. Ned. Akad. Wet., Ser. C 74: 42-45.*
Haber, A.H., 1962. Non essentiality of concurrent cell divisions for degree of polarization of leaf growth. I. Studies with radiation-induced mitotic inhibition. *Am J. Bot. 49:* 583-589.
Hertel, R. & A.C. Leopold, 1963. Versuche zur Analyse des Auxintransports in der Koleoptile von *Zea mais* L. *Planta 59:* 535-562.
Kraus, E.J., N.A. Brown & K.C. Hammer, 1936. Histological reactions to indoleacetic acid. *Bot. Gaz. 98:* 370-420.
Lek, H.A.A. van der, 1924. Over de wortelvorming van houtige stekken. *Meded. Landbouwhogesch. Wageningen 28:* 1-230.

Libbenga, K.R., F. van Iren, R.J. Bogers & M.F. Schraag-Lamers, 1973. The rôle of hormones and gradients in the intitiation of cortex proliferation and nodule formation in *Pisum sativum* L. *Planta 114:* 29-39.

Morris, D.A. & G.O. Kadir, 1972. Pathways of auxin transport in the intact pea seedling. *Planta 107:* 171-182.

Morris, D.A. & A. Guy Thomas, 1974. The specificity of auxin transport in pea seedlings. *Planta 118:* 225-234.

Moureau, J., 1939. Contributions à l'étude des facteurs organogénétiques de la néoformation des racines chez les plantes supérieures. *Bull. Soc. R. Sci. Liège 12:* 561-571.

Oppenoorth, J.M., 1976. Experiments on root formation. II. The effects of IAA and kinetin on het anatomy of the petiole of *Phaseolus vulgaris. Proc. K. Akad. Wet. Ser. C 79:* 299-306.

Oppenoorth, J.M., 1978. The influence of colchicine on initiation and early development of adventitious roots. *Physiol. Plant. 42:* 375-378.

*Quatrano, R.S., 1978. Development of cell polarity. *Annu. Rev. Plant Physiol. 29:* 487-510.

*Raven, Chr. P., 1961. An outline of developmental physiology. Pergamon, Oxford, 224 pp.

Richards, F.J., 1948. The geometry of phyllotaxis and its origin. Cambridge University Press, London. p. 217-245 – Symposium 2 of the Society for experimental Biology.

Sachs, J., 1880. Stoff und Form der Pflanzenorgane. In: Gesammelte Abhandlungen über Pflanzenphysiologie. II. Wilhelm Engelmann, Leipzig. p. 1159-1231.

Schoute, J.C., 1913. Beiträge zur Blattstellungslehre. *Recl. Trav. Bot. Neerl. 10:* 153-324.

Shelldrake, A.R., 1974. The polarity of auxin transport in inverted cuttings. *New Phytol. 73:* 637-642.

Siebers, A.M., 1971. Initiation of radial polarity in the interfascicular cambium of *Ricinus communis* L. *Acta Bot. Neerl. 20:* 211-220.

*Sinnott. E.W., 1960. Plant morphogenesis. McGraw-Hill, New York, 550 pp.

*Steward, F.C. & A.D. Krikorian, 1971. Plants, chemicals and growth. Academic Press, New York. 232 pp.

Thimann, K.V. & F.W. Went, 1934. On the chemical nature of the root forming hormone. *Proc. K. Ned. Akad. Wet. 37:* 455-459.

Torrey, J.G., 1959. Experimental modification of development in the root. In: Dorothy Rudnick (Ed.): Cell, organism and milieu. Ronald Press, New York. p. 189-222.

Wangermann, E., 1974. The pathway of transport of applied indole-acetic acid through internode segments. *New Phytol. 73:* 623-626.

*Wardlaw, 1968. Morphogenesis in Plants. A. contemperary study. Methuen London. 451 pp.

Went, F.W., 1934. A test method for rhizocaline, the root-forming substance. *Proc. K. Ned. Akad. Wet. 37:* 445-455.

Went, F.W., 1941. Polarity of auxin transport in inverted *Tagetes* cuttings. *Bot. Gaz. 103:* 386-390.

*Wessels, J.G.H., 1975. Genetische en epigenetische factoren in de ontwikkeling. In: J. Faber & W.L.M. Geilenkirchen (red.): Ontwikkelingsbiologie. Pudoc, Wageningen. 245 pp. – Biologische Raad Reeks.
Wey, H.G. van der, 1932. Der Mechanismus des Wuchsstofftransportes. I. *Recl. Trav. Bot. Neerl. 29:* 380-496.
Wey, H.G. van der, 1934. Der Mechanismus des Wuchsstofftransportes. II. *Recl. Trav. Bot. Neerl. 31:* 810-857.

Moleculaire herkennings- en werkingsmechanismen voor auxinen

K.R. Libbenga en R.J. Bogers

Cross, J.W., W.R. Briggs, U.C. Dohrmann & P.M. Ray, 1978. Auxin receptors of maize coleoptile membranes do not have ATPase activity. *Plant Physiol. 61:* 581-584.
584.
Erdei, L., I. Toth & F. Zsoldos, 1978. Regulation of Ca^{2+}-stimulated K^{+}-influx and Ca^{2+}-K^{+}-ATPase by the hormone 2,4-D in rice. In: Collected abstracts F.E.S.P.P. inaugural meeting. Society for Experimental Biology, Edinburgh. p. 183-184.
Hager, A., H. Menzel & A. Krauss, 1971. Versuche und Hypothese zur Primärwirkung des Auxins beim Streckungswachstum. *Planta 100:* 47-75.
*Hekkelman, J.W., 1978. Het werkingsmechanisme van peptidehormonen. In: Lever, J. & J. de Wilde (red.): Endocrinologie. Pudoc, Wageningen. p. 93-111 – Biologische Raad Reeks.
*Jacobs, S. & P. Cuatrecasas, 1977. The mobile receptor hypothesis for cell membrane receptor action. *Trends Biochem. Sci. 2:* 280-282.
*Jacobsen, J.V., 1977. Regulation of ribonucleic acid metabolism by plant hormones. *Annu. Rev. Plant Physiol. 28:* 537-564.
Kasamo, K. & T. Yamaki, 1974. Auxin action on membrane-bound Mg^{2+}-activated ATPase. In: Plant growth substances 1973. Hirokawa, Tokyo. p. 699-707.
Kasamo, K. & T. Yamaki, 1976. In-vitro binding of IAA to plasma membrane-rich fractions containing Mg^{2+}-activated ATPase from mung bean hypocotyls. *Plant and Cell Physiol. 17:* 149-164.
*Kende, H. & G. Gardner, 1976. Hormone binding in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. 27:* 267-290.
*Lamb, C.J., 1978. Hormone binding in plants. *Nature (London) 274:* 312-314.
*Libbenga, K.R., 1978. Hormone receptors in plants. In: T.A. Thorpe (Ed.): Frontiers of Plant Tissue Culture. Proceedings of the 4th International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, Calgary, 1978. International Association for Plant Tissue Culture. p. 325-333.
Marrè, E., P. Lado, F. Rasi-Caldogno, R. Colombo, M. Cocucci & M.I. de Michelis, 1975. Regulation of proton extrusion by plant hormones and cell elongation. *Physiol. Vég. 13:* 797-811.
Matthysse, A.G. & C. Phillips, 1969. A protein intermediary in the interaction of a hormone with the genome. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA 63:* 897-903.

Mennes, A.M., H. Bouman, M.P.M. van der Burg & K.R. Libbenga, 1978. RNA synthesis in isolated callus nuclei and the influence of phytohormones. *Plant Sci Lett. 13:* 329-339.

*Molen, H.J. van der, W.M.O. van Beurden, W. de Boer & E. Mulder, 1978. Het werkingsmechanisme van steroïdhormonen. In: Lever, J. & J. de Wilde (red.): Endocrinologie. Pudoc, Wageningen. p. 112-125 – Biologische Raad Reeks.

*Ray, P.M., 1977. Auxin-binding sites of maize coleoptiles are localized on membranes of the endoplasmic reticulum. *Plant Physiol. 59:* 594-599.

Rayle, D.L. & R. Cleland, 1970. Enhancement of wall loosening and elongation by acid solutions. *Plant Physiol. 46:* 250-253.

Roy, P. & B. B. Biswas, 1977. A receptor protein of indoleacetic acid from plant chromatin and its role in transcription. *Biochem. Biophys. Res. Commun. 74:* 1597-1606.

Teissère, M., P. Penon, R.B. van Huystee, Y. Azou & J. Ricard, 1975. Hormonal control of transcription in higher plants. *Biochim. Biophys. Acta 402:* 391-402.

*Venis, M.A., 1977. Receptors for plant hormones. *Adv. Bot. Res. 10:* 53-88.

Verma, D.P.S., G.A. MacLachlan, H. Byrne & D. Ewings, 1975. Regulation and in vitro translation of messenger ribonucleic acid for cellulase from auxin-treated pea epicotyls. *J. Biol. Chem. 250:* 1019-1026.

Wardrop, A.J. & G.M. Polya, 1977. Properties of a soluble auxin-binding protein from dwarf bean seedlings. *Plant Sci. Lett. 8: 155-163.*

Overlevingsstrategieën en hormonen

C. M. Karssen

Alvim, R., E.W. Hewett & P.F. Saunders, 1976. Seasonal variation in the hormone content of willow. I. Changes in abscisic acid content and cytokinin activity in the xylem sap. *Plant Physiol. 57:* 474-476.

Atkin, R.K., G.E. Barton & D.K. Robinson, 1973. Effect of root-growing temperature on growth substances in xylem exudate of *Zea mays. J. Exp. Bot. 24:* 475-487.

Bachelard, E.P. & F. Wightman, 1973. Biochemical and physiological studies on dormancy release in tree buds. I. Changes in degree of dormancy, respiratory capacity, and major cell constituents in overwintering vegetative buds of *Populus balsamifera. Can. J. Bot. 51:* 2315-2326.

*Bewley, J.D. & M. Black, 1978. Physiology and biochemestry of seeds in relation to germination. I. Development, germination, and growith. Springer, Berlin. 306 pp.

Bonamy, P.A. & F.G. Dennis Jr, 1977. Abscisic acid levels in seeds of peach. II. Effects of stratification temperature. *J. Am. Soc. Hortic. Sci. 102:* 26-28.

Chang, W.C. & J.R. Goodin, 1974. The role of rootsystem in lateral bud growth of pea *(Pisum sativum* L., var. Alaska). *Bot. Bull. Acad. Sin. 15:* 112-122.

Dumbroff, E.B. & D.C.W. Brown, 1976. Cytokinin and inhibitor activity in roots and stems of sugar maple seedlings through the dormant season. *Can. J. Bot. 54:* 191-197.

Dure, L.S., 1975. Seed formation. *Annu. Rev. Plant Physiol. 26:* 259-278.

Düring, H. & O. Bachmann, 1975. Abscisic acid analysis in *Vitis vinifera* in the period of endogenous bud dormancy by high pressure liquid chromatography. *Physiol. Plant. 34:* 201-203.

Eeuwens, C.J. & W.W. Schwabe, 1975. Seed and pod wall development in *Pisum sativum* L. in relation to extracted and applied hormones. *J. Exp. Bot. 26:* 1-14.

El-Antably, H.M.M., P.F. Wareing, & J. Hillman, 1967. Some physiological responses to d,l abscisin (dormin). *Planta 73:* 74-90.

Goldbach, H. & E. Goldbach, 1977. Abscisic acid translocation and influence of water stress on grain abscisic acid content. *J. Exp. Bot. 28:* 1342-1350.

Harrison, M.A. & P.F. Saunders, 1975. The abscisic acid content of dormant birch buds. *Planta 123:* 291-298

Henson, I.E. & P.F. Wareing, 1974. Cytokinins in *Xanthium strumarium* a rapid response to short day treatment. *Physiol. Plant. 32:* 185-187.

Hewett, E.W. & P.F. Wareing, 1973. Cytokinins in *Populus* x *robusta:* Changes during chilling and bud burst. *Physiol. Plant 28:* 393-399.

Karssen, C.M., 1970. The light promoted germination of the seeds of *Chenopodium album* L. III. Effect of the photoperiod during growth and development of the plants on the dormancy of the produced seeds. *Acta Bot. Neerl. 19 (1)* 81-94.

Karssen, C.M., 1976. Two sites of hormonal action during germination of *Chenopodium album* seeds. *Physiol. Plant. 36:* 264-270.

King, R.W., 1976. Abscisic acid in developing wheat grains and its relationship to grain growth and maturation. *Planta 132:* 43-51.

Lavender, D.P., G.B. Sweet, J.B. Zaerr & R.K. Hermann, 1973. Spring shoot growth in Douglas fir may be initiated by gibberellins exported from the roots. *Science 182:* 838-839.

Lenton, J.R., V.M. Perry & P.F. Saunders, 1972. Endogenous abscisic acid in relation to photoperiodically induced bud dormancy. *Planta 106:* 13-22.

*Lewak, S. & R.M. Rudnicki, 1977. After-ripening in cold-requiring seeds. In: A.A. Khan (Ed.): The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. Elsevier, Amsterdam. p. 193-217.

Mielke, E.A. & F.G. Dennis, Jr, 1978. Hormonal control of flower bud dormancy in sour cherry *(Prunus cerasus* L.). III. Effects of leaves, defoliation and temperature on levels of abscisic acid in flower primordia. *J. Am. Soc. Hortic. Sci. 103:* 446-449.

Popay, A. & E.H. Roberts, 1970. Factors involved in the dormancy and germination of *Capsella bursa-pastoris (L.)* Medik and *Senecio vulgaris* L. *J. Ecol. 58:* 103-122.

Quebedeaux, B., P.B. Sweetser & J.C. Rowell, 1976. Abscisic acid levels in soybean reproductive structures during development. *Plant Physiol. 58:* 363-366.

*Roberts, E.H. (Ed.), 1972. Viability of seeds. Chapman & Hall, London, 448 pp.

Staden, J. van, 1977. Seasonal changes in the cytokinin content of the leaves of *Salix babylonica. Physiol. Plant. 40:* 296-299.

Staden, J. van & P.F. Wareing, 1972. The effect of photoperiod on levels of endogenous cytokinins in *Xanthium strumarium*. *Physol. Plant. 27:* 331-337.
Staden, J. van, S.T. Olatoye & M.A. Hall, 1973. Effect of light and ethylene upon cytokinin levels in seed of *Spergula arvensis*. *J. Exp. Bot. 24:* 662-666.
Taylor, J.S. & E.B. Dumbroff, 1975. Bud, root, and growth-regulator activity in *Acer saccharum* during the dormant season. *Can. J. Bot. 53:* 321-331.
Tinklin, I.G. & W.W. Schwabe, 1970. Lateral bud dormancy in the blackcurrent *Ribes nigrum* (L.) *Ann. Bot. 34:* 691-706.
Varga, A. & J. Bruinsma, 1974. The growth and ripening of tomato fruits at different levels of endogenous cytokinins. *J. Hortic. Sci. 49:* 135-142.
*Vegis, A., 1964. Dormancy in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. 15:* 185-224.
*Vince-Prue, D. 1975. Photoperiodism in plants. McGraw-Hill, London. 444 pp.
Wareing, P.F., 1969. The control of bud dormancy in seed plants. In: H.W. Woolhouse (Ed.): Dormancy and survival. Oxford University Press, London. p. 241-262 – Symposium 23 of the Society of Experimental Biology.
Wareing, P.F., 1976. The plant life-cycle and the environment. In: M.A. Hall (Ed.): Plant Structure, function and adaptation. Macmillan, London. p. 379-423.
Wareing, P.F., R. Horgan, I.E. Henson & W. Davis, 1977. Cytokinin relations in the whole plant. In: P.E. Pilet (Ed.): Plant growth regulation. Springer, Berlin. p. 147-153.
Webb, D.P., J. van Staden & P.F. Wareing, 1973. Seed dormancy in *Acer*. Changes in endogenous cytokinins, gibberellins and germination inhibitors during the breaking of dormancy in *Acer saccarum* Marsh. *J. Exp. Bot. 24:* 105-116.
Wright, S.T.C. & R.W.P. Hiron, 1969. (+)-Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. *Nature (London) 224:* 719-720.
Zeevaart, J.A.D., 1972. Effects of photoperiod on growth rate and endogenous gibberellins in the long-day rosette plant spinach. *Plant. Physiol. 47:* 821-827.

Bloeiinductie, bloemontwikkeling en vruchtvorming

G.J.H. Bennink

Bennink, G.J.H., 1974. Flower development in *Chrysanthemum*. In: Plant growth substances. Hirokawa, Tokyo.
Bennink, G.J.H. & J.W.A. de Vries, 1975. Flower development in *Lemna perpusilla*. In: T. Kudrev (Ed.): Plant growth regulators. Proceedings of the 2nd International Symposium on Plant Growth Regulators, 1975. Publishing House of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia.
Biale, J.B., 1978. On the interface of horticulture and plant physiology. *Annu. Rev. Plant Physiol. 28:* 1-23.
Evans, L.T., 1969. The induction of flowering. Macmillan of Australia, Melbourne.
Hillman, W.S., 1962. The physiology of flowering. Holt, Rinehart & Winston, New York.

Jennings, D.H., 1977. Integration of activity in the higher plant. Cambridge University Press, Cambridge.
Lang, A., 1961. Physiology of flower initiation. In: W. Ruhland (Ed.): Encyclopedia of plant physiology. Vol. 15. Springer, Berlin.
Murneek, A.E. & R.O. Whyte, 1948. Vernalisation and photoperiodism. Waltham, Mass.
Salisbury, F.B., 1963. The flowering process. Pergamon, Oxford.
Salisbury, F.B. & C.W. Ross, 1978. Plant physiology. 2nd edition. Wadsworth, Belmont, California.
Vince-Prue, D., 1975. Photoperiodism in plants. McGraw-Hill, Maidenhead.
Zeevaart, J.A.D., 1976. Physiology of flower formation. *Annu. Rev. Plant Physiol. 27:* 321-348.

De hormonale regulatie van de veroudering

H. Veen

Abeles, F.B., 1967. Mechanism of action of abscission accelerators. *Physiol. Plant. 20:* 442-454.
Bosch, L., 1970. Het mechanisme van de eiwitsynthese. In: Ontwikkelingen in de moleculaire biologie. Pudoc, Wageningen.
Bruinsma, J., 1979. In: A. Quispel & D. Stegwee: Leerboek der Plantenfysiologie. Oosthoek, Utrecht.
Dörffling, K., M. Böttger, D. Martin, V. Schmidt, & D. Borowski, 1978. Physiology and chemistry of substances accelerating abscission in senescent petioles and fruit stalks. *Physiol. Plant. 53:* 292-296.
Haber, A.H., P.J. Thompson, P.L. Walne, & L.L. Triplett, 1969. Nonphotosynthetic retardation of chloroplast senescence by light. *Plant Physiol. 44:* 1619-1628.
Halevy, A.H. & S. Mayak, 1977. Hormonal regulation of rosepetal senescence. In: T. Kudrev (Ed.): Plant growth regulators. Proceedings of the 2nd International Symposium on Plant Growth Regulators, Sofia, 1975. Publishing House of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia. p. 240-247.
Heide, O.M. & J. Øydvin, 1969. Effects of 6-benzylaminopurine on the keeping quality and respiration of glasshouse carnations. *Hortic. Res. 9:* 26-36.
Kende, H. & A.D. Hanson, 1977. On the role of ethylene in aging. In: P.E. Pilet (Ed.): Plant growth regulation. Proceedings of the 9th International Conference on Plant Growth Substances, Lausanne, 1976. Springer, Berlin. p. 172-180.
Knook, D.L., 1973. Vrije radicalen en radicale bevrijding van veroudering. *Chem. Weekbl. 69 (37)* 9-11.
Leopold, A.C., 1964. Plant growth and development. McGraw-Hill, New York.
Lever, J., 1973. Geïntegreerde biologie. Oosthoek, Utrecht – Academische Paperback.
Matile, Ph. & F. Winkenbach, 1971. Function of lysosomes and lysosomal enzymes in the senescing corolla of the morning glory *(Ipomoea purpurea) J. Exp. Bot. 22:* 759-771.

Mayak, S. & D.R. Dilley, 1976. Effect of sucrose on response of cut carnation to kinetin, ethylene and abscisic acid. *J. Am. Soc. Hortic. Sci. 101:* 583-585.
Molisch, H., 1938. The longevity of plants. Science Press, Lancaster, Penn.
Nichols, R., 1977. Sites of ethylene production in the pollinated and unpollinated senescing carnation *(Dianthus caryophyllus)* inflorescence. *Planta 135:* 155-159.
Rubinstein, B. & A.C. Leopold, 1963. Analysis of the auxin control of bean leaf abscission, *Plant Physiol. 38:* 262-267.
Schneider, J., E. Gwozdz & A. Sweykowska, 1978. The role of cytokinins in the development and metabolism of barley leaves. II. The effect on the DNA-dependent RNA polymerase during leaf senescence. *Z. Pflanzenphysiol. 86:* 31-40.
*Veen, H., 1970. Bladval, een verouderingsverschijnsel. *Vakbl. Biol. 50:* 136-141.
*Veen, H., 1972. Hormonale regulatie van de bladveroudering. *Landbouwkd. Tijdschr. 84 (5)* 153-158.
*Veen, H., 1977. Verouderingsprocessen in hogere planten. *Natuur en Techniek 45 (11)* 740-759.
Veen, H. & S.C. van de Geijn, 1978. Mobility and ionic form of silver as related to longevity of cut carnations. *Planta 140:* 93-96.
Wollgiehn, R., 1967. Nucleic acid and protein metabolism of excised leaves. In: H.W. Woolhouse (Ed.): Aspects of the biology of ageing. Cambridge University Press. London. p. 231-246 – Symposium 21 of the Society of Experimental biology.
*Woolhouse, H.W., 1972. Ageing processes in higher plants. Oxford University Press, London – Oxford Biology Reader Series.
*Woolhouse, H.W., 1974. Longevity and senescence in plants. *Science Progress (Oxford) 61:* 123-147.
*Woolhouse, H.W., 1978. Senescence processes in the life cycle of flowering plants. *BioScience 28(1)* 25-31.

90, 91, 94, 97
glycosidase 98
maturatie 95
melaninevorming 98

Register

membraan 36, 37, 44-46, 48-51, 85, 86, 89, 97, 100, 102
meristeem 19, 28, 32, 78, 79, 98
intercalair – 19
methionine 102
mevalonzuur 17, 21
microfibrillen 45
mobiele-receptorhypothese 48, 49
monocarp 84

nafthylazijnzuur (NAA) 38, 80, 82
natriumbenzoaat 102
natriumisoascorbaat 102

PAA *zie fenylazijnzuur*
parenchymcellen 28, 33, 37-39
parenchymweefsel 12, 16
pectine 95, 98
pericykel 28, 29, 31, 33
pinocytose 98
plant growth regulator (PGR) *zie regulatoren*
plasmalemma 85
plasmamembraan 44, 46, 48
polariteit 26-28, 32-35, 37, 39
polycarp 84
polygalacturonase 97, 98
polyploïde 29, 31
primordiomorfen 31
primordium 25-29, 31, 32, 34, 35, 40
protonenexcretiehypothese 46-49
protonenpompen 46-49

quiescence 55

receptoreiwitten 44, 53
receptoren 42, 44, 48, 51, 52, 100
regulatoren (PGR) 15, 20, 59, 60, 81, 83, 90
respons
snelle – 49, 50
langzame – 50
rhizobitoxine 102
rhizocaline 28
ribose 16
– fosfaat 16
RNA 49, 50, 53, 66, 86, 92
RNase 89, 92
mRNA 49, 50, 52, 53, 64, 87
– polymerasen 52, 86
rRNA 89, 100
– vermeerdering 40
rozetplanten 19
rust 55, 57, 58
– breking 66-71
– inductie 60-64, 73
knop – 60-64
– organen 55, 56

sapstroom 16, 25, 78
schorsparenchymcel 30
senescence 85, 93
sink 67, 68, 90, 99
source 90
stofwisseling 17
steroïden 17
strekkingsgroei 49, 50
stresscondities 23, 61
stressfactoren 72
subapicale meristemen 19

α-tocoferol 102
tonoplast 44
totipotent 25, 30
thermoïnductie 78
transcriptie 50, 52, 53, 100
translatie 50, 64, 90
transpiratiestroom 16, 38
turgor 45

vaatbundels 29, 33, 34, 40, 99, 106
vernalisatie 78-80
veroudering 84, 85
verouderingshormoon 23
vitamine E 102
voedingsfactor 104

waterpotentiaal 98
winterannuellen 20
wortelprimordium 27, 28, 31, 34
  –cel 30
wortelvorming 27-31, 39, 40

xanthoxine 21, 22, 93, 101
xyleem 33, 34
  –sap 61, 63, 66-68
  –vaten 30

zaadkieming 19
zeatine 72
zeefvaten 12, 14, 19, 37-39
zilverion 93, 101, 102