

NEDERLANDSCHE PLANTENZIEKTENKUNDIGE (PHYTOPATHOLOGISCHE
VEREENIGING

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN

Ir N. VAN POETEREN †, PROF. DR W. K. J. ROEPKE
EN MEJ. H. L. G. DE BRUYN

REDACTIE-ADRES: Ir N. VAN POETEREN †, WAGENINGEN

KORTE MEDEDEELINGEN: Dr A. J. P. OORT, WAGENINGEN

DRUKKERS-UITGEVERS: H. VEENMAN & ZONEN, WAGENINGEN

2e Jaargang (1946)

5e en 6e aflevering

Sept. - Dec. 1946

DE BIOCHEMIE VAN HET PARASITISME ¹⁾

With a summary: Biochemistry of Parasitism

DOOR

Ir J. SNEEP

Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek te Wageningen

I. INLEIDING

De veelvuldige verschijningsvormen van het parasitisme stellen ons voor een probleem van ingewikkelde aard.

Enige zijden van dit probleem zijn:

1. biotrooph parasitisme.

(Voorbeelden: *Uredineae*, *Plasmodiophora brassicae*, e.a.)

Deze ziekteverwekkers kunnen niet buiten hun levende waardplant gekweekt worden. Op een dode waardplant kunnen zij zich niet ontwikkelen, ook al is de plant nog zo voorzichtig gedood, b.v. door een langdurige onderdompeling in gedestilleerd water.

2. perthotrooph parasitisme.

(Voorbeeld: *Sclerotinia sclerotiorum* op verschillende planten.)

Hierbij wordt het plantenweefsel eerst door den ziekteverwekker gedood en pas daarna onttrekt de parasiet er voedsel aan.

3. specialisatie en physiologische rassen bij parasieten.

Synchytrium endobioticum is een specialist in de aantasting van bepaalde *Solanaceeën*.

Zijn specialisatie gaat zover, dat van *Solanum tuberosum* bepaalde rassen, b.v. Thorbecke, Bravo, De Wet worden aangetast, terwijl andere als Alpha, Bevelander, Noordeling, Furore, Record, van de wratziekte verschoond blijven.

Van physiologische rassen zijn typische voorbeelden bij de graanroesten te vinden. Zo tast het ene ras van *Puccinia glumarum* andere tarwerassen aan dan het andere. Minder gespecialiseerd zijn in 't algemeen de schimmels die zich niet op levende planten kunnen ontwikkelen, maar wel als de planten gedood zijn. Hiertoe behoren de saprophyten, alsmede vele parasieten.

¹⁾ Ontvangen voor publicatie April 1946.

Voorbeeld van de laatsten: *Ascochyta phaseolorum* kan niet tot ontwikkeling komen op een levende lupineplant, maar wel op een gesteriliseerde. Voorbeeld van saprophyten: *Penicillium* spp. komen wel voor op dode of verzwakte tomaten, maar nooit op levenskrachtige (NOBECOURT, (15)).

4. ontstaan van woekeringen onder invloed van parasieten.

Voorbeelden: *Synchytrium endobioticum*, *Plasmodiophora brassicae*.

5. de bijzondere aantastingswijze van viren.

Deze activeren de stofwisseling van de cel, waarin ze doorgedrongen zijn, en beïnvloeden die stofwisseling zodanig, dat er stoffen gemaakt worden, die kunnen dienen voor de opbouw van hun eigen lichaam.

Bij het zoeken naar een verklaring van deze verschijnselen, m.a.w. naar een verklaring van het wezen van het parasitisme, moeten we uitgaan van het tegenover elkaar stellen van twee stofwisselingscomplexen, dat van de plant en dat van de parasiet. Deze stofwisselingscomplexen worden mede beheerst door ergonen en daarom zullen we eerst even stilstaan bij de invloed, die deze hebben op micro-organismen.

II. INVLOED VAN ERGONEN OP MICRO-ORGANISMEN

Reeds betrekkelijk vroeg waren al feiten bekend, die er op wezen, dat rein-cultures op geheel zuivere voedingsbodems moeilijkheden opleveren. LIEBIG is een van de eersten geweest, die hierop gewezen heeft. In 1860 schreef nl. PASTEUR, dat gisten en andere micro-organismen zich op voedingsbodems, welke samengesteld waren uit niets anders dan suikers van de kwaliteit „pro analyse” en anorganische zouten, eveneens van die kwaliteit, zich normaal ontwikkelden. LIEBIG kwam hier in 1871 tegen op en beweerde dat gist op zulke voedingsbodems niet wilde groeien.

Dit werd aanleiding tot een felle strijd. De autoriteit van PASTEUR op het gebied van de gisten deed diens opvattingen zegevieren, hoewel ze in werkelijkheid onjuist waren. Dit bleek in 1901, toen WILDIERS tot de ontdekking kwam, dat gist, om op voedingsbodems, samengesteld uit suikers en anorganische zouten, te kunnen groeien, ook kleine hoeveelheden natuurlijk substraat nodig had. De geheimzinnige stof, die hier een katalytische werking uitoefende, bleek van organische aard te zijn en werd „Bios” genoemd. (Een duidelijk overzicht van de ontwikkeling van het Bios-probleem geeft VAN HASSELT (8)). Dat het PASTEUR gelukte gist te kweken zonder „Bios”, moet aan het grote aantal cellen, waarmee hij entte, toegeschreven worden. Hierbij zullen ook dode cellen aanwezig geweest zijn, waaruit door autolyse „Bios” in de voedingsbodem kwam.

Het duurde tot 1924 voor nieuwe gegevens over de „Bios” verkregen werden. Het bleek toen, dat het geen enkelvoudige stof was. In 1928 werd het meso-inosiet er uit geïsoleerd, in 1930 het aneurine of vitamine B₁, in 1934 het pantotheenzuur, in 1935 het biotine (door KÖGL). In 1941 hebben KÖGL en BORG (10) de „factor Z”, welke de groei van de gist niet beïnvloedt, maar wel de gisting sterk stimuleert, als threonine geïdentificeerd.

Toen bekend werd, dat verschillende ergonen op bepaalde fungi een groei-stimulerende werking uitoefenden, ging men die, ook al oefenden ze generlei invloed op de gist uit, tot de „Bios” rekenen, waardoor dit begrip onduidelijk werd. Het verdient aanbeveling de naam „Bios” te reserveren voor die groep van ergonen, welke de groei en de stofwisseling van de gist stimuleren.

Ook bij de schimmels wezen reeds vroeg enige proeven erop, dat er naast de voedingsstoffen andere zijn die de groei kunnen stimuleren of ook wel remmen (zie NILS FRIES (5)). In 1869 vond RAULIN, dat *Aspergillus niger* beter groeide in een cultuurvloeistof, waarin hij al eens gekweekt was, dan in een vers bereide.

Later bestudeerde NIKITINSKY dit verschijnsel nader en kwam tot de conclusie, dat de schimmel een of meer organische stoffen afscheidt, die een stimulerende werking op zijn groei uitoefenen. LUTZ bestudeerde omstreeks 1909 de invloed van cultuurvloeistoffen, waarin hij schimmels gekweekt had, op andere fungi. Hij constateerde zowel stimulerende als remmende werkingen.

HARDER nam in 1911 proeven, waarbij hij meer dan een schimmel in een cultuurmedium liet groeien. Sommige fungi oefenden een gunstige invloed op elkaars groei uit, andere een remmende. Een groot aantal onderzoekers maakte studie van het antagonisme van schimmels onderling en tussen bacteriën en schimmels.

De tweede phase van het onderzoek begon met het zoeken naar de aard van de stimulerende stoffen. Eerst werden enige complexen in thermolabele en -stabiele stoffen gesplitst en van lieverlede slaagde men erin vitaminen en hormonen, die de oorzaak van de stimulerende werking bleken te zijn, zuiver te bereiden. Tegenwoordig kan men zelfs enige synthetiseren, zoals b.v. het aneurine of vitamine B₁.

Van de onderzoekers der laatste tien jaren is SCHOPFER (17, 18, 19) met zijn leerlingen JUNG (20) en BLUMER (2) bekend geworden door zijn studie over de invloed van aneurine op verschillende schimmels, voornamelijk op *Phycomyces Blakesleeanus*. Zij hebben aangetoond, dat aneurine op sommige fungi geen invloed uitoefent, bij andere stimulerend werkt, terwijl er vele zijn, die zich zonder aneurine in het geheel niet kunnen ontwikkelen.

Aneurine is opgebouwd uit Pyrimidine en Thiazol. Het bleek o.a. aan BLUMER (1), dat sommige fungi, die heterotrooph waren voor aneurine, zich ook konden ontwikkelen, als alleen pyrimidine aanwezig was. Andere, als alleen thiazol toegevoegd werd. Weer andere kunnen het molecuul alleen opbouwen, als beide componenten aanwezig zijn. Enkele kunnen dit zelfs niet en eisen het hele molecuul kant en klaar.

Een voorbeeld hiervan is *Phytophthora cinnamomi*, de veroorzaker van de streepkanker bij de kaneelboom.

NILS FRIES (5, 6) beperkte zich niet alleen tot aneurine, maar experimenteerde ook met meso-inosiet, biotine en adermine.

Aanleiding tot zijn onderzoekingen op het gebied der vitaminen en hormonen waren proeven, betrekking hebbende op de gunstige invloed, die enige saprophytische, ligniphile bacteriën hebben op *Polyporaceae*, de bekende parasieten op houtgewassen.

Het bleek, dat een filtraat van de vloeistof, waarin de bacteriën gekweekt waren, eveneens een stimulerende werking vertoonde. Al spoedig vond hij, dat aneurine het filtraat, wat betreft zijn stimulerende werking, geheel kon vervangen.

Dit resultaat vestigde zijn aandacht op het grote belang van vitaminen en hormonen (ergonen) voor de physiologie der fungi en op de belangrijke rol, die ze kunnen spelen in de natuurlijke samenleving.

Uit zijn werken blijkt, dat er schimmels zijn, die op ergonenvrije voedingsbodems alleen maar kunnen groeien als aneurine toegevoegd wordt (b.v. *Poly-*

porus adustus, die in dit opzicht te vergelijken is met *Phycomyces Blakesleeanus*).

Bij andere is biotine nodig (b.v. bij *Melanospora destruens*) en weer andere behoeven adermine (*Ophiostoma ulmi*). Deze schimmels zijn slechts t.o.v. een ergon heterotrooph. Er zijn er echter talrijke, die dit zijn t.o.v. meer dan een. Zo verlangt *Ophiostoma multiannulatum* aneurine + adermine, *Lophodermium pinastri* aneurine + biotine, *Nematospora gossypii* biotine + meso-inosiet en *Ascoidea rubescens* aneurine + adermine + biotine.

Respectabel is de lijst van schimmels die ergonen nodig hebben. Zij zijn opgesomd door ROBBINS en KAVANAGH (16).

Heeft een bepaalde schimmel geen toevoer van een bepaald ergon nodig, dan wil dat volstrekt nog niet zeggen, dat dat ergon geen rol speelt bij de ontwikkeling van die schimmel. FRIES (5) heeft nl. aangetoond, dat in de oplossing, waar *Polyporus adustus* in gekweekt was, biotine en meso-inosiet aanwezig waren, terwijl deze stoffen oorspronkelijk niet in de oplossing voorkwamen. Dit was eveneens het geval bij *Phycomyces Blakesleeanus*. Deze fungi kunnen dus de genoemde ergonen uit eenvoudige stoffen (glucose en anorganische zouten) synthetiseren.

Verschillende fungi kunnen elkaar, wat ergonen betreft, aanvullen. KÖGL en FRIES (11) hebben dit voor het eerst aangetoond voor *Polyporus adustus* en *Nematospora gossypii*.

Deze twee schimmels kunnen geen van beide in ergonenvrije voedingsbodems tot ontwikkeling komen. Ent men echter beide tezamen in een ergonenvrije voedingsoplossing, dan treedt wel groei op. Dit is een geval van kunstmatige symbiose: de *Polyporus* profiteert van het aneurine, dat *Nematospora gossypii* synthetiseert en deze laatste profiteert weer van de biotine en het meso-inosiet, dat de eerste synthetiseert.

FRIES (5) voerde ook een groot aantal quantitative bepalingen uit. Hij voerde hierbij het „Myzel : Wuchstoff-quotient” in; dit stelt het gewicht aan mycelium, dat bij sub-optimale doses van het ergon maximaal verkregen kan worden, gedeeld door de daarvoor benodigde hoeveelheid van het ergon, voor. Voor de onderstaande ergonen heeft dit quotiënt de volgende waarden:

Voor biotine	4.000.000
Voor aneurine	400.000–2.500.000
Voor adermine	300.000–1.400.000
Voor meso-inosiet	600– 900

Ook vele bacteriën hebben ergonen voor hun ontwikkeling nodig. Voor een algemeen overzicht wordt verwezen naar LWOFF (14) en JANKE (9).

Opvallend hoge eisen stelt hier *Staphylococcus aureus*.

Deze pathogene bacterie verlangt voor een optimale groei in een bepaalde verhouding: aneurine, biotine en nicotinezuur-amide (VAN WAGTENDONK (22)). Met de laatstgenoemde stof zijn bij fungi nog geen proeven genomen.

Niet onvermeld mag blijven het werk van KÖGL en HAAGEN SMIT (12). Zij beroofden kiemen van erwten van hun reservevoedsel door de zaadlobben weg te nemen. Daarna kweekten ze de plantjes steriel op een ergonenvrije voedingsbodem. Zowel biotine, aneurine, als oestron stimuleerden de groei. Het aneurine vooral van de wortels.

Op het Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek zijn door schrijver proeven genomen om de invloed van ergonen op schimmels na te gaan. Het

essentiële bij dergelijke proeven is, dat men steeds moet werken met een volkomen gedefinieerd medium. Dat houdt niet alleen in, dat het steriel moet zijn, maar ook geheel vrij van organische stof.

Verschillende vitaminen, zoals b.v. pantotheenzuur, komen op menigvuldige wijze in de natuur voor. Daarom moet alle glaswerk van tevoren gereinigd worden met een sterk oxydans, b.v. $\text{KMnO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$, vervolgens gespoeld met gedestilleerd water, gedroogd op een stofvrije plaats en tenslotte gesteriliseerd. Meestal werd gewerkt met een voedingsoplossing van FRIES van de volgende samenstelling:

glucose	20 g
NH_4 -tartraat	5 g
NH_4NO_3	1 g
KH_2PO_4	1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g
NaCl	0,1 g
CaCl_2	0,1 g
FeCl_3	10 druppels van een oplossing van 1 %

Alles vanzelfsprekend van de kwaliteit „Pro analyse”.

Vooral voor symbiosen tussen twee of meer schimmels of bacteriën zijn we aangewezen op voedingsoplossingen i.p.v. vaste voedingsbodems, daar bij de laatste de uitwisseling van ergonen niet, of slechts moeilijk kan plaats hebben.

Bij het enten moet men zo weinig mogelijk sporen of mycelium nemen, daar anders merkbare hoeveelheden ergonen in het voedingsmedium gebracht worden.

Van de resultaten der proeven zij voorlopig alleen het volgende vermeld:

Nematospora phaseoli, wil in ergonenvrije voedingsoplossing niet groeien. Ook *Phycomyces Blakesleeanus* wil hierin niet groeien. Enten we nu deze twee organismen tezamen in een ergonenvrije voedingsoplossing, dan treedt een geweldige groei op.

Wat is hier het geval?

Phycomyces Blakesleeanus is heterotroof voor aneurine, maar is wel in staat andere ergonen, w.o. biotine en meso-inosiet te synthetiseren. *Nematospora phaseoli* is heterotroof voor biotine en meso-inosiet, maar kan aneurine synthetiseren, m.a.w. *Phycomyces* kan profiteren van de aneurine van *Nematospora* en deze op zijn beurt van het biotine en meso-inosiet van *Phycomyces*. Verder produceert de ene partij geen schadelijke stoffen voor de gezondheid van de andere of omgekeerd; zo kan een symbiose ontstaan, waarbij vooral *Phycomyces*, zoals plaat X toont, wel vaart.

Verder werd geconstateerd, dat sporen van verschillende parasitaire schimmels, o.a. de *Ascochyta's* van *Phaseolus*, niet of slechts gebrekkig kiemen, in een druppel zuiver water, terwijl ze heel goed kiemen, als een geringe hoeveelheid gistextract toegevoegd is. In de natuur is het vaak zo, dat de sporen kiemen in een druppel water op een blad, een stengel, of een ander deel van de plant, om vervolgens het weefsel binnen te dringen. We moeten nu aannemen, dat in zo'n druppel, die op een plantendeel ligt, ergonen aanwezig zijn.

In de literatuur zijn inderdaad gevallen bekend, dat een druppel, die enige tijd op een blad gelegen had, organische en anorganische stoffen bevatte (men zie o.a. bij FUNKE (7)).

Bij dit overzicht van organische stoffen, die in uiterst geringe hoeveelheden een beslissende rol bij de ontwikkeling van micro-organismen spelen, hoort ook

zeker die groep van stoffen thuis, die de stofwisseling ontwrichten. De bekendste stof op dit gebied is wel het Penicilline, dat een stofwisselingsproduct is van *Penicillium notatum*. In Engeland en Amerika zijn vele van deze antibiotica ontdekt. De meeste zijn echter voor mens en dier toxisch, waardoor ze in de medische praktijk niet bruikbaar zijn; daardoor is aan hun aanwezigheid niet zoveel aandacht besteed als aan het Penicilline. Van mycologisch standpunt gezien zijn ze echter niet minder belangrijk dan laatstgenoemde stof. In de eerste plaats kunnen ze betekenis krijgen als bestrijdingsmiddel van plantenziekten en in de tweede plaats vormen ze een zeer interessant phenomeen van de stofwisseling der micro-organismen.

III. DE ROL DER ERGONEN IN DE LEVENDE CEL

Na bovenstaande opsomming van waarnemingen moeten we aandacht besteden aan de vraag: Welke rol spelen de ergonen in de levende cel in zulke geringe concentraties? Vooraf nog een opmerking over de nomenclatuur.

Onder een vitamine in ruimere zin verstaan we een organische stof, die in uitermate geringe hoeveelheid nodig is voor het normaal doen functionneren van de levensprocessen van de cel en van het organisme in het algemeen en die van buiten af opgenomen wordt.

Een hormoon is een organische stof, die in zeer geringe hoeveelheden nodig is voor het normaal functionneren van de levensprocessen van een organisme en die door het organisme zelf geproduceerd wordt. Het wezenlijke verschil tussen vitaminen en hormonen bestaat dus hierin, dat vitaminen niet door het organisme zelf gemaakt worden, en hormonen wel. Dit onderscheid is echter moeilijk te handhaven, hetgeen met een enkel voorbeeld uit het voorgaande duidelijk te maken is.

Phycomyces Blakesleeanus is niet in staat zelf aneurine te synthetiseren en moet deze stof van zijn omgeving betrekken.

In dit geval is aneurine dus een vitamine. Maar *Nematospora phaseoli*, *Ascochyta Bollshauseri*, *A. phaseolorum* en vele andere fungi kunnen het zelf synthetiseren. Hier is het dus een hormoon.

Daarom is er veel voor te zeggen, de beide groepen met VON EULER (4) samen te vatten onder de naam „ergonen”.

Andere namen, die we nogal eens tegenkomen, zijn: Wirkstoffe, Wachsstoffe, Wachstumsfactoren, facteurs de croissance, growth-promoting substances en growth-substances.

Van al deze namen is alleen „Wirkstoffe” te verdedigen, de andere komen alle op groeistoffen neer en deze benaming is niet algemeen, omdat ze meer speciaal betrekking heeft op een bepaalde groep en wel de auxinen van de hogere planten.

VON EULER (4) heeft studie gemaakt van de de hydrogenasen, enzymen, die bepaalde verbindingen kunnen dehydrogeneren. Door dialyse zijn deze enzymen te splitsen en wel in een deel met een betrekkelijk laag moleculair gewicht, het co-enzym, i.c. codehydrogenase, en een eiwitachtig deel, het apo-enzym, i.c. apodehydrogenase. Deze delen zijn op zichzelf niet in staat de enzymwerking te vervullen. Hiertoe moeten beide delen samengevoegd worden tot het gehele enzym. Terwijl het codehydrogenase de functie uitoefent van het enzym, nl. van waterstofoverbrenger, komt aan het apo-enzym de volgende functie toe:

- a. Bindt het zowel het co-enzym als het substraat en is daardoor de drager van de specifieke hoedanigheid van het enzym t.o.v. het substraat.
- b. Verleent het (ten dele doordat het de functionnerende groepen en het substraat zo dicht bij elkaar brengt, dat een reactie mogelijk wordt) aan het co-enzym een verhoogde werking.
- c. Verankert en localiseert het het enzym, waar het zijn werking uitoefent, terwijl het afsplitsbare, laagmoleculaire co-enzym vrijer en beweeglijker is.

Andere namen voor co-enzym, die ongeveer hetzelfde bedoelen, zijn: prosthetische groep en agon.

Voor het apo-enzym: eiwitdrager en pheron.

Enzymen zijn bij de levende cel de katalysatoren van de reacties, welke we in hun geheel de stofwisseling noemen. Ze werken niet alleen versnellend, maar ook richtinggevend en zijn dus te beschouwen als het fundamentele chemisme van de stofwisseling.

Het moderne onderzoek heeft nu voor verschillende ergonen kunnen aantonen, dat ze als prosthetische groep deel uitmaken van een enzym. En hiermee is dan voor een groot deel verklaard, hoe de ergonen in zulke geringe hoeveelheden zo'n groten invloed op de levensprocessen van de cel kunnen uitoefenen.

Zo is gebleken, dat aneurine-pyrofosfaat de prosthetische groep is van het enzym decarboxylase, dat decarboxylerend werkt. Dit enzym vervult o.a. bij de alcoholische gisting een belangrijke functie. Het splitst daarbij het pyrodruivenzuur in acetyl-aldehyde en CO_2 .

Vitamine B_2 of lacto-flavine is de prosthetische groep van het gele ademhalingsferment.

Nicotinezuuramide is het werkzame deel van de prosthetische groep van het dehydrogenase I en II.

Hoogstwaarschijnlijk speelt ascorbinezuur een soortgelijke rol.

Van de andere ergonen heeft men de functie in de stofwisseling nog niet vast kunnen stellen.

VON EULER (1938) heeft uit bovengenoemde ontdekkingen reeds de consequentie getrokken en rekent dan ook de co-enzymen tot de ergonen.

IV. PARASITISME EN PHYSIOLOGIE

(Een werkhypothese)

Vatten we de belangrijkste punten, die om een verklaring vragen in verband met het wezen van het parasitisme, nogmaals samen, dan komen we tot de reeds in de inleiding vermelde vijf vraagstukken:

1. biotrooph parasitisme.
2. perthotrooph parasitisme.
3. specialisatie van de pathogenen.
4. ontstaan van de woekeringen onder invloed van pathogenen.
5. de aantastingswijze van viren.

In hoofdzaak zijn slechts twee verklaringen voor het parasitisme gegeven:

- a. het eenzijdig betrekken van voedsel door het pathogeen.
- b. de twee theorieën van DEN DOOREN DE JONG ter verklaring van het biotrooph parasitisme.

Verklaring *a* kan hoogstens dienen voor punt 3, de specialisatie, als wij aannemen, dat het pathogeen zeer speciale stoffen vraagt, die slechts in een of enkele rassen voorkomen. Direct werpt zich dan echter de vraag op, hoe het komt, dat de biotrophe parasieten als b.v. *Uredineae* of *Plasmiodiophora* niet meer op hun voedsterplant willen groeien als deze gedood is, hoe voorzichtig dat doden ook gebeurd is, b.v. door langdurige onderdompeling in gedestilleerd water. Ook kan geen verklaring gegeven worden voor het verschijnsel, dat vele parasitaire schimmels, die niet op een bepaalde plantensoort tot ontwikkeling kunnen komen, hierop wel groeien, als die plant gedood is. De voorbeelden hiervan zijn legio. Zo groeit b.v. *Ascochyta phaseolorum* zowel op levende als dode bonenplanten, maar op lupinen, alleen als de planten gedood zijn. NOBECOURT (15) heeft er op gewezen, dat saprophyten vaak voorkomen op dode of verzwakte planten, b.v. *Penicillium* op tomaat. Op levenskrachtige planten komen deze saprophyten niet voor.

Voor dit alles geeft het onder *a* genoemde geen verklaring. Evenmin voor de punten 1, 2, 4 en 5.

DEN DOOREN DE JONG (3) is een stap verder gegaan, om een verklaring te vinden voor de levenswijze van de bacteriën, die niet in staat zijn zich buiten levende weefsels te ontwikkelen, zoals *Mycobacterium leprae* en *Treponema pallidum*. Hij oppert twee mogelijkheden:

a. de ergonen, die de bacteriën nodig hebben, zijn zo weinig stabiel, dat zij reeds bij isolatie buiten het levende weefsel van natuur zijn veranderd en daardoor onbruikbaar geworden.

Inderdaad zijn enige gegevens bekend, die deze zienswijze kunnen steunen. Reeds noemden we het geval, dat *Phytophthora cinnamomi* wel groeit als het aneurinemolecuul in zijn geheel aanwezig is, maar niet, als het in zijn twee componenten, pyrimidine en thiazol, wordt toegevoegd. Maar deze theorie geeft geen algeheel beeld van het parasitisme: De betrekkingen tussen weefsel en pathogeen zijn van veel ingewikkelder aard.

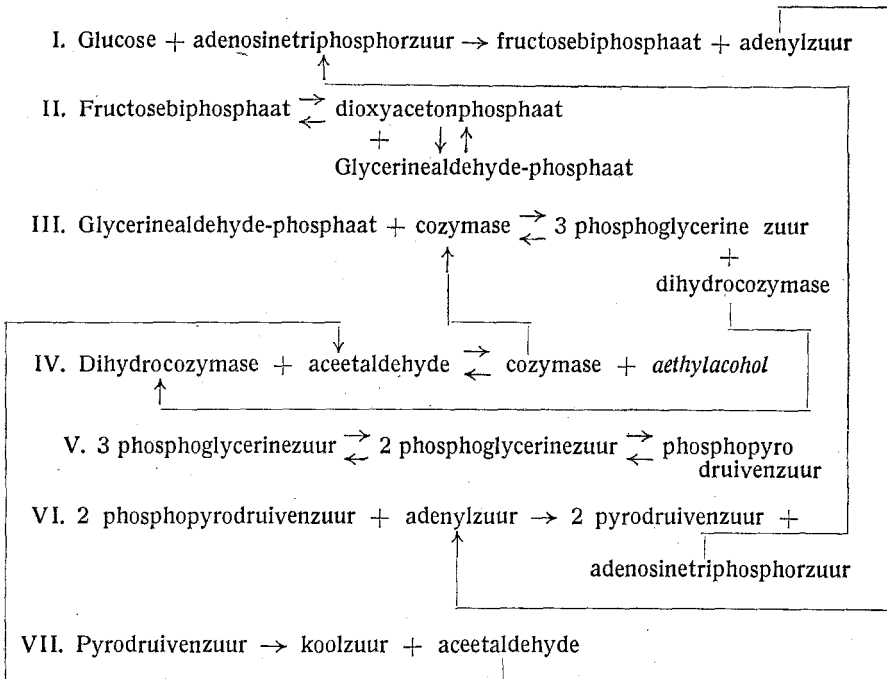
b. Bij zijn tweede theorie gaat DEN DOOREN DE JONG nog verder, en neemt aan, dat bij biotrooph parasitisme de ergonen, die de micro-organismen nodig hebben, door hun gastheer slechts onder prikkeling worden afgescheiden. Hier wordt dus ook de reactie van de gastheer in beschouwing genomen. Deze theorie kan inderdaad dienen voor een verklaring van het biotrooph parasitisme en misschien ook voor het ontstaan van woekeringen en gedeeltelijk ook voor de specialisatie. Vanzelfsprekend geeft ze echter geen verklaring voor het verschijnsel, dat vele parasieten niet meer gespecialiseerd zijn t.o.v. dode of verzwakte planten. Evenmin voor het perthotrophe parasitisme en voor de bijzondere verschijnselen bij een virusaantasting.

Daarom moeten we nog een stap verder gaan, door de twee stofwisselingscomplexen, dat van de gastheer en dat van het pathogeen, in hun geheel tegenover elkaar te stellen en de mogelijkheden bij een contact na te gaan.

Als voorbeeld voor een stofwisselingscomplex kunnen we het best de alcoholische gisting nemen (overgenomen van KLUYVER in KONINGSBERGER, Deel II, p. 284 (13)) (zie blz. 9).

Dit is waarschijnlijk het best onderzochte deel van wat op stofwisselingsgebied tot dusver gedaan is. Het is een typisch enzymatische dissimilatie, die niet principiël zal verschillen van de dissimilatieve stofwisselingsverschijnselen van andere organismen.

Vereenvoudigd schema van de alcoholische gisting (1939)
(stationnaire phase)



Bij dit systeem vallen vooral drie dingen op:

a. Het grote aantal schakels, zeven + vijf = twaalf. De producten van de ene reactie worden direct weer in de volgende betrokken. Wordt één der schakels in deze gecompliceerde keten onwerkzaam gemaakt, dan wordt het hele systeem ontwricht en kan van een normale stofwisseling geen sprake zijn. Zo is bekend, dat er geen alcohol ontstaat, als men het aceetaldehyde met sulfiet onwerkzaam maakt. Het dihydrocozymase kan hierdoor zijn waterstof niet overdragen aan het aceetaldehyde, waarbij aethylalcohol gevormd wordt. In de plaats hiervan wordt de waterstof overgedragen aan het glycerinealdehyde, waardoor glycerine ontstaat.

b. Het grote aantal evenwichten, zes in totaal. Ontstaat ergens een ophoping, doordat een bepaalde stof niet verwerkt kan worden, of van buiten af in het systeem gebracht wordt, dan kan de stofwisseling op bepaalde punten in negatieve richting gaan werken.

c. De grote betekenis van de enzymen bij dit proces, zonder welke het niet zou kunnen bestaan. Er worden in het schema slechts twee enzymen genoemd: het zymase en het decarboxylase, maar in werkelijkheid zijn er veel meer en iedere reactie berust eigenlijk op de werking van een enzym, dat op zijn beurt zijn werkzaamheid dankt aan de activiteit van een ergon, dat als co-enzym fungeert.

Terecht wordt de stofwisseling genoemd: een complex van dynamische evenwichten, gedreven door enzymen. Het geheel is een buitengewoon samengesteld en kwetsbaar systeem. Samengesteld, vooral als we bedenken, dat het weerge-

geven schema slechts een sector is uit de dissimilatieve stofwisseling, waardoor heen nog de assimilatieve stofwisseling loopt. Kwetsbaar, gezien het grote aantal kettingreacties en de zeer specifieke eisen, die de enzymen voor hun werking stellen.

Stellen we bij de betrekkingen tussen plant en pathogeen het stofwisselings-systeem van de plant tegenover dat van het pathogeen, wat kunnen we dan van de vijf genoemde verschijnselen van het parasitisme verklaren? Beter gezegd: welke mogelijkheden voor een verklaring kan zulks inhouden?

Van phytopathologisch standpunt bekeken, kunnen we de micro-organismen in drie grote groepen indelen.

- I. Saprophyten. Deze kunnen volstaan met het voedsel, en eventueel de ergonen, in dode stof aanwezig; zij tasten geen levende planten aan.
- II. Parasieten, die op dode stof te kweken zijn, waarbij meestal ergonen geëist worden.
- III. Parasieten, die niet buiten hun levende voedsterplant te kweken zijn.

De saprophyten zijn over het algemeen weinig gevoelig of zelfs onverschillig voor ergonen.

De parasitaire organismen stellen hoger eisen ten aanzien van de ergonen en die eisen zijn meestal hoger naarmate de parasiet meer gespecialiseerd is (VERNER en TIURINA (21)). Ze zijn dus niet in staat zelfstandig hun stofwisselingschemisme op te bouwen.

Over het verschil tussen de tweede en de derde groep is in dit opzicht niets bekend, daar de vertegenwoordigers van de laatste groep uit de aard der zaak niet voor onderzoek buiten de levende voedsterplant toegankelijk zijn. Het ligt echter in de lijn, dat we hier kunnen extrapoleren wat de onvolledigheid van het stofwisselingschemisme betreft.

Welke verandering vindt er plaats bij het sterven van de voedsterplant, dat dan de biotrophe gast er niet meer op groeien wil? Het ophouden van de stofwisseling! Dit is immers het wezenlijke kenmerk van het sterven. NOBÉCOURT (15) heeft er bij zijn studie over de immuniteit al op gewezen, dat de verhouding tussen een plant en een parasiet over het algemeen niet in de eerste plaats bepaald wordt door de „statische” chemie, dus de aanwezigheid van eiwitten, alcaloiden, etherische oliën, enz., maar in hoofdzaak door de „vitaliteit” van de plant, m.a.w. door het al of niet hebben van een (krachtige) stofwisseling.

Combineren we de twee punten, nl. de onvolledigheid van het eigen stofwisselingschemisme en de eis, dat de voedsterplant een functionerende stofwisseling moet hebben, dan ligt het voor de hand te vermoeden, dat de levende plant bepaalde onderdelen van de stofwisseling van het biotrophe pathogeen overneemt. Anders gezegd: dat bepaalde trajecten van de stofwisseling van de levende plant aanvullend werken op de „leemten” in de stofwisseling van het pathogeen, waardoor dit, profiterende van de bij dissimilatieve omzettingen van de plant vrijkomende energie, in staat is bepaalde stoffen op te nemen en tot bouwstenen voor het eigen lichaam te transformeren. Hierbij wordt dus aangenomen, dat bepaalde trajecten van de stofwisseling niet in de cellen van het pathogeen plaats vinden, maar er buiten, in de cellen van de voedsterplant, terwijl de parasiet toch profiteert van de resultaten van die reacties (zowel stof als energie). Het spreekt vanzelf dat de plant hierdoor beïnvloed zal worden en afwijkingen gaan vertonen van zijn normale levensfuncties.

De parasiet toch onttrekt stoffen en scheidt andere stoffen af, hetgeen ver-

schuiving van het evenwicht meebrengt. Onder ditzelfde gezichtspunt zal men waarschijnlijk niet alleen de biotrophe parasieten uit het plantenrijk (bacteriën en schimmels) maar ook die uit het dierenrijk (b.v. biotrophe nematoden en galvormende insecten) kunnen vatten. Ook op de viren kan men deze gedachtengang toepassen.

Hierbij sluit direct de specialisatie aan (punt 3). Stellen we weer de zelfstandige stofwisseling van de plant tegenover de onvolledigheid van het pathogeen, dan is het (eenvoudig gezegd) nodig, dat de eerste past in de „leemten” van de tweede, wil een samenleving tussen plant en biotrophe pathogeen mogelijk zijn. We zouden dit kunnen vergelijken met een sleutel en een slot. Opmerkelijk is het dan ook, dat het juist de biotrophe pathogenen zijn, die zo sterk gespecialiseerd zijn. Een klein verschil in de stofwisseling (rasverschil) kan beslissend zijn met betrekking tot resistentie en vatbaarheid voor een bepaald pathogeen, of biologisch ras daarvan. Komen twee stofwisselingscomplexen in contact, dan kan het zijn, dat reactieproducten of enzymen van het ene systeem onwerkzaam gemaakt worden door die van het andere. Is dit bij het pathogeen het geval, dan is het niet op de plant gespecialiseerd.

Het omgekeerde kan echter ook voorkomen, nl. dat de stofwisseling van de plant ontwricht wordt; zij wordt dan als het ware vergiftigd. Dit is het geval bij perthotrophe pathogenen, die de weefsels van de plant al met hun stofwisselingsproducten doden, voor ze zelf die weefsels bereikt hebben.

Het verschijnsel, dat bepaalde schimmels levende planten niet kunnen aantasten, maar dode wel, kan verklaard worden door aan te nemen, dat die schimmels de stofwisseling van de levende plant niet verdragen, omdat daarbij stoffen, dan wel enzymen voorkomen, die hun eigen stofwisseling ontwrichten.

Heeft de plant geen stofwisseling meer, dus is ze dood, dan bestaat die belemmering niet meer en dan kunnen ze er wel op groeien. Dit is het geval bij de saprophyten.

Ook wordt hiermee verklaard, dat vele parasitaire schimmels t.o.v. levende planten meer gespecialiseerd zijn dan t.o.v. dode.

Het ontstaan van woekeringen onder invloed van pathogenen (punt 4) moet gezien worden als een gevolg van het inbrengen van bepaalde stofwisselingsproducten en/of enzymen in het stofwisselingssysteem van de plant, waardoor dit gedeeltelijk van richting verandert, welke verandering resulteert in een sterke plaatselijke groei of celdeling. We kunnen hier denken aan de vergelijking met galvorming bij planten onder invloed van stoffen, die door bepaalde insecten afgescheiden worden.

Samenvattend kunnen we zeggen:

De plant heeft een volledig stofwisselingschemisme, samengesteld uit een complex van dynamische evenwichten, gedreven door enzymen.

De pathogenen daarentegen hebben een in verschillende graden onvolledig stofwisselingschemisme.

Willen we de betrekkingen bestuderen, die bestaan tussen de plant en een pathogeen, dan moeten we uitgaan van de stofwisselingschemismen van beide partijen, ze tegenover elkaar stellen en na gaan wat gebeurt als chemisch contact gemaakt wordt.

SUMMARY

Experiments have been made in order to study the significance of ergones for some fungi. *Nematospora phaseoli* proved not to make any growth in a nutrient solution free from ergones. Nor did *Phycomyces Blakesleeanus*. When however both these organisms were brought into a nutrient solution free from ergones both of them did grow and the sporangiophores of the *Phycomyces* developed (plaat X). *P. Blakesleeanus* uses the aneurine, which *N. phaseoli* synthesizes, whereas the latter fungus uses the biotine, which is synthesized by the former.

Many ergones have proved to be co-enzymes, prosthetic groups or agonies. In connection with the function of the enzymes in the metabolic fermentation (page 133) a trial is made to explain different forms and phenomena of parasitism e.g.

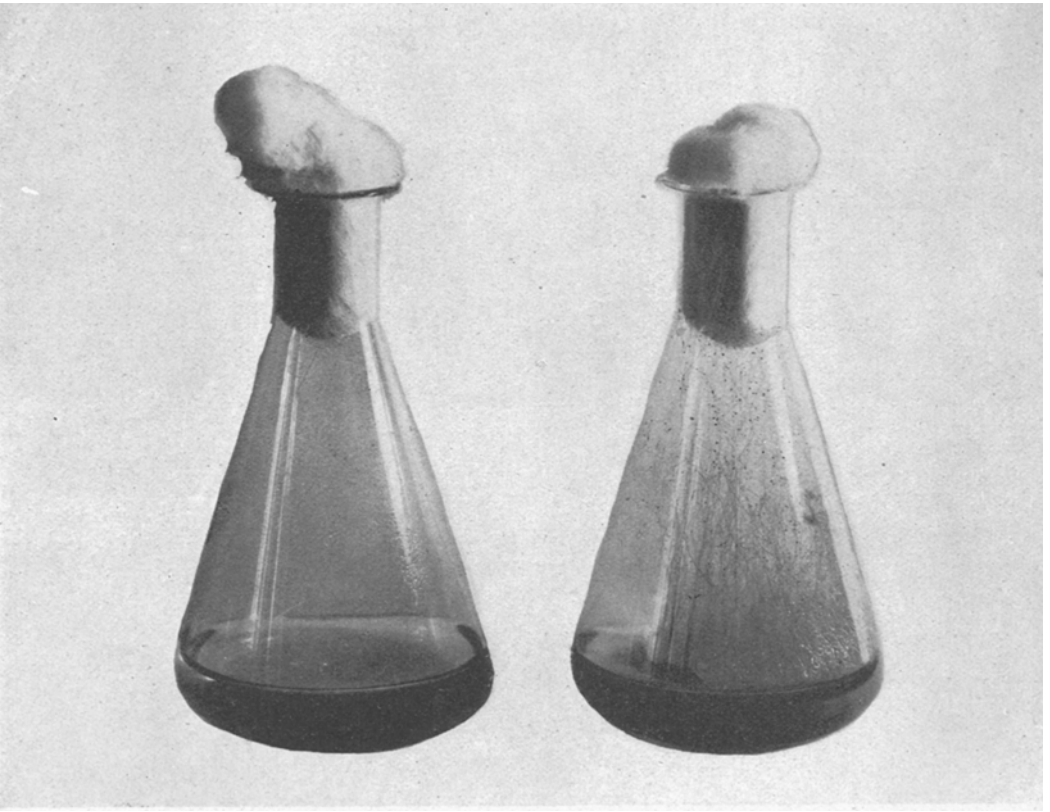
1. biotrophic parasitism.
2. perthotrophic parasitism.
3. specialization of pathogenes.
4. hypertrophic development of parasitized tissues.
5. virus development in plants.

It may be taken as granted that the plant has a complete metabolic system and that the biotrophic parasite has an incomplete one, the latter being completed by ergones derived from the plant. Reciprocally the metabolic system of the plant is influenced by the pathogene.

LITERATUUR

1. BLUMER, S., Ueber die Aneurinheterotrophie bei einigen antherenbewohnenden Brandpilzen. Mitt. Naturf. Ges. in Bern a. d. Jahre, 1940: 19-36.
2. BLUMER, S. und SCHOPFER, W. H., Beiträge zur Biologie und Wirkstoffphysiologie von *Ustilago scabiosae* Winter. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 50: 248-272, 1940.
3. DOORN DE JONG, L. E. DEN, Een en ander over bacterieele groeistoffen. Vakbl. v. Biologen 23: 38-43, 1942.
4. EULER, H. VON, Bedeutung der Wirkstoffe (Ergone), Enzyme und Hilfstoffe im Zellenleben. Ergebnisse d. Vitamin- und Hormonforschung 1: 159-190, 1938.
5. FRIES, N., Ueber die Bedeutung von Wuchsstoffe für das Wachstum verschiedener Pilze. Uppsala, 1938.
6. ———, Die Einwirkung von Adermin, Aneurin und Biotin auf das Wachstum einiger Ascomyceten. Uppsala, 1943.
7. FUNKE, G. L., Experimenteele Plantensociologie. Gorinchem, 1943.
8. HASSELT, W. VAN, Onderzoekingen over het Biosvraagstuk. Diss. Utrecht, 1935.
9. JANKE, A., Die Wuchsstofffrage in der Mikrobiologie. Zbl. Bakt. Abt. II, 100: 409-459, 1939.
10. KÖGL, F. und BORG, W. A. J., Hefewachstum, Gärung und Faktor-Z-wirkung H.S. Zeitschr. f. Physiol. Chemie 269: 97-134, 1941.

11. KÖGL, F. und FRIES, N., Ueber den Einfluss von Biotin, Aneurin und Mesoinosit auf das Wachstum verschiedener Pilzarten. H.S. Zeitschr. f. Physiol. Chemie 249: 93–110, 1937.
12. KÖGL, F. und HAAGEN SMIT, A. J., Biotin und Aneurin als Phytohormone. H.S. Zeitschr. f. Physiol. Chemie 243: 209–226, 1936.
13. KONINGSBERGER, V. J. e.a., Leerboek der Algemeene Plantkunde. Amsterdam, 1942.
14. LWOFF, A., Les facteurs de croissance pour les microorganismes. Ann. de l'Institut Pasteur 61: 580–617, 1938.
15. NOBÉCOURT, P., Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux. Tunis, 1928.
16. ROBBINS, W. J. and KAVANAGH, V., Vitamin Deficiencies of the Filamentous Fungi. Bot. Rev. 8: 411–471, 1942.
17. SCHOPFER, W. H., Versuche über die Wirkung von reinen Vitaminen B auf Phycomyces. Ber. deutsch. Bot. Ges. 52: 308–312, 1934.
18. ———, Recherches sur l'utilisation des facteurs de croissance par un micro-organisme. La synthèse biologique des facteurs de croissance. Archiv. f. Mikr. 6: 196–207, 1935.
19. ———, Vitamines et facteurs de croissance chez les plantes. Contribution à l'étude quantitative des conditions d'action des facteurs de croissance sur Phycomyces. Archiv. f. Mikr. 6: 510–531, 1935.
20. SCHOPFER, W. H. et JUNG, A., Facteurs de croissance chez les plantes. Recherches sur l'action des extraits d'Aspergillus sur le développement de Phycomyces. Recherches sur la synthèse de la vitamine B₁. Archiv. f. Mikr. 6: 334–344, 1935.
21. VERNER, A. and TIURINA, A., Comparative study of the requirement of fungi for growth-substances B. C.R. (Doklady) de l'Acad. d. Sc. de l'U.R.S.S. 23: 273–275, 1939.
22. WAGTENDONK, W. J. VAN, Een onderzoek naar de groeifactoren van Staphylococcus aureus. Diss. Utrecht, 1937.



Kunstmatige symbiose van *Phycomyces Blakesleeana* met *Nematospora Phaseoli*
Links: *Phycomyces*, geënt in de ergonen-vrije voedingsoplossing. Geen ontwikkeling. Rechts: *Phycomyces* tezamen met *Nematospora* in dezelfde ergonen-vrije voedingsoplossing. De sporangiosporen van *Phycomyces* groeien tot aan de wattenprop. Beide cultures zijn even oud. Temperatuur 24 °C

(Foto Boekhorst)