

DE KRINGLOOP VAN STIKSTOF IN DE NATUUR

Rede

*uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt
van hoogleraar in de microbiologie aan de
Landbouwhogeschool te Wageningen,
op dinsdag 22 januari 1957*

door

Dr E. G. MULDER



'S GRAVENHAGE
MARTINUS NIJHOFF
1957

*Mijne Heren Curatoren,
Dames en Heren Hoogleraren, Lectoren,
Docenten en Leden van de Wetenschappelijke Staf,
Dames en Heren Studenten, en voorts Gij
allen, die hier aanwezig zijt,*

Zeer geachte toehoorders,

Van de elementen, die nodig zijn voor de voeding van plantaardige en dierlijke organismen, is stikstof één der voornaamste. De oorzaak hiervan is gelegen in het feit, dat deze voedingsstof in belangrijke mate bijdraagt tot de opbouw van de meeste voor de levensprocessen noodzakelijke verbindingen. In het bijzonder moeten worden genoemd de eiwitten van het cytoplasma, die als enzymen of als onderdeel hiervan nauw verbonden zijn met vrijwel alle levensverrichtingen. Niet minder belangrijk zijn de zgn. ribonucleoproteïnen en desoxyribonucleoproteïnen, verbindingen van eiwitten met ribose- resp. desoxyribose-nucleïne-zuren, die als dragers van de erfelijke eigenschappen van de cel eveneens van fundamenteel belang zijn voor het levende organisme. Behalve als bouwsteen van de genoemde eiwitten komt stikstof voor in een aantal andere verbindingen, die nauw met het leven samenhangen, zoals pyridinen, purinen e.a.

Als gevolg van de grote stikstofbehoefte van het levende organisme is een regelmatige toevoer van stikstofhoudende verbindingen een gebiedende eis. De vorm, waarin deze stikstofvoeding plaats vindt, is voor de verschillende typen van organismen zeer verschillend. Hij loopt uiteen van elementaire stikstof (N_2) bij micro-organismen zoals *Azotobacter*, *Clostridium pasteurianum*, *Rhizobium* en enkele andere, via ammoniumzouten en nitraten bij planten en vele micro-organismen, tot een volledig menu van aminozuren en stikstofhoudende groeistoffen bij dieren en bij een aantal bacteriën. Bij de eerstgenoemde groep is het synthetiserend vermogen maximaal, bij de laatste minimaal.

Het feit, dat de verschillende typen van organismen een zo uiteenlopende kwalitatieve stikstofbehoefte hebben, brengt met zich mee, dat er een nauw verband bestaat tussen enerzijds het bestaan van de autotrofe groene planten, die met behulp van het zonlicht anorganische koolstof- en stikstofverbindingen omzetten in or-

organische verbindingen en anderzijds de heterotrofe dierlijke organismen, die hun lichaamsstoffen slechts met behulp van deze organische koolstof- en stikstofverbindingen kunnen opbouwen. Vele micro-organismen zijn eveneens heterotroof; sommige hebben alleen organische koolstofverbindingen nodig, andere zowel organische koolstof- als stikstofverbindingen.

Uit het voorgaande volgt, dat de dierlijke organismen zowel als de meeste micro-organismen alleen dank zij de werkzaamheid van de groene plant kunnen gedijen. Maar de omzetting van organische stoffen van de planten in die van de dieren en de micro-organismen is slechts mogelijk dank zij de afbraak van een aanzienlijk deel van de organische voedingsstoffen. De bij deze afbraak vrijkomende energie dient dan voor een belangrijk deel voor de synthese van de eigen celbestanddelen.

De omzetting van organische C- en N-verbindingen in hun anorganische bouwstenen, CO_2 , H_2O en NH_3 , door dieren en heterotrofe micro-organismen is van grote betekenis voor de groene planten. Zonder deze omzetting zou alle koolzuur spoedig uit de atmosfeer en alle nitraat en ammoniak uit de lithosfeer zijn verdwenen, zodat verdere plantengroei onmogelijk zou zijn geworden. Duidelijk blijkt hieruit, dat voor het voortbestaan van het leven op aarde de elementen koolstof en stikstof in de natuur een kringloop moeten ondergaan, waarbij ze van anorganische in organische en vervolgens weer in anorganische verbindingen worden omgezet.

Hoewel de kringloop van het element stikstof overeenkomstig vertoont met die van het element koolstof, zijn er toch ook belangrijke verschillen. Zo wordt bij koolstof de binding van het anorganische koolzuur tot organische koolstofverbindingen door elke groene plant en in geringere mate door vele micro-organismen uitgevoerd. De voorraad aan koolzuur in de atmosfeer is beperkt, zodat een onvoldoende afbraak van organische stof spoedig tot koolzuurtekort aanleiding zou geven.

In tegenstelling tot koolstof kan de in de atmosfeer voorkomende gasvormige stikstof (N_2) slechts door enkele micro-organismen in organische verbindingen worden omgezet. De groene planten en vele micro-organismen zijn voor hun voeding aangewezen op nitraat en ammoniumverbindingen.

Het is nu mijn bedoeling de lotgevallen van het element stikstof bij zijn kringloop in de natuur aan een nadere beschouwing te onderwerpen. Ik maak hierbij gaarne gebruik van de mogelijkheid, die de moderne techniek door het verschaffen en bepalen van zware

isotopen ons biedt, om onderscheid te maken tussen toegediende en reeds in het medium aanwezige stikstofverbindingen.

Binding van elementaire stikstof

Hoewel 80% van de ons omringende atmosfeer uit elementaire stikstof (N_2) bestaat, is deze voorraad voor verreweg de meeste planten en micro-organismen van generlei betekenis. Zoals ik eerder al opmerkte, zijn maar enkele micro-organismen in staat de elementaire stikstof voor hun voeding te gebruiken. Men kan deze stikstofbindende micro-organismen in twee groepen verdelen, de vrijlevende en de organismen die alleen in symbiose met een hogere plant tot stikstofbinding in staat zijn.

De eerstgenoemde groep omvat enkele vertegenwoordigers van het geslacht *Azotobacter* nl. de in de grond voorkomende *Azotobacter chroococcum* en de in bepaalde soorten afvalwater voorkomende *A. agile*, beide voor het eerst door Beijerinck in 1901 beschreven. *Azotobacters* zijn grote, aerobe bacteriën, die alleen in een neutraal of alkalisch milieu in staat zijn zich te ontwikkelen en luchtstikstof te binden. Tot deze groep behoren ook verschillende soorten van het geslacht *Beijerinckia*. Het zijn op *Azotobacter* gelijkende organismen, die zich o.a. onderscheiden door het vermogen bij lage pH te groeien. Ze zijn tot nu toe alleen uit tropische gronden geïsoleerd.

Een andere vrijlevende stikstofbindende bacterie is de in 1893 door Winogradsky voor het eerst geïsoleerde anaerobe sporenvormende *Clostridium pasteurianum*, een organisme, dat behoort tot de groep der boterzuurbacteriën. De stikstofbinding, die bij *Azotobacter* 10–20 mg stikstof per gram verbruikte suiker bedraagt, is bij *Clostridium* maximaal 10 mg per gram vergiste suiker.

Het mechanisme van de stikstofbinding bij *Azotobacter* en *Clostridium* is nog steeds niet volledig opgehelderd. Hoewel reductie van de elementaire stikstof tot ammoniak, gevolgd door een reactie met α -ketoglutaarzuur tot glutaminezuur de meest waarschijnlijke weg is, wordt door de Finse onderzoeker Virtanen nog steeds aan de mogelijkheid van een oxydatie van de elementaire stikstof gedacht. De ontstane verbinding zou via hydroxylamine op dezelfde manier worden gereduceerd als het geval is bij de nitraatvoeding. Het door ons geconstateerde feit, dat de molybdeenbehoefte van *Azotobacter chroococcum* bij nitraatvoeding slechts $\frac{1}{10}$ deel bedraagt van de hoeveelheid, die nodig is bij de binding van elementaire

stikstof, wijst, in tegenstelling tot de opvatting van Virtanen, niet op het bestaan van gelijke reactieschema's bij de assimilatie van de twee genoemde stikstofverbindingen.

Behalve publicaties over stikstofbinding door *Azotobacter* en *Clostridium pasteurianum* zijn in de loop der laatste 50 jaar herhaaldelijk mededelingen verschenen over de binding van elementaire stikstof door andere organismen dan de juistgenoemde. Bij kritische beschouwing van de door verscheidene onderzoekers verkregen resultaten moet men wel tot de conclusie komen dat, met uitzondering van de resultaten met blauwwieren, tot voor kort zeer sterk aan de positieve uitkomsten van deze stikstofbindingsproeven moest worden getwijfeld. De hoeveelheden stikstof, die gebonden zouden zijn, waren veelal zo gering, dat ze binnen de proeffout van de analyse vielen.

Anders werd de situatie toen met behulp van het zware isotoop N^{15} stikstofbindingsproeven konden worden uitgevoerd. Nu bleek, dat er inderdaad vrij veel bacteriën en algen in de natuur voorkomen die in staat zijn kleine hoeveelheden elementaire stikstof te binden. Behalve verschillende vertegenwoordigers van het geslacht *Clostridium* en een groot aantal soorten behorende tot verschillende geslachten der *Myxophyceae* (blauwgroene algen), zijn het vooral de fotosynthetisch werkzame bacteriën van de geslachten *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodomicrobium*, *Chromatium* en *Chlorobacterium*, die moeten worden genoemd.

Hoewel het moeilijk is, nauwkeurige cijfers te geven over de betekenis van de vrijlevende stikstofbindende micro-organismen voor de stikstofeconomie van onze gronden, is het wel waarschijnlijk, dat hun bijdrage niet groot is. Dit moge blijken uit de volgende overwegingen. Voor de binding van 1 kg luchtstikstof wordt door *Azotobacter* 75-100 kg koolhydraat verbruikt. Dit is echter alleen maar het geval, indien geen assimileerbare stikstofverbindingen in de grond aanwezig zijn. Is dit wel het geval, dan assimileert de bacterie deze verbindingen en vindt geen binding van elementaire stikstof plaats. Bovendien ondervindt *Azotobacter* dan de concurrentie van vele andere micro-organismen. Aangezien bij de anaerobe stikstofbinder *Clostridium pasteurianum* soortgelijke overwegingen gelden, terwijl bij alle andere vrijlevende stikstofbinders nog aanzienlijk lagere waarden dan voor *Azotobacter* zijn gevonden, lijkt het niet te veel gewaagd, aan te nemen, dat de door vrijlevende stikstofbinders per jaar gebonden stikstof niet meer dan enkele kg per ha bedraagt. Hoewel een dergelijke bijdrage in de stikstofvoor-

ziening voor gebieden met een extensieve landbouw van enig belang kan zijn, heeft hij voor onze cultuurgronden, waar de stikstofonttrekking door de gewassen 75–200 kg stikstof per ha per jaar bedraagt, weinig te betekenen.

Het is niet uitgesloten, dat de bijdrage van bepaalde stikstofbindende blauw-groene wieren van grotere betekenis zal blijken te zijn dan die van de genoemde bacteriën. Deze wieren zijn nl. in staat zowel koolzuur als stikstof uit de atmosfeer te binden, zodat de koolstofvoorziening als beperkende factor bij de stikstofbinding geen rol van betekenis zal spelen. In het bijzonder op natte gronden, zoals bv. de sawa's van de natte rijstcultuur, zou deze vorm van stikstofbinding van belang kunnen blijken te zijn.

Een tweede groep van micro-organismen, die in verband met de binding van de luchtstikstof moet worden genoemd, vormen de organismen, die in symbiose met hogere planten tot dit proces in staat zijn. Hiertoe behoren in het bijzonder de in symbiose met vlinderbloemige planten levende vertegenwoordigers van het bacteriegeslacht *Rhizobium*. De vermoedelijk in de vorm van kleine beweeglijke staafjes in de grond voorkomende bacteriën van dit geslacht worden door de wortelharen van een vlinderbloemig gewas aangetrokken. Ze dringen op niet verklaarde wijze het wortelhaar binnen, vermeerderen zich daar en bewegen zich als een zgn. infectiedraad in de richting van de wortelschors waar ze zich in bepaalde cellen nestelen en daar aanleiding geven tot een sterke celdeling. Hierdoor ontstaan de zgn. wortelknolletjes, die meestal aan het wortelstelsel van vlinderbloemige planten kunnen worden waargenomen en die de centra van de stikstofbinding vormen. Ze bestaan voor een groot deel uit wortelcellen, gevuld met bacteriën. Aanvankelijk komen deze bacteriën voor als kleine coccen en staafjes, doch reeds vrij spoedig ziet men grote, vertakte cellen, de zgn. bacteroiden. Aangenomen wordt, dat in dit stadium de waardplant van stikstof wordt voorzien.

Hoewel het chemisme van de stikstofbinding door het wortelknolletje als geheel in de laatste jaren vrij uitvoerig is onderzocht, weet men niet op welke wijze bacteriën en hogere plant samenwerken om de stikstofbinding tot stand te brengen. Wel vermoedt men, dat de bacteriën onder invloed van de zeer bijzondere omstandigheden, die in het knolletjesweefsel heersen, in staat zijn de stikstofbinding tot stand te brengen; bewijsmateriaal hiervoor heeft men echter niet. De verschillende *Rhizobium*-soorten zijn zeer gemakkelijk in bepaalde voedingsmedia te kweken, doch het is tot

nu toe op geen enkele manier gelukt, het organisme buiten het plantenweefsel tot stikstofbinding te brengen.

Bij de bestudering van het mechanisme van de stikstofbinding door de wortelknolletjes van vlinderbloemige gewassen heeft men, evenals bij het onderzoek met *Azotobacter*, met succes gebruik gemaakt van het zware stikstofisotoop N^{15} . Door de stikstofbinding voor korte tijd te laten plaats vinden in een atmosfeer, waarin zich N^{15} bevond, en daarna het knolletjesweefsel te analyseren op bepaalde stikstofhoudende verbindingen en na te gaan in welke van deze verbindingen N^{15} voorkwam, was het mogelijk zich een beeld te vormen van de weg, die de elementaire stikstof moet volgen om tenslotte bij te kunnen dragen tot de eiwitvorming.

Bij dit onderzoek werd het zeer waarschijnlijk gemaakt, dat ammoniak en niet zoals Virtanen aanneemt hydroxylamine, de eerste te bepalen stikstofverbinding is. Deze ammoniak reageert met α -ketoglutaarzuur onder vorming van glutaminezuur. Het enzym glutaminezuurdehydrogenase katalyseert deze reactie. Uit glutaminezuur ontstaan door transaminering andere aminozuren. Maar de mogelijkheid van een directe reactie van ammoniak met oxaalazijnzuur onder vorming van asparaginezuur en met pyrodruienzuur onder vorming van α -alanine is niet uitgesloten.

Het onderzoek naar de fysiologie en de biochemie van de wortelknolletjes is aanzienlijk vereenvoudigd door het leren kennen van de omstandigheden, waaronder afgesneden knolletjes tot intensieve stikstofbinding in staat zijn. Tot voor enkele jaren was het nooit gelukt een duidelijke binding van elementaire stikstof door afgesneden knolletjes te verkrijgen. Door de onderzoekingen van Aprison en Burris is echter gebleken, dat een dergelijke binding wel mogelijk is, indien men knolletjes neemt van krachtige planten, die in het vrije veld onder optimale omstandigheden groeien. Indien men dergelijke knolletjes zo snel mogelijk na afsnijden onderzoekt, blijkt, dat ze tot intensieve binding van de luchtstikstof in staat zijn. Dit vermogen neemt echter spoedig af, hetgeen er op wijst, dat regelmatige toevoer van bepaalde stoffen door de plant nodig is, om stikstofbinding in het knolletje mogelijk te maken.

Hoewel er in morfologisch en fysiologisch opzicht vrij weinig overeenkomst is tussen de vrijlevende en de in symbiose met hogere planten levende stikstofbinders, bestaat er voorzover het de stikstofbinding betreft toch wel een duidelijke overeenstemming. In beide gevallen loopt de weg van elementaire stikstof tot eiwit waarschijnlijk via ammoniak en glutaminezuur. De remmende werking

van waterstof op de stikstofbinding, die door verhoging van de concentratie aan gasvormige stikstof kan worden tegengegaan, treft men bij beide groepen van organismen aan. Hetzelfde geldt voor het stoppen van de stikstofbinding bij toediening van ammoniakstikstof aan het voedingsmedium. Ook de grote betekenis, die het sporenelement molybdeen heeft bij het stikstofbindingsproces geldt voor beide groepen van organismen.

Van groot belang bij de binding van elementaire stikstof door vlinderbloemige gewassen is het verband dat bestaat tussen plantensoort en bacteriesoort. Bij onderzoek van een groot aantal geïsoleerde *Rhizobium*-cultures bleek, dat bepaalde isolaties bv. wel in symbiose met klavers kunnen leven doch niet met erwten. Andere cultures kunnen bv. wel lupinesoorten en serradella infecteren doch niet talrijke andere vlinderbloemige planten. Dit onderzoek leerde het bestaan van een vrij groot aantal *Rhizobium*-soorten. Binnen iedere soort blijkt het stikstofbindend vermogen nog weer aanzienlijk te kunnen uiteenlopen. Sommige stammen geven aanleiding tot een belangrijke stikstofbinding, andere tot een geringere, terwijl er zelfs stammen in de natuur voorkomen, die wel knolletjes vormen, doch geen stikstof binden.

Dat vlinderbloemige planten behalve zichzelf ook niet-vlinderbloemige planten, die in hun omgeving groeien, van stikstof kunnen voorzien, blijkt duidelijk uit de aanblik, die vele matig met stikstof bemeste gazons in de zomer bieden. In een dergelijk gazon hebben de grasplanten als gevolg van een onvoldoende stikstofvoorziening vaak een lichtgroene kleur. In de nabijheid van witte klaver, die meestal als verontreiniging voorkomt, hebben de grasplanten als regel een donkergroen en welig voorkomen. Over de oorzaak van dit verschijnsel is in de laatste 15 jaar vrij veel onderzoek verricht. De Finse onderzoeker Virtanen, die het bij erwtenplanten waarnam, kwam naar aanleiding van uitgebreide proeven tot de conclusie, dat het berustte op de uitscheiding door de wortelknolletjes van aanzienlijke hoeveelheden stikstof in de vorm van asparaginezuur en β -alanine. De niet-vlinderbloemige planten zouden deze verbindingen opnemen en aldus profiteren van de stikstofbinding der leguminosen. Hoewel de resultaten van Virtanen in principe door andere onderzoekers zijn bevestigd, zijn de door dezen gevonden hoeveelheden uitscheidingsproducten veel geringer dan die, welke door Virtanen worden vermeld. Vermoedelijk berust dit op een verschil in belichting van de planten. De sterkste uitscheiding werd nl. geconstateerd bij een matige lichtintensiteit; bij een optimale

belichting werd nauwelijks enige uitscheiding gevonden. Toch kan men ook onder optimale lichtcondities vaak een zeer gunstige werking van vlinderbloemige gewassen op de stikstofvoorziening van andere planten waarnemen. Dit zou erop kunnen wijzen, dat het effect voor een groot deel berust op het vrijkomen van gemakkelijk opneembare stikstofverbindingen bij de afbraak van afgestorven wortel- en knolletjesweefsel door saprofytische micro-organismen.

Behalve bij vlinderbloemige gewassen komt binding van de luchtstikstof door samenwerking van een hogere plant en een micro-organisme ook bij een aantal andere plantenfamilies voor. Het betreft hier meestal bomen of heesters zoals bv. els, olijfwilg en gagel. Ook hier zijn wortelknolletjes verantwoordelijk voor de binding van de stikstof. In tegenstelling tot de leguminosen is het isoleren van de symbiont bij deze bomen uiterst moeilijk en vermoedelijk tot nu toe aan niemand gelukt. Wel hebben enkele onderzoekers uit elzenknolletjes een actinomyceet geïsoleerd, die volgens hen verantwoordelijk zou zijn voor de vorming der knolletjes, doch deze uitkomsten konden door anderen niet worden bevestigd.

De betekenis van de in symbiose met hogere planten tot stikstofbinding in staat zijnde micro-organismen is voor de stikstof-economie van onze gronden veel groter dan die der vrijlevende stikstofbinders. Een binding van 300 kg N per ha per groeiseizoen door een goedgroeiend gewas klaver of lucerne is in ons land geen uitzondering. Hiervan zal $\frac{2}{3}$ tot $\frac{3}{4}$ deel met de geoogste groene massa worden weggevoerd, terwijl de rest in de grond achterblijft. Om deze grote hoeveelheid stikstof te binden, verbruikt het vlinderbloemige gewas zeker niet meer dan een paar duizend kg koolhydraten, d.w.z. $\pm \frac{1}{10}$ deel van de hoeveelheid (± 20.000 kg) die *Azotobacter* nodig zou hebben gehad om deze hoeveelheid stikstof te binden. Dit wil zeggen, dat de binding van de luchtstikstof bij een vlinderbloemige plant en waarschijnlijk ook bij andere symbiontische stikstofbinders op veel economischer wijze plaats vindt dan het geval is bij de vrijlevende stikstofbinders.

De door vlinderbloemige en andere stikstofbindende planten vastgelegde hoeveelheid luchtstikstof is niet alleen van belang voor de niet in cultuur gebrachte gronden, doch is waarschijnlijk van nog grotere betekenis voor die gebieden waar landbouw en veeteelt worden bedreven. Zo is het een bekend feit, dat de stikstofvoorziening van grasland in vele landen aan de samen met de grassen groeiende klavers wordt overgelaten; stikstofbemesting van gras-

land vindt daar niet plaats. Dit is zelfs in landen met een goed ontwikkelde landbouw zoals Denemarken en Nieuw Zeeland het geval. Ons land maakt op die regel een uitzondering; bemesting van grasland met stikstofhoudende kunstmeststoffen vindt hier vrijwel algemeen plaats. Op de oorzaak van dit verschijnsel kom ik straks nader terug.

Bij de akkerbouw maakt men gebruik van het stikstofbindend vermogen van gewassen als erwten en bonen en verder bij groenvoeder- en groenbemestingsgewassen als klaver, lucerne, lupinen e.d. Verbouw van rode klaver gezaaid onder een vroeg te oogsten wintergraan kan een flink gewas stoppelklaver leveren, dat aanzienlijk bijdraagt tot de stikstofvoeding van het volgende gewas. Voorwaarde voor het slagen van een dergelijk gewas is, dat de pH van de grond hoger dan 5.5 is en dat de algemene vruchtbaarheids-toestand behoorlijk is.

Behalve door biochemische processen vindt binding van atmosferische stikstof ook door zuiver chemische processen plaats. In de vrije natuur gebeurt dit door elektrische ontladingen als gevolg waarvan kleine hoeveelheden nitriet en nitraat in het regenwater kunnen voorkomen. De met het regenwater aan de grond toegevoerde hoeveelheid stikstof is echter niet groot, waarschijnlijk op de meeste plaatsen niet meer dan enkele kilogrammen. In de buurt van industrie-centra kan het iets meer zijn, omdat ook de van rookbestanddelen afkomstige verontreinigingen tendele in het regenwater terecht komen.

Van veel meer betekenis is de stikstofwinst, die wordt verkregen door toevoeging van synthetisch bereide stikstofmeststoffen aan de grond. Bij de fabricage van deze meststoffen maakt men meestal gebruik van het procédé volgens Haber en Bosch, waarbij uit stikstof en waterstof ammoniak wordt gemaakt. In tegenstelling tot de biologische stikstofbinding geschiedt de door de industrie toegepaste bij hoge temperatuur en druk.

De productie en dus ook het gebruik van stikstofmeststoffen heeft in de loop der laatste 20 jaar een grote vlucht genomen, zoals uit de cijfers op de volgende pagina kan worden opgemaakt.

Van alle landen heeft Nederland, berekend per eenheid van oppervlakte cultuurgrond de hoogste verbruikscijfers. Bemestingen van 100 kg zuivere stikstof per ha bij tarwe, 150-200 kg bij aardappelen en suikerbieten en 200-300 kg bij grasland zijn geen uitzonderingen. In ons land wordt deze kunstmeststikstof meestal toegediend in de

vorm van ammoniumnitraat (kalkammonsalpeter of fosfaatammonsalpeter) en ten dele als calciumnitraat. Ammoniumsulfaat, dat in andere landen vaak de voornaamste stikstofmeststof vormt, wordt in ons land wegens het gevaar van verzuring van de grond nauwelijks meer toegepast.

Productie van stikstofmeststoffen (in 1000 ton N)

	1938	1953/54	1954/55
Europa (met uitzondering van U.S.S.R.)	1660	2850	3130
N-Amerika	290	1690	1850
Z-Amerika	240	320	320
Midden Oosten	—	20	30
Verre Oosten	370	710	750
Afrika	—	—	10
Oceanië	10	20	20

Hoewel de hogere planten de stikstof zowel in de vorm van nitraat als in de vorm van het ammoniumion kunnen opnemen, zien we in de meeste niet te zure gronden een snelle omzetting van ammoniak in nitriet en van laatstgenoemde verbinding in nitraat door de zg. nitrificerende bacteriën. Eerstgenoemde trap geschiedt door vertegenwoordigers van de geslachten *Nitrosomonas* en *Nitrosococcus*, de omzetting van nitriet in nitraat door vertegenwoordigers van het geslacht *Nitrobacter*.

Als gevolg van deze snelle omzetting van ammoniumzouten zal een gewas met een lange groeiperiode zoals aardappelen, indien dit bij het planten met een ammoniumzout wordt bemest, zich hoofdzakelijk voeden met nitraat. Graangewassen, die reeds een zekere ontwikkeling hebben bereikt op het moment, dat ze met stikstof worden bemest, en in nog sterkere mate grasland, zullen de stikstof voor een belangrijk deel opnemen, voordat omzetting van ammoniak tot nitraat heeft plaats gevonden.

Omzetting van nitraat- en ammoniakstikstof in organische stikstofverbindingen

Zowel de groene planten als vele schimmels en bacteriën zijn in staat anorganische stikstofverbindingen, in het bijzonder nitraat en ammoniumverbindingen, in organische stikstofverbindingen om te zetten. Ammoniak wordt meestal sneller geassimileerd dan

nitraat, hoewel door secundaire effecten, zoals verzuring van het voedingsmilieu en remmende werking op de opname van andere ionen, het voordeel van de snellere assimilatie van ammoniakstikstof verloren kan gaan.

De eerste trap van de nitraatassimilatie is de reductie tot nitriet. Het hiervoor benodigde enzym, de zgn. nitraatreductase, is zowel uit schimmels als uit groene planten geïsoleerd. Het is een flavoproteïne, waarvan de prosthetische groep uit flavine-adenosinedinucleotide (FAD) bestaat. Als substraat kan het enzym zowel gereduceerd difosfopyridine-nucleotide (DPNH) als gereduceerd trifosfopyridine-nucleotide (TPNH) gebruiken. Molybdeen vormt een noodzakelijke co-factor van het enzymstelsel. De elektronen, die nodig zijn voor de reductie van het nitraat, worden van TPNH via FAD en molybdeen overgebracht op het nitraat, waarbij nitriet ontstaat. Laatstgenoemde verbinding wordt, vermoedelijk via hydroxylamine, omgezet in ammoniak. Van de hiervoor vereiste enzymen is weinig bekend.

Bij de omzetting van ammoniak, hetzij als zodanig opgenomen door de plantenwortels, hetzij ontstaan door nitraatreductie, kan men drie trappen onderscheiden, die nauw met elkaar in verband staan, nl. de vorming van aminozuren, van amiden en eenvoudige peptiden en van eiwitten. Bij de vorming van aminozuren spelen α -ketozuren, in het bijzonder α -ketoglutaarzuur en misschien oxaalazijnzuur en pyrodruivenzuur een belangrijke rol. Door reductieve aminering ontstaan hieruit glutaminezuur en resp. asparaginezuur en α -alanine. De vorming van eerstgenoemd aminozuur wordt gekatalyseerd door het enzym glutaminezuurdehydrogenase.

Voor het onderzoek van het chemisme der aminozuurvorming heeft men met succes gebruik gemaakt van het stikstofisotoop N^{15} . Een andere methode, die door ons werd toegepast, maakt gebruik van molybdeenarme planten, die niet in staat zijn nitraat te assimileren en deze verbinding daarom in hun cellen ophopen. Door aan dergelijke planten molybdeen toe te voegen en na verloop van verschillende tijden de gevormde aminozuren te bepalen, krijgt men een goed beeld van de volgorde waarin deze ontstaan.

Uit de door reductieve aminering ontstane aminozuren kunnen de andere aminozuren door transaminering ontstaan. De voor deze omzetting benodigde enzymen werken met pyridoxaalfosfaat als co-factor.

Voor de vorming van de amiden asparagine en glutamine uit asparaginezuur resp. glutaminezuur en ammoniak is de aanwezig-

heid van een energierijk fosfaat, adenosinetrifosfaat (ATP), en van magnesiumionen nodig. Beide amiden fungeren in de plant als opslagvorm van overmaat stikstof.

De vorming van peptiden kan worden beschouwd als een amidevorming; in plaats van ammoniak reageert de aminogroep van het ene aminozuur met de carboxylgroep van het andere. Ook hiervoor is de aanwezigheid van ATP en van Mg-ionen een vereiste.

Evenals de vorming van peptiden is ook de eiwitvorming een energievereisend proces, waarbij energierijke fosfaten een rol spelen. Op welke wijze de eiwitsynthese tot stand komt, is niet bekend. In het algemeen wordt aangenomen, dat geleidelijke condensatie van kleinere peptiden plaats vindt. Er bestaan aanwijzingen, dat nucleinezuren bij de vorming van eiwitten een belangrijke rol spelen.

Bij de voeding van landbouwgewassen met stikstofmeststoffen doen zich enkele problemen voor, die in verband met de kringloop van de stikstof van grote betekenis zijn en die ik daarom iets uitvoeriger wil bespreken. Wanneer men door bepaling van de stikstof in een bemest, resp. niet bemest gewas nagaat, welk gedeelte van de toegediende stikstof zich in het geogste product bevindt, dan blijkt dit zelden meer dan 60% en dikwijls zelfs minder dan 50% te zijn; verder geldt, hoe hoger de stikstofgift hoe lager dit percentage. Het lot van de overige 40-50% is niet met zekerheid bekend. Op grasland, waar dit verschijnsel door ons herhaaldelijk werd waargenomen, ziet men, dat de nawerking van een zware stikstofgift, toegediend aan het gras van de eerste snede, op de groei van het gras van de tweede snede slechts gering is. Blijkbaar is er na de eerste snede weinig of geen assimileerbare stikstof in de grond meer aanwezig. Hoewel de oorzaken van dit verschijnsel niet bekend zijn, is het wel waarschijnlijk, dat de volgende factoren een rol spelen:

- a) Vastlegging van opgenomen stikstof in plantenwortels en in de lichamen van micro-organismen. Het feit, dat na omploegen van grasland in de loop van de volgende jaren vrij aanzienlijke hoeveelheden stikstof vrijkomen, is een aanwijzing in deze richting. Ook het feit, dat bemesting met koolstofrijke en stikstofarme producten een tijdelijk stikstoftekort van het gewas kan veroorzaken, wijst hierop.
- b) Uitspoeling van stikstofverbindingen door overvloedige regenval. Het feit, dat op bouwland, waar men de sterkste uitspoeling zou verwachten, betrekkelijk weinig verschil tussen natte en droge jaren is te constateren, wijst niet op een belangrijke uit-

spoeling van in het voorjaar toegediende stikstof. Een geheel andere situatie krijgt men, wanneer de stikstof voor de winter wordt toegediend. In dat geval moet met aanzienlijke uitspoelingsverliezen rekening worden gehouden.

- c) Stikstofverliezen door denitrificatie. Hieronder verstaat men reductie van nitraat via nitriet en stikstofoxydule tot elementaire stikstof. Dit proces wordt onder^{aan} aerobe tot semi-aerobe omstandigheden uitgevoerd door aerobe bacteriën, die met behulp van de zuurstof van het nitraat organische stoffen kunnen afbreken. Vooral in natte graslanden, waar het gehalte aan organische stof hoog, maar dat aan zuurstof laag is, zijn de voorwaarden voor denitrificatie gunstig. Het is dan ook waarschijnlijk, dat de slechte werking van nitraat- in vergelijking met die van ammoniakstikstof, die men op dergelijke gronden vooral in natte jaren kan waarnemen, een gevolg is van de door denitrificatie veroorzaakte stikstofverliezen.
- d) Verliezen bij de nitrificatie van ammoniumverbindingen. Eerder heb ik reeds gewezen op de snelle omzetting van ammoniumverbindingen in nitriet en nitraat onder invloed van nitrificerende bacteriën, die in de meeste gronden plaats vindt, indien de pH niet te veel beneden 5 is. Door het onderzoek van Dr. Gerretsen in Groningen is kortgeleden gebleken, dat in een matig zuur milieu stikstofverliezen bij de nitrificatie kunnen ontstaan, die berusten op het feit, dat nitriet onder dergelijke omstandigheden niet stabiel is doch tot vluchtig N_2O kan ontleden. Aangezien de nitrificatie door twee verschillende soorten van bacteriën wordt uitgevoerd, waarvan de ene (*Nitrosomonas*) het substraat (nitriet) levert voor de andere (*Nitrobacter*), moet het nitriet in de grond, om te kunnen worden omgezet in nitraat, van de ene kolonie naar de andere diffunderen. Tijdens dit diffusieproces bestaat er dan gevaar voor vervluchtiging.
- e) Verlies door vervluchtiging van ammoniak. Wanneer op alkalisch reagerende gronden een ammoniakhoudende meststof wordt toegediend, bestaat er gevaar voor vervluchtiging van ammoniak, tenzij de stikstof in de grond wordt gewerkt. In gebieden als de N.O. polder en de Wieringer Meer, waar aanzienlijke hoeveelheden koolzure kalk in de grond worden aangetroffen, kunnen deze stikstofverliezen meer dan 50% van de toegediende hoeveelheid ammoniak bedragen.

Ik wil nu nog iets nader ingaan op de stikstofvoorziening van

grasland. Eerder heb ik er op gewezen, dat stikstofbemesting van grasland in ons land op vrij ruime schaal, in de meeste landen echter niet wordt toegepast. In het laatste geval neemt men aan, dat de klavers, die een meer of minder groot deel van de vegetatie uitmaken, voldoende stikstof binden om ook de grassen hiervan te voorzien. Hoewel dit bij een hoog klavergehalte misschien het geval kan zijn, is gemakkelijk te berekenen, dat bij een klavergehalte van 20-25%, zonder aanvullende stikstofbemesting, geen optimale grasopbrengsten kunnen worden verkregen. Bij een opbrengst aan grasklavermengsel van 10 000 kg droge stof moet door het gewas ongeveer 300 kg stikstof worden opgenomen. Deze hoeveelheid kan door binding van elementaire stikstof worden verkregen, indien de vegetatie geheel of grotendeels uit klaver bestaat. Bestaat deze vegetatie echter voor slechts 25% uit klaver en voor 75% uit gras dan is dit niet mogelijk. Er zal dan stikstofgebrek bij de grassen ontstaan met als gevolg een verminderde opbrengst. Dit is in het bijzonder in het voorjaar het geval, wanneer de groei van de grassen begint op een moment, dat nog geen of weinig stikstof van de klavers is te verwachten. Het productievermogen van het grasland is echter juist in deze periode het grootst. Bemesting met stikstof is onder deze omstandigheden de enige manier om een goede grasopbrengst te krijgen. Het nadeel hiervan is, dat de klavers worden onderdrukt en worden teruggedrongen, zodat een deel van de gegeven stikstofmeststof moet dienen om de stikstof te vervangen, die zonder stikstofbemesting door de klaver zou zijn gebonden. Gebruik van klavervariëteiten, die beter tegen de welige grasgroei zijn opgewassen, is hier de aangewezen weg. Dit is bij kortdurende kunstweiden heel wat gemakkelijker te realiseren dan bij blijvend grasland.

Wanneer men een vergelijking maakt tussen de hoeveelheden stikstof, die jaarlijks door de kunstmeststoffen aan de grond worden toegevoerd en die, welke door stikstofbinding en door toevoer van afvalstoffen worden verkregen, dan blijkt, dat eerstgenoemde bron slechts een bescheiden gedeelte van de totale stikstofwinst uitmaakt, vermoedelijk niet meer dan enkele percenten. Niettegenstaande dit bescheiden aandeel van de stikstofmeststoffen in de voorziening van de wereld met stikstof, is de betekenis van de kunstmeststikstof bij de verbouw van land- en tuinbouwgewassen zodanig, dat uitvallen van deze bron hongersnood en ontwrichting van de wereldeconomie tengevolge zou hebben. Dit wordt in hoofdzaak veroorzaakt door het feit, dat men kunstmeststikstof in tegen-

stelling tot de andere vormen van stikstoftoevoer in ongelimiteerde hoeveelheden kan toepassen daar, waar het nuttig effect van een dergelijke bemesting het grootst is, d.w.z. in de productiegebieden van granen, suikerriet, suikerbieten, aardappelen, enz. Geen dezer gewassen is tot stikstofbinding in staat, zodat ze voor het verkrijgen van optimale opbrengsten zijn aangewezen op de toevoer van stikstof uit de grond en uit de bemesting. Wegvallen van laatstgenoemde toevoer betekent in vele gevallen daling van de opbrengst tot een waarde van minder dan 50% van die, welke met een optimale stikstofvoorziening wordt verkregen.

Voeding met organische stikstofverbindingen

Vele heterotrofe organismen hebben organische stikstofverbindingen voor hun voeding nodig. Dit geldt zowel voor mensen en dieren als voor talrijke micro-organismen. De beide eerstgenoemde groepen van organismen kunnen van de 19 aminozuren, die nodig zijn voor de opbouw van hun eiwitten er slechts 11 zelf synthetiseren; de overige moeten ze als zodanig bij hun voeding opnemen. Dit betreft threonine, valine, methionine, leucine, isoleucine, fenylalanine, tryptofaan en lysine.

In de praktijk tracht men de behoefte van het dier aan deze onontbeerlijke aminozuren te dekken, door een hoeveelheid eiwit van een bepaalde aminozuursamenstelling toe te dienen. Men geeft zoveel eiwit, dat de behoefte aan alle aminozuren gedekt is. Aangezien het niet mogelijk is, op deze manier de vereiste aminozuren in de juiste verhouding toe te dienen, worden vele aminozuren in te grote, resp. veel te grote hoeveelheden opgenomen. Het zal zonder meer duidelijk zijn, dat een dergelijke werkwijze weinig economisch is. Een betere kennis van de aminozuursamenstelling van de verschillende voedermiddelen is een eerste vereiste om de samenstelling van het rantsoen meer in overeenstemming te kunnen brengen met de behoefte van het dier. Toediening van de afzonderlijke aminozuren inplaats van eiwit, indien praktisch realiseerbaar, zou dit ideaal nog meer kunnen benaderen. Want de in overmaat toegediende aminozuren hebben voor de opbouw van het lichaamseiwit geen betekenis. Ze worden afgebroken en de stikstof wordt uitgescheiden als ureum, de voor de cellen weinig giftige opslagvorm van ammoniak.

Behalve de dieren kunnen ook vele micro-organismen één of meer aminozuren niet zelf synthetiseren, zodat deze aan het voedingsmedium moeten worden toegevoegd. Verschillende micro-orga-

nismen kunnen evenals dierlijke organismen een aantal stikstofhoudende vitaminen niet zelf opbouwen en moeten deze ook met hun voeding ontvangen.

Omzetting van organische in anorganische stikstofverbindingen

Hoewel de hogere planten organische stikstofverbindingen kunnen opnemen en assimileren, vindt onder natuurlijke omstandigheden de stikstofvoeding overwegend met anorganische verbindingen plaats. Voor het instandhouden van het leven op aarde is het dus van de grootste betekenis, dat de afbraak van organische in anorganische stikstofverbindingen even vlot verloopt als de opbouw. Deze omzetting vindt op grote schaal in het dierlijk lichaam plaats. Van veel betekenis bij de afbraak van organische stikstofverbindingen, die als afvalproducten van plant en dier in de grond terecht komen, is de werkzaamheid van micro-organismen, die aan deze omzetting hun bestaansmogelijkheid hebben te danken. Het feit, dat de stikstofverbindingen door deze organismen als energiebron worden gebruikt, brengt met zich mee, dat de afbraak met aanzienlijke snelheid verloopt. Hoewel bij deze processen uiteindelijk in hoofdzaak ammoniak en koolzuur ontstaan, moet men onder bepaalde omstandigheden met de vorming van kleine hoeveelheden resistente stikstofhoudende verbindingen rekening houden.

Op deze afbraakprocessen wil ik hier nog iets nader ingaan. De afbraak van stikstofhoudende verbindingen omvat behalve oplosbare stoffen zoals aminozuren, aminen, purinen, pyridinen, e.d. vooral de complexe verbindingen zoals eiwitten en nucleïne-zuren. Aangezien deze producten niet als zodanig door de cellen kunnen worden opgenomen, moeten ze eerst door zgn. exo-enzymen tot verbindingen met kleinere moleculen worden afgebroken, die vervolgens door de cellen kunnen worden gebruikt. Zeer bekend zijn de door de rottingsbacteriën afgescheiden proteolytische enzymen, de zgn. proteasen, die de eiwitten in peptiden, resp. aminozuren splitsen. Behalve van parasitische en saprofitische bacteriën kunnen deze enzymen in pas afgestorven planten en dieren ook van de eigen weefsels afkomstig zijn (autolyse). Naast proteasen hebben we bij de eiwitafbraak ook te maken met peptidasen, d.w.z. enzymen die peptiden in aminozuren omzetten.

Ook bij de afbraak van aminozuren spelen micro-organismen een belangrijke rol. Verschillende mogelijkheden doen zich hierbij voor; de enzymatische afsplitsing van ammoniak onder gelijktijd-

dige vorming van α -ketozen onder invloed van aminozuuroxydassen of van dehydrogenasen voert wel het snelst tot de volledige mineralisatie van de stikstof.

In welke mate de bij de afbraak van organische stikstofverbindingen ontstane ammoniak tenslotte ter beschikking van de hogere planten komt, hangt geheel af van de samenstelling van de toegediende organische stof. Het is vooral de C-N-verhouding die belangrijk is. Is deze verhouding ruim, d.w.z. is er veel assimileerbare koolstof t.o.v. assimileerbare stikstof aanwezig, dan wordt de bij de afbraak vrijkomende ammoniak direct weer geassimileerd, in hoofdzaak door micro-organismen die koolhydraten afbreken. Zo lang de C-N-verhouding van de toegediende organische stof hoger is dan 20 : 1 komt geen anorganische stikstof ter beschikking van de hogere plant. Is deze verhouding aanzienlijk ruimer dan 20 : 1 dan worden ook in de grond aanwezige anorganische stikstofverbindingen geassimileerd en tijdelijk vastgelegd als eiwit. Men kan dit verschijnsel constateren bij het in de grond brengen van producten als bv. stro of stalmest met een hoog strogehalte.

Daalt de C-N-verhouding van de organische stof tengevolge van de werkzaamheid van micro-organismen tenslotte beneden de verhouding 20 : 1 dan komt geleidelijk anorganische stikstof ter beschikking van de planten. Dit geleidelijk vrijkomen van de stikstof bij toepassing van een bemesting in de vorm van organische stof is vermoedelijk een der voordelen van het gebruik van stalmest en van de toepassing van een groenbemesting.

Niet alle organische verbindingen worden gemakkelijk en snel door micro-organismen afgebroken. Als regel blijft een kleine fractie over, die meer of minder resistent is tegen afbraak. Men spreekt van humus, soms van stabiele humus. De omstandigheden, waaronder deze stabiele humus, die voor de vruchtbaarheid van de grond van veel betekenis is, ontstaat, zijn niet bekend. Wel weet men, dat een onvolledige resp. gestoorde afbraak, zoals die onder ongunstige omstandigheden plaats vindt, de humusvorming bevordert. Ik denk hier aan de humus van de veenkoloniale dalgronden en de esgronden, die in zeer zuur milieu uit veenmossen resp. heiplaggen is ontstaan. Dat de resistentie van een dergelijke zwarte humussubstantie tegen de aantasting door micro-organismen zeer groot is, moge blijken uit het feit, dat bij weglaten van de stikstofbemesting op een dergelijke grond, misoogsten door stikstofgebrek kunnen worden verkregen, niettegenstaande de aanwezigheid van een stikstofvoorraad van 5-10.000 kg in de bouwvoor.

In hoeverre de afbraak van dergelijke resistente humusverbindingen door toevoeging van verse, gemakkelijk aantastbare, organische stof kan worden verhoogd, zoals door een aantal Amerikaanse onderzoekers in bepaalde gevallen werd gevonden, dient nader te worden onderzocht. Deze onderzoekers veronderstellen, dat de geringe afbraak van humusverbindingen ten dele wordt veroorzaakt door het ontbreken van een krachtige microbenflora. Toevoer van gemakkelijk aantastbare organische stof zou deze flora tot ontwikkeling brengen, waarna ook de meest resistente humus zou worden aangetast. De in ons land bij de bosbouw opgedane ervaring, dat verbouw van lupinen het humusgehalte van bosgronden doet verlagen, is in overeenstemming met deze hypothese.

Geachte toehoorders.

Het hier gegeven overzicht van de processen, die samenhangen met de kringloop van de stikstof in de natuur, heeft U, naar ik hoop, een indruk gegeven van de betekenis van micro-organismen bij deze kringloop. Dit geldt niet alleen voor de binding van de elementaire stikstof, doch vooral ook voor de omzetting van stikstofhoudende organische stoffen in ammoniumzouten en nitraten. Zonder deze omzetting zou de in de vorm van afvalproducten van plantaardige en dierlijke oorsprong aan de grond toegevoegde stikstof vrijwel waardeloos zijn voor de plantenvoeding. Wel is door het toepassen van synthetische stikstofmeststoffen de plantengroei minder afhankelijk geworden van de activiteit van micro-organismen dan één halve eeuw geleden het geval was. Maar het feit, dat deze meststoffen slechts in betrekkelijk weinig landen op grote schaal worden toegepast, brengt met zich mede, dat de activiteit der microben voor vele gebieden de enige mogelijkheid vormt om de planten van assimileerbare stikstof te voorzien. Zelfs in een land als het onze, waar relatief zeer grote hoeveelheden stikstofmeststoffen worden gebruikt, zou het wegvallen van de werkzaamheid der micro-organismen uit een oogpunt van stikstofvoeding van de planten een zeer ernstige zaak blijken te zijn.

Mijne Heren Curatoren,

Hoewel de microbiologie in de laatste jaren slechts ten dele mijn werkterrein vormde, heeft U mij toch willen voordragen voor de

benoeming van hoogleraar in dit vak. Ik dank U voor het in mij gestelde vertrouwen en hoop in de toekomst een wezenlijke bijdrage te kunnen leveren tot de ontwikkeling van de microbiologie.

Dames en Heren Hoogleraren, Lectoren en Docenten,

De microbiologie is voor een aantal studierichtingen een belangrijk vak. Organisatie van het onderwijs en van het onderzoek zal daarom in overleg met een aantal Uwer moeten geschieden. Ik hoop van harte, dat deze samenwerking steeds op aangename en doeltreffende wijze mag plaats vinden.

Hooggeleerde Smit,

Het is mij een groot genoegen, als Uw opvolger terug te keren in het laboratorium, dat ik zeventien jaar geleden heb verlaten. In ruim drie van de vijf jaar, die ik hier destijds als microbioloog werkzaam was, hebben wij nauw met elkaar samengewerkt. In deze periode zowel als gedurende daarna ondernomen gemeenschappelijke reizen hebben wij elkaar zeer leren waarderen. Uw krachtige leiding en Uw voortreffelijke wijze van doceren zullen voor mij steeds een lichtend voorbeeld zijn.

Hooggeachte Heer Boudewijn,

Het was niet zonder schroom, dat ik in 1939 afscheid nam van het laboratorium voor microbiologie te Wageningen om als medewerker van het onder Uw leiding staande landbouwkundig bureau van de Nederlandse stikstofmeststoffenindustrie bij het landbouwproefstation te Groningen te worden gedetacheerd. Dat het verblijf te Groningen voor mij een alleszins bevredigende periode is geworden, is voor een belangrijk deel te danken geweest aan de grote mate van vrijheid en aan de medewerking, die ik van U heb ondervonden bij de uitvoering van mijn wetenschappelijk onderzoek. Ik ben U daarvoor zeer erkentelijk.

In Uw persoon wil ik ook de Nederlandse stikstofmeststoffenindustrie (Staatsmijnen in Limburg, Mekog en Compagnie Néerlandaise de l'Azote) danken voor de grootse wijze waarop ze mij van medewerkers en hulpmiddelen heeft voorzien. Hierdoor was het mij mogelijk aan een uitgebreid wetenschappelijk programma uitvoering te geven. Dat deze samenwerking in de toekomst in de

vorm van een op het laboratorium voor microbiologie te detacheren wetenschappelijk onderzoeker zal worden gecontinueerd, stel ik op hoge prijs.

Hooggeachte Bruin,

Met dankbaarheid denk ik terug aan de afgelopen zeventien jaar, die ik als gastmedewerker aan het onder Uw leiding staande landbouwproefstation te Groningen heb doorgebracht. De goede gang van zaken en de prettige sfeer, die kenmerkend zijn voor het proefstation, zijn voor een groot deel een gevolg van Uw persoonlijkheid.

Ook mijn oud-collega's, de technische staf en vooral mijn voormalige medewerkers van het Landbouwproefstation en Bodemkundig Instituut T.N.O. te Groningen wil ik vanaf deze plaats hartelijk dank zeggen voor de hulp en medewerking, die ik van hen heb ondervonden.

Dames en Heren Personeelsleden en Gastmedewerkers van het Laboratorium voor Microbiologie,

Gedurende de enkele maanden, die ik nu temidden van U werkzaam ben, heb ik tot mijn vreugde kunnen constateren, dat er op ons laboratorium een sfeer van goede verstandhouding heerst. Ik heb het volle vertrouwen, dat dit ook in de toekomst zo zal blijven.

Door de vele beslommeringen, die een verandering van werkkring nu eenmaal met zich meebrengt, heb ik tot nu toe nog weinig aandeel in het wetenschappelijk onderzoek gehad; ik hoop, dat dit spoedig zal veranderen.

Hooggeachte Wieringa,

Hoewel U op 1 oktober 1956 de pensioengerechtigde leeftijd had bereikt, heeft U erin toegestemd Uw langdurig verblijf op het laboratorium met nog een jaar te verlengen om mij behulpzaam te zijn bij het overnemen van de leiding. Ik ben U daarvoor zeer erkentelijk.

Dames en Heren Studenten,

Velen Uwer zullen alleen in de kandidaatsstudie in aanraking komen met de microbiologie. Slechts diegenen onder U, die ook de

colleges van de ingenieursstudie volgen, zullen dieper in het vak doordringen en zullen misschien gebruik maken van de mogelijkheid tot wetenschappelijk onderzoek, die het laboratorium voor microbiologie biedt. Ik zal trachten hen daarbij de gewenste leiding te geven en hoop hen deelgenoot te kunnen maken van de grote levensvreugde, die het uitvoeren van wetenschappelijke proeven kan verschaffen.

Ik dank U voor Uw aandacht.