

# LICHT EN LEVEN

Rede

uitgesproken bij de aanvaarding van  
het ambt van hoogleraar in de  
plantenfysiologie, met bijzondere  
aandacht voor de fysische aspecten,  
aan de Landbouwhogeschool te Wageningen  
op 29 november 1979

door

Dr. W.J. Vredenberg

*Dames en Heren,*

De levende natuur wordt gekenmerkt door een grote variëteit van soorten en verschijningsvormen. Ieder mens, en in het bijzonder hij of zij die wetenschap beoefent, tracht zich een beeld te vormen van de hem omringende levende werkelijkheid. De drijfveer daartoe is de nieuwsgierigheid die elk mens eigen is. Daarbij speelt bovendien de behoefte een rol inzicht te krijgen in deze, ons leefmilieu bepalende, werkelijkheid. Dit mede op grond van het besef dat ons welzijn, ja de mogelijkheid tot bestaan, afhankelijk is van de aanwezigheid van andere levensvormen. De onderzoeker en met name de fysioloog tracht door middel van waarneming en het stellen van gerichte vragen langs experimentele weg de processen te begrijpen die ten grondslag liggen aan, en bepalend zijn voor de samenstelling en functie van de verschillende systemen en organisaties waarin het leven zich aan het menselijk individu manifesteert. De enorme vooruitgang in de ontwikkeling van de natuurwetenschappen vanaf het midden van de vorige eeuw heeft, zowel wat betreft de grote lijnen als ook de details, aan het beeld dat we ons van de werkelijkheid vormen zeer veel toegevoegd. Dit is vooral in de biologie, en daarbinnen in het bijzonder op het gebied van de fysiologie, van grote betekenis geweest. Door deze ontwikkeling is de fysiologie een uitgebreid wetenschapsgebied geworden waarin biologen, natuur- en scheikundigen elkaar ontmoeten om in onderlinge samenwerking de fysisch-chemische achtergronden en grondbeginselen van de levensverschijnselen op te sporen. Dit heeft ertoe geleid dat we met toenemende verwondering en bewondering de levende werkelijkheid zijn gaan beschouwen. We zijn inzicht beginnen te krijgen in de grote variëteit van veelal complexe processen die plaats vinden op verschillende niveau's in organen en systemen. De geschiedenis levert interessante voorbeelden hoe natuurkundige denkwijzen, begrippen en wetmatigheden zijn getoetst en toegepast in de medische en biologische wetenschappen. Daarbij is het overigens opmerkelijk dat het in de vorige eeuw een aantal niet-natuurkundigen zijn geweest, veelal van oorsprong medici, die op grond van hun onderzoek met levende systemen, zijn gekomen tot het formuleren en introduceren van nieuwe fysische begrippen en wetmatigheden.

Von Helmholtz, die zich onder meer bezig hield met onderzoek naar de samentrekking van spieren en de signaalgeleiding in zenuwen, noem ik als voorbeeld vanwege de bijdrage die hij heeft geleverd tot de beschrijving van kwantitatieve relaties die gelden bij processen waarbij energie van de ene vorm overgaat in de andere. De formulering van deze fysische wetmatigheden, bekend als de wetten der thermodynamica, viel ongeveer samen met het inzicht dat in de biologische wetenschap was bereikt, mede op grond van de resultaten der natuurwetenschappen, dat de levende organismen worden gekenmerkt door een hoge mate van ordening en zich in de loop van miljarden jaren hebben ontwikkeld vanuit lagere organismen met een eenvoudiger systeemordening. De zienswijze van de bioloog met betrekking tot de ontwikkeling van het leven, waarin een streven naar meer complexe en hoger geordende functionele structuren valt waar te nemen, viel op het eerste gezicht moeilijk te rijmen met het natuurkundige inzicht dat ieder geïsoleerd systeem de neiging heeft zich spontaan te ontwikkelen in de richting van een evenwichtstoestand gekenmerkt door grotere wanorde. Dat betekent, in thermodynamische termen gezegd, een ontwikkeling naar een toestand met maximale entropie. De schijnbare tegenstrijdigheid tussen een biologische ontwikkeling naar lagere entropie, d.w.z. een hogere mate van ordening en een meer complexe structuur, en de op thermodynamische gronden verwachte ontwikkeling van het systeem in de richting van toenemende entropie, heeft lang de overtuiging doen standhouden, dat andere dan uitsluitend fysische en chemische krachten en wetmatigheden de levensprocessen bepalen en reguleren en daarmee de levensfuncties in stand houden. De vitalistische stellingname dat een "levens"-kracht mede de ontwikkeling en instandhouding van biologische systemen stuurt, kan echter niet gebaseerd zijn op de hiervoor genoemde tegenspraak. Er dient namelijk overwogen te worden dat ieder levend organisme en iedere levende cel in wisselwerking is met zijn omgeving via energieuitwisseling. Het vermogen van energieperceptie en energietransformatie biedt de levende cel de mogelijkheid zijn structuur en functie te ontwikkelen en te handhaven. De mogelijkheid tot het standhouden van de hoog geordende biologische structuren hangt dan ook onverbrekkelijk samen met een continue entropieproductie in het uitwendig milieu waarin het organisme zich bevindt.

De verwondering over en bewondering voor de aard van het levensgebeuren stijgt met de vaststelling dat tot op moleculair en structureel niveau fysische en fysich-chemische krachten en reacties de levensprocessen sturen en reguleren. Ik hoop u dat in het verdere vervolg van mijn betoog te illustreren aan de hand van een schets van enkele levensprocessen in planten, waarbij licht de energieleverende en energiesturende factor is. Ik stel mij voor dit te doen door met u een denkbeeldige excursie te maken naar een biologische energiecentrale: de "plant". Deze centrale kent verschillende met elkaar verbonden "afdelingen": wortel, stengel, blad, bloem en vrucht. Het zal ondoenlijk zijn om, evenals bij normale excursies aan omvangrijke en ingewikkelde bedrijven, alle afdelingen te bezoeken. Daarom stel ik voor in eerste instantie de afdeling "blad" te gaan bezichtigen om kennis te nemen van wat daarin gebeurt. We kunnen bij onze gefantaseerde wandelgang het blad binnenkomen via speciale en fraai geconstrueerde openingen die in de vakraal stomata, of huidmondjes, heten. Eenmaal binnen, zijn we in letterlijke zin klein geworden. Immers we zijn zojuist een huidmondje gepasseerd dat de afmeting heeft van enkele tientallen microns (het miljoenste deel van een meter). In figuurlijke zin gaan we ons wellicht ook klein voelen bij het zien van de indrukwekkende vormgeving van het interieur van het blad. We onderscheiden verschillende groepen van compartimenten, per groep van vorm en grootte verschillend, met doorzichtige wanden en inhoud. Onze aandacht wordt in het bijzonder getrokken door een groep cellen waarin zich een aantal groen gekleurde objecten bevinden. Dit zijn de zogenoemde bladgroenkorrels, chloroplasten, met een afmeting van enkele microns. Dichterbij komend, en door de wanden van de cel een chloroplast nader bekijkend, zien we dat deze omgeven is door een dubbele doorzichtige wand met daarbinnen in, in het zogeheten stroma, een architectonisch bijzonder fraai "bouwwerk" bestaande uit groepen op elkaar gestapelde groen gekleurde platte schijven, de zogenaamde thylakoiden. De thylakoidenstapels, grana genoemd, zijn onderling met elkaar verbonden door middel van lange en uitgestrekte zogeheten stroma-thylakoiden, die deel uitmaken van meerdere grana. Dit gestructureerde binnencomplex van de chloroplast vormt het "hart" van de energiecentrale. Hier wordt het op het blad vallende licht ingevangen door gekleurde pigmenten, en komt het,

in figuurlijke zin gesproken, tot leven. De thylakoiden zijn de sub-cellulaire structuren van de groene plantcel, waar de primaire energietransformatie plaats vindt van lichtenergie in electrochemische energie. Deze transformatie is voorwaarde voor, en vormt de eerste aanzet tot, het verloop van een serie van reacties bekend onder de naam fotosynthese. De fotosynthese biedt de plant het unieke vermogen om koolzuur uit de omringende atmosfeer te reduceren tot energie-rijke chemische verbindingen zoals koolhydraten en koolwaterstoffen. Deze gereduceerde verbindingen vormen een chemische energiebron voor veel andere vormen van biologisch leven, en zijn voor de mens onder meer van belang als bron van warmte en voedsel.

Tot zover is onze microscopische excursie naar het binnenste van de groene bladcel goed te vergelijken met een verkennende gang door een afdeling van een georganiseerd bedrijf naar de centrale machiniekamer waar de energievragende be-"werking" van materialen plaats vindt tot een halfprodukt dat noodzakelijk is voor het maken van een eindprodukt. Deze excursie is mogelijk doordat, door de toepassing van licht- en electronenmicroscopie, de structuur van gedifferentieerde cellen en sub-cellulaire lichamen tot in groot detail bekend is geworden. De verschillende processen die zich in de afzonderlijke eenheden en structuren afspelen onttrekken zich echter aan een directe visuele waarneming. Deze processen zijn en worden bestudeerd en inzichtelijk gemaakt door middel van diepgaand onderzoek waarbij gebruik gemaakt wordt van een groot aantal verfijnde fysische en chemische technieken. Daarbij zijn enerzijds veelal destructieve methoden nodig om de procesgang of onderdelen daarvan te analyseren en in kaart te brengen. Anderzijds laten analoge verschijnselen zich in veel gevallen met succes bestuderen in organismen met een lager gedifferentieerd organisatiepatroon. Met betrekking tot onze huidige kennis omtrent het reactiemechanisme van de fotosynthese geldt dat deze kennis voornamelijk is verkregen uit onderzoek verricht met fotosynthetische bacterien, algen, geïsoleerde chloroplasten en chloroplastfragmenten. De reden dat ik een poging heb ondernomen de structuur van het binnenste van de chloroplast aan u te schetsen is ondermeer gelegen in het feit dat, vooral als gevolg van resultaten van specialistisch onderzoek van de laatste tientallen jaren op

het gebied van biomembranen, vastgesteld is dat de doelmatigheid waarmee een fysiologisch proces plaats vindt in hoge mate bepaald wordt door de structurele ordening van het systeem met name met betrekking tot de membranen. Membranen behoren tot de essentiële structurelementen van cellen en sub-cellulaire compartimenten, en spelen, zoals op velerlei wijze is gebleken, een belangrijke rol in een reeks van fysiologische processen. Het inzicht in de wijze waarop deze rol vervuld wordt berust op resultaten van onderzoek naar de bouw en samenstelling van biomembranen. Dit heeft geleid, beginnend met het voor het eerst door Gorter en Grendel voorgestelde model van een dubbellaag van lipiden, tot voorstellingen, waarvan het door Singer voorgestelde vloeibaar-mozaïek model thans vrij algemeen aanvaard is. In dit model wordt de basisstructuur gevormd door een dubbellaag van lipiden met erop, erin of erdoorheen verschillende functionele eiwitten en enzymen. De eiwit- en lipidesamenstelling, als ook de onderlinge orientatie en wisselwerking tussen deze moleculaire bouwstenen, zijn bepalend voor de meervoudige en veelal complexe functies van biologische membranen. De membraan functioneert allereerst als een scheidingswand met een sterke mate van selectiviteit voor de doorlating van moleculen en ionen. Binnen de omhulling wordt een samenstel van chemische bestanddelen en enzymen bijeen gehouden die een samenhangend stelsel van metabole reacties verzorgen. De membraan blijkt echter in veel gevallen zelf actief betrokken te zijn bij de energieregulatie van de metabolische reacties in de door de membraan gescheiden fasen. Daarbij functioneert de membraan als een actieve component in de gehele procesgang en is ze de exclusieve plaats waar transformatie en opslag van energie plaats vindt, en waar energievragende transportprocessen zich afspelen. Het zijn in dit geval vooral de aard, vorm en onderling veelal gerichte rangschikking van de specifieke eiwitten, die bepalend zijn voor de specialistische functie van de membraan.

Het is niet mogelijk in dit kader een volledig beeld te geven van het relatief eenvoudige en verrassend doelmatige organisatiepatroon dat de thylakoid membraan heeft om te kunnen functioneren als ingangstransformator van lichtenergie in biologische energie. Het is de Engelse biochemicus Peter Mitchell geweest, in 1978 bekroond met de Nobelprijs

voor de Chemie, die met zijn zogeheten chemi-osmotische hypothese het onderzoek op het gebied van de biologische energieconversie en van de energieafhankelijke transportprocessen heeft gestimuleerd in een richting waarbij de functie van de membraan in beschouwing wordt genomen. In het concept van Mitchell vindt de energietransformatie plaats aan membranen volgens een reactiemechanisme, waarbij het transport van electronen voor de membraan in één richting gekoppeld is aan een tegengesteld transport van protonen. Een dergelijk mechanisme veronderstelt een specifieke functie en structuur van de membraan, met daarin een speciale en vaste rangschikking van eiwitgebonden electronen- en waterstoftransporteurs, die samen de chemische reactieketen van het proces vormen. Overeenkomstig dit model vindt energieaccumulatie allereerst plaats in de vorm van een elektrische spanning over de membraan ten gevolge van de oplading van de membraancapaciteit door het in één richting plaatsvindende electronentransport door de membraan. Deze spanning zal vervolgens geheel of gedeeltelijk worden omgezet in een electrochemische potentiaalgradient ten gevolge van het tegengestelde protonen transport via de waterstofoverdragende katalysatoren, waarbij tevens een gereduceerde verbinding wordt gevormd onder gelijktijdige oxidatie van een waterstof donor. De aldus gevormde electrochemische energie manifesteert zich als het arbeidsvermogen van een in beweging gezette protonpomp over de membraan. Tengevolge van de werking van deze pomp wordt deze energie tenslotte vastgelegd in de vorm van ATP, de universele energiedrager en energieleverancier voor bijna alle energievragende biologische processen. Omgekeerd kan bij ATP hydrolyse een protonpomp worden geactiveerd waarvan het vermogen wordt gebruikt voor energievragende transportprocessen over de membraan. Tot op het moment dat begonnen werd de chemie-osmotische hypothese experimenteel te toetsen op zijn geldigheid voor de fotosynthetische energietransformatie - we spreken hier over het midden van de zestiger jaren - waren reeds belangrijke moleculaire, fysische en biochemische aspecten van het fotosyntheseproces bekend geworden. Zo was tot in zekere details bekend, dat dit proces verloopt via een reactieketen waarin redox katalysatoren dienen als transporteurs van electronen en waterstof. Het licht dat nodig is om het electronentransport in de reactieketen aan te drijven wordt opgevangen door het

bladgroen, chlorofyl *a* en *b*, en andere, zogenaamde *accessoire* pigmenten zoals carotenoiden. Het is een van de verrassende ontdekkingen uit de jaren '50 geweest dat de pigmenten hierbij niet als één homogeen absorberend systeem kunnen worden beschouwd, maar werkzaam zijn in de vorm van twee onderscheiden pigmentsystemen, waarvan de samenwerking vereist is om tot een volledige fotosynthetische activiteit te komen. In beide fotochemische systemen wordt het licht geabsorbeerd door een eenheid van co-opererende pigment moleculen, de antenepigmenten, en via inductieve resonantie overgedragen aan het zogenaamde reactiecentrum van het betreffende pigmentsysteem. Het fotochemisch-actieve centrum bevat een speciaal chlorofyl dat na energievangst tenslotte een electron overdraagt aan een acceptor molecuul, geen chlorofyl, dat eveneens deel uitmaakt van het actieve centrum. Daarbij gaat het reactiecentrum chlorofyl in de geoxideerde en de acceptor in de gereduceerde toestand over. Op deze wijze vormen de reactiecentra van beide fotochemische systemen twee energieliften voor het electronen- en waterstoftransport in de hiervoor genoemde fotosynthetische reactieketen. De belangrijke bijdrage die mijn leermeester Duysens heeft geleverd aan de ontdekking en opheldering van dit reactiemechanisme wil ik hier met name noemen.

De chemi-osmotische hypothese heeft geleid tot onderzoek naar veranderingen in de fysische eigenschappen van membranen en wel in het bijzonder met betrekking tot de opwekking van veranderingen in de elektrische spanning over de membraan. Dergelijke elektrische veranderingen zouden, zoals we reeds eerder gezegd hebben, op grond van een chemi-osmotisch reactiemechanisme verwacht kunnen worden ten gevolge van het veronderstelde gerichte transport van electronen en protonen over de membraan. In dit verband dient het baanbrekend werk van de groep van Witt en Junge in Berlijn te worden genoemd. Zij hebben op elegante wijze aangetoond, gebruik makend van verfijnde spectroscopische en electronische technieken, dat bepaalde door het licht veroorzaakte kleine kleurveranderingen in chloroplast suspensies, het gevolg zijn van een in de membraan opgewekt electrisch veld. Duysens is de eerste geweest die, reeds in 1954, dit type veranderingen die zich uiten in een toename van lichtabsorptie bij ongeveer 515 nm,



had waargenomen in groene algen. Uit omvangrijk onderzoek naar soortgelijke veranderingen in chloroplasten en fotosynthetische bacterien was gebleken dat deze veranderingen niet kunnen worden toegeschreven aan een fotochemische omzetting van een pigment of redox katalysator. Daarbij was vastgesteld dat ze veroorzaakt worden door een kleine spectrale verschuiving van de absorptieband van de in de membraan gelokaliseerde pigmenten. Junge en Witt toonden later aan dat soortgelijke veranderingen ook teweeg gebracht kunnen worden door in het donker kunstmatig een elektrische spanning over de membraan aan te leggen. Het electrochrome karakter van deze door licht veroorzaakte absorptieveranderingen maakte het aannemelijk dat de reactiecentra van beide pigmentsystemen de thylakoidmembraan geheel of gedeeltelijk overspannen. De fotochemisch-actieve chlorofyl moleculen van de reactiecentra, nl. het zogenaamde P680 voor het zuurstofontwikkende systeem 2, en P700 voor het CO<sub>2</sub>-reducerende systeem 1, bleken zich aan de binnenzijde, en de bijbehorende acceptor moleculen aan de buitenzijde, d.w.z. de naar de stroma gerichte zijde, van de membraan te bevinden. De door de antennepigmenten overgedragen en in de reactiecentra gevangen lichtenergie veroorzaakt een electronenstroom over de membraan van P680 en P700 naar de corresponderende acceptoren, en leidt dientengevolge tot een elektrisch spanningsverschil over de membraan, waarbij de binnenzijde positief wordt ten opzichte van de buitenzijde. De grootte van deze spanning wordt bij excitatie van alle centra in verzadigd licht bepaald door het aantal reactiecentra per eenheid van membraan oppervlak en door de membraan-capaciteit. Uit bekende gegevens van deze grootheden kon worden berekend dat bij een eenmalige excitatie van alle centra een elektrische spanning van 50 tot 100 mV wordt opgewekt. Gezien de geringe dikte van de membraan, ongeveer één honderdste micron, betekent dit een zeer hoge veldsterkte. Deze wordt verantwoordelijk geacht voor bovengenoemde verschuiving (electrochromie) van de absorptieband van de in de membraan gelegen pigmenten. Meting van deze absorptieverandering, opgewekt door korte doch verzadigende lichtflitsen, leverde ons een spectroscopische methode voor een indirecte bepaling van de grootte en het tijdsafhankelijk verloop van de elektrische membraanspanning in algen en chloroplasten. Een dergelijke methode biedt eveneens de

mogelijkheid om in intacte cellen en bladeren informatie te krijgen over de wijze waarop, en de mate waarin het fotosynthetisch energietransductie mechanisme werkt via de vorming van een electrochemische potentiaalgradient over de thylakoidmembraan. Het is echter onder meer uit eigen onderzoek van de laatste jaren gebleken, dat deze methode belangrijke beperkingen heeft voor wat betreft de mogelijkheid om de grootte van elektrische verschijnselen in de membraan op te sporen. Dit voornamelijk tengevolge van de constatering dat de optische veranderingen gemeten bij golflengten die karakteristiek zijn voor de spectrale bandverschuivingen, ten dele ook veroorzaakt worden door osmotische veranderingen van de thylakoiden en door kleine veranderingen in de positie en oriëntering van eiwitten in de membraan. De grootte van de optische veranderingen kan dus niet uitsluitend, zoals tot voor kort door velen is gedaan, als een maat voor de membraanpotentiaal genomen worden. Het is echter mogelijk gebleken ook langs een directe weg de elektrische verschijnselen in de thylakoidmembraan te meten. In dit verband dient het pionierswerk van Bulychev en medewerkers van de biofysische werkgroep in het Biology Department van de Universiteit van Moskou genoemd te worden. Deze slaagden er als eersten in om uiterst fijne glascapillairen, met aan het einde een opening van één tiende micron, in de chloroplast te brengen en de veranderingen in de elektrische spanning over de thylakoid membraan ten gevolge van belichting direct te meten. Door de toepassing van dergelijke electrofysiologische technieken, en aan de hand van elektrische analogie modellen van de membraan, kan het elektrisch en electrochemisch gebeuren over de thylakoidmembraan in de chloroplast van cellen in intacte bladeren worden geanalyseerd.

Het is niet mijn bedoeling om de tot nu toe geleverde bijdrage die het electrofysiologisch onderzoek, met name met betrekking tot de allereerste fotochemische reacties in de chloroplast, verder in detail uiteen te zetten. Ik heb u bij onze denkbeeldige excursie naar het binnenste van een plantenblad gebracht naar de chloroplast, en getracht enige informatie te geven over de structuur en functie van de thylakoidmembraan van deze door het licht aangedreven energiecentrale. In het kort zijn de gebeurtenissen geschetst, die in deze als elektrische batterij

functionerende energietransformator plaats vinden. Met de toepassing van electrofysiologische technieken vindt in werkelijkheid een dergelijke excursie plaats, waarbij de glascapillair als "waarnemer" de chloroplast binnendringt en dient als "berichtgever" van de processen die daar plaats vinden. De bestudering van de grootte en het tijdsverloop van de elektrische signalen als teken en weerspiegeling van de energieomzetting ten gevolge van het geabsorbeerde licht is spectaculair en fascinerend. De verwachting lijkt gerechtvaardigd dat dit type onderzoek, in samenhang met spectroscopisch en chemisch-analytisch onderzoek, bijdragen zal leveren tot het verkrijgen van inzicht in de wijze waarop energietransformerende, energieleverende en energievragende processen aan membranen plaats vinden. De betekenis van dit onderzoek is enerzijds gelegen in het feit, dat verder inzicht nodig is om modelsystemen te kunnen ontwikkelen waarin biologische energieproductie plaats vindt door toepassing van kunstmatige membranen met ingebouwde lichtreceptoren en redoxkatalysatoren. Wij willen trachten in de toekomst aan dit interdisciplinaire onderzoek dat in Nederland in SON-verband, met name in de werkgemeenschap Bio-energetica, wordt gecoördineerd en gesubsidieerd, en ook in Europees verband via projecten van het EEG programma Zonneenergie wordt gestimuleerd, in samenspraak met andere vakgroepen van de Landbouwhogeschool, onze bijdrage te leveren. Anderzijds zal intensivering van het electrofysiologisch onderzoek de mogelijkheden verruimen de invloed van veranderende uitwendige milieuomstandigheden op de energieproducerende en energievragende processen in de plant nader te bestuderen en te evalueren. Een belangrijk voordeel is dat, zoals geschetst voor de chloroplast, dergelijk onderzoek in principe uitgevoerd kan worden op cellulair niveau in intacte organen, onder omstandigheden waarbij niet of nauwelijks wordt ingegrepen in de normale functie. Daarnaast zijn metingen aan geïsoleerde systemen uiteraard onmisbaar voor het verkrijgen van informatie over het mechanisme en de aard van de fysiologische processen welke zich op cellulair niveau en met name aan membranen afspelen. Conclusies over de betekenis en functie van deze processen voor de groei en ontwikkeling van de plant, kunnen slechts met enige zekerheid worden getrokken, wanneer de parameters

die deze processen kenmerken in het intacte systeem direct meetbaar zijn of anderszins gekwantificeerd kunnen worden. Een van de aandachtsvelden binnen de plantenfysiologie waarin de electrofysiologie in toenemende mate een bijdrage zal kunnen gaan leveren is gelegen op het gebied van de transportprocessen. Deze processen zijn in het kader van groei en ontwikkeling van directe betekenis, en het verloop ervan is in veel gevallen onder meer direct afhankelijk van metabolische energie geproduceerd in de chloroplasten en de mitochondrien. In de recente literatuur zijn een aantal transportsystemen beschreven, waarbij het aannemelijk is geworden dat de energie in de vorm van ATP aan het systeem wordt geleverd. ATP-hydrolyse leidt, zoals reeds eerder gezegd, via een chemi-osmotisch reactiemechanisme tot de activering van een proton pomp in een membraan. De door deze pomp opgewekte elektrische potentiaal, en met name de veranderingen die daarin optreden kunnen informatie geven over de wijze waarop en de mate waarin transport van ionen en substraten plaats vindt. Overleg en gedachtenwisseling over dit onderzoek vindt plaats in het kader van de werkgemeenschap Transportprocessen en Biomembranen van de Stichting voor Biofysica. In de toekomst zal het uit wetenschappelijk oogpunt van belang zijn ook de rol van fytohormonen en de mogelijke werking op membraanniveau in beschouwing te nemen. De mogelijkheden om onderzoek hieromtrent te ontwikkelen lijken op voorhand aanwezig te zijn gezien de aanwezige expertise in de vakgroepen Plantenfysiologie en Plantenfysiologisch Onderzoek. Bij het tot stand komen van een volledige integratie van beide vakgroepen zal dit gebied van onderzoek de nodige aandacht dienen te krijgen.

Tot zover heb ik u de wisselwerking tussen licht en de levende plant uitsluitend belicht door te wijzen op de gebeurtenissen in de chloroplast waar de primaire energieproductie, noodzakelijk voor de vervulling van de levensfunctie van de groene plant, plaats vindt. Daarbij is geconstateerd dat de doelmatigheid van deze wisselwerking is gebaseerd op de aanwezigheid van een gespecialiseerde en noodzakelijke structurele ordening van een complex van functionele bestanddelen op cellulair-, subcellulair- en membraan niveau. Dit brengt mij thans en tevens tenslotte tot een beschouwing over de invloed van het licht tijdens de

verschillende fasen van de levenscyclus van de plant gedurende welke ordening en differentiatie via een variëteit van ingewikkelde processen zijn vorm heeft gekregen.

Terwijl de lichtenergie, zoals we zagen, een essentiële functie vervult bij het onderhouden van de levensverrichtingen van de groene plant, gekenmerkt door een in beginsel kwantitatieve relatie tussen de opgenomen energie en de daardoor teweeg gebrachte stofwisselingsprocessen, vervult het licht nog op verschillende andere wijzen noodzakelijke taken voor de ontwikkeling van de plant. Kenmerkend daarbij is dat er juist geen stoichiometrische relatie wordt gevonden tussen de voor deze processen vereiste lichtenergie en de omvang van de daardoor in beweging gezette energetische verschijnselen. Het licht werkt in deze gevallen veeleer als een wisselwachter ("trigger"), met als bijkomstigheid dat veelal minimale lichtenergieën toereikend zijn om een maximaal effect te bewerken. Aan het begin van de zestiger jaren werd ontdekt dat uiteenlopende foto-formatieve processen die o.m. de zaadkieming, groei, ontwikkeling en differentiatie van de plant beïnvloeden, worden gestuurd door eenzelfde licht-gevoelig pigment, het fytochroom. Deze ontdekking is van verstrekkende betekenis geweest. Uit een veelheid van onderzoek in diverse laboratoria, waaronder het onze zich een belangrijke plaats heeft verworven, is komen vast te staan dat dit fytochroom, dat tot de groep van de biliproteïnen behoort, een zogenaamd reversibel pigment is. Dat wil zeggen dat het door licht van passende golflengte wordt omgezet in een andere moleculaire vorm terwijl deze fotochemische reactie door licht van een andere golflengte weer kan worden omgekeerd. Zowel *in vivo* als *in vitro* gaat nl. het fytochroom van een vorm, Pr genaamd, en gekarakteriseerd door een absorptiemaximum bij 665 nm, na blootstelling aan rood licht over in een vorm Pfr, met maximale absorptie bij 730 nm. Omgekeerd wordt het Pfr door blootstelling aan verrood licht weer terug omgezet in Pr. De rood-verrood omkeerbaarheid van fytochroom en een gelijksoortige omkeerbaarheid van een scala van foto-formatieve processen, gevoegd bij de spectroscopische demonstratie van de aanwezigheid van het pigment in sommige van de betrokken plantorganen, hebben het duidelijk gemaakt dat dit pigment functioneert als antenne en schakelaar in een

licht-gevoelig signaleringssysteem dat het groei- en ontwikkelingspatroon van de plant op een tot in veel details nog onbekende, doch subtiële wijze regelt en stuurt. De Pfr vorm is daarbij hoogst waarschijnlijk bij uitsluiting de fysiologisch-actieve vorm. Op zichzelf vormen deze fotoreversibele pigmentomzettingen een belangwekkend en tamelijk uniek verschijnsel. Onderzoek naar de fotochemie ervan heeft geleerd dat de omzettingen in beide richtingen via een aanzienlijk aantal tussenproducten verloopt. Zeer opmerkelijk is dat deze reacties een grote mate van analogie vertonen met die, welke waargenomen zijn bij de fototransformatie van de visuele pigmenten van dieren, niettegenstaande het feit dat we daar met chemisch zeer verschillende chromoforen te doen hebben. Met name geldt deze analogie in hoge mate voor de vergelijking van het fytochroom met een vorm van het rhodopsine zoals dat in de ogen van bepaalde insecten wordt aangetroffen. Bedenken we hierbij dat het fytochroom de rol vervult van een signaalsysteem dat de plant informatie verschaft over met het licht samenhangende milieuomstandigheden, zoals spectrale samenstelling van het licht, intensiteit, relatieve duur van de licht- en donkerperiode enz., dan lijkt het niet te gewaagd, dit pigment het visuele pigment van de plant te noemen. Op welke wijze het in de primaire lichtreactie gevormde Pfr zijn werking uitoefent, is vooralsnog niet met zekerheid vastgesteld. Het leidt geen twijfel dat de vorming van Pfr veranderingen veroorzaakt in het verloop en de snelheid van een aantal biochemische reacties, die de stofwisseling van de cel en de hele plant regelen. Als resultaat daarvan zullen veranderingen in ontwikkeling en groei van organen na korte of langere duur waarneembaar zijn, afhankelijk van de snelheid waarmee één of meerdere van de deelprocessen door het primaire effect worden gemoduleerd.

In de laatste jaren heeft de gedachte veld gewonnen dat Pfr veranderingen veroorzaakt in de fysische eigenschappen van membranen. Pfr zou dan mogelijk een algemene membraanmodulator in planten kunnen zijn. De meest vergaande hypothese is dat het eiwit waaraan het chromofoor van het fytochroom-eiwitcomplex gebonden is in de Pr vorm aan het membraan oppervlak gehecht is, en bij de lichttransformatie in de Pfr vorm een zodanige vormverandering ondergaat, dat dit eiwit geheel of gedeeltelijk de membraan binnendringt en mogelijk hem geheel

overspant. Het is voorstelbaar, dat als gevolg daarvan specifieke geleidingskanalen, waarlangs transport van ionen en substraten plaats vindt, gevormd dan wel gemodificeerd worden. Ten gevolge van dit door Pfr gestuurde transport zou de snelheid van processen in de door de membraan gescheiden fasen kunnen veranderen, of mogelijk kunnen processen geactiveerd dan wel onderdrukt worden die bepalend zijn voor de stofwisseling van de cel. Indien de fytochroomwerking aldus terug te voeren is tot een directe beïnvloeding van transportprocessen over de membraan, dan is het eveneens goed voorstelbaar dat daarbij veranderingen worden teweeggebracht in de verdeling en mobilisatie van fytohormonen in celcompartimenten en tussen cellen in afzonderlijke organen. Dergelijke veranderingen zijn naar alle waarschijnlijkheid oorzaak van een reeks van in geïsoleerde systemen waargenomen metabolische effecten, zoals RNA synthese, vorming van polysomen, enzym-synthese en enzymactivatie, die onderdeel zijn van geïntegreerde deelprocessen welke de ontwikkeling en groei van de organen waarin ze plaatsvinden beïnvloeden. Het komt mij voor dat onderzoek naar de geldigheid van de elegante hypothese met betrekking tot de werking van fytochroom als membraanregulator uiterst gewenst en zinvol is. Een aantal onderzoekers heeft reeds door fytochroom veroorzaakte veranderingen in de membraanpotentialen menen te kunnen aantonen. Gezien de thans aanwezige deskundigheid in de vakgroep zijn er zeker mogelijkheden om een constructieve bijdrage te blijven leveren aan het ophelderen van de belangrijke vraagstelling naar de ingenieuze wijze waarop de plant als energieproducerend organisme reageert op veranderingen in de kwaliteit van het licht. Dit vermogen waarvan de reactiemechanismen op veel punten nog niet opgehelderd zijn, is van vitaal belang, omdat daarmee onder meer de lichtvangst van stralingsenergie voor fyto-synthetische energieproductie geoptimaliseerd kan worden.

Niet uit het oog mag worden verloren dat het chlorofyl en het fytochroom niet de enige pigmenten zijn met behulp waarvan het licht in de ontwikkeling van de plant ingrijpt. De laatste jaren is het o.a. in toenemende mate duidelijk geworden dat een aantal in het blauw-violette deel van het spectrum absorberende plant pigmenten zeer specifieke en voor de normale ontwikkeling van de plant essentiële werkingen bemid-

delen. Over de chemische aard van deze pigmenten wordt nog druk gediscussieerd. Intussen mogen de aanwezigheid ervan en de erdoor te weeggebrachte fysiologische reacties niet uit het oog verloren worden in al die gevallen waar men het gedrag van de plant t.o.v. het licht bestudeert.

Dames en heren, onze excursie naar en in de plant loopt ten einde. Diverse aspecten en kenmerken van hetgeen plaats vindt in dit energieproducerend systeem zijn onbesproken gebleven. Trouwens, in veel opzichten bestaat er nog onvoldoende inzicht omtrent de wijze waarop de plant tot optimale energieproductie komt. Als geïntegreerd en gestructureerd levend organisch geheel staat de plant tijdens iedere fase van de levenscyclus, waarin de diverse organen tot ontwikkeling komen, in directe wisselwerking met variërende omgevingsfactoren zoals temperatuur, lucht, licht, water en bodem. Elk van deze factoren zal afzonderlijk het verloop van een keten van fysiologische processen op specifieke wijze beïnvloeden en daarmee groei, ontwikkeling en productie reguleren. Met betrekking tot het licht beginnen we tot in zekere details bekend te raken met de unieke wijze waarop, en het fascinerende mechanisme waarmee energieproducerende en groei-sturende processen door het licht worden gereguleerd. Verdere toename van kennis omtrent de gang van de fundamentele processen zal noodzakelijk zijn, en ik zie het als een belangrijke taak om in onderwijs en onderzoek een bijdrage te leveren aan deze kennisvermeerdering. Noodzakelijk en belangrijk omdat de biologische energieproductie met de zon als lichtende energiebron een allereerste levensvoorwaarde is voor de instandhouding van het leven op deze aarde.

Aan het eind gekomen van mijn voordracht dank ik Hare Majesteit de Koningin voor de bekrachtiging van mijn benoeming tot hoogleraar aan de Landbouwhogeschool.

Het College van Bestuur ben ik erkentelijk voor het in mij gestelde vertrouwen en voor de steun die ik van haar heb mogen ontvangen. Naar mijn beste vermogen zal ik proberen dit vertrouwen waar te maken. Ik zal de steun van uw College in de toekomst verder nodig



hebben om de omstandigheden te kunnen scheppen waaronder het fysisch- en chemisch-fysiologisch onderzoek zich kan ontwikkelen binnen een vakgroep Plantenfysiologie in het toekomstig Botanisch Centrum.

Lieve Regina, ik dank je voor je steun en toewijding, en voor de wijze waarop je mij op veel, soms moeilijke, momenten met raad en daad ter zijde hebt gestaan.

*Hooggeleerde Duysens, beste Lou,*

Je hebt me binnengeleid en een zevental jaren wetenschappelijk begeleid in het vakgebied van de biofysica. Aankomend in de toen nog jonge vakgroep in Leiden, heb je mij als pas-afgestudeerd fysicus levende bacteriën en algen in de hand gestopt en me oog doen krijgen en middelen verschaft voor een varieteit van mogelijkheden van belangwekkend spectroscopisch onderzoek naar de energetische aspecten van de fundamentele fotosynthese reacties. Daarmee is de basis gelegd voor mijn verdere wetenschappelijke ontwikkeling en is de belangstelling gewekt voor de bestudering van de levensprocessen in de plant. Ik ben je dankbaar voor de wetenschappelijke vorming die je me hebt gegeven en acht het een voorrecht je mijn leermeester te mogen noemen.

*Hooggeleerde Wassink,*

Het feit dat voor degenen die werkzaam zijn in het Wagenings milieu het laboratorium voor Plantenfysiologisch Onderzoek in de wandeling het laboratorium van Wassink werd en wordt genoemd, is veelzeggend. U hebt met uw veelzijdige belangstelling en kennis het fotobiologisch onderzoek in Wageningen opgebouwd en veel onderzoekers mogelijkheden geboden en stimulansen gegeven belangrijke gebieden van onderzoek te ontwikkelen. Uw opvolger te zijn betekent voor mij een eer en tegelijkertijd een opgave.

*Hooggeleerde Bruinsma, beste Joop,*

Ik dank je hartelijk voor de vriendelijke en bemoedigende wijze waarop je me als naaste collega tegemoet bent getreden. Ik stel me veel voor van onze samenwerking in de toekomstige vakgroep Plantenfysiologie bij het tot stand komen van het Botanisch Centrum.

*Directie en medewerkers van het Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek,*

Twaalf jaar lang heb ik onder u mogen vertoeven, waarvan de eerste acht jaar in het CPO. Aan deze tijd bewaar ik de beste herinneringen, en hij is voor mijn vorming van zeer grote betekenis geweest. Het gaat te ver om te stellen dat ik in uw midden van biofysicus omgevormd ben tot plantenfysioloog. Het is echter zeker zo dat in deze jaren mijn belangstelling en interesse voor diverse fysiologische aspecten van het levensgebeuren in de plant zijn gewekt. Het werken in een werkverband waar zowel toegepast als fundamenteel biologisch onderzoek wordt verricht heb ik als uitermate zinvol en boeiend ervaren.

Ik ben de directie van het CABO, en in het bijzonder jou, beste Gaastra, zeer erkentelijk voor de ondersteuning en faciliteiten die ik steeds heb gekregen om het onderzoek, in samenwerking met studenten en gast-medewerkers, te verrichten. Collega's en medewerkers dank ik voor de plezierige samenwerking. Ik hoop dat de vele goede contacten in de toekomst gehandhaafd blijven.

*Dames en Heren, medewerkers van de vakgroep,*

Ik wil u dank zeggen voor de hartelijkheid en behulpzaamheid die u mij vanaf de dag dat ik bij u binnenkwam hebt betoond. De goede sfeer en prettige verstandhouding onder u moge als vanzelfsprekend ervaren worden, het is goed deze tegenover ieder hier aanwezig onder woorden te brengen. Ik wil er mijn beste krachten aan geven om deze sfeer te bestendigen, en hoop dat wij samen de belangen van onze vakgroep bij het verzorgen van onderwijs en het verrichten van onderzoek in een groeiend teamverband en in goede harmonie zullen weten te behartigen en tot verdere bloei weten te brengen.

*Dames en Heren, studenten,*

Diegenen onder u die zich aangetrokken voelen tot onderzoek op het gebied van de bio-energetische en fysisch-fysiologische aspecten van fotosynthese, fotomorfogenese, transport- en groeiprocessen, het zij vanuit een meer fundamentele, hetzij vanuit een meer praktisch gerichte belangstelling, zullen ervaren dat dit onderzoek fascinerend, boeiend, verrijkend en verrassend is. De verrassing kan soms onaange-

naam zijn vanwege het reactionair gedrag van de plant ten opzichte van de milieuomstandigheden en van het menselijk handelen. Ik hoop dan dat u het geduld zult hebben om in zo'n situatie de plant de gelegenheid te geven zijn geheimen toch prijs te geven. Het is daarbij belangrijk de schijnbare geldigheid van de wet van behoud van chagrijn te bestrijden met de toepassing van de wet van behoud van energie.

Ik dank u voor uw aandacht.

## ENKELE LITERATUURGEGEVENS

- J. Barber (ed.): *The Intact Chloroplast*, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1976, 476 pp.
- H.L. Booy en W.Th. Daems (eds.): *Biomembranen, 50 Jaar na Gorter en Grendel*, Centrum voor Landbouwpublikaties en Landbouwdocumentatie, Wageningen, 1976, 166 pp.
- L.N.M. Duysens: *Photosynthesis*, in: *Progress in Biophysics and Molecular Biology* (J.A.V. Butler en H.E. Huxley, eds.), Pergamon Press, Oxford, 1964, vol. 14, 1-104.
- P.C. Hinkle en R.E. McCarty: *How Cells make ATP*, *Scientific American* 238 (3), 1978, 104-123.
- W. Junge: *Membrane Potentials in Photosynthesis*, *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28, 1977, 503-536.
- D. Marmé: *Phytochrome: Membranes as Possible Sites of Primary Action*, *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28, 1977, 173-198.
- C.J.P. Spruit: *Estimation of Phytochrome by Spectrophotometry in vivo*, in: *Phytochrome* (K. Mitrakos en W. Shropshire, eds.), Acad. Press., Londen, 1972, pp. 77-104.
- H.T. Witt: *Energy Conversion in the Functional Membrane of Photosynthesis: The Central Role of the Electric Field*, *Biochim. Biophys. Acta* 505, 1979, 355-427.