

AFWEER, TOLERANTIE, SYMBIOSE

REDE

UITGESPROKEN IN DE OPENBARE
VERGADERING VAN DE SENAAT
DER LANDBOUWHOGESCHOOL
TER GELEGENHEID VAN DE 45^E HER-
DENKING VAN DE DIES NATALIS
OP 9 MAART 1964

DOOR
DE SECRETARIS VAN DE SENAAT

Prof. Dr. A. J. P. OORT



H. VEENMAN & ZONEN N.V. - WAGENINGEN

Dames en Heren,

Door de eeuwen heen heeft de mens zich bezig gehouden met de vraag naar de oorsprong van het leven op aarde. Veelal droegen de beschouwingen hierover een dogmatisch dan wel een filosofisch of speculatief karakter. Eerst omstreeks de dertiger jaren hebben HALDANE en vooral OPARIN zich afgevraagd of ook langs experimentele weg enig inzicht in deze vraag kan worden verkregen. Tot een benadering van dit probleem heeft veel bijgedragen de erkenning dat zovele miljoenen jaren terug de omstandigheden op aarde totaal verschillend zijn geweest van die van tegenwoordig. Verscheidene onderzoekers hebben zich met proeven op dit gebied bezig gehouden. En het is STANLEY MILLER en na hem vele anderen gelukt door middel van elektrische ontladingen van een hoog voltage uit eenvoudige verbindingen zoals methaan, waterstof, ammoniak en waterdamp niet alleen vele aminozuren en andere organische verbindingen te doen ontstaan, maar ook eenvoudige eiwitten. Men stelt zich voor dat deze organische stof zich in de natuurlijke wateren heeft opgehoopt en dat zich uit deze organische oerbouillon het leven heeft ontwikkeld. Op een in 1959 te Amsterdam gehouden symposium over Evolutie heeft QUISPEL over bovenstaand onderwerp een boeiende voordracht gehouden. Dit symposium was georganiseerd ter herdenking van het feit dat 100 jaar geleden „The origin of species” van DARWIN verscheen. Voor de verdere beschouwingen over het ontstaan — uit deze oerbouillon — van zichzelf reproducerende systemen, die wij met het leven aanduiden mag ik verwijzen naar het boekje Evolutie waarin de tekst van de voordracht van QUISPEL is afgedrukt.

Ik wil met U een andere kant van het probleem van het eerste leven op aarde bespreken en U onthullen waarom ik U heb meegevoerd naar een terrein dat zowel in tijd als in vakgebied zover van de fytopathologie afligt. Of beter gezegd schijnt af te liggen zoals ik U nader hoop uiteen te zetten.

Het ontstaan van het eerste levende organisme brengt met zich mede dat dit organisme als individu begrensd is ten opzichte van zijn omgeving. Maar om te leven, te groeien en zich te reproduceren moet het organisme in een voortdurende wisselwerking staan met zijn milieu. Het neemt noodzakelijke stoffen op en scheidt andere af. Het staat bloot aan allerlei stralingen, leeft in een gebied van wisselende temperatuur en vochtigheid, kortom het wordt voortdu-

rend beïnvloed door uitwendige omstandigheden. De grenslaag die het organisme gevormd heeft is dus maar een zeer partiële afscheiding; voortdurend wordt deze door milieufactoren overschreden en doorbroken. Deze wisselwerking is enerzijds noodzakelijk voor het in stand houden van het leven, anderzijds schadelijk wanneer deze factoren in te hoge of te lage dosis aanwezig zijn. Te sterke bestraling, te hoge of te lage temperaturen kunnen beschadigingen of zelfs de dood teweegbrengen, evenals te hoge concentraties van chemische verbindingen. Het is aannemelijk dat reeds in het allereerste begin van de evolutie zich bij de primitieve levende wezens afweermechanismen hebben ontwikkeld om zich tegen excessieve milieufactoren te beschermen.

Hoe men zich het ontstaan van de eerste levende organismen ook denkt, het is duidelijk dat zij niet alleen in voortdurende wisselwerking stonden met het hen omringende dode — abiotische — milieu, maar zij kwamen ook in aanraking met gelijksoortige en andersoortige wezens, dus met het biotische milieu. Zolang het leven nog maar op enkele plaatsen in de oerbouillon was uitgekristalliseerd kon er van vreedzame coëxistentie sprake zijn, maar zodra de levende organismen zich ophoopten en met elkaar in aanraking kwamen moet er tussen hen een interactie zijn ontstaan, een aantrekking en (of) afstoting, een concurrentie of andere onderlinge beïnvloeding, waarbij ook binnendringen in elkaars domein moet zijn opgetreden. Ook hier staat het organisme open ten opzichte van de hem omringende — in dit geval levende — wereld, is de begrenzing dus slechts gedeeltelijk. De onderlinge contacten hebben geleid tot biocoenose, tot symbiose, tot parasitisme. Ongetwijfeld zal het organisme ook afweermechanismen hebben ontwikkeld ten opzichte van schadelijke organismen uit zijn omgeving. Wisselwerking met de omgeving en tegelijkertijd afscherming tegen deze omgeving — het zij dood of levend — moet dus vanaf de oorsprong van het leven een leidend principe zijn geweest.

Ik voer U nu uit het ver verleden terug naar de tegenwoordige tijd om enkele relaties van levende organismen met hun milieu nader te bespreken, waarbij ik het abiotische milieu buiten beschouwing zal laten om mij te beperken tot de relaties tussen levende organismen onderling. Hiervan wil ik een drietal vormen de revue laten passeren en daarbij in het bijzonder uw aandacht vragen voor de onderlinge verhoudingen tussen hogere planten enerzijds en schimmels anderzijds.

Afweer

De eerste is de relatie gastheer-parasiet, waarbij als gevolg van de parasitaire verhouding ziekteverschijnselen optreden; in het vervolg ook aangeduid met plant-parasiet verhouding. Wanneer men een globale schatting maakt van het aantal parasitaire schimmelsoorten

in de wereld dan komt men zeker op enige tienduizenden. Gaat men uit van de gedachtengang dat alles overal is — een gedachtengang die voor schimmels zeer aannemelijk is, gezien het gemak waarmee lichte schimmelsporen over grote afstanden worden verspreid — en dat het milieu selecteert, dan moet hier het milieu d.w.z. de gastheer een zeer strenge selectie uitgeoefend hebben en nog uitoefenen. Want van de vele tienduizenden schimmelparasieten slaan er op één plantenspecies maar enkele aan. Men kan het ook zo uitdrukken: het tot stand komen van een parasitaire relatie is een hoge uitzondering en resistentie of afweer normaal.

Mycologische en fytopathologische handboeken geven hiervan talrijke voorbeelden. Ter illustratie wil ik de plantenfamilie der *Ranunculaceae* en de daarop voorkomende parasieten aan een analyse onderwerpen. Uit een overzicht van in West- en Midden-Europa op deze familie voorkomende roest- en brandzwammen, en echte en valse meeldauwschimmels — slechts een selectie uit de parasitaire schimmelgroepen omvattend — blijkt dat er met weglating van een aantal ondergedoken waterranonkels 133 soorten voorkomen waarvan er 131 worden aangetast, en wel door 100 soorten uit bovengenoemde schimmelgroepen. Parasitisme komt dus zeer algemeen voor en het lijkt in tegenspraak met hetgeen zo juist gesteld is, nl. dat een parasitaire relatie een uitzondering is. Wanneer we nu nagaan hoe deze 100 schimmelsoorten verbreed zijn over de 131 plantesoorten, dan is de sterke specialisatie opvallend. Van deze 131 plantesoorten worden er 72 (d.i. 55%) slechts aangetast door 1 of 2 van deze 100, 37% kan door 3 tot en met 6 parasieten worden geïnfecteerd en de rest, slechts 8%, door meer dan 6. Dit betekent dus dat het grootste gedeelte van de *Ranunculaceae* resistent is tegen 94-99% van de op deze familie voorkomende vertegenwoordigers van bovengenoemde schimmelgroepen. En zeker voor 99,9 of meer % resistent wanneer we alle parasiet-species in het geding brengen.

Bij elke andere plantenfamilie vindt men deze zelfde sterke specialisatie. Dit bevestigt dus het hiervoor gestelde dat resistentie of afweer het normale is en aantasting in feite een uitzonderlijke toevalstreffer.

Afweermechanismen

Men zal zich nu afvragen hoe de plant beschermd is tegen deze duizenden parasieten die hem belagen. Of omgekeerd hoe het komt dat één enkele parasiet wel kans ziet zijn specifieke gastheer aan te tasten. Verschillende mogelijkheden van bescherming of afweer doen zich voor.

1. De resistente plant heeft geen affiniteit voor de parasiet. De kiemhyfen van parasitaire schimmels zouden in dat geval geen neiging hebben in een niet passende gastheer binnen te dringen. Uit talrijke waarnemingen blijkt het tegendeel, zodat ontbreken van af-

finiteit in het algemeen niet als beschermingsmechanisme kan worden gezien.

2. De resistente plant bezit mechanische barrières die voor de schimmel ondoordringbaar zijn. Verkurkte of verhoude cellagen vormen ongetwijfeld hindernissen, maar ontbreken veelal bij jonge plantendelen. Jonge bladen en worteluiteinden zijn onbeschermd en gemakkelijk toegankelijk. Mechanische barrières kunnen daarom zeker niet als een algemeen afweermechanisme worden beschouwd.

3. De resistente plant bevat niet de geschikte voedingsstoffen voor de parasiet. Vele parasieten kunnen op eenvoudige voedingsbodems gekweekt worden en groeien ook op plantenextracten, zodat de voeding op zichzelf niet bepalend zal zijn voor vatbaarheid of resistentie. Hoogstens kan de onderlinge verhouding van de aanwezige voedingsstoffen een modifierende invloed hebben op de plant-parasiet relatie.

4. Van te voren aanwezige fungitoxische verbindingen bepalen de resistentie. Het paradepaardje hiervoor in de literatuur vormen de roodschillige uienrassen, die resistent zijn tegen de aantasting door *Colletotrichum circinans* als gevolg van de aanwezigheid van twee fungitoxische fenolachtige verbindingen in de droge vliezige schubben, die de bol omhullen. Deze stoffen ontbreken in de witschillige rassen. Het voorbeeld is evenwel niet gelukkig, omdat de roodschillige rassen na verwonding of verwijdering van de dode buitenste schubben wel degelijk geïnfecteerd worden. De fungitoxische stoffen komen in de levende delen niet of niet in voldoende concentratie voor en worden klaarblijkelijk pas gevormd bij het afsterven van de schubben.

Talrijke onderzoekers hebben zich beziggehouden met de vraag over het voorkomen van fungicide verbindingen in verband met de resistentie ten behoeve van de veredeling. Vaak vond men bepaalde correlaties, die dan later niet houdbaar bleken. Zo heeft men lange tijd gedacht dat het in zwarte mosterd voorkomende allylthiocyanaat de oorzaak zou zijn van de resistentie tegen knolvoet (veroorzaakt door *Plasmidiophora brassicae*). Later is gebleken dat er rassen zijn van de zwarte mosterd, die vatbaar zijn en die evenveel van deze en een andere fungitoxische verbinding bevatten als de resistente rassen.

Over het voorkomen van fungitoxische verbindingen, die de resistentie zouden bepalen bij andere gewassen — veelal denkt men aan fenolachtige verbindingen — bestaan vele tegenstrijdige opvattingen, maar het lijkt mij dat CRUICKSHANK te ver gaat wanneer hij zegt dat er „no conclusive evidence has been reported” voor het voorkomen van „pre-existent toxins”.

Dit blijkt wel uit het volgende voorbeeld. De tarwehalmdoder (*Ophiobolus graminis*) is een wortelparasiet van granen en grassen, die in nieuwe ontginningen, o.a. in de IJsselmeerpolders en op de

zandgronden zeer veel schade kan aanrichten. Haver is resistent. Een tiental jaren geleden bleek in Schotland haver wel aangetast te worden. Uit de zieke planten isoleerde men een vorm van *Ophiobolus*, die men *var. avenae* heeft genoemd. Uit onderzoek van TURNER is nu gebleken dat haver een glucoside — avenacine — bevat, dat sterk fungitoxisch is en klaarlijk de resistentie bepaalt. De variëteit *avenae* van de parasiet bevat nu een enzym, dat avenacine kan afbreken tot niet fungitoxische componenten en dat bij de gewone vorm van *Ophiobolus* ontbreekt.

Chemische barrières in de vorm van „pre-existent toxins” kunnen we dus niet geheel uitsluiten, al lijkt het gezien ook de opmerking van CRUICKSHANK niet waarschijnlijk dat dit type van resistentie algemeen voorkomt.

Uit het voorgaande is wel duidelijk geworden dat noch het ontbreken van affiniteit of van de geschikte voedingsstoffen, noch de aanwezigheid van mechanische of chemische barrières het verschijnsel van resistentie in zijn algemeenheid kunnen verklaren.

Zijn er dan nog andere vormen van afweer? Wanneer een ras van een plant wordt geïnfecteerd door een bepaalde parasiet, waarvoor dit ras resistent is dan ziet men in vele gevallen een heftige reactie in de geïnfecteerde cellen of weefsels optreden. Deze reactie, aangeduid met overgevoeligheidsreactie, blijkt uit een korrelig worden en daarna afsterven van het protoplasma, gepaard aan een donkerbruin tot zwarte verkleuring van de cel. Hierbij gaat ook de parasiet te gronde. Men moet aannemen dat bij dit dynamische proces als gevolg van de infectie afweerstoffen worden gevormd. Wat de aard van deze afweerstoffen betreft, ook hier heeft men gedacht aan fenolachtige verbindingen en hun oxydatieproducten (chinonen e.d.). Op dit gebied bestaan evenwel nog vele controversen, en ik laat daarom een bespreking ervan achterwege.

Afweer door fytoalexinen

Wel wil ik Uw aandacht vragen voor een bijzondere groep van afweerstoffen, nl. de fytoalexinen. K. O. MÜLLER heeft bij zijn onderzoekingen over de reactie van aardappelrassen op infectie door *Phytophthora infestans*, de verwekker van „de” aardappelziekte, het ontstaan van bijzondere afweerstoffen, die hij fytoalexinen noemde waarschijnlijk gemaakt. Inoculeert men een doorgesneden aardappelknol eerst met een *Phytophthora* stam waarvoor deze resistent is en daarna met een stam waarvoor hij vatbaar is dan blijkt deze tweede inoculatie niet aan te slaan. Volgens MÜLLER zouden er afweerstoffen zijn gevormd, die de knol voor een tweede infectie beschermen. Deze stoffen zouden niet specifiek zijn, alleen in levende cellen gevormd worden, op of in de onmiddellijke nabijheid van de plaats van infectie.

De term verworven immuniteit die in dit verband wel gebruikt

wordt wil ik hier vermijden omdat deze zozeer verweven is met de medische wetenschap dat — afgezien van de vraag of een vergelijking mogelijk is — de kans op vertroebeling van ons inzicht groot is. Hetzelfde geldt voor de term praemunitie, die in de plantenvirologie wordt gebruikt. Liever dan mij te verwickelen in vergelijkende beschouwingen tussen verwante vakgebieden wil ik U iets mededelen over de stand van onze feitelijke kennis betreffende deze fytoalexinen. Merkwaardigerwijze heeft men het verdere onderzoek niet meer met de aardappel uitgevoerd, maar met geheel andere objecten.

GAÜMANN en zijn school bestudeerden het afweermechanisme van orchideeën en isoleerden een verbinding die chemisch geïdentificeerd is en orchinol werd genoemd. URITANI en anderen in Japan onderzochten de stof die onder invloed van infecties in de bataat, *Ipomea batatas*, wordt gevormd. Ook van deze verbinding, ipomeamarone genoemd, is de samenstelling bekend. Door Kuč en medewerkers in de U.S.A. is uit peen, *Daucus carota*, na het aanbrengen van niet passende schimmels eveneens een afweerstof, een isocoumarine, geïsoleerd. Verder hebben K. O. MÜLLER en vooral CRUICKSHANK, later ook Japanse onderzoekers, zich uitvoerig bezig gehouden met afweerstoffen die in Leguminosen worden gevormd. Chemisch geïdentificeerd zijn pisatine uit erwt en het verwante trifoliirhizine uit klaver. Verder zijn in boon en tuinboon twee onderling en van pisatine en trifoliirhizine verschillende verbindingen aangetoond, respectievelijk phaseoline en viciatine genoemd, waarvan de chemische samenstelling nog niet is vastgesteld.

Deze korte opsomming dient alleen om U duidelijk te maken dat onze kennis nog zeer gebrekkig is. Wel zou men provisorisch als vermoeden kunnen uitspreken dat elke plantesoort of groep van verwante soorten zijn eigen fytoalexine vormt als resultaat van een interactie tussen plant en schimmel. Met uitzondering van pisatine en trifoliirhizine zijn deze fytoalexinen onderling in het geheel niet met elkaar verwant.

Over de vorming van het pisatine zijn wij door het uitmuntende werk van CRUICKSHANK thans zeer goed ingelicht. Hij paste een zeer elegante, aan MÜLLER ontleende methodiek toe. Bij het oorspronkelijke onderzoek van MÜLLER bij de aardappel werd met het doorsnijden van de knollen een verwonding toegebracht, terwijl bovendien als storende factor kans bestond op bacterie-verontreiniging. Wanneer men nu jonge peulen van de erwt (of andere Leguminosen) onder aseptische omstandigheden opensnijdt, kan men aan de binnenkant op het steriele endocarp, zonder wonden te maken druppels sporensuspensie aanbrengen. In deze druppels kan men na enige tijd een fungitoxisch principe aantonen, bij de erwt het pisatine. De vorming is duidelijk afhankelijk van de levende gastheer cel. In jonge peulen wordt meer gevormd dan in oude. De vorming is verder

sterk afhankelijk van de temperatuur met een breed optimum bij 15-20°C en minimum en maximum bij ongeveer 0° resp. 35°C. Ethernarcose doet het vermogen om bij latere infectie pisatine te vormen verloren gaan. Pisatine kan reeds 12 uur nadat de sporensuspensie is aangebracht worden aangetoond en de vorming houdt tenminste 2-3 dagen aan.

In totaal werden 19 schimmelsoorten uit verschillende systematische groepen bij het onderzoek betrokken. Hieronder bevonden zich parasieten en niet-parasieten van de erwt. En onder deze laatste waren zowel biotrofe als perthotrofe parasieten van andere gewassen en enkele saprophyten. In alle gevallen werd pisatine gevormd, waarbij geen kwantitatieve verschillen werden geconstateerd tussen parasieten en niet-parasieten van de erwt, en evenmin tussen biotrofe, perthotrofe en saprophytische schimmels.

Vermeld dient nog te worden dat het er voor de vorming niet toe doet of de schimmel de cel binnendringt, zoals bij de erwtenparasiet *Ascochyta pisi* het geval is, of alleen in fysiologisch contact treedt met de gastheercellen zonder daarin binnen te dringen (bij de niet-parasiet van de erwt, *Sclerotinia fructicola*).

Hoewel alles er op wijst dat pisatine een produkt is van de gastheercellen, dient strikt gesproken nog aangetoond te worden dat deze verbinding niet geheel of gedeeltelijk afkomstig is van de schimmel. Uit nader onderzoek bleek nu dat ook zware metalen als chloride op het endocarp aangebracht de vorming van pisatine tot gevolg hebben. Terwijl calcium- en natriumchloride zelfs bij een concentratie van 0,3 M onwerkzaam waren, bleken kwik- en zilverchloride een sterk effect te hebben, de eerste reeds in een concentratie van 3×10^{-5} M, de tweede bij 3×10^{-3} M. Dit bewijst dus dat de gastheercel de fytoalexinen vormt.

Ongetwijfeld zal bij U de vraag zijn gerezen of de vorming van pisatine wel als afweermecanisme kan worden beschouwd, aangezien zowel parasieten als niet-parasieten van de erwt deze verbinding in ongeveer gelijke hoeveelheden doen ontstaan. CRUICKSHANK heeft zich ook met deze vraag bezig gehouden. Laat men sporen kiemen in opklimmende concentraties pisatine, dan kan men de gevoeligheid van een bepaalde schimmel uitdrukken in de concentratie nodig om de kieming van 50% van de sporen te remmen. Deze concentratie wordt effectieve dosis of ED 50 genoemd. De parasieten van de erwt blijken nu zonder uitzondering een veel hogere ED 50 te hebben dan de niet-parasieten. De eerste zijn dus veel minder gevoelig voor pisatine, hetgeen kan betekenen dat pisatine tot een niet of minder toxische verbinding wordt afgebroken of omgezet. Over de weg waarlangs dit gebeurt is nog niets bekend, maar het gehele verschijnsel doet veel denken aan de afbraak van avenacine in haver, door *var. avenae* van *Ophiobolus graminis*, met dit verschil dat avenacine ook in normale niet geïnfekteerde planten aanwezig is. —

Pisatine kan op grond van bovenstaand onderzoek beschouwd worden als een fungicide — een antibioticum zo men wil — met een breed werkingsspectrum. De andere fytoalexinen moesten uit plantenextracten worden geïsoleerd in plaats van uit vloeistofdruppels, zodat het onderzoek moeizamer verliep en niet zo uitgebreid is geweest. Toch is de algemene lijn ook bij deze verbindingen dezelfde als bij pisatine.

In het bijzonder dient nog vermeld te worden dat de isocoumarine in peen ook gevormd wordt bij lage temperatuur en dat ipomeamarone in de knollen van „sweet potato” ook aantoonbaar is na behandeling met toxische verbindingen en als gevolg van insectensteken. Dit maakt aannemelijk dat we met een algemeen principe te maken hebben dat een grote zo niet overheersende rol speelt als afweermechanisme in het algemeen.

Nog een enkele opmerking over de bij Leguminosen geïsoleerde verbindingen. Door een vergelijkend onderzoek met phaseoline uit boon en viciatine uit tuinboon bleek, dat *Ascochyta pisi* normaal gevoelig is voor deze beide verbindingen. *Colletotrichum lindemuthianum*, die een vlekkenziekte op de *Phaseolus*-boon veroorzaakt, verdraagt phaseoline, maar is gevoelig voor pisatine en viciatine. Hetzelfde geldt voor *Botrytis fabae*, een parasiet van de tuinboon (*Vicia*), ten opzichte van viciatine, resp. de beide andere verbindingen.

Nog op geheel andere wijze is het kortgeleden aan de Amerikaanse onderzoekers KLARMAN & GERDEMANN gelukt fytoalexinen of fytoalexineachtige stoffen aan te tonen. Zij werkten met soja en een daarop parasiterende *Phytophthora* soort, die wortel- en stengelrot teweegbrengt. Het onderzoek werd uitgevoerd met twee sojaraassen, waarvan het ene vatbaar, het andere resistent was, maar die overigens in vorm en groeiwijze veel op elkaar geleken. Terwijl planten van het vatbare ras na kunstmatige infectie van het hypocotyl snel worden aangetast en te gronde gaan, ziet men bij het resistente ras dat de cellagen rondom de infectieplaats roodbruin verkleuren, terwijl de aantasting stopt. Men kan nu een drain aanbrengen door bij de infectieplaats door het hypocotyl een draad of touwtje te steken waarvan het ene eind in water hangt en het andere vrij in de lucht. Door verdamping aan het vrij in de lucht hangende einde van de draad zal een waterstroom door de plant optreden. Oplosbare verbindingen worden dan uitgespoeld. Bij geïnfecteerde resistente planten ziet men een rode verkleuring in de draad optreden, terwijl de planten zelf hun resistentie verliezen en aangetast worden. Dit wijst er op dat de in de plant gevormde verbinding geheel of grotendeels wordt meegevoerd. Extraheert men de stukjes draad die vrij in de lucht hangen en filtreert men door een Seitz-filter, dan krijgt men een kiemvrij extract met een duidelijke fungi-

toxische werking op *Phytophthora sojae*. Doet men dezelfde proef met het vatbare ras dan zet zich geen rode kleurstof in de draad af en krijgt men geen remming van de groei in vitro. Brengt men alleen een draad aan zonder inoculatie dan blijkt de verwonding op zichzelf geen invloed te hebben.

De chemische samenstelling van het fytoalexine is nog niet vastgesteld, maar wel zijn nog interessante andere gegevens verkregen. De bovengenoemde Amerikaanse onderzoekers betrokken nl. bij hun onderzoek ook twee andere *Phytophthora* soorten, namelijk *Ph. cactorum* en *Ph. megasperma*, parasieten van andere gewassen, die de beide sojarassen niet aantasten. In extracten van alle vier combinaties, verkregen volgens de draineermethode kon een fungitoxisch principe worden aangetoond. Bovendien kon een fungitoxische stof in de planten worden aangetoond nadat men een cultuurfiltraat van een niet passende *Ph.* soort door de plant had laten opnemen.

Onder voorbijgaan van verdere bijzonderheden, die het beschreven verschijnsel compliceren, kan geconcludeerd worden dat het resistente ras na inoculatie met de drie *Phytophthora* soorten een fytoalexine vormt, terwijl het voor *Ph. sojae* vatbare ras dit alleen doet na inoculatie met de twee niet passende *Phytophthora*'s.

Om ons hiervan een voorstelling te maken kunnen we veronderstellen dat de resistentiereactie bestaat uit een triggermechanisme met een daaraan gekoppelde reeks van chemische omzettingen, die uitloopt op de vorming van een fytoalexine. Het doorbreken van dit resistentiemechanisme door *Phytophthora sojae* bij het vatbare ras kan dan hierop berusten dat of het triggermechanisme niet in werking wordt gesteld of de vorming van één van de omzettingenproducten geblokkeerd. In het laatste geval zou men een ophoping van een niet fytotoxisch tussenprodukt mogen verwachten. Het is wel duidelijk dat het bovenbeschreven afweermechanisme heel anders werkt dan dat van de erwt. Bij deze wordt het fytoalexine pisatine in alle gevallen gevormd, dus — in scherpe tegenstelling met wat er bij soja gebeurt — ook na infectie van een vatbaar ras door de erwtparasiet *Ascochyta pisi*. Men moet dus aannemen dat hier het triggermechanisme wel in werking komt en dat de chemische omzettingen die leiden tot de vorming van pisatine onderweg niet worden geblokkeerd. De afweer berust hier op de geringe gevoeligheid van de erwtparasieten voor pisatine.

Fysiospecifieke resistentie

In alle bovengenoemde gevallen zien wij dus een *algemene* resistentie optreden, die alleen doorbroken kan worden door parasieten, in het bezit van een factor die de door een bepaalde plantesoort gevormde fytoalexine neutraliseert of, om bij *Phytophthora sojae* te blijven, het inwerkingtreden van het afweermechanisme verhindert.

Naast deze algemene vorm van afweer is er ook nog een zeer specifiek mechanisme, dat bij biotrofe parasieten zoals roest- en brandzwammen wordt gevonden. Hierbij speelt de plant-parasitaire wisselwerking zich geheel af tussen de rassen van één plantesoort en de fysiologische rassen (fysios) van één parasiet. De op het eerste gezicht zeer ingewikkelde verhoudingen tussen de rassen en de fysios zijn op geniale wijze ontrafeld door de Amerikaanse onderzoeker FLOR. Hij deed zijn onderzoek met de combinatie vlas-vlasroest (*Melampsora lini*). Door kruisingen zowel van vlasrassen onderling als van schimmelfysios onderling kon hij bewijzen dat er een eenvoudige relatie bestaat tussen resistentiegenen in de gastheer enerzijds en virulentiegenen in de parasiet anderzijds. Elk resistentiegen bepaalt de resistentie ten opzichte van alle virulentiegenen van de parasiet, behalve één. Dit virulentiegen, passend bij het resistentiegen, kan de resistentie doorbreken en te niet doen. Elk resistentiegen in de plant heeft dus zijn tegenhanger in een virulentiegen in de parasiet.

Deze gen-om-gen-theorie heeft een verdere analyse mogelijk gemaakt. In totaal werden bij vlas 21 resistentiegenen en allelen vastgesteld tegenover evenveel virulentiegenen bij de vlasroest. Het ingewikkelde dambordpatroon dat bestaat tussen rassen en fysios kon nu door FLOR volledig verklaard worden uit de interacties van één of meer van de 21 resistentiegenen aanwezig bij elk van de vlasrassen met één of meer van de 21 virulentiegenen aanwezig bij elk van de roestfysios.

Dergelijke gen-om-gen-relaties komen waarschijnlijk bij talrijke andere plant-parasiet combinaties voor waar een sterke specialisatie bestaat. Inderdaad wijst alles er op dat dergelijke systemen werkzaam zijn tussen aardappel en *Phytophthora*, tussen tarwe en steenbrand en tarwe en stuifbrand, hoewel het bewijs daarvoor nog niet of niet volledig kon worden geleverd.

Deze vorm van resistentie kan men aanduiden met fysiospecifieke resistentie.

Het is wel duidelijk dat het bovenstaande resistentiemechanisme op een geheel ander niveau ligt dan het fytoalexinemechanisme en daar in wezen weinig mee te maken heeft. Men moet zich dus denken dat naast een universeel afweersysteem, waarbij fytoalexinen een rol spelen, een ander zeer specifiek mechanisme voorkomt, dat onafhankelijk van het eerste zich afspeelt tussen ras en fysio binnen één plant-parasiet combinatie. Over de aard ervan is evenwel nog niets bekend.

Tolerantie

Ik kom nu tot de tweede vorm van interactie tussen plant en parasiet. Bij de tot nog toe genoemde voorbeelden, wordt de plant ziek wanneer eenmaal de resistentie is doorbroken. De parasiet beschikt

dus over een factor om de plant aan te tasten. Er zijn nu ook gevallen bekend waarbij een parasiet na doorbreken van de resistentie zich in een plant uitbreidt *zonder* symptomen teweeg te brengen en zonder deze ziek te maken. Dit verschijnsel wordt tolerantie genoemd.

Het meest extreme voorbeeld is dat van de endofhyt van twee grassen, nl. Engels raaigras en dolik (*Lolium perenne* en *L. temulentum*). In alle bovengrondse delen wordt regelmatig een schimmel gevonden die met het zaad overgaat en voorzover bekend in de natuur niet fructificeert. De planten vertonen in het geheel geen symptomen en blijven ook in groei en zaadproductie niet zichtbaar achter bij niet geïnfecteerde planten. De schimmel is in reincultuur te kweken en stelt daarbij geen bijzondere voedingseisen. In het bovenbeschreven geval zouden wij van symbiose kunnen spreken ware het niet dat op geen enkele wijze blijkt dat de plant profijt trekt van zijn schimmelpartner. Wel is duidelijk — en dat is kenmerkend voor tolerantie — dat de plant voedingsstoffen beschikbaar stelt of dat deze door de parasiet aan hem worden onttrokken zonder dat de plant hieronder lijdt. Het merkwaardige is dat een gebalanceerd evenwicht ontstaat tussen beide partners, waarbij de parasiet nooit de overhand krijgt maar ook niet uit de plant verdwijnt.

Minder extreme gevallen van tolerantie zijn ten opzichte van andere parasieten beschreven.

Bij de brandzwammen, o.a. bij de steenbrand en de stuifbrand van de granen, is de infectie in het inwendige van het zaad aanwezig of heeft deze bij het ontkiemen plaats. Gedurende de gehele groei-periode van de plant ontwikkelt de schimmel zich langzaam in de stengeldelen en is ook in het vegetatiepunt aanwezig, zonder dat de plant er zichtbaar onder lijdt. Eerst bij het te voorschijn komen van de bloeiwijze of daarna blijkt dat deze geheel of gedeeltelijk vernietigd is en omgevormd in de sporenmassa van de parasiet. In de koekebloem komt een brandzwam voor, die eveneens ongemerkt in de plant leeft en omhoog groeit, en die o.a. in de vrouwelijke bloem van *Melandrium diurnum* de rudimentaire meeldraden doet uitgroeien. In plaats van met stuifmeelkorrels zijn de helmhokjes gevuld met de donkerpaarse brandsporen. In al deze gevallen dus een gebalanceerd evenwicht gedurende het grootste gedeelte van de ontwikkeling in de gastheer en eerst verbreking hiervan ten gunste van de parasiet bij de overgang naar het bloeistadium.

Een merkwaardig geval van tolerantie bij de erwt ten opzichte van *Ascochyta pisi*, de reeds eerder genoemde verwekker van de vlekkenziekte, is beschreven door DEKKER. De normale ziektecyclus verloopt via herhaalde infecties van blad naar blad waarbij scherp begrensde bladvlekken ontstaan en tenslotte van blad naar peul, waarbij de parasiet door de peulwand heen de zaden infecteert. In de jonge kiemplant, ontstaan uit een geïnfecteerd zaad, groeit het

mycelium in de schors van de stengel omhoog en vormt even boven de grond een eerste gelocaliseerde vlek, van waaruit de verdere infectie op de beschreven wijze plaats vindt. DEKKER vond nu tot zijn grote verwondering dat zich soms zieke kiemplanten ontwikkelen uit zaad dat in gezonde peulen is gegroeid. Aanvankelijk werd aan een proeffout gedacht, maar een onderzoek met inachtneming van alle voorzorgen bracht aan het licht dat er planten uit ziek zaad kunnen opgroeien, die geen symptomen (dus geen vlekken) vertonen, en waarin de schimmel tot in de top van de plant kan worden aangetoond. Van dergelijke symptoomloze planten kon in een enkel geval zelfs geïnfecteerd zaad worden gewonnen. Van enige groeivertraging in de erwtenplant was geen sprake.

Dit geval doet sterk denken aan de endophyt van *Lolium*, waarbij immers de schimmel de ontwikkeling van de gastheer van zaadplant-zaad inwendig volgt zonder dat symptomen verschijnen. Het merkwaardige van de combinatie erwt-*Ascochyta* is evenwel dat de interactie nu eens uitloopt op een ziekte met scherp begrensde vlekvorming, dan weer — weliswaar minder frequent — op een systemische infectie zonder symptomen en zonder zichtbare schade voor de plant. Het ontgaat ons ten enenmale wat het tot stand komen van het ene of van het andere verschijnsel bepaalt.

Een geheel ander geval doet zich voor bij de vaatparasieten. *Fusarium oxysporum* en *Verticillium species*. Deze schimmels veroorzaken ziekten die bij talrijke gewassen verwelking en afsterven ten gevolge hebben. Verscheidene onkruiden en wilde planten herbergen *Verticillium* en kunnen de ziekte overdragen. Ze vertonen dikwijls weinig of geen symptomen en gaan niet aan de ziekte te gronde. Hetzelfde vindt men bij *Fusarium oxysporum*. In resistente rassen kan men de parasiet vrij algemeen aantreffen. De uitbreiding van *Fusarium oxysporum lupini* in een vatbaar en een resistent ras van lupine is door SAALTIJK kwantitatief gevolgd. Bij het vatbare ras neemt de uitbreiding van het mycelium in het vaatweefsel snel toe met als gevolg een binnen 10 tot 14 dagen afsterven van de planten; bij het resistente ras volgt op een aanvankelijk langzame toename van het mycelium, na veertien dagen een teruggang tot op een laag niveau. Merkwaardigerwijze blijft gedurende de gehele ontwikkeling levend mycelium in de resistente plant aantoonbaar. Na de bloei en tijdens de afrijping van het gewas krijgt de schimmel weer kans uit te groeien. Met de uitbreiding van de schimmel ziet men soms zwakke ziektesymptomen in de vorm van vaatverkleuring optreden. Hierdoor wordt de zaadproduktie evenwel niet meer merkbaar beïnvloed.

De hier beschreven gevallen van tolerantie zijn van zeer uiteenlopende aard en het is de vraag of zij onder een noemer kunnen worden gebracht. Inzicht in de fysiologische en biochemische achtergronden ontbreekt nog geheel.

Symbiose

Een enkel woord nog over de derde vorm van plant-schimmel-relatie. Hierbij komt een wederzijdse samenwerking tot stand, die men symbiose noemt. Symbiotische relaties tussen vertegenwoordigers van de meest uiteenlopende groepen van organismen zijn even gewoon als gevallen van parasitisme.

Van de associaties tussen plant en schimmel zijn het meest bekend de mycorrhiza van boomwortel en schimmel en die van orchidee en schimmel. Minder bekend is dat ook zeer vele kruidachtige planten een schimmelsymbiont herbergen. Uit het voortreffelijke werk van MELIN en zijn school in Zweden, later ook van vele andere onderzoekers, is gebleken dat bij de boom mycorrhiza een uitwisseling van voedingsstoffen plaats vindt tussen de beide partners. De schimmel ontvangt van de wortels oplosbare koolhydraten, vermoedelijk ook aminozuren en verder verschillende groeistoffen van het vitamine B-complex en onbekende groeistimulators (o.a. M-factor). Van zijn kant ontleent de boom aan de schimmel minerale voedingsstoffen en wellicht andere verbindingen, zodat vooral op de armere gronden een duidelijk sterkere groei wordt verkregen. Het ontbreken van de passende mycorrhiza schimmel kan op sommige nieuwe ontginningen de groei van jonge planten in de zaaibedden zelfs geheel doen stagneren. Dit is o.a. kort geleden gebleken in Suriname bij de aanplant van *Pinus caribaea*, een boomsoort die daar niet van nature voorkomt. Eerst nadat de bijbehorende schimmel, een stuifzwamsort (*Pisolithus spec.*) was ingevoerd, kwamen de zaailingen in de plantbedden tot normale ontwikkeling.

Symbiose is niet altijd een wederzijdse samenwerking waarbij voedingsstoffen worden uitgewisseld. Onder bepaalde omstandigheden waarbij milieu van de symbionten een rol spelen, kan symbiose omslaan in parasitisme. Daarom is ongetwijfeld de kennis betreffende de processen die zich tussen symbiotische partners afspelen ook van groot belang voor de fytopathologie.

Vermeldenswaard zijn nog enkele gevallen waarbij drie partners betrokken zijn. RUINEN heeft waarschijnlijk gemaakt dat varens en orchideeën, die in de tropen als epiphyten op bladen en takken van bomen gevonden worden een mycorrhiza vormen met schimmels, die op hun beurt in verbinding staan met de bladen en takken van de boom die deze epiphyten draagt. Over de aard van de wisselwerking is niets bekend, maar het lijkt er op alsof de boom als gastheer optreedt voor de op de bladen parasiterende schimmel epiphyt associatie.

Iets meer bekend is er van de drievoudige associatie, waarbij een bladgroenloze hogere plant, het stofzaad (*Monotropa hypopitys*) is betrokken. Deze plant, die zowel in loof- als naaldbos voorkomt, werd vroeger als directe parasiet van boomwortels beschouwd. Uit

het onderzoek van Björkman in Zweden is gebleken dat er geen directe verbinding bestaat tussen stofzaad en boomwortel, maar dat deze wordt gevormd door middel van schimmeldraden, die zowel met boomwortel als met stofzaad een mycorrhiza vormen. Aangezien noch de schimmel, noch het stofzaad zelf koolhydraten kunnen opbouwen, of in voldoende mate uit de grond opnemen, zijn zij hiervoor op de boom aangewezen. Na toedienen van radioactieve koolstof in de vorm van glucose aan het phloem van de stam van de boom bleek deze koolstof na korte tijd in het stofzaad aantoonbaar. Ook radioactieve fosfor aan de stam toegediend, kon in het stofzaad worden teruggevonden. De schimmelhyfen dienen dus als leidingweefsel tussen boom en stofzaad. In hoeverre de boom van de schimmelsymbiont profiteert is niet bekend, maar er is alle reden om aan te nemen dat de schimmel, evenals bij normale symbiose, bepaalde verbindingen uit de bodem opneemt en doorgeeft aan de boom. Het stofzaad zelf produceert ook een factor, die de groei van mycorrhiza schimmels, o.a. die van soorten van het geslacht *Boletus* stimuleert, zoals met extracten kon worden aangetoond.

In het voorgaande heb ik getracht U een beeld te geven van de relaties tussen plant en schimmel, waarbij ik drie verschillende typen heb besproken. Ik ben mij er van bewust dat dit beeld fragmentarisch is en veel te simplistisch. In het bestek van deze rede was het niet mogelijk alle facetten van de zeer ingewikkelde processen die zich bij de interacties tussen plant en schimmel voordoen, naar voren te brengen. Bovendien moeten wij erkennen dat wij — ondanks het fraaie werk dat in alle delen van de wereld is verricht en wordt verricht — nog maar aan het begin staan van onze ontdekkingsreis op dit gebied. De fytopathologie heeft in vergelijking met de medische wetenschap in dit opzicht een grote achterstand. Het is daarom een verheugend verschijnsel dat er in toenemende mate onderzoek wordt verricht op dit zo dynamische onderdeel van de fytopathologische wetenschap. Met behulp van de fysiologie, de biochemie, de moleculaire biologie en de anatomie (deze laatste steeds meer gesteund door de elektronenmicroscopie) worden de intrigerende en boeiende verschijnselen van parasitisme, tolerantie en symbiose bestudeerd. Deze ontwikkeling lijkt ver af te staan van de praktische planteziektenbestrijding, maar het is mijn overtuiging dat alleen verdieping van kennis en inzicht kan leiden tot nieuwe wegen in de strijd tegen ziekten en plagen.

Ik heb gezegd