

De voordrachten uitgesproken tijdens het symposium 'Leven met schimmels' leverden het materiaal voor deze uitgave.

Het symposium vond plaats op 11 november 1983 in Amsterdam en werd georganiseerd door de Biologische Raad der Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, mede ter gelegenheid van het 75-jarig bestaan van de Nederlandse Mycologische Vereniging.

leven met schimmels

Bibliotheek
Plantenziektenkundig Instituut
Binnenhaven 8 - Postbus 3102
6700 ER WAGENINGEN

J.G.H. Wessels (redactie)



Pudoc Wageningen 1985

len = 214686

In de redactiecommissie voor deze uitgave hadden zitting: prof.dr. J.G.H. Wessels, drs. H.M. van Emden (Biologische Raad) en ing. J. Castelein en R.J.P. Aalpol (Pudoc).

CIP-GEGEVENS

Leven

Leven met schimmels / J.G.H. Wessels (red.). - Wageningen : Pudoc. - Ill. - (Biologische Raad reeks). Voordrachten uitgesproken tijdens het symposium "Leven met schimmels", Amsterdam, 11 november 1983, georganiseerd mede ter gelegenheid van het 75-jarig bestaan van de Nederlandse Mycologische Vereniging. - Met lit. opg., reg.

ISBN 90-220-0883-5

SISO 583 UDC 582.24

Trefw.: schimmels

ISBN 90 220 0883 5

Op de omslag: Sporendragers van *Radiomyces spectabilis* (x 3000).

(Foto Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn).

© Pudoc, Centrum voor Landbouwpublikaties en Landbouwdocumentatie, 1985.

Niets uit deze uitgave, met uitzondering van titelbeschrijving en korte citaten ten behoeve van een boekbespreking, mag worden gereproduceerd, opnieuw vastgelegd, vermenigvuldigd of uitgegeven door middel van druk, fotokopie, microfilm, langs elektronische weg of op welke andere wijze ook zonder schriftelijke toestemming van de uitgever Pudoc, Postbus 4, 6700 AA Wageningen. Voor alle kwesties inzake het kopiëren uit de uitgave: Stichting Reprorrecht, Amsterdam.

Inhoud

R. A. Samson

HET RIJK DER SCHIMMELS	9
Plaats van de schimmels in het natuurlijk systeem	9
Morfologie	10
Voortplanting	13
Groeiomstandigheden	14
Levensrelaties van schimmels met andere organismen	16
Schimmels als saprophyten en de aantasting van materiaal	20
Schimmels en het voedsel	22
Reincultuur en schimmelcollecties	26
Schimmels als chemische fabriek	26
Literatuur	27

J. G. H. Wessels

DE CELBIOLOGIE VAN SCHIMMELS	31
Inleiding	31
Schimmels als unieke levensvormen	32
Onderzoek aan schimmels als modelsystemen	35
Onderzoek aan schimmels als unieke levensvorm	50
Genetische manipulatie van schimmels	60
Literatuur	68

B. Schippers

RELATIES TUSSEN SCHIMMELS EN PLANTEN	71
Lichenen	72
Epifytische schimmels	74
Mycorrhiza	80

Interacties tussen pathogene schimmels en planten	87
Pathogene schimmels en plantengemeenschappen	93
Literatuur	99
 <i>D. A. A. Mossel</i>	
SCHIMMELS IN MENSELIJK PERSPECTIEF	103
Inleiding	103
Recycling	105
Bestrijding van bederf door schimmels	108
Risico's van schimmelvergiftigingen (mycotoxicosen)	110
Bestrijding van beschimmelings bij granen	113
Literatuur	116
 <i>A. H. Klokke</i>	
OVER GEVOELIGHEID VOOR SCHIMMELS	118
Mycosen	118
Allergische aandoeningen door schimmels	128
Mycotoxicosen	130
Literatuur	131
 <i>W. A. Scheffers</i>	
SCHIMMELS IN DE INDUSTRIE	132
Inleiding	132
Bakkersgist	135
Alcohol	138
Single-cell protein	141
Enzymen	145
Penicillines en cefalosporines	147
Steroïd-conversies	150
Productie van geur- en smaakstoffen	152
Uitzicht	156
Literatuur	157

<i>K. Verhoeff</i>	
SCHIMMELS, TEN GOEDE EN TEN KWADE	160
Schimmels ten kwade	160
Het keren van het kwaad	164
Schimmels ten goede	165
Ten kwade en ten goede	171
Besluit	173
Literatuur	173
DE AUTEURS	175
REGISTER	178

Het rijk der schimmels

R. A. Samson

Dit hoofdstuk geeft een algemeen overzicht, waarin de plaats van schimmels in de systematiek van de levende organismen in het kort behandeld zal worden en tevens wordt aangegeven hoe groot de diversiteit en vormenrijkdom is. Ook de karakteristieke eigenschappen, hun rol in de natuur en in onze maatschappij worden toegelicht. Voor algemene overzichten wordt de lezer verwezen naar andere bronnen (Samson & Van der Aa, 1979; Cooke, 1980; Webster, 1982; Müller & Löffler, 1982). Voor een Nederlandse tekst van het systeem van de fungi en determineersleutels naar de te onderscheiden groepen wordt naar Gams (1984) verwezen.

In het algemeen Nederlands taalgebruik wordt het woord 'schimmel' meestal gebruikt voor een beperkte groep van schimmels, zoals de imperfecte schimmels (bijvoorbeeld *Penicillium*- en *Aspergillus*-soorten). Andere vertegenwoordigers van het schimmelrijk (de Fungi) noemen we paddenstoelen, zwammen en gisten. Het blijkt dat er eigenlijk geen goede Nederlandse term is voor de verzamelnaam Fungi. Bij de volgende teksten zal echter voor de verschillende verschijningsvormen alleen de term schimmel gebruikt worden als equivalent voor Fungi.

PLAATS VAN DE SCHIMMELS IN HET NATUURLIJK SYSTEEM

Schimmels worden door velen nog steeds gezien als planten. In de klassieke systemen voor verwantschappen tussen organismen worden schimmels dan ook samen met de varens, mossen en algen tot de lagere planten gerekend. Door de afwezigheid van bladgroen zijn schimmels aangewezen hun voedselbron te zoeken in organisch gebonden koolstof. Op grond van deze eigenschap en andere kenmerken, zoals de aanwezigheid van chitine in de celwand, beschouwen Margulis & Schwartz (1982) de schimmels als

een apart rijk. In hun concept van de vijf rijken plaatsen Margulis & Schwartz (1982) de Oömyceten en Chytridiomyceten, die in de conventionele systemen tot de schimmels gerekend worden, bij de Protoctista. Dit geldt ook voor de slijmzwammen of Myxomyceten (zie ook het hoofdstuk van Wessels).

Verschillende systemen zijn bekend, waarvan de klassifikaties aangepast zijn aan de moderne opvattingen van de plaats van de schimmels in het natuurlijk systeem (Von Arx, 1974; Kreisel, 1969). De conventionele systemen van Ainsworth (in Hawksworth et al., 1983) en van Alexopoulos & Mims (1979) zijn het meest ingeburgerd. Tabel 1 geeft de leiding zoals die door de laatste auteurs worden voorgesteld.

Het aantal schimmelsoorten wordt soms geschat op 150 000. Deze schatting is tamelijk subjectief en het aantal schimmels is sterk afhankelijk van het soort-concept, dat door de verschillende systematici gehanteerd wordt. Hawksworth et al. (1983) berekenen het schimmelrijk op 64 200 taxa.

MORFOLOGIE

De grondstructuur is over het algemeen het mycelium (zwamvlok), bestaande uit hyfen (schimmeldraden). Figuur 1 laat het mycelium van *Mucor racemosus* zien, waarin regelmatige dwarswanden, die bijvoorbeeld voor de andere groepen karakteristiek zijn, ontbreken. De cellen kunnen hier meerdere kernen bevatten. In andere schimmels is maar één kern, soms twee kernen per cel aanwezig. Op het mycelium kunnen de organen ontwikkeld worden voor de voortplanting. Dit kunnen in *Mucor* eenvoudige sporangiëndragers zijn. In andere schimmels, zoals bij de Basidiomyceten, zien we complexe vruchtlichamen.

Naast de myceliumstructuur worden door schimmels ook eenvoudige spruitcellen gevormd, die onder meer door knopvorming kunnen ontstaan (figuur 2). Deze structuur is niet alleen kenmerkend voor de gisten, doch deze vorm van voortplanting vinden we ook bij alle andere schimmelgroepen. De gistfase kan dan naast een aantal andere vormen optreden in een levencyclus (pleomorfie).

Tabel 1. Classificatie van het schimmelrijk (concept volgens Alexopoulos & Mims, 1979). Achter de (sub)klassen zijn de geslachtsnamen opgesomd uit de tekst van de hoofdstukken.

Divisie: Gymnomycota

Klasse: Acrasiomycetes

Myxomycetes: *Dictyostelium*

Protosteliomycetes

Divisie: Mastigomycetes

Klasse: Chytridiomycetes

Oomycetes: *Phytophthora*

Hyphochytridiomycetes

Plasmodiophoromycetes: *Plasmodiophora*, *Oïpidium*

Divisie: Amastigomycota

Klasse: Zygomycetes (jukzwammen): *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Amylomyces*

Klasse: Trichomyceten

Klasse: Ascomyceten (zakjeszwammen)

subklasse: Hemiascomycetidae: *Saccharomyces*, *Candida*

Plectomycetidae: *Monascus*, *Emericella*, *Ophiostoma*

Hymenoascomycetidae: *Cordyceps*, *Neurospora*, *Gaeumannomyces*

Laboulbeniomycetidae

Loculoascomycetidae: *Venturia*

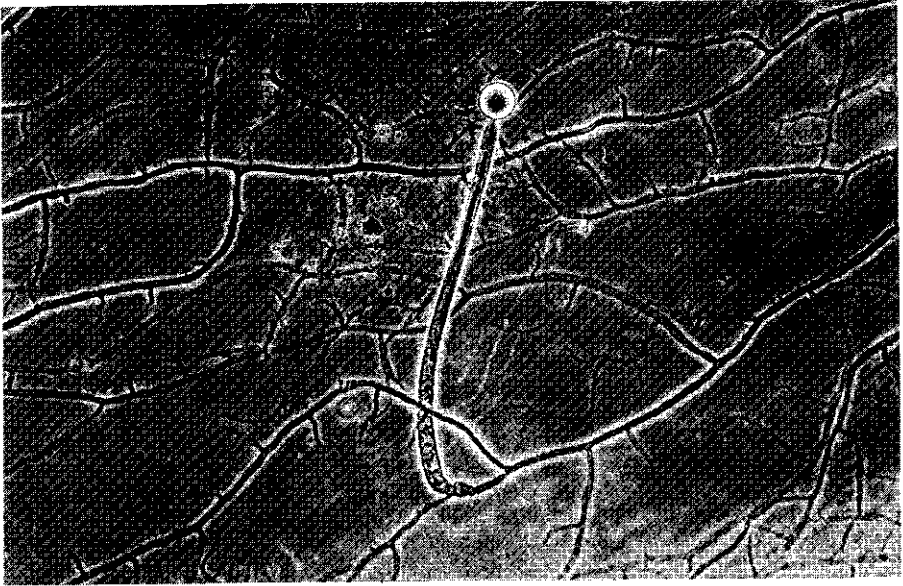
Klasse: Basidiomyceten (steeltjeszwammen)

subklasse: Holobasidiomycetidae: *Schizophyllum*, *Agaricus*, *Pleurotus*, *Serpula*, *Rhizoctonia*

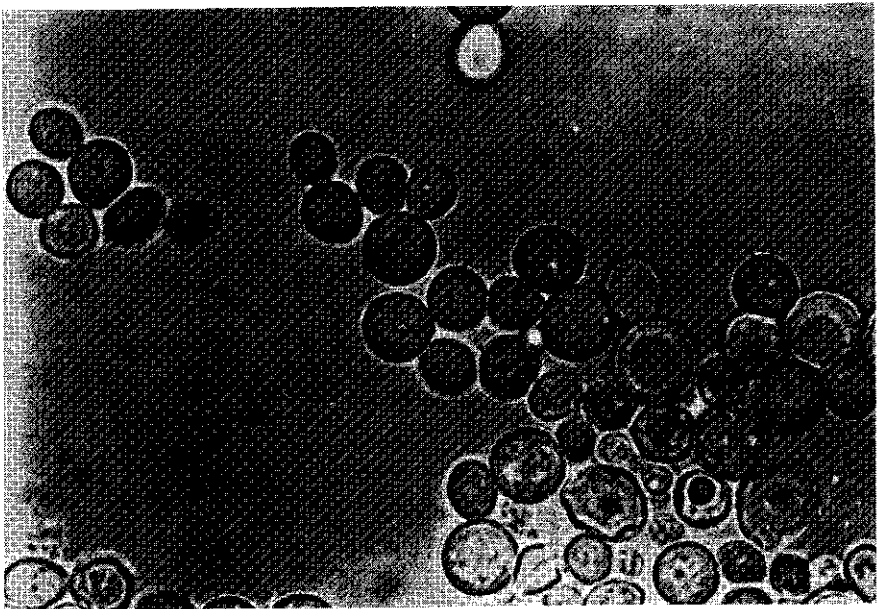
Phragmobasidiomycetidae

Teliomycetidae: *Cryptococcus*, *Sporobolomyces*

Deuteromyceten (Imperfecte schimmels, groep gebaseerd op ongeslachtelijke kenmerken): *Aspergillus*, *Alternaria*, *Aschersonia*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phialophora*, *Phoma*, *Septoria*, *Verticillium*



Figuur 1. Mycelium van *Mucor racemosus*, bestaande uit hyfen en een sporangiumdrager.



Figuur 2. Spruitcellen van de gist *Debaryomyces hansenii*.

VOORTPLANTING

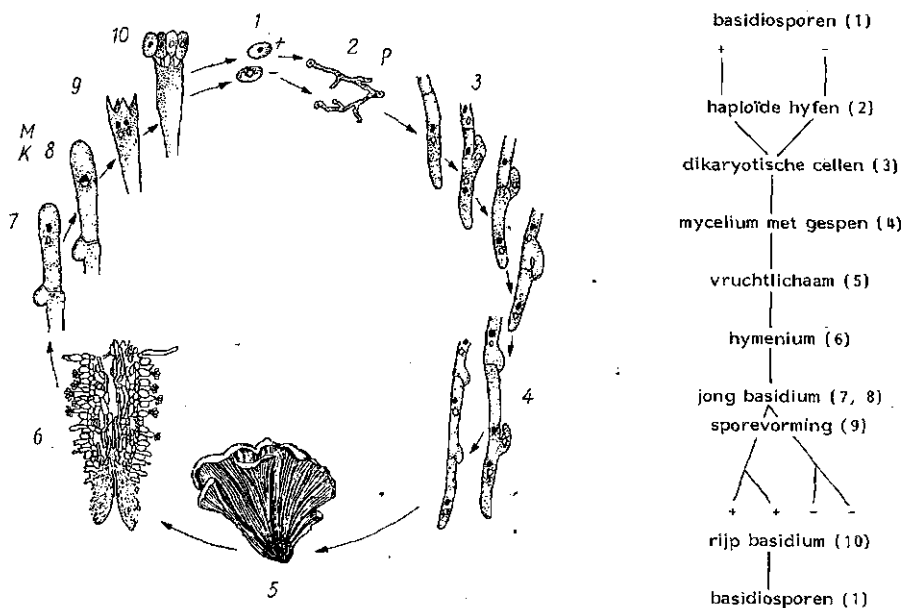
Ongeslachtelijke voortplanting

De ongeslachtelijke voortplanting bij de schimmels geschiedt door het uiteenvallen van hyfen, door de vorming van dikwandige chlamydosporen, sclerotiën of door bewegelijke zoösporen (bij de lagere waterschimmels), of sporen, die bij de Deuteromyceten konidiën worden genoemd. De ontogenie van deze structuren leveren belangrijke criteria voor de taxonomie (zie Cole & Samson, 1979). Bij de Zygomyceten betreft het sporen, die endogeen in een sporangium worden gevormd. Bij de Fungi Imperfecti zijn het konidiën, die volgens zeer verschillende wijze kunnen ontstaan. De ongeslachtelijke voortplanting is karakteristiek voor de imperfecte schimmelgeslachten *Penicillium*, *Aspergillus* en *Cladosporium*.

Geslachtelijke voortplanting

De geslachtelijke voortplanting is divers en bepalend voor de plaats van de schimmels in het systeem. Sexuele voortplanting geschiedt bijvoorbeeld d.m.v. zygosporen, ascosporen of basidiosporen. Verschillende levenscycli zijn mogelijk en de belangrijkste zijn als volgt in te delen:

- Haploïde cyclus. Deze cyclus komt voor bij vele Phycomyceten en sommige Ascomyceten en wordt getypeerd door een lange haploïde en een zeer korte diploïde fase. Na kernversmelting volgt onmiddellijk reductiedeling.
- Haploïde/dikaryotische cyclus. De meest algemene cyclus bij vele groepen van schimmels. In deze cyclus versmelten de kernen na kruising van twee haploïde mycelia niet, maar blijven apart in dezelfde cel. Zij kunnen synchroon delen en het dikaryotisch mycelium kan voor onbepaalde tijd groeien. Pas vlak voor de meiose versmelten de twee kernen. Een voorbeeld is gegeven in figuur 3, de basidiomycet *Schizophyllum commune*, waarvan de levenscyclus nader besproken zal worden in het hoofdstuk van Wessels.
- Haploïde/diploïde cyclus. Een weinig voorkomende cyclus beperkt tot enkele vertegenwoordigers van de Oömyceten. De haploïde en diploïde fase kunnen elkaar hier regelmatig afwisselen.



Figuur 3. Levenscyclus van *Schizophyllum commune* (Uit Esser & Kuehnen, 1965). K = kernversmelting, M = meiose, p = paring van haploïde hyfen.

- Diploïde cyclus. Deze cyclus is vooral te vinden bij de Oömyceten, waarbij de haploïde fase alleen optreedt bij de gametangiale fase.

GROEIOMSTANDIGHEDEN

Een relatief beperkt aantal schimmels zijn typische waterbewoners, doch de meeste soorten leven terrestrisch. Ze ontwikkelen zich meestal onder hoge luchtvochtigheden of groeien juist onder zeer droge omstandigheden. In het algemeen kunnen schimmels onder verscheidene, vaak extreme omstandigheden groeien. Vele factoren (organische koolstof- en stikstofbron, temperatuur, vochtigheid, vitaminen, licht enz.) zijn belangrijk (voor algemene overzichten zie bijvoorbeeld Griffin, 1981). De volgende milieufactoren worden hier kort behandeld.

1. Zuurstof

De meeste schimmels hebben zuurstof voor hun groei nodig, het zijn typisch aërobe organismen. *Saccharomyces cerevisiae* (bakkersgist) en verwante soorten kunnen evenals enkele waterschimmels wel onder anaërobe omstandigheden groeien. Verder zijn er soorten die maar heel weinig zuurstof nodig hebben, zoals *Penicillium roqueforti*.

2. Zuurgraad

Schimmels ontwikkelen zich meestal bij een neutrale pH, doch bij hun groei kunnen zij zowel zure als basische producten afscheiden, die het medium waarin ze groeien zuur of basisch maken. Schimmels groeien in het algemeen ook goed bij een lage pH, dit in tegenstelling tot andere micro-organismen, zoals de meeste bacteriën.

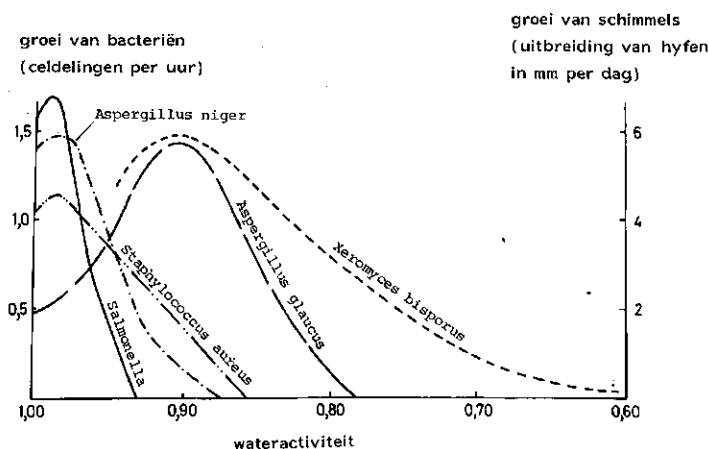
3. Water

Een belangrijke milieufactor is water, tegenwoordig meestal uitgedrukt als wateractiviteit ($a_w = P/P_o$, waarin P = partiële waterdampspanning en P_o = verzadigde waterdampspanning). De meeste micro-organismen ontwikkelen zich niet meer bij een a_w lager dan 0,95. Schimmels kunnen echter zelfs tot een a_w van 0,65 groeien (figuur 4). Daarom is de ontwikkeling van schimmels in een droog milieu soms goed mogelijk.

4. Temperatuur

Het temperatuurbereik waarin schimmels kunnen groeien varieert enorm. De meeste schimmels zijn mesofiel en groeien optimaal bij 20 tot 25 °C. De psychrofile soorten, zoals *Fusarium*-soorten, groeien bij temperaturen onder het vriespunt. Schimmels kunnen dus ook in de koelkast tot ontwikkeling komen. Een vijftigtal soorten zijn thermofiel en groeien pas boven 25 °C met een maximum tot boven de 60 °C.

Voor vele soorten is een zeer geringe voedselbron voldoende om tot ontwikkeling te komen en mede dank zij hun capaciteit om extreme omstandigheden te weerstaan treden schimmels op in milieus waarin geen of vrijwel



Figuur 4. Groei van bacteriën en schimmels bij verschillende wateractiviteit. (Uit Northolt & Soentoro, 1984)

geen microbiologische activiteit verwacht wordt. De ascomycete *Emericella fruticulosa*, die in droge Egyptische woestijngrond voorkomt, is een mooi voorbeeld van een schimmel die zowel in droge milieus kan groeien als hoge temperaturen kan doorstaan. Huisstof, waarin eigenlijk geen microbiologische activiteit verwacht wordt, blijkt wel degelijk schimmels te bevatten die een belangrijke rol spelen bij de levenswijze van de huisstofmijten (Van Bronswijk, 1981). De ontdekking van deze xerofiele (droogteminnende) schimmels is vooral te danken aan de toepassing van nieuwe isolatietechnieken.

LEVENRELATIES VAN SCHIMMELS MET ANDERE ORGANISMEN

In de natuur kunnen schimmels verschillende soorten relaties aangaan met andere organismen.

Symbiose

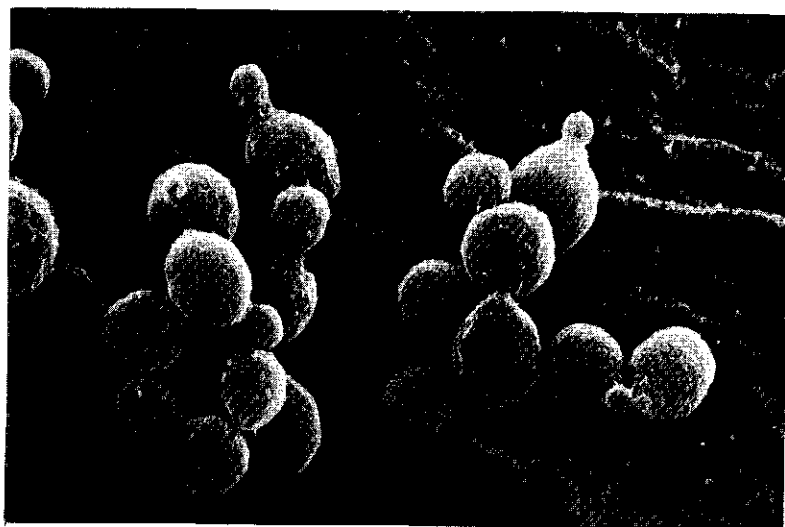
De twee belangrijkste symbiotische relaties die schimmels kunnen aangaan zijn die met algen: de korstmossen (Hale, 1974; Henssen & Jahns, 1974; Vobis & Hawksworth, 1981) en met planten: de mycorrhiza's (zie

het hoofdstuk van Schippers). De kennis over de symbiose tussen insecten en schimmels is nog onvolledig, doch er is in de laatste jaren veel onderzoek gedaan (Batra, 1979). Bij sommige sociale insecten, zoals de blad-snijdermieren en termieten, worden speciale onderaardse schimmeltuinen aangelegd, die als eiwitrijke voedselbron dienen (Weber, 1979; Heim, 1977; Batra, 1979). Het commensalisme dat tussen de Trichomyceten en vele waterbewonende geleedpotigen bestaat kan tevens beschouwd worden als een speciaal geval van symbiose (Moss, 1979).

Parasitisme

Schimmelparasieten komen bij alle levende organismen voor (Deverall, 1969). Ze kunnen hun parasitisme facultatief of obligaat uitoefenen en verschillende graden van schade aan hun gastheer toebrengen. Voor de schimmelparasieten die op planten voorkomen wordt verwezen naar het hoofdstuk van Schippers. Ook mens en dier kunnen worden geparasiteerd door schimmels. Dit kan bij de mens een onschuldige voetschimmel zijn of een dodelijke mycose veroorzaakt door *Cryptococcus* (figuur 5). Hoewel men het misschien niet zou verwachten, trekken de schimmelziekten bij de mens vooral de laatste tijd weer de aandacht. Een actueel voorbeeld is de feitelijke doodsoorzaak van AIDS-patiënten (AIDS= Acquired Immune Deficiency Syndrome), die meestal te wijten is aan een schimmelinfectie, bijvoorbeeld *Aspergillus* of *Cryptococcus* (Anoniem, 1984). Gezonde mensen zijn normaal ook blootgesteld aan dergelijke opportunistische pathogene schimmels, doch alleen bij een verzwakt immuumsysteem, zoals we dat bij AIDS-patiënten vinden, kunnen deze schimmels pathogeen worden (zie het hoofdstuk van Klokke). Ook in de derde wereld zien we dat naast de echte pathogenen de opportunistische schimmels op de voorgrond treden. Een voorbeeld toont figuur 6, waarin een jongen uit El Salvador besmet met een phaeohyphomycose wordt getoond, veroorzaakt door de schimmel *Exophiala spinifera*, een soort die door de medische mycologen meestal tot de zwarte gisten wordt gerekend. Het medische en taxonomische onderzoek van deze groep is vooral de laatste jaren gedaan.

Mycosen treden in het dierenrijk veelvuldig op en naast schimmelparasieten bij de vertebraten zijn er tientallen schimmelsoorten die de geleedpotigen kunnen parasiteren door hun vermogen het chitineschild te pene-



Figuur 5. Scanning-elektronenfoto van de gistcellen van *Cryptococcus neoformans*.



Figuur 6. Jongen uit El Salvador besmet met phaeohyphomycose. (Foto T. Matsumoto).

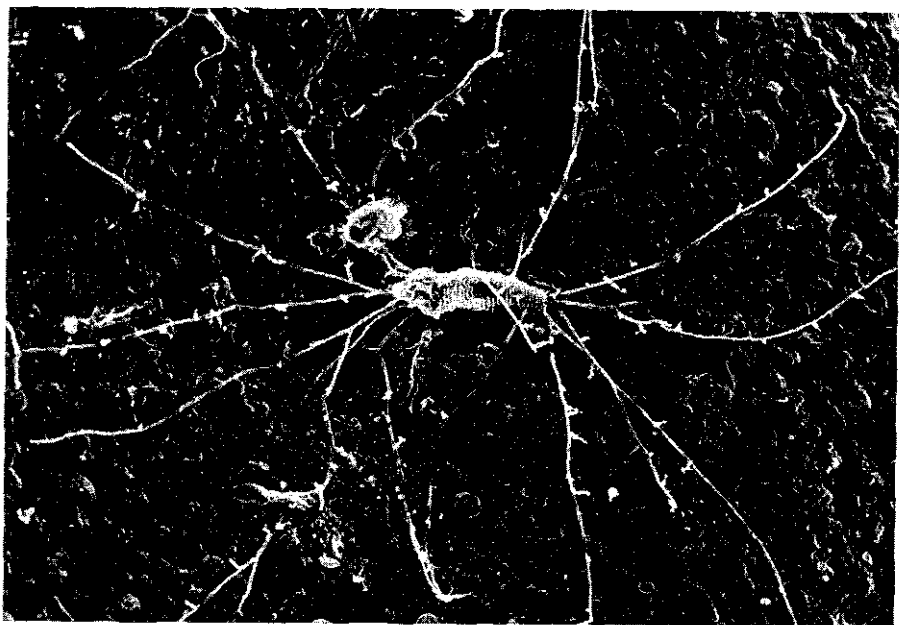
treren, de zogenaamde entomogene schimmels genoemd. Figuur 7 laat een mier zien die geparasiteerd is door de ascomyceet *Cordyceps unilateralis*. Vele van deze schimmelparasieten zijn zeer specifiek wat betreft hun gastheer. In een natuurlijk biotoop oefent de parasitaire schimmel dan ook een regulerende rol uit. In een tropisch regenbos wordt een parasitaire insekenschimmel pas epidemisch indien een bepaalde insektenpopulatie zich te sterk ontwikkelt.

Deze gastheerspecificiteit kan worden aangewend door deze schimmels, indien deze gemakkelijk kunstmatig te vermeerderen zijn, te gebruiken voor de biologische bestrijding van schadelijke geleedpotigen. Een goed voorbeeld is de schimmel *Hirsutella thompsonii* (figuur 8), die als natuurlijke parasiet voorkomt bij de citrusroestmijt. Deze schimmel wordt in de Verenigde Staten gebruikt als biologisch bestrijdingsmiddel tegen de citrusroestmijt, die jaarlijks tientallen miljoenen dollars schade veroorzaakt in de citrusplantages.

Vele insekten-parasiterende schimmels zijn gemakkelijk in reïncultuur



Figuur 7. *Cordyceps unilateralis* op mier.



Figuur 8. Scanning-elektronenfoto van *Hirsutella thompsonii* op citrus-roestmijt ($\times 1600$).

te isoleren en in massa te produceren. De laatste 20 jaar is veel onderzoek gedaan naar de praktische toepassing van deze schimmels (Samson, 1979). In tabel 2 zijn de meest belovende kandidaten voor de biologische bestrijding opgesomd. In deze tabel zien we twee schimmels (*Hirsutella thompsonii* en *Verticillium lecanii*) die in de Verenigde Staten en Engeland reeds commercieel verkrijgbaar zijn voor de bestrijding van bladluis en citrus-roestmijt. Ook *Metarhizium anisopliae* wordt in Brazilië door de boeren zelf geproduceerd en gebruikt tegen verschillende insectenplagen (Burgess, 1981).

SCHIMMELS ALS SAPROFYTEN EN DE AANTASTING VAN MATERIAAL

De meest algemene levensvorm van schimmels in een natuurlijk biotoop is die van saprofyt, met als eigenschap voedingsstoffen te onttrekken aan dood plantaardig of dierlijk materiaal. De afbraak van dit dood mate-

Tabel 2. Schimmels die gebruikt worden als biologisch bestrijdingsmiddel tegen insecten- en mijtenplagen.

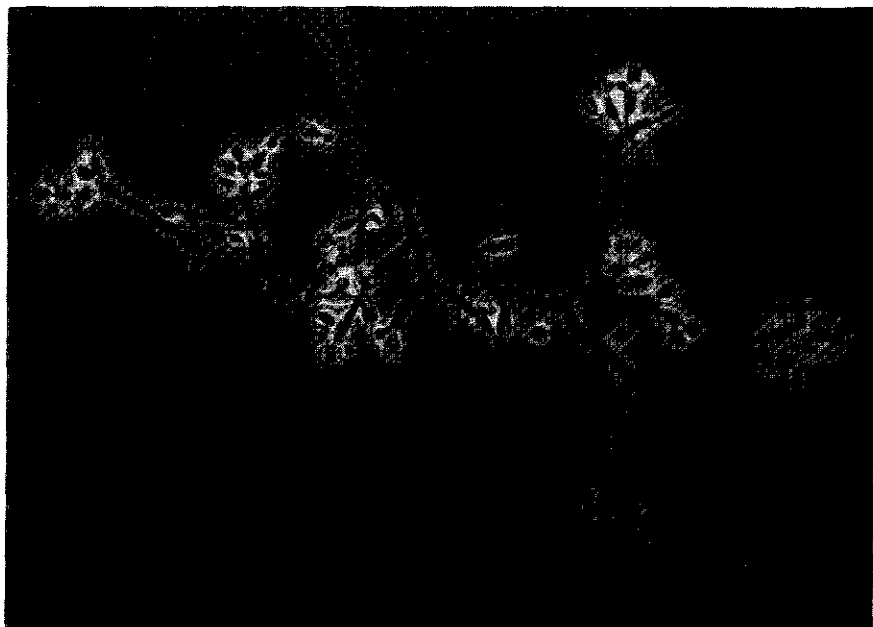
Schimmels	Plagen
<i>Beauveria bassiana</i>	keverlarven
<i>Metarhizium anisopliae</i>	keverlarven, vele andere insecten (homoptera)
<i>Verticillium lecanii</i>	bladluis, witte vlieg
<i>Nomuraea rileyi</i>	vlinderlarven
<i>Hirsutella thompsonii</i>	citrusroestmijt
<i>Aschersonia aleyrodis</i>	witte vlieg

riaal is de voornaamste rol van de schimmels in de natuur. In het hoofdstuk van Mossel wordt beschreven, dat zonder deze recycling de natuurlijke ontwikkeling van een biotoop snel verstoord zou zijn.

In ons directe leefmilieu oefenen schimmels hun saprofytische levenswijze natuurlijk ook uit, doch ze worden dan als schadelijk ervaren omdat ze dit doen op voor ons nuttige produkten (voedsel, textiel, rubber, papier enz.).

Recente voorbeelden van schimmelaantasting met schadelijke aspecten voor de mens zijn de schimmelproblemen in woningen en gebouwen. De aanwezigheid van een verhoogde concentratie van schimmels in woningen brengt niet alleen het probleem van aantasting van bijvoorbeeld houtwerk met zich mee, doch er bestaat tevens een verhoogde kans op de aanwezigheid van schimmels die voor de mens pathogeen zijn of allergische reacties teweeg kunnen brengen. Recentelijk blijken ook veel archieven aangetast door beschimmeling (Samson, 1983).

Deze ongewenste biodegradatie kan in veel gevallen niet eenvoudig bestreden worden. Zo is *Cladosporium resinae* (figuur 9) in brandstoftanks van vliegtuigen moeilijk te bestrijden met chemische middelen en moet er daarom gezocht worden naar middelen om de groeiomstandigheden zodanig te wijzigen dat deze ongunstig zijn voor de schimmel.



Figuur 9. Mycelium en konidiëndragers van *Cladosporium resinae* zoals die in kerosine worden gevormd.

SCHIMMELS EN HET VOEDSEL

Kwaadaardige schimmels

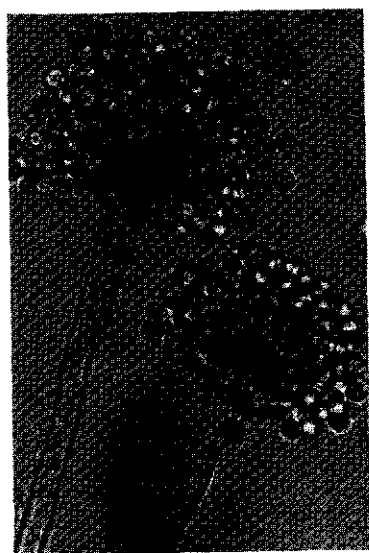
Naast het consumeren van giftige paddestoelen (Lincoff & Mitchell, 1977) vormt het beschimmelen van ons voedsel reeds eeuwen een probleem, vooral sinds de boeren hun voedselvoorraad voor de winter zijn gaan bewaren. Ook in onze moderne maatschappij is schimmelbederf van voedsel nog steeds een groot probleem, waarschijnlijk ook door de grotere produkties en doordat er een tendens bestaat chemische conserveringsmiddelen te mijden uit ons voedselpakket. De levensmiddelenmycologie heeft zich de laatste jaren sterk ontwikkeld (Beuchat, 1978) en tegenwoordig wordt ruime aandacht besteed aan de identificatie van de algemene contaminatieflora (Samson et al., 1984).

Naast het voedselbederf kunnen schimmels in voedsel ook mycotoxinen

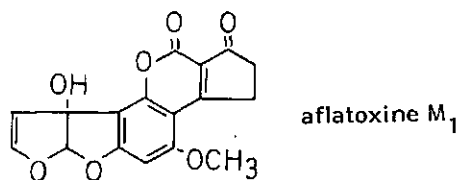
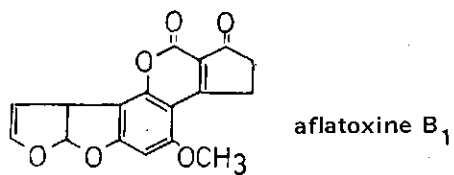
uitscheiden, secundaire stofwisselingsprodukten die in geringe hoeveelheden giftig kunnen zijn en in sommige gevallen kankerverwekkend. Het aflatoxine, dat in de zestiger jaren ontdekt werd, blijkt een van de sterkste mutagene stoffen te zijn die in de natuur voorkomt en kan in (sub)tropische landen in door *Aspergillus flavus* (figuur 10) besmet voedsel regelmatig optreden. *A. flavus* is in staat enkele aflatoxinen af te scheiden. Het aflatoxine M (figuur 11) ontstaat wanneer koeien het besmette veevoer eten en aflatoxine B in het lichaam omzetten tot aflatoxine M, dat in de melk wordt uitgescheiden en terecht kan komen in de hieruit bereide zuivelprodukten.

Het uitgebreide onderzoek naar mycotoxinen van de laatste decennia, dat overal in de wereld is uitgevoerd, leert ons dat er meer dan 150 verschillende toxinen door schimmels kunnen worden gevormd. De soorten die mycotoxinen afscheiden zijn vooral te vinden in de imperfecte schimmelgeslachten *Aspergillus*, *Penicillium* en *Fusarium* (Wyllie & Morehouse, 1977; Reisz, 1981).

In de laatste jaren zijn ook de hallucinogene schimmels weer in de belangstelling gekomen. Vooral in de Verenigde Staten zijn deze schimmels



Figuur 10. Twee konidiëndragers van *Aspergillus flavus*.



Figuur 11. Chemische formule van aflatoxine B en M.



Figuur 12. In vitro gekweekte vruchtlichamen van *Psilocybe cubensis*.

in sommige kringen uiterst populair. Figuur 12 toont de basidiomycete *Psilocybe cubensis*, een schimmel die zeer gemakkelijk voor consumptie te kweken is. De discussie of hallucinogene schimmels nuttig of schadelijk zijn voor de mens zal hier buiten beschouwing worden gelaten. In ieder geval hebben de laatste tijd sommige farmaceutische industrieën voor deze hallucinogene schimmels belangstelling getoond, waarschijnlijk voor de ontwikkeling van medicijnen.

Goedaardige schimmels

Naast de ongewenste aanwezigheid van schimmels in levensmiddelen moeten we hier ook stilstaan bij het bewust introduceren van schimmels als startercultures voor de bereiding van brood, alcoholische dranken, schimmelkazen en andere produkten waarvan we misschien niet steeds realiseren dat deze met schimmels worden bereid. Dit soms al eeuwenlang gebruik van schimmels en het consumeren van gefermenteerde produkten schijnt de laatste jaren in populariteit toe te nemen, met name van de produkten uit het Verre Oosten zoals tempe (Ko Swan Djien, 1984). In de Oriënt worden tamelijk veel produkten (meestal sojabonen of rijst) bereid met behulp van schimmels en vormen een onderdeel van het dagelijkse voedselpakket. Een geheel nieuwe ontwikkeling is de grote vraag naar gefermenteerde produkten en met name tempe in de Verenigde Staten (Shurtleff & Aoyagi, 1979). Omdat tempe een uitstekende vervanging is voor dierlijke eiwitten is dit gefermenteerde produkt gewild bij de grote groep van vegetariërs. In tabel 3 zijn de voornaamste soorten te zien die bij de fermentatie van voedsel worden gebruikt. Uit deze lijst blijkt dat *Rhizopus*- en *Aspergillus*-soorten hun toepassing in de warme landen vinden, terwijl in ons gematigd klimaat vooral *Penicillium*-soorten gebruikt worden.

Het schadelijke of nuttige effect dat een bepaalde schimmelsoort teweeg kan brengen wordt vaak bepaald door het milieu en het specifieke substraat. *Penicillium roqueforti*, een soort die zich vaak onder micro-aërobe omstandigheden kan ontwikkelen en daarom in voor veevoer gekulde maïs kan voorkomen, kan daar het mycotoxine 'PR-toxine' produceren. Dezelfde soort wordt echter ook gebruikt als startercultuur voor de fermentatie van blauwschimmelkazen waarin dit toxine niet gemaakt wordt (Scott & Kanhere, 1979).

Tabel 3. Belangrijkste mycelium-vormende schimmels die gebruikt worden voor de fermentatie van voedselprodukten.

<i>Rhizopus</i> -soorten	tempe
<i>Amylomyces rouxii</i>	ragi
<i>Aspergillus oryzae</i>	kōji
<i>Aspergillus tamarii</i>	tamari
<i>Aspergillus awamori</i>	zwarte kōji
<i>Aspergillus sojae</i>	kōji
<i>Penicillium roqueforti</i>	blauwschimmelkazen
<i>Penicillium camemberti</i>	witschimmelkazen
<i>Penicillium nalgiovense</i>	ham

REINCULTUUR EN SCHIMMELCOLLECTIES

Onze kennis over de schimmels dateert uit het begin van de vorige eeuw, toen microscopisch onderzoek de wereld van de micro-organismen openbaarde (Ainsworth, 1976). Dit onderzoek kreeg echter een totaal nieuwe dimensie toen schimmels in reincultuur werden gebracht en bestudeerd. Een reincultuur vergemakkelijkt niet alleen de morfologische observaties en de studie van de totale levenscyclus, maar geeft ons vooral de mogelijkheid tot experimenteren om zo een indruk te krijgen van de verschillende fysiologische en biochemische kenmerken. De reincultuur staat daarom centraal in het moderne mycologische onderzoek. In dit opzicht spelen de verschillende nationale en internationale schimmelcollecties een belangrijke rol, omdat ze de schimmelisolaten steeds beschikbaar stellen voor verschillende typen onderzoek en deze voor de toekomst kunnen veilig stellen.

SCHIMMELS ALS CHEMISCHE FABRIEK

Uit jarenlang biochemisch onderzoek van schimmels in reincultuur blijkt dat schimmels in staat zijn een aantal fascinerende stoffen te produceren, die inmiddels in de huidige maatschappij een grote rol zijn gaan spelen. Elke schimmelkolonie vertegenwoordigt in feite een kleine chemische fa-

briek. De inventarisatie van de vele stofwisselingsprodukten omvat duizenden stoffen, soms karakteristiek voor een schimmelsoort. Elk jaar worden aan deze grote lijst weer nieuw ontdekte metabolieten toegevoegd (Turner, 1971; Turner & Aldridge, 1983).

Vooraf na de ontdekking van het penicilline in 1945 is het gebruik van schimmels in de procesindustrie aanzienlijk toegenomen. De processen waarin schimmel gebruikt worden kunnen in drie groepen ingedeeld worden (zie ook Van der Waard, 1976).

- Schimmels worden gekweekt terwille van afgescheiden metabolieten. Deze produkten kunnen zowel primaire als secundaire zijn, bijvoorbeeld organische zuren en antibiotica. In dit rijtje nemen de enzymen een speciale plaats in. Noordervliet (1983) beschrijft vele soorten van o.a. de geslachten *Aspergillus*, *Rhizomucor* en *Kluyveromyces*, die verschillende enzymen (lipasen, esterasen, lactase, amylase etc.) in zodanige hoeveelheden kunnen afscheiden dat deze bij de levensmiddelenindustrie hun toepassing vinden.

- Schimmels worden gekweekt om ze een bepaalde chemische reactie te laten uitvoeren. Moderne voorbeelden zijn te vinden in de steroidchemie (zie het hoofdstuk van Scheffers).

- Schimmels worden gekweekt terwille van hun biomassa. Voorbeelden zijn de kweek van eetbare paddestoelen, maar ook bakkersgist en Pekilo. Het laatste produkt bestaat uit gedroogde cellen en mycelium van de schimmel *Paecilomyces variotii*. Het bevat ongeveer 50% eiwit en wordt in Finland in een continue, aërobe submerse wijze gekweekt op een koolstofbron die afkomstig is van het afval van de houtindustrie. Pekilo wordt sinds 1975 in Finland gefabriceerd (Romantschuk & Lehtomäki, 1978) en als veevoer gebruikt voor rundvee, varkens en pluimvee. Koivurinta (1978) heeft tevens de mogelijkheden onderzocht om Pekilo te gebruiken in de produktie van bepaalde levensmiddelen voor menselijke consumptie.

LITERATUUR

* Ainsworth, G.C., 1976. Introduction to the history of mycology. Cambridge University Press. 359 p.

Anoniem, 1984. AIDS. Cahiers biowetenschappen en maatschappij, Maastricht.

- * Alexopoulos, C.J. & C.W. Mims, 1979. Introductory mycology. 3d edition. John Wiley & Sons, New York. 532 p.
- * Arx, J.A. von, 1974. Pilzkunde, J. Cramer Verlag. Lehre.
- Batra, L.R., 1979. Insect-fungus symbiosis. Nutrition, mutualism, and commensalism. Allenheld Osmun & Co., Montclair. 276 p.
- Beuchat, L.R. 1978. Food and beverage mycology. Avy, Westport Connecticut. 527 p.
- Bronswijk, J.E.H.M. van, 1981. House dust biology for allergists, acarologists and mycologist. NIB, Zeist.
- Burgess, H.D. (Ed.), 1981. Microbial control of pests and plant diseases. 1970-1980. Academic Press, London. 949 p.
- Cole, G.T. & R.A. Samson, 1979. Pattern of development in conidial fungi, Pitman publishers, London.
- * Cooke, R.C., 1977. Fungi. Man and his environment. Longman, London. 144 p.
- * Deverall, B.J., 1969. Fungal parasitism. Studies in Biology, no 17. Edward Arnold, London. 57 p.
- * Esser, K. & R. Kuenen, 1965. Genetik der Pilze, Springer, Berlin.
- Gams, W., 1984. Het systeem van de fungi. 2e druk. Wet. Mededeling KNNV. 136 p. + bijlage 6 p.
- * Griffin, D.H., 1981. Fungal physiology. John Wiley & Sons, New York. 383 p.
- Hale, M.E., 1974. The biology of lichens. Arnold, London. 181 p.
- * Hawksworth, D.L., B.C. Sutton & G.C. Ainsworth, 1983. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. Second edition. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK.
- * Henssen, A. & H.M. Jahns, 1973. Lichenes. Eine Einführung in die Flechtenkunde. Thieme, Stuttgart.
- * Howard, D.H., 1983. Fungi pathogenic for man and animals. Deel A en B. Marcel Dekker, New York.
- Hudson, H.J., 1979. Fungal saprophytisme. Studies in Biology no. 32. Edward Arnold, London. 67 p.
- Ko, Swan Dijen, 1981. Fermentation of foods by moulds. In: R.A. Samson, E.S. Hoekstra & C.A.N. van Oorschot (Eds): Introduction to food-borne fungi, p. 236-242. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn.

- Koivurinta, J., 1978. Functional properties of Pekilo, a microfungus biomass from *Paecilomyces variotii* as compared to sayo, *Torula* and casein products in food systems. EKT Series Helsinki, no 471.
- Kreisel, H., 1969. Grundzüge einer natürlichen Systems der Pilze. J. Cramer Verlag, Lehre.
- Lincoff, G. & D.H. Mitchell, 1977. Toxic and hallucinogenic mushroom poisoning. Van Nostrand Reinhold Co., New York. 267 p.
- * Margulis, L. & K.V. Schwartz, 1982. Five kingdoms. An illustrated guide to the phylla of life on earth. W.H. Freeman and Co., San Francisco.
- Moss, S.T., 1979. Commensalism of the Trichomycetes. In: L.R. Batra: Insect-fungus symbiosis, nutrition, mutualism, and commensalism. Al-lenheld, Osmun & Co, Montclair. p. 175-227.
- * Muller, E. & W. Löffler, 1982. Mykologie. Grundriss für Naturwissen-schaftler und mediziner. 4 Auflage. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.
- Noordervliet, P.F., 1983. Food enzymes - Uses and safety. Microbiologie-Aliments-Nutrition 1:1 -17.
- Northolt, M.D. & P.S.S. Soentoro, 1984. Fungal growth on foodstuffs related to mycotoxin contamination. In: R.A. Samson, E.S. Hoekstra & C.A.N. van Oorschot (Eds): Introduction to food-borne fungi, p. 212-218. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn.
- Reisz, J., 1981. Mykotoxine in Lebensmitteln. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Romantschuk, H. & M. Lehtomäka, 1978. Operational experiences of first full scale pekilo SCP-mill application. Proc. Biochem. 13: 16-17, 29.
- Samson, R.A., 1979. Insektenbestrijding met schimmels. Natuur & Tech-niek 47: 248-263.
- Samson, R.A., 1983. Archieven en schimmelbesmetting. Verslag Vereni-ging van Archiefrestauratoren. p. 4-22.
- Samson, R.A. & H.A. van der Aa, 1979. Schimmels. Natuur & Techniek 47: 486-505.
- Samson, R.A., E.S. Hoekstra & C.A.N. van Oorschot, 1984. Introduc-tion to food-borne fungi. Tweede druk. Centraalbureau voor Schimmel-cultures, Baarn, 247 p.
- Scott, P.M. & S.R. Kanhere, 1979. Instability of PR toxin in blue cheese. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 62: 141-147.

- Shurtleff, W. & A. Aoyagi, 1979. The book of tempeh. Harper & Row, New York.
- Turner, W.B., 1971. Fungal metabolites. Academic press, London. 446 p.
- * Turner, W.B. & D.C. Aldridge, 1983. Fungal metabolites II. Academic press, London. 631 p.
- Vobis, G. & D.C. Hawksworth, 1981. Conidial lichen-forming fungi. In: G.T. Cole & B. Kendrick (Eds): Biology of conidial fungi. Academic Press, New York, p. 245-273.
- Waard, W.F. van der, 1976. De bereiding van penicilline; een voorbeeld van het gebruik van micro-organismen in de procesindustrie. In: F. Wensink (red. comm.): De microbiologie drie eeuwen na Antoni van Leeuwenhoek. Biologische Raad Reeks, Pudoc, Wageningen.
- Weber, N., 1979. Fungus culturing by ants. In: L.R. Batra (Ed.): Insect-fungus symbiosis. John Wiley & Sons, New York.
- * Webster, J., 1980. Introduction to fungi. 2nd edition. Cambridge Press, Cambridge. 669 p.
- Wyllie, T.D. & L.G. Morehouse, 1977. Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses. Deel 1-3. Marcel Dekker, New York.

* Met een ster aangegeven referenties worden als eerste voor verdere studie aanbevolen.

De celbiologie van schimmels

J. G. H. Wessels

INLEIDING

Het kan nuttig zijn om bij het geven van een overzicht van enkele onderwerpen uit het celbiologisch onderzoek aan schimmels, onderscheid te maken tussen onderzoek waarbij schimmels worden gebruikt als modelsystemen en onderzoek dat juist specifieke eigenschappen van schimmels op het oog heeft. In het eerste soort onderzoek zijn de onderzoekers in de eerste plaats geïnteresseerd in algemene biologische verschijnselen, zoals erfelijkheid, celdeling, regulatie van de genexpressie of morfogenese, die bij andere organismen eveneens voorkomen maar daar soms moeilijker te bestuderen zijn. In het tweede soort onderzoek is de motivatie van de onderzoekers vooral hierin gelegen dat het celbiologisch onderzoek van schimmels ons veel kan leren over de wijze waarop juist deze groep van organismen zo'n belangrijke rol vervult in de natuur en in de menselijke samenleving.

Wat betreft het gebruik van schimmels in het algemeen biologisch onderzoek is het illustratief hier de Nobelprijswinnaar James D. Watson aan te halen die in zijn leerboek 'Molecular Biology of the Gene', in 1975 schreef: 'There are now many reasons to intensify work on organisms like yeast' en 'If a choice exists between solving the same problem with human tissue culture cells or with yeast or *Neurospora*, common sense tells us to stick with the simpler system'. Dat de onderzoekers deze raad ter harte hebben genomen valt gemakkelijk te constateren door bijvoorbeeld een recent nummer van het toonaangevende wetenschappelijke tijdschrift 'Cell' op te slaan (zie ook Struhl, 1983). In dit hoofdstuk zullen enkele voorbeelden gegeven worden van onderzoek aan schimmels dat wezenlijk heeft bijgedragen aan ons inzicht in algemene biologische processen.

Het belang van onderzoek gericht op de specifieke biologie van schim-

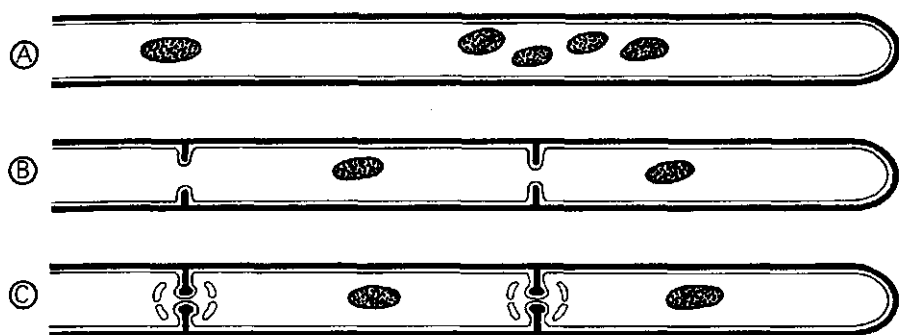
mels wordt amper geïllustreerd in de andere hoofdstukken van dit boek. In dit hoofdstuk zal vooral aandacht geschonken worden aan aspecten van de celbiologie van deze organismen die van belang zijn om hun uitzonderlijke activiteiten te begrijpen. Tenslotte zal, aan de hand van een tweetal voorbeelden, de produktie van een antibioticum en de teelt van paddenstoelen, worden toegelicht hoe moderne inzichten in de genetika en moleculaire biologie ons in staat stellen om schimmels tot maximale prestaties te dwingen.

Soms kan men natuurlijk niet zo'n duidelijk onderscheid maken tussen onderzoek waarbij schimmels als modelsystemen of als unieke levensvorm worden bestudeerd. In alle gevallen is het echter belangrijk voor ogen te houden dat schimmels een aparte plaats onder alle levende organismen innemen. Als eukaryote organismen verschillen ze fundamenteel van de prokaryote bacteriën, maar ze zijn ook net zo verschillend van planten en dieren als deze onderling verschillen. Dit ondanks het verwarrende feit dat schimmelonderzoekers zich veelal niet als mycoloog maar liever als microbioloog of botanicus laten aanspreken en dat veel experimenteel mycologisch onderzoek gepubliceerd wordt in microbiologische en botanische tijdschriften.

SCHIMMELS ALS UNIEKE LEVENSVORMEN

Zoals in het hoofdstuk van Samson is uiteengezet, worden tegenwoordig alle levende organismen gegroepeerd in vijf grote rijken op grond van overeenkomsten en verschillen in cellulaire structuur en activiteit (Whittaker, 1969). Toch is het in het systeem van Whittaker nog moeilijk om een éénduidige karakteristiek te geven van schimmels op grond van hun cellulaire structuur. Dat wordt veel gemakkelijker als we enkele groepen van organismen die thans algemeen tot de schimmels worden gerekend (Webster, 1980) maar gekenmerkt worden doordat in hun levenscyclus beweeglijke cellen voorkomen (zoals de slijmschimmels, waterschimmels en enkele verwante groepen), onderbrengen bij Protista, dan Protoctista genaamd, zoals voorgesteld door Whittaker en Margulis (in Margulis, 1981).

Vanuit celbiologisch standpunt kunnen we nu schimmels definiëren als organismen die een mycelium vormen bestaand uit een vertakt systeem van hyfen, buisvormige coenocytische (niet in afzonderlijke cellen verdeelde)



Figuur 1. Aanwezigheid van septa en verdeling van kernen in vegetatieve hyfen.

A. Bij de Zygomyceten is het mycelium echt coenocytisch en niet verdeeld in compartimenten.

B. Bij de Ascomyceten komen in de septa grote openingen voor, waardoor kernen zich vrij kunnen bewegen, toch wordt dikwijls één kern per compartiment aangetroffen.

C. Bij Basidiomyceten is de verdeling in compartimenten (cellen) het meest compleet. De septa vertonen een ingewikkelde structuur met een centrale opening, waardoor zich geen celorganellen kunnen bewegen. Indien dit toch noodzakelijk is, zoals bij de vorming van een heterokaryon, dan worden de septa eerst afgebroken. Het gevormde heterokaryon is meestal een dikaryon met twee kernen per compartiment (zie figuur 4).

draden met een wand waarin chitine voorkomt. Hieruit kunnen ook ééncellige vormen (gisten) afgeleid worden. De buisvormige hyfen kunnen op regelmatige afstanden door middel van doorboorde schotten (septen) in compartimenten zijn verdeeld (figuur 1). Hoewel eukaryotisch zijn ze net als bacteriën haploïd. Maar terwijl er dikwijls slechts één soort haploïde kernen in een mycelium aanwezig is (homokaryotisch mycelium), kunnen zich binnen één hyfe ook twee verschillende haploïde kernen bevinden (heterokaryotisch mycelium). Functioneel is deze toestand dus te vergelijken met de diploïde toestand bij andere eukaryote organismen, maar een echte diploïde kern ontstaat alleen even bij de geslachtelijke voortplanting om onmiddellijk reductiedeling te ondergaan waarbij weer haploïde kernen gevormd worden. In samenhang met deze geslachtelijke voortplanting gaan

de hyfen soms eerst samengroeien en vormen een 'multicellulair' vruchtlichaam waarin de fusie van de kernen en de reductiedeling optreedt. Het zijn deze alom bekende paddestoelen die eertijds een indeling van de schimmels bij de planten leken te rechtvaardigen.

Net als bij de heterotrofe bacteriën geschiedt de voedselopname van schimmels altijd via absorptie van kleine organische moleculen, zoals suikers en aminozuren, via direct transport door het plasmamembraan en nooit door insluiting via afsnoeringen van het plasmamembraan (fagocytose en pinocytose) zoals bij dieren mogelijk is. Polymere verbindingen, zoals cellulose, lignine en eiwit, worden veelvuldig als voedselbron gebruikt maar eerst in het milieu afgebroken tot monomere moleculen door enzymen die door de schimmel worden uitgescheiden.

Om de rol en betekenis van schimmels als aparte groep te illustreren kan het nuttig zijn te speculeren over de wijze waarop deze organismen tijdens de evolutie ontstaan zijn. Men neemt aan dat onze aarde enkele miljarden jaren lang uitsluitend bevolkt werd door prokaryote organismen, die zich hebben weten te handhaven tot in onze tijd, de huidige Monera. Ongeveer een miljard jaar geleden is echter naast het prokaryote celtype het eukaryote celtype ontstaan, volgens de thans zeer populaire endosymbiose-theorie door samensmelting van verschillende prokaryote cellen (Margulis, 1981). In de toen volgende periode in het Precambrium tot begin van het Cambrium, 600 miljoen jaar geleden, is de opsplitsing in planten, schimmels, dieren en protisten tot stand gekomen, en heeft zich gehandhaafd tot de dag van vandaag. Ieder van deze groepen heeft, op grond van eigen cellulaire structuur en activiteit, een aparte plaats verworven in de biosfeer. Iedere groep vond daarbij een niche waarin vertegenwoordigers van de andere groepen nauwelijks toegang hadden.

Uit de primordiale plantecel, voorzien van een cellulose/lignine-celwand en chloroplasten, ontwikkelde zich de multicellulaire planten. Deze organismen waren in staat om zichzelf volledig te voeden met anorganische stoffen in aanwezigheid van zonlicht. De met de aanwezigheid van een celwand samenhangende immobiele levenswijze was hierbij geen bezwaar want koolzuurgas, water, mineralen en zonlicht zijn bijna overal aanwezig. Interessant in verband met deze 'keuze' voor een vastzittende levenswijze is de daarop volgende selectie van allerlei aanpassingen die een adequaat antwoord moesten geven op de verschillende en wisselende milieuomstan-

digheden en de noodzaak om mechanismen te ontwikkelen om sexuele interacties mogelijk te maken (verspreiding van pollen) en de soort te verspreiden (verspreiding van zaden).

Naast de plantencel ontstond de dierecel met een heterotrofe levenswijze en zonder celwand. De afwezigheid van een celwand bood de mogelijkheid voor beweeglijkheid en fagocytose waarbij vaste voedseldeeltjes direct de cel ingesluisd konden worden, terwijl de cellulaire beweeglijkheid ook de basis ging vormen van de mobiliteit van multicellulaire dieren.

Als we de heterogene groep van protisten hier buiten beschouwing laten, kan gesteld worden dat de schimmelcel een unieke positie inneemt naast die van de plant- en dierecel. De schimmels behielden een celwand, met het niet bij planten voorkomende chitine als belangrijk bestanddeel, maar een zekere beweeglijkheid ten opzichte van het voedingssubstraat werd gegarandeerd door de topgroei van de hyfen. Zoals hun heterotrofe prokaryote voorouders en de thans levende heterotrofe prokaryoten kunnen ze door uitscheiding van enzymen de macromoleculen in hun omgeving afbreken en de kleine afbraakprodukten via transport door het plasmamembraan opnemen. Daarbij stelt de topgroei hen echter in staat allerlei vaste organische stoffen te penetreren en te koloniseren, dikwijls efficiënter dan bacteriën. Al groeiend werken ze zich als het ware door het substraat heen en terwijl de oudere hyfen afsterven breidt het front van het mycelium zich voortdurend uit. Deze levenswijze maakt de schimmels tot de dag van vandaag tot zulke succesvolle opruimers. Men denke bijvoorbeeld aan de wijze waarop ze dood hout koloniseren en de cellulose en lignine als voedsel afbreken. Dat sommige soorten in hun kolonisatiedrift ook levende organismen niet ontzien heeft enerzijds geleid tot het ontstaan van parasitische relaties waarbij de plant of het dier dikwijls het onderspit delft, anderzijds tot het ontstaan van wederzijds voordelige associaties, zoals de mycorrhiza's bij planten.

ONDERZOEK AAN SCHIMMELS ALS MODELSYSTEMEN

In tegenstelling tot de prokaryoten zijn de eukaryoten veelal uiterst ingewikkeld van structuur. Met name de planten en dieren die opgebouwd zijn uit tientallen tot honderden verschillende celtypen. Dit betekent dat celbiologisch onderzoek aan deze organismen veel methodische problemen

oplevert. Veel celbiologisch onderzoek aan plante- en dierecellen gebeurt dan ook aan celcultures waarbij cellen uit het intacte organisme geïsoleerd worden en op kunstmatige voedingsbodems in het laboratorium worden verder gekweekt. Maar ook dan blijven er een aantal problemen, waarvan sommige eigenlijk niet goed oplosbaar zijn. Zo sterven normale dierecellen na enige tijd in cultuur en blijven alleen tumorcellen onbepaald in leven, terwijl geïsoleerde plantecellen wel blijven delen maar allerlei genetische afwijkingen gaan vertonen. Het is dan ook niet verwonderlijk dat veel onderzoekers, geïnteresseerd in de biologie van de eukaryote cel, schimmels zijn gaan gebruiken als experimenteel object.

De meeste schimmels zijn gemakkelijk en goedkoop in grote hoeveelheden en in reïncultuur in het laboratorium te kweken. Daarbij groeien ze erg snel en, zeker voor de ééncellige gisten, kunnen allerlei bekende microbiologische methoden zonder meer worden toegepast. Doordat ze enerzijds als haploïde organismen kunnen groeien, waarbij veelal ééncellige ongeslachtelijke sporen gevormd worden, anderzijds na de vorming van een heterokaryon zeer snel een geslachtelijke cyclus kunnen doormaken, waarbij goed isoleerbare geslachtelijke sporen worden gevormd, zijn ze zeer geschikt voor genetisch onderzoek (Burnett, 1975; Fincham et al., 1979). Behalve de toegankelijkheid voor genetische analyse, maakt ook het feit dat cellulaire activiteiten sterk onder invloed staan van veranderingen in het milieu, schimmels zeer geschikt voor onderzoek naar de mechanismen van cellulaire regulatie bij eukaryote organismen. Voor onderzoekers geïnteresseerd in ontwikkelingsbiologische processen en morfogenese bieden ze daarnaast het voordeel dat het aantal verschillende celtypen relatief klein en de multicellulaire differentiaties eenvoudig zijn, terwijl de differentiatieprocessen in een cultuur dikwijls door het aanbrenge van veranderingen in het milieu gesynchroniseerd kunnen worden. Hierdoor kunnen grote hoeveelheden cellen verkregen worden die allen in hetzelfde ontwikkelingsstadium verkeren, hetgeen biochemische analyses aanmerkelijk vereenvoudigt.

Bij het gebruik van schimmels als modelsystemen verdient de geringe complexiteit van het genetisch materiaal in de kern speciale aandacht. Een vergelijking met planten en dieren is hier zinvol. De genomen van deze organismen bevatten 100 tot 10 000 maal meer DNA dan aanwezig in een bacteriecel. Hoewel soms wel 90 % van dit DNA behoort tot de klasse van

het repetitief DNA (d.w.z. het DNA bestaat uit vele malen gerepeteerde basevolgorden) is toch de hoeveelheid enkel-kopie-DNA (d.w.z. basevolgorden in het DNA komen slechts eenmaal voor in het haploïde genoom) veel groter dan men zou verwachten op grond van het aantal genen dat tot expressie komt. Als voorbeeld moge hier dienen een recent onderzoek uit ons eigen laboratorium (Vakgroep Plantenfysiologie, Rijksuniversiteit Groningen) waarin wij vonden dat in erwteplanten slechts 8 % van het DNA bestaat uit enkel-kopie-DNA en dus de genen moet bevatten die coderen voor eiwitten. Van dit enkel-kopie-DNA kwam echter maar 7,7 % tot expressie in boodschapper RNA (messenger RNA of mRNA), dat is maar 0,62 % van het totale DNA. Nu is inmiddels wel bekend geworden dat veel genen 'gespleten' zijn, d.w.z. onderbroken worden door stukken niet-coderende basevolgorden (introns) die niet meer in het rijpe mRNA voorkomen, maar toch kan dit niet de grote hoeveelheid enkel-kopie-DNA verklaren. Nog onduidelijker ligt de situatie voor de grote hoeveelheden repetitief DNA omdat maar van een klein aantal genen bekend is dat ze meerdere malen in het genoom voorkomen. Er zijn dan ook auteurs die denken dat een groot gedeelte van het DNA in de kernen van plante- en dierecellen functioneel is en beschouwd moet worden als 'rommel' die zich tijdens de evolutie heeft opgehoopt zonder nadelig te zijn (Orgel & Crick, 1980).

In tegenstelling tot planten en dieren blijkt de hoeveelheid DNA in de kernen van schimmels tamelijk gering, slechts 5-10 maal meer dan in het genoom van bacteriën. Bovendien is de hoeveelheid repetitief DNA gering. Als voorbeeld kan hier dienen de uitgebreid in ons laboratorium onderzochte basidiomycete *Schizophyllum commune*. Het genoom is hier 7,5 maal groter dan het genoom van de bacterie *Escherichia coli*, slechts 7 % van dit DNA bestaat uit gerepeteerde basevolgorden, en deze coderen bijna geheel voor ribosomaal RNA, terwijl ca. 32 % van het enkel-kopie-DNA codeert voor mRNA's (Wessels et al., 1981).

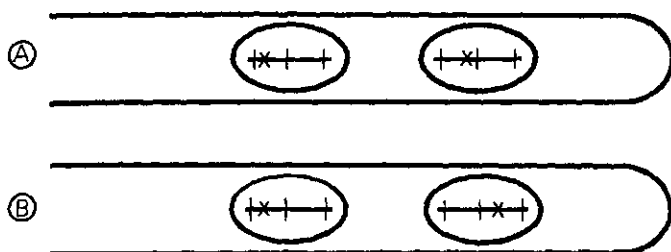
We kunnen op dit moment niet met zekerheid zeggen wat deze verschillen in complexiteit van het DNA betekenen. Als veel van het DNA in de kernen van plante- en dierecellen inderdaad functioneel is, bemoeilijkt dit alleen maar de moleculair-biologische analyses en kan het gebruik van schimmels als modelsysteem grote voordelen opleveren. Als dit niet zo is dan dienen wij er rekening mee te houden dat bij planten en dieren gene-

tische mechanismen voorkomen die we niet of in mindere mate aantreffen bij schimmels. Voorlopig lijkt het eerste alternatief het meest voor de hand liggend. Gezien hun levenswijze is het aannemelijk dat in de evolutie van schimmels een sterke selectiedruk aanwezig is voor een zo efficiënt mogelijk omspringen met voedsel, d.w.z. zo snel mogelijk groeien biedt de beste overlevingskansen. Net als bij bacteriën kan dit eliminatie van functioneloos geworden DNA in de hand hebben gewerkt.

Op welke wijze van de bijzondere voordelen van schimmels gebruik is gemaakt om een aantal fundamentele celbiologische processen te analyseren zal hier aan de hand van een aantal voorbeelden worden toegelicht.

De één gen-één enzyme-theorie

Wellicht het meest spectaculaire geval van verruiming van ons celbiologisch inzicht door volledige uitbuiting van de voordelen van schimmels betreft het onderzoek dat in de dertiger jaren werd uitgevoerd door Beadle en Tatum met de ascomyceet *Neurospora crassa*, en dat leidde tot de formulering van de één gen - één enzym theorie (nu zouden wij zeggen de één gen - één polypeptide theorie). Zoals veel schimmels kan *N. crassa* groeien op een eenvoudig medium waarin suiker, enkele zouten en een enkel vitamine, en kan dan dus alle celbestanddelen hieruit synthetiseren. Mutaties in genetisch materiaal betrokken bij deze syntheses uiten zich onmiddellijk door onvermogen om op een dergelijk eenvoudig medium te groeien (auxotrofe mutanten). Bij planten of dieren zouden dergelijke mutaties in eerste instantie verborgen blijven omdat in deze diploïde organismen naast het beschadigde gen nog steeds een intact gen op het homologe chromosoom aanwezig is. Niet alleen konden de verkregen mutanten van *N. crassa* gemakkelijk genetisch worden onderzocht door analyse van de nakomelingen uit een kruising, ook kon het aantal genen betrokken bij de biosynthese worden opgespoord middels het maken van heterokaryons tussen mutanten met een defect in dezelfde biosynthese. Onderzoek van bijvoorbeeld twee mutanten gestoord in de biosynthese van arginine - en dus alleen in staat te groeien in aanwezigheid van dit aminozuur in de voedingsbodem - geeft als resultaat in een heterokaryontest dat het heterokaryon niet of wel zonder arginine kan groeien (figuur 2). In het eerste geval zijn de mutanten gemuteerd in hetzelfde gen, in het tweede ge-



Figuur 2. Complementatie in een heterokaryon. In de kernen zijn schematisch twee genen aangegeven. Het kruisje duidt op een mutatie.

A. Hoewel de mutaties in de twee verschillende kernen niet identiek zijn, liggen ze binnen hetzelfde gen. Er is geen complementatie en de mutaties behoren tot dezelfde complementatiegroep.

B. De mutaties bevinden zich in verschillende genen. Er is complementatie waardoor het heterokaryon zich gedraagt als het wild type homokaryon.

val treedt complementatie op en zijn de mutanten kennelijk gemuteerd in verschillende genen die bij de biosynthese van arginine betrokken zijn.

Tevens bleek dat in iedere mutant een tussenprodukt werd opgehoopt, terwijl door bepaling van de enzymatische activiteit in extracten kon worden aangetoond dat dit kwam doordat het enzym dat de verdere omzetting moest bewerken afwezig was. Zo'n opgehoopt tussenprodukt kon soms wel, soms niet worden gebruikt om een andere mutant, gestoord in dezelfde biosynthese, te laten groeien. In het eerste geval was de tweede mutant kennelijk gestoord in een eerdere, in het tweede geval in een latere stap in de biosynthese.

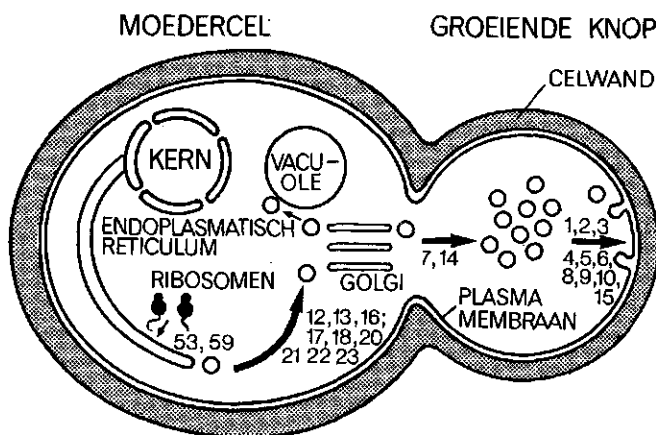
Gecombineerd met een chemische analyse van de tussenprodukten leidde dit werk tot een volledige opheldering van tal van biosynthetische reactiewegen. Later bleken veel van deze biosynthesen in bacteriën, planten en dieren op identieke wijze te verlopen. De grote winst was echter tevens dat hier voor het eerst een ondubbelzinnig verband werd gelegd tussen genen en specifieke eiwitten, in dit geval enzymen, zelfs vóórdat de chemische structuur van de genen was opgehelderd.

In het bovengenoemde geval van auxotrofe mutanten waren de mutaties niet lethaal omdat het gebrek opgeheven kon worden door toevoeging aan het medium van het eindprodukt van de gestoorde biosynthese. Er zijn echter vele mutaties die het functioneren van het organisme wezenlijk aantasten en die niet eenvoudig zijn te verhelpen door toevoeging van een stof aan het medium. Dergelijke mutaties, die bijvoorbeeld fouten introduceren in structurele eiwitten, zullen dus steeds lethaal zijn en kunnen verder niet onderzocht worden. Tenzij zo'n mutatie onder bepaalde omstandigheden wel maar onder andere omstandigheden niet tot expressie komt (conditioneel-lethale mutaties). Meestal maakt men gebruik van temperatuur-gevoelige mutaties. De temperatuur heeft een sterke invloed op de vouwing van de polypeptideketen in een eiwit en bepaalde mutaties kunnen er toe leiden dat door de verandering in de polypeptideketen alleen bij verhoogde temperatuur de vouwing van de keten zo verstoord is dat het eiwit niet meer zijn functie kan uitoefenen. Om het (lethale) effect van de mutatie te zien verhoogt men dus de temperatuur tot bijvoorbeeld 37 °C, om de mutatie genetisch te kunnen analyseren houdt men de temperatuur lager, bijvoorbeeld 25 °C. Het gebruik van dergelijke mutaties heeft o.a. recent geleid tot nieuwe inzichten betreffende het proces van uitscheiding van eiwitten door de cel.

Uit biochemisch onderzoek is in het vorige decennium reeds veel bekend geworden over de manier waarop eiwitten worden uitgescheiden. Dit geldt zowel voor eiwitten die in membranen blijven steken - en daarvan een integraal onderdeel vormen - als voor eiwitten die terecht komen in intracellulaire blaasjes (bijvoorbeeld lysosomen) of in de ruimte buiten het plasmamembraan worden uitgescheiden (bijvoorbeeld in de celwand of in het externe milieu) zoals de reeds genoemde hydrolytische enzymen in het milieu van schimmels. Een veel voorkomend mechanisme is dat deze eiwitten worden gesynthetiseerd met een mRNA waarin de code voor het eigenlijke eiwit wordt voorafgegaan door een code voor een korte peptideketen die niet in het uiteindelijke eiwit voorkomt (het signaalpeptide). Nadat dit signaalpeptide op de ribosomen is gesynthetiseerd, stopt de synthese en hechten de ribosomen zich met het reeds gesynthetiseerde signaalpeptide en het nog niet verder afgelezen mRNA aan een membraan van het

endoplasmatisch reticulum. Het signaalpeptide, waarin zich veel hydrofobe aminozuren bevinden en dat dus een sterke affiniteit heeft voor de hydrofobe componenten in het membraan, wringt zich nu als het ware in dit membraan. Dan wordt de synthese van de rest van het polypeptide hervat waarbij ofwel het gehele eiwit in het membraan komt (bij membraaneiwhiten), ofwel door het membraan geleid wordt en terecht komt in de membraanzakken van het endoplasmatisch reticulum. In het laatste geval wordt het signaalpeptide afgeknipt en wordt het overblijvende eiwit gedeeltelijk geglycosyleerd, d.w.z. dat aan sommige aminozuren korte polysaccharideketens worden gehangen.

In combinatie met cytologisch onderzoek is duidelijk geworden dat de gevormde glycoproteïnen het endoplasmatisch reticulum verlaten via afgesnoerde blaasjes (figuur 3). Deze blaasjes versmelten veelal eerst met de membraanzakken van het Golgi-apparaat, waarin de glycoproteïnen verder worden geglycosyleerd om daarna opnieuw te worden getransporteerd via afgesnoerde blaasjes. De blaasjes worden naar het oppervlak van de cel getransporteerd waar ze versmelten met het plasmamembraan. Op deze wijze wordt niet alleen het plasmamembraan van de groeiende cel uitge-



Figuur 3. Schematische voorstelling van de secretie van eiwitten in de vacuole en in het uitwendig milieu van de gistcel. Voor verklaring zie tekst. De nummers duiden op verschillende genproducten die bij de onderscheiden stappen in de secretie betrokken zijn. (Naar Schekman, 1982)

breid maar wordt ook de inhoud van de blaasjes naar buiten uitgestort. Onder de uitgestorte glycoproteïnen bevinden zich de hydrolytische enzymen die macromoleculen in het milieu kunnen afbreken maar ook celwandcomponenten.

Deze wat schematische samenvatting vormt de achtergrond voor het werk met temperatuur-sensitieve mutanten waarin de complexiteit van het proces van eiwitsecretie duidelijk wordt. Bij bakkersgist (*Saccharomyces cerevisiae*) werden een groot aantal mutanten geïsoleerd die bij 25 °C wel maar bij 37 °C niet meer in staat waren eiwitten uit te scheiden (Schekman, 1982). De selectie van deze mutanten werd sterk vergemakkelijkt door de vondst dat ze bij 37 °C, een temperatuur die op iets langere termijn voor de mutanten dodelijk is, iets zwaarder worden dan de wild-type cellen in de gemutageniseerde populatie. Ze kunnen daardoor via centrifugatie in een dichtheidsgradiënt van de andere cellen gescheiden worden. De honderden geïsoleerde mutanten werden in paren onderworpen aan de hiervoor beschreven complementatietest (figuur 2). (Als uitzondering versmelten bij deze gisten de twee haploïde kernen en vormen diploïde cellen die zich vermenigvuldigen, maar dit doet aan het principe van complementatie niets af.) Op deze wijze werd gevonden dat de mutaties verdeeld waren over 27 verschillende genen, een aantal dat waarschijnlijk groter zal worden naarmate meer mutanten in het onderzoek worden betrokken. De effecten van de mutaties in de diverse genen konden worden vastgesteld door de mutanten biochemisch en cytologisch te analyseren na een kort verblijf bij 37 °C. De volgorde waarin de verschillende genprodukten werkzaam zijn kon worden vastgesteld in dubbelmutanten. In dergelijke dubbelmutanten, nakomelingen van een kruising tussen twee verschillende mutanten, zal bij 37 °C de mutatie in het genprodukt dat het eerst werkzaam is, tot uitdrukking komen. De gehele analyse leidde aldus tot de schematische voorstelling gegeven in figuur 3. Mutanten behorend tot de complementatiegroepen 53 en 59 komen niet verder dan het insteken van het signaalpeptide in het membraan van het endoplasmatisch reticulum. Alle andere mutaties leiden tot ophoping in de cel van secretorische eiwitten, al dan niet volledig geglycolyseerd. De genprodukten die defect zijn in de complementatiegroepen 12, 13, 16 enz. zijn nodig voor het transport naar het Golgi-apparaat of om hierin de verdere glycolysering te laten verlopen. De genprodukten uit de groep 7 en 14 zijn nodig

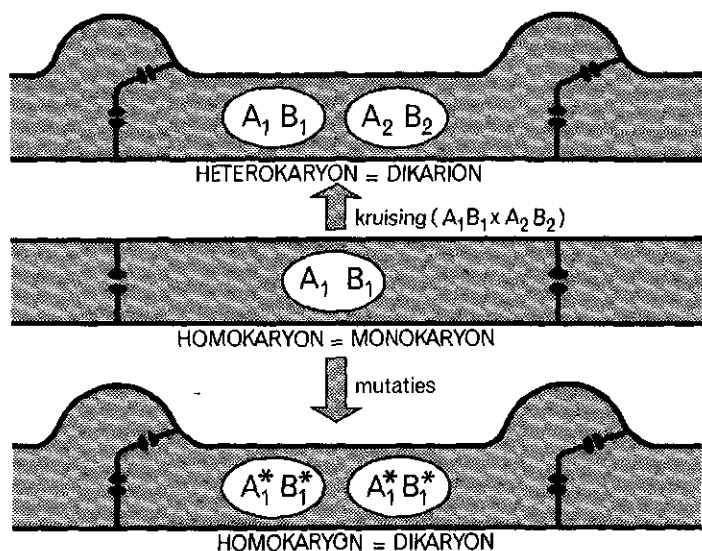
voor de vorming van blaasjes uit het Golgi-apparaat, terwijl een grote groep van genprodukten (1, 2, 3 enz.) nodig is om de blaasjes te laten fuseren met het plasmamembraan in de groeiende knop van de gistcel.

Deze analyse levert gegevens op die niet met de conventionele biochemische en cytologische technieken toegepast op plante- en dierecellen te verkrijgen zijn. Het hier beschreven onderzoek vormt een startpunt voor een diepgaande analyse van het in alle eukaryote cellen uitermate belangrijke proces van synthese en transport van secretorische eiwitten.

De regulatie van de celdifferentiatie

In de ontwikkelingsbiologie is een van de centrale vragen hoe in de ruimte en tijd uit een bevruchte eicel verschillende celtypen ontstaan. Meestal wordt hierbij aangenomen dat tijdens deze celdifferentiatie geen veranderingen in het DNA optreden (hier kom ik later op terug) maar dat tengevolge van op het cytoplasma werkende invloeden in de verschillende cellen verschillende genen tot expressie komen. Meestal wordt dit in verband gebracht met het al dan niet aflezen van de genen in mRNA of de voorloper hiervan (transcriptie). Omdat de celtypen zonder overgangen naast elkaar gevormd worden ligt het voor de hand om aan te nemen dat een heel stel genen dat verantwoordelijk is voor het ontstaan van een bepaald celtype gecoördineerd geactiveerd of onderdrukt wordt, gecontroleerd door regulatorgenen waarvan bekend is dat ze zo'n gecoördineerde regulatie kunnen bewerkstelligen. Om verschillende redenen zijn dit soort theorieën met planten en dieren moeilijk te onderzoeken, niet in het minst vanwege de problemen met genetische analyse. Dit is de reden dat wij in ons laboratorium hiervoor een schimmel als modelsysteem gebruikten (Wessels et al., 1981).

Bij veel Basidiomyceten, zoals bij de door ons gebruikte *Schizophyllum commune*, kan men morfologisch twee verschillende hyfetypen onderscheiden: het monokaryon met één kern per cel en het dikaryon met twee kernen per cel, en een 'gesp' bij ieder septum (figuur 4). Het dikaryon ontstaat normaal door fusie van twee monokaryons en is dan dus een heterokaryon. Uiteindelijk zal dit dikaryon vruchtlichamen vormen waarin de twee kernen versmelten en zullen uit iedere diploïde kern door reductiedeling vier haploïde sporen ontstaan. Het heterokaryotische dikaryon ont-



Figuur 4. Schematische voorstelling van dikaryotische hyfen bij Basidiomyceten verkregen door kruising van twee monokaryons met verschillende incompatibiliteitsgenen of door mutaties in beide incompatibiliteitsgenen van één monokaryon.

staat echter alleen wanneer de twee gekruiste monokaryons verschillen in twee complexe genen (incompatibiliteitsgenen) genaamd A en B, bijvoorbeeld in de kruising $A_1 B_1 \times A_2 B_2$. Genetisch onderzoek van vooral J.R. Raper (voor een overzicht zie Schwall & Miles, 1978) heeft echter uitgewezen dat het dikaryon ook kan ontstaan in mycelia die slechts één type haploïde kernen bevatten (homokaryons genaamd) indien er bepaalde mutaties aangebracht worden in zowel het A als het B gen (figuur 4). Kennelijk worden door de mutaties processen aangeschakeld die leiden tot de dikaryotische morfologie. Bovendien werden elders in het genoom een groot aantal mutaties gelokaliseerd die alleen tot uitdrukking komen als deze processen aangeschakeld zijn. De incompatibiliteitsgenen kunnen dus opgevat worden als regulatorgenen die de expressie controleren van verzamelingen genen die direct betrokken zijn bij het optreden van het ene dan wel het andere celtype.

In onze analyse konden wij inderdaad aantonen dat in de twee celtypen

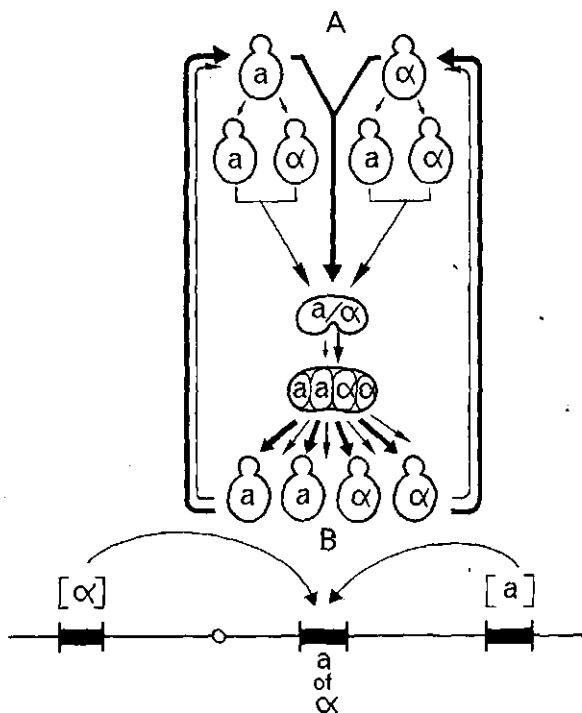
enkele verschillen voorkomen in de eiwitten die ze synthetiseren. Van ca. 700 geanalyseerde eiwitten bleken er 20 alleen in het monokaryon en 20 andere alleen in het dikaryon te worden gesynthetiseerd. Het opmerkelijke was echter dat we tussen de ca. 10 000 verschillende mRNA's die in beide celtypen op de ribosomen vertaald worden geen verschillen konden vinden. Hoewel de door ons gebruikte methoden niet gevoelig genoeg zijn om uit te sluiten dat de vorming van enkele zeldzaam voorkomende mRNA's toch gereguleerd wordt, was de methode gevoelig genoeg om te kunnen besluiten dat het al dan niet gevormd worden van de hiervoor genoemde eiwitten niet het gevolg kan zijn van regulering van de vorming van de mRNA's voor deze eiwitten. Omdat er geen verschillende gevonden zijn in de mRNA's die op de ribosomen in beide celtypen aanwezig zijn, zijn wij gedwongen om aan te nemen dat in de beide celtypen ook principieel dezelfde polypeptiden worden gemaakt. Waarschijnlijk zijn de incompatibiliteitsgenen dan betrokken bij de modificatie van deze polypeptiden, bijvoorbeeld door glycolysering, waardoor de verschillen ontstaan in uiteindelijke eiwitten die we tussen de twee celtypen waarnemen.

Er zijn nog te weinig andere studies van dit soort om tot algemene conclusies te komen. In idere geval lijkt in dit geval de regulatie van de gen-expressie tijdens de celdifferentiatie voornamelijk plaats te vinden door regulatie van processen helemaal aan het eind van de informatiestroom van gen naar functioneel eiwit.

DNA niet altijd constant

Ook de opvatting dat het DNA in verschillende celtypen een onveranderlijk element is moet mede ten gevolge van onderzoek aan schimmels enigszins worden genuanceerd. Gedoeld wordt hier op het 'cassette'-model voor de activering van genen, waarbij een kopie van een gen dat ligt op een plaats in de chromosomen waar het niet actief kan zijn, wordt ingevoegd in het DNA op een andere plaats waar het gen wel kan worden overgeschreven in mRNA.

De gist *Saccharomyces cerevisiae* is normaal haploïd en heterothallisch, hetgeen wil zeggen dat voor de vorming van diploïde cellen twee stammen van verschillende kruisingstype, hier α en a genoemd, moeten worden samengevoegd (dikke pijlen in figuur 5A). De diploïde cellen kunnen enige



Figuur 5.

A. De levenscyclus van heterothallische (normaal, dikke pijlen) en homothallische (dunne pijlen) vormen van *Saccharomyces cerevisiae*.

B. Het 'cassette'-model voor de genetische bepaling van het kruisings-type a of α.

tijd delen maar vormen dan een ascus met vier ascosporen, de produkten van een reductiedeling. Hieruit ontstaan twee a-cellen en twee α-cellen doordat de kruisingsgenen in de reductiedeling normaal uitsplitsen. In deze heterothallische stammen gebeurt het echter wel eens (frequentie 10^{-6}) dat een a-cel spontaan overgaat in een α-cel, en omgekeerd. Het kruisingsgen verandert dan dus van specificiteit. Dit gebeurt zeer vaak, zelfs bij elke celdeling, indien een ander gen (HO, voor homothallisch) aanwezig is. Stammen die dit gen bevatten zullen steeds groeien als diploïde cellen, terwijl ze toch uit één spore afgeleid zijn (dunne pijlen in figuur 5A). Onafhankelijk van het kruisings-type van deze spore zal het andere kruisings-type reeds na de eerste celdelingen verschijnen, waarna de ha-

ploïde cellen kunnen versmelten tot diploïde cellen.

Deze merkwaardige gang van zaken, waarbij de specificiteit van een gen lijkt te veranderen, blijkt te berusten op het feit dat naast het gen dat het kruisingstype bepaalt (a of α) op chromosoom III van *S. cerevisiae* ook nog een exemplaar van zowel het a - als het α -gen voorkomt dat echter niet tot expressie komt (In figuur 5B aangeduid als $[a]$ en $[\alpha]$). Kopieën van deze stille genen kunnen echter, door een proces dat men transpositie noemt en dat sterk door het HO-gen wordt bevorderd, ingebouwd worden op de plaats waar zich het actieve kruisingstype-gen bevindt dat eerst wordt verwijderd. Op de plaats van het actieve gen kunnen dus twee 'cassettes' worden ingeschoven die alternerend kunnen worden 'afgespeeld' (d.w.z. transcriptie in mRNA kunnen ondergaan). Hoewel bij het omwisselen de vorige cassette vernietigd wordt, blijven kopieën van beide cassettes op de $[a]$ - en $[\alpha]$ -plaats aanwezig. Het verschil tussen de heterothallische en homothallische gist is dus dat in de eerste de cassettes zelden worden omgewisseld.

Het zou te ver voeren om hier in te gaan op de recombinant-DNA-technieken en transformatie-experimenten die werden aangewend om het bestaan van dit mechanisme te bewijzen (Hick et al., 1979). Het belangrijke punt is dat het bestaan van dit mechanisme bij gist ons leert dat het DNA geen onveranderlijke informatiebron is. In verband met de mogelijke betekenis van transpositie voor het proces van de celdifferentiatie kan men zich zelfs voorstellen dat deze transpositie tot min of meer onomkeerbare veranderingen in het DNA kan leiden die op hun beurt weer verantwoordelijk zijn voor de stabiliteit van de celdifferentiatie, vooral bij dieren.

Genen in mitochondriën

Hiervoor is reeds even de endosymbiose-theorie ter sprake geweest als verklaring voor het ontstaan van de eukaryote cel in de evolutie. In deze opvatting zijn mitochondriën dus de afstammelingen van aërobe prokaryote organismen die hun energie verkregen door oxidatie van organische stof met zuurstof. Deze theorie werd vooral populair toen ontdekt werd dat er genen gelokaliseerd zijn in mitochondriën, een ontdekking die mogelijk was door onderzoek aan schimmels.

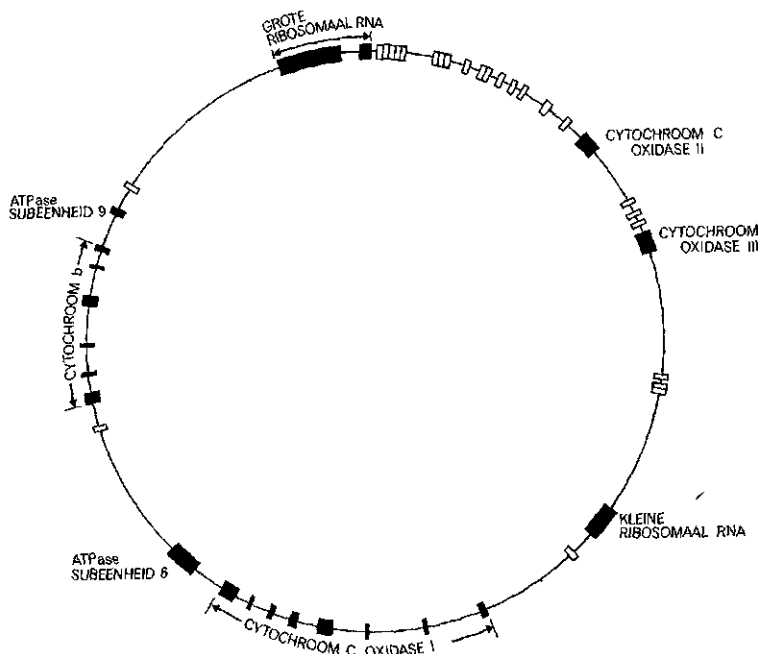
De manier om genen op te sporen is het isoleren van mutanten. Bij

planten en dieren die uitsluitend aëroob kunnen leven zullen mutaties die de werking van de mitochondriën treffen veelal lethaal zijn. Sommige schimmels, en met name de bakkersgist *Saccharomyces cerevisiae*, zijn echter in staat om onder anaërobe omstandigheden al hun energie te verkrijgen door vergisting van suikers en kunnen dus ook leven met defecte mitochondriën. Het is misschien niet helemaal toevallig dat juist in het land van Louis Pasteur, die het verschijnsel van 'la vie sans air' ontdekte, genetisch onderzoek van gist zo'n 35 jaar geleden leidde tot het inzicht dat mitochondriën een eigen genoom bezitten. Overigens bleken slechts enkele genen die voor de opbouw van mitochondriën nodig zijn in de mitochondriën zelf te huizen, de meeste zijn gelokaliseerd op de chromosomen in de kern. Dit kon gemakkelijk worden vastgesteld in kruisingen tussen mutanten en wild-type gisten. Terwijl de in de kern gelokaliseerde mutaties in de nakomelingen keurig worden uitgesplitst volgens Mendel, was de overerving van de mitochondriale genen onregelmatig omdat deze berust op een toevallige verdeling van gemuteerde en wild-type mitochondriën over de haploïde produkten van de reductiedeling.

Een combinatie van genetische en meer recent ontwikkelde moleculair-biologische technieken bij het onderzoek van het mitochondriaal genoom van schimmels, zoals uitgevoerd in de laboratoria van L.A. Grivell in Amsterdam en A.M. Kroon in Groningen, opent thans een aantal nieuwe inzichten in de structuur en functie van mitochondriaal DNA. Wat betreft het aantal en het soort genen dat in mitochondriaal DNA van schimmels wordt gevonden kan gesteld worden dat er weinig verschil is met het mitochondriaal DNA van mens en dier. Wel is het opmerkelijk dat dit DNA bij de tot nu toe onderzochte schimmels enkele malen groter is dan bij dieren. Zoals figuur 6 laat zien wordt de grootte van het mitochondriaal DNA van schimmels in belangrijke mate bepaald door de aanwezigheid van introns in de gespleten genen. Deze introns komen niet voor in het mitochondriaal DNA van dieren dat ook overigens een toonbeeld van efficiënte codering laat zien. Dit is wel opmerkelijk, vooral gezien het hiervoor vermelde feit dat voor het kerngenoom de situatie juist andersom ligt.

Modellen voor de dierlijke ontwikkeling

De slijmschimmels voldoen niet aan de hiervoor vermelde definitie van



Figuur 6. Mitochondriaal DNA van *Saccharomyces cerevisiae*. Dit DNA codeert voor enkele van de polypeptiden die bij de ademhaling en energie-winning door de mitochondriën een rol spelen en voor het ribosomaal RNA dat een structureel onderdeel vormt van de mitochondriale ribosomen (de zwarte blokken stellen de exons van deze genen voor, gescheiden door introns die niet in de rijpe RNA's voorkomen). Tevens is een groot aantal genen aanwezig voor mitochondriale transfer-RNA's (open blokken) waardoor in de mitochondriale eiwitsynthese een iets andere codoninterpretatie optreedt dan tijdens de eiwitsynthese in het cytoplasma. (Naar Grivell, 1983)

echte schimmels. Omdat ze echter toch veelal tot de schimmels gerekend worden en omdat in Nederland zowel in Leiden (Th.M. Konijn), Utrecht (A.J. Durston) als Amsterdam (R. van Driel) een vertegenwoordiger van deze groep van organismen, namelijk *Dictyostelium discoideum*, onderzocht wordt als modelsysteem voor de dierlijke ontwikkeling lijkt het juist om dit systeem hier kort te vermelden.

Dictyostelium discoideum vermenigvuldigt zich als amoeben die zich voeden met bacteriën en zich delen zolang voedsel aanwezig is. Als het voedsel op is treedt een signaleringssysteem in werking waardoor de amoeben tot elkaar worden aangetrokken en een multicellulair aggregaat vormen, het pseudoplasmodium, waarin zo'n 100 tot 100 000 amoeben verenigd zijn. Door Konijn werd gevonden dat cyclisch adenosinemonofosfaat een belangrijk onderdeel is van het signaleringssysteem tussen de individuele amoeben en het lijkt er op dat deze stof ook een belangrijke rol speelt bij de processen die zich in het aggregaat gaan afspelen. Hierin ontstaan twee celtypen, de présteel- en de prés pore-cellen, die zich door celbeweging ruimtelijk zo rangschikken dat een steeltje gevormd wordt waarin de présteel-cellen differentiëren tot steelcellen met een stevige cellulosewand, terwijl de prés pore-cellen zich bovenop het steeltje differentiëren tot een klompje sporen die voor de verspreiding zorgen. Omdat de morfogenetische bewegingen van de cellen in het pseudoplasmodium sterk doen denken aan celbewegingen die optreden tijdens de vroege embryonale ontwikkeling van dieren, met name tijdens de gastrulatie, en omdat (zoals reeds vermeld) dit organisme veel van de experimentele voordelen bezit die voor de echte schimmels gelden, wordt dit systeem in veel laboratoria intensief onderzocht (Loomis, 1982).

ONDERZOEK AAN SCHIMMELS ALS UNIEKE LEVENSVORM

Zoals reeds opgemerkt in de inleiding van dit hoofdstuk, dient het feit dat schimmels veel gebruikt worden als modelsystemen ons niet te doen vergeten dat het hier gaat om een heel aparte groep van organismen. Onderzoek van die verschijnselen welke juist typisch zijn voor schimmels kan ons het inzicht leveren om hun bijzondere levenswijze te begrijpen. Met voorbijgaan aan allerlei in dit opzicht interessante zaken (Burnett, 1976; Griffin, 1981) ligt het voor de hand om hier vooral aandacht te besteden aan de bijzondere manier waarop schimmels groeien en de mechanismen waarop deze groei berust.

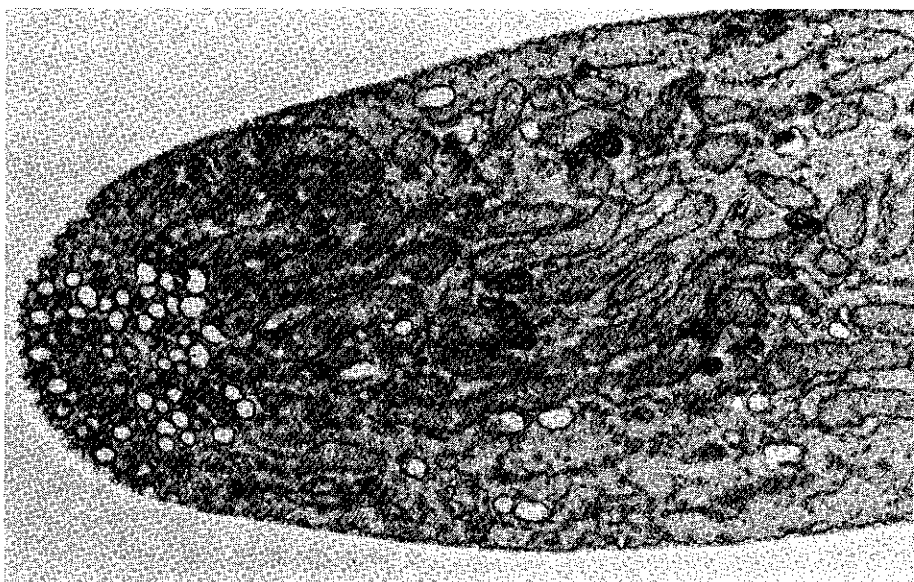
Het mycelium

De typische groeivorm van alle echte schimmels (met uitzondering van

de gisten) is het mycelium, een vertakt stelsel van buizen (hyfen) die door tussenschotten (septen) in min of meer gescheiden compartimenten verdeeld kunnen zijn (zie figuur 1). De hyfen in een mycelium groeien uitsluitend aan hun top, zodat een cirkelvormige kolonie zich aan de rand voortdurend uitbreidt en zich hier ook de jongste hyfen bevinden. Niet alleen zijn deze jonge hyfen het meest actief in het opnemen van voedsel uit het milieu, er is ook een voortdurend transport van stoffen uit de oudere delen van het mycelium waar de hyfen steeds meer vacuolen gaan bevatten. Zelfs kunnen deze oudere hyfen bijna geheel afgebroken worden (autolyse), waarbij de afbraakprodukten gebruikt worden om de groei van de jonge hyfen te ondersteunen. Tenslotte kan het centrum van een kolonie volledig afsterven waarbij de oorspronkelijk cirkelvormige kolonie zich als een ring uitbreidt. Zeer fraai is dit te zien bij de bekende heksenkringen, soms met een diameter van meer dan 100 m, waarbij de paddestoelen ieder jaar op het zich als een ring uitbreidende jonge mycelium gevormd worden. Ook als er helemaal geen voedsel meer aanwezig is kunnen de hyfen aan het front van de kolonie nog lang blijven doorgroeien ten koste van autolyserende oudere hyfen. Een ingenieuze overlevingsstrategie die bovendien het grote voordeel heeft dat de jonge hyfen, al doorgroeiend, een nieuwe voedselbron kunnen bereiken. Ook bij de vorming van speciale voortplantingsstructuren, zoals paddestoelen, kunnen de hyfen in het vegetatief mycelium worden afgebroken en de afbraakprodukten hergebruikt.

De groei van hyfen

Omdat de groeiprocessen zich in de top van de hyfe afspelen, is deze top het onderwerp geweest van veel ultrastructureel onderzoek (Grove, 1978). Steeds wordt gevonden dat in het cytoplasma van een groeiende top zich een groot aantal blaasjes bevinden waarvan sommige juist getroffen zijn terwijl ze met het plasmamembraan fuseren (figuur 7). Het is goed zich een dynamische voorstelling te maken van wat hier in een momentopname te zien is. Bij een snelgroeiende hyfe, bijvoorbeeld van *Neurospora crassa*, verlengt de hyfe zich met een snelheid van ongeveer 2 mm per uur. Men heeft berekend dat voor de uitbreiding van het plasmamembraan die hiermee gepaard gaat, ca. 40 000 blaasjes per minuut met



Figuur 7. Ultrastructurele organisatie van de top van een hyfe van *Schizophyllum commune*. In deze lengtedoorsnede is de celwand alleen zichtbaar als een vage witte wand die de hyfe omgeeft. Duidelijk zichtbaar zijn de vele blaasjes in de top waarvan een aantal juist getroffen lijkt op het moment dat ze met het plasmamembraan fuseerden. De worstachtige structuren in het subapicale deel van de hyfe zijn mitochondriën. (Foto P. van der Valk)

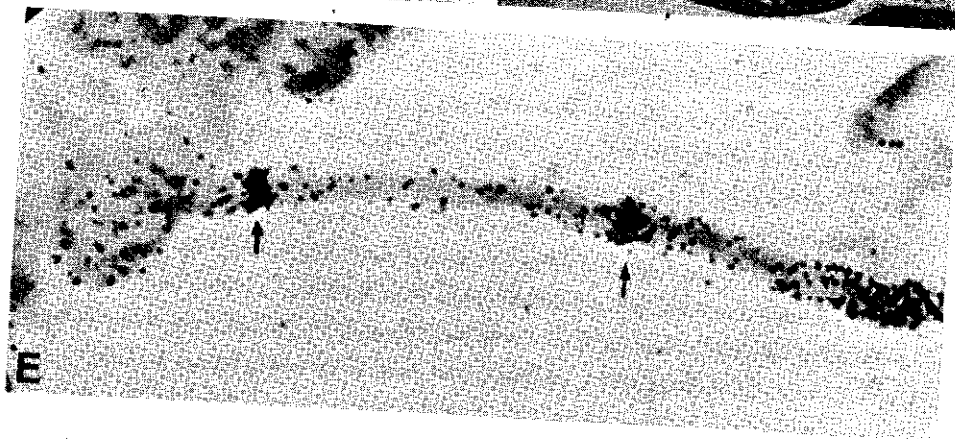
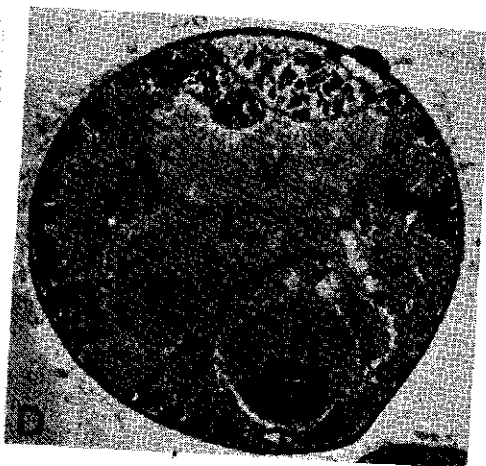
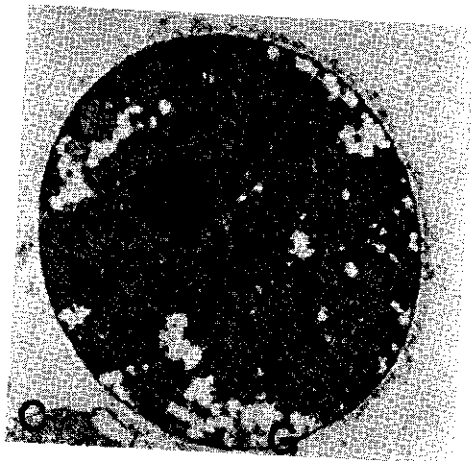
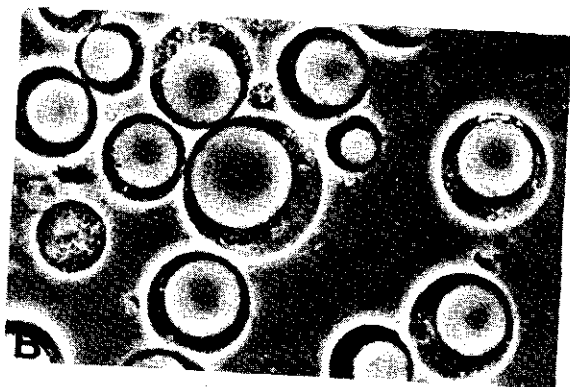
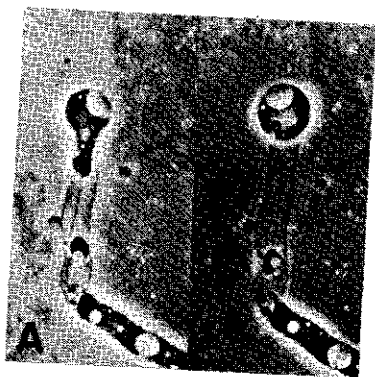
het plasmamembraan moeten fuseren. Deze blaasjes ontstaan op enige afstand van de top door afsnoering uit het endoplasmatisch reticulum (een duidelijk Golgi-systeem is dikwijls niet waar te nemen). Ze worden daarna op nog onbekende wijze, maar zeker niet door een algemene protoplasmastroming, naar de top van de groeiende hyfe getransporteerd om daar met het plasmamembraan te fuseren. Zoals reeds uiteengezet voor gist (zie figuur 3) is er alle reden om te veronderstellen dat hierdoor niet alleen het plasmamembraan wordt uitgebreid maar dat ook de zich in blaasjes bevindende hydrolytische enzymen en voorlopers van de celwand in het milieu worden uitgestort.

Vermoed wordt dat het zogenaamde cytoskelet een belangrijke rol speelt

bij het transport van blaasjes naar de top van de hyfe. Dit cytoskelet bevat als componenten de microtubuli, die als onderdeel van de kernspoel ook een belangrijke rol spelen bij de kerndeling, en de microfilamenten, actine- en myosine-achtige structuren, die ook de contractie van spieren veroorzaken. Microbutuli liggen in de lengterichting in het cytoplasma en het lijkt wel of de blaasjes zich langs deze buisjes naar de top bewegen. Dergelijke microbutuli kunnen zich snel vormen door assemblage van tubulinen, eiwitten bestaande uit twee subeenheden, α en β tubuline genaamd. Bij dieren en planten wordt deze assemblage geremd door het alkaloïde colchicine dat zich bindt aan tubuline. Het meest bekende effect is hier de vermindering van de celdeling omdat de kernspoel niet gevormd kan worden. Bij schimmels heeft dit vergif echter weinig effect omdat het colchicine slecht aan het tubuline bindt. Vooral onderzoek in Wageningen door L.C. Davidse heeft geleid tot de ontdekking dat een groep stoffen behoren tot de imidazool-carbamaten, zoals benomyl, wel goed aan schimmeltubulinen binden en hier net als colchicine bij planten en dieren de assemblage van microtubuline verhindert. De specificiteit van deze stoffen lijkt te berusten op een afwijkende α -tubuline-subeenheid bij schimmels (Gull, 1981). De specificiteit van deze stoffen als fungiciden in de landbouw kan hiermee dus goed verklaard worden.

De groei van de celwand

Groei van de hyfen is alleen mogelijk als de celwand meegroeit, waarbij wij ons de celwand kunnen voorstellen als een stevige koker die aan één uiteinde voortdurend verlengd wordt. Zonder celwand zou het cytoplasma een kogelronde gedaante aannemen, hetgeen ook gebeurt als we de celwand weghalen of er gaten in maken met behulp van hydrolytische enzymen die de polymeren in de celwand kunnen afbreken. We moeten er dan wel voor zorgen dat het omringende medium een osmotische waarde heeft equivalent aan ongeveer 1500 kPa, anders barsten de gevormde protoplasten door wateropname meteen uit elkaar. Als we het goed doen blijven de naakte protoplasten vitaal en kunnen, als de celwandhydrolytische enzymen weggehaald worden, een nieuwe celwand en zelfs een nieuw mycelium regenereren (figuur 8). Dergelijke protoplasten worden niet alleen gebruikt om de synthese van de celwand te bestuderen, maar bieden bij-



voorbeeld ook de mogelijkheid om allerlei stoffen, zoals vreemd DNA, de cel in te smokkelen.

De hoge osmotische waarde van het cytoplasma (bijvoorbeeld 1500 kPa) maakt dat in een normaal groeimedium met een osmotische waarde van zeg 300 kPa, water de cel in wil stromen. Dit wordt verhinderd door de stevige celwand, die hierdoor wel onder een hydrostatische druk (turgor) komt te staan, in dit geval 1200 kPa. Terwijl de stevige celwand er dus enerzijds voor zorgt dat de buisvorm van de hyfen behouden blijft, zorgt

Figuur 8. Vorming en regeneratie van schimmelprotoplasten.

A. Vorming van een protoplast uit een hyfe van *Schizophyllum commune* door inwerking van celwand-hydrolyserende enzymen met als osmoticum 0,5 mol/l MgSO_4 .

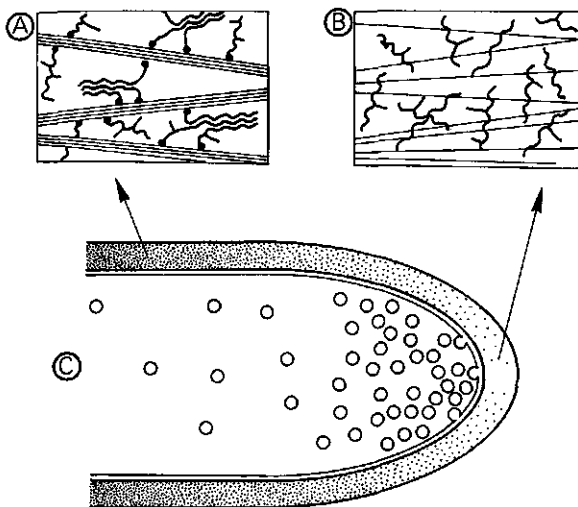
B. Een groot deel van de gevormde protoplasten heeft een lagere dichtheid dan 0,5 mol/l MgSO_4 en kan door centrifugeren als een zuivere fractie geïsoleerd worden. Ze bezitten een grote vacuole en minstens één kern. C en D. Al deze protoplasten vormen na verwijdering van de hydrolytische enzymen in aanwezigheid van voedingsstoffen binnen enkele uren weer een celwand. De elektronenmicroscopische opname in D toont een doorsnede van een geregenereerde protoplast na kleuring van bepaalde polysacchariden met een zilverreagens. Hierdoor is één laag van de celwand en het in het cytoplasma aanwezige glycogeen (G) donker gecontrasteerd. Tevens zijn zichtbaar de vacuole (V) en twee kernen (N).

E. Ongeveer de helft van de protoplasten vormt niet alleen een wand maar daarna ook een normale hyfe die uitgroeit tot een mycelium. In deze lichtmicroscopische opname wordt een geregenereerde protoplast getoond die een hyfe vormt. Tien minuten vóór fixatie werd aan het groeimedium een radioactieve bouwsteen van chitine toegevoegd waarna het gedurende die tijd gevormde en dus radioactieve chitine werd zichtbaar gemaakt door de vorming van zilverkorrels in een over het preparaat gelegde fotografische emulsie als gevolg van de vrijkomende radioactieve straling (micro-autoradiografie). Duidelijk is te zien dat het chitine in de celwand vooral wordt gesynthetiseerd aan de top van de hyfe, terwijl tevens chitine wordt afgezet op plaatsen (pijlen) waar septen gevormd worden. (Foto P. van der Valk)

de turgor er anderzijds voor dat de celwand tijdens de groei aan de top voortdurend expandeert. Tegelijk wordt aan de top voortdurend nieuw celwandmateriaal afgezet, want de wand verandert niet van dikte terwijl hij uitgerekt wordt. Dat juist aan de top de celwand wordt gesynthetiseerd kan worden vastgesteld door de schimmel radioactieve bouwstenen van de celwand aan te bieden en na een paar minuten de nieuw gevormde celwand zichtbaar te maken met micro-autoradiografie (figuur 8D). De vraag is hoe het komt dat de nieuw gevormde celwand uitgerekt kan worden terwijl diezelfde wand er even later voor moet zorgen dat de buisvorm van de hyfen gehandhaafd blijft (Burnett & Trinci, 1979).

De kern van de verklaring ligt in de moleculaire structuur van de celwand en de wijze waarop die tot stand komt. Althans bij de Ascomyceten en de Basidiomyceten lijken twee polymeren de belangrijkste rol als stevigheidselement te vervullen, namelijk chitine en een beta-glucaan (Wessels & Sietsma, 1981). Het chitine, bestaande uit (1-4)- β -gekoppelde monomeren van *N*-acetylglucosamine, is interessant want het is een stof die niet bij planten maar wel bij dieren voorkomt. Vele chitineketens kunnen samen microfibrillen in de wand vormen die de trekkrachten kunnen opvangen. De beta-glucanen bestaan uit monomeren van glucose die (1-3)- β -gekoppeld zijn met als zijtakken glucose monomeren die (1-6)- β -gekoppeld zijn. Terwijl het algemene beeld was dat de celwand is opgebouwd uit chitinemicrofibrillen ingebed in een matrix van beta-glucaan, ontdekten wij dat in feite de beta-glucaanketens gekoppeld kunnen zijn aan de chitineketens. Wij denken dat deze vernetting van polysaccharideketens de celwand stevigheid verleent.

Het blijkt nu dat chitineketens en beta-glucaanketens aan de top als afzonderlijke polymeren worden gesynthetiseerd. De chitinetekens worden zeer waarschijnlijk gemaakt door een enzym in het plasmamembraan. Er zijn aanwijzingen dat deze chitinetekens onmiddellijk na synthese nog niet gekristalliseerd zijn en dus nog toegankelijk voor enzymen die glucaanketens aan deze chitineketens kunnen koppelen. Terwijl de pas gevormde chitineketens onoplosbaar in water zijn, worden de beta-glucanen als wateroplosbaar polymeer in de celwand uitgescheiden. Daarna worden de beta-glucanen in de celwand gekoppeld aan de chitineketens waardoor ze ook water-onoplosbaar worden. In onze theorie is het feit dat de twee polysacchariden, chitine en beta-glucaan, in de top nog aanwezig zijn als af-



Figuur 9. Gedeeltelijk hypothetisch model voor veranderingen in de structuur van de celwand tijdens de groei aan de hyfetop. Water-onoplosbare chitinmoleculen (rechte lijnen in B) en water-oplosbare β -glucaan-moleculen (kronkellijntjes in B) worden als aparte polymeren gesynthetiseerd, maximaal aan de uiterste top terwijl bijna geen synthese meer optreedt op de plaats waar de hyfe een maximale diameter bereikt (C). De aanwezigheid van deze aparte polymeren geeft maximale plasticiteit aan de celwand. Eenmaal in de celwand worden de twee polymeren echter aan elkaar gekoppeld, terwijl tevens chitinmoleculen en glucaan moleculen onderling door vorming van waterstofbruggen gedeeltelijk kristalliseren (vorming van microfibrillen). Hierdoor ontstaat een structuur als schematisch aangegeven in A waarin een water- en loog-onoplosbaar chitine/- β -glucaan-complex gevormd is dat een stijve celwand veroorzaakt. In C geeft het aantal stipfels in de celwand schematisch aan de toename in vernetting en dus de stijfheid van de celwand in subapicale richting. De aanwezigheid in de celwand van een α -glucaan, dat waarschijnlijk geen rol speelt bij de morfogenetische processen aan de top, is voor de eenvoud niet aangegeven. (Gemodificeerd naar Wessels et al., 1983)

zonderlijke polymeren, de oorzaak van de plasticiteit van de celwand ter-plaatse. Hierdoor kan deze celwand expanderen. De geleidelijke vernetting van de twee polymeren maakt echter dat tijdens de expansie de celwand steeds stijver wordt, totdat de verstijving zo groot geworden is dat weerstand geboden kan worden aan de turgor. Op dat moment houdt de expansie op en heeft de hyfe zijn maximale diameter bereikt (figuur 9).

Bij de bestudering van de enzymen betrokken bij de synthese van celwandpolymeren heeft men ontdekt dat sommige antibiotica heel specifiek deze synthese kunnen remmen. Bekend zijn vooral remmers van de chitinesynthese als polyoxine en nikkamycine. Gezien het succes dat men bereikt heeft met een antibioticum dat de celwandsynthese bij bacteriën remt, namelijk penicilline, heeft dit de hoop gewekt dat men met de antibiotica die de chitinesynthese remmen pathogene schimmels zou kunnen bestrijden. Helaas blijken deze antibiotica die in extracten altijd de synthese van chitine blokkeren, bij levende schimmels dikwijls ineffectief, waarschijnlijk omdat ze niet opgenomen worden. Als fungiciden zijn ze dus geen algemeen succes. Dit is wel het geval met antibiotica als griseofulvine en nystatine. Deze worden gebruikt voor de bestrijding van schimmelinfecties bij mens en dier. Hoewel deze antibiotica duidelijke effecten op de celwandsynthese hebben, is de manier waarop ze precies hun werking uitoefenen nog niet bekend.

Ook een groot aantal in de landbouw gebruikt fungiciden, waarvan bekend is dat ze de synthese van ergosterol remmen, heeft een duidelijk effect op de celwand. Ergosterol is een belangrijk bestanddeel van het plasmamembraan en beïnvloedt waarschijnlijk de activiteit van membraan-gebonden enzymen die de celwand synthetiseren.

De hyfewand en het milieu

De hiervoor aangegeven geleidelijke verandering in structuur van de celwand vanaf de groeiende top (figuur 9) heeft waarschijnlijk belangrijke gevolgen voor het contact van de hyfen met hun milieu. Het is immers zeer wel mogelijk dat door de toenemende vernetting van de polymeren in de celwand ook de permeabiliteit van de celwand afneemt vanaf de groeiende top. Inderdaad zijn er onafhankelijke aanwijzingen dat alleen aan de top de poriën in de celwand groot genoeg zijn om grote eiwitten te laten

passeren (Chang & Trevethick, 1974). Dat zou bijzonder functioneel zijn want het is juist aan de top dat de talloze blaasjes waarin zich deze eiwitten bevinden met het plasmamembraan fuseren en hun inhoud in het milieu uitstorten. Anderzijds zullen ook stoffen afkomstig uit het milieu het plasmamembraan en het cytoplasma het gemakkelijkst kunnen bereiken aan de top. Omdat juist in dit gedeelte van de hyfe ook de groei plaatsvindt, zijn snelle recties in groeisnelheid, groeirichting of morfogenese mogelijk.

De reacties van hyfen op veranderingen in hun milieu zijn veelvuldig. Men kan denken aan de groei van hyfen naar een voedselbron toe, maar ook aan de ontwikkelingsreacties waardoor de hyfetoppen zoveel mogelijk uit elkaars buurt blijven in een groeiend mycelium. Samen met een fijn gereguleerd systeem van vertakking leidt dit tot een zo efficiënt mogelijke kolonisatie van het substraat. Aan de andere kant moeten hyfen ook met elkaar in contact kunnen komen. Dit is bijvoorbeeld het geval bij sexuele interacties. Ook bij de hier optredende herkenningsreacties en versmelting van hyfen spelen steeds de hyfetoppen een rol. Interessant zijn ook de herkenningsreacties tussen hyfetoppen en het gastheerweefsel in parasitische of symbiontische interacties en de daaropvolgende functioneel-morfologische veranderingen in de hyfetoppen. Bekend in parasitische interacties zijn de appressoria waarmee de schimmel contact maakt met de celwand van de gastheercellen en de daarop dikwijls volgende penetratie van de gastheercellen en de ontwikkeling van haustoria in de cellen, die ongetwijfeld een belangrijke rol vervullen bij het onttrekken van voedingsstoffen aan de plant (zie figuur 1 in het hoofdstuk van Verhoeff). Aan de andere kant blijkt het binnendringen van de schimmel ook afweersystemen in de plant op te roepen, waarvan de voor de schimmels toxische fytoalexinen belangrijke componenten zijn. Ook het afsterven van gastheerweefsel rond de geïnfecteerde plek (hypersensitieve reactie) kan de infectie tot stilstand brengen. Zowel deze hypersensitieve reactie als het vrijkomen van fytoalexinen schijnt opgeroepen te worden door vertakte (1-3)- β -glucanen die door de schimmel worden geproduceerd (Kosuge, 1981). In verband met het hiervoor besproken model van de groei van de celwand aan de top van de hyfen (figuur 9), kan het van belang zijn dat juist in de hyfetop oplosbare beta-glucanen aanwezig zijn.

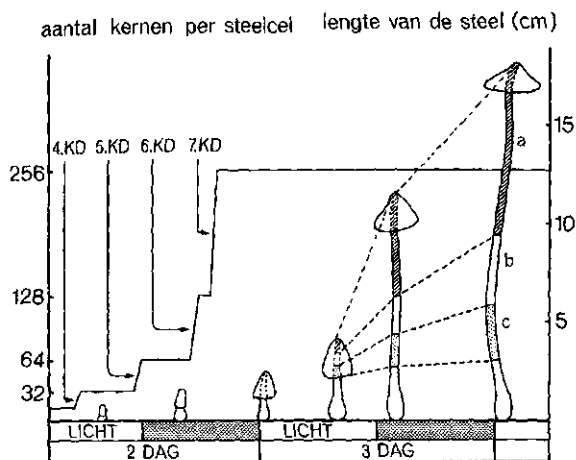
Snelle groei van paddestoelen

Terwijl in het voorgaande de nadruk lag op het koloniserend gedrag van hyfen, wijzigt dit gedrag zich fundamenteel bij de vorming van voortplantingsstructuren, zoals paddestoelen-, of overlevingsstructuren, zoals sclerotia. Bij de vorming van deze multicellulaire structuren schijnen de hyfen hun neiging om elkaar te mijden te verliezen; ze worden dan juist tot elkaar aangetrokken en vormen een weefsel waarin plaatselijke groei en celdifferentiatie plaatsvindt. Bij de paddestoelen mondt dit uit in de vorming van diploïde cellen, die reductiedeling ondergaan en haploïde sporen vormen, op een plaats waar de verspreiding van deze sporen optimaal gegarandeerd is. De boven het substraat groeiende hyfen in de paddestoel kunnen zelf geen voedsel opnemen uit het substraat, maar krijgen alle bouwstenen voor de groei toegevoerd uit de koloniserende, soms via mycorrhiza's met plantewortels verbonden hyfen. Wanneer het substraat uitgeput is worden zelfs de substraathyfen zelf verteerd en de afbraakprodukten hergebruikt voor de groei van de paddestoelen, die dan dus parasiteren op hun eigen mycelium.

Heel opvallend is de snelle groei van paddestoelen. In één nacht lijken ze soms te verschijnen, hetgeen ongetwijfeld heeft bijgedragen aan de waas van geheimzinnigheid die historisch rond paddestoelen gesponnen is. Zoals in figuur 10 voor een inktzwammetje is aangegeven is op het einde van de tweede dag na inductie het paddestoeltje geheel uitgedifferentieerd; ook het aantal kernen in de steelhyfen heeft zijn maximum bereikt. Wat nu op de derde dag volgt is een zeer snelle groei van de steel, vooral in het bovenste gedeelte. Deze groei berust op een strekking van de individuele hyfen in de steel waarvan de gemiddelde lengte in één dag toeneemt van 0,1 mm tot 2 mm. In verband met hetgeen gezegd is over de groei van hyfen aan hun top is het nu opmerkelijk dat hier de groei van de hyfen over hun gehele lengte plaatsvindt. Het is dus een soort strekkingsgroei die we vooral kennen bij de groei van planten.

GENETISCHE MANIPULATIE VAN SCHIMMELS

Samenleven met schimmels betekent voor de mens dat hij niet tevreden is met de activiteiten van deze organismen zoals die zich aan hem voor-



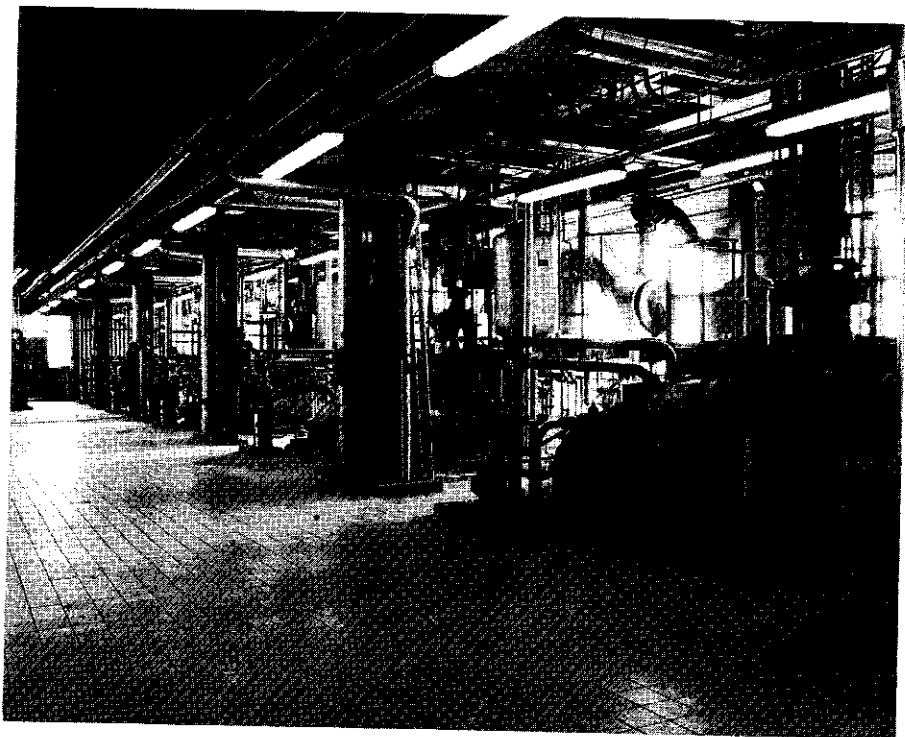
Figuur 10. Schematische voorstelling van de vruchtlichaamontwikkeling (steelstrekking) bij de inktzwam *Coprinus radiatus*. KD = kerndeling. (Naar Hafner & Thielke, 1970)

doen. Zoals met andere organismen zal hij sommige bestrijden, andere juist cultiveren of zelfs genetisch willen veranderen om ze optimaal te kunnen aanwenden voor eigen gebruik. Als meest extreme ontwikkeling moet genoemd worden het gebruik van schimmels, met name gisten, voor de biotechnologische produktie van 'vreemde' eiwitten zoals dierlijke hormonen en vaccins. Verwacht wordt dat de eukaryote schimmels, na transformatie met genen uit planten of dieren, deze genen beter tot expressie zullen kunnen brengen dan de prokaryote bacteriën, die nu nog algemeen voor dit doel gebruikt worden.

Hierna zal kort worden aangegeven hoe genetische manipulatie kan leiden tot verbeteringen bij de industriële produktie van het antibioticum penicilline en bij de teelt van eetbare paddestoelen, voornamelijk champignons, twee activiteiten waarin Nederland een vooraanstaande positie inneemt.

Produktie van een antibioticum

Penicilline wordt als een secundair metaboliet uitgescheiden door een



Figuur 11. Industriële installaties voor de productie van penicilline. Het mycelium van stammen van *Penicillium chrysogenum* wordt gekweekt in fermentatietanks van 100 000 l. Door verbetering van de stammen en technologie wordt thans een productie bereikt van 20-30 g gezuiverde penicilline per liter fermentatievloeistof. (Foto Gist-Brocades, Delft)

aantal *Penicillium*- en *Aspergillus*-soorten, waarvan *P. chrysogenum* thans algemeen voor de productie van penicilline wordt gebruikt. De wereldproductie van penicilline bedraagt thans ca. 17 000 ton waarvan de Nederlandse industrie (Gist-Brocades) 15-20 % voor haar rekening neemt (figuur 11). De opbrengstverbeteringen van penicilline zijn voor een belangrijk deel te danken aan verbeteringen in de procestechnologie en de produktisolatie, maar het meest spectaculair is toch wel de verbetering van de stammen van *P. chrysogenum* die voor de productie gebruikt worden (Dale, 1983).

Praktisch alle commercieel belangrijke stammen van *P. chrysogenum* zijn terug te voeren op een in 1943 geïsoleerde stam NRRL 1951, die 100 eenheden penicilline per ml produceerde. De thans in gebruik zijnde stammen produceren echter onder dezelfde omstandigheden 10-13 000 eenheden per ml, ongeveer 1000 maal zoveel als de door de ontdekker Alexander Fleming in 1928 geïsoleerde stam van *P. notatum*. Deze verbeteringen in produktie zijn voornamelijk tot stand gekomen door selectie van varianten van de schimmel met een verhoogde vorming van penicilline. Soms zijn deze varianten spontaan ontstaan, maar meestal zijn ze verkregen door bewuste mutagenese met ultraviolet licht, röntgenstralen of chemicaliën. Waarschijnlijk zijn door veel van deze mutaties de controlemechanismen die in de oorspronkelijke stammen de synthese van penicilline beheersten vernietigd. In een dergelijk mutatieselectie-programma tréden soms naast verhoogde penicillineproduktie in de geselecteerde stammen ongewenste bijverschijnselen op, zoals verminderde sporulatie. Of het blijkt dat één van de geselecteerde stammen een prettige eigenschap heeft, zoals het ontbreken van een pigment dat lastig is bij het opzuiveren van het antibioticum, maar helaas minder penicilline produceert. In zo'n geval zou het voordelig zijn om kruisingen uit te voeren met andere stammen en uit de door recombinatie ontstane nakomelingen de gunstigste combinaties uit te zoeken. Anders dan bij de in het fundamenteel onderzoek veel gebruikte schimmels, is echter van *P. chrysogenum* geen geslachtelijke voortplanting bekend.

Om toch recombinanten te krijgen in gevallen dat een sexuele cyclus ontbreekt, kan de parasexuele cyclus bij schimmels enig soulaas bieden. Twee verschillende haploïde stammen kunnen fuseren en een heterokaryon vormen waarin de kernen naast elkaar voorkomen en zich delen (zie figuur 2). Soms gebeurt het echter dat in zo'n vegetatief heterokaryon twee verschillende kernen met elkaar fuseren en een diploïde kern vormen. Bij de hieropvolgende delingen van deze diploïde kern gaat er echter dikwijls iets mis met de juiste verdeling van de chromosomen over de dochterkernen. Hierbij ontstaan instabiele aneuploïde kernen die een chromosoom missen of er een te veel hebben. In het eerste geval leidt dit tot een verder verlies van chromosomen totdat weer het haploïde aantal bereikt is. Aangezien het verlies van een chromosoom van ieder paar een willekeurig proces is, zal de uiteindelijke gevormde haploïde kern een

mengsel bevatten van de chromosomen van de ouderlijke stammen. Bovendien kan aan dit proces recombinatie van genen tussen de homologe chromosomen voorafgaan, zij het met een veel lagere frequentie dan bij een normale reductiedeling. In ieder geval kunnen via deze parasexuele cyclus recombinante mycellia via de ongeslachtelijke sporen geïsoleerd worden.

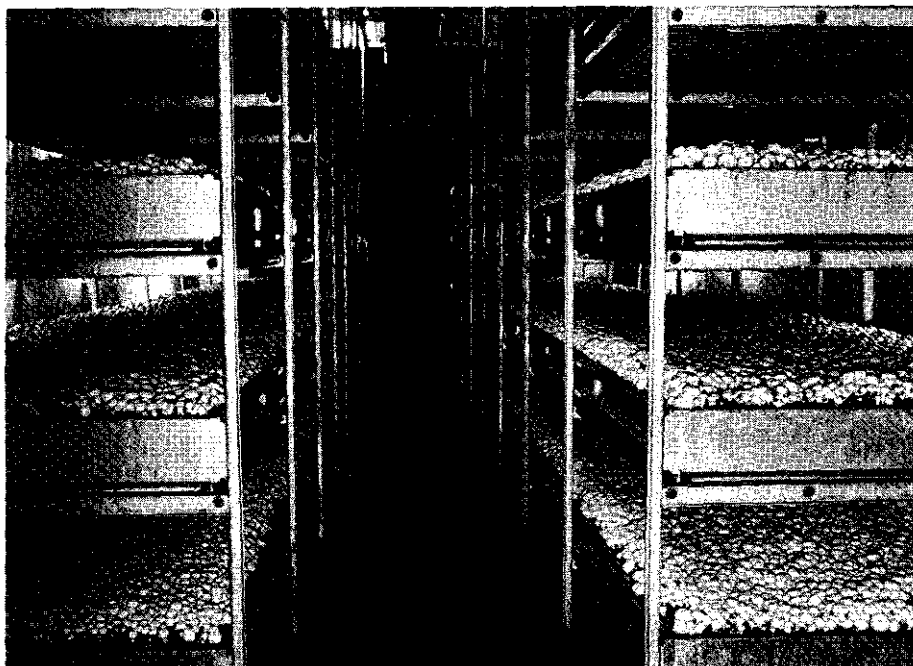
Maar ook als men hoopt via de parasexuele cyclus recombinanten te isoleren blijft het noodzakelijk dat de ouderlijke mycellia met elkaar willen fuseren. Dat is lang niet altijd het geval, en dan kan protoplastfusie uitkomst bieden. Na het vrijmaken van protoplasten uit beide stammen kunnen deze, bij het ontbreken van celwanden, tot fusie gebracht worden. Versmelting van de plasmamembranen wordt tegenwoordig meestal bereikt door toevoeging van polyethyleenglycol. Na fusie volgt regeneratie (zie figuur 8) waarna heterokaryotische mycellia geïsoleerd kunnen worden. Deze methode is vooral ontwikkeld door Joseph Anné in Leuven die er op deze wijze in geslaagd is hybridisatie te bewerkstelligen tussen verschillende *Penicillium*-soorten, zoals *P. chrysogenum* en *P. roqueforti* (Ferenczy, 1981). Het bij elkaar brengen van gunstige eigenschappen uit twee verschillende stammen heeft al tot commerciële toepassing geleid bij de produktie van cefalosporines (een soort penicillines) door *Cephalosporium acremonium*. Overigens wordt de waarde van protoplasten voor biotechnologische toepassingen nog verhoogd door hun vermogen om vreemd DNA op te nemen waardoor ook meer gerichte genetische veranderingen (transformatie) in de nabije toekomst tot de mogelijkheden zullen gaan behoren.

Produktie van paddestoelen

Er wordt op dit moment in de wereld ongeveer anderhalf miljoen ton paddestoelen geteeld voor consumptie en hiervan bestaat ongeveer een miljoen ton uit champignons (*Agaricus bisporus*). Wat betreft de champignons neemt Nederland een belangrijke plaats in met 80 000 ton (8%); alleen in de Verenigde Staten (20%), Frankrijk (15%) en China (10%) produceren meer. In Nederland wordt deze produktie bereikt op ongeveer 800 teeltbedrijven, terwijl 7000 personen in deze bedrijfstak werkzaam zijn. De grondslagen van de snelle toename in de produktie - in 1960

werd slechts 3000 ton geteeld - zijn voor een belangrijk deel gelegd door het Proefstation voor de Champignoncultuur te Horst (L.) (figuur 12). Ze berusten voor een belangrijk deel op teelt-technische maatregelen, maar ook hier heeft stamverbetering een belangrijke rol gespeeld.

Tot nu toe is deze stamverbetering voornamelijk tot stand gekomen door selectie van spontane varianten die verkregen worden door mycelia op te kweken uit geïsoleerde basidiosporen (het ontbreken van een haploïde fase wordt hierna behandeld). Omdat het bij de paddestoel-vorming om een primair produkt van de schimmels gaat kan ook niet verwacht worden dat met een mutatieselectie-methode als bij de produktie van penicilline hier veel bereikt kan worden. Immers, terwijl het bij de penicillineproduktie



Figuur 12. Produktie van champignons, vruchtlichamen van *Agaricus bisporus*, in een modern bedrijf. Door stamverbetering, optimale teeltwijze en mechanisatie wordt thans een produktie gehaald van meer dan 100 kg champignons per m² per jaar. (Foto Proefstation voor de Champignoncultuur, Horst)

gaat om een betrekkelijk eenvoudige biosynthese waarin door mutaties een aantal controlemechanismen vernietigd kunnen worden, gaat het bij de vruchtlichaamvorming waarschijnlijk juist om het aanbrengen van subtiele veranderingen in een aantal fijn op elkaar afgestemde controlemechanismen die gecoördineerd het mycelium tot de vorming van paddestoelen brengt. Mutaties leiden dan ook steeds tot het onvermogen om nog paddestoelen te kunnen vormen, of de gevormde paddestoelen zijn misvormd en onaantrekkelijk voor de teelt. Meer mag verwacht worden van hybriden waarin aantrekkelijke eigenschappen van verschillende rassen elkaar aanvullen of versterken. Helaas geldt ook hier weer dat hybridisatie van deze commercieel belangrijke schimmel minder gemakkelijk is dan bij een modelorganisme als *Schizophyllum commune* dat veel voor het onderzoek naar de vruchtlichaamvorming gebruikt wordt, maar commercieel geen waarde heeft. De reden is dat bij *A. bisporus* niet zoals bij *S. commune* de incompatibiliteitsgenen (zie figuur 4) netjes worden uitgesplitst tijdens de reductiedeling en in de afzonderlijke sporen belanden. In plaats van vier sporen levert iedere diploïde cel slechts twee sporen (vandaar de naam *bisporus*) en in iedere spore komen paarsgewijs de twee allelen van een incompatibiliteitsgen terecht. De sporen zijn dus niet homokaryotisch maar meteen heterokaryotisch en vormen na kieming een heterokaryotisch mycelium waaruit, zonder kruising, weer paddestoelen groeien. In een zeer klein aantal gevallen worden vier sporen op één basidium gevormd en als men de moeite neemt om die op te sporen kan men homokaryotisch mycelia in handen krijgen, die dan voor kruisingen gebruikt kunnen worden. Langs deze weg zijn op het Proefstation voor de Champignoncultuur reeds enkele commercieel zeer interessante stammen verkregen. Waarschijnlijk zal het in de toekomst gemakkelijker worden om homokaryotische mycelia in handen te krijgen via het maken van protoplasten en regeneratie van deze protoplasten. Bij *S. commune* is namelijk aangetoond dat tijdens de vorming van de protoplasten de verschillende kernen in het heterokaryon in afzonderlijke protoplasten terecht kunnen komen.

Toch zijn de mogelijkheden om door kruising van haploïde stammen interessante nieuwe rassen in handen te krijgen beperkt omdat alle gekweekte rassen van *A. bisporus* afstammen van een beperkt aantal stammen die allang geteeld worden, terwijl een 'wilde' *A. bisporus*, waarin voor de teelt belangrijke genen aanwezig zouden kunnen zijn, waarschijnlijk niet

meer voorkomt. Resistentie tegen een virusziekte die de champignonsteelt voortdurend bedreigt zou zo'n gunstige genetische eigenschap kunnen zijn. In een verwante soort, *A. bitorquis*, is deze eigenschap van virusresistentie wel aanwezig, maar deze soort is niet kruisbaar met *A. bisporus*. Het ligt dus voor de hand om in de toekomst te proberen de genomen van de twee soorten via protoplasthybridisatie bij elkaar te brengen in een heterokaryon en via sexuele of parasexuele processen te trachten recombinanten in handen te krijgen die de gunstige teelteigenschappen van *A. bisporus* en de virusresistentie van *A. bitorquis* combineren.

Als virusresistentie berust op de aanwezigheid van een enkel gen zou men ook kunnen proberen het resistentiegen uit *A. bitorquis* te isoleren via de recombinant-DNA-techniek om daarna protoplasten van *A. bisporus* te transformeren met dit DNA. Terwijl transformatie van gisten nu heel goed mogelijk is, levert transformatie van de meeste schimmels nog een aantal problemen op. Heel belangrijk is dat men moet kunnen beschikken over de juiste DNA-vectoren, kleine cirkelvormige DNA-moleculen (plasmiden) die zich onafhankelijk van de chromosomen in de schimmelcellen kunnen handhaven en vermenigvuldigen. In zo'n plasmide kan men dan het gen dat men wil overbrengen inbouwen en via de protoplasttechniek de cel insmokkelen, in de hoop dat het niet alleen vermenigvuldigd wordt maar ook tot expressie komt. Tot nu toe zijn weinig bruikbare plasmiden van schimmels bekend, behalve voor de gist *Saccharomyces cerevisiae* waarin nu dan ook met succes vreemde genen gekloneerd en tot expressie gebracht kunnen worden (Hinnen & Meyhack, 1982). Het lijkt echter zeer waarschijnlijk dat deze binnenkort beschikbaar zullen komen door gebruik te maken van fragmenten uit het kerngenoom of mitochondriaal genoom van deze schimmels (Esser et al., 1983). In de inleiding van dit hoofdstuk is reeds genoemd dat dit grote perspectieven opent voor de biotechnologische produktie van 'vreemde' eiwitten. Maar men kan natuurlijk ook proberen om de schimmels zelf in een voor ons wenselijke richting te verbeteren.

In het algemeen zal men alleen aan genetische verandering via transformatie kunnen denken indien men de genen die men wil overbrengen of de produkten waarvoor deze genen coderen goed kent. Men kan bijvoorbeeld denken aan de introductie van resistentie tegen ziekten zoals veroorzaakt door het hierboven genoemde champignonvirus, of van genen die coderen

voor bepaalde enzymen die de groeisnelheid bevorderen. Voor het complex van genen dat belangrijk is voor de vorming van paddestoelen is dat nog zeker niet het geval. De isolatie en klonering in ons laboratorium, van genen die alleen tot expressie komen tijdens de eerste stadia van de paddestoelvorming, is een eerste stap in die richting. Of transformatie voor dergelijke genen er in de toekomst ook toe zal leiden dat we cantharellen en eekhoorntjesbrood zullen telen naast champignons, is wel een aantrekkelijk maar onzeker perspectief.

Er zijn echter ook vele andere soorten smakelijke paddestoelen waarvan de teelt geen speciale moeilijkheden geeft (Chang & Hayes, 1978). Behalve optimalisatie van de teelt zal het hier wel nodig zijn om een markt te ontwikkelen, althans in Nederland want in het buitenland is de consument van oudsher meer gewend aan een aanbod van andere paddestoelen dan champignons. De teelt van oesterzwammen (*Pleurotus ostreatus* en andere *Pleurotus*-soorten) is al een beetje op gang gekomen. Maar daarnaast denkt men aan de introductie van geschubde inktzwammen (*Coprinus comatus*), paarse ridderzwammen (*Lepista nuda*) en agrocybe (*Agrocybe aegerita*), een welkome aanvulling van het assortiment op de markt. Als voorbeeld kan dienen Azië, waar geteelde paddestoelen als shii-take (*Lentinus edodes*), rijststropaddestoel (*Volvariella volvacea*) en fluweelpootje (*Flammulina velutipes*) gretig aftrek vinden.

LITERATUUR

- * Burnett, J.H., 1975. Mycogenetics. Wiley & Sons, London. 375 p.
- * Burnett, J.H., 1976. Fundamentals of mycology. Arnold, London. 673 p.
- * Burnett, J.H. & A.P.J. Trinci (Eds), 1979. Fungal walls and hyphal growth. Cambridge University Press, Cambridge. 418 p.
- * Chang, S.T. & W.A. Hayes, 1978. The biology and cultivations of edible mushrooms. Academic Press, New York. 819 p.
- Chang, P.Y.L. & J.R. Trevithick, 1974. How important is secretion of exoenzymes through apical cell walls of fungi. Arch. Microbiol. 101: 281-293.
- * Dale, J., 1983. Application of the principles of microbial genetics to biotechnology. In: A. Wiseman (Ed.): Principles of biotechnology. Surrey University Press, London. p. 56-93.

- Esser, K., U. Kück, U. Stahl & P. Tudzynski, 1983. Cloning vectors of mitochondrial origin for eukaryotes: A new concept in genetic engineering. *Current Genetics* 7: 239-243.
- * Fincham, J.R.S., P.R. Day & A. Radford, 1979. *Fungal genetics*. Blackwell Sci. Publ., Oxford. 656 p.
- Ferenczy, L., 1981. Microbial protoplast fusion. In: S.W. Glover & D.H. Hopwood (Eds): *Genetics as a tool in microbiology*. Cambridge University Press, Cambridge. p. 1-34.
- * Griffin, D.H., 1981. *Fungal physiology*. Wiley, New York. 383 p.
- Grivell, L.A., 1983. Mitochondrial DNA. *Scient. Am.* March: 60-73.
- Grove, S.N., 1978. The cytology of hyphal tip growth. In: J.E. Smith & D.R. Berry (Eds): *The filamentous fungi*, Vol. 3. Arnold, London. p. 29-50.
- Gull, K., 1981. Microtubules and microtubule proteins in fungi. In: K. Gull & S.G. Oliver (Eds): *The fungal nucleus*. Cambridge University Press, Cambridge. p. 113-132.
- Hafner, L. & C. Thielke, 1970. Kernzahl und Zellgrösse in Fruchtkörperstiel von *Coprinus radiatus* (Solt) Fr. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 83: 27-31.
- Hicks, J., J.N. Strathern & A.J.S. Klar, 1979. Transposable mating type genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* 282: 478-483.
- Hinnen, A. & B. Meyhack, 1982. Vectors for cloning in yeast. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 96: 101-117.
- Kosuge, T., 1981. Carbohydrates in plant-pathogen interactions. In: W. Tanner & F.A. Loewus (Eds): *Plant carbohydrates II*. Encyclopedia of plant physiology, New ser. Vol. 13 B, Springer Verlag, Berlin. p. 584-623.
- Loomis, W.F., 1982. The development of *Dictyostelium discoideum*. Academic Press, New York. 214 p.
- * Margulis, L., 1981. *Symbiosis in cell evolution*. Freeman & Co, San Francisco. 419 p.
- Orgel, L.E. & F.H.C. Crick, 1980. Selfish DNA: the ultimate parasite. *Nature* 284: 604-607.
- Schekman, R., 1982. The secretory pathway in yeast. *Trends in Biochem. Res.* July: 243-246.
- * Schwalb, M.N. & P.G. Miles (Eds), 1978. *Genetics and morphogenesis in the basidiomycetes*. Academic Press, New York. 168 p.

- Struhl, K., 1983. The new yeast genetics. *Nature* 305: 391-397.
- * Webster, J., 1980. Introduction to fungi. Cambridge University Press, Cambridge. 669 p.
- Wessels, J.G.H., J.J.M. Dons, J.H.C. Hoge, J. Springen, O.M.H. de Vries & A. Zantinge, 1981. Hoe in een schimmel de celdifferentiatie gereguleerd wordt. *Vakbl. Biol.* 61: 228-233.
- * Wessels, J.G.H. & J.H. Sietsma, 1981. Fungal cell walls : A survey. In: W. Tanner & F.A. Loewus (Eds): Plant-carbohydrates II. *Encyclopedia of plant physiology*, New Ser. Vol. 13 B, Springer Verlag, Berlin. p. 352-394.
- Wessels, J.G.H., J.H. Sietsma & A.S.M. Sonnenberg, 1983. Wall synthesis and assembly during hyphal morphogenesis in *Schizophyllum commune*. *J. Gen. Microbiol.* 129: 1607-1616.
- Whittaker, R.H., 1969. New concepts of kingdoms of organisms. *Science* 163: 150-159.

* Met een ster aangegeven referenties worden als eerste voor verdere studie aanbevolen.

Relaties tussen schimmels en planten

B. Schippers

Het leven van schimmels en planten is zo nauw verweven, dat zonder schimmels de ontwikkeling van vegetaties eigenlijk ondenkbaar is. Het is zelfs niet uitgesloten, dat de allereerste landplanten zijn voortgekomen uit een associatie tussen algen en zygomycet-achtige schimmels (Pirozynski & Malloch, 1975). Deze fusie van schimmel en alg zou de aanvankelijk grote problemen van uitdroging en van schaarste aan voedingstoffen op het land hebben kunnen overbruggen.

Dat reeds vroeg in de ontwikkeling van de vaatplanten nauw relaties tussen schimmels en planten bestonden, blijkt ook uit het veelvuldig voorkomen van schimmels in de 300 miljoen-jaar oude fossiele wortels van primitieve vaatplanten uit het Onder-Devoon (Nicholson, 1975). Deze schimmels vertonen een grote gelijkenis met de nu algemeen voorkomende vesiculaire arbusculaire mycorrhiza-schimmels (VAM-schimmels). Deze zijn gekenmerkt door de vorming van blaas- en boomvormige structuren in de schorscellen van plantewortels (figuur 4A). Zij hebben voor de planten waarschijnlijk een belangrijke rol gespeeld bij de aanpassing aan het leven op het land. Ook moet worden aangenomen, dat zich tegelijkertijd met de vaatplanten schimmels ontwikkeld hebben met enzymen voor de afbraak van lignine en cellulose.

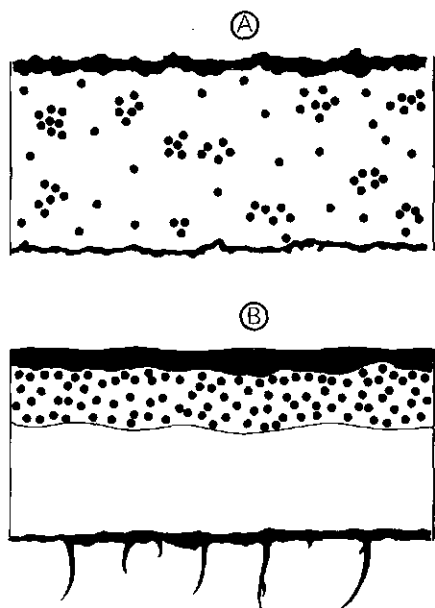
Zo heeft zich tijdens de evolutie een grote verscheidenheid aan symbiosen tussen schimmels en planten ontwikkeld, die in de meeste natuurlijke en door de mens beheerde vegetaties een sleutelfunctie vervullen. Lichenen (korstmossen), mycorrhiza's en door schimmels veroorzaakte plantenziekten zijn daar de meest sprekende voorbeelden van. Ook de epyfitisch op het boven- en ondergrondse oppervlak van planten levende schimmels verdienen in dit verband aandacht.

De betekenis van de relaties tussen schimmels en planten spreekt wel-

licht het duidelijkst uit de schade en opbrengstderving veroorzaakt door pathogene schimmels in cultuurgewassen. Van niet geringere betekenis is echter de rol die mycorrhiza-schimmels, pathogene en epifytisch levende schimmels vervullen bij de vestiging en ontwikkeling van vegetaties. Ook zou zonder afbraak van plantaardig materiaal door schimmels - en het daarmee in de kringloop blijven van minerale voedingsstoffen - de ontwikkeling van vegetaties niet mogelijk zijn.

LICHENEN

De meest hechte associaties tussen schimmels en planten vormen ongetwijfeld de lichenen of korstmossen (Henssen & Jahns, 1974; Ahmadjian & Hale, 1973). Deze zeer stabiele symbiosen tussen schimmels enerzijds en groene algen (*Chlorophyceae*) of blauwwiëren (*Cyanobacteria*) anderzijds zijn morfologisch nieuwe eenheden waarin noch de schimmel (mycobiont) noch de alg of het blauwwier (fycobiont) meer direct herkenbaar zijn. Ook fysiologisch en oecologisch gedragen zij zich als een eenheid. De in alle richtingen groeiende ongedifferentieerde blad-, korst- of struikachtige verschijningsvorm (thallus) van lichenen is voor het merendeel uit schimmelcellen opgebouwd. Deze cellen vormen in de buitenste lagen bij de meeste lichenen een hecht pseudoparenchymatisch weefsel, de cortex, met daaronder of daartussen een los vlechtwerk van hyfen, de medulla. De cellen van de fycobiont liggen ingebed in schimmelweefsel in een dunne laag direct onder de cortex, of komen verspreid voor in de medulla, maar dat is minder algemeen (figuur 1). De meeste gelicheniseerde schimmels zijn Ascomyceten, enkele behoren tot de Basidiomyceten. De schimmels zijn meestal obligaat aan de symbiose gebonden. De één- of meercellige algen en blauwwiëren in lichenen kunnen ook vrijlevend in de natuur voorkomen. De fycobiont plant zich voort door celdeling. De seksuele voortplanting van de mycobiont is identiek aan die van vrijlevende Ascomyceten, terwijl pycnidiën (flesvormige organen waarin konidiosporen worden gevormd) als asexuele voortplantingsorganen worden aangetroffen. De schimmelsporen moeten in de vrije natuur de alg ontmoeten om weer een lichenen-thallus te kunnen vormen. De voortplanting van lichenen echter geschiedt waarschijnlijk voornamelijk vegetatief door het afbreken van stukjes thallus en door veelvormige, kleine, voor lichenen



Figuur 1. Diagram van doorsneden door de thalli van lichenen (Naar Cooke, 1977)

A. Cellen van de alg verspreid in de medulla.

B. Cellen van alg in een laag direct onder de cortex.

specifieke structuren (sorediën), die aan het thallusoppervlak worden gevormd. Hierin zijn zowel fycobiont als mycobiont aanwezig. Deze structuren raken zeer makkelijk los van de thallus en dragen zo bij tot de verspreiding van het lichen.

Het mechanisme van de symbiose wordt nog niet volledig doorgrond. Zowel schimmel als fycobiont profiteren van de uitwisseling van elkaars stofwisselingsprodukten, o.a. koolhydraten, vitaminen en groeistoffen. Het gehele thallusoppervlak is in staat anorganische en organische verbindingen uit de omgeving op te nemen, bijvoorbeeld stoffen die door weefsels van bomen en planten worden uitgescheiden en met regenwater worden getransporteerd. Op deze wijze voorzien de lichenen zich o.a. van stikstof. De fixatie van atmosferisch N_2 door cyanobacteriën is voor bepaalde lichenen een belangrijke N-bron. De koolstof is voornamelijk afkomstig uit de door de fycobiont gefotosyntheriseerde koolhydraten. Het aan-

deel van saprofytisch verkregen koolhydraten in de C-voorziening van de mycobiont is onbekend. Lichenen groeien zeer langzaam, gemiddeld 0,5-4 mm per jaar.

De mycobiont beschermt de fycobiont tegen te sterke lichtinstraling, uitdroging en extreme temperaturen. De lichenen kunnen veel water absorberen en vasthouden in hun intercellulaire ruimten en door opzwellen van hun celwanden. Door al deze eigenschappen zijn zij goed bestand tegen extreme milieufactoren, zoals zeer hoge en lage temperaturen, langdurige droogte en voedselarm substraat. Zij kunnen hierdoor groeien op plaatsen waar het leven voor de meeste planten onmogelijk is. Speciale lichenen-gemeenschappen hebben zich daardoor kunnen ontwikkelen op stammen en takken van bomen en struiken, op de grond en op rotsen en muren. De inwerking van hun stofwisselingsprodukten is mede verantwoordelijk voor de eerste corrosie van rotsen en muren. In boreale en (sub)arctische gebieden vormen zij uitgestrekte tapijten en bepalen het aspect van de vegetatie. Zij zijn daar een belangrijke voedselbron voor o.a. rendier en kariboe. Vaak zijn zij pioniers in de vegetatie-successie. Dit alles duidt op hun grote oecologische betekenis. Veel lichenen zijn zeer gevoelig voor luchtverontreiniging, in het bijzonder voor SO_2 . Hierdoor heeft zich in dichtbevolkte streken en in industriegebieden een grote afname aan diversiteit van lichenen voltrokken.

Door lichenen wordt een grote verscheidenheid van alifatische en aromatische verbindingen uitgescheiden, waarvan velen specifiek zijn voor deze groep van organismen. Onder deze verbindingen bevinden zich kleurstoffen met antibiotische werking. Deze laatste zijn er mogelijk de oorzaak van dat lichenen zelden worden aangetast door pathogene bacteriën en schimmels. Verscheidene van de door lichenen uitgescheiden stoffen hebben sinds mensenheugenis een toepassing gevonden als medicijn, kleurstof van wol, reukstof in zeep en parfums en als antibioticum.

EPIFYTISCHE SCHIMMELS

Schimmels die als epifyten het oppervlak van planten koloniseren, vormen wellicht de minst hechte associatie met planten. Zij zijn echter belangrijker voor de plant dan veelal wordt verondersteld.

Fyllosfeerschimmels

Vooral gedurende de laatste 20 jaar is bekend geworden dat het bovengrondse oppervlak van planten (bladeren, stengels, bloemdelen, vruchten, zaden etc.) door een verscheidenheid van saprofytische schimmels en bacteriën wordt gekoloniseerd (Blakeman, 1981; Blakeman & Fokkema, 1982). Dit milieu wordt fyllosfeer genoemd. Rode gisten (*Sporobolomyces* spp.), witte gisten (*Cryptococcus* spp.), de gistachtige schimmel *Aureobasidium pullulans* en Hyfomyceten uit het geslacht *Cladosporium* behoren tot de belangrijkste bladbewonende schimmels. Het aantal gistcellen kan oplopen tot 100 000 cellen per cm² bladoppervlak. De fyllosfeerschimmels leven van de grote verscheidenheid van suikers, aminozuren, organische zuren, vitaminen en mineralen die door de plantedelen worden uitgescheiden. Maar meer nog misschien van de veel grotere hoeveelheid voedingsstoffen, die in de fyllosfeer vanuit de lucht sedimeert. Vooral stuifmeelkorrels, bladluizensuiker en excrementen van insecten dragen daar in belangrijke mate toe bij. Met behulp van ¹⁴C-gemerkte planten is aangetoond, dat de fyllosfeerschimmel *Sporobolomyces roseus* en *Cladosporium cladosporioides* geen stoffen aan de plant onttrekken (Fokkema, 1981). Evenmin leidt hun aanwezigheid tot versnelde veroudering van de plantedelen. Het is echter niet uitgesloten dat de fotosynthese wordt beperkt wanneer zich onder bepaalde omstandigheden de zwartschimmels (*Cladosporium* spp., *Aureobasidium pullulans*) overmatig op bladluizensuiker ontwikkelen tot de zgn. roetdauw.

De aanwezigheid van de fyllosfeerschimmel lijkt eerder een gunstig dan een nadelig effect voor de plant te hebben door met name de aantasting van de plant door perthotrofe pathogene schimmels te beperken (Fokkema, 1981). Perthotrofe schimmels groeien na hun kieming, alvorens het planteweefsel binnen te dringen, enige tijd over het bladoppervlak (ectotrofe groei) (figuur 5). De voedingsstoffen in de fyllosfeer, met name stuifmeel en bladluizensuikers, stimuleren hun kieming maar vooral hun ectotrofe groei, hetgeen leidt tot grotere aantasting o.a. bij granen door *Septoria nodorum* (kafjesbruin) en door *Cochliobolus sativus* (vlekkenziekte) (figuur 2). Indien voldoende fyllosfeerschimmels, met name gisten aanwezig zijn worden veel van de infectiestimulerende stoffen geconsumeerd waardoor de activiteit van de pathogene schimmels beperkt blijft (Fokke-



Figuur 2. Hyfengroei (a) over het bladoppervlak van rogge vanuit een gekiemd konidium (b) van *Cochliobolus sativus*. De hyfengroei wordt gestimuleerd door de uit de stuifmeelkorrel (c) diffunderende stoffen.

(Foto N.J. Fokkema, WCS, Baarn.)

ma, 1981; Fokkema et al., 1983). Bij biotrofe schimmels heeft de competitie om voedingsstoffen veel minder effect omdat deze schimmels geen ectotrofe groei vertonen alvorens het blad binnen te dringen. Ook in afwezigheid van deze extra voedingsstoffen kan concurrentie door fylosfeer schimmels de epidemiologische ontwikkeling van pathogene schimmels antagoneeren, d.w.z. beperken of vertragen. Dit blijkt onder andere als door spuiten met selectieve fungiciden, de fylosfeerschimmels in ontwikkeling geremd worden en de aantasting van de plant door de voor het fungicide ongevoelige schimmels toeneemt (Fokkema, 1981). Er zijn thans voldoende gegevens om aan te nemen dat de niet-waardplantspecifieke saprofytische fylosfeerschimmelflora remmend (antagonistisch) werkt ten opzichte van een groot aantal pathogene schimmels. Reductie van deze natuurlijke antagonistische schimmelflora door fungiciden leidt tot een verstoring van het natuurlijk evenwicht tussen saprofyten en pathogenen en tot een gro-

tere kans op aantasting van de plant. Het handhaven van dit natuurlijk antagonisme door o.a. daarvoor niet- of minder schadelijke fungiciden te ontwikkelen en toe te passen, zou tot een vermindering van het gebruik van fungiciden kunnen leiden.

Ook vruchten en zaden herbergen een epifytische mycoflora. Tijdens de bewaring kunnen pathogene elementen van de epifytische mycoflora zich daarop sterk uitbreiden en schade aan voorraden toebrengen. Een sterke ontwikkeling van mycotoxinen producerende epifyten tijdens bewaring kan voor de gezondheid van mensen en dieren gevaarlijk zijn (zie het hoofdstuk van Mossel).

Verscheidene in de fylosfeer levende schimmels, o.a. *Cladosporium* spp., kunnen na beschadiging van bladeren door wind, hagel of vraat en bij veroudering van bladeren, in het afstervend weefsel uitgroeien. De afbraak van bovengrondse plantedelen door pathogene en saprofytische schimmels, en daarmee de afbraak van organische stoffen, is in feite dus al begonnen nog voordat zij in de strooisellaag terecht zijn gekomen. Ook daarna breiden deze pioniers zich nog enigszins uit om vervolgens plaats te maken voor een successie van saprofytische bodemschimmels (zie het hoofdstuk van Mossel).

Rhizosfeerschimmels

Het worteloppervlak en zijn directe omgeving in de grond, de zgn. rhizosfeer, blijkt een veel groter aantal schimmels, bacteriën en andere micro-organismen te huisvesten dan de grond die niet onder invloed van de wortel staat (Campbell, 1977). Deze grotere microbiologische activiteit is het rechtstreekse gevolg van de grote hoeveelheid en verscheidenheid van organische verbindingen die door de levende plantewortel aan de grond wordt afgegeven. Ongeveer 7,5-15 % van de fotosyntheseprodukten wordt door de levende wortels aan de microflora ter beschikking gesteld (Woldendorp, 1980).

Bepaalde saprofytische schimmelsoorten blijken een veel grotere voorkeur voor het worteloppervlak te hebben dan voor dode planteresten in de grond. Zo kan een onderscheid gemaakt worden tussen wortelbewonende en grondbewonende schimmels. Veel op de wortel voorkomende schimmels behoren tot de genera *Mortierella*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Cylindro-*

carpon, *Microdochium*, *Gliocladium*, *Plectosphaerella* en tot de zgn. steriele donkere mycelia. Kwalitatieve verschillen in de samenstelling van de wortelmycoflora van verschillende plantengenera of -soorten zijn niet of nauwelijks waarneembaar. Wel zijn significante verschillen in de kwantitatieve samenstelling van de wortelmycoflora vastgesteld, bijvoorbeeld tussen verschillende monocultures van tarwe, erwt en koolzaad (Van Emden, 1972).

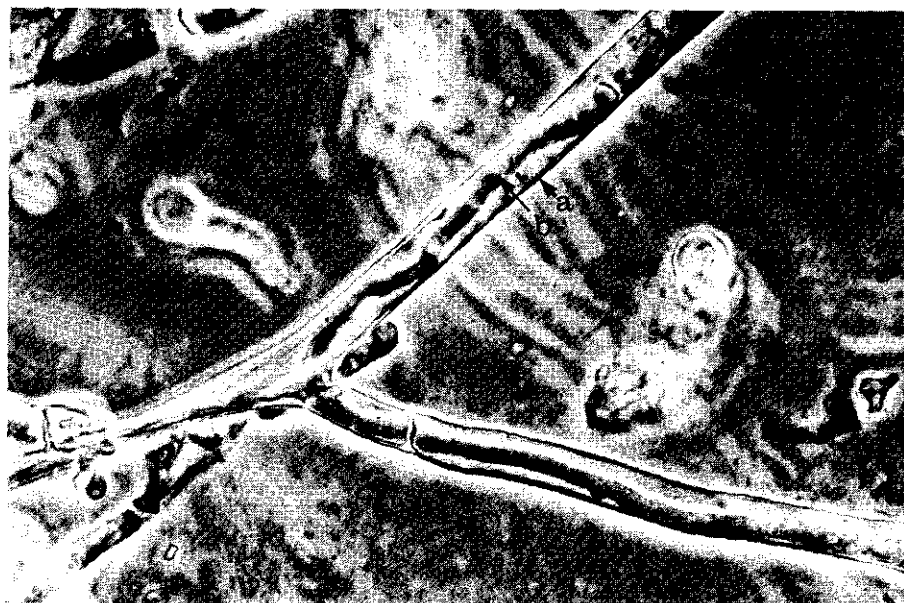
Een grote verscheidenheid van schimmels is in staat ondergrondse delen van planten aan te tasten en planteziekten te veroorzaken. Een groot aantal van deze pathogene bodemschimmels kan specifieke ruststructuren vormen of als saprofyt op dood materiaal groeien (facultatief necrotroof). Zij kunnen jarenlang zonder hun waardplant in de grond in leven blijven. Bij hernieuwd contact met de wortels van de waardplant kunnen zij door uit de wortel vrijkomende stoffen tot activiteit gestimuleerd worden en tot nieuwe wortelaantasting leiden.

Sommige wortelbewonende micro-organismen geven aanleiding tot beschadiging van slechts enkele wortelcellen. Deze aantasting leidt meestal niet tot duidelijk herkenbare ziektesymptomen bij de plant. Over deze groep van micro-organismen is nog maar weinig bekend. Het is niet uitgesloten dat zij onder bepaalde omstandigheden de groei en de ontwikkeling van de plant kunnen schaden. Uit vruchtwisselingsexperimenten op het Proefstation voor de Akkerbouw en Groenteteelt in de Volle Grond (PAGV) te Lelystad zijn namelijk aanwijzingen verkregen, dat met name bij frequent teelt van bepaalde gewassen op dezelfde grond (nauwe vruchtwisseling) dergelijke micro-organismen op de wortels sterk in aantal toenemen en de ontwikkeling van het wortelstelsel dusdanig schaden dat ze mede verantwoordelijk kunnen zijn voor opbrengstdervingen van 5-30 % (Hoekstra, 1981; Lamers, 1981; Schippers et al., 1984).

Antagonistische interacties tussen saprofytische wortelbewonende schimmels (Cook & Baker, 1983), maar ook tussen pathogene schimmels onderling, blijken de aantasting door pathogenen te kunnen beperken. Dit blijkt o.a. uit de toename van voor bepaalde fungiciden ongevoelige pathogene schimmels, wanneer door toepassing van deze fungiciden het evenwicht tussen deze organismen wordt verstoord (Reinecke et al., 1979; Van der Hoeven & Bollen, 1980). De interacties kunnen berusten op concurrentie om dezelfde niche. Zo blijken vooral de op wortels van grassen en granen

groeïende schimmels *Phialophora radiculicola* en *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* dezelfde niche te hebben als de vooral voor tarwe pathogene schimmel *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (tarwehalmdoder). Deze laatste schimmel kan daardoor onder bepaalde omstandigheden sterk in groei worden beperkt (Hornby, 1979). Antagonisme kan ook berusten op antibiose waarbij de pathogene schimmel door stofwisselingsprodukten van de saprofiet worden geremd of gedood. Ook kan een schimmel door één of meer andere schimmels worden geparasiteerd (mycoparasitisme) (Kranz, 1981; Lumsden, 1981). Een van de belangrijkste pathogene schimmels van de aardappel, *Rhizoctonia solani*, die moeilijk met fungiciden bestreden kan worden, wordt geparasiteerd door *Trichoderma*- en *Gliocladium*-soorten en door *Verticillium biguttatum* (figuur 3). De mogelijkheden om *V. biguttatum* te gebruiken om *Rh. solani* te bestrijden worden thans onderzocht (Velvis & Jager, 1983).

Alhoewel mogelijkheden voor de biologische bestrijding van pathogene



Figuur 3. Hyfen van de voor aardappel pathogene bodemschimmel *Rhizoctonia solani* (a) geparasiteerd door de schimmel *Verticillium biguttatum* (b). (Foto G. Jager, IB, Haren).

schimmels potentieel aanwezig zijn, is de toepassing daarvan in de praktijk nog zeer beperkt (Cook & Baker, 1983). De kennis over de complexe relaties tussen schimmels, ondergrondse plantedelen en andere bodemorganismen is nog fragmentarisch. Ook het inzicht in de gevolgen van de toenemende verontreiniging van de bodem met meststoffen, pesticiden en andere verbindingen voor deze relaties en daarmee voor gewasproductie en natuurlijke vegetaties, is beperkt. Een gemeenschappelijke aanpak vanuit verschillende vakgebieden van de biologie is noodzakelijk om in de moeilijk te onderzoeken bodemoecologie meer inzicht te verkrijgen. De bedreiging van het bodemoecosysteem maakt een dergelijke aanpak dringend gewenst (Parma et al., 1983).

MYCORRHIZA

De stabiele en langdurige associaties van schimmels en plantewortels die zowel de groei van de schimmel als van de plant ten goede komen, worden mycorrhiza's genoemd. Een recent overzicht over mycorrhiza's is gegeven door Harley & Smith (1983). In natuurlijke vegetaties zijn mycorrhiza's eerder regel dan uitzondering. Zij begunstigen de vestiging en de groei van vele planten, variërend van kleine gametofyten van primitieve vaatplanten tot omvangrijke bomen. Slechts enkele groepen van planten zoals de zeggen en kruisbloemigen vormen geen mycorrhiza. Op grond van morfologische, oecologische en fysiologische kenmerken worden de volgende typen onderscheiden: vesiculaire arbusculaire mycorrhiza, ectomycorrhiza, *Ericales*-mycorrhiza en *Orchidales*-mycorrhiza.

Vesiculaire arbusculaire mycorrhiza

De vesiculaire arbusculaire mycorrhiza (VAM) is de meest algemene en wereldwijd voorkomende mycorrhiza, zowel bij angiospermen, gymnospermen, pteridofyten en bryofyten (Mosse et al., 1981; Sanders et al., 1975). VAM-achtige schimmelstructuren zijn veelvuldig aangetroffen in de oudst bekende fossiele resten van landplanten (Devoon). Slechts bij enkele van de vele onderzochte plantefamilies blijkt de VAM te ontbreken, o.a. bij de *Ericales*, *Orchidales* en enkele typische ectomycorrhiza families zoals de *Pinaceae* en *Betulaceae*. VAM is niet beperkt tot wilde planten, maar

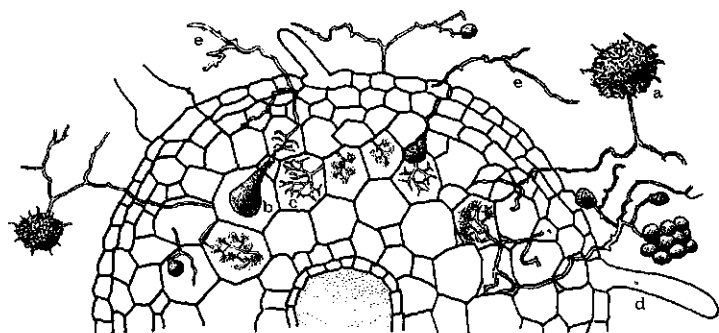
komt ook in een groot aantal cultuurgewassen voor, waaronder granen en leguminosen. De hoeveelheid VAM is tengevolge van de toepassing van kunstmest en van pesticiden echter in het algemeen kleiner in de wortels van cultuurgewassen dan in die van natuurlijke vegetaties.

In tegenstelling tot ectomycorrhiza en mycorrhiza's van *Ericales* en *Orchidales* zijn de VAM schimmels niet in reïncultuur te kweken. De VAM's worden gevormd door een kleine groep van schimmels behorend tot de familie *Endogonaceae*, (*Endogonales*, *Zygomycetes*). De verschillende soorten worden onderscheiden aan morfologische kenmerken van de rust- of overlevingsstructuren, zgn. chlamydosporen (figuur 4A). De VAM onderscheidt zich van andere mycorrhiza's door vorming van intracellulaire boomvormig vertakte structuren, zgn. 'arbusculae' en grote intra- en intercellulaire blaasvormige structuren, zgn. 'vesiculae' (figuur 4A). De infectie beperkt zich tot de epidermis en cortex. De arbusculae desintegreerren meestal snel en worden verteerd door het cytoplasma van de waardplant. Op deze wijze komen de voedingsstoffen beschikbaar voor de plant. De vesiculae zijn waarschijnlijk tijdelijke opslagplaatsen voor reservestoffen. Het uiterlijk van wortels verandert niet merkbaar door de infectie met VAM-schimmels. De arbusculae en vesiculae zijn via inter- en intracellulaire hyfen verbonden met een los, zich in de grond vertakkend mycelium. Hieraan ontwikkelen zich de grote chlamydosporen, welke bij sommige soorten tot 500 μm groot kunnen worden.

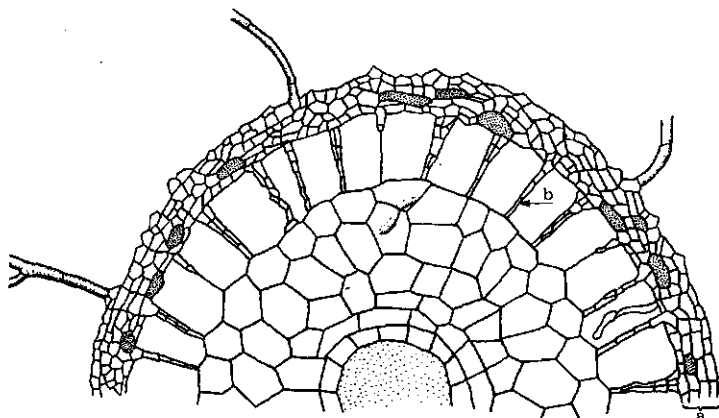
Voor een aantal cultuurgewassen is aangetoond dat VAM de groei van de waardplant bevordert, in het bijzonder op gronden die arm zijn aan makkelijk oplosbaar fosfor. Over de betekenis van VAM voor planten in natuurlijke vegetaties is minder bekend. Planten met VAM kunnen meer van het oplosbare P uit de grond opnemen dan wortels zonder VAM, vooral door het vergroten van het contactoppervlak met de grond en door het daardoor grotere bereik van opneembaar P. De aanwezigheid van VAM kan ook de opname uit grond van andere ionen, waaronder Zn en S, verbeteren.

De VAM-schimmel is niet in staat te groeien zonder contact met een waardplant. Koolhydraten van de waardplant worden tot in de uitwendige hyfen en sporen getransporteerd en daar omgezet in lipiden en niet zoals bij andere mycorrhiza's in specifieke schimmelsuikers.

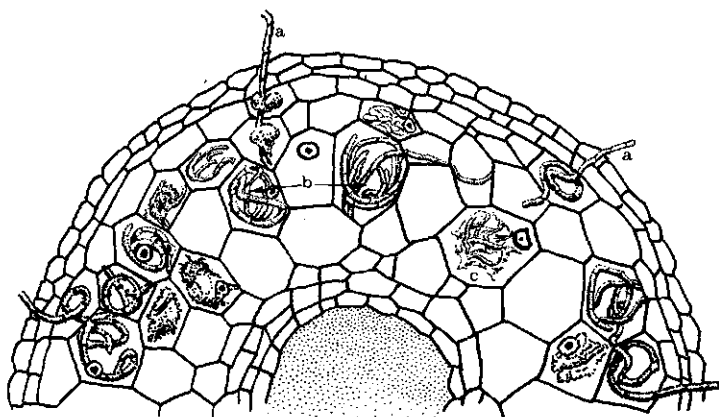
De aanwezigheid van VAM heeft duidelijk gevolgen voor andere bodem-



Ⓐ



Ⓑ



Ⓒ

micro-organismen. Zo wordt de wortelinfectie door plantparasitaire nematoden en door bepaalde pathogene schimmels door VAM geremd, die van andere schimmels gestimuleerd. VAM kan ook de vatbaarheid van planten voor virusziekten doen toenemen. In het laboratorium is bij verscheidene leguminosen aangetoond dat VAM de vorming van stikstofknolletjes kan bevorderen. Indien dit ook onder veldomstandigheden gebeurt zou dat van grote economische betekenis kunnen zijn voor met name de tropische landbouw. De schimmels die een VAM kunnen vormen verschillen in de mate waarin zij de groei van planten stimuleren. De van nature aanwezige VAM-schimmel is voor landbouwgewassen dan ook niet altijd de meest effectieve. Misschien is het in de toekomst mogelijk door gebruik te maken van effectievere stammen van VAM-schimmels gewasopbrengsten te verbeteren, of een efficiënter gebruik te maken van de in de grond aanwezige of toegevoegde fosfaten.

Ectomycorrhiza

Ectomycorrhiza's komen vooral en zeer algemeen voor bij bomen, zowel bij gymnospermen, o.a. dennen en cupressen, als bij angiospermen, o.a. wilgen, berken, beuken, iepen, roosachtigen, leguminosen, esdoorns en linden (Harley & Smith, 1983). De schimmel vormt met een dicht netwerk van hyfen een schede van 20-40 μm dikte rond zijwortels. De intercellulaire groei van de hyfen beperkt zich veelal tot de buitenste cortexcellen (figuur 4B). Het meeste schimmelmateriaal bevindt zich bij de ectomycorrhiza dus buiten de wortel. De hyfengroei tussen cortexcellen vindt voorna-

Figuur 4. Diagram van dwarsdoorsneden van mycorrhiza's. (Naar Harley, 1965).

A. Vesiculaire arbusculaire mycorrhiza: chlamydospore (a), vesiculum (b), arbusculum (c), wortelhaar (d), enkele in de schors binnendringende hyfen (e).

B. Ectomycorrhiza: schimmelschede (a), intercellulaire hyfengroei in de buitenste laag schorscellen (b).

C. Mycorrhiza van orchideeën: enkele in de schors binnendringende hyfen (a), intracellulaire hyfengroei (b) en -afbraak (c).

melijk plaats door hydrolyse van de middenlamel met pectolytische enzymen. De geïnfecteerde wortels vertakken zich veelvuldig en vormen soms koraalvormige structuren. De door de schimmel geproduceerde fytohormonen, auxine en cytokinine spelen een rol in de morfologische verandering van de wortels. De associatie komt vooral tot stand als de zaailingen enkele weken oud zijn en de door de plant gevormde koolhydraten voor de schimmel beschikbaar komen.

De meeste ectomycorrhiza-schimmels zijn steeltjeszwammen (*Basidiomycetes*) en behoren tot de vlieszwammen (*Hymenomycetes*) o.a. boleten (*Boletus*, *Suillus*, *Leccinum*), gordijnzwammen (*Cortinarius*), amanieten (*Amanita*), ridderzwammen (*Tricholoma*), melkzwammen (*Lactarius*) en tot de buikzwammen (*Gasteromycetes*), o.a. verfstuifzwam (*Pisolithus*), vezeltruffels (*Rhizopogon*), aardappelbovisten (*Scleroderma*). Ook bij de zakjeszwammen (*Ascomycetes*) o.a. truffels (*Tuberales*) en bekerzwammen (*Pezizales*), bij de onvolledige schimmels (*Fungi Imperfecti*) o.a. de peperkorrelzwam (*Cenococcum geophilum*) en bij de jukzwammen (*Zygomycetes*) o.a. korreltruffels (*Endogone*), komen enkele ectomycorrhiza-vormende schimmels voor. De afhankelijkheid van de waardplant varieert van voornamelijk vrij in de grond levend, maar wel in staat tot mycorrhizavorming bij de stinkzwam (*Phallus impudicus*), via voornamelijk ectomycorrhiza-vormend maar ook vrij in de grond levend zoals de aardappelbovist (*Scleroderma citrinum*), tot obligaats ectomycorrhiza-vormend.

De meeste ectomycorrhiza-vormende schimmels produceren enzymen waarmee complexe koolstofverbindingen zoals cellulose en lignine kunnen worden afgebroken. De meesten kunnen zelf geen B-vitaminen vormen en worden sterk geremd door de veelvuldig in strooisel voorkomende fenolische verbindingen. Door de vorming van ectomycorrhiza ontkomen zij aan de competitie met bodemmicro-organismen. Hun voedingsstoffen verkrijgen zij door het transport van opgeloste koolhydraten van de wortelcellen naar de er tussen groeiende hyfen. Deze koolhydraten worden gedeeltelijk als reservestoffen in de vorm van schimmelsuikers (mannitol, trehalose) in de hyfen van de schede opgeslagen.

De waardplant ondervindt eveneens voordelen van de symbiose. Zo worden ionen, met name P, N, K, Na en Ca, selectief geabsorbeerd en sneller opgenomen. Ook heeft de mycorrhizawortel een grotere weerstand tegen nadelige invloeden van bijvoorbeeld toxinen in de grond, van een te hoge

of te lage pH, van hoge kation- en anion-concentraties en van hoge en lage temperaturen. Tegen te extreme nadelige veranderingen in het bodemmilieu zal ook de ectomycorrhiza niet bestand zijn. Verstoring of vernietiging van deze symbiose door menselijk toedoen zal tot afsterven van vegetaties leiden. De grote sterfte van naaldbomen in Europa ten gevolge van de 'zure regen' - een gevolg van industriële luchtverontreiniging - is hier mogelijk een voorbeeld van. Ook biedt de symbiose bescherming tegen pathogene wortelschimmels. Deze bescherming is vooral goed onderzocht bij ectomycorrhiza's, gevormd door de schimmel *Pisolithus arhizus* en *Pinus*-soorten en met name tegen de pathogene bodemschimmel *Phytophthora cinnamomi*. Zij zou kunnen berusten op een door de ectomycorrhizaschede gevormde mechanische barrière, op de vorming van een antibiotische microflora rond de wortel en op competitie tussen de pathogene- en de mycorrhiza-schimmel om opgeloste koolhydraten in de cortexcellen. Ook de produktie van vluchtige mycostatische terpenen en sesquiterpenen door de mycorrhiza speelt hierbij mogelijkerwijze een rol. Deze stoffen zorgen er waarschijnlijk mede voor, dat de ectomycorrhiza-schimmel niet te ver in de cortex binnendringt.

Het wederzijds voordeel voor waardplant en schimmel maakt het mogelijk om habitats te exploiteren waar waardplant en schimmel afzonderlijk niet kunnen groeien of waar hun ontwikkeling slechts moeizaam tot stand komt. Bij herbebossing speelt het toevoegen van ectomycorrhiza-schimmels daarom thans een belangrijke rol. Zo wordt *Pisolithus arhizus* met veel succes gebruikt voor het bevorderen van het aanslaan en tot ontwikkeling komen van o.a. dennen, berken en populieren onder suboptimale omstandigheden, zoals in het geval van een arme bodem. De voor herbebossing opgekweekte zaailingen worden op de kwekerij al met de ectomycorrhiza-schimmel behandeld, hetzij met reïncultures van de schimmel, hetzij met mycorrhiza-schimmel bevattende bosaarde. In gebieden van de wereld waar bepaalde boomsoorten van nature niet voorkomen is hun aanplant alleen mogelijk als ook de symbiotische schimmel wordt geïntroduceerd. De manipulatie van efficiënte ectomycorrhiza-schimmels in boomkwekerijen is over de hele wereld een belangrijk biologisch gereedschap voor (her)bebossing geworden.

De mycorrhiza's van de *Ericales*, evenals die van de *Orchidales*, onderscheiden zich van de ectomycorrhiza's door de afwezigheid van een myceliumsschede rond de wortel en door een intracellulaire groei van hyfen, die door waardplantcytoplasma afgebroken kunnen worden (figuur 4C). De mycorrhiza's bij de *Ericales* zijn zeer variabel van structuur. De meeste schimmelpartners van de *Ericales* behoren tot de Ascomyceten, sommige tot de Basidiomyceten.

Bij de meeste genera, waartoe o.a. de dopheide, struikheide, bos- en veenbes en rhododendron behoren, bevordert de schimmel vooral de opname van fosfor en andere mineralen, mogelijk ook van stikstof. De waardplant verschaft de schimmel waarschijnlijk koolhydraten, die worden vastgelegd in de specifieke schimmelsuikers mannitol en trehalose. Dank zij deze relatie zijn de zure voedselarme gronden van het noordelijk halfrond voor een groot deel met heidevegetaties bedekt. Bij enkele plantesoorten zonder bladgroen binnen de *Ericales*, bijvoorbeeld *Monotropa*-soorten, voorziet de schimmel de plant van koolhydraten in plaats van andersom. De schimmel verkrijgt deze koolhydraten weer van een boom waarmee hij eveneens een mycorrhiza vormt.

Orchideeën groeien gedurende kortere of langere tijd van hun leven heterotroof en zijn dan geheel afhankelijk van mycorrhiza. Bij sommige beperkt deze fase zich tot de ontwikkeling van embryo- tot kiemplantstadium. De mycorrhiza-schimmel van *Orchidales* onderscheidt zich van andere mycorrhiza-schimmels door het vermogen complexe koolstofverbindingen zoals cellulose en lignine af te breken en daarmee de waardplant van koolstof te voorzien. Het zijn voornamelijk Basidiomyceten. De belangrijkste, *Rhizoctonia solani* en verwante *Thanatephorus* soorten, omvatten stammen die pathogeen zijn voor een grote reeks van hogere planten. De karakteristiek gekronkelde intracellulaire hyfen worden bij voortduren afgebroken door het waardplantcytoplasma (figuur 4C). Hierdoor komen niet alleen voedingsstoffen voor de waardplant vrij, maar wordt tevens het bij deze schimmel-plantassociaties zo subtiel evenwicht tussen symbiose en parasitisme in stand gehouden. Soms echter krijgt het parasitisme de overhand en wordt de kiemplant gedood. Anderzijds kan soms de afbrekende werking van de plant zo sterk zijn, dat de schimmel verdwijnt. Bij het

in toom houden van de schimmel speelt mogelijk ook de vorming van de fenolische schimmelremmende verbinding orchinol een rol. Deze verbinding is analoog aan afweerstoffen tegen pathogene schimmels (fytoalexinen), die in andere planten o.a. door pathogene schimmels geïnduceerd kunnen worden. Uitwisseling van voedingsstoffen tussen schimmel en plant vindt waarschijnlijk plaats via intacte celmembranen. De afhankelijkheid van de waardplant is bij mycorrhiza-schimmels van orchideeën lang zo groot niet als bij andere mycorrhiza-typen. De orchideeën-mycorrhizaschimmels zijn namelijk zeer goed in staat als saprofyten met andere micro-organismen te concurreren of als parasieten van planten te leven. De fyto-biont is echter obligaat perthotroof.

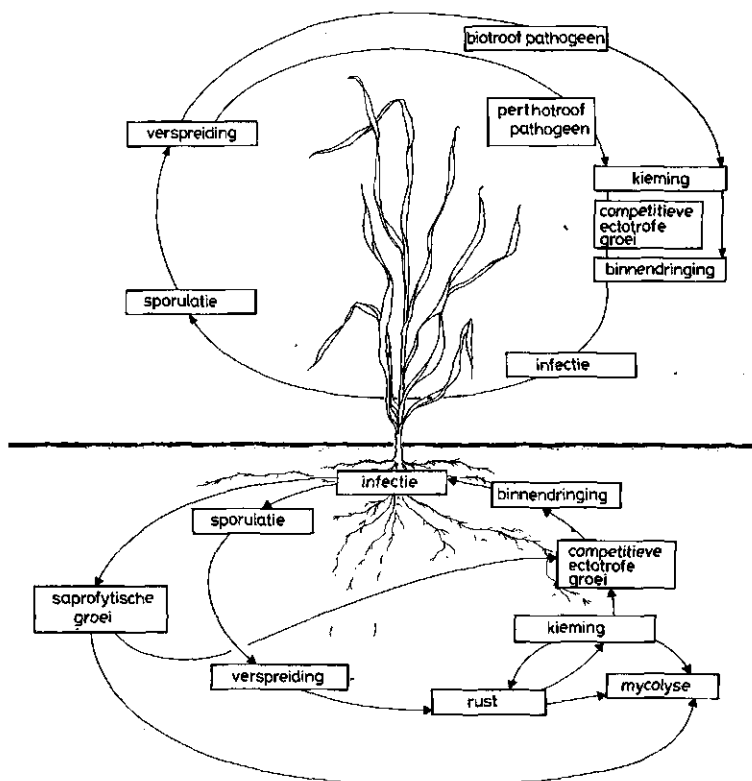
INTERACTIES TUSSEN PATHOGENE SCHIMMELS EN PLANTEN

Perthotrofe en biotrofe schimmels

Zowel ondergrondse als bovengrondse plantedelen kunnen door een grote verscheidenheid van pathogene schimmels worden aangetast. De levenscycli van deze schimmels zijn schematisch weergegeven in figuur 5. Op grond van de wijze waarop het planteweefsel wordt geïnfecteerd worden perthotrofe en biotrofe schimmels onderscheiden. In de Engelse literatuur wordt veelal van necrotrofe i.p.v. perthotrofe schimmels gesproken.

De perthotrofe schimmels doden het planteweefsel met fytotoxische stoffwisselingsprodukten en d.m.v. aantasting van celwanden met extracellulaire enzymen. Pas daarna wordt het necrotische weefsel saprofietisch gekoloniseerd. De afscheiding van extracellulaire enzymen vindt plaats aan de top van de hyfen (zie hoofdstuk van Wessels).

De perthotrofe schimmel wordt als het ware omgeven door een serie van zich geleidelijk aan uitbreidende zones van dood, stervend en tot afsterven gedoemd waardplantweefsel. De aantasting veroorzaakt veranderingen in het metabolisme van de waardplant waaronder een verhoogde ademhaling, verhoogde proteïnesynthese en verhoogde plasmalemmapermeabiliteit. Het hele proces is zeer complex en daarom is het moeilijk uit te maken welke activiteiten van het pathogeen verantwoordelijk zijn voor welke processen en waardoor zij worden geïnitieerd (Dickinson & Lucas, 1982). Veel wortel- en bladaantastingen verlopen langs dezelfde biochemische proces-



Figuur 5. Diagram van de levenscycli van pathogene schimmels van boven- grondse en ondergrondse plantedelen. Biotrofe pathogene schimmels drin- gen na kieming het planteweefsel binnen met een minimum aan weefselbe- schadiging. Perthotrofe pathogenen groeien over het planteoppervlak (ec- totrofe groei) in competitie met saprophytische micro-organismen, doden het planteweefsel en dringen het weefsel binnen.

sen. De verscheidenheid van symptomen waar zij toe leiden is echter zeer groot: bladvlekken, wortelrot, vruchtrot, verwelking, etc. De facultatief perthotrofen zijn ook goede saprophyten en vele zijn algemeen voorkomende bodemschimmels. Zij beschikken niet over een mechanisme om direct de levende waardplantcel binnen te dringen. Aantasting door deze schimmels vindt meestal plaats via beschadigd weefsel of via afgestorven plantede- len, zoals verwelkte bloemblaadjes. Dit verklaard waarschijnlijk waarom

zij in staat zijn om een grote verscheidenheid van plantesoorten ziek te maken. Voorbeelden van facultatief perthotrofe pathogene schimmels zijn grauwe schimmel (*Botrytis cinerea*) en Rhizoctonia-ziekte (*Rhizoctonia solani*). De obligaat perthotrofen hebben een gering vermogen om met andere vrijlevende saprofytische schimmels te concurreren. Zij kunnen daarom als saprofyt slechts leven op het waardplantweefsel dat zij zelf eerst gedood hebben. De op de wortels van granen parasiterende schimmel *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* is een voorbeeld van een obligaat perthotrofe schimmel evenals *Ophiostoma ulmi*, de veroorzaker van de iepenziekte.

De biotrofe schimmels, waartoe de roesten en de branden behoren, dringen gezond plantweefsel binnen met een minimum aan weefselbeschadiging. De thallus van de schimmel blijft extracellulair maar vormt binnen de wand van de plantecel, maar buiten het plasmalemma, zuigorganen, de zogenaamde haustoriën. Via de haustoriën worden veranderingen geïnduceerd in het metabolisme van de waardplantcel ten gunste van de biotroof en worden voedingsstoffen voor de schimmel opgenomen. Primitieve biotrofen uit de *Chytridiomycetes* en de *Plasmodiophoromycetes* hebben een intracellulaire thallus. De pathogene bodemschimmel *Plasmodiophora*, die de zgn. knolvoetziekte veroorzaakt, groeit binnen de wortelcel, maar buiten het plasmalemma in een zogenaamde plasmodiale omhulling. De schimmel *Olpidium* (*Chytridiomycetes*) bevindt zich met zijn thallus geheel binnen de plasmamembraan. De biotrofe interactie tussen schimmel en plant heeft o.a. een verschuiving in het waardplantmetabolisme tot gevolg van glycolyse en Krebscyclus naar cycli die voornamelijk afhankelijk zijn van de pentose-fosfaatroute. Het gevolg is een stimulatie van de synthese van lipiden, suikers en alcoholen, die door de biotroof benut worden. De toename van pentosen stimuleert de synthese van nucleïnezuuren in de biotroof. Kenmerkend voor biotrofen is hun productie van fytohormonen, o.a. cytokinine, die het transport van voedingsstoffen naar aangetast weefsel bevorderen. Dit vindt bij perthotrofen niet plaats.

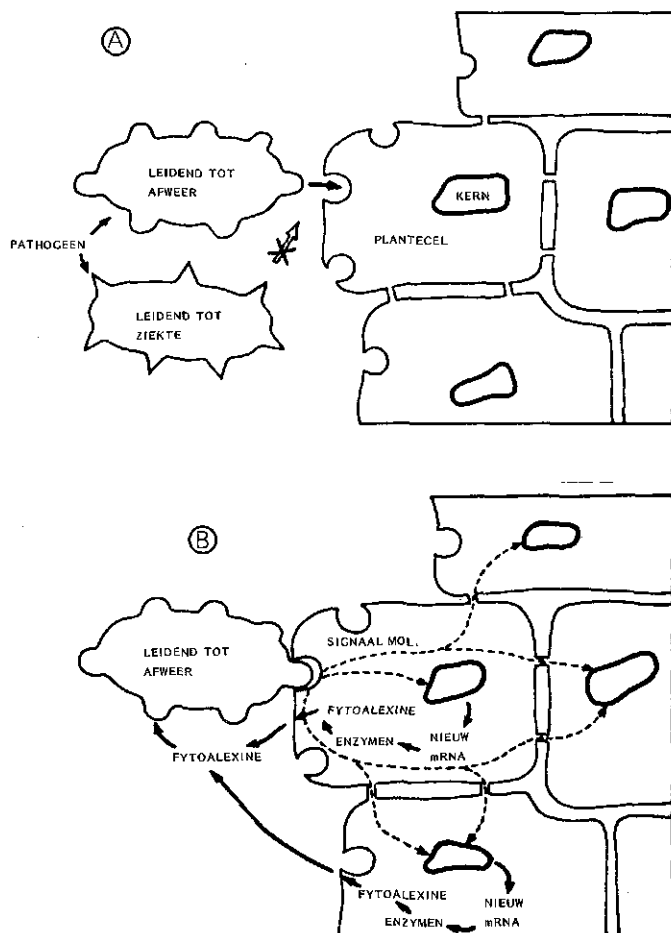
Evenals de schimmels in lichenen en de meeste mycorrhiza-vormende schimmels, zetten de biotrofe schimmels de waardplantsuikers om in schimmelskoolhydraten (o.a. arabitol, mannitol) waardoor de stroom van koolstofverbindingen naar plaatsen van schimmelactiviteit op gang wordt gehouden. Hormonen spelen ook een rol bij de morfologische veranderingen

van de plant die worden geïnduceerd door de aantasting door biotrofe en perthotrofe schimmels. Zo ontstaan, meestal door supra-optimale concentraties van auxinen en gibberellinen, weefselverdikkingen en tumoren, zoals knolvoet bij kool die veroorzaakt wordt door *Plasmodiophora brassicae*.

Mechanismen van vatbaarheid en resistentie

Er is zeer veel onderzoek verricht over de fysiologie van het parasitisme met het doel opheldering te kunnen geven over de mechanismen van vatbaarheid en resistentie van planten voor schimmelaantasting (Dickinson & Lucas, 1982). De uitgangshypothese is dat resistentie tegen schimmels regel is en vatbaarheid uitzondering; immers van de zeer veel verschillende schimmels zijn er relatief weinig in staat de levende plant binnen te dringen en het weefsel te koloniseren. Verondersteld wordt dat wanneer een binnendringend micro-organismen door de plant wordt herkend, een afweermechanisme in de plant op gang komt (resistentie). Vindt geen herkenning plaats, dan treedt geen afweermechanisme op (vatbaarheid) (Keen, 1982). Bij deze processen speelt de topcel van de hyfe of kiembuis, die met de plantecel contact maakt, een belangrijke rol (zie het hoofdstuk van Wessels). De thans gangbare hypothese over herkenning stelt dat stoffen - moleculen of delen daarvan - afkomstig uit de celwand van het pathogeen (elicatoren) reageren met (worden herkend door) bepaalde eiwitten of glycoproteïnen in het plasmalemma, of met componenten in de celwand van de plant, zogenaamde receptoren (figuur 6A). Deze reactie leidt tot het ontstaan van cytoplasmatische signaalmoleculen die de betreffende celkern van de plant en kernen van er omheen liggende cellen kunnen prikkelen tot:

- vorming van nieuwe enzymen, die leidt tot de produktie en ophoping van afweerstoffen tegen de schimmel (fytoalexinen) (figuur 6B);
- vorming van enzymen, die leidt tot de vorming van voor de schimmel ondoordringbare afzettingen van callose of lignine;
- directe of indirecte decompartmentalisatie in de cel (aantasting van interne membraansystemen van celorganellen), waardoor stoffen die eerst ruimtelijk gescheiden waren nu toxische verbindingen kunnen vormen;
- snelle vorming van blaasvormige structuren (thyllen) in xyleemvaten,



Figuur 6.- Schema van de elicitor-receptor-hypothese voor resistentie van planten tegen aantasting door pathogene micro-organismen.

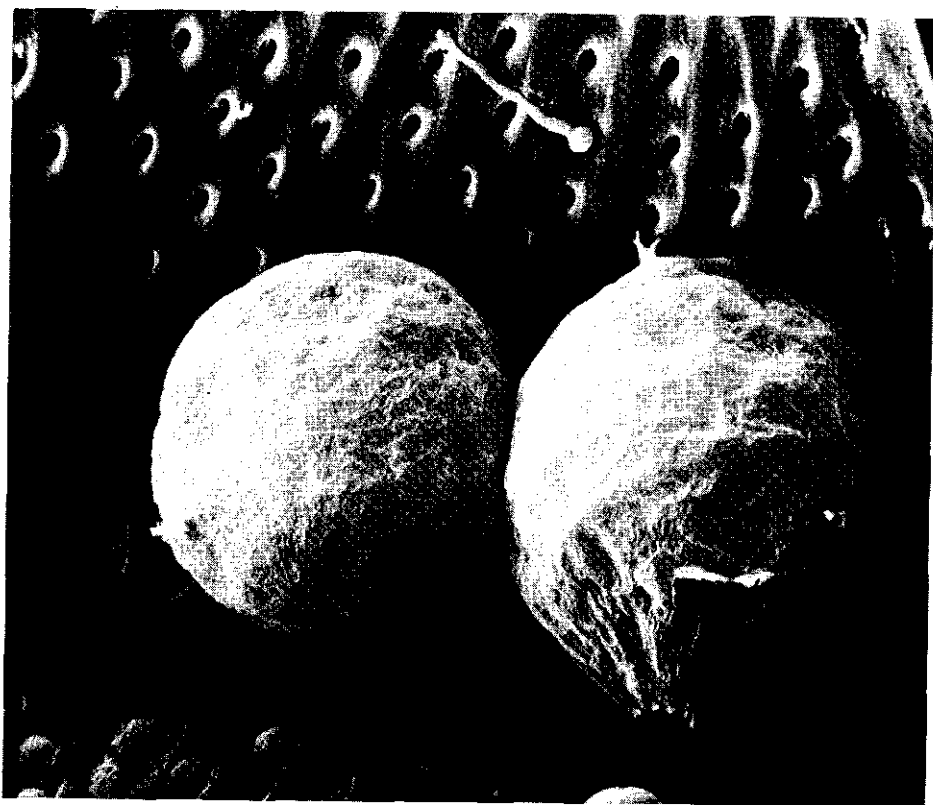
A. Indien het micro-organisme geen elicatoren heeft die door receptoren van de plant worden 'herkend', treedt geen afweerreactie op en wordt de plant aangetast.

B. Indien elicatoren van het micro-organisme worden 'herkend' door receptoren van de plant wordt de kern van de cel en van naburige cellen aangezet tot vorming van boodschapper-RNA (mRNA) en van enzymen die fytoalexinen doen ontstaan (Keen, 1982).

waardoor de schimmel zich niet verder in de vaten kan uitbreiden. Dit mechanisme speelt een rol bij resistentie tegen verwelkingziekten, o.a. de iepenziekte (Elgersma, 1973; figuur 7).

- anderszins veranderen van de fysiologie van de waardplant waardoor een hypersensitieve reactie optreedt, die leidt tot het afsterven van waardplantcellen in de onmiddellijke nabijheid van het pathogeen.

Veelal treedt de laatstgenoemde reactie het eerst op, gevolgd door een of enkele van de eerder genoemde verschijnselen (o.a. fytoalexinen-accumulatie, callosevorming, lignificatie) in het omliggende planteweefsel. Deze verschijnselen, die veelal als afweermechanismen worden gezien, lijken eer-



Figuur 7. Kiemende konidiën van de iepenziekte veroorzakende schimmel *Ophiostoma ulmi* en thyllen in een houtvat van de iep. (Rasterelektronen-microscopische opname door Miller & Elgersma, 1976).

der een secundaire, maar wel belangrijke reactie, die pas ná de vorming en herkenning van signaalmoleculen optreedt. De veel genoemde fytoalexine-elicitors kunnen gezien worden als dergelijke signaalmoleculen (figuur 6B). Op basis van de huidige informatie is specificiteit nog niet te verklaren. In genetische termen zou men het als volgt kunnen voorstellen: produkten van een dominant avirulentie-gen van de schimmel worden herkend door produkten van het dominante resistentie-gen van de plant. De reactie die bij deze 'herkenning' optreedt leidt tot resistentie. Indien de resistentie berust op de interactie van de produkten van één gen van de schimmel en één gen van de waardplant, spreekt men van monogene resistentie. Deze kan door mutaties bij de pathogene schimmel al vaak snel worden doorbroken. Bij polygene resistentie, waarbij meerdere genen betrokken zijn, is de kans daarop veel geringer (instabiele versus stabiele resistentie)(zie het hoofdstuk van Verhoeff).

Het is zeker niet waarschijnlijk dat de betekenis van schimmels als veroorzakers van plantenziekten zal afnemen. Er zijn talloze voorbeelden van pathogene schimmels die door hun genetische flexibiliteit de resistentie van hun waardplant overwinnen of resistent worden tegen moderne fungiciden. Ook zijn de gevolgen van een toenemend gebruik van fungiciden, met name voor biologische processen in de bodem, nog moeilijk te voorspellen. Het combineren van cultuurmaatregelen, die de kans op epidemiologische ontwikkeling van ziekten beperken, met lage(re) dosering van fungiciden en manipulatie van antagonisten, zgn. geïntegreerde gewasbescherming, biedt goede mogelijkheden de nadelige effecten van fungiciden te voorkomen of te beperken (Cook & Baker, 1983).

PATHOGENE SCHIMMELS EN PLANTENGEMEENSCHAPPEN

Genetische diversiteit en stabiliteit van plantenpopulaties

Door biologen is nog betrekkelijk weinig aandacht besteed aan de rol die pathogene schimmels zouden kunnen spelen bij ontstaan en behoud van evenwicht tussen elkaar beconcurrerende populaties binnen een plantengemeenschap.

De invloed van pathogenen op plantenpopulaties is theoretisch voor te stellen door uit te gaan van een uniforme waardplantenpopulatie met één en-

kel gen voor vatbaarheid, dat voor het eerst geconfronteerd wordt met een uniforme populatie van een pathogene schimmel met het complementaire virulentie gen. De populatie van deze ene plantsoort is dus uniform vatbaar. De kans op selectie van een mutatie die een resistentie-alleel oplevert, dat de waardplant aan het pathogeen doet ontsnappen, wordt in zo'n situatie begunstigd (Burdon, 1982). Door zijn grotere 'fitness' zal de resistente mutant in aantal toenemen. Dit leidt tot een selectiedruk op het pathogeen, totdat mutatie een nieuw ras van het pathogeen produceert met een nieuw virulentiegen. Dit ras zal weer het optreden van een nieuw resistentie alleel in de waardplantpopulatie bevorderen. Zo zullen deze interacties tenslotte kunnen leiden tot waardplant- en pathogeen-populaties van grote genetische diversiteit en grotere stabiliteit. Dat dit proces zich zo ook werkelijk in de natuur voltrekt is niet bewezen, echter wel waarschijnlijk (Parlevliet, 1983). De gebieden waar een grote verscheidenheid van resistentiegenen te vinden is blijken namelijk, voor een grote verscheidenheid van ziekten, de primaire en secundaire centra van diversiteit van plantesoorten te zijn: Ethiopië voor gerst, Turkije voor tarwe, de Himalaya voor de iep en de Andes voor de aardappel (Harlan, 1976). Ook is gebleken dat een grote afstand van de waardplantpopulatie tot het centrum van zijn oorsprong, door het ontbreken van selectiedruk, leidt tot verlies van resistentiegenen of tot een falen om resistentiegenen door mutatie te accumuleren. Zo hebben zich in Europa en Noord-Amerika in de loop der millenia populaties van de iep ontwikkeld, geïsoleerd van het Aziatisch thuisland van de voorouders en van de daar heersende selectiedruk om resistentie te accumuleren tegen de pathogene schimmel *Ophiostoma ulmi*. Toen *O. ulmi* vlak voor de eerste wereldoorlog per ongeluk in Europa terecht kwam, was de iepenpopulatie dan ook zeer vatbaar en werd vervolgens het iepenbestand drastisch gereduceerd. Vooral sinds het begin van de zeventiger jaren, toen een veel virulentere stam van deze schimmel vrij plotseling verscheen, is de iep in snel tempo uit het landschap aan het verdwijnen. Met name in Engeland heeft de iepenziekte een zeer ingrijpende invloed op het landschap (figuur 8). Ook in grote delen van Noord-Amerika is de iep aan deze virulente stam van *O. ulmi* ten offer gevallen. De resistente iepen, die met veel inspanning werden verkregen door inkruisen van resistentiegenen afkomstig uit het Aziatisch gebied van herkomst, blijken niet tegen deze virulente stam bestand te zijn (Hey-



Figuur 8. Door de iepenziekte aangetaste iep op de Zwartten Dijk bij Kampen. (Foto R.J. Scheffer, WCS, Baarn).

broek et al., 1981).

Het soort resistentie dat veelal door plantenveredelaars gebruikt wordt voor het ontwikkelen van resistente variëteiten van cultuurgewassen, is gebaseerd op monogene resistentie. Deze resistentie is gekenmerkt door de onmogelijkheid voor de pathogene schimmel om zich op de waardplant te vermeerderen. Bij plant-pathogeen interacties in natuurlijke vegetaties bestaat echter een grote verscheidenheid van resistentietypen, die waarschijnlijk een belangrijke oorzaak is van een langdurige stabiliteit (Nelson, 1978). Hierbij kunnen actieve en passieve resistentiefactoren worden onderscheiden. Actieve resistentiefactoren reduceren de snelheid van kolonisatie en vermenigvuldiging van de pathogene schimmel en daarmee de snelheid waarmee de ziekte zich uitbreidt. De resistentie kan daarbij variëren van zeer resistent, gekenmerkt door het ontstaan van necrotische vlekjes waarop geen sporulatie plaatsvindt, tot weinig resistent met grotere lesies met enige sporulatie, die al snel na de infectie begint. Een con-

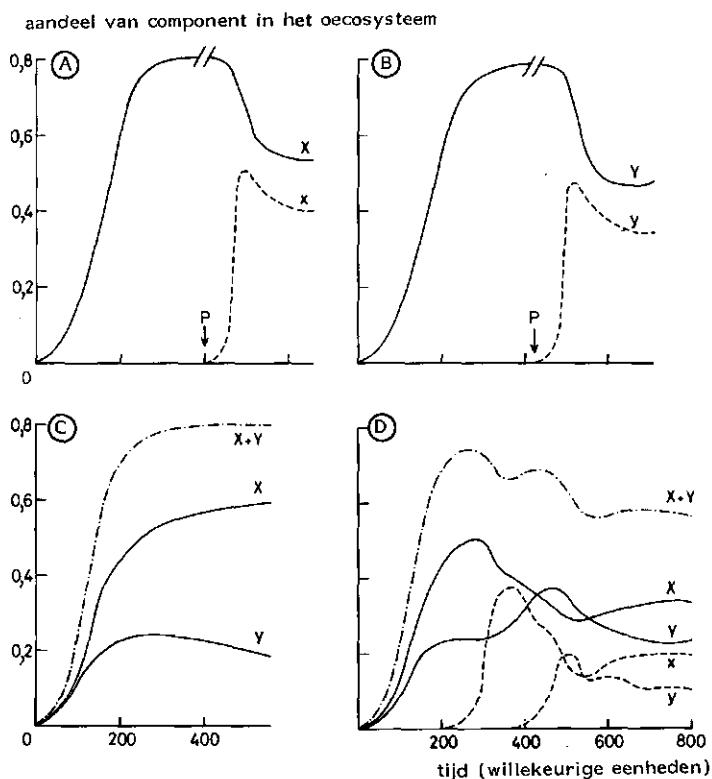
tinu spectrum in gradaties van actieve resistentie is bij verschillende waardplant-pathogeenrelaties aangetoond (Burdon, 1980). Ook zijn er ziekte-tolerante genotypen waarop het pathogeen goed sporuleert, maar waarbij de plant in groei en reproductie niet significant wordt geschaad. Een passieve resistentie doet zich o.a. voor als een plant zaad produceert vóórdat het pathogeen verschijnt en zo aan het pathogeen ontsnapt. Actieve resistentie, passieve resistentie en tolerantie zijn componenten van afweer tegen ziekten, die aan de stabiliteit van natuurlijke plantpopulaties bijdragen.

Soortsdiversiteit in plantengemeenschappen

Een rol van pathogene micro-organismen bij het bepalen van de soortsdiversiteit van plantengemeenschappen is reeds vele malen gesuggereerd (Darwin, 1859; Burdon 1982). De concurrerende interacties tussen soorten in plantengemeenschappen zijn meestal zeer complex, leidend tot de dominantie van de soort met de sterkste concurrentiepositie, schimmelsekten nog buiten beschouwing gelaten. Aan de hand van een eenvoudig model demonstrieren Chilvers & Brittain (1972), hoe de concurrentie tussen twee plantesoorten beïnvloed wordt door hun respectievelijke waardplant-specifieke pathogenen (figuur 9). Hun model leidt tot de conclusie dat het complex van interacties tussen twee plantesoorten en hun pathogenen resulteert in het ontstaan van een groter aantal gedeeltelijk beschikbare niches. De pathogenen beletten namelijk hun waardplant vol profijt te trekken van de verzwakte concurrentiepositie van de concurrent. Dit leidt volgens de auteurs tot kolonisatie van het oecosysteem door meer deze soorten met hun respectievelijke pathogenen, waardoor de stabiliteit toeneemt.

De vraag is of ziekten ook een belangrijke rol spelen in de meer complexe natuurlijke plantengemeenschappen. Ervaringen met het bestrijden van uitheemse onkruiden met pathogene schimmels van de plant, afkomstig uit zijn gebied van herkomst, wijst wel in die richting. De invoer van de roest *Puccinia chondrillina* ter bestrijding van 'skeleton weed' (*Chondrilla juncea*) in Australië bijvoorbeeld, leidde tot de afname van de voor het pathogeen vatbare variëteit van het onkruid, maar tevens tot een snelle uitbreiding van de twee voor het pathogeen resistente variëteiten,

die aanvankelijk tot een klein gebied beperkt waren. Dit demonstreert, dat verlies van concurrentiekracht van een plant, veroorzaakt door een pathogene schimmel, inderdaad kan leiden tot verandering in floristische samenstelling.



Figuur 9. Een eenvoudig model van de invloed van twee waardplant-specifieke pathogenen op de competitie tussen de twee respectievelijke waardplantsoorten. X en Y is het aandeel van de twee waardplantsoorten in het 'oecosysteem'; x en y het aandeel van hun respectievelijke waardplant-specifieke pathogenen. Elke component heeft in elk systeem waarin hij aanwezig is dezelfde aanvangswaarden en snelheidsconstante gekregen.

- (a) waardplant X alleen, pathogeen x ingevoerd bij p;
- (b) waardplant Y alleen, pathogeen y ingevoerd bij p;
- (c) waardplant X en Y tesamen in afwezigheid van pathogenen;
- (d) waardplant X en Y met pathogenen x en y (Chilvers & Brittain, 1972).

Of omgekeerd de diversiteit van natuurlijke gemeenschappen - althans ten dele - voorkomt dat ziekteëpidemieën algemeen worden is eveneens de vraag. Experimenteel bewezen is dit niet, maar er zijn wel aanwijzingen voor. Zo komen ziekteëpidemieën veelvuldiger voor in agrarische systemen dan in beheerde seminatuurlijke systemen en daarin weer frequenter dan in ongestoorde systemen (Burdon & Shattock, 1980). Zulke epidemieën treden vooral op als genetisch uniforme variëteiten over grote oppervlakten worden verbouwd. Ook is uit veelvuldig onderzoek met mengsels van isogene lijnen van één soort, die slechts verschillen in resistentiegenen, gebleken, dat de kans op de ontwikkeling van epidemieën in dergelijke gemengde cultures geringer en de stabiliteit in opbrengst groter is.

Dat menselijk ingrijpen in natuurlijke vegetaties tot catastrofale verstoring van de stabiele relaties tussen pathogene schimmels en plantengemeenschappen kan leiden, blijkt thans duidelijk uit hetgeen in de uitgestrekte eucalyptusvegetaties van Australië gaande is. Een verandering van bosbeheer met als gevolg een verandering in soortensamenstelling, heeft daar in belangrijke mate bijgedragen aan een epidemische ontwikkeling van de pathogene bodemschimmel *Phytophthora cinnamoni*, waardoor over uitgestrekte gebieden eucalyptusbomen en andere voor deze schimmel vatbare bomen en struiken, afsterven. Om de toegankelijkheid voor de bosbouw te vergroten, wordt de strooisellaag en onderbegroeiing in deze bossen namelijk eenmaal in de 5 tot 7 jaar in brand gestoken. De vorming van een dikke strooisellaag wordt daardoor voorkomen en, tevens de ontwikkeling van felle natuurlijke bosbranden die minder frequent door ontweer ontstaan. De oorspronkelijke vnl. uit leguminosen (*Acacia* spp.) en voor *P. cinnamoni* resistente onderbegroeiing is daardoor gewijzigd in een vnl. door *Proteaceae* gedomineerde vegetatie, die vatbaar is voor *P. cinnamoni*. Ook veranderingen van bodemmicroklimaat o.a. door de geringere dikte van de strooisellaag, heeft een verandering van samenstelling en activiteit van de bodemmicroflora en -fauna tot gevolg. De ontwikkeling van *P. cinnamoni* heeft daardoor meer kansen gekregen (Malajczuk, 1979).

Ons inzicht in de oecologische betekenis van pathogene schimmels voor vegetaties is nog gering en voornamelijk gebaseerd op veronderstellingen. Dat pathogene schimmels een rol spelen in de regulatie van ontwikkeling en handhaving van plantengemeenschappen is echter zeer aannemelijk.

DANKWOORD

De schrijver is dr. F.J.A. Daniels, dr.ir. T. Limonard en mw.drs. M.P. de Nooy zeer erkentelijk voor hun suggesties en kritische beoordeling van gedeelten van de tekst.

LITERATUUR

- * Ahmadjian, V. & M.E. Hale (Eds), 1973. The lichens. Academic Press, New York & London. 697 p.
- Blakeman, J.P. (Ed.), 1981. Microbial oecology of the phylloplane. Academic Press, London & New York. 502 p.
- Blakeman, J.P. & N.J. Fokkema, 1982. Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. Ann. Rev. Phytopath. 20: 167-192.
- * Burdon, J.J., 1980. Variations in disease resistance within a population of *Trifolium repens*. J. Ecol. 68: 737-744.
- Burdon, J.J., 1982. The effect of fungal pathogens on plant communities. In: E.I. Newman (Ed.): The plant community as a working mechanism. Blackwell Scient. Publ., Oxford. p. 99-112.
- Burdon, J.J. & R.C. Shattock, 1980. Diseases in plant communities. Appl. Biol. 5: 145-219.
- * Campbell, R., 1977. Microbial ecology. Basic microbiology 5. Blackwell Scient. Publ., Oxford, etc. 148 p.
- Chilvers, G.A. & E.G. Brittain, 1972. Plant competition mediated by host-specific parasites - a simple model. Aust. J. biol. Sci. 25: 749-756.
- Cook, R.J. & K.F. Baker, 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS Books, St. Paul. 550 p.
- * Cooke, R.C., 1977. Fungi, man and his environment. Longman, London & New York. 144 p.
- Darwin, C., 1859. The origin of species by means of natural selection or the preservation of favoured races in the struggle for live. Murray, London.
- * Dickinson, C.H. & J.A. Lucas, 1982. Plant pathology and plant pathogens. Basic microbiology volume 6. Blackwell Scient. Publ., Oxford, London, Edingburgh, Melbourne. 161 p.

- Elgersma, D.M., 1973. Tylose formation in elms after inoculation with *Ceratocystis ulmi*, a possible resistance mechanism. Neth. J. Plant Path. 79: 218-220.
- Emden, J.H. van, 1972. Soil mycoflora in relation to some crop-plants. EPPO Bull. 7: 17-26.
- Fokkema, N.J., 1981. Fungal leaf saprophytes, beneficial or detrimental? In: J.P. Blakeman (Ed.): Microbial ecology of the phylloplane. Academic Press, London & New York. 433-454 p.
- Fokkema, N.J., I. Riphagen, R.J. Poot & C. de Jong, 1983. Aphid honeydew, a potential stimulant of *Cochliobolus sativus* and *Septoria nodorum* on wheat leaves and the competitive role of the saprophytic mycoflora. Trans. Br. mycol. Soc. 81: 355-363.
- * Harlan, J.R., 1976. Diseases as a factor in plant evolution. Ann. Rev. Phytopath. 14: 31-51.
- Harley, J.L., 1965. Mycorrhiza. In: W.C. Snyder & K.F. Baker (Eds): Ecology of soil-borne plant pathogens. Univ. of California Press, Berkeley, Los Angeles. 218-229 p.
- * Harley, J.L. & S.E. Smith (Eds), 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London & New York. 483 p.
- Henssen, A. & H.M. Jahns (Eds), 1974. Lichenes, eine Einführung in die Flechtenkunde. G. Thieme Verlag, Stuttgart. 467 p.
- * Heybroek, H.M., D.M. Elgersma & R.J. Scheffer, 1981. De iepenziekte: een ecologisch ongeluk. Natuur & Techniek 49: 604-623.
- Hoekstra, O., 1981. 15 jaar 'De Schreef'. PAGV publikatie nr. 11, 114 p.
- Hoeven, E.P. van der & G.J. Bollen, 1980. Effect of benomyl on soil fungi associated with rye. I. Effect on the incidence of sharp eyespot caused by *Rhizoctonia cerealis*. Neth. J. Plant Path. 86: 163-180.
- Hornby, D., 1979. Take-all decline: a theorist's paradise. In: B. Schippers & W. Gams (Eds): Soil-borne plant pathogens. Academic Press, London, New York & San Francisco. 133-156 p.
- Keen, N.T., 1982. Specific recognition in gene for gene host-parasite systems. In: D.S. Ingram & P.H. Williams (Eds): Advances in plant pathology, Vol. I, Academic Press, New York. 35-82 p.
- Kranz, J., 1981. Hyperparasitism of biotrophic fungi. In: J.P. Blakeman (Ed.): Microbial ecology of the phylloplane. Academic Press, London & New York. 327-353 p.

- Lamers, J.G., 1981. Continueelt en nauwe rotaties van aardappelen en suikerbieten. PAGV publikatie nr. 12. 65 p.
- Lumsden, R.D., 1981. Ecology of parasitism. In: D.T. Wicklow & George C. Carroll (Eds): The fungal community. Marcell Dekker Inc., New York & Basel. 295-318 p.
- Malajczuk, N., 1979. Biological suppression of *Phytophthora cinnamomi* in Eucalyptus and Avocado's in Australia. In: B. Schippers & W. Gams (Eds): Soil-borne plant pathogens. Academic Press, London, New York & San Francisco.
- Miller, H.J. & D.M. Elgersma, 1976. The growth of aggressive and non-aggressive strains of *Ophiostoma ulmi* in susceptible and resistant elms, a scanning electron microscopical study. Neth. J. Plant Path. 82: 51-65.
- * Mosse, B., D.P. Stribley & F. Letacon, 1981. Ecology of mycorrhizae and mycorrhizal fungi. In: M. Alexander (Ed.): Advances in microbial ecology. Plenum Press, New York & London. 137-210 p.
- Nelson, R.R., 1978. Genetics of horizontal resistance to plant diseases. Ann. Rev. Phytopath. 16: 359-378.
- Nicholson, T.H., 1975. Evolution of vesicular-arbuscular mycorrhizas. In: F.E. Sanders, B. Mosse & P.B. Tinker (Eds): Endomycorrhizas. Academic Press, London, New York & San Francisco. 25-34 p.
- Parlevliet, J.E., 1983. Co-evolutie en de implicaties ervan voor de plantenveredeling. In: H.F. Linskens e.a.: Plantenveredeling en genemanipulatie. Biologische Raad Reeks, Pudoc, Wageningen. p. 62-75.
- Parma e.a., S., 1983. Oecologie van meren en plassen. Biologische Raad reeks, Pudoc, Wageningen. 157 p.
- Pirozynski, K.A. & D.W. Malloch, 1975. The origin of land plants: a matter of mycotrophism. Biosystems 6: 153-164.
- Reinecke, P., J. Duven & H. Fehrman, 1979. Antagonism between fungi of the root rot complex of cereals. In: B. Schippers & W. Gams (Eds): Soil-born plant pathogens. Academic Press, London, New York & San Francisco. 327-336 p.
- Sanders, F.E., B. Mosse & P.B. Tinker (Eds), 1975. Endomycorrhizas. Academic Press, London, New York & San Francisco. 626 p.
- Schippers, B., F.P. Geels, O. Hoekstra, J.J. Lamers, C.A.A.A. Maenhout & K. Scholte, 1984. Yield depressions in narrow rotations caused by unknown microbial factors and their suppression by selected pseu-

- domonads. In: C.A. Parker, K.J. Moore, P.T.W. Wong, A.D. Rovira & J.F. Kollmorgen (Eds): Ecology and management of soil-borne plant pathogens. Am. Phytopath. Soc., St. Paul, Minn. in press.
- Velvis, H. & G. Jager, 1983. Biological control of *Rhizoctonia solani* on potatoes by antagonists. I. Preliminary experiments with a sclerotium inhabiting *Verticillium biguttatum*. Neth. J. Plant Path. 89: 113-123.
- * Woldendorp, J.W., 1980. Micro-organismen in de bodem en hun relaties tot planten. In: H. Veldkamp (Ed.): Oecologie van micro-organismen. Biologische Raad Reeks, Pudoc, Wageningen. 107-138 p.

* Met een ster aangegeven referenties worden als eerste voor verdere studie aanbevolen.

Schimmels in menselijk perspectief

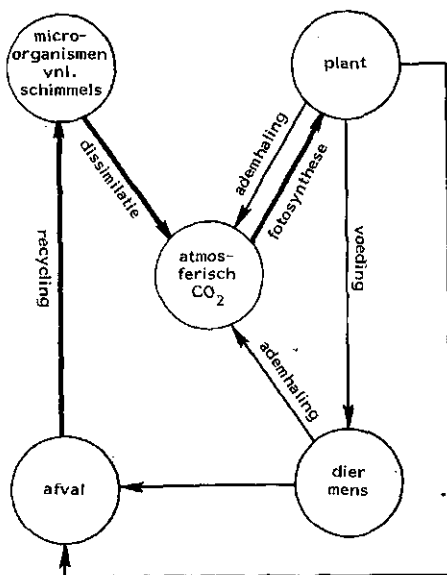
D.A.A. Mossel

INLEIDING

Schimmels kunnen voor de mens zowel gunstig als ongunstig functioneren. Een voorbeeld van de gunstige werking van schimmels geven Gray et al. (1971). Zij schatten dat een bevolking als die van het Verenigd Koninkrijk per jaar circa 20 miljoen ton huishoudelijk afval, een even grote hoeveelheid slib als bijproduct van de afvalwaterzuivering en rond 100 miljoen ton agrarisch afval produceert. Indien deze afvallen niet gemineraliseerd worden door de microbiële populatie van de bodem, waaronder schimmels, dan zou, ten gevolge van het CO_2 -verbruik bij de fotosynthetische koolzuur-assimilatie door groene planten, binnen 20 jaar vrijwel geen CO_2 meer in de atmosfeer beschikbaar zijn (figuur 1). Daardoor zou de plantegroei tot stilstand komen en daarmee het leven op aarde, tenzij men alle afvallen van de samenleving in ovens zou weten te verbranden onder gelijktijdige terugwinning van stikstofverbindingen. Het hergebruik van dit afval door de microbiële bodemassociatie bespaart de mens dus veel moeite en kosten.

Schimmels in het bijzonder doen nog meer voor het mensdom: zij vormen een smakelijk en gezond voedsel in de vorm van eetbare champignons, cantharellen en dergelijke, bewerken de rijping van vrij neutrale kaassoorten tot lekkernijen en synthetiseren antibiotica of grondstoffen daarvoor.

De ongunstige resultaten van het functioneren van schimmels maken deze organismen zeer gehaat, zoals in het verleden bij *Phytophthora infestans*. De toch al voortdurend honger lijdende Ieren wisten dat de dood voor de deur stond, wanneer hun magere aardappeloogst door *P. infestans* was verteerd. Minder direct levensbedreigend, maar toch vaak zeer ernstig was de beschimmeling in Nederland van meel, granen, peulvruchten



Figuur 1. De kringloop van koolstof ter illustratie van de rol van diverse groepen micro-organismen in de bodem bij de recycling. Sterk vereenvoudigd ter verduidelijking van de hoofdlijnen.

en dergelijke en in mindere mate ook van tabak, leer en zelfs boeken in de periode 1943-1945 in de Tweede Wereldoorlog. Deze beschimmeling trad op toen opslagplaatsen en woonhuizen door gebrek aan brandstof niet meer droog konden worden gehouden. Filosofisch gezien valt dit de schimmels niet 'kwalijk te nemen': zij vervullen, wanneer de uitwendige omstandigheden dit veroorloven, blindelings hun recyclage-taak! Verwenst worden uiteraard ook de pathogene schimmels die de long, de huid tussen de tenen, de mond en de vrouwelijke geslachtsorganen op pijnlijke en onaangename wijze kunnen koloniseren (Jawetz et al., 1982). Hetzelfde geldt voor de schimmelsporen in het huisstof die vele mensen gevoelig kunnen maken voor uiterst storende allergieën (zie het hoofdstuk van Klokke).

De vrees voor schimmels is, zoals iedere vrees, ten dele gebaseerd op een reëel risico. Over bij voorbeeld het moederkoorn (*Claviceps purpurea*) circuleren de meest lugubere verhalen. Deze schimmel is de oorzaak van de ziekte ergotisme. Eén van de symptomen van deze ziekte is gangreen,

dat gepaard gaat met ernstige neurologische en psychologische storingen. Dit maakt deze ziekte levensbedreigend en daardoor bijzonder angstwekkend (Van Rensburg & Altenkirk, 1974). Nadat eenmaal de aard en verschijningsvorm van het moederkoorn waren vastgesteld, kon het ergotisme volledig worden voorkómen. Slimme farmacologen trokken zelfs lering uit het lugubere verleden en isoleerden nuttige alkaloiden uit het moederkoorn. Deze spelen in de therapie nog steeds een belangrijke rol.

Ook omtrent de toxiciteit van paddestoelen bestaan de meest wilde verhalen. Wie echter gekweekte champignons eet of zijn bospaddestoelen van bonafide leveranciers betreft, loopt, zoals de statistieken tonen, geen enkel risico.

Mycotoxinen zijn zeer toxische stofwisselingsprodukten van schimmels die vooral sedert 1950 bekend zijn geworden. In de betreffende paragraaf wordt nader toegelicht dat het gevaar voor de gezondheid van de mens wel degelijk reëel is, doch anderzijds vrijwel volkomen beheersbaar.

RECYCLING

Het microbieel gebeuren in de bodem en bij de compostering is in oecologische zin bijzonder belangwekkend. Het heeft, nadat het in grote lijnen voorzien was, model gestaan voor de algemene microbiële oecologie en de basis gevormd voor de moderne inzichten in de biologische processen die optreden bij de waterzuivering, het bederf van levensmiddelen en de productie van levensmiddelen door microbiële rijping.

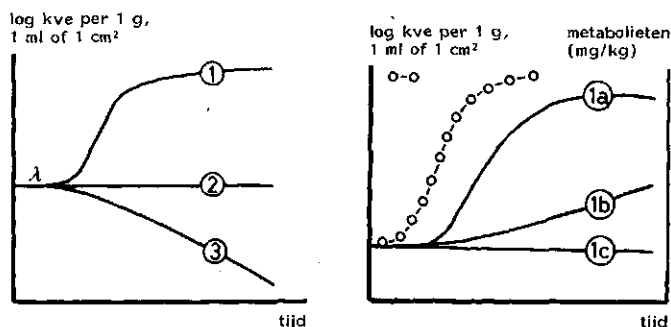
Zoals iedere niche, worden bodem en compostsubstraat gekoloniseerd door de micro-organismen die in biochemische zin het best aangepast zijn aan de parameters van de niche. Deze worden meestal verdeeld in intrinsieke en extrinsieke parameters (Westerdijk, 1949). De eerste hebben betrekking op de nutriëntenwaarde, de pH, de wateractiviteit (a_w) (zie het hoofdstuk van Samson), het vóórkomen van antimicrobiële stoffen, structurele en enkele secundaire eigenschappen van de niche. Extrinsieke parameters zijn vooral temperatuur en de samenstelling en relatieve vochtigheid van de gasfase boven en in de niche (Mossel, 1983). Niet steeds wordt een niche onmiddellijk door een constante populatie gevuld; dikwijls neemt men daarbij successies was. Soms ontwikkelt deze microbiële associatie zich snel, bij voorbeeld bij het bederf van vis. Wanneer daarentegen

moelijk aantastbare substraten de enige energiebron zijn, kan de successie langzaam verlopen.

Vullen van de niche door een evenwichtsassociatie betekent nog niet dat deze metabolisch, dus dissimilatief, actief zal zijn (Levy & Dickinson, 1981). Zeer duidelijk moet dus steeds onderscheid worden gemaakt tussen anabole en katabole processen in een gegeven habitat (Mossel, 1983; figuur 2).

Juist bij de recyclage in bodem en compost is dit verschil duidelijk aanwezig. Het beschikbare substraat is min of meer gevarieerd, in hoeveelheid en samenstelling. De laagmoleculaire componenten zoals mineralen, koolhydraten, organische zuren, peptiden en triglyceriden worden door vele soorten micro-organismen afgebroken. Hoogmoleculaire lipiden zoals cutine en suberine, en vooral hoogpolymere koolhydraten zijn veel minder aantastbaar. Omdat het hoofdbestanddeel van bladeren, takken, stamhout, papier en textielafval uit hemicellulose, cellulose, lignine, cutine, en suberine bestaat, ontwikkelt zich in genoemde niches een zeer karakteristieke populatie.

De meeste bodembacteriën dissimileren zetmeel, pectine en cellulose. Niet steeds bezit een gegeven geslacht of soort al deze dissimilatoire eigenschappen, maar de totale bacteriële bodemassociatie beschikt over het gehele palet. Niettemin spelen bacteriën, blijkens experimentele gegevens, bij recycling slechts een beperkte rol. Dit wordt toegeschreven aan een combinatie van drie factoren: (1) gebrek aan het enzymapparaat vereist



Figuur 2. Het lot van verschillende typen micro-organismen bij de kolonisatie van een niche (links) en de diverse mogelijkheden van stofwisseling van een dominant organisme in een niche (rechts). Kve = kolonie-vormende eenheden; λ = latentietijd; 1, 2, 3 = resp. vermeerdering, constant blijven (microbistase) en afname (microbicidi) van het micro-organisme.

voor aantasting van de natieve cellulose- en ligninestructuren; (2) de relatief lage pH van de biotoop die door de betrokken bacteriën niet wordt getolereerd; en (3) de aanwezigheid in de niche van aanmerkelijke concentraties tannine-derivaten met bacteriostatisch vermogen. Hetzelfde schijnt te gelden voor Actinomyceten, die in de bodem in grote aantallen en variatie voorkomen. Ook voor deze organismen geldt, dat zij in vitro cellulose, pectine, keratine en ook lignine min of meer sterk en snel kunnen aantasten, maar niettemin een zeer beperkte materiële bijdrage leveren aan de recycling (Goodfellow & Cross, 1974).

De betekenis van schimmels voor de recycling is groot. Niettemin mag in deze niet worden gegeneraliseerd. Vele bodemschimmels en gisten, die ook als bederfverwekkers dominant zijn in niches die zij preferent kunnen koloniseren, zijn aangewezen op laagmoleculaire derivaten van celwandpolymeren; zij moeten in de successie wachten op het beschikbaar komen van deze verbindingen op grond van de activiteit van de ligno-cellulolytische organismen in de bodemassociatie die lignine en cellulose afbreken. Deze laatste bestaat overwegend uit Basidiomyceten. Deze groeien en metaboliseren relatief zeer langzaam en verliezen dus de competitie met andere bodemorganismen wanneer laagmoleculaire koolhydraten beschikbaar zijn. Basidiomyceten die hout mineraliseren worden verdeeld in twee groepen. De eerste omvat de soorten die cellulose en lignine totaal kunnen afbreken waarbij tijdens de afbraak een wit residu ontstaat. Deze soorten worden in de Engelse literatuur aangeduid als 'white-rot'-schimmels (Blanchette, 1984). Daarnaast zijn soorten waargenomen die cellulose afbreken en lignine zodanig modificeren dat een bruin poedervormig residu overblijft; de 'brown-rot'-schimmels (Crawford, 1981).

Cutine en voorzover bekend ook suberine worden door een breder assortiment van bacteriën en schimmels gedissimileerd. Dit hangt mogelijk samen met de aard van deze vetachtige plantaardige componenten. Esterasen en vetzuuroxydasen zijn wijd verspreid bij bacteriën en schimmels. Bovendien zijn de cutinen en dergelijke sterisch vrijwel even goed toegankelijk als de vetcomponenten van levensmiddelen, die, zoals de praktijk leert, betrekkelijk snel worden gedissimileerd.

Ook de bodem- en compostfauna speelt een rol bij de recycling (Mason, 1976). Bij deze processen zijn eveneens oecologisch bijzonder interessante successies en cycli waargenomen. Niettemin blijft gelden dat lagere en ho-

gere schimmels in metabolische zin het belangrijkste zijn in de recyclage van vegetatie en het afval van onze samenleving en dus van eminente betekenis zijn.

Deze degraderende activiteit, deze 'overtredens' van de schimmelassociatie in de bodem zet ook door in andere biotopen. Zulke processen bedreigen in het bijzonder materialen van plantaardige en ten dele ook dierlijke oorsprong die de mens voor zijn gebruik op wat langere termijn wil bestemmen. Wat onmisbaar is in de natuur, zal bestreden moeten worden wil de mens zich kunnen blijven voeden, kleden, schoeien en dergelijke. De maatregelen die door traditie of technologie beschikbaar zijn gekomen om voor de mens wezenlijke producten aan recycling te onttrekken, duidt men aan met conservering.

BESTRIJDING VAN BEDERF DOOR SCHIMMELS

Bij de interventie met als doel voedingsmiddelen en andere biologische producten voor recycling te behoeden staan in beginsel drie strategieën ter beschikking.

De meest drastische is de *totale inactivering* ('afdoeding') van de microbiële associatie. Men is wellicht geneigd de uitschakeling van uitsluitend schimmels na te streven. De praktijk leert echter dat dan in de meeste gevallen andere micro-organismen de beschikbare niche gaan vullen, zodat niettemin bederf optreedt. Derhalve is volledige sterilisatie vereist, zoals dat bij de bereiding van door warmte verduurzaamde, vooraf in blik, kunststof of glas hermetisch ingesloten conserven het geval is. Tegenwoordig zijn ook andere steriliserende technieken ter beschikking, zoals doorstraling met gammastraling en chemische sterilisatie (Russell et al., 1982). Dikwijls is dit in de praktijk niet uitvoerbaar, omdat de vereiste behandeling het produkt denatureert of schadelijk voor de gezondheid maakt.

Een tweede, vaak bewandelde weg is de *onderdrukking* van de kolonisatie en metabolische *dissimilatie* door schimmels door passende keuze van *extrinsieke* parameters, zoals temperatuur en/of partiële gasdruk van zuurstof en CO₂ bij bewaring (Mossel, 1983). Een afdoende conservering wordt alleen bereikt door invriezen gevolgd door bewaring bij temperaturen beneden circa -20 °C. Bij temperaturen boven dit gebied zullen extreem psychrofiële schimmels, waaronder soorten van de geslachten *Clado-*

sporium, *Penicillium* en *Aureobasidium* nog, zij het langzaam, de substraten aantasten. Bekend is het ontstaan van 'bakkebaarden' (mycelium), waaronder de gevreesde 'black spot', op vlees dat bij te hoge vrieshuistemperaturen wordt opgeslagen. Ook bewaring onder vacuüm of in een CO₂-atmosfeer remt niet elke ontwikkeling van schimmels, hoewel de meest bekende schimmels zich onder aërobe omstandigheden optimaal ontwikkelen. Gecombineerde toepassing van koeling tot circa 0 °C en verpakking in een CO₂-atmosfeer zal in vele gevallen schimmels afdoende onderdrukken, doch bij voorbeeld psychrotrofe melkzuurbacteriën niet, zodat uiteindelijk toch microbiel bederf zal optreden.

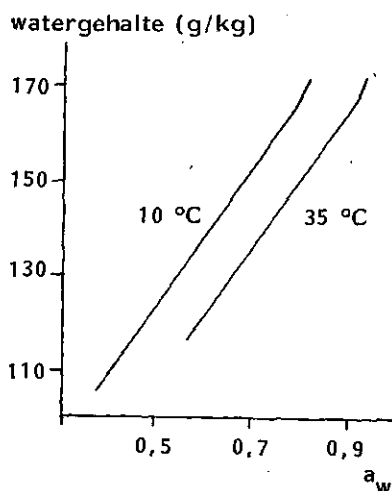
Remming van de ontwikkeling en stofwisseling van schimmels kan ook worden bereikt door passende beïnvloeding van *intrinsieke* parameters van de niche. Het meest effectief is onttrekken van water tot een a_w -waarde van beneden 0,60. Dit zeer lage niveau is vereist omdat vele xerotrofe schimmelsoorten zich bij hogere a_w -waarden nog, zij het uiterst langzaam, d.w.z. binnen 1 jaar, kunnen ontwikkelen. Verlaging van de pH-waarde is weinig effectief, aangezien schimmels vrijwel zonder uitzondering acidofiel zijn. In beginsel kunnen ook mycostatische stoffen worden toegepast. Dit vindt op grote schaal plaats bij niet-voedingsmiddelen. Wanneer voedingsmiddelen worden geconserveerd met mycostatische verbindingen komen uiteraard uitsluitend stoffen in aanmerking die voor de mens acuut en chronisch niet toxisch zijn. Bij onderzoek naar chronische toxiciteit vertoonden ook die microbiostatische verbindingen die bij eerder conventioneel toetsen in voederproeven met dieren aanvaardbaar waren gebleken dikwijls specifieke activiteiten, die de stof ten minste verdacht doen zijn. Dit betreft vooral teratogene en mutagene effecten (Koeman, 1983). Op grond van deze waarnemingen en omdat een mycostatische stof die bijvoorbeeld aan jam wordt toegevoegd, in het consumptiepatroon van zeer jonge kinderen, zieken, ouden van dagen en slecht gevoede consumenten zeer langdurig voorkomt, is men uiterst voorzichtig geworden met het wettelijk toelaten van conserveermiddelen.

In de praktijk is het drogen tot een veilig watergehalte de meest toegepaste en meest eenvoudige methode ter bescherming van waardevolle materialen tegen kolonisatie en aantasting door schimmels. Dit is voor verschillende materialen sterk uiteenlopend doordat de wateractiviteit van een niche en niet het watergehalte beslissend is voor het al of niet ontkiemen

van schimmelsporen en de ontwikkeling van mycelia. Het verband tussen watergehalte en wateractiviteit van een substraat is de zogenaamde watersorptie-isotherm. Deze is afhankelijk van de temperatuur (figuur 3) en bovendien van de omstandigheid of een gegeven watergehalte vanuit een situatie van wateradsorptie of waterdesorptie werd bereikt. Voorts is de keuze van 'de' veilige a_w afhankelijk van de lengte van de periode waarin beschimmelings moet uitblijven. Een a_w van circa 0,60 is onbeperkt veilig. Dikwijls hoeft schimmelgroei echter slechts gedurende enkele weken te worden onderdrukt; de veilige a_w is in dat geval circa 0,70.

RISICO'S VAN SCHIMMELVERGIFTIGINGEN (MYCOTOXICOSEN)

Eertijds was de beschimmelings van voedingsmiddelen uitsluitend een esthetisch en daardoor economisch probleem, omdat het ongewenste veranderingen van geur, smaak en uiterlijk van voedingsmiddelen gaf. Later, toen de ontwikkelingslanden meer ontsloten werden, kreeg het verloren-gaan van voedsel ook ethische facetten. In een samenleving waarin ongeveer tweederde van de deelgenoten permanent ondervoed is, krijgt



Figuur 3. In de praktijk meestal gebruikte gedeelten van de sorptie-isothermen van granen bij 10 en 35 °C.

het verloren laten gaan van voedsel door beschimmelings het karakter van een ernstig falen. Hoewel de eerste waarnemingen op dit gebied meer dan een eeuw geleden werden gedaan, duurde het niettemin tot omstreeks 1950 voordat men zich realiseerde dat het nuttigen van beschimmeld voedsel een gezondheidsrisico kan vormen (Moreau & Moss, 1979).

Reeds in de oudheid zijn acute vergiftigingen waargenomen, die optraden na het gebruik van beschimmelde voedingsmiddelen. Het eerder genoemde ergotisme is hiervan een voorbeeld. Pas rond het begin van deze eeuw werden ook *chronische* vergiftigingen bij mens en dier gezien, die mogelijk samenhangen met de consumptie van beschimmeld voedsel. Met betrekking tot de mens was de 'gele-rijst'-ziekte de eerste van deze syndromen; het verschijnsel werd niet algemeen bekend, doordat het vrijwel beperkt bleef tot het Verre Oosten. Een ernstige epidemie van alimentaire toxische aleukie (ATA) in de USSR in 1942, veroorzaakt door de verwerking van op het veld beschimmelde tarwe tot brood, bracht deze ziekte meer algemeen onder de aandacht en leidde tot de invoering van de term mycotoxicosen (schimmelvergiftigingen). Vooral de explosieve sterfte onder kalkoenen in Engeland als gevolg van het verstrekken van voeder waarin beschimmeld grondnotenmeel was verwerkt, vormde de aanleiding tot zeer veel speurwerk. Dit resulteerde spoedig in de volledige identificatie van de groep oorzakelijke mycotoxinen, de aflatoxines (Moreau & Moss, 1979).

Thans zijn meer dan 70 mycotoxines en 225 mycotoxinogene schimmelsoorten bekend. In Tabel 1 wordt van de laatste een overzicht gegeven. De geslachten *Penicillium* en *Aspergillus* kennen de meeste toxinogene soorten. Opvallend zijn de vaak ernstige ziekteverschijnselen van enkele mycotoxicosen: levenbedreigende veranderingen in het bloed, nieraandoeningen, leverziekten, carcinomen en tremoren (Hayes, 1980).

In enkele gevallen, bij voorbeeld schimmelkazen, is de betekenis van bepaalde schimmels als producent van mycotoxinen onder praktijkomstandigheden nog onvoldoende onderzocht. Verder op moderne leest geschoeid onderzoek is daartoe nog vereist.

Mycotoxinen zijn als regel betrekkelijk laagmoleculaire en thermostabiele verbindingen. Daardoor diffunderen zij snel vanuit het mycelium door de totale massa van een voedingsmiddel en kunnen ze niet door warmtebehandeling geïnactiveerd worden. Voorkómen van de beschimmelings van grond-

Tabel 1. Frequentieverdeling van mycotoxinogenese over de meest voorkomende geslachten van schimmels

Geslacht	Mycotoxinogene soorten
<i>Penicillium</i>	55
<i>Aspergillus</i>	45
<i>Fusarium</i>	20
<i>Mucor</i>	10
<i>Cladosporium</i>	10
<i>Alternaria</i>	5
<i>Stachybotrys</i>	5
<i>Absidia</i>	3
Andere geslachten	0-2

stoffen is derhalve de enige effectieve maatregel tegen mycotoxicosen.

In enkele ontwikkelingslanden ontbreekt daartoe de infrastructuur. Daardoor worden de gezondheidsautoriteiten in importerende landen dikwijls voor de problematiek gesteld referentiewaarden ('normen') voor de hoogst aanvaardbare concentratie van belangrijke mycotoxinen uit te vaardigen. Vroeger werden deze eenvoudig gelijk gesteld aan de aantonningsgrens behorend bij de gevoeligste methode. Voor carcinogene verbindingen is dit wellicht aanvaardbaar. In het geval van minder ernstig toxische mycotoxinen is een zekere souplesse, gebaseerd op risicoschatting en economische haalbaarheid in deze landen, verantwoord. Hierbij wordt door middel van toxicologisch onderzoek de minimaal toxische dosis van het betrokken mycotoxine vastgesteld. Met een zekere veiligheidsmarge, welke onder meer wordt bepaald door de mate van verschil tussen de reacties van verschillende types proefdieren op een gegeven mycotoxine, wordt dan de maximaal aanvaardbare dagelijkse opname door de mens berekend. Menu-onderzoek stelt in staat te schatten welke de belangrijkste bronnen van opname van een gegeven mycotoxine vormen en welk maximaal niveau dus in elk daarvan kan worden toegelaten.

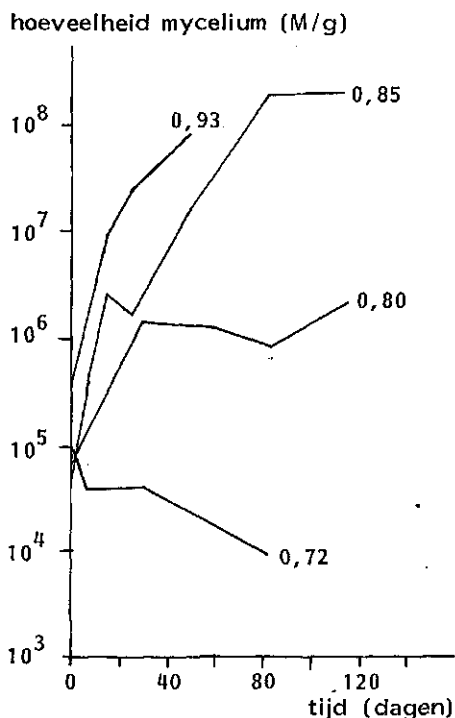
BESTRIJDING VAN BESCHIMMELING BIJ GRANEN

Bij transport van granen over zee wordt soms ernstige schade aan partijen waargenomen in de vorm van zogenaamde broei. Dit is oecologisch een belangwekkend verschijnsel. Het wordt in eerste instantie veroorzaakt door plaatselijke ontwikkeling van schimmels, mogelijk gemaakt door een lokaal verhoogde wateractiviteit. Deze stelt de sporen van de meest xerofiele schimmelsoorten, die altijd op granen aanwezig zijn, in staat tot kieming en navolgende myceliumontwikkeling. Hierbij komen water en warmte vrij (Multon, 1982). Het stofwisselingswater zal de lokale a_w verder verhogen en op den duur de ontwikkeling van minder xerofiele schimmelsoorten mogelijk maken en daarmee de vorming van mycotoxinen. Wanneer de ontwikkelde warmte niet voldoende kan worden afgevoerd, treedt temperatuurverhoging in de partij graan op, die tot broei tot circa 60 °C kan leiden. Bij bewaring van partijen graan te land kan broei worden voorkomen door maatregelen van extrinsieke aard: keren, ventileren en waar nodig koelen. Gedurende zeetransport zijn dergelijke maatregelen niet mogelijk. Men is dan aangewezen op intrinsieke interventie, dus beperking van het watergehalte.

Het watergehalte van een partij, zoals de handel dit hanteert, is slechts van beperkte waarde, omdat de variaties in het watergehalte binnen een partij aanzienlijk kunnen zijn. Eén lokale regio met een voldoende hoog watergehalte zal dus al tot bederf leiden. Het bedrijfsleven weet maar al te goed dat zelden hele partijen bederven: als regel gaat een deel van een partij door broei verloren.

Door Kreijger (1962) is een benaderingswijze van dit probleem uitgewerkt, die wetenschappelijk verantwoord en praktisch zeer bruikbaar is. Hierbij wordt uitgegaan van het in vitro bepaalde watergehalte van een goed geëquilibreerd monster, dat binnen een bepaalde periode van opslag bij een gegeven temperatuur juist geen beschimmelings zal toestaan. Een aantal van dit soort gegevens is samengebracht in figuur 4 en 5. Hiermee kan een veilig watergehalte worden berekend voor transport van een partij granen over zee gedurende een bepaalde tijd en bij een gegeven beladings- en transporttemperatuur. Het hieruit af te leiden veilige watergehalte moet nog gecorrigeerd (verlaagd) worden voor vier parameters:

- Het in de praktijk bepaalde 'vocht'-gehalte onderschat het ware water-



Figuur 4. De invloed van de a_w van een graanprodukt op de ontwikkeling daarin van schimmelsporen: bereik $a_w = 0,93-0,72$. (Naar Poisson et al., 1981).

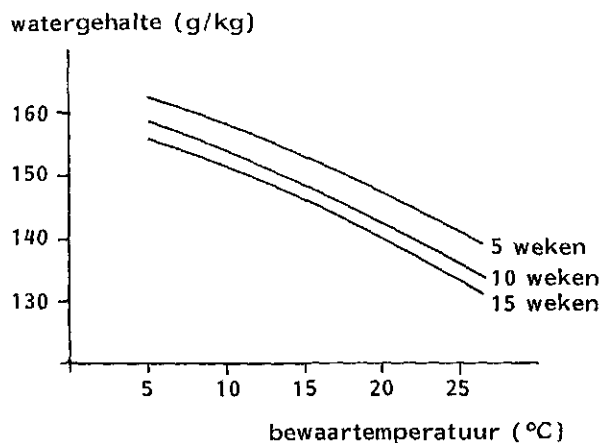
gehalte omdat bij de meeste 'oven'-methoden een zekere retentie van water in het droogresidu optreedt (Overbeek & Mossel, 1949).

- De heterogeniteit van partijen graan is dusdanig groot dat voor het veilig watergehalte, ook bij de zorgvuldige benadering van Kreijger, steeds een geringe negatieve correctie vereist is om werkelijk vrijheid van groei te kunnen verzekeren.

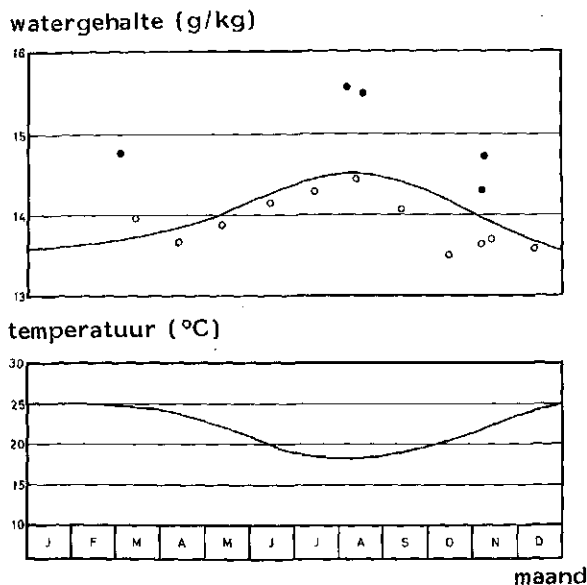
- Wanneer in een partij veel gebroken korrels voorkomen zal dit de kans op en intensiteit van beschimmelings vergroten, wat een verdere reductie van het watergehalte noodzakelijk maakt.

- Hetzelfde geldt voor aantasting van een partij door insecten.

De waarde van elke maatregel ter voorkoming van schimmel is slechts te beoordelen door deze geruime tijd toe te passen en daarbij na te gaan of



Figuur 5. Berekend 'veilig' watergehalte, d.w.z. broeivrij transport verzekerd, in afhankelijkheid van temperatuur en duur van de zeereis, van een partij graan. Schimmelvrije bewaringen van resp. 5, 10 en 15 weken.



Figuur 6. Verificatie van de berekeningen van figuur 5 in de praktijk: o = berekend als veilig en zonder broeischade gearriveerd in haven van bestemming; • = de conditie van partijen, ontvangen met duidelijke broeischade. De waarnemingen zijn afkomstig uit Zuid-Amerika.

de te voorkómen effecten ook werkelijk niet meer werden aangetroffen. In figuur 6 is een dergelijke evaluatie uitgevoerd. Daarin wordt het volgens de berekening van Kreijger vastgestelde veilige watergehalte van partijen maïs uitgezet tegen de maand, en dus indirect de temperatuur van de belading. De witte cirkels geven in de praktijk schimmelvrij bevonden situaties weer, de zwarte praktische gevallen van broei. De correlatie van de aard van de praktijkpunten met de berekeningen is bijzonder opvallend. Deze bevestigt dat op de gevolgde benadering vertrouwd mag worden om schimmelvrije verscheping van maïs, tarwe, rijst en dergelijke te garanderen en daarmee preventie van de vorming van mycotoxinen.

DANKBETUIGING

De auteur is bijzonder veel dank verschuldigd aan prof.dr. B. Schippers en prof.dr. A.J.B. Zehnder die het eerste manuscript kritisch hebben willen doorlezen en aanvullen.

LITERATUUR

- Blanchette, R.A., 1984. Screening wood decayed by white rot fungi for preferential lignin degradation. *Applied environm. Microbiol.* 48: 647-653.
- * Crawford, R.L., 1981. Lignin biodegradation and transformation. John Wiley and Sons, New York. 154 p.
- Goodfellow, M. & T. Cross, 1974. Actinomycetes. In: C.H. Dickinson & G.J.F. Puhg (Eds): *Biology of plant litter decomposition*. Academic Press, London. p. 269-289.
- Gray, K.R., K. Sherman & A.T. Biddlestone, 1971. A review of composting. *Process Biochem.* 6 (6): 32-36; (10): 22-28.
- Hayes, A.W., 1980. Mycotoxins: a review of biological effects and their role in human diseases. *Clin. Toxicol.* 17: 45-83.
- Jawetz, E., J.L. Melnick & E.A. Adelberg, 1982. Medical mycology. In: *Review of medical microbiology*. Lange, Los Altos, Cal. p. 285-304.
- * Koeman, J.H., 1983. Algemene inleiding in de toxicologie. Pudoc, Wageningen. p. 58-65.

- Kreijger, J., 1972. Drying and storing grains, seeds and pulses in temperate climates. Publication 205, Institute for Storage and Processing of Agricultural Produce, Wageningen, the Netherlands. 333 p.
- Levy, J.F. & D.J. Dickinson, 1981. Wood. In: A.H. Rose (Ed.): Microbial biodeterioration. Academic Press, London. p. 23-28.
- * Mason, C.F., 1976. Decomposition. Arnold, London.
- * Moreau, C. & M. Moss, 1979. Moulds, toxins and food. Wiley, Chichester.
- Mossel, D.A.A., 1983. Essentials and perspectives of the microbial ecology of Foods. In: T.A. Roberts & F.A. Skinner (Eds): Food microbiology: Advances and prospects. Academic Press, London. p. 1-45.
- Multon, J.L. (Editeur), 1982. Conservation et stockage des grains et produits dérivés. Lavoisier & Apria, Parijs.
- Overbeek, J.Th.G. & D.A.A. Mossel, 1951. Entrainment distillation as a reference method for the determination of the water content of foods. I. Theoretical aspects of analytical dehydration with special reference to entrainment dessication. *Rec. trav. chim. Pays-Bas* 70: 63-78.
- Poisson, J., D. Richard-Molard & B. Cahagnier, 1981. Moisissures et qualité des céréales. *Swiss Food* 9: 25-28.
- Rensburg, S.J. van & B. Altenkirk, 1974. Ergotism. In: I.F.H. Purchase (Ed.): Mycotoxins. Elsevier, New York. p. 69-96.
- Russell, A.D., W.B. Hugo & G.A.J. Ayliffe (Eds), 1982. Principles and practice of disinfection, preservation and sterilisation. Blackwell, Oxford.
- * Swift, M.J., O.W. Heal & J.M. Anderson, 1979. Decomposition in terrestrial ecosystems. Blackwell, Oxford.
- Westerdijk, J., 1949. The concept 'association' in mycology. *Antonie van Leeuwenhoek* 15: 187-189.

* Met een ster aangegeven referenties worden als eerste voor verdere studie aanbevolen.

Over gevoeligheid voor schimmels*

A. H. Klokke

De titel 'Over gevoeligheid voor schimmels' suggereert al dat de mens (daar gaat het in dit hoofdstuk om) ziek kan worden van schimmels. In de mate van 'gevoeligheid' en van 'ziekte' doen zich grote variaties voor die zowel samenhangen met de aanleg, de vatbaarheid van het individu, als met de wijze van infectie en de agressiviteit van een schimmel.

In dit hoofdstuk zal na het overzicht van de door schimmels veroorzaakte ziekten (mycosen) op twee aspecten wat nader worden ingegaan: de allergische aandoeningen en de mycotoxicosen.

MYCOSEN

Historie

In 1835 bewees Agostino Bassi voor het eerst dat een levend organisme als parasiet kan optreden en ziekte kan verwekken in een ander levend organisme. Van zieke zijderupsen, lijdend aan de 'muscardino' die in die dagen de zijdeteelt in Italië in gevaar bracht, isoleerde hij een 'plant van cryptogame aard', die later als een schimmel werd gekarakteriseerd en *Beauveria bassiana* werd genoemd. Inoculatie van deze schimmel in gezonde rupsen veroorzaakte de 'muscardino'. Daarmee was het causale verband tussen ziekte en verwekker aangetoond. Binnen een tijdvak van 10 jaar ontdekte men dat ook ziekten bij de mens door schimmels werden veroorzaakt.

*Bij dit hoofdstuk is geen lijst opgenomen met referenties waarnaar vanuit de tekst wordt verwezen. De literatuurlijst bevat twee belangrijke standaardwerken die de lezer kan hanteren voor nadere oriëntatie.

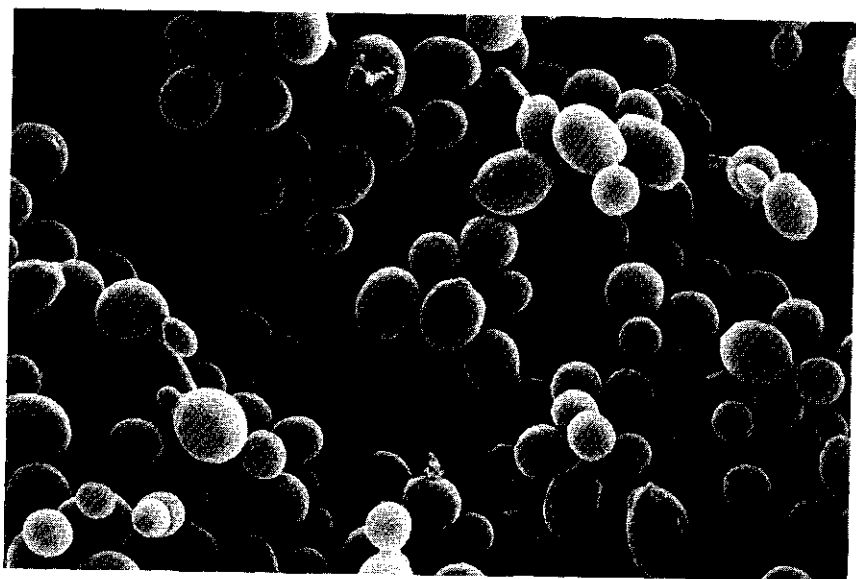
Remak, een jonge Pool die naar Berlijn was geëmigreerd, ontdekte in 1837 schimmeldraden in de korsten op het hoofd van een patiënt, die een kale plek met littekenvorming vertoonde. Professor Schönlein in Berlijn, onder wiens leiding Remak later zou gaan werken, publiceerde in 1839 zijn vermoeden, dat deze ziekte van het behaarde hoofd, die 'favus' heette, door deze schimmel werd veroorzaakt. Uiteindelijk beschreef Remak de verwekker in 1845, en gaf deze de naam *Achorion* (nu: *Trichophyton schönleinii*).

Onafhankelijk hiervan werd gelijkgericht onderzoek in Parijs gedaan door een emigrant uit Hongarije, David Gruby. Tussen 1841 en 1848 ontdekte hij dat een schimmel de verwekker was niet alleen van favus (1841) maar ook van ringworm van de baard (1842), van ringworm van het behaarde hoofd (1843, 1844) en van spruw, een ziekte van het mondslijmvlies, die met wit beslag gepaard gaat, en waarvan wij nu weten dat deze door een gist, *Candida albicans* (zie figuur 1), wordt veroorzaakt. Het is dan ook geen wonder dat David Gruby bekend staat als de vader van de medische mycologie.

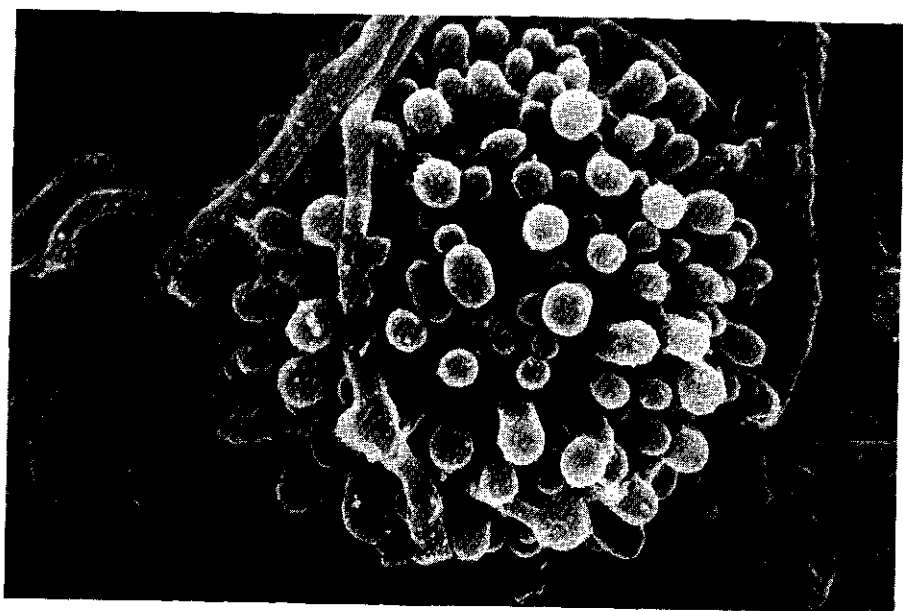
Schimmels zijn dus eerder beschreven als veroorzakers van ziekte bij de mens dan bacteriën, protozoën en virussen, die als ziekteverwekkers pas na 1870 ontdekt werden. In weerwil van deze chronologische prioriteit van de schimmels kwamen na 1870 de schimmelziekten (mycosen) op de achtergrond door de spectaculaire ontdekkingen op bacteriologisch en parasitologisch gebied van Koch, Pasteur, Neisser, Hansen en Manson Bahr.

In de daarop volgende tijdvakken is opnieuw, telkens om verschillende redenen, de aandacht gevestigd op het belang van mycosen. In 1890-1910 zagen de eerste handboeken over de verwekkers van mycotische huidziekten het licht. Het handboek van Sabouraud 'Les teignes' (1910), dat over hoofdhaarmycosen gaat, is daarvan het bekendste. Tevens werden in dit tijdvak nieuwe ziektebeelden als sporotrichose in de Verenigde Staten (1898) en histoplasmose in Panama (1905) beschreven.

Tussen 1930 en 1945 werd het door epidemiologisch onderzoek van grote bevolkingsgroepen in het zuidoosten van de Verenigde Staten duidelijk, dat de meerderheid van de bevolking positief reageerde op een insputting in de huid met histoplasmine, een stof bereid uit *Histoplasma capsulatum*, (zie figuur 2), de verwekker van histoplasmosis. Hierdoor was bewezen



Figuur 1. *Candida albicans* (gistcellen) (x 2800). (Foto Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn).



Figuur 2. Macrokonidium van *Histoplasma capsulatum* (x 5200). (Foto Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn).

dat asymptomatische besmetting met een schimmel bij grote bevolkingsgroepen kon plaatsvinden. Bij histoplasmosis gaf deze besmetting slechts in een aantal gevallen aanleiding tot klinische symptomen, die soms een duidelijke afloop hadden. Op de mortaliteitscijfers door mycosen werd door Emmons (1948) gewezen. In 1942 waren in de Verenigde Staten 349 mensen gestorven aan schimmelinfecties (o.a. histoplasmosis), een getal dat tweemaal zo groot was als het aantal doden door bekende ziekten als tyfus, cholera, pokken en hondsdolheid. Ook de statistieken van het aantal ziektegevallen toonden het belang van mycosen. Tijdens de tweede wereldoorlog kwam in de Verenigde Staten 15 % van de ziektemeldingen bij legerpersoneel op rekening van schimmelinfecties.

Vanaf 1950 tot heden kwamen nieuwe geneesmiddelen ter beschikking voor de bestrijding van ernstige ziekten, zoals corticosteroïden, antibiotica en cytostatica, terwijl ook de orale anticonceptiva tot ontwikkeling kwamen. Aan dit gebruik is - als ongewenste bijwerking - een toename van het aantal mycosen te wijten. In dit tijdvak zijn tevens een serie werkzame anti-mycotische preparaten ontwikkeld, waarvan enkele levensreddend zijn gebleken bij de ernstige systeem-mycosen. Griseofulvine, Nystatine en Amphothericine B zijn van deze serie de eerste geweest. Daarnaast is het door de toename in omvang en frequentie van het internationaal reizigersverkeer ook vaker mogelijk om in Europa met 'exotische' (uit andere landen afkomstige) schimmelinfecties geconfronteerd te worden.

Oecologie van mycosen

Fungi zijn in de natuur te vinden als saprofyt in de bodem en op materialen zoals hout, terwijl ook dier of mens schimmels als saprofyt bij zich kunnen dragen. Een vroege beschrijving is die van Giambattista della Porta die in 1588 schreef dat hij sporen had gewonnen uit plantaardig materiaal, groeiend op stenen, en dat hij 'fungus' noemde. In 1748 merkt Gleditsch op dat schimmelsporen in de lucht aanwezig waren. Tydall noemde dit later (1881) 'the floating matter of the air'. De verwekkers van bekende diepe (systeem-)mycosen (bijvoorbeeld histoplasmosis) zijn uit grondmonsters geïsoleerd en worden door de wind in de atmosfeer gebracht om vervolgens door mens en dier te worden ingeademd.

Inademing van schimmelsporen in de lucht kan bij daarvoor gevoelige

mensen ook tot allergische ziekten, zoals asthma leiden. Onder bepaalde omstandigheden kan een saprofyt bij contact met mens of dier of door inhalatie tot parasiet worden. Niet altijd zijn deze omstandigheden daartoe bekend. Als bekendste oorzaken komen weerstandsverlies tegen infecties en verstoring van het microbiologische evenwicht naar voren. Er kan een afweer-verlammende ziekte zijn, bijvoorbeeld een vorm van kanker. De afweerremming kan ook het gevolg zijn van moderne geneesmiddelen die de immuunafweer of celdeling beïnvloeden, zoals corticosteroiden en cytostatica, die gegeven worden om een (ernstige) ziekte te bestrijden. Het ongewenste bijeffect van dit afweerverlies kan dan zijn dat een saprofytische schimmel 'de gelegenheid' krijgt in een schimmel met invasieve eigenschappen te veranderen. In verband hiermee heten deze infecties 'opportunistische' infecties.

Daarnaast kan verstoring van het evenwicht tussen bacteriën en gisten in de darm of in de vagina teweeggebracht zijn door gebruik van breed-spectrum-antibiotica en anti-conceptiva. Het resultaat daarvan is vaak een overmatige groei van gisten, zoals *Candida albicans*, die tot ziekten van huid en slijmvliezen aanleiding kan geven.

Epidemiologie

De verschillende wegen van infecties door schimmels bij mens en dier leveren verschillende ziektebeelden.

Sommige schimmels voeden zich door afbraak van keratine, dat zich bevindt in de hoornlaag van de huid, de haren en de nagels. Contactinfectie met deze schimmels leidt tot een oppervlakkige huidmycose. De schimmelraden worden in afgestoten huidschilfers overgebracht, bijvoorbeeld via de grond of de vloer (douchecellen) en verspreiden zo de infectie.

Andere schimmels zijn vrijlevende saprofyten en worden (overwegend in de tropen) bijvoorbeeld bij blootsvoets lopen door een verwonding doorn of splinter in het onderhuidse weefsel gebracht om daar tot een abscederende ontsteking rondom de met de doorn geïntroduceerde schimmel aanleiding te geven (traumatische inoculatie).

Een derde infectieweg is het inhaleren van schimmelsporen. Daardoor kan een longmycose ontstaan, die bij verspreiding in het lichaam tot een systeem-mycose kan leiden. Schimmels in deze categorie leven in spore-

vorm in de bodem, in stof of in gedroogde duiven-exreta, zoals bij *Cryptococcus neoformans* het geval is. Een aantal van deze verwekkers komen slechts in enkele delen van de wereld voor, vooral in Noord- en Zuid-Amerika, zodat deze in Nederland alleen als importziekten worden aangetroffen. Enkele van deze ziekten (zoals cryptococcosis en aspergillosis) komen kosmopolitisch voor. Infectie met *Aspergillus*-sporen kan ernstige longziekten bij een mens veroorzaken. Bij drachtige koeien, met deze verwekker besmet, kan abortus van het kalf het gevolg zijn.

Klinische ziektebeelden

Om de veroorzakers van mycosen goed te kunnen onderscheiden en te behandelen is hun herkenbaarheid uiteraard wezenlijk. Zij zijn naar hun morfologie in een viertal groepen ingedeeld.

- Gisten, ééncellige schimmels, die zich vermenigvuldigen door knopvorming (blastosporen) zonder vorming van schimmeldraden (filamenten of hyfen).
- Gisten die zich tegelijkertijd zowel in ééncellige vorm als in filamenteuze vorm vertonen.
- Filamenteuze schimmels, die filamenten en sporen in verschillende vormen tonen.
- Dimorfe schimmels, die zo genoemd worden omdat zij onder verschillende omstandigheden telkens een eigen vorm tonen: als weefselparasiet in het lichaam een gistachtige organisme en als saprofyt in de natuur een filamenteuze schimmel. Een zelfde dimorfie doet zich voor bij de cultuur in de broedstoof bij verschillende temperaturen (37°C resp. 25°C).

Deze indeling is niet gebaseerd op de systematische indeling van de schimmels (zie het hoofdstuk van Samson), maar op de hoedanigheid waarin de mycosen voorkomen. Daardoor is een in de praktijk hanteerbare indeling ontstaan.

Ook de klinische ziektebeelden kunnen in vier hoofdgroepen verdeeld worden.

- oppervlakkige mycosen,
- onderhuidse (subcutane) mycosen,
- diepe (systeem-)mycosen,
- opportunistische mycosen.

Oppervlakkige mycosen

Keratine is steeds het substraat voor de schimmels. Het gaat hierbij hoofdzakelijk om twee soorten verwekkers:

- Gistachtige verwekkers, die frequent voorkomende oppervlakkige huidafwijkingen veroorzaken. Eén huidziekte, *Pityriasis versicolor*, is zo veel voorkomend in tropische landen, dat er lokale namen voor in omloop zijn ('panu' in Indonesië, 'lotta' in Suriname). Daarnaast komen er door antibiotica en anticonceptiva gebruik ook steeds meer huid- en nagelinfecties door *Candida albicans*. De oorzaak is hiervoor reeds aangeduid.
- Filamenteuze verwekkers, de 'dermatofyten' zoals *Trichophyton mentagrophytes* en *T. rubrum* (figuur 3), die ten dele reeds in Grubys tijd bekend waren, en die door Sabouraud omstreeks 1910 zijn beschreven. Huidafwijkingen, bijvoorbeeld in liezen, nagelafwijkingen en ook lokale uitval van hoofdhaar zijn daar het gevolg van. Hoewel deze infecties gewoonlijk tot de bovenste lagen van de opperhuid beperkt blijven is dieptegroei met abscesvorming soms het geval tengevolge van metabole stoornissen (ernstige diabetes) of corticosteroïd-behandeling.



Figuur 3. Micro- en macrokonidiën van *Trichophyton rubrum* (x 900).
(Foto Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn).

Onderhuidse (subcutane) mycosen

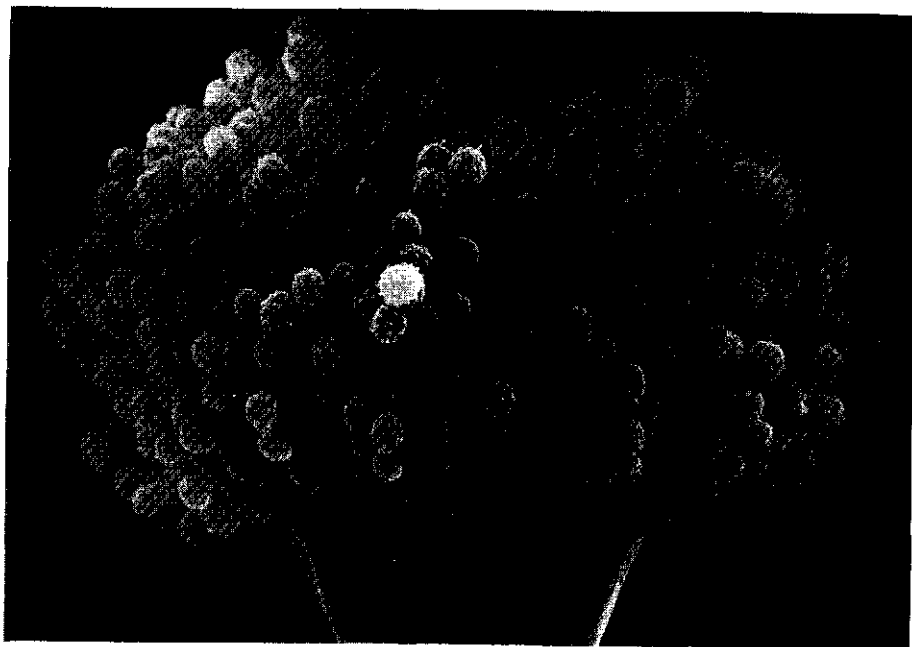
De meeste van deze ziekten komen tegenwoordig alleen in tropen en subtropen voor. De reeds genoemde sporotrichose, een ziekte die onderhuidse abscessen aan de extremiteiten langs het verloop van lymfebanen vertoont, is de eerst beschrevene onder deze ziekten. In de jaren na 1900 is deze ziekte herhaaldelijk in Frankrijk opgetekend, maar sinds 50 jaar zijn de gevallen in Europa zeer sporadisch geworden. De voor Europa nog steeds belangrijkste subcutane mycose is de chromoblastomycose, omdat deze behalve in de tropen ook in Noord-Europa voorkomt. Het is een wratachtige, zeer chronische huidziekte, die in 30 jaar een gehele extremiteit kan bedekken. Traumatische inoculatie met plantaardig - door de schimmel overgroeid - materiaal is de oorzaak van de ziekte. Patiënten in Finland bleken zich geïnfecteerd te hebben bij het baden in de sauna, bij de bewerking van hun huid met twijgjes. Deze bleken besmet te zijn met een schimmel, die in 1915 door Thaxter als *Phialophora verrucosa* was gedetermineerd.

Diepe (systeem-)mycosen

Aspergillus fumigatus (figuur 4) is een voorbeeld van een filamenteuze saprofytische schimmel. De sporen ervan in de lucht zijn één van de verwekkers van kosmopolitisch voorkomende diepe mycosen, die voornamelijk in de longen voorkomen onder het beeld van broncho-pneumonie of aspergilloma. Uitbreiding kan via de bloedvaten tot stand komen.

Een andere kosmopolitische verwekker van een systeemziekte die in de longen begint, is *Cryptococcus neoformans*. Deze gistsoort veroorzaakt cryptococcosis, een ernstige ziekte die uiteindelijk ook in de hersenen kan doordringen. Toen er nog geen effectieve therapie was, stierf een dergelijk patiënt onder het beeld van meningitis, hersenvliesontsteking. De verspreiding van andere systeem-mycosen is gebonden aan bepaalde streken, meestal in tropisch of subtropisch klimaat.

Histoplasmosis, veroorzaakt door *Histoplasma capsulatum*, werd reeds genoemd. De primaire infectie verloopt meestal zonder symptomen, alleen met achterlating van een positieve huidtest op histoplasmine. De progressieve ziekte kan zich - in de porte d'entrée - als longziekte, of, bij ver-



Figuur 4. Konidiëndrager en konidiën van *Aspergillus fumigatus* (x 2800).
(Foto Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn).

spreiding, als lever- of miltaandoening voordoen, terwijl uiteindelijk geen enkel orgaan gespaard blijft.

De bekendste endemische streek is te vinden in het middenoostelijk deel van de Verenigde Staten, van de Mississippi-vallei in het westen tot de Golf van Mexico in het zuiden en de Appalachian-bergketen in het oosten. Hier werd bij epidemiologisch onderzoek bij jonge volwassenen in meer dan 80% een positieve huidtest gevonden als teken van voorbijgegaane, overwonnen infectie.

Epidemiologisch onderzoek in het zuidwesten van de Verenigde Staten naar een andere systeem-mycose, die ook als longziekte begint, coccidioïdomycosis, veroorzaakt door *Coccidioides immitis*, toont hetzelfde beeld: na doorgemaakte asymptomatische infecties wordt in deze streken, met als centrum de San Joaquin Valley, een groot aantal positieve huidtesten met coccidioïdine gevonden en slechts een gering aantal patiënten met een progressief ziektebeeld.

Deze groep van mycosen is pas sinds kort als belangrijkste groep van ziekteverwekkers herkend. In juni 1962 werd in Durham in de Duke Universiteit het eerste symposium gehouden, gewijd aan dit nieuwe ziektebeeld.

Saprofytisch voorkomende, voor mens en dier gewoonlijk onschuldige schimmels kunnen door een voor deze schimmels 'gunstige gelegenheid' (opportunity) tot invasief gedrag en tot verwekking van ziekteverschijnselen komen. Ook endogeen voorkomende schimmels (*Candida albicans*) kunnen tot uitgebreide invasieve infecties leiden. Weerstandsverlies bij mens of dier, door ziekte, door immuunafweerremmende geneesmiddelen of door ernstige diabetes is er meestal de oorzaak van dat deze gunstige gelegenheid tot invasie zich voordoet. De belangrijkste predisponerende factor voor deze infecties zou de vermindering van het aantal bloedlichaampjes (leukopenie) bij de gastheer kunnen zijn.

De klinische verschijnselen van opportunistische mycosen zijn lokale infecties of systeem infecties van metastatische huid- of hersenabscessen. De meeste verwekkers van opportunistische mycosen zijn als saprofyten in de natuur te isoleren. *Aspergillus fumigatus* en andere *Aspergillus*-soorten, en Mucorales- als *Mucor*, *Rhizopus*- of *Absidia*-soorten zijn daarvan de meest bekende voorbeelden. *Penicillium*-soorten zijn meestal, in tegenstelling tot *Aspergillus*-soorten, niet thermotolerant en worden dan ook zelden als verwekker gevonden.

Cryptococcus neoformans wordt door sommigen ook als opportunistische schimmel gezien. Al in 1894 was dit gistachtige organisme door Sanfelice geïsoleerd uit het sap van perziken. In 1955 legde Emmons het verband met oude duivenmest (bijvoorbeeld in kerktorens, maar ook in het park van het Witte Huis te Washington). Inhalatie van de gistcellen die in het stof opwaaien, leidt tot longinfectie. Toch is de oecologie van deze opportunist nog niet geheel duidelijk. Anders dan bij andere door inhalatie van sporen ontstane mycosen treedt de ziekte zelden in clusters op, er is geen predispositie voor een beroep (ook niet dat van duivenfokker) en er is vaak geen teken van longinfectie meer ten tijde van het stellen van de diagnose.

ALLERGISCHE AANDOENINGEN DOOR SCHIMMELS

Het Griekse woord *asthma*, dat hijgen betekent, toont dat *asthma* een ziektebeeld is dat reeds aan de Grieken bekend was. Hooikoorts (versterkte neusslijm- en traansecretie) en constitutioneel eczeem vormen met *asthma* een complex van symptomen.

Blackley, arts in Manchester, bewees in 1873 dat hij hooikoorts bij zichzelf kon opwekken door inhalatie van schimmelsporen. Sinds Richets onderzoeken over het uitblijven van de natuurlijke afweer tegen in het lichaam ingebrachte stoffen (anafylaxie) en de invoering van het begrip allergie voor de ziekelijke reacties als gevolg van een verhoogde gevoeligheid door Von Pirquet in 1903, is duidelijk geworden dat overgevoeligheid kan optreden, niet alleen door inhalatie van schimmelsporen maar ook door die van huisstof, huidschilfers, dierlijke epidermale en plantaardige produkten en door het eten van bepaald voedsel. In ons land heeft Storm van Leeuwen (in 1924) als eerste daarover onderzoek gedaan: bij de helft van de asthmaliĳders vond hij overgevoeligheid tegen schimmelsporen. Doordat nu meer van het mechanisme bekend is waaronder de allergische reactie verloopt, en er onderhuidse testen met potentiële allergenen gedaan kunnen worden, weet men dat ongeveer 10% van de Europese bevolking overgevoelig is voor een aantal allergenen, waaronder schimmels en Actinomyceten (draadvormige bacteriën).

Het voert te ver hier tot in détail op het mechanisme van de allergie van schimmels in te gaan. Allergenen zoals schimmels en Actinomyceten leiden bij contact met bijvoorbeeld de mestcellen in de bronchi van gevoelige personen of met het celoppervlak van neus- of oogslimvlies, tot het vrijkomen van stoffen (zoals histamine). Deze doen op hun beurt de bloedvaten verwijden, en veroorzaken het uittreden van vocht uit de bloedbaan en het samentrekken van de gladde spieren van het luchtwegenstelsel. Daardoor wordt de uitademing bemoeilijkt.

Door het op-gang-komen van de overgevoeligheidsreactie bij contact met het allergeen waarvoor de patiënt overgevoelig is, ontstaat niezen, tranenvloed, neussecretie, asthmatische klachten en/of eczeem. Deze ziekten zijn vaak seizoen-gebonden. De periode van optreden is dan gerelateerd aan de tijd waarin het allergeen in de lucht circuleert. Van deze circulerende allergenen geven graspollen het vaakst (31%) aanleiding tot ziekte-

verschijnselen. Schimmelsporen als oorzaak komen op de tweede plaats met 13%.

De schimmels met sporen verantwoordelijk voor deze ziekten behoren tot de geslachten: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* en *Phoma*, en de Basidiomyceten waaronder *Serpula lacrimans* (huiszwam), en soorten behorend tot de *Agaricales* (de meeste paddestoelen), puffballen, brandschimmels en roestschimmels. Daarnaast zijn ook de gisten behorend tot de geslachten *Sporobolomyces*, *Saccharomyces* en *Rhodotorula* als verwekkers gevonden.

Bij longeosinofilie komen longinfiltraten van voorbijgaande aard voor, die recidiveren en die met eosinofilie in het bloed en vaak met asthma gepaard gaan. Naast de bij asthma beschreven anafylactische reactie, komt hierbij ook een lokaal anafylactisch proces tot stand dat als 'Arthus-reactie' wordt gekarakteriseerd. De schimmels verantwoordelijk voor dit ziektebeeld zijn: *Aspergillus fumigatus* (allergic bronchopulmonary aspergillosis: 'ABPA'), en waarschijnlijk *Candida albicans* en *Alternaria tenuis*.

Tenslotte verdient hier de groep van organismen vermeld te worden die een perifere allergische longreactie teweeg brengt. Het gaat daarbij om aandoeningen van het perifere bronchioloalveolaire longweefsel, berustend op een plaatselijke Arthus-reactie, waarbij antilichamen uit de immunoglobulinen-klassen, G, M en A betrokken zijn.

Niet alleen schimmels maar ook Actinomyceten (*Micropolyspora* en *Thermoactinomyces*) kunnen verantwoordelijk zijn voor het op-gang-komen van deze overgevoelighedsreacties. De daarbij voorkomende ziektebeelden zijn gerelateerd aan het beroep of aan de expositie van airconditioning ('farmer's lung', 'mushroom worker's lung' en 'humidifier lung'). Vertaling van de namen van deze ziektebeelden in een Nederlands equivalent is tot nu toe achterwege gebleven, en eigenlijk ook niet goed mogelijk. De schimmels verantwoordelijk voor dit ziektebeeld zijn als volgt te classificeren, met vermelding, achter de naam van de schimmel, van de ziekte die daardoor wordt veroorzaakt:

- *Alternaria tenuis* (sequoiosis/woodworker's lung),
- *Aspergillus* spp. (maltworker's lung: *A. clavatus*, *A. fumigatus*) (farmer's lung: *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *A. umbrosus*),
- *Aureobasidium pullulans* (sequoiosis),
- *Cryptostroma corticalis* (maple bark pneumonitis);

- *Penicillium casei* (cheesewasher's lung),
- *P. frequentans* (suberosis/corkworker's lung),
- *Pleurotus ostreatus* (mushroom worker's lung).

MYCOTOXICOSEN

Een laatste groep van ziekten veroorzaakt door schimmels betreft de mycotoxicosen. Hierbij is het niet de schimmel zelf (of zijn sporen) die de ziekte veroorzaakt, maar het zijn de uitscheidingsprodukten van de schimmel die een giftige werking hebben en waartegen de gastheer zich niet voldoende met zijn immuunapparaat verdedigt. Voor 1900 waren daar al twee ziekten mee gecorreleerd: de eerste door het eten van giftige paddestoelen die peptiden-toxinen zoals het falloïdine en α -amanitine (geïsoleerd uit de zeer giftige groene knolamaniet, *Amanita phalloides*) bevatten en als tweede door het eten van graan dat verontreinigd was met moederkoorn, de vegetatieve vorm (sclerotium) van de graanroestSchimmel *Claviceps purpurea*. De zich daarin bevindende alkaloiden veroorzaakt het 'ergotisme'. Deze ziekte ('Saint Anthony's Fire') is reeds sinds de middeleeuwen bekend en gaat gepaard met spierconcentraties, convulsies en het gangreneus worden (afsterven) van ledematen.

Daarnaast worden sinds onheuglijke tijden in bepaalde culturen schimmels gebruikt om hun hallucinogene eigenschappen. Bij indianenstammen in Mexico is het gebruik van vruchtlichamen van *Psilocybe*-soorten (zie figuur 12 in het hoofdstuk van Samson) in rituelen terug te voeren tot de tijd van de Azteken. De toxische produkten van deze paddestoelen geven effecten die lijken op die, welke door gebruik van LSD veroorzaakt worden.

Na de eeuwwisseling zijn meer vergiftigingsziekten gevonden die op schimmelprodukten zijn terug te voeren. Sinds 1898 was in Nieuw Zeeland een afwijking bekend aan de kop van schapen en koeien, veroorzaakt door een toxine (sporidesmine) dat geïsoleerd kan worden uit een schimmel in het weidegras (*Pithomyces*). Het toxine veroorzaakt een leverafwijking waarbij het zonlicht tot het ontstaan van eczeem aanleiding geeft.

Een ander, meer bekend voorbeeld van een mycotoxine, is de aflatoxine-vergiftiging. Deze is in 1960 ontdekt in Engeland, toen tienduizenden kalkoenen en eenden doodgingen door het eten van Braziliaanse olienootjes

die door de schimmel *Aspergillus flavus* besmet waren. Het door deze schimmel geproduceerde toxine veroorzaakte een acute leverbeschadiging. Verder zijn er aanwijzingen dat dit toxine het ontstaan van primaire leverkanker tot gevolg kan hebben. Deze schimmel is echter niet de enige waarvan de uitscheidingsprodukten zulke grote gevolgen kunnen hebben. Van soorten uit de geslachten *Fusarium* en *Penicillium* zijn inmiddels ook enkele potentiële zware vergiften bekend geworden.

De voorwaarden waaronder schimmels kunnen gedijen en toxinen kunnen uitscheiden zijn vaak effectief te beheersen. Goede opslag van olienootjes kan de aanwezigheid van aflatoxine tot nul reduceren. Ook voor andere schimmelziektes geldt dat het creëren van bepaalde omstandigheden in de voedingsbodem waarin de schimmel niet kan groeien, bijvoorbeeld door verandering van luchtvochtigheid, temperatuur of zuurstofgehalte, het optreden van voor de mens gevaarlijke schimmelziekten aanzienlijk kan terugdringen. In het hoofdstuk van Mossel wordt op die aspecten nader ingegaan.

LITERATUUR

- * Emmons, C.W., C.H. Binford, J.P. Utz & K.J. Kwon-Chung, 1977. Medical mycology. Lea and Febiger, Philadelphia.
- * Howard, D.H. (Ed.), 1983. Fungi pathogenic for humans and animals. Deel A en B. Marcel Dekker, New York and Bazel.

* Zie voetnoot pag. 118.

Schimmels in de industrie*

W.A. Scheffers

INLEIDING

Sedert de oudste tijden van menselijke beschaving zijn gisten en schimmels* ten nauwste betrokken bij de bereiding van spijs en drank. Tot op de huidige dag worden in het Verre Oosten uiteenlopende soorten voedsel verkregen door inwerking van schimmels op voorbewerkte rijst, soya, aardnoten en cassave (zie ook het hoofdstuk van Samson). Enzymatische omzettingen verhogen daarbij de verteerbaarheid, smaak en voedingswaarde. En overal waar brood wordt bereid zorgen gisten en bacteriën voor de vorming van koolzuurgas uit suikers, zodat het deeg rijst. En hoe zou het de mensheid zijn vergaan zonder de spontane activiteit van gisten die vruchtesappen en andere suikerhoudende vloeistoffen omzetten in alcoholische dranken als wijn en bier? Een illustratie van de verscheidenheid aan levensmiddelen, verkregen door fermentatie met gisten of schimmels, geeft tabel 1.

Onze verre voorouders wisten niet van het bestaan van micro-organismen. Die werden pas ontdekt door Antoni van Leeuwenhoek, die ruim drie eeuwen geleden in Delft met zijn zelfgemaakte, uiterst simpele microscoopjes voor het eerst bacteriën en andere microben waarnam (Smit, 1976). Daarna duurde het toch nog tot ver in de negentiende eeuw voordat Louis Pasteur de essentiële betekenis van deze microscopische wezens doorzag. Hij stelde onder meer vast dat de vorming van alcohol en koolzuurgas uit

* Hoewel binnen het rijk der schimmels draadachtige en gistachtige vormen voorkomen, wordt overeenkomstig het spraakgebruik van microbiologen gesproken over gisten en schimmels, alsof het afzonderlijke groepen betrof.

Tabel 1. Door tussenkomst van gisten of schimmels gefermenteerde spijsen en dranken. Naar: Stewart & Amerine (1973), Peppler & Perlman (1979), Samson et al. (1981), Reed (1982), Rose (1982) en Steinkraus (1983).

Naam van het produkt	Grondstof	Betrokken micro-organisme(n)
Bier	gerstemout	gist (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)
Wijn	vruchtesap	" " "
Saké	rijst	" " "
Pulque	agavesap	" " "
Rum	rietsuiker	" " "
Whisky	graan	" " "
Brood	graan	" " "
Zuurdesembrood	graan	melkzuurbacteriën + gisten
Tempeh	soya	schimmel (<i>Rhizopus</i>)
Miso	soya + rijst	melkzuurbacteriën + gisten
Soya saus	soya + tarwe	schimmel (<i>Aspergillus oryzae</i>) + gisten + melkzuurbacteriën
Camembert	melk	melkzuurbacteriën + schimmel (<i>Penicillium camemberti</i>)
Brie	melk	" "
Roquefort	schapemelk	melkzuurbacteriën + schimmel (<i>Penicillium roqueforti</i>)
Gorgonzola	melk	" "
Stilton	melk	" "
Kefir	melk	melkzuurbacteriën + gisten
Kumiss	paardemelk	" "

suiker gekoppeld is aan de levensprocessen van de gist.

Veel fermentaties komen spontaan op gang nadat geschikte micro-organismen, meegekomen met de grondstof of toegetreden uit de omgeving, zich hebben genesteld en zich gaan vermenigvuldigen. Maar gaandeweg leerde de mens de natuur naar zijn hand te zetten. Ook al was de werking een mysterie, toch was duizenden jaren geleden al uit ervaring bekend

dat enting van een nieuw beslag met materiaal uit een vorige, geslaagde gisting een snellere aanzet en een gunstiger resultaat kon opleveren. Pas in de laatste eeuw evenwel opende zich geleidelijk de mogelijkheid om, gebaseerd op de groeiende kennis van de microben en hun levensverrichtingen, te komen tot beheerste industriële processen. Daarbij stonden aanvankelijk nog de traditionele levensmiddelenfermentaties centraal. Maar in de twintigste eeuw werden micro-organismen meer en meer ingeschakeld voor de produktie van allerlei gewenste chemische verbindingen. Deze ontwikkeling is nog in volle gang en verkeert zelfs in een fase van versneling en intensivering. Een aantal aspecten van deze ontwikkeling zal nu worden besproken aan de hand van enkele voorbeelden.

Alvorens hiertoe over te gaan is het noodzakelijk enige algemene begrippen kort te verklaren. Allereerst de term *fermentatie*. Oorspronkelijk werd hiermee een stofwisselingsproces aangeduid dat zonder tussenkomst van zuurstof verloopt. In het Nederlands heet dat een gisting. Het klassieke voorbeeld is de vorming van alcohol en koolzuur uit suiker. Pasteur stelde vast: 'la fermentation, c'est la vie sans air'. Maar geleidelijk heeft zich, vooral in industriële kringen, een spraakgebruik ontwikkeld waarbij met fermentatie vrijwel elk proces bedoeld kan zijn waarin micro-organismen worden ingezet. Dit geldt zelfs voor processen waarbij zuurstof onontbeerlijk is! Gelukkig heeft het woord *gisting* zijn oorspronkelijke betekenis gehandhaafd. Deze term verdient derhalve de voorkeur als het gaat om fermentatie in strikte zin.

Ten aanzien van de stoffen die door fermentatie, in brede zin, kunnen worden verkregen wordt vaak een onderscheid gemaakt tussen *primaire* en *secundaire metabolieten*. Als *primaire* metabolieten worden stofwisselingsprodukten aangemerkt waarvan de vorming gekoppeld is aan de groei van het micro-organisme. Hiertoe behoren in de eerste plaats het celmateriaal (de biomassa) van het organisme en de diverse celbestanddelen. Maar ook alcohol kan tot de *primaire* produkten worden gerekend. Immers, uit de alcoholische gisting verkrijgt de gist energie, nodig voor groei en onderhoud. Daarentegen komt de vorming van antibiotica in het algemeen pas goed op gang wanneer, bijvoorbeeld door uitputting van een essentiële voedselcomponent, de groei stagneert. Men rekent dergelijke produkten tot de *secundaire metabolieten*. Enkele belangrijke voortbrengselen

van gisten en schimmels uit de beide genoemde categorieën zijn in tabel 2 vermeld.

BAKKERSGIST

Tot in het begin van de vorige eeuw werd biergist, afkomstig uit de brouwerij, gebruikt om het brooddeeg te doen rijzen. Omstreeks het midden van de negentiende eeuw kwam echter een industriële produktie van bakkersgist op gang.

De verworvenheden van de jonge wetenschap der microbiologie leidden al spoedig tot het gebruik van een reïncultuur van *Saccharomyces cerevisiae*. Het organisme werd anaëroob gekweekt, zodat naast gist ook alcohol werd geproduceerd. Bij de op dit proces gegrondveste Nederlandse Gist- en Spiritusfabriek Delft kwam in 1884 de jonge Martinus Willem Beijerinck in dienst als microbioloog (Elema, 1970). In 1895 aanvaardde hij een leerstoel in de technische microbiologie aan de toenmalige Polytechnische School in Delft. Beijerinck werd daarmee in Nederland de eerste hoogleraar in de microbiologie.

Tabel 2. Primaire en secundaire metabolieten van gisten en schimmels.

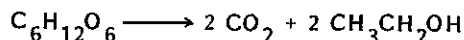
Primaire produkten	Secundaire produkten
Single-cell protein	Antibiotica
Enzymen	Ergot-alkaloïden
Coënzymen	Gibberellines
Nucleotiden	Mycotoxines
Aminozuren	Aromastoffen
Vitamines	
Sterolen	
Alcohol	
Glycerol	
Gluconzuur	
Citroenzuur	
Kooldioxyde	

Het anaëroob kweken van bakkersgist bleek overigens aanzienlijke nadelen mee te brengen. Uit de als grondstof toegevoerde suiker wordt tijdens de gisting alcohol en koolzuurgas gevormd (figuur 1). Daarbij komt slechts een geringe hoeveelheid energie in de vorm van ATP ter beschikking voor de groei van de gist. Een groot deel van de suiker moet dan ook in alcohol worden omgezet om de (uit economisch oogpunt aantrekkelijker) gist te kweken. Men ging daarom rond de eeuwwisseling over tot geaëreerde gistkweek. Hierbij wordt lucht in de gistingbak geblazen. De gist kan daardoor overschakelen op een oxydatieve stofwisseling, kortweg aangeduid als ademhaling, met volledige oxydatie van de suiker tot CO_2 en water (figuur 1). De gist krijgt daarbij de beschikking over een veelvoud van de energie die uit gisting te putten valt en de opbrengst aan celmateriaal stijgt dienovereenkomstig.

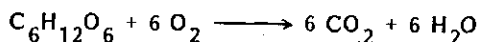
Maar zo rechtlijnig bleek het toch niet. Een erfelijk vastgelegd regelmechanisme leidt er namelijk toe dat; boven een betrekkelijk lage glucoseconcentratie in het kweekvat, de gist zelfs bij beschikbaarheid van zuurstof gaat gisten en dus alcohol gaat produceren.

Om dit glucose-effect of-Crabtree-effect te ondervangen stapte men af van het kweken in een vat waarin alle voedingsstoffen van de aanvang af voorhanden waren (batch-kweek). In plaats daarvan werd nu tijdens de kweek de voeding geleidelijk toegediend, en wel met een snelheid overeenkomend met de verbruikssnelheid. Bij een juiste bedrijfsvoering blijft de suikerconcentratie beneden de kritische waarde zodat de ongewenste alcoholproductie wordt onderdrukt. Voor de optimale uitvoering van een der-

alcoholische gisting:



ademhaling:

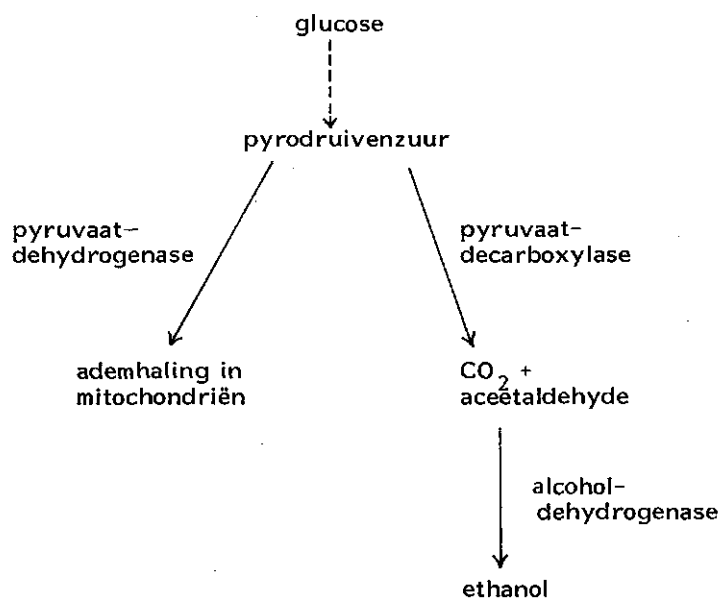


Figuur 1. Omzetting van suiker door gist via alcoholische gisting resp. ademhaling.

gelijk toeloop-procédé (fed-batch-kweek) zijn goede meet- en regeltechnieken vereist waarbij computers belangrijke diensten kunnen bewijzen voor de processturing.

De gist is bij deze kweekwijze voor zijn groei op de ademhaling aangewezen. Het mag dan ook opmerkelijk heten dat desondanks de bakkersgist in staat blijkt het deeg te doen rijzen. Hiertoe is immers een aanzienlijke productie vereist van koolzuurgas, dat door alcoholische gisting uit de in het deeg beschikbare suikers moet worden gevormd. Ondanks de oxydatieve kweekwijze van het organisme zijn dus de voor gisting benodigde enzymen, zoals pyruvaat decarboxylase, in de gist actief (figuur 2). Een interessante vraag is, of door fysiologische dan wel genetische manipulatie van de gist een verhoging van de rijkskracht kan worden bereikt.

Een belangrijke ontwikkeling heeft zich voorts voltrokken in de techniek



Figuur 2. Bij de omzetting van glucose via de ademhaling resp. via de alcoholische gisting zijn vele enzymatische stappen identiek. Pas nadat pyrodruivenzuur gevormd is splitsen zich de wegen. Pyruvaatdecarboxylase is een sleutel-enzym voor de alcoholische gisting, alsmede voor de rijkskracht (CO₂-productie) van bakkersgist.

van het drogen van gist. Het is thans mogelijk de gist in droge vorm te brengen met slechts gering verlies van activiteit. Naast het voordeel van constanter kwaliteit levert gedroogde gist ook een aanzienlijke vermindering van transportkosten op, terwijl de bevoorrading bovendien minder frequent kan zijn dan bij voorziening met verse persgist vereist is.

De bereiding van bakkersgist voor diverse specifieke doeleinden, rekening houdend met de economische voorwaarden, vraagt voortdurende verbetering van de gist en zijn kweekwijze. Ondanks de respectabele ouderdom van het produkt en de kennis omtrent produktie van de bakkersgist blijft er nog veel te onderzoeken.

ALCOHOL

Door destillatie van vergiste vloeistoffen kan alcohol (ethanol) in geconcentreerde vorm worden gewonnen. In de zeventiende eeuw werd deze wetenschap reeds op ruime schaal toegepast voor het stoken van sterke drank. In de eeuwen daarna werd alcohol een belangrijk industrieel produkt. Behalve voor consumptie en voor medische doeleinden is ethanol onder meer van belang als brandstof (spiritus), oplosmiddel, grondstof voor azijnproduktie en voor vele andere chemische omzettingen. Door de opkomst van de petrochemie in de dertiger jaren is de gistingsalcohol teruggedrongen, behalve daar waar deze voor menselijke consumptie bestemd is.

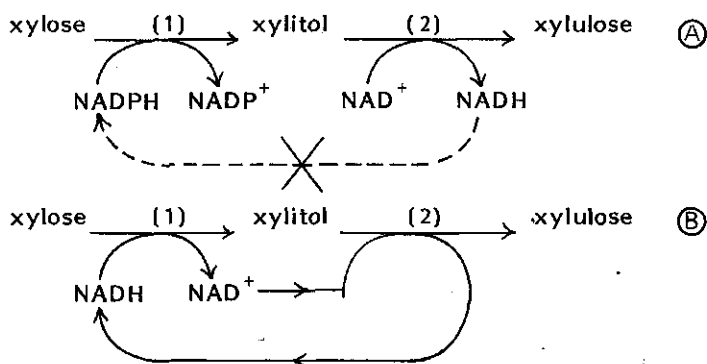
De recente oliecrisis leidt echter tot hernieuwde belangstelling voor produktie van gistingsalcohol (Kosaric et al., 1981). Zo wordt in Brazilië reeds op grote schaal alcohol uit 'hernieuwbare' grondstof, voornamelijk suikerriet, gewonnen en, na vermenging met benzine, als motorbrandstof gebruikt. Ook in de Verenigde Staten is een programma gestart voor produktie van 'gasohol' op basis van maïszetmeel. Zelfs komt de suggestie naar voren om alcohol als grondstof voor chemische syntheses te gebruiken ter vervanging van petrochemische processen (Demain et al., 1981). Over de vraag of de energiebalans van alcoholproduktie uit 'groene' grondstoffen met een batig saldo sluit is een levendige discussie gaande. Veelal zullen politieke overwegingen een beslissende rol spelen bij de keuze voor alcoholwinning uit koolhydraten van plantaardige oorsprong. Voor de economie van zo'n proces is de beschikbaarheid van een goedkope grondstof uiterst belangrijk.

Alvalstromen kunnen in dit opzicht aantrekkelijk zijn als zij een negatieve waarde hebben. Een zuiveringsproces, vereist omdat de afvalstoffen niet zonder meer in het milieu mogen worden gedeponneerd, brengt immers ook kosten mee. Dit geldt bijvoorbeeld voor afvalwater van de cellulose-industrie. Dit is rijk aan pentoses, zoals D-xylose, door hydrolyse gevormd uit hemicellulose. Omzetting van D-xylose (houtsuiker) tot alcohol kan dan een aantrekkelijk proces zijn. Aangezien *Saccharomyces cerevisiae* het vermogen mist om xylose te vergisten heeft men gezocht naar andere gisten die hiertoe wel in staat zijn. De keus blijkt zeer beperkt. Dit is opmerkelijk, omdat omstreeks 200 gistsoorten wel degelijk in staat zijn om xylose bij aanwezigheid van zuurstof te gebruiken, terwijl ze bovendien glucose kunnen vergisten tot alcohol en CO_2 (Barnett et al., 1983).

Hoewel deze gisten, door combinatie van beide vermogens, tot xylose-vergisting in staat geacht zouden moeten worden, blijkt dit in het algemeen niet het geval. Eén van de weinige uitzonderingen is de gist *Pachysolen tannophilus*, die in dit verband veelvuldig wordt bestudeerd. Overigens blijkt deze slechts over een matig vermogen tot anaërobe vergisting van xylose te beschikken.

Bij een doelgerichte screening van de gistcollectie, aanwezig bij de Gistafdeling van het Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) in Delft, kwam evenwel een beperkt aantal veelbelovende gisten naar voren (Toivola et al., 1984). In het bijzonder bleek *Pichia stipitis* tot krachtige anaërobe xylose-vergisting in staat.

De verklaring hiervan wordt gevonden (Bruinenberg et al., 1984) in de eerste twee enzymatische stappen bij de omzetting van xylose door gisten (figuur 3). Eerst moet xylose worden gereduceerd tot xylitol, dat in de volgende stap weer wordt geoxydeerd tot xylulose, een isomeer van xylose. Xylulose kan daarna verder worden omgezet waarbij uiteindelijk alcohol en CO_2 ontstaan. Het blijkt nu dat gisten die aëroob wel, doch anaëroob niet met xylose overweg kunnen, twee verschillende coënzymen gebruiken bij de opeenvolgende enzymatische omzettingen van xylose naar xylulose (figuur 3A). In de tweede stap wordt NADH gevormd, dat bij aanwezigheid van zuurstof via het ademhalingssysteem van de mitochondriën kan worden teruggeoxydeerd tot NAD^+ . Onder anaërobe voorwaarden ontbreekt die mogelijkheid. Daar in gisten geen transhydrogenase-activiteit wordt aangetroffen, moet de overdracht van reductie-equivalenten volgens



Figuur 3. De omzetting van xylose tot xylulose via xylitol (Bruinenberg et al., 1984).

A. Als het enzym xylosereductase (1) met NADPH en het enzym xylitoldehydrogenase (2) met NAD⁺ als coënzym functioneert, treedt onder anaërobe voorwaarden accumulatie van NADH op. Door het ontbreken van transhydrogenase-activiteit in gisten kan NADH geen waterstof overdragen op NADP⁺, zodat de stofwisseling stagneert.

B. Als de beide enzymen met hetzelfde coënzym kunnen functioneren doorloopt dit een gesloten redoxcyclus en treedt ook onder anaërobe condities geen stagnatie op.

de reactie: $\text{NADH} + \text{NADP}^+ \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{NADPH}$ uitgesloten worden geacht. Dit betekent dat bij omzetting van xylose door de gist onder anaërobe voorwaarden een accumulatie van NADH zal optreden en dientengevolge een tekort aan NAD⁺, nodig voor reactie (2) (figuur 3A). Het metabolisme zal daardoor stagneren.

In tegenstelling hiermee blijkt *Pichia stipitis* voor de beide reactiestappen (1) en (2) hetzelfde coënzym te kunnen gebruiken (figuur 3B). Doordat dit coënzym-systeem nu een gesloten redox-cyclus kan doorlopen behoeft geen stagnatie op te treden. Door deze uitzonderlijke eigenschap is deze gist tot goede xylose-vergisting in staat.

Naast de microbiologische gezichtspunten zijn voor een economische procesvoering ook technologische aspecten van doorslaggevende betekenis. Gisten hebben een beperkte alcoholtolerantie: de bovengrens voor gistactiviteit ligt bij omstreeks 11% ethanol. Het destilleren van alcohol uit der-

gelijke verdunde oplossingen kost veel energie. Men zoekt dan ook naar bruikbare processen waarbij ethanol tijdens de gisting continu wordt afgevoerd door extractie, membraanscheiding, vacuümbehandeling of absorptie, zodat geen remming van de gisting optreedt.

SINGLE-CELL PROTEIN

De biomassa van micro-organismen is rijk aan eiwit en kan bovendien waardevolle vitamines bevatten. De microben die zich in gefermenteerd voedsel ontwikkelen kunnen dan ook tot verhoging van de voedingswaarde leiden. In de twintigste eeuw is er daarnaast een toenemende belangstelling ontstaan voor het op grote schaal kweken van micro-organismen zelf als voedsel voor mens en dier.

Paddestoelen, vanouds als voedsel gezocht en mede om hun smaak kwaliteiten gewaardeerd (Gray, 1970-1973), worden in toenemende mate en verscheidenheid in cultuur gebracht, zoals Wessels in zijn hoofdstuk bespreekt. Voor het kweken van paddestoelen wordt gebruik gemaakt van goedkope substraten in de vorm van plantaardig afval, waarbij overigens veel onderzoek is vereist om tot optimale produktieomstandigheden te komen (Peppler & Perlman, 1979; Rose, 1979; Aidoo et al., 1982). Het blijkt ook mogelijk, mycelium van paddestoelen te kweken in vloeibaar medium in een fermentor, waarbij toch het typische paddestoelaroma tot stand komt (Dijkstra, 1976).

Een andere ontwikkeling is het gebruik van overvloedige biergist, afvalprodukt van de brouwerij, die in veevoer wordt verwerkt en in beperkte mate ook voor menselijke consumptie gebruikt wordt.

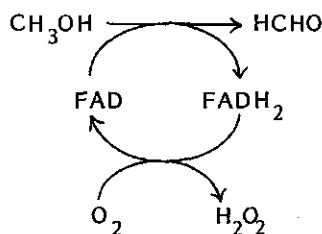
Met talrijke variaties is gepoogd om met behulp van micro-organismen tot economisch rendabele processen te komen voor produktie van eiwitten, single-cell protein (SCP), uit de polymeren lignine, cellulose, hemicellulose en zetmeel, die in de vorm van allerlei plantaardig afval steeds weer beschikbaar komen (Rose, 1979; Smith et al., 1983). Naast technologische mogelijkheden zijn, evenals bij de alcoholproduktie, vooral economische randvoorwaarden bepalend voor de levensvatbaarheid van dergelijke processen. Aan schimmels en gisten valt hierbij een belangrijke rol toe. Enkele in dit kader veel bestudeerde schimmels zijn: *Chaetomium cellulolyticum*, *Fusarium moniliforme*, *Paecilomyces variotii* en *Trichoderma viride*.

Voor de omzetting van zetmeelhoudend afvalwater wordt in Zweden het Symba-proces toegepast. Hierin zijn twee gisten in een samenspel verenigd: *Endomyces fibuliger* die zetmeel splitst met behulp van een amylase en *Candida utilis* die zelf amylase mist maar gebruik maakt van de vrijkomende suikers. Er treedt een evenwicht in: hoewel *C. utilis* veel sneller groeit, blijft *E. fibuliger* als onontbeerlijke leverancier van amylase constant aanwezig op 4% van de totale celmassa.

Een interessante mogelijkheid, die enige tijd grote belangstelling heeft ondervonden, is het kweken van gisten op alkanen uit aardolie. Een aanzienlijk aantal gisten kan koolwaterstoffen omzetten; o.a. *Yarrowia (Candida) lipolytica*. De eerste stap is een reactie met moleculaire zuurstof, waarna de aldus gevormde primaire alcohol verder wordt geoxydeerd en als bron van koolstof en energie dienst doet. Daar de koolwaterstof in water vrijwel niet oplost dient deze in de vorm van een fijne emulsie te worden gebracht. De gistcellen moeten rechtstreeks contact maken met de microdruppeltjes om het alkaan te kunnen opnemen. De gist blijkt zich hierop in te stellen door lipofiele stoffen te deponeren in de celwand, zodat de hydrofobe koolwaterstofdruppeltjes zich daartegen aanvlijen. Overigens is de eiwitproductie uit aardolie geen succes geworden. Het proces brengt hoge energiekosten mee door de vereiste krachtige aëratie en vergt aanzienlijke koelwaterstromen wegens de sterk exotherme omzetting in de fermentor. De vrees dat restanten van koolwaterstoffen in de gist tot schadelijke effecten bij de consument zouden kunnen leiden heeft, tezamen met de stijging van de aardolieprijzen, de belangstelling voor SCP op basis van alkanen doen verdwijnen.

Als grondstof voor SCP-productie komen ook ethanol en methanol in overweging. Deze lagere alcoholen zijn goed te zuiveren en in elke gewenste verhouding met water te mengen. Gezien de prijsverhoudingen gaat de grootste belangstelling uit naar methanol. Een niet gering aantal gisten kan hierop groeien; enkele bekende studieobjecten zijn *Hansenula polymorpha*, *Candida boidinii* en *Pichia pastoris*. De eerste stap in de omzetting van methanol is de oxydatie tot formaldehyde met zuurstof onder invloed van alcoholoxydase. Dit enzym heeft flavine adenine dinucleotide als prosthetische groep en produceert bij de omzetting van methanol tevens waterstofperoxyde (figuur 4). Deze toxische verbinding wordt evenwel snel ontleed door een tweede enzym, katalase. Beide enzymen blijken

alcoholoxydase

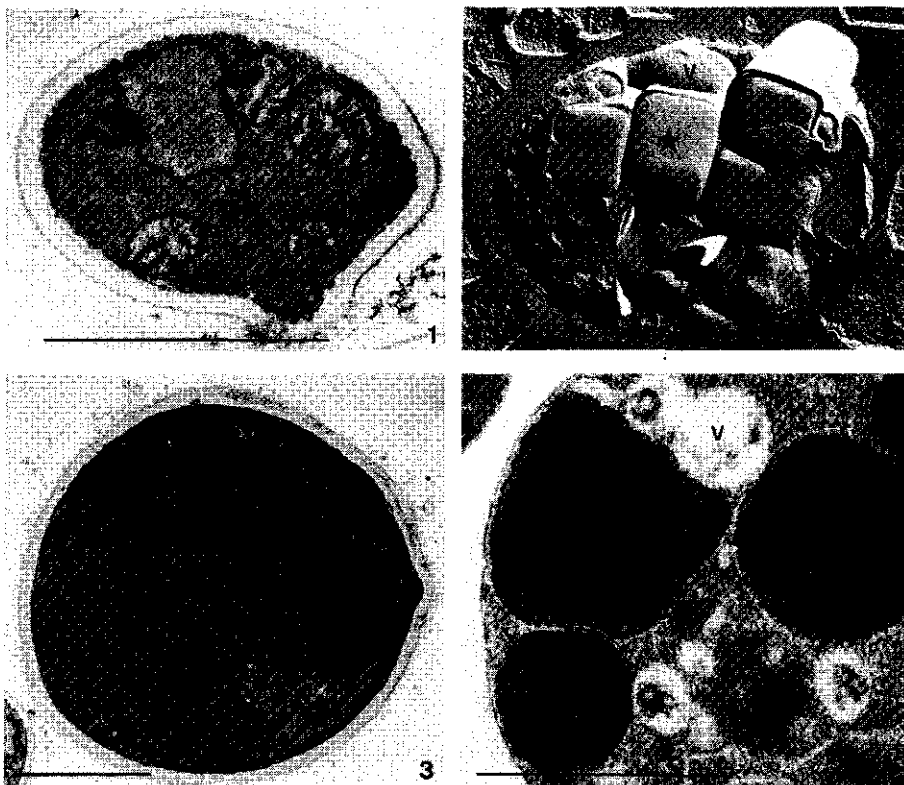


Figuur 4. Enzymatische oxydatie van methanol.

in de gistcel gelokaliseerd binnen speciale organellen, de peroxysomen of 'microbodies' (Veenhuis et al., 1983). Deze bijna cubische insluitsels kunnen bij op methanol gekweekte gisten een groot deel van het celvolume innemen, terwijl ze na toediening van glucose weer snel verdwijnen op één enkel klein organel na (figuur 5). Binnen een membraan blijken peroxysomen volgestapeld met moleculen van het enzym alcoholoxydase, gerangschikt in een regelmatig rooster, terwijl in de holtes van dit rooster de veel kleinere moleculen van katalase beweeglijk zijn. Overigens moeten gisten bij groei op methanol ook speciale stofwisselingsroutes (C1-metabolisme) inschakelen om uit verbindingen met één koolstofatoom te komen tot de synthese van alle benodigde celbestanddelen.

Een aardige bijzonderheid is de opkomst van *Phaffia rhodozyma* als voedergist. Deze maakt een carotenoïde pigment. De kleurstof wijkt af van die in vele andere rode of oranje gisten. *Ph. rhodozyma* maakt namelijk astaxanthin, een carotenoïde dat voornamelijk in dieren voorkomt, o.a. in de veren van bepaalde vogels, in kreeften, en in zalmachtige vissen. Na een voorbewerking om de celwand van de gist te ontsluiten kan *Phaffia* worden toegevoegd aan het voedselpakket voor volière of viskwekerij, om aldus de begeerde kleurverdieping bij de onderhavige fauna te bewerkstelligen.

De toxicologische eisen die aan SCP worden gesteld zijn terecht hoog, mede gezien de mogelijkheid dat via de voedselketen accumulatie van ongewenste stoffen plaatsvindt. Gisten, en in het bijzonder *Saccharomyces cerevisiae*, worden in dit opzicht met minder wantrouwen gezien dan draad-



Figuur 5. Elektronenmicroscopische opnamen van de gist *Hansenula polymorpha*, gekweekt in batch-cultuur met 0,5% glucose, resp. in methanol-gelimiteerde chemostaat-cultuur ($D = 0,07 \text{ h}^{-1}$). In de op glucose gekweekte gist kan per cel één klein peroxysoom worden waargenomen (1), terwijl de op methanol gegroeide cellen grote aantallen cubische peroxysomen bevatten (2, 3). De membranen die deze organellen omringen vertonen gladde breukvlakken in vries-etspreparaten (2*). De kristallijne aard van het inwendige van de peroxysomen blijkt na fixatie van sferoplasten met glutaraaldehyde - osmiumzuur (4, zie pijlen). K = kern; M = mitochondrion; P = peroxysoom; V = vacuole. De maatstreek geeft 1 μm aan. (Foto's: M. Veenhuis en W. Harder, Rijksuniversiteit Groningen.)

vormige schimmels. De grote verscheidenheid van mycotoxines (zie het hoofdstuk van Mössel) geeft hiertoe zeker aanleiding. Pas na een uitvoerig toxicologisch onderzoek, waarin langdurige voederproeven een belangrijke plaats innemen, kan een produkt de begeerde GRAS-status ('generally recognized as safe') verkrijgen.

Voor menselijke consumptie heeft microbiëel celmateriaal bovendien het bezwaar dat het een relatief hoog gehalte aan nucleïnezuren bevat: men kweekt immers bij voorkeur snel groeiende organismen, en dit houdt in dat de cellen veel nucleïnezuren bevatten, vooral ribonucleïnezuur (RNA). In de menselijke stofwisseling wordt uit purines urinezuur gevormd, dat bij verhoogde concentratie in het lichaam kan leiden tot klachten als jicht. Als veilige grens voor menselijk gebruik heeft men daarom 10-30 g single-cell protein per dag gesteld. Het is evenwel langs verschillende wegen mogelijk het RNA grotendeels van het eiwit af te zonderen, waardoor genoemd bezwaar verdwijnt. Bij gebruik van het single-cell protein als veevoeder is dit niet nodig aangezien dieren over enzymen beschikken om het urinezuur verder om te zetten.

ENZYMEN

In toenemende mate worden specifieke biologische katalysatoren waarmee de levende cel zijn stofwisseling volvoert gewonnen uit bacteriën, gisten en schimmels, om vervolgens, in meer of minder gezuiverde staat, te worden gebruikt voor zeer uiteenlopende industriële, huishoudelijke, of therapeutische doeleinden (Rose, 1977- 1983; Godfrey & Reichelt, 1983).

Een vooraanstaande plaats nemen hierbij de hydrolytische enzymen in die door micro-organismen worden uitgescheiden in het omringend medium (vergelijk het hoofdstuk van Wessels). Deze extracellulaire enzymen of exo-enzymen omvatten o.a. proteïnases, lipases, amylases, cellulases, hemicellulases en pectinases. Ze splitsen respectievelijk eiwitten, vetten, zetmeel, cellulose, hemicellulose en pectine in kleinere moleculen die, in tegenstelling tot hun polymere substraten, door het micro-organisme in de cel kunnen worden opgenomen en gemetaboliseerd.

Proteïnases, ook wel proteases genoemd, worden vooral toegepast in wasmiddelen en bij de kaasbereiding. Voor de enzymatische verwijdering van eiwitten uit wasgoed worden alkalische proteasen van bacteriën (*Ba-*

cillus-stammen) op grote schaal gebruikt. Ze zijn voor dit doel zeer geschikt doordat hun pH-optimum in het alkalische gebied ligt.

Daarentegen worden bij de kaasbereiding, die in zuur milieu verloopt, zure proteasen van schimmels gebruikt. *Mucor miehei* levert een enzym met een pH-optimum van 4,5, dat de caseïne voldoende splitst om stremming van de melk teweeg te brengen, maar dat, mits onder de juiste procesomstandigheden, de proteolyse niet zo ver voortzet dat consistentie en smaak van de kaas daaronder ernstig lijden. Het schimmelenzym heeft een goede markt verworven ter vervanging van het leb-ferment rennine, dat gewonnen werd uit kalvermagen. Zeer recent is Gist-Brocades er echter in geslaagd het dierlijke gen, dat in het kalf codeert voor de vorming van rennine, door genetische manipulatie over te brengen in een gistcel. Het gecloneerde gen komt in de gist inderdaad tot expressie, zodat nu rennine door *Kluyveromyces lactis* wordt gemaakt! Het leb-substituut uit *Mucor miehei* heeft daarmee waarschijnlijk zijn langste tijd gehad.

Voor zetmeelsplitsende enzymen liggen de toepassingen, behalve bij het ontstijfselen in de textielindustrie, vooral bij de hydrolyse van zetmeel tot suikers (glucose, maltose, maltotriose) en dextrines, met het doel deze te gebruiken als zoetstof in voedingsmiddelen, dan wel als koolstofbron voor fermentaties. Hiertoe heeft men de beschikking over een grote verscheidenheid aan amylases en glucoamylases, uiteenlopend in specificiteit en optimale procesomstandigheden. Naast bacteriële amylases zijn enzymen uit *Aspergillus oryzae* van industriële betekenis.

Voor cellulases en hemicellulases ligt een potentiële markt in de hydrolyse van cellulose en hemicellulose tot cellobiose, glucose, xylose en andere suikers die kunnen worden vergist tot alcohol. Een belangrijke hinderenis vormt de associatie van de natuurlijke polymeren met lignine, waardoor ze slecht toegankelijk zijn voor enzymatische afbraak. Daarbij komt dat cellulases sterk worden geremd door hun eigen produkten zodat de hydrolyse spoedig stagneert, tenzij de vrijgekomen suikers voortdurend worden afgevoerd.

Pectinases, een verzamelnaam voor o.a. polygalacturonases, pectineësterases en pectinelyases, worden industrieel toegepast voor het klaren van vruchte- en groentesappen. De voornaamste bron van de enzympreparaten uit schimmels is *Aspergillus niger*.

Een voorbeeld van toepassing van een enzym met een laag-moleculair

substraat is β -galactosidase, dat het disaccharide lactose splitst in glucose en galactose. Bij personen met lactose-intolerantie treden na gebruik van melkprodukten darmstoornissen op. Deficiëntie van de darmwand in het lactose-splitsend enzym maakt dat de melksuiker onveranderd in de dikke darm belandt en daar door darmbacteriën kan worden omgezet in schadelijke produkten. Voorbehandeling van de melk met β -galactosidase neemt dit euvel weg, daar glucose en galactose via de darmwand in het bloed worden opgenomen. Een bijkomend effect is dat de melk door de behandeling zoeter wordt. Het enzym kan onder meer worden verkregen uit de gist *Kluyveromyces lactis*. Door het enzym te verankeren aan grotere deeltjes kan het op eenvoudige wijze worden gescheiden van de behandelde vloeistof. Immobilisatie van enzymen of zelfs intacte cellen, met behoud van activiteit, kan plaats vinden door chemische koppeling, adsorptie, of insluiting in een matrix. Hierdoor worden de toepassingsmogelijkheden voor enzymatische omzettingen aanzienlijk verruimd.

PENICILLINES EN CEFALOSPORINES

De produktie van penicilline met behulp van de schimmel *Penicillium chrysogenum* heeft een hoge vlucht genomen. Stamverbetering door mutatie en selectie, gepaard aan verbetering van de fermentatie-technologie, heeft sinds 1945 geleid tot een 10 000-voudige verhoging van de opbrengst op basis van suikerverbruik door de schimmel (Rose, 1979; Peppler & Perlman, 1979; Hersbach et al., 1983; zie ook het hoofdstuk van Wessels).

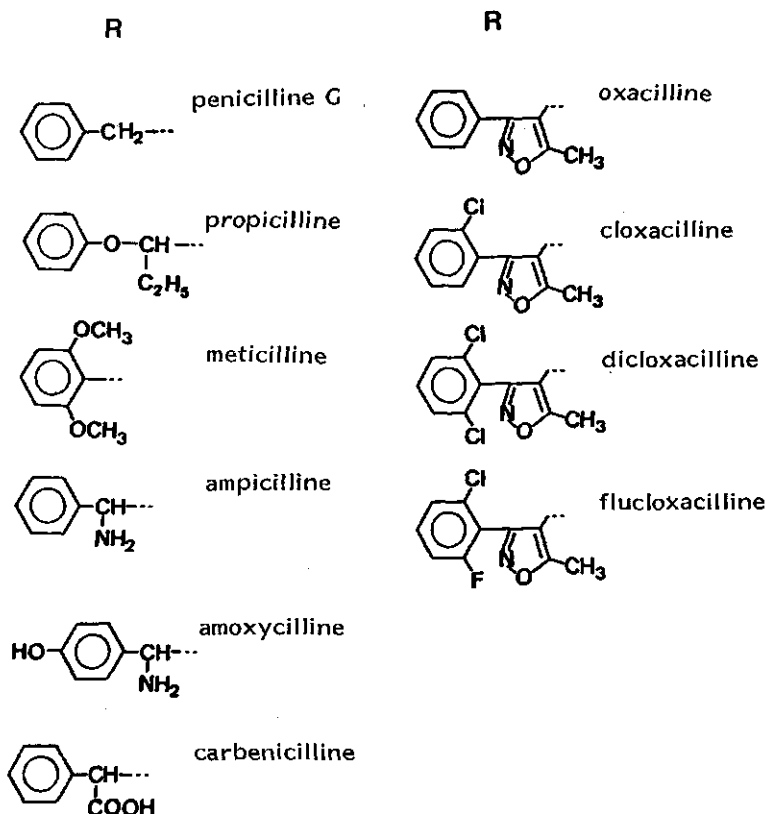
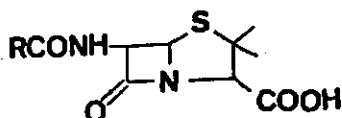
Het kweken van schimmels in grote fermentors is pas mogelijk geworden door het baanbrekend werk dat Kluyver en Perquin in de dertiger jaren aan de Technische Hogeschool in Delft hebben verricht. Zij toonden aan dat het mycelium zich submers, dat is ondergedompeld in de waterfase, laat kweken, mits voldoende zuurstof wordt toegevoerd (aëratie) en goed wordt geroerd (agitatie), dit alles met inachtneming van de vereiste asep-sis. Kossen en medewerkers aan de Technische Hogeschool in Delft hebben later nagegaan hoe door keuze van de procesomstandigheden invloed is uit te oefenen op de morfologie van de schimmel. Al naar gelang deze zich als los mycelium (pulp) of als compacte pilletjes (pellets) ontwikkelt, kan de viscositeit van de cultuur en de produktiviteit sterk verschillen (Smith et al., 1983).

Antibiotica zijn secundaire metabolieten: hun vorming komt pas goed op gang nadat de groei van de schimmel reeds een eindweegs is voortgeschreden. Terwijl het mycelium zich na de eerste twee dagen van de fed-batch-kweek nauwelijks meer vermeerdert, blijkt de penicillineconcentratie gedurende de volgende 4-5 dagen nog gestaag op te lopen. Daarna volgt de belangrijke fase van de afscheiding van het produkt uit de cultuur. Door verbetering van de opwerkingstechnologie is de winning van penicilline G uit de fermentorkweek tussen 1950 en 1980 gestaag gestegen van 60% tot 90% van het aanwezige antibioticum.

De vorming van penicilline G (figuur 6) wordt bevorderd door tijdens de fermentatie geleidelijk fenylazijnzuur toe te voegen, dat als voorloper voor de zijketen van dit antibioticum dienst doet. Penicilline G kan zelf voor therapeutische doeleinden gebezigd worden, maar dient vooral als grondstof voor de bereiding van andere antibiotica.

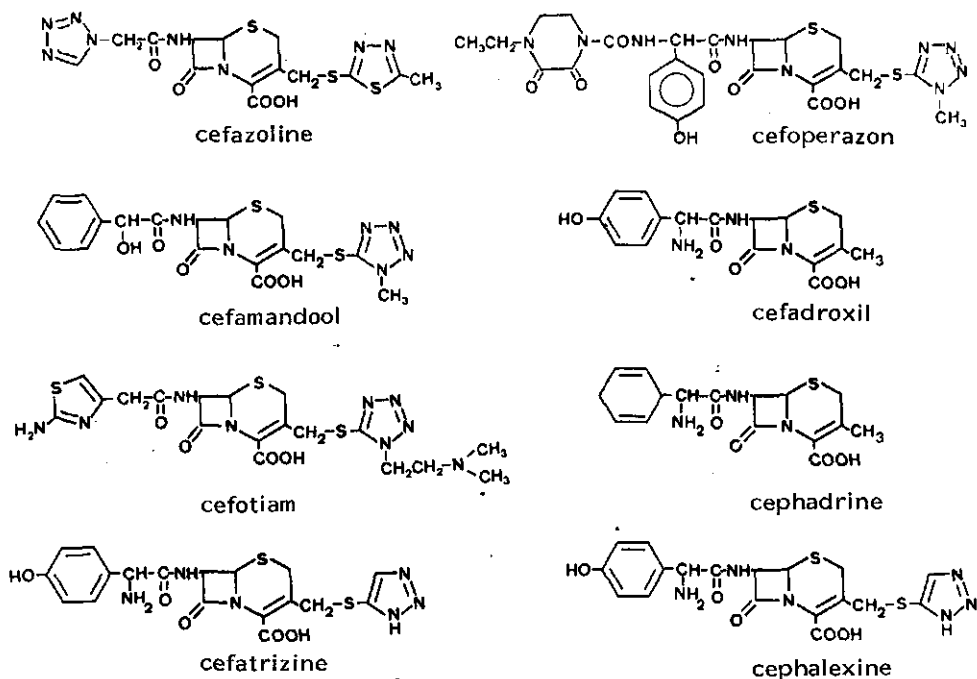
Langs chemische of enzymatische weg kan namelijk de fenylazijnzuurzijketen van penicilline G van het antibioticum worden afgesplitst waardoor het 6-aminopenicillaanzuur (6-APA) overblijft. Door vervolgens een andere zijketen aan 6-APA te koppelen ontstaat een semi-synthetisch penicilline met andere therapeutische mogelijkheden (figuur 6). Methicilline, oxacilline en de cloxacillines zijn stabiel tegenover bacteriële penicillinases (β -lactamases), en daardoor actief tegen infecties, veroorzaakt door penicilline-resistente stafylococcen. In tegenstelling tot de oorspronkelijke penicillines zijn ampicilline en amoxicilline ook werkzaam tegen gram-negatieve bacteriën.

De cefalosporines vormen een met penicillines verwante groep van antibiotica. De kern van het molecuul bevat nu echter naast de β -lactamring een heterocyclische 6-ring, in plaats van een 5-ring zoals bij penicilline. Het oorspronkelijke cefalosporine C, gevormd door een schimmel van het geslacht *Acremonium* (voorheen *Cephalosporium*), bleek werkzaam tegen gram-negatieve bacteriën en bovendien goed bestand tegen β -lactamases van stafylococcen. Gist-Brocades slaagde erin de cefalosporine-kern te verkrijgen door chemische modificatie van het goedkope penicilline G, waarbij de 5-ring tot een 6-ring wordt verwijdd. Daardoor kon dus, zonder gebruik te maken van *Acremonium strictum*, en aldus octrooi problemen omzeilend, een economisch rendabel produktieproces worden verwezenlijkt. Het aantal variatiemogelijkheden is bij de cefalosporines nog groter dan



Figuur 6. Semi-synthetische penicillines, gevormd door invoering van verschillende substituenten (R) in 6-amino-penicillaanzuur (naar Hersbach et al., 1983).

bij de penicillines en zo wordt een scala van therapeutische mogelijkheden bestreken met semi-synthetische cefalosporines (figuur 7). Evenals bij de penicillines komen ook onder de cefalosporines verschillende vertegenwoordigers voor die bestendig zijn tegen het maagzuur en daardoor voor orale toediening in aanmerking komen.



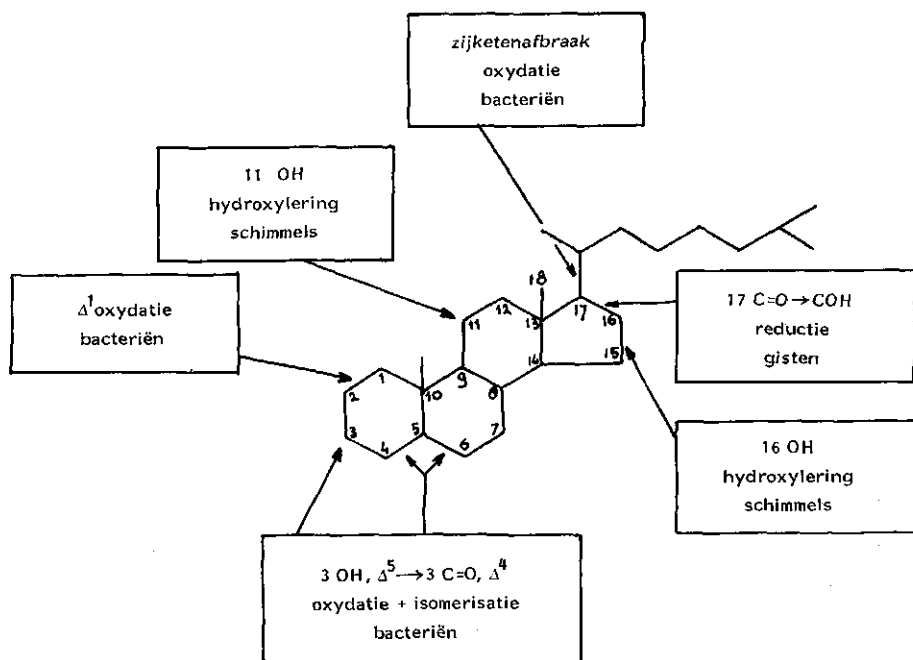
Figuur 7. Semi-synthetische cefalosporines (Hersbach et al., 1983).

STERÖID-CONVERSIES

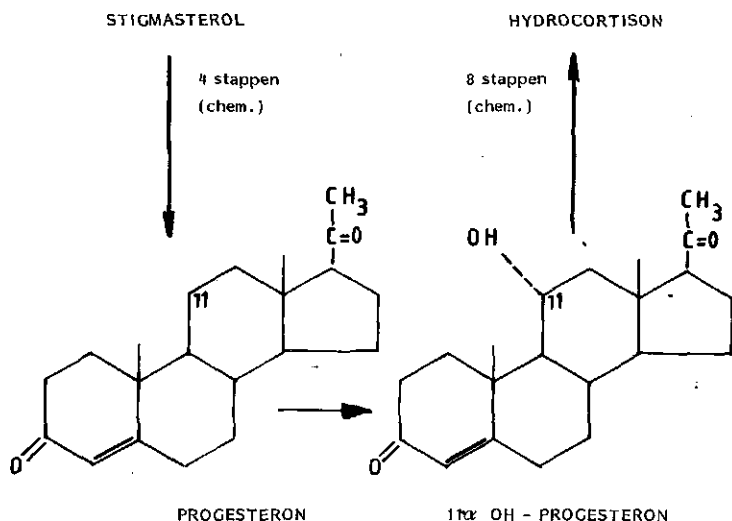
Micro-organismen beschikken over tal van mogelijkheden om stapsgewijs omzettingen in moleculen tot stand te brengen. Onder geschikte condities zal bakkersgist snel overgaan tot de afbraak van suikers. En indien de zuurstofvoorziening niet te ruim is wordt een niet onaanzienlijk reducerend vermogen gegenereerd dat voor velerlei doeleinden kan worden gebruikt. Een oud voorbeeld is de reductie van nitrobenzeen tot aniline, een omzetting die ver verwijderd is van het reguliere metabolisme van gist. Het blijkt dan ook dat het organisme soms weinig kieskeurig te werk gaat en in staat is bepaalde enzymen te gebruiken met heel andere dan de natuurlijke substraten.

Hiervan kan gebruik worden gemaakt bij de synthese van uiteenlopende organische verbindingen die langs andere weg moeilijk of met geringe opbrengst zijn te bereiden. Daar komt bij dat dergelijke bioconversies veel-

al stereo-specifiek verlopen. Gezien het belang van de stereochemische configuratie voor de biologische activiteit is in sommige gevallen de microbiologische stap in het productieproces onmisbaar. Een goed voorbeeld daarvan is te vinden bij de steroid-conversies (Rose, 1981). Voor een aantal ingrepen in het steroid-molecuul kunnen bacteriën, gisten of schimmels worden gebruikt (figuur 8). De stereospecifieke invoering van de hydroxylgroep op de 11-plaats van progesteron door *Aspergillus ochraceus*, *Rhizopus nigricans* en andere fungi vormt een fraaie toepassing van schimmels (figuur 9). Om bij de hydroxylering de OH-groep in α -positie te brengen, hetgeen essentieel is voor de biologische activiteit van farmaceutische producten als hydrocortison, cortison, prednison en prednisonol, is de microbiologische stap tot nu toe onontbeerlijk gebleken. Ook bij de synthese van desogestrel, het werkzame bestanddeel van het nieuwe orale contraceptivum Marvelon, vormt de microbiële 11α -hydroxylering een



Figuur 8. Industriële steroidomzettingen waarbij micro-organismen kunnen worden gebruikt.



Figuur 9. Steroïdomzettingen, waarin de microbiologische 11-hydroxyle-
ring van progesteron een onontbeerlijke stap vormt.

sleutelreactie. Wegens de zeer geringe oplosbaarheid in water van de om te zetten verbindingen is het noodzakelijk de schimmel in direct contact te brengen met kristallen van het om te zetten steroïd. Het industriële conversieproces wordt uitgevoerd in batch-cultuur op kleine schaal, maar een fermentor van 2000 liter vertegenwoordigt dan ook een klein kapitaal.

PRODUKTIE VAN GEUR- EN SMAAKSTOFFEN

De aanwezigheid van aroma- en smaakstoffen is in belangrijke mate bepalend voor de kwaliteit van voedingsstoffen en hierop kunnen micro-organismen een nauwelijks te overschatten invloed uitoefenen (Margalith, 1981). Dit geldt in het bijzonder voor door fermentatie verkregen producten. Bij wijn, bier en andere alcoholische dranken kan ten aanzien van de sensorische kwaliteit zelfs van een cultus gesproken worden (zie ook het hoofdstuk van Verhoeff). Tijdens de produktie van alcoholische dranken is de gist niet alleen verantwoordelijk voor de omzetting van suikers in alcohol en koolzuurgas, maar ook betrokken bij het komen en gaan van een lange reeks aroma-bestanddelen zoals acetaldehyde, azijnzuur, diace-

tyl, esters, foezelalcoholen, glycerol, hogere vetzuren, zwavelwaterstof en dimethylsulfide (Rose, 1977-1983, vol. 1; Dittrich, 1977; Margalith, 1981).

De juiste aroma-ontwikkeling komt meestal pas langzaam tot stand tijdens de rijping, na de hoofdgisting. Indien een alcoholische drank via een continu gistingsproces wordt bereid - hetgeen tot de mogelijkheden behoort - zal dit toch door een discontinu rijpingsproces moeten worden gevolgd, tenzij de rijping door technologische kunstgrepen kan worden versneld of met een produkt met afwijkende smaak eigenschappen genoeg kan worden genomen.

Het aantal componenten dat via de pieken in gaschromatogrammen is te detecteren in alcoholische dranken kan de honderd verre overschrijden. Door koppeling van de gaschromatograaf aan een massaspectrometer zijn vele van de gedetecteerde verbindingen te identificeren. Over hun vormingswijze bestaat nog lang niet in alle gevallen duidelijkheid. Ook over hun bijdrage tot de kwaliteit is vaak moeilijk uitsluitsel te verkrijgen. De grootte van de piek in het gaschromatogram behoeft geenszins evenredig te zijn aan het sensorisch effect van de betreffende component: de gevoeligheid van de detector in de gaschromatograaf loopt niet parallel aan die van onze waarnemingsorganen! Bovendien kunnen bepaalde componenten elkaars effect versterken of verzwakken. Het proef-panel blijft dan ook voorhands onmisbaar bij de kwaliteitsbeoordeling. Wel is het duidelijk dat naast het uitgangsmateriaal en de gistingscondities de gebruikte giststam grote invloed kan hebben op het resultaat. Gebruik van reïncultures of gedefinieerde mengcultures van gisten, geselecteerd op het gewenste aromavormend vermogen, kan leiden tot een produkt van een constante, hoge kwaliteit. In de bierbrouwerij is de reïncultuur al omstreeks een eeuw ingeburgerd. In de Japanse saké-brouwerij heeft de reïncultuur pas later zijn intrede gedaan en het meest recent is deze ontwikkeling op gang gekomen in de wijncultuur. Thans wordt daar echter op grote schaal gebruik gemaakt van industrieel voorgekweekte gisten, die in actieve gedroogde toestand kunnen worden geleverd om tijdens de campagne te worden ingezet.

Diacetyl wordt door de gist gevormd via een zijspoor van biosynthese van de aminozuren leucine en valine. Afhankelijk van het type drank is het 'boter'-aroma reeds bij gehalten diacetyl tussen 0,1 en 0,5 mg/l te proeven. Te hoge concentraties van deze smaakbedervende component

kunnen door de gist tijdens de rijping worden geëlimineerd door reductie tot acetoïne of, nog een stap verder, tot 2,3-butaandiol. Dit is een voorbeeld van het in de vorige paragraaf besproken reductievermogen van gisten. De gevormde verbindingen hebben een veel hogere waarnemingsdrempel.

Acetaldehyde is slechts één van de typische aromacomponenten van sherry-wijnen, maar met 300 mg/l in kwantitatief opzicht de belangrijkste. Tijdens de rijping raakt het oppervlak van deze wijn in het vat geheel overgroeid met een dek van oxydatieve gisten, die verantwoordelijk zijn voor de ontwikkeling van het typische bouquet. Gebruik makend van uit Spaanse sherry-vaten geïsoleerde 'flor'-gisten is het in Finland gelukt, uit het sap van wilde bessen een sprankelend rode wijn met een voortreffelijk sherry-aroma te maken.

Bij verdergaande oxydatie gaat acetaldehyde over in azijnzuur. In de meeste dranken worden hogere concentraties azijnzuur als smaakafwijking ervaren (de waarnemingsdrempel in bier ligt bij 200 mg/l). In het rond Brussel gebrouwen lambiek en geuzebier is daarentegen het azijnzuur één van de typische aromabestanddelen. Het ontstaat daarin tijdens een 'wilde gisting', dat wil zeggen dat niet opzettelijk geënt wordt. Naast uiteenlopende gistsoorten dienen zich ook coliforme bacteriën, melkzuur- en azijnbacteriën in successie aan (Van Oevelen et al., 1976). Tot de typische vertegenwoordigers van de microflora van deze bieren behoren gisten van de geslachten *Brettanomyces* en *Dekkera*. Tijdens de narijping op vat en fles, gedurende één of meer jaren, worden de gevormde produkten melkzuur en azijnzuur onder invloed van esterasen in deze gisten gedeeltelijk aan alcohol gekoppeld, onder vorming van esters als ethyllactaat en ethylacetaat. Deze esters bepalen mede het typische aroma van deze zure bieren, die met gehaltes van 500-1300 mg/l melkzuur en 500-4000 mg/l azijnzuur een pH van 3,4-3,9 bereiken.

De meest op de voorgrond tredende ester in alcoholische dranken is ethylacetaat, dat tijdens de gisting door reactie van alcohol met acetylcoënzym A in de gist ontstaat. De smaakdrempel in bier ligt bij omstreeks 20 mg/l; boven 30 mg/l wordt de smaak van het bier wegens het fruitig aroma onacceptabel. Dergelijke waarden zijn echter betrekkelijk: lambiek kan tot 500 mg/l ethylacetaat bevatten, en in wijn is veelal pas boven 200 mg/l van smaakbederf sprake. De topkwaliteit van Japanse 'rijstwijn', sa-

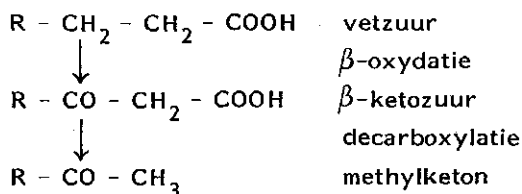
ké, bevat 120 mg/l van deze ester, terwijl de gewone saké niet hoger komt dan 30 mg/l. Recordhouder onder de gisten is *Hansenula anomala*, die het tot 9000 mg/l ethylacetaat brengt en dan ook als een zeer onwelkome indringer in de gistingskuip wordt beschouwd.

Afgezien van *Botrytis cinerea*, die via de 'pourriture noble' van de wijn-druiif zijn invloed doet gelden, zoals door Verhoeff in zijn hoofdstuk wordt aangegeven, is voor draadvormige schimmels geen rol van betekenis weggelegd bij de totstandkoming van alcoholische dranken. Daarentegen spelen ze een hoofdrol bij de aromavorming in de schimmelkazen.

Bij de zachte kaassoorten Camembert en Brie is de buitenzijde begroeid met *Penicillium camemberti* en *Geotrichum candidum*. In de blauwe kazen Roquefort, Gorgonzola, Stilton en daarvan afgeleide fabrieksprodukten groeit *Penicillium roqueforti*, met blauw-groene konidiën. De schimmels scheiden exo-enzymen uit in de kaasmassa. Door proteïnases wordt de caseïne gedeeltelijk afgebroken, zodat de kaas geleidelijk zachter van consistentie wordt om uiteindelijk tot vervloeiing over te gaan. Door lipasewerking wordt het melkvet gesplitst en de vrijkomende vetzuren leveren zelf een belangrijke bijdrage aan het aroma van de kaas. Bij de blauwe kaassoorten worden de vrije vetzuren bovendien gedeeltelijk geoxydeerd, waarbij via β -oxydatie een β -ketozuur ontstaat, dat vervolgens wordt gedecarboxyleerd tot een methylketon met één koolstofatoom minder dan het oorspronkelijke vetzuur (figuur 10). Zo ontstaat uit laurinezuur het 2-undecanon, en uit caprylzuur het 2-heptanon. De methylketonen verliezen een pikante geur en smaak aan de blauwe kazen. Een concentraat van dit kaasaroma voor verwerking in sauzen kan worden verkregen door melkvet, na behandeling met lipase waardoor de vetzuren vrijkomen, te mengen met de blauwe konidiën van *Penicillium roqueforti* en het geheel enigszins te aëreran zodat oxydatie tot methylketonen zich kan voltrekken.

Naast de genoemde activiteiten moet nog de vorming van (-)-1-octeen-3-ol worden genoemd. Deze verbinding ontstaat waarschijnlijk uit linolzuur en geeft een paddestoelaroma. De optimale concentratie in schimmelkazen ligt bij 10 mg/l.

Dit 1-octeen-3-ol wordt ook geproduceerd door schimmels die paddestoelen vormen. Dijkstra (1976) vond dat de paddestoelsmaak van uiteenlopende soorten als de champignon (*Agaricus bisporus*) en de geschubde inktzwam (*Coprinus comatus*) vooral wordt bepaald door (-)-1-octeen-3-ol,



Figuur 10. Vorming van methylketon uit vrij vetzuur door konidiën van *Penicillium roqueforti*.

5'-guanosinemonofosfaat en glutaminezuur. Een andere champignon, *Agaricus bitorquis*, bevatte, evenals de oesterzwam (*Pleurotus ostreatus*), 5-7 maal zo veel 1-octeen-3-ol als *Agaricus bisporus*, terwijl *Calvatia gigantea*, de reuzebovist, zelfs 58 maal zo veel van deze stof bevatte. Het is ook mogelijk *Agaricus* en *Coprinus* submers in een fermentor te kweken, waarbij mycelium met een goede paddestoelsmaak kan worden verkregen.

UITZICHT

Zoals reeds aan het voorbeeld van rennine werd getoond, kunnen genen van dierlijke herkomst momenteel in een gist worden gekloneerd en tot expressie gebracht. Een overeenkomstig resultaat werd onlangs bij Unilever bereikt, waar een plantaardig gen in *Saccharomyces cerevisiae* tot expressie werd gebracht (Edens et al., 1984). Het produkt van dit gen is een eiwit, thaumatine, waarvan de zoetkracht die van suiker 2000-voudig overtreft. Ongetwijfeld zullen in de nabije toekomst nog velerlei genen van plantaardige en dierlijke oorsprong worden gekloneerd in gisten en wellicht ook in draadvormige schimmels, daarmee de rol van deze eukaryoten in industriële produkties versterkend. Naast de genetica dient echter de fysiologie van industriële micro-organismen zeker niet te worden verwaarloosd. Bij de nieuwe ontwikkelingen hebben cultuurcollecties zoals die van het Centraalbureau voor Schimmelcultures in Baarn en Delft (von Arx & Schipper, 1978) een voorname functie te vervullen, onder meer als 'genenbanken': opslagplaatsen van in de organismen aanwezige erfelijke eigenschappen.

Een thans gangbare definitie van biotechnologie luidt: 'het geïntegreerd

gebruik van microbiologie, biochemie, moleculaire genetica en procestechnologie om te komen tot praktische toepassing van de mogelijkheden van micro-organismen, celculturen, of delen van micro-organismen of cellen'. Hoewel de biotechnologie stellig geen panacee kan zijn voor alle wereldproblemen, mag een niet onbelangrijke bijdrage van deze multidisciplinaire wetenschap voor de toekomst van de mensheid tegemoet worden gezien (Verbraeck, 1980; Van Apeldoorn, 1981; Bull et al., 1982; Van Hemert et al., 1983; Houwink et al., 1983). Het voorgaande moge hebben geïllustreerd dat daarin volop plaats toekomt aan schimmels, zowel gistachtige als draadvormige schimmels.

LITERATUUR

- Aidoo, K.E., R. Hendry & B.J.B. Wood, 1982. Solid substrate fermentations. *Adv. Appl. Microbiol.* 28: 201-237.
- Apeldoorn, J.H.F. van (Ed.), 1981. *Biotechnology: a Dutch perspective*. Delft University Press, Delft. 248 p.
- Arx, J.A. von & M.A.A. Schipper, 1978. The CBS fungus collection. *Adv. Appl. Microbiol.* 24: 215-236.
- * Barnett, J.A., R.W. Payne & D. Yarrow, 1983. *Yeasts: characteristics and identification*. Cambridge University Press, Cambridge, London, New York. 811 p.
- Bruinenberg, P.M., P.H.M. de Bot, J.P. van Dijken & W.A. Scheffers, 1984. NADH-linked aldose reductase: the key to anaerobic alcoholic fermentation of xylose by yeasts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 19: 256-260.
- Bull, A.T., G. Holt & M.D. Lilly, 1982. *Biotechnology. International trends and perspectives*. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris. 84 p.
- * Demain, A.L. en anderen, 1981. *Industrial microbiology*. *Scient. Amer.* 245 (3): 42-156.
- Dittrich, H.H., 1977. *Mikrobiologie des Weines*. Ulmer, Stuttgart. 316 p.
- Dijkstra, F.Y., 1976. *Submerged cultures of mushroom mycelium as sources of protein and flavour compounds*. Dissertatie Technische Hogeschool Delft, Pasmans, 's-Gravenhage. 106 p.
- Edens, L., I. Bom, A.M. Ledeboer, J. Maat, M.Y. Toonen, C. Visser & C.T. Verrips, 1984. *Synthesis and processing of the plant protein thau-*

- matin in yeast. Cell 37: 629-633.
- Elema, B., 1970. Honderd jaar gistresearch. Opkomst, evolutie en betekenis van research gedurende honderd jaren Gistfabriek. Koninklijke Nederlandse Gist- en Spiritusfabriek N.V., Delft. 115 p.
- * Godfrey, T. & J. Reichelt, 1983. Industrial enzymology. Macmillan Publ. Ltd., London. 582 p.
- Gray, W.D., 1970 + 1973. The use of fungi as food and in food processing. Part I + II. Butterworths, London. 113 + 218 p.
- Hemert, P.A. van, H.L.M. Lelieveld & J.W.M. la Rivière (Eds), 1983. Biotechnology in developing countries. Delft University Press, Delft. 158 p.
- * Hersbach, G.J.M., C.P. van der Beek & P.W.M. van Dijk, 1983. Penicillin. Past, present and future. In: E.J. Vandamme (Ed.): Biotechnology of industrial antibiotics. Marcel Dekker, Inc., New York. p. 45-140.
- Houwink, E.H., R.R. van der Meer & W.A. Scheffers (Eds), 1983. Biotechnological research in The Netherlands. Abstracts of poster symposium, Delft, 1983. Nederlandse Biotechnologische Vereniging, Delft. 183 p.
- Kosaric, N., Z. Duvnjak & G.G. Stewart, 1981. Fuel ethanol from biomass: production, economics and energy. Adv. Biochem. Engin. 20: 119-151.
- * Margalith, P.Z., 1981. Flavor microbiology. Charles C. Thomas, Publ., Springfield, Illinois, U.S.A. 309 p.
- * Pepler, H.J. & D. Perlman (Eds), 1979. Microbial technology, 2nd edition. Vol. 1 en 2. Academic Press, New York, San Francisco, London.
- Oevelen, D. van, F. de l'Escaille & H. Verachtert, 1976. Synthesis of aroma components during the spontaneous fermentation of lambic and gueuze. J. Inst. Brew. 82: 322-326.
- * Reed, G. (Ed.), 1982. Prescott & Dunn's Industrial microbiology, 4th edition. AVI Publ. Comp., Westport (Conn.), U.S.A. 883 p.
- * Rose, A.H. (Ed.), 1977-1983. Economic microbiology, Vol. 1-8. Academic Press, London, New York and San Francisco.
- * Samson, R.A., E.S. Hoekstra & C.A.N. van Oorschot, 1981. Introduction to food-borne fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Delft. 247 p.
- Smit, P., 1976. Antoni van Leeuwenhoek, zijn 'kleine diertgens' en zijn opvattingen over het ontstaan van het leven. In: F. Wensinck (Ed.): De microbiologie drie eeuwen na Antoni van Leeuwenhoek. Biologische

- Raad Reeks. Pudoc, Wageningen. p. 9-23.
- * Smith, J.E., D.R. Berry & B. Kristiansen (Eds), 1983. The filamentous fungi. Vol. 4. Fungal technology. Edward Arnold, London. 401 p.
- * Steinkraus, K.H. (Ed.), 1983. Handbook of indigenous fermented foods. Haigh & Hochland, Manchester. 688 p.
- Stewart, G.F. & M.A. Amerine, 1973. Introduction to food science and technology. Academic Press, New York and London. 294 p.
- Toivola, A., D. Yarrow, E. van den Bosch, J.P. van Dijken & W.A. Scheffers, 1984. Alcoholic fermentation of D-xylose by yeasts. Appl. Environm. Microbiol. 47: 1221-1223.
- Veenhuis, M., J.P. van Dijken & W. Harder, 1983. The significance of peroxisomes in the metabolism of one-carbon compounds in yeasts. Adv. Microbial Physiol. 24: 1-82.
- Verbraeck, A. (Ed.), 1980. Biotechnology, a hidden past, a shining future. Proceedings of the 13th International TNO Conference, TNO, The Hague. 195 p.

* Met een ster aangegeven referenties worden als eerste voor verdere studie aanbevolen.

Schimmels, ten goede en ten kwade

K. Verhoeff

Uit de gegevens die in de voorgaande hoofdstukken zijn verstrekt, blijkt de belangrijke rol die schimmels spelen in de natuur en in de menselijke samenleving, zowel ten kwade als ten goede.

SCHIMMELS TEN KWADE

Interacties tussen schimmels en planten hebben nuttige maar vaak ook zeer schadelijke effecten op de plant. In het hoofdstuk van Schippers wordt daar reeds op gewezen. Jaarlijks treden dan ook grote oogstdervingen op als gevolg van door schimmels veroorzaakte ziekten, alsmede door plagen en onkruiden. Uit de cijfers die in tabel 1 zijn weergegeven blijkt dat het verlies aan produkt per oppervlakte geteeld gewas voor ongeveer 15 % is toe te schrijven aan het optreden van schimmelziekten. Hoewel deze gegevens in 1967 werden gepubliceerd (Cramer, 1967), acht men deze in hun algemeenheid nog steeds geldig (Zadoks, 1980). Daarnaast kan in bepaalde jaren grote schade optreden door de ontwikkeling van epidemieën in bepaalde gewassen. Als gevolg van het optreden van een bladvlekkenziekte in maïs (*Helminthosporium maydis*) in Noord-Amerika in 1970 trad een verlies in oogstbaar produkt op ter waarde van één miljard dollar. De epidemie van valse meeldauw in tabak (*Peronospora tabacina*) in Noord- en Midden-Amerika in 1978 leidde tot een verlies van ongeveer 200 miljoen dollar.

Ook in de geschiedenis van de mens nemen planteziekten veroorzaakt door schimmels een belangrijke plaats in. Mossel wijst hier in zijn hoofdstuk ook op. Zeer bekend zijn de gevolgen van epidemieën van de schimmel *Phytophthora infestans*, de veroorzaker van de aardappelziekte, in de jaren 1840-1845. De aardappel vormde het hoofdbestanddeel van het voed-

Tabel 1. Wereldwijde verliezen per gewas(groep) in miljoenen tonnen (Cramer, 1967) Op deze gegevens is destijds ernstige en deels juiste kritiek geleverd. Nochtans bleek op het IX International Congress of Plant Protection, Washington, 1979, dat er nog steeds geen beter overzicht is. (Naar Zadoks, 1980)

Gewas	Actuele produktie	Potentiële produktie	Verliezen tengevolge van			
			insekten	ziekten	onkruiden	totaal
granen	961	1467	204	135	167	506
aardappelen	271	400	24	89	16	129
suikerbiet + suikerriet	695	1330	228	232	175	635
groenten	202	280	23	31	24	78
fruit + citrus + druif	142	197	11	33	12	55
stimulantia	10	16	2	3	2	6
oliegewassen	95	137	14	13	14	42
vezelgewassen	16	23	3	3	2	7
rubber	2	3	+	+	+	1

selpakket, met bijvoorbeeld in Ierland naar verluid een verbruik van 3 kg per hoofd van de bevolking per dag. Als gevolg van de ziekte trad grote hongersnood op in West-Europa, in Nederland steeg het sterftecijfer in 1845 met 25%. Het gevolg was o.m. de volksverhuizing van de Ieren naar Nood-Amerika. Minder bekend is de grote hongersnood in delen van India en Bangladesh in 1943. Als gevolg van een epidemie van de schimmel *Helminthosporium oryzae* in rijst trad een volledige misoogst op. Door de oorlogshandelingen kon geen voedsel worden aangevoerd en naar schatting twee miljoen mensen kwamen om door voedselgebrek (Padmanabhan, 1973).

Ook op andere manieren is de invloed ten kwade van schimmels duidelijk geworden. Optreden van de koffieroest, veroorzaakt door *Hemileia vastatrix*, in Ceylon in de jaren 1868 en 1882 leidde tot zodanige schade

aan de koffiestruiken, dat het telen daarvan onmogelijk werd. Ceylon schakelde over op de teelt van thee. De veroorzaker van de koffieroest is in 1969 voor het eerst aangetroffen in Brazilië (Wellman, 1970) en vormt een grote bedreiging voor de koffieteelt in Midden- en Zuid-Amerika. Gezien de grote economische betekenis van de koffie-export voor deze landen (tabel 2) zou een roestepidemie catastrofale gevolgen hebben.

Men was in Zuid-Amerika niet voorbereid op de introductie van dit pathogeen. Maar in Azië bereidt men zich nu wel voor op mogelijke introductie van *Microcyclus (Dothidella) ulei*, een schimmel die afsterven van rubberbomen veroorzaakt. Aantastingen waren reeds bekend in 1904, maar pas na het telen van rubberbomen in monocultures trad grote schade op. Aanplantingen in Trinidad, Suriname en andere Middenamerikaanse landen werden volledige mislukkingen. Vanuit Azië wordt nu in Zuid-Amerika een veredelingsprogramma ontwikkeld zodat voor deze ziekte minder vatbare bomen verkregen kunnen worden. Mocht de schimmel in Azië geïntroduceerd worden, dan hoopt men door de aanwezigheid van minder vatbare bomen de schade beperkt te houden.

Als gevolg van intensiever verkeer tussen landen over de hele wereld, zowel door handel als door toerisme, is het gevaar voor introductie van schimmelziekten in gebieden waar deze niet voorkomen sterk vergroot. Een bekend voorbeeld is de roestaantasting van chrysanten, veroorzaakt door *Puccinia horiana*. Door de handel in chrysantenstek verspreidde de-

Tabel 2. Waarde van de koffieexport in procenten van de totale export van enkele Zuidamerikaanse landen in 1968. (Naar Schieber, 1972)

Land	Koffieëxport in procenten van de totale export
Colombia	68
Brazilië	41
Guatamala	33

ze ziekte zich in het begin van de jaren zestig vanuit Japan over Zuid-Afrika en Europa.

In het begin van de jaren zeventig werd de zogenoemde agressieve stam van *Ophiostoma ulmi*, de veroorzaker van de iepeziekte, vanuit Noord-Amerika in Europa geïntroduceerd. Enkele jaren geleden werd de gele roest in tarwe, veroorzaakt door *Puccinia striiformis*, voor het eerst in Australië waargenomen, waar deze schimmel tot 1979 niet voorkwam. Het wachten lijkt nu op de introductie van de veroorzaker van de iepeziekte in Australië. Vatbare bomen en de vector, de iepespintkever, zijn daar aanwezig.

Ook het verrichten van onderzoek naar schimmels in een gebied waar wel de waardplant maar niet de schimmel voorkomt, draagt risico's in zich. Bekend zijn de verspreiding van de valse meeldauw in tabak (*Peronospora tabacina*) vanuit een onderzoeksplaats in Engeland en de verspreiding van de valse meeldauw in komkommer (veroorzaakt door *Pseudoperonospora cubense*) in Nederland vanuit veredelingsbedrijven.

Schimmels beschikken soms over zeer vernuftige methoden om planteweefsels te koloniseren. Vruchtrot in appel, veroorzaakt door *Pezicula malicorticis* (de perfecte vorm van *Gloeosporium perennans*), wordt pas zichtbaar als de appel rijp is. De infectie is echter al tot stand gekomen kort na de bloei, waarbij de schimmel zich heeft ingedrongen in de lenticellen van de jonge vrucht. Verdere groei van de schimmel wordt geblokkeerd, totdat de vrucht rijp is. Ook vruchtrot in aardbei, veroorzaakt door *Botrytis cinerea*, kan op vergelijkbare wijze ontstaan. Hyfen groeien tijdens de bloei via bloemdelen naar de bloembodem en blijven daar rustend totdat de daarna gevormde vrucht rijp is.

Sporen van pathogene schimmels bevatten soms zoveel reservevoedsel dat na ontkiemen verschillende groeistadia doorlopen worden zonder dat daardoor voedingsstoffen vanuit het milieu nodig zijn. Een voorbeeld vormen de uredosporen ('zomersporen') van roestschimmels. Pas na kieming, kiembuisgroei en vorming van infectiestructuren wordt een eerste haustorium gevormd waarmee voedsel uit de plant wordt opgenomen. Tot die tijd verlopen alle groeiprocessen op eigen kracht, met inbegrip van een aantal kerndelingen.

Schimmels als pathogenen voor mens en dier leiden tot andere problemen dan de hiervoor genoemde plant pathogenen. Vooral de betrekkelijk

geringe verspreidingsmogelijkheden van diverse van deze pathogenen vormen een belangrijk onderscheid. Informatie hierover is in ruime mate gegeven in de hoofdstukken van Mossel en Klokke.

HET KEREN VAN HET KWAAD

Het antwoord van de mens op schimmelziekten was aanvankelijk beperkt, hoewel soms in principe doeltreffend. Zo werd reeds in 1660 in Rouen een wet uitgevaardigd die bepaalde dat geen berberis naast graanvelden mocht voorkomen. Berberis is de alternatieve of winter waardplant voor zwarte roest in granen en door het verwijderen van deze plant dacht men de zwarte roest tegen te gaan.

Ook het gebruik van zwavel en van koperbevattende middelen is reeds lang bekend om schimmelziekten tegen te gaan. Ruim honderd jaren geleden werd een mengsel van kopersulfaat en kalkwater, toegepast om druiven een voor dieven onaantrekkelijke kleur te geven, reeds beproefd ter bestrijding van valse meeldauw in dit gewas. Dit mengsel, bekend als Bordeauxse pap, heeft vele jaren ruime toepassing gevonden in de druiventeelt.

Door verdieping van inzicht in de fysiologie en de genetica van de schimmels en van planten werden effectievere en milieuvriendelijker methoden ter voorkoming van schade aan gewassen ontwikkeld. Maar het object van bestrijding, de schimmel, blijkt niet voor één gat te vangen te zijn.

Introductie van resistente planten leidde tot het optreden van rassen van de schimmel die op een of andere wijze het resistentiemechanisme van de plant konden omzeilen. Het optreden van deze zogenoemde fysiologische rassen of fysio's volgde soms de ontwikkeling van nieuwe plantecultivars op de voet. Dit blijkt bijvoorbeeld uit de ontwikkeling van fysiologische rassen van de schimmel *Phytophthora phaseoli* en van de limaboom (tabel 3), alsmede de verschuiving binnen de geteelde tarwerassen in Nederland beïnvloed door het optreden van fysiologische rassen van de gele roest veroorzaakt door *Puccinia striiformis* (tabel 4). Werd aanvankelijk de nadruk gelegd op het inkruisen van monogene resistentie, de laatste jaren ligt het accent op het verkrijgen van cultivars met polygene resistentie, omdat deze vorm van resistentie veel duurzamer is. Ook werden

Tabel 3. De ontwikkeling van fysiologische rassen van *Phytophthora phaseoli* in relatie tot ontwikkeling en teelt van voor dit pathogeen resistente cultivars. Tussen haakjes is vermeld voor welk fysio van het pathogeen de betreffende cultivar resistent is. (Naar Parlevliet, 1983)

Jaar	Fysiologisch ras van <i>P. phaseoli</i>		Resistente limaboon-cultivars		
	overheersend	nieuw	geteeld	uitgegeven voor teelt	eindfase kweekwerk
1948	A	-	-	-	-
1958	A	B	-	-	Thaxter (A)
1959	A	B	-	Thaxter	-
1960	A	B	Thaxter	-	-
1967	B	-	-	-	-
1969	B	C	-	-	Dover (A+B)
1970	B	C	-	Dover	-
1971	B	C	Dover	-	-
1975	C	D	-	-	Martin (A+B+C)

specifiek werkende fungiciden ontwikkeld, die naast hun specificiteit nog verschillende andere voordelen bieden. Maar ook nu omzeilen diverse pathogene schimmels de werking van zo'n middel en resistente of tolerante stammen van de schimmel traden op de voorgrond (Davidse & De Waard, 1984; Dekker, 1983).

SCHIMMELS TEN GOEDE

Schimmels hebben ook positieve waarde voor de mens. In de eerste plaats dient hierbij gewezen te worden op de betekenis van paddestoelen voor menselijke consumptie. Van de geteelde paddestoelen neemt het geslacht *Agaricus* de belangrijkste plaats in. Deze, in Nederland als champignon aangeduide schimmels, zorgen voor bijna 72% van de totale pro-

Tabel 4. Verschuiving in de teelt van tarwe cultivars over de jaren 1954 tot 1980 als gevolg van het optreden van nieuwe fysiologische rassen binnen *Puccinia striiformis*, de veroorzaker van de gele roest in tarwe. De cijfers geven een maat voor de resistentie weer (hoog is goed, laag is slecht). (Naar Parlevliet, 1983)

Tarwecultivar	Jaren								Aantal jaren dat resistentie effectief was
	1954	1958	1962	1966	1969	1973	1977	1980	
Heines VII	8	3	-	-	-	-	-	-	4
Felix	-	9	9	9	9	9 ^a	-	-	> 15
Manella	-	-	-	8	8	8	8	6	14
Flevina	-	-	-	10	7	-	-	-	5
Tadorna	-	-	-	9	3	-	-	-	1
Clement	-	-	-	-	-	9	4	-	1

a. Om andere reden niet meer geteeld

duktie van geteelde paddestoelen. *A. bisporus* en *A. bitorquis* worden hiervoor gebruikt. De eerstgenoemde geeft kwalitatief het beste produkt, maar is gevoelig voor een ernstige virusziekte. *A. bitorquis* is resistent voor dit virus, maar kan alleen goed gedijen bij hogere temperaturen dan voor *A. bisporus* noodzakelijk zijn. Naast deze *Agaricus*-soorten worden ook verschillende andere paddestoelen geteeld, zij het vooral in het Verre-Oosten. Een overzicht is gegeven in tabel 5.

Naast het telen worden ook veel paddestoelen in de natuur verzameld voor consumptie. In Frankrijk werd in de periode 1972 tot 1977 gemiddeld $9,5 \times 10^6$ kg verzameld; een vergelijkbare hoeveelheid is per jaar in West-Duitsland bijeengebracht over de jaren 1975 tot 1980. Deze cijfers geven al aan dat van een teruggang in paddestoelenproduktie door regelmatig verzamelen geen sprake is. Ook Arnolds (1981) komt tot een dergelijke conclusie, gebaseerd op zijn werk in Drenthe. In Finland, met ca. 19 miljoen hectare bos, komen per hectare ongeveer 50 kilogram eetbare padde-

Tabel 5. Produktie van eetbare paddestoelen over de gehele wereld.
De cijfers hebben betrekking op het jaar 1979. (Naar Schaper, 1983)

Soort	Produktie in duizend ton	Produktie in procenten van het totaal
<i>Agaricus</i> spp. ('de' champignon)	870	72
<i>Lentinus edodes</i> (chinese champignon, shii-take)	170	14
<i>Flammulina velutipes</i> (fluweelpootje)	60	5
<i>Volvariella volvacea</i> (rijststro-paddestoel)	49	4
<i>Pleurotus</i> spp. (oesterzwam)	32	2,6
<i>Pholiota nameko</i> (nameko-paddestoel)	17	1,4
diversen	12	1
totaal	1210	100

stoelen voor. Per jaar zou dus 95×10^7 kg verzameld kunnen worden. Als naar schatting een derde deel daadwerkelijk geschikt is voor consumptie, betekent dit een opbrengst aan eetbaar produkt van 3×10^8 kg per jaar.

Veel van de verzamelde paddestoelen worden uiteraard verhandeld, hetzij als vers produkt, hetzij in gedroogde of andere vorm. In tabel 6 en tabel 7 zijn enige gegevens hierover bijeengebracht. Uitgedrukt in produktie aan eiwit, neemt de champignon een belangrijke plaats in. Een vergelijking in eiwitproduktie, uitgedrukt in kilogrammen per hectare, tussen de teelt van vee, vis en champignons valt zeer duidelijk uit ten gunste van de champignon (tabel 8); hierbij is evenwel een kostprijsberekening buiten beschouwing gelaten.

De produktie van paddestoelen in bossen is afhankelijk van het type

Tabel 6. Produktie van gedroogde bospaddestoelen in Frankrijk in de jaren 1979, 1980 en 1981, uitgedrukt in kg x 10³. (Naar Schaper, 1983)

Soort	1979	1980	1981
melkboleet	70,5	74,8	65,1
eekhoorntjesbrood	40,8	39,2	51,7
morille	22,0	27,4	32,5
cantharel	14,3	10,9	8,2
diversen	12,5	11,9	14,3

Tabel 7. Hoeveelheid (kg x 10³) en herkomst van gedroogde 'paddestoelen en truffels', geïmporteerd door de landen van de EEG gemiddeld over de jaren 1975 tot en met 1980. Tussen haakjes zijn de hoeveelheden uitgedrukt in procenten. (Naar Schaper, 1983)

Geïmporteerd door:					Herkomst ^a	
W. Duitsland	Frankrijk	Italië	Nederland	Overige	EEG	niet EEG
5310 (40)	2200 (17)	3820 (29)	684 (5)	1226 (9)	2720 (21)	10140 (76)

a. Van ca. 3% was de herkomst onbekend.

bos (tabel 9). De groei van het mycelium van deze schimmels is mede mogelijk door de beschikbaarheid van afbreekbaar plantmateriaal, veelal aangeduid als strooisel. Zoals dat voor vele bodembioologische processen geldt, is het zeer moeilijk om experimenteel na te gaan hoe de myceliumontwikkeling in de bodem verloopt. De Boois (1976) komt tot een myceliumproductie van ruim 100 gram per vierkante meter in een eiken-berkenbos in de Achterhoek.

Ook de strooiselproductie is afhankelijk van het type bos, zoals is aan-

Tabel 8. Vergelijking van de produktie aan eiwit tussen veehouderij, visteelt en champignonsteelt. De eiwitproduktie is uitgedrukt in kilogrammen droge stof per hectare. De kostprijs is hierbij niet in beschouwing genomen. (Naar Cooke, 1977)

	Eiwitproduktie, kg droge stof per ha
veehouderij	78
visteelt	675
champignonsteelt	65000

Tabel 9. Geraamde opbrengst aan paddestoelen in verschillende habitats in enkele landen van Europa. De opbrengst is uitgedrukt in kilogrammen versgewicht per hectare. (Naar Hering, 1965)

Habitat	Land	Opbrengst versgewicht (kg/ha)
naaldbos	Ver. Koninkrijk	265-460
	V.S. van Noord-Amerika	150-260
	Finland	82-302
eiken-berkenbos	Ver. Koninkrijk	13-95
	Hongarije	7-160
grasland	Ver. Koninkrijk	1-10

gegeven in tabel 10. Opvallend hierbij is de snelle omzetting van het strooisel in het tropische regenwoud, terwijl de afbraak in bossen in gematigde streken - vooral in naaldbossen - veel langzamer verloopt. De betekenis van de strooiselafbraak door schimmels in het kader van stofkring-

Tabel 10. Produktie aan strooisel in enkele bostypen, uitgedrukt in kilogrammen per hectare. (Naar Cooke, 1977)

Bostype	Produktie per jaar	Geaccumuleerd
tropisch bos		
gemengd regenwoud	12300	4300
bos in gematigde streken		
gemengd bestand	3100	3600
naaldbos	2800	167700

lopen is in het hoofdstuk van Mossel aan de orde geweest.

Schimmels produceren diverse produkten die door de mens worden gebruikt, zoals aromatische stoffen en antibiotica, en zij zijn onontbeerlijk bij de alcoholische gisting. Wessels en Scheffers gaan in hun hoofdstukken hier nader op in.

Schimmels kunnen ook gebruikt worden ter bestrijding van schadeveroorzakende schimmels en insekten. In het hoofdstuk van Schippers wordt het effect vermeld van schimmels op het bladoppervlak, die pathogene schimmels sterk remmen in hun ontwikkeling. Ook in de bodem en op het worteloppervlak spelen zich dergelijk processen af, waarbij o.a. antagonisme, antibiose en parasitisme een rol spelen. Schimmels worden ook gebruikt bij de bestrijding van insekten. Het meest bekend is wellicht de parasitering van larven van de witte vlieg (*Trialeurodes vaporariorum*) door de schimmel *Aschersonia aleyrodinis*. Hoewel de schimmel zich niet verspreidt in kassen en een regelmatig toedienen van inoculum derhalve noodzakelijk is, treedt een sterke reductie van de witte vlieg populatie op. Eén keer per week toedienen van sporen gevolgd door het aanhouden van één nacht hoge luchtvochtigheid is echter noodzakelijk (tabel 11). De schimmel is zeer specifiek, waardoor het gebruik van de sluipwesp *Encarsia formosa* niet belemmerd wordt. Deze sluipwesp parasiteert de volwassen individuen, zodat een combinatie van *Aschersonia aleyrodinis* met de sluipwesp een effectieve bestrijding van witte vlieg in kassen betekent. Toediening van de schimmel als sporen, in een concentratie van $1,4 \times 10^{12}$ konidiën per

Tabel 11. Mortaliteit van larven van witte vlieg op komkommerplanten uitgedrukt in procenten, na toediening van conidiën van *Aschersonia aleyrodis*. (Naar Ramakers & Samson, 1984).

Concentratie konidiën/ml	Spuitdata				
	22-4	2-5	14-5	22-5	2-6
5×10^6	26,3	21,7	32,8	37,6	28,2
5×10^4	2,6	0,5	1,3	1,0	-

hectare, leidde tot een reductie in de witte vlieg populatie van 50%. Samen met de sluipwesp toegepast, werd een reductie van 85% verkregen (Ramakers et al., 1983; Ramakers & Samson, 1984). Een aantal voorbeelden worden genoemd in het hoofdstuk van Samson.

De betekenis van mycorrhiza voor plantengroei wordt in het hoofdstuk van Schippers toegelicht. Op dit terrein is onze kennis nog erg beperkt, zodat meer onderzoek noodzakelijk is om de mycorrhiza naar waarde te schatten. Van hetgeen tot nu toe bekend is lijkt die waarde erg groot te zijn.

TEN KWADE EN TEN GOEDE

Soms is het evenwicht tussen ten kwade en ten goede zeer subtiel, zoals uit het volgende voorbeeld moge blijken. De schimmel *Botrytis cinerea* kan in druiven twee typen aantastingen veroorzaken. Naast vruchtrot, aangeduid als 'pourriture grise' kan de schimmel onder bijzondere klimaatomstandigheden een meer oppervlakkig rot veroorzaken, het 'pourriture noble'. Door het stukgaan van de schil van de bessen ontstaat er luchtcontact met het inwendige waardoor van deze bessen een bijzondere wijn kan worden bereid. Indien echter de ontwikkeling van *B. cinerea* iets te ver is gegaan produceert de schimmel enzymen die aromastoffen van de druif afbreken. In plaats van een bijzondere wijn te bereiden, wordt een inferieure kwaliteit verkregen (Dubourdieu et al., 1983).

Tenslotte dient hier nog vermeld te worden dat schimmels ook nog geparasiteerd kunnen worden door schimmels. Verschillende voorbeelden zijn hiervan bekend, zoals het parasitisme van *Verticillium biguttatum* op hyfen van *Rhizoctonia solani*, waardoor mogelijk een biologische bestrijding van laatstgenoemde schimmel kan worden verkregen (Velvis & Jager, 1983). Een minder aantrekkelijke vorm van parasitisme treedt op bij de champignon *Agaricus bisporus*, die ernstig te leiden heeft van infecties door de schimmel *Verticillium fungicola* var. *fungicola*, waardoor de zogenoemde 'droge mollen' ontstaan. *A. bitorquis* wordt ook door *Verticillium* aange-tast, maar taxonomisch onderzoek heeft uitgewezen dat het hier om een andere *Verticillium* gaat, nl. *V. fungicola* var. *oleophilum* (Van Zaayen & Gams, 1982).

Nu spreekt een juiste tenaamstelling van schimmels zoals in het hierboven genoemde voorbeeld wellicht minder aan. Maar exacte identificatie van schimmels is noodzakelijk zowel voor fundamenteel als voor het op toepassing gericht werk. Men moet terug kunnen grijpen op uitgangsmateriaal en eigen werk moet met dat van anderen vergeleken kunnen worden. Collecties van schimmels zijn hiervoor onontbeerlijk. In dit verband kunnen we ons gelukkig prijzen met het Centraalbureau voor Schimmelcultures te Baarn en te Delft. Zowel in Nederland als in andere landen beseft men steeds meer dat wetenschappelijk beheerde collecties van micro-organismen een steeds belangrijker plaats gaan innemen (Kirsop, 1983). Naast de noodzaak voor taxonomisch onderzoek hoeft slechts gewezen te worden op het industriële gebruik van micro-organismen in de biotechnologie, waarbij bepaalde organismen onmisbaar zijn in de procesgang. Deze organismen moeten goed worden beschreven en goed worden bewaard opdat geen genetisch materiaal verloren gaat. Ook het onlangs gereed gekomen rapport: 'Naar een gedecentraliseerde Nederlandse Cultuurcollectie van Micro-organismen' geeft het grote belang van goed beheerde collecties aan.

Fysiologisch onderzoek aan processen die zich tijdens de bewaring voordoen, wordt erg weinig verricht. Wellicht dat de moderne vormen van bewaring namelijk in vloeibare stikstof of in gelyofiliseerde toestand, de behoefte aan dergelijk werk minder urgent maakt.

BESLUIT

Opvallend bij het Nederlandse onderzoek aan schimmels zijn de vele bindingen die bestaan tussen zuiver wetenschappelijk onderzoek en het op de toepassing gerichte werk. Voorbeelden zijn de relaties tussen het Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS), het Laboratorium voor Microbiologie te Delft en de industrie; het gezamenlijk onderzoek van de groep Wessels (vakgroep Plantenfysiologie, Subfaculteit Biologie) te Groningen en het Proefstation voor de Champignoncultuur te Horst; het gezamenlijk onderzoek van het CBS en de vakgroep Fytopathologie te Baarn met het Instituut voor Bodemvruchtbaarheid te Haren en het Proefstation voor de Akkerbouw en de Groenteteelt in de Volle Grond te Lelystad; en tenslotte de relaties tussen het onderzoek over werkingsmechanismen van fungiciden binnen de vakgroep Fytopathologie te Wageningen en de industrie. Mede hierdoor worden de resultaten van het zuiver wetenschappelijk onderzoek direct toepasbaar voor de praktijk.

Hoewel schimmels de mens direct en indirect schade kunnen berokkenen, is leven zonder schimmels niet mogelijk. Het leven met schimmels is dan ook méér een goede dan een kwade zaak.

LITERATUUR

- Arnolds, E., 1981. Ecology and coenology of macrofungi in grasslands and moist heathlands in Drenthe, The Netherlands. Dissertatie Utrecht. 407 p.
- Boois, H.M. de, 1976. Schimmelgroei in strooisellagen van enkele bosgronden. Dissertatie Utrecht. 92 p.
- * Cooke, R.C., 1977. Fungi, man and his environment. Longman. 144 p.
- Cramer, H.H., 1967. Pflanzenschutz und Welternte. Bayer Pflanzenschutz. 523 p.
- * Davidse, L.C. & M.A. de Waard, 1984. Systemic fungicides. *Advances in Plant Pathology* 2: 191-257.
- Dekker, J., 1983. Development of resistance to agricultural antibiotics. In: J. Miyamoto et al. (Eds): *IUPAC Pesticide Chemistry*, Pergamon. p. 269-275.
- Dubourdieu, D., K.D. Koh, A. Bertrand & P. Ribéreau-Gayon, 1983. Mise

- en évidence d'une activité estérase chez *Botrytis cinerea*. C.R. Académie de Science Paris 296: 1025-1028.
- Hering, T.F., 1965. Succession of fungi in the litter of a Lake District oak wood. Transactions of the British Mycological Society 48: 391-408.
- Kirsop, B., 1983. Culture collections - their service to biotechnology. Trends in Biotechnology 1: 5-8.
- Padmamabhan, S.Y., 1973. The great Bengal famine. Annual Review of Phytopathology 11: 11-16.
- * Parlevliet, J.E., 1983. Co-evolutie en de implicaties ervan voor de planteveredeling. In: Linskens et al.: Plantenveredeling en genenmanipulatie. Pudoc, Wageningen. p. 62-75.
- Ramakers, P.M.J. & R.A. Samson, 1984. *Aschersonia aleyrodinis*, a fungal pathogen of whitefly. II. Application as a biological insecticide in glass-houses. Zeitschrift für angewandte Entomologie (in druk).
- Ramakers, P.M.J., M.C. Rombach & R.A. Samson, 1983. Application of the entomopathogenic fungus *Aschersonia aleyrodinis* in an integrated control programme against the glasshouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. 3rd International Colloquium on Invertebrate Pathology. Brighton, UK. p. 99 (Abstract).
- * Schaper, P.M., 1983. Andere eetbare paddestoelen. Rapport Consulent-schap Champignonsteelt, Horst. 67 p.
- Schieber, E., 1972. Economic impact of coffee rust in Latin America. Annual Review of Phytopathology 10: 491-510.
- Velvis, H. & G. Jager, 1983. Biological control of *Rhizoctonia solani* on potatoes by antagonists. Netherlands Journal of Plant Pathology 89: 113-123.
- Wellman, F.L., 1970. The rust *Hemileia vastatrix* now firmly established in Brasil. Plant Disease Reporter 54: 539-541.
- Zaayen, A. van & W. Gams, 1982. Contributions to the taxonomy and pathogenicity of fungiculous *Verticillium* species. Netherlands Journal of Plant Pathology 88: 143-154.
- * Zadoks, J.C., 1980. Economische aspecten van de gewasbescherming; een verkenning. Landbouwkundig Tijdschrift 92: 313-323.

* Met een ster aangegeven referenties worden als eerste voor verdere studie aanbevolen.

De auteurs

Dr. R.A. Samson werkt sinds 1970 op het Centraalbureau voor Schimmelcultures. Hij houdt zich bezig met het taxonomisch onderzoek van de schimmelgeslachten *Penicillium* en *Aspergillus*, schimmelparasieten op insecten en thermofiele schimmels. Verder bevindt zich zijn onderzoeksterrein in de levensmiddelenmycologie, terwijl ook de scanningelektronenmicroscopie sinds enkele jaren zijn belangstelling heeft. Hij studeerde biologie en promoveerde in 1974 aan de Rijksuniversiteit te Utrecht op een monografische bewerking van *Paecilomyces* en aanverwante schimmelgeslachten.

Prof. dr. J.G.H. Wessels is sinds 1970 hoogleraar in de plantkunde aan de Rijksuniversiteit te Groningen met als speciale leeropdracht de ontwikkelingsbiologische aspecten van planten. Hij promoveerde in 1965 aan de Rijksuniversiteit te Leiden op een proefschrift over de biochemie van de vruchtlichaamvorming bij schimmels. Na een verblijf in de V.S. doceerde hij tot 1970 microbiologie te Leiden. Hij was o.m. voorzitter van de Koninklijke Nederlandse Botanische Vereniging, hoofdredacteur van het Vakblad voor Biologen en bestuurslid van de Biologische Raad. Eerder verzorgde hij bijdragen in de reeks symposia van de Biologische Raad, nl. Ontwikkelingen in de moleculaire Biologie (1966) en Ontwikkelingsbiologie (1975).

Prof. dr. B. Schippers is hoogleraar in de fytopathologie aan de Rijksuniversiteit Utrecht en werkzaam op het Phytopathologisch Laboratorium 'Wilhelmina Commelin Scholten'. Hij studeerde in 1959 af aan de Universiteit van Amsterdam met als vakken dierfysiologie, entomologie en fytopathologie. Hij promoveerde in 1964 aan de Universiteit van Amsterdam op een proefschrift over de zaadoverdracht van virusziekten bij planten. Hij is leider

van een werkgroep die onderzoek verricht over de interacties tussen saprofytische en pathogene micro-organismen en naar de mogelijkheden daarvan gebruik te maken bij de biologische bestrijding van plantenziekten.

Prof. dr. D.A.A. Mossel was van 1973-1984 gewoon hoogleraar in de levensmiddelen-microbiologie aan de Rijksuniversiteit te Utrecht, Vakgroep Voedingsmiddelen van dierlijke oorsprong van de Faculteit Diergeneeskunde. Deze Vakgroep houdt zich voornamelijk bezig met onderwijs en onderzoek naar de verbetering van de veiligheid, kwaliteit en aanvaardbaarheid van voedingsmiddelen, in hoofdzaak van dierlijke oorsprong. Hij studeerde geneeskunde te Leiden, farmacie te Utrecht, biochemie en levensmiddelen-microbiologie te Cambridge, Engeland en medische microbiologie aan het Institut Pasteur te Frankrijk. In 1949 promoveerde hij op een onderzoek naar de waterbinding in xerogelen met het oog op de invloed hiervan op de ontwikkeling van micro-organismen bij lagere wateractiviteit. Voor zijn benoeming te Utrecht was hij werkzaam als hoofd van de afdeling Microbiologie van het Centraal Instituut voor Voedingsonderzoek TNO te Utrecht/Zeist en sedert 1968 als buitengewoon hoogleraar in de levensmiddelen-microbiologie aan de Katholieke Universiteit te Leuven.

Prof. dr. A.H. Klokke was van 1970-1984 hoogleraar dermatologie te Groningen. In die periode was hij tevens voorzitter van de Begeleidingscommissie voor Medische Mycologie (T.N.O.). Hij studeerde medicijnen in Leiden (1939-1948), werkte als districtsarts in Indonesië (1949-1959) en promoveerde op een epidemiologische studie over framboesia tropica (1956). Tijdens zijn specialisatie in de dermatologie volgde hij cursussen in medische mycologie in Baarn (1960) en Durham, U.S.A. (1962). Daarna was hij werkzaam als docent aan de medische hogescholen van Ludhiana en Vellore, India (1962-1966). Momenteel is hij nog voorzitter van de Groningse Stichting tot stimulering van medisch onderwijs in Indonesië en voorzitter van de Gastmann Wichers Stichting voor lepra research.

Ir. W.A. Scheffers is als wetenschappelijk hoofdmedewerker verbonden aan het Laboratorium voor Microbiologie van de Technische Hogeschool Delft. Het onderzoek van zijn groep betreft de fysiologie en genetica van

gisten in fundamenteel en toegepast kader. Het centrale thema is daarbij de regulatie van de redoxbalans in verband met energiehuishouding en metaboliëtoproduktie. Tot zijn onderwijstaken behoren een college technische microbiologie en een practicum levensmiddelenmicrobiologie. Hij studeerde in 1957 af als scheikundig ingenieur aan de Technische Hogeschool Delft, met hoofdvak microbiologie.

Prof. dr. K. Verhoeff is sinds 1970 hoogleraar in de Fytopathologie aan de Rijksuniversiteit te Utrecht en aan de Universiteit van Amsterdam. Uit dien hoofde is hij voorzitter van de vakgroep Fytopathologie te Baarn (Phytopathologisch Laboratorium 'Willie Commelin Scholten'). Hij promoveerde in 1960 aan de Rijksuniversiteit te Utrecht op een proefschrift over de biologie en de bestrijding van een economisch belangrijke ziekte in sla. Van 1955 tot 1970 was hij achtereenvolgens verbonden aan het Proefstation voor de Tuinbouw onder Glas te Naaldwijk en aan het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen. Hij was o.m. secretaris van de Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging, secretaris/penningmeester van de 'International Society of Plant Pathology' en voorzitter van BION. Sedert 1980 is hij voorzitter van de Biologische Raad.

Register

- aardappel 79, 94, 103
aardappelziekte 160
aardappelbovist 84
aardolie 141, 142
ABPA 129
Absidia 112, 127
acidofiel 109
Acremonium strictum 148
aëroob 15, 27, 47, 48, 109, 139, 140
afdoding 108
aflatoxine 23, 111, 130, 131
Agaricales 129
Agaricus 11, 165, 166
Agaricus bisporus 64, 65, 66, 155, 156, 166, 172
Agaricus bitorquis 67, 156, 166, 172
aggregaat 50
Agrocybe aegerita 68
AIDS 17
algen 15, 71, 72
alimentaire toxische aleukie 111
alcohol 132, 135-142, 152, 153, 154
allel 66, 94
allergie 21, 104, 118, 121, 128, 129
Alternaria 112, 129
Alternaria tenuis 129
Amanita 84
Amanita phalloides 130
amylase 27
Amylomyces rouxii 26
anaëroob 15, 48, 135, 136, 139
aneuploïde kern 63
antagonisme 76-79, 93, 170
antibiose 78, 170
antibiotica 27, 32, 58, 61, 74, 103, 121, 124, 134, 135, 148, 170
antibiotisch 85
anticonceptiva 121, 122, 124
appressoria 59
arbusculae 81
archieven 21
araoma 152-155, 170, 172
Arthus-reactie 129
Aschersonia aleyrodis 21, 170, 171
ascomyceet 15, 19, 38
Ascomyceten 13, 33, 56, 72, 86, 107, 128
Ascomycetes 84
ascosporen 13
ascus 45
asexuele voortplanting 72
aspergillosis 123
Aspergillus 9, 11, 13, 17, 23, 25, 27, 62, 111, 112, 123, 127, 129
Aspergillus awamori 26
Aspergillus clavatus 129
Aspergillus flavus 23, 129, 131
Aspergillus fumigatus 125, 126, 127, 129
Aspergillus niger 146
Aspergillus ochraceus 151
Aspergillus oryzae 26, 133, 146
Aspergillus sojae 26
Aspergillus tamarii 26
Aspergillus umbrosus 129
Aspergillus versicolor 129
associatie 71, 72, 74, 84, 86, 103-108, 146
astaxanthin 143
asthma 121, 128, 129
ATP 136
Aureobasidium 11, 109
Aureobasidium pullulans 75, 129
autolyse 51
auxotrofe mutant 38, 40
avirulentie-gen 93
Bacillus 146
bacteriën 15, 33-39, 50, 58, 61, 74, 75, 77, 106, 107, 119, 122,

132, 145, 147, 148, 151, 154
 bacteriostatisch 107
 bakkebaarden 109
 bakkergist 15, 27, 42, 48, 135-138
 Basidiomyceten 10, 13, 24, 33, 37,
 43, 56, 72, 86, 107
 Basidiomycetes 84
 basidiosporen 13, 65
 basidium 66
 batch-kweek 136, 144, 152
Beauveria bassiana 21
 bederf 108, 109
 bekerzwam 84
 benomyl 53
 bier 132, 153, 154
 bioconversies 150
 biodegradatie 21
 biologische bestrijding 19, 21
 biomassa 27, 134, 141
 biosynthese 38, 39, 40, 66, 153
 biotechnologie 61, 64, 67, 156, 157,
 172
 biotoop 21, 107, 108
 biotrofe schimmel 76, 87-90
 black spot 109
 bladluis 20, 21
 bladluizensuiker 75
 bladplekkenziekte 160
 blauwschimmelkazen 25, 155
 blauwwieren 72
 bodemoecologie 80
 bodemschimmels 77, 88
Boletus 84
Bordeauxse pap 164
Botrytis cinerea 89, 154, 163, 171
 branden 89, 129
 brandstoftanks 21
Brettanomyces 154
 broei 113-116
 brown rot-schimmels 107
 buikzwam 84

 callosevorming 92
Calvatia gigantea 156
Candida 11, 129
Candida albicans 119, 120, 122,
 127, 129
Candida boidinii 142
Candida ulitis 141
 cantharellen 68, 103, 168
 caseïne 146, 155
 cassette-model 45, 46
 celdifferentiatie 43, 45, 47, 60
 cellulose 34, 35, 50, 71, 84, 106,

107, 139, 141, 146
 celtype 44, 45
 celwand 34, 35, 40, 42, 52-59,
 64, 74, 90
Cenococcum geophilum 84
 Centraalbureau voor Schimmel-
 cultures 139, 156, 172, 173
 cefalosporine 64, 146, 148, 149
Cephalosporium acremonium 64
Chaetomium cellulolyticum 141
 champignon 61, 64, 65, 67, 68,
 103, 105, 155, 156, 165, 167,
 169
 chinese champignon 167
 chitine 9, 17, 33, 35, 55, 56,
 57, 58
 chlamysporen 81, 33
 chlamydosporen 13, 81
 chlorophyceae 72
Chondrilla juncea 96
 chromoblastomycose 125
 chromosomen 45, 47, 48, 63
 Chytridiomyceten 10
Chytridiomycetes 89
 citrusroestmijt 19, 20, 21
 cladosporen 13
Cladosporium 109, 112, 129
Cladosporium cladosporioides 75,
 77
Cladosporium resinae 21, 22
Claviceps purpurea 103, 130
Coccidioides immitis 126
 coccidioidomycosis 126
Cochliobolus sativus 75, 76
 coenocytisch 32, 33
 commensalisme 17
 complementatie 39, 42
 compost 105, 106, 107
 conserveren 108, 109
 contaminatieflora 22
 contraceptivum 151
Coprinus 156
Coprinus comatus 68, 155
Coprinus radiatus 61
Cordyceps unilateralis 19
 corrosie 74
 cortex 72, 73, 81, 83, 85
 corticosteroiden 121, 122, 124
Cortinarius 84
 cryptococcosis 123, 125
Cryptococcus 17, 75
Cryptococcus neoformans 18, 123,
 125, 127
Cryptostroma corticalis 129

cyanobacteriën 72, 73
cyclisch adenosinemonofosfaat 50
cyclus 13, 63, 64
Cylindrocarpon 77
cytoplasma 51, 53, 55, 59, 81
cytoskelet 52
cytostatica 121, 122

Debaryomyces hansenii 12
Dekkera 154
dermatofyten 124
Deuteromyceten 13
Dictyostelium discoideum 48, 50
dikaryon 33, 43, 44, 45
dikaryotische cyclus 13
dimorfie 123
diploïd 13, 33, 38, 42, 43, 45, 46,
47, 60, 63, 66
diversiteit 9
DNA 36, 43, 45, 47, 48, 49, 55,
64, 67
DNA-vectoren 67
droge mollen 172
dubbelmutanten 42

ectotrofe groei 75, 76
ecto-mycorrhiza 80, 83, 84, 85
eekhoortjesbrood 68, 168
eicel 43
eiwit 34, 37, 39, 40, 41, 42, 44,
45, 53, 58, 59, 67
elicitoren 90, 91
Emericella fruticulosa 15
Endogonaceae 81
Endogone 84
Endomyces fibuliger 141
endoplasmatisch reticulum 41, 42,
52
endosymbiose-theorie 34, 47
entomogene schimmels 19
enzymen 27, 34, 35, 38, 39, 145-147
epidemisch 19
epifyten 74, 77
epifytisch 71, 72, 77
ergosterol 58
ergotisme 103, 105, 111, 130
Ericales-mycorrhiza 80, 86
Escherichia coli 37
esterasen 17
eucalyptus 98
eukaryoten 32-36, 43, 47, 61, 156
evolutie 34, 37, 38, 47
exon 49
Exophiala spinifera 17

expressie 44, 67

fagocytose 34, 35
favus 119
fed-batch-kweek 137, 148
fermenteren 25, 141
fermentatie 25, 132, 133, 146, 147,
148, 152
filamenteus 123, 125
Flammulina velutipes 68, 167
Fleming 63
fluweelpootje 68, 167
fotosyntheseproducten 77
Fungi Imperfecti 13, 84
fungiciden 53, 58, 76, 77, 78, 93,
173
Fusarium 11, 15, 23, 77, 112, 129,
131
Fusarium moniliforme 141
fycobiont 72, 73, 74, 87
fyllosfeerschimmel 75, 76, 77
fysio 164, 165
fytoalexine 59, 87, 90, 93
fytohormonen 84, 89
fytotoxisch 87

Gaeumannomyces graminis 79, 89
gametangiale fase 14
gangreen 105, 130
gasohol 138
Gasteromyces 84
gastheer 17, 19, 59
gastheerspecificiteit 19
geïntegreerde gewasbescherming
93
gele roest 163, 164, 166
gele rijst-ziekte 111
genen 37, 38, 39, 42-49, 66, 67,
93, 94, 156
genenbank 156
genenstille 47
genetische manipulatie 60, 61, 137,
146
genexpressie 45, 47
genoom 36, 37, 44, 48, 66
Geotrichum candidum 155
geschubde inktzwam 68, 155
geslachtelijke cyclus 36
geslachtelijke voortplanting 13
gesp 43
geurstoffen 152
geuzebier 154
Gist-Brocades 62, 146, 148
gisten 9, 10, 33, 36, 41, 42, 43,

- 45, 47, 48, 50, 52, 61, 67, 75,
107, 119, 122-127, 129, 132-147,
150-157
gistfase 10
Glocladium 73, 79
Gloeosporium perennans 163
glucose-effect 136
glycogeen 55
glycolyse 41, 42, 45
glycoproteïnen 41, 42
Golgi-apparaat 41, 42, 43, 52
gordijnzwammen 84
groene knolamaniet 130
grauwe schimmel
- habitats 85
hallucinogene schimmels 23, 24, 130
Hansenula anomala 155
Hansenula polymorpha 142, 144
haploïd 13, 33, 36, 42, 43, 45, 47,
48, 60, 63, 65, 66
haustoria 59, 89, 163
heksenkringen 51
Hemileia vastatrix 161
Helminthosporium maydis 160
Helminthosporium oryzae 161
herbebossing 85
herkenningsreacties 59
heterokaryon 33, 36, 38, 39, 43,
44, 63, 67
heterokaryotisch 33, 64, 66
heterothallisch 45, 46, 47
heterotroof 35, 86
Hirsutella thompsonii 19, 20, 21
Histoplasma capulatum 119, 120, 125
histoplasmosis 119, 121, 125
HO-gen 46, 47
homokaryons 44
homokaryotisch 33, 44, 66
homoloog chromosoom 38, 64
homothallisch 46, 47
hormonen 61
houtindustrie 27
huisstof 15
huidziekten 119
huiszwam 129
hybriden 66
hybridisatie 64, 66
hydrofoob 41
hydrolytische enzymen 40, 42, 52, 53
hyfen 10, 13, 32-35, 43, 44, 50-60,
72, 75, 81, 83, 86, 87, 90, 123,
163, 172
hyfetypen 43
- Hyfomyceten 75
Hymenomyces 84
hypersentitieve reacties 59
- iepeziekte 89, 92, 163
imperfecte schimmels 9
incompatibiliteitsgen 44, 66
infectiestimulerende stoffen 75
inhaleren 122
inktwam 60, 61
insekten 17, 75, 114, 170
insektenplagen 20
introns 37, 48, 49
- jukzwammen 84
- kaas 25, 26, 103, 111, 145, 146,
155
kafjesbruin 75
kanker 122
kankerverwekkend 23
kefir 133
keratine 122, 124
kern 10, 48, 55, 60, 63, 66, 90,
91, 144
kerngenoom 48, 67
kernversmelting 13
kerosine 22
keverlarven 21
klonen 67, 68
Kluyveromyces 27
Kluyveromyces lactis 146, 147
knolvoetziekte 89
knopvorming 10
koffieroest 161, 162
koji 26
konidiën 13, 92, 126, 155, 171
konidiëndrager 22, 23, 126
konidiosporen 72
koolstof 9, 14, 27, 86, 146
korreltruffels 84
korstmossen 16, 71, 72
kruisingen 63
kumiss 133
- Lactarius* 84
lambiek 154
Leccinum 84
Lentinus edodes 68, 167
Lepista nuda 68
lethaal 40, 48
levensmiddelenindustrie 27
levensmiddelenmycologie 22
lichenen 71-74, 89

lignine 34, 35, 71, 84, 90, 106,
 107, 141, 146
 lignificatie 92
 lipase 27
 LSD 130
 luchtverontreiniging 74
 lysosomen 40

 macromoleculen 42
 medulla 72, 73
 meiose 13
 melkzwammen 84
 Mendel 48
 mesofiel 15
 metaboliëten 27, 134
Metarhizium anisopliae 20, 21
 micro-aëroob 25
 micro-autoradiografie 55, 56
 microben 133, 141
 microbodies 143
Microcycilus vlei 162
Microdochium 78
 microfilamenten 53
Micropolyspora 129
 microtubuli 53
 mitochondriën 47, 48, 49, 52, 67
 moederkoorn 104, 105, 130
 Monera 34
 monokaryon 43, 44, 45
 morille 168
Mortierella 77
 mRNA 37, 40, 43, 45, 47, 91
Mucor 11, 112, 127
Mucor miehei 146
Mucor racemosus 10, 12
 Mucorales 127
 multicellulair vruchtlichaam 34
 mutageen 23, 109
 mutagenese 63
 mutant 38, 39, 42, 47, 48, 94
 mutaties 38, 40, 44, 48, 65, 66,
 94, 147
 mycelium 10, 13, 22, 27, 32, 33,
 35, 44, 50, 55, 59, 60, 63, 65,
 66, 78, 81, 85, 109, 110, 111,
 113, 141, 147, 148, 156, 168
 mycobiont 72, 73, 74
 mycoflora 77
 mycoloog 32
 mycoparasitisme 79
 mycorrhiza 16, 35, 60, 71, 72,
 80, 81-87, 171
 mycose 17, 118-127
 mycostatisch 109

mycotoxicosen 110, 111, 112, 118,
 130
 mycotoxinen 22, 23, 25, 77, 105,
 111, 112, 113, 116, 135, 145
 mycotoxinogeen 111
 Myxomyceten 10

 NADH 139, 140
 Nameko-paddestoel 167
 necrotroof 78, 87
 nematoden 81
Neurospora 31
Neurospora crassa 38, 51
 niche 34, 78, 79, 96, 105-109
Nomureaea rileyi 21

 oesterzwam 68, 156, 167
Olpidium 11, 89
 ongeslachtelijke voortplanting 13
 ontogenie 13
 Oömyceten 10, 13
Ophiostoma ulmi 89, 92, 94, 163
 oppertunistische schimmels 17,
 122, 123, 127
Orchidales-mycorrhiza 80, 86, 87
 orchinol 67
 overlevingsstrategie 51

 paarse ridderzwam 68
Pachysolen tannophilus 139
 paddestoelaroma 155
 paddestoelen 9, 22, 32, 34, 51, 60,
 61, 64, 65, 66, 68, 105, 130, 141,
 155, 156, 165, 166, 168
Paecilomyces variotii 27, 141
 parameters 105, 108, 109, 113
 parasiet 17, 118, 123
 parasitisme 17, 59, 60, 79, 86, 87,
 90, 170, 172
 pathogene schimmels 17, 58, 72,
 75-79, 85, 87, 89, 92-98, 103,
 163, 165, 170
 pekilo 27
 pellets 147
 penicilline 27, 58, 61, 63, 64, 65,
 146-149
Penicillium 9, 11, 12, 23, 25, 62,
 109, 111, 112, 127, 129, 131
Penicillium camemberti 26, 133, 155
Penicillium casei 130
Penicillium chrysogenum 62, 63, 64,
 147
Penicillium frequentans 130
Penicillium nalgiovense 26

- Penicillium notatum* 63
Penicillium roqueforti 15, 25, 26, 64, 133, 155, 156
 peperkorrelzwam 84
 peptideketen 40
Peronospora tabacina 160, 163
 peroxysomen 143, 144
 perthotrofe schimmels 75, 87, 89
 pesticiden 80, 81
Pezicula malicorticis 163
 Pezizales 84
 pH 15, 85, 105, 107, 109, 146, 154
 phaeohyphomycose 17, 18
Phaffia rhodozyma 143
Phallus impudicus 84
Phialophora radiculicola 79
Phialophora verrucosa 125
Pholiota nameko 167
Phoma 11, 129
 Phycomyceten 13
Phytophthora cinnamoni 85, 98
Phytophthora infestans 103, 160
Phytophthora phaseoli 164, 165
Pichia pastoris 142
Pichia stipitis 139, 140
 pinocytose 34
Pisolithus 84
Pisolithus arhizus 85
Pithomyces 130
Pityriasis versicolor 124
 planteziekten 71, 60
 plantengemeenschappen 93, 96
 plantenpopulaties 93
 plasmamembraan 34, 35, 40, 41, 43, 51, 52, 56, 58, 59, 64
 plasmiden 67
Plasmodiophora 11, 89
Plasmodiophoromycetes 89
Plectoshaerella 78
 pleomorfie 10
Pleurotes 11, 167
Pleurotes ostreatus 68, 130, 156
 polyetheenglycol 64
 polypeptiden 38, 40, 41, 45, 49
 polysaccharide 55
 pourriture grise 171
 pourriture noble 155, 171
 primordiale plantecel 34
 produktisolatie 62
 procesindustrie 27
 procestechnologie 62
 Proefstation AGV 78, 173
 Proefstation voor de Champignon-cultuur 65, 66, 173
 prokaryoten 32, 34, 35, 36, 47, 61
 Proteaceae 98
 progesteron 151
 Protista 32, 34, 35
 Protoctista 10, 32
 protoplasten 53, 55, 66, 67
 protoplastfusie 64
 pseudoparenchym 72
 pseudoplasmodium 50
Pseudoperonospora cubense 163
Psilocybe 130
Psilocybe cubensis 24
 psychrofiel 15, 108, 109
Puccinia chondrillina 96
Puccinia horiana 162
Puccinia striiformis 163, 164, 165
 pufballen 129
 pycnidiën 72
 ragi 26
 receptoren 90, 91
 recombinant-DNA 47, 67
 recombinatie 63, 64, 67
 recycling 21, 103, 105-108
 reductiedeling 13, 34, 43, 48, 60, 64, 66
 regeneratie 64
 regulatorgenen 43, 44
 reincultuur 19, 26, 36, 81, 85, 153
 resistentie 67, 90-93, 95, 96
 resistentiegen 93, 94, 98
 reuzebovist 156
Rhizoctonia solani 79, 86, 89, 172
Rhizomucor 11, 27
Rhizopogon 84
Rhizopus 11, 25, 26, 127, 133
Rhizopus nigricans 151
 rhizosfeerschimmels 77
Rhodotorula 129
 ribosoom 40, 45, 49
 ridderzwammen 84
 ringworm 119
 RNA 37, 40, 49, 145
 rode gisten 75, 143
 roest 89, 96, 129, 130, 162, 163
 roetdauw 75
 rijststropaddestoel 68, 167
Saccharomyces 129
Saccharomyces cerevisiae 15, 42, 45-49, 67, 133, 135, 139, 143, 156
 saprofyt 20, 21, 74-79, 87, 88, 89,

121, 122, 123, 125, 127
 schimmelbederf 22
 schimmelisolaten 26
 schimmelkazen 25, 26, 103, 111,
 145, 146, 155
 schimmelparasieten 17, 19
 schimmeltuinen 17
 schimmelvergiftigingen 110, 111
Schizophyllum commune 13, 14, 37,
 43, 52, 55, 66
Scleroderma citrinum 84
 sclerotien 6, 13, 60
 sclerotien 13
 sclerotium 130
 secretorisch eiwit 43
 septen 33, 43, 51
Septoria nodorum 75
Serpula lacrimans 129
 sesquiterpenen 85
 sexuele voortplanting 13
 sherry 154
 shii-take 68, 167
 signaalpeptide 40, 41, 42
 single-cell protein 135, 141, 145
 slijmschimmels 32, 48
 slijmzwammen 10
 smaakstoffen 152
 soja 25, 133
 sorediën 72
 sorptie-isotherm 109, 110
 sporangien 13
 sporangiëndragers 10
 sporen 13, 46, 66, 121, 128, 129,
 130, 170, 171
Sporobolomyces 129
Sporobolomyces roseus 75
 sporotrichosen 119, 125
 sporulatie 63, 95
 spruitcellen 10
 spruw 119
Stachybotrys 112
 stamverbetering 65
 startercultuur 25
 steel 50, 60, 61
 steeltjeszwammen 84
 stereochemische configuratie 151
 steroïdchemie 27
 steroïd-conversies 150, 151, 152
 stiftstof 14, 73, 84, 86
 stinkzwam 84
 stofwisselingsprodukten 23, 27
 strekkingsgroei 60
 stuifmeelkorrels 75, 76
 submers 27

successie 105, 107
Suillus 85
 symbiose 15, 17, 59, 71, 72, 73,
 85, 86
 synchroniseren 36
 synchroon 13
 systeem-mycosen 121, 122, 123,
 125, 126
 tamari 26
 tarwe 78, 79, 94
 tarwehalmddoder 78
 tempe 25, 26, 133
 teratogeen 109
 terpenen 85
 thallus 72, 73, 89
Thanatephorus 86
Thermoactinomyces 129
 thermofiel 15
 thyllen 90
 tolerantie 96
 topgroei 35
 toxine 23, 25, 84, 105, 130, 131
 transcriptie 43, 47
 transformatie 47, 61, 64, 67
 transpositie 47
 traumatische inoculatie 122, 125
Trichoderma 77, 79
Trichoderma viride 141
 Trichomyceten 17
Tricholoma 84
Trichophyton mentagrophytes 124
Trichophyton rubrum 124
Trichophyton schönleinii 119
 tRNA 49
 truffels 84, 168
 Tuberales 84
 tubuline 53
 tumorcellen 36
 turgor 55, 56, 58
 Unilever 156
 uredosporen 163
 vaatplanten 71
 vaccins 61
 vacuole 41, 51, 55, 144
 valse meeldauw 160, 163, 164
 VAM-schimmels 71
 vatbaarheid 90
 veevoer 27
 vegetatie-successie 74
 vegetaties 71
 vegetatieve hyfen 33

verfstuifzwam 84
veroudering 75, 77
Verticillium biguttatum 79, 172
Verticillium fungicola 172
Verticillium lecanii 20, 21
verwelkingsziekte 92
vesiculæ 81
vesiculaire arbusculaire mycorrhiza
 (VAM) 80, 83
vezeltruffels 84
virulentiegen 84
virussen 119
virusresistentie 67
virusziekte 67, 83
vitamine 38, 73, 75
vlekkenziekte 75
vlieszwammen 84
vlinderlarven 21
voedselbron 15
voetschimmel 17
Volvariella volvacea 68, 167
voortplanting 10, 13, 60
vormenrijkdom 9
vruchtlichaam 10, 43, 66
vruchtrot 163
vruchtwisseling 78

waardplant 76, 78, 81, 84-89,
 92-97, 164
wasmiddelen 145
wateractiviteit 15, 16, 105, 109,
 113
watergehalte 113, 114, 115
waterschimmels 13, 15, 32
watersorptie-isotherm 110
weefselparasiet 123
white rot-schimmels 107
witschimmelkazen 26
witte vlieg 21
wortelmycoflora 78

xerofiel 15, 113
xerotrofe 109
xyleemvaten 90
xylose 139, 140, 146

Yarrowia (Candida) lipolytica 142

zakjeszwammen 84
zoösporen 13
zure regen 85
zuurstof 15, 47
zwamvlok 10
zwarte koji 26

zwarte roest 164
zwartschimmels 75
Zygomyceten 13, 33, 71
Zygomycetes 84
Zygomycotina 81
zygosporen 13