

## DE VORMING EN DE ECOLOGISCHE BETEKENIS VAN CAROTENEN BIJ MICRO-ORGANISMEN

J. W. Woldendorp

### 1. Carotenen en hun voorkomen bij planten en dieren

Onder de carotenen verstaat men een groep natuurlijke pigmenten, met een gele tot rode kleur, die wijd verbreid in het planten en dierenrijk voorkomt. Men vindt ze naast het voor de koolzuurassimilatie noodzakelijk chlorophyl in alle groene delen van planten. Daarnaast treft men ze aan in sommige vruchten, die er hun heldere kleur aan ontlelen. Bekende voorbeelden hiervan zijn de tomaat, peen en paprika. De kleur van vele bloemen, zoals boterbloem, paardebloem, goudsbloem en Oostindische kers wordt eveneens veroorzaakt door carotenen.

Ook in het dierenrijk worden carotenen aangetroffen. Voor zover bekend kunnen dieren deze pigmenten niet zelf maken, dit in tegenstelling tot de planten. Zij zijn voor hun behoefte aan carotenen aangewezen op de opname uit plantaardig voedsel. Wel kunnen zij sommige carotenen enigszins omvormen tot andere verbindingen. Zo zijn zoogdieren in staat bepaalde carotenen om te zetten in vitamine A. Het eten van caroteenrijke vruchten is daarom een uitstekende manier om in de behoefte aan dit vitamine te voorzien. Bekend is, dat flamingo's in gevangenschap hun kleur verliezen tenzij men ze caroteenrijke produkten voert, zoals lucernemeel. Ook het gele verenpak van de kanarie wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van carotenen, terwijl de kip niet in staat is een ordentelijk ei met een gele dooier te fabriceren, als zij niet voldoende carotenen met het voedsel verstrekt krijgt.

Chemisch gesproken bestaat er een grote mate van overeenkomst tussen de carotenen en de natuurlijke rubber. Beide typen verbindingen zijn gevormd uit dezelfde bouwstenen en zijn alleen uit de elementen koolstof en waterstof opgebouwd. Een bepaald type carotenen, de xanthophyllen, be-

vat daarnaast nog zuurstof. Carotenen lossen goed op in vetachtige stoffen en bijzonder slecht in water. Dit kan men goed zien bij tomatensoep, waarbij de bovendrijvende oogjes vet veel sterker gekleurd zijn dan de rest van de soep.

Er bestaat een groot aantal verschillende soorten carotenen, die hun naam vaak ontleen aan de plant, waaruit zij het eerst geïsoleerd zijn: carotenen uit de peen (*Daucus carota*), lycopreen uit de tomaat (*Solanum lycopersicum*) en taraxanthine uit de paardebloem (*Taraxacum officinale*), Trollixanthine uit de Trollius (*Trollius europaeus*). Aanvankelijk had men de verwachting dat het voorkomen van de diverse soorten carotenen taxonomische betekenis zou hebben. Dit bleek echter niet het geval te zijn. Zo wordt taraxanthine aangetroffen bij *Helianthus annuus*, *Ranunculus acer*, *Taraxacum officinale* en *Ulex europaeus*, dus taxonomisch in het geheel niet verwante soorten.

Over de functie van de carotenen bij planten heeft men lang in het duister getast. Hoewel de Nederlandse botanicus Went (1) ze reeds in 1904 een tegen het zonlicht beschermende functie toedacht, heeft het tot 1955 geduurd voordat men voor deze hypothese enig feitelijk bewijsmateriaal kon aanvoeren. Lange tijd heeft de veronderstelling opgedaan, dat de carotenen bij de fotosynthese een bepaalde rol in de benutting van lichtenergie zouden spelen. De onjuistheid van deze veronderstelling heeft men tenslotte kunnen aantonen met mutanten — planten met afwijkende erfelijke eigenschappen — die geen carotenen bevatten. Dergelijke mutanten bleken desalniettemin tot fotosynthese in staat; voor dit proces was derhalve de aanwezigheid van carotenen geen vereiste.

Het inzicht dat de laatste jaren verkregen is in de vorming en functie van carotenen is hoofdzakelijk opgedaan in onderzoeken met micro-organismen. In het onderstaande wordt op een aantal van de verkregen resultaten wat nader ingegaan.

### 2. Carotenen bij micro-organismen

In dit artikel worden onder micro-organismen verstaan die organismen, die in een bepaald stadium

van hun ontwikkeling in staat zijn zich vegetief — d.w.z. niet-geslachtelijk — te vermeerderen. Volgens deze definitie behoren hiertoe zowel de met het blote oog zichtbare wieren en paddestoelen als de microscopisch kleine algen, schimmels, gisten en bacteriën. Bij alle genoemde groepen micro-organismen heeft men carotenen aangetroffen. En dit niet alleen bij fotosynthetiserende organismen zoals algen, maar ook bij schimmels, gisten en bacteriën, die zich alleen met organische koolstofverbindingen kunnen voeden. Vooral bij de bacteriën heeft men de vorming en de functie van de carotenen goed kunnen bestuderen.

### 2.1. Carotenen bij halofiele bacteriën

Halofiele (zoutminnende) bacteriën zijn organismen die leven in met zouten verzadigd water. In zoutarm water sterven zij binnen zeer korte tijd. Deze organismen komen voor in zoutmeren zoals de Dode zee en het Great Salt Lake in de Verenigde Staten. Ook uit zeezout zijn zij op eenvoudige wijze te isoleren. Bovengenoemde bacteriën blijken bijzonder sterk gepigmenteerd te zijn door gele, oranje of rode carotenen. Aanvankelijk dacht men dat de aanwezigheid van deze kleurstoffen verband hield met de zoutbehoefte, doch dit bleek niet het geval te zijn. In 1962 gelukte het nl. aan de Noorse microbioloog Larsen (2) een ongekleurde, caroteenvrije mutant van een halofiele bacterie te isoleren. Het bleek, dat deze mutant doodging, wanneer hij aan een sterke belichting werd blootgesteld. De gekleurde moederstam, waaruit de mutant verkregen werd, ondervond geen enkele hinder van een identieke belichting. Uit dit resultaat kon geconcludeerd worden dat de carotenen bescherming geven tegen sterke zonnestraling. In latere experimenten bleek, dat van het zichtbaar licht in het bijzonder het blauwe deel van het spectrum een sterke beschadigende werking op caroteenvrije micro-organismen uitoefent.

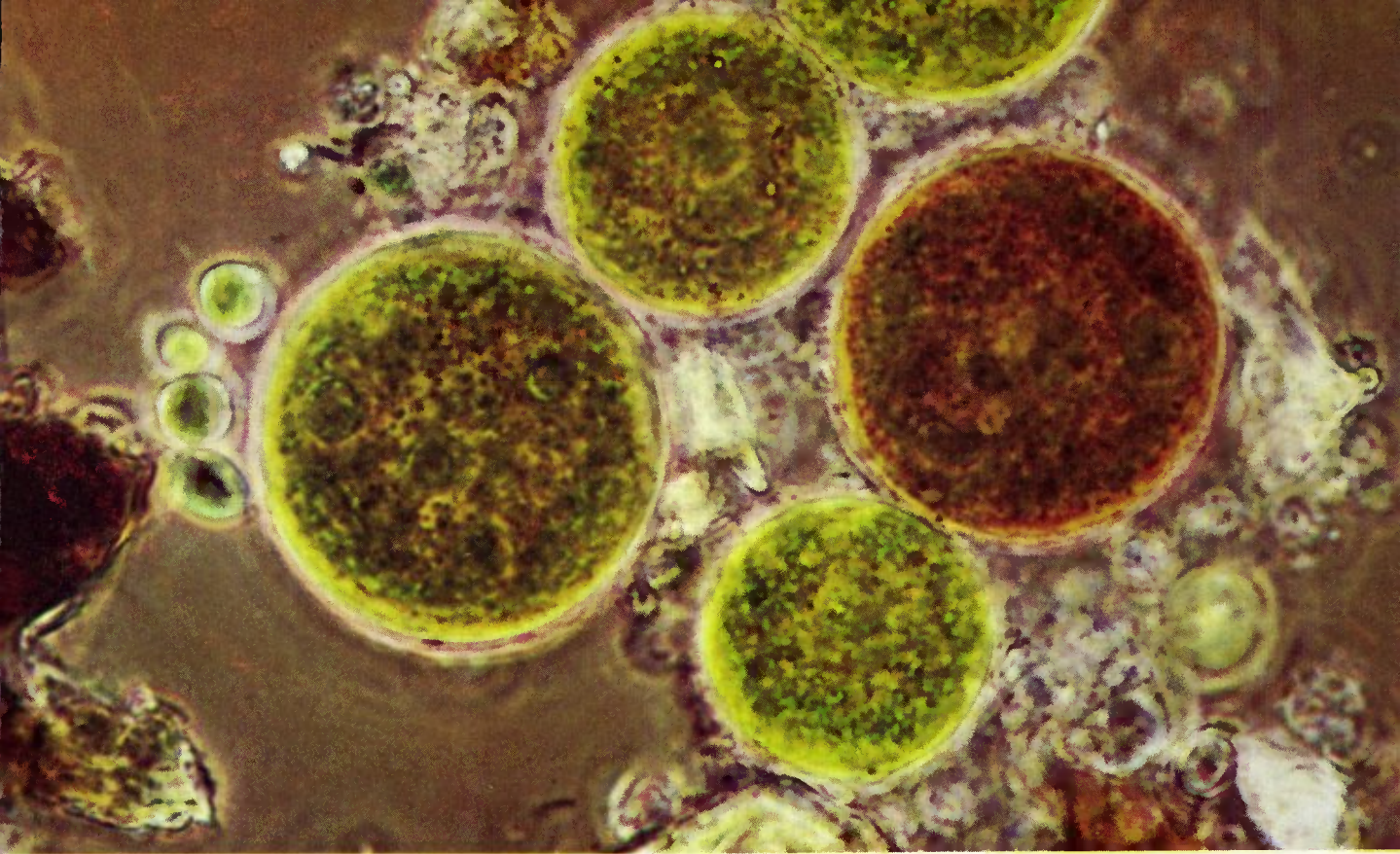
Het natuurlijke milieu van deze bacteriën, de zoutmeren, treft men aan in gebieden met een sterke instraling van zonlicht. Klaarblijkelijk kunnen in een dergelijk milieu alleen die bacteriën zich handhaven, die beschermd worden door een hoog ge-

halte aan carotenen. Aldus vond in dit milieu een natuurlijke selectie van sterk gepigmenteerde micro-organismen plaats.

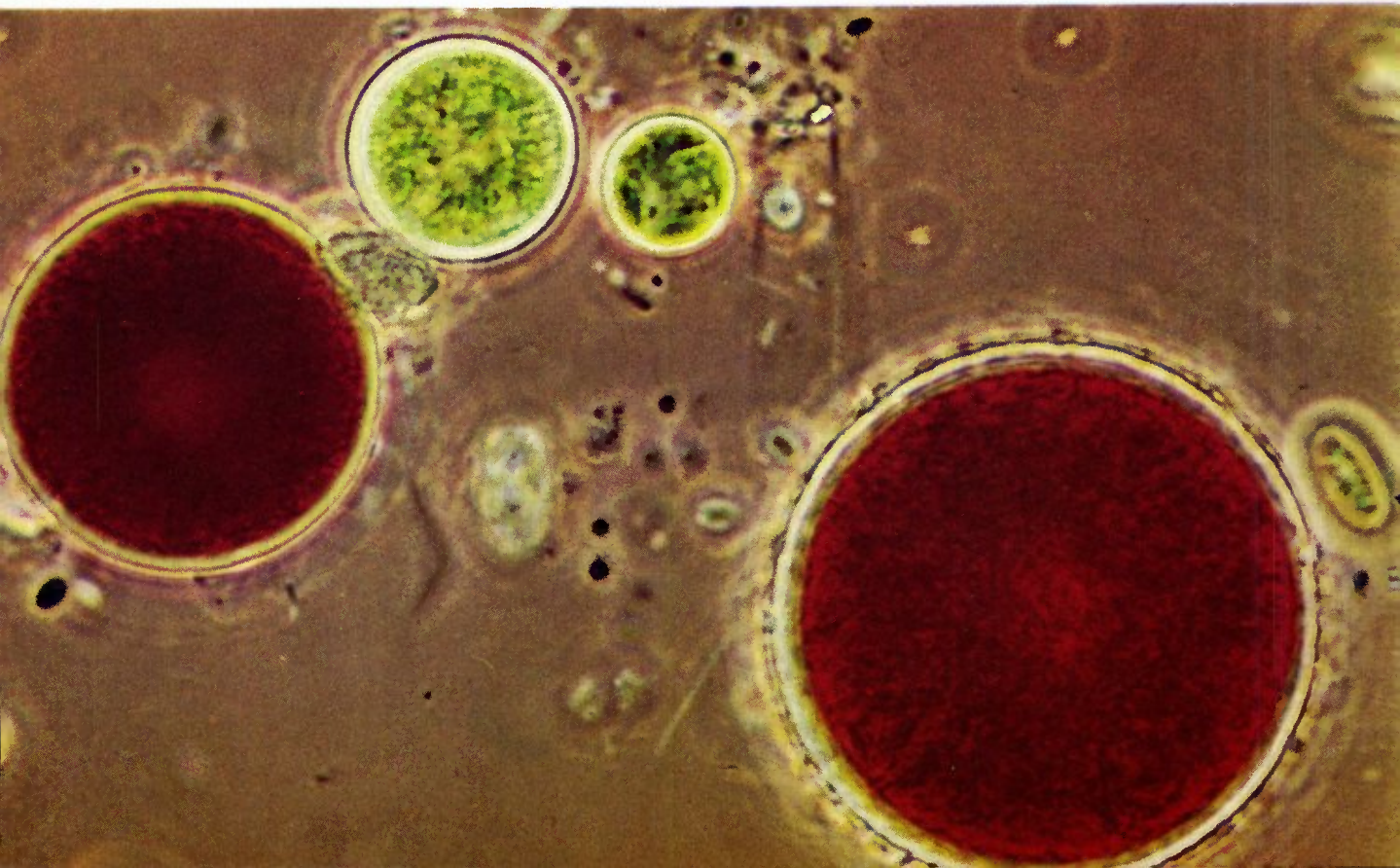
### 2.2. Carotenen-vorming bij algen

Sommige soorten der ééncellige groenalgen (*Chlorophyta*) bezitten het vermogen om onder bepaalde omstandigheden grote hoeveelheden rode carotenen te vormen, waardoor de aanvankelijk groene cellen knalrood worden (Fig. 1 en 2). Een dergelijke roodkleuring treedt vooral op bij de soorten *Haematococcus pluvialis* en *Chlamydomonas nivalis*. De eerste soort komt veelvuldig voor in dakgoten, de tweede op sneeuw in het hooggebergte, waar hij aanleiding geeft tot de zg. 'Blutschnee'. Onlangs werd door Czygan (3) bewezen, dat de roodkleuring vooral optreedt bij stikstofgebrek. Bij een voldoende beschikbaarheid van stikstof blijven deze algen normaal groen. Dit kan men ook in de praktijk waarnemen: in de buurt van berghutten (stikstofverspreiding uit dierlijke faecaliën) is de 'Blutschnee' groen. Door de schrijver werd aangetoond dat de roodkleuring ook optreedt bij indrogen van de algen. Een mengcultuur van verschillende groenalgen w.o. *Haematococcus pluvialis* werd gesuspenseerd in een stikstofvrije oplossing van voedingszouten, welke men vervolgens met behulp van een rondpompsysteem liet lopen over een ruw oppervlak dat sterk belicht werd. Op dit ruwe oppervlak gingen de algen zich vermeerderen. Aanvankelijk traden normale groenalgen zoals *Chlorella* en *Scenedesmus* op de voorgrond, terwijl *Haematococcus* vrijwel niet tot ontwikkeling kwam. Vervolgens werd het oppervlak beurtelings één dag bevochtigd en één dag droog gelaten. Onder deze omstandigheden kreeg *Haematococcus* snel de overhand en het oppervlak werd rood gekleurd. In een controle, waarbij het oppervlak steeds bevochtigd werd, bleef dit normaal groen. Het is duidelijk dat de drooggevallen algen aan een veel sterkere lichtstraling onderhevig zijn dan de bevochtigde algen. Onder deze omstandigheden krijgen klaarblijkelijk soorten, die zich tegen deze straling kunnen beschermen met behulp van carotenen, de overhand op soorten die dit niet kunnen.





Figuur 1  
Figuur 2





In het hooggebergte, waar levende wezens aan een sterke straling zijn blootgesteld, zijn met name de korstmossen — symbiose van een schimmel en een alg — bijzonder fel gekleurd door carotenen. De overeenkomst met het halofiele milieu is frappant en het is verleidelijk te veronderstellen dat ook hier de natuur door carotenen beschermende soorten heeft geselecteerd.

Thans is het wetenschappelijk onderzoek zover gevorderd, dat men weet dat ook bij de hogere planten de carotenen bescherming geven tegen een schadelijke reactie veroorzaakt door een gecombineerde werking van licht en zuurstof. Het mechanisme van de bescherming werd zeer onlangs op chemisch niveau volledig opgehelderd (4).

### 3. De oranje kleur van Limburgse kaas

In oude Duitse publikaties (5) over de bereiding van Limburgse kaas kan men lezen dat deze kaas vroeger fel oranje gekleurd was. Wie thans een pakje Rommedou openmaakt, ziet dat het oppervlak van deze kaas gelig is met hoogstens hier en daar wat vage oranje verkleuringen. De vraag rijst natuurlijk hoe het komt dat deze kaas zijn oranje kleur verloren heeft. De Limburgse kaas behoort tot de zg. zachte kaassoorten. Bij deze zachte kazen vindt de rijping plaats onder invloed van de microflora die groeit op het oppervlak van de kaas. Dit in tegenstelling tot de harde en halfharde kaassoorten, zoals Goudse en Edammer kaas, die van binnenuit rijpen.

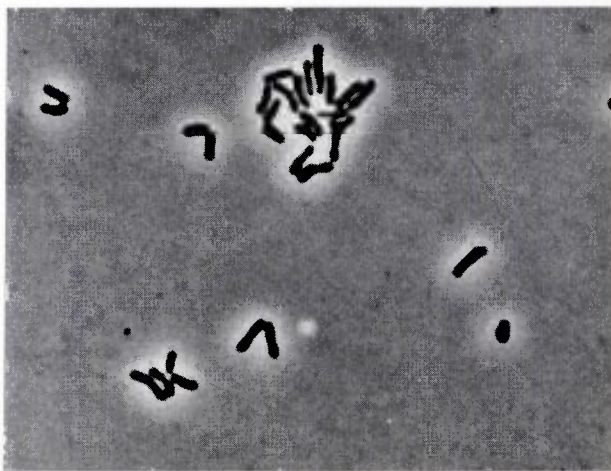
De microflora die verantwoordelijk is voor de rijping van de Limburgse kaas bestaat grotendeels uit bacteriën. Volgens de oude literatuur zou de soort *Brevibacterium linens* (Fig. 3) hierbij een belangrijke rol spelen. Sommige stammen van deze soort zijn fel oranje gekleurd, waarbij ook hier carotenen voor de kleur verantwoordelijk zijn. Onlangs werd door Mulder cs. (6) aangetoond, dat *Br. linens* ook thans nog in grote getale op de korst voorkomt. Merkwaardigerwijze betreft het echter grotendeels stammen die in het donker vrijwel geen kleur aannemen, maar in het licht snel oranje worden. Ook hier bestaat dus een duidelijk

verband tussen licht en de vorming van carotenen.

Omdat de rijping van Limburgse kaas in het donker plaats vindt, lag het voor de hand te onderzoeken, wat er bij belichting met de kleur van Limburgse kaas zou gebeuren. Proeven in die richting zijn enige tijd geleden ondernomen, echter met een onverwachte afloop. Inplaats van een fraai oranje gekleurde kaas ontstond een kaas met een vuile, groenige tint. Verder onderzoek toonde aan dat de vorming van carotenen wel op gang gekomen was, maar in een vóórtijdig stadium was blijven steken, waarbij groene tussenprodukten ontstonden.

Het raadsel van de oranje Limburgse kaas is dus nog steeds niet opgelost. Wel toont ook dit voorbeeld aan, dat het voorkomen van carotenen in de natuur vele onvermoede aspecten heeft en soms tot belangrijke consequenties leidt voor het evenwicht in de natuur.

Figuur 3



**Figuur 1**

Groene cellen van *Haematococcus pluvialis*; enkele cellen beginnen reeds te verkleuren tengevolge van de vorming van carotenen (vergroting 500x, fase-contrast); Foto: J. W. Woldendorp en A. J. van Straeten.

**Figuur 2**

Rode cellen van *Haematococcus pluvialis* (vergroting 500x, fasecontrast), Foto: J. W. Woldendorp en A. J. van Straeten.

**Figuur 3**

De onregelmatige staven van *Brevibacterium linens* met V-vormen (zg. „snapping-division”) (vergroting 1000x, fase-contrast); foto: J. Antheunisse.

**Literatuur**

1. Went, F. A. F. C., Rec. trav. botan. néerland. 1, 106, 1904.
2. Larsen, H., The Bacteria, Vol. IV, 336, 1962 (ed. Gunsales and Stanier).
3. Czygan, F. C., Arch. f. Mikrobiol. 74, 69-81, 1970.
4. Foote, C.S., Chang, Y. C. and R. W. Denny, J. Am. Chem. Soc. 92, 5216-5219, 1970.
5. Mulder, S. J., Skriptie, Wageningen 1965.
6. Mulder, E. G., Adamse, A. D., Antheunisse, J., Deinema, M. H., Woldendorp J. W. and Zevenhuizen, L. P. T. M., J. Appl. Bacteriol. 29, 44-71, 1966.