

A scanning electron micrograph (SEM) showing a complex network of soil microorganisms. The image features various structures, including a prominent, thin, vertical filamentous structure on the left, and several larger, more rounded, and textured clusters of cells or spores. The background is dark, highlighting the intricate details of the microbial life.

Bodemlegers in een lege bodem

**Het belang van ondergrondse
microbiële conflicten**

Bodemlegers in een lege Bodem

Het belang van ondergrondse microbiële conflicten

Prof. dr. Wietse de Boer

Inaugurele rede bij de aanvaarding van het ambt van
Buitengewoon hoogleraar Microbiële Bodemecologie
aan Wageningen University op 14 februari 2013

Meneer de Rector, familie, vrienden, collega's, Dames en Heren,

Ik wil u graag uitnodigen om met mij terug te reizen in de tijd, naar de IJzertijd, zo'n 2500 jaar geleden. In deze omgeving kwamen toen boerderijen voor zoals te zien in Fig. 1. : een reconstructie van een ijzertijdboerderij in de buurt van Wekerom.



Figuur 1. Gereconstrueerde ijzertijdboerderij bij Wekerom.

Boerderij, landbouw..... Het klinkt allemaal zo normaal, maar dat is het helemaal niet. Als we nog eens 2500 jaar verder terug zouden gaan dan hebben we hier te maken met rondtrekkende jagers-verzamelaars. De overgang van het bestaan als jagers-verzamelaars naar landbouwers heeft zo'n 10000 jaar geleden plaats gevonden in een gebied waar nu Irak ligt¹. Dit heet de neolithische revolutie en het heeft een allesbepalend effect gehad op de ontwikkeling van de menselijke samenleving. De complexe samenleving zoals we die nu kennen komt voort uit de permanente vestiging van de eerste landbouwers, waaruit zich in de loop van de tijd dorpen en steden hebben ontwikkeld. Hoewel we dat in de huidige samenleving gemakkelijk uit het oog verliezen, zijn ook wij voor ons voedsel vrijwel geheel afhankelijk van landbouw en zijn wij dus in essentie, nog steeds een landbouwsamenleving.

Met de overgang naar de landbouw moet ook het besef van het belang van bodem zijn ontstaan. Sporen van vroege akkers die bij de ijzertijdboerderijen hoorden, zijn nog in het landschap te herkennen en worden raatakkers of celtic fields genoemd. Deze akkers werden een tijdlang gebruikt voornamelijk om granen te verbouwen en werden dan weer met rust gelaten; een cultuur van “zwervende erven”². Bij blijvend gebruik leverden de akkers steeds minder opbrengst. Ze leken uitgeput te raken. Zoals we nu weten zijn daar twee oorzaken voor aan te wijzen: een afname van minerale voedingsstoffen voor de gewassen en een toename van ziekteverwekkers.

Voedingsstoffen kunnen zelf worden aangeboden in de vorm van mest, en dit is hier op de Veluwe gedaan in de zogenaamde potstalcultuur³. Hierbij werden strooisel en plaggen uit de wijde omgeving verzameld en in stallen gebracht, daar werd het gemengd met de uitwerpselen van het vee en dit diende als bemesting van de akkers. Zo ontstonden er vruchtbare eerdgronden rond de dorpen en voedselarme gebieden in een wijde omtrek er omheen, de prachtige paarse heide. Maar dit systeem ging ten onder aan z’n eigen succes, de vraag naar plaggen was uiteindelijk zo groot, dat er te vaak werd geplagd en er stuifzanden zijn ontstaan. De les was hard maar duidelijk je kunt met een bodem niet zo maar alles doen. Met de entree van kunstmest, 2^e helft 19^e eeuw, is de volledige afhankelijkheid van organische meststoffen opgeheven. De toepassing van gewasrotaties om te zorgen dat ziekteverwekkers in de bodem zich niet uit kunnen breiden kent al een lange geschiedenis. Zo is er in de tijd van Karel de Grote al een verplichting om te telen volgens een drieslagstelsel, 2 jaar verschillende granen gevolgd door 1 jaar braak, later gevolgd door een vierslagstelsel, een 4 jarige rotatie van 4 verschillende gewassen⁴.

Micro-organismen

Het besef dat de opbrengst van het gewas grotendeels bepaald wordt door activiteiten van bodem-micro-organismen is eigenlijk pas in het begin van de vorige eeuw ontstaan. De ontdekking van micro-organismen wordt toegeschreven aan onze landgenoot Antoni van Leeuwenhoek, een 17^e-eeuwse zakenman die als hobby lenzen sleep en er eenvoudige microscopen mee maakte⁵. Die microscoop is niet groter dan een luciferdoosje en in een klein gaatje is de lens geconstrueerd.

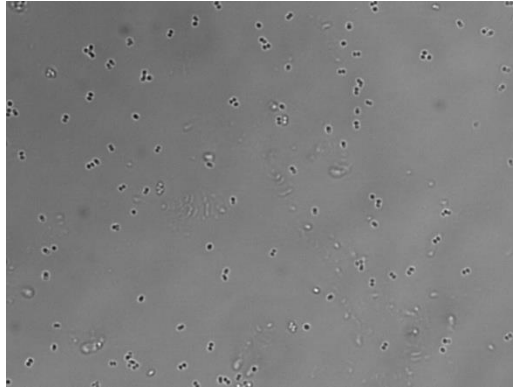


Figuur 2. Microscoop gemaakt door Antoni van Leeuwenhoek (Museum Boerhaave, Leiden).

Een heel goede lens, waarmee van Leeuwenhoek een vergroting van bijna 300x wist te bereiken en zo net in staat was om bacteriën te zien. Daarvoor moet hij wel heel goede ogen hebben gehad, maar gezien de grootte van de microscoop en de lens moet dat wel het geval zijn geweest. De definitie van micro-organismen is ook terug te brengen tot de waarnemingen van van Leeuwenhoek: organismen die niet met het blote oog te zien zijn. Dat is een definitie die nog steeds in microbiologische tekstboeken staat en het is eigenlijk een heel merkwaardige definitie. Want over wiens blote oog hebben we het eigenlijk? De variatie aan onderscheidend vermogen van blote ogen is groot. Wat een bladluis is voor de één kan een micro-organisme zijn voor de ander. Het is dus beter om een exacte definitie te geven en een algemeen aanvaarde is dat een organisme kleiner moet zijn dan 0.3 mm om micro-organisme genoemd te worden.

Bodem micro-organismen

De micro-organismen in de bodem waar ik het vandaag over wil hebben zijn bacteriën en schimmels. Bacteriën voldoen volledig aan de definitie van micro-organisme, de meesten zijn één of enkele van een duizendste millimeter groot.



Figuur 3. Bacteriën zoals te zien met een lichtmicroscop.

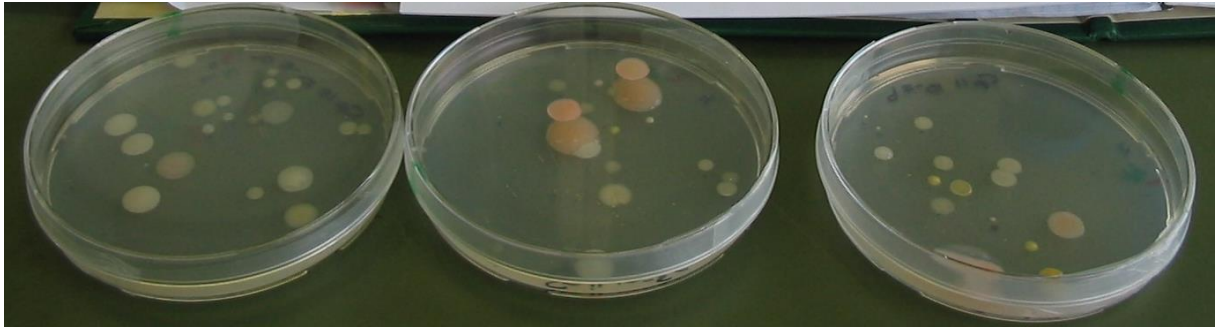
Bij schimmels ligt het moeilijker. De meeste schimmels zoals ze in de bodem voorkomen bestaan uit zelfstandige draadvormige eenheden, ook wel hyfen genoemd. Een fantastisch goede groeivorm in de bodem, waarvoor lucht gevulde poriën geen beperking vormen maar gewoon overgestoken kunnen worden, zoals op de foto van de omslag is te zien. De doorsnee van de meeste schimmeldraden is kleiner dan een honderdste millimeter, en een enkelvoudige schimmeldraad is dus zonder microscoop niet te zien. Maar de draden van bepaalde schimmels, die we ook wel “hogere schimmels” noemen, kunnen zich bundelen en die bundels kunnen grote afmetingen aannemen, zeker als ze vruchtlichamen vormen die wij kennen als paddenstoelen.



Figuur 4. Een paddenstoel bestaat uit schimmeldraden.

Cirkels van paddenstoelen, heksenkringschimmels, bestaan uit één individu waarvan de draden alle kanten zijn uitgegroeid en met behulp van DNA technieken is voor een bepaalde schimmelsoort aangetoond dat de doorsnede van zo'n cirkel enige kilometers is⁶. Dit is het grootste levende organisme op aarde maar volgens veel microbiologische tekstboeken dus ook een micro-organisme!

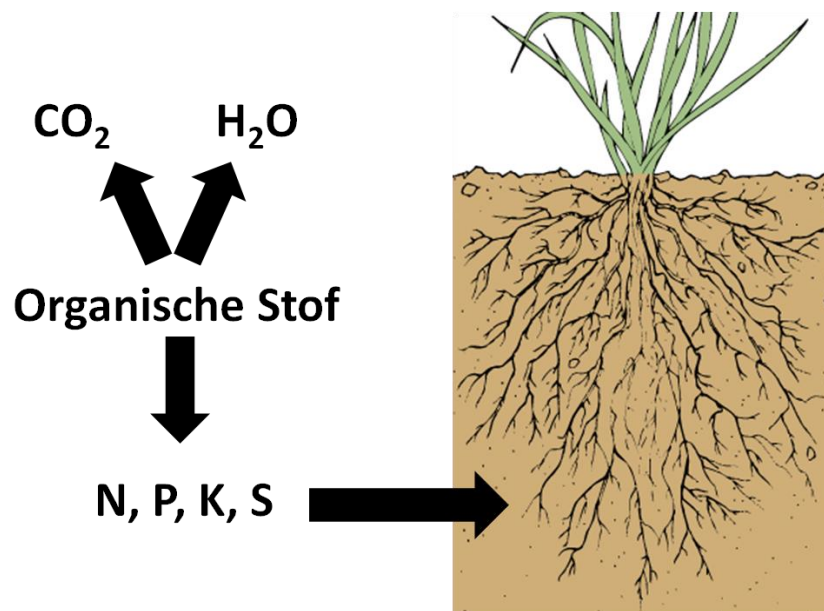
Overigens kunnen we bacteriën ook zien zonder microscoop. Dat hebben we te danken aan Robert Koch die in 1881 de gelatine-voedingsbodem introduceerde, later vervangen door agar⁷. Op deze pudding-achtige laag kunnen bacteriën wel delen maar niet wegzwemmen en zo ontstaan er kolonies, die goed te zien zijn.



Figuur 5. Kolonies van bacteriën op een agar-voedingsbodem.

Bodemmicrobiologie en Bodemmicrobiologen

Aan het eind van de 19^e eeuw was met name door het werk van Louis Pasteur duidelijk geworden dat micro-organismen nodig zijn om de organische stof in de bodem af te breken, waarbij niet alleen water en koolzuurgas vrijkomen maar ook minerale voedingsstoffen, zoals ammonium, voor planten^{7,8}.



Figuur 6. Afbraak van organische stof in de bodem door micro-organismen is een essentieel onderdeel van de cycli van elementen.

Het onderzoek van Martinus Beijerinck en Sergeij Winogradsky onthulde de rol van micro-organismen in twee andere belangrijke processen voor stikstofvoorziening van planten: stikstoffixatie bij vlinderbloemigen en nitrificatie (oxydatie van ammonium naar nitraat)^{7,8}.

Ondertussen was ook bekend dat micro-organismen niet alleen ziektes kunnen veroorzaken bij mens en dier maar ook bij planten^{7,8}. Later werd echter ontdekt dat micro-organismen juist ook gebruikt kunnen worden om ziektes te bestrijden. In 1928 ontdekte Alexander Fleming het eerste antibioticum, penicilline, waarmee een schimmel bacteriecellen liet openbarsten. Dit zorgde voor een enorme vooruitgang in de geneeskunde. Met al deze kennis kwam het besef van het belang van micro-organismen voor het functioneren van de bodem en ontstond er een speciale onderzoeksrichting: de bodemmicrobiologie. De Amerikaan Selman Waksman heeft een grote bijdrage geleverd aan de ontwikkeling van de bodemmicrobiologie. Zijn boeken geven een heel goed overzicht van de stand van zaken van het vakgebied in de eerste helft van de vorige eeuw⁸.

Het gebied van de bodemmicrobiologie heeft zich sterk verder ontwikkeld, vooral ook door de toepassing van moleculair biologische technieken, en vanuit de achterstand die er eerst was ten opzichte van andere biologische vakgebieden is er een zelfbewuste gemeenschap van bodemmicrobiologen ontstaan. Die zelfbewustheid uit zich bijvoorbeeld in de manier waarop we ons vakgebied onder de aandacht brengen. Daarvoor hebben we een aantal troeven tot onze beschikking waarmee geïmponeerd kan worden. Troef 1 is de grote ondergrondse biomassa van micro-organismen. Dat kan als volgt geïllustreerd worden. In een grasland is een graasdichtheid van 5 schapen per hectare normaal is, onder de grond bevindt zich op diezelfde hectare een massa van micro-organismen die gelijk is aan 30 to 50 schapen. Dat is niet gering.

Troef 2 gaat over de aantallen. In een gram grond kunnen zich 10 miljard bacteriën ophouden en ook nog een enige honderden meters aan schimmeldraden. En alsof dat nog niet voldoende is om groot opzien te baren volgt troef 3 namelijk dat die grote aantallen ook nog bestaan uit heel veel verschillende soorten, schattingen lopen uiteen van 1000 to 100000 soorten micro-organismen per gram grond. Als finishing touch wordt dan ook nog

meegedeeld dat we nog maar een heel klein gedeelte, minder dan 5%, van die soorten hebben kunnen kweken. Succes verzekerd!

Uiteraard doe ik hier zelf volop aan mee, maar ik zal de feiten vandaag toch enigszins nuanceren. Ten eerste het aantal soorten. Uit de Griekse mythologie kennen we de chimeer: een dier met het lichaam van een geit, de kop van een leeuw en de staart van een slang. Je zou kunnen zeggen een fabeldier. In de bodem is dit geen fabel. Bacteriën kunnen DNA uit de omgeving opnemen en inbouwen in hun eigen DNA⁹. Dit gebeurt weliswaar niet zo vaak, maar is vaak genoeg gebeurd om een grote mengelmoes van eigenschappen van verschillende soorten bacteriën en zelfs van schimmels en andere organismen binnen een bacterie aan te kunnen treffen. Dit lijkt dus sterk op wat wij genetische modificatie noemen, en dat mag eigenlijk niet zonder vergunning, maar daar lijken bodembacteriën zich weinig van aan te trekken. Zo kunnen zelfs stammen die tot dezelfde bacteriesoort worden gerekend heel verschillende eigenschappen hebben¹⁰. Het is belangrijk dat we ons dit realiseren wanneer we de relatie tussen de samenstelling van bacteriën in een bodem en het functioneren van die bodem willen onderzoeken. De eigenschappen van de bacteriën, de functionele genen, zijn daarvoor in veel gevallen van meer belang dan de namen die we aan de bacteriën kunnen geven.

Dan die grote aantallen. Als je met een theelepel een beetje grond uit je tuin zou scheppen, dan heb je ongeveer een gram grond. Toch bedraagt het gezamenlijke oppervlak van al de gronddeeltjes in die ene gram minstens 10 vierkante meter. Als we nu een inschatting maken van het oppervlak dat door de honderden meters aan schimmeldraden en de 10 miljard bacteriën wordt ingenomen, dan blijkt dat minder dan 1 procent van het bodemoppervlak bezet is door microben¹¹. Dus ondanks die grote aantallen moet de conclusie zijn dat de bodem vrijwel leeg is!

Vergelijk je dat met het bedekkingspercentage door planten dan kom je uit op woestijnvegetatie. En voor een woestijn weten we dat de omstandigheden er voor planten niet gunstig zijn. Zo is het ook in de bodem. Er zijn bodems waarin de groei van micro-organismen beperkt wordt door tekort aan vocht, of lage temperaturen maar ook in de bodems in onze streken waarin dit meestal niet

het geval is, zijn de omstandigheden voor micro-organismen verre van gunstig. Alle schimmels en het merendeel van de bacteriën halen de energie om te kunnen groeien uit de afbraak van organische verbindingen. Het aanbod van die verbindingen is beperkt en vooral dat van makkelijk afbreekbare koolstofverbindingen, zoals suikers¹². Het overgrote merendeel van de bodemmicro-organismen verkeert in een hongertoestand, en daar zijn ze goed aan aangepast. Bodemmicroben zijn overlevers.

Net als in een woestijn zijn er echter plekken waar wel goede groei mogelijk is, in de woestijn is dat een oase en in de bodem is dat in de buurt van plantenwortels. Plantenwortels scheiden makkelijk afbreekbare stoffen uit zoals suikers, aminozuren en organische zuren. De nabije omgeving van de wortel heeft daarom een verhoogde microbiële activiteit, zoals in het begin van de vorige eeuw al vastgesteld door de Duitse onderzoeker Hiltner, die de zone rhizosfeer heeft genoemd



Figuur 7. De omgeving van de wortel, de rhizosfeer, heeft een hoge microbiële activiteit.

Ook bladeren die op de grond vallen en dode bodemdieren vormen een bron van voedsel voor micro-organismen. Anders dan in de oase in een woestijn, zijn de voedselbronnen voor micro-organismen niet steeds op de zelfde plek aanwezig en zijn ze ook slechts tijdelijk van aard.

Hoe gaan micro-organismen nu met deze onzekerheid in voedselaanbod om? Ze kunnen afwachten tot er een voedingsbron in de buurt komt, maar ze

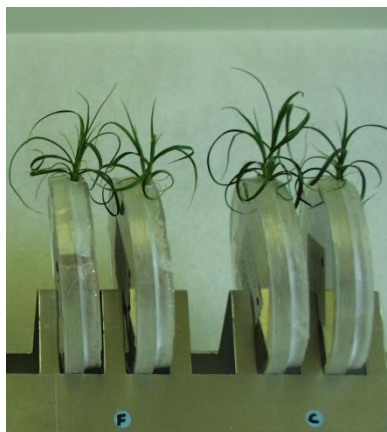
kunnen er ook actief naar toe bewegen. Maar dan blijken daar al andere micro-organismen te zijn die proberen alle voedsel voor zich zelf te houden. Er zal gestreden moeten worden. Ondergrondse microbiële conflicten. Zoals we zullen zien, vormen deze conflicten een essentieel onderdeel in de ecologie van bodemmicro-organismen en kunnen ze een bron voor toepassingen vormen.

Voorbeelden van microbiële conflicten

Ik zal nu uit ons eigen onderzoek een viertal voorbeelden geven van microbiële conflicten die te maken hebben met een tekort aan voedingsstoffen in de bodem.

Voorbeeld 1

In Fig. 6 zien we de opzet van een experiment waarbij bodembacteriën konden groeien in zand in aanwezigheid van levende wortels van Zandzegge (*Carex arenaria*). In de helft van de gevallen was het zand al voorgekoloniseerd door bodemschimmels die ook van nature bij deze plant voorkomen. Deze schimmels kunnen net als bacteriën op de voedingsstoffen groeien die door de wortels worden uitgescheiden. Zo ontstaat er een situatie waarin bacteriën niet alleen met andere bacteriën moeten concurreren maar ook met schimmels.

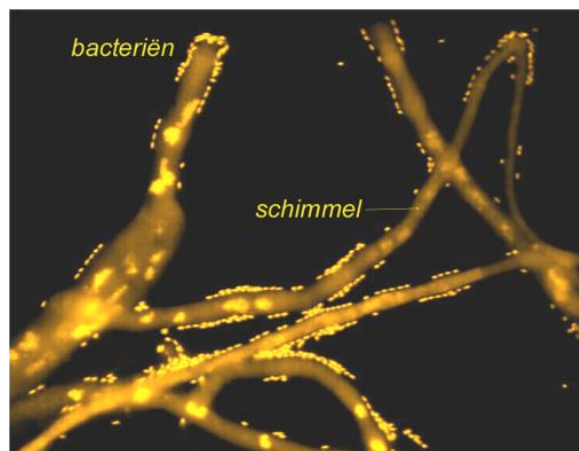


Figuur 8. Experiment met Zandzegge waar de invloed van schimmels (F) op de eigenschappen van bacteriën in de rhizosfeer is onderzocht. (C) is controle zonder schimmel toevoeging.

Dit had een uitgesproken effect: in aanwezigheid van schimmels nam de frequentie van bacteriën met anti-schimmel eigenschappen sterk toe. Met name van producenten van chitinases en schimmel-remmende antibiotica. Chitine is een belangrijke component in de schimmelcelwand en chitine-afbrekende enzymen kunnen dus een belangrijke rol spelen in de onderdrukking van schimmels door bacteriën. Er was al eerder aangetoond dat de combinatie van celwand-afbrekende enzymen en antibiotica bijzonder effectief kan zijn om schimmels te remmen¹³. Het interessante is dat deze bacteriën ook ziekteverwekkende schimmels bleken te remmen. Hier ligt een mogelijke toepassing in het verschiep waar ik straks meer over zal vertellen.

Voorbeeld 2

De strijd met schimmels kan door bacteriën ook op een andere manier gevoerd worden. In een bodem met een doorlopend tekort aan voedingsstoffen kan je er als bacterie ook voor kiezen om schimmels zelf als voedingsbron te gebruiken. Het wordt tijd om onze troetelbacterie “Colli” oftewel *Collimonas fungivorans* te introduceren, ooit geïsoleerd uit de duinen van Terschelling. De bacterie ziet er niet anders uit dan andere bacteriën, maar zij heeft de interessante eigenschap op levende schimmels te kunnen groeien¹⁴. Vandaar ook de aanduiding “*fungivorans*” wat “schimmel-etend” betekent. Ondertussen weten we dat *Collimonas* niet alleen in duinbodems voorkomt maar in heel veel verschillende bodems, zij het in relatief lage aantallen.



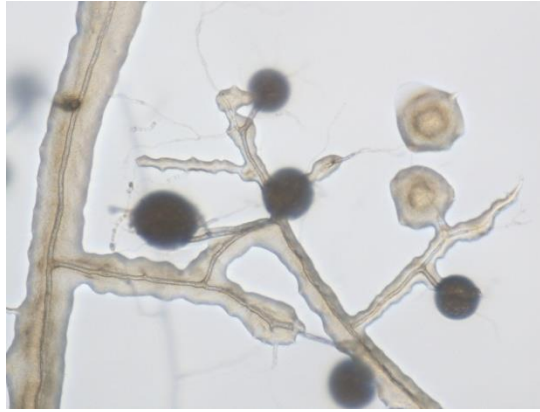
Figuur 9. *Collimonas* bacteriën op schimmeldraden

Van een stam van *C. fungivorans* is het DNA geanalyseerd; we weten dus welke genen aanwezig zijn. Dit is van groot belang om te begrijpen hoe de bacterie een schimmel opspoot en er voedingsstoffen aan onttrekt. Bij een confrontatie tussen *Collimonas* en de schimmel *Aspergillus niger* hebben we onderzocht welke genen aan- en uitgeschakeld worden¹⁵. Bij het begin van de confrontatie werden genen geactiveerd die betrokken zijn bij chemische aantrekking (chemotaxis), beweging, en antibioticum productie. Het lijkt erop dat de bacterie naar de schimmel wil bewegen om deze lek maken. We hebben het gencluster voor productie van het antibioticum beschreven en de gedeeltelijke structuur van deze stof ontrafeld, en dit heeft zelfs geleid tot een patent.

Na het enthousiaste begin van *Collimonas* bij de aanval op *Aspergillus*, liep het voor de bacterie echter niet goed af. De schimmel sloeg keihard terug o.a. door het maken van een eigen antibioticum en het resulteerde in een algehele stress-reactie bij de bacterie.

De keuze voor *Aspergillus* was pragmatisch: ook van deze schimmel was het DNA geanalyseerd en konden we meten welke genen werden aan- en uitgeschakeld tijdens de aanval door *Collimonas*. Maar deze schimmel was duidelijk niet *Collimonas*-gezind. Er zijn verschillende bodemschimmels waar *Collimonas* wel goed op kan groeien waaronder ziekteverwekkende schimmels. Zouden we met *Collimonas* een mogelijk biologische bestrijdingsmiddel in handen hebben?

Helaas blijkt de bacterie het ook gemunt te hebben op mycorrhiza-schimmels die juist van belang zijn voor de plant. Mycorrhiza-schimmels zijn schimmels die vanuit de wortel de bodem in groeien en de plant helpen bij de opname van minerale voedingsstoffen, met name van fosfaat. Vooral in een landbouw waar minder kunstmest wordt gegeven, zijn deze schimmels essentieel. Het consumeren van mycorrhiza-schimmels door *Collimonas* is dus een slechte zaak.



Figuur 10. Biofilm van Collimonas bacteriën op draden en sporen van een arbusculaire mycorrhiza schimmel

Er gloort nog enige hoop, *Collimonas* lijkt slechts een klein gedeelte van de schimmel te verbruiken en als reactie op aanwezigheid van de bacterie gaat de mycorrhiza schimmel extra vertakkingen maken en bezet dus een groter bodemoppervlak. Daarnaast blijkt *Collimonas* ook het vermogen te hebben om fosfaat uit de bodem vrij te maken, wat dan weer door de schimmel naar de plant getransporteerd kan worden¹⁶. Hierdoor zou het geheel van plant, mycorrhiza-schimmel en *Collimonas* nog wel eens beter kunnen functioneren dan dat van plant en mycorrhiza schimmel alleen.

Collimonas is ongetwijfeld niet de enige bodembacterie die er voor heeft gekozen om zich te voeden met levende schimmels. Max Rudnick die, als alles volgens plan verloopt de eerste is die op dit podium z'n proefschrift zal verdedigen met mij als promotor, is hard bezig de collectie van schimmelvretertjes uit te breiden.

Voorbeeld 3

Zoals gezegd is een belangrijke rol van bodemmicro-organismen het vrijmaken van mineralen uit de bodemorganische stof. Daarvoor moeten zware inspanningen geleverd worden en om dat te illustreren gaan we bovengronds, en bekijken de afbraak van hout. De samenstelling van hout is eigenlijk niet zo anders dan dat van afgestorven plantendelen die op de grond vallen en wat we dan strooisel noemen. Het bestaat grotendeels uit 3 polymeren, cellulose, hemicellulose en lignine. Cellulose en hemicellulose zijn ketens van suikers, en die suikers kunnen door uitgescheiden microbiële enzymen van de ketens worden afgesplitst en als energiebron worden gebruikt. Lignine is anders, het is

een onregelmatig gevormd polymeer bestaande uit aromatische koolstofringen. Lignine is van belang voor landplanten voor stevigheid en voor transport van water. Het is heel moeilijk afbreekbaar. Je zou lignine kunnen vergelijken met het plastic waarin voedingsmiddelen verpakt zijn, dat plastic moet eerst worden verwijderd voordat er gegeten kan worden. Alleen bepaalde schimmels, wit- en bruinrot schimmels, zijn goed in staat om lignine te verwijderen. Ze doen dat onder andere door enzymen uit te scheiden die reactieve zuurstofradicalen maken waarmee de ringstructuren worden opgebroken. Er zijn verschillende schimmelsoorten die dat kunnen en een groot deel van de paddenstoelen die we in het bos op dode bomen zien, zijn de vruchtlichamen van dergelijke schimmels (Fig. 4). Als je zo'n dode boom doorzaagt kan je zones zien afgebakend door een donkere grens. Die zones zijn territoria bezet door verschillende schimmels die met elkaar concurreren.



Figuur 11. Cirkel puzzel gemaakt van rottend hout. Donker-omrande zones zijn territoria van houtrot-schimmels.

In hoeverre de strijd tussen verschillende houtrotschimmels invloed heeft op de afbraaksnelheid van hout, is nog niet duidelijk. Dit is een onderwerp dat binnen de afdeling Microbiële Ecologie door Annemieke van der Wal wordt onderzocht. Hier wil ik ingaan op een ander conflict in rottend hout namelijk dat tussen bacteriën en schimmels. In rottend hout kunnen namelijk ook heel veel bacteriën voorkomen, maar anders dan schimmels zijn deze bacteriën niet in staat lignine af te breken. De bacteriën zijn echter wel heel geïnteresseerd in de suikers die door de schimmelenzymen worden vrijgemaakt. Nu doet zich de

merkwaardige situatie voor dat de bacteriën al die suikers zouden kunnen consumeren. De schimmel werkt dan eigenlijk voor de bacteriën. Toch kan dit niet, want als er geen suikers overblijven voor de schimmel is er geen energie meer om lignine af te breken. De houtafbraak zou tot stilstand komen. Dit is niet het geval. Dat betekent dat interacties tussen houtrotschimmels en bacteriën op één of andere manier op elkaar afgestemd moeten zijn. We hebben bacteriën die voorkomen in hout dat wordt afgebroken door de gewone Zwavelkop (*Hypholoma fasciculare*) nader bestudeerd.



Figuur 12. De Gewone Zwavelkop (Hypholoma fasciculare)

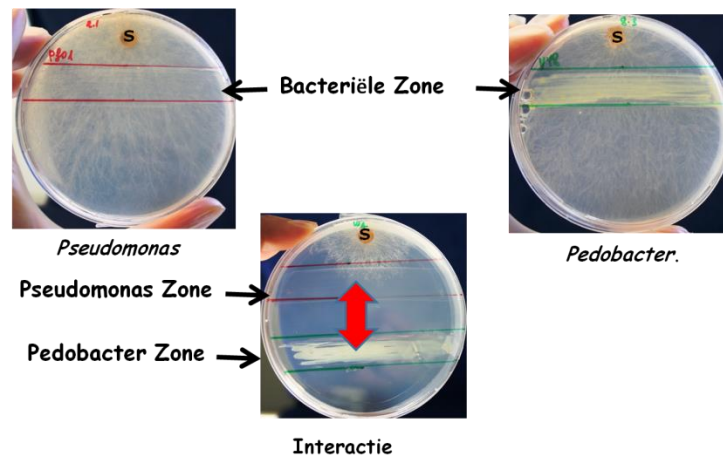
Een van de opvallende zaken die daaruit naar voren kwam, was dat er veel verschillende soorten bacteriën aanwezig zijn, maar dat geen van deze bacteriën stoffen leek te produceren die de houtrotschimmel remden¹⁷. Dat is dus volledig anders dan de situatie waarbij schimmels en bacteriën concurreren om voedingstoffen die uit de wortel vrijkomen (voorbeeld 1). Het lijkt er op dat de afhankelijkheid van houtbacteriën van lignine-afbraak door de schimmel zich vertaalt in een niet agressieve opstelling tegen de schimmel. Misschien hebben de bacteriën zelfs wel een positief effect op de houtafbraak door schimmels. In een gezamenlijk project met de sectie Bodemkwaliteit wordt dit door Thomas Geydan onderzocht. Hij doet dat zowel voor hout als voor strooisel in het bos. En van daaruit kan dat verder worden uitgebreid naar de het belang van schimmel-bacterie interacties bij het vrijmaken van minerale voedingsstoffen uit de bodemorganische stof.

Voorbeeld 4

Wat zijn nu de slimste strategieën voor bodemmicroben in hun strijd tegen concurrenten? Dat is een vraag waar ik me samen met Paolina Garbeva al enige jaren mee bezig houd en dankzij de VIDI beurs die zij afgelopen jaar heeft verkregen, kunnen we dit onderzoek verder uitbreiden. Het onderzoek dat we tot dusver hebben gedaan, richtte zich op slimme manieren van bacteriën om antibiotica te gebruiken in de concurrentiestrijd. Antibioticum-producerende bacteriën werden en worden meestal opgespoord op de manier zoals Fleming de penicilline producerende schimmel ontdekte: een producent tegenover een gevoelig organisme.

In ons geval gebruiken wij een schimmel als test-organisme om de productie van antibiotica door bacteriën op te sporen. We doen dat op een voedselarme agar, beperkt in de beschikbaarheid van energiebronnen. Hier moeten de bacteriën om voedingsstoffen concurreren zoals dat ook in de bodem het geval is. We laten de bacteriën een tijdje groeien en plaatsen er dan een schimmel bij om te kijken of er antibiotica zijn geproduceerd. De schimmel zelf kan z'n voedsel halen uit een locale bron en van daaruit de plaat koloniseren. Op deze manier kunnen we bacteriën opsporen die een stof produceren waardoor de schimmel wordt geremd maar er zijn heel veel bacteriën die dat niet doen.

Ook de 2 bacteriesoorten die te zien zijn in Fig. 13 maken geen remmende stoffen. Op beide platen groeien de schimmeldraden zonder problemen uit en bedekken de gehele plaat, inclusief de zone waar de bacteriën zich bevinden.



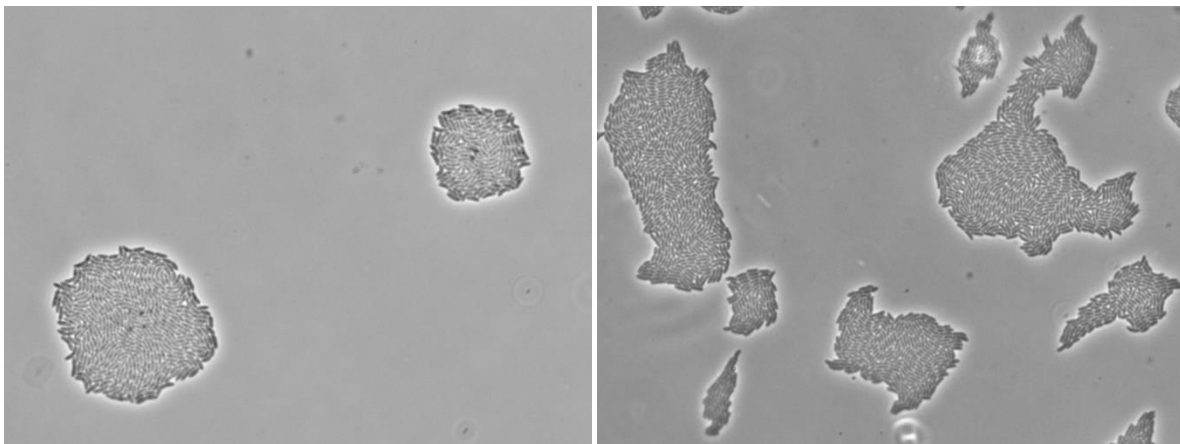
Figuur 13. Productie van een schimmel-remmende stof door bacterie-soorten die dat alleen doen als ze elkaars aanwezigheid signaleren (onderste foto), maar niet zonder aanwezigheid van de andere soort (bovenste foto's). S = Plaats waar de schimmel is aangebracht.

Maar als we deze 2 soorten op 1 plaat gaan kweken, worden wel remmende stoffen geproduceerd. In dit geval door de *Pseudomonas* bacteriën. Eigenlijk kan je de schimmel dan zien als een slachtoffer van de concurrentie-strijd tussen bacteriën¹⁸. De stof die door de *Pseudomonas* bacteriën wordt geproduceerd heeft een breed werkingsspectrum. Zowel de bacteriële tegenstander als de schimmel wordt er door geremd. Deze experimenten laten dus zien dat sommige bodembacteriën alleen antibiotica produceren als ze geconfronteerd worden met een andere soort. Onderlinge concurrentie, binnen de soort zelf, resulteerde niet in antibioticum productie. De bacteriën die dit doen, moeten signalen opvangen die duidelijk maken dat er een tegenstander aanwezig is die van dezelfde pot probeert te snoepen.

Het voordeel van deze strategie leek ons duidelijk, je investeert alleen energie in de aanmaak van een wapen als het nodig is. Een kostenplaatje, dus. Voor de zekerheid hebben we nog uitgezocht of er inderdaad kosten worden gemaakt bij antibioticumproductie. Dit konden we doen door groei van bacteriën met en zonder antibioticum productie te vergelijken. We verwachtten dat de bacterie die geen antibioticum zou maken, meer cellen zou produceren dan de bacteriën die dat wel doen. Tot onze verbazing vonden we geen verschil¹⁹. Het lijkt er dus op dat de kosten voor productie van het antibioticum, zelfs onder

voedselarme omstandigheden zeer gering zijn. Waarom wordt het antibioticum dan niet doorlopend geproduceerd? Misschien heeft de bacterie deze strategie om dezelfde reden waarom wij heel voorzichtig zijn geworden met het doorlopend toedienen van antibiotica. Door veelvuldig antibioticum gebruik hebben zich ziekteverwekkende bacteriën ontwikkeld die resistent zijn geworden²⁰. Zo zou ook doorlopende productie van antibiotica door bacteriën kunnen leiden tot een selectie op resistente concurrenten.

Hoewel we dus geen verschil zagen in groei en celopbrengst tussen wel en niet antibioticum-producerende cellen, zagen we dat wel in de vorm van de microkolonies die ze op agar maakten



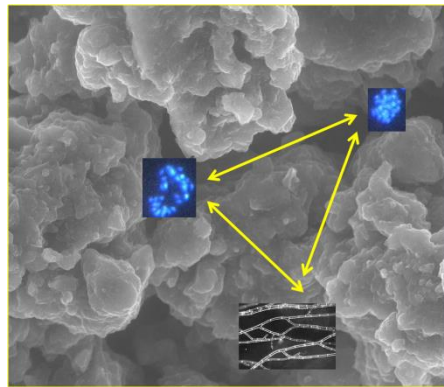
Figuur 14. Micro-kolonies van de bacterie Pseudomonas fluorescens gevormd in aanwezigheid van signaalstoffen van een andere bacteriesoort (links) en zonder aanwezigheid van signaalstoffen van een andere bacteriesoort (rechts).

Normaal is vorm van die microkolonies grillig, maar microkolonies van antibioticumproducenten zijn rond van vorm. Wat is er aan de hand? Willen alle bacteriën zich afkeren van de tegenstander waardoor er een cirkel ontstaat? Het lijkt in elk geval sterk op verdedigingscirkels die ook vanuit de dierenwereld bekend zijn.

Niet alleen ons onderzoek, maar ook het onderzoek aan hele bacteriële genomen maakt duidelijk dat er nog veel antibiotica genen zijn die met de gebruikelijke testmethoden niet worden opgespoord. Dit is een bron voor nieuwe antibiotica en die zijn hard nodig gezien de incidenten met multiresistente bacteriën in ziekenhuizen²¹. Ecologie kan hier een belangrijke

rol in spelen: wat zijn de natuurlijke omstandigheden waaronder productie van antibiotica op gang wordt gebracht? Deze omstandigheden kan je proberen na te bootsen. Olaf Tyc doet hier zijn promotieonderzoek aan binnen het Be-Basic consortium, een verband bestaande uit onderzoeksinstituten en bedrijven.

De komende tijd zullen we ons intensief bezig gaan houden met concurrentiestrategieën die misschien wel het beste passen bij de leegte in de bodem: het gebruik van gasvormige componenten. Bij een sterke vergroting lijkt de bodem wel een tunnelstelsel



Figuur 15. Micro-organismen bevinden zich op afstand van elkaar in het poreuze bodemsysteem dat deels met bodemlucht is gevuld. Daarom spelen gasvormige componenten een belangrijke rol bij de interacties tussen bodem-micro-organismen.

De tunnels zijn de poriën, de allerkleinste zijn met vocht gevuld en de grotere met bodemlucht. Microben bevinden zich vaak op afstand van elkaar. In zo'n systeem lijken gasvormige componenten bij uitstek geschikt om informatie van concurrenten op te vangen en ook om die concurrenten te bestoken. Geen lieflijke wereld, maar ik vrees wel de realiteit. Productie van schimmelremmende gasvormige componenten door bodembacteriën is al door verschillende onderzoekers aangetoond. Die gasvormige componenten zouden een belangrijke rol kunnen spelen bij de natuurlijke onderdrukking van ziekteverwekkende bodemorganismen²². Dit onderzoeken we al in een samenwerkingsverband met de sectie Bodemkwaliteit. Het is onderdeel van het promotieonderzoek van Maaïke van Agtmaal en Angie Straathof. Ik denk dat onderzoek naar de rol van gasvormige componenten in de ecologie van bodemmicroben en in het functioneren van het gehele bodemecosysteem zich de komende jaren sterk gaat ontwikkelen. Dit is een onderzoeksgebied waarin

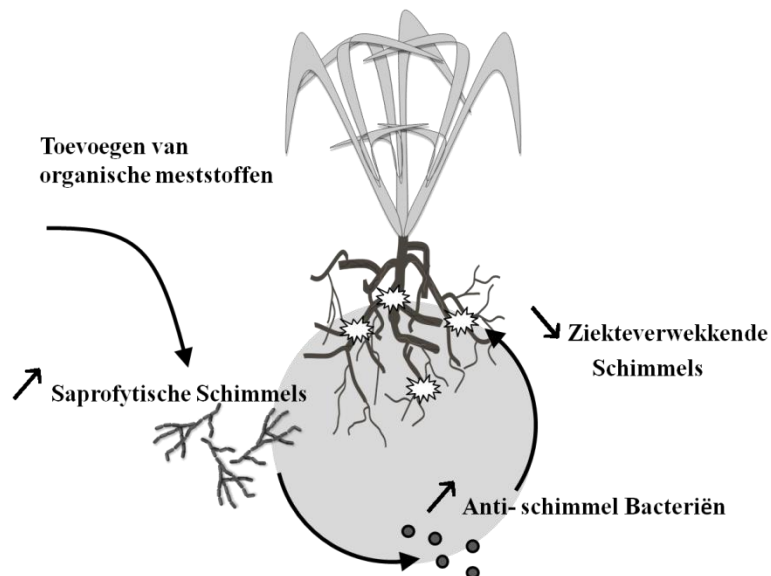
niet alleen samenwerking nodig is met verschillende biologische disciplines maar juist ook met andere disciplines zoals Scheikunde en Natuurkunde.

Toepassing in de landbouw

Terug naar de landbouw. Wat kunnen we leren van de ondergrondse microbiële conflicten en hoe kunnen we zorgen dat we ze gebruiken om landbouw minder afhankelijk te maken van kunstmest en chemische bestrijdingsmiddelen? Ik zal, in verband met de tijd, alleen ingaan op de mogelijkheden om natuurlijke ziekteonderdrukking te stimuleren. Sinds de jaren 60 is er al heel veel onderzoek gedaan aan de mogelijke toepassing van schimmel-remmende bodembacteriën om ziekteverwekkende bodemschimmels te bestrijden²³. Het succes is heel beperkt. Hoe komt dat? Dergelijke bacteriën worden opgekweekt onder lab omstandigheden en worden dan bijvoorbeeld aangebracht op zaden. Nadat het zaad is gekiemd, moeten de bacteriën de wortels van het gewas koloniseren en zorgen voor bescherming. Anders dan in het lab of in de kas worden ze daar geconfronteerd met de bacteriën die al aan de bodem zijn aangepast en hun uiterste best zullen doen om elke indringer het leven onmogelijk te maken. De conflicten waar we het net over gehad hebben, zorgen er dus ook voor dat het voor nieuwkomers niet gemakkelijk is om zich te vestigen, laat staan om hun beschermende werk te doen.

Door deze problemen is er een trend op gang gekomen om controle van ziektes te bewerkstelligen met de al aanwezige bodemmicroorganismen²⁴. Die zijn immers al aangepast aan de plaatselijke bodemomstandigheden. Een mogelijkheid die uit ons onderzoek (zie voorbeeld 1) naar voren komt, is juist het stimuleren van schimmels. Dit lijkt paradoxaal want er moeten schimmels bestreden worden. Uiteraard pleit ik niet voor maatregelen om ziekteverwekkende schimmels te stimuleren, maar juist de schimmels die organische stof afbreken. Hun groei zou je kunnen stimuleren door de grond te mengen met bepaalde organische meststoffen of met goedgekozen gewasrotaties. Als organische stof afbrekende schimmels toenemen zullen hun draden ook toenemen in de wortelomgeving en zullen ze proberen mee te profiteren van voedingsstoffen die door de wortels worden uitgescheiden. Zoals we hebben gezien zal dat concurrentie-positie van bacteriën in de

wortelomgeving veranderen en zal het aantal bacteriën met antischimmel-eigenschappen toenemen. Deze bacteriën die al aangepast zijn aan de omstandigheden in de bodem kunnen dan een bescherming bieden tegen ziekteverwekkende schimmels



Figuur 16. Schematische voorstelling van de mogelijkheid om via toename van organische stof afbrekende schimmels een verhoging van bacteriën met anti-schimmelleigenschappen in de wortelomgeving te bewerkstelligen. Dit verhoogt de weerbaarheid tegen ziekteverwekkende schimmels.

Deze mogelijkheid zal verder door ons worden onderzocht. De vraag is natuurlijk wel of boeren en telers open staan voor een verhoging van schimmels in de bodem. Schimmels hebben een slechte naam omdat ze voornamelijk geassocieerd worden met ziektes. Er zal dus duidelijk gemaakt moeten worden dat niet elke schimmel dezelfde is en dat vooral schimmels die organische stof afbreken en mycorrhiza schimmels een belangrijke rol in de duurzame landbouw kunnen spelen. Ik denk dat dit ook bij uitstek het onderzoeksgebied is waar gezamenlijke projecten met de sectie Bodemkwaliteit ontwikkeld kunnen worden.

Onderwijs

Met de benoeming tot buitengewoon hoogleraar kan ik met de promovendi die ik begeleid het gehele promotietraject afronden als promotor. En dat voelt goed. Ook de mogelijkheden die het biedt om gezamenlijke onderzoeksprojecten te ontwikkelen met de sectie Bodemkwaliteit en met andere groepen binnen WUR is geweldig. Maar er is meer. Van een hoogleraar mag je ook verwachten dat er een bijdrage wordt geleverd aan onderwijs en propageren van het vakgebied. Uiteraard moet hierbij enige zorgvuldigheid in acht genomen worden, want mijn werkgever, de KNAW, is toch vooral geïnteresseerd in de wetenschappelijke output. Daar worden we als NIOO uiteindelijk op beoordeeld. Gelukkig is er speelruimte en die zal ik dan ook zeker gebruiken om bij te dragen aan cursussen en het helpen ontwikkelen daarvan. Afgelopen herfst heb ik al meegedaan met Master cursus “Ecologische Aspecten van Biologische Interacties “ en dat is me goed bevallen.

Een van de dingen waar ik me sterk voor wil maken is om studenten de relatie tussen veld- en labonderzoek te laten zien. Voor veel ecologen ligt de charme van onderzoek in het doen van veldwaarnemingen. Als ze dan microbiële ecologen voornamelijk in het lab bezig zien, haken ze af. Dat is niet terecht. Het veld staat bol van de verschijnselen waar je als microbieel ecooloog je vragen bij kan stellen. In de afgelopen cursus hebben studenten bijvoorbeeld monsters genomen van mierenhopen in een bos. De vraag was of de mieren hun bouwsels op een of andere manier weten te beschermen tegen afbraak door schimmels, zoals wij ook onze gebouwen moeten beschermen tegen afbraak door schimmels. We hebben het antwoord nog niet, maar dat doet er ook niet toe. Het gaat er om dat een verschijnsel in het veld aanzet tot het stellen van microbieel ecologische vragen en er zijn veel verschijnselen waarvoor we nog geen verklaring hebben. Ook een veldexcursie om de microbiële ecologie buiten te leren ontdekken en er vragen bij te leren stellen, zou in een cursus ingebouwd kunnen worden.

In september 2010 is op initiatief van Wim van der Putten, Hans van Veen, Peter de Ruiter en Lijbert Brussaard het Centrum voor Bodemecologie Wageningen gestart, een samenwerkingsverband tussen WUR en NIOO-KNAW. Het centrum voor bodemecologie is een goed initiatief om het belang van de levende bodem voor ontwikkeling van landbouw en natuur meer onder de

aandacht te brengen, en om jonge onderzoekers te stimuleren binnen het bodemonderzoek actief te gaan worden. We moeten voorkomen dat het vakgebied vergrijsd. Voor verdere ontwikkeling van het vakgebied zijn jonge bodemonderzoekers nodig die nieuwe inzichten verschaffen over de mogelijkheden voor duurzame landbouw. De taak voor de meer vergrijsde types, zoals ondergetekende, is om deze jonge onderzoekers te stimuleren tot het doen van innovatief bodemonderzoek en ook daar wil ik mijn bijdrage aan leveren.

Conclusie

Ik ben aan het einde gekomen van het wetenschappelijke gedeelte en hoop dat ik u duidelijk heb gemaakt dat het bestuderen van ondergrondse microbiële conflicten veel op kan leveren, zowel in de vorm van nieuwe inzichten in de Microbiële Bodemecologie als in de vorm van toepassingen.

Nog even terug naar het begin, de boerderij uit de IJzertijd Zoals gezegd dit is een reconstructie, wat archeologen werkelijk aantreffen zijn alleen maar de verkleuringen in het zand waar ooit palen hebben gestaan. Ook hier hebben micro-organismen hun werk gedaan en is het hout teruggebracht tot de elementen waaruit het ooit is ontstaan, en kunnen deze elementen al weer zijn vastgelegd in het hout van een nieuw gebouw, zoals het NIOO gebouw.

Dankwoord

Tot slot woorden van dank. Zoals u al heeft kunnen opmaken uit de namen die ik tijdens mijn rede genoemd heb doe ik het onderzoek niet alleen. En dit waren slechts een aantal van de personen die bij de verschillende onderzoeken betrokken zijn geweest. De vele anderen die ik niet genoemd hebt dank ik bij deze.

Het initiatief voor deze leerstoel is genomen door Hans van Veen en Louise Vet van het NIOO en Lijbert Brussaard van de leerstoelgroep Bodembioogie, mede in het kader van het genoemde Centrum voor Bodemecologie. Ik ben jullie daarvoor zeer erkentelijk. Thom Kuyper wil ik bedanken voor de ondersteuning die hij heeft gegeven bij het schrijven van de leeropdracht en het mij vertrouwd maken met de wereld die WUR heet.

Het in mij gestelde vertrouwen door het bestuur van Wageningen Universiteit, de Rector Magnificus Martin Kropff en de toetsingscommissie onder leiding van Frans Bongers stel ik zeer op prijs. Ik zal m'n best doen om er iets van te maken.

Ik ga weer even terug in de tijd, niet zover als hiervoor, maar naar 1985 toen Riks Laanbroek en Jan Woldendorp mij geschikt bevonden voor een promotie-onderzoek aan het Instituut voor Oecologisch Onderzoek. Helaas kan Jan Woldendorp deze dag niet meer meemaken. Mijn dank aan jou dus, Riks, dat ik mijn carrière als wetenschapper kon beginnen.

Hans, jij bent afdelingshoofd geweest in de tijd dat ik mijn huidige onderzoekslijn heb ontwikkeld. Het is heel prettig werken met jou als "the boss". Je creëert een ontspannen sfeer, en je hebt altijd jouw vertrouwen in mij en m'n onderzoek uitgesproken.

Dynamische George. Heel jammer, dat we jouw kennis en aanstekelijke enthousiasme op de afdeling moeten missen. Maar ik hoop dat we veel contact houden en zie uit naar het samenwerken met je groep in Utrecht.

Paul, goed dat je weer letterlijk, m'n naaste collega bent !

Annemieke, Eiko en Paolina, geweldig dat jullie je eigen onderzoekslijnen kunnen ontwikkelen en goed dat jullie laten zien dat de Microbiële Bodemecologie niet langer het domein van mannen is.

Wim, het is heel inspirerend om te zien wat jij allemaal al hebt bereikt met je afdeling. Ik vertrouw erop dat we gezamenlijk zullen blijven optrekken in heel veel projecten.

Beste analisten van het NIOO. Jullie inbreng in het onderzoek kan niet genoeg gewaardeerd worden. Ik heb en had met velen van jullie directe of indirecte werkverbanden, maar ik weet zeker dat jullie het me niet kwalijk nemen dat ik 1 persoon met name ga bedanken en dat is Paulien. Paulien, vrijwel vanaf het begin van mijn onderzoekslaan heb jij mij of mensen die bij mij werken enthousiast ondersteund. Heel erg bedankt, daarvoor.

Beste collega's van de sectie Bodemkwaliteit. Wanneer ik bij jullie kom in het Atlas gebouw, voel ik altijd een warm welkom. Met een aantal van jullie zijn al

projecten gestart waarin ik mijn bijdrage mag leveren, en ik weet zeker dat dat verder toe zal nemen.

Beste collega's hier in de zaal. Met velen van jullie werk ik samen of heb ik samengewerkt in kleine of grote, nationale en internationale projecten. Het wordt te veel omdat allemaal te gaan benoemen. Ik dank jullie hartelijk.

Lieve broers, ik ben blij dat jullie er zijn om deze heugelijke dag mee te maken en voel dat ook als vertegenwoordiging van onze ouders, die ongetwijfeld heel trots zouden zijn geweest op hun jongste zoon.

Lieve schoonouders, het is voor jullie denk ik een lange zit geweest, maar ik ben blij dat jullie de lange tocht uit het Noorden samen met m'n schoonzus en partner ondernomen hebben om er hier bij te zijn.

Lieve Hidde en Remco. Mocht ik al de neiging krijgen om mezelf als Professor belangrijk te gaan vinden, dan weet ik dat jullie dat onmiddellijk zullen herstellen.

Lieve Marga, als nuchtere Groningse hou jij niet van poespas en hou je er al helemaal niet van om in het centrum van de aandacht te staan. Ik zal je dus nu niet plagen met een uitgebreid dankwoord. Dank je wel voor al je liefdevolle steun.

Dames en Heren, ik ben aan het einde van mijn rede gekomen. Ik wil u allemaal hartelijk bedanken voor uw aanwezigheid en ik hoop u straks te zien bij de receptie.

Ik heb gezegd.

Referenties.

1. Woods, M. & Woods, M.B. (2000) Ancient Agriculture. From Foraging to Farming. Lerner Publications Company, Minneapolis.
2. Van Ginkel, E. & Verhart, L. (2009) Onder Onze Voeten. De Archeologie van Nederland. Uitgeverij Bert Bakker, Amsterdam.
3. Berendse, F. (2011). Natuur in Nederland. KNNV Uitgeverij, Zeist.

4. Blom, J.C.H. & Lamberts, E. (2006) *Geschiedenis van de Nederlanden*. ThiemeMeulenhoff, Utrecht.
5. Hoekstra, W.P.M. (1999) *Een Wereld vol Bacteriën*. Uitgeverij Nieuwezijds, Amsterdam.
6. Smith, M.L., Bruhn, J.N. & Anderson, J.B. (1992) The fungus *Armillaria bulbosa* is among the largest and oldest living organisms. *Nature* 356: 428-431.
7. Stanier, R.Y., Adeberg, E.A., Ingraham, J.L. & Wheelis, M.L. (1979) *Introduction to the Microbial World*. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs.
8. Waksman, S.E. (1952) *Soil Microbiology*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
9. Thomas, C.M. & Nielsen, K.M. (2005) Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature Reviews Microbiology* 3: 711-721.
10. Staley, J.T. (2006) The bacterial species dilemma and the genomic-phylogenetic species concept. *Philosophical Transaction of the Royal Society B – Biological Sciences* 361:1899-1909.
11. Young, I.M. et al. (2008) Microbial distribution in soils: Physics and scaling. *Advances in Agronomy* 100: 81-121.
12. Demoling, F., Figuerera, D & Bååth, E. (2007) Comparison of factors limiting bacterial growth in different soils. *Soil Biology & Biochemistry* 39:2485-2495.
13. Lorito, M. et al. (1996) Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 9:206-213.
14. De Boer, W. et al. (2004) *Collimonas fungivorans* gen. nov., sp. nov., a chitinolytic soil bacterium with the ability to grow on living fungal hyphae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54:857-864.
15. Mela, F. et al. (2011) Dual transcriptional profiling of a bacterial/fungal confrontation: *Collimonas fungivorans* versus *Aspergillus niger*. *ISME Journal* 5:1494-1504.
16. Leveau, J.H.J., Uroz, S. & de Boer, W. (2010) The bacterial genus *Collimonas*: mycophagy, weathering and other adaptive solutions to life

- in oligotrophic soil environments. *Environmental Microbiology* 12:281-292.
17. Valášková, V. et al. (2009) Phylogenetic composition and properties of bacteria coexisting with the fungus *Hypholoma fasciculare* in decaying wood. *ISME Journal* 3:1218-1221.
 18. Garbeva, P. et al. (2011) Transcriptional and antagonistic responses of *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 to phylogenetically different bacterial competitors. *ISME Journal* 5:973-985.
 19. Garbeva, P. et al. (2011) No apparent costs for facultative antibiotic production by the soil bacterium *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1. *PLOS One*: e27266
 20. Martinez, J.L. (2008) Antibiotics and antibiotic genes in natural environments. *Science* 321:365-367.
 21. Nett, M., Ikeda, H. & Moore, B.S. (2009) Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes. *Natural Product Reports* 26:1362-1384.
 22. Garbeva, P. et al. (2011) Fungistasis and general soil biostasis – A new synthesis. *Soil Biology & Biochemistry* 43:469-477.
 23. Berg, G. (2009) Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology & Biotechnology* 84:11-18.
 24. Chaparro, J.M. et al. (2012) Manipulating the soil microbiome to increase soil health and fertility. *Biology Fertility Soils* 48: 489-499.