

Werkgroep Bodempathogenen en Bodemmicrobiologie

Samenvattingen van de presentaties gehouden tijdens de 85^e bijeenkomst van de werkgroep, 19 april 2012, NI00, Wageningen

Geïnduceerde resistentie en het rhizosfeer-microbioom

*Peter A.H.M. Bakker,
Rogier F. Doornbos,
Roeland L. Berendsen &
Corné M.J. Pieterse*

*Plant-Microbe Interacties,
Departement Biologie,
Universiteit Utrecht,
Padualaan 8,
3584 CH Utrecht*

Met plantenwortels geassocieerde microbiële gemeenschappen zijn zeer divers en bevatten tienduizenden soorten bacteriën. Verschillende functies die worden vervuld door dit zogenaamde rhizosfeer-microbioom zijn belangrijk voor de gezondheid van de plant, bijvoorbeeld de onderdrukking van plantenziekten door antagonistische micro-organismen. Deze laatste functie komt in zogenaamde ziekteverwerende gronden prominent tot expressie en uit zulke gronden zijn antagonistische micro-organismen geïsoleerd

die bij toepassing in niet ziekteverwerende gronden effectief bodempathogenen kunnen bestrijden. Mechanismen die een rol spelen bij deze biologische gewasbescherming zijn onder andere concurrentie om voedingsstoffen, productie van antibiotica en geïnduceerde systemische resistentie (ISR). Voor zeer veel verschillende ziekteonderdrukkende micro-organismen is aangetoond dat ISR een rol speelt bij de ziekteonderdrukking. Microbiële eigenschappen die betrokken zijn bij het eliciteren van ISR blijken

zeer divers en in veel gevallen zijn voor één organisme meerdere ISR-elicitors gevonden. Deze redundantie maakt ISR wellicht tot een robuust mechanisme van ziekteonderdrukking. Immers, als er één inducerende factor uitvalt, blijven er andere over. Waarnemingen dat ISR effectief is tegen een scala aan pathogenen, in *Arabidopsis thaliana* bijvoorbeeld tegen bacteriële pathoge-

nen, schimmels en oomyceten, werpen de vraag op of ISR ook effecten heeft op de niet pathogene plant geassocieerde microbiële gemeenschappen. Recente publicaties wijzen er op dat ISR wellicht zelfs rekrutering van voor de plant heilzame micro-organismen tot gevolg heeft. Dit wordt momenteel onderzocht, gebruik makend van *state of the art*-technieken.

Vluchtige organische stoffen, geproduceerd door bodembacteriën, remmen groei van *Pythium*

Maaïke van Agtmaal

NIIO, Droevendaalsesteeg
10, 6708 PB Wageningen

Vluchtige organische stoffen kunnen plantpathogenen onderdrukken door de groei en sporulerings van de pathogene bodemschimmels te remmen. Microben uit de bodem produceren een breed scala aan stoffen die bijdragen aan de overleving en groei. Voorbeelden zijn signaalstoffen en antibiotica die kunnen bijdragen aan de onderlinge competitie voor substraat tussen microben. Naast antibioticaproductie en competitie voor de beschikbare bronnen kunnen ook vluchtige stoffen, geproduceerd door de microben in de grond, mogelijk bijdragen aan onderdrukking van bodempathogenen. Onderzoek aan fungistase in verschillende gronden, door Chuankun *et al.* (2004) en Zou *et al.* (2007) toonde verschillen aan in de gaschromatografie/massaspectrometrie (GC/MS)-profielen van gronden met een lage en hoge fungistase-activiteit, en lieten zien dat de stoffen in hogere concentratie aanwezig of uniek voor de hoge fungistase-grond een remmende werking hadden op zowel de groei als kieming van schimmels of vluchtige organische stoffen een actieve rol hebben in de onderdrukking van *Pythium intermedium* is onderzocht in drie nauw verbonden experimenten in samenwerking met PPO Lisse. De dynamiek van *Pythium* in de exper-

imenten werd onderzocht met qPCR; de rol van vluchtige stoffen werd onderzocht in een tweezijdig plaatexperiment en als laatste werd een biotoets gedaan om de experimenten te koppelen aan plantinfectie.

De resultaten van de plaatexperimenten en biotoets geven een duidelijke relatie tussen de remming door vluchtige stoffen op de myceliumgroei en de infectie van hyacint met *Pythium intermedium*, hoewel mogelijk andere processen hierin een rol spelen. In de gronden met de met de sterkste remming van *Pythium*-uitgroei was de minste infectie te zien in de biotoets. Vervolgexperimenten zullen zich richten op identificatie van de actieve vluchtige stoffen en de vluchtige stoffen-producerende bacteriën. Ook zal er gekeken worden naar de rol van bodemsubstraten, met name de verschillende fracties van opgeloste organische stof in de bodem, op ziekteonderdrukking en productie van vluchtige stoffen. Daarnaast zullen verschillende bodempathogenen en verschillende grondsoorten worden getest op de rol van vluchtige stoffen op de hyfengroei, direct gekoppeld aan biotoetsen om te zien of deze vluchtige organische stoffen significante reductie in ziektesymptomen geeft.

The importance of fungi in the potato rhizosphere

Emilia Hannula

NIIO; email: E.Hannula@
nioo.knaw.nl

We showed in a three year field experiment that both fungal community composition and function in potato (*Solanum tuberosum* L.) rhizosphere were strongly affected by plant growth stage (ranging from young plants to senescence), year of the sampling (and thus weather and agricultural practices) and soil type. We compared the communities in the rhizosphere and bulk soil of six cultivars which of one was genetically modified for its starch quality and

detected no consistent cultivar-specificity in the community, nor an effect of the (GM) amylopectin accumulating potatoes. The only significant differences between the GM-cultivar 'Modena' and its parental isoline 'Karnico' were detected in only one of the fields (Valthermond) and only in senescent growth stage and this combination of soil and stage were further selected to be investigated in a greenhouse experiment.

The varieties 'Karnico' and 'Modena' were grown in a greenhouse until the stage of senescence and pulse labeled with $^{13}\text{CO}_2$ which enabled us to track the carbon from the plant in a form of root exudates to the soil microbial communities. The aim was to gain understanding of the carbon flow from the roots of 'Modena' and its parental isolate 'Karnico' to the soil fungal community using stable isotope probing (SIP). The microbes receiving ^{13}C from the plant were assessed through RNA/PLFA-SIP at three time points (1, 5 and 12 days after the start of labeling). The communities of *Ascomycota*, *Basidiomycota* and *Glomeromycota* were analysed separately with RT-qPCR and T-RFLP. Ascomycetes and glomeromycetes received carbon from the plant already 1 and 5 days after labeling while basidiomycetes were slower in accumulating the labeled carbon. The rate of carbon

allocation by the GM-variety differed from its parental variety thereby affecting the soil fungal communities. Furthermore, we concluded that both saprotrophic and mycorrhizal fungi are rapidly metabolizing organic substrates flowing from the root into the rhizosphere, that there are large differences in utilization of root-derived compounds at a lower phylogenetic level within investigated fungal phyla and that active communities in the rhizosphere differ between GM-plant and its parental cultivar through effects of differential carbon flow from the plant. However, the observed differences between these cultivars in the greenhouse are not likely to result in long term effects in the field as the baseline of normal variation in the field was much larger than the observed differences in the greenhouse.

De rol van *Collimonas* sp. 343 in de onderdrukking van *Rhizoctonia solani* AG2 onder nutriëntenlimitering in de bodem

Leo van Overbeek,
Ilya Senechkin, Hong
Ling Er, Oscar de Vos &
Ariena van Bruggen

Wageningen University en
Research centre (Plant
Research International en
leerstoelgroep Biologische
landbouwsystemen)

Grond kan worden gekarakteriseerd als een omgeving waarin het aanbod van nutriënten beperkend is voor de overleving van diverse groepen van micro-organismen. Toch lukt het bepaalde groepen van micro-organismen om juist onder deze omstandigheden goed te kunnen groeien. Eén van deze groepen is de plantpathogene schimmel *Rhizoctonia solani*. Onder bepaalde omstandigheden, zoals behandelingen met verschillende soorten organische stof, zijn bodems weerbaarder tegen dit pathogeen. De vraag is wat het mechanisme achter deze verhoogde weerbaarheid is en onze hypothese is dat de levende fractie van de bodem hiervoor verantwoordelijk is. Om deze reden is er een inventarisatie gemaakt van bacteriën die goed kunnen groeien bij een laag nutriënten-aanbod in kweekmedia. Deze groep van bacteriën noemen we oligotrofe bacteriën (minnend voor omstandigheden met een lage nutriënten-aanbod). Verkregen oligotrofe bacteriën zijn geselecteerd op basis van simultaan door-enten op een extreem arm en rijk voedingsmedium. Uiteindelijk bleek 99.9 % te kunnen groeien op beide media. Deze groep wordt de facultatieve oligotrofe bacteriën genoemd. Onder deze groep van bacteriën

bevond zich *Collimonas* sp. stam 343 en deze bacterie is nauw verwant aan *C. fungivorans* Ter331, een bacterie die bekend staat als 'schimmel-eter'. De interactie tussen stam 343 en *R. solani* AG2 is onderzocht in voedsel-arme kweek media en in grond. Het bleek dat stam 343 onder deze voedselarme omstandigheden in kweekmedium de groeisnelheid van *R. solani* AG2 beperkte, maar dat deze stam de schimmel niet doodde. Microscopisch onderzoek wees uit dat in aanwezigheid van cellen van stam 343 de hyfen van de schimmel minder vertakkingen vertoonde. Zodra de schimmel verder verwijderd was van de bacterie, vertakten de hyfen zich weer. In een plantentoets (met suikerbiet) bleek het optreden van symptomen ten gevolge van aantasting door *R. solani* AG2 te zijn vertraagd in aanwezigheid van cellen van stam 343 in grond, maar uiteindelijk kon aantasting niet worden voorkomen. Deze toets bevestigde de waarnemingen in voedsel-arme kweekmedia en we concludeerden daaruit dat *Collimonas* sp. stam 343 in staat was om hyfengroei van *R. solani* AG2 in grond (onder voedselarme omstandigheden) te beperken, maar dat de bacterie niet in staat is om aantasting in gewassen ten gevolge van *R. solani* AG2 te voorkomen.