

KNPV-werkgroep Bodempathogenen

Samenvattingen van de presentaties gehouden op de 68ste vergadering van de KNPV-werkgroep Bodempathogenen en bodemmicrobiologie van 17 oktober 2002 op het Instituut voor de Rationele Suikerproductie te Bergen op Zoom.

Golvende bacteriepopulaties langs de wortels van tarwe: microbiologische en moleculaire data

Anne D. van Diepeningen¹, Oscar J. de Vos¹, Alexander M. Semenov², Vladimir Zelenev² en Ariena H.C. van Bruggen¹

¹*Biologische Bedrijfssystemen, Wageningen Universiteit, Marijkeweg 22, 6709 PD Wageningen.*

²*Dept. of Microbiology, Moscow State University, Moskou, Rusland*

De ruimtelijke verdeling van micro-organismen en het verloop van de populatie langs de wortel van een plant en de mechanismen die daaraan ten grondslag liggen, zijn een nog grotendeels onopgelost vraagstuk in de microbiologie van de rhizosfeer. Door de combinatie van microbiologische én moleculaire data hopen we de dynamica van de in de rhizosfeer voorkomende bacteriën te kunnen achterhalen.

Een drietal kasexperimenten is uitgevoerd met tarweplanten die gedurende vier weken in wortel observatiebuizen werden gegroeid. Als substraten werden een tweetal gronden gebruikt van bio-

logisch en conventioneel beheerde belendende percelen. Iedere 1,5 cm van een vrijliggende wortel en van de onverstoorde bulk grond op dezelfde diepte werd bemonsterd, waarbij de monsters afwisselend gebruikt zijn voor het bepalen van het aantal bacteriën en voor directe DNA-analyses. In totaal waren dit zo'n vijftig monsters per wortel. De ruimtelijke variatie in koloniaantallen (CFUs) werd bepaald door uitplaten op media selectief voor copiotrofe en oligotrofe bacteriën. Denaturerende Gradiënt Gel Electrophorese (DGGE) op basis van 16S rDNA met eubacteriële primers is gebruikt voor directe bodem DNA-monsters en voor de kolonies op de selectieve media om de samenstelling van de bodemmicroflora te achterhalen.

De regelmatige periodiciteit in de aantallen bacteriën langs de plantenwortels, die onafhankelijk blijkt te zijn van zijwortels heeft geleid tot de 'Moving waves' hypothese: de golven ontstaan door bacteriële groei als reactie op de exudaten aan de top van de wortel, gevolgd door afsterven, en opnieuw groei op de dan vrijkomende nutriënten, afsterven etcetera. Zowel in de aantallen oligotrofe als copiotrofe bacteriën kunnen dezelfde synchrone golven langs een wortel worden waargenomen. De aantallen bacteriën en aantallen oscillaties zijn in de bemonsterde 'biologische' wortels groter dan in de bijbehorende 'conventionele' wortels.

Discriminant-analyse van de DGGE-gegevens per monsterpunt laat zien dat er een duidelijk onderscheid gemaakt kan worden tussen de populaties in de biologische en conventionele bodem en

tussen rhizosfeer- en bulkgrondmonsters. Ook een toenemende populatie heeft een duidelijk andere samenstelling als een afnemende populatie. Kijkend naar de afzonderlijke amplicons kan er onderscheid gemaakt worden tussen amplicons die op iedere diepte gevonden worden en amplicons die bijvoorbeeld alleen aan de worteltop of meer naar het grondoppervlak voorkomen. Als de intensiteit van een amplicon iets zegt over het relatieve voorkomen van dat amplicon kan er ook onderscheid worden gemaakt in met de aantallen CFUs mee-oscillerende fragmenten en fragmenten die samenhangen met een afname in de bacterieaantallen.

Afweer bij schimmels tegen biologisch bestrijding

Alexander Schouten, Grady van den Berg en Jos M. Raaijmakers

Laboratorium voor Fytopathologie, Wageningen Universiteit, Postbus 8025, 6709 PG Wageningen

Antagonistische interacties tussen micro-organismen krijgen bijzondere aandacht op het gebied van de microbiële ecologie en worden geëxploiteerd voor biologische bestrijding van plantenpathogene schimmels. Het fundamentele onderzoek naar interacties tussen antagonistische micro-organismen en plantenpathogene schimmels wordt gedomineerd door vragen omtrent de effecten van antagonisten op pathogenen en identificatie van de mechanismen, metaboliëten en genen die daarbij

betrokken zijn. Het falen van biologische bestrijding wordt meestal toegeschreven aan het gebrek aan kwaliteiten van de gebruikte antagonist. Mogelijke reacties van plantenpathogene schimmels op microbiële antagonisten krijgen verhoudingsgewijs weinig aandacht en de kans op resistentieontwikkeling binnen plantenpathogen schimmelpopulaties wordt klein geacht. Het laatste is gebaseerd op de gedachte dat (1) de

meeste bacteriële antagonisten verschillende antibiotica produceren, (2) de antibiotica zeer lokaal worden geproduceerd en (3) de antibiotica slechts kortstondig aanwezig zijn gedurende de ontwikkeling van het pathogeen. Niettemin zijn er indicaties dat binnen natuurlijk pathogeenpopulaties variaties in gevoeligheid voor antibiotica voorkomen. In ons onderzoek bestuderen wij de aanwezigheid van resistentie bij natuurlijke

pathogene en niet-pathogene *Fusarium oxysporum* isolaten tegen antibiotica geproduceerd door *Pseudomonas* spp. De mechanismen die verantwoordelijk zijn voor resistentie worden gekarakteriseerd op biochemisch en genetisch niveau. De aanwezigheid van resistente plantenpathogene schimmels in de bodem kunnen de effectiviteit van biologische bestrijding drastisch beïnvloeden.