

Ontwikkeling van een bodemgezondheids-chip

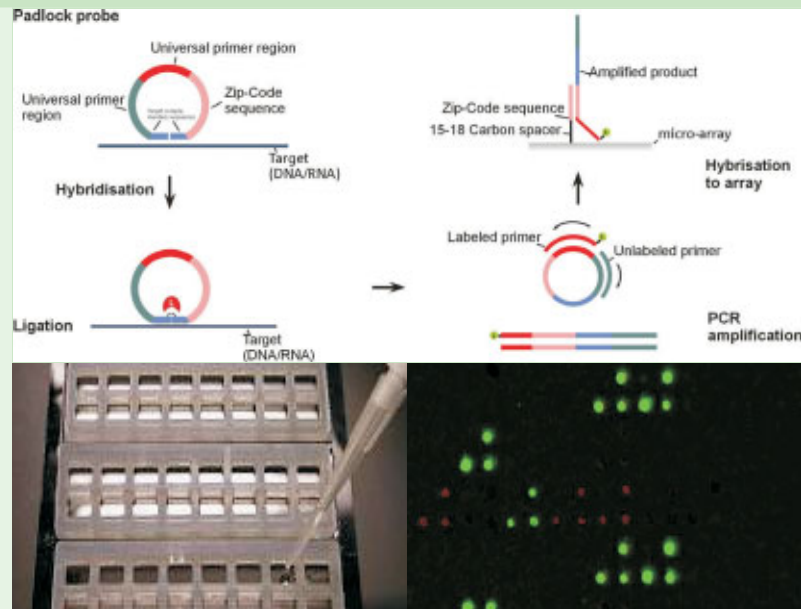
Peter Bonants, Marianna Szemes, Arjen Speksnijder, Carolien Zijlstra, Leo van Overbeek, Ronald van Doorn, Jos Wubben, Joop van Doorn, Cor Schoen

Uitgangspunt

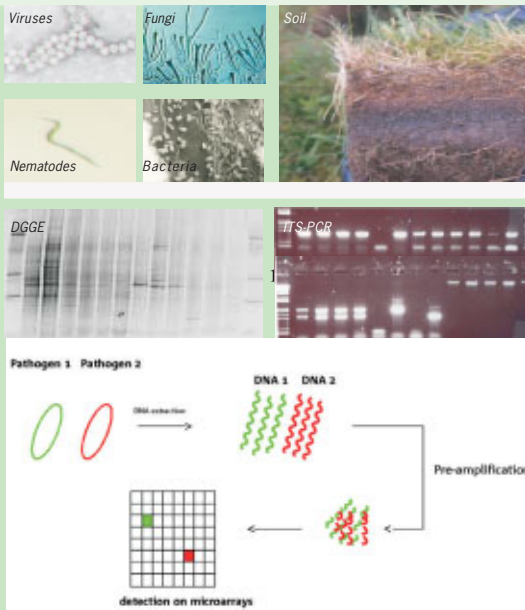
De ontwikkeling van een bodemgezondheids-chip kan een nuttige bijdrage leveren aan de detectie van een aantal targets: plantpathogenen, nuttige organismen (beneficials) en genen, die coderen voor antibiotica productie of antagonistische mechanismen.

Onderzoek

Ontwikkeling van DNA-extractie-protocollen voor grond, alsmede een multiplex detectiesysteem voor de verschillende targets. Aangezien coderende genen van invloed kunnen zijn op gezondheid van de bodem wordt hiervoor genomisch DNA uit de bodem geïsoleerd en geanalyseerd op betreffende functies (Metagenoom). Voor het onderzoek naar mogelijke relaties tussen bodemweersbaarheid en microbiële populaties vinden DGGE-analyses plaats van bodems die werend zijn tegen microbiële plantpathogenen om zo relevante targets (bv antagonisten) te identificeren. Karakteristieke probes die bodemgezondheid definiëren zullen uiteindelijk op de chip worden geplaatst.



Het geïsoleerde DNA wordt met behulp van de pUMA* multiplex amplificatiemethode vermenigvuldigd en gehybridiseerd op een micro-array. De uitslag laat zien welke targets (pathogenen of beneficials) aanwezig zijn in het DNA van het grondmonster.
pUMA*: padlock probe gebaseerde universele multiplex array.



Boven: DNA vanuit diverse organismen, aanwezig in de bodem, wordt geïsoleerd en geanalyseerd met allerlei moleculaire technieken, bv DGGE of ITS-PCR.
Onder: Schematische weergave van het micro-array gebaseerde multiplex detectiesysteem.

Resultaten

- Diverse DNA-extractiemethodieken zijn met elkaar vergeleken.
- DGGE-fingerprintpatronen zijn gemaakt voor schimmel- en bacteriepopulaties van deze extracten.
- Een multiplex amplificatie-/detectiesysteem is ontwikkeld voor een 30-tal targets (pUMA*).
- Hoog-moleculair bacterieel DNA-isolaties vanuit grond zijn uitgevoerd om genetische banken te maken met grote inserts. De bank is gescreend voor een aantal interessante genen.

De praktijk

Er zijn een aantal basisprincipes uitgetest. Deze zijn gereed om te worden toegepast op verschillende gronden. In 2005 zijn verschillende gronden multiplex geanalyseerd op de aanwezigheid van een aantal geselecteerde organismen.

Contact: Peter Bonants
Plant Research International B.V.
Postbus 16, 6700 AA Wageningen
T 0317 47 62 13 - F 0317 41 80 94
peter.bonants@wur.nl
www.pri.wur.nl