

uiteindelijk de vraag te kunnen beantwoorden of ISR ook niet-pathogene micro-organismen in de rhizosfeer beïnvloedt, is in deze studie een basislijn van de microbiële gemeenschap van de rhizosfeer van *Arabidopsis thaliana* en tabak, beiden veel gebruikt in ISR-onderzoek, gegenereerd. *Arabidopsis* en tabaksplanten werden opgekweekt op een potgrond-zandmengsel en een kleigrond. Om de diversiteit van de bacteriële microflora te vereenvoudigen werden beide grondsoorten ook geautoclaveerd voor gebruik. In deze vier experimentele situaties werd de bacteriële rhizosfeer-microflora vergeleken met de microflora van de bulkgrond. De cultiveerbare bacteriële microflora is bestudeerd door kolonievormende eenheden te kwantificeren op selectieve media. Door uit grond DNA te extraheren waarop vervolgens bacteriegroep-specifieke PCR-DGGE is toegepast, werd onderzocht of er kwalitatieve veranderingen waren in de totale bacteriële microflora, inclusief niet-cultiveerbare bacteriepopulaties.

Zowel voor *Arabidopsis* als tabak werd een duidelijk rhizosfeer-effect waargenomen op grond van tellingen op selectieve media. Populaties van bacteriën en *Pseudomonas* spp. waren veel hoger in de rhizosfeer dan in de bulkgrond. Het rhizosfeer-effect was het grootst voor de *Pseudomonas* spp.

De PCR-DGGE-resultaten laten differentiële effecten van *Arabidopsis* en tabak zien. In alle situaties is in de rhizosfeer van tabak een verschuiving in de totale populaties van bacteriën en *Pseudomonas* spp. ten opzichte van die in de bulkgrond waargenomen. Voor *Arabidopsis* is dit kwalitatieve rhizosfeer-effect veel minder duidelijk.

Het onderzoek richt zich nu op de rhizosfeer-microflora van *A. thaliana*-mutanten die verstoord zijn in signaaltransductie betrokken bij resistentie tegen pathogenen en op *Arabidopsis*-planten die ISR tot expressie brengen.

Streptomycceten-diversiteit in grond met behulp van DGGE

Mirjam Schilder en Joeke Postma

Plant Research International BV, Postbus 16, 6700 AA Wageningen, e-mail: mirjam.schilder@wur.nl

Streptomycceten vormen een belangrijke groep bacteriën in de bodem. Ze spelen een grote rol bij de afbraak van organische stof. Bovendien is aangetoond dat ze correleren met ziekteverring van verschillende bodempathogenen.

In een onderzoek naar agrobiodiversiteit en bodemweerbaarheid zijn grondmonsters genomen van verschillende biologische bedrijven verspreid over Nederland. De populatiedichtheid van cultiveerbare bacteriën en streptomycceten is bepaald door het uitplanten van grondsuspensies op respectievelijk R2A en chitine oatmeal agar met daarop een bacteriefilter. Ook werden bacteriën, inclusief streptomycceten, geselecteerd die de groei van *Rhizoctonia solani* remden. Deze antagonistische bacteriën werden geïdentificeerd door een deel van het 16S ribosomaal RNA te sequensen. Hieruit bleek dat van de 525 geïsoleerde antagonistische bacteriën, 50% tot het geslacht *Streptomyces* behoorde.

Om de populatiesamenstelling van de streptomycceten in verschillende grondmonsters te vergelijken, zijn genetische 'fingerprints' gemaakt met behulp van DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis). Deze methode is eerder gebruikt en beschreven door Inbar *et al.* (2005).

Voor een streptomycceten-specifieke marker werden veertien *Streptomyces*-soorten uit verschillende subgroepen getest. Uiteindelijk werd een marker uit acht soorten samengesteld. DNA werd met behulp van een 'ultra clean soil DNA isolation kit' (Mo Bio) uit grondmonsters geëxtraheerd. Nested PCR werd uitgevoerd met de primers, zoals in het artikel staat vermeld. DGGE werd gerund met een geoptimaliseerd protocol: gelgradiënt 30-80%, runtijd van zeventien uur bij honderd Volt en 60 °C.

De streptomyccetenpatronen hadden hele mooie scherpe banden, echter met relatief weinig afstand tussen de banden. De bemonsterde bodems hadden elk circa acht tot twaalf banden. Verder onderzoek moet aantonen of er correlaties tussen streptomycceten/patronen en ziekteverring aangetoond kunnen worden.

Referentie

Inbar, E., Green, S.J., Hadar, Y. & Minz, D., 2005. Competing factors of compost concentration and proximity to root affect the distribution of streptomyccetes. *Microbial Ecology* 50: 73-81.