

# Inzicht in ondergrondse microbiologie

Meten en beïnvloeden

12-10-2023 Carina Eisfeld, Marcelle van der Waals, Jim van Ruijven, Marta Streminska



Ga naar **wooclap.com** en gebruik de code **PKNISE**



Heeft u aandacht voor microbiologie in uw teeltsysteem?



1

0% 0



Klik op het geprojecteerd scherm om de vraag te activeren

2

0% 0



Ga naar **wooclap.com** en gebruik de code **PKNISE**



Op welke manier bekijkt u de microbiologie in uw teeltsysteem?



Tijd om te stemmen!

0



Klik op het geprojecteerd scherm om de vraag te activeren  
antwoorden gekregen



wooclap



100 %



0



Ga naar **wooclap.com** en gebruik de code **PKNISE**



Wat zou je graag willen weten over de microbiologie in je teeltsysteem?



Tijd om te stemmen!  
0

Klik op het geprojecteerd scherm om de vraag te activeren  
antwoorden gekregen



wooclap



100 %



0



**Plant**

- Leeftijd/ontwikkeling
- Genotype
- Gezondheidsstatus
- Afscheidingen/metabolieten

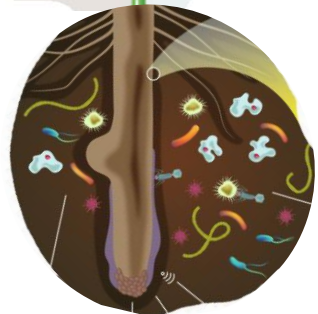


**Microbe-microbe interacties**

- Beïnvloeding van de plant
- Metabolieten
- Keystone soorten

**Milieu**

- Bodem
- pH
- Water
- Organisch stof
- Teeltpraktijk



**Plant**

- Leeftijd/ontwikkeling
- Genotype
- Gezondheidsstatus
- Afscheidingen/metabolieten

**Microbe-microbe interacties**

- Beïnvloeding van de plant
- Metabolieten
- Keystone soorten

**Milieu**

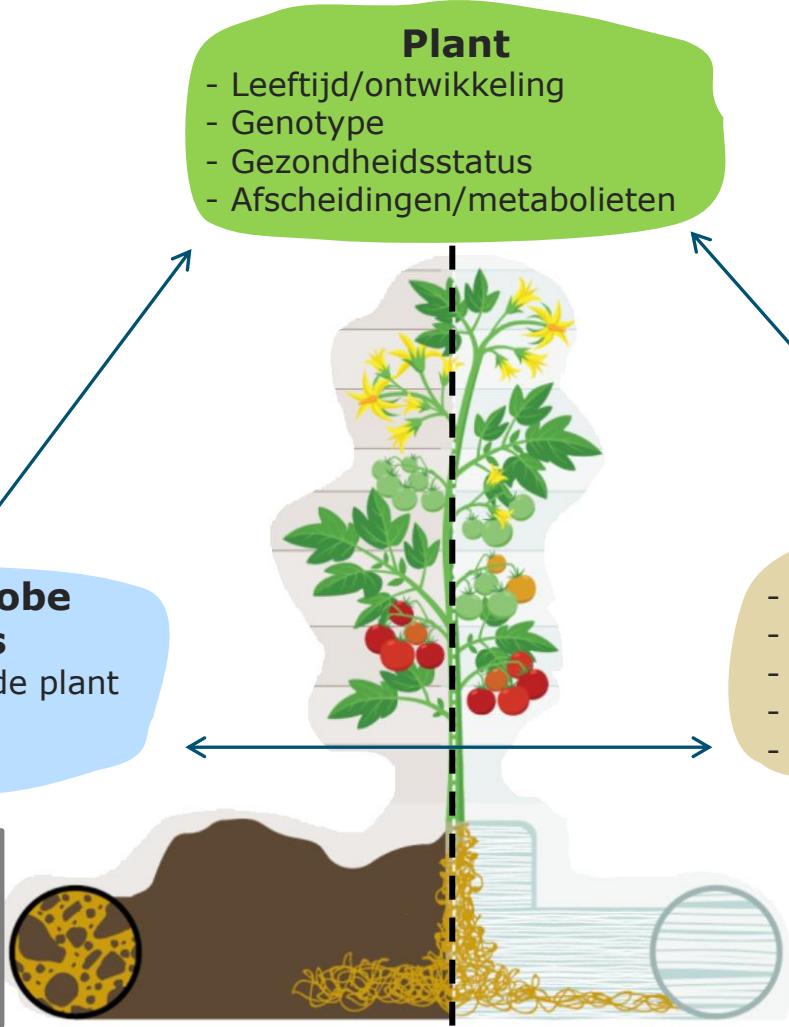
- Bodem
- pH
- Water
- Organisch stof
- **Teeltpraktijk**

Tuinbouw in de bodem

- Heterogeen groeimedium
- Hoge microbiële diversiteit

Hydrocultuurteuinbouw in steenwol

- Homogeen groeimedium
- Gunstig voor bacteriën



# Wat doen de micro-organismen in het water?

Goed: Plantgroei-bevorderende bacteriën en schimmels  
Slecht: Plant pathogenen

Groeibevordering:

- **Afbraak van organisch materiaal**
- **Productie van planthormonen**
- **Tolerantie voor abiotische stress** (e.g. droogte)
- **Verhogen van nutriënten beschikbaarheid** (oa.: stikstof (N) fosfor (P))
- **Afweer voor pathogenen**

# Technieken om micro-organismen te bestuderen

Wie en hoeveel is er?



## Flowcytometrie

Directe telling van cellen in water (na kleuring ook aantal "levende" cellen), geen informatie op soort niveau

## Kiemgetal

Geeft informatie over de hoeveelheid kweekbare micro-organismen in het monster

Uitplaten op agar media (KVE)

DNA en/of RNA

Informatie over aanwezige micro-organismen: DNA (levend én dood) of RNA (levend)

## Metabarcoding (NGS)

informatie over welke soorten zijn er (bacteriën- 16S rDNA; schimmels- ITS of 18S rDNA)

Wat doen ze?

DNA en/of RNA

Biochemische testen

## PCR (polymerase chain reaction)

Informatie over aanwezigheid van specifieke soorten/groepen/ functionele genen (ja/nee info)

## (Semi-) Quantitative PCR

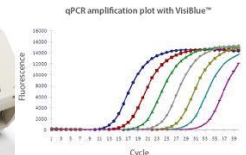
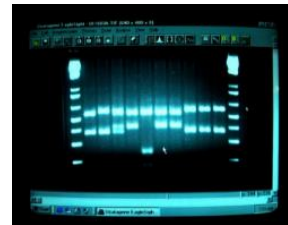
Informatie over aanwezigheid van specifieke soorten/groepen/ functionele genen (hoeveelheid)

## ATP meting

Meting voor algemene activiteit levende organismen in het monster

## Enzymenmetingen

Informatie over activiteit van micro-organismen: e.g. chitine afbraak, nitrificatie





# Microbiologische methodes

## Kwantitatief:

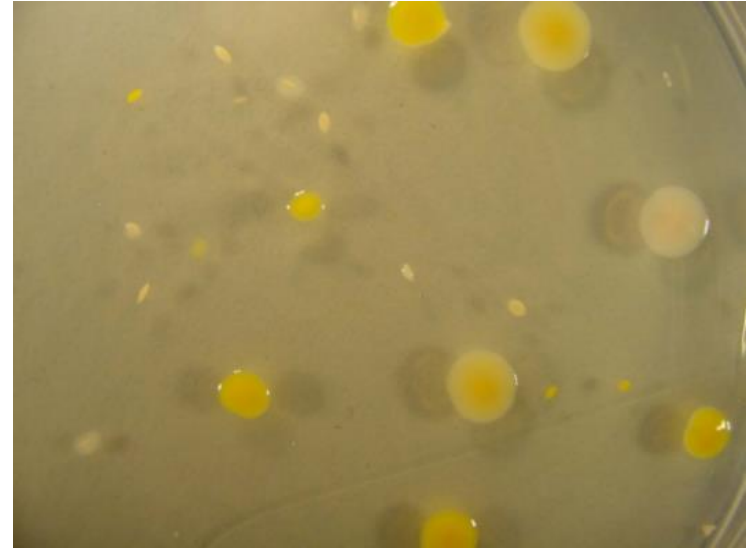
- Kiemgetal
- qPCR (16S rRNA gen)
- Flowcytometrie
- ATP
- Biofilm bepaling

## Kwalitatief:

- Next generation sequencing

# Kiemgetal

- Kiemgetal/koloniegetal
- Kweekmethode ontwikkeld in de 19e eeuw
- Levende, op agar groeiende bacteriën
  - Verschillende temperaturen
- Analysetijd: 3 dagen



# qPCR

- Bepalen hoeveel specifieke micro-organismen aanwezig zijn
  - Totale populatie
  - Verschillende soorten micro-organismen
  - Specifieke functies
- DNA extractie en daarna een qPCR analyse
- Analysetijd: 3 uur

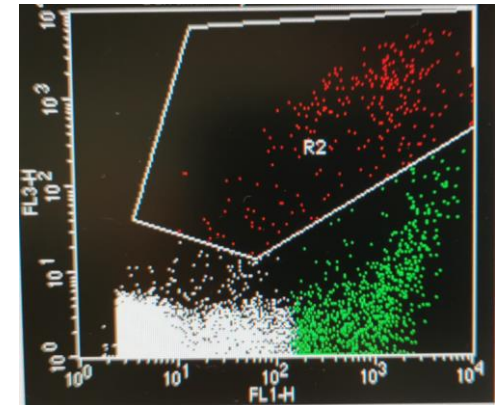


# Vergelijking kiemgetal, qPCR totaal bacteriën

- Klein deel bacteriën in milieu kweekbaar op agar (kiemgetal)
  - Watersystemen vaak  $<0,1\%$  van de totale populatie
- Aantal genkopieën (qPCR) vaak hoger dan aantal cellen (kiemgetal)
  - 1 cel kan meer genkopieën bevatten

# Flowcytometrie

- Celtelling
- Cellen worden gekleurd met kleurstof en geteld
- Onderscheid mogelijk in:
  - Totaal aantal cellen (levend+dood)
  - Intacte cellen (levend)
  - Niet-intacte cellen (dood)
  - Onderscheid in activiteit cellen
- Analysetijd: <30 minuten



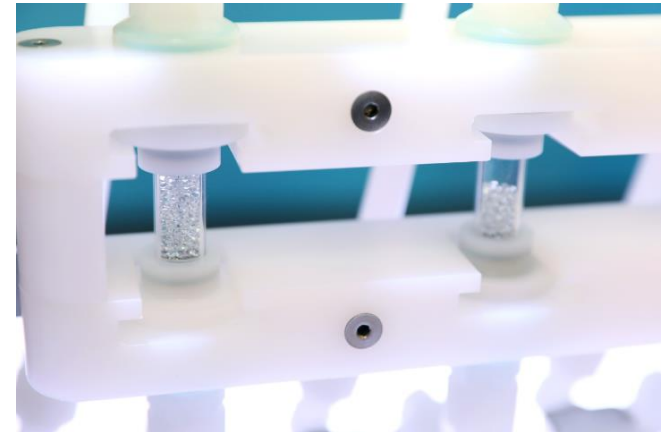
# ATP

- Maat hoeveelheid aanwezige biomassa in monster
- Labmethode waarbij licht geproduceerd wordt en gemeten
- Draagbare systemen
- Analysetijd: 5 minuten



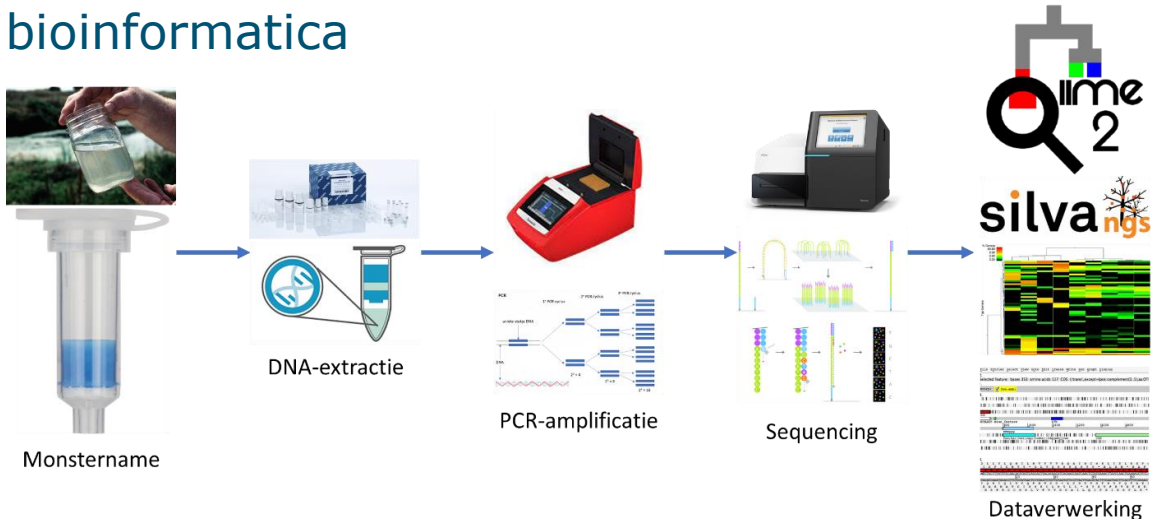
# Continue biofilm monitor (CBM)

- Bepaling groei biofilm en adsorptie biomassa bepalen
  - Verstopping leidingen, vervuiling water, ophoping ziekteverwekkers
- M.b.v. glasparels of coupons biofilm vormen



# Next generation sequencing (NGS)

- In kaart brengen bacteriën of schimmels op basis van DNA (levend+dood) of RNA (levend) materiaal
- Praktische stappen en bioinformatica
- Analysetijd: 48 uur





Ga naar **wooclap.com** en gebruik de code **PKNISE**



Welke acties voer je al uit om microbiologie te beïnvloeden?



Tijd om te stemmen!

0

Klik op het geprojecteerd scherm om de vraag te activeren  
antwoorden gekregen



wooclap



100 %



0



Ga naar **wooclap.com** en gebruik de code **PKNISE**



Wat zou je willen bereiken?



**Tijd om te stemmen!**

0

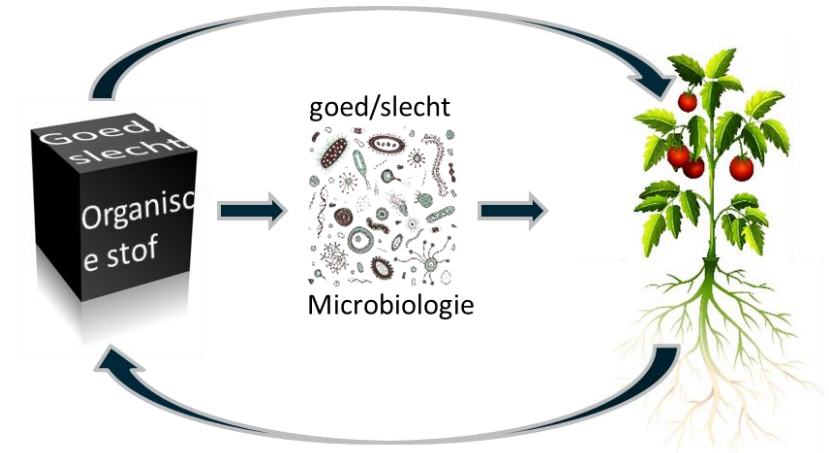
Klik op het geprojecteerd scherm om de vraag te activeren  
antwoorden gekregen



# PPS OSIRES: Doel

Verkrijgen meer inzicht in:

- Wat speelt zich af in het wortelmilieu?
- Welke factoren hebben invloed?
- Hoe kunnen we deze factoren sturen?



Resultaten:

- Praktische tool voor meten microbiologie in de praktijk
- Aanzet voor methode voor managen factoren die microbiologie beïnvloeden

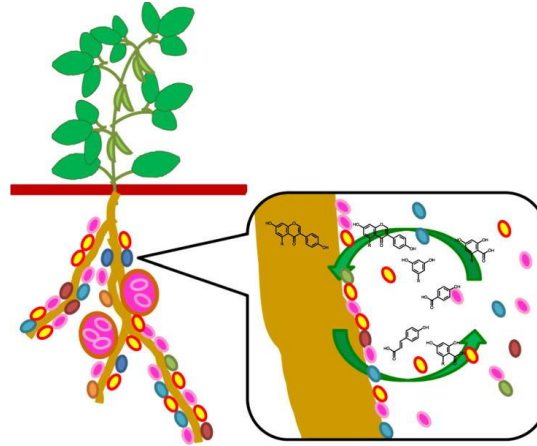
# PPS OSIRES: Methodes

- Wie is er? → Micro-organismen in kaart brengen (NGS)
- Wat kunnen micro-organismen potentieel doen? → overmatige wortelgroei, pathogenen, etc. (qPCR)
- Organisch stof, nutriënten bepaling
- Link micro-organismen met organische stof
  
- Recirculeren organisch stof: groei en ophoping micro-organismen

# Welk soort organische stof bij interactie tussen planten en microben?

## Wortellexudaten

- Extracellulaire enzymen
- Fenolische verbindingen
- Amino-zuren
- Organische zuren
- Suikers



Nutriënten afbraak  
Signaalstoffen  
Groeibevordering  
Verhoging plantweerbaarheid  
- pathogeen afweer  
- stress tolerantie

## Micro-organismen

- Exopolysachariden
- Fytohormonen
- Sideroforen (↑ ijzer)
- Antibiotica en antischimmelmiddelen
- VOCs
- Enzymen
- ...

# Waar komt de organische stof vandaan?

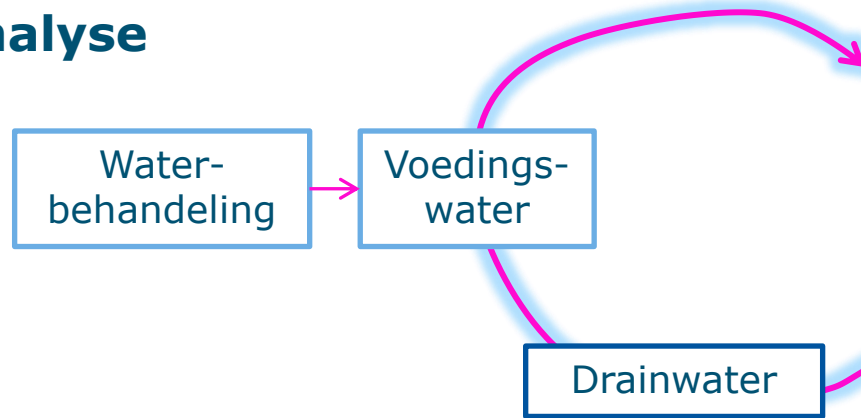


# Meting van organisch stof in water

TOC

nutriënten

Q-TOF analyse



# Sturing organisch stof door waterbehandeling → Sturing plant - micro-organismen - interacties





# Sturing organische stof door waterbehandeling → Sturing plant - micro-organismen - interacties



# Rol van waterbehandeling

- Desinfectie
- Toevoegen microbiologie
- Toevoegen of omzetten organisch stof
- Creëren van de juiste omstandigheden in teeltsysteem



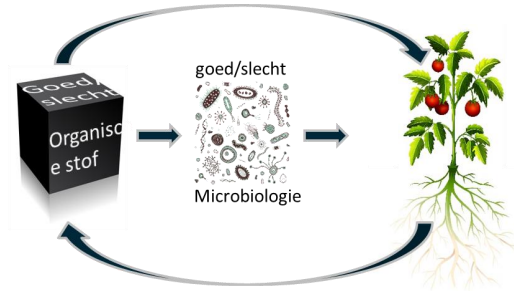
# Organisch stof binnen recirculerende teelt

Vragen:

- Verandering samenstelling organisch stof tijdens de teelt (plant ontwikkeling)
- Invloed van waterbehandelingen op org. stof/plant/micro-organismen
- Samenstelling en functies van microbiële wortelgemeenschap
- Invloed op ziektegevoeligheid

→ Sturing van plant - micro-organismen - interacties

→ Bevordering van positieve “goede” micro-organismen



# Bedankt voor uw aandacht!

## Financiers:



## Gewascoöperaties: tomaat & phalaenopsis

