

prof.dr. J.M. Raaijmakers

Stille krachten doorgrond: the power of the small



Universiteit
Leiden

Bij ons leer je de wereld kennen

Stille krachten doorgrond: the power of the small

Oratie uitgesproken door

prof.dr. J.M. Raaijmakers

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar op het gebied van

Microbial Interactions and Diversity

aan de Universiteit Leiden

op vrijdag 13 November 2015



Universiteit
Leiden

Geachte Rector, beste familie, vrienden, collega's,

Hartelijk welkom bij mijn oratie; fantastisch om iedereen hier samen te zien en om jullie meer te vertellen over mijn onderzoek bij het Nederlands Instituut voor Ecologisch Onderzoek (NIOO-KNAW) in Wageningen en het Instituut voor Biologie (IBL) van de Universiteit Leiden. Ik heb de afgelopen jaren vaak op internationale congressen en symposia gesproken over mijn onderzoek maar ik heb eigenlijk nog nooit de gelegenheid gehad om ook aan familie en vrienden uitgebreid te vertellen wat ik nu eigenlijk doe.

Dus de centrale vraag vanmiddag is: *wat doe jij nou eigenlijk precies?* Toen mijn kinderen klein waren voegden zij daaraan toe ... *de hele dag?*

De komende 45 minuten zal ik jullie meenemen naar de onzichtbare wereld van de microben (in het bijzonder bacteriën en schimmels) en het belang van deze kleine, stille krachten in jullie dagelijkse leven en de omgeving om ons heen. Normaliter worden lezingen op congressen vergezeld van dia's om bepaalde resultaten van het onderzoek zichtbaar te maken. Bij de Universiteit Leiden is om historische en ook om praktische redenen een grote voorkeur voor het gesproken woord. Omdat we via TV, computer, telefoon en sociale media enorm gewend zijn geraakt aan beeldmateriaal, zal het voor mij en ook voor jullie een uitdaging worden om weinig visuele input te krijgen maar slechts geluid.

Naast ons gehoor is er echter nog een andere zeer krachtige, maar weinig gebruikte, manier om informatie over te brengen en dat is via een ander zintuig, de neus. Ik heb samen met een aantal van mijn promovendi en postdocs voorbereidingen getroffen om jullie ook op die manier kennis te laten maken met de onzichtbare en geurige wereld van de microben. Degenen die dachten even weg te kunnen mijmeren tijdens mijn lezing moet ik teleurstellen want we gaan 'live' een experiment doen. Dit experiment heb ik nooit eerder gedaan en aangezien

het 'vrijdag de 13e' is hoop ik dat het gaat lukken. De ingrediënten voor een groot populatie-onderzoek zijn aanwezig (nl. jullie), het materiaal en de methoden zijn voorbereid, ik heb een onderzoeksvraag en hypothese opgesteld en ben dan ook erg benieuwd wat dit experiment aan resultaten gaat opleveren; dus dat wordt spannend ... en niet alleen voor mij. Later tijdens deze lezing volgen nog instructies.

Laten we beginnen met de centrale vraag: wat doe jij nou eigenlijk precies?

Als familie en vrienden mij deze vraag stelden was mijn openingszin meestal: *'ik doe onderzoek aan bacteriën en schimmels op planten en ...'* Voordat ik hieraan echter een vervolg kon geven waren er meestal twee non-verbale reacties: de eerste reactie was een 'vies gezicht', zeer waarschijnlijk omdat velen van jullie bacteriën en schimmels associëren met ziekte en bederf. De tweede reactie - altijd prachtig om te zien - was een starende en enigszins wazige blik - ik denk het beste te omschrijven als de blik in de ogen van een hertje of konijntje dat 's nachts midden op de weg staat te staren naar een auto die met hoge snelheid komt aanrijden. Conclusie is, denk ik, dat mijn openingszin niet zo best was.

Om nu te voorkomen dat jullie straks met vergelijkbare reacties de zaal verlaten, leek het mij het beste om heel dicht bij jullie te beginnen en eerst uitleg te geven over de bacteriën en schimmels die op en in jullie lichaam leven en wat die daar allemaal doen. Dan schakelen we ergens halverwege mijn lezing over naar mijn eigen onderzoek aan microben op planten en in de grond onder onze voeten en laat ik u zien wat de verrassende gelijkenissen zijn. Tot slot zal ik nog ingaan op het onderwijs en de toekomst.

Allereerst een stukje geschiedenis

De ontdekking van microben gaat terug naar het jaar 1674 toen Antonie van Leeuwenhoek door zijn provisorische microscoop een compleet nieuwe en diverse wereld zichtbaar maakte. Zijn ontdekkingen zijn prachtig weergegeven en ver-

woord in het museum Micropia in Amsterdam, gelegen naast de dierentuin Artis. Als je in dit museum - overigens zeer de moeite waard - met de lift de 1e verdieping betreedt, word je als eerste geconfronteerd met de boom van het leven op aarde waarin mens en dier een onbeduidend takje vormen. De 'oude boom van het leven op aarde', in beeld gebracht door o.a. Ernst Haeckel en Charles Darwin, werd getypeerd door een enkele boomstam met de mens dominant aanwezig in de kruin. Deze oude boom is nu vervangen door een nieuwe boom met drie domeinen waarin wij in een klein zijtakje samen zitten met de schimmels en de slijmzwammen. Het overgrote deel van de levensboom wordt gedomineerd door microben; dus wij leven in een microbiële wereld, ook al zien we ze meestal niet. Waar je ook gaat of staat zijn microben in grote getalen aanwezig en in een diversiteit die we nog maar nauwelijks kennen.

Het onderzoek naar microbiële diversiteit is de afgelopen 10 jaar in een enorme stroomversnelling gekomen door de ontwikkeling van een reeks nieuwe technologieën. De meer klasieke technieken (microscopie, kweekjes op voedingsbodems) worden nu in snel tempo vervangen door zgn. moleculaire technieken waarbij we niet zozeer meer kijken naar de micro-organismen zelf maar naar hun erfelijk materiaal (DNA, RNA). Vergelijkbaar met het erfelijkheidsonderzoek bij mensen hebben we ook voor microben - en dus ook voor de microben die we niet kunnen kweken - zgn. streepjescodes waaraan we specifieke soorten kunnen herkennen en hun verwantschap kunnen bepalen. Hierbij moet opgemerkt worden dat we voor veel streepjescodes de bijbehorende microben vaak nog niet kennen en ook niets weten over hun mogelijke functies. Vergelijk dit maar met een overvol boodschappenmandje in de supermarkt met daarin een aantal 'producten' met streepjescodes die niet herkend worden door de scanner bij de kassa.

Het microbioom

Het totaal van microben, hun diversiteit en de interacties die plaatsvinden in een specifiek milieu (bijv. mens, dier, insect, plant, bodem of water) wordt ook wel het microbioom ge-

noemd. We spreken dan over het humane microbioom, plantenmicrobioom, insectenmicrobioom, bodemmicrobioom, enz. Centraal in het microbioomonderzoek - dus ongeacht of je aan mensen, planten of insecten werkt - staan de drie W's: Wie, Waar, Wat? Dus: wie zijn er aanwezig, waar zitten ze en wat doen ze daar? Het zoeken naar een antwoord op deze drie vragen is wat we in mijn afdeling dagelijks doen.

Laten we het humane microbioom eens onder de loep nemen, het microbioom van u en mij. Het aantal microben op en in ons lichaam ligt in de ordegrootte van 10¹⁴ en miljarden bestaande uit duizenden soorten bacteriën en schimmels. Ik kan eerlijkgezegd nooit zoveel met dit soort getallen maar als we alle microben op en in 1 persoon bij elkaar zouden schrapen en op een weegschaal zouden leggen dan kom je ongeveer uit op 1-2 kilo; een groot deel hiervan leeft in onze darmen. Toen ik dit opschreef realiseerde ik me ineens dat mijn ouders dit (onbewust) al veel eerder wisten dan ik. Wij hadden vroeger een weegschaal met wijzertje en een zwart, skai-leren voetenbedje. Elke keer als mijn zus, broer of ik op die weegschaal gingen staan dan zeiden mijn ouders - en ik begreep dat toen nog niet - dat het aangegeven gewicht niet klopte maar dat we er 1-2 kilo vanaf moesten halen. Dus daar hadden mijn ouders gelijk in ... tenminste, als je ervan uitgaat dat de microben op en in ons lichaam niet echt bij ons horen.

Wetende dat een bacterie gemiddeld genomen zo'n 0.5 x 2 um (een duizendste millimeter) groot is dan begrijpt u dat er heel veel microben in die 1-2 kilo gaan. Er is overigens wel variatie in de aantallen microben tussen personen, maar voor ieder van ons geldt dat je ongeveer 10-100 keer meer microbiële cellen (met de daarbijbehorende genetische informatie) hebt dan lichaamseigen cellen. Als je met deze kennis nog eens microscopisch naar je buurman of -vrouw kijkt dan zou je tot de conclusie kunnen komen dat hij/zij eigenlijk meer microbe is dan mens. Elke persoon hier aanwezig heeft veelal dezelfde soorten microben als zijn/haar buurman of -vrouw maar de samenstelling van jullie microbioom (de verhouding waarin bepaalde mi-

crobiële soorten voorkomen) kan aanzienlijk verschillen. Daarnaast heeft elke persoon een kleinere specifieke groep microben die je buurman of -vrouw niet heeft. In een recente studie van Harvard Medical School (VS) werd onderzocht of je dergelijke verschillen in persoonlijke microbiomen - en de daarbij behorende variatie in genetische informatie - kunt gebruiken in forensisch onderzoek voor de identificatie van individuen. Dat bleek inderdaad zo te zijn en met name de microben die in onze darmen leven lijken hiervoor het meest geschikt.

Hoe komen we aan al die microben en - sommigen zullen zich afvragen - hoe komen we er vanaf? Antwoord op het 2^e deel van de vraag is eenvoudig: microben blijven altijd bij je; ook met een antibioticumkuur kom je niet van ze af. Dus mocht u zich af en toe eenzaam voelen weet dan dat u niet alleen bent.

In de baarmoeder zijn wij vrij van microben maar tijdens de passage door het geboortekanaal worden wij beënt met microben van de moeder. Wij worden dan aan de buitenkant en ook de binnenkant gekoloniseerd door meerdere bacteriesoorten van de moeder waarbij de bacteriesoort *Lactobacillus* een belangrijke speler is. Deze groep bacteriën (de Lactobacilli) heeft o.a. een functie bij de vertering van de moedermelk. Daarna worden we verder gekoloniseerd door microben die op de huid en borst van de moeder zitten en door microben uit de omgeving met de microben van je vader, broertjes, zusjes, ... en met microben in de voeding. Al deze, veelal onschuldige, microben samen zijn erg belangrijk bij het activeren en trainen van ons immuunsysteem zodat we onze eigen 'goede' microben in de latere levensfase kunnen onderscheiden van vreemde ziekteverwekkende microben. Het duurt ongeveer 1-2 jaar voordat ons darmmicrobioom zich stabiliseert hoewel ook op latere leeftijden veranderingen kunnen plaatsvinden o.a. onder invloed van medicijnen of voeding. Zo is er bijvoorbeeld een duidelijk verschil tussen microbiomen van vegetariërs en vleeseters.

Laten we eens in detail naar onze buitenkant kijken, nl. de microben op de huid. De huid is ons grootste orgaan met een

oppervlakte van 1,5-2 m². Een enorm groot gebied voor een microbe van slechts een paar micrometer. Daarnaast worden de microben op onze huid blootgesteld aan grote fluctuaties in temperatuur, vochtigheid, zuurgraad, UV straling (zon), zouten en een scala aan andere chemische stoffen die ons lichaam uitscheidt via de huid. Vaak doen wij daar zelf nog een schepje bovenop door allerlei cosmetica op onze huid te smeren. Dus topografisch en klimatologisch is onze huid voor een microbe waarschijnlijk nog diverser dan heel Europa dat voor ons is. Deze variaties op onze huid gaan samen met een differentiatie en specialisatie in microbiële populaties. Bijvoorbeeld bacteriën zoals *Staphylococcus* en *Corynebacterium* vind je met name terug in de vochtige gebieden zoals je oksels en knieholte, terwijl *Propionibacterium* soorten vaak voorkomen in de talgrijke gebieden van onze huid zoals het voorhoofd, de rug en achter je oren. Er wordt veel onderzoek gedaan aan het microbioom van onze huid, o.a. naar de effecten van verwondingen (bijv. brandwonden) en hoe de diepere lagen van de aangetaste huid weer gekoloniseerd worden door goede microben i.p.v. microben die infecties veroorzaken.

Wat betreft de huid, zijn onze voeten een hele interessante vakantiebestemming voor microben vanwege de relatief hoge temperaturen, hoge vochtigheid en prachtig landschap - vergelijk het maar met kamperen in de Gorges du Verdon. Met name schimmels gaan hier graag naar toe. Onderzoek laat zien dat alleen al op de hiel van onze voeten tot 80 verschillende schimmels kunnen kamperen terwijl er op andere plaatsen op ons lichaam (bijv. in je oren of op je rug) slechts 2 tot 10 schimmelsoorten voorkomen. Deze schimmelsoorten zijn veelal behulpzaam en ruimen allerlei afvalstoffen op die door ons lichaam via onze voeten worden uitgescheiden. Tijdens deze afvalverwerking maken deze schimmels soms ook zgn. vluchtige verbindingen met een - laten we maar zeggen - karakteristiek aroma. In dit verband is het denk ik nu een mooi moment om ons experiment te gaan doen.

Geurproef 1: uitleg en uitvoering

(voor de resultaten, zie bijlage)

De chemische naam van het stofje dat u zojuist geroken hebt (of niet) is octenol, ook wel de ‘schimmel-alcohol’ genaamd. Interessante vraag voor ons als onderzoekers is waarom schimmels dit soort vluchtige stoffen maken. Eén studie beschrijft dat dit vluchtige stofje (octenol) de vorming van schimmelsporen induceert. Een andere studie laat zien dat deze geur insecten (kevers) aantrekt. Op basis hiervan denkt men nu dat schimmels deze geur gebruiken om insecten aan te trekken die dan vervolgens de schimmelsporen over grotere afstanden verspreiden.

Wat is de functie van microben op en in ons lichaam - wat doen ze daar?

Recent onderzoek laat zien dat de invloed van microben op ons functioneren mogelijk veel groter is dan we dachten. Het is al langer bekend dat de bacteriën in onze darmen essentieel zijn voor de spijsvertering d.m.v. afbraak van voedingsstoffen die wij zelf niet kunnen verteren. Darmbacteriën hebben in dit verband ook een cruciale rol in de aanmaak van bepaalde vitamines, zoals vitamine B9 (biotine) en vitamine K. Ook beschermen de vele microben ons tegen ziekteverwekkende microben door middel van competitie of door middel van de productie van specifieke chemische verbindingen (‘stofjes’). Dus de microben op en in ons lichaam zorgen ervoor dat ziekteverwekkende microben zich vaak niet kunnen vestigen; in dit opzicht zijn de microben onze eerste verdedigingslinie.

Een van de manieren waarop microben ons beschermen is door de aanmaak van - wat ik zou willen noemen - ‘lichaams-eigen’ antibiotica. In een recente studie gepubliceerd in het tijdschrift Cell laat een Amerikaanse onderzoeksgroep zien dat bacteriën aanwezig op/in ons lichaam diverse chemische verbindingen maken die als antibiotica werken tegen ziekteverwekkers. Zo ontdekten zij een thiopeptide antibioticum, genaamd lactocilline, dat aangemaakt wordt door onze eigen microben en erg effectief is tegen bepaalde ziekteverwekkers.

Dit is denk ik slechts het tipje van de ijsberg en er zullen de komende jaren meer ontdekkingen gedaan worden over het beschermende effect van onze microben en de onderliggende mechanismen en chemie. De goede microben in onze darmen spelen ook een cruciale rol bij de werking van ons immuunsysteem en geven op die manier een indirecte bescherming tegen ziekteverwekkers. Er zijn dan ook sterke vermoedens dat de verschillen in microbiomen tussen personen deels zou kunnen verklaren waarom sommige mensen gevoeliger of juist ongevoeliger zijn voor bepaalde infectieziekten.

Onderzoek naar de mogelijke functies en effecten van microben op en in ons lichaam gaat de laatste jaren nog een paar (misschien wel te) grote stappen verder. Onderzoekers hebben nu voor tientallen aandoeningen een correlatie gevonden met de samenstelling van ons darmmicrobioom. Het gaat hierbij om aandoeningen zoals obesitas, voedselallergieën, diabetes, de ziekte van Crohn (chronische darmontsteking), astma, eczeem en psoriasis. Ook MS en autisme worden in de recente literatuur in verband gebracht met ons microbioom. Hierbij moet ik direct aantekenen dat in de meeste van deze studies slechts correlaties gevonden zijn tussen veranderingen in microbioomsamenstelling en het voorkomen van deze specifieke aandoeningen. Wat deze correlaties betekenen en of ze daadwerkelijk iets betekenen is vaak nog niet duidelijk. Voor het geval er wel een oorzakelijk verband zou bestaan, hetgeen is aangetoond voor obesitas en bepaalde voedselallergieën, dan nog is het vaak een lange weg om te achterhalen welke microben uit al die duizenden soorten hierbij een sleutelrol spelen en hoe je dergelijke aandoeningen kan verminderen of voorkomen. De grote vraag is dan ook: hoe ziet een ‘gezond’ microbioom er dan uit en kun je ‘ongezonde’ microbiomen veranderen/sturen in de goede richting? Erg interessant in dit opzicht is het onderzoek van arts/microbioloog dr. Martin Blaser. Hij en ook andere onderzoeksgroepen bestuderen het microbioom van de oorspronkelijke bevolkingsgroepen in het Amazone gebied die geïsoleerd leven en niet blootgesteld zijn aan de voedingspatronen, medicijnen en andere invloeden van onze maatschappij.

Ten aanzien van het veranderen van ‘ongezonde’ microbiomen wordt er momenteel veel geëxperimenteerd met microbiomtransplantaties: het overzetten van microbiomen van één persoon naar een andere persoon. Bijvoorbeeld bij de Universiteit in Gent wordt onderzoek gedaan aan microben die in onze oksels leven en verantwoordelijk zijn voor zweetgeurtjes. Hierbij zijn een groot aantal personen onderzocht en met name tweelingen waarvan er eentje lekker rook en de andere niet. Nu kun je van mening verschillen over de geur van onze medemens, maar via microbiomtransplantaties was het mogelijk om allebei de tweelingen eenzelfde ‘frisse’ geur te geven. Dus de microben van de oksels van de frisruikende tweeling werden verzameld en aangebracht in de oksels van de niet-frisruikende broer/zus. Dit was voor ongeveer de helft van de proefpersonen effectief, zelfs op langere termijn (> 3 maanden), en bleek met name goed te werken tussen personen die genetisch nauwer verwant waren. Voor meer informatie en details over dit onderzoek verwijst ik u naar de website van ‘dr. Armpit’. Dergelijke okseltransplantaties zijn bij mijn weten in de praktijk nog niet gangbaar, maar microbiomtransplantaties worden al wel serieus getest in ziekenhuizen bij de behandeling van patiënten met de ziekte van Crohn en andere chronische darmontstekingen. Bij diverse medische centra wereldwijd wordt hiertoe poep van gezonde personen via een klysma ingebracht bij patiënten met chronische darmontstekingen. Uit deze studies blijkt dat een dergelijke behandeling zeer effectief kan zijn, met succespercentages van soms meer dan 90%. Ook hier zijn aanwijzingen dat dit vaak beter werkt tussen personen die genetisch nauw verwant zijn (familie). Dergelijke microbiomtransplantaties zijn overigens niet nieuw en werden al toegepast in China in de 4e eeuw. Klein smeug detail is dat een dergelijke behandeling destijds ook oraal werd toegediend. Dit werd overigens niet aan de patiënt verteld maar werd onder andere namen (waaronder ‘gele soep’) aan de patiënt voorgeschoteld. Nu zie ik een aantal van jullie denken, kan dat nou niet op een meer beschaafde manier aangepakt worden. U zult begrijpen dat transplantaties van totale microbiomen complex zijn waarbij de effecten vaak niet aan één microbe kunnen worden

toegeschreven maar aan de gecombineerde of zelfs synergistische activiteiten van meerdere soorten microben. Daarbij is de fysisch-chemische context van het betreffende milieu waarin de microben moeten functioneren ook van belang. Dat klinkt als ecologie! Om de complexiteit en effecten van microbiomen beter te doorgronden zullen artsen en medisch microbiologen dan ook meer moeten gaan denken als ecologen.

Voordat we de switch maken naar mijn onderzoek aan plantmicrobiomen, een korte samenvatting van het humaan microbiom; dus even terug naar de 3 W’s:

- **wie** zijn er? - miljarden microben, met duizenden soorten bacteriën/schimmels; elke persoon/genotype met eigen microbioomsignatuur.
- **waar** zitten ze? - overal, maar elke gebiedje op en in ons lichaam heeft zijn eigen soorten en aantallen microben - denk aan de voetschimmels (Gorges du Verdon)
- **wat** doen ze? - een scala aan functies waaronder:
 - o beschikbaar maken van essentiële voedingsstoffen en vitamines
 - o trainen en stimuleren van ons immuunsysteem zodat we onze eigen microben kunnen onderscheiden van ziekteverwekkers
 - o directe bescherming tegen ziekteverwekkers d.m.v competitie en de productie van ‘lichaamseigen’ antibiotica (bijv. thiopeptide antibioticum lactociline)

7

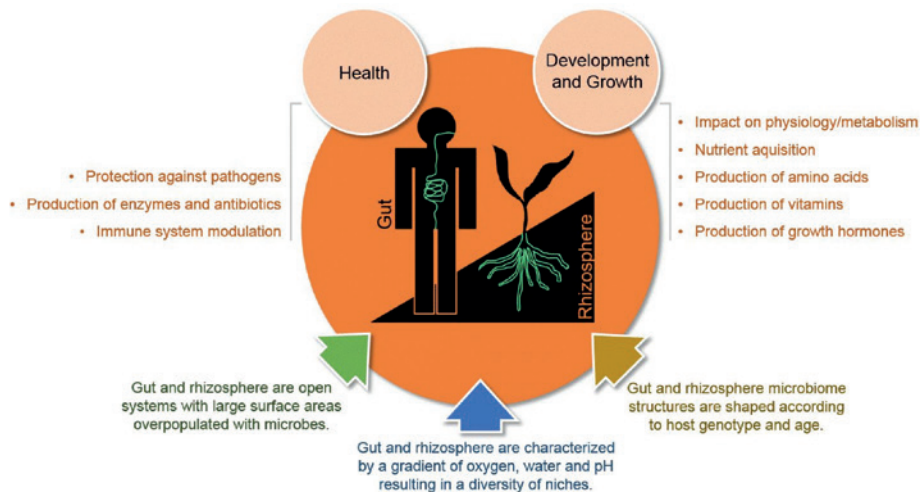
Hoe zit dit bij planten en in de bodem?

In grote lijnen gelden hier dezelfde principes (figuur 1) maar in meerdere opzichten zijn planten- en bodemmicrobiomen veel interessanter vanwege de grotere microbiële diversiteit en complexere interacties en processen. Mijn afdeling bij het NIOO bestaat uit een zeer enthousiaste en internationale groep van ongeveer 65 personen die momenteel aan 15-20 microbiomprojecten werken. Bijvoorbeeld: in het Amazone-gebied in Brazilië onderzoeken we de effecten van grootschalige ontbossing op microbiële diversiteit en bodemprocessen. Andere projecten richten zich op de rol van microben in de vorming

van broeikasgassen en klimaatveranderingen. We onderzoeken de rol van schimmels en bacteriën bij de afvalverwerking in onze bodems en hoe je deze microben kan gebruiken in de Bio-Based Economy om plantmateriaal en afval beter te benutten. Op moleculair en chemisch niveau bestuderen we hoe microben in de bodem met elkaar communiceren en ten strijde gaan, waarbij onderzoek naar vluchtige stoffen en antibiotica een centrale rol spelen. Mijn positie bij het IBL in Leiden biedt diverse nieuwe mogelijkheden om extra stappen te maken in dit onderzoek. Bij het IBL is er een brede expertise op het gebied van antibiotica-onderzoek, mycologie, plantencologie en plantenchemie, evolutionaire biologie, ontwikkelingsbiologie, immunologie ... en nog meer. Ik was dan ook erg enthousiast toen Gilles van Wezel, Peter Klinkhamer, Carel ten Cate en Herman Spaink mij vroegen voor deze hoogleraarspositie. Voor mij en voor het NIOO een prachtige combinatie met grote meerwaarde. Voor mij persoonlijk voelt het alsof je weer door de microscoop van Van Leeuwenhoek kijkt.

In mijn eigen onderzoek aan plantenmicrobiomen kijken we naar de rol van microben in groei en ontwikkeling en gezondheid en ziekte van planten, dezelfde twee grote thema's als in

het humane microbioomonderzoek (figuur 1). Planten zijn in meerdere opzichten interessanter omdat ze een centrale rol spelen in het leven op aarde via de productie van zuurstof uit fotosynthese en omdat ze een essentiële voedingsbron zijn van mens, dier, insect en andere organismen. Vanwege de groeiende wereldbevolking, klimaatveranderingen alsook milieuproblemen door het overdadige gebruik van meststoffen en pesticiden, zal er op een duurzamere manier meer voedsel geproduceerd moeten worden op hetzelfde of mogelijk kleinere stukje grond - '*meer met minder*'. Naar aanleiding van deze problematiek was ik twee jaar geleden uitgenodigd in Washington DC en een half jaar later bij de Bill en Melissa Gates Foundation in Seattle om met een groep wetenschappers mee te denken over hoe we met behulp van microben kunnen bijdragen aan deze uitdaging ('*meer met minder*'). Hier is overigens een boekje over verschenen voor een breed publiek met als titel: '*How microbes can help feed the world*'. Dit boekje is gratis te downloaden van de website van de American Society of Microbiology (ASM). Om dit ook concreet handen en voeten te geven, zijn er diverse nationale en internationale projecten gestart waarbij het NIOO en het IBL betrokken zijn.



Figuur 1: Parallelen tussen de functies van microbiomen bij mens en plant (uit: Mendes & Raaijmakers (2015) ISME Journal)

Vraag is of een dergelijke ‘microbiële aanpak’ van deze problematiek (‘meer met minder’) wel reëel is of dat het meer ‘wishful thinking’ is. Om daar antwoord op te geven is het denk ik goed om de 3 W’s ook voor het plantenmicrobioom op een rijtje zetten:

- **wie** zijn er in de bodem en op planten? - miljarden microben, met duizenden soorten bacteriën en schimmels. Elke plantensoort heeft zijn eigen microbioomsignatuur en ook de omgeving is medebepalend voor de microbioomsamenstelling. De geboorte is ook hier weer belangrijk. Net als baby’s zijn plantenzaden nagenoeg steriel. Plantenzaden kunnen soms microben van de moederplant bevatten maar worden tijdens de kieming, waarbij allerlei voedingsstoffen uit de zaden lekken, gekoloniseerd door bodemmicroben. Ook in latere levensfasen van de plant blijven microben komen en gaan en is er een successie in de microbioomsamenstelling.
- **waar** zitten ze? - overal, dus ook in het plantenweefsel. Ook hier geldt dat elke gebiedje op de plant zijn eigen soorten en aantallen microben heeft. Als je naar de huid (het oppervlakte, de epidermis) van een plant kijkt dan is dat voor een microbe wederom een klimatologisch en topografisch enorm gebied. Bijvoorbeeld de microben die je bovengronds op bladeren vindt hebben vaak andere eigenschappen (zoals resistentie tegen UV-straling) die voor microben ondergronds van minder belang zijn. Net als onze huid en voeten, scheiden ook planten allerlei chemische verbindingen uit die de microben als voeding gebruiken, afbreken of omzetten in andere, soms geurige verbindingen.

Geurproef 2: uitleg en uitvoering (voor de resultaten, zie bijlage)

Wat u zojuist geroken hebt (of niet) is een combinatie van de twee stofjes geosmin en 2-methylisoborneol. Deze geurige stoffen worden gemaakt door bacteriën die behoren tot de groep

van Streptomyceten. Deze bacteriën zijn met name bekend vanwege de productie van antibiotica waarvan u er zeer waarschijnlijk al een aantal geslikt heeft. Denk bijvoorbeeld aan het antibioticum Streptomycine of Ivermectine. Deze laatste is waarschijnlijk minder bekend maar wordt veelvuldig gebruikt tegen worminfecties en andere parasieten. Voor de ontdekking van Ivermectine kregen de Ier William Campbell en de Japanner Satoshi Omura een aantal maanden geleden de Nobelprijs voor de Geneeskunde. Ook de Chinese wetenschapper Youyou Tu kreeg dit jaar de Nobelprijs voor de Geneeskunde vanwege haar ontdekking van artemisinine, de werkzame stof tegen malaria. Artemisinine wordt overigens niet door een microbe gemaakt maar door de plant *Artemisia annua* ofwel zomeralsem. Twee prachtige voorbeelden van wat microben en planten ook kunnen bieden voor onze gezondheid.

Wat doen microben nog meer voor planten? Een scala aan belangrijke functies waarvan ik er een aantal zal noemen:

- o het beschikbaar maken van essentiële voedingsstoffen voor de planten - bekende voorbeelden zijn stikstof (door *Rhizobium* bacteriën) en fosfaat (door mycorrhiza schimmels) maar ook andere voedingsstoffen kunnen microben beschikbaar maken voor de plant.
- o het trainen en stimuleren van het immuunsysteem zodat planten (net als wij) hun eigen microben kunnen onderscheiden van de ziekteverwekkers. Mijn collega’s op het vroegere WCS lab in Baarn en later bij de Universiteit Utrecht waren een van de eersten die dit fenomeen hebben ontdekt en zij werken momenteel aan het ontrafelen van de mechanismen waarmee microben het immuunsysteem van planten stimuleren.
- o Recentelijk hebben wij ontdekt dat microben ook de chemie van planten aanzienlijk kunnen veranderen. In een project genaamd ‘*finding the right partner*’ onderzoeken we wat de beste combinaties zijn en of er daadwerkelijk chemie is tussen de microbe en de plantensoort.
- o Een andere belangrijke functie die microben voor planten hebben is de directe bescherming tegen ziekteverwekkers

d.m.v. competitie en de productie van antibiotica. Op dit gebied hebben wij de afgelopen 10 jaar veel onderzoek gedaan en ontdekt dat bepaalde groepen bacteriën de plant kunnen beschermen tegen ziekteverwekkende schimmels die plantenwortels infecteren. Voor dit onderzoek hebben we zgn. ziekteverende bodems gekarakteriseerd waar bepaalde infectieziekten van planten veroorzaakt door schimmels niet of nauwelijks voorkomen en waarin deze specifieke bacteriesoorten in hoge dichtheden voorkwamen. Door middel van bodemtransplantaties kunnen we 'zieke' bodems weer gezond maken hetgeen erg vergelijkbaar is met de poeptransplantaties beschreven voor de mens. We zijn in dit onderzoek nog een stap verder gegaan en hebben ontdekt dat de 'goede' bacteriesoorten specifieke chemische verbindingen maken, de cyclische lipopeptiden, die de ziekteverwekkers buiten de deur houden.

10 Wat betreft de beschermende functie die microben voor planten kunnen hebben, herinner ik me een mooi onderonsje met mijn zoon Yannick in de auto op weg naar ons wekelijkse tafeltenniswedstrijdje in het kassencomplex bij de universiteit Wageningen. Yannick was toen 7-8 jaar oud en vroeg me een keer: *'wat doe jij voor werk?' Mijn antwoord was dat wij planten proberen te beschermen tegen ziekteverwekkers met behulp van goede microben. De goede microben produceren allerlei stoffen tegen de ziekteverwekkers maar die kunnen zich hier weer tegen bewapenen waardoor de goede microben weer een andere tactiek moeten bedenken om de ziekteverwekkers alsnog buiten de deur te houden. ... het was even stil in de auto ... toen zei Yannick, 'oh, maar dat is precies hetzelfde als in mijn computerspelletje waarbij een groepje beestjes het kamp van andere beestjes probeert te veroveren en zich extra kunnen bewapenen en verdedigen.'* Het was weer even stil in de auto ... vervolgens zei Yannick *'dus jij zit gewoon de hele dag te gamen.'*

Dames en heren, ik hoop dat ik u heb kunnen overtuigen dat er veel parallellen zijn in het microbiomonderzoek aan planten en mensen. Dit geldt overigens ook voor microbiomen

van insecten en vissen. Centrale vragen in ons toekomstig microbiomonderzoek zijn: wat is nu eigenlijk een 'gezond planten- en bodemmicrobioom' en hoe ziet er dat dan uit qua samenstelling en qua functies? Zijn er 'keystone species', bepaalde soorten microben die een sleutelrol spelen in deze en andere bodemprocessen? Hoe kun je deze kennis vertalen naar concrete toepassingen voor een duurzame voedselproductie ('meer met minder'), voor het herstel van natuurgebieden (zie ook onderzoek van NIOO-collega Wim van der Putten) en voor onze gezondheid?

Wat betreft de toepassingen werken we nauw samen met Nederlandse en buitenlandse bedrijven om dit tot een succes te maken. Wat betreft het antibiotica-onderzoek is het IBL grote stappen aan het maken om een nieuw antibiotica-discovery onderzoekscentrum op te zetten genaamd CARES (Centre for Antibiotic RESearch). Ons microbiomonderzoek aan planten zal hier een extra dimensie aan geven.

Een van de manieren om plantenmicrobiomen beter te doorgronden is door terug te gaan naar de bron, de oorsprong. Recent heeft de Nederlandse regering, via de Technologiestichting STW, een groot onderzoeksprogramma genaamd *Back-to-the-Roots* gehonoreerd waarbij wij onderzoek gaan doen naar de microben die voorkomen op de wilde verwanten van onze voedselgewassen (o.a. in het Andesgebergte, Zuid-Amerika) en op planten in woestijngebieden (o.a. Algerije). In dit programma werken 5 academische instellingen samen met 10 Nederlandse bedrijven. We verwachten nieuwe microben te vinden die onze voedselgewassen kunnen beschermen tegen ziekten, plagen en droogte. Deze microben worden ook onderzocht als bron voor nieuwe antibiotica. T.a.v. toepassingen van deze kennis zal er echter ook een mentaliteitsverandering moeten plaatsvinden bij bedrijven omdat er in mijn optiek niet zo iets bestaat als *'the magic bullet'*. Net als in de farmaceutische industrie, zijn agrochemische bedrijven vaak op zoek naar dat ene stofje of die ene microbe die 'alles' kan omdat dat procesmatig en ook qua regelgeving en toelating makkelijker is.

Om de toepassingen van microbiomen te optimaliseren zullen ook bedrijven en regelgevende instanties meer moeten gaan denken als ecologen.

Onderwijs

Ik heb als hoogleraar in Leiden ook een onderwijstaak en ben momenteel betrokken bij de cursus Moleculaire Ecologie en begeleid studenten bij hun afstudeeropdrachten. Begeleiden en motiveren van studenten vind ik ontzettend leuk en in dit opzicht sluit ik me graag aan bij het advies dat prof. Robbert Dijkgraaf een aantal maanden geleden aan studenten gaf in zijn column in het NRC. Hierin noemde hij vier essentiële basiselementen om je weg te vinden in je studie en het onderzoek: een kompas, een stamvork, een loop en een dobbelsteen. Het kompas, het instrument dat aangestuurd wordt door een onzichtbaar magnetisch veld, sprak mij hierin het meeste aan. Het gaat hierbij om het leren zien/voelen waar nieuwe interessante ontwikkelingen liggen en waarbij je je niet moet laten hinderen of afremmen door de vooringenomen ideeën en kennis van ervaren wetenschappers. De stamvork en de verbeelding zijn hierbij essentieel. Als het kompas richting heeft gegeven en de stamvork resonanceert dan geeft de loop vervolgens focus en diepgang, terwijl de dobbelsteen het toeval symboliseert en je nieuwe en onbekende wegen laat bewandelen. Vier elementen die ook voor meer ervaren onderzoekers essentieel blijven.

Tot slot enkele woorden van dank.

Diverse personen vandaag hier aanwezig maar ook elders in Nederland en het buitenland zijn voor mijn ontwikkeling en carrière van groot belang geweest. Bijvoorbeeld de vele personen van de verschillende labs waar ik gewerkt heb: het WCS lab in Baarn, de labs bij de Universiteit Utrecht, Washington State University en Oregon State University in de VS, de afdeling Microbiologie van de Universiteit in Kopenhagen, Denemarken, het INRA in Dijon, Frankrijk, en het laboratorium voor Fytopathologie bij de universiteit Wageningen o.l.v. Pierre de Wit waar ik 16 jaar heb gewerkt en een mooi onderzoeks-

programma heb kunnen opbouwen. Veel dank hiervoor. Veel dank ook aan de gedreven en enthousiaste teams van AIO's, postdoc's en analisten waar ik de afgelopen jaren en nu opnieuw bij het NIOO mee gewerkt heb; zonder hen had ik hier niet gestaan. Daarnaast zijn er een aantal 'key-stone species'/ sleutelfiguren die voor mij een extra speciale plaats innemen. Allereerst zijn dat mijn ouders die me een prachtige opvoeding hebben gegeven met veel verbeelding, een prima kompas en stamvork ... en natuurlijk een goed setje microben. Uit mijn tijd op het WCS-lab in Baarn wil ik Bob Schippers en Peter Bakker hartelijk danken voor hun enthousiasme en verbeelding over de microbiële wereld ondergronds. Elke ochtend als ik het WCS lab binnenliep zag ik de onvergetelijke spreuk in de hal die luidde '*werken en feesten scheidt schone geesten*'; dat hebben we dan ook flink gedaan met een heel gezellig team. Deze spreuk zou overigens ook niet misstaan bij het NIOO. Mijn tijd in de Verenigde Staten gaf een extra dimensie aan mijn visie op onderzoek en ook mijn leven. Mijn begeleider, Dave Weller, maakte me bewust dat elk probleem een uitdaging is i.p.v. dat elke uitdaging een probleem is. Lijkt heel triviaal maar maakt een enorm verschil. Dus positief en '*just do it*'. Veel dank aan Hans van Veen en Bram Brouwer voor de ervaringen en mooie momenten die we hebben gehad in het EcoGenomics onderzoek en bij het opzetten van ons start-up bedrijfje MicroLife-Solutions in Amsterdam. Gilles van Wezel (namens het IBL) en Louise Vet (namens het NIOO) - ik ben erg blij dat jullie op mijn pad zijn gekomen. Jullie gedrevenheid, openheid en verbeelding zijn voor mij essentiële ingrediënten. Last but not least, mijn gezin (Mylène, Anna en Yannick): de grote rol die jullie spelen is het beste verwoord in de titel van mijn rede.

Mijnheer de Rector, dames en heren,
Hoog tijd voor een drankje en om microben met elkaar uit te wisselen.

Ik heb gezegd.

Literatuur

- Arumugam M. *et al.* (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473: 174-180.
- Bardgett R.D. & van der Putten W.H. (2014) Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515: 505-511.
- Bousslimani A. *et al.* (2015) Molecular cartography of the human skin surface in 3D. *Proceedings National Academy of Sciences USA* 112: E2120-E2129.
- Chapelle E. *et al.* (2015). Fungal invasion of the rhizosphere microbiome. *ISME Journal*, online. doi:10.1038/ismej.2015.82.
- Dijkgraaf R. (2015) Pakadvies student: reis licht. *NRC Handelsblad*, column 5 september.
- Donia M.S. *et al.* (2014) A systematic analysis of biosynthetic gene clusters in the human microbiome reveals a common family of antibiotics. *Cell* 158: 1402-1414.
- 12 Everard A. *et al.* (2013) Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proceedings National Academy of Sciences USA* 110: 9066-9071.
- Findley K. *et al.* (2013) Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature* 498: 367-372.
- Fisher M. *et al.* (2012) Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature* 484: 186-194.
- Franzosa E.A. *et al.* (2015) Identifying personal microbiomes using metagenomic codes. *Proceedings National Academy of Sciences USA* E2930-E2938.
- Gilbert J.A & Neufeld J.D. (2014) Life in a world without microbes. *PLOS Biology* 12: e1002020.
- Grice E.A. & Segre J.A. (2011) The skin microbiome. *Nature* 9: 244-253.
- Huttenhower C. *et al.* (2012) Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 486: 207-214.
- Ley R.E. *et al.* (2008) Evolution of mammals and their gut microbes. *Science* 320: 1647-1651.
- Mendes R *et al.* (2011) Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science* 332:1097-1100.
- Mendes R. *et al.* (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews* 37: 634-663.
- Mendes R. & Raaijmakers J. M. (2015). Cross-kingdom similarities in microbiome functions. *ISME Journal* 9: 1905-1907.
- Moree W.J. *et al.* (2012) Interkingdom metabolic transformations captured by microbial imaging mass spectrometry. *Proceedings National Academy of Sciences USA* 34: 13811-13816.
- Mueller U.G. & Sachs J.L. (2015) Engineering microbiomes to improve plant and animal health. *Trends in Microbiology* 23: 606-617.
- Neu J. & Rushing J. (2011) Cesarean versus vaginal delivery: long term infant outcomes and the hygiene hypothesis. *Clinical Perinatology* 38: 321-331.
- Oh J. *et al.* (2014) Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature* 514: 59-64.
- Panke-Buisse K. *et al.* (2015) Selection on soil microbiomes reveals reproducible impacts on plant function. *ISME Journal* 9: 980-989.
- Pérez-Jaramillo *et al.* (2015). Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant Molecular Biology*, in press. doi:10.1007/s11103-015-0337-7.
- Petersen C. & Round J.L. (2014) Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cellular Microbiology* 16: 1024-1033.
- Philippot L. *et al.* (2013). Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology* 11: 789-799.
- Pidot S.J. *et al.* (2013) Antibiotics from neglected bacterial sources. *International Journal of Medical Microbiology* 304: 14-22.

- Porras-Alfaro A. & Bayman P. (2011) Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annual Review Phytopathology* 49: 291-315.
- Raaijmakers J.M., De Bruijn I., Nybroe O. & Ongena M. (2010) Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas* species: more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiology Reviews* 34:1037-1062.
- Raaijmakers J.M. & Mazzola M. (2012) Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and pathogenic soil bacteria. *Annual Review Phytopathology* 50:403-424.
- Raaijmakers J.M. (2014) The minimal rhizosphere microbiome. pp. 411-419 In: *Principles of Plant-Microbe Interactions*, BJJ Lugtenberg (ed.), Springer.
- Stefka A.T. *et al.* (2014) Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. *Proceedings National Academy of Sciences USA* 111: 13145-13150.
- Wagg C. *et al.* (2014) Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem functionality. *Proceedings National Academy of Sciences USA* 111: 5266-5270.
- Waldor M.K. *et al.* (2015) Where next for microbiome research. *PLOS Biology* 13: e1002050
- Warriner C. *et al.* (2015) Ancient human microbiomes. *Journal of Human Evolution* 79: 125-136.
- Zamioudis C. & Pieterse C.M.J. (2011) Modulation of host immunity by beneficial microbes. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25: 139-150.
- Zeeuwen P.L.J.M. & Schalkwijk J. (2014) Microbioom en huidziekten. *Nederlands Tijdschrift voor Dermatologie en Venereologie* 24: 553-558.
- Zhang F. *et al.* (2012) Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation? *The American Journal of Gastroenterology* 107: 1755.
- Zilber-Rosenberg I. & Rosenberg E. (2008) Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. *FEMS Microbiology Reviews* 32: 723-735.

Bijlage 1: Resultaten geurproef

Inleiding en doelstelling:

Tijdens de inaugurele rede heeft het publiek een geurkaart gekregen met twee kleine flacons met daarin specifieke vluchtige stoffen die door microben geproduceerd worden. Het doel van de proef was om een beschrijving te geven van de associatie die elk van deze geuren bij het publiek oproept. Tijdens de receptie zijn deze gegevens verzameld. Het totaal aantal respondenten was 144 (66 vrouwen, 78 mannen).

Materiaal en methoden:

Flacon 1 bevatte de vluchtige stof octenol ook wel de 'schimmelalcohol' genoemd. Flacon 2 bevatte de bodembacterie *Streptomyces* die o.a. de twee vluchtige stoffen geosmin en 2-methylisoborneol produceert. Bij de verwerking van de

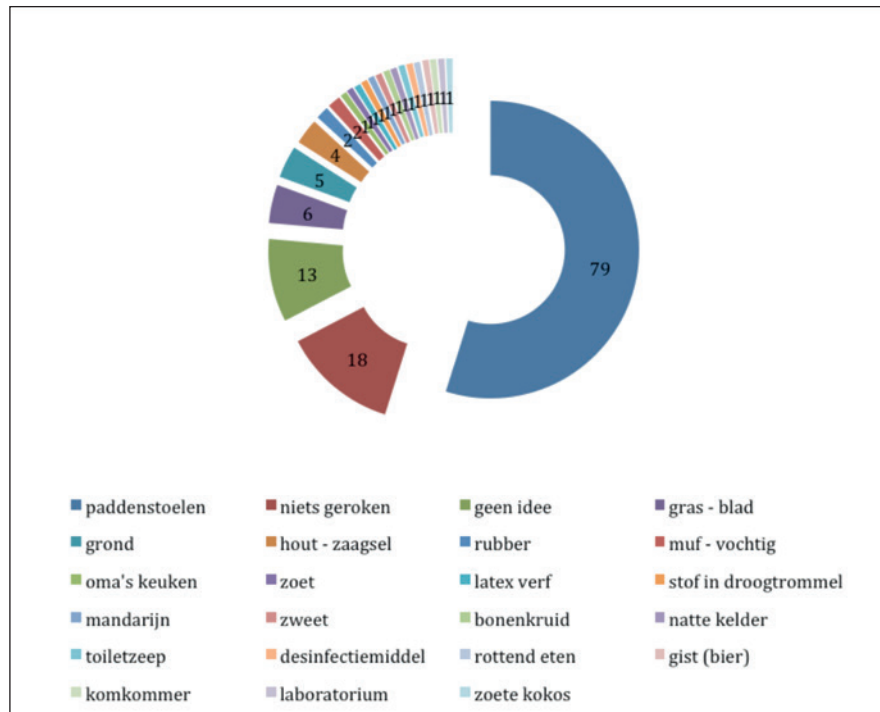
resultaten zijn de gegeven associaties van de toehoorders verzameld en in verschillende categorieën/verzamelingen ingedeeld. Bijvoorbeeld de associaties 'bosgrond', 'potgrond', 'natte grond', 'tuinaarde' en 'zand' zijn ondergebracht in de categorie 'grond'. De associaties 'paddenstoelen', 'natte paddo's', 'truffels', 'schimmels', 'shiitake', 'eekhoortjesbrood', 'oesterzwammen', 'champignons' en 'champignonsoep' zijn ondergebracht in de categorie 'paddenstoelen'.

Resultaten:

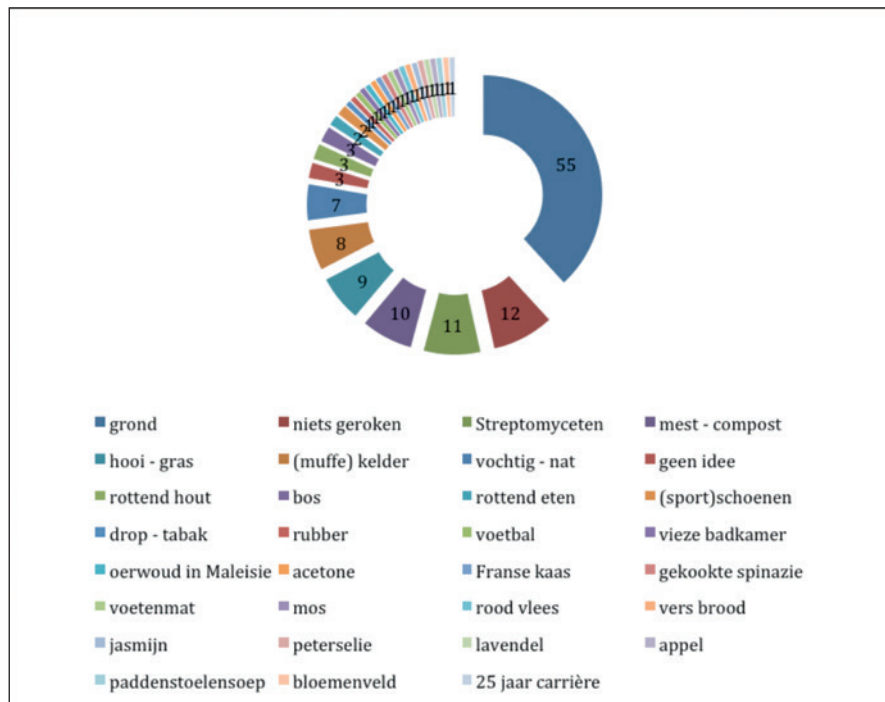
Hieronder zijn grafisch de resultaten van de twee geurproeven weergegeven. Het gaat hierbij om de associaties die de toehoorders hadden bij het ruiken van de geurstoffen in de twee flacons. De getallen in de betreffende cirkelsegmenten zijn de aantallen toehoorders met dezelfde associatie.

Flacon 1: bevat de geurstof octenol ('schimmelalcohol') (N=144):

14



Flacon 2: bevat de bodembacterie *Streptomyces* (N=144)



Conclusies:

De resultaten van de geurproef zijn divers en laten o.a. zien dat de associaties van een groot aantal toehoorders correspondeert met de geuren van elk van de twee flacons: de schimmelgeur octenol in flacon 1 werd door 79 toehoorders geassocieerd met paddenstoelen terwijl de bodembacterie *Streptomyces* in flacon 2 door 55 toehoorders geassocieerd werd met grond. Daarnaast laten de resultaten ook een groot scala aan andere associaties zien voor beide flacons en zijn diverse associaties zeer specifiek en van een enkel individu. Hoewel we in een microbiële wereld leven en de diverse associaties hiervan een

reflectie lijken te zijn, kunnen we uit deze geurproef niet concluderen dat deze associaties ook direct gekoppeld zijn aan het voorkomen van bepaalde soorten microben (schimmels, bacteriën) in/op de genoemde ‘objecten’.

Dankwoord:

Dank aan de promovendi, postdocs en analisten en in het bijzonder aan Viviane Cordovez voor de hulp bij de voorbereidingen van de geurproef. Veel dank aan Mylène van Riemsdijk en Monique Beijaert voor hun ideeën en bijdragen aan het ontwerp van de geurkaart. Dank ook aan alle toehoorders voor het enthousiasme om mee te doen aan deze geurproef.

PROF.DR. JOS M. RAAIJMAKERS



- 2014 Hoogleraar Microbiële Diversiteit, Instituut voor Biologie (IBL), Universiteit Leiden
- 2014 Hoofd Afdeling Microbiële Ecologie, Nederlands Instituut voor Ecologie, Koninklijke Nederlandse Academie voor Wetenschappen (NIOO-KNAW)
- 2009-2014 Universitair Hoofddocent Fytopathologie, Universiteit Wageningen
- 2006-2008 Gasthoogleraar Microbiologie, Universiteit Copenhagen, Denemarken
- 2001-2006 Fellow Koninklijke Nederlandse Academie voor Wetenschappen (KNAW)
- 1998-2009 Universitair Docent Fytopathologie, Universiteit Wageningen
- 1995-1998 Postdoc Microbiologie, Washington State University & USDA, USA
- 1994-1995 Gastonderzoeker, Fytopathologie, Universiteit Utrecht
- 1994 Promotie (titel proefschrift '*Microbial interactions in the rhizosphere*'), Faculteit Biologie, Universiteit Utrecht

De kleinste organismen op aarde, de microben, hebben een enorme impact op ons dagelijks bestaan vanwege hun centrale rol in diverse biologische processen. Recent onderzoek laat zien dat de invloed van microben op onze omgeving en ons functioneren nog veel groter is dan we dachten. Het doel van mijn onderzoeksprogramma is om fundamentele kennis te vergaren over de diversiteit, dynamiek en functies van microben in natuurlijke en door de mens gemaakte ecosystemen. We bestuderen de effecten van microben op de groei en gezondheid van planten en hoe microben in de grond onder onze voeten met elkaar communiceren en strijden. Op moleculair en chemisch niveau kijken we naar de rol van vluchtige stoffen en antibiotica in microbiële interacties. Mijn posities bij het NIOO-KNAW en het IBL in Leiden bieden een scala aan nieuwe mogelijkheden en kansen om grote stappen te maken in dit onderzoek en om de fundamentele kennis te vertalen naar toepassingen voor een duurzame voedselproductie en voor het herstel van natuurgebieden.



Universiteit
Leiden