

# VU Research Portal

## The Ecology of Bacterial Individuality

Remus-Emsermann, M.N.P.

2012

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Remus-Emsermann, M. N. P. (2012). *The Ecology of Bacterial Individuality*.

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## Samenvatting

In de microbiologie en microbiële ecologie wordt er over het algemeen aan bacteriën gemeten als populaties of gemeenschappen, bijvoorbeeld in een vloeibare cultuur, als een kolonie op een agarplaat of in hun natuurlijke leefomgeving. Dit heeft er toe geleid dat onze kennis van bacteriën in deze populaties en gemeenschappen veelal gebaseerd is op gemiddelden, bijvoorbeeld een gemiddelde enzymactiviteit of een gemiddelde groeisnelheid. Een groot nadeel van deze benadering is dat informatie verloren gaat over de eventuele variatie in het gedrag van individuele bacteriën binnen een populatie of gemeenschap. Er is een groeiend besef dat deze informatie belangrijk is voor een integraal inzicht in hoe bacteriële populaties en gemeenschappen tot stand komen en functioneren. Recente technische ontwikkelingen hebben het mogelijk gemaakt om onderzoek te doen aan hoe individuele bacteriën de fysisch-chemische en biologische kenmerken waarnemen van hun lokale leefomgeving. Het wordt steeds duidelijker dat op micrometerschaal variaties in deze kenmerken eerder regel dan uitzondering zijn en een belangrijke rol spelen in hoe individuele bacteriën reageren, overleven en vorm geven aan een populatie of gemeenschap.

In dit proefschrift werd gebruikt gemaakt van de fyllosfeer, oftewel het plantenbladoppervlak, als een natuurlijke, microscopisch heterogene modelleefomgeving. Binnen deze fyllosfeer werd onderzocht of en hoe het lot van individuele bacteriën verschilt van dat van de gemiddelde bacterie. Daartoe werd een nieuwe zogenaamde bacteriële bioreporter ontwikkeld die het mogelijk maakt het reproductieve succes van individuele bacteriën te kwantificeren. Deze bioreporter werd CUSPER genoemd en is gebaseerd op het uitverdunnen van groen fluorescerend eiwit (GFP) in reproducerende cellen van de bacterie *Erwinia herbicola* 299R, een natuurlijke kolonist van het bladoppervlak.

Toepassing van CUSPER op het oppervlak van een bonenblad liet duidelijke verschillen zien in hoeveel nageslacht individuele bacteriën produceerden en dus welke bijdrage zij leverden aan de totale bacteriële populatie op het blad. We leidden hieruit af dat de fyllosfeer een fragmentarische omgeving is die bacteriën verschillende mates van bewoonbaarheid en realisatie van nageslacht biedt.

Met CUSPER werd ook getest hoe oplopende bacteriële inoculatie-dichtheden invloed hebben op het reproductieve succes van individuele cellen binnen een populatie van immigranten op het bladoppervlak. Deze aanpak gaf duidelijk aan dat zelfs wanneer het aantal bacteriële immigranten groter was dan wat het blad aankon (het zogenaamde bacteriële draagvermogen van het blad), sommige cellen nog steeds in staat waren nageslacht te produceren. Dit resultaat duidt er op dat het bacteriële draagvermogen van een blad moet worden gezien als de som van vele lokale

draagvermogens. De experimentele waarnemingen konden worden nagebootst met de hulp van een mathematisch model, maar alleen indien aangenomen werd dat er drie soorten lokale leefomgeving op het blad voorkwamen, dat wil zeggen plekken met een relatief lage, medium of hoge waarschijnlijkheid dat bacteriën succesvol zijn in het produceren van nageslacht. Een bijkomende aanname was dat er veel meer plekken met lage en middelbare waarschijnlijkheid op het blad voorkwamen dan plekken met hoge waarschijnlijkheid.

Ook werd onderzocht wat het effect was van pre-kolonisatie van bladeren op het invasiesucces van secundaire immigranten. Dit is relevant in het kader van de zogenaamde biocontrole, waarbij de groei van plant-pathogene bacteriën, dat wil zeggen bacteriële ziekteverwekkers op planten, wordt voorkomen door het bladoppervlak te verzadigen met voor de plant onschuldige bacteriën waardoor het bladoppervlak minder mogelijkheden biedt voor het produceren van nageslacht door een pathogene bacterie. De studie toonde echter aan dat zelfs bij hoge dichtheden van pre-kolonisatie door zulke onschuldige bacteriën, een aantal individuele secundaire immigranten wel degelijk in staat was te reproduceren.

Een deel van de waargenomen verschillen in het reproductieve succes van bacteriën op het bladoppervlak is waarschijnlijk te wijten aan lokale verschillen in voedingsstoffen, zoals plantensuikers die vanuit het blad naar het oppervlak lekken. Om inzicht te krijgen in de variatie tussen verschillende delen van het bladoppervlak werd gekozen voor een geïntegreerde aanpak, een combinatie van bacteriële bio-reporterdetectie voor de plantsuiker fructose, en gaschromatografie gekoppeld aan vlamionisatiedetectie. Zo kon de lokale doorlaatbaarheid van cuticula van populierbladeren worden bepaald, op  $3.39 \times 10^9$  m s<sup>-1</sup> voor fructose. Microscopische analyse van deze cuticula liet echter een nonrandom distributie zien van bacteriën die aan fructose blootgesteld waren. Door de twee bevindingen te combineren kon worden aangetoond dat de doorlaatbaarheid van de populierbladcuticula op sommige plekken wel 270 keer zo hoog als de gemiddelde doorlaatbaarheid. Deze resultaten geven aan dat de verdeling van suikerlekkage op het bladoppervlak niet uniform is, wat een verklaring kan zijn voor de waargenomen verschillen in het reproductieve succes van bacteriële immigranten in de fylosfeer.

In een poging om de verschillende onderzoeksresultaten te combineren werd een ruimtelijk expliciet, 'agent-based' model voor bacteriële kolonisatie van de fylosfeer geformuleerd. Met dit model, genaamd ASiMoPh voor 'Agent-based Simulation of Microbial Phyllosphere colonisation', werd het mogelijk te simuleren hoe bacteriën het bladoppervlak koloniseren aan de hand van eenvoudige regels voor de voortplanting van bacteriële cellen en hun opname van voedingsstoffen.

Het laatste hoofdstuk in dit proefschrift geeft een samenvatting van de stappen die tot dusver genomen zijn om de genomsequentie van *Erwinia herbicola* 299R te bepalen. Met dit genoom in handen zullen genexpressiestudies en vergelijkende genomanalyses mogelijk worden en antwoord geven op de vraag wat voor genen en genfuncties nodig zijn om als bacterie te overleven in de fylosfeer.

De experimenten en analyses in dit proefschrift bieden nieuw inzicht in de manier waarop individuele cellen van elkaar kunnen verschillen in hun lot tijdens de kolonisatie van een nieuwe leefomgeving als gevolg van heterogeniteit in de micrometerschaalbeleving van die leefomgeving. De CUSPER bioreporter belooft een geschikt hulpmiddel te zijn voor toekomstige studies in het kader van bacteriële individualiteit, niet alleen in de fylosfeer, maar ook in andere bacteriële habitats. Met dit proefschrift zijn een aantal belangrijke stappen gezet in de richting van een betere waardering voor de rol van bacteriële individualiteit in de microbiële ecologie.