



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Microbiële Systeemecologie: van beschrijvend naar verklarend onderzoek

Muijzer, G.

Publication date

2013

Document Version

Final published version

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Muijzer, G. (2013). *Microbiële Systeemecologie: van beschrijvend naar verklarend onderzoek*. (Oratiereeks). Vossiuspers UvA. http://www.oratiereeks.nl/upload/pdf/PDF-7970weboratie_Muijzer_def.pdf

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, P.O. Box 19185, 1000 GD Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Microbiële systeemecologie

Microbiële systeemecologie

Van beschrijvend naar verklarend onderzoek

Rede

uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt
van hoogleraar Microbiële Systeemecologie
aan de Universiteit van Amsterdam
op vrijdag 7 juni 2013

door

Gerard Muijzer

 VOSSIUSPERS UVA

Dit is oratie 471, verschenen in de oratiereeks van de Universiteit van Amsterdam.

Opmaak: JAPES, Amsterdam
Foto auteur: Jeroen Oerlemans

© Universiteit van Amsterdam, 2013

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

Voorzover het maken van kopieën uit deze uitgave is toegestaan op grond van artikel 16B Auteurswet 1912 j° het Besluit van 20 juni 1974, St.b. 351, zoals gewijzigd bij het Besluit van 23 augustus 1985, St.b. 471 en artikel 17 Auteurswet 1912, dient men de daarvoor wettelijk verschuldigde vergoedingen te voldoen aan de Stichting Reprorecht (Postbus 882, 1180 AW Amstelveen). Voor het overnemen van gedeelte(n) uit deze uitgave in bloemlezingen, readers en andere compilatiewerken (artikel 16 Auteurswet 1912) dient men zich tot de uitgever te wenden.

*Mevrouw de Rector Magnificus,
Mijnheer de Decaan,
Geachte collega's,
Lieve familie en vrienden,
Beste toehoorder,*

Bacteriën zijn overal! Ik laat u hier vier voorbeelden zien van milieus waarin bacteriën leven. Linksboven ziet u een afvalwaterzuiveringsinstallatie, waarin verschillende bacteriën aanwezig zijn die ons afvalwater schoonmaken, zodat het zonder problemen geloosd kan worden op het oppervlaktewater. Daarnaast ziet u een tropische strand met wuivende palmen, hier vinden we bacteriën in het zeewater, in het zand en zelfs tussen de wortels van de palmboom. Linksonder ziet u de menselijke darm met heel veel bacteriën die in het algemeen goed voor ons zijn, maar soms met slechte bacteriën die ernstige problemen kunnen geven. Rechts daarvan Octopus Spring, een hete bron in Yellowstone National Park waarin complexe microbiële levensgemeenschappen, de zogenaamde 'microbiële matten', groeien.

Bacteriën komen niet alleen overal voor, maar ook nog eens in groten getale. Wat u hier ziet zijn de sterren in ons sterrenstelsel en hun aantal wordt geschat op 4×10^{11} (Cain, 2013). En u zult het niet geloven als u op een heldere avond naar de sterren kijkt, maar er komen meer bacteriën in uw darm voor (Sears, 2005) dan het aantal sterren aan de hemel. Het aantal bacteriën in de oceaan en in de ondergrond is gigantisch. Het totaal aantal bacteriecellen dat op Aarde voorkomt wordt geschat op 5×10^{30} , dat is een vijf met 30 nullen (Whitman et al., 1998).

Om deze bacteriën te bestuderen hebben we jarenlang geprobeerd om ze te isoleren als reïncultuur. Echter het is nu algemeen bekend dat we slechts minder dan 1% van de 1-100 miljoen bacteriesoorten die in de natuur voorkomen kunnen isoleren; dit is slechts het topje van de ijsberg. De meest bacteriën (99%) zijn niet geïsoleerd, en dat komt waarschijnlijk omdat we niet de juiste condities in het lab nabootsen, waaronder deze bacteriën in de natuur groeien. Of omdat sommige bacteriën van elkaar afhankelijk zijn, en zodra we ze van elkaar scheiden niet meer willen groeien (Alain and Querellou, 2009).

Hierdoor kunnen we deze microbiologische technieken dus niet gebruiken om antwoord te geven op fundamentele vragen in de microbiële ecologie, zoals

Welke bacteriën zijn aanwezig?, Wat doen die bacteriën? en Hoe verandert een microbiële levensgemeenschap over de tijd of na een verstoring? Voor het beantwoorden van deze vragen hebben we andere technieken nodig, technieken die het DNA, het erfelijk materiaal van de bacteriën ontrafelen.

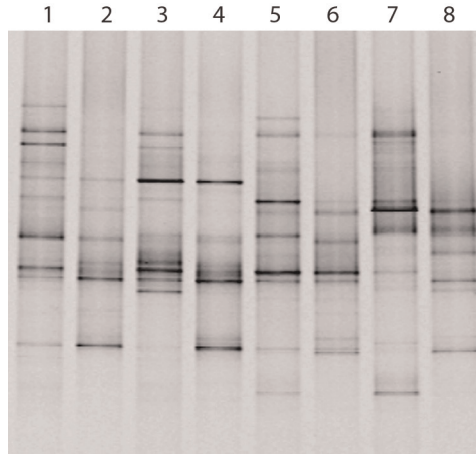
In de loop der jaren zijn er heel veel verschillende moleculaire technieken ontwikkeld om de diversiteit en activiteit van bacteriën in hun natuurlijk milieu te bestuderen (Figuur 1). De meeste richten zich op het DNA of RNA van de bacteriën. Het mag duidelijk zijn dat ik vanwege de beperkte tijd deze technieken niet allemaal in detail kan bespreken, en zal me daarom beperken tot één techniek, de DGGE.



Figuur 1. Namen van verschillende moleculaire technieken die vanaf 1986 tot heden zijn ontwikkeld en toegepast voor het bestuderen van bacteriën in hun milieu.

DGGE of denaturerende gradiënt gel elektroforese is een techniek die ik in 1993, dus 20 jaar geleden, in de microbiële ecologie heb geïntroduceerd om de diversiteit van bacteriën te bepalen (Muyzer et al., 1993). De techniek werkt als volgt: Je neemt bijvoorbeeld een bodemmonster, waaruit je het DNA van de bacteriën die in het monster voorkomen isoleert. Vervolgens vermenigvuldig je in het laboratorium een gen dat in alle bacteriën voorkomt, maar wel in elke bacteriesoort verschillende is. Je krijgt dan een mengsel van genen die afkomstig zijn van de verschillende bacteriesoorten. Dit mengsel scheidt je daarna op een gel waarin stoffen zitten die het DNA denatureren, waarbij de twee strengen van het DNA gedeeltelijk uit elkaar gaan en de fragmenten in de gel blijven steken; na kleuring van de gel wordt er een bandenpatroon of *profiel* zichtbaar. Elke band is afkomstig van een bacteriesoort in het bodemmonster, en het aantal banden zegt iets over de diversiteit. Hoe meer banden, hoe groter de diversiteit, en hoe dikker de band, hoe meer cellen er aanwezig zijn van deze

soort. U ziet op deze gel in één oogopslag de microbiële diversiteit in acht verschillende monsters (Figuur 2). Sommige patronen lijken op elkaar en zullen waarschijnlijk dezelfde bacteriesoorten bevatten. Om dit met zekerheid te kunnen zeggen moeten we de banden uitsnijden, de basevolgorde van het DNA ophelderen, en de sequenties vergelijken met die in een database.



Figuur 2. DGGE profielen van acht microbiële levensgemeenschappen.

De DGGE techniek is zo razend populair geworden dat mijn publicatie van deze techniek in het prestigieuze Amerikaanse tijdschrift *Applied and Environmental Microbiology* tot op heden de meest geciteerde publicatie is in de 60-jarige geschiedenis van dit tijdschrift.

Echter alle technieken hebben hun beperkingen, en de DGGE techniek is hierop geen uitzondering. U ziet hier een grafiek, waarin de verschillende soorten bacteriën op de X-as staan, en het aantal cellen per soort op de Y-as. Er zijn dus een paar soorten die heel talrijk voorkomen, en een heleboel soorten die in lage aantallen, minder dan 0.1%, voorkomen, en die als zeldzaam beschouwd kunnen worden. Dat betekent overigens niet dat deze zeldzame soorten niet interessant zijn, want ze kunnen heel talrijk worden als de milieumstandigheden veranderen. Eén van de beperkingen van de DGGE is dat je alleen de meest talrijke soorten kunt aantonen; de *zeldzame* soorten worden niet aangetoond.

Om alle bacteriën in een monster aan te tonen, hebben we andere technieken nodig, de zogenaamde *Next Generation Sequencing* technieken (Maclean

et al., 2009), die recentelijk ontwikkeld zijn. Met deze technieken kunnen we zowel de talrijke, als de *zeldzame* soorten aantonen (Sogin et al., 2006).

Met behulp van deze moleculaire technieken zijn we er achter gekomen dat de meest bacteriesoorten in de natuur nieuw en onbekend zijn. Ik zal dit uitleggen aan de hand van deze stamboom die gemaakt is door het vergelijken van DNA sequenties. U ziet in deze stamboom zwarte en witte takken. De zwarte takken hebben namen, zoals *Cytophagales* of *Proteobacteria* (aangegeven met de groene pijlen); terwijl de witte takken slechts een code hebben, zoals OP5 of OP11 (aangegeven met de rode pijlen). Van de zwarte takken hebben we geïsoleerde bacteriestammen, die goed bestudeerd zijn, maar van de witte takken hebben we alleen DNA sequenties. We weten niet hoe deze bacteriën eruit zien, hoe we ze moeten isoleren, of wat hun functie in het milieu is.

We hebben met behulp van deze moleculaire technieken ontzettend veel informatie vergaard over de bacteriën in de natuur. Zo weten we dat de microbiële diversiteit enorm is, en dat de meeste bacteriesoorten nog niet geïsoleerd zijn. We zijn in staat om de bacteriën te identificeren en te lokaliseren, en om hun activiteit in het milieu te bepalen, en we kunnen zelfs de metabole reacties van deze niet-geïsoleerde bacteriesoorten reconstrueren. Echter we hebben nog steeds geen antwoord op de vragen: Waarom er zoveel bacteriën zijn? Wat de rol van deze enorme diversiteit is voor het hergebruik van nutriënten? En waardoor deze diversiteit wordt veroorzaakt?

Microbiële ecologie: een oxymoron?

Het is niet dat deze vragen nooit eerder zijn gesteld, maar er is nooit onderzoek naar gedaan. Waarom dat zo is, is niet duidelijk, maar als we het vakgebied microbiële ecologie met de ecologie, de bestudering van dieren en planten, vergelijken, dan valt ons wel een aantal belangrijke verschillen op. Zo is de ecologie een coherente discipline, terwijl de microbiële ecologie een verzameling is van verschillende sub-disciplines; microbiel ecologisch onderzoek wordt gedaan in de bodemmicrobiologie, in de aquatische microbiologie, in de milieumicrobiologie, en zelfs in de medische microbiologie. Wordt de microbiële ecologie voornamelijk gedreven door het ontwikkelen en toepassen van methoden, wat noodzakelijk is, omdat we de bacteriën anders niet kunnen bestuderen. De ecologie wordt gedreven door het stellen van hypothesen. In de microbiële ecologie is het moeilijk om kwantitatieve resultaten te verkrijgen, zodat er een statistische analyse op gedaan kan worden. Terwijl het gebruik van statistiek in de ecologie de normaalste zaak van de wereld is. In de micro-

biële ecologie worden ecologische theorieën zeer beperkt toegepast (Prosser et al., 2007), met een paar uitzonderingen, zoals het onderzoek van mijn collega Jef Huisman (Huisman and Weissing, 1999). Maar bijvoorbeeld de bekende microbiële ecoloog Thomas Brock (1987) moest niets hebben van ecologische theorie en noemde het steevast *mumbo-jumbo*, wat zoiets betekent als *onzin*. Aan de andere kant negeren de ecologen grotendeels het belang van bacteriën. Vanwege het ontbreken van een hechte relatie tussen de ecologie en de microbiële ecologie noemen de Spaanse wetenschappers Carlos Pedrós-Alió en Ricardo Guerrero (1994) de microbiële ecologie ook wel een *oxymoron* of een tegenstrijdigheid in bewoordingen.

Jammer, want microbiële ecosystemen zijn uitermate geschikt voor het testen van ecologische hypothesen; ze nemen weinig ruimte in, groeien snel en hebben, om met Rudy Kousbroek (1969) te spreken een *negatieve aaibaarheidsfactor*; er zijn, vooralsnog, geen actiegroepen die zich om het welzijn van bacteriën bekommeren. We kunnen ze, indien nodig, net zolang pesten tot ze het loodje leggen.

Echter op het punt van het kwantitatieve aspect, de statistiek, gloort er hoop. Met de eerder genoemde *Next Generation Sequencing* technieken zijn we niet alleen in staat om de *zeldzame* bacteriën te bestuderen, maar we kunnen met deze technieken ook honderden monsters tegelijkertijd analyseren (Hamady et al., 2008), zodat we bijvoorbeeld met statistische zekerheid bepaalde conclusies kunnen trekken, iets wat tot voor kort onmogelijk was. Aan de hand van een voorbeeld laat ik u zien wat dit kan betekenen voor de microbiële ecologie. U ziet hier mijn *LinkedIn* netwerk; een soort *Facebook* voor professionals. Ik sta in het midden, omdat het mijn netwerk is. Mijn waarde collega's Riks Laanbroek staat rechts van mij, en Mark van Loosdrecht links onder. De grootte van de cirkel is een indicatie voor het aantal relaties, en zowel Riks als Mark hebben heel wat relaties. Boven en onder de gekleurde wolk ziet u een klein groepje grijze punten. Het groepje boven zijn mijn burens, Mark en Claudia, en Andy en Liane; het groepje onder zijn mijn vrienden, Govert en Yvonne, en Jan Poot. De beide groepjes zijn sterk geïsoleerd, omdat ze geen wetenschapper zijn, en dus geen interactie hebben met de personen in de gekleurde wolk. Maar af-en-toe, onder hele speciale omstandigheden zoals vandaag, komen ze elkaar tegen. Hebben bacteriën ook een sociaal netwerk? Komen sommige bacteriesoorten gezamenlijk voor onder bepaalde omstandigheden? En wat betekent dat dan?

Ja, bacteriën hebben ook een sociaal netwerk. Hier ziet u het netwerk van bacteriën in 151 bodemmonsters (Barberán et al., 2011). De verschillende kleuren geven de identiteit van de bacteriën aan, zoals weergegeven in de lijst. De grote van de cirkel is een indicatie voor het aantal relaties, zoals bij het *Linke-*

dIn netwerk. We zien heel veel losse relaties van bacteriesoorten, die elkaar waarschijnlijk bij toeval zijn tegengekomen (zoals mijn burens en vrienden), maar ook clusters van bacteriesoorten, die sterke relaties hebben met andere soorten, zoals de *Acidobacteria* (groene cirkels), de *Proteobacteria* (bruine cirkels), en de *Chloroflexi* (rode cirkels). Dit soort netwerken geeft ons niet alleen informatie over het belang van sommige bacteriesoorten in het milieu, maar kunnen ons ook een belangrijk inzicht geven in bijvoorbeeld een gezonde en ongezonde bacterieflora in onze darm.

Microbiële Systemecologie

De leerstoel Microbiële systemecologie richt zich op het bestuderen van microbiële levensgemeenschappen met behulp van een systeem-biologische benadering (Raes and Bork, 2008; Zengler and Palsson, 2012). Systeembioologie is de wetenschap die biologische systemen, zoals een cel, een organisme of een ecosysteem, bestudeert als een geheel, en daarbij gebruikt maakt van technieken die kijken naar het DNA, RNA, eiwitten, biomoleculen en bepaalde netwerken in de cel. De systeembioologie probeert de dynamiek van levende systemen in relatie met hun omgeving te begrijpen. Hé, is dat niet vergelijkbaar met wat de microbiële ecologie wil. Is microbiële systemecologie geen *oude wijn in nieuwe zakken*?

Nee, dat is het zeker niet, want een wezenlijk onderdeel van de systeembioologie is het samenspel tussen experimenteren en modelleren. De resultaten die verkregen zijn uit de experimenten worden gebruikt om een wiskundig model te maken, waardoor er meer inzicht wordt gekregen in het systeem, en waardoor nieuwe hypothesen worden gegenereerd. Deze nieuwe hypothesen worden daarna weer getest in nieuwe experimenten. En het testen van hypothesen is nu precies wat ontbreekt in de microbiële ecologie. De microbiële systemecologie is voor mij de schakel tussen ecologie en microbiële ecologie, waarbij beschrijvend onderzoek verandert in verklarend onderzoek.

De paradox van zwavelbacteriën in sodameertjes

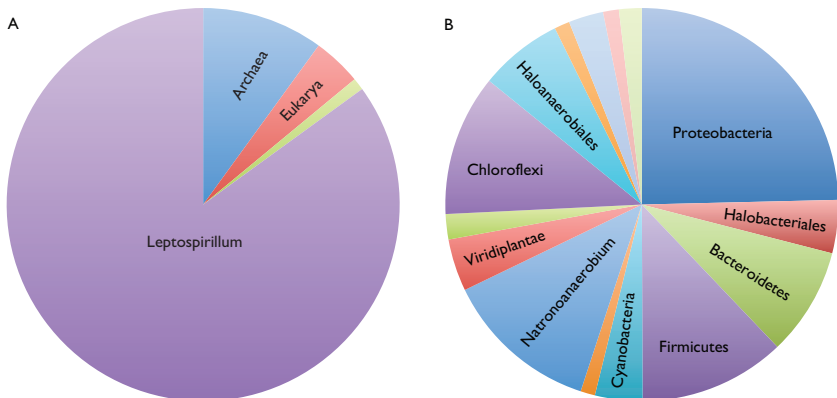
Eén van de onderwerpen waar ik de komende jaren aan zal werken zijn de zwavelbacteriën in sodameertjes (Sorokin et al., 2011). Hier ziet u een foto van één van deze meertjes, het Kulunda meer op de steppe van Siberië (Figuur 3). Deze sodameren hebben een zuurgraad (of pH) van 10, en een zoutconcentratie die kan variëren van geen zout tot verzadiging. In de winter is het ijskoud in

Siberië, en in de zomer bloedheet, waarbij de kleine meertjes opdrogen. In het voorjaar smelt de sneeuw en worden de meertjes weer gevuld met water. Voor ons mensen zijn de meertjes een extreem milieu, maar voor de bacteriën niet. Zij leven er 24 uur per dag, 365 dagen per jaar, en dat voor meer dan duizenden jaar.



Figuur 3. Sodameer op de steppe van Siberië, Rusland.

Normaal is de biodiversiteit in extreme milieus erg laag. Op deze dia ziet u een overzicht van de microbiële diversiteit in een milieu met een zuurgraad van 1, een zuurgraad waarin alle normale organismen oplossen. U ziet in het taartdiagram (Figuur 4A) dat er maar vier verschillende organismen aanwezig zijn, met als dominante bacteriesoort *Leptospirillum* (Tyson et al., 2004). Rechts ziet u een taartdiagram (Figuur 4B) met de microbiële diversiteit in een sodameer. U ziet dat er minstens 15 verschillende bacteriesoorten voorkomen, in min-of-meer evenredige aantallen. De diversiteit is vergelijkbaar met de microbiële diversiteit die we vinden in sommige niet-extreme milieus.



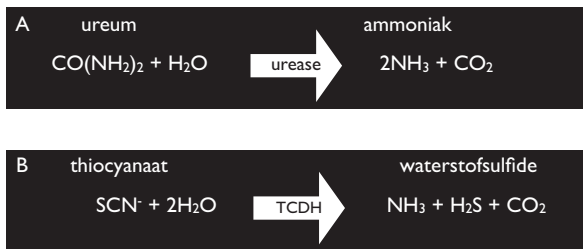
Figuur 4. Biodiversiteit in een zuur milieu met pH 1 (A) en in een sodameer met pH 10 (B).

Hoe kunnen deze bacteriën floreren in zo'n vijandig milieu? En waarom zijn er zoveel verschillende bacteriesoorten. Eén van de hypothesen die ik hierbij zal testen is dat *stress genetische diversiteit genereert*, waarbij ik de zwavelbacteriën onder wisselende omstandigheden, zoals hoge en lage zoutconcentraties, zal groeien, en daarna de veranderingen in hun erfelijk materiaal, het DNA zal bestuderen.

Een intrigerende vraag die ik in mijn onderzoek hoop te beantwoorden, is hoe deze zwavelbacteriën aan voldoende koolstof komen om te kunnen groeien. De bacteriën gebruiken, net als planten, kooldioxide of CO_2 als koolstofbron, maar de concentratie van CO_2 bij hoge pH is erg laag, zoals u in deze grafiek kunt zien. Bij hoge pH is er voornamelijk bicarbonaat of carbonaat aanwezig. De bacteriën moeten dus speciale aanpassingen hebben om voldoende koolstof op te kunnen nemen. Eén van die aanpassing is de aanwezigheid van een speciaal compartiment, het zogenaamde carboxysoom, waarin de CO_2 -fixatie plaats vindt. Een andere aanpassing is de aanwezigheid van speciale pompen in de celmembraan, die bicarbonaat naar binnen pompen. We weten dat in sommige van de zwavelbacteriën deze pompen inderdaad aanwezig zijn, maar niet in allen. Hoe krijgen deze bacteriën dan voldoende koolstof binnen om te kunnen groeien.

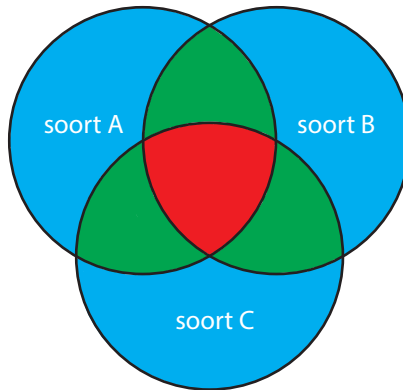
Sommige van de zwavelbacteriën hebben een enzym dat ureum kan splitsen in ammoniak (NH_3) en CO_2 (Figuur 5A). We weten dat deze bacteriën ammoniak als stikstofbron gebruiken, maar kunnen ze CO_2 als koolstofbron gebruiken, zodat ze op die manier voldoende koolstof binnen krijgen om te groeien? We weten het niet.

Andere zwavelbacteriën hebben een enzym dat thiocynaat in ammoniak, sulfide (H_2S) en CO_2 kan splitsen (Figuur 5B). Ook hier weten we dat deze bacteriën het ammoniak als stikstofbron gebruiken en het sulfide als energiebron, maar ook hier de vraag of ze het op deze wijze geproduceerde CO_2 als koolstofbron kunnen gebruiken.



Figuur 5. Enzymatische splitsing van ureum (A) en van thiocynaat (B) door sommige zwavel-oxiderende bacteriën van het geslacht *Thioalkalivibrio*.

Een andere vraag die ik in het onderzoek hoop te beantwoorden is: Waarom leven er zoveel verschillende zwavelbacteriën samen die allemaal sulfide gebruiken als energiebron, en dus met elkaar zouden moeten concurreren? Wat is hun ecologische rol (of niche)? Hiervoor zal ik de genomen van 85 stammen van zwavelbacteriën vergelijken om zo een zogenaamde *pan-genoom* te bepalen (Medini et al., 2005). U ziet hier een vergelijk tussen drie bacteriesoorten (Figuur 6). Het pan-genoom bestaat uit de *kern* genen (het rode vlak), die voorkomen in alle soorten, de *niet-essentiële* genen, die voorkomen in een paar, maar niet alle soorten (het groene vlak), en de *unieke* genen, die alleen aanwezig zijn in één enkele soort (het blauwe vlakke). Het zijn met name de *niet-essentiële* en *unieke* genen die mogelijk een rol spelen bij het samenleven van zoveel soorten.



Figuur 6. Schematisch weergave van het pan-genoom van drie bacteriesoorten A, B, en C. Het pan-genoom bestaat uit de kern genen, die in alle soorten voorkomen (rode vlak), de niet-essentiële genen, die in sommige, maar niet alle soorten voorkomen (groene vlakken), en de unieke genen, die slechts in één soort voorkomen (blauwe vlakken). Het pan-genoom is groter dan het genoom van een individuele soort. Naar: Muzzi et al., 2007.

Om de rol van de *niet-essentiële* en *unieke* genen te ontrafelen, zal ik de soorten in het laboratorium onder verschillende condities groeien en daarbij de expressie van de verschillende genen bepalen. De resultaten zullen gebruikt worden om wiskundige modellen te maken die de interacties tussen de verschillende bacteriesoorten kunnen voorspellen. Uiteindelijk hoop ik op deze wijze te begrijpen waarom de verschillende zwavelbacteriën naast elkaar kunnen bestaan en wat hun ecologische rol in het milieu is.

Het voorgestelde onderwerp is een enorme uitdaging, omdat het bestuderen van één enkele cel met behulp van een systeembioïologische benadering al een hele opgave is, laat staan het bestuderen van een complete levensgemeenschap. Maar ik ga deze uitdaging graag aan en voel me daarin gesterkt door het verkrijgen van een ERC Advanced Grant, die beschikbaar is gesteld door de Europese Unie. Met een bedrag van meer dan 2 miljoen euro kan ik me de komende 5 jaar omringen met een team van uitstekende en enthousiaste promovendi en postdocs om aan dit onderwerp te werken. De uitgebreide kennis en ervaring op het gebied van de Ecologie, die in het Instituut voor Biodiversiteit en Ecosysteem Dynamiek aanwezig is, hoop ik hierbij te kunnen benutten, zodat de ecologische theorie sterk verankerd is in het onderzoek.

Op deze manier hoop ik een alomvattend begrip te krijgen van het ecologisch succes van bacteriën die leven bij extreme omstandigheden zoals een hoge pH en hoge zoutconcentraties. Het onderzoek zal niet alleen van wetenschappelijk belang zijn, maar de resultaten kunnen ook worden gebruikt voor het duurzaam verwijderen van toxische zwavelcomponenten uit afvalwater door de bacteriën, zodat het project ook zal bijdragen aan een schoon en gezond milieu.

Dankwoord

Voordat ik afsluit met mijn rede wil ik graag een aantal mensen bedanken.

Allereerst wil ik het College van Bestuur van de Universiteit van Amsterdam, en het bestuur van de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica en in het bijzonder de decaan van de faculteit bedanken voor het in mij gestelde vertrouwen.

Verder wil ik Universitair Zwaartepunt Systeembioïologie bedanken voor het mogelijk maken van deze leerstoel.

Daarnaast ben ik dank verschuldigd aan de directeur van het Instituut voor Biodiversiteit en Ecosysteemdynamiek, Peter van Tienderen, en aan mijn directe collega Jef Huisman die zich sterk hebben gemaakt voor het oprichten van de leerstoel Microbiële Systeemecologie. Ik kijk uit naar een vruchtbare samenwerking in de komende jaren.

Ik zie wetenschappelijk onderzoek als teamwerk en zonder de inspanning van mijn studenten, analisten, promovendi en postdocs, zou wat ik heb bereikt niet mogelijk zijn geweest. Ik wil ze hiervoor dan ook hartelijk bedanken.

Ik heb op verschillende instituten, zowel in binnen- als buitenland, met heel veel collega's samengewerkt. De tijd ontbreekt me om deze mensen hier afzonderlijk te noemen, en wil ze daarom collectief bedanken voor de prettige en

uitstekende samenwerking. Ik maak een uitzondering voor drie personen. Ik wil allereerst mijn Russische collega Dimitri Sorokin bedanken met wie ik de laatste 10 jaar intensief heb samengewerkt aan de zwavelbacteriën. Ik zie Dimitri als één van de beste microbiologen van deze tijd, en met zijn *groene vingers* kan hij elke bacterie isoleren. Daarnaast wil ik Peter Westbroek en Gijs Kuenen bedanken die een belangrijke invloed hebben gehad op mijn wetenschappelijk carrière. Zij hebben mij de liefde voor de wetenschap bijgebracht. Beide zijn uitstekende wetenschappers en begenadigde sprekers die met passie over hun onderzoek vertellen. Ze waren kritisch, maar altijd opbouwend. Ik weet nog goed dat ik mijn eerste lezing moest houden voor een groot internationaal congres, en dat ik de lezing had uitgeschreven zoals vandaag. Peter vond het oplezen maar niks en verscheurde het papier. Jammer dat hij er vandaag niet bij kan zijn. Gijs was altijd kritisch bij de presentatie, met name op de hoeveelheid en leesbaarheid van de tekst. Gijs, ik hoop dat ik je vandaag niet heb teleurgesteld. Ik streef ernaar om met dezelfde passie mijn studenten te inspireren, zoals als jullie dat bij mij deden.

Ik wil graag mijn ouders, die er helaas niet meer zijn, bedanken voor hun interesse en steun; ze hebben me altijd gestimuleerd om te leren. Ik weet zeker dat ze reuze trots zouden zijn geweest nu hun zoon Professor is.

Verder ben ik dank verschuldigd aan mijn familie, schoonfamilie en vrienden die altijd met groot interesse geïnformeerd hebben naar mijn onderzoek.

Als laatste wil ik mijn gezin bedanken. Allereerst mijn kinderen Eva, Flora en Bas, die het maar niets vonden als we weer eens moesten verhuizen voor papa z'n werk. Weer een nieuwe school met nieuwe klasgenoten en nieuwe vrienden.

En *last but not least* wil ik mijn vrouw Marianne bedanken voor haar liefde en onvoorwaardelijk steun.

Ik heb gezegd.

Referenties

- Alain, K, Querellou, J. Cultivating the uncultured: limits, advances and future challenges. *Extremophiles* 13: 583-594, 2009.
- Barberán, A., Bates, S.T., Casamayor, E.O., Fierer, N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities. *ISME J.* 6: 343-351, 2011.
- Brock, T. The study of microorganisms *in situ*: progress and problems. In *Ecology of Microbial Communities*. Fletcher, M., Gray, T.R.G., Jones, J.G. (Eds.) Cambridge University Press, 1987.
- Cain, F. How many stars in the universe? Universe Today, <http://www.universetoday.com/102630/how-many-stars-are-there-in-the-universe/>.
- Hamady, M., Walker, J.J., Harris, J.K., Gold, N.J., Knight, R. Error-correcting barcoded primers for pyrosequencing hundreds of samples in multiplex. *Nature Methods* 5: 235-237, 2008.
- Huisman, J, Weissing, F.J. Biodiversity of plankton by species oscillations and chaos. *Nature* 402: 407-410, 1999.
- Kousbroek, R. *De aaibaarheidsfactor*. Uitgeverij Thomas Rap, Amsterdam, 1969.
- Macleán, D., Jones, J.D.G., Studholme, D.J. Application of 'next-generation' sequencing technologies to microbial genetics. *Nature Rev. Microbiol.* 7: 287-296.
- Medini, D., Donati, C., Tettelin, H., Massignani, V., Rappuoli. The microbial pan-genome. *Curr. Op. Genetics & Development* 15: 589-594, 2005.
- Muyzer, G., de Waal, E.D., Uitterlinden, A.G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 695-700, 1993.
- Muzzi, A., Massignani, V., Rappuoli, R. The pan-genome: towards a knowledge-based discovery of novel targets for vaccines and antibacterials. *Drug Discovery Today* 12: 429-439, 2007.
- Pedrés-Alió, C., Guerrero, R. Prokaryotology for the limnologist. In Margalef, R. (Ed.) *Limnology Now: A paradigm of Planetary problems*, Elsevier Science B.V. p. 37-57, 1994.
- Prosser, J.I., Bohannon, B.J.M., Curtis, T.P., Ellis, R.J., Firestone, M.K., Freckleton, R.P., Green, J.L., Green, L.E., Killham, K., Lennon, J.J., Osborn, A.M., Solan, M., van der Gast, C.J., Young, J.P.W. The role of ecological theory in microbial ecology. *Nature Rev. Microbiol.* 5: 384-392.
- Raes, J, Bork, P. Molecular eco-systems biology: towards an understanding of community function. *Nature Rev. Microbiol.* 6: 693-699.
- Sears, C.L. A dynamic partnership: Celebrating our gut flora. *Anaerobe* 11: 247-251, 2005.
- Sogin, M.L., Morrison, H.G., Huber, J.A., Welch, D.M., Huse, S.M., Neal, P.R., Arrieta, J.M., Herndl, G.J. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere". *PNAS* 103: 12115-12120, 2006.
- Sorokin, D.Y., Kuenen, J.G., Muyzer, G. The microbial sulfur cycle at extremely haloalkaline conditions of soda lakes. *Frontiers in Microbiology* 2, 44: 1-16, 2011.

- Tyson, G.W., Chapman, J, Hugenholtz, P., Allen, E.E., Ram, R.J., Richardson, P.M., Solovyev, V.V., Rubin, E.M., Rokhsar, D.S., Banfield, J.F. Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment. *Nature* 428: 37-43, 2004.
- Whitman, W.B., Coleman, D.C., Wiebe, W.J. Prokaryotes: The unseen majority. *PNAS* 95: 6578-6583, 1998.
- Zengler, K, Palsson, B.O. A road map for the development of community systems (CoSy) biology. *Nature Rev. Microbiol.* 10: 366-372.