

Oog voor metagenomics

Hoe komt bekende
en verborgen biodiversiteit
met DNA-technologie tot leven?



Arjen Speksnijder

Oog voor metagenomics

Hoe komt bekende
en verborgen biodiversiteit
met DNA-technologie tot leven?



Lectoraat Metagenomics,
Hogeschool Leiden
Leiden, oktober 2022

Colofon

© Lectoraat Metagenomics,
Hogeschool Leiden, oktober 2022

Hogeschool Leiden
Zernikedreef 11
2333 CK Leiden
Postbus 382, 2300 AJ Leiden
www.hsleiden.nl

Uitgever

Hogeschool Leiden

Vormgeving

UWMERK!WAARDIG, Rotterdam

Cover

Creja naar een idee van Rob Pastoor

Illustraties

Creja

Drukwerk

Quantes

Inhoud

1. Context lectoraat Metagenomics	7
De partners	8
2. Historisch perspectief	11
3. Hier en nu	15
Metabarcoding	15
Shotgun metagenomics	16
Multi-omics	16
Specifieke diagnostiek	17
Bio-informatica	17
4. Toepassing van metagenomics technologie in de praktijk	20
Genetische monitoring via eDNA in aquatische systemen	20
Verborgen biodiversiteit in de bodem	21
Een geschikte bodem voor de tulp	23
Bodemherstel en circulaire landbouw	24
Verborgen biodiversiteit in de stad	25
Genetische biodiversiteit in de lucht	26
Biodiversiteit en longgezondheid	26
Plantgezondheid in kassen	27
Onderzoek aan de neushoorn	28
5. Verbinding met het onderwijs	30
6. Persoonlijke motivatie	31
7. Dankwoord	34
8. Curriculum vitae	35
9. Referenties	36



Figuur 1. Ecosysteemdiensten

1. Context lectoraat Metagenomics

Geacht College van Bestuur Hogeschool Leiden, directie Naturalis Biodiversity Center, directeur faculteit Science & Technology Hogeschool Leiden, directeur Leiden Centre for Applied Bioscience.

Ik dank u voor de gelegenheid om vandaag mijn lectorale rede uit te spreken in het nationale instituut van de biodiversiteit. Welkom iedereen en wat een mooie setting om de aandacht te vestigen op onze leefomgeving. En dat is hard nodig zal ik u zeggen. Want het gaat niet goed met de biodiversiteit. In Nederland zijn naar schatting nog maar 15 procent van de oorspronkelijke soorten aanwezig. Als we nog een keer in dezelfde mate een kaalslag doormaken houden we slechts 2 procent over. Onze biodiversiteit staat zwaar onder druk door de effecten van verstedelijking, klimaatverandering, vervuiling en overexploitatie¹. Net zoals de mens gedijen andere soorten ook beter in een prettige leefomgeving. De manier waarop we met ieders natuurlijke omgeving omgaan leidt tot onmeetbare economische schade en brengt onze voedselveiligheid, gezondheid en kwaliteit van leven in gevaar. Mijn dochter van zes kwam met de term 'natuurbelediging' toen ik vertelde dat servetjes van bomen gemaakt zijn.

We willen naar een duurzame inzet van de natuurlijke leefomgeving door de mens voor onze zogenaamde 'ecosysteemdiensten'. Denk hierbij aan duurzame productie van voedsel, water en energie. We gebruiken ons natuurlijk kapitaal ook voor zuivering, bescherming en bestuiving. We recreëren in onze natuur, waarden cultuur en natuurhistorisch landschap en bedrijven wetenschap met biodiversiteit. Het is daarom van fundamenteel belang om met objectieve methodes de biodiversiteit te volgen en soorten te herkennen in verschillende omgevingen.

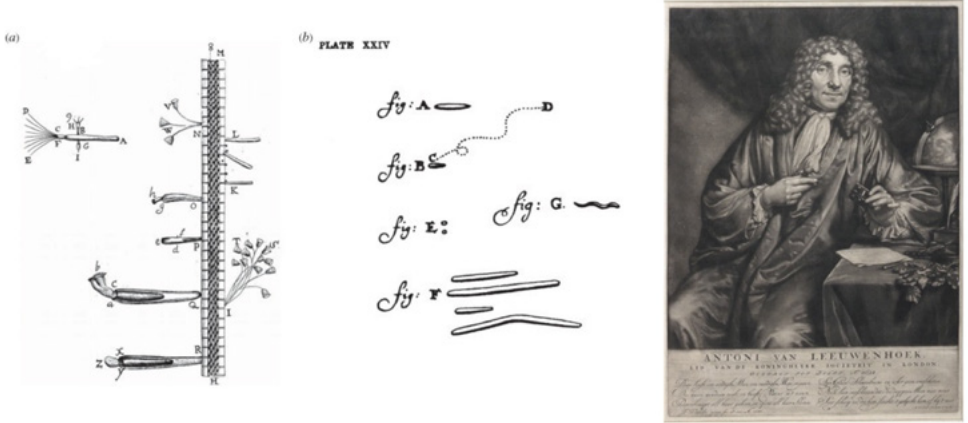
Op 26 april 2019 heeft het kabinet een brief aan de Tweede Kamer gezonden over het Missiegedreven Topsectoren- en Innovatiebeleid². Hiermee is beleid ingezet om het effect van onderzoek en innovatie te vergroten en te versnellen. Binnen het thema 'Landbouw, Water en Voedsel' is er dringend behoefte om biodiversiteit op betrouwbare wijze te monitoren en te herstellen. DNA technieken bieden hiervoor een belangrijk perspectief. In tegenstelling tot traditionele werkwijzen kunnen we via DNA sneller en met minder moeite grote hoeveelheden data genereren over de biodiversiteit. Dit vormt de basis voor een nieuw tijdperk van systematisch ecologisch onderzoek, en het levert cruciale input voor de samenleving om ecosystemen te begrijpen en te duurzaam te benutten.

Hogeschool Leiden, Naturalis en BaseClear zetten daarom in op een gezamenlijk lectoraat met de sleuteltechnologie metagenomics. Dit is een verzamelnaam voor technieken waarbij het DNA wordt gebruikt om complexe leefsysteemen te analyseren. Met deze sleuteltechnologie kunnen we bepalen welke (micro-)organismen aanwezig zijn in een ecosysteem en wat voor functie ze innemen. Waar genomics zich richt op het DNA van individuen, stelt metagenomics ons in staat om het collectief DNA (metagenomen) van biologisch complexe omgevingsmonsters te bestuderen. Naast planten en macrofauna die hun DNA sporen achterlaten, kunnen we DNA van microscopische organismen zoals nematoden, schimmels en bacteriën aantonen. Hiermee kunnen we ook de nu 'onzichtbare' biodiversiteit meten. Door naar het collectief te kijken is belangrijke informatie te herleiden over interacties tussen soorten en hun leefomgeving. Het lectoraat Metagenomics speelt een belangrijke rol in de verbinding tussen kennisinstellingen en sluit aan bij thema's rondom 'Voedsel en Groen' en 'Duurzaam bodembeheer'³. We volgen hierbij de nationale kennisagenda Nature4Life die is opgesteld door verschillende kennispartijen waaronder Naturalis⁴. Wij vinden aansluiting bij onderzoeksvragen rondom onze leefomgeving en de rol van biodiversiteit voor onze gezondheid.

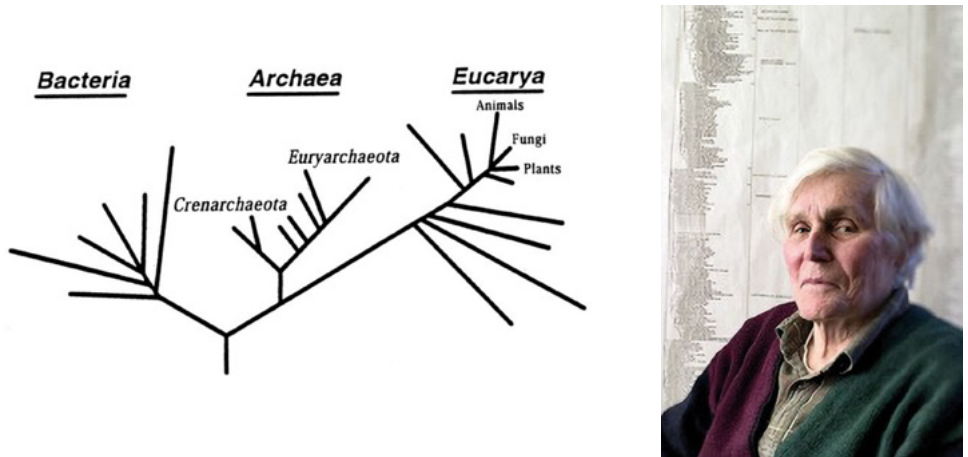
De partners

Al sinds 2016 wordt bij Hogeschool Leiden gewerkt aan de inzet van DNA-technologie voor het in kaart brengen van de biodiversiteit. Dit vond plaats vanuit het Centre of Expertise Generade in samenwerking met een groot aantal partijen waaronder ook huidige partners Naturalis en BaseClear. Sinds september 2017 zijn deze activiteiten ingebed in het Leiden Centre for Applied Bioscience (LCAB), het kenniscentrum van de faculteit Science & Technology. Het lectoraat Metagenomics bestaat inmiddels twee jaar en heeft binnen het LCAB een belangrijke brugfunctie naar de andere onderzoeksgroepen. Het versterken van het effect van het onderzoek op het onderwijs en de praktijk is een belangrijke doelstelling. Voor Naturalis is het lectoraat belangrijk voor de ontwikkeling en toepassing van nieuwe inventarisatie- en onderzoeksmethoden gericht op soortherkenning. Tevens bezit Naturalis een schat aan biodiversiteit om te ontsluiten. BaseClear is een kennisbedrijf dat diensten aanbiedt voor DNA onderzoek. Er wordt samengewerkt in projecten waarbij de focus ligt op het uittesten van nieuwe technologieën en toepassingen. Voor BaseClear kan dit mogelijk resulteren in nieuwe producten en diensten.

NWO de Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek heeft een L.INT (lectorposities bij instituten)⁵ subsidie toegekend om het lectoraat vorm te geven. De L.INT regeling voorziet in de kennislink tussen academische instituten, hogescholen en praktijk. Er is al een goede verbinding tussen fundamenteel en het praktijkgericht onderzoek in de samenwerking van Hogeschool Leiden met Naturalis, diverse universiteiten en het bedrijfsleven. De L.INT regeling biedt de mogelijkheid om die verbinding verder te versterken.



Figuur 2. Tekeningen van verborgen biodiversiteit door Antoni van Leeuwenhoek. Lane, N. (2015). The unseen world: reflections on Leeuwenhoek (1677) 'Concerning little animals.' *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1666), 20140344. <https://doi.org/10.1098/RSTB.2014.0344>. Portrait of Leeuwenhoek by Jan Verkolje, 1686. Copyright © The Royal Society



Figuur 3. Fylogenetisch plaatsing van archaea met DNA data. Interpreting the universal phylogenetic tree, Carl R. Woese PNAS, 2000, <https://doi.org/10.1073/pnas.97.15.83>. Carl Woese. Photo courtesy IGB

2. Historisch perspectief: :(Verborgen) Biodiversiteit en (e)DNA

Onze planeet herbergt een enorme biodiversiteit die we maar ten dele in kaart hebben gebracht en zelfs voor een nog kleiner deel begrijpen. Naar schatting zijn er 20 miljoen meercellige organismen zoals planten en dieren. Maar in de microscopische wereld huizen meer dan 100 miljoen soorten micro-organismen. Omdat deze micro-organismen niet met het blote oog zijn waar te nemen, worden ze de 'verborgen biodiversiteit' genoemd.

De ontdekker van deze verborgen biodiversiteit is de Nederlandse lakenhandelaar Antoni van Leeuwenhoek. Met zijn unieke lenstechnologie vanuit de lakenindustrie gaf hij inzicht in de wereld van micro-organismen. In 1857 ontwikkelde Robert Koch pas de eerste kweektechnieken en kreeg daarmee toegang tot de chemische functies van micro-organismen. Toch bleef toen nog een groot deel van de microscopische wereld ontoegankelijk door het ontbreken van de juiste technieken.

De ontdekking van DNA door Watson, Crick en Franklin in 1953 bood potentieel de doorbraak om met DNA-technologie verder te kunnen kijken dan tot dan toe met microscopische en chemische technieken mogelijk was. Het heeft toen nog een paar decennia gekost om dit in complexe biologische systemen toe te passen. Een grote doorbraak in het DNA gebaseerd biodiversiteitsonderzoek kwam door de introductie van een toegankelijke technologie voor de bepaling van DNA sequenties door Frederick Sanger in 1977. Deze techniek is gebaseerd op chromatografie en DNA-synthese en was 40 jaar lang de standaard voor DNA-sequentie bepalingen.

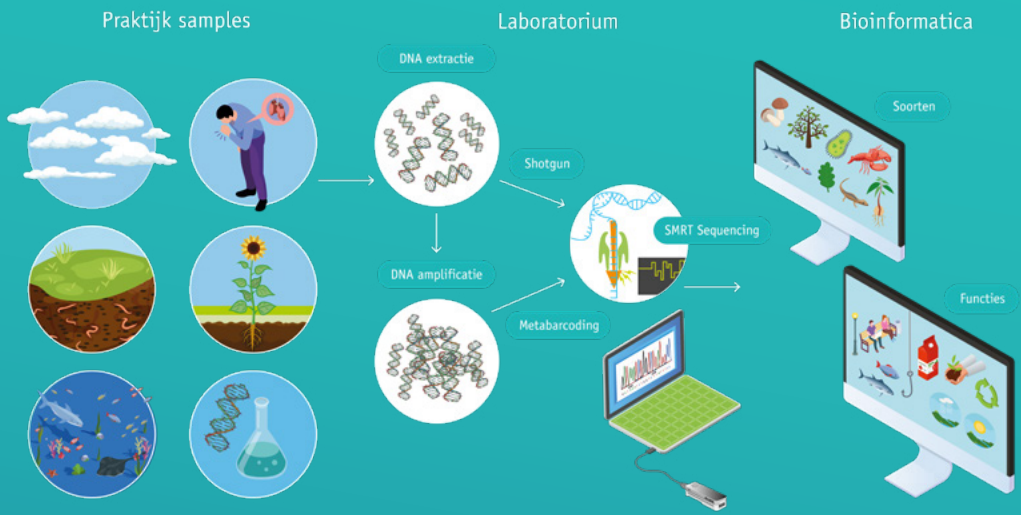
Technologie en nieuwe inzichten gaan hand in hand en om de oorsprong van metagenomics verder te duiden komen we uit bij Carl Woese. Hij heeft in 1977 ons beeld van het leven op aarde fundamenteel veranderd door op DNA gebaseerde verwantschappen te introduceren. Hij gebruikte daarbij het ribosomaal-RNA gen als generieke marker. Dit resulteerde in de erkenning van het nieuwe domein en oerlevensvorm van de archaea. Daarmee werd ook de basis gelegd voor DNA-studies van complexe biologische systemen. Hij bevestigde de theorie van Lynn Margulis dat wij als mens zijn voortgekomen uit de samensmelting van een oer archaea met een bacterie⁶. We zien dit terug in onze cellen waar bacteriën voortleven als energiefabriekjes, de zogenaamde mitochondriën.

In 1983 introduceerde Kary Mullis de PCR-DNA amplificatie technologie en kreeg hiervoor de Nobelprijs in 1993. In combinatie met Sanger sequencing zorgde dit voor een volgende groeisput in de ontrafeling van biodiversiteit. DNA databases met profielen van bacteriën en schimmelsoorten werden snel opgebouwd. De diversiteit aan genen uit een natuurlijke leefomgeving werd via klonering opgevist, al dan niet met DNA amplificatie⁷. Dit was nog steeds bewerkelijk vanwege de afhankelijkheid van Sanger technologie. In 1993 vond er verdere innovatie plaats en werd een methode geadopteerd uit de medische sector om gemengde DNA sequenties van een ecosysteem uit elkaar te trekken⁸. Deze techniek (DGGE) genereert bandenpatronen waar iedere band een soort vertegenwoordigt. Het stelt ons opeens in staat om grotere hoeveelheden samples met complexe biodiversiteit met elkaar te vergelijken. Daarmee werd de weg geopend naar genetische monitoring met een tal van praktische toepassingen.



Figuur 4. Oude en nieuwe DNA monitoringstechnologie

Ook de volgende sprong op het gebied van metagenomics is voor een belangrijk deel technologie gedreven. In 1993 werd het principe van pyrosequencing geïntroduceerd. DNA sequenties kunnen vanaf een drager in veelvoud afgelezen worden via lichtemissie. Pas in 2005 werd pyrosequencing technologie gecombineerd met chiptechnologie door de firma 454 Life Sciences. Denk aan een chip in een digitale camera waarin miljoenen lichtsensoren DNA-data genereren. Deze sequentietechnologie gaf meer dan 10.000x meer output. Dit zorgde voor een nieuw tijdperk in genomisch onderzoek door het betaalbaar maken van DNA sequencing en er werd veel meer DNA data gegenereerd. We noemen deze tweede generatie 'massive parallel DNA sequencing' technologie ook wel Next Generation Sequencing of NGS.



Figuur 5. Metabarcoding en shotgun metagenomics

3. Hier en nu

De hedendaagse gangbare NGS technologie van de firma Illumina is beperkt in de lengte van sequenties die gegenereerd kan worden. Korte fragmenten betekenen minder informatie per soort, of een moeilijkere puzzel om in elkaar te zetten. Daarom wordt er gestreefd naar sequentie-analyses van lange stukken DNA met hoge betrouwbaarheid. Een volgende derde generatie van technologie is hiervoor ingezet met Single Molecule Real Time (SMRT) sequentietechnologie⁹. De firma PacBio leidt deze SMRT technologie vanwege het lage foutpercentage in de lange sequenties. Een voorwaarde is wel een gespecialiseerde faciliteit met hoge investeringen. De opkomende firma Oxford Nanopore Technologies (ONT) levert een 'lab on a chip'-platform en is veel toegankelijker omdat het weinig investering behoeft, klein en draagbaar is. Het werkt met een ingenieus membraan waarin stroompjes gemeten worden. DNA wordt door poriën getrokken en met de veranderingen van stroompjes wordt het DNA afgelezen. De betrouwbaarheid is lager dan bij PacBio maar wordt snel beter. ONT sequencing kan worden uitgevoerd op een laptop in elke faciliteit met basale lab voorzieningen. Het levert binnen 24 uur resultaten en is schaalbaar.

Metabarcoding

Gevoelige genetische monitoring is vooral gebaseerd op het principe van PCR-vermeerdering van een stukje DNA wat uniek is voor een soort. Dit unieke stukje noemen we een barcode. Denk aan supermarktproducten met een eigen unieke barcode. Deze barcodes kunnen we uit een ecosysteem opvissen en vergelijken met bekende barcodes die zijn opgenomen in een DNA databank. Het is vergelijkbaar met forensisch onderzoek waar het DNA van sporen wordt vergeleken met DNA profielen van personen. Deze analyse van een complexe biologische samenstelling wordt metabarcoding genoemd en is op nader te noemen onderzoeksgebieden een standaard geworden. Een metabarcoding gebaseerde methode kan gevoelig detecteren maar heeft ook een aantal beperkingen. De PCR-vermeerdering is niet uniform voor elke barcode geeft een scheef beeld bij aantalsverhoudingen. Binnen het lectoraat zoeken we naar een combinatie van laboratorium en bio-informatica oplossingen voor dit probleem. Metabarcoding vindt in de praktijk vooral plaats met een Illumina sequentie-platform. De korte fragmenten geven problemen bij de taxonomische resolutie van een aantal soortsgroepen. Metabarcoding van langere barcodes met SMRT-technologie⁹ biedt mogelijkheden voor betere identificaties.

Shotgun metagenomics

De hoge output van Illumina NGS technologie en SMRT-technologie brengt een volgende stap in de ontwikkeling van genetische monitoring, namelijk analyse van totaal DNA. Dit wordt ook wel shotgun metagenomics genoemd^{10,11}.

We kunnen totaal DNA van alle soorten (metagenomen) van biologisch complexe omgevingsmonsters met meer precisie bestuderen. Shotgun metagenomics is minder gevoelig voor detectie van soorten die in lage hoeveelheden aanwezig zijn. Maar er is een betere weergave van aantallen omdat er geen onevenredige PCR-vermeerdering plaatsvindt. De juiste verhoudingen zijn belangrijk om ecosystemen beter te begrijpen. Shotgun data geven naast een hoge resolutie identificatie ook inzicht in de eigenschappen van organismen¹². We kunnen zelfs virussen en fagen vinden in de genomen van bacteriën. Deze fagen spelen vermoedelijk een belangrijke rol in de regulatie van microbiële ecosystemen¹³.

Binnen het lectoraat wordt metabarcoding en shotgun metagenomics technologie ontwikkeld voor toepassing in de praktijk.

Uiteindelijk is metagenomics technologie in belangrijke mate afhankelijk van de referentiedatabases die door de wetenschappelijke gemeenschap worden opgebouwd. DNA-sequenties die we niet kunnen terugvinden in deze databases geven effectief inzicht in de incompleetheid en onbeschreven genetische biodiversiteit. Afhankelijk van het soort omgevingsmonster kan dit oplopen tot wel 95 procent onbekend DNA. Internationaal zijn onderzoeksgroepen met broodnodige taxonomisch specialisten bezig met de opbouw van referentiedatabases. Door Naturalis en binnen het NWO-programma ARISE (Authorative and Rapid Identification System for Essential biodiversity information) worden DNA databases ontwikkeld voor de Nederlandse biodiversiteit. Databases zijn niet altijd aan elkaar gekoppeld, en dat is wel belangrijk in de huidige situatie waarin we biodiversiteit verliezen. We volgen deze ontwikkelingen op de voet en zorgen dat de bio-informatica aansluit.

Multi-omics benadering

Naast DNA (metagenomics) analyses kan een ecosysteem ook benaderd worden via RNA- (transcriptomics), eiwit- (proteomics) en metaboliet- (metabolomics) analyses om activiteiten in kaart te brengen. Binnen het LCAB zijn we gezegend met het lectoraat Metabolomics onder leiding van Peter Lindenburg. Eén van de onderzoekslijnen

binnen dit lectoraat is ‘Environmental Metabolomics’: de analyse van kleine chemische verbindingen in een ecosysteem. Met behulp van massaspectrometrie kunnen chemische vingerafdrukken of metaprofielen van ecosystemen worden bepaald. Veranderingen of verstoringen in de profielen kunnen opgemerkt worden. Metabolomics kan potentieel toegepast worden als een vroeg waarschuwingssysteem voorafgaand aan taxonomische verschuivingen¹⁴. Denk aan de gevolgen van een verstoring in een aquarium. Deze wordt voorafgegaan door signaal moleculen en metabolieten. Mogelijk kan er ingegrepen worden voordat soorten uitsterven. Zo werkt het ook in natuurlijke ecosystemen op grote schaal. De kracht van de combinatie van beide omics meetsystemen¹⁵ zal verder uitgewerkt worden met de vakgroep Bio-informatica om indicatieve markers af te leiden op DNA en op chemisch niveau. We ontwikkelen hiermee de spreekwoordelijke kanarie in de kolenmijn binnen verschillende praktijkprojecten.

Specifieke diagnostiek

Met het lectoraat blijven we aansluiten bij de ontwikkeling van specifieke DNA gebaseerde detectietechnieken. Hiermee kunnen we een ziekte, plaag of indicator in een ecosysteem volgen. Vooral in de bodem levert dit een uitdaging omdat remmende stoffen daarin een zwakker en daardoor foutief signaal veroorzaken. Voor kwantitatieve bepalingen van bodemziektes zal met het Centrum voor Milieuwetenschappen (CML) van Universiteit Leiden een innovatieve digitale PCR worden opgezet, waar we deze problemen mee omzeilen. Met Wageningen University and Research (WUR) ontwikkelen we kennis rondom ‘Loop Mediated Isothermal Amplification’ (LAMP). Dit is een specifieke isotherme DNA amplificatie methode die snel en gevoelig en met minimale middelen uitgevoerd kan worden.

Bio-informatica

Nieuwe sequentietechnieken leveren gigantische hoeveelheden data die meer analysevermogen verlangen. Het lectoraat Metagenomics besteedt samen met de vakgroep Bio-informatica veel aandacht aan de ontwikkeling van gebruiksvriendelijke software voor sequentie-analyse, identificaties, metadata-integratie en grafische interfaces.

Een belangrijke focus van het lectoraat en het LCAB is het gebruik van de ONT technologie. Innovatie in ONT workflows ligt vooral in het gebruik van alternatieve identificatie algoritmen om grote datasets met grote referentie databases te kunnen vergelijken. Randon metabarcoding met Illumina is dit al voor een belangrijk deel ontwikkeld.

Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) gebaseerde identificatiemethoden zijn al bij Naturalis beschikbaar met een gebruiksvriendelijke grafische interface en worden aangeboden via Cloud computing aan onderwijs en onderzoek. Het nadeel is echter dat BLAST veel computerkracht nodig heeft.

Op het LCAB wordt binnen de vakgroep Bio-informatica geleid door Floyd Wittink hard gewerkt aan de volgende generatie bio-informatica voor metagenoom analyses. Alternatieve identificatiemethoden worden geëvalueerd op basis van k-mer algoritmen. Deze benadering brengt de rekentijd terug van uren naar minuten.

Met DNA identificaties kunnen we de eigenschappen van soorten opzoeken in databases en bepalen wat voor functie ze innemen in een ecosysteem. Shotgun data maken het mogelijk direct eigenschappen af te leiden door het vertalen van het DNA naar eiwit sequenties en metabole functies. De functionele beschrijving van een ecosysteem blijft wel sterk afhankelijk van de volledigheid van databases.

Voor een select gezelschap zal dit bio-informatica-betoog klinken als muziek in de oren. Voor het merendeel van het publiek is het denk ik een kakafonie. Voor mij de uitdaging om hier een symfonie voor de praktijk van te maken.



Figuur 6. Koraalrif Sint-Eustatius

4. Toepassing van metagenomics technologie in de praktijk

Het lectoraat Metagenomics zet zich in voor een gezonde relatie van de biodiversiteit met mens, dier en plant. In het algemeen werken we daarbij aan toepassingen voor het analyseren van de biodiversiteit in water, bodem en lucht. Maar ook voor het analyseren van het microbioom van plant, mens en dier. Microbiologen waren voor lange tijd aan de leiding, met DNA technieken om met metagenomics biodiversiteit in kaart te brengen. In het begin van dit millennium volgden zoölogen en botanici door met dezelfde strategie en universele identificatie-markers een database op te bouwen¹⁶. We zijn nu in een tijdperk beland waar steeds meer het raakvlak tussen microbiologie en meercellige organismen wordt opgezocht. Met dit lectoraat zoek ik de verbinding op tussen de werelden van microbiologen, zoölogen en botanici met die van ecologen en technologen. Hieronder volgen enkele voorbeelden van praktijkgerichte onderzoekslijnen binnen het lectoraat Metagenomics.

Genetische monitoring via eDNA in aquatische systemen

Verskillende aquatische monitoringsprogramma's maken al gebruik van metabarcoding technologie waarmee we, naast de microbiologie, ook de samenstelling van macrofauna en vissen in kaart kunnen brengen. Dit doen we door analyse van aanwezige DNA sporen van bijvoorbeeld poep, huidcellen, haar, spermatoïden en urine. Dit noemen we environmental DNA of eDNA^{17,18}.

Aan de hand van de macrofauna-samenstelling evalueren we de gezondheid van zoetwater en mariene ecosystemen en de menselijke impact daarop. Deze macrofauna metingen vinden volgens de 'Europese Kaderrichtlijn Water' plaats met arbeidsintensieve bemonstering van oppervlaktewateren. Vervolgens voor de morfologische identificatie van organismen is er specifieke kennis nodig. In Nederland is hier ongeveer 90 miljoen euro mee gemoeid. Kostenefficiënte genetische eDNA monitoring biedt een belangrijk perspectief voor een snelle doorlooptijd van metingen en robuustheid van identificaties^{19,20}.

Zo zijn er meer mogelijkheden voor de monitoring en het beheer van kwetsbare ecosystemen, zoals onze Nederlandse koraalriffen in de Cariben. Vanuit het LCAB is onderzoek uitgevoerd naar rifherstel en de relatie tussen het koraal microbioom en resistentie tegen hittestress via een KIEM-hbo subsidie. Ook zijn vanuit Naturalis expedities geweest naar Saba diepzee met het Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee (NIOZ) en naar Sint Eustatius voor het in kaart brengen van de

biodiversiteit onder andere op basis van eDNA. Het lectoraat kan bijdragen aan het behoud en herstel van koraalriffen door lokale kennisoverdracht en bewustwording. Genetische monitoring geeft extra handvaten om lokaal kwetsbare ecosystemen in kaart te brengen, te volgen en te beheren. Technische uitdagingen zijn de vermindering van doorlooptijd en analysekosten.

Vanuit het lectoraat is het doel om snelle genetische monitoring te implementeren via draagbare (pop-up) labtechnologie voor gebruik op locatie of in een eenvoudige laboratoriumomgeving. Het pop-up laboratorium wordt ontwikkeld voor on-site Nanopore sequencing voor demonstratiedoeleinden en kennisoverdracht. We willen hiermee de drempel verlagen om deze technologie in praktijk te implementeren.



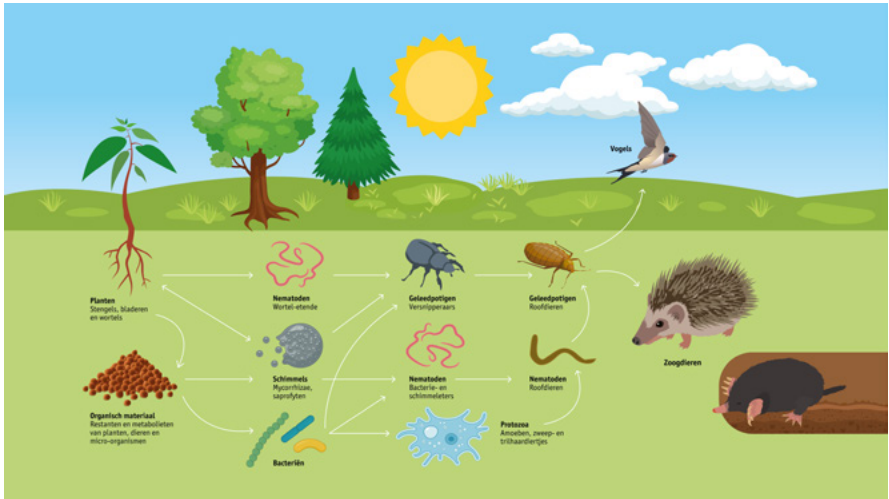
Figuur 7. Pop-up laboratorium

Verborgen biodiversiteit in de bodem

Onze bodem biedt tal van ecosystemediensten. Of dit nu landbouw betreft, beheer van natuurgebieden of groenvoorziening in een stedelijke omgeving. Maar hoe ziet voor verschillende doeleinden een gezonde en functionele bodem eruit?

Belangrijke dienstverleners in de bodem zijn bacteriën en schimmels. Per gram grond kunnen we meer dan vijfduizend bacteriesoorten en meer dan vijfhonderd schimmelsoorten aantreffen. Deze zetten organische stof om in voedingsstoffen voor plant en dier. Ook hebben bacteriën en schimmels via verschillende mechanismen invloed op de

plantgezondheid en vitaliteit²¹. Daarnaast hebben ongewervelden, mijten, springstaarten, protisten en wormen een belangrijke rol in de bodemstructuur en de nutriëntenstromen. Een andere belangrijke groep organismen in de bodem zijn nematoden. Aantallen van vijfduizend individuen per 100 gram grond, verdeeld over 30-60 soorten per locatie, zijn geen uitzondering²². Binnen het fyllum zijn bacterie-etters, schimmeleters, carnivoren, plantenparasieten en dierparasieten vertegenwoordigd. Nematoden zijn daarmee een belangrijk knooppunt in het voedselweb van de bodem²³. Traditionele monitoring van nematoden is arbeidsintensief en dus kostbaar. En door het schaars worden van experts die nematoden kunnen identificeren, is er een toenemende behoefte om dit met genetische monitoring te doen. In verschillende projecten werken we aan de uitbreiding van de nematoden DNA referentiedatabase en monitoring met metabarcoding samen met het kennisbedrijf LIOS en Naturalis.



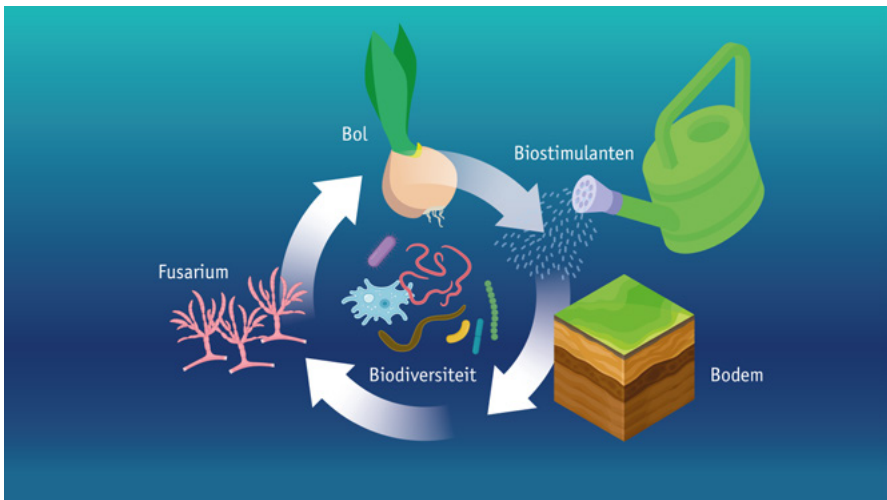
Figuur 8. Bodemvoedselweb

Binnen het lectoraat wordt met metagenomics meettechnologie ondergrondse biodiversiteit blootgelegd en kan de verbinding met bovengrondse biodiversiteit gemaakt worden. We werken aan innovatieve voorbewerking en extractiemethoden en laten deze aansluiten op de nieuwste SMRT-technologie en bio-informatica analyses. Belangrijk is het perspectief om naast identificatie van soorten ook biologische functionaliteiten in kaart te brengen. Functionaliteiten die we kunnen afleiden zijn indicatief voor nutriëntencycli (stikstof, koolstof, fosfor, zwavel), bio-actieve stoffen (signaalmoleculen, antibiotica)

en afbraak van afvalstoffen. Dit geeft nieuw inzicht in bodemecosystemen en in hoeverre deze worden aangetast door menselijk handelen. Daarna luidt de vraag of we aangetaste systemen kunnen herstellen. Hieronder volgen enkele voorbeelden van praktijkgerichte bodemprojecten binnen het lectoraat Metagenomics.

Een geschikte bodem voor de tulp

Wij werken met tulpentelers samen aan het terugdringen van chemische gewasbescherming. Omdat de bollenteelt in mindere mate afhankelijk is van bovengrondse biodiversiteit zoals bestuivers, is de bijdrage van de ondergrondse biodiversiteit nog belangrijker voor de vitaliteit van het bolgewas. Een bodem in disbalans geeft een opportunistische schimmel zoals *Fusarium* de kans om te floreren²⁴. Deze schimmel veroorzaakt ‘het zuur in de bol’ en is een groot probleem voor de bollensector. Met metagenomics kunnen we ziekte-onderdrukkende eigenschappen en andere functionaliteiten van de bodem karakteriseren om teeltsystemen te evalueren²⁵. Biostimulanten kunnen daarbij een belangrijk onderdeel worden van alternatieve teeltsystemen voor *Fusarium*-bestrijding. De ervaringen die hiermee zijn opgedaan bij de biologische landbouw worden steeds meer toegepast in de reguliere land- en tuinbouw. Biostimulanten kunnen bestaan uit microbiële en/of non-microbiële componenten die allen een verschillende werking hebben. Over het lange termijn-effect op de bodem en het bodemleven van biostimulanten is nog weinig bekend.



Figuur 9. Biostimulanten en ziektevering

In het RAAK-mkb project 'Biostimulanten van bol tot in de bodem uitgezocht', wordt een kwantitatieve digitale PCR-meting opgezet voor *Fusarium* in de bodem. Ook worden metagenomics gebaseerde indexen ontwikkeld met als biologisch fenomeen de invloed van biostimulanten op de vitaliteit van het tulpgewas en de *Fusarium*-druk in de bodem en bol.

Bodemherstel en circulaire landbouw

Verspreid door Nederland ligt een enorm veenweidegebied van meer dan 200.000 hectare, circa 9 procent van het totale oppervlak van ons land. Dit gebied houdt niet op bij de grens; het loopt door tot in Polen. De melkveehouderij is van oudsher een van de grootste gebruikers van het veenweidegebied voor de productie van gras en voor het uitrijden van mest. De hoge bemesting zorgt voor eutrofiëring van bodem en water. Verlaging van het waterpeil leidt tot veenoxidatie en hoge emissies van broeikasgassen.

Recent is gebleken dat de mestaanvoer naast nutriënten ook andere chemische stoffen in de grond brengt, waaronder residuen van diergeneesmiddelen en bestrijdingsmiddelen²⁶. De effecten op de kwaliteit van het oppervlaktewater zijn alarmerend²⁷. Het is onbekend wat effecten zijn van de stapeling van deze stoffen op het bodemleven. Er wordt gezocht naar oplossingen met een duurzaam toekomstperspectief voor de landbouw en natuur.



Figuur 10. Bemonstering polderlaboratorium 'Land van Ons' met docentonderzoeker Maarten Morsink en stagiairs Tara van der Plas en Melissa Hieroms

Natuurgebieden en herstelgebieden (waaronder burgercoöperatie 'Land van Ons') leveren een proefopzet in de vorm van een levend laboratorium (agrarisch gebied met toepassing van verschillende beheervormen) waarin we technieken kunnen valideren en vragen rondom ecosysteemherstel en natuurinclusieve landbouw kunnen beantwoorden²⁸. Het LCAB werkt daarbij samen met Maarten Schrama en Krijn Trimbos van het CML en onderzoekers van Naturalis. Binnen het RAAK-publiek project 'Omics in de polder' worden vanuit de lectoraten Metagenomics en Metabolomics technieken ingezet om de effecten van verschillende mesttoepassingen op de biodiversiteit te volgen.

Verborgene Biodiversiteit in de stad

Biodiversiteit in de stad levert ons belangrijke ecosystemediensten zoals natuurbeleving maar ook verkoeling in een opwarmend klimaat²⁹. De gezondheid van bomen en ander openbaar groen wordt bepaald door de stedenbouwkundige inrichting en het groenbeheer. De rol van ondergrondse organismen voor het functioneren van het bovengrondse stedelijke groen is weinig zichtbaar of onbekend³⁰. Korstmossen zijn belangrijke indicatoren voor omstandigheden als stikstofdruk en hittestress³¹. Michael Stech leidt hierover een NWA project 'Hidden Biodiversity' vanuit Naturalis. Het lectoraat Metagenomics draagt bij door metagenomics methoden te ontwikkelen om verborgen soorten te herkennen en de verspreiding in kaart te brengen.



Figuur 11. Bodemonderzoek bij historische bomen door stagiair Melissa Hieroms

We gebruiken SMRT technologie om soortendiversiteit en functionele diversiteit van bodembacteriën en schimmels te bepalen in relatie tot de gezondheid van bomen. Ook zullen we met shotgun sequencing van hoogmoleculair DNA verschillende korstmosgemeenschappen en hun overlevingsstrategie ontrafelen. Een belangrijk aspect van dit project is de integratie van onderzoek in het onderwijs en de bewustwording bij stadsbewoners om biodiversiteit in hun leefomgeving te kunnen waarderen.

Genetische biodiversiteit in de lucht: aerobiomics

De toepassing van genetische monitoring in lucht staat nog in de kinderschoenen. Metingen van luchtkwaliteit zijn nu vooral chemisch en de biologische componenten worden nauwelijks meegenomen en beperken zich tot observaties.

Metagenomics opent de mogelijkheid om minder zichtbare biodiversiteit in luchtsamples te bepalen³². Dit geeft ons inzicht in verspreidingsmechanismen van bacteriën, schimmels, flora en fauna^{33,34}. Het stelt ons in staat om de connectiviteit tussen ecosystemen en klimaatverandering te bepalen en ook verspreidingsmechanismen van ziektes voor plant, mens en dier. De uitdagingen zitten met name bij de aansluiting van bemonsteringstechnieken op verschillende DNA technieken voor hoge resolutie identificaties. We willen handzame samplers, o.a. de 'pollensniffer'³⁵, verder optimaliseren voor SMRT-metabarcoding. Hieronder volgen een aantal onderzoekslijnen rondom het thema lucht waarbinnen het lectoraat actief is.

Biodiversiteit en longgezondheid

Een grote zorg in Nederland is het stijgend aantal chronische longziekten die mede door verstedelijking worden veroorzaakt. De biodiversiteitshypothese stelt daar tegenover dat blootstelling aan omgevingsmicro-organismen een gebalanceerd immuunsysteem bevordert en kan beschermen tegen chronische ontstekingsziekten zoals allergieën, astma of auto-immuniteit³⁶.

Het lectoraat onderzoekt, samen met Hermelijn Smits van het Leids Universitair Medisch Centrum en Nelson Mota van de Technische Universiteit Delft, de humane interacties met biodiversiteit waar het de immuun regulatie bevordert³⁷. Via een Comeniusbeurs ontwikkelen we een innovatief educatieprogramma gericht op biodiversiteit en architectuur voor verbetering van gezondheid en welzijn³⁸. We brengen hier verschillende wetenschapsgebieden en actoren uit de samenleving samen en mikken op een succesvolle voortzetting via een NWA-orc aanvraag.



Figuur 12. Biodiversiteit in de stad en humane gezondheid

Daarnaast is er dit jaar het NWO project BENIGN (BluE and green Infrastructure designed to beat the urbaN heat) gestart vanuit Universiteit Nijmegen. Centraal is de vraag naar het effect van stedelijke groenbeheer op woonomstandigheden (hittestress, waterkwaliteit, plantenpollen) en de humane gezondheid²⁹. Het lectoraat kijkt binnen het werkpakket van Barbara Gravendeel naar de invloed van (invasieve) planten op de pollensamenstelling in de lucht, en de relatie met astma en hooikoorts. Een belangrijk instrument dat wordt gebruikt is de handzame pollensniffer die ontwikkeld is samen met de Leidse instrumentmakers School.

Plantgezondheid in kassen

De sector glastuinbouw in Nederland omvat ca. 10.000 hectare areaal en 0.9 procent van het bruto binnenlands product. Een belangrijke uitdaging is het beheersen van plantpathogenen door slimme monitoring in de hele keten. We weten dat plantenziektes tijdens teelthandelingen verspreid worden op materialen als gereedschap en kleding en via voedings- en drainwater. Over disseminatie via de lucht is weinig bekend. Met metagenomics kan een detectiesysteem ontworpen worden om alle ziekteverwekkers in één luchtmonster te detecteren. Verder is het mogelijk om de (geografische) herkomst van ziekteverwekkers te bepalen³⁹. We werken samen met Peter Bonants van de WUR in een Publiek-private samenwerking (PPS) aan optimale methoden voor luchtbemonstering.

Het gebruik van effectieve air samplers wordt gecombineerd met brede gevoelige metabarcoding en specifieke PCR en LAMP detectie⁴⁰. Dit levert handvaten voor ziektebeheersing en het terugdringen van chemische gewasbescherming.

Onderzoek aan de neushoorn

De zwarte neushoorn is ernstig bedreigd als gevolg van afname van het leefgebied en stroperij⁴¹. De zwarte neushoorns in dierentuinen worden eveneens bedreigd vanwege ernstige gezondheidsproblemen. We zien ijzerstapeling bij het volwassen worden, insuline-resistentie en diverse problemen zoals huidinfecties, die samenhangen met een verstoord immuunsysteem⁴². Samen met onder andere, Naturalis, Avans Hogeschool, BaseClear en Diergaarde Blijdorp doet het LCAB onderzoek naar de gezondheid van de zwarte neushoorn in gevangenschap. Een mooi voorbeeld van deze brede samenwerking is het RAAK-Publiek project 'RHINOCEROMICS: Onderzoek naar de gezondheid van de zwarte neushoorn in de dierentuin'.



Figuur 13. Neushoorns in Diergaarde Blijdorp

Binnen het project combineren we expertise en technologie van verschillende lectoraten vanuit verschillende hogescholen. Het gezondheidsprobleem wordt breed onderzocht met behulp van metagenomics en metabolomics technieken. We meten een scala aan biologische en biochemische factoren in bloed en poep met als doel biomarkers te ontwikkelen waarmee we de gezondheid van de zwarte neushoorn in gevangenschap kunnen bewaken.



Figuur 14. Nanopore sequencing door stagiairs Alexander Legemaat en Isa Wormsbecher



Figuur 15. Bio-informatica analyse van neushoorndata door stagiair Bas Bonnet

5. Verbinding met het onderwijs

Bij het LCAB staat onderzoek voortdurend in verbinding met het onderwijs van de faculteit S&T. Daaronder vallen de opleidingen Biologie en Medisch Laboratoriumonderzoek, Chemie, Bio-informatica, Informatica en ook het Middelbaar Laboratorium Onderwijs (MLO) van mboRijnland.

De deelname van Hogeschool Leiden in praktijkgerichte onderzoeksprojecten zorgt voor integratie van de ontwikkelde kennis in het onderwijs. De professionals van de toekomst raken bekend met de nieuwste technologie en worden geënthousiasmeerd om dit toe te passen in de praktijk. In interactie met onderwijsmanagers, docenten en studenten worden nieuwe inzichten vanuit praktijkgericht onderzoek ingezet ten behoeve van innovatie van de inhoud en de vorm van het onderwijs. Daarnaast kunnen studenten en docenten bij het LCAB terecht om te participeren in onderzoeksprojecten. Hierdoor leren studenten gedurende hun opleiding al om in te spelen op de razendsnelle technologische ontwikkelingen en de toepassing hiervan in de beroepspraktijk van de Life Sciences.

Via het lectoraat zal biodiversiteit een plek krijgen in de onderwijsprogramma's. Hiermee vergroten studenten hun carrièremogelijkheden bij ook niet medische sectoren zoals water, natuurbeheer, land- en tuinbouw. Een aanzet is gemaakt met de ontwikkeling van een biodiversiteitsmodule binnen de minor 'Biodiversiteit en gezondheid' met Maarten Morsink en Evert van Schaik. Deze module is het platform voor de vertaling van ons onderzoek naar het onderwijs en is in het afgelopen jaar met veel belangstelling uitgerold. In de komende jaren zal de minor verder worden ontwikkeld. We enthousiasmeren ook het voortgezet onderwijs voor de onderwijsprogramma's van de hogeschool via workshops en kleine onderzoeksprojecten. In het kader van Leven Lang Ontwikkelen wordt aan professionals bij- en nascholing verzorgd via het Centrum voor Bioscience en Diagnostiek.

6. Persoonlijke motivatie

Met mijn vader was ik altijd veel buiten om op een avontuurlijke manier de natuur te ontdekken. Altijd gewapend met boekjes over vogels, schelpen en diersporen. En wie verslond niet de avonturen van Cousteau op de televisie in die tijd? Vanaf mijn vijftiende ben ik gaan duiken om de onderwaterwereld te verkennen en dat doe ik nog steeds graag. Na mijn middelbareschooltijd overwoog ik dan ook biologie te studeren. Uiteindelijk heb ik gekozen voor Biochemie binnen de studie Scheikunde, in combinatie met een keuzeprogramma biologie voor chemici. Met Antoni van Leeuwenhoek als voorbeeld werkte ik met geavanceerde elektronenmicroscopie om microbiële gemeenschappen van mariene sedimenten in kaart te brengen. Ook deed ik DNA analyses aan metaal oxiderende eigenschappen van bacteriën. Mijn begeleider Gerard Muyzer ontwikkelde in die tijd de DNA fingerprint-technologie van complexe gemeenschappen en inspireerde mij voor onderzoek aan microbiële ecosystemen. Ik kreeg de gelegenheid om promotieonderzoek te doen bij Riks Laanbroek en mijn co-promotor George Kowalchuk op het Nederlands Instituut voor Ecologisch Onderzoek. We werkten met fingerprint technologie aan bacteriegemeenschappen en hun essentiële rol in de stikstof cyclus⁴⁴.

Vervolgens heb ik deze technologie opgezet in het Natuurhistorisch museum van Londen bij Martin Embley en later in de Universiteit van Aberdeen in het lab van Jim Prosser. Dit was in het kader van een groot Brits bodembiodiversiteitsonderzoek. Daarna ben ik bij Plant Research International in Wageningen aan de slag gegaan als stafonderzoeker bodemmicrobiologie en pathologie in de groepen van Dick van Elsas en Carolien Zijlstra. In die jaren hebben we gewerkt aan ziektevering door bacteriegemeenschappen en innovatieve diagnostiek van plantpathogenen⁴⁵. Vroege shotgun metagenomics technologie paste ik toe om te speuren naar nieuwe antibiotica^{46,47}. De technologie en kosten waren toen nog beperkend om dit breed in de praktijk te implementeren.

Naast projectmanagement wilde ik mij ook organisatorisch ontwikkelen en mijn managementvaardigheden uitbreiden. Ik ging bij GGD Amsterdam aan de slag als Hoofd van de Medische microbiologie van het Streeklaboratorium. Henry de Vries, Sylvia Bruisten, Alje van Dam en Maarten Schim van der Loef waren met hun bevlogenheid voor publieke gezondheid voor mij inspirerende onderzoekers. Samen met hun heb ik onderzoeklijnen opgezet voor multiplex HPV-diagnostiek⁴⁸ en voor het vaginaal microbioom⁴⁹. NGS-technologie was in opkomst en ik had hiervoor een postdoc positie gecreëerd. Robin van Houdt heeft daarmee deze vernieuwende technologie binnen gebracht bij de GGD Amsterdam⁵⁰.

Bij Naturalis kreeg ik de mogelijkheid om een nieuwe laboratorium organisatie te implementeren. Hier heb ik met het team van analisten een ondersteunende dienst opgezet. Barbara Gravendeel pionierde op Naturalis met eDNA en NGS analyses aan traditionele medicijnen en dieet van de mammoet. Ik kon met en dankzij Berry van der Hoorn op de eDNA onderzoekslijn meeliften via het promotietraject van Kevin Beentjes. Berry heeft hierbij in het samenwerkingsverband Biomon verschillende spin-offs voor praktijkonderzoek mogelijk gemaakt⁵¹.

Ook werd een nieuw museum gebouwd met een state-of-the-art laboratorium faciliteit. Het laboratorium heb ik mede mogen ontwerpen. Met het analistenteam en het projectteam van algemene zaken is een toekomstbestendig laboratorium ingericht. Hierna bleef de uitdaging van het onderzoek mij nog steeds trekken. Maaïke van de Kamp-Romein, sectordirecteur Onderzoek & Onderwijs bij Naturalis en Patrick Pijnenburg, voormalig directeur faculteit Science & Technology van Hogeschool Leiden boden mij de fantastische mogelijkheid om biodiversiteitsonderzoek dichterbij de praktijk te brengen. Maita Latijnhouwers, Johan Mols en Walter Zuiderduin hebben mijn enthousiasme verder gevoed. Ze hielpen mij bij deze volgende carrièrestap door een L.INT subsidie gehonoreerd te krijgen.

In deze positie van lector kan ik alle kennis en ervaring kwijt die ik heb opgedaan over de vele jaren en zie ik toekomst voor mijn carrière. Wat ik als extra uitdaging erbij heb gekregen is het praktijkgericht onderzoek te verbinden met het onderwijs. Dit sociaal relevant aspect had ik nog niet eerder aan de hand gehad, maar pak ik graag met beide handen aan. Het LCAB is dan ook de juiste plek voor mij om dit te realiseren. Ik ben gemotiveerd om het biodiversiteitsaspect vanuit Naturalis in te brengen bij de Hogeschool Leiden en BaseClear. Ik wil de impact van het biodiversiteitsonderzoek op de maatschappij vergroten in combinatie met technologische ontwikkelingen. Het hogere doel wat ik daarmee kan bereiken is dat we de natuur niet verder beledigen.



7. Dankwoord

In mijn motivatie zijn al een aantal namen genoemd die mij geïnspireerd hebben en ook verder gebracht hebben in mijn carrière. Het is lastig om mensen niet tekort te doen. Bij Naturalis had ik een analistenteam wat mij veel werkplezier en energie heeft gegeven. Kees, Dirk, Bertie-Joan, Rob, Frank, Roland, Marcel, Oscar als harde kern en veel succes voor Elza in haar nieuwe rol. Maar ook andere collega's op Naturalis zijn voor mij belangrijk geweest waaronder Jan van Tol, Barbara, Johan, Steven, Rutger, Jan Macher, Bert, Kevin, Berry, Michael, en veel van de andere onderzoekers en groepsleiders. Mijn excuses voor deze onvolledige lijst. In de onderzoeksgroep 'Understanding Evolution' van Vincent Merckx heb ik fijn mijn nieuwe plek gevonden binnen Naturalis. Op de hogeschool kwam terecht in het warme bad van Danny Dukers en zijn LCAB team met onder andere Rosanne, Angela, Mara, Nikola en Marlies voor praktische en morele ondersteuning. Ik bedank Danny voor zijn inzet om het LCAB op een hoger plan te brengen en mijn lectoraat daar een plek te geven. Chantal, Floyd, Marijke en Walter van het LCAB wil ik bedanken voor hun bijdrage aan de succesvolle projectaanvragen. Ik dank Peter Lindenburg voor de onderzoekslijnen waar ik bij hem kon aanhaken zoals bij Rhino en PolderOmics. De rol van Rob in het lectoraat mag niet onderschat worden. Meer dan 20 jaar geleden werkten we al samen aan biodiversiteit bij de WUR en we vonden elkaar sindsdien bij Naturalis en nu bij het LCAB. Het team van docenten met vooral Maarten en Anita, maar ook bio-informatici Ken, Koen, Marc, Deniz en Floyd ben ik nu al dankbaar voor hun inzet binnen mijn lectoraat. Zo ook Dorothy en Bart voor hun communicatie inspanningen. Dank ook aan de stagiairs die het toch maar moeten doen. Voor meer een persoonlijke noot wil ik oud-studie en duikvrienden bedanken voor hun vriendschap door de jaren heen en met wie steeds vaker het pad kruist bij Naturalis. De beperkte familie die ik heb in Nederland en België ben ik dankbaar voor de invulling van mijn leven naast mijn werk. Mijn vader die het net niet meer heeft meegemaakt wil ik expliciet bedanken voor de fijne tijd die we hebben gehad. Mijn moeder Nely, en Els die dit gelukkig wel meemaken dank ik voor onze jaren samen. Dank ook aan mijn partner Winnie die de gaten dichtloopt die ik thuis laat vallen en mij alle steun en reflectie geeft. En natuurlijk bedank ik mijn dochter Yalin die mij iedere dag weer vrolijk maakt.

Ik begon deze rede met een droevig verhaal over biodiversiteitsverlies. Kijkend met metagenomics naar bekende en verborgen biodiversiteit hoop ik dat voor u duidelijk is dat deze technologie kan bijdragen aan herstel van de biodiversiteit. Laten we streven naar meer groen in de stad, meer koraal in de zeeën, betere bodems voor onze ecosysteemdiensten en gezonde lucht. Na de ceremonie nodig ik u uit om hierover met elkaar in gesprek te gaan tijdens de receptie. Ook geven docentonderzoekers, stagiairs en analisten posterpresentaties over de onderwerpen uit mijn rede en wordt er een pop-up lab demonstratie gegeven. Ik dank u voor de aandacht. Hierbij eindig ik mijn betoog en geef ik het woord terug aan het College van Bestuur.

8. Curriculum vitae

Arjen Speksnijder studeerde biochemie aan de RijksUniversiteit Leiden en promoveerde in 2000 als microbieel ecooloog aan de Universiteit van Nijmegen op het vlak van nitrificatie en aquatisch ecosystemen. Hierop volgde een postdoc positie in het Natural History Museum Londen en aan de Universiteit van Aberdeen op het vlak van nitrificatie in bodems. In 2001 werd hij stafonderzoeker moleculaire microbiologie bij Plant Research International in Wageningen. Daar was hij onderdeel van de ontwikkeling van 'State of the art' multiplex detectie technologie voor fytopathologisch onderzoek en onderzoek aan ziektewerende bodems.

In 2007 werd hij hoofd van het Streeklaboratorium GGD Amsterdam. In deze jaren is hij wetenschappelijke projecten blijven initiëren op het vlak van moleculaire technieken en complexe diagnostiek van infectieziekten en het humaan microbioom. In 2013 kreeg hij bij Naturalis de uitdaging om een laboratoriumorganisatie in te richten. Zijn eigen onderzoek binnen Naturalis betrof het ontwikkelen van technieken voor genetische analyses en monitoring van complexe ecosystemen. Vanaf november 2020 is hij lector bij Hogeschool Leiden, waar hij de kans ziet om zich verder in te zetten op het vlak van metagenomics technologie, biodiversiteit en gezondheid.

9. Referenties

1. IPBES. Global Assessment Report on Biodiversity and Ecosystem Service. *Debating Nature's Value* 1–12 (2019).
2. Keijzer, M. C. G. Kamerbrief over missiegedreven Topsectoren- en Innovatiebeleid [kamerstuk]. (2019). Available at: <https://www.rijksoverheid.nl/documenten/kamerstukken/2021/10/15/kamerbrief-over-missiegedreven-topsectoren-en-innovatiebeleid>. (Accessed: 28th September 2022)
3. Nation., U. THE 17 GOALS | Sustainable Development. *Sustainable Development* (2015).
4. Biesmeijer, K. & Knoben, N. Nature 4 Life: Nationale kennisagenda voor onderzoek naar biodiversiteit, ecologie en evolutie. (2017).
5. L.INT - Regieorgaan SIA. Available at: [https://regieorgaan-sia.nl/financiering/lint-lectorposities-bij-instituten/#Doel van L.INT](https://regieorgaan-sia.nl/financiering/lint-lectorposities-bij-instituten/#Doel%20van%20L.INT). (Accessed: 10th October 2022)
6. Sagan, L. On the origin of mitosing cells. *J. Theor. Biol.* **14**, (1967).
7. Handelsman, J., Rondon, M. R., Brady, S. F., Clardy, J. & Goodman, R. M. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products. *Chem. Biol.* **5**, R245–R249 (1998).
8. Muyzer, G., De Waal, E. C. & 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).
9. Amarasinghe, S. L. *et al.* Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. *Genome Biology* **21**, 1–16 (2020).
10. Quince, C., Walker, A. W., Simpson, J. T., Loman, N. J. & Segata, N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology* **35**, 833–844 (2017).
11. Nayfach, S. *et al.* A genomic catalog of Earth's microbiomes. *Nat. Biotechnol.* (2020). doi:10.1038/s41587-020-0718-6
12. Frioux, C., Singh, D., Korcsmaros, T. & Hildebrand, F. From bag-of-genes to bag-of-genomes: metabolic modelling of communities in the era of metagenome-assembled genomes. *Computational and Structural Biotechnology Journal* **18**, 1722–1734 (2020).

13. Lee, S. *et al.* Methane-derived carbon flows into host-virus networks at different trophic levels in soil. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **118**, e2105124118 (2021).
14. Lankadurai, B. P., Nagato, E. G. & Simpson, M. J. Environmental metabolomics: An emerging approach to study organism responses to environmental stressors. *Environmental Reviews* **21**, 180–205 (2013).
15. Beale, D. J. *et al.* A community multi-omics approach towards the assessment of surface water quality in an urban river system. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **14**, (2017).
16. Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L. & DeWaard, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **270**, 313–321 (2003).
17. Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M. & Rieseberg, L. H. Environmental DNA. *Molecular Ecology* **21**, 1789–1793 (2012).
18. Thomsen, P. F. & Willerslev, E. Environmental DNA - An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation* **183**, 4–18 (2015).
19. Pawlowski, J. *et al.* The future of biotic indices in the ecogenomic era: Integrating (e)DNA metabarcoding in biological assessment of aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment* **637–638**, 1295–1310 (2018).
20. Aylagas, E., Borja, Á. & Rodríguez-Ezpeleta, N. Environmental Status Assessment Using DNA Metabarcoding: Towards a Genetics Based Marine Biotic Index (gAMBI). *PLoS One* **9**, e90529 (2014).
21. Fierer, N. Embracing the unknown: Disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology* **15**, 579–590 (2017).
22. Rutgers, M. *et al.* Typering van bodemecosystemen in Nederland met tien referenties voor biologische bodemkwaliteit. *RIVM Rapp.* 607604008 1–96 (2007).
23. Ferris, H. Contribution of nematodes to the structure and function of the soil food web. *J. Nematol.* **42**, 63–7 (2010).
24. van Bruggen, A. H. C. *et al.* Soil health indicators and Fusarium wilt suppression in organically and conventionally managed greenhouse soils. *Appl. Soil Ecol.* **86**, 192–201 (2015).

25. Wei, Z. *et al.* Initial soil microbiome composition and functioning predetermine future plant health. *Sci. Adv.* **5**, (2019).
26. CBS, PBL & WUR. Compendium voor de leefomgeving - landschap. *Centraal Bureau voor de Statistiek* (2013). Available at: <https://www.clo.nl/>. (Accessed: 28th September 2022)
27. Henrik Barmantlo, S. *et al.* Experimental evidence for neonicotinoid driven decline in aquatic emerging insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **118**, (2021).
28. Maak kennis met Het PolderLab Vrouwe Venne - Land van Ons. Available at: <https://landvanons.nl/polderlab-vrouwe-venne/>. (Accessed: 5th October 2022)
29. Coutts, C. & Hahn, M. Green infrastructure, ecosystem services, and human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **12**, 9768–9798 (2015).
30. Baruch, Z. *et al.* Characterising the soil fungal microbiome in metropolitan green spaces across a vegetation biodiversity gradient. *Fungal Ecol.* **47**, 100939 (2020).
31. Sparrius, L. B. Response of epiphytic lichen communities to decreasing ammonia air concentrations in a moderately polluted area of The Netherlands. *Environ. Pollut.* **146**, 375–379 (2007).
32. Drautz-Moses, D. I. *et al.* Vertical stratification of the air microbiome in the lower troposphere. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **119**, e2117293119 (2022).
33. de Groot, G. A. *et al.* The aerobiome uncovered: Multi-marker metabarcoding reveals potential drivers of turn-over in the full microbial community in the air. *Environ. Int.* **154**, 106551 (2021).
34. Polling, M. *et al.* DNA metabarcoding using nrITS2 provides highly qualitative and quantitative results for airborne pollen monitoring. *Sci. Total Environ.* **806**, (2022).
35. de Weger, L. A. *et al.* A new portable sampler to monitor pollen at street level in the environment of patients. *Sci. Total Environ.* **741**, 140404 (2020).
36. Banerjee, S. & van der Heijden, M. G. A. Soil microbiomes and one health. *Nature Reviews Microbiology* (2022). doi:10.1038/s41579-022-00779-w
37. Mills, J. G. *et al.* Relating urban biodiversity to human health with the 'Holobiont' concept. *Frontiers in Microbiology* **10**, (2019).

38. Watkins, H., Robinson, J. M., Breed, M. F., Parker, B. & Weinstein, P. Microbiome-Inspired Green Infrastructure: A Toolkit for Multidisciplinary Landscape Design. *Trends in Biotechnology* **38**, 1305–1308 (2020).
39. Adams, I. P., Fox, A., Boonham, N., Massart, S. & De Jonghe, K. The impact of high throughput sequencing on plant health diagnostics. *Eur. J. Plant Pathol.* **152**, 909–919 (2018).
40. Hariharan, G. & Prasannath, K. Recent Advances in Molecular Diagnostics of Fungal Plant Pathogens: A Mini Review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **10**, 829 (2021).
41. RRC: Update on African rhino status and trends: from IUCN SSC ... Available at: http://www.rhinosourcecenter.com/index.php?s=1&act=refs&CODE=note_detail&id=1406156598. (Accessed: 28th September 2022)
42. Schook, M. W., Wildt, D. E., Raghanti, M. A., Wolfe, B. A. & Dennis, P. M. Increased inflammation and decreased insulin sensitivity indicate metabolic disturbances in zoo-managed compared to free-ranging black rhinoceros (*Diceros bicornis*). *Gen. Comp. Endocrinol.* **217–218**, 10–19 (2015).
43. Eerland, L. Meer dan de som der delen. *Maatwerk* **14**, 9–11 (2013).
44. Speksnijder, A. G. C. L. Community analysis of β -subgroup ammonia-oxidizing bacteria in aquatic environments: a molecular approach. *Thesis* (2000).
45. Van Doorn, R. *et al.* Accurate quantification of microorganisms in PCR-inhibiting environmental DNA extracts by a novel internal amplification control approach using Biotrove OpenArrays. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 7253–7260 (2009).
46. Kowalchuk, G. A., Speksnijder, A. G. C. L., Zhang, K., Goodman, R. M. & Van Veen, J. A. Finding the needles in the metagenome haystack. in *Microbial Ecology* **53**, 475–485 (2007).
47. van Elsas, J. D., Speksnijder, A. J. & van Overbeek, L. S. A procedure for the metagenomics exploration of disease-suppressive soils. *J. Microbiol. Methods* **75**, 515–522 (2008).
48. Mooij, S. H. *et al.* Seroepidemiology of high-risk HPV in HIV-negative and HIV-infected MSM: the H2M study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **22**, 1698–1708 (2013).

49. Dols, J. A. M. *et al.* Molecular assessment of bacterial vaginosis by *Lactobacillus* abundance and species diversity. *BMC Infect. Dis.* **16**, (2016).
50. van Houdt, R. *et al.* *Lactobacillus iners*-dominated vaginal microbiota is associated with increased susceptibility to *Chlamydia trachomatis* infection in Dutch women: a case-control study. *Sex. Transm. Infect.* sextrans-2017-053133 (2017). doi:10.1136/sextrans-2017-053133
51. Beentjes, K. From molecules to monitoring: integrating genetic tools into freshwater quality assessments. *Thesis* (2021).



Hogeschool Leiden

Zernikedreef 11
2333 CK Leiden
Postbus 382
2300 AJ Leiden



071 - 518 88 00



info@hsleiden.nl



hsleiden.nl



facebook.com/HSLeidenNL



twitter.com/HSLeidenNL



linkedin.com/company/hogeschool-leiden