

ΕΙΔΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΣΚΟΠΟΣ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ – ΠΕΡΙΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑΛΕΞΕΩΝ - ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΑ
ΣΥΓΓΡΑΜΜΑΤΑ -ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ

Διδάσκουσα: Ευαγγελία Παπαδοπούλου
enaraparadouroulou@bio.uth.gr

ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ

□ Ειδικά θέματα περιβαλλοντικής μικροβιολογίας

(i) Ρόλος των μικροοργανισμών στη λειτουργία του οικοσυστήματος

(ii) Μηχανισμοί αλληλεπίδρασης των μικροοργανισμών με τους ανώτερους οργανισμούς

(iii) Ρόλος του μεταθετώματος στην εξέλιξη και προσαρμογή των μικροοργανισμών

□ Νέες μοριακές τεχνολογίες - είδος πληροφορίας και χρήση τους για την απάντηση βασικών ερωτημάτων της μικροβιακής οικολογίας και της περιβαλλοντικής μικροβιολογίας

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑΛΕΞΕΩΝ

1. Μικροβιακές κοινοπραξίες και ο ρόλος τους στο περιβάλλον, πως τις μελετάμε και τι γνωρίζουμε για αυτές
2. Πλασμίδια και οριζόντια γονιδιακή μεταφορά: ο ρόλος τους στη λειτουργία φυσικών και τεχνητών οικοσυστημάτων και η βιοτεχνολογική αξιοποίηση τους
3. Το μικροβίωμα εντόμων, φυτών και ζώων: ρόλος, αλληλεπιδράσεις με το περιβάλλον και βιοτεχνολογική αξιοποίηση. **Νέες μέθοδοι ανάλυσης μικροβιωμάτων** (2 διαλέξεις)
4. **Μοριακή οικολογία: Ομικές τεχνικές στη μελέτη της λειτουργίας και του οικολογικού ρόλου των μικροοργανισμών στο περιβάλλον**
5. Φυσικές μικροβιακές τοξίνες: Ποιοι μικροοργανισμοί τις παράγουν και γιατί; Μονοπάτια βιοσύνθεσης και βιοτεχνολογική αξιοποίηση
6. Κυανοβακτήρια και κυανοτοξίνες: Γενετικό υπόβαθρο και περιβαλλοντικές επιδράσεις

ΠΕΡΙΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑΛΕΞΕΩΝ

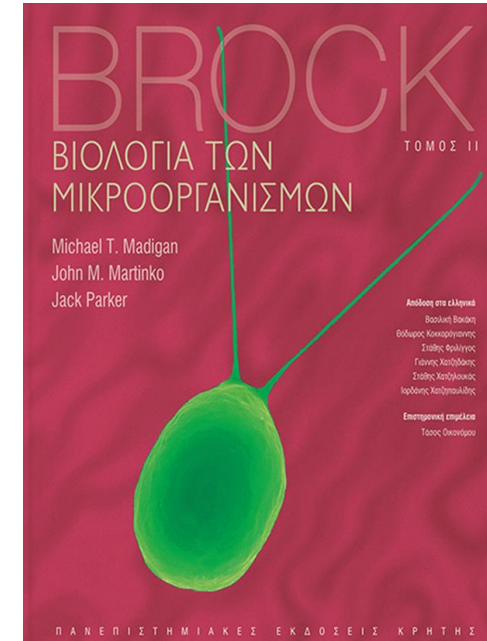
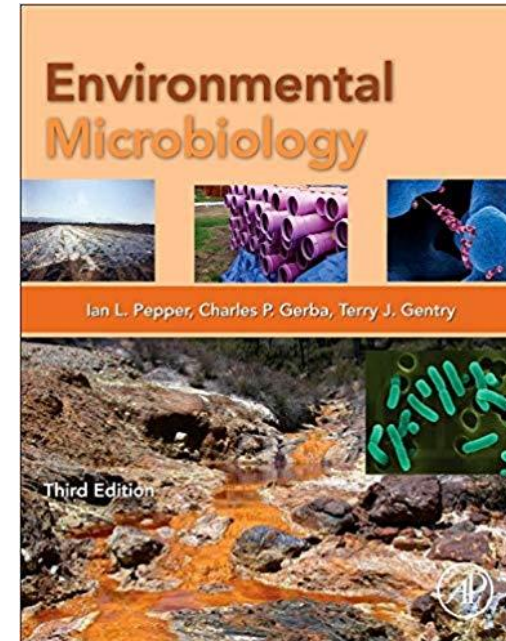
7. Πρωτόζωα: ο οικολογικός τους ρόλος και οι αλληλεπιδράσεις με άλλους μικροοργανισμούς στην τροφική αλυσίδα
8. Μικροβιακή ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Μηχανισμοί, διασπορά στο περιβάλλον και μέθοδοι ανάσχεσης
9. Μικροβιακή αποδόμηση αντιβιοτικών και λοιπών φαρμακευτικών ουσιών – περιβαλλοντικές προεκτάσεις και βιοτεχνολογική αξιοποίηση
10. Μικροοργανισμοί στον αέρα
11. Μικροοργανισμοί σε υδάτινα οικοσυστήματα
12. Βιομηχανική Μικροβιολογία και Βιοτεχνολογία

ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΑ ΣΥΓΓΡΑΜΜΑΤΑ

□ Environmental Microbiology 3rd Edition Ian Pepper, Charles P. Gerba, Terry J. Gentry, Academic Press, ISBN-13: 978-0123946263

▪ Ελληνικά συγγράμματα

Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. 2005. Brock: Βιολογία των μικροοργανισμών. Τόμος II, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης



ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ

- I. Εργασία σε ένα θέμα από τη διεθνή βιβλιογραφία και παρουσίαση στο τέλος του εξαμήνου (50%)
 - II. Γραπτές εξετάσεις (50%)
- Οι φοιτητές που δεν θα παρακολουθήσουν τις διαλέξεις του μαθήματος ή θα έχουν παρακολουθήσει και συμμετάσχει σε **λιγότερες από το 70%** των διαλέξεων θα εξεταστούν μόνο με γραπτές εξετάσεις (100%) στο τέλος του εξαμήνου

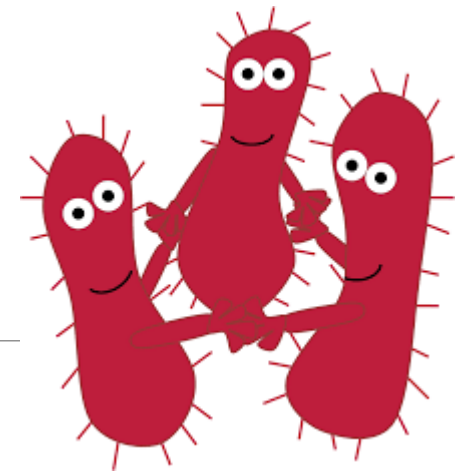
ΕΙΔΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΑΛΕΞΗ 1

Μικροβιακές κοινοπραξίες και ο ρόλος τους στο περιβάλλον

ΠΩΣ ΤΙΣ ΜΕΛΕΤΑΜΕ ΚΑΙ ΤΙ ΓΝΩΡΙΖΟΥΜΕ ΓΙΑ ΑΥΤΕΣ

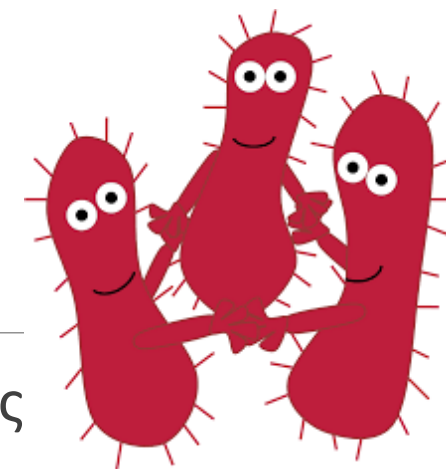
ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΚΟΙΝΟΠΡΑΞΙΑ



➤ ΟΡΙΣΜΟΙ

- ❑ Δύο ή περισσότερες μικροβιακές ομάδες που ζουν συμβιωτικά
- ❑ Μια ομάδα που απαρτίζεται από διαφορετικά είδη μικροοργανισμών που αλληλεπιδρούν, συνεργάζονται και ενεργούν από κοινού σαν κοινότητα
- ❑ Ένας μικροβιακός «συνεταιρισμός» που αποτελείται από τουλάχιστον δύο ή περισσότερα μέλη με συγκεκριμένο τρόπο (ους) ζωής (Paerl and Pinckney, 1996)
- Συνώνυμοι όροι: ‘υβριδική κοινοπραξία’, ‘πολυειδική κοινοπραξία’, ‘μικτή καλλιέργεια’, ‘μικτή κοινοπραξία’ και ‘συγκαλλιέργεια’

ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΚΟΙΝΟΠΡΑΞΙΑ

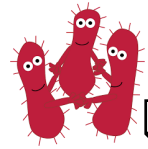


- ❑ Τα φυσικά οικοσυστήματα είναι οργανωμένα σχεδόν αποκλειστικά ως μικτές μικροβιακές κοινότητες
- ❑ Τα μέλη της μικροβιακής κοινοπραξίας:
 - **Ανιχνεύουν και ανταποκρίνονται στην παρουσία των υπολοίπων μελών της κοινοπραξίας**
 - **Επικοινωνούν μεταξύ τους**
 - **Αλληλεπιδρούν**
- ❑ Οι μικροοργανισμοί μέλη μιας μικροβιακής κοινοπραξίας εκτός από βακτήρια, μπορεί επίσης να είναι αρχαία, μύκητες, ιοί και φύκη

Τα συστήματα αυτά έχουν εκτεταμένες βιομηχανικές εφαρμογές:

- Βιοεξυγίανση
- Διαχείριση αποβλήτων
- Σύνθεση βιοαερίου

INTRAKINGDOM VS. INTERKINGDOM ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΚΟΙΝΟΠΡΑΞΙΕΣ



□ Intrakingdom μικροβιακές κοινοπραξίες

➤ Τα είδη που τις απαρτίζουν ανήκουν ταξινομικά στο ίδιο βασίλειο

- Στερούνται οργανιδίων, γονιδίων και ενζύμων που απαντώνται σε άλλα βασίλεια
- Σε ορισμένες περιπτώσεις είναι δύσκολη η έκφραση ευκαρυωτικών ενζύμων σε βακτήρια
- Περιορισμένη απόδοση παραγωγής συγκεκριμένων ενώσεων (π.χ. συνθετικές ζύμες)



□ Interkingdom μικροβιακές κοινοπραξίες

➤ Απαρτίζονται από φυλογενετικά διακριτά είδη που ανήκουν ταξινομικά σε διαφορετικά βασίλεια

- Ικανότητα για την επιτέλεση νέων λειτουργιών

π.χ. Συγκαλλιέργεια βακτηρίου με μύκητα οδήγησε στην παραγή ιδιαίτερων γεύσεων κατά τη ζύμωση στη βιομηχανία τροφίμων

- Υψηλότερη παραγωγική αποτελεσματικότητα

π.χ. Η προσθήκη βακτηρίων σε μια καλλιέργεια με φύκη οδήγησε σε βελτιστοποίηση της αύξησης των φυκών και σε επαυξημένη παραγωγή βιοκαυσίμων

- Εφαρμογή σε τομείς όπως Περιβαλλοντική μηχανική, Βιοσύνθεση καυσίμων, Παραγωγή χημικών προϊόντων

Κατηγορίες μικροβιακών κοινοπραξιών

I. Φυσικές μικροβιακές κοινοπραξίες

II. Τεχνητές μικροβιακές κοινοπραξίες

- ❑ Συστήματα που αποτελούνται από δύο ή περισσότερους φυσικούς (=wild-type) πληθυσμούς των οποίων οι αλληλεπιδράσεις τυπικά δεν απαντώνται στη φύση

III. Συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες

- ❑ Συστήματα αποτελούμενα από συνθετικούς μεταβολικά μικροοργανισμούς που κατασκευάζονται με χειρισμούς του γενετικού περιεχομένου και /ή με ρυθμιστικές διεργασίες προκειμένου να εγκαθιδρύσουν, να προωθήσουν ή να ενδυναμώσουν μια αλληλεπίδραση συντονίζοντας συνήθως τη χρήση των πόρων

IV. Ημι-συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες

- ❑ Υβριδικά συστήματα που αποτελούνται από φυσικούς και συνθετικούς μεταβολικά πληθυσμούς ορίζονται ως **ημι-συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες**

Παραδείγματα των διαφορετικών κατηγοριών μικροβιακών κοινοπραξιών

I) Φυσικές μικροβιακές κοινοπραξίες

- Συνεργιστική δράση των *Acidithiobacillus ferrooxidans* και *Acidithiobacillus thiooxidans* στην έκπλυση χαλκοπυρίτη (CuFeS_2) **-Εξορυκτική Βιομηχανία - Βιοεξόρυξη**
- Μικτή καλλιέργεια = αποτελεσματικότερη έκπλυση χαλκοπυρίτη συγκριτικά με τις καθарές καλλιέργειες

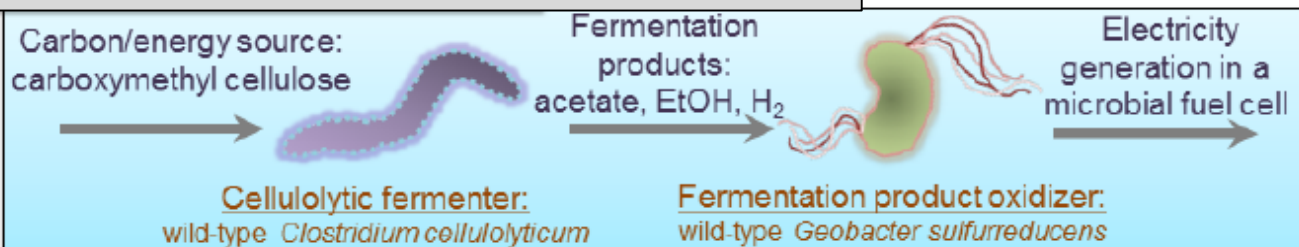


II) Τεχνητές μικροβιακές κοινοπραξίες

- Εφαρμογή σε συγκαλλιέργεια με το ετερότροφο οξεόφιλο *Acidiphilium acidophilum* για την απομάκρυνση των οργανικών ουσιών που συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της αύξησης οδήγησε σε επιτάχυνση της διεργασίας της έκπλυσης

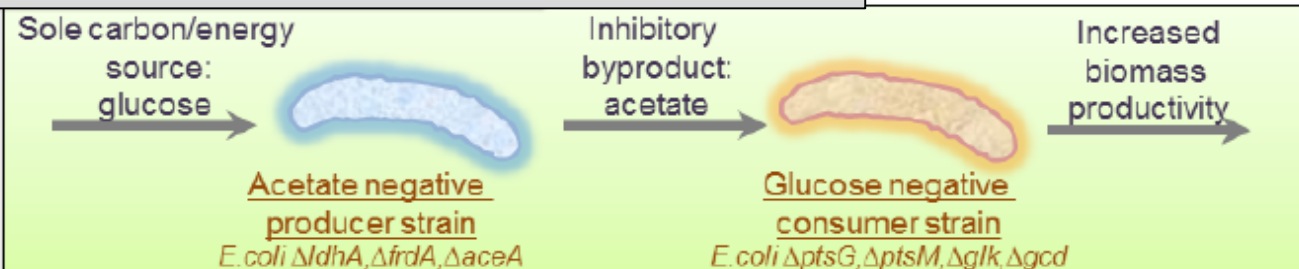
Παραδείγματα των διαφορετικών κατηγοριών μικροβιακών κοινοπραξιών

II) Τεχνητές μικροβιακές κοινοπραξίες



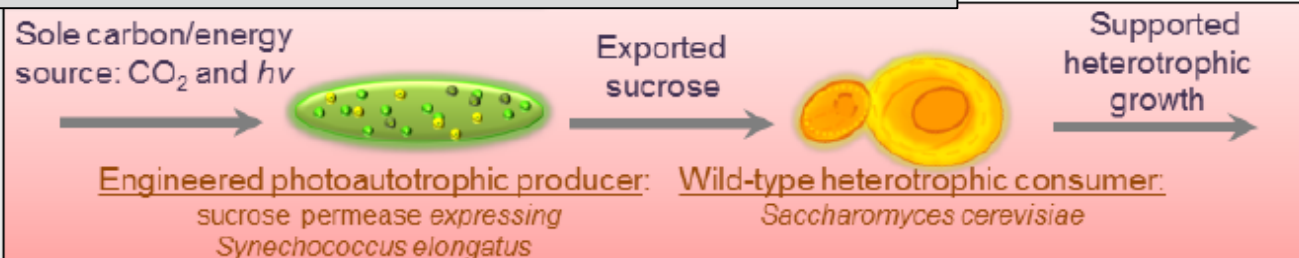
- *Clostridium cellulolyticum*: κυτταρολυτικός πληθυσμός – οδηγεί στην παραγωγή προϊόντων ζύμωσης
 - *Geobacter sulfurreducens*: φυσικός πληθυσμός – συμμετέχει στην οξείδωση των προϊόντων ζύμωσης
- ➔ Παραγωγή ηλεκτρισμού/ηλεκτρικής ενέργειας σε μικροβιακές κυψέλες καυσίμου

III) Συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες



- *E. coli* (μπλε): συνθετικός πληθυσμός - καταναλώνει μόνο γλυκόζη - παράγει οξικό οξύ = παραπροϊόν ανασταλτικό της ανάπτυξης
 - *E. coli* (πορτοκαλί): : συνθετικός πληθυσμός - δεν καταναλώνει γλυκόζη – καταναλώνει οξικό οξύ
- ➔ Αυξημένη παραγωγή βιομάζας

IV) Ημί- συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες



- *Synechococcus elongatus*: συνθετικός φωτοαυτότροφος πληθυσμός – παραγωγή σουκρόζης
 - *Saccharomyces cerevisiae*: φυσικός ετερότροφος πληθυσμός – καταναλώνει τη σουκρόζη
- ➔ Ενίσχυση της ετερότροφης αύξησης

Οικολογικές θεωρίες για τον σχηματισμό μικροβιακών κοινοπραξιών

(A) Η θεωρία της αναλογίας των πόρων (Resource Ratio Theory) (Tilman 1982, 1988)

- Δύο είδη/οργανισμοί ανταγωνίζονται για κοινούς περιοριστικούς πόρους
- Οι αλληλεπιδράσεις αυτού του τύπου μπορούν να οδηγήσουν σε συνύπαρξη υπό την προϋπόθεση ότι κάθε είδος περιορίζεται από τον πόρο που είναι λιγότερο ικανό να εξαντλήσει ή αποκλεισμό των ανταγωνιζόμενων ειδών

ΚΛΑΣΣΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΥ

Το αποτέλεσμα του ανταγωνισμού για δύο διαφορετικά θρεπτικά συστατικά εξαρτάται από την αναλογία στην οποία παρέχονται αυτά τα συστατικά

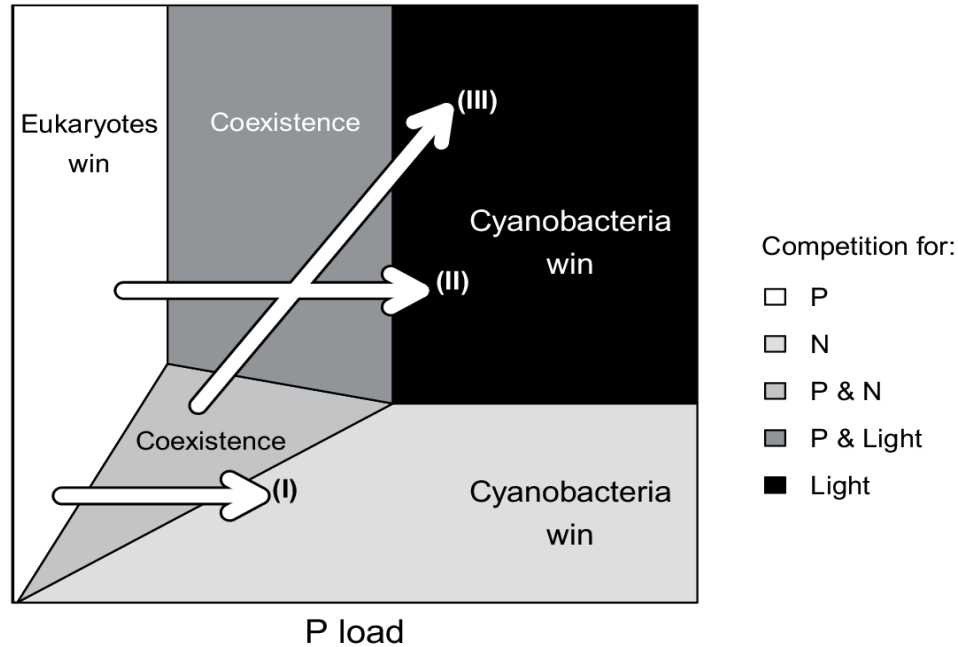


ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ: Οι κοινότητες φωτοαυτότροφων οργανισμών που συναγωνίζονται για 3 απαραίτητους πόρους – φως, άζωτο και φώσφορο- μπορούν να οδηγήσουν στο σχηματισμό διακριτών ενδιαιτημάτων στο περιβάλλον επιτρέποντας την συνύπαρξη πολλαπλών μικροοργανισμών



Η θεωρία της αναλογίας των πόρων - Παράδειγμα

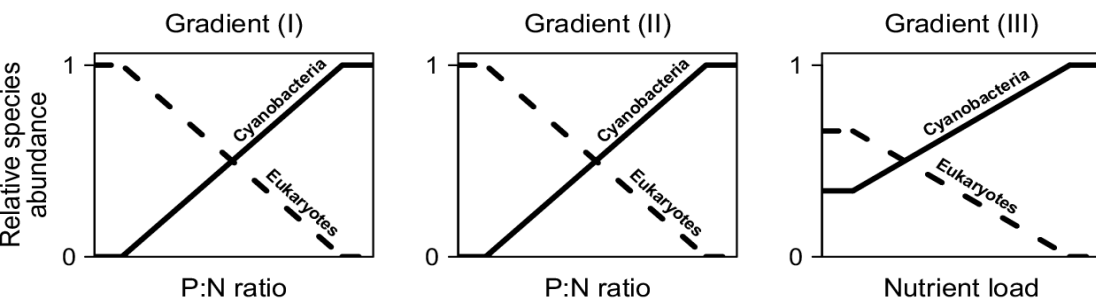
- Ανταγωνισμός μεταξύ του ευκαρυωτικού φυτοπλαγκτόν και των κυανοβακτηρίων για άζωτο, φώσφορο και φως

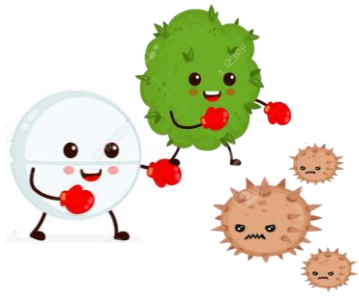


- Οι ευκαρυώτες υπερτερούν στον ανταγωνισμό για το φώσφορο
- Τα κυανοβακτήρια υπερτερούν στον ανταγωνισμό για το άζωτο και το φως

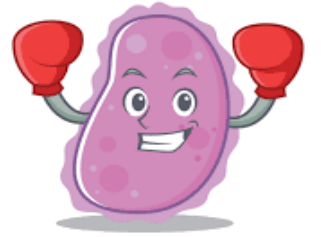
- Το αποτέλεσμα του ανταγωνισμού εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα των απαραίτητων πόρων

- **Gradient I:** καθώς η διαθεσιμότητα του P αυξάνεται, η αναλογία P : N αυξάνεται και η αλληλεπίδραση μεταξύ των ειδών αλλάζει από ανταγωνισμό για το P σε ανταγωνισμό για το N.
- **Gradient II:** καθώς η διαθεσιμότητα του P αυξάνεται, η αναλογία P : N και πάλι αυξάνεται, αλλά αυτή τη φορά η αλληλεπίδραση μεταξύ των ειδών αλλάζει από ανταγωνισμό για το P σε ανταγωνισμό για το φως
- **Gradient III:** Η διαθεσιμότητα N και P αυξάνεται χωρίς να αλλάζει η αναλογία P : N, μετατρέποντας την αλληλεπίδραση από ανταγωνισμό για το P και το N σε ανταγωνισμό για το φως





ΥΠΕΡ-ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΕΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΚΟΙΝΟΠΡΑΞΙΕΣ



- Διαθέτουν την ιδιότητα για επαυξημένη χρήση πόρων
- Εξαντλούν τους διαθέσιμους πόρους αποτελεσματικότερα από τις αντίστοιχες μονοκαλλιέργειες
- Αποτελεί σχεδιαστικό στόχο πολλών συνθετικών συστημάτων

Οικολογικές θεωρίες για τον σχηματισμό μικροβιακών κοινοπραξιών

(β) Η αρχή της μέγιστης ισχύος (Maximum Power Principle)

- ❑ Προτάθηκε αρχικά από τον Lotka (1922)
- ❑ Οργάνωση βιολογικών συστημάτων με σκοπό την αύξηση της ισχύος όποτε οι περιορισμοί του συστήματος το επιτρέπουν

Μεταβολισμός = Βιολογική ισχύς



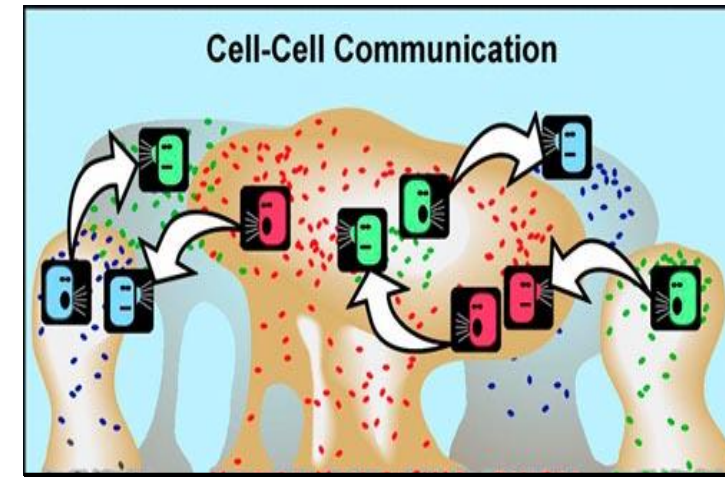
- ❑ Μία μικροβιακή κοινοπραξία που χρησιμοποιεί παράλληλα πολλαπλά υποστρώματα θα μπορούσε να έχει υψηλότερο μεταβολικό ρυθμό και συνεπώς και προσαρμοστική ικανότητα συγκριτικά με μια μονοκαλλιέργεια που χρησιμοποιεί το ίδιο υπόστρωμα συνεχόμενα
- Θεωρίες χρήσιμες στην Περιβαλλοντική Μηχανική για τη διαχείριση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μελών μιας μικροβιακής κοινοπραξίας

Επικοινωνία μεταξύ των μικροοργανισμών στις μικροβιακές κοινοπραξίες

□ Κάθε μικροβιακός πληθυσμός ή και κάθε μικρόβιο ξεχωριστά ανιχνεύει και ανταποκρίνεται στην παρουσία των άλλων μελών της κοινοπραξίας

□ Τα μέλη της μικροβιακής κοινοπραξίας επικοινωνούν μεταξύ τους:

- Διακινώντας μεταβολίτες
- Ανταλλάσσοντας ειδικά μοριακά σήματα



□ Η επικοινωνία καθιστά δυνατή την αλληλεπίδραση μεταξύ των μικροοργανισμών – μελών της μικροβιακής κοινοπραξίας

Διακίνηση μεταβολιτών

- ❑ Οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν τη διακίνηση των μεταβολιτών ως μέσο ανίχνευσης και ανταπόκρισης στις περιβαλλοντικές αλλαγές

- **Παράδειγμα σχέσης *Bacillus subtilis* - *Raenibacillus dendritiformis***
- ❑ Το είδος *Bacillus subtilis* παράγει surfactins (κυκλικά λιποπεπτίδια), που έχουν διάφορους ρόλους στη Μικροβιακή Οικολογία:
 - Σχηματισμός βιοφίλμ
 - Επιφανειοδραστικές ιδιότητες
 - Αντιμικροβιακή δραστηριότητα
 - Παράγοντες προσέλκυσης μικροβίων => Επηρεάζουν τις περιβάλλουσες μικροβιακές κοινοπραξίες
- ❑ Το είδος *Raenibacillus dendritiformis* διασπά τις surfactins που παράγει το *B. subtilis* από τις οποίες προσελκύεται
- ❑ Τα προϊόντα της διάσπασης που συσσωρεύονται εξυπηρετούν ως εδαφικοί δείκτες

Διακίνηση μεταβολιτών

- ❑ Η ανταλλαγή μεταβολιτών μεσολαβεί στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μικροβίων
- ❑ Οι αλληλεπιδράσεις αυτές συχνά εμπεριέχουν **κόστος προσαρμοστικότητας** για τον οργανισμό που τους παράγει
- ❑ Ωστόσο, η απελευθέρωση μεταβολιτών χωρίς επιβαρυντικό κόστος για τον παραγωγό –οργανισμό μπορεί επίσης να καθοδηγήσει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφορετικών μικροβίων => ευκαιρίες για διασταυρωτή σίτιση
- ❑ Υπό **ανοξικές συνθήκες** παρέχονται περισσότερες ευκαιρίες για την ανταλλαγή μεταβολιτών χωρίς επιβαρυντικό κόστος για τον παραγωγό –οργανισμό προωθώντας αλληλεπιδράσεις αμοιβαιότητας και οδηγώντας στην εγκαθίδρυση σταθερών οικολογικών δικτύων μικροβιακών αλληλεπιδράσεων

Διακυτταρική χημική επικοινωνία

- ❑ Η διακυτταρική χημική επικοινωνία (quorum sensing) αποτελεί μια μορφή **σηματοδοτικής επικοινωνίας κυττάρου – κυττάρου εξαρτώμενης από την πυκνότητα του πληθυσμού** => δίνει το έναυσμα για αλλαγές στην συμπεριφορά όταν ο πληθυσμός φτάσει σε μια κρίσιμη πυκνότητα
- ❑ Τα συστήματα διακυτταρικής χημικής επικοινωνίας βασίζονται στην **παραγωγή και την ανίχνευση των εξωκυτταρικών σημάτων**
 - Τα βακτήρια παράγουν συνήθως το σήμα συνεχόμενα με συσσώρευση του σήματος καθώς η πυκνότητα του πληθυσμού αυξάνει
 - Όταν η συγκέντρωση φτάσει σε κάποιο σημείο ουδό, το σήμα αλληλεπιδρά με μια πρωτεΐνη δέκτη, προκαλώντας μια συντονισμένη αλλαγή στη γονιδιακή έκφραση στον πληθυσμό
- ❑ Διάφοροι **τύποι σημάτων διακυτταρικής χημικής επικοινωνίας** υπάρχουν:
 - Σήματα τύπου acyl-homoserine lactone (π.χ. *Proteobacteria*)
 - Μικρού μήκους ολιγοπεπτίδια - συχνά χημικά τροποποιημένα (π.χ. θετικά κατά Gram βακτήρια)

Διακυτταρική χημική επικοινωνία

Συνεργασία

- ❑ Πολλά προϊόντα της διακυτταρικής χημικής επικοινωνίας αποτελούν «**κοινά αγαθά**» = **κοινόχρηστα προϊόντα** που παράγονται από ένα μέλος της μικροβιακής και μπορούν να χρησιμοποιηθούν από οποιοδήποτε μέλος της κοινοπραξίας
- ❑ Η σύνθεση των κοινόχρηστων προϊόντων εμπεριέχει μεταβολικό κόστος για το κύτταρο παραγωγό αλλά είναι επωφελής για τα υπόλοιπα κύτταρα του πληθυσμού

Ανταγωνισμός

- ❑ Έλεγχος της παραγωγής τοξινών από βακτήρια, πολλές από τις οποίες θεωρείται ότι προωθούν τον ανταγωνισμό με άλλα στελέχη ή είδη βακτηρίων
- Π.χ. Οι βακτηριοσίνες στα είδη του γένους *Streptococcus*
- ❑ **Επιβράδυνση του ρυθμού παραγωγής αντιβιοτικών**
 - Μετρίαση του μεταβολικού κόστους παραγωγής των αντιβιοτικών ουσιών μέχρι ο πληθυσμός να μπορέσει να παράξει ικανοποιητικές συγκεντρώσεις ικανές να σκοτώσουν ανταγωνιστικούς πληθυσμούς
 - Στέρηση της δυνατότητας αναπύξης άμυνας σε συγκεντρώσεις αντιβιοτικών κατώτερες από αυτές που προκαλούν παρεμπόδιση στους ανταγωνιστικούς πληθυσμούς

Διακυτταρική χημική επικοινωνία

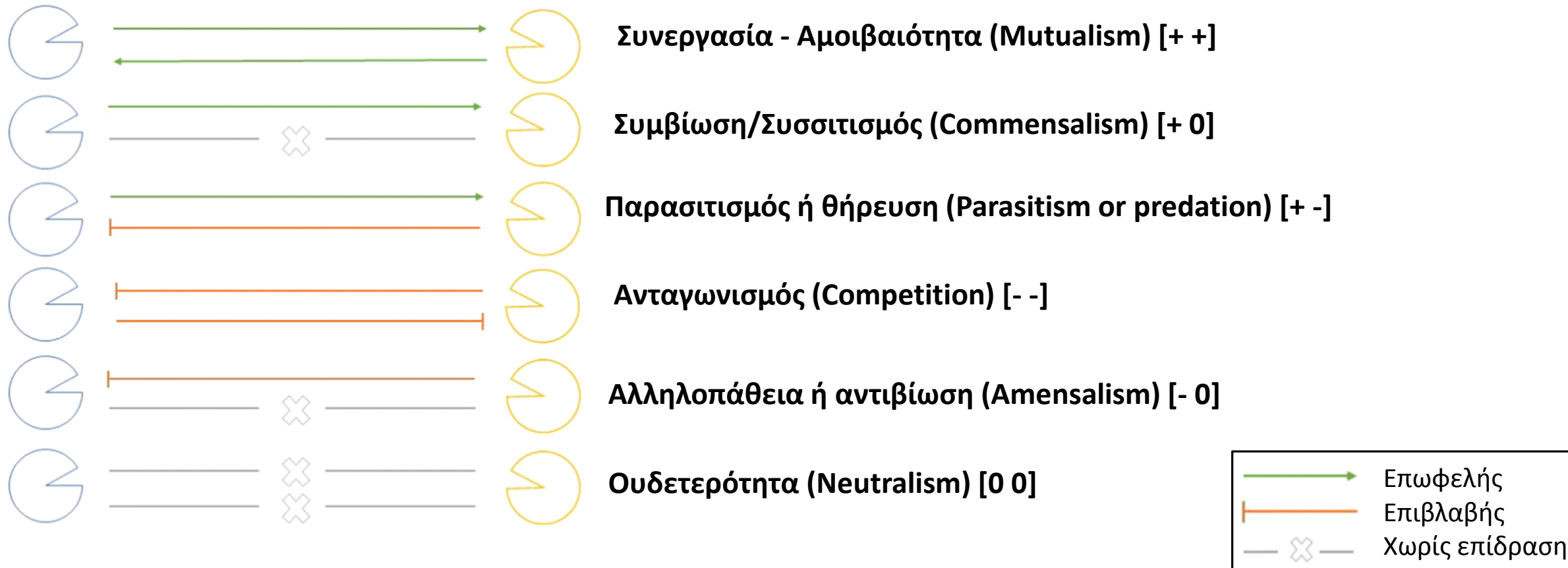
Συνεργασία

- «Κοινά αγαθά» = Κοινόχρηστα προϊόντα
 - Σιδηροφόροι
 - Ένζυμα
 - Βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες
 - Συστατικά του βιοφίλμ
 - Μόρια διακυτταρικής χημικής επικοινωνίας
 - Βακτηριοσίνες (πρωτεΐνες που εκκρίνονται από ένα στέλεχος με σκοπό να παρεμποδίσουν την αύξηση ενός άλλου στενά σχετιζόμενου στελέχους)
 - Τοξίνες
- => Προϊόντα βιοτεχνολογικού ενδιαφέροντος

Ανταγωνισμός

- ❑ Έλεγχος της παραγωγής τοξινών από βακτήρια, πολλές από τις οποίες θεωρείται ότι προωθούν τον ανταγωνισμό με άλλα στελέχη ή είδη βακτηρίων
- Π.χ. Οι βακτηριοσίνες στα είδη του γένους *Streptococcus*
- ❑ **Επιβράδυνση του ρυθμού παραγωγής αντιβιοτικών**
 - Μετρίαση του μεταβολικού κόστους παραγωγής των αντιβιοτικών ουσιών μέχρι ο πληθυσμός να μπορέσει να παράξει ικανοποιητικές συγκεντρώσεις ικανές να σκοτώσουν ανταγωνιστικούς πληθυσμούς
 - Στέρηση της δυνατότητας αναπύξης άμυνας σε συγκεντρώσεις αντιβιοτικών κατώτερες από αυτές που προκαλούν παρεμπόδιση στους ανταγωνιστικούς πληθυσμούς

Μοτίβα αλληλεπίδρασης μεταξύ δυο ειδών στις μικροβιακές κοινοπραξίες



Μοτίβα αλληλεπίδρασης στις μικροβιακές κοινοπραξίες

Intrakingdom μικροβιακές κοινοπραξίες

Συνεργασία

- Επιμερισμός εργασίας
- Συνεργιστικός καταμερισμός πόρων - Παράλληλη ή διαδοχική επεξεργασία των διαθέσιμων πόρων
- Αμοιβαιότητα: Συντροφιά - Διασταυρωτή σίτιση

Συμβίωση/Συσσιτισμός: Η δραστηριότητα του ενός είδους παρέχει οικολογικό ενδιαίτημα για τα υπόλοιπα είδη χωρίς κάποιο όφελος ή κόστος για το ίδιο

- Κατανάλωση O_2 από το ένα είδος δημιουργεί διαβάθμιση O_2 κατάλληλη για την ανάπτυξη αναερόβιων ειδών
- Ανταλλαγή μεταβολιτών

Αλληλοπάθεια ή αντιβίωση: Το ένα είδος παρεμποδίζεται ή καταστρέφεται, ενώ το άλλο δεν επηρεάζεται

Ουδετερότητα: Δύο είδη αλληλεπιδρούν χωρίς να επηρεάζονται

Ανταγωνισμός

Θήρευση

Συμπεριφορά των Cheater

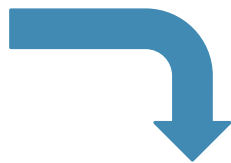
Interkingdom μικροβιακές κοινοπραξίες

Όμοιες αλληλεπιδράσεις με Intrakingdom μικροβιακές κοινοπραξίες συν την **Ενδοσυμβίωση**

Μοτίβα συνεργιστικής αλληλεπίδρασης μεταξύ των μικροοργανισμών στις μικροβιακές κοινοπραξίες

➤ Η ΘΕΜΕΛΙΩΔΗΣ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΣΥΝΤΡΟΦΙΑΣ

- Μια κατάσταση όπου δύο διαφορετικοί οργανισμοί συνεργάζονται για να αποδομήσουν μια ουσία την οποία κανείς από τους δυο δε θα μπορούσε να αποδομήσει μόνος του



ΩΣΤΕ ΝΑ ΠΡΟΣΛΑΒΟΥΝ ΕΝΕΡΓΕΙΑ

- Εξαιρετικά σημαντική στον ανοξικό καταβολισμό που καταλήγει σε παραγωγή CH_4 = μεθανιογένεση

ΣΥΝΤΡΟΦΙΑ και ΜΕΘΑΝΙΟΓΕΝΕΣΗ

- ❑ Η μεθανιογένεση διεκπεραιώνεται από τα μεθανιογόνα, μια ομάδα Αρχαίων, που είναι αυστηρά αναερόβια
- ❑ Τα μεθανιογόνα χρησιμοποιούν το CO_2 ως τελικό δέκτη ηλεκτρονίων στην αναερόβια αναπνοή, ανάγοντας το σε μεθάνιο με τη χρήση H_2
- ❑ Εκτός από το CO_2 , ελάχιστες ενώσεις μπορούν να μετατραπούν κατευθείαν σε μεθάνιο από τα μεθανιογόνα, με κυριότερη το οξικό οξύ



- ❑ Για τη μετατροπή των περισσότερων οργανικών ενώσεων σε CH_4 , τα μεθανιογόνα «συνεταιρίζονται» με οργανισμούς που τους παρέχουν τις απαραίτητες πρώτες ύλες
- ❑ Ρόλο κλειδί παίζουν οι δευτερογενείς ζυμωτές και κυρίως τα υδρογονοπαραγωγικά συντροφικά βακτήρια που οξειδώνουν λιπαρά οξέα, όπως τα *Syntrophomonas*

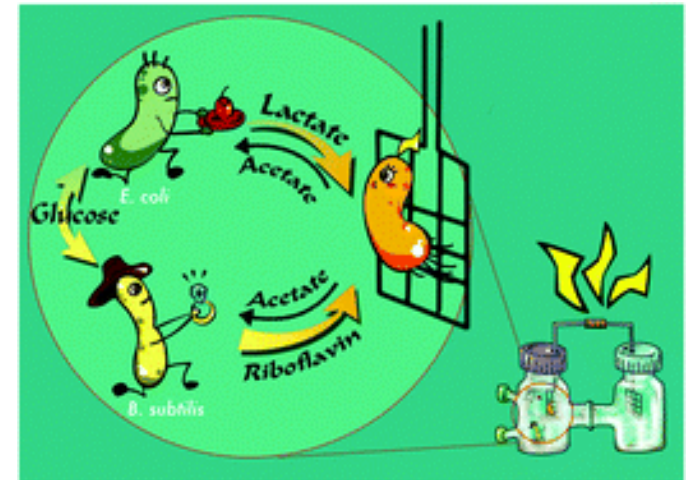
Μοτίβα συνεργιστικής αλληλεπίδρασης μεταξύ των μικροοργανισμών στις μικροβιακές κοινοπραξίες

➤ ΕΠΙΜΕΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- Η συνολική δραστηριότητα της μικροβιακής κοινοπραξίας προκύπτει ως αποτέλεσμα ενός συνδιασμού εργασιών που εκτελούνται από κάθε μέλος από το οποίο απαρτίζεται ή από μικροβιακούς υποπληθυσμούς

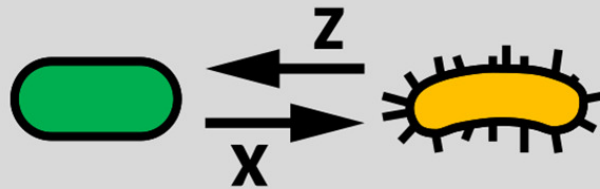


Λειτουργική διαφοροποίηση και εξειδίκευση

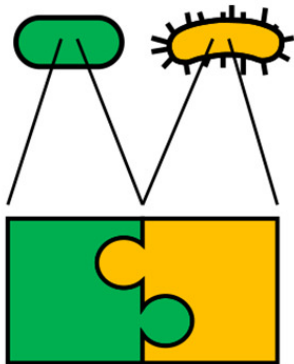


Ποια κριτήρια καθορίζουν τον επιμερισμό της εργασίας στις μικροβιακές κοινοπραξίες;

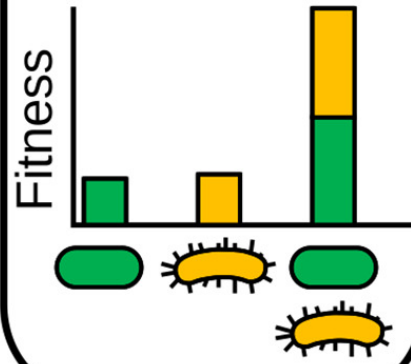
Κριτήρια για τον καθορισμό του επιμερισμού της εργασίας



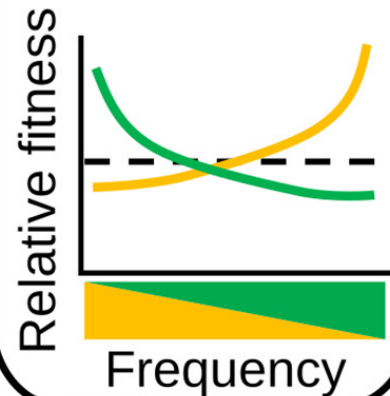
1. Λειτουργική συμπληρωματικότητα



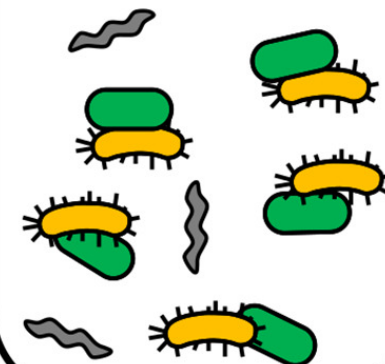
2. Συνεργιστικό πλεονέκτημα



3. Αρνητική επιλογή εξαρτώμενη της συχνότητας



4. Θετική διαλογή



Μοτίβα συνεργιστικής αλληλεπίδρασης μεταξύ των μικροοργανισμών στις μικροβιακές κοινοπραξίες

➤ ΕΠΙΜΕΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- Παράλληλη ή διαδοχική επεξεργασία των πόρων
- Αποτελεσματικότητα στη χρήση του συνόλου των διαθέσιμων πόρων
- Αυξημένη παραγωγικότητα
- Ανακύκλωση θρεπτικών συστατικών
- Σταθερότητα σε διαταραχές
- Αυξημένη εξειδίκευση ανά αντίδραση
- Μειωμένος σχηματισμός παραπροϊόντων περιορίζοντας τις αντιδράσεις σε ευνοϊκά περιβάλλοντα
- Επιτρέπει την σύγχρονη/ταυτόχρονη βελτιστοποίηση πολλαπλών εργασιών
- Χρήσιμο χαρακτηριστικό για τις διεργασίες που επιτελούνται σε πολλά βήματα όπως η διάσπαση σύνθετων υλικών

Μοτίβα συνεργιστικής αλληλεπίδρασης μεταξύ των μικροοργανισμών στις μικροβιακές κοινοπραξίες

➤ ΚΑΤΑΜΕΡΙΣΜΟΣ ΠΟΡΩΝ

- ❑ Χημικές ενώσεις που εξυπηρετούν ως πηγές άνθρακα, μετάλλων ή ενέργειας (δότες ή δέκτες ηλεκτρονίων) καταμερίζονται μεταξύ των μελών της κοινότητας με τρόπο μη ανταγωνιστικό με βάση τη μεταβολική λειτουργικότητα



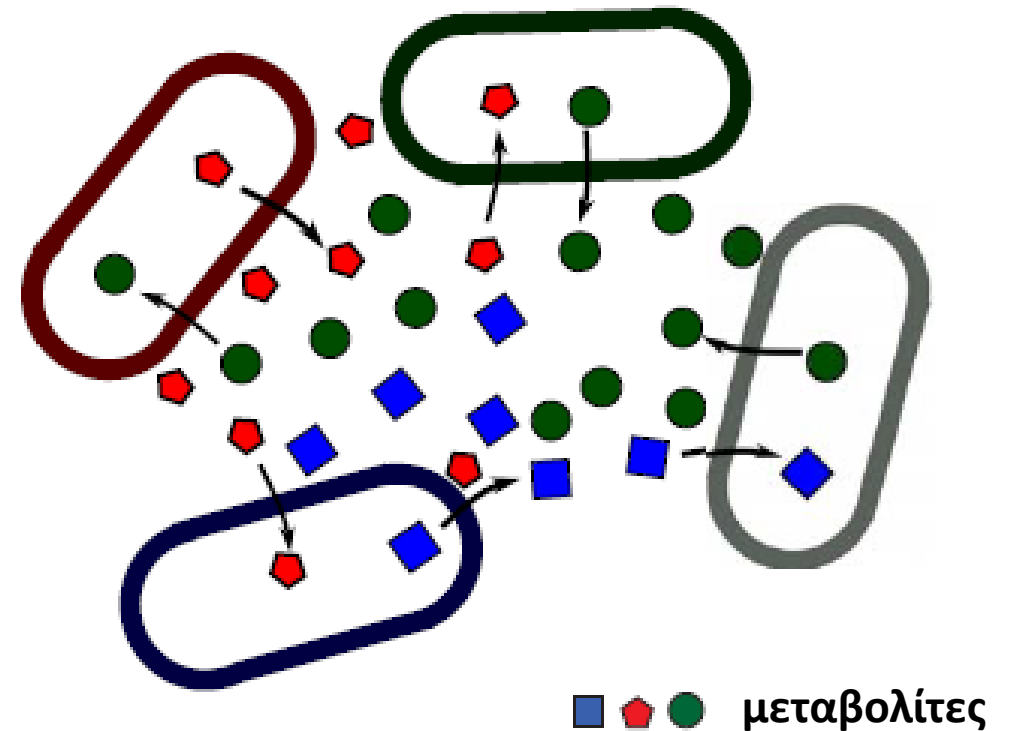
Παράλληλη επεξεργασία υποστρωμάτων

- ❑ Διασταυρωτή σίτιση (cross-feeding): μεταβολίτες που παράγονται από ένα μέλος της μικροβιακής κοινοπραξίας χρησιμοποιούνται από κάποιο άλλο μέλος, διαμέσου στρατηγικών ενεργητικής ή παθητικής πρόσληψης (π.χ. νανοσωληνίσκοι, συσσωμάτωση, διάχυση και διαμεμβρανικές πρωτεΐνες μεταφοράς)

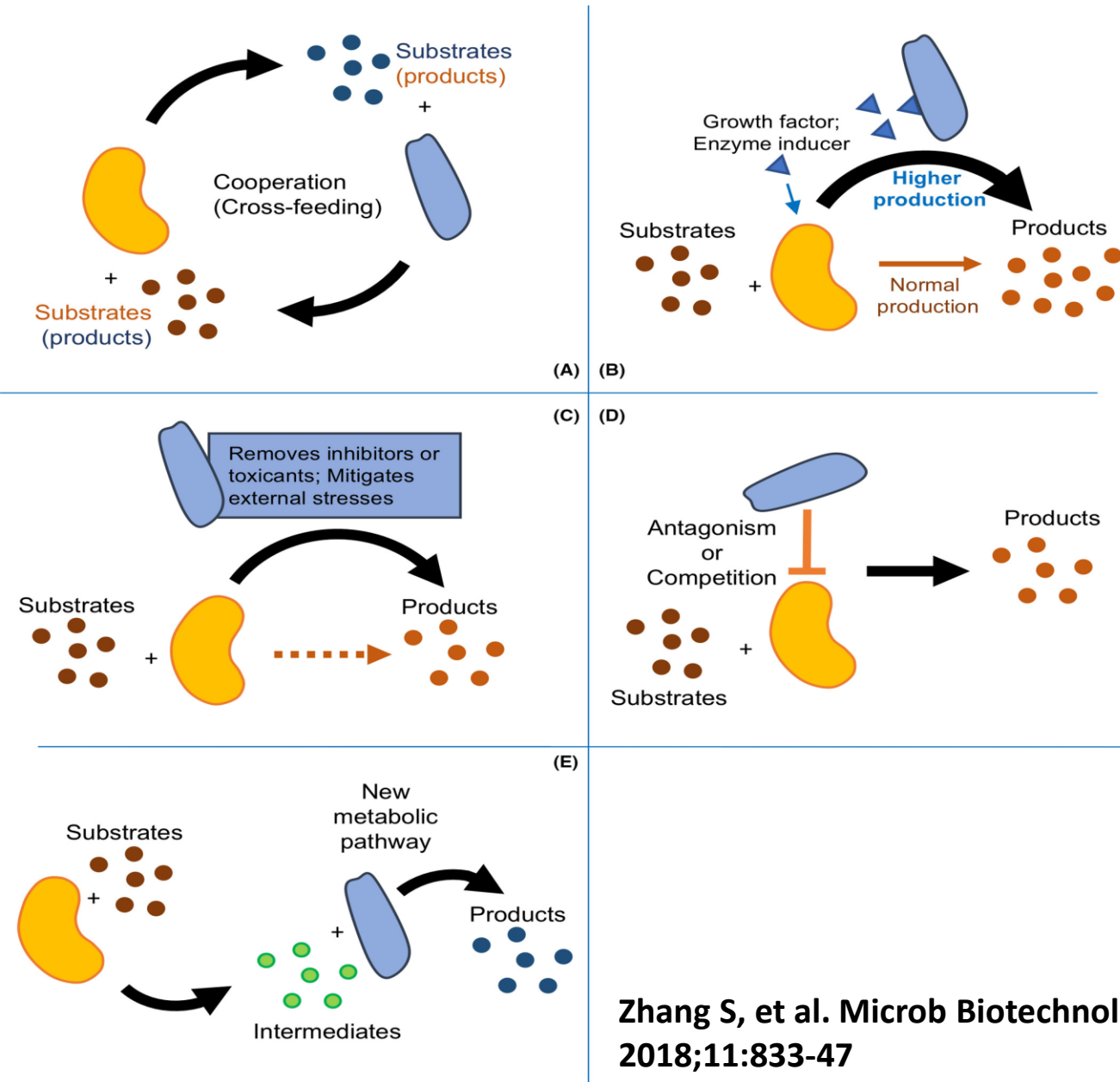
Μοτίβα συνεργιστικής αλληλεπίδρασης μεταξύ των μικροοργανισμών στις μικροβιακές κοινοπραξίες

➤ Αλληλεπιδράσεις διασταυρωτής σίτισης

- Κάποια κύτταρα της μικροβιακής κοινότητας απεκκρίνουν μεταβολίτες που μπορούν να προσληφθούν από άλλα κύτταρα οδηγώντας σε ένα **δίκτυο αλληλεπιδράσεων**



Μηχανισμοί αλληλεπίδρασης στις μικροβιακές κοινοπραξίες



A. Συνεργιστικός καταμερισμός των πόρων - διασταυρωτή σίτιση και επέκταση του εύρους των πόρων (ωφέλιμες αλληλεπιδράσεις). Η συνεργασία μέσα στη μικροβιακή κοινοπραξία μπορεί να βελτιώσει το μικροβιακό μεταβολισμό και το ίδιο ισχύει και για τον **συνεργιστικό επιμερισμό της εργασίας**

B. Τύπος συμβίωσης. Ενίσχυση της μικροβιακής αύξησης και του βιομετασχηματισμού

C. Επαυξημένη αντοχή σε παρεμποδιστές ή τοξικούς παράγοντες. Απομάκρυνση του παρεμποδιστή ή του τοξικού παράγοντα από τα συντροφικά είδη.

D. Ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις που οδηγούν στην παραγωγή ωφέλιμων μεταβολιτών και ενζύμων που δεν μπορούν να παραχθούν με διαφορετικό τρόπο.

E. Συναρμολόγηση μονοπατιών βιομετασχηματισμού. Βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητας και της ευρωστίας των κοινοπραξιών

Zhang S, et al. *Microb Biotechnol.* 2018;11:833-47

Παράγοντες που συνεισφέρουν στην σταθεροποίηση των συνεργατικών αλληλεπιδράσεων στις μικροβιακές κοινοπραξίες

- ❑ Οι μικροβιακές κοινοπραξίες αναπτύσσουν στρατηγικές για την επιβίωση τους σε ακραία περιβάλλοντα και αντίξοες συνθήκες
- ❑ Οι μικροβιακές κοινοπραξίες διατηρούν την σταθερότητα τους και ενδυναμώνουν την άμυνα τους έναντι των παραγόντων εξωτερικού στρες διαμέσου **τροποποιήσεων της φυσικής και χωροταξικής τους δομής**

Φυσικές- Χωροταξικές αλληλεπιδράσεις στις μικροβιακές κοινοπραξίες

□ Οι μικροβιακές κοινοπραξίες αλληλεπιδρούν διαμέσου:

- **Συσσωμάτωσης - Συνάθροισης**

π.χ. Χημειοτακτικές αντιδράσεις

- **Επιφανειακής φόρτισης**

π.χ. Κοινότητες μυκήτων- φυκών

- **Ακινητοποίησης**

π.χ. νηματοειδείς μικροοργανισμοί που λειτουργούν ως επιφάνειες προσρόφησης και ως πηγές θρεπτικών για την επιφανειακή προσκόλληση άλλων μικροοργανισμών

Παράγοντες που συνεισφέρουν στην σταθεροποίηση των συνεργατικών αλληλεπιδράσεων στις μικροβιακές κοινοπραξίες

- ❑ Η παραγωγή εξωκυτταρικών πολυμερών ουσιών από κύτταρα βακτηρίων, μυκήτων και φυκών προσδίδει αυξημένη αντοχή (1) σε συνθήκες περιβαλλοντικού στρες, (2) στην επίδραση πιθανών τοξινών, (3) σε επιθέσεις φάγων
- ❑ Τα εξωκυτταρικά πολυμερή λειτουργούν ως εμπόδιο προς το περιβάλλον και μπορούν να αποτελέσουν εναλλακτική πηγή ενέργειας σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών στοιχείων

Παράδειγμα: Το είδος *Fomitopsis pinicola* παράγει εξωκυτταρικά πολυμερή για να απομακρύνει τις ρίζες υδροξυλίου και να εμποδίσει την επίδραση του UV, διατηρώντας έτσι τη βιωσιμότητα και τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών που το περιβάλλουν

- ❑ Η παραγωγή εξωκυτταρικών πολυμερών μπορεί επίσης να βοηθήσει στο διαχωρισμό ενός αναερόβιου μικρό-περιβάλλοντος εμποδίζοντας την επαφή μεταξύ ανοξικών ειδών και του οξυγόνου

Παράγοντες που συνεισφέρουν στην σταθεροποίηση των συνεργατικών αλληλεπιδράσεων στις μικροβιακές κοινοπραξίες

- ❑ Η **οριζόντια γονιδιακή μεταφορά** μεταθετών γενετικών στοιχείων (π.χ. πλασμίδια, τρανσποζόνια κ.α.) αποτελεί έναν τρόπο για τη ρύθμιση και τον έλεγχο συγκεκριμένων λειτουργιών των μικροβιακών κοινοπραξιών με άμεση εισαγωγή μικροοργανισμών που περιέχουν συγκεκριμένα γονίδια, όπως για παράδειγμα γονίδια που συμμετέχουν στη βιοαποδόμηση - βιοεξυγίανση
- ❑ Ανταλλαγή γονιδίων μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί διαμέσου μικροβιακών εξωκυτταρικών δομών όπως τα νανοσύρματα

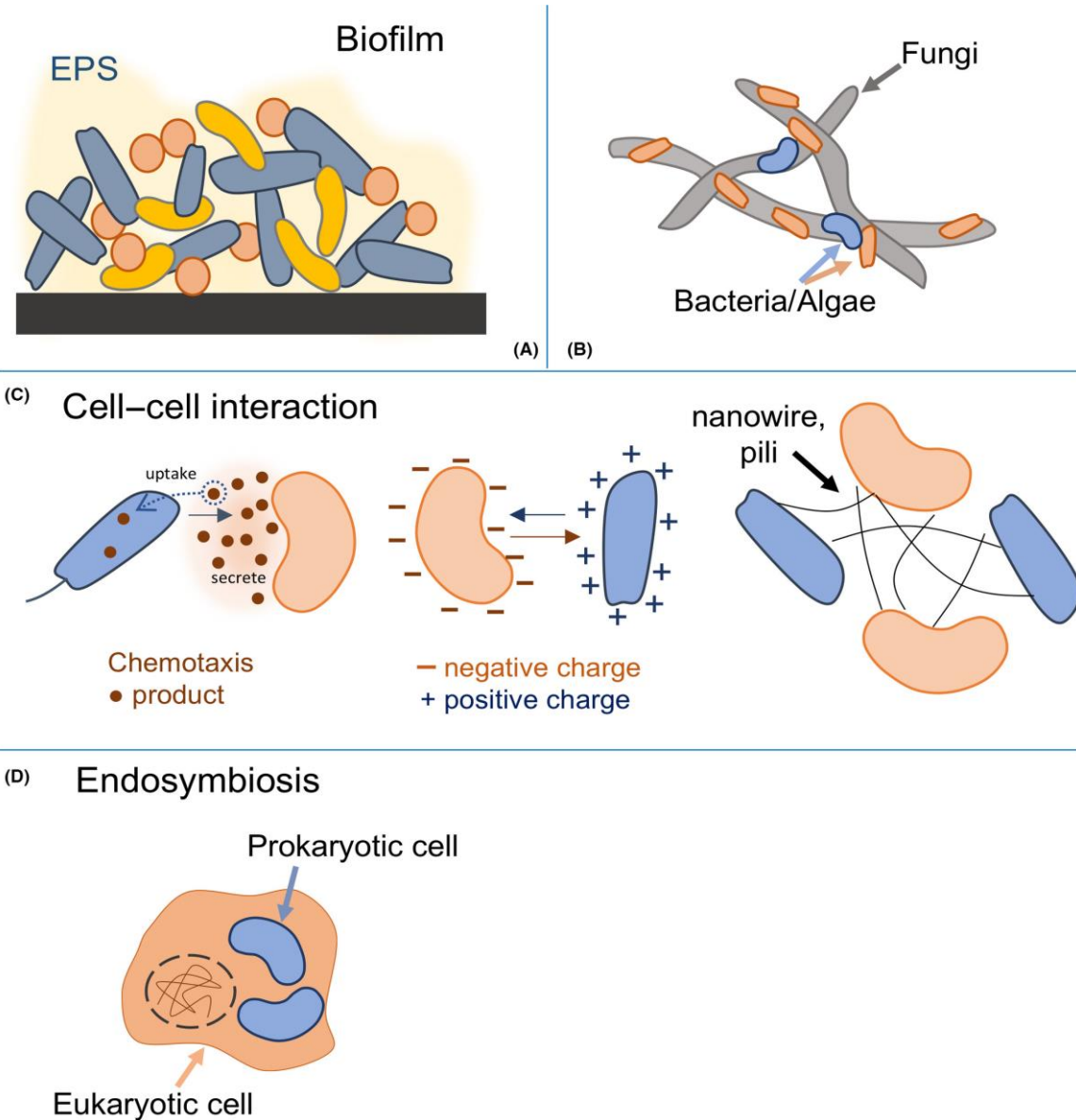
Φυσικές- Χωροταξικές αλληλεπιδράσεις στις μικροβιακές κοινοπραξίες

A. Τα βιοφίλμ είναι μικροβιακοί πληθυσμοί που περιβάλλονται από μια μάζα εξωκυτταρικών πολυμερών ουσιών και συνεντοπίζονται σε επιφάνειες ή διεπιφάνειες. Βρίσκουν εφαρμογή σε τεχνητά συστήματα βιοεπεξεργασίας και βιοτεχνολογίας

B. Συμβιωτική αλληλεπίδραση μεταξύ διαφορετικών κυττάρων συμπεριλαμβανομένων νηματοειδών ειδών (π.χ. μύκητες) και άλλων μικροοργανισμών (π.χ. βακτήρια και φύκη) με επιφανειακή επικόλληση

C. Αλληλεπίδραση κυττάρου-κυττάρου, που περιλαμβάνει: (1) χημειοτακτικές ανταποκρίσεις προκαλούμενες από μικρά μόρια που εκκρίνονται από τους μικροοργανισμούς και διαχέονται; (2) αλληλεπιδράσεις που σχετίζονται με θετικά ή αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες και (3) επικόλληση των νανοσυρμάτων/νανοσωληνίσκων μεταξύ των ειδών για τη μεταφορά απαραίτητων για την αύξηση στοιχείων και σημάτων επικοινωνίας, όπως ηλεκτρόνια και πρωτόνια

D. Ενδοσυμβίωση όπου ένα ή περισσότερα προκαρυωτικά είδη ζούν μέσα στο κύτταρο ενός ξενιστή



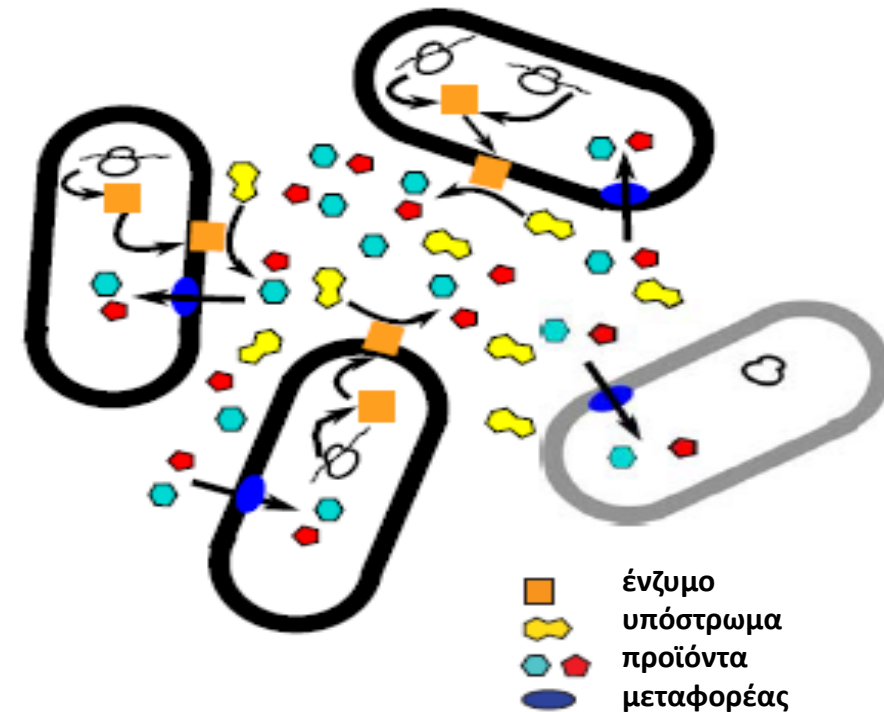
Η συμπεριφορά των “Cheaters”

- ❑ «**Cheaters**»: Ορισμένοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε βάρος άλλων μικροοργανισμών που συνεργάζονται μεταξύ τους και η παρουσία τους μπορεί να οδηγήσει σε αποσταθεροποίηση των συνεργατικών αυτών αλληλεπιδράσεων
- ❑ Η συμπεριφορά αυτή προσφέρει το πλεονέκτημα αύξησης και επιβίωσης στους μικροοργανισμούς που ζουν μεμονωμένα
- ❑ Σε περιπτώσεις εξαιρετικά υψηλής παρουσίας των μικροοργανισμών αυτών, ο πληθυσμός θα σταματήσει να παράγει επαρκή «κοινά αγαθά» - κοινόχρηστα προϊόντα
- ❑ Αν ο πληθυσμός χρειάζεται αυτά τα «κοινά αγαθά»- κοινόχρηστα προϊόντα για την αύξηση του, τότε ο συνολικός πληθυσμός σταματά να αυξάνεται και οδηγείται τελικά σε κατάρρευση
- ❑ Η συμπεριφορά αυτή έχει περιγραφεί ως μια αλληλεπίδραση μεταξύ μικροοργανισμών του ίδιου είδους. Ωστόσο, ανταγωνιστικά είδη μπορούν επίσης να εκμεταλευτούν τις μικροβιακές συνεργασίες

Η συμπεριφορά των “Cheaters” – Social cheating

➤ Αλληλεπίδραση που βασίζεται στην παραγωγή χρήσιμων κοινόχρηστων προϊόντων

- ❑ Ορισμένα κύτταρα (μαύρο χρώμα) συνεργάζονται για την παραγωγή ενός ενζύμου που απαιτείται για τη διάσπαση ενός υποστρώματος σε επιμέρους προϊόντα
- ❑ Άλλα κύτταρα (γκρι χρώμα), δεν συνεισφέρουν στην παραγωγή του ενζύμου αλλά **επωφελούνται** από την παραγωγή των κοινόχρηστων προϊόντων από τα υπόλοιπα κύτταρα



Η διακυτταρική χημική επικοινωνία ως μέσο περιορισμού της συμπεριφοράς των “Cheaters”

- ❑ Η συμπεριφορά των «cheaters» μπορεί να παρεμποδιστεί με **μείωση του ρυθμού παραγωγής κοινόχρηστων προϊόντων** με υψηλό ενεργειακό κόστος έως ότου τα θρεπτικά που απαιτούνται για την αύξηση των πληθυσμών μελών της μικροβιακής κοινοπραξίας να εξαντληθούν
- ❑ Η στρατηγική αυτή επιτυγχάνεται με **διακυτταρική χημική επικοινωνία**
- ❑ Παράδειγμα:
 - Σε αποικίες συνάθροισης του *P. aeruginosa*, οι οργανισμοί «cheaters» εκμεταλλεύονται τα κύτταρα που εκκρίνουν συνεργιστικά επιφανειοδραστικά ραμνολιπίδια (rhamnolipid biosurfactants), τα οποία και είναι απαραίτητα για τη συνάθροιση
 - Οι «cheaters» επίσης συναθροίζονται όταν βρεθούν στις αποικίες του *P. aeruginosa*
 - Η παραγωγή των ραμνολιπιδίων επιβραδύνεται μέχρι τα κύτταρα που τα παράγουν να εισέλθουν στη στατική φάση ανάπτυξης όπου το κόστος παραγωγής αυτών των ουσιών είναι χαμηλό
 - Η επιβράδυνση αυτή προκύπτει ως αποτέλεσμα της διακυτταρικής χημικής επικοινωνίας και της σχετικής διαθεσιμότητας σε άζωτο και άνθρακα και ελαχιστοποιεί τα ωφέλη των «cheaters»

Η διακυτταρική χημική επικοινωνία ως μέσο περιορισμού της συμπεριφοράς των “Cheaters”

- ❑ Η διακυτταρική χημική επικοινωνία μπορεί επίσης να σταθεροποιήσει τη συνεργασία διαμέσου ενός μηχανισμού που εμπεριέχει την επιλεκτική βλάβη των «cheaters» με επιβολή ποινής

- ❑ Αυτό συνήθως συμβαίνει διαμέσου δηλητηρίασης των από παράγοντες που παράγουν οι μικροοργανισμοί που συνεργάζονται

- ❑ **Παράδειγμα:**
 - *Burkholderia thailandensis* και ενεργοποίηση ενός συστήματος μεταφοράς και ανοσοποίησης τοξινών
 - Παραγωγή τοξινών και μεταφορά τους από ένα κύτταρο δότη σε ένα κύτταρο δέκτη με επαφή
 - Τα κύτταρα που παράγουν πρωτεΐνες ανοσοποίησης –συχνά συγγενικά με τα κύτταρα δότες– μπορούν να αμυνθούν στη δράση της τοξίνης ενώ τα υπόλοιπα σκοτώνονται

Πλεονεκτήματα μικροβιακών κοινοπραξιών

- ❑ **Επαυξημένη επικοινωνία** στο εσωτερικό ή μεταξύ των μικροβιακών πληθυσμών
- ❑ Μεγαλύτερη **αντοχή** των μικροβιακών κοινοτήτων **σε εισβολές** από άλλα είδη, συγκριτικά με τις μονοκαλλιέργειες
- ❑ Αυξημένη **σταθερότητα** σε περιόδους με **περιορισμένη διαθεσιμότητα θρεπτικών**
 - Διαθέτουν μεταβολική ποικιλότητα
 - Τα μέλη της μικροβιακής κοινότητας μοιράζονται τους παραγόμενους μεταβολίτες
- ❑ Όταν τα θρεπτικά περιορίζονται, ένας μειονοτικός πληθυσμός μπορεί να μετατραπεί στον περισσότερο ενεργό πληθυσμό

Μικροβιακές κοινοπραξίες και πρακτικές εφαρμογές

➤ Μικροβιακές κοινοπραξίες στη βιοαποδόμηση γεωργικών φαρμάκων

- ❑ Οι μικροοργανισμοί που ζουν μεμονωμένα δεν μπορούν συνήθως να αποτοξικοποιήσουν βλαβερές ουσίες. Αντίθετα η ποικιλότητα δίνει τη δυνατότητα διαμέσου συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων για τη διάσπαση ενός μεγάλου αριθμού διαφορετικών οργανικών χημικών ουσιών

Παράδειγμα:

- Ταυτόχρονη αποδόμηση των γεωργικών φαρμάκων: methyl parathion και chlorpyrifos από βακτηριακή μικροβιακή κοινοπραξία που απομονώθηκε με επιλεκτικό εμπλουτισμό από ρυπασμένα με τα γ.φ. εδάφη στην περιοχή Moravia της Κολομβίας
- Ταυτοποιήθηκαν οι μικροοργανισμοί – μέλη της μικροβιακής κοινοπραξίας: *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas putida*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Stenotrophomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Klebsiella* sp. και *Proteus* sp.
- Σε καλλιέργεια εμπλουτισμού με προσθήκη ενός από τα δυο γ.φ., η μικροβιακή κοινοπραξία μπορούσε να αποδομήσει έως 150 mg L^{-1} methyl parathion και chlorpyrifos σε 120 h. Όταν ένα μίγμα των δυο γ.φ. συγκέντρωσης 150 mg L^{-1} για το καθένα προστέθηκε στην καλλιέργεια παρατηρήθηκε μείωση 72% του methyl parathion και 39% του chlorpyrifos. Με προσθήκη γλυκόζης στο θρεπτικό μέσο της καλλιέργειας, η μικροβιακή κοινοπραξία βρέθηκε να αποδομεί ταυτόχρονα 150 mg L^{-1} των γ.φ.

Μικροβιακές κοινοπραξίες και πρακτικές εφαρμογές

➤ Μικροβιακές κοινοπραξίες στη βιοεξόρυξη

- ❑ Σημαντικός ρόλος των μικροβιακών κοινοπραξιών στη βιοέκπλυση και συγκεκριμένα στην ανάκτηση του χαλκού

Παράδειγμα:

- Ο έμμεσος μηχανισμός προϋποθέτει ότι οι χημειοαυτότροφοι μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στην οξείδωση του σιδήρου όπως *Acidithiobacillus ferrooxidans* ή *Leptospirillum ferrooxidans* παράγουν ιόντα σιδήρου διαμέσου της οξείδωσης οξειδίων του σιδήρου
- Ο χαλκοπυρίτης είναι από τα πιο ανθεκτικά ορυκτά στην έκπλυση λόγω απενεργοποίησης της διεργασίας από το σχηματισμό θειϊκών στρωμάτων. Τα στρώματα αυτά μπορούν να οξειδωθούν σε διαλυτά θειϊκά από θείο-όξειδωτικά βακτήρια όπως *Acidithiobacillus caldus* ή *Acidithiobacillus thiooxidans*
- Φυσικές μικροβιακές κοινοπραξίες αυτότροφων μικροοργανισμών που συμμετέχουν στην οξείδωση του σιδήρου και του θείου αλληλεπιδρούν σχηματίζοντας σχέσεις συμβίωσης ή αμοιβαιότητας ως προς τη χρήση του υποστρώματος

Μικροβιακές κοινοπραξίες και πρακτικές εφαρμογές

➤ Μικροβιακές κοινοπραξίες στη διαχείριση αποβλήτων

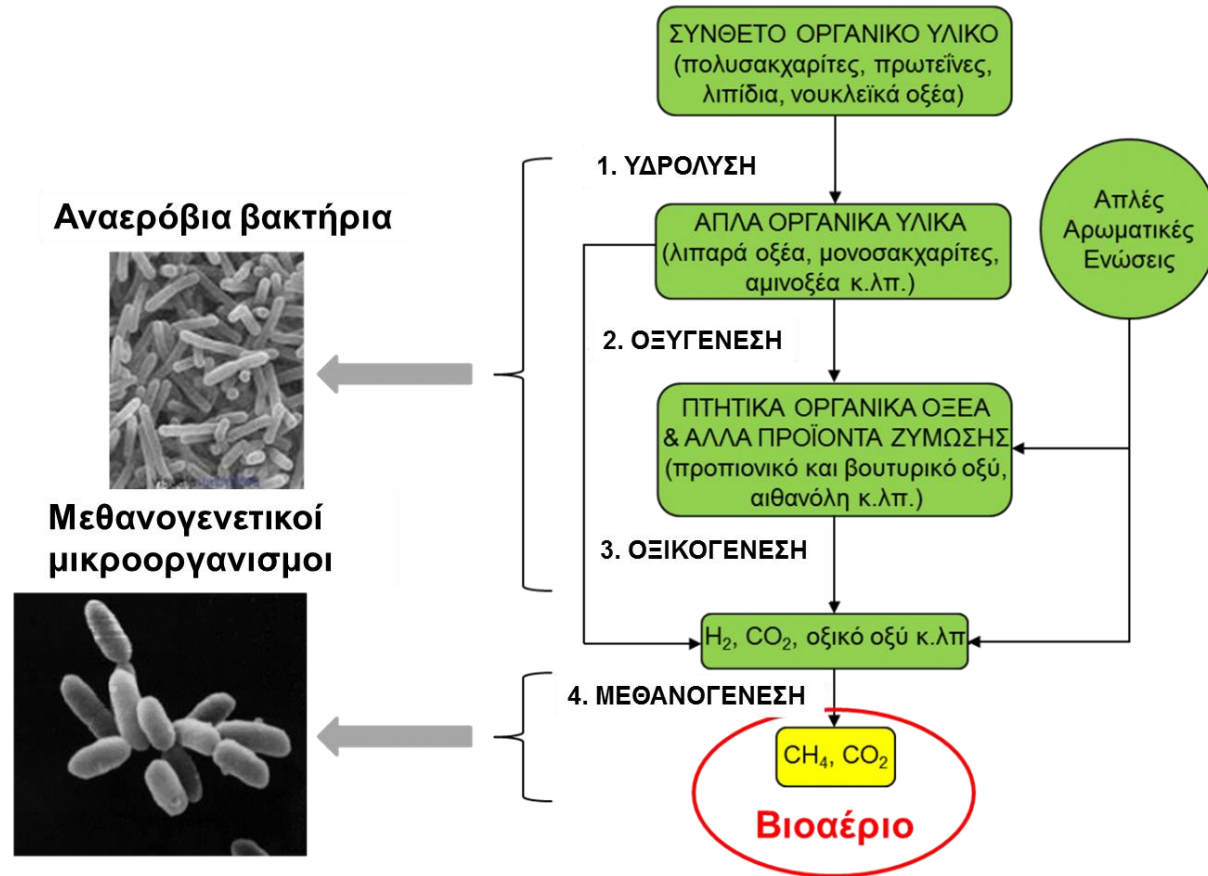
- ❑ Η οργανική ουσία των υγρών αποβλήτων που προέρχονται από βαφεία μπορεί να αποδομηθεί πλήρως διαμέσου συμμεταβολισμού μιας κοινοπραξίας βακτηρίων

Παράδειγμα:

- Βακτηριακή μικροβιακή κοινοπραξία TJ-1: 3 είδη βακτηρίων *Aeromonas caviae*, *Proteus mirabilis* και *Rhodococcus globerulus* που διαθέτουν την ικανότητα διάσπασης της χρωστικής acid orange 7 και ενός πλήθους αζωχρωστικών των υγρών αποβλήτων
- Ο ρυθμός αποχρωματισμού είναι μεγαλύτερος στην περίπτωση της κοινοπραξίας συγκριτικά με τα μεμονωμένα βακτήρια γεγονός που αποδεικνύει ότι σχηματίζονται αλληλεπιδράσεις μεταξύ των βακτηρίων
- Εφαρμογή της μικροβιακής κοινοπραξίας σε διάλυμα acid orange 7 συγκέντρωσης 200 mg/L οδήγησε σε 90% αποχρωματισμό σε 16 h

Μικροβιακές κοινοπραξίες και πρακτικές εφαρμογές

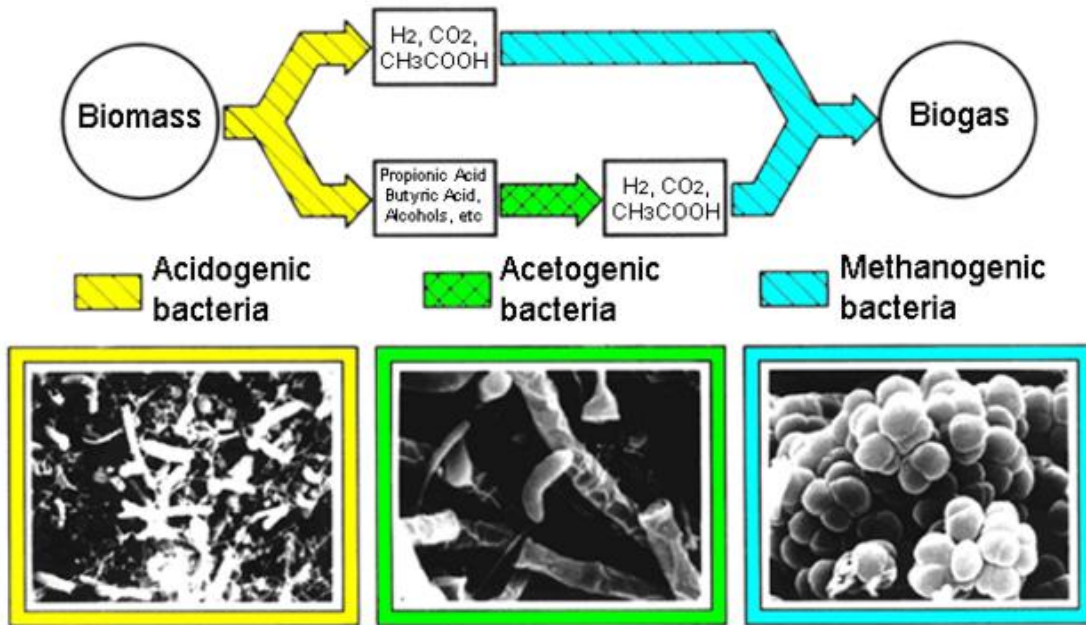
➤ Μικροβιακές κοινοπραξίες στη σύνθεση βιοαερίου κατά την αναερόβια χώνευση υγρών αποβλήτων



❑ Στο στάδιο της οξυγένεσης συμμετέχουν κυρίως αναερόβια βακτήρια του γένους *Syntrophomonas* και *Syntrophobacter* των οποίων τα ενζυμικά συστήματα βρίσκονται υπό την ρύθμιση της συγκέντρωσης H⁺ και ενεργοποιούνται σε χαμηλές συγκεντρώσεις H⁺.

Μικροβιακές κοινοπραξίες και πρακτικές εφαρμογές

➤ Μικροβιακές κοινοπραξίες στη σύνθεση βιοαερίου κατά την αναερόβια χώνευση υγρών αποβλήτων



- ❑ Οι μεθανιογόνοι και οξικογόνοι μικροοργανισμοί διαμορφώνουν μια συντροφική (αμοιβαία ευεργετική) σχέση στην οποία:
 - Οι μεθανιογόνοι χρησιμοποιούν τα τελικά προϊόντα της ζύμωσης όπως το υδρογόνο, το μυρμηκικό και το οξικό οξύ που παράγουν οι οξικογόνοι μικροοργανισμοί και τα μετατρέπουν σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα = **βιοαέριο**
- ❑ Οι μεθανιογόνοι μικροοργανισμοί καταναλώνοντας ο υδρογόνο το απομακρύνουν το από το σύστημα, επιτρέποντας έτσι στους οξικογόνους μικροοργανισμούς να λειτουργήσουν

Μικροβιακές κοινοπραξίες και πρακτικές εφαρμογές

➤ Μικροβιακές κοινοπραξίες στη βιοεπεξεργασία της κυτταρίνης σε αιθανόλη

Παράδειγμα:

- Εφαρμογή μιας συμβιωτικής συγκαλλιέργειας αποτελούμενη από το κυτταρολυτικό μεσόφιλο *Clostridium phytofermentans* και της ζύμης *Candida molischiana* ή *S. cerevisiae* cdt-1 που συμμετέχει στη ζύμωση της κυτταροδεξτρίνης για την άμεση παραγωγή αιθανόλης από την α-κυτταρίνη
- Ελεγχόμενη μεταφορά οξυγόνου πραγματοποιείται για να επιτρέψει τη συμβίωση ανάμεσα στους δύο οργανισμούς όπου η ζύμη απομακρύνει το οξυγόνο προστατεύοντας το *C. phytofermentans*, με αντάλλαγμα τους διαλυτούς υδρογονάνθρακες που ελευθερώνονται από την κυτταρίνη
- Οι συμβιωτικές συγκαλλιέργειες παρέμειναν σταθερές για 2 μήνες υδρολύοντας την κυτταρίνη υπό ημιαερόβιες συνθήκες παράγοντας αιθανόλη από α-κυτταρίνη διαμέσου ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης
- Η προσθήκη κυτταρίνης = 400 mg/L στη συγκαλλιέργεια βελτίωσε την παραγωγή αιθανόλης κατά 2 φορές συγκριτικά με μονοκαλλιέργεια του *S. cerevisiae* και κατά 4 φορές περίπου συγκριτικά με τις μονοκαλλιέργειες του *C. phytofermentans* αποδίδοντας τελικά περίπου 22 g αιθανόλης /L σε 400 ώρες

Μικροβιακές κοινοπραξίες και πρακτικές εφαρμογές

➤ Μικροβιακές κοινοπραξίες στη βιοαποδόμηση των προϊόντων πετρελαίου

- ❑ Οι πετρελαϊκοί υδρογονάνθρακες δεν αποδομούνται εύκολα. Μεμονωμένοι οργανισμοί μπορούν να μεταβολίσουν μόνο περιορισμένες ποσότητες υδρογονανθράκων. Μικτοί μικροβιακοί πληθυσμοί απαιτούνται για την αύξηση του ρυθμού βιοαποδόμησης των προϊόντων πετρελαίου
- Τα πιο κοινά είδη βακτηρίων που χρησιμοποιούνται στη βιοαποκατάσταση προϊόντων βενζολίου είναι: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Gammaproteobacteria* και *Marinobacter*
- Άλλα είδη βακτηρίων που βρέθηκε να συμμετέχουν στη βιοαποδόμηση πετρελαίου ντίζελ περιλαμβάνουν τα: *Pseudomonas aeruginosa* και *Staphylococcus aureus*

Παράδειγμα: Μικροβιακή κοινοπραξία αποτελούμενη από 3 βακτηριακά στελέχη με ικανότητα αποδόμησης υδρογονανθράκων *B. subtilis* DM-04 και *P. aeruginosa* M και NM βρέθηκε να αποδομεί βενζόλιο, τολουένιο και ξυλένιο με υψηλότερο ρυθμό συγκριτικά με το ρυθμό αποδόμησης τους από τη χρήση των παραπάνω στελεχών μεμονωμένα

Μεθοδολογικές προσεγγίσεις για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων στις μικροβιακές κοινοπραξίες

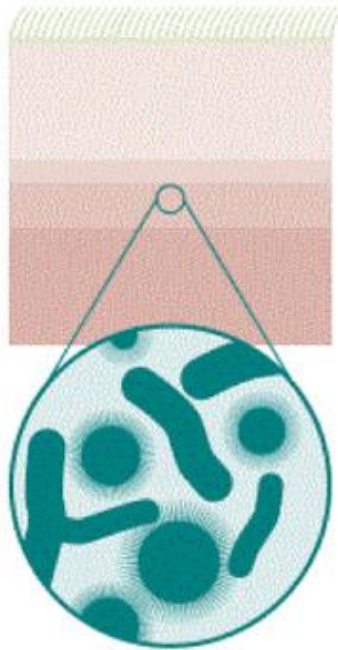
➤ Ταυτοποίηση των μελών της μικροβιακής κοινοπραξίας

- Απομόνωση των μελών της μικροβιακής κοινοπραξίας, και εμπλουτισμός σε μονοκαλλιέργεια ή συγκαλλιέργεια
 - Με παραδοσιακές μεθόδους όπως π.χ. η επίστρωση σε τρυβλίο
 - Με τη χρήση προηγμένων τεχνολογιών όπως π.χ. iChip → δυνατότητα απομόνωσης μη καλλιεργούμενων μικροοργανισμών
- Πραγματοποίηση στοχευμένων πειραμάτων και αλληλούχιση του γονιδιώματος προκειμένου να ταυτοποιηθεί η σύσταση της μικροβιακής κοινοπραξίας και η ταυτότητα των μικροοργανισμών που ευθύνονται για την παραγωγή συγκεκριμένων μεταβολιτών, λειτουργιών και αλληλεπιδράσεων

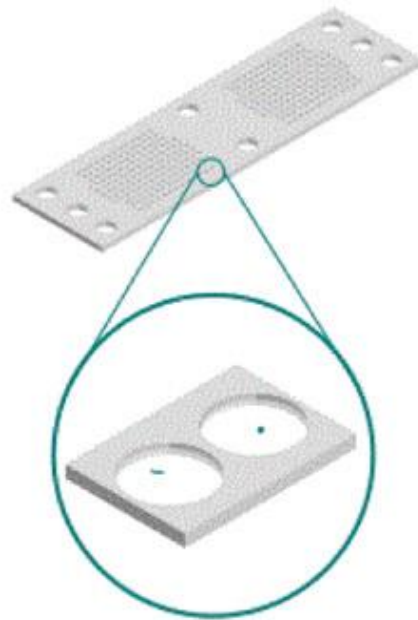
Μεθοδολογικές προσεγγίσεις για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων στις μικροβιακές κοινοπραξίες

Growing the ungrowable

1 Billions of bacteria live in soil, but many cannot be grown in the laboratory



2 One soil bacterium is placed in each sealed pod



3 The whole chip is buried in soil



Isolation Chip

Μεθοδολογικές προσεγγίσεις για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων στις μικροβιακές κοινοπραξίες

➤ Ταυτοποίηση των παραγόμενων μεταβολιτών

□ Με τη χρήση:

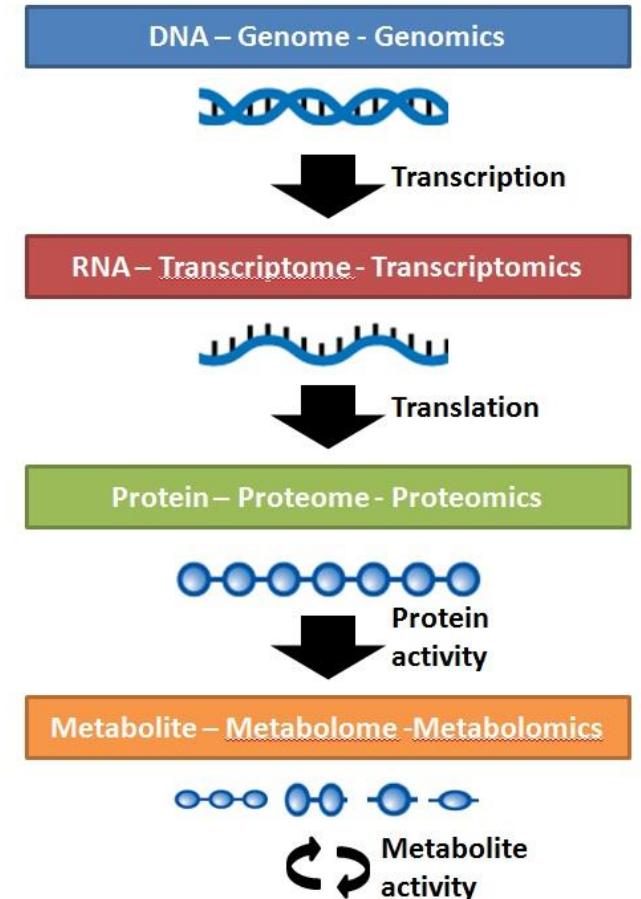
- Υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης/απόδοσης (HPLC)
- Υγρής χρωματογραφίας διπλής φασματομετρίας (LC-MS/MS)
- Φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)
- Άλλες αναδυόμενες τεχνικές όπως η φασματοσκοπία μάζας με τη μορφή απεικόνισης (MSI), η φασματομετρία μαζών δευτερογενούς ιόντος (SIMS) και η φασματοσκοπία Raman

Μεθοδολογικές προσεγγίσεις για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων στις μικροβιακές κοινοπραξίες

➤ Μετα-ομικές αναλύσεις

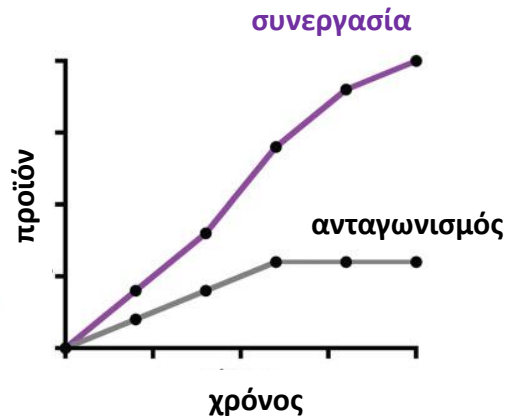
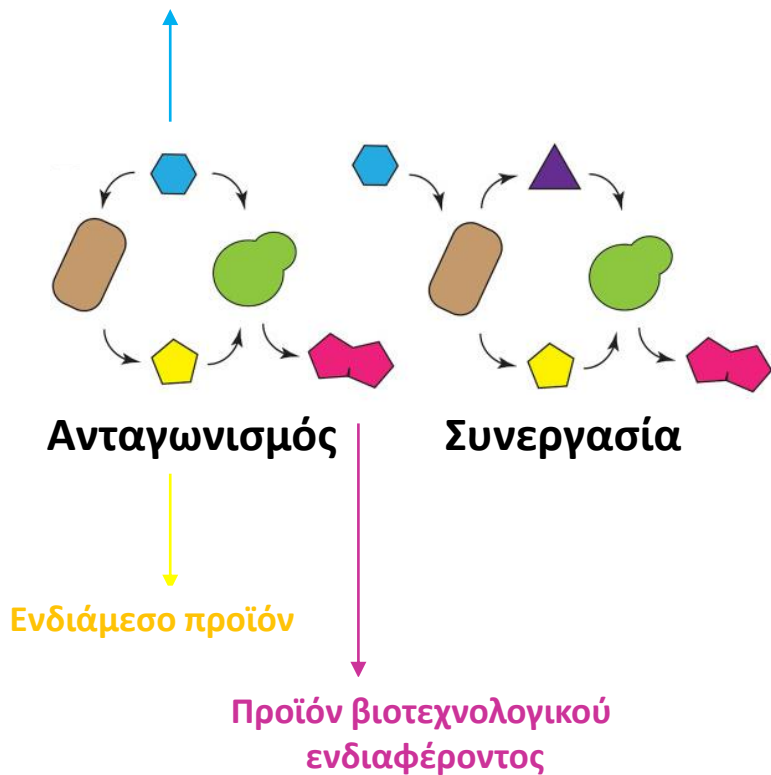
☐ Χρήση προηγμένων τεχνικών της μοριακής βιολογίας και του μικροβιακού μεταβολισμού όπως:

- Μεταγονιδιωματική
- Μεταγραφωμική
- Μεταβολομική



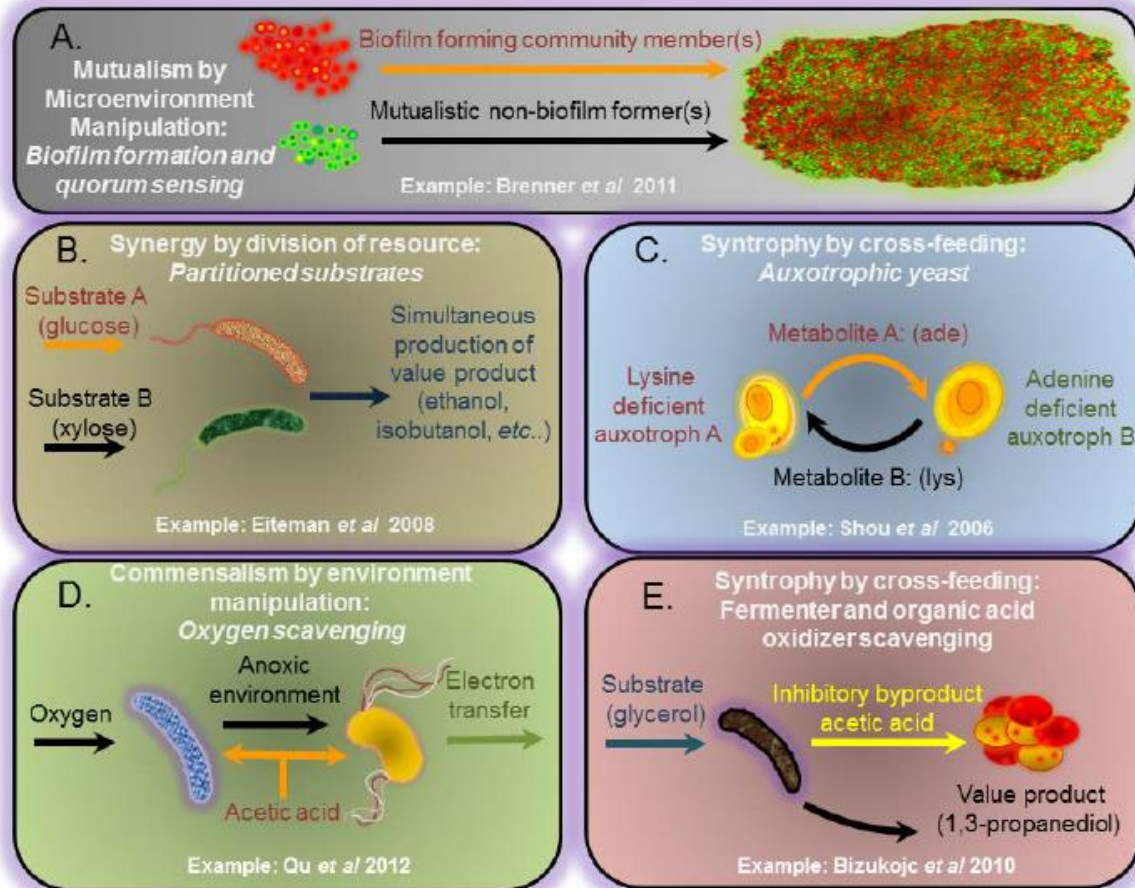
Οι συνθετικοί πληθυσμοί μπορούν να βελτιώσουν τις βιολογικές διεργασίες

Κοινός περιοριστικός πόρος



- Δυο διαφορετικά στελέχη αλληλεπιδρούν ώστε να επιτελέσουν τη σύνθεση ενός **προϊόντος βιοτεχνολογικού ενδιαφέροντος**, που δεν μπορεί να προκύψει από κανέναν από τους δύο οργανισμούς χωριστά
- Το ένα από τα δύο στελέχη παράγει ένα **ενδιάμεσο προϊόν**, που χρησιμοποιείται από το δεύτερο στέλεχος για τη σύνθεση του τελικού προϊόντος
- Αν τα δύο στελέχη ανταγωνίζονται για **κοινούς πόρους** (π.χ. μια πηγή άνθρακα) ο πληθυσμός με τη χαμηλότερη προσαρμοστική ικανότητα θα εξαφανιστεί σταδιακά
- Αν ωστόσο οι δύο αυτοί πληθυσμοί κατασκευαστούν **συνθετικά** έτσι ώστε ο ένας να αυξάνεται με τα προϊόντα που παράγει ο άλλος (π.χ. διαμέσου διασταυρωτής σίτισης ή συντροφιάς), οι δυο πληθυσμοί θα **συνεργαστούν** και η σύνθεση του προϊόντος βιοτεχνολογικού ενδιαφέροντος θα έχει μεγαλύτερη χρονική διάρκεια και θα παραχθεί σε μεγαλύτερες αποδόσεις

Παραδείγματα συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροοργανισμών σε συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες



A) ΑΜΟΙΒΑΙΟΤΗΤΑ

B) ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΟΣ ΚΑΤΑΜΕΡΙΣΜΟΣ ΠΟΡΩΝ

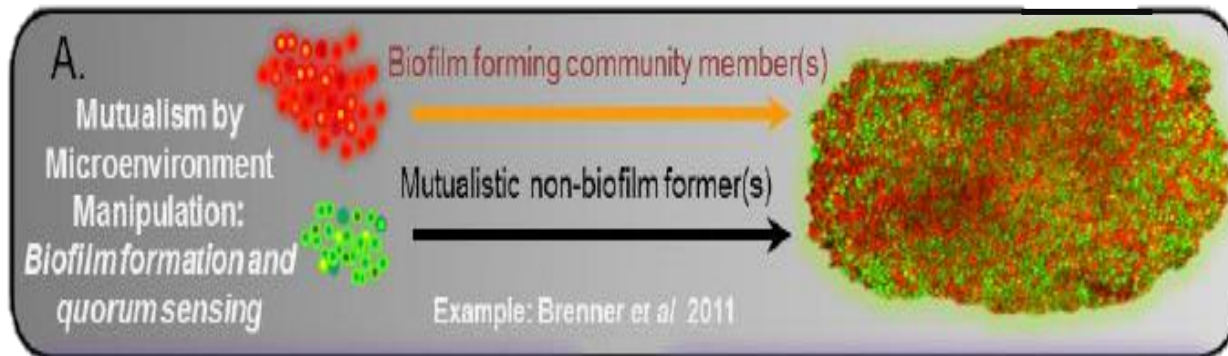
C) ΣΥΝΤΡΟΦΙΚΗ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΤΗ ΣΙΤΙΣΗ

D) ΣΥΜΒΙΩΣΗ

E) ΣΥΝΤΡΟΦΙΚΗ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΤΗ ΣΙΤΙΣΗ

Παραδείγματα συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροοργανισμών σε συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες

A) Παράδειγμα αμοιβαιότητας με χειρισμό του μικροπεριβάλλοντος και σχηματισμό βιοφίλμ

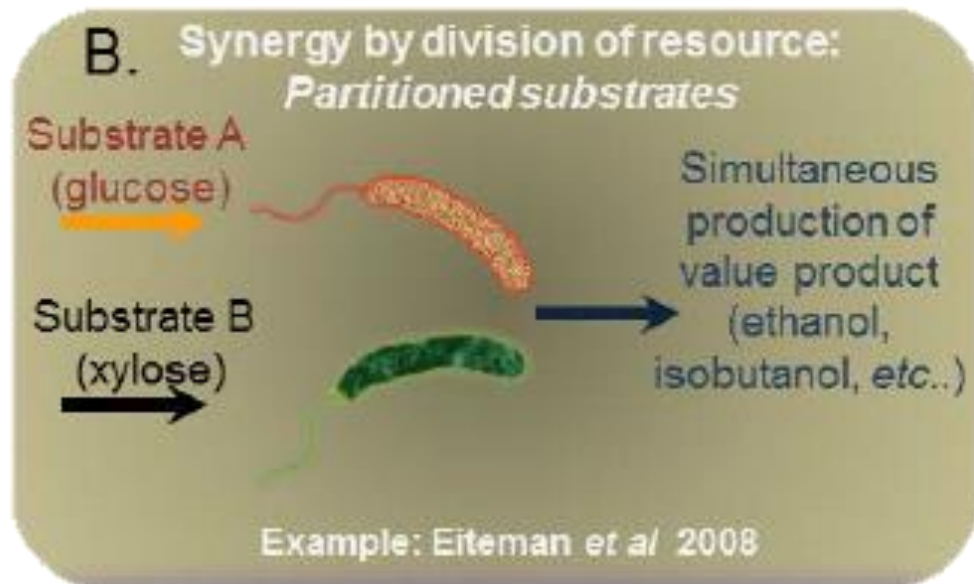


□ Συμβιωτική μικροβιακή κοινοπραξία που αποτελείται από δύο συνθετικούς πληθυσμούς *Escherichia coli* που δεν είναι βιώσιμοι όταν αναπτύσσονται ξεχωριστά, αλλά μπορούν να αυξηθούν και να σχηματίσουν βιοφίλμ όταν αναπτύσσονται μαζί

- Ο πρώτος πληθυσμός μπορεί να σχηματίσει βιοφίλμ αλλά δε μπορεί να συνθέσει μια σειρά από μεταβολίτες κρίσιμους για την κυτταρική αύξηση και διαίρεση
- Ο δεύτερος πληθυσμός δε μπορεί να σχηματίσει βιοφίλμ
- Η μεταξύ τους επικοινωνία επιτυγχάνεται διαμέσου ενός μηχανισμού διακυτταρικής χημικής επικοινωνίας (quorum sensing)

Παραδείγματα συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροοργανισμών σε συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες

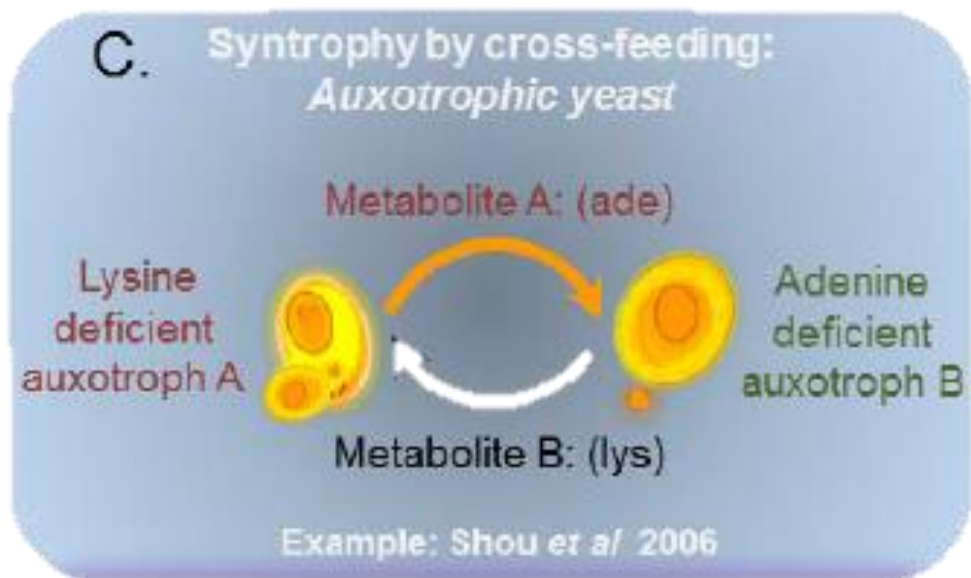
B) Παράδειγμα συνεργισμού που βασίζεται σε καταμερισμό των πόρων = κοινοπραξιακή συν-ζύμωση εξοζών και πεντοζών



- Δυο στελέχη of *Escherichia coli* επιλεκτικά ως προς το υπόστρωμα ανάπτυξης:
 - A. Επιλεκτικό ως προς τη γλυκόζη – δεν καταναλώνει ξυλόζη
 - B. Επιλεκτικό ως προς την ξυλόζη- δεν καταναλώνει γλυκόζη
- Συνδιασμός των δυο στελεχών οδηγεί σε ταχύτερη ταυτόχρονη κατανάλωση ξυλόζης και γλυκόζης

Παραδείγματα συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροοργανισμών σε συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες

C. Παράδειγμα συντροφικής διασταυρωτής σίτισης σε συνθετικές αυξοτροφικές συγκαλλιέργειες



- Δύο γενετικά τροποποιημένα στελέχη της ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* (nonmating strains) με διαφορετικές μεταβολικές ικανότητες => συμπεριφέρονται σαν διαφορετικά είδη
- **Στέλεχος A:** συνθέτει λυσίνη σε φυσιολογικά επίπεδα αλλά απαιτεί αδενίνη για την αύξηση του
- **Στέλεχος B:** συνθέτει αδενίνη σε φυσιολογικά επίπεδα αλλά απαιτεί λυσίνη για την αύξηση του
- Τα δυο στελέχη μπορούν να πολλαπλασιαστούν σε μονοκαλλιέργειες με προσθήκη αδενίνης και λυσίνης, αντίστοιχα

Παραδείγματα συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροοργανισμών σε συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες

D. Παράδειγμα συμβίωσης/ συσσιτισμού με χειρισμό του περιβάλλοντος : κατανάλωση οξυγόνου



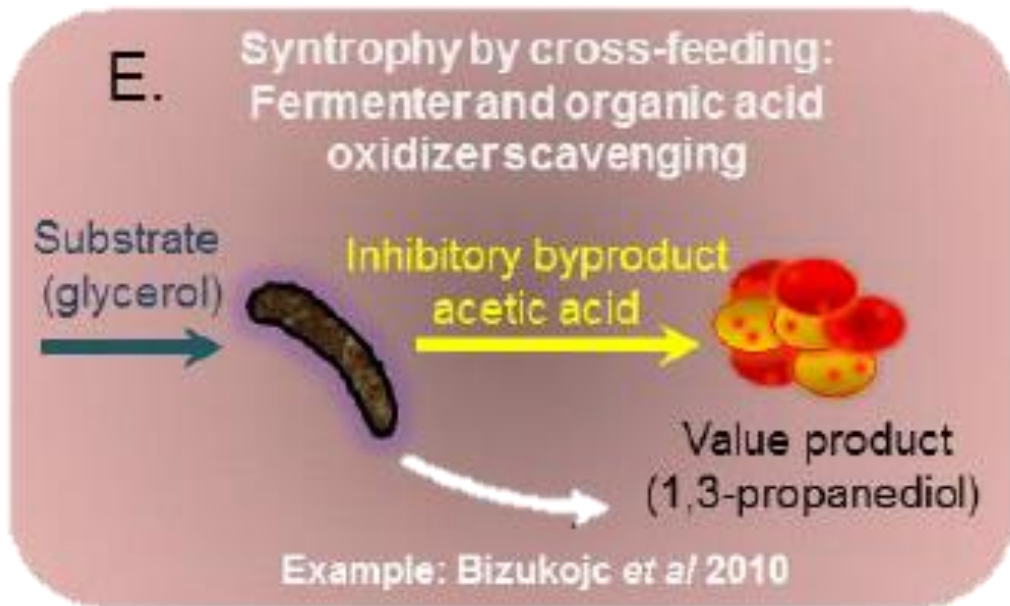
- Η κατανάλωση οξυγόνου από το *Escherichia coli* (μπλε) υπόβοηθά την εξωηλεκτρογόνο δραστηριότητα του *Geobacter sulfurreducens* (πορτοκαλί) δημιουργώντας ανοξικό περιβάλλον



Βελτιστοποίηση της απόδοσης του συστήματος

Παραδείγματα συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροοργανισμών σε συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες

Ε. Παράδειγμα συντροφιάς με συνδιασμό διασταυρωτής σίτισης και αποτοξικοποίηση οργανικού οξέος



- Το *Clostridium butyricum* μπορεί να μετατρέψει τη γλυκερόλη σε 1,3-propanediol, παράγοντας ταυτόχρονα οξικό, φορμικό και βουτυρικό οξύ, ως παραπροϊόντα, τα οποία και λειτουργούν ως παρεμποδιστές για την αύξηση του
- Μικτή καλλιέργεια αποτελούμενη από το *C. butyricum* και το μεθανοβακτήριο *Methanosarcina mazei* => μείωση της παρεμπόδισης και χρήση των παραπροϊόντων για την παραγωγή ενέργειας

Προκλήσεις στη Σύνθεση Μικροβιακών Κοινοπραξιών

- ❑ Έλεγχος της συμπεριφοράς πολλαπλών μικροβιακών πληθυσμών που αλληλεπιδρούν
- ❑ Διατήρηση της ομοιόστασης. Οι φυσικές μικροβιακές κοινοπραξίες μπορούν και διατηρούν την ομοιόσταση των μελών τους: δεν υπερισχύουν έναντι των άλλων μελών και δεν εξαντλούν τους πόρους στο περιβάλλον τους. Ωστόσο, είναι δύσκολο να καθοριστεί μακροπρόθεσμα η ομοιόσταση σε μια συνθετική μικροβιακή κοινοπραξία καθώς η μακροπρόθεσμη συμπεριφορά και η μακροπρόθεσμη γενετική σύνθεση σε συνθετικούς οργανισμούς δεν μπορεί να προβλεφθεί και η συμπεριφορά τους πρέπει να βρίσκεται υπό παρακολούθηση
- ❑ Οριζόντια γονιδιακή μεταφορά. Συνηθισμένο φαινόμενο τη φύση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες να πρέπει να λειτουργούν ανεξάρτητα από την οριζόντια γονιδιακή μεταφορά ή ακόμα και να την εκμεταλεύονται

Προκλήσεις στη Σύνθεση Μικροβιακών Κοινοπραξιών

- Ανάπτυξη μεθόδων για την ενσωμάτωση σταθερών αλλαγών στο γονιδίωμα μικροοργανισμών χωρίς τη χρήση τεχνικών συνθετικής βιολογίας

Παράδειγμα: Είδη του γένους *Clostridium* (π.χ. το είδος *Clostridium thermocellum*, για το οποίο δεν έχουν αναπτυχθεί πρωτόκολλα κλωνοποίησης και το είδος *Clostridium acetobutylicum*, για το οποίο υπάρχουν δύσκολα και απαιτητικά πρωτόκολλα) σχηματίζουν μικροβιακές κοινοπραξίες με άλλους μικροοργανισμούς και εκκρίνουν με φυσικό τρόπο κυτταρινάσες

Απαραίτητη στις συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες είναι η **τελειοποίηση της δράσης πολλαπλών πληθυσμών**

- Τεχνικές όπως η κατευθυνόμενη εξέλιξη μπορούν να βελτιστοποιήσουν τη συμπεριφορά μεμονωμένων πληθυσμών για την εφαρμογή τους σε πολλαπλούς πληθυσμούς και περιβάλλοντα

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- ❑ Οι μικροβιακές κοινοπραξίες απαντώνται συχνότερα στη φύση συγκριτικά με τις μονοκαλλιέργειες
- ❑ Η σύνθεση νέων μικροβιακών κοινοπραξιών με βάση τις ήδη υπάρχουσες στη φύση έχει δημιουργήσει νέες προοπτικές στον τομέα της διαχείρισης του περιβάλλοντος
- ❑ Σήμερα υπάρχει η δυνατότητα της επιλογής από ένα μεγάλο εύρος μικροβίων από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές και υπάρχει δυναμική για πρόσθετα συνεργιστικά αποτελέσματα που δεν έχουν ακόμα διερευνηθεί και μπορεί να προκύψουν σαν τεχνητές συνθετικές μικροβιακές κοινοπραξίες που δεν απαντώνται στη φύση
- ❑ Η σύνθεση μικροβιακών κοινοπραξιών από είδη που υπάρχουν στη φύση έχει επιπλέον ενδιαφέρον γιατί οι κοινοπραξίες αυτές δεν μπορούν να θεωρηθούν τροποποιημένες και μέχρι στιγμής η στρατηγική αυτή δεν περιορίζεται από κάποιο νομοθετικό πλαίσιο