

ΕΙΔΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΑΛΕΞΗ 4 – ΜΕΡΟΣ Α

Το μικροβίωμα εντόμων, φυτών και ζώων

ΡΟΛΟΣ, ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕ ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ

ΔΙΔΑΣΚΟΥΣΑ: ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ

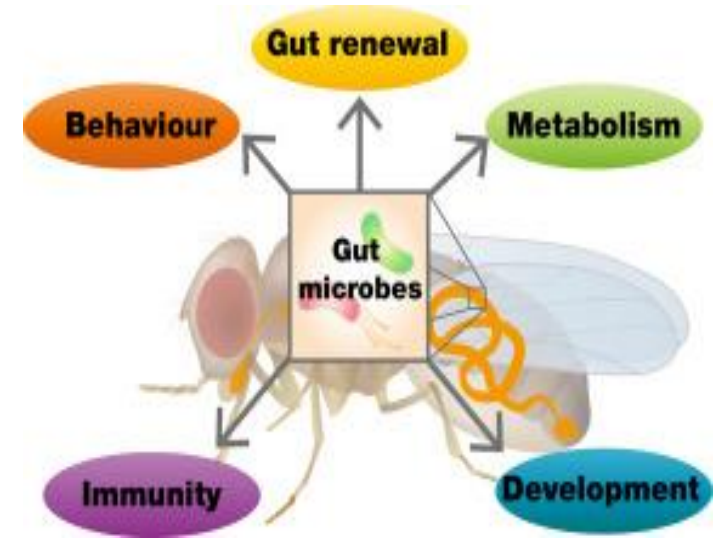
Το μικροβίωμα των εντόμων

- ❑ Τα έντομα αποτελούν μια ιδιαίτερος ετερογενή ομάδα οργανισμών και σημαντικό κομμάτι του οικοσυστήματος
- ❑ Έντομα επιβλαβή για τον άνθρωπο: εχθροί των καλλιεργούμενων ή δασικών φυτών, εχθροί αποθηκευμένων προϊόντων ή εχθροί υγειονομικής σημασίας
- ❑ Όπως όλοι οι υπόλοιποι οργανισμοί σχηματίζουν σχέσεις αλληλεπίδρασης με μικροοργανισμούς που επηρεάζουν σημαντικά την οικολογία και την εξέλιξη τους
- ❑ Μικροοργανισμοί όπως βακτήρια, αρχαία, μύκητες, πρωτόζωα, ιοί μπορούν να συσχετίζονται με τα έντομα ξενιστές τους μόνιμα ή παροδικά και οι σχέσεις αυτές μπορούν να είναι επιβλαβείς ή επωφελείς για την προσαρμοστική ικανότητα των εντόμων



Το μικροβίωμα των εντόμων

- Για παράδειγμα οι ενδοσυμβιώτες τείνουν να εξαρτώνται από τα έντομα ξενιστές τους για την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών, ενώ παράλληλα παρέχουν προσαρμοστικό πλεονέκτημα που σχετίζεται με τη θρέψη, την άμυνα έναντι παθογόνων, παρασίτων και άλλων περιβαλλοντικών στρεσογόνων παραγόντων
- Ωστόσο, οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορεί να είναι και παθογόνοι επιδρώντας στη βιωσιμότητα και προκαλώντας θνησιμότητα στον ξενιστή



□ Οι ενδοσυμβιωτικές σχέσεις μπορούν να έχουν και κόστος στη φυσιολογία

Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Κατηγορίες ενδοσυμβίωσης στα έντομα

- ❑ **Υποχρεωτική ενδοσυμβίωση:** Τα έντομα και το μικροβίωμα τους έχουν αναπτύξει μια υποχρεωτική σχέση αμοιβαιότητας, απαραίτητη για την επιβίωση τους
 - Οι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί είναι μητρικά κληρονομούμενοι - **μεταδίδονται κάθετα** και βρίσκονται σε ειδικά διαμορφωμένα κύτταρα-όργανα που σχηματίζουν οι ξενιστές τους, τα βακτηριώματα (bacteriomes)
 - ✓ Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν τα είδη *Buchnera aphidicola* με τις αφίδες, *Wigglesworthia* sp. με τις μύγες τσετσε, *Carsonella ruddii* με τους ψύλλους και *Blochmannia* sp. με τα μυρμήγκια ξύλου
- ❑ **Προαιρετική ενδοσυμβίωση:** Οι οργανισμοί μπορούν να επιβιώσουν ανεξάρτητα
 - Οι προαιρετικά συμβιωτικοί μικροοργανισμοί **μεταδίδονται τόσο κάθετα όσο και οριζόντια** μεταξύ διαφορετικών ειδών
 - ✓ Βακτήρια του γένους *Wolbachia* και τα έντομα ξενιστές τους
- ❑ Εντός του ξενιστή, οι ενδοσυμβιωτικοί μικροοργανισμοί απαντούν είτε **ενδοκυττάρια** σε διαφορετικά είδη ιστών και οργάνων (μεταξύ αυτών και στα αναπαραγωγικά όργανα) είτε **εξωκυττάρια** (π.χ. στην αιμόλεμφο, στα μεσοκυττάρια διαστήματα)

Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Το μικροβίωμα του εντέρου (μικροοργανισμοί του πεπτικού σωλήνα των εντόμων)

- ❑ Ο πεπτικός σωλήνας των εντόμων εκτιμάται ότι περιλαμβάνει 10 φορές περισσότερους μικροοργανισμούς από ότι κύτταρα και 100 φορές περισσότερα γονίδια μικροοργανισμών συγκριτικά με τα γονίδια του εντόμου
- ❑ **Ορισμένοι** από τους μικροοργανισμούς του εντέρου έχουν **επωφελή ρόλο** για τους ξενιστές τους
- ❑ Το μικροβίωμα του εντέρου των εντόμων παίζει σημαντικό ρόλο για την αύξηση, την ανάπτυξη και την προσαρμογή των εντόμων ξενιστών στις περιβαλλοντικές συνθήκες:
 - βελτιώνοντας τη **διαθεσιμότητα θρεπτικών** στοιχείων και την **πέψη** δύσκολα αποδομήσιμων υλικών
 - **προστατεύοντας** τα έντομα από προσβολές από παράσιτα
 - παίζοντας καθοριστικό ρόλο στη **σύζευξη και αναπαραγωγή** των εντόμων
 - ελέγχοντας διάφορα άλλα **φυσιολογικά χαρακτηριστικά** των εντόμων

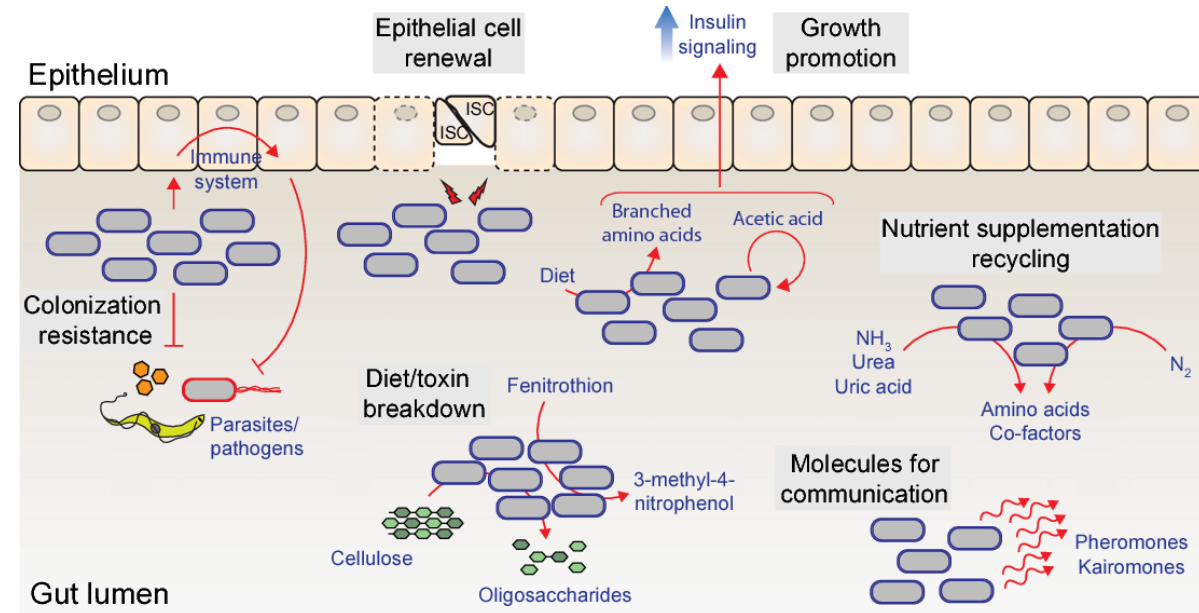
Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Το μικροβίωμα του εντέρου

□ Γνωστές λειτουργίες των μικροβιώματος του πεπτικού σωλήνα των εντόμων

- **Ανθεκτικότητα στον αποικισμό από παθογόνα ή παράσιτα**
 - ✓ βομβίνοι, *Bombus terrestris*, ακρίδα της ερήμου, *Schistocerca gregaria* και διάφορα είδη κουνουπιών
- **Ανανέωση των επιθηλιακών κυττάρων του εντέρου και προώθηση της αύξησης**
 - ✓ *Drosophila melanogaster*
- **Πέψη τροφής** : Διάσπαση κυτταρίνης και μικροβίωμα του οπίσθιου εντέρου των τερμιτών
- **Διάσπαση τοξινών που λαμβάνουν τα έντομα μέσω διατροφής**

Π.χ. Το εντομοκτόνο fenitrothion υδρολύεται σε 3-methyl-4-nitrophenol από βακτήρια του γένους *Burkholderia* συμβιώτη του εντέρου της βρωμούσας *Riptortus pedestris*



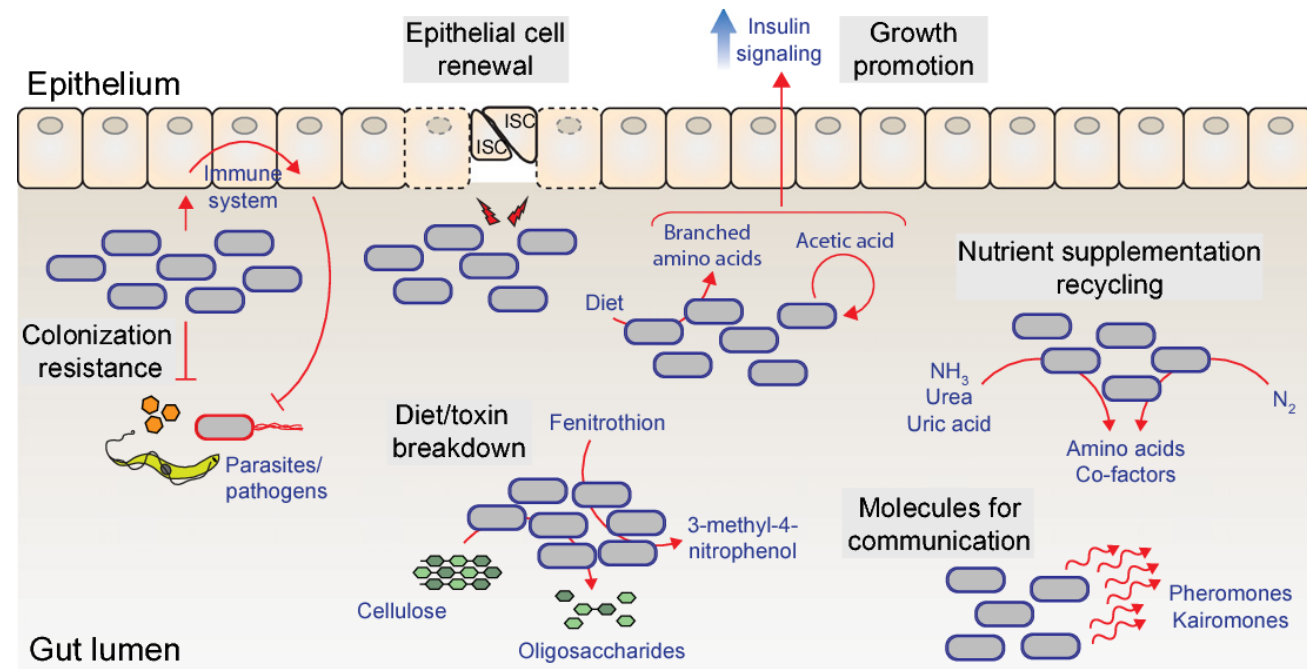
Engel and Moran, 2013, *FEMS Microbiology Reviews*, 37: 699-735

Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Το μικροβίωμα του εντέρου

□ Γνωστές λειτουργίες των μικροβιώματος του πεπτικού σωλήνα των εντόμων

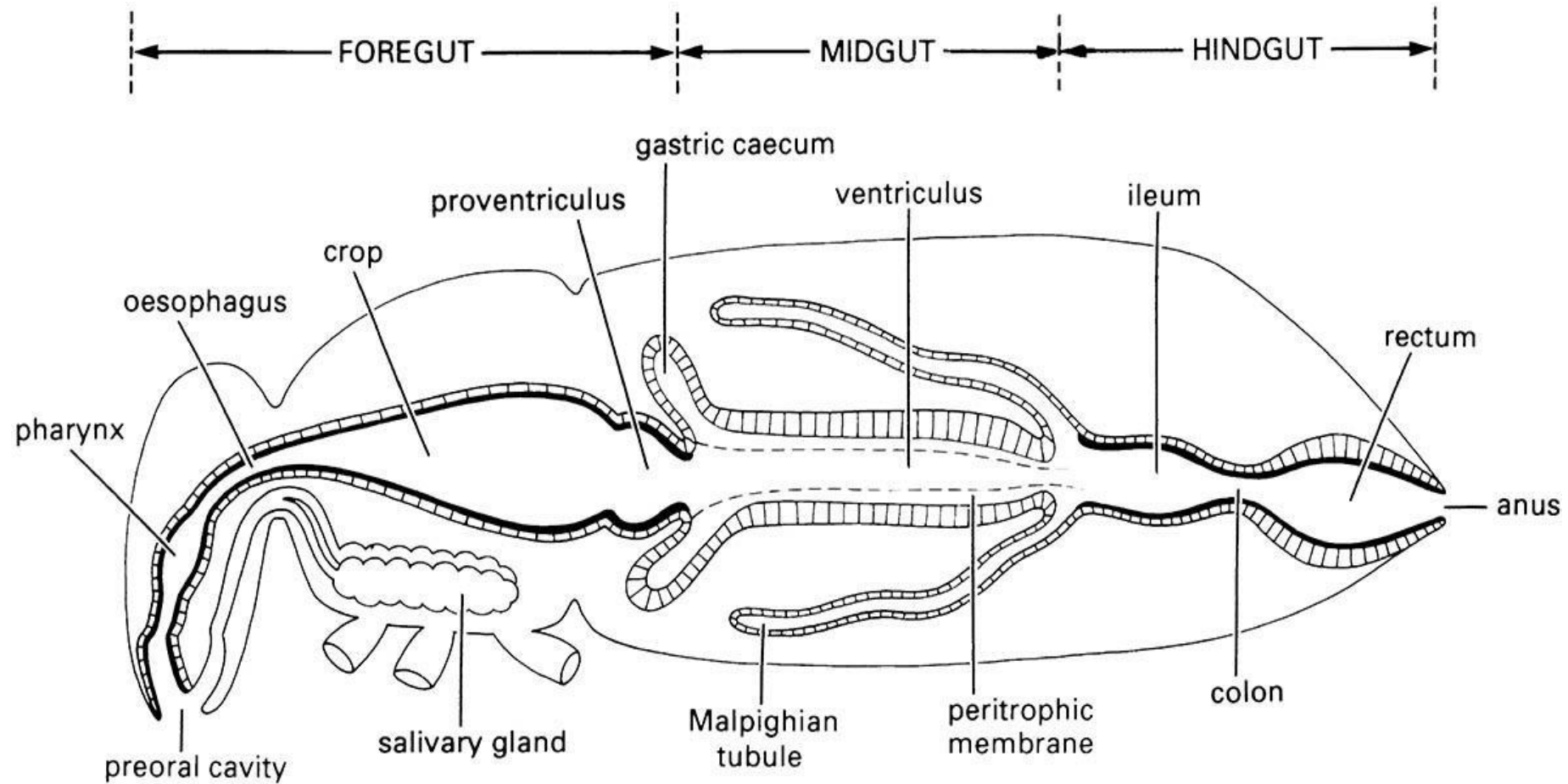
- Προμήθεια θρεπτικών όπως σύνθεση βιταμινών και απαραίτητων αμινοξέων ή αζωτοδέσμευση
- ✓ Μικροβίωμα του εντέρου *Triatominae*, βρωμούσες και τερμίτες, αντίστοιχα
- Ανακύκλωση αζωτούχων προϊόντων απέκκρισης του ξενιστή και μετατροπή τους σε υψηλής αξίας θρεπτικά
- ✓ Βακτήρια του εντέρου των τερμιτών, μυρμηγκιών και κατσαρίδων
- Παραγωγή μορίων που συμμετέχουν στην ενδοεδική ή διαειδική επικοινωνία όπως φερομόνες και καϊρομόνες



Engel and Moran, 2013, *FEMS Microbiology Reviews*, 37: 699-735

Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Δομή του πεπτικού σωλήνα των εντόμων



Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Δομή του πεπτικού σωλήνα των εντόμων

□ Πρόσθιο έντερο

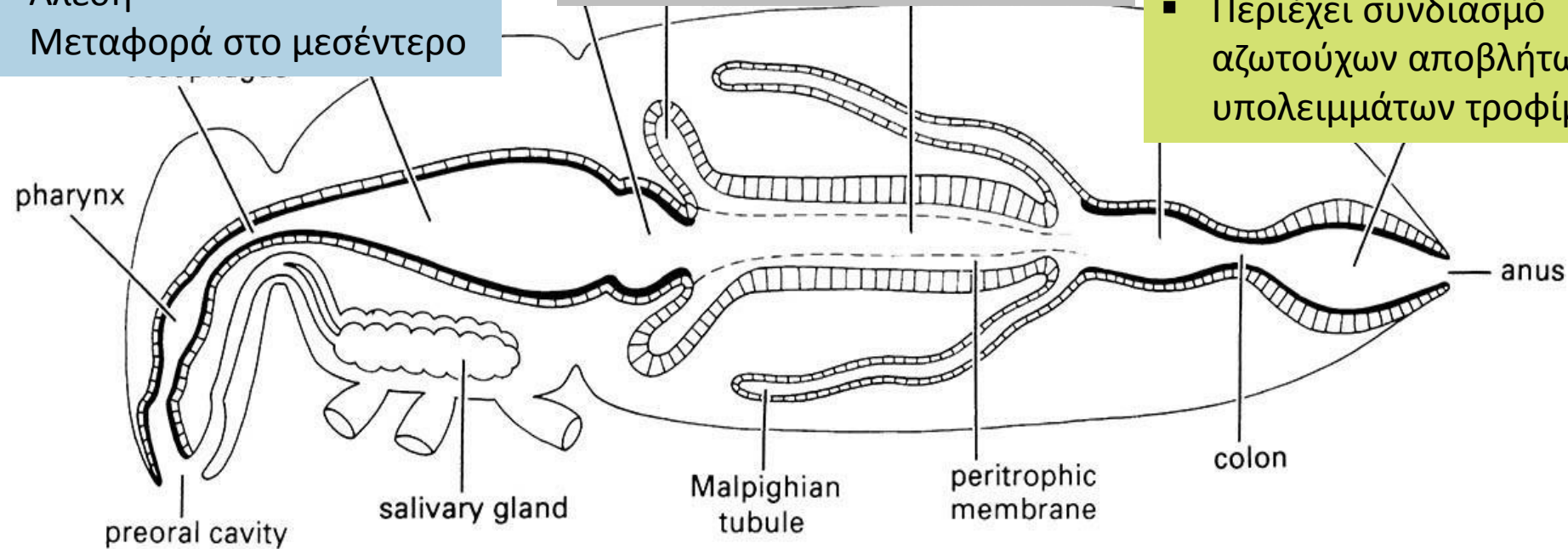
- Κατάποση
- Αποθήκευση τροφής (προσωρινή)
- Άλεση
- Μεταφορά στο μεσέντερο

□ Μεσέντερο

- Παραγωγή και απέκκριση πεπτικών ενζύμων
- Προσρόφηση των προϊόντων της πέψης

□ Οπίσθιο έντερο

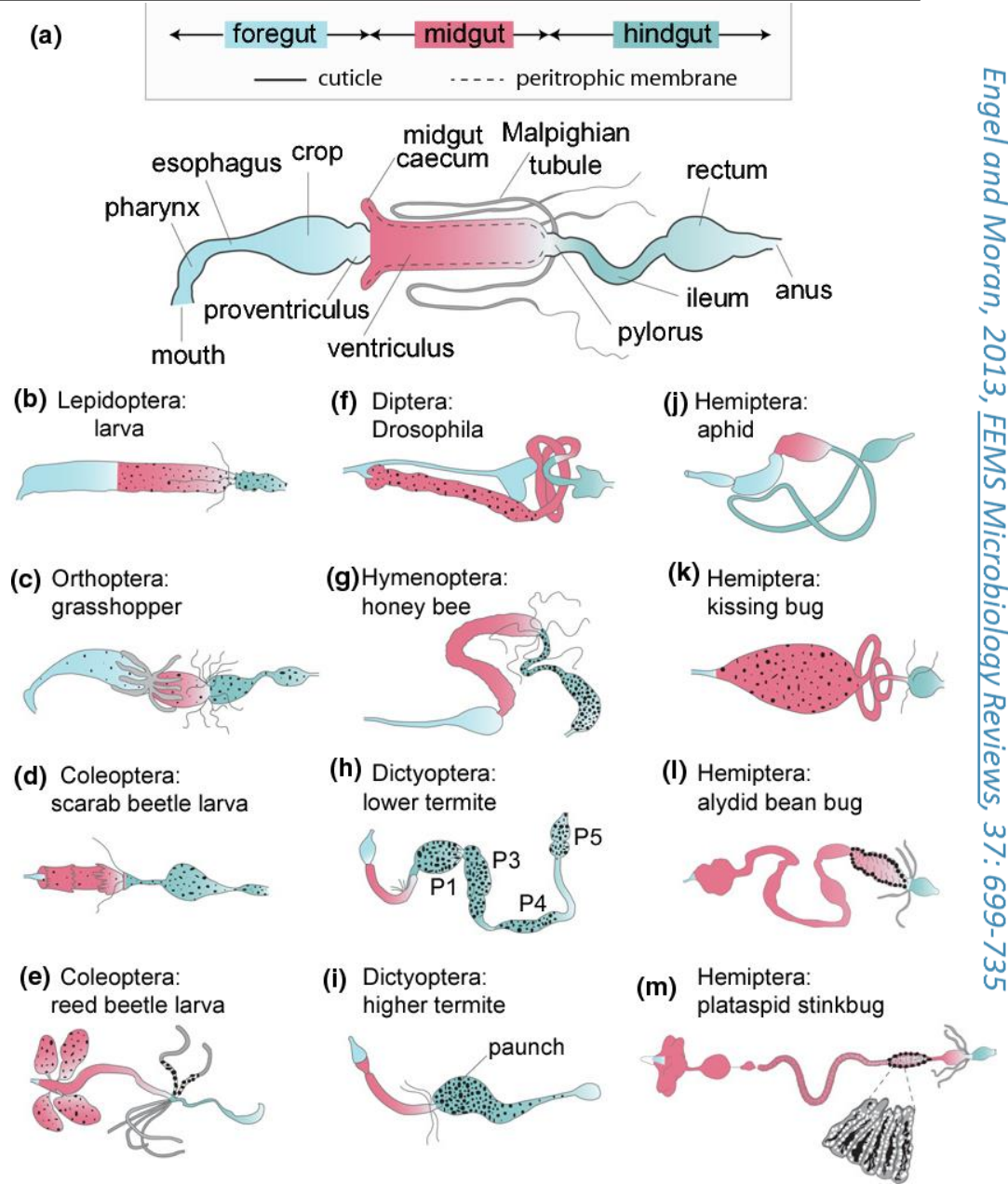
- Προσρόφηση νερού, αλάτων και άλλων σημαντικών μορίων πριν την αποβολή τους με τα αποχωρήματα
- Περιέχει συνδιασμό αζωτούχων αποβλήτων και υπολειμμάτων τροφίμων



Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Δομή του πεπτικού σωλήνα ατόμων διαφορετικών τάξεων εντόμων

- B. Λεπιδόπτερα (προνύμφη πεταλούδας)
- C. Ορθόπτερα (ακρίδα)
- D. Κολεόπτερα (προνύμφη σκαραβαίου)
- E. Κολεόπτερα (προνύμφη *Donacia*)
- F. Δίπτερα (*Drosophilla*)
- G. Υμενόπτερα (μέλισσα)
- H. Δικτυόπτερα (κατώτεροι εξελικτικά τερμίτες)
- I. Δικτυόπτερα (ανώτεροι εξελικτικά τερμίτες)
- J. Ημίπτερα (αφίδες)
- K. Ημίπτερα (Triatominae)
- L. Ημίπτερα (Alydidae)
- M. Ημίπτερα



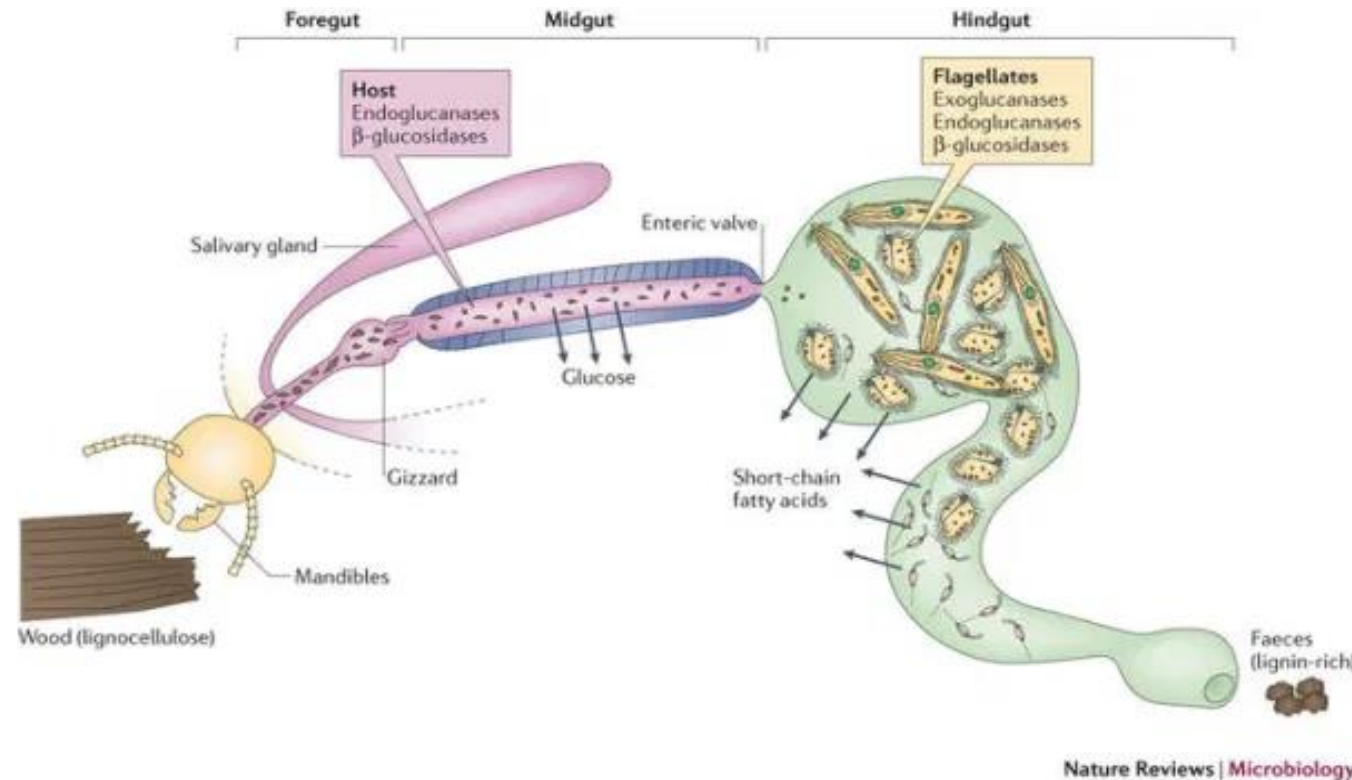
Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Το μικροβίωμα του εντέρου

□ Αποτελείται από προκαρυωτικούς (βακτήρια, αρχαία) και ευκαρυωτικούς (όπως πρωτόζωα) οργανισμούς που ζουν εξωτερικά των κυττάρων του εντέρου

□ Συνήθως βρίσκονται στο οπίσθιο τμήμα του πεπτικού σωλήνα των εντόμων (**οπίσθιο έντερο**), και είτε κινούνται ελεύθερα στην εντερική κοιλότητα ή παραμένουν προσκολλημένα στα τοιχώματα του πεπτικού σωλήνα

□ Στην περίπτωση κάποιων φυτοφάγων εντόμων όπως είναι οι τερμίτες και οι κατσαρίδες το οπίσθιο έντερο αποτελεί έναν αναερόβιο θάλαμο όπου επιτελείται ζύμωση της κυτταρίνης και άλλων πολύπλοκων σακχάρων



[Brune, A. \(2014\). Symbiotic digestion of lignocellulose in termite guts. Nature Reviews Microbiology, 12\(3\), 168-180.](#)

Το μικροβίωμα των εντόμων

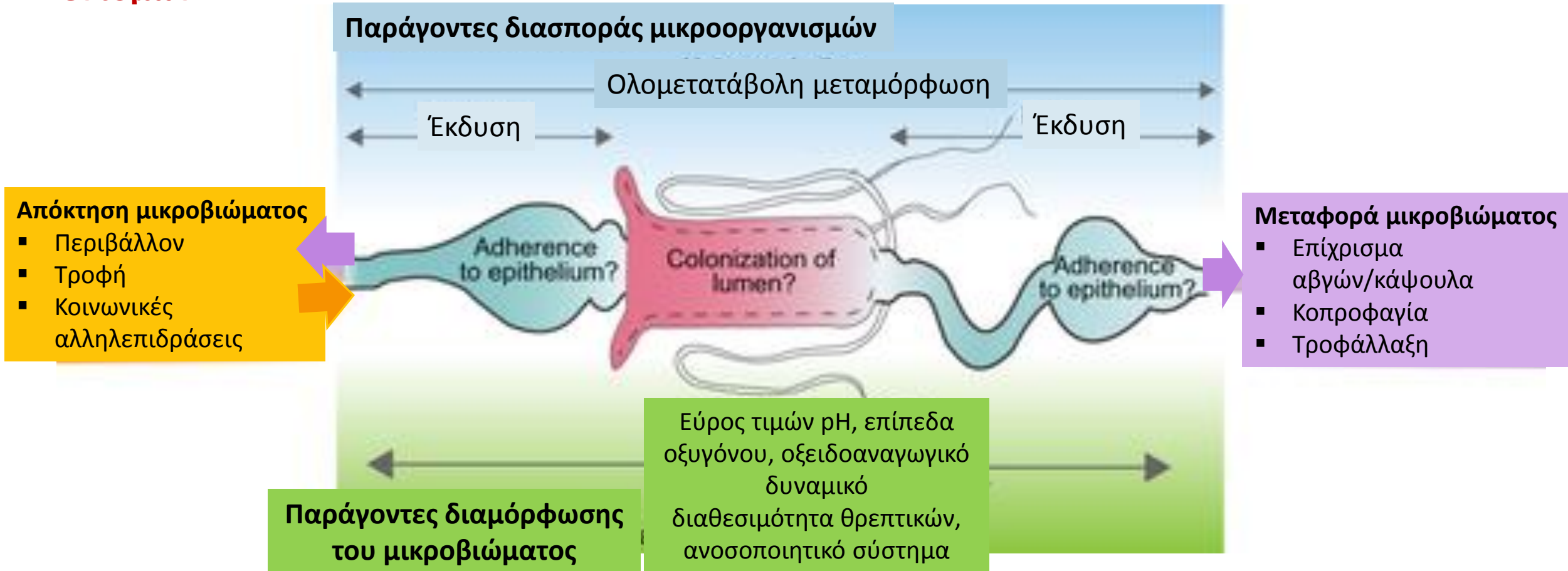
- ❑ Στους **τερμίτες**, αυτός ο αναερόβιος θάλαμος περιλαμβάνει προαιρετικά και υποχρεωτικά αναερόβιους προκαρυωτικούς οργανισμούς όπως σπειροχαΐτες και μεθανιογόνα που υποβοηθούν την πέψη
- ❑ Σε τερμίτες εργάτες, ο αναερόβιος θάλαμος φιλοξενεί επίσης πρωτόζωα που παίζουν κυρίαρχο ρόλο στην πέψη της κυτταρίνης του ξύλου
- ❑ Πολλοί **συμβιωτικοί μικροοργανισμοί του πεπτικού σωλήνα μεταφέρονται οριζόντια μεταξύ των εντόμων => τα έντομα αποκτούν συμβιωτικό μικροβίωμα κατά τη διάρκεια της ζωής τους**



- ❑ Στους τερμίτες αυτό επιτυγχάνεται μέσω της **τροφάλλαξης**: ο εργάτες που είναι τα μόνα άτομα με την ικανότητα να τρέφονται μόνα τους, πέπτουν την τροφή και μεταβιβάζουν το προκύπτον προϊόν αναμεμειγμένο με μικροοργανισμούς του εντέρου, στα υπόλοιπα μέλη της κοινότητας μέσω των στοματικών μορίων τους
- ❑ Επιπλέον, **οι μικροοργανισμοί απομακρύνονται κατά τις διεργασίες της έκδυσης, έτσι οι τερμίτες (και άλλα έντομα που χρησιμοποιούν την τροφάλλαξη) μπορούν να τους παραλάβουν εκ νέου μέσω τροφάλλαξης**

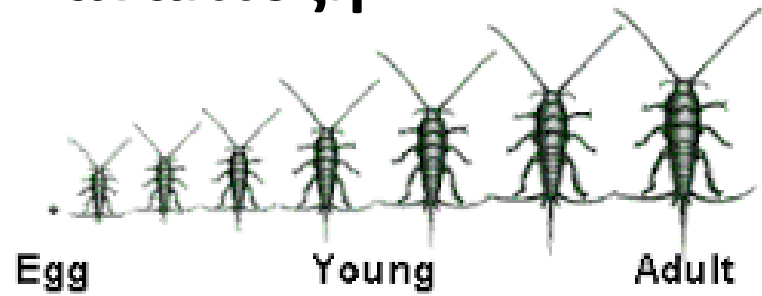
Το μικροβίωμα των εντόμων

- Παράγοντες που επηρεάζουν την σύσταση του μικροβιώματος του πεπτικού σωλήνα των εντόμων



Το μικροβίωμα των εντόμων

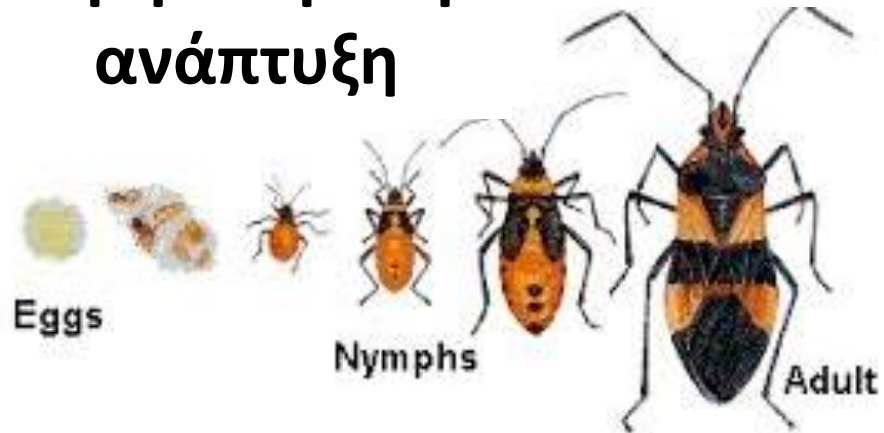
Αμετάβολη ανάπτυξη



Ολομετάβολη ανάπτυξη

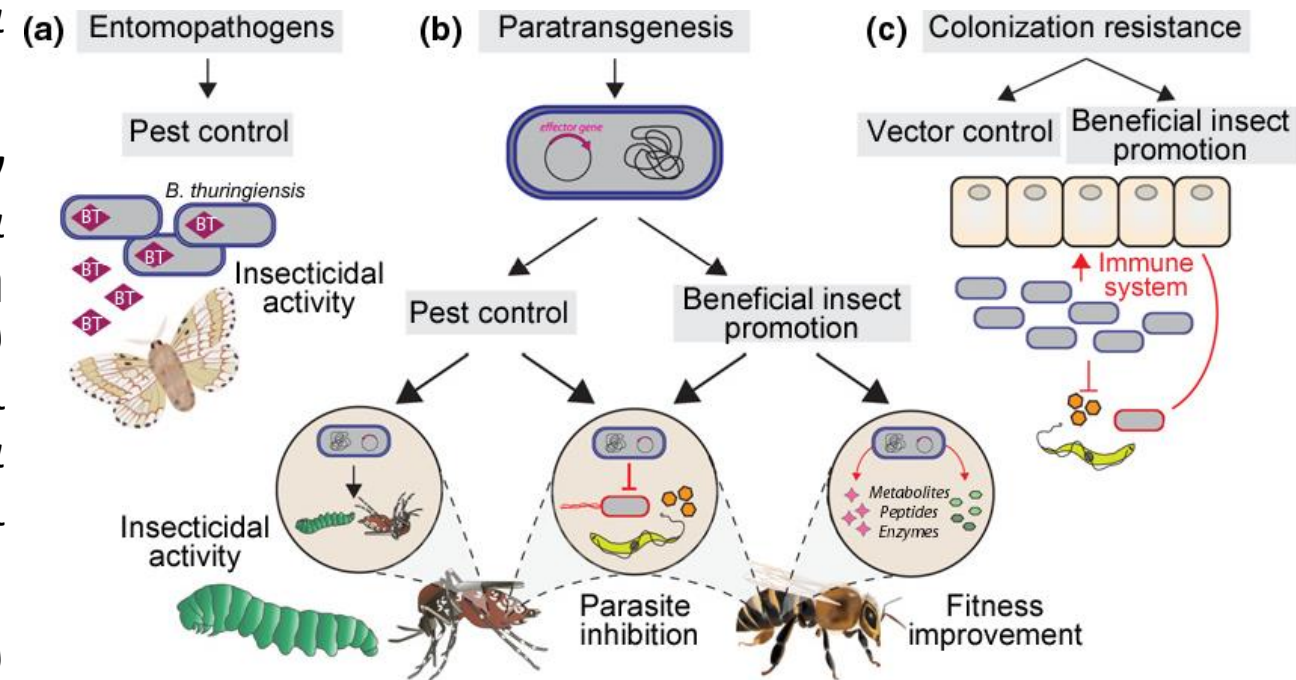


Ημιμετάβολη ανάπτυξη



Διαφορετικές εφαρμογές των βακτηρίων του πεπτικού σωλήνα για τη διαχείριση των πληθυσμών των εντόμων

- Εντομοκτόνες ιδιότητες των εντομοπαθόνων βακτηρίων του πεπτικού σωλήνα των εντόμων μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως παράγοντας βιολογικού ελέγχου
- **Παραδιαγονιδιωματική τροποποίηση των ενδοσυμβιωτικών βακτηρίων (Paratransgenesis):** τα βακτήρια χρησιμοποιούνται ως μέσο για την έκφραση μορίων στον εντερικό σωλήνα των εντόμων που επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά την υγεία του ξενιστή και παρεμποδίζουν τον αποικισμό από παράσιτα. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη διαχείριση εντόμων εχθρών αλλά και ωφέλιμων εντόμων
- Εναλλακτικά, τα βακτήρια του πεπτικού σωλήνα που παρεμποδίζουν τον αποικισμό από παράσιτα θα μπορούσαν να διαχυθούν στους πληθυσμούς των εντόμων ώστε να περιορίσουν τη διάδοση ασθενειών στον άνθρωπο μέσω εντόμων φορέων ή να προστατεύσουν ωφέλιμα έντομα από παρασιτικές ασθένειες

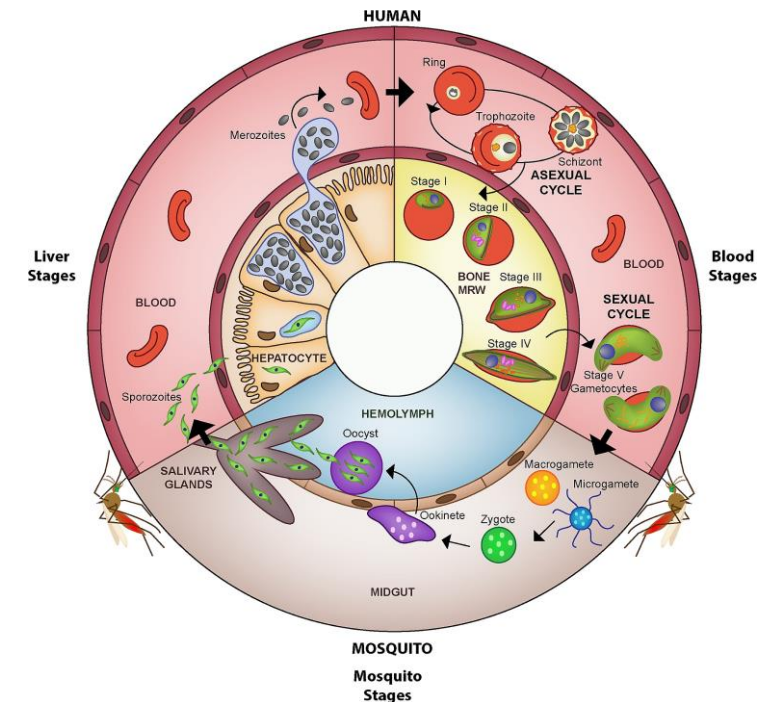


Engel and Moran, 2013, *FEMS Microbiology Reviews*, 37: 699-735

Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Ενδοπαράσιτα

- ❑ Τα παράσιτα που ζούν και/ή αναπτύσσονται μέσα σε ένα οργανισμό καλούνται ενδοπαράσιτα
- ❑ Μεταφέρονται οριζόντια μεταξύ των εντόμων
- ❑ Σχέση παράσιτο - φορέας : το έντομο (ή φορέας) εξυπηρετεί ως περιέκτης-μεταφορέας του παρασίτου μέχρις αυτό να φτάσει στον τελικό ξενιστή του
- ❑ Τα παράσιτα που μεταφέρονται με έντομα-φορείς είναι συνήθως παθογόνα πρωτόζωα επιβλαβή για τα σπονδυλωτά όπως *Trypanosoma* (ασθένεια Chagas), *Leishmania* (λεισμανίωση) or *Plasmodium* (ελονοσία)

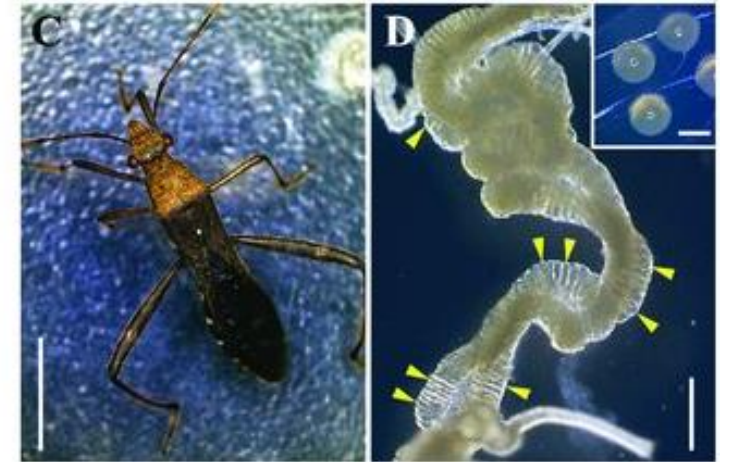


Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Εξωκυτταρική και ενδοκυτταρική συμβίωση

□ Εξωκυτταρικοί ενδοσυμβιώτες

- Οι εξωκυτταρικοί ενδοσυμβιώτες μπορούν να είναι προκαρυωτικοί ή ευκαρυωτικοί οργανισμοί και να βρίσκονται σε διάφορα όργανα του σώματος των εντόμων (ακόμα και στον πεπτικό σωλήνα μαζί με το μικροβίωμα του εντέρου) => Δεν εισέρχονται ποτέ στο εσωτερικό των κυττάρων
- Παράδειγμα: Αφίδες της φυλής Cerataphidini. Συνήθως οι αφίδες σχηματίζουν στενή σχέση με ενδοσυμβιωτικά βακτήρια (*Buchnera*), αλλά σε ορισμένα είδη της προαναφερθείσας φυλής τα βακτήρια αυτά υποκαθίστανται από εξωκυτταρικούς μονοκύτταρους μύκητες («ζυμοειδείς συμβιώτες») που εντοπίζονται στις κοιλότητες μεταξύ των οργάνων και εντός λιποσωμάτων. Οι ζυμοειδής μορφής μύκητες παίζουν σημαντικό ρόλο στις διατροφικές συνήθειες των αφίδων, συμμετέχοντας στην παραγωγή σημαντικών θρεπτικών στοιχείων



Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Ενδοκυτταρικοί ενδοσυμβιώτες

❑ Υπολογίζεται ότι το 70% των εντόμων φέρει ενδοσυμβιωτικούς μικροοργανισμούς στο εσωτερικό των κυττάρων τους

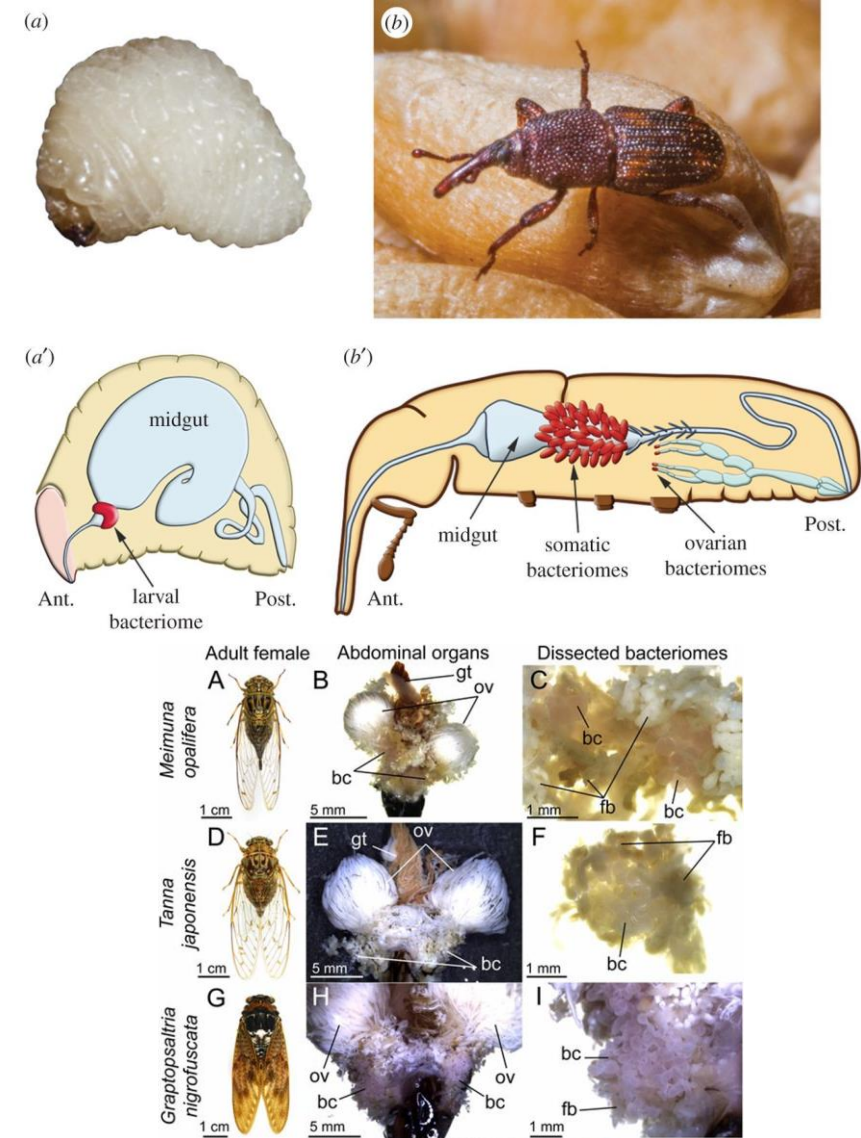
❑ Υπάρχουν δυο τύποι ενδοκυτταρικών συμβιωτών:

- I. Ενδοσυμβιώτες σε μυκητοκύτταρα (mycetocyte symbionts) ή Blochmann bodies- Κύρια ενδοσυμβίωση - κάθετη μετάδοση
- II. Δευτερεύουσα ενδοσυμβίωση – οριζόντια ή κάθετη μετάβαση

Το μικροβίωμα των εντόμων

I. Ενδοσυμβιώτες σε μυκητοκύτταρα (mycetocyte symbionts) ή Blochmann bodies

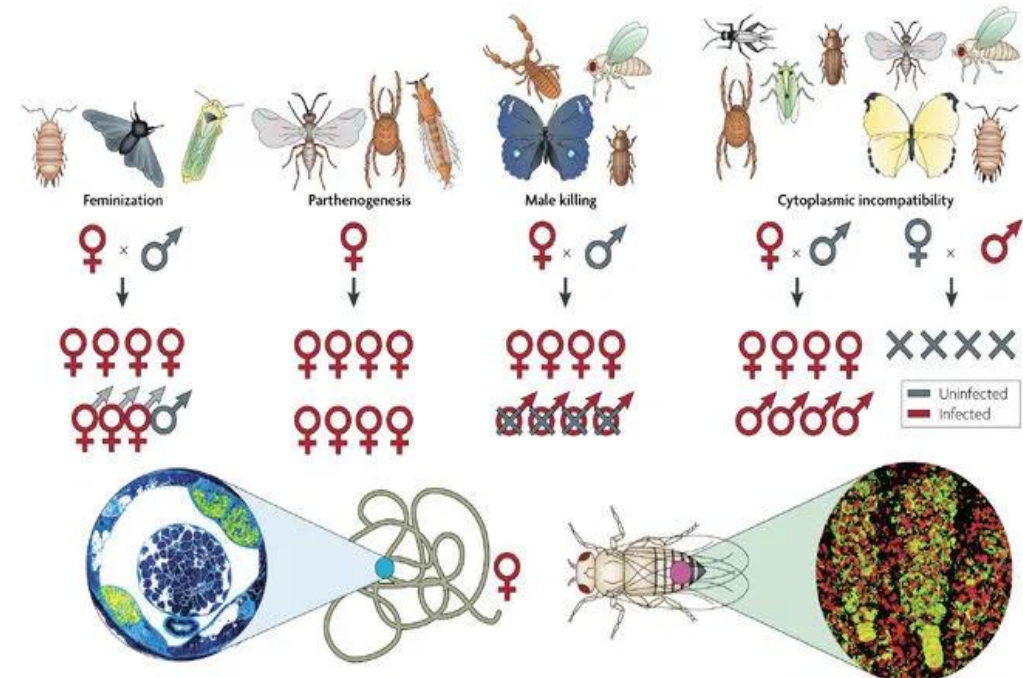
- Τα βακτηριοκύτταρα ή μυκητοκύτταρα (Bacteriocytes ή mycetocytes) είναι εξειδικευμένα λιποκύτταρα που περιέχουν ενδοσυμβιώτες και μπορούν να βρεθούν σε ορισμένες ομάδες εντόμων
- Τα κύτταρα αυτά μεταβιβάζονται κάθετα από γενιά σε γενιά και συναθροίζονται σχηματίζοντας όργανα που καλούνται μυκητώματα (mycetomes) ή βακτηριώματα (bacteriomes)
- Τα **Blochmann bodies**, ή απλούστερα οι ενδοσυμβιώτες μέσα στα μυκητοκύτταρα, σχετίζονται με 3 ομάδες εντόμων: *Blattaria* (κατσαρίδες), ορισμένα Ημίπτερα (Homoptera: τζιτζικάκια, ψύλλες, αφίδες κ.α.) και Κολεόπτερα *Curculionidae*



Το μικροβίωμα των εντόμων

II. Δευτερεύουσα ενδοσυμβίωση

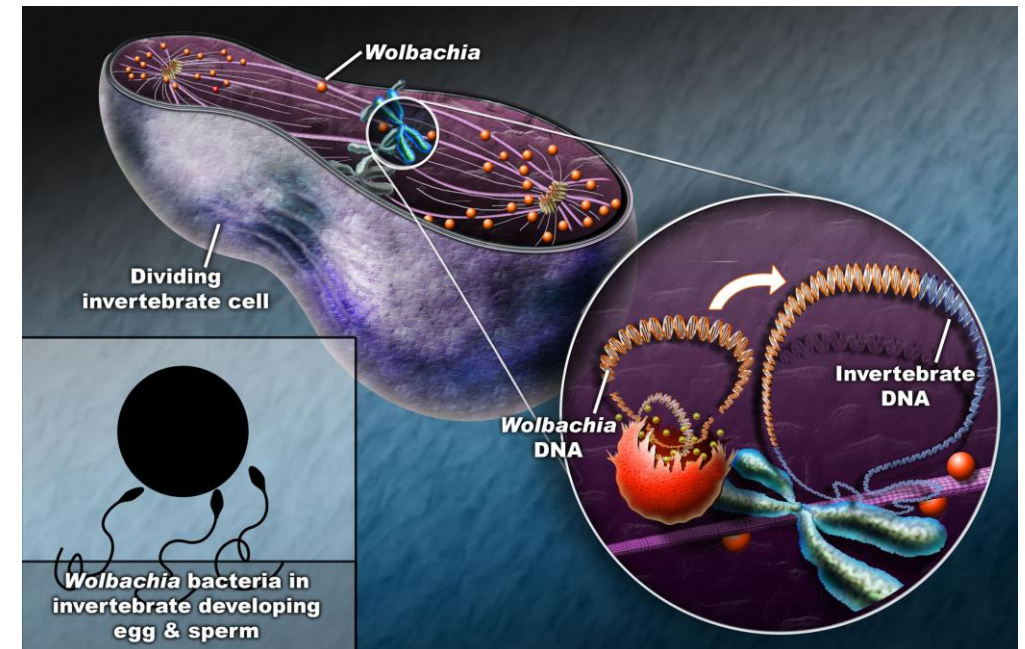
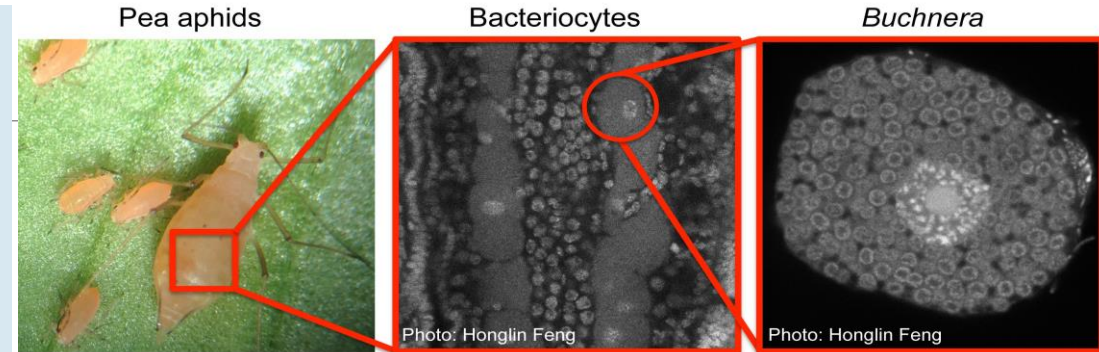
- Στην περίπτωση αυτή ο φιλοξενούμενος ενδοσυμβιώτης **μεταβάλλει κάποια φυσιολογικά χαρακτηριστικά του εντόμου προς ωφελός του**
- Οι φιλοξενούμενοι ενδοσυμβιώτες **επηρεάζουν συνήθως την αναλογία φύλου στα έντομα** (αναλογία αρσενικών και θηλυκών ατόμων σε ένα πληθυσμό) **καθώς και άλλα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά = παράσιτα του αναπαραγωγικού συστήματος**
- Αποικίζουν το κυταρόπλασμα των κυττάρων των εντόμων και μεταφέρονται κάθετα μεταξύ των διαδοχικών γενεών μέσω των ωαρίων => απαιτούν μεγαλύτερη αναλογία θηλυκών ατόμων ως εγγύηση για τη διαίωνιση τους
- Προκειμένου να μεταβάλλουν αυτή την αναλογία χρησιμοποιούν διαφορετικές μεθόδους, όπως: θανάτωση των αρσενικών, επαγωγή παρθενογένεσης, θηλεοποίηση ή κυτοπλασματική ασυμβατότητα



Werren et al., 2008, *Nature Reviews Microbiology* 6:741-751

Το μικροβίωμα των εντόμων

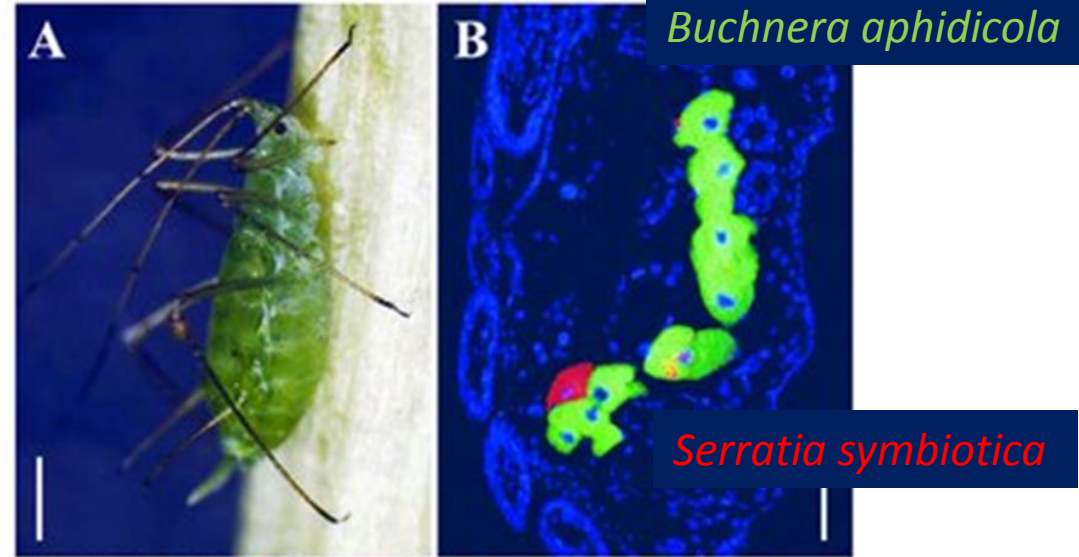
- ❑ Ορισμένες από τις περισσότερο μελετημένες αλληλεπιδράσεις ενδοκυτταρικής συμβίωσης είναι:
- **Αφίδες και συμβιωτικά βακτήρια του γένους *Buchnera*** – υποχρεωτική ενδοκυτταρική συμβίωση που εξυπηρετεί τη θρέψη του ξενιστή
- **Διάφορα είδη εντόμων και τα ενδοκυτταρικά βακτήρια του γένους *Wolbachia***
- ✓ Παράσιτα του αναπαραγωγικού συστήματος που μπορούν να προκαλέσουν θηλεοποίηση, επιλεκτική θανάτωση των αρσενικών, κυτοπλασματική ασυμβατότητα και παρθενογένεση
- ✓ Επίδραση στη συμπεριφορά των εντόμων ξενιστών
- ✓ Σχέσεις αμοιβαιότητας προσδίδοντας στον ξενιστή τους ανθεκτικότητα έναντι σε ιούς, εντομοκτόνα ή άμυνες των φυτών και συνεισφέρουν στη θρέψη



Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Αφίδες και βακτήρια του γένους *Buchnera*

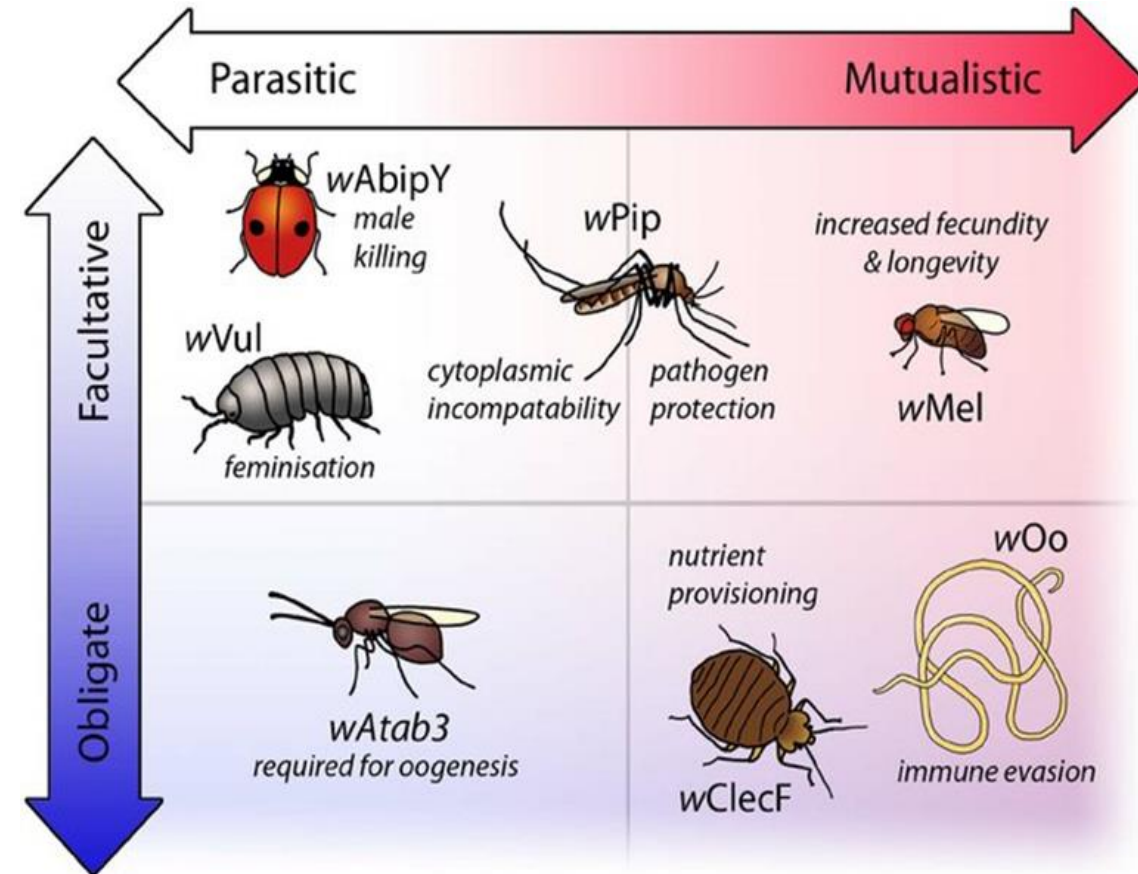
- Το ενδοκυτταρικό αυτό βακτήριο ανακυκλώνει το ουρικό οξύ και κάποια άλλα αζωτούχα απόβλητα που παράγονται από τις αφίδες ώστε να παράξει το αμινοξύ γλουταμίνη το οποίο χρησιμοποιείται από το ίδιο ώστε να συνθέσει τα απαραίτητα αμινοξέα για την ανάπτυξη της αφίδας- ξενιστή
- Πιστεύεται επίσης ότι τα βακτήρια του γένους *Buchnera* παράγουν βιταμίνη B2 (ριβοφλαβίνη). Αυτό εξηγεί και τον υψηλό αναπαραγωγικό ρυθμό των αφίδων και την εξελικτική τους επιτυχία παρότι διαθέτουν δίαιτα πλούσια σε υδατάνθρακες και φτωχή σε αζωτούχες ενώσεις
- Τα κύτταρα των βακτηρίων του γένους *Buchnera* μειώνονται σε αριθμό όταν η διαθεσιμότητα των θρεπτικών είναι χαμηλή => οι αφίδες χρησιμοποιούν τα κύτταρα των βακτηρίων του γένους *Buchnera* σαν εναλλακτική πηγή τροφής σε αντίξοες συνθήκες => οι αφίδες επωφελούνται περισσότερο από τη σχέση τους με τα βακτήρια *Buchnera*



Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Διάφορα είδη εντόμων και βακτήρια του γένους *Wolbachia*

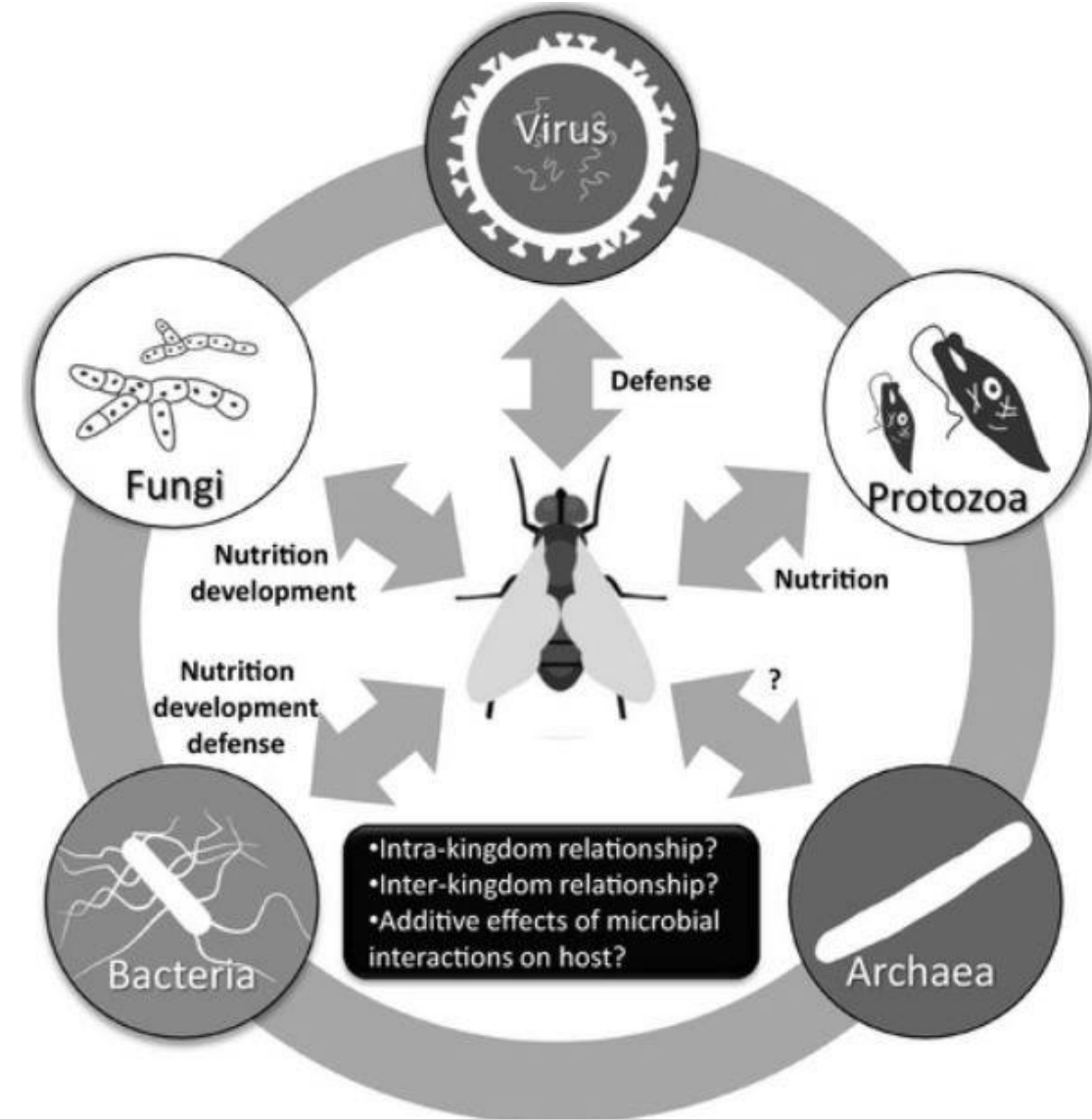
- ***Adalia bipunctata*** : θάνατος των προσβεβλημένων αρσενικών προς όφελος των θηλυκών ατόμων
- ***Armadillidium vulgare***: θηλεοποίηση των προσβεβλημένων αρσενικών
- ***Culex pipiens***: το στέλεχος *Wolbachia* wPip προκαλεί κυτοπλασματική ασυμβατότητα => διασταυρώσεις μεταξύ προσβεβλημένων αρσενικών με μη προσβεβλημένα θηλυκά οδηγούν σε εμβρυικό θάνατο και παράλληλα παρέχει προστασία από το παρασιτικό πρωτόζωο *Plasmodium relictum*
- ***Drosophila melanogaster***: αύξηση της γονιμότητας και της διάρκειας ζωής
- ***Cimex lectularius* (κοριός)** : παροχή απαραίτητων Β βιταμινών
- ***Onchocerca ochengi* (παράσιτο φιλαρίασης)**: μη αποτελεσματική απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή του παρασίτου της φιλαρίασης
- ***Asobara tabida* (παρασιτική σφήκα –στέλεχος wAtab3)**: το βακτήριο είναι απαραίτητο για την ωογένεση



Gill et al., 2014, *Iron Necessity: The Secret of Wolbachia's Success?* Plos 8:e3224

Το μικροβίωμα των εντόμων

- ❑ Η πολυπλοκότητα του μικροβιώματος των εντόμων
- ❑ Το μικροβίωμα των εντόμων περιλαμβάνει μικροβιακές ομάδες που συνδέονται μεταξύ τους και με τον ξενιστή τους
- ❑ Όλοι οι μικροοργανισμοί, ατομικά ή συλλογικά μπορούν να επηρεάσουν τη βιολογία του εντόμου-ξενιστή
- ❑ Δεδομένης της πολυπλοκότητας των πιθανών αλληλεπιδράσεων, τα έντομα ξενιστές μπορούν να θεωρηθούν ως μικρά οικοσυστήματα όπου οι μικροοργανισμοί και το έντομο αλληλεπιδρούν ως ένα ενιαίο σύστημα



Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Βακτήρια

❑ Τα βακτήρια προσφέρουν στα έντομα ξενιστές τους πλεονεκτήματα που σχετίζονται με:

- Θρέψη
- Αντιμετώπιση του θερμοκρασιακού στρες
- Προστασία από φυσικούς εχθρούς

❑ Συμμετοχή βακτηρίων στη θρέψη των εντόμων ξενιστών τους

- **Αλληλεπίδραση εντόμων με αζωτοδεσμευτικά βακτήρια**
- ✓ Proteobacteria και Firmicutes. Για παράδειγμα τα βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae (Gammaproteobacteria) κυριαρχούν σε ξυλοφάγα έντομα – είδη του γένους *Enterobacter* = αζωτοδεσμευτικά
- ✓ Οικογένεια Tephritidae - *Ceratitis capitata* = μύγα της Μεσογείου και Enterobacteriaceae αζωτοδεσμευτικά βακτήρια – γένη *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Pectobacteria*, και *Pantoea* – συμβάλλουν στην ανάπτυξη και την αναπαραγωγή του εντόμου

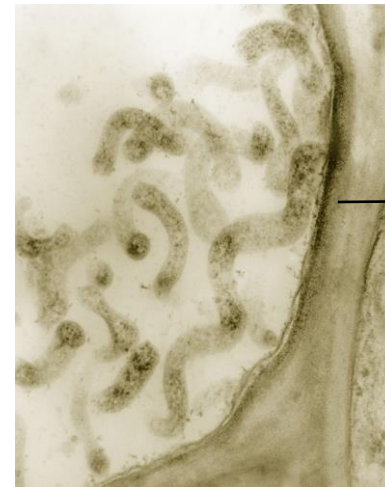
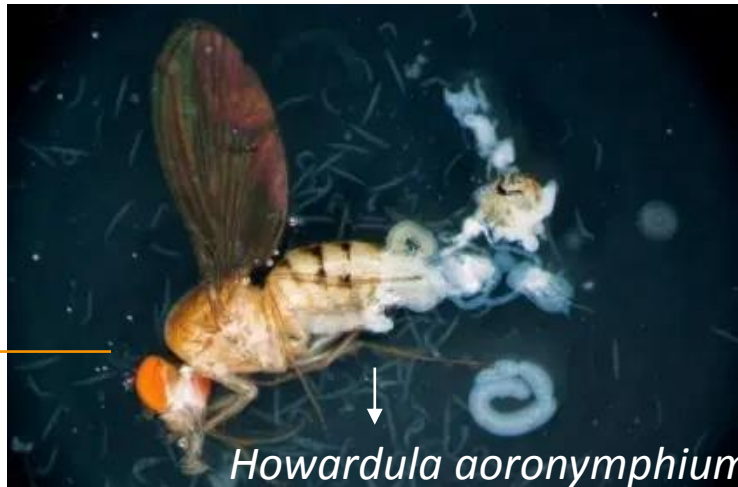
Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Βακτήρια

❑ Προστατευτική λειτουργία των βακτηρίων

- Τα βακτήρια προσφέρουν προστατευτική δράση στα έντομα ξενιστές τους βοηθώντας τα να ανταπεξέλθουν το αβιοτικό (θερμοκρασία) και βιοτικό (φυσικοί εχθροί όπως παρασιτοειδή, παθογόνοι νηματώδεις και μύκητες) στρες

Π.χ. Βακτήρια του γένους *Spiroplasma* έχει βρεθεί να παρέχουν προστασία σε έντομα *Drosophila spp.* έναντι σε παρασιτοειδή και παρασιτικούς νηματώδεις



→ *Spiroplasma*

Το μικροβίωμα των εντόμων

☐ Μύκητες

- ☐ Η αλληλεπίδραση των εντόμων με μύκητες όπως ζύμες ή νηματοειδείς μύκητες (molds) έχουν καταγραφεί από το 1950
- ☐ Οι μύκητες αυτοί έχουν βρεθεί να συνεισφέρουν στην παροχή θρεπτικών και στη ρύθμιση της άμυνας του εντόμου ξενιστή

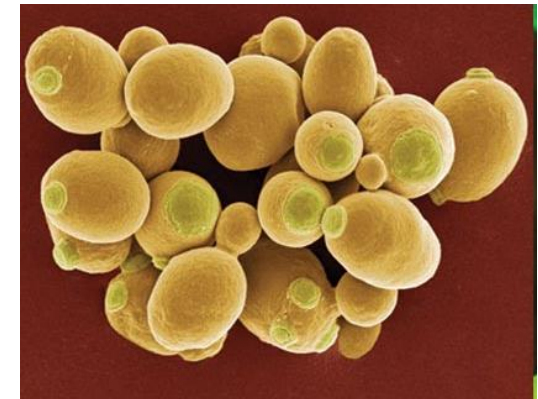
☐ Παροχή θρεπτικών από νηματοειδείς μύκητες

- Σκολύτιδες – σκαθάρια του φλοιού του γένους *Dendroctonus*, τρέφονται με ιστούς του φλοιώματος των φυτών και βασίζονται σε συμβιωτικούς μύκητες για την πέψη της τροφής και την παροχή θρεπτικών



☐ Παροχή θρεπτικών από ζύμες

- Ζύμες των γενών *Saccharomyces*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Debaryomyces*, *Metschnikowia* και *Cryptococcus* βρέθηκαν σε διάφορα έντομα
- Συμβιωτικές ζύμες ή συμβιωτικοί μύκητες με ζυμοειδή μορφή του πεπτικού σωλήνα των εντόμων εμπλέκονται σε μεταβολικά μονοπάτια αμινοξέων και λιπαρών οξέων και η απουσία τους μπορεί να οδηγήσει σε ατελή μεταμόρφωση



Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Ιοί

❑ Τα έντομα αποτελούν φορείς για τους ιούς αλλά και ένας ιός μπορεί να είναι παθογόνος για το έντομο ξενιστή του => μελέτη των ιών ως πιθανός παράγοντας βιολογικού ελέγχου των εντόμων εχθρών

❑ Οι ιοί θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη συμπεριφορά ή τη φυσιολογία του ξενιστή τους ώστε τελικά να προκαλέσουν αύξηση του δικού τους πολλαπλασιασμού και μετάδοσης

Π.χ. Προκαλώντας αύξηση της απόθεσης αβγών στον ξενιστή ή μετακίνηση των ξενιστών σε άλλες περιοχές συμπεριφορά που αυξάνει τις πιθανότητες διασποράς του ιού

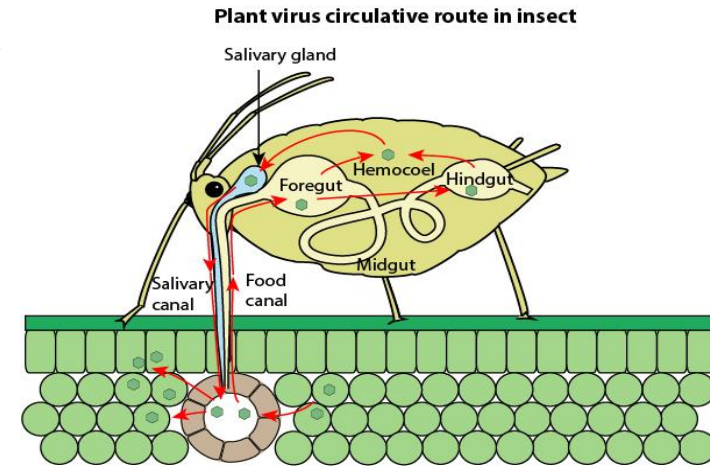
❑ Οι μη παθογόνοι ιοί μπορεί να συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις αμοιβαιότητας επωφελείς και για τους ξενιστές

❑ Οι ιοί μπορούν επίσης να μολύνουν άλλα μέλη του μικροβιώματος όπως βακτηριοφάγους –δηλαδή ιούς που προσβάλλουν βακτήρια – οδηγώντας σε σχέσεις παθογένεσης (λυτικό στάδιο) ή συμβίωσης με τα βακτήρια

Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Τα έντομα ως φορείς των ιών

- ❑ Οι ιοί που προσβάλλουν ζώα μπορούν να μεταφερθούν μέσω διαφόρων ειδών εντόμων- φορέων που τρέφονται με αίμα
- ❑ Πολλοί ιοί των φυτών επίσης μεταφέρονται σε άλλα φυτά μέσω εντόμων φορέων
- ❑ Οι αλληλεπιδράσεις αυτές μπορούν να παρουσιάζουν εξειδίκευση
Π.χ. Μετάδοση των ιών Potyvirus με αφίδες
- ❑ Αντίθετα κάποια είδη εντόμων μπορούν να μεταδώσουν πολλούς και διαφορετικούς ιούς
- ❑ Π.χ. > 100 είδη ιών μπορούν να μεταδοθούν από τον αλευρώδη *Bemisia tabaci* (Gennadius), οι περισσότεροι από αυτούς ανήκουν στα γένη *Begomovirus* (*Geminiviridae*), αλλά και *Crinivirus*, *Closterovirus* (της οικογένειας *Closteroviridae*), *Ipotovirus* (*Potyviridae*) και *Carlavirus* (*Betaflexiviridae*)



Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Ιοί και βιολογικός έλεγχος εντόμων εχθρών

- ❑ Οι ιοί της οικογένειας Baculoviridae έχουν μελετηθεί ως βιολογικοί παράγοντες καταπολέμησης σε Κολεόπτερα, Ημίπτερα και Λεπιδόπτερα
- ❑ **Πλεονεκτήματα των ιών ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου:**
 - Παρουσιάζουν υψηλή εξειδίκευση ως προς το είδος του εντόμου εχθρού χωρίς να προσβάλλουν άλλα έντομα μη στόχους
 - Διασπείρονται με φυσικό τρόπο στον πληθυσμό στόχο
 - Επίσης όταν οι ιοί μολύνουν τις προνύμφες ή τα ενήλικα άτομα εντόμων αποτρέπουν τον αποικισμό τους από παρασιτοειδή

Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Προστατευτική δράση των ιών

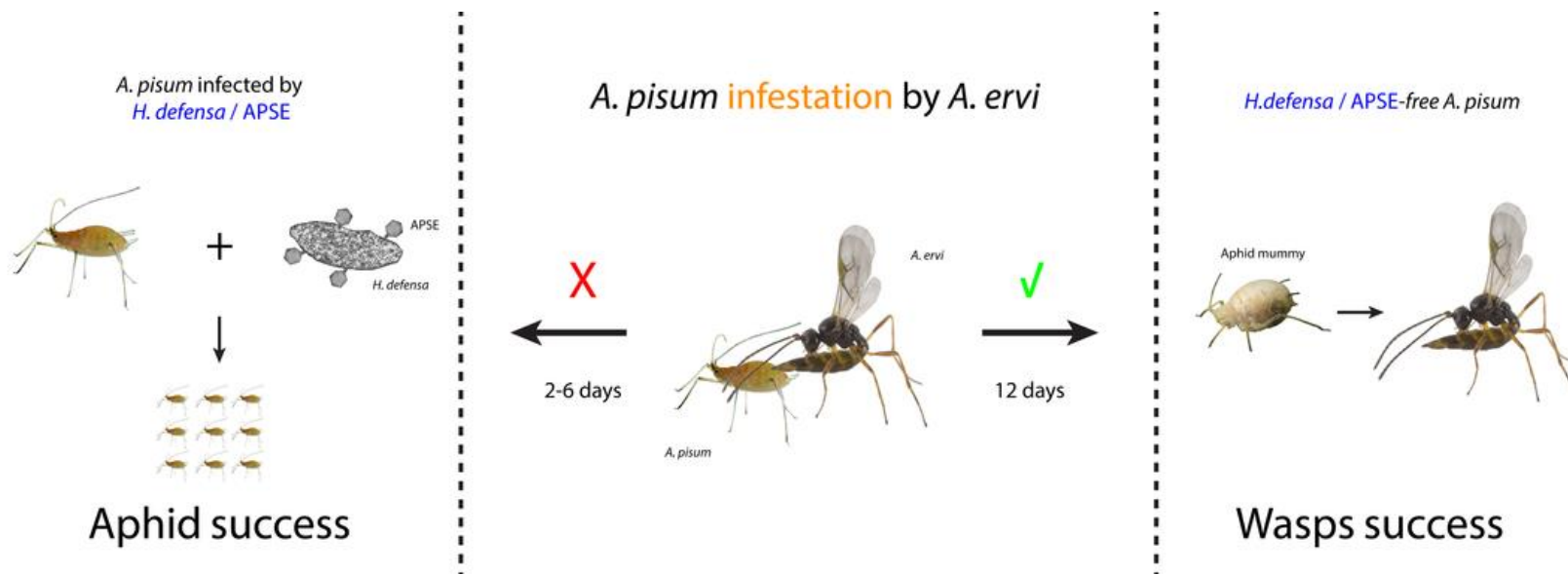
- Παράδειγμα αποτελούν οι ιοί της οικογένειας Polydnaviridae, που αποτελούν συμβιωτικούς οργανισμούς για 2 οικογένειες παρασιτοειδών σφήκων: Ichneumonidae και Braconidae
 - Οι ιοί αυτοί εδρεύουν στα αναπαραγωγικά όργανα της σφήκας– αρχικά στις ωοθήκες κα στη συνέχεια στο αναπαραγωγικό σύστημα (reproductive tract)
 - Κατά την ωοθεσία της σφήκας στα έντομα ξενιστές της, ο ιός μεταδίδεται στον ξενιστή
 - Οι ιοί τότε παρεμποδίζουν την άμυνα του ανοσοποιητικού των ξενιστών επιτρέποντας την ανάπτυξη των απογόνων της σφήκας



Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Προστατευτική δράση των ιών

- Ιοί που μολύνουν τα βακτήρια του μικροβιώματος των εντόμων = βακτηριοφάγοι, παρέχοντας προστασία μέσω αυτών
- Αλληλεπίδραση αφίδας – βακτηρίων-βακτηριοφάγων
- ✓ *Acyrthosiphon pisum* - *Hamiltonella defensa* - APSE (δευτερογενής ενδοσυμβιώτης του *A. pisum*) => Ο βακτηριοφάγος μολύνει το βακτήριο ξενιστή και τα βακτήρια τότε υποστηρίζουν την άμυνα της αφίδας έναντι των φυσικών της εχθρών



Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Αρχαία

- ❑ Μεθανιογόνα και μη μεθανιογόνα αρχαία της συνωμοταξίας **Euryarchaeota** έχουν βρεθεί σε έντομα όπως σκαθάκια, κατσαρίδες και τερμίτες
- ❑ Τα μεθανιογόνα απαντώνται συνήθως στο οπίσθιο έντερο, περιβάλλον με περιορισμένη διαθεσιμότητα σε οξυγόνο
- ❑ Παρουσία **Crenarchaeota** στον εντερικό σωλήνα προνυμφών Κολεόπτερων
- ❑ Περιορισμένα στοιχεία σχετικά με την αλληλεπίδραση του με τα έντομα ξενιστές κυρίως λόγω περιορισμών που οφείλονται στις δυσκολίες της καλλιέργειας αυτών των οργανισμών στο εργαστήριο

Το μικροβίωμα των εντόμων

Πρωτόζωα

Πρωτόζωα και τερμίτες:

- Οι τερμίτες τρέφονται με ξύλο – υπόστρωμα που δεν τους παρέχει τις απαραίτητες βιταμίνες για την αύξηση και την ανάπτυξη τους
- Τα πρωτόζωα βοηθούν τους τερμίτες να ανταπεξέρχονται χρησιμοποιώντας αυτά τα περιορισμένα σε θρεπτικά υποστρώματα συνθέτοντας ένα αριθμό υδρολυτικών ενζύμων

Παρασιτικά πρωτόζωα

- Ομοιότητες των αλληλεπιδράσεων των εντόμων με ιούς - Έντομα ως φορείς πρωτοζώων
- ✓ Τα κουνούπια *Anopheles* spp. και το παράσιτο της ελονοσίας *Plasmodium falciparum* Welch
- ✓ *Trypanosoma brucei* Plimmer & Bradford και μύγα τσετσε ως φορέας – ασθένεια του ύπνου
- ✓ Πρωτόζωα της λεισμανίωσης και σκνίπες
- Τα πρωτόζωα εμφανίζουν μικρό εύρος ξενιστών και παρουσιάζουν εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή
- Τα παρασιτικά πρωτόζωα έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ως παράγοντας βιοελέγχου εντόμων εχθρών

Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Μικροβιακή σύνθεση απαραίτητων θρεπτικών συστατικών

❑ Άζωτο

- Πολλά έντομα έχουν υιοθετήσει διατροφή χαμηλή σε άζωτο και οι μικροοργανισμοί έχουν βρεθεί να συνεισφέρουν άζωτο στη διατροφή των εντόμων με ποικίλους τρόπους
- Κάποιοι μικροοργανισμοί απλά συγκεντρώνουν το άζωτο
- ✓ Για παράδειγμα κάποιοι μύκητες των Macrotermitinae παράγουν σχηματισμούς πλούσιους σε άζωτο τα οποία οι τερμίτες καταναλώνουν ανάλογα με τις απαιτήσεις τους σε άζωτο

- Πολλοί μικροοργανισμοί είναι χρήσιμοι στα έντομα λόγω των ευρύτερων μεταβολικών τους ικανοτήτων συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας τους: (α) να χρησιμοποιούν αζωτούχες ενώσεις που απεκκρίνουν τα έντομα (π.χ. ουρικό οξύ- παραδείγματα από τερμίτες, κατσαρίδες και Ημίπτερα), (β) να συνθέτουν υψηλής αξίας αζωτούχες ενώσεις (π.χ. απαραίτητα αμινοξέα) και (γ) να δεσμεύουν άζωτο

Το μικροβιακό προφίλ των εντόμων μπορεί να επηρεάσει τις διατροφικές τους προτιμήσεις, την προσαρμοστικότητα τους και τα χαρακτηριστικά των σταδίων του βιολογικού κύκλου των εντόμων

Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Μικροβιακή σύνθεση απαραίτητων θρεπτικών συστατικών

❑ Βιταμίνες

- Οι μικροοργανισμοί μπορούν να παρέχουν βιταμίνες Β στα έντομα
- Οι περισσότερες μέχρι σήμερα μελέτες αφορούν σε έντομα που τρέφονται με το αίμα των σπονδυλωτών κατά τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου όπως οι μύγα τσετσε (*Glossina*) και άλλα δίπτερα *Puriparagia*, και οι κοριοί
- Όλα αυτά τα είδη φέρουν ενδοσυμβιώτες σε μυκητοκύτταρα (mycetocyte)
- Τα έντομα που καταναλώνουν αίμα μόνο ως ενήλικα (όπως ψύλλοι και θηλυκά κουνούπια) προσλαμβάνουν βιταμίνες Β από άλλες διατροφικές πηγές και δεν εξαρτώνται από τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς



Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Μικροβιακή σύνθεση απαραίτητων θρεπτικών συστατικών

❑ Οι μικροοργανισμοί και η θρέψη των εντόμων με στερόλες

- ❑ Τα έντομα χρειάζονται στερόλες οι οποίες έχουν διάφορους ρόλους όπως δομικός ρόλος στις κυτταρικές μεμβράνες και ως πρόδρομες ουσίες των ορμονών των εντόμων (π.χ. 20-OH εκδυσόνη)
- ❑ Ωστόσο, σε αντίθεση με πολλά άλλα ζώα δεν μπορούν να συνθέσουν στερόλες καθώς στερούνται των ενζύμων που εμπλέκονται στην κυκλοποίηση των μονάδων του ισοπρενίου ώστε να σχηματιστεί η δομή του στεροειδούς δακτυλίου
- ❑ Τα περισσότερα έντομα προσλαμβάνουν τις απαραίτητες στερόλες από τη διατροφή τους, ενώ υπάρχουν σημαντικά στοιχεία ότι τα έντομα προσλαμβάνουν τις στερόλες από συμβιωτικούς μύκητες
- ❑ Τα βακτήρια γενικά δεν διαθέτουν την ιδιότητα σύνθεσης των στερολών και τα συμβιωτικά βακτήρια δεν συνεισφέρουν άμεσα στις απαιτήσεις των εντόμων για στερόλες

Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Η μικροβιακή διάσταση στην οικολογία της θρέψης των εντόμων

□ Μικροβιακή επεξεργασία τροφής

▪ Δίαιτα πλούσια σε κυτταρίνη

- Τα θηλαστικά στερούνται ενδογενών κυταρρινασών και η κυτταρίνη σε αυτή την περίπτωση διασπάται από βακτήρια κυρίως των γενών *Ruminococcus* και *Bacteroides* και επίσης από βλεφαριδοφόρα πρωτόζωα και ποικίλους χυτριομύκητες σε μεγάλα φυτοφάγα (μυρηκαστικά, άλογα κ.α.) ζώα με δίαιτα πλούσια σε φυτικές ίνες

▪ Ωστόσο, πολλά έντομα διαθέτουν ενδογενείς κυτταρινάσες

- ✓ Όλα τα είδη τερμιτών που έχουν μελετηθεί παράγουν ενδογενώς κυτταρινάσες όπως και το ίδιο κάνουν τα Θυσάνουρα (ψαράκι) και η κατσαρίδα *Panesthia*
- ✓ Το είδος *Reticulitermes flavipes* και άλλοι κατώτεροι εξελικτικά τερμίτες (περίπου το 25% όλων των ειδών των τερμιτών) χρησιμοποιούν τόσο ενδογενείς κυτταρινάσες όσο και κυταρρολυτικά πρώτιστα για την πέψη της πλούσιας σε κυτταρίνη τροφής τους – συνήθως φυσικό ξύλο



Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Η μικροβιακή διάσταση στην οικολογία της θρέψης των εντόμων

□ Διατροφικές τοξίνες

- Οι περισσότερες τροφές περιέχουν συστατικά ή στοιχεία σε συγκεντρώσεις που είναι πιθανόν τοξικές
- Ο κίνδυνος είναι μεγάλος για τα φυτοφάγα ζώα καθώς οι φυτικοί ιστοί περιέχουν τοξικούς δευτερογενείς μεταβολίτες που λειτουργούν ως άμυνα του φυτού στους καταναλωτές
- Τα έντομα όπως και άλλα ζώα μπορούν να προστατευτούν από τις ουσίες αυτές με διάφορους τρόπους που περιλαμβάνουν απόρριψη, αποτοξικοποίηση και δέσμευση (sequestration)
- Οι ιδιότητες αυτές αποτελούν συνήθως ενδογενή χαρακτηριστικά των εντόμων ανεξάρτητα από τις σχέσεις τους με το μικροβίωμα
- Ορισμένα έντομα ωστόσο χρησιμοποιούν μικροοργανισμούς για την αποτοξικοποίηση ουσιών

Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Βιοτεχνολογική αξιοποίηση του μικροβιώματος των εντόμων

- ❑ Πρόσφατα το μικροβίωμα των εντόμων και το γονιδίωμα του μικροβιώματος των εντόμων αναγνωρίστηκε ως σημαντική γενετική πηγή για την βιομηχανική βιοτεχνολογία
- ❑ Η εκμετάλλευση του μικροβιώματος των εντόμων με την χρήση μεταγονιδιωματικών προσεγγίσεων θα δώσει τη δυνατότητα εύρεσης νέων βιοκαταλυτών και ανάπτυξης καινοτόμων στρατηγικών για την ταυτοποίηση έξυπνων μορίων με βιοτεχνολογικές εφαρμογές



Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Βιοτεχνολογική αξιοποίηση του μικροβιώματος των εντόμων

❑ Ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά

- Αναφορά παρουσίας μικροβιακής κοινότητας με γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά στο μεσέντερο της λυμάντριας
- Ταυτοποιήθηκαν νέες β-λακταμάσες στο μεταγονιδίωμα της λυμάντριας
- Ταυτοποίηση νέων γονιδίων με πιθανή βιοτεχνολογική εφαρμογή
- Αποτελεί μεγάλη πρόκληση εξαιτίας της πολυπλοκότητας του μικροβιώματος και της παρουσίας ποικίλων γονιδίων στο γονιδίωμα τους



❑ Χημικά σήματα επικοινωνίας

- ❑ Οι μικροοργανισμοί παράγουν μεταβολίτες με ποικίλα χημικά χαρακτηριστικά και βιολογική δραστηριότητα
- Σηματοδοτικά μόρια έχουν καταγραφεί στο μικροβίωμα του εντέρου των εντόμων με μεταγονιδιωματικές προσεγγίσεις
- Παραγωγή ουσιών που επάγουν τη διακυτταρική χημική επικοινωνία στο μεσέντερο της λυμάντριας που διέφεραν χημικά από τους ως τώρα γνωστούς επαγωγείς



Το μικροβίωμα των εντόμων

□ Βιοτεχνολογική αξιοποίηση του μικροβιώματος των εντόμων

□ Ανθεκτικότητα σε εντομοκτόνα

- Μέχρι σήμερα η ανθεκτικότητα των εντόμων στα εντομοκτόνα έχει αποδοθεί κυρίως σε σημειακές μεταλλάξεις στο σημείο δράσης των γεωργικών φαρμάκων ή σε υπερέκφραση ενζύμων αποτοξικοποίησης χαμηλής εξειδίκευσης (κυτόχρωμα P₄₅₀ μονοξυγενάσες, εστεράσες, τρανσφεράσες της γλουταθειόνης)
- Ελάχιστα είναι γνωστά για τη συνεισφορά του συμβιώματος των εντόμων στην αποτοξικοποίηση των εντομοκτόνων
- Πρόσφατες μελέτες απέδειξαν τον σημαντικό ρόλο συμβιωτικών βακτηρίων στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας διαφόρων εντόμων έναντι συγκεκριμένων οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων
- Αντίθετα με τα έντομα, οι μικροοργανισμοί λόγω της πλαστικότητας του γενετικού τους υλικού και του μικρού χρόνου διπλασιασμού τους αναπτύσσουν ταχύτερα νέα ενζυμικά συστήματα υψηλής εξειδίκευσης για την αποδόμηση γεωργικών φαρμάκων

Το μικροβίωμα των εντόμων

❑ Βιοτεχνολογική αξιοποίηση του μικροβιώματος των εντόμων

- ❑ Η αξιοποίηση μικροοργανισμών ή ενζύμων με νέες ιδιότητες έχει πολλές φορές περιοριστεί λόγω προβλημάτων όπως:
 - Η χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα των οργανικών ρύπων
 - Η παραγωγή ενδιάμεσων προϊόντων μεταβολισμού που είναι τοξικοί για το μικροοργανισμό-φορέα
 - Η μη αποδοτική ρύθμιση του μεταβολικού μονοπατιού
- ❑ Σήμερα, η συνθετική βιολογία δίνει την δυνατότητα υπέρβασης των παραπάνω εμποδίων μέσω ανασχεδιασμού υπάρχοντων μικροοργανισμών για να πραγματοποιούν νέες λειτουργίες με εφαρμογή στην αγροδιατροφή και το περιβάλλον