

Celem projektu jest zweryfikowanie hipotezy zakładającej, że niektóre gatunki bakterii zasiedlające jelito larw owadów z rodziny *Scarabaeidae* mogą oddziaływać antagonistycznie w stosunku do bakterii *Xenorhabdus* spp. i *Photorhabdus* spp., przenoszonych przez nicienie entomopatogeniczne, co może być istotnym mechanizmem obronnym przed infekcją spowodowaną tymi patogenami.

Bakterie *Xenorhabdus* spp. i *Photorhabdus* spp. są obligatoryjnymi symbiontami entomopatogenicznych nicieni z rodzajów *Steinernema* i *Heterorhabditis*. Jednym ze stadiów rozwojowych tych nicieni są wolnożyjące larwy inwazyjne, które penetrują powierzchniową warstwę gleby w celu odnalezienia przebywających tam owadów. Mają one zdolność do aktywnego wyszukiwania żywiciela, a następnie przedostawania się do jego wnętrza poprzez otwory układów pokarmowego lub oddechowego, gdzie uwalniają symbiotyczne bakterie. *Photorhabdus* spp. i *Xenorhabdus* spp. powodują śmierć owada w ciągu około 24-48 godzin i przygotowują optymalne środowisko życia i rozwoju dla nicienia, rozkładając tkanki żywiciela za pomocą enzymów litycznych. Bakterie te mają też zdolność do produkcji różnego typu związków hamujących rozwój innych obecnych w tym środowisku drobnoustrojów. Jak dotąd nie stwierdzono występowania mechanizmów antagonistycznych skierowanych w przeciwną stronę, tzn. wytwarzania przez bakterie mikroflory jelitowej owadów substancji hamujących wzrost bakterii *Xenorhabdus* spp. i *Photorhabdus* spp. Jednak tego typu interakcji można się spodziewać, ponieważ optymalnym środowiskiem życia mikroflory jelitowej owada jest układ pokarmowy żywego osobnika, natomiast bakterie uwalniane przez nicienie entomopatogeniczne powodują szybką śmierć owada. Bakterie stanowiące mikroflorę jelitową larw owadów powinny wykształcić własne mechanizmy obronne, hamujące wzrost bakterii patogennych. Jest więc możliwe, że niektóre z bakterii jelitowych są zdolne do wytwarzania substancji działających antagonistycznie wobec *Xenorhabdus* spp. i *Photorhabdus* spp., chroniących mikroflorę jelitową oraz cały organizm owada. Planowane badania pozwolą na zweryfikowanie tej hipotezy.

Można przypuszczać, że niektóre bakterie występujące w jelicie żukowatych mogą syntetyzować bakteriocyny, gdyż zidentyfikowano wśród nich przedstawicieli rodzajów *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterococcus* i *Lactococcus*, które są znane z ich produkcji. Nie jest więc wykluczone, że w jelicie żukowatych obecne są też bakterie wytwarzające związki o działaniu antagonistycznym w stosunku do bakterii *Xenorhabdus* spp. i *Photorhabdus* spp. Jest też możliwe, że niektóre bakterie jelitowe owadów mogą syntetyzować innego rodzaju substancje o aktywności antybiotycznej. Jak dotąd, badania nad otrzymywaniem tego typu związków z bakterii mikroflory jelitowej owadów nie były prowadzone na dużą skalę, chociaż z pewnością to źródło substancji o działaniu antybakteryjnym jest warte większej uwagi.

W prezentowanym projekcie będą badane bakterie tworzące naturalną florę jelitową larw żukowatych (*Scarabaeidae*). Rodzina *Scarabaeidae* zawiera ponad 30 tys. gatunków chrząszczy rozprzestrzenionych na całym świecie. W ostatnich latach liczebność populacji niektórych gatunków żukowatych, m.in. chrabąszcza majowego (*Melolontha melolontha*) oraz guniaka czerwczyka (*Amphimallon solstitiale*), znacząco wzrasta, powodując intensywną presję na środowisko naturalne.

Entomopatogeniczne nicienie mają istotne znaczenie w regulacji liczebności szkodliwych owadów. Doświadczenia laboratoryjne wykazały jednak, że larwy *M. melolontha* oraz *A. solstitiale* wykazują stosunkowo niską wrażliwość na porażenie przez entomopatogeniczne nicienie. Dlatego też, larwy tego gatunku mogą być obiecującym źródłem bakterii jelitowych, zdolnych do zahamowania wzrostu bakterii wprowadzanych przez nicienie *Steinernema* spp. i *Heterorhabditis* spp.

W ramach planowanych badań, z jelita środkowego larw *M. melolontha* oraz *A. solstitiale* zostanie wyizolowanych 1800 czystych kultur bakteryjnych. Następnie zbadana zostanie zdolność izolatów do hamowania wzrostu 5-ciu gatunków EPB, z wykorzystaniem kilku rodzajów płytkowych testów inhibicji wzrostu. Izolaty, dla których zostanie wykazana zdolność do hamowania rozwoju EPB zostaną zidentyfikowane metodami molekularnymi. Ostatnim etapem prac będzie kompleksowe badanie mikroflory jelitowej pędraków pochodzących z różnych środowisk, z wykorzystaniem analizy metagenomu. Badania te pozwolą poznać rozprzestrzenienie zidentyfikowanych uprzednio izolatów w populacjach *M. melolontha* oraz *A. solstitiale*, co da odpowiedź na pytanie, czy bakterie te występują powszechnie, czy też są obecne tylko w jelitach nielicznych osobników. Przeprowadzone badania wykażą również, czy zwiększona odporność na porażanie przez EPN jest skorelowana z obecnością i/lub liczebnością bakterii wykazujących właściwości antagonistyczne wobec EPB.

Wyniki badań będą miały duże znaczenie poznawcze. Pomogą one wyjaśnić mechanizmy konkurencji międzygatunkowej bakterii i wynikającą z tego rolę układu nicien-bakteria-owad w ekosystemach. Będą miały istotne znaczenie w poznaniu mechanizmów obronnych owadów na porażenie przez entomopatogeniczne nicienie i w opracowaniu metod przełamania tych mechanizmów. Przyczynią się do rozwoju biologicznych metod ograniczania liczebności szkodliwych owadów i ograniczenia chemizacji środowiska.