

Tilley, C., 2023: *ChatGPT provides higher quality and empathetic answers than real doctors 80% of the time*. Daily Mail (internet). 29. 4. 2023. Dostopno na:

<https://www.dailymail.co.uk/health/article-12025345/ChatGPT-provides-higher-quality-empathetic-answers-real-doctors-80-time.html>. (Citirano 17. 5. 2023.)



Amadej Šenk se je rodil leta 1999 v Postojni. Obiskoval je gimnazijo Bežigrad, leta 2022 pa je diplomiral na Fakulteti za računalništvo in informatiko. Trenutno je študent prvega letnika Medicinske fakultete v Ljubljani. V prostem času rad tekmuje na različnih programerskih tekmovanjih in se ukvarja z vpeljavo umetne inteligence v medicinsko okolje pri različnih univerzitetnih projektih.

Mikrobiologija • Vloga oacetnokislinskih bakterij v medonosni čebeli

Vloga oacetnokislinskih bakterij v medonosni čebeli

Metka Vrečko, Janja Trček

Oacetnokislinske bakterije kolonizirajo prebavila številnih žuželk, med drugim komarjev (*Anopheles*, *Aedes*), vinske mušice (*Drosophila melanogaster*) in tudi medonosne čebele (*Apis mellifera*). Medonosne čebele so gospodarsko pomembni opraševalci, katerih populacija se je v zadnjih letih zaradi različnih okoljskih dejavnikov zelo zmanjšala. Oacetnokislinska bakterija *Bombella apis* je ena izmed prevladujočih simbiotov črevesne mikrobiote pripadnikov čebeljega panja, zato lahko domnevamo, da ima pomembno biološko vlogo v tem organizmu. S poznavanjem bakterijskih genomskih zaporedij in njihovo analizo s sodobnimi bioinformacijskimi orodji so bile pridobljene nove informacije o možni vlogi oacetnokislinskih bakterij v samem čebeljem panju in njegovi okolici. Članek bo predstavil najnovejša dognanja o zaščitni vlogi teh bakterij v medonosni čebeli.

Mikroorganizme srečamo v vseh organizmih in njihovem okolju. Z vzpostavitvijo simbiotskega odnosa gostitelju lahko omogočijo razvoj, zaščito pred patogenimi organizmi in paraziti ali celo dostop do ključnih hranil, ki jih v prehrani gostitelja ni oziroma ne dovolj, kar gostitelju omogoča zasedbo nekaterih negostoljubnih prehranjevalnih niš. Zanimiv primer je simbioza medonosne čebele (*Apis mellifera*) z mikroorganizmi njene črevesne mikrobiote. Zaradi svoje specifične prehranske diete se morajo čebele namreč velikokrat zanašati na bakterijske partnerje, s katerimi lahko dopolnijo

manjkajoče hranilne snovi in tako izboljšajo zdravstveno stanje celotnih kolonij (Parish s sod., 2022).

Z vidika zaščite gospodarsko pomembnih opraševalcev, kot je medonosna čebela (*A. mellifera*), je v zadnjih letih deležna posebne pozornosti njena simbiotska bakterija *Bombella apis*, ki predstavlja velik delež njene črevesne mikrobiote. Bakterija *B. apis* je del skupine oacetnokislinskih bakterij znotraj družine *Acetobacteraceae*, ki vsebuje tako prostoživeče predstavnike kot tudi takšne, ki živijo v simbiozi z žuželkami. Najpogostejše jo najdemo v črevesju matice ter hipofarin-

gealnih žlezah, ki proizvajajo in izločajo sestavine matičnega mlečka, zato so bakterije tudi v samem pridelku čebel dojlj (Yun s sod., 2017). Na podlagi preiskanih bakterijskih genomskih zaporedij so ugotovili, da te bakterije lahko vplivajo na zdravje in fiziologijo matic ter varovanje razvijajočih se ličink in čebel delavk pred patogenimi glivami (Smith in Newton, 2020).

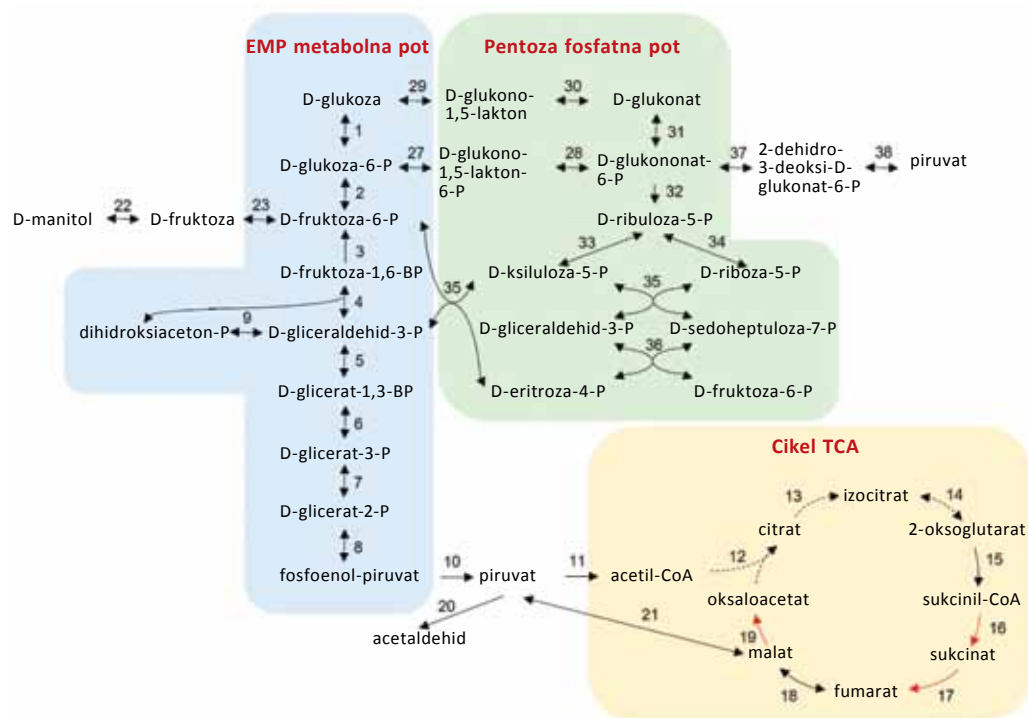
Analiza genomskih zaporedij simbiotskih oetnokislinskih bakterij iz čebel

Medonosne čebele so nenadomestljive zaradi opraševanja kmetijskih rastlin, pomembnih za človeka. V preteklih letih se je zato močno povečalo zanimanje za preučevanje raznolikih obrambnih mehanizmov čebel, vključno z njihovimi simbiotskimi mikroorganizmi, kot so oetnokislinske bakterije.

Bakterija *Bombella apis* ni edina predstavnik tega rodu iz skupine oetnokislinskih bakterij, v tem rodu so še vrste *Bombella intestini*, *Bombella favorum* in *Bombella mellum*, ki so bile tudi prepoznane v črevesni mikrobioti medonosnih čebel (Härer s sod., 2022).

Primerjalna genomika nam je omogočila vpogled v genomske spremembe, ki so znotraj družine bakterij *Acetobacteraceae* omogočile prehod v simbiozo s čebelami. Pomaga nam tudi razjasniti, kaj vrsto *B. apis* loči od sorodnih vrst in vlog, ki jih ta bakterijska vrsta lahko opravlja v samem čebeljem panju in njegovi okolici. Glavne ugotovitve tovrstnih analiz avtorjev Smitha in Newtona (2020) ter Härerja in sodelavcev (2022) so povzete spodaj.

Pri vseh vrstah iz rodu *Bombella* so ugotovili odsotnost genetskega zapisa za sintezo glav-



Slika 1: Presnova ogljikovih hidratov pri bakterijah iz rodu *Bombella*, konstruirana iz genomskih sekvenc. Rdeče puščice prikazujejo manjkajoče gene, črte pa tiste, ki niso prisotni v vseh genomih tega rodu. Vir: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9147383/>.

nega uravnavalnega (regulatornega) encima glikolize, to je fosfofruktokinaze, in kar šestih genov, vključenih v sintezo presnovnih snovi cikla trikarboksilnih kislin, zaradi česar presnova ogljikovih hidratov poteka po nadomestnih presnovnih poteh (slika 1). Poleg tega je za bakterije *Bombella* spp. značilna tudi nepopolna oksidacija sladkorjev in alkoholov z dehidrogenazami, pritrjenimi na zunanjo stran citoplazemske membrane. V tej povezavi ima pomembno vlogo za preživetje čebel v okolju, bogatem z glukozo, bakterijska dehidrogenaza, odgovorna za oksidacijo glukoze v glukonske kisline.

Za seve rodu *Bombella* je značilna tudi odpornost proti visokim koncentracijam glukoze, tako imenovana ozmotoleranca, kar kaže na njihovo prilagoditev na življenje v okolju z visoko vsebnostjo sladkorja, kot je čebelji panj. Kopičenje združljivih topljencev v celični citoplazmi je bilo v tem primeru ugotovljeno kot ključni mehanizem uravnavanja osmotskega tlaka v bakterijski celici.

Bakterija *B. apis* bi lahko imela tudi protiglavno aktivnost, saj so v njenem genomu našli genski skupek za sintezo poliketidov, lahko pa bi bilo delovanje proti glivam povezano tudi s sintezo in zunajceličnim kopičenjem glukonata in acetata. Analiza genomov je odkrila tudi številne profage, to je bakteriofage, vključene v bakterijski genom, a njihova vloga, ki bi za bakterijo lahko bila tudi pozitivna za preživetje v tej posebni okoljski niši, še ni bila preučena.

Odpornost sevov iz rodu *Bombella* proti antibiotiku tetraciklin, ki ga uporabljajo v državah zunaj Evropske unije za preprečevanje bakterijske okužbe pri čebelah, je bila ugotovljena zgolj pri tipskem sevu *B. apis*. Odkritih ni bilo genov za sintezo protimikrobnih bakteriocinov, to je beljakovinskih toksinov, ki jih mnoge bakterije proizvajajo, da bi zavrele razvoj sebi sorodnih bakterijskih vrst.

V genomih bakterije *B. apis* so našli tudi gene za morebitne nove presnovne poti, obrambne mehanizme in interakcije z

drugimi mikroorganizmi in gostitelji - na primer gene za encime, ki so vključeni v razkisanje matičnega mlečka, gene za encime, ki presnavljajo sladkorje iz nektarja in medu, gene za sintezo molekul, ki uničijo tujo DNA, kot so na primer restriksijsko-modifikacijski sistemi, ter druge.

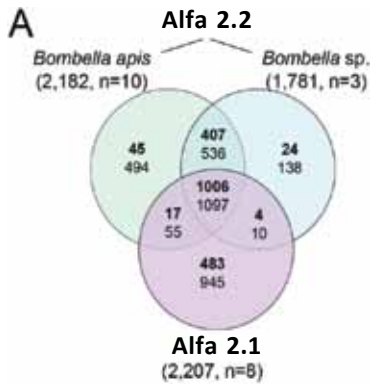
Specializacija filotipov na niše v medonosni čebeli

Črevesna mikrobiota medonosnih čebel velja za razmeroma preprosto, vendar je večina najdenih filotipov specializiranih za življenje v tem svojevrstnem okolju (Corby-Harris s sod., 2014). Znotraj tovrstne populacije mikroorganizmov srečamo dva posebej zanimiva filotipa, tako imenovana filotipa alfa 2.1 in alfa 2.2, ki pripadata dvema oddaljenima filogenetskima kladama znotraj družine *Acetobacteraceae*. Prvi se nahaja izključno v črevesju medonosne čebel, medtem ko se drugi nahaja tudi v matičnem mlečku ter hipofaringealnih žlezah in ličinkah čebel. Oba filotipa se med seboj zelo razlikujeta po presnovnih in dihalnih sposobnostih. Pri filotipu alfa 2.2 srečamo poenostavljeno presnovo z nizkim izkoristkom, to je nepopolno oksidacijo (fermentacijo), vendar hitro proizvodnjo energije iz glukoze, kar mu zagotavlja prednost v okoljih, bogatih z glukozo, kot je matični mleček. Za filotip alfa 2.2 je zaradi izgube nadomestnih oksidacijskih poti za presnovo glukoze to edini način pridobivanje energije iz glukoze. Filotip alfa 2.1 ne vodi fermentacije, vendar lahko uporablja širši nabor primarnih darovalcev elektronov, na primer tudi različne organske kisline. Za razliko od filotipa alfa 2.2 ima filotip alfa 2.1 celotni cikel trikarboksilnih kislin in je prilagojen za hitro obnavljanje vmesnih proizvodov tega cikla, ki se iz njega črpajo v različne biosintetske poti (slika 2). Tovrstni širši presnovni razpon filotipa alfa 2.1 zagotavlja potencialno prednost za življenje v zadnjem črevesu čebel, kjer sta tekmovanje z drugimi bakterijami in prilagodljivost pri izkoriščanju hranilnih virov

ključnega pomena za obstoj. Oba filotipa imata v dihalni verigi ubikinon in terminalne oksidaze, odvisne od O_2 , vendar filotip alfa 2.1 lahko uporabi kot končni prejemnik (akceptor) elektronov tudi nitrat, kar mu za razliko od vseh ostalih očetnokislinskih bakterij omogoča, da raste tudi ob odsotnosti kisika. Omenjene fiziološke in presnovne razlike med obema skupinama bakterij so omogočile zavzetje posebnih niš v čebelah in s tem pripomogle k sobivanju filogenetsko sorodnih bakterij v črevesju medonosnih čebel (Bonilla-Rosso s sod., 2019).

Pomen bakterije *B. apis* za čebelje ličinke

V zadnjih dveh desetletjih se po vsem svetu srečujemo z znatnim zmanjšanjem populacij medonosnih čebel. Mnoge komercialne poljščine danes namreč komaj še lahko zadovoljujejo njihove minimalne potrebe po hranilih. Za bakterijo *B. apis* je bilo ugotovljeno, da čebeljim kolonijam zagotavlja nekatere aminokisline (slika 3), s čimer zaščiti čebele pred izgubo telesne mase ter tako zagotavlja njihovo normalno razvijanje v odrasle čebele delavke. Pomanjkanje hranil, zlasti beljakovin, namreč najprej prizadene ličinke

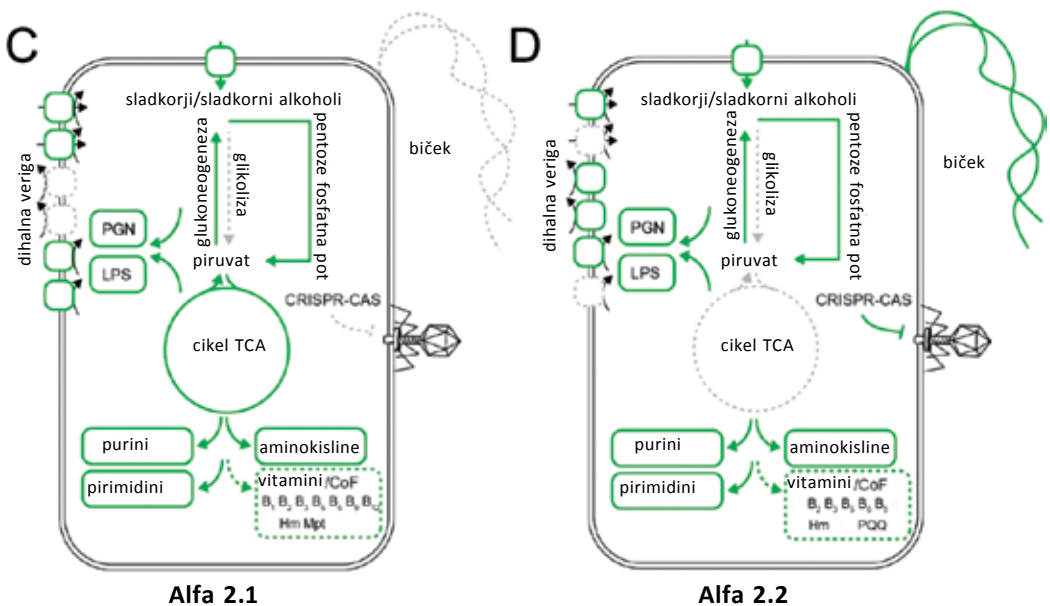


Slika 2: Porazdelitev družin genov med filotipoma alfa 2.1 in alfa 2.2 ter pregled njihovih glavnih funkcionalnih zmožnosti.

A Diagram skupnih in edinstvenih družin genov v treh filotipih (alfa 2.1 in dveh podvrstah alfa 2.2 *Bombella apis* in *Bombella sp.*).

C in D Povzetek glavnih funkcionalnih zmožnosti filotipov alfa 2.1 in alfa 2.2, kjer polne črte prikazujejo prisotnost presnovnih poti, črtkane pa odsotnost posameznih presnovnih poti.

Privrejeno po viru: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/861260v1.full>.



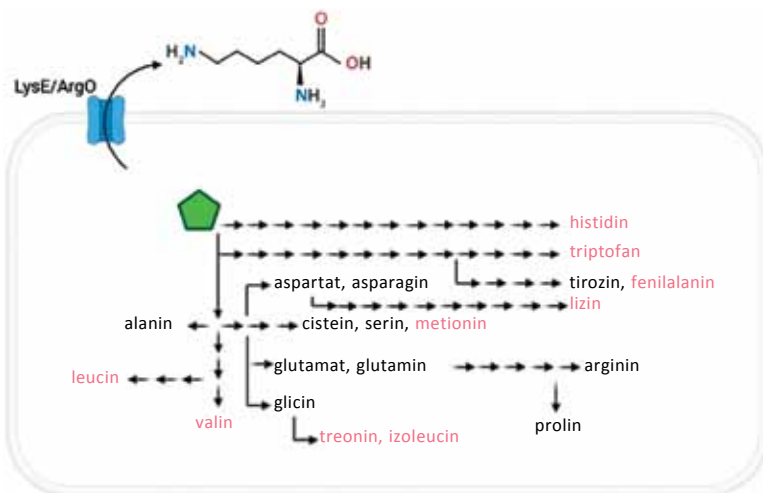
medonosnih čebel (slika 4), ki se posledično ne morejo razviti v odrasle osebe, hkrati pa postanejo bistveno bolj dovzetne za parazite, patogene viruse ter zajedavske pršice, kot je *Varroa destructor*. Ličinke medonosnih čebel se prehranjujejo pretežno z matičnim mlečkom, cvetnim prahom ter nektarjem. Vsak bakterijski simbiot, izpostavljen takšni prehrani, mora biti sposoben prenašati protimikrobno okolje, ki ga ustvarja matični mleček s svojimi obrambnimi peptidi, viskoznostjo in kislostjo. *B. apis* je edina bakterija, ki ji ne škodi tovrstna protimikrobna prehrana medonosne čebele. Čeprav je vloga bakterije *B. apis* ključna predvsem pri pospešitvi rasti ličink, pa lahko v kolonijah z zadostno oskrbo s hranili prevzema tudi vlogo protiglivičnega simbionta (Parish s sod., 2022).

Vloga primarnega okolja in družbene imunosti za razvoj matic

Medonosne čebele (slika 5) so v primerjavi z nekaterimi samotarskimi vrstami čebel mnogo bolj odvisne od skupne imunosti svojih kolonij. Pri čebeljih maticah, ki so del kompleksnega družbenega okolja, kot je aktivna kolonija, je tako na primer značilna manjša bakterijska raznolikost mikrobiote njihovega zadnjega črevesa kot pri maticah, shranjenih v izoliranem okolju, kjer pre-

učujejo izključno združbe čebeljih matic. Sodobne raziskave na tem področju poleg družbene imunosti kolonij med drugim poudarjajo tudi pomen samega izvora čebeljih matic, predvsem pa primarnega družbenega okolja, v katerem se začeta rast in razvoj matic, na nadaljnje spreminjanje črevesne mikrobiote ter s tem povezane proizvodne in razmnoževalne sposobnosti matic. Matice so namreč edine razmnoževalne samice čebeljih kolonij, ki so v svojem večletnem življenju osredotočene zlasti na produkcijo in lego jajčec, zato njihov pogin velja za enega izmed glavnih dejavnikov zmanjševanja velikosti družin in s tem celotnih populacij čebel. Njihova edinstvena fiziologija in razmnoževalna vloga jim omogočata zmožnost širjenja mikroorganizmov, ki se lahko prenašajo ter razmnožujejo v protimikrobnem matičnem mlečku. Podobno kot pri mnogih drugih dolgoživih organizmih pa se mikrobiota matice lahko sčasoma preoblikuje, kar je odvisno predvsem od njihove presnove in prehranskih navad. Mikrobioto, ki jo oblikujejo dolgotrajni vplivi v skladu z njihovo mnogo daljšo življenjsko dobo, med drugim naseljujejo nekatere pionirske vrste, ki jim pripisujejo sposobnost krepitve imunskega

Nadaljevanje se na strani 471.



Slika 3: Bakterija *B. apis* lahko proizvaja vse esencialne aminokisline in izloča lizin v prebrano ličink. Vsaka aminokislina, ki jo bakterija lahko sintetizira, je označena z rožnato barvo.

Prerejeno po viru: <https://www.nature.com/articles/s41396-022-01268-x#citeas>.