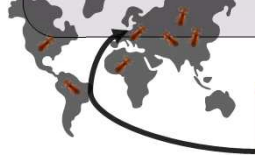




Relation between the microbiome of the lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* F.) and the development and its foraging  
mgr inż. Olga Kosewska<sup>1</sup>, dr inż. Sebastian Wojciech Przemieniecki<sup>1</sup>, dr hab. inż. Mariusz Nietupski, prof. UWM<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Rolnictwa i Leśnictwa, Katedra Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej, Olsztyn

Kaptownik zbożowiec (*Rhyzopertha dominica* F.), to groźny szkodnik magazynowy, po raz pierwszy odnotowany w 1849 roku, w Indiach. Obecnie ma zasięg kosmopolityczny i znacząco wpływa na globalne straty w przechowywanych ziarnach zbóż. Jego zdolność do adaptacji do różnych warunków abiotycznych oraz szeroka dieta sprawiają, że jest on trudny do zwalczania.



W Polsce gatunek ten obserwowano dosyć licznie już w połowie XX wieku w magazynach z importowanym zbożem

Jednym z kluczowych czynników wpływających na rozwój i żerowanie tego owada jest jego mikrobiom, który odgrywa istotną rolę w trawieniu, odporności na patogeny oraz zdolnościach reprodukcyjnych. Badania pokazują, że dieta może bezpośrednio wpływać na skład mikrobiomu, co z kolei oddziałuje na zdrowie i rozwój kaptownika.

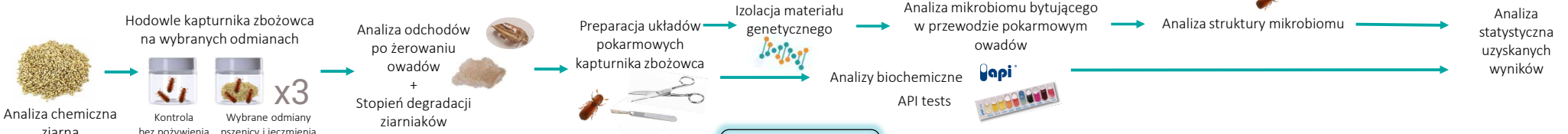
Znaczenie mikrobiomu dla zdrowia i rozwoju kaptownika zbożowca jest coraz bardziej doceniane. Zrozumienie interakcji między dietą, mikrobiomem, a fizjologią owada może przyczynić się do opracowania nowych strategii kontroli tego szkodnika. Badania nad naturalną odpornością różnych gatunków i odmian zbóż na żerowanie kaptownika zbożowca oraz wpływem chemicznych właściwości ziarna na mikrobiom owadów mogą dostarczyć cennych informacji do skuteczniejszej walki z tym szkodnikiem i minimalizacji strat w magazynach zbożowych.

## Wstęp

## Cel pracy

Celem niniejszej pracy jest zbadanie zależności pomiędzy dietą, mikrobiomem, a fizjologią kaptownika zbożowca oraz ocena wpływu różnych odmian zbóż na jego rozwój i żerowanie. Wyniki badań mogą przyczynić się do opracowania nowych strategii kontroli tego szkodnika, minimalizując straty w magazynach zbożowych.

## Metodyka



## Wyniki

Tab. 1 Porównanie parametrów rozwoju *R. dominica* na wybranych odmianach jęczmienia oraz charakterystyka składu ziarna odmian użytych w doświadczeniu (\* Zawartość przeciwutleniaczy w ekwiwalencie kwasu askorbinowego)

Category	Consumption [g]	Frass mass [g]	Progeny of beetles [pcs.]	Mass of imago [g]	Dry matter [%]	Crude ash [%]	Total Protein [%]	Crude fat [%]	Crude fiber [%]	WSC [%]	Antioxidants*
Ismena	2.564 a	1.545 a	54 a	0.071 a	89.083 a	2.250 a	10.307 b	2.207 a	4.550 a	2.740 a	0.177 a
Radek	1.998 a	1.292 a	54 a	0.073 a	88.830 a	2.203 a	10.600 b	1.900 b	4.850 a	2.297 b	0.139 a
Trofeum	1.323 a	0.747 a	36 a	0.151 a	89.003 a	2.033 a	12.117 a	1.750 b	4.200 a	2.657 a	0.095 a
Pr > F(Model)	0.422	0.490	0.559	0.618	0.249	0.325	0.000	0.000	0.635	0.008	0.099
Significant	No	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No	Yes	No

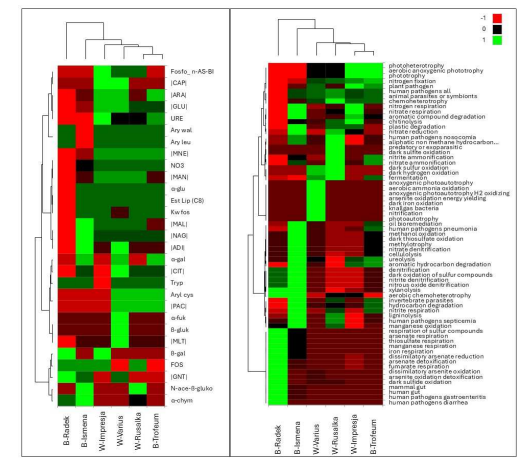
Tab. 2 Porównanie parametrów rozwoju *R. dominica* na wybranych odmianach pszenicy oraz charakterystyka składu ziarna odmian użytych w doświadczeniu (\* Zawartość przeciwutleniaczy w ekwiwalencie kwasu askorbinowego)

Category	Consumption [g]	Frass mass [g]	Progeny of beetles [pcs.]	Mass of imago [g]	Dry matter [%]	Crude ash [%]	Total Protein [%]	Crude fat [%]	Crude fiber [%]	WSC [%]	Antioxidants*
Variusus	4.599 a	2.977 a	159 a	0.234 a	88.710 c	2.000 a	14.050 a	1.750 a	3.150 a	3.350 b	0.033 a
Rusałka	1.639 ab	1.217 ab	67 a	0.169 a	89.087 b	1.750 b	13.150 b	1.350 b	2.650 b	4.503 a	0.028 a
Impresja	0.411 b	0.203 b	15 a	0.160 a	89.350 a	1.750 b	12.000 c	1.750 a	2.650 b	2.590 c	0.020 a
Pr > F(Model)	0.029	0.032	0.037	0.772	<0.0001	0.000	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.117
Significant	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
p	0.008	0.027	0.029	0.877	0.004	0.039	0.003	0.048	0.049	0.004	0.102

Tab. 3 Procentowy udział rodzajów bakterii zidentyfikowanych w przewodzie pokarmowym kaptownika zbożowca żerującego na różnych odmianach pszenicy i jęczmienia

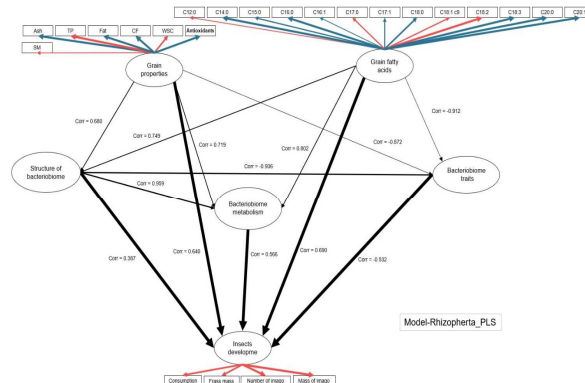
gatunek	Pokolenie I										Pokolenie II									
	brak	Impresja	Rusałka	Variusus	Trofeum	Radek	Ismena	Impresja	Rusałka	Variusus	Trofeum	Radek	Ismena							
<i>Pantoea</i>	23.8	14.3	11.4	27.7	8.9	6.9	13.3	19.9	3.3	11.0	38.0	28.0	16.1							
<i>Ralstonia</i>	6.0	20.3	28.7	0.0	14.5	54.9	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	7.8	0.4							
<i>Pseudomonas</i>	9.3	17.1	9.3	11.0	10.1	6.4	11.2	6.3	5.4	8.8	10.8	5.5	22.6							
<i>Stenotrophomonas</i>	10.8	6.4	7.9	11.4	0.9	5.7	25.3	22.3	4.7	6.1	1.2	1.8	5.4							
<i>Massilia</i>	7.6	5.3	4.8	10.3	8.5	2.2	7.4	9.5	5.2	12.4	9.9	1.6	8.1							
<i>Acinetobacter</i>	0.0	0.3	0.5	0.6	0.6	0.8	1.4	1.4	21.1	7.4	7.1	4.0	13.8							
<i>Serratia</i>	0.0	0.4	0.7	1.7	5.4	0.6	0.0	10.3	17.7	9.1	14.1	0.7	11.1							
<i>Xanthomonas</i>	0.0	3.2	8.8	6.5	0.7	4.9	7.2	2.3	0.0	2.3	1.8	14.3	0.0							
<i>Sphingomonas</i>	6.6	4.1	2.5	3.0	1.2	1.1	2.2	3.2	2.2	2.0	3.1	1.2	1.2							
<i>Candidatus_Sulcia</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	19.6							
<i>Sphingobium</i>	4.4	2.5	0.6	0.6	0.4	1.3	1.0	1.4	1.1	1.2	0.7	0.4	0.9							
<i>Enterobacteriales</i>	7.8	2.2	4.5	0.3	0.0	0.6	3.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0							
<i>Caulobacter</i>	0.0	1.8	0.3	1.4	0.5	0.7	0.5	0.7	1.3	0.9	0.0	0.0	0.4							
<i>Paenibacillus</i>	0.0	0.5	0.3	0.8	0.7	0.0	1.1	0.8	1.0	1.0	1.1	0.0	0.7							
<i>Brevibacterium</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	3.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0							
<i>Bosea</i>	0.0	0.7	0.0	0.0	0.2	0.0	0.2	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.6							
<i>Rhizobium</i>	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.7	0.6	0.0	0.5	0.3	0.5	0.0	0.3							
<i>Variovorax</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.7	0.2	0.8	0.0	0.9							
<i>Burkholderia</i>	2.7	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	1.0	0.2	0.5	0.0	0.0	0.4							
<i>Bacillus</i>	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.2	0.9							
<i>Cupriavidus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0							
<i>Methylobacterium</i>	0.0	0.4	0.0	0.3	0.2	0.0	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0							
<i>Alphaproteobacteria</i>	0.0	0.6	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0							
<i>Escherichia_Shigella</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.4	0.0							
<i>Corynebacterium</i>	0.0	0.0	0.4	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2							
<i>Brevundimonas</i>	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0							
<i>Alcaligenes</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.1	0.0							
<i>Sporosarcina</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	0.0							
<i>Comamonadaceae</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.4	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0							
<i>Conchylifimbria</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.4	0.0							
<i>Ancylobacter</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0							
<i>Aureimonas</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3	0.0							
<i>Lysobacter</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0							
<i>Xanthobacteraceae</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0							
<i>Microvirga</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.7	0.0							
<i>Pseudarthrobacter</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.7	0.0							
<i>Candidatus_Berkshella</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8	0.0							
<i>Moraxella</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0							
<i>Kocuria</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0							

Analizując procentowy udział poszczególnych rodzajów bakterii zidentyfikowanych w przewodzie pokarmowym kaptownika zbożowca żerującego na różnych odmianach pszenicy i jęczmienia (Tab. 3), zauważamy znaczną różnorodność mikrobiologiczną, która zależy zarówno od rodzaju zboża, jak i pokolenia owada. Analiza różnorodności bakteriologicznej w przewodzie pokarmowym kaptownika zbożowca podczas żywienia go różnymi odmianami pszenicy i jęczmienia, wykazała widoczną dominację bakterii z rodzaju *Pantoea* i *Ralstonia* w większości odmian i pokoleń. W pierwszym pokoleniu pszenica odmiana Impresja oraz jęczmień odmiana Ismena wykazały największą różnorodność mikrobiologiczną, natomiast w drugim pokoleniu odmiana pszenicy Impresja oraz odmiana jęczmienia Radek.



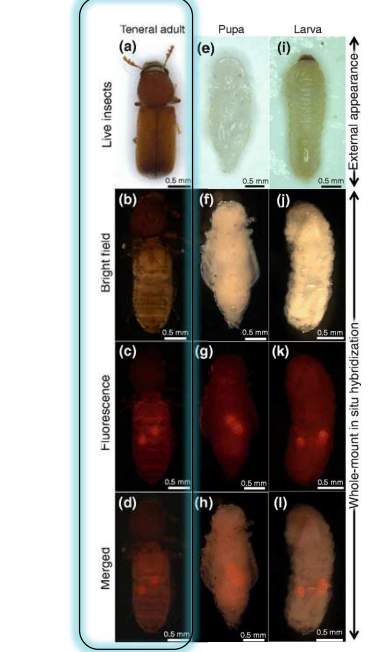
Rys. 2 Heatmap obrazująca odmienność cech metabolizmu bakteriomiomu (lewa strona) oraz potencjalnych cech bakteriomiomu (multitraits; prawa strona), w zależności od odmiany

Wyniki analizy heatmap dla metabolizmu mikrobiomu (Rys. 2 lewa strona) wykazały, że bakteriomiom odmiany Radek był najbardziej różny od pozostałych bakteriomiomów i odznaczał się najniższą aktywnością metaboliczną. Jedynie parametry b-gal i utylizacja GNT były wysoc aktywne. Odmiana Ismena była odmianą pośrednią pomiędzy Radek, a pozostałymi odmianami. Odmiana ta charakteryzowała się m. in.: wysoką aktywnością a-chym, N-ace-B-gluko, a-gal. Odmiana Impresja charakteryzowała się wysoką lub bardzo wysoką aktywnością 17 z 29 cech. Odmiana Varius charakteryzowała się wysoką lub bardzo wysoką aktywnością 23 z 29 badanych cech, a do najbardziej aktywnych należały a-gal, aryl cys, a-fuk, B-glu. Odmiany Rusałka i Trofeum charakteryzowały się wysokim podobieństwem, a do wspólnych cech o wysokiej aktywności zaliczono 14 cech. Najsilniejszą aktywnością cechowały się Aryl cys i PAC. Bakteriomiomy dla tych odmian różniły się w przypadku fos\_n-AS-BI, a-gal, FOS i N-ace-B-glu oraz utylizacją ARA, MAL i MAN. Na podstawie wyników analizy przewidywanych cech multitraits bakteriomiomu (Rys. 2 prawa strona) zaobserwowano analogiczne grupowanie odmian jak dla cech aktywności metabolicznej. Najbardziej odmienną odmianą od pozostałych odmian był Radek. Bakteriomiom dla tej odmiany wykazywał wysoką aktywność 21 z 68 analizowanych cech.



Rys. 1 Partial Least Squares Path Modeling (PLS-PM) pokazujące wzajemny wpływ grup zmiennych (uwzględniono wszystkie wyniki); dla grain properties, grain fatty acids oraz insect development, wskazano wewnętrzne korelacje pomiędzy poszczególnymi zmiennymi manifestującymi w danej grupie; grubość strzałki wskazuje p-value, gruba: p<0.05, średnia p=0.1 (trend), cienka p<0.1.

Na podstawie analizy PLS-PM (Rys. 1) obejmującej łączne wyniki dla pszenicy i jęczmienia zaobserwowano, że wszystkie grupy zmiennych obserwowanych wpływają istotnie na insect development. Grupą grain properties była umiarkowanie skorelowana ( $r=0.640$ ) z insect development. Analizując oddziaływanie poszczególnych badanych cech (manifest variables) w grupie grain properties, zaobserwowano, że TP, i WSC są ujemnie skorelowane z ash, fat, CF i zawartością antyoksydantów. Grain fatty acids również były istotnie skorelowane, ale w umiarkowanym stopniu z grupą insect development. W obrębie tej grupy zaobserwowano ujemną korelację pomiędzy C18:2 a C14:0, C15:0, C16:0, C18:3, C20:0 i C20:1. Struktura bakteriomiomu wpływała istotnie, ale wykazano słabą korelację. W przypadku bakteriomiomu metabolism wykazano umiarkowaną, ale istotną korelację, a multitraits bakteriomiomu była umiarkowanie ujemnie skorelowane z insect development. Pomiedzy strukturą bakteriomiomu a jego metabolizmem zaobserwowano bardzo wysoką korelację, natomiast w stosunku do multitraits była ona bardzo wysoko ujemnie skorelowana. Niemniej jednak istotność pomiędzy tymi trzema grupami opisującymi bakteriomiom wykazywała trend (p-value pomiędzy 0.1 a 0.05).



To stadium rozwojowe badaliśmy Rys. 3 Schemat przedstawiający stadia rozwojowe *R. dominica* oraz lokalizację bakteriomów w dorosłych, poczwarkę i larwę *R. dominica*. a-d; Dorosłe osobniki, e-h; Poczwarki, i-l; Larwy. (1)



## Podsumowanie i wnioski

- Na kształtowanie się struktury mikrobiomu nie miał istotnego wpływu gatunek zboża, natomiast istotnie wpływały na niego odmiany badanych gatunków zbóż. Niemniej jednak w zależności od gatunku zboża inne czynniki wpływają na odporność i oddziałują na strukturę mikrobiomu.
- Wykazano, że profil kwasów tłuszczowych odgrywa istotną rolę w odporności odmianowej i oddziałuje na mikrobiom. Niemniej jednak efekt oddziaływania jest odmienny dla pszenicy i dla jęczmienia.
- Rola antyoksydantów w kreowaniu się odporności odmianowej jest mało istotna.
- Rearanżacje mikrobiomu pomiędzy pierwszym, a drugim pokoleniem były istotne, ale dotyczyły tylko wybranych taksosów.
- Zaobserwowano zmienność mikrobiomu kaptownika zbożowca pomiędzy pokoleniami, rodzajem dominującym w przewodzie pokarmowym był *Pantoea*, wysoki udział miał też rodzaj *Ralstonia*.

Podsumowując, skład mikrobiomu *Rhyzopertha dominica* jest ściśle związany z jego ekologią i środowiskiem życia. Zrozumienie tych powiązań może dostarczyć cennych informacji na temat biologii i adaptacji tego owada. Różnorodność bakterii w obrębie *R. dominica* sugeruje skomplikowane interakcje ekologiczne i wyspecjalizowane funkcje, podkreślając znaczenie mikrobiomu w jego strategiach przetrwania i adaptacji.