

Artykuł przeglądowy – Review article

Endosymbionty bakteryjne występujące u owadów z podrzędu Heteroptera (Insecta: Hemiptera) – występowanie i znaczenie*

JUSTYNA BISGWA

Katedra Biosystematyki, Uniwersytet Opolski, 45-052 Opole, ul. Oleska 22
e-mail: jusbis@wp.pl

Abstract. [*Bacterial endosymbiosis occurring in insects of the suborder Heteroptera (Insecta: Hemiptera) and their significance*]. Many animals and plants possess symbiotic micro-organisms inside their body. Bacterial endosymbioses are common in the world of insects with beneficial micro-organisms in various manners. Among these insects, the members of the order of true bugs exhibit an extraordinary diversity in their microbial symbiotic system. This review summarizes current knowledge of the occurrence and importance of bacterial endosymbionts in Heteroptera.

Key words: Hemiptera, Heteroptera, bacterial endosymbionts, review.

Wstęp

Podrząd pluskwiaków różnoskrzydłych (Hemiptera: Heteroptera) reprezentowany jest przez ponad 40 tysięcy opisanych gatunków, spośród których wiele ma znaczenie w różnych aspektach życia ludzkiego (Weirauch i Schuh 2011), a z przedstawicielami niektórych z nich w bliskich, symbiotycznych związkach pozostają liczne rodzaje bakterii (Hypsa i Dale 1997).

Pluskwiaki reprezentujące Heteroptera klasyfikowane są w obrębie siedmiu infrarzędów, a symbiotyczne bakterie znajduje się przede wszystkim u osobników dwóch z nich, tzn. Cimicomorpha i Pentatomomorpha (Kikuchi 2009; Kaiwa i in. 2010). Gatunki z rodzin Reduviidae i Cimicidae, należących do Cimicomorpha, posiadają bakteriom lub mycetom, a u Pentatomomorpha symbionty zasiedlają zwykle przewód pokarmowy (Kikuchi i in. 2008).

Wśród wielkiej różnorodności symbiotycznych powiązań najbardziej spójnymi formami są endosymbiozy, kiedy to mikroorganizmy żyją w ciele gospodarza, umożliwiając ścisłe interakcje między partnerami takiej relacji (Kikuchi 2009). Endosymbiozy bakteryjne pojawiają się przede wszystkim u fitofagów i hematofagów, ponieważ ich dieta jest uboga w składniki odżywcze, które mogą zdobywać dzięki symbiontom (Fukatsu i Hosokawa 2002).

Fizjologiczny wpływ symbiozy na kondycję gospodarza może mieć charakter pasożytniczy, komensalistyczny lub mutualistyczny (Kikuchi 2009). Wiele symbiotycznych bakterii dostarcza korzyści organizmowi, w których bytują poprzez swoje zróżnicowane zdolności metaboliczne, fizjologiczne oraz ekologiczne (Kikuchi i in. 2008).

Endosymbionty owadów, jakie do tej pory udało się zidentyfikować, są bardzo zróżnicowane pod względem pozycji systematycznej, tropizmu tkanek gospodarza, uzależnienia od niego oraz tego jaki mają wpływ na jego dostosowanie. Wiele symbiontów owadów należy do *Proteobacteria*, a także do *Bacteroides*, *Chlamydiae* i *Firmicutes* (Kikuchi 2009), oraz do *Lactobacillus* i *Bacillus* (Engel i Moran 2013).

Ponieważ większość symbiotycznych bakterii nie podlega hodowli w laboratorium, nie mogą być im nadane formalne nazwy rodzajowe i gatunkowe, zgodnie z aktualnie obowiązującymi przepisami dotyczącymi nomenklatury bakterii. Rezultatem tego jest opatrzenie większości owadzych symbiontów klauzulą *Candidatus* przed nieformalną nazwą rodzaju lub gatunku. Wyjątkami są nieliczne symbionty, które udało się wyhodować, oraz kilka innych, których dotyczyły jeszcze poprzednie zasady stosowania nazewnictwa (Moran i in. 2008).

Podział symbiontów bakteryjnych

Symbionty bakteryjne dzieli się na dwie grupy, w zależności od ich lokalizacji w organizmie gospodarza: są to symbionty zewnętrzne oraz wewnątrzkomórkowe

*Praca została przygotowana w ramach seminarium magisterskiego w Zakładzie Zoologii, Katedry Biosystematyki UO, pod kierunkiem prof. dr hab. Jerzego Lisa

(Kikuchi 2009). Symbionty zlokalizowane zewnątrzkomórkowo występują w obrębie światła jelita, natomiast wewnątrzkomórkowe są gromadzone w ciągu wyspecjalizowanych komórek, tzw. bakteriocytów lub mycetocytów, których skupisko o charakterze gruczołów jest nazywane odpowiednio bakteriomem lub mycetomem (Kukla i Piotrowska-Seget 2011).

Mikroorganizmy pozostające w symbiozie z Heteroptera są zazwyczaj wewnątrzkomórkowe, i w wielu przypadkach trudne lub niemożliwe do hodowli w sztucznych kulturach. Są wysoce specyficzne w stosunku do swojego gospodarza i mogą być przekazywane z pokolenia na pokolenie, dzięki specjalnym mechanizmom transmisji (Baines 1956).

Wyróżnia się również symbionty fakultatywne, zwykle możliwe do hodowli (Kikuchi 2009), oraz symbionty obligatoryjne, dla których charakterystyczne są wcześniej wspomniane struktury skupiające symbiotyczne bakterie (bakteriom i mycetom), a zarówno symbiont, jak i gospodarz mogą przetrwać w wyniku braku któregoś z partnerów (Douglas 1989; Kukla i Piotrowska-Seget 2011).

Endosymbionty obligatoryjne są pomnażane w mycetocytach, dzięki czemu są odizolowane genetycznie oraz posiadają ograniczoną zmienność fenotypową i liczebność. Ponadto ich lokalizacja w tych wyspecjalizowanych komórkach sprawia, że są chronione przed działaniem hemolizyn i komórek żernych owada (Douglas 1989; Kukla i Piotrowska-Seget 2011).

Pojęcia symbiontów pierwotnych (P-symbiontów) i symbiontów wtórnych (S-symbiontów) są jednymi z najbardziej ustalonych w badaniach nad symbiozą owadów. Symbionty pierwotne (P) to duże bakterie, mające naturalne pochodzenie ewolucyjne, będące istotne odżywczo. Ich rozwój jest ograniczony do wzrostu i bytowania w wyspecjalizowanych komórkach gospodarza, jakimi są bakteriocyty.

Symbionty pierwotne (P-symbionty) są dziedziczone wyłącznie na drodze transmisji wertykalnej, a w wyniku ich bliskiej relacji z gospodarzem może dochodzić do kospecjacji. Ponadto tym terminem określa się głównie wyraźnie koewoluujących mutualistów. Symbionty wtórne (S-symbionty) to wszystkie pozostałe typy symbiontów, które przenoszą zbędne zakażenia i bywają szkodliwe. Mogą atakować różne komórki gospodarza i często są transmitowane horyzontalnie u niespokrewnionych gatunków gospodarza lub wyższych taksonów.

Mimo, że pojęcia symbiontów P i S są niejednokrotnie używane w literaturze, ich dokładne znaczenie pozostaje nadal niejasne. Co więcej, analizy filogenetyczne dowodzą, że tak naprawdę nie ma między nimi aż tak zasadniczych podziałów.

Niektóre endosymbionty bakteryjne odznaczają się znakomitą wszechstronnością i mogą szybko adaptować się do różnych typów symbiozy. Ten dynamiczny obraz ich ewolucji jest wspomagany dalszymi obserwacjami tego, co dzieje się podczas takich eksperymentalnych procesów jak pomnażanie infekcji oraz zamienianie symbiontów między ich gospodarzami. Badania wykazują, że takie zamiany są wykonalne w wysoce wyspecjalizowanych powiązaniach, gdzie symbionty wtórne mogą przejąć rolę odżywcza i zamienić wyeliminowane symbionty pierwotne (Bourtzis i Miller 2009). Ponadto symbionty pierwotne są obligatoryjne, a wtórne – fakultatywne (Kaiwa i in. 2010).

Typy transmisji symbiontów bakteryjnych Heteroptera

Mechanizmy transmisji symbiontów są wyraźnie różnorodne u Heteroptera. Do tej pory zidentyfikowano ich trzy typy, a wszystkie mają tryb wertykalny.

Wewnątrzkomórkowe symbionty, jak np. *Buchnera* i *Wolbachia*, są przekazywane z pokolenia na pokolenie, dzięki transmisji przez jajo. Natomiast symbionty zewnątrzkomórkowe posiadają powylegowe mechanizmy transmisji, do których zalicza się powierzchniowe bakteryjne zanieczyszczenie jaja oraz pobieranie odchodów rodzicielskich, które zawierają bakterie (koprofagia). Ponadto występować może transmisja w kapsule, jak np. u Plataspidae (Kikuchi i in. 2008).

Wertykalna transmisja symbionta może być zahamowana poprzez dezynfekcję powierzchni jaja oraz jego sterylizację. Wylęgające się larwy nie mogą wtedy wzrastać z powodu oportunistycznych infekcji, które powodują drobnoustroje takie, jak grzyby, a także bakterie *Serratia*, *Staphylococcus* i im podobne (Abe i in. 1995).

Wertykalna transmisja symbionta jest jednym z najbardziej fundamentalnych procesów utrzymania symbiotycznych powiązań, choć jej rzeczywista regulacja jest słabo poznana (Hosokawa i in. 2007a).

Występowanie

Znaczna część Heteroptera należących do Pentatomomorpha i Cimicomorpha to fitofagi i występuje u nich *Wolbachia* sp. (*α-Proteobacteria*), która charakteryzuje się pasożytnictwem fakultatywnym (Kikuchi i in. 2008). Specyficzne bakteryjne symbionty znajdują się u przedstawicieli tych dwóch infrarzędów przede wszystkim w świetle krypt w tylnej części jelita środkowego (czwarta część) (Kikuchi 2009).

W celu poznania wewnątrzkomórkowych symbiontów Lygaeoidea, reprezentujących infrarząd Pen-

tatomomorpha, analizowano pięć różnych gatunków z rodzin Blissidae i Lygaeidae. Fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* wykazała, że wszystkie analizowane pluskwiaki zawierają w części brzusznej sparowane bakteriomy, które są różnie ukształtowane. Endosymbionty wykryto również w gonadach samic i na przednim biegunie w rozwoju jaja, co dowodzi wertykalnej transmisji endosymbiontów przez jajo (Küchler i in. 2012).

Dane o wszystkich do tej pory poznanych endosymbiontach bakteryjnych Heteroptera, wraz z ich charakterystycznymi cechami, podsumowano w tabeli (Tabela 1), a poniżej omówiono dokładnie występowanie endosymbiontów u konkretnych gatunków Heteroptera.

CIMICOMORPHA

Cimicidae (Cimicoidea)

Dziedzicznym bakteryjnym symbiontem wyizolowanym z tkanki jajnika *Cimex lectularius* (Linnaeus, 1758), scharakteryzowanym przez analizę genu 16S rDNA jest *Wolbachia* (Hypsa i Aksoy 1997).

Miridae (Miroidea)

Wolbachia sp. jest endosymbiontem *Charagochilus angusticollis* (Linnavuori, 1961) (Kikuchi i Fukatsu 2003).

Reduviidae (Reduivoidea)

U hematofagicznych pluskwiaków z rodzaju *Rhodnius*, np. u *R. prolixus* (Stål, 1859), w warunkach hodowlanych wyizolowano symbiotyczną bakterię Gram-dodatnią, występującą w świetle jelita – *Rhodococcus rhodnii* (Brecher i Wigglesworth 1944; Baines 1956; Kikuchi i in. 2008; Kikuchi 2009; Engel i Moran 2013), której związek z organizmem gospodarza to mutualizm fakultatywny (Kikuchi i in. 2008).

Rhodnius posiada pięć stadiów larwalnych w rozwoju, a *Rhodococcus rhodnii* był izolowany z treści jelitowej owadów dorosłych i nimf we wszystkich stadiach, choć zauważono, że liczebność bakterii była wyższa w trzecim, czwartym i piątym stadium larwalnym, niż w stadiach wczesnej larwy (I i II stadium) lub u osobnika dorosłego (Brecher i Wigglesworth 1944; Baines 1956).

R. rhodnii jest bakterią zewnątrzkomórkową, przenoszoną wraz z kałem gospodarza, a infekowanie odbywa się na powierzchni jaja tylko wtedy, gdy jest ono zanieczyszczone ekskrementami z zainfekowanych nimf i osobników dorosłych. W środowisku naturalnym pluskwiaki z rodzaju *Rhodnius* żyją w grupach, w norach małych ssaków, z których pobierają pokarm, ukrywając się w szczelinach między kamieniami. Dzięki temu sposób transmisji bakterii jest skuteczny, po-

nieważ zainfekowane owady mają ze sobą bezpośredni kontakt przez długi czas (Baines 1956).

Przy analizie flory bakteryjnej w jelitach Reduviidae uwzględniono występowanie świdrowca *Trypanosoma cruzi*. Badano wybrane gatunki zajadkowatych: *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835), *Rhodnius prolixus*, *Triatoma brasiliensis* (Neiva, 1911), *T. infestans* (Klug, 1834), *T. juazeirensis* (Costa i Felix, 2007), *T. sherlocki* (Papa, Jurberg, Carcavallo, Cerqueira i Barata, 2002), charakteryzując mikroflorę ich jelit i tkanek gonad (Díaz i in. 2016), a także ślinianek (Hypsa i Dale 1997).

Mikroflora rodziny Reduviidae odznacza się wysoką zmiennością osobniczą w obrębie tego samego gatunku gospodarza (Díaz i in. 2016). Ich dominującym endosymbiontem jest *Arsenophonus* (Bourtzis i Miller 2009; Díaz i in. 2016). Ponadto u *R. prolixus* dominującym symbiontem jest *Pectobacterium*. Niektóre rodzaje bakterii wydają się być specyficzne dla konkretnych gospodarzy z rodziny Reduviidae, np. *Rhodococcus* dla *Rhodnius* (Díaz i in. 2016), czy *Arsenophonus* dla *Triatoma* (Hypsa i Dale 1997; Díaz i in. 2016).

Zajadkowate nie posiadają bakteriocytów, a większość ich mikrobioty prowadzi pozakomórkowy cykl życia w świetle jelita środkowego. Symbiotyczne bakterie są pobierane w wyniku koprofagii na poziomie tego samego gatunku lub w wyniku kanibalizmu. Zdefiniowanie kluczowych czynników wpływających na skład mikroflory jelitowej Reduviidae pozostaje wyzwaniem, biorąc pod uwagę wiele zmiennych. Należy do nich m.in. różnorodność gatunków gospodarza, symbiotyczny tryb transmisji i tryb życia, a także wpływ zakażenia *Trypanosoma cruzi*. Ocenia się, że *Triatoma brasiliensis*, *T. sherlocki* oraz *Panstrongylus megistus* są wektorami *Trypanosoma cruzi*, natomiast obecność bakterii z rodzaju *Arsenophonus* w mikroflorze jest bardzo stabilna. Wszystkie inne składowe zidentyfikowane w mikroflorze zajadkowatych odznaczają się wyraźną fakultatywnością (S-symbionty) (Kikuchi 2009; Díaz i in. 2016).

Większość symbiontów Reduviidae jest prawdopodobnie zewnątrzkomórkowa i transmitowana wertykalnie, oraz może swobodnie przetrwać poza ciałem gospodarza. Warunki środowiska, takie jak pH, stężenie tlenu, dostępność składników pokarmowych, mogą wpływać na kolonizację jelita owada lub jej brak. W przeciwieństwie do innych owadów, gdzie jaja bywają zainfekowane we wczesnych stadiach zarodkowych, transmisja gatunków *Arsenophonus* u *Triatoma infestans* występuje dopiero w późniejszym okresie (Díaz i in. 2016). Spośród gatunków tego rodzaju wyróżnić można tu *Arsenophonus triatominarum* oraz *A. lineages* (Kikuchi 2009; Díaz i in. 2016).

Aposymbiotyczne pluskwiaki, uzyskane poprzez antybiotykoterapię, pozostają żywe i zdolne do rozrodu, a szlaki ewolucji molekularnej *A. triatominarum*, które obejmują degenerację genomu, uważa się za typowe dla S-symbiontów. Bakterie z rodzaju *Pectobacterium* wykryto u *Rhodnius prolixus*, *Panstrongylus megistus* oraz u *Dipetalogaster maxima* (Uhler, 1894). *Pectobacterium*, jako symbiont Reduviidae, ma filogenetyczne powiązania z wewnątrzkomórkowymi symbiontami *Cimex lectularius* (Cimicidae) oraz *Kleidocerys resedae* (Panzer, 1797) (Lygaeidae), u których bakterie są gromadzone w bakteriomie.

Konieczne są dalsze badania w celu ustalenia sposobów i rodzaju transmisji *Pectobacterium* u Triatominae, jednak na uwagę zasługuje fakt, że być może ma on podobny sposób i wykorzystują te same rodzaje transmisji, co rodzaje *Arsenophonus* i *Pectobacterium*, które uznano za dwie podstawowe enterobakterie rodziny Reduviidae (Díaz i in. 2016).

Kolejnym ważnym rodzajem bakterii w mikroflorze jelita Reduviidae są Corynebacteriales (*Rhodococcus*, *Dietzia* i *Corynebacterium*), włączając w to również zewnątrzkomórkowe fakultatywne symbionty, różne dla różnych środowisk, zwłaszcza w ekosystemie glebowym. *Trypanosoma cruzi* okazuje się być drugim, po gatunku gospodarza, najważniejszym czynnikiem kształtowania składu flory bakteryjnej. Badania pokazują, że istnieje znaczący wzrost różnorodności i zmiana w składzie mikroflory jelita zjadkowatych po wchłonięciu *Trypanosoma cruzi*, a *Arsenophonus* jest najmniej podatny na zmiany wywołane odpowiedzią immunologiczną w wyniku jego obecności (Díaz i in. 2016).

Wewnątrzkomórkowe symbiotyczne bakterie wyizolowane z hemolimfy *Triatoma infestans* i innych Reduviidae hodowano in vitro na linii komórek *Aedes albopictus*. Analiza sekwencji 16S rDNA wykazała, że bakteria ta należy do γ -Proteobacteria i posiada w 96,2% sekwencję identyczną do *Arsenophonus nasoniae*. Gatunek ten ma wspólne cechy morfologiczne, podobny podział tkanek oraz sposób zakażenia. Gałąź filogenetyczna tego symbionta stanowi linię symbiontów owadzych, które mogą być zdolne do transmisji horyzontalnej pomiędzy odległymi filogenetycznie gospodarzami (Hypsa i Dale 1997).

PENTATOMOMORPHA

Acanthosomatidae (Pentatomoidea)

Wyróżnia się obligatoryjną mutualistyczną symbiozę z γ -Proteobacteria – *Candidatus Ishikawaella capsulata* i *Rosenkranzia clausaccus*, które zasiedlają krypty jelita środkowego (Kikuchi 2009). U Acanthosomatidae bakterie są transmitowane poprzez powierzchniowo zanieczyszczone jajo (Kikuchi 2009). U dorosłych

samic *Elasmostethus humeralis* (Jakovlev, 1883) i *E. nubilus* (Dallas, 1851) występują symbionty bakteryjne, takie jak: *Buchnera*, *Wigglesworthia*, *Blochmannia*, *Baumannia* (Kikuchi i in. 2009). *Wolbachia* sp. jest endosymbiontem *Elasmucha putoni* (Scott, 1874) i *E. amurensis* (Kerzhner, 1972) (Kikuchi i Fukatsu 2003).

Alydidae (Coreoidea)

Riptortus pedestris (Fabricius, 1775) posiada wyspecjalizowany organ symbiotyczny w obszarze tylnej części jelita środkowego, gdzie w licznych kryptach występują pozakomórkowe *Burkholderia* (β -Proteobacteria). Drugie pokolenie nimf pobiera symbionty ze środowiska poprzez otwór gębowy. W odróżnieniu od innych owadzych symbioz, *R. pedestris* nabywa symbiotyczną *Burkholderia* nie poprzez transmisję wertykalną, ale ze środowiska glebowego, z każdym pokoleniem (Kikuchi i in. 2005; Kikuchi 2009; Kikuchi i in. 2012; Futahashi i in. 2013; Kikuchi i Yumoto 2013; Engel i Moran 2013; Kikuchi i Fukatsu 2014; Kim i Lee 2015).

Burkholderia jest również symbiontem *Riptortus clavatus* (Thunberg, 1783) (Kikuchi i in. 2007; Kikuchi i in. 2008) i jest to mutualizm fakultatywny (Kikuchi i in. 2008). Symbiotyczny związek z *Burkholderia* ma również *Leptocorisa chinensis* (Dallas, 1852) (Kikuchi i in. 2005; Kikuchi i in. 2011) oraz *L. acuta* (Thunberg, 1873), *L. oratoria* (Fabricius, 1794), *Megalotomus costalis* (Stål, 1873), *Daclera levana* (Distant, 1918) oraz *Paraplesius unicolor* (Scott, 1874) (Kikuchi i in. 2011).

Artheneidae (Lygaeoidea)

Chilacis typhae (Perris, 1857) posiada obligatoryjnego wewnątrzkomórkowego symbionta w nabłonku jelita środkowego. Należy on do γ -Proteobacteria i wykazuje filogenetyczne powiązania z wtórnym endosymbiontem bakteryjnym *Cimex lectularius* (Cimicidae). Dla tego nowo scharakteryzowanego kładu symbiotycznych bakterii zaproponowano nazwę *Candidatus Rohrkolberia cinguli*, jako rodzajową i gatunkową (Küchler i in. 2011).

Berytidae (Lygaeoidea)

Endosymbiotyczną *Burkholderia* posiadają takie gatunki, jak *Yemma exilis* (Horváth, 1905) i *Metatropis rufescens* (Herrich-Schäffer, 1835), które są fitofagami (Kikuchi i in. 2011).

Blissidae (Lygaeoidea)

W kryptach jelita środkowego *Blissus insularis* (Barber, 1918) wykryto gęste zewnątrzkomórkowe populacje bakterii. Badania wykonane za pomocą epifluorescencji oraz transmisyjnego mikroskopu elektronowego dowiodły, że pokrywają one powierzchnię prześwitu krypt i wypełniają całe ich światło. Sekwencjo-

nowanie oraz analiza podjednostki 16S rRNA wykazały wysokie podobieństwo nukleotydowe zarówno do rodzaju *Burkholderia* (β -*Proteobacteria*), jak i *Pseudomonas* (γ -*Proteobacteria*). Wykorzystując primery charakterystyczne dla *Burkholderia*, bakterie były wykrywane w stadium jaja, nimfy oraz osobników dorosłych. Fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* z wykorzystaniem sond oligonukleotydowych specyficznych dla gatunku, potwierdziła lokalizację *Burkholderia* w kryptach (Boucias i in. 2012). *Burkholderia* jest również obecna u *Dimorphopterus pallipes* (Distant, 1883) i *Cavelerius saccharivorus* (Okajima, 1922) (Kikuchi i in. 2011).

Z kolei analiza opierająca się na genach 16S rRNA i groEL wykazała, że endosymbiontami *Ischnodemus sabuleti* (Fallen, 1826) są γ -*Proteobacteria* (Küchler i in. 2012).

Coreidae (Coreoidea)

Endosymbiontem *Cletus punctiger* (Dallas, 1852) i *C. trigonus* (Thunberg, 1783) jest *Wolbachia* sp. (Kikuchi i Fukatsu 2003) oraz *Burkholderia* sp., która występuje również u innych gatunków tej rodziny: *C. rusticus* (Stål, 1860), *Molipteryx fuliginosa* (Uhler, 1860), *Acanthocoris sordidus* (Thunberg, 1783), *Anacanthocoris striicornis* (Scott, 1874), *Leptoglossus australis* (Fabricius, 1775), *Dasynus coccocinctus* (Burmeister, 1834), *Notobitus meleagris* (Fabricius, 1787), *Hygia opaca* (Uhler, 1860), *Hygia lativentris* (Motschulsky, 1866), *Homoeocerus dilatatus* (Horváth, 1879), *H. unipunctatus* (Thunberg, 1783), *H. marginiventris* (Dohrn, 1860), *Paradasynus spinosus* (Hsiao, 1963), *Plinactus bicoloripes* (Scott, 1874) oraz *P. basalis* (Westwood, 1842) (Kikuchi i in. 2011).

Cydnidae (Pentatomoidea)

Symbiotyczne bakterie, związane z kryptami jelita środkowego, są specyficzne dla gatunku swojego gospodarza i stanowią co najmniej cztery odrębne linie wywodzące się z γ -*Proteobacteria*, co dowodzi o wielokrotnych początkach ewolucyjnych wśród symbiontów jelitowych Cydnidae. Do tych czterech grup należą: symbionty jelitowe *Schioldtella japonica* (Imura i Ishikawa, 2009), powiązane z symbiontami jelitowymi *Nezara viridula*; symbionty *Adomerus triguttulus* (Motschulsky, 1886), *A. variegatus* (Signoret, 1884) oraz *A. rotundus* (Hsiao, 1977), wywodzące się ze szczepu *Pantoea ananatis* BD561; symbionty jelitowe *Canthophorus niveimarginatus* (Scott, 1874), związane ze szczepem *P. ananatis* SAD2-6; symbionty jelitowe *Adrisa magna* (Uhler, 1860) i *Macroscytus japonensis* (Scott, 1874), związane z *Enterobacter ludwigii* (Hosokawa i in. 2012).

Ewolucyjny związek między gospodarzem a symbiontem w tej rodzinie jest podobny do tego, występu-

jącego w rodzinie Pentatomidae, a badania porównawcze tych grup pluskwiaków dostarczyłyby wiedzy na temat współwystępujących związków symbiotycznych (Hosokawa i in. 2012).

Endosymbiotyczne bakterie stwierdzono również u *Cydnus aterrimus* (Forster, 1771) (Schorr 1957), ale nie określono ich przynależności taksonomicznej.

Lygaeidae (Lygaeoidea)

Obligatoryjny endosymbiont bakteryjny gatunku *Kleidocerys resedae* (Say, 1832) należy do γ -*Proteobacteria* i posiada filogenetyczne powiązania z *Wigglesworthia glossinidia*. Dla tego nowo scharakteryzowanego kładu symbiotycznych bakterii zaproponowano nazwę *Candidatus Kleidoceria schneideri* (Küchler i in. 2010).

Symbiotyczne bakterie występujące u *Nysius* sp. to γ -*Proteobacteria*, wewnątrzkomórkowo zlokalizowane w parze dużych bakteriomów, związanych z gonadami. W jajniku dorosłych samic endosymbionty zostały zlokalizowane w tzw. strefie zakażenia, pośrodku każdego germarium oraz w kuli symbionta na przednim biegunie każdego oocytu, wskazując na wertykalną transmisję endosymbionta poprzez jajo. Analizy filogenetyczne na podstawie genów 16S rRNA, groEL i gyrB, dowodzą o monofiletyczności symbiontów *Nysius* sp., z możliwością pokrewieństwa z *Candidatus Kleidoceria schneideri* który, jak wspomniano wyżej, jest bakteriomowym endosymbiontem *Kleidocerys resedae*. Dla kładu symbiotycznych bakterii *Nysius* sp. zaproponowano nazwę *Candidatus Schneideria nysicola* (Matsuura i in. 2012).

Analiza filogenetyczna opierająca się na genach 16S rRNA i groEL wykazała, że endosymbiontami *Arocatus longiceps* (Stål, 1872), *Belonochilus numenius* (Say, 1832), *Orsillus depressus* (Mulsant i Rey, 1852), oraz *Ortholomus punctipennis* (Herrich-Schäffer, 1838) są γ -*Proteobacteria*. Endosymbiont *B. numenius* (Lygaeidae: Orsillinae) jest filogenetycznie powiązany z *Candidatus Rohrkolberia cinguli*, który z kolei jest endosymbiontem *Chilacis typhae* (Heteroptera: Artheneidae), co sugeruje wymianę endosymbionta w tej linii filogenetycznej. Różnorodność endosymbiontów i zróżnicowana budowa bakteriomu może odzwierciedlać niezależne ewolucyjne pochodzenie systemów endosymbiotycznych wśród Lygaeidae (Küchler i in. 2012).

Pachygronthidae (Lygaeoidea)

Jelita *Pachygrontha antennata* (Uhler, 1860) są gospodarzem symbiotycznych gatunków z rodzaju *Burkholderia* (Kikuchi i in. 2011).

Pentatomidae (Pentatomoidea)

Prawdopodobnie z powodu licznych związków z symbiontami zewnątrzkomórkowymi niemal wszystkie

Pentatomidae wykształciły postnatalne mechanizmy transmisji symbiontów, w odróżnieniu od symbioz wewnątrzkomórkowych, ustanowionych przez transmisję prenatalną (Kikuchi 2009; K uchler i in. 2012).

Symbiontami *Plautia stali* (Scott, 1874) są mikroorganizmy laseczkopodobne o znacznej dugości. Obserwuje się je w cytoplazmie komórek nabłonkowych jelita s pego oraz na tylnej powierzchni jelita srodkowego. Każde wgłębienie jelita s pego otwiera się do komory jelita srodkowego poprzez drobne pory. Z mycetocyt w symbionty są uwalniane do jamy jelita po degeneracji komórek gospodarza (Abe i in. 1995). Typ tego związku gospodarza z symbiontem to mutualizm obligatoryjny (Kikuchi i in. 2008).

Nimfy *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) zawierają bakterie w równych odcinkach jelita srodkowego. Wykrywane były również na skorupach jaj, po wylęgnięciu, ale nie w jajowodach, co wskazuje na transmisj poprzez otwór gębowy, a nie przez powierzchni  jaja, której sterylizacja powoduje rozwój owadów aposymbiotycznych (Prado i in. 2006). Endosymbiontami są *Klebsiella pneumoniae* i *Enterococcus faecalis* oraz inne, zblizone pod względem sekwencji nukleotyduowej do *Pantoea* sp. (Hirose i in. 2006). Występują także γ -*Proteobacteria*, z którymi ma związek o charakterze fakultatywnego komensalizmu (Kikuchi i in. 2008; Tada i in. 2011) oraz *Wolbachia* (Kikuchi i in. 2008).

Symbionty jelitowe występują również u *Halyomorpha halys* (St l, 1855), *Acrosternum hilare* (Say, 1832) i *Murgantia histrionica* (Hahn, 1834) (Taylor i in. 2014).

Ponadto badania wykazują, że stopień mutualizmu związku bakterii z Pentatomidae jest zmienny, ponieważ *A. hilare* dla odpowiedniego rozwoju i przetrwania wymaga endosymbiontów, natomiast u *M. histrionica* nie są one wymagane w tak dużym stopniu (Prado i Almeida 2009).

Plataspidae (Pentatomoidea)

W gatunkach tej rodziny wyr znia si  obligatoryjną mutualistyczn  symbioz z γ -*Proteobacteria* – *Candidatus Ishikawaella capsulata* i *Rosenkranzia clausaccus*, które zasiedlają krypty jelita srodkowego. Bakterie są transmitowane w kapsule – dorosła samica składa jaja, wydalając wraz z nimi małe brązowawe cząstki, nazywane kapsułami. Zawierają one wewnątrz dużą iloc symbiotycznych bakterii. Nowe pokolenie po wylęgu natychmiast wgłbia się w kapsuł i pobiera z niej symbionty (Kikuchi 2009), w wyniku czego następuje wertykalne przeniesienie zakazenia.

Podobne do kapsuł, inne pojemniki na symbionty dla swojego potomstwa, posiadają również owady z rodzin Cydnidae, Urostylidae i Pentatomidae, ale po-

siadanie kapsuły jest to cecha wywodząca się z linii Pentatomidae (Hosokawa i in. 2005).

Kapsuła składa się z trzech zasadniczych elementów: symbiont, macierz i koperta. Ta ostatnia, kutykulo-podobna, jest istotna w ochronie symbiontów przed stresem srodkowiskowym, na który składają się wysychanie, promieniowanie UV oraz zakażenie przez inne organizmy. Wysoce prawdopodobne jest to, że ywicopodobna macierz, w której symbiont jest umieszczony, jest istotna również jako czynnik konserwujący, gdy przebywa on poza organizmem gospodarza. Te komponenty kapsuły traktowane są jako gwarancja wertykalnej transmisji symbiontów gospodarza do wnętrza jego potomstwa. Jelito srodkowe Plataspidae dzieli się na kilka odrębnych sekcji, które odznaczają się charakterystycznymi cechami morfologicznymi i histologicznymi. Niektóre z nich są wyspecjalizowane do przenoszenia jelitowych bakterii symbiotycznych – tu przede wszystkim tylna czc jelita srodkowego, wykazująca niezwykle dymorfizm płciowy (Hosokawa i in. 2005).

Megacopta punctatissima (Montandon, 1894) i *M. cribraria* (Fabricius, 1798) są zasiedlane przez bezwzględnie symbiotyczne γ -*Proteobacteria* o nazwie *Candidatus Ishikawaella capsulata*, które bytują w jamie krypty jelita srodkowego (Hosokawa i in. 2007; Kikuchi i in. 2008; Kikuchi 2009; Engel i Moran 2013) oraz przez *Wolbachia* sp. (Kikuchi i Fukatsu 2003).

M. punctatissima posiada również kapsuły z symbiontami, w tym zawierające *Candidatus Ishikawaella capsulata* (Fukatsu i Hosokawa 2002). Ponadto eksperymentalna manipulacja stosunku jaj do kapsuł wykazuje, że jedna kapsuła jest wystarczająca do transmisji symbionta do sześciu larw (Hosokawa i in. 2007b).

Symbiontem Plataspidae może byc również *Buchnera* (Kikuchi i in. 2009).

Wykryto również, że inny gatunek tej rodziny, *Coptosoma scutellatum* (Geoffroy, 1785), posiada duży zasób niescharakteryzowanych bakterii w swoim mycetomie (Fukatsu i Hosokawa 2002).

Pyrrhocoridae (Pyrrhocoroidea)

W jelicie *Pyrrhocoris apterus* (Linnaeus, 1758) specyficznym symbiontem jest *Coriobacterium glomerans*, należący do Actinobacteria. Został on wykryty w trzeciej sekcji jelita srodkowego, odchodach, jak również w hemolimfie samic. Ponadto dorosłe samice pozostawiają symbionty na powierzchni jaj podczas ich składanania, dzięki czemu mogą one p zniej zostac stamtąd pobrane przez potomstwo. Korzystając z PCR i czcciowo analizując sekwencj genu 16S rRNA, wykryto symbionty bakteryjne ściśle związane z *Dysdercus fasciatus* (Signoret, 1861), co sugeruje, że symbio-

za z Actinobacteria może być rozpowszechniona w obrębie rodziny Pyrrhocoridae (Kaltenpoth i in. 2009). Innymi endosymbiontami *P. apterus* oraz *D. fasciatus* są *Gordonibacter* sp., *Firmicutes* (*Clostridium* sp., *Lactococcus* sp.) i *Proteobacteria* (*Klebsiella* sp., *Rickettsia*) (Sudakaran i in. 2012; Salem i in. 2013).

Rhyparochromidae (Lygaeoidea)

Gatunkami, które zawierają endosymbiotyczną *Burkholderia* są *Pachybrachius luridus* (Hahn, 1826), *Paromius exiguus* (Distant, 1883), *Togo hemipterus* (Scott, 1874), *Paraecosmetus pallicornis* (Dallas, 1852), *Horridipamera inconspicua* (Dallas, 1852), *H. nietneri* (Dohrn, 1860), *Panaorus japonicus* (Stål, 1874), *P. albomaculatus* (Scott, 1874), *Metochus abbreviatus* (Scott, 1874), *Neolethaeus dallasi* (Scott, 1874), *Lethaeus assamensis* (Distant, 1901) (Kikuchi i in. 2011).

Scutelleridae (Pentatomoidea)

Bakteryjnymi symbiontami jelitowymi *Cantao ocellatus* (Thunberg, 1784) są specyficzne γ -*Proteobacteria* zidentyfikowane u osobników różnego pochodzenia geograficznego. Występują one pozakomórkowo w kryptach czwartej sekcji jelita środkowego. Mikroskopia elektronowa krypt wykazała swoistą konfigurację histologiczną w interakcji gospodarz-symbiont. Eksperymentalna sterylizacja jaj potwierdziła, że bakterie są przekazywane larwom poprzez zanieczyszczoną powierzchnię jaja. Niektóre osobniki *C. ocellatus* posiadają również symbionty bakteryjne w gonadach. Wykazują one podobieństwo do *Sodalis glossinidius* (Kaiwa i in. 2010).

Bakteryjnym symbiontem jelita środkowego *Euco-rysses grandis* (Thunberg, 1783) jest specyficzna γ -*Proteobacteria*, która została zidentyfikowana u owadów z pięciu różnych stanowisk. Bakterie te wykryto u wszystkich z 64 analizowanych osobników, pochodzących z trzech populacji gospodarza. Analizy filogenetyczne wykazały, że bakteria ta stanowi odrębną linię γ -*Proteobacteria* i nie jest ściśle związana ani z symbiontami jelita innych Scutelleridae, jak na przykład *C. ocellatus*, ani z symbiontami innych Heteroptera. Diagnostyka PCR z hybrydyzacją *in situ* i mikroskopią elektronową dowodzą, że bakteria ta występuje zewnątrzkomórkowo w kryptach czwartego odcinka jelita środkowego (Kaiwa i in. 2011).

Znaczenie

U niektórych gatunków należących do Cimicomorpha i Pentatomomorpha eliminacja symbionta powoduje opóźnienie wzrostu i wysoką śmiertelność larw gospodarza, co wskazuje na ich kluczową rolę w życiu owada (Kikuchi 2009). Endosymbionty bakteryjne owadów mogą także zapewniać podstawowe aminokwasy, które nie występują w diecie fitofagów. Od-

grywają również kluczową rolę w biosyntezie witamin z grupy B u hematofagów. Nie są poznane wszystkie biologiczne funkcje i korzyści, jakie symbionty niosą swemu gospodarzowi (Kaiwa i in. 2010).

W mycetomie wytwarzane są witaminy A1, E oraz karoten. Są to substancje wykrywane następnie w jelicie ślepym owadów. Gdy symbiotyczne mikroorganizmy są eksperymentalnie usuwane z organizmu owada, ten nie rośnie, jeśli nie zostanie mu podana dieta bogata w witaminy (Abe i in. 1995). *Rhodococcus rhodnii* jest źródłem witamin z grupy B (pirodyksyna, nikotynamid, pantotenian wapnia, tiamina, cyjanokobalamina), w które normalna dieta *Rhodnius*, bazująca na krwi żywiciela, jest uboga. Biotyna i kwas foliowy występują w wystarczającym stężeniu, nawet kiedy owad nie jest zasiedlany przez bakterie (Baines 1956). Nosiciele choroby Chagasa z rodziny *Reduviidae* są obligatoryjnymi hematofagami, w wyniku czego ich dieta jest pozbawiona pewnych witamin. W konsekwencji są one również siedliskiem populacji symbiontów, które dostarczają im niezbędnych składników odżywczych (Beard i in. 2001). Endosymbiont bakteryjny *Triatoma infestans*, pochodzący z *Actinobacteria*, dostarcza mu witaminy B (Hypsa i Dale 1997).

Bakteria *Rhodococcus rhodnii* jest niezbędna do rozwoju pluskwiaków *Rhodnius*, a w przypadku jej braku owad nie osiąga stadium dorosłego. Absencja w stadium wczesnej larwy i osobnika dorosłego powoduje wolniejszy rozwój owada – nawet o 30 lub 90 dni, w zależności od stadium, lub całkowite zatrzymanie dalszego rozwoju. Wymieralność kultur laboratoryjnych może być spowodowana brakiem mechanizmu transmisji, szczególnie jeśli owady są utrzymywane w małej liczbie i stosunkowo czystych warunkach (Baines 1956).

Bardzo niewiele pluskwiaków *Rhodnius* bez *Rhodococcus rhodnii* jest w stanie przeobrazić się do postaci osobnika dorosłego, a nieliczne, którym się to uda, są niezdolne do rozmnażania (Brecher i Wiggleworth 1944; Kikuchi 2009).

Zajadkowate są wektorami świdorowca *Trypanosoma cruzi*, który wywołuje chorobę Chagasa. Badanie mikroflory jelitowej *Reduviidae* zyskało znaczenie w ostatnich latach, ze względu na jej możliwą rolę w kompetencji wektorowej i perspektywę potencjalnego wykorzystania w strategiach kontroli nad przeniesieniem *Trypanosoma cruzi*.

Dzięki obecności endosymbiontów *Reduviidae*, takich jak *Arsenophonus*, możliwe jest wykorzystanie ich jako stabilnego wektora genetycznej transformacji *Reduviidae* oraz kontrola choroby Chagasa. Mikroorganizmy żyjące w jelicie środkowym odgrywają ważną

rolę w modulowaniu kompetencji wektorowych, co oznacza zdolność do nabywania, utrzymywania i przekazywania patogenów. Dzięki metodom genetycznej modyfikacji symbiontów bakteryjnych można skutecznie zmniejszyć transmisję pasożyta, a także rozwój i płodność zajądkowatych. W ciągu ostatnich lat pojawiały się różne sugestie dotyczące wykorzystania flory jelitowej w hamowaniu rozwoju *Trypanosoma cruzi* u Reduviidae. Rozważane są, m.in. mechanizmy immunologiczne używane przez owada do kontroli populacji bakteryjnej jelita, odpowiedzi pasożyta na te mechanizmy oraz funkcjonalna rola symbiontów. Sugeruje się, że *Arsenophonus* jest dobrym kandydatem na stabilnego wektora paratransgenezy (Díaz i in. 2016).

W wyniku przeprowadzenia qPCR w czasie rzeźwistym okazało się, że antybiotykoterapia nimf *Blissus insularis* znacznie zmniejsza ilość kopii genu 16S rRNA dla *Burkholderia*. Ponadto zabieg ten doprowadził do znacznego opóźnienia w rozwoju, a także zwiększenia śmiertelności *B. insularis*. Na tej podstawie można wnioskować, że *Burkholderia* ma pozytywny wpływ na jej gospodarza (Boucias i in. 2012).

Brak *Candidatus Ishikawaella capsulata* u *Megacopta punctatissima* i *M. cribraria* przyczynia się do zmiany tempa rozwoju, a ściślej jest związane ze śmiertelnością nimf (Hosokawa i in. 2007b).

Riptortus pedestris dzięki obecności *Burkholderia* ma ułatwiony wzrost oraz mechanizm regulacji oporności na insektycydy (Kikuchi i in. 2012; Futahashi i in. 2013).

Zmienne pH w jelicie *Nezara viridula* nie ma wpływu na obecność bakterii, a ich eliminacja z jelita, za pomocą antybiotyku (kanamycyny), nie wpływa na czas rozwoju pokolenia nimf i nie powoduje śmierci, ale redukcję wagi u osobników dorosłych (Hirose i in. 2006).

Dużą uwagę skupia się na możliwości używania genetycznie modyfikowanych symbiontów owadzich do produkcji opornych szczepów owadzich wektorów chorób (Hypsa i Dale 1997).

Charakterystyka mikroflory gatunków Heteroptera z rodzin Acanthosomatidae, Plataspidae, Pentatomidae, Scutelleridae, Parastrachiidae, Alydidae i Pyrrhocoridae dowodzi o ich symbiotycznych związkach z bakteriami jelita środkowego, które są powszechne w zwalczaniu fitopatogennych taksonów pluskwiaków różnoskrzydłych (Kaiwa i in. 2011).

Symbionty *Acrosternum hilare* i *Murgantia histrionica* odgrywają ważną rolę w ich rozwoju (Taylor i in. 2014). Eksperymentalna eliminacja symbiontów *Dysdercus fasciatus* i *Pyrrhocoris apterus* na drodze stery-

lizacji powierzchni jaja powodowała istotnie większą śmiertelność i zmniejszone tempo wzrostu, co wskazuje na to, że endosymbionty odgrywają ważną rolę w ich odżywianiu. Odżywczy mutualizm z *Actinobacteria* może spowodować, że Pyrrhocoridae będą wykorzystywały nasiona Malvales jako źródło pożywienia, a tym samym prawdopodobnie pozwoli im na zajęcie oraz urozmaicenie nowej niszy ekologicznej (Salem i in. 2013).

Również symbiotyczne bakterie *P. apterus*, który jest modelowym organizmem w badaniach fizjologicznych i endokrynologicznych, odgrywają istotną rolę w odżywianiu, tym samym pozwalając na wykorzystywanie nowych jego źródeł i rozwój w odmiennych, niedostępnych dla niego wcześniej niszach ekologicznych (Sudakaran i in. 2012).

Zapobieganie wertykalnej transmisji symbiontów *Halyomorpha halys* ma negatywny wpływ na kolejne pokolenia. Czas rozwoju i przeżywalność pierwszego pokolenia, któremu symbionty nie zostaną przekazane, są znacząco zmienione i zredukowane (Taylor i in. 2014).

Podsumowując, endosymbioza jest jednym z mechanizmów, które napędzają ewolucję. Symbiont zapewnia gospodarzowi nowe możliwości fizjologiczne i umożliwia wykorzystanie nowej niszy ekologicznej, dzięki dostarczaniu składników odżywczych oraz zaangażowaniu w rozwój i morfogenezę.

Podziękowania

Autorka pragnie podziękować Panu prof. Jerzemu Lisowi (Samodzielna Katedra Biosystematyki, Uniwersytet Opolski) oraz anonimowemu recenzentowi za cenne uwagi do tekstu.

Piśmiennictwo – References

- Abe Y., Mishiro K., Takanashi M. 1995. Symbiont of brown-winged green bug, *Plautia stali* Scott. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* **39**: 109–115.
- Baines S. 1956. The role of the symbiotic bacteria in the nutrition of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). *J. Exp. Biol.* **33**: 533–541.
- Beard C.B., Dotson E.M., Pennington P.M., Eichler S., Cordon-Rosales C., Durvasula R.V. 2001. Bacterial symbiosis and paratransgenic control of vector-borne Chagas disease. *Int. J. Parasitol.* **31**: 621–627.
- Boucias D.G., Garcia-Maruniak A., Cherry R., Lu H., Maruniak J.E., Lietze V.U. 2012. Detection and characterization of bacterial symbionts in the

- Heteropteran, *Blissus insularis*. *FEMS Microbiol. Ecol.* **82**: 629–641.
- Bourtzis K., Miller T.A. 2009. *Insect Symbiosis, volume three*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA: 97–156.
- Brecher G., Wigglesworth V.B. 1944. The transmission of *Actinomyces rhodnii* Erikson in *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera) and its influence on the growth of the host. *Parasitology* **35**: 220–224.
- Díaz S., Villavicencio B., Correia N., Costa J., Haag K.L. 2016. Triatomine bugs, their microbiota and *Trypanosoma cruzi*: Asymmetric responses of bacteria to an infected blood meal. *Parasites & Vectors* **9**: 636: 1–11.
- Douglas A.E. 1989. Mycetocyte symbiosis in insects. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* **64**: 409–434.
- Engel P., Moran N.A. 2013. The gut microbiota of insects - diversity in structure and function. *FEMS Microbiol. Rev.* **37**: 699–735.
- Fukatsu T., Hosokawa T. 2002. Capsule-Transmitted Gut Symbiotic Bacterium of the Japanese Common Plataspid Stinkbug, *Megacopta punctatissima*. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**: 389–396.
- Futahashi R., Tanaka K., Tanahashi M., Nikoh N., Kikuchi Y., Lee B.L., Fukatsu T. 2013. Gene expression in gut symbiotic organ of stinkbug affected by extracellular bacterial symbiont. *PLoS ONE* **8**(5): 1–13.
- Hirose E., Panizzi A.R., De Douza J.T., Cattelan A.J., Aldrich J.R. 2006. Bacteria in the Gut of Southern Green Stink Bug (Heteroptera: Pentatomidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **99**: 91–95.
- Hosokawa T., Kikuchi Y., Meng X.Y., Fukatsu T. 2005. The making of symbiont capsule in the plataspid stinkbug *Megacopta punctatissima*. *FEMS Microbiol. Ecol.* **54**: 471–477.
- Hosokawa T., Kikuchi Y., Fukatsu T. 2007a. How many symbionts are provided by mothers, acquired by offspring, and needed for successful vertical transmission in an obligate insect-bacterium mutualism? *Mol. Ecol.* **16**: 5316–5325.
- Hosokawa T., Kikuchi Y., Shimada M., Fukatsu T. 2007b. Obligate symbiont involved in pest status of host insect. *Proc. Biol. Sci.* **274** (1621): 1979–1984.
- Hosokawa T., Kikuchi Y., Nikoh N., Fukatsu T. 2012. Polyphyly of gut symbionts in stinkbugs of the family Cydnidae. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**: 4758–4761.
- Hypsa V., Aksoy S. 1997. Phylogenetic characterization of two transovarially transmitted endosymbionts of the bedbug *Cimex lectularius* (Heteroptera: Cimicidae). *Insect Mol. Biol.* **6**: 301–304.
- Hypsa V., Dale C. 1997. In vitro culture and phylogenetic analysis of "*Candidatus Arsenophonus triatominarum*," an intracellular bacterium from the triatomine bug, *Triatoma infestans*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **47**: 1140–1144.
- Kaiwa N., Hosokawa T., Kikuchi Y., Nikoh N., Meng X.Y., Kimura N., Ito M., Fukatsu T. 2010. Primary gut symbiont and secondary, Sodalis-allied symbiont of the Scutellerid stinkbug *Cantao ocellatus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**: 3486–3494.
- Kaiwa N., Hosokawa T., Kikuchi Y., Nikoh N., Meng X.Y., Kimura N., Ito M., Fukatsu T. 2011. Bacterial symbionts of the giant jewel stinkbug *Eucorysses grandis* (Hemiptera: Scutelleridae). *Zoolog. Sci.* **28**: 169–174.
- Kaltenpoth M., Winter S.A., Kleinhammer A. 2009. Localization and transmission route of *Coriobacterium glomerans*, the endosymbiont of pyrrhocorid bugs. *FEMS Microbiol. Ecol.* **69**: 373–383.
- Kikuchi Y. 2009. Endosymbiotic Bacteria in Insects: Their Diversity and Culturability. *Microbes Environ.* **24**: 195–204.
- Kikuchi Y., Fukatsu T. 2003. Diversity of *Wolbachia* Endosymbionts in Heteropteran Bugs. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 6082–6090.
- Kikuchi Y., Fukatsu T. 2014. Live imaging of symbiosis: spatiotemporal infection dynamics of a GFP-labelled *Burkholderia* symbiont in the bean bug *Riptortus pedestris*. *Mol. Ecol.* **23**: 1445–1456.
- Kikuchi Y., Yumoto I. 2013. Efficient Colonization of the Bean Bug *Riptortus pedestris* by an Environmentally Transmitted *Burkholderia* Symbiont. *Appl. Environ. Microbiol.* **79**: 2088–2091.
- Kikuchi Y., Hosokawa T., Fukatsu T. 2007. Insect-microbe mutualism without vertical transmission: a stinkbug acquires a beneficial gut symbiont from the environment every generation. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**: 4308–4316.
- Kikuchi Y., Hosokawa T., Fukatsu T. 2008. Diversity of bacterial symbiosis in stinkbugs. [w:] Van Dijk T. (red.). *Microbial Ecology Research Trends*. Nova Science Publishers, Hauppauge, NY, USA, 39–63.
- Kikuchi Y., Hosokawa T., Fukatsu T. 2011. An ancient but promiscuous host-symbiont association between *Burkholderia* gut symbionts and their heteropteran hosts. *The ISME Journal* **5**: 446–460.

- Kikuchi Y., Meng X.Y., Fukatsu T. 2005. Gut symbiotic bacteria of the Genus *Burkholderia* in the broad-headed bugs *Riptortus clavatus* and *Leptocoris chinensis* (Heteroptera: Alydidae). *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 4035–4043.
- Kikuchi Y., Hayatsu M., Hosokawa T., Nagayama A., Tago K., Fukatsu T. 2012. Symbiont-mediated insecticide resistance. *PNAS* **109** (22): 8618–8622.
- Kikuchi Y., Hosokawa T., Nikoh N., Meng X.Y., Kamagata Y., Fukatsu T. 2009. Host-symbiont co-speciation and reductive genome evolution in gut symbiotic bacteria of acanthosomatid stinkbugs. *BMC Biol.* **7**: 1–22.
- Kim J.K., Lee B.L. 2015. Symbiotic factors in *Burkholderia* essential for establishing an association with the bean bug, *Riptortus pedestris*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **88**: 4–17.
- Kukla M., Piotrowska-Seget Z. 2011. Symbioza owady-bakterie. *Kosmos Problemy Nauk Biologicznych* **3–4** (292–293): 389–399.
- Küchler S.M., Dettner K., Kehl S. 2010. Molecular characterization and localization of the obligate endosymbiotic bacterium in the birch catkin bug *Kleidocerys resedae* (Heteroptera: Lygaeidae, Ischnorhynchinae). *FEMS Microbiol. Ecol.* **73**: 408–418.
- Küchler S.M., Dettner K., Kehl S. 2011. Characterization of an Obligate Intracellular Bacterium in the Midgut Epithelium of the Bulrush Bug *Chilacis typhae* (Heteroptera, Lygaeidae, Artheneinae). *Appl. Environ. Microbiol.* **77**: 2869–2876.
- Küchler S.M., Renz P., Dettner K., Kehl S. 2012. Diversity of Symbiotic Organs and Bacterial Endosymbionts of Lygaeoid Bugs of the Families Blissidae and Lygaeidae (Hemiptera: Heteroptera: Lygaeoidea). *Appl. Environ. Microbiol.* **78**: 2648–2659.
- Matsuura Y., Kikuchi Y., Hosokawa T., Koga R., Meng X.Y., Kamagata Y., Nikoh N., Fukatsu T. 2012. Evolution of symbiotic organs and endosymbionts in lygaeid stinkbugs. *The ISME Journal* **6**: 397–409.
- Moran N.A., McCutcheon J.P., Nakabachi A. 2008. Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts. *Annu. Rev. Genet.* **42**: 165–190.
- Prado S.S., Almeida R.P. 2009. Role of symbiotic gut bacteria in the development of *Acrosternum hilare* and *Murgantia histrionica*. *Entomol. Exp. Appl.* **132**: 21–29.
- Prado S.S., Rubinoff D., Almeida R.P.P. 2006. Vertical transmission of a pentatomid caeca-associated symbiont. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **99**: 577–585.
- Salem H., Kreutzer E., Sudakaran S., Kaltenpoth M. 2013. *Actinobacteria* as essential symbionts in firebugs and cotton stainers (Hemiptera, Pyrrhocoridae). *Environ. Microbiol.* **15**: 1956–1968.
- Schorr H. 1957. Zur Verhaltensbiologie und Symbiose von *Brachypelta aterrima* Först (Cynidae, Heteroptera). *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **45**: 561–602.
- Sudakaran S., Salem H., Kost C., Kaltenpoth M. 2012. Geographical and ecological stability of the symbiotic mid-gut microbiota in European firebugs, *Pyrrhocoris apterus* (Hemiptera, Pyrrhocoridae). *Mol. Ecol.* **21**: 6134–6151.
- Tada A., Kikuchi Y., Hosokawa T., Musolin D.L., Fujisaki K., Fukatsu T. 2011. Obligate association with gut bacterial symbiont in Japanese populations of the southern green stinkbug *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae). *Appl. Entomol. Zool.* **46**: 483–488.
- Taylor C.M., Coffey P.L., DeLay B.D., Dively G.P. 2014. The Importance of Gut Symbionts in the Development of the Brown Marmorated Stink Bug, *Halyomorpha halys* (Stål). *PLoS One* **9** (3): 1–9.
- Weirauch C., Schuh R.T. 2011. Systematics and evolution of Heteroptera: 25 years of progress. *Annu. Rev. Entomol.* **56**: 487–510.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

SUMMARY

Bacterial endosymbiosis occurring in insects of the suborder Heteroptera (Insecta: Hemiptera) and their significance

Among the broad diversity of symbiotic relationships, the most consistent forms are endosymbioses, and among them bacterial endosymbioses, which appear primarily in phytophags and haematophags because their diet is low in nutrients, which they may obtain thanks to symbionts. Micro-organisms remaining in symbiosis with Heteroptera are usually intracellular and in numerous cases difficult or impossible to grow in artificial cultures. They are highly specific to their host and can be passed on from generation to generation due to a special transmission mechanism. Symbiotic bacteria of Heteroptera are to be found primarily in individuals of two infraorders – Cimicomorpha and Pentatomomorpha, and also in numerous other taxonomic groups of herbivorous Heteroptera, e.g. in Acanthosomatidae, Plataspidae, Pentatomidae, Alydidae and Pyrrhocoridae. Species inhabiting Reduviidae and Cimicidae (both representing the infraorder Cimicomorpha) colonise bacteriome or mycetome. On the other hand, in Pentatomomorpha symbionts usually colonise digestive tracts. Insect endosymbionts that have been identified to date vary with regard to phylogenetic placement, host tissue tropism, dependence on the host and the degree of their influence on the host's fitness. Many insect symbionts belong to Proteobacteria, and also to Bacteroides, Chlamydiae and Firmicutes. Bacterial endosymbionts of Heteroptera, together with their characteristic features, were listed by being grouped on the basis of the family of the host, whose organism they colonise.

Tabela 1. Endosymbionty bakteryjne Heteroptera [Table. 1. Bacterial endosymbionts of Heteroptera]

Infrarząd: Nadrodzina: Rodzina Infraorder: Superfamily: Family	Gatunek gospodarza Host species	Endosymbionty Endosymbionts	Źródło Source
Cimicomorpha: Cimicoidea			
<i>Cimicidae</i>	<i>Cimex lectularius</i>	<i>Wolbachia</i> sp.	(Hypsa i Aksoy 1997)
Cimicomorpha: Miroidea			
<i>Miridae</i>	<i>Charagochilus angusticollis</i>	<i>Wolbachia</i> sp.	(Kikuchi i Fukatsu 2003)
Cimicomorpha: Reduivoidea			
<i>Reduviidae</i>	<i>Rhodnius prolixus</i>	<i>Rhodococcus rhodnii</i>	(Brecher i Wigglesworth 1944; Baines 1956; Kikuchi i in. 2008; Kikuchi 2009; Engel i Moran 2013)
		<i>Pectobacterium</i> sp.	(Díaz i in. 2016)
		<i>Arsenophonus</i> sp.	(Bourtzis i Miller 2009; Díaz i in. 2016)
	<i>Panstrongylus megistus</i>	<i>Arsenophonus</i> sp.	(Bourtzis i Miller 2009; Díaz i in. 2016)
		<i>Pectobacterium</i> sp.	(Díaz i in. 2016)
	<i>Triatoma brasiliensis</i>	<i>Arsenophonus</i> sp.	(Bourtzis i Miller 2009; Díaz i in. 2016)
	<i>Triatoma infestans</i>	<i>Arsenophonus</i> sp.	(Bourtzis i Miller 2009; Díaz i in. 2016)
		<i>γ-Proteobacteria</i>	(Hypsa i Dale 1997)
	<i>Triatoma juazeirensis</i>	<i>Arsenophonus</i> sp.	(Bourtzis i Miller 2009; Díaz i in. 2016)
	<i>Triatoma sherlocki</i>	<i>Arsenophonus</i> sp.	(Bourtzis i Miller 2009; Díaz i in. 2016)
	<i>Dipetalogaster maxima</i>	<i>Pectobacterium</i> sp.	(Díaz i in. 2016)
różne gatunki/various species	<i>Corynebacteriales (Rhodococcus, Dietzia i Corynebacterium)</i>	(Díaz i in. 2016)	

Pentatomomorpha: Coreoidea			
Alydidae	<i>Riptortus pedestris</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2005; Kikuchi 2009; Kikuchi i in. 2012; Futahashi i in. 2013; Kikuchi i Yumoto 2013; Engel i Moran 2013; Kikuchi i Fukatsu 2014; Kim i Lee 2015)
	<i>Riptortus clavatus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2007; Kikuchi i in. 2008)
	<i>Leptocoris chinensis</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2005; Kikuchi i in. 2011)
	<i>Leptocoris acuta</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Leptocoris oratoria</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Megalotomus costalis</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Daclera levana</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Paraplesius unicolor</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
Coreidae	<i>Cletus punctiger</i>	<i>Wolbachia</i> sp.	(Kikuchi i Fukatsu 2003)
		<i>Burkholderia</i> sp.	
	<i>Cletus trigonus</i>	<i>Wolbachia</i> sp.	(Kikuchi i Fukatsu 2003)
		<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Cletus rusticus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Molipteryx fuliginosa</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Acanthocoris sordidus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Anacanthocoris striicornis</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Leptoglossus australis</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Dasynus coccocinctus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Notobitus meleagris</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Hygia opaca</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Hygia lativentris</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Homoeocerus dilatatus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Homoeocerus unipunctatus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Homoeocerus marginiventris</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Paradasynus spinosus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Plinactus bicoloripes</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
<i>Plinactus basalis</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)	
Pentatomomorpha: Lygaeoidea			
Artheneidae	<i>Chilacis typhae</i>	<i>γ-Proteobacteria – Candidatus Rohrkolberia cinguli</i>	(Küchler i in. 2011)
Berytidae	<i>Metatropis rufescens</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Yemma exilis</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
Blissidae	<i>Blissus insularis</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Boucias i in. 2012)
	<i>Dimorphopterus pallipes</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Cavelerius saccharivorus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Ischnodemus sabuleti</i>	<i>γ-Proteobacteria</i>	(Küchler i in. 2012)

Lygaeidae	<i>Kleidocerys resedae</i>	γ -Proteobacteria – <i>Candidatus Kleidoceria schneideri</i>	(Küchler i in. 2010)
	<i>Nysius</i> sp.	γ -Proteobacteria – <i>Candidatus Schneideria nysicola</i>	(Matsuura i in. 2012)
	<i>Arocatus longiceps</i>	γ -Proteobacteria	(Küchler i in. 2012)
	<i>Belonochilus numenius</i>	γ -Proteobacteria	(Küchler i in. 2012)
	<i>Orsillus depressus</i>	γ -Proteobacteria	(Küchler i in. 2012)
	<i>Ortholomus punctipennis</i>	γ -Proteobacteria	(Küchler i in. 2012)
	<i>Acrosternum hilare</i>	niezidentyfikowane/ unidentifed	(Prado i Almeida 2009)
	<i>Murgantia histrionica</i>	niezidentyfikowane/ unidentifed	(Prado i Almeida 2009)
Pachygronthidae	<i>Pachygrontha antennata</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
Rhyparochromidae	<i>Pachybrachius luridus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Paromius exiguus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Togo hemipterus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Paraucosmetus pallicornis</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Horridipamera inconspicua</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Horridipamera nietneri</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Panaorus japonicus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Panaorus albomaculatus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Metochus abbreviatus</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Neolethaeus dallasi</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	<i>Lethaeus assamensis</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2011)
	Pentatomomorpha: Pentatomoidea		
Acanthosomatidae	różne gatunki/various species	γ -Proteobacteria – <i>Candidatus Ishikawaella capsulata</i>	(Kikuchi 2009)
		<i>Rosenkranzia clausaccus</i>	(Kikuchi 2009)
	<i>Elasmotethus humeralis</i>	<i>Buchnera, Wigglesworthia, Blochmannia, Baumannia</i>	(Kikuchi i in. 2009)
	<i>Elasmotethus nubilus</i>	<i>Buchnera, Wigglesworthia, Blochmannia, Baumannia</i>	(Kikuchi i in. 2009)
	<i>Elasmucha putoni</i>	<i>Wolbachia</i> sp.	(Kikuchi i Fukatsu 2003)
	<i>Elasmucha amurensis</i>	<i>Wolbachia</i> sp.	(Kikuchi i Fukatsu 2003)
Cydnidae	<i>Schiodtella japonica</i>	γ -Proteobacteria	(Hosokawa i in. 2012)
	<i>Adomerus triguttulus</i>	γ -Proteobacteria	(Hosokawa i in. 2012)
	<i>Adomerus variegatus</i>	γ -Proteobacteria	(Hosokawa i in. 2012)
	<i>Adomerus rotundus</i>	γ -Proteobacteria	(Hosokawa i in. 2012)
	<i>Canthophorus niveimarginatus</i>	γ -Proteobacteria	(Hosokawa i in. 2012)
	<i>Adrisa magna</i>	γ -Proteobacteria	(Hosokawa i in. 2012)
	<i>Macroscytus japonensis</i>	γ -Proteobacteria	(Hosokawa i in. 2012)
	<i>Cydnus aterrimus</i>	niezidentyfikowane/ unidentifed	(Schorr 1957)

Pentatomidae	<i>Plautia stali</i>	laseczkopodobne mikroorganizmy o dużej długości/ microorganisms of large length	(Abe i in. 1995)
	<i>Nezara viridula</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Pantoea</i> sp.	(Hirose i in. 2006)
		<i>γ-Proteobacteria</i>	(Kikuchi i in. 2008; Tada i in. 2011)
		<i>Wolbachia</i> sp.	(Kikuchi i in. 2008)
	<i>Halyomorpha halys</i>	niezidentyfikowane	(Prado i Almeida 2009)
	<i>Acrosternum hilare</i>	niezidentyfikowane	(Prado i Almeida 2009)
<i>Murgantia histrionica</i>	niezidentyfikowane	(Prado i Almeida 2009)	
Plataspidae	różne gatunki/various species	<i>γ-Proteobacteria – Candidatus Ishikawaella capsulata</i>	(Kikuchi 2009)
		<i>Rosenkranzia clausaccus</i>	(Kikuchi 2009)
	<i>Megacopta punctatissima</i>	<i>γ-Proteobacteria – Candidatus Ishikawaella capsulata</i>	(Hosokawa i in. 2007; Kikuchi i in. 2008; Kikuchi 2009; Engel i Moran 2013)
		<i>Wolbachia</i> sp.	(Kikuchi i Fukatsu 2003)
	<i>Megacopta cribraria</i>	<i>γ-Proteobacteria – Candidatus Ishikawaella capsulata</i>	(Hosokawa i in. 2007; Kikuchi i in. 2008; Kikuchi 2009; Engel i Moran 2013)
		<i>Wolbachia</i> sp.	(Kikuchi i Fukatsu 2003)
	różne gatunki/various species	<i>Buchnera</i> sp.	(Kikuchi i in. 2009)
<i>Coptosoma scutellatum</i>	niezidentyfikowane/unidentified	(Fukatsu i Hosokawa 2002)	
Scutelleridae	<i>Cantao ocellatus</i>	<i>γ-Proteobacteria</i> podobne do <i>Sodalis glossinidius</i> / <i>γ-Proteobacteria</i> similar to <i>Sodalis glossinidius</i>	(Kaiwa i in. 2010)
	<i>Eucorysses grandis</i>	<i>γ-Proteobacteria</i>	(Kaiwa i in. 2011)
Pentatomomorpha: Pyrrhocoroidea			
Pyrrhocoridae	<i>Pyrrhocoris apterus</i>	<i>Coriobacterium glomerans</i>	(Kaltenpoth i in. 2009)
		<i>Gordonibacter</i> sp.	(Sudakaran i in. 2012; Salem i in. 2013)
		Firmicutes (<i>Clostridium</i> sp., <i>Lactococcus</i> sp.)	(Sudakaran i in. 2012; Salem i in. 2013)
		<i>Proteobacteria</i> (<i>Klebsiella</i> sp., <i>Rickettsia</i>)	(Sudakaran i in. 2012; Salem i in. 2013)
	<i>Dysdercus fasciatus</i>	Actinobacteria	(Kaltenpoth i in. 2009)
		<i>Gordonibacter</i> sp.	(Sudakaran i in. 2012; Salem i in. 2013)
		Firmicutes (<i>Clostridium</i> sp., <i>Lactococcus</i> sp.)	(Sudakaran i in. 2012; Salem i in. 2013)
		<i>Proteobacteria</i> (<i>Klebsiella</i> sp., <i>Rickettsia</i>)	(Sudakaran i in. 2012; Salem i in. 2013)