

Myrer benytter bioreaktorer

Mennesket bruger i dag bioreaktorer til effektivt at kontrollere en biokemisk proces. Den kunst har bladskærermyrer i Sydamerika allerede lært for mange millioner år siden ved at dyrke svampehaver i deres bo.

Af Henrik H. de Fine Licht

■ En bioreaktor er en lukket, ofte cylindrisk, beholder hvor der ved hjælp af mikroorganismer foregår en kontrolleret biokemisk proces. Under optimale forhold vil mikroorganismer som bakterier eller gærceller formere sig og udskille de ønskede aktive stoffer i et formidabelt tempo. Dette udnyttes for eksempel ved ølbrygning, hvor gærceller fermenterer sukker til alkohol og kuldioxid og i medicinalindustrien, hvor antibiotikaproducerende bakterier dyrkes i store bioreaktorer. Mennesket er imidlertid ikke de eneste, der har fundet ud af at udnytte bioreaktorer til egen fordel. En speciel gruppe Sydamerikanske myrer dyrker en helt unik svamp inde i deres myretue i et forholdsvis lukket system, som fungerer på samme måde som en bioreaktor.



Foto: Henrik H. de Fine Licht

Bladskærermyrer bruger deres kraftige savtakkede kindbækker til at "save" blade i mindre stykker.

Myrer som landmænd

Disse myrer lever som små landmænd, hvor de plukker blade fra træer og buske ved at skære små stykker ud, som bæres hjem til deres underjordiske myretue. Bladstykkerne bides i bittesmå stykker og placeres af

myrerne i en svampehave, hvor svampe og andre mikroorganismer nedbryder plantematerialet. Efterhånden som svampehaven vokser på bladstykkerne, bider myrerne små stykker af svampen som de selv spiser og fodrer til deres larver. Myrerne dyrker

og høster på den måde deres svampehave på samme måde som vi mennesker dyrker afgrøder i landbruget. I en enkelt myretue kan der være flere hundrede svampehaver lidt mindre end en fodbold i størrelse i forbindelse hulrum under jorden.

I samarbejde mellem Danmarks Grundforskningsfonds Center for Social Evolution ved Biologisk Institut, Københavns Universitet og Sektion for Bæredygtig Bioteknologi ved Aalborg Universitet i Ballerup forsker vi i, hvordan myrerne er i stand til at udnytte enzymer produceret af mikroorganismer til at nedbryde bladmateriale. I stueetagen på Biologisk Institut i København er der indrettet 4 klimarum, hvor vi kan kontrollere temperatur og luftfugtighed. Her holder vi omkring 50 bladskærermyrekolonier, hver enkelt



Foto: Henrik H. de Fine Licht

Bladskærmyrer af arten *Atta colombica* i færd med at skære stykker af blade, der bæres hjem til svampehaven.

med arbejdere, svampehaver og en dronning, som vi fodrer med danske brombærblade. Selvom brombærblade ikke er præcis hvad disse myrer normalt udnytter på deres naturlige levesteder i Mellem- og Sydamerika, giver disse kolonier os en helt enestående mulighed for på helt nært hold at følge med i, hvad der foregår inde i myrekolonien, når bladene nedbrydes.

En dråbe afføring med overraskelser

Når myrerne tilfører nyt bladmateriale bliver det ikke bare bidt i stykker og lagt ovenpå svampehaven. Først slikker og rasper myrerne bladstykkerne rene for at fjerne de mikroorganismer, der lever på ydersiden af bladet. Myrerne benytter antibiotikaproducerende bakterier og sterile biokemiske stoffer, de

Bladskærmyrer

Hverken bladskærmyrer eller svampen *Leucocoprinus gongylophorus* er i stand til at leve selvstændigt. Et sådant tæt forhold mellem to vidt forskellige organismer kaldes en *mutualistisk symbiose*, da begge parter har glæde af det indbyrdes samarbejde. Dette tætte samarbejde gør disse myrer helt unikke, da de som de eneste myrer i verden kan leve udelukkende, dog på indirekte vis, af levende planter – langt de fleste myrearter er rovdyr eller ådselædere. Det er et imponerende syn at se en hel kolonne i skovbunden af, hvad der ved første øjekast ligner små vandrede bladstykker. Ved et nærmere eftersyn kan man se utallige myrer, hver med et enkelt bladstykke i en nøje korrigeret adfærd på vej hjem til boet og tomhændede myrer på vej den



Foto: S. Armitage

anden vej ud for at hente flere blade. Blandt videnskabsfolk diskuteres det, hvor meget plantemateriale myrerne konsumerer, og hvor stor indflydelse de rent

faktisk har i naturlige tropiske økosystemer. For sydamerikanske plantageejere, der for eksempel dyrker kakao og citrusfrugter, er de dog meget alvorlige skadedyr.



Foto: Henrik H. de Fine Licht

En typisk skov habitat for bladskærmmyrer i Panama i Mellemamerika.



Foto: E. Abouheif

Jacobus J. Boomsma i færd med at udgrave en koloni af bladskærmmyrer af arten *Acromyrmex echinator*. Slegten *Acromyrmex* har typisk mindre kolonier med 1-2 svampehaver og er meget almindelig på græsskråninger. Ved at grave ind fra siden er det muligt at udtage svampehaven næsten intakt med en stor ske.

producerer i specielle kirtler på siden af kroppen til at rengøre bladstykkerne. Dernæst bygger myrerne så at sige bladstykkerne ind i svampehaven og sørger for, at et lille stykke svampemateriale er i direkte kontakt med bladet. Som den sidste prik over i'et

slutter myrerne af med at afsætte en dråbe flydende afføring på det inkorporerede bladmateriale. For snart 40 år siden påviste nuværende Professor emeritus Michael J. Martin fra University of Michigan, USA, at denne dråbe afføring indeholder adskil-

lige kulhydratnedbrydende enzymer, der kan nedbryde plantemateriale. Det var en stor overraskelse for Professor Martin, da han kunne vise, at en del af disse enzymer er produceret i svampehaven. Når myrerne spiser af svampehaven får de således ikke

kun deres sult stiller, men også en masse aktive svampeenzymer. Disse enzymer er i stand til at passere igennem myrernes tarmkanal uden at blive nedbrudt og stadig være aktive i afføringsdråberne, som myrerne afsætter i svampehaven.

Interessante enzymer

I dag ved vi, at langt de fleste enzymer i svampehaven produceres af en helt speciel svamp, *Leucocoprinus gongylophorus*, der har udviklet og specialiseret sig med myrerne gennem tiden. Samtidig producerer myrerne og deres larver også selv enzymer, der supplerer enzymerne fra svampen. Derudover lever der andre mikroorganismer i svampehaven såsom bakterier og gær, der udskiller plantenedbrydende enzymer, men vi er først nu ved at forstå, hvilken rolle de spiller i svampehaven. Det er muligt disse ekstra mikroorganismer har en vigtig rolle i omsætningen af plantemateriale til føde for svampen og i sidste ende myrerne, men det kan også være mikroorganismene "snylter" på delvist nedbrudt materiale i svampehaven.

De højt specialiserede enzymer i svampehaven gør nedbrydningen af plantematerialet meget hurtig og effektiv og er derfor potentielt meget interessant til forskellige industrielle formål som for eksempel i bioethanolindustrien. Ved produktionen af bioethanol er det altafgørende, at enzymer hurtigt og effektivt er i stand til at nedbryde svært fordøjeligt plantemateriale som for eksempel plantestængler. Det er dog ikke kun ud fra et praktisk og anvendeligt synspunkt at disse enzymer er interessante. De specielle enzymer er også et unikt eksempel på co-evolutionær tilpasning.

Evolution af enzymer

Lige siden de første svampedyrkende myrer begyndte at dyrke svampehaver for 50 millioner år siden er svampehavens enzymer blevet mere og mere specialiserede til plantenedbrydning. Der findes i dag mere end 200 arter svampedyrkende myrer, som varierer meget i hvilken

slags planteføde, de indsamler og giver til deres svampehave. Langt de fleste af disse arter har forholdsvis små kolonier med få hundrede arbejdere og 1-2 svampehaver på størrelse med en bordtennisbold. Disse myrer indsamler fortrinsvis kviste, afføring fra plantespisende insektlarver og nedfaldne blomster. Det er derfor helt andre typer af kulhydratnedbrydende enzymer, der er brug for i denne type svampehaver end hos de ca. 45 arter af bladskærermyrer, der indsamler friske blade.

Vi har for nylig påvist, at de enzymer, der er aktive i svampehaven hos svampedyrkende myrer, varierer med den type planteføde, de forskellige arter indsamler som substrat til svampehaven. Myrerne har derved selekteret deres svampehave for den mest optimale sammensætning af enzymer til plantenedbrydning ved at give svampehaven en bestemt type substrat. Denne type "forædling" kendes også fra menneskeligt landbrug, hvor langt de fleste af de afgrøder, som i dag dyrkes på vores marker, er forædlede sorter. Myrerne har selvfølgelig ikke foretaget et bevidst valg i forbindelse med optimeringen af enzymer i svampehaven. Det har været en vekselvirkning gennem millioner af års evolution, hvor svampen har tilpasset sig den føde, som myrerne er kommet med, og myrerne har tilpasset deres dyrkningsmetode til, hvad deres afgrøder kunne overkomme. Denne evolutionære proces kaldes også for co-evolution, idet myrerne og svampen har udviklet sig i tæt samspil igennem evolutionær tid og har resulteret i udviklingen af højt specialiserede svampeenzymer til plantenedbrydning.

Kemisk ukrudtsbekæmpelse i svampehaven

Det er en utrolig bedrift, at myrerne er i stand til at holde deres svampehave kørende. Ét er, at den er placeret i hulrum under jorden, hvor der er mange svampe og bakterier tilstede, der potentielt kunne inficere svampehaven og ødelægge det fine samspil mellem myrer og mikroorganismer. Et andet bemærkel-



↑ Et nærbillede af svampehaven hvor hvide svampehyfer vokser på forskellige typer plantestykker placeret i svampehaven af myrerne.

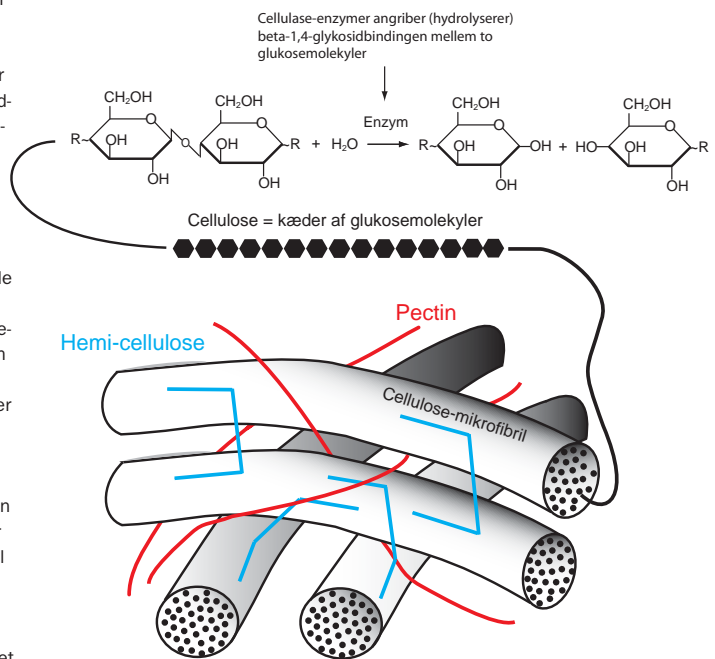


En myresvampehave – eller en naturlig "bio-reaktor" – som den ser ud i laboratoriet. De mørkere lag foroven er de nyligt anlagte dele af svampehaven hvor myrerne har inkorporeret danske brombærblade.

Fotos: Henrik H. de Fine Licht

Plantecellevægge og kulhydratnedbrydende enzymer

Cellulose hos planter består af forskellige typer sukkermolekyler, der er bundet sammen til en stærk matrixstruktur, der gør cellevæggen meget svær at nedbryde. Lange kæder (uden sidekæder) af glukosemolekyler kaldes cellulose og udgør den primære struktur. Disse kæder af cellulose ligger parallelt og er hæftet sammen af hydrogenbindinger, hvorved de danner større og meget stærke cellulose-mikrofibriller. Cellulose-mikrofibrillerne hæftes sammen af krydsbindende glykaner (hemi-cellulose), der også binder sig internt til hinanden. Det hele er indlejret i en matrix af forskellige pektinmolekyler, der tilsammen gør hele cellevæggen meget modstandsdygtig overfor nedbrydning. Der er stor forskel mellem forskellige plantearter og plantestrukturer i den andel pektin, hemi-cellulose og cellulose udgør af cellevæggen. Det er for eksempel nedbrydningen primært af cellulose-mikrofibrillerne, der volder os mennesker problemer, når vi indtager dem i form af ikke-fordøjelige fibre. Cellulosenedbrydning har sandsynligvis også været medvirkende til at køer har en mave opdelt i fire forskellige rum og samarbejder med mikroorganismer om at omdanne cellulose til den glukose, de kan optage og nedbryde.



Kulhydratnedbrydende enzymer er proteiner, der er i stand til at nedbryde glykosidbindinger mellem sukkermolekyler. F.eks. fungerer cellulase-enzymet ved at hydrolysere beta-1,4-glykosidbindingen mellem to glukosemolekyler under forbrug af et molekyle vand (H₂O). Cellulase-enzymet klassificeres ofte afhængig af, om glykosidbindingerne spaltes

centralt (endo-cellulase) eller i enderne (exo-cellulase) i de lange kæder af glukosemolekyler. Exo-cellulaser spalter oftest cellulose i mindre stykker (cellobiose), der består af to glukosemolekyler, som yderligere kan nedbrydes af cellobiase (beta-glucosidase), der er i stand til at nedbryde den sidste resterende glykosidbinding i cellobiose.

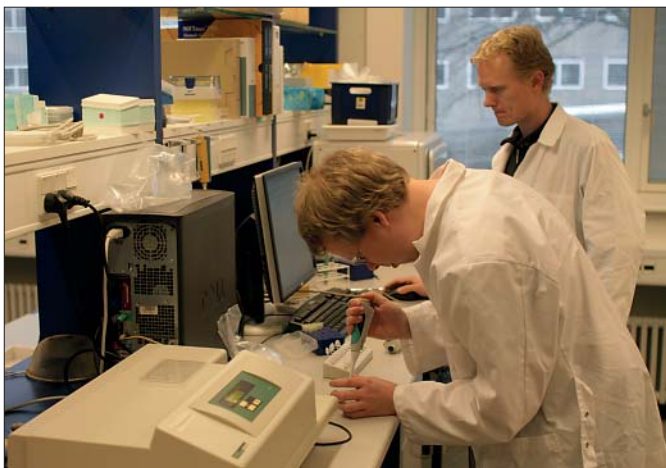


Foto: Henrik H. de Fine Licht

Studerende Daniel Hoffmann (i forgrunden) og post.doc. Morten Schiøtt i færd med at måle enzymaktiviteten af proteaser i fækaliædråber fra bladskæremyrrer.

sesværdigt træk, som vi stadig ikke forstår meget af endnu, er hvordan myrerne holder hele systemet bestående af adskillige forskellige mikroorganismer som svampe, gær og bakterier i gang. Langt de fleste menneskeskabte bioreaktorer, som benyttes i industrien, indeholder monokulturer. Det vil sige, at der kun er en enkelt bakteriestamme eller svampeklon i hver bioreaktor – eller med andre ord, hver bioreaktor er befolket af en enkelt art. Dette gør man for at undgå, at forskellige bakterier skal begynde at konkurrere om den tilgængelige føde og derved vokse langsommere og i sidste ende give en lavere produktion. Mange mikroorganismer vil endda udskille uønskede skadelige stoffer, når de kæmper for en begrænset mængde af føde.

De underjordiske hulrum, hvor svampehaven vokser, kan også sammenlignes med et driv-

hus, hvor myrerne passer og plejer svampehaven for at svampehaven skal have de mest optimale vækstvilkår. Myrerne sørger hele tiden for at rengøre svampehaven ved at fjerne uønskede mikroorganismer – eller rettere, de luger ukrudt! Myrerne benytter også antibiotiske stoffer fra bakterier, der gror på deres krop, til at kontrollere uønsket bakterievækst, hvilket er meget lig det at sprøjte mod ukrudt. Det er meget vigtigt, at svampehaven holdes fri for uønskede mikroorganismer, der ellers ville tage over og ændre på de interne forhold i svampehaven. For eksempel er myrerne i stand til at regulere fugtigheden ved at flytte svampehaven tættere på jordoverfladen i regntiden og længere ned under jorden i tørtiden. På denne måde holdes de miljømæssige forhold inde i svampehaven konstante, og hele systemet kan fungere som en naturlig bioreaktor.

En naturlig bioreaktor

Der er overordnet to måder, hvorpå man udvikler nye enzymer til specifikke industrielle formål og produktion i bioreaktorer. Enten forsøger man kunstigt at danne disse enzymer ved at mutere allerede kendte enzymer eller ved kunstigt at selektere for nye enzymvirkninger. Den anden metode er at lede efter enzymer i naturen hos organismer, der lever af eller under forhold, hvor de enzymer, man er interesseret i, kan tænkes at være aktive. Den første metode går således ind og påvirker evolutionen af specifikke egenskaber hos enzymer, hvor den anden metode så at sige drager fordel af tidligere tiders evolution i naturen. Det er blandt andet derfor, at enzymerne i myrernes svampehaver er så interessante. Disse enzymer er blevet udvalgt og forfinet i deres egenskaber gennem 50 millioner års evolution med svampedyrkende myrer.

Med hjælp fra myrekolonierne i stuetagen ved Center for Social Evolution (CSE) på Biologisk Institut er vi ved at undersøge de biokemiske tilpasninger i svampehaven for at forstå, hvordan denne naturlige bioreaktor fungerer. Ved at undersøge, hvordan myrerne er i stand til at holde en bioreaktor kørende kan vi forhåbentlig få en bedre forståelse for dynamikken og spillet mellem mange forskellige mikroorganismer i en naturlig bioreaktor.

Vi er derfor ved at kortlægge de specifikke enzymer, der virker ved nedbrydningen af blade i svampehaven. Hvad er det for eksempel, der gør disse højt specialiserede enzymer i stand til at passere uhindret gennem myrens tarmkanal og stadig være aktive og virke i afføringsdråber? Vi kan kun gisne om de specielle biokemiske tilpasninger, der forhindrer, at myrernes egne tarmenzymer nedbryder de gavnlige svampeenzymer. Tiden vil vise, om disse specialiserede enzymer en dag kan udnyttes til industrielle formål, og vi mennesker derved kan drage fordel af myrernes forædlingsarbejde gennem de sidste 50 millioner år. ■

Om forfatteren:



Henrik Hjarvard de Fine Licht er postdoc ved Danmarks Grundforskningsfondens Center for Social Evolution, Biologisk Institut, Københavns Universitet.
Tlf.: 3532 1251
E-mail: hhdefinlicht@bio.ku.dk

Videre læsning

De Fine Licht, H. H., Schiøtt, M., Mueller, U. G., & Boomsma, J. J. (2010) Evolutionary transitions in enzyme activity of ant fungus gardens. *Evolution*, 64, 7, 2055-2069.

Schiøtt, M., De Fine Licht, H. H., Lange, L., & Boomsma, J. J. (2008) Towards a molecular understanding of symbiont function: Identification of a fungal gene for the degradation of xylan in the fungus gardens of leaf-cutting ants. *BMC Microbiology*, 40, 8.

Poulsen, M., Nash, D. R. & Boomsma, J. J. (2004) Bladskæremyrrer – tropernes succesfulde landbrugere, *Naturens Verden*, 5, 27-35.

Schultz, T. R. & Brady, S. G. (2008) Major evolutionary transitions in ant agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 105, 5435-5440.

Hölldobler, B. & Wilson, E. O. (2008) *The superorganism, the beauty, elegance, and strangeness of insect societies*. W. W. Norton & Company, New York, USA.

Hjemmeside for Center for Social Evolution ved Biologisk Institut, Københavns Universitet: www1.bio.ku.dk/forskning/oe/csel

Bidragydere

Fra Center for Social Evolution ved Biologisk Institut, Københavns Universitet deltager evolutionsbiologer, genetikere og bioinformatikere (Jacobus J. "Kooos" Boomsma, Morten Schiøtt, Sanne Nygaard og Henrik H. de Fine Licht) og fra Sektion for Bæredygtig Bioteknologi ved Aalborg Universitet i Ballerup deltager mykologer og molekylærbiologer (Lene Lange, Morten N. Grell, og Tore Linde (denne del af arbejdet er støttet af Novozymes A/S.)). Centerleder Jacobus J. "Kooos" Boomsma har gennem 20 år forsket i evolutionen af bladskæremyrrer og været en nøglefigur i udviklingen af symbiosen mellem myrer og mikroorganismer til et modelsystem for studier af social evolution. Center for Social Evolution er støttet af Danmarks Grundforskningsfond.