**«Comportamento di auto-medicazione associato ai patogeni in *Apis mellifera*»**

**di Bogdan I. Gherman & Andreas Denner & Otilia Bobiş &**

**Daniel S. Dezmirean & Liviu A. Mărghitaş &**

**Helge Schlüns & Robin F. A. Moritz & Silvio Erler (2014)**

Abstract (Traduzione): Le api, *Apis mellifera*, hanno diverse strategie profilattiche di difesa dalle malattie, tra cui il foraggiamento di antibiotici, antifungini, antivirali e composti di prodotti vegetali. Per questa ragione, miele e polline contengono molti composti che inibiscono la crescita fungina e batterica e inibiscono la replicazione virale. Poiché questi composti vengono anche somministrati alle larve dalle nutrici, queste ultime giocano un ruolo centrale all’interno dell’alveare al fine del mantenimento delle condizioni di salute della colonia. Qui dimostriamo che le api nutrici, infettate con il parassita microsporidio *Nosema ceranae*, mostrano una diversa preferenza per differenti tipi di mieli nei test a scelta simultanea. Le operaie infette hanno preferito dei mieli con una più alta attività antibiotica che ha ridotto l’infezione provocata dal microsporidio a seguito del consumo di miele. Dal momento che le nutrici non sono preposte solamente alla nutrizione delle larve ma anche degli altri membri della colonia, questo comportamento potrebbe risultare una forma altamente adattiva di farmaco terapia sia a livello di colonia che individuale.

Discussione (Traduzione): L’automedicazione come tipo di comportamento di “difesa collettivo” rappresenta un caso speciale di “immunità sociale” che comprende i meccanismi per ridurre l’esposizione dell’ospite ai parassiti e per ridurre al contempo il rischio di infezioni attraverso una difesa comportamentale e/o fisiologica (de Roode e Lefèvre 2012). Tale comportamento antiparassitario può portare a ridurre le probabilità di infezione (“profilassi per automedicazione”) o contenere i danni provocati dal parassita in caso di infezione (“terapia per automedicazione”) (Hart 1990). La maggior parte degli esempi di terapie di automedicazione si basano principalmente su osservazioni di campo sui mammiferi, in cui viene osservata l’ingestione di componenti vegetali contenenti prodotti chimici antiparassitari (Clayton e Wolfe 1993), con diverse caratteristiche comportamentali negli invertebrati (Parker et al 2011). Nel nostro studio abbiamo dimostrato la potenziale capacità di automedicazione di un invertebrato con complessa struttura sociale, al fine di ridurre o probabilmente addirittura prevenire le infezioni provocate dai patogeni. Nutrici infettate con spore di *Nosema ceranae* hanno preferito una fonte nutrizionale che ha diminuito l’intensità dell’infezione dopo l’assunzione del miele selezionato. Questo dato è importante non solo per la salute delle nutrici stesse, ma anche rispetto allo stato di salute delle consorelle di nido, che vengono alimentate dalle nutrici [adulti e larve N.d.T.]. Poiché il miele selezionato possedeva un potenziale antibiotico superiore, questa scelta può essere rilevante, ad esempio, per le malattie batteriche della covata, che viene appunto alimentata dalle nutrici. Anche in altri insetti sociali sono stati individuati comportamenti di selezione e raccolta di materiale vegetale antimicrobico per ridurre i carichi di patogeni. *Formica paralugubris* , ad esempio, incorpora nel nido pezzi di resina solidificati di conifere, resina capace di inibire la crescita di batteri e funghi nel nido e proteggere le formiche contro microorganismi nocivi (Christe et al. 2003; Chapuisat et al 2007). Tuttavia, misurando la risposta immunitaria, l’attività di fenolossidasi (parte della risposta immunitaria umorale innata negli insetti) era molto bassa e non influenzata dalla presenza di resina. Inoltre, era stata osservata una diminuizione dell’attività antibatterica (Castella et al. 2008). Non solamente le formiche utilizzano la resina, ma anche le api lo fanno, al fine di prevenire infezioni da parassita e inibirne la crescita (Walker e Crane 1987; Simone et al 2009; Siomne.Finstrom e Spivak 2010). L’esposizione delle api a estratti di propoli (una miscela di resine e cera) ha comportato una espressione significativamente ridotta di due geni correlati alla risposta immunitaria (Imenoptecina e Eater) e abbassato le cariche batteriche (Simone et al 2009). Il caso di ridotta espressione di geni immuno-correlati grazie alla raccolta di prodotti vegetali antimicrobici può rappresentare un adattamento evolutivo negli insetti eusociali che può spiegare il ridotto numero dei geni del loro sistema immunitario, in particolare nelle api. E’ stato suggerito che le api si auto-medichino attraverso la raccolta di resine vegetali e raccolgano più resine in risposta a specifiche aggressioni fungine (ad esempio *Ascosphaera apis*, agente patogeno della covata calcificata) (Simone-Finstrom e Spivak 2012). Le colonie con bottinamento di resine hanno mostrato una diminuizione dell’intensità dell’infezione prodotta da questo parassita fungino (Simone-Finstrom e Spivak 2012), così come avvenuto per l’infezione di Nosema ceranae nel nostro studio. L’intera colonia di api può venire protetta dalla resina (“livello di difesa di gruppo”), essendo la resina un agente tensioattivo antimicrobico efficace. Molti altri prodotti e sostanze dell’alveare servono anche come antimicrobici o agenti protettivi e potrebbero essere candidati come agenti attivi di automedicazione ( Dustmann 1979; Viuda-Martos et al 2008). E’ stato dimostrato che gli alcaloidi presenti nel nettare bottinato dalle api possono ridurre i carichi di patogeni nei bombi nel caso di infezioni da protozoi (Manson et al. 2010). Il miele oltre a costituire il principale apporto di carboidrati alle api (A. mellifera) potrebbe quindi essere un ottimo candidato per servire all’automedicazione contro vari agenti patogeni. Il miele è principalmente costituito da acqua, nettare e tracce di polline raccolti. Diversi componenti contribuiscono alla natura antimicrobica del miele sia per uccidere gli agenti patogeni presenti nella colonia che nel miele stesso (ad esempio batteri, lieviti, muffe). I principali elementi ad azione antibatterica presenti nei mieli sono lo zucchero (Gilliam et al 1988), H2O2 [perossido di idrogeno N.d.T.] (White et al. 1963), il metilgliossale [uno zucchero N.d.T.] (Adams et al 2008) e defensina-1 [una proteina N.d.T.] (Kwakman et al 2010). Benché i profili chimici dello zucchero possano variare rispetto alla fonte nettarifera e anche la viscosità del miele possa interferire con le preferenze delle api (Nicolson et al 2013), le scelte delle api di fronte ai mieli selezionati nel nostro studio erano basate su percezioni odorose e non tattili. Pertanto, né il profilo zuccherino né la viscosità erano la causa delle scelte. Altri fattori, tra cui odori volatili, composti vegetali secondari, batteri simbionti del nettare o metaboliti della pianta contribuiscono a fornire al miele quel bouquet caratteristico che può essere rilevante nella scelta delle api (Mcart et al 2014). I profumi volatili del nettare sono un segnale fondamentale per le bottinatrici nei campi. Anche se molti odori volatili possono evaporare con il tempo, molti segnali odorosi permarranno nel miele anche dopo che questo è stato derivato dal nettare. Benché le operaie possano nutrirsi direttamente di nettare senza trasformarlo in miele, ciò tuttavia non contribuirebbe in modo sistematico al mantenimento delle condizioni di salute della colonia, poiché vi potrebbe essere disponibilità di nettare in un momento in cui questo non occorre. La straordinaria forza del sistema sociale delle api si basa sulla possibilità di immagazzinare il nettare convertendolo in miele e di utilizzarlo quando necessario per combattere una certa malattia o infezione. Il miele di Manuka e i mieli millefiori sono stati testati su parassiti microsporidi (Malone et al. 2011) ma in quel contesto non sono stati osservati effetti sulla diffusione del parassita (Malone et al. 2011), sebbene numerose spore abbiamo cominciato a perdere vitalità dopo alcuni giorni [Da notare che in Malone et al. sono stati i ricercatori ad associare dei mieli a un patogeno, mentre nella ricerca di Gherman et al. qui tradotta, sono le api ad effettuare la scelta discriminatoria di un tipo di miele rispetto ad un patogeno proposto N.d.T.]. Al contrario, il nostro studio dimostra una riduzione del grado di infezione da *Nosema ceranae* entro 6 giorni. Sebbene nei test abbiamo verificato solo due tipi di mieli per volta e con caratteristiche opposte, la specificità del miele scelto potrebbe essere dovuta al suo effetto sull’intensità dell’infezione. Il miele di girasole era più frequentemente scelto da nutrici infette piuttosto che da nutrici non infette, con un aumento del 57% di attrattività rispetto al miele di melata. La sua maggiore attività antimicrobica potrebbe essere spiegata con la sua concentrazione di H2O2 molto più elevata rispetto al miele di robinia o di melata (Oelschlaegel et al 2012), che è stata confermata dai dati sulla crescita batterica. Tuttavia, generalizzando i risultati, i dati sulla crescita batterica devono essere valutati con cautela. Qualsiasi attività antimicrobica con batteri non rifletterà direttamente l’attività antimicrobica su *Nosema ceranae*. Poiché al momento non esiste un sistema per studiare in vitro le cellule di *Nosema ceranae*, uno screening standardizzato di batteri offre l’unica possibilità di quantificare l’attività antimicrobica. Sebbene tutto ciò permetta di trarre delle conclusioni solo indirette, si può affermare che le capacità antimicrobiche specifiche di ciascun miele siano alla base delle scelte delle nutrici e abbiano dei riflessi in vivo sull’intensità di infezione da N. ceranae. Dobbiamo sottolineare che abbiamo testato singole operaie in risposta ad un singolo patogeno. A livello di colonia, un consumo esclusivo di miele uniflorale di girasole non sarebbe utile e, non a caso, la disponibilità nettarifera monoflorale limitata al girasole è stata recentemente sospettata di aver contribuito alla perdita delle colonie (Pirk et al 2014). Infatti, è verosimile che sia la disponibilità di mieli di origine botanica differente a facilitare l’immunità a livello di colonia in ragione dell’intero spettro di patogeni ai quali la colonia è esposta. Sebbene non si possa escludere che le scelte operate dalle nutrici in questo studio siano molto specifiche e relative sia ai patogeni testati che alle caratteristiche delle colonie d’origine, tuttavia abbiamo dimostrato come la variabilità tra i diversi tipi di miele in una colonia può essere un principio importante per la salute delle colonie d’api. Non si può escludere che altri patogeni o colonie possano rispondere diversamente, ma la varietà dei mieli immagazzinati sembra non essere importante solo dal punto di vista nutrizionale, ma anche rispetto agli effetti sulle competenze immunitarie della colonia. Con l’immagazzinamento e l’accesso ad alimenti specifici, le api possono essere in grado di migliorare la difesa della colonia non solo dal punto di vista genericamente nutrizionale, ma rispetto all’azione di uno specifico parassita. I livelli di proteine ad esempio diminuiscono nelle famiglie con scarsa importazione di polline e ciò può comportare a sua volta una riduzione delle competenze immunitarie individuali (Alaux et al 2010). Inoltre, il rapporto proteine-carboidrati nell’apporto nutrizionale è funzionale alle esigenze fisiologiche di api stressate o malate (Altaye et al. 2010). Abbiamo qui dimostrato che le nutrici potrebbero ricoprire una posizione centrale di straordinaria importanza per la distribuzione selettiva del miele nella colonia, con ricadute sia sulla propria salute individuale che su quella collettiva. Considerato che questo comportamento naturale è così importante per lo stato di salute della colonia, anche gli apicoltori potrebbero usare queste conoscenze per trarre profitto dalle capacità antimicrobiche delle sostanze naturali. Nel caso specifico del *Nosema ceranae*, ad esempio, il nomadismo verso pascoli caratterizzati dalla presenza di girasole potrebbe essere un passo importante nella lotta contro la nosemiasi. Contemporaneamente, gli apicoltori devono essere consapevoli che l’aumento di domanda di mieli uniflorali potrebbe produrre sulle colonie gestite degli stress supplementari, facilitando la diffusione di malattie e la perdita indesiderata di colonie.

[Traduzione a cura di Luca Tufano]