

L'infezione delle regine da nosema per via sessuale

Gli apicoltori hanno sempre avuto un “ debole “ per le regine , considerandole (a mio avviso a torto ndr) il centro motore dell'alveare mentre è oggi dimostrato che si tratta solo di una macchina da deposizione di uova adeguatamente alimentata e pilotata dalle operaie . Nonostante questa sorta di “ amore viscerale “ chi si occupa di apicoltura ha fino ad ora tenuto veramente in poca considerazione il fatto che alle regine possano arrivare infezioni per via sessuale e che queste possano poi segnare pesantemente la loro vita e di conseguenza il destino dell'alveare . Si sa da diversi anni che non pochi virus possono essere trasmessi dai fuchi (che sono quelli maggiormente infestati dalla varroa) alle regine (per via sessuale) e da queste alle uova deposte con quel che ne consegue (sia per le api che per gli apicoltori) . Nei lavori di seguito presentati viene presa in esame la possibilità di trasmissione dei due tipi di Nosema che colpiscono le api e quanto espresso dai fuchi per difendersi e difendere le regine .

Nel lavoro *The cost of promiscuity: sexual transmission of Nosema microsporidian parasites in polyandrous honey bees* K. E. Roberts, S. E. F. Evison, B. Baer & W. O. H. Hughes *Proceedings B* rspb.royalsocietypublishing.org

Si legge che.....

L'ape è uno degli insetti a maggiore promiscuità fra quanto conosciuto . La regina risulta fecondata in media da 12 fuchi. Non poche volte molti di più . Se è mostrato come la poliandria conferisca diversi vantaggi all'alveare è però anche evidente che questo caratteristico comportamento aumenta i rischi di infezioni alle regine per via sessuale . Esperimenti di inseminazione artificiale hanno in passato mostrato che il virus deformed wing virus si può trasmettere per via sessuale in questa specie (Yue 2007 ; De Miranda 2008) . Lo studio ha perciò verificato sperimentalmente utilizzando inseminazione artificiale e PCR la possibilità che anche *Nosema apis* and *N. ceranae*, siano sessualmente trasmissibili nelle api. *N. apis* ha avuto una coevoluzione con *A. mellifera* mentre *N. ceranae* è un patogeno assolutamente nuovo per questa specie mentre è che è co evoluto con *A. ceranae*. Questo può avere riflessi anche sulla trasmissione sessuale . Entrambi i parassiti possono ridurre significativamente il benessere dell'alveare , ma *N. ceranae* può essere molto più virulento ed è risultato associato a significative perdite di alveari in diverse zone . Attualmente ,attraverso un secondo salto di specie di sta diffondendo significativamente anche tra i bombi (Graystock 2013; Li 2014) [con risultati catastrofici ndr] . Entrambe le specie di Nosema hanno trasmissione oro-fecale .

Gli esperimenti hanno dato come risultato che i microsporidia Nosema possono essere trasmessi per via sessuale nelle api . Sia *N. ceranae* che *N. apis* possono risultare presenti come spore nel seme dei fuchi e le regine artificialmente inseminate o con le spore di Nosema o con seme di fuchi infetti da Nosema divengono infettate dal parassita. La quantità di DNA di Nosema rinvenuta in molte regine è risultata maggiore della quantità con la quale le stesse erano state inseminate ,ciò dimostrando una replicazione del parassita nella regina ospite. Non è stata trovata evidenza di successiva trasmissione verticale del parassita dalla regina alle uova deposte . La presenza di spore di Nosema nel seme di fuchi, anche in consistente quantità, risulta in linea con la biologia di altre specie di Nosema con , ad esempio , un'ampia quantità di spore di *N. bombi* in precedenza osservate nelle vescicole seminali di bombi (Brooks 1986;Otti 2007) .

I risultati dimostrano che le api regine possono venir infettate da inseminazione con spore di Nosema e che il tasso di infezione dipende dalla specie del patogeno infettante e probabilmente

dalla dose infettante. Relativamente a *N. apis* il 23% delle regine è divenuto infetto a seguito inseminazione con spore. Con inseminazione con seme infetto il 6% delle regine è divenuto infetto. Con *N. ceranae* il tasso di infezione è risultato invece molto maggiore e il 77% delle regine è divenuto infetto a seguito inseminazione con spore. Con inseminazione con seme infetto il 24% delle regine è divenuto infetto. In aggiunta l'infezione da *N. apis* è risultata limitata all'intestino delle regine mentre con *N. ceranae* l'infezione è risultata diffusa a diversi tessuti. Se appare che *N. apis* sia in grado di riprodursi solo nell'intestino, *N. ceranae* si mostra in grado di replicarsi in una ampia varietà di tessuti (di certo non si può pensare che una regina infetta da *Nosema* sia nelle condizioni ottimali per svolgere la funzione di fabbrica di uova - nei migliori dei casi le lesioni prodotte dall'infezione ne limitano la capacità di assorbimento della pappa reale da trasformare in uova ndr). Sia la prevalenza (% di soggetti infetti) che l'intensità di infezione (quantità di patogeno presente nel caso specifico sotto forma di spore) a seguito inseminazione con spore di *Nosema* è risultata maggiore che a seguito inseminazione con seme infetto. Se la trasmissione sessuale è dose dipendente, come suggerito dai risultati, la selezione naturale può portare a massimizzare il numero di spore nell'eiaculato dei fuchi. Il tasso di infezione da *Nosema* nei fuchi appare particolarmente alto.

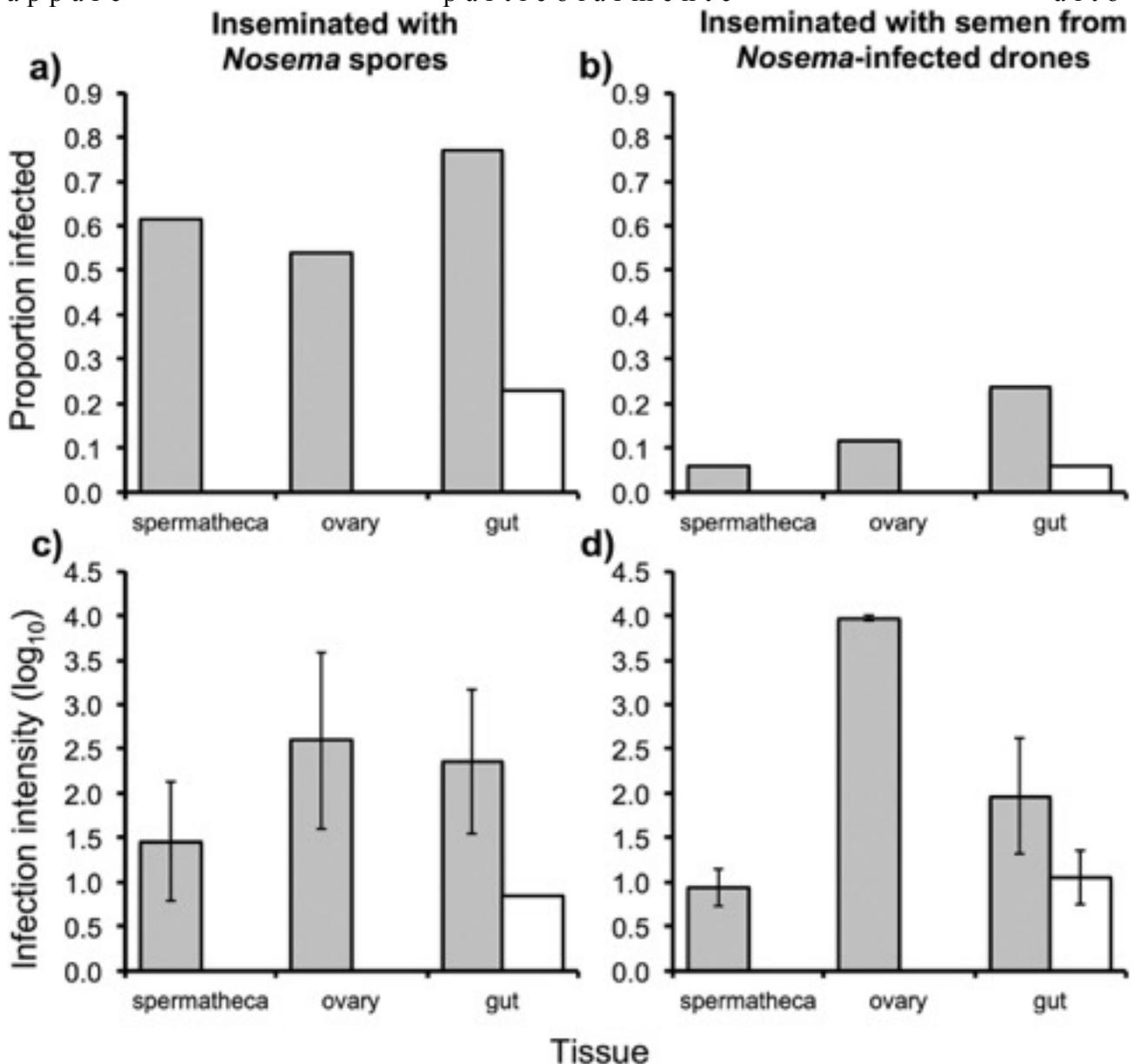


Figure 2. The prevalence (a,b) and mean \pm s.e. intensity (c,d) of infections by the *Nosema ceranae* (grey) and *N. apis* (white) microsporidian parasites in spermathecae, ovaries and guts of honey bee queens that were artificially inseminated with either a mixed spore suspension of *Nosema apis* and *N. ceranae* (a,c) or semen from *Nosema*-infected males (b,d). Infection intensity is the log₁₀ number of spore-equivalents, based on quantitative PCR (the number of parasite genes quantified in the sample transformed into the equivalent number of spores based on standard curves for a dilution series of extractions from known quantities of spores). The prevalence and intensities of infections differed significantly between *N. apis* and *N. ceranae* ($F_{44,1} = 5.47$, $P = 0.024$), and between tissues for *N. apis* ($F_{17,3} = 151.7$, $P < 0.001$), but not between tissues for *N. ceranae* ($F_{21,3} = 2.48$, $P = 0.088$).

e l'infezione riduce sostanzialmente il loro benessere (Roberts 2015). Data la evidente trasmissibilità per via sessuale di un patogeno come il *Nosema* nelle sue varie specie (e nella sua alta variabilità genetica [Gomez 2014] ndr), l'evoluzione naturale porta in genere al tentativo di porvi rimedio, come verificato dallo studio

Seminal fluid of honeybees contains multiple mechanisms to combat infections of the sexually transmitted pathogen *Nosema apis*

Yan Peng, Julia Grassl, A. Harvey Millar and Boris Baer proceeding B royal society

Per contrastare la possibilità di trasmissione di patogeni per via sessuale ci si può aspettare che i maschi evolvano adattamenti funzionali a ridurre i rischi di infezione ed è oggi noto che l'eiaculato contiene molecole ad attività antimicrobica [Poiani 2006; Baer 2009].

Si è potuto dimostrare che anche il fluido seminale delle api è dotato di rimarchevoli capacità antimicrosporidiche ed è in grado di ridurre la vitalità delle spore di *N. apis* in più dell'80% di quelle presenti. Queste scoperte mostrano che i fuchi, che sono altamente suscettibili al *Nosema* (e che lo trasmettono moltissimo anche per via orale risultandone i maggiori diffusori [Roberts 2015]), possono essere dotati di meccanismi molecolari in grado di ridurre i rischi di trasmissione per via sessuale di patogeni verso le regine nel corso della loro fecondazione senza poter però provvedere ad una completa protezione. Una piccola quantità di spore è in grado di sopravvivere all'esposizione al fluido seminale per più di 24 ore risultando ancora in grado di essere infettiva (B. Baer, J. Grassl, Y. Peng, A. Mitra, C. Browne, 2015, unpublished data). Queste spore che sopravvivono possono rappresentare ceppi dotati di qualche caratteristica di resistenza nei confronti dell'attività antimicrobica espressa dal fluido seminale. Verosimilmente a seconda della genetica dei fuchi si potranno manifestare differenti capacità antimicrobiche nell'eiaculato, ma questo aspetto necessita di ulteriori studi. (a parere del redattore è il caso di sottolineare il concetto di riduzione del pericolo di trasmissione - non si parla di eliminazione - e ci si dovrebbe anche chiedere quali condizioni dei fuchi ne consentano la massima espressione (ad esempio situazione alimentare) o al contrario ne diminuiscano l'efficacia (ad esempio coinfezioni) ndr). E' anche non poco interessante chiedersi in quale maniera il fluido seminale esercita la sua attività antimicrobica. L'analisi di diverse subfrazioni del fluido seminale ha potuto far concludere che alcune componenti uccidono le spore di *N. apis* spores in almeno due differenti modi. La frazione proteica del fluido seminale induce nelle spore rotture simili a quelle che avvengono nella germinazione mentre piccole molecole della parte non proteica del fluido uccidono le spore direttamente.

Secondariamente si è osservato che la risposta difensiva nei confronti di *N. apis* mostra un grado di specificità e nei fatti non sono state messe in evidenza capacità antimicrobiche del fluido seminale verso diversi altri organismi. Per cui rimane una certa suspense su quale sia l'efficacia del meccanismo nei confronti del *Nosema ceranae* che appunto risulta infettare le regine per via sessuale in maniera molto più marcata.

Curiosamente, un simile meccanismo nei confronti di *Nosema* sembra essere espresso anche da alcuni nettari, nei quali una parte proteica funge da agglutinante, mentre un'altra parte, proteica e

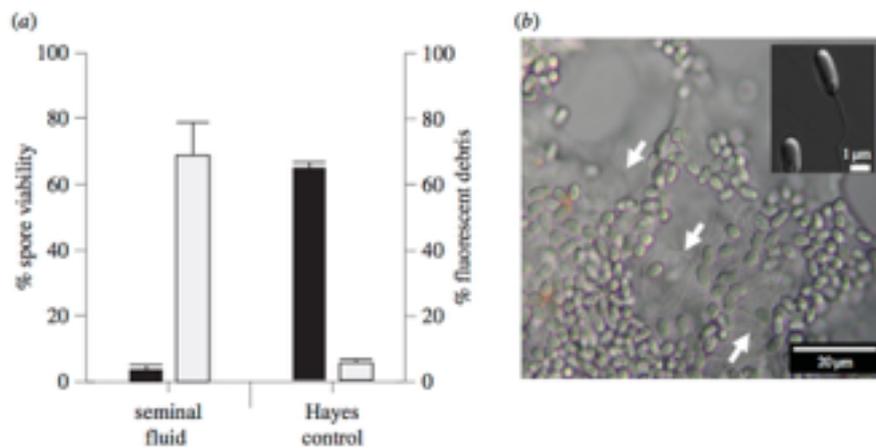


Figure 2. (a) The effect of seminal fluid and Hayes control solution on the viability of *N. apis* spores (black columns) and the fluorescent debris detected in samples by flow cytometry (grey columns). Germination resulted in the release of nuclear material from spores and consequently increased the amount of fluorescent debris detected by flow cytometry. (b) Differential Interference Contrast image of *N. apis* spores exposed to complete seminal fluid, showing the clumping of spores and filaments protruding from germinated spores (white arrows; see insert for a magnified view of a single germinated spore and its filament). Data are presented as means and standard errors of means. (Online version in colour.)

non, riesce in vari modi a “disinnescare” le spore.