

La defensa de las abejas frente a la enfermedad

F. Padilla Alvarez (1) (padilla@uco.es), J. M. Flores Serrano y F. Campano Cabanes.

Universidad de Córdoba. Departamento de Zoología. Campus Universitario de Rabanales. 14071 Córdoba.

Introducción

La gripe porcina o gripe del cerdo es una enfermedad infecciosa de plena actualidad. Aunque se sepa que la transmisión de un agente patógeno entre especies diferentes (en el presente caso el cerdo y el hombre) no es un proceso que ocurra muy a menudo, en este caso ha ocurrido. En medio de todo el revuelo mediático que se está produciendo es importante recordar que la gripe porcina no suele afectarnos, aunque estemos en contacto con animales enfermos.

Gracias a los medios de comunicación sabemos que actualmente se está propagando por todo el planeta un brote conocido como cepa H1N1, que está poniendo a prueba nuestros sistemas sanitarios.

Realmente desconocemos cual va a ser la evolución de este brote de gripe de origen porcino, su virulencia puede permanecer estable en el tiempo, puede disminuir o en el peor de los casos puede aumentar. Pero su actualidad la vamos a utilizar para hacer una revisión acerca de lo que sabemos sobre el sistema inmune de las abejas, y la forma en la que nuestros queridos insectos se enfrentan a los agentes patógenos y la enfermedad.

Una idea preliminar que tenemos que tener muy presente es la siguiente: todas las evidencias apoyan el hecho de que vivir en grupos incrementa el riesgo de transmisión de las enfermedades.

Para cualquier agente patógeno, ya sea un virus, bacteria, hongo, artrópodo, etc. un lugar físico en el que se concentren muchos miembros de una determinada especie es idóneo

para su transmisión. Por este motivo una colmena es el lugar ideal para la transmisión de cualquier agente patógeno que afecte a las abejas. También por este motivo cuando nuestra especie se enfrenta a una pandemia, la primera medida que tomamos es limitar en lo posible las actividades que concentren en un mismo lugar una gran cantidad de personas.

Los sistemas defensivos

La primera barrera defensiva que tiene que atravesar un agente patógeno para poder penetrar en el interior del cuerpo de una abeja es una barrera de tipo físico. Dependiendo de la vía de penetración que se considere, las barreras primarias que protegen al insecto son la cutícula que lo recubre externamente y las células epiteliales que recubren el tubo digestivo.

Diferentes agentes patógenos desarrollan diferentes estrategias para intentar pasar estas barreras y poder acceder al interior del cuerpo, que es donde se localizan los nutrientes que necesita el agente patógeno (ej. *Ascophæra apis* o *Varroa destructor*) para seguir vivo y completar su ciclo vital.

Una vía de entrada accidental que puede ser aprovechada por un agente patógeno es una herida. Casi todos hemos tenido la experiencia de una herida que se ha infectado y que nos ha ocasionado algún que otro problema.

Las heridas no son exclusivas de nuestra especie, todos los animales sufrimos heridas a lo largo de nuestra vida y obviamente las abejas también las sufren. Máxime cuando ellas viven en un espacio físico reducido en el que el con-

EL SISTEMA

INMUNE

tacto físico es muy frecuente. Este contacto continuado con otras abejas o con diferentes superficies, puede llegar a producir heridas por las que puede ingresar un patógeno (ej. una bacteria). Para taponar estas heridas los mamíferos contamos con un proceso de coagulación, mediante el cual la sangre pierde su liquidez tornándose primeramente en una especie de gel y finalmente haciéndose sólida. Este proceso se basa en el hecho de que una proteína soluble de la sangre (fibrinógeno) sufre un cambio químico y se convierte en insoluble (fibrina). En el caso de las abejas lo que ocurre es que se hace insoluble la hemolinfa.

En el interior del cuerpo de la mayoría de los animales existen sistemas circulatorios más o menos extensos por los que circulan líquidos y células. Si estos sistemas circulatorios pertenecen a animales invertebrados decimos que el líquido circulante se llama hemolinfa, si son vertebrados lo denominamos sangre. Por lo tanto sangre y hemolinfa son términos que podemos considerar como bastante sinónimos. Una aclaración: la descripción que hemos hecho de un sistema circulatorio es muy simple, la hemolinfa al igual que la sangre puede ser muy compleja en su composición y lo mismo ocurre en el caso de las células circulantes, que pueden ser de diferentes tipos. Por ejemplo, en nuestra especie tenemos glóbulos rojos o eritrocitos y una amplia variedad de glóbulos blancos: neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monocitos y linfocitos.

Una vez que un agente patógeno ha pasado esta primera barrera física queda expuesto al sistema inmune, que en el caso de las abejas recibe el nombre de sistema inmune innato.

Un sistema inmune de este tipo no cuenta con defensas específicas contra un determinado agente patógeno, sino que responde de forma más o menos genérica frente a un amplio abanico de posibles agentes. No pensemos que la ausencia de defensas específicas sea el origen de algún tipo de ineficacia, muy al contrario, el sistema inmune innato de las abejas funciona muy bien y las defiende de todos los agentes patógenos que puedan penetrar en el interior

del cuerpo de los animales.

Los vertebrados somos los únicos animales que contamos con un sistema inmune innato y un sistema inmune adaptativo. El sistema inmune adaptativo nos permite ampliar la respuesta inmunitaria, así como desarrollar una memoria inmunológica donde cada patógeno es recordado por un tipo de antígeno propio y característico. Las vacunas que nosotros utilizamos se basan en las propiedades del sistema inmune adaptativo y nos protegen durante nuestra vida de determinadas enfermedades (ej. viruela, difteria, tos ferina o gripe porcina H1N1).

Estrategias para combatir la enfermedad

Las colonias de insectos sociales suelen estar formadas por miles de individuos que interactúan en un pequeño espacio físico, donde además suele haber una gran cantidad de recursos alimenticios almacenados. Estos hechos hacen que estos animales y estos lugares (los nidos o colmenas) sean muy atractivos para cualquier agente patógeno.

Para combatir la enfermedad, en el caso de los insectos sociales, tenemos que tener en cuenta tanto estrategias individuales como colectivas. Las de tipo individual se basan en la mayoría de los casos en la respuesta inmune que desencadena el sistema inmune de cada animal, cuando detecta el ataque de un determinado agente patógeno. Las colectivas se fundamentan en diferentes comportamientos que de una u otra forma pueden proteger a los animales de los patógenos.

En un primer momento nos puede parecer curioso que un determinado comportamiento, que vamos a denominar comportamiento anti-séptico, defiende a una colectividad de la acción de un patógeno. Pero en las sociedades de insectos esto resulta bastante normal y un ejemplo nos puede ayudar a entender esta cuestión. Todos sabemos que la ascoferiosis (pollo escayolado o cría yesificada) está produ-



cida por un hongo y que la ingestión de las esporas por las larvas de abeja bajo determinadas condiciones ambientales, produce la aparición en una colmena de cría afectada por la enfermedad.

El comportamiento higiénico es básicamente una actividad de limpieza y lo desarrollan las obreras de todas las colmenas. Hay colonias en las que las abejas, que vamos a denominar "higiénicas", identifican y extraen las larvas afectadas por ascoferiosis en fases muy tempranas de la enfermedad, impidiendo que el hongo (*Ascophaera apis*) finalice su ciclo y se formen las esporas, que son las responsables de la transmisión de esta enfermedad. En las colmenas con abejas "poco higiénicas" la cría afectada por ascoferiosis se retira muy tardíamente, cuando el hongo ha terminado su ciclo y la cría afectada es una auténtica fuente de esporas.

Resumiendo, un comportamiento de limpieza (comportamiento higiénico) protege a la colonia y combate la transmisión de una enferme-

dad. ¿Interesante, no?

La respuesta inmune: Inmunidad humoral e inmunidad celular

La división del sistema inmune de los insectos en humoral y celular la podemos considerar como clásica. Los humores son líquidos y obviamente la hemolinfa es un líquido que funciona como un sistema de transporte de diferentes compuestos (moléculas), en el que también podemos encontrar varios tipos celulares que se denominan hemocitos.

También la división de este sistema defensivo en humoral y celular es algo arbitraria. Actualmente sabemos que hay factores humorales (moléculas) que afectan a los hemocitos y células sanguíneas que son fuente de moléculas humorales.

La base del sistema inmune de las abejas se encuentra en la información almacenada en los genes, por lo tanto para comenzar a hablar

de este tema tenemos que ir a un nivel genómico y estudiar diferentes genes para conocer como se expresan.

Vamos a establecer un punto de partida. Todos los investigadores admiten que la diversidad genética contribuye a mejorar la resistencia a los parásitos y este sería uno de los objetivos que persiguen las reinas cuando en los vuelos nupciales se aparean con un gran número de zánganos. Por lo tanto, cuanto mayor sea el número de genes implicados en la respuesta inmune, mayor será el abanico de opciones disponibles para frenar el ataque de un determinado patógeno.

Curiosamente cuando se compara el número de genes del genoma de las abejas implicados en la respuesta inmune, con el que tienen otros insectos (ej. mosca de la fruta, gusano de seda o el mosquito *Anopheles gambiae*), resulta que las abejas son las que cuentan con un número menor de genes.

Aunque las abejas tengan un menor número de genes implicados en la inmunidad, las vías mediante las que se produce la respuesta inmune son comunes con las de otros insectos. De lo expuesto podemos concluir que las abejas cuentan con las mismas vías inmunes innatas que tienen otros insectos (Toll, Imd, JAK/STAT y JNK), pero con una aparente menor diversidad genética.

En la hemolinfa de las abejas viajan diferentes moléculas y compuestos que pueden atacar a los agentes patógenos y que reciben el nombre de respuesta humoral. Dicha respuesta humoral está formada por los siguientes sistemas: (1) péptidos y proteínas antimicrobiales, (2) sistema de la fenoloxidasa, (3) cascadas enzimáticas que regulan la melanización y coagulación de la hemolinfa y (4) producción de reactivos intermedios de oxígeno y nitrógeno.

Antes de continuar tenemos que manifestar que aunque poseamos bastante información de algunas de las vías que participan en la respuesta inmune, desgraciadamente desconocemos bastantes cosas de otras, y donde encontramos un mayor desconocimiento es en la respuesta de tipo humoral.

Los péptidos y proteínas antimicrobiales se producen en el cuerpo graso y en los hemocitos, en respuesta al reconocimiento de un amplio rango de microbios. En diferentes especies de insectos se han identificado hasta el momento unas 170 proteínas diferentes que participan en procesos inmunes de este tipo.

Una de las vías de respuesta inmune humoral más importantes es el sistema de la fenoloxidasa (PO). En la hemolinfa de las abejas siempre está presente el precursor inactivo de esta vía (profenoloxidasa, proPO) que se transfor-





ma en fenoloxidasa, una enzima que oxida derivados de la tirosina produciendo en un primer momento quinonas (que son compuestos tóxicos para bacterias, hongos y protozoos) y siguiendo la cadena de reacciones finalmente este sistema enzimático cataliza la polimerización de quinonas en melanina. Esta melanina será utilizada en los procesos de respuesta inmune celular que veremos a continuación.

Sabemos que en las abejas los genes proPO se expresan más acusadamente en adultos y pupas de mayor edad, que en pupas jóvenes o larvas. También se ha descubierto que los niveles del péptido antimicrobiano "hymenoptaecin" son mayores en los adultos que en las larvas. En relación a otro péptido denominado "defensina" que también participa en la respuesta inmune, sabemos que su nivel en hemolinfa es mayor en las reinas que en las obreras. Por lo tanto el sistema inmune innato de las abejas sufre cambios a lo largo de las diferentes fases vitales por las que pasan estos insectos.

Para comenzar a hablar sobre la inmunidad celular tenemos que saber que tipos celulares podemos encontrar en la hemolinfa de los insectos. De forma genérica todas las células sanguíneas se denominan hemocitos, pero usando criterios morfológicos, histoquímicos o funcionales hemos identificado diferentes tipos. Los más comunes en los insectos son: prohemocitos, granulocitos o células granulares, plasmacitos, esferulocitos y oenocitoides. Dentro de esta variedad los tres tipos que se han encontrado en todos los insectos estudiados son: prohemocitos, granulocitos y plasmacitos.

Los prohemocitos son las células raíz o madre de todos los demás tipos y se pueden diferenciar en cualquiera de ellos. Probablemente los granulocitos son los primeros hemocitos en reconocer cuerpos extraños, su función es la de liberar factores quimiotácticos para atraer a los plasmacitos, además participan en los procesos de coagulación de la hemolinfa y en dos procesos inmunes que describiremos a continuación: la nodulación y la encapsulación. Los plasmacitos fagocitan pequeñas células (agentes patógenos) y su función es similar a los macrófagos de nuestra sangre. También los plasmacitos cuando el patógeno es muy grande para ser fagocitado (ej. un nematodo) lo marcan para que pueda ser encapsulado o nodulado.

La fagocitosis es uno de los mecanismos defensivos más extendidos en el Reino Animal. Básicamente consiste en el hecho de que una célula individual cuando reconoce un patógeno (ej. una bacteria) emite unas prolongaciones citoplasmáticas que lo engloban. Una



Cuadro de cría-

vez que la partícula está en el interior de la célula se forma una vacuola con la que se fusionan lisosomas, que son una especie de vesículas repletas de enzimas que van a degradar el agente fagocitado.

La encapsulación se produce cuando los plasmotocitos reconocen un cuerpo extraño de cierto tamaño, a continuación se van diferenciando en unas células aplanadas que reciben el nombre de lamelocitos. Estas células se unen al cuerpo extraño desactivándolo mediante quinonas (ver sistema de la fenoloxidasa) y rodeándolo de una capa de melanina. La nodulación es un proceso de agregación de células alrededor de un cuerpo extraño que es demasiado grande para ser fagocitado o encapsulado. Este cuerpo extraño será finalmente aislado o también puede ser excretado. Probablemente la encapsulación y la nodulación sean básicamente el mismo proceso, lo que ocurre es que se aplican a patógenos de diferente tamaño.

De lo expuesto podemos concluir que el sistema inmune innato de las abejas incluye un amplio abanico de procesos con un único objetivo final: destruir o neutralizar un agente patógeno que se ha introducido en el cuerpo del insecto.

Pero todo sistema tiene un coste energético y cuanto más complejo sea mayor será este coste. Todos los procesos fisiológicos de los animales tienen un coste y un beneficio, y hay que buscar siempre el mejor punto de equilibrio. En el caso del sistema inmune fabricar un amplio abanico de compuestos o mantener activas una amplia diversidad de rutas metabólicas, puede ser una estrategia que lleve al fracaso, no por el nivel de protección que ofrece, que es máximo, sino debido a su coste energético. Un ejemplo, supongamos que nosotros ante el menor arañazo o el más leve síntoma de enfermedad, rápidamente acudiésemos a un Hospital para que nos realizasen un estudio completo. Las autoridades sanitarias

tendrían en ese caso que dedicar muchos de los recursos disponibles a esta atención hospitalaria, ¿de dónde saldrían esos recursos?, pues la contestación es sencilla: de otras ramas de la atención sanitaria.

Salvando las distancias y tomando exclusivamente la idea central del ejemplo anterior, cuando nuestro sistema inmune usa muchos recursos energéticos en preparar una amplia respuesta inmune y la misma no se utiliza o se usa poco (porque los patógenos son escasos o no traspasan las barreras físicas), podemos tener como resultado final un derroche de

medios. Además parece estar bastante claro que siempre que empleemos muchos recursos en un determinado proceso fisiológico, vamos a tener una carencia de recursos para otros procesos. Resumiendo, es necesario encontrar un punto de equilibrio.

Finalmente vamos a recordar que en la exposición inicial de este apartado hemos comentado que aunque las abejas cuentan con las mismas vías inmunes que tienen otros insectos, estas parecen tener una menor diversidad genética. ¿Podría el comportamiento social o las defensas colectivas o sociales, suplir esta



aparente falta de diversidad genética del sistema inmune innato?

Defensas de comportamiento o sociales

En este apartado vamos a incluir todos los comportamientos individuales o colectivos así como las actividades sociales que van a permitir luchar contra la enfermedad o un posible agente patógeno. ¿De qué estamos hablando específicamente?, pues realmente de procedimientos bastante conocidos como: "grooming" o comportamiento de desparasitación (también conocido como despiojado o acicalamiento), comportamiento higiénico, uso en el nido de materiales antimicrobianos (propóleos), retirada de adultos muertos y un comportamiento bastante desconocido, la "fiebre social".

Antes de describir algunos de estos sistemas defensivos, es importante conocer que en varios estudios realizados se ha comprobado que en las cutículas de abejas pertenecientes a especies sociales como es *Apis mellifera*, hay un mayor número de componentes antimicrobianos que en las cutículas de abejas de especies subsociales. Este hecho ayudaría a las abejas a disminuir el riesgo de transmisión de patógenos en la colonia, donde además los individuos están altamente emparentados.

El comportamiento de desparasitación o "grooming" consiste en la retirada de objetos o patógenos de sí mismo o de un compañero. En las abejas se manifiesta en la práctica de dos formas diferentes: a) Auto-grooming o comportamiento de auto-limpieza que incluye todas las actividades que realiza una abeja sobre sí misma, es decir, el cepillado de su propia cabeza, de su tórax y de su abdomen, con

ayuda de su primer y tercer par de patas. b) Allo-grooming o acicalamiento social, que consiste en la limpieza de una abeja por una compañera.

El comportamiento de desparasitación es importante no solo por los beneficios que supone la limpieza corporal para el control de patógenos que se pueden adherir a la cutícula, sino porque además puede ser utilizado para luchar contra varroa.

El comportamiento higiénico se define como la capacidad para detectar y extraer cría enferma o parasitada de las colmenas, y lo podemos considerar como un sistema de defensa contra *Varroa destructor*. Sabemos que todas las obreras de una colonia desarrollan este comportamiento, pero para combatir a los agentes patógenos lo importante es que la retirada de la cría afectada sea lo más rápida posible.

Conocemos que las abejas que podemos considerar como "muy higiénicas" son más sensibles que sus compañeras "poco higiénicas" al olor que emiten las larvas enfermas o parasitadas. Por este motivo las abejas "muy higiénicas" inician antes su retirada. También sabemos que las obreras que realizan este comportamiento no son las nodrizas, sino obreras de mayor edad ($15,7 \pm 6,9$ días de edad). Obviamente este hecho ofrece una ventaja añadida, la división del trabajo en edades permite que las obreras nodrizas, que son las que están en permanente contacto con las larvas, no sean las que retiren los animales enfermos. Finalmente vamos a describir uno de los comportamientos más desconocidos y que ha recibido el nombre de "fiebre social" o "fiebre del cuadro de cría". Starks y cols. (2000) infestaron colonias de abejas con *Ascophæra apis* el agente productor de la ascoferiosis y midieron la evolución de la temperatura en los cuadros con cría en desarrollo. Encontraron que des-



Apícola
Los Ribes, S.L.

Fabricación, elaboración y comercialización de:

- * CERA Y LÁMINAS
- * VELAS DE CERA ANIMADAS
- * MIEL Y POLEN
- * JALEA REAL Y PROPÓLEO
- * EQUIPAMIENTO PARA EL APICULTOR
- * CÔLMENAS, ENJAMBRES Y ALIMENTACIÓN PARA SUS ABEJAS
- * COSMÉTICA

FRITZ: Representación. Tecnología alemana * SWIENTY: Inseminadoras. Tecnología danesa * Aidalic Collectors

Blasco Ibáñez, 24 . 46193 MONTROY (Valencia)
Telf.: 96 255 54 30 . Fax: 96 255 61 57 . E-mail: apicolaribes@infomail.lacaixa.es

CERAS DE ABEJA



Prensado de ceras
Venta de láminas al por mayor
Estampación en todas las medidas
Cera de 1ª calidad - Compra de cerón

49594 SAGALLOS - Zamora
Telf. 980 625625 - Móvil: 606 373810

JESÚS ROMERO LÓPEZ

JESÚS ROMERO LÓPEZ

pués de la inoculación del agente patógeno la temperatura de estos cuadros era elevada por las abejas. Realmente el factor desencadenante de la enfermedad es una bajada de la temperatura de la cría, y la subida de la temperatura en los cuadros de cría después de la inoculación de las esporas, sería una especie de tratamiento preventivo para evitar el enfriamiento ¿interesante, no? La pregunta que queda por responder es: ¿quién detecta el agente patógeno y desencadena el comportamiento?, ¿las obreras o la cría en desarrollo?

Agradecimientos

Queremos agradecer la colaboración que recibimos tanto del INIA (Proyecto API-06-010) y, sobre todo, de los apicultores.

Bibliografía.

- Evans J. D., J. S. Pettis (2005). Colony-level impacts of immune responsiveness in honey bees, *Apis mellifera*. *Evolution* 59: 2270-2274.
- Evans J. D., K. Aronstein, Y. P. Chen, C. Hetru, J. L. Imler, H. Jiang, M. Kanost, G. J. Thompson, Z. Zou, D. Hultmark (2006). Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology* 15: 645-656.
- Fefferman N. H., J. F. A. Traniello, R. B. Rosengaus, D. V. Calleri (2007). Disease prevention and resistance in social insects: modeling the survival consequences of immunity,

hygienic behavior and colony organization. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61: 565-577.

- Lavine M. D., M. R. Strand (2002). Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 32: 1295-1309
- Lohle C. (1995). Social barriers to pathogen transmission in wild animal populations. *Ecology* 76: 326-335.
- Orantes Bermejo F. J. (1999). Mecanismos de defensa en la hemolinfa de la abeja melífera. *Vida Apícola* 96: 27-28.
- Rosengaus R. B., J. F. A. Traniello, T. Chen, J. J. Brown, R. D. Karp (1999). Immunity in a social insect. *Naturwissenschaften* 86: 588-591.
- Starks P. T., C. A. Blackie, T. D. Seeley (2000). Fever in honeybee colonies. *Naturwissenschaften* 87: 229-231.
- Traniello J. F. A., R. B. Rosengaus, K. Savoie (1998). The development of immunity in a social insect: Evidence for the group facilitation of disease resistance. *PNAS* 99: 6839-6842.
- Wilson-Rich N., S. T. Dres, P. T. Starks (2008). The ontogeny of immunity: Development of innate immune strength in the honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Physiology* 54: 1392-1399.
- Wilson-Rich N., M. Spivak, N. H. Fefferman, P. T. Starks (2009). Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. *Annual Review of Entomology* 54: 405-423. ●



Glosario de términos.

- Agente patógeno: Organismo capaz de producir una enfermedad.
- Antígeno: Cualquier sustancia capaz de unirse a un agente patógeno.
- Enfermedad infecciosa: Enfermedad resultado de la presencia o actividad de un agente microbiano.
- Microbio: Ser vivo microscópico.
- Microorganismo: Término que incluye a cualquier ser vivo microscópico como virus, bacterias, protozoos u hongos microscópicos.
- Gen: Unidad básica de la herencia, por la que los caracteres hereditarios se transmiten de padres a hijos.
- Genoma: La totalidad de genes de un organismo.
- Inmunidad: Capacidad de resistir una enfermedad.
- Respuesta inmune: Respuesta del sistema inmune frente a un antígeno.
- Sistema inmune: Células y tejidos que desarrollan una respuesta frente a un microorganismo invasor.