

**UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI DIN CLUJ-NAPOCA**

**Facultatea de Biologie și Geologie**

**Școala Doctorală Biologie Integrativă**

**TEZĂ DE DOCTORAT**

**Rezumat**

**Răspunsurile de apărare imună declanșate de un  
parazit fungic neletal la *Myrmica scabrinodis*  
(Hymenoptera: Formicidae)**

**Conducător de doctorat:**

**Prof. univ. dr. Bálint Markó**

**Student doctorand:**

**Kincsó Orbán-Bakk**

**Cluj-Napoca**

**2024**

## Cuprins

<b>I. Introducere</b> .....	<b>2</b>
1.1. Obiectivele studiului .....	3
<b>II. Materiale și metode</b> .....	<b>4</b>
2.1. Speciile studiate .....	4
2.1.1. Ciuperca ectoparazită <i>Rickia wasmannii</i> Cavara, 1899 .....	4
2.1.2. Furnica gazdă, <i>Myrmica scabrinodis</i> .....	4
<b>III. Rezultate</b> .....	<b>5</b>
3.1. Analiza filogenetică ale proteinelor implicate în căile de semnalizare a încapsulării la furnici .....	5
3.2. Sub presiune: efectul infecției cu o ciupercă pe termen lung asupra răspunsului de încapsulare la furnici .....	6
3.3. Infecția cu o ciupercă parazită neletală este asociată cu o investiție imunitară crescută la furnica <i>scabrinodis</i> .....	7
3.4. Răspunsul imunitar variază între membrii unei societăți de furnici infectate cu o ciupercă .....	9
<b>IV. Discuție</b> .....	<b>11</b>
<b>Referințe</b> .....	<b>12</b>
<b>Lista publicațiilor științifice</b> .....	<b>16</b>

**Cuvinte cheie:** *imunitate, Rickia wasmannii, Myrmica scabrinodis, sistem social, gene imune, melanizare, infecție fungică, răspuns imun*

## **I. Introducere**

Organismele multicelulare sunt expuse în continuu la diferiți agenți patogeni, de exemplu, virusuri, bacterii și ciuperci, care pot afecta gazda, cauzând schimbări comportamentale, morfologice și funcționale, sau chiar pot duce la moarte (Schmid-Hempel, 1998; Verble et al., 2012; Csata et al., 2014; Hughes et al., 2016; Csata et al., 2017a; Csata et al., 2017b; Csata et al., 2018; Csósz et al., 2021). Relația gazdă-parazit se bazează pe o conexiune puternică. Pentru a avea succes, parazitul trebuie să se adapteze la corpul gazdei, evoluând astfel o coevoluție între speciile de gazdă și parazit (Van Valen, 1973).

Insectele au evoluat un sistem imunitar complex și eficient (Hoffmann, 1995), care diferă de sistemul imunitar al vertebratelor. La insecte, barierele fizice, precum și răspunsurile imunitare celulare și umorale fac parte din sistemul imunitar înăscut (Rosales, 2017). Mecanismele lor de apărare imunitară implică hemocitele, intestinul mediu, glandele salivare, corpul gras și alte țesuturi (Hillyer, 2016). Cuticula, ca barieră fizică, joacă un rol foarte important în mecanismele de apărare ale insectelor. Alte bariere fizice pot fi membrana pleiotropică a intestinului mediu sau cuticulele traheale de chitină. Totuși, dacă agenții patogeni trec de aceste bariere, reacțiile imunitare înăscute, cum ar fi răspunsurile imunitare celulare și umorale, sunt activate (Hauling, 2012).

Încapsularea, nodularea, melanizarea, fagocitoza și coagularea fac parte din răspunsurile imunitare celulare (Rolff și Reynolds, 2009). În timpul răspunsului imunitar umoral, proteinele de recunoaștere a structurilor patogene joacă un rol important în recunoașterea agenților patogeni (de exemplu, proteina de recunoaștere a peptidoglicanului PGRP, proteina de recunoaștere a  $\beta$ -glucanului). În plus, utilizarea unor căi de semnalizare (Toll, Imd, JNK, JAK/STAT) stimulează sinteza peptidelor antifungice și/sau antibacteriene în corpul gras, iar aceste peptide vor fi emise în hemolimfă. Calea Toll joacă un rol în recunoașterea bacteriilor Gram-pozitive, a factorilor de virulență și a fungilor. Calea Imd este implicată în recunoașterea bacteriilor Gram-negative și a DAMP-urilor (Patternuri Moleculare Asociate cu Deteriorarea). Calea Jak/Stat este activată de stres/lezare (Broderick et al., 2009; Dubovskiy et al., 2016), iar calea JNK se activează în principal împotriva bacteriilor Gram-negative (Libert et al., 2008). Răspunsurile imunitare umorale conțin câteva cascade enzimatice care reglează melanizarea și coagularea hemolimfei, precum și producția de ROS (specii

reactive de oxigen) și RNS (specii reactive de azot) (Marmaras și Lampropoulou, 2009). În concluzie, lupta împotriva agenților patogeni implică o reacție în lanț de procese complexe, iar răspunsurile imunitare celulare și umorale sunt strâns corelate.

Imunitatea socială înseamnă apărarea colectivă a grupului, care apare prin interacțiunea dintre indivizii constitutivi, împotriva bolilor și paraziților. Este în esență diferită de reacțiile imunitare individuale.

Insectele sociale au evoluat răspunsuri imunitare colective care îmbunătățesc rezistența generală a coloniei împotriva bolilor, deoarece trăirea în grup poate facilita răspândirea infecțiilor între membrii grupului (Cremer et al., 2007; Stroeymeyt et al., 2018). Când un individ este expus la un agent patogen, se declanșează un răspuns imunitar care poate fi transmis altor membri ai coloniei prin contact fizic sau prin folosirea resurselor comune. Această facilitare imunitară colectivă ajută la activarea sistemului imunitar al altor indivizi, făcându-i mai rezistenți la agenți patogeni similari (Konrad et al., 2012). În unele cazuri, insectele sociale își pot modifica și comportamentul pentru a reduce riscul de transmitere a bolilor (Cremer et al., 2007; Stroeymeyt et al., 2018).

Insectele sociale, cum ar fi furnicile, sunt organisme gazdă preferate pentru mai multe ciuperci parazitare. Acestea includ atât paraziți generalisti, cât și specialiști, manipulatori comportamentali și neutri (care nu manipulează comportamentul gazdei), ectoparaziți și endoparaziți. Majoritatea ciupercilor entomopatogene sunt considerate letale pentru furnici.

Accentul predominant al cercetării științifice actuale se concentrează pe patogenul letal menționat anterior. Ceea ce deosebește ciuperca ectoparazită *Rickia wasmannii* este caracteristica sa intrigantă de a nu cauza moartea gazdei sale, spre deosebire de alți paraziți care distrug rapid organismul gazdei. Cunoștințele noastre despre coexistența prelungită a unui patogen neletal cu gazda sa, impactul său asupra organismului gazdei și implicațiile sociale ale acestei coexistențe pe termen lung sunt limitate. Astfel, ciuperca ectoparazită *R. wasmannii* este deosebită prin faptul că este recunoscută pentru inducerea de schimbări atât la nivel individual, cât și social pe termen lung. Obiectivul principal al tezei este *Rickia* și efectele sale la nivel individual.

## 1.1. Obiectivele studiului

- Trecerea la un stil de viață social conduce la schimbări evolutive în sistemul imunitar. Furnicile, fiind eusociale (Ward, 2006), sunt ideale pentru acest studiu. Am analizat proteinele din căile de semnalizare Toll și Jak/Stat în furnici și alte insecte pentru a

vedea dacă evoluția proteinelor de răspuns imunitar poate fi legată de stilul de viață social.

- Expunerea pe termen lung la infecții poate exercita o presiune serioasă asupra sistemului imunitar al gazdei și poate afecta răspunsul său la noi paraziți. Există informații limitate despre modul în care ciuperca *R. wasmannii* afectează sistemele imunitare ale furnicilor. Ne-am propus să determinăm puterea de apărare a speciei de furnică *Myrmica scabrinodis* prin teste standard de imunocompetență: eficiența de încapsulare la lucrători tineri și bătrâni, infectați și neinfecțați, completate de alte măsurători cum ar fi cuantificarea corpului gras, morfometria și evaluarea intensității infecției.
- Investiția imunitară depinde de vârsta individului și de presiunea patogenă și poate fi dezvăluită prin identificarea nivelului anumitor proteine implicate în căile imunitare. Am studiat imunocompetența furnicilor lucrătoare *M. scabrinodis* de diferite stări de sănătate și vârste măsurând nivelurile de fenoxidază activă (PO) și totală (PPO) (reflectând cantitatea de forme active și inactivate ale enzimei).
- Pentru a examina cum infecția fungică poate influența sistemul imunitar la nivel molecular, am investigat modul în care diferite categorii dintr-o colonie (regine, lucrători, larve) răspund la amenințarea fungică. Activitatea genelor imune a fost măsurată, concentrându-ne pe genele *defenzină 1* și *prophenoxidază*.

## II. Materiale și metode

### 2.1. Speciile studiate

#### 2.1.1. Ciuperca ectoparazită *Rickia wasmannii* Cavara, 1899

Laboulbeniales (Ascomycota: Laboulbeniomycetes) sunt paraziți biotrofici fungali, care se atașează la suprafața gazdei lor (Haelewaters, 2012). Parazitul afectează negativ durata de viață a indivizilor infectați (Csata et al., 2014). Indivizii infectați au un consum mai mare de apă (Báthori et al., 2015), grosime redusă a cuticulei (Csata et al., 2018) și dimensiuni corporale mai mici (Csósz et al., 2021). De asemenea, ciuperca a cauzat schimbări comportamentale la furnicile infectate, crescând autoîngrijirea (Csata et al., 2014; Báthori et al., 2015; Báthori et al., 2017). Indivizii infectați au avut profiluri alterate ale hidrocarburilor cuticulare (Csata et al., 2017a) și au fost mai predispuși să accepte lucrători și regine străine (Csata et al., 2017a, Csata et al., 2023).

#### 2.1.2. Furnica gazdă, *Myrmica scabrinodis*

*M. scabrinodis* este o specie euro-siberiană, întâlnită în diverse habitate, în special în zone umede din pajiști, dar și în păduri și păduri deschise. Acestea sunt specii tolerante și evită doar locurile uscate. În terenurile noastre studiate, *M. scabrinodis* este gazda cea mai comună pentru ciuperca ectoparazită *R. wasmannii* (Csata et al., 2013; Witek et al., 2014).

### III. Rezultate

#### 3.1. Analiza filogenetică ale proteinelor implicate în căile de semnalizare a încapsulării la furnici<sup>1</sup>

Am studiat filogenia proteinelor implicate în răspunsurile imunitare la furnici. Am identificat mai multe secvențe homologe dintr-un număr mare de specii în grupurile de insecte studiate (Tabelul 1). Alinierile generate de programul T-coffee au obținut cele mai bune scoruri, prin urmare le-am utilizat pentru a genera arbori filogenetici.

**Table 1.** Numărul de secvențe homologe de proteine identificate în cinci familii de insecte sociale (Termitidae, Apidae, Halictidae, Formicidae, Vespidae) și în trei familii de insecte solitare (Megachilidae, Braconidae, Drosophilidae).

Protein	Function	Insect families							
		Termitidae	Apidae	Megachilidae	Halictidae	Formicidae	Vespidae	Braconidae	Drosophilidae
<b>Toll signaling pathways</b>									
PGRP		2	28	2	1	30	2	3	5
GGBP1	Recognition	13	15	2	1	19	2	3	5
GGBP3		15	13	2	1	21	2	3	5
ModSP		2	5	2	1	13	2	3	5
Spz		2	11	2	1	20	2	3	5
Toll	Signalling	2	11	2	1	22	2	3	5
Myd88		2	11	2	1	22	2	3	5
Tube		2	10	2	1	21	2	3	5
Pelle		2	11	2	1	22	2	3	5
Cactus		2	12	2	1	20	2	3	5
Dorsal	Transcription factor	2	10	2	1	22	2	3	5
Def	Antimicrobial response	1	23	2	1	38	2	4	5
<b>Jak/Stat signaling pathway</b>									
Cytokine	Recognition	2	11	2	1	22	2	3	5
Jak	Signalling	2	10	2	1	22	2	3	5
Stat	Transcription factor	2	10	2	1	20	2	3	5

#### Calea de semnalizare Toll

Am reconstruit arborii filogenetici pentru cele 11 proteine implicate în calea de semnalizare Toll. Familii diferite de insecte s-au grupat separat în clade bine definite în majoritatea arborilor filogenetici (procent de bootstrap între 70-99%).

<sup>1</sup> Published: **Orbán-Bakk K.**, Csata E, Markó B, Kósa F. 2023. Phylogenetic analyses of the proteins involved in encapsulation signaling pathways in ants. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Biologia* **68**(1):67–101.

În cazul proteinelor *Pelle* și *Dorsal*, structura arborelui filogenetic a urmat filogenia generală a insectelor cu Hymenoptera grupându-se separat. Diferiții membri ai ordinului au aparținut unei clade bine susținute, în timp ce speciile celorlalte două ordine (Blattodea, Diptera) au format grupuri externe în arborii filogenetici.

Celelalte proteine din calea de semnalizare Toll (*PGRP*, *GNBP1*, *GNBP3*, *ModSP*, *Spz*, *Toll*, *Myd88*, *Tube*, *Cactus*) nu au urmat filogenia clasică a insectelor, nici nu au reflectat diferențele în stilul de viață social.

Furnicile au format o singură clada bine susținută în cazul proteinelor *ModSP*, *Toll*, *Myd88*, *Tube* și *Dorsal*, în timp ce în cazul *PGRP*, *GNBP1*, *GNBP3*, *Spz*, *Pelle* și *Cactus* nu s-au grupat împreună. Arborii filogenetici ai proteinelor de recunoaștere cum ar fi *PGRP*, *GNBP1* și *GNBP3* au fost în mod special diversi.

### Calea de semnalizare Jak/Stat

În majoritatea arborilor filogenetici, diferitele familii de insecte s-au grupat în clade separate bine definite.

În cazul proteinelor de recunoaștere, cum ar fi receptorul de *citokină*, am constatat că structura arborelui filogenetic a urmat filogenia generală a insectelor, existând o clada bine susținută a diferitelor specii de Hymenoptera sociale și solitare, cu două grupuri externe reprezentate de Blattodea și Diptera. Arborii filogenetici ai moleculei semnalizatoare *Jak* și factorului de transcripție *Stat* nu au prezentat aceeași structură și nu au reflectat nici diferențele în ceea ce privește stilul de viață.

În concluzie, furnicile nu s-au grupat într-o singură clada bine susținută în niciuna dintre proteinele studiate.

## **3.2. Sub presiune: efectul infecției cu o ciupercă pe termen lung asupra răspunsului de încapsulare la furnici<sup>2</sup>**

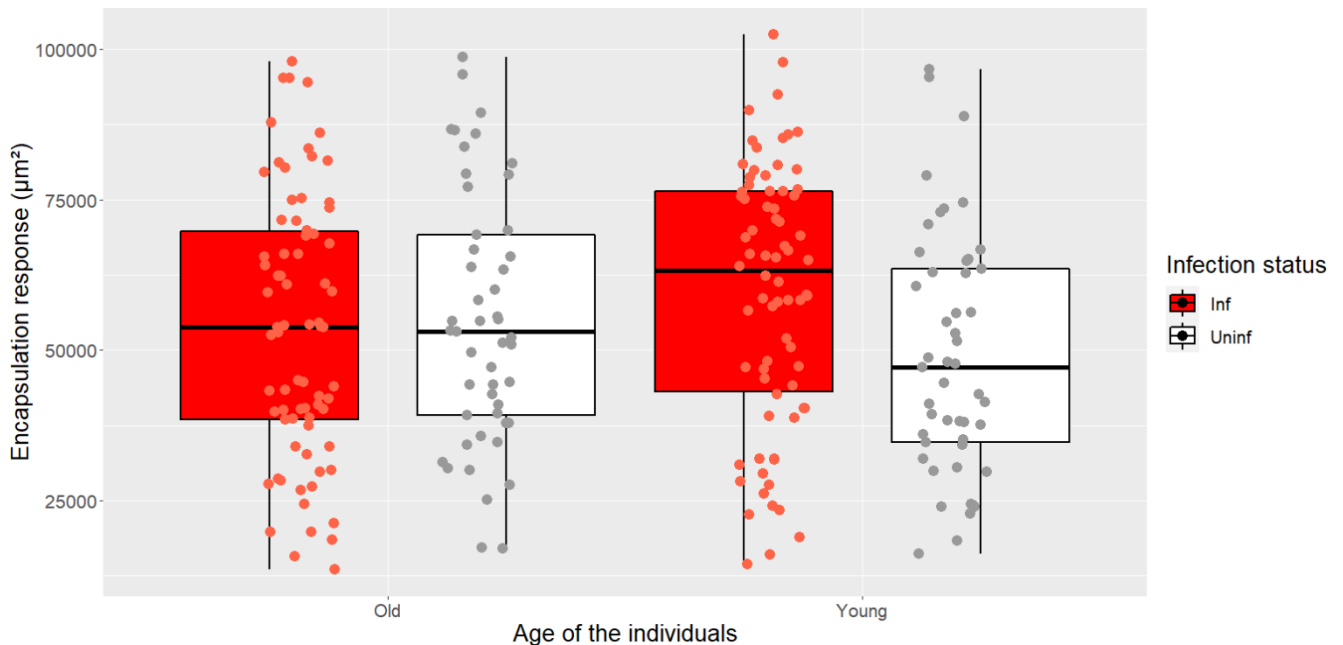
Am examinat competența imunitară a lucrătorilor *M. scabrinodis* din diferite categorii de vârstă, provenind fie din colonii infectate, fie din colonii neinfectate, folosind teste de încapsulare.

Modelul mediu a inclus 15 modele individuale, luând în considerare toți factorii și variabilele. Nivelul răspunsului de încapsulare (aria acoperită de hemocite) a depins de

---

<sup>2</sup> Published: **Orbán-Bakk K**, Marczin MJ, Gál L, Heinze J, Csata E, Markó B. 2022, Under pressure: the effect of long-term fungal infection on the encapsulation response in ants. *Insectes Sociaux* 69(4):361–367. <https://doi.org/10.1007/s00040-022-00879-z>

caracteristicile morfologice ale indivizilor: indivizii mai mici (cu capete mai mici) au avut un răspuns de încapsulare mai puternic decât cei mai mari ( $z = 2,42, p = 0,015$ ). Nici conținutul de grăsime ( $z = 0,39, p = 0,69$ ), nici vârsta ( $z = 0,39, p = 0,69$ ), starea de infecție ( $z = 0,78, p = 0,43$ ), nici intensitatea infecției ( $z = 0,43, p = 0,66$ ) nu au avut un efect semnificativ asupra răspunsului de încapsulare, dar interacțiunea între starea de infecție a coloniilor și vârsta lucrătorilor a prezentat un efect semnificativ ( $z = 2,09, p = 0,036$ ) (Fig. 1). Indivizii tineri din coloniile infectate au avut un răspuns de încapsulare semnificativ mai puternic decât lucrătorii tineri neinfecțati (Fig. 1).



**Figure 1.** Răspunsul de încapsulare al lucrătorilor de furnici din diferite categorii de vârstă din coloniile infectate și neinfecțate de *M. scabrinodis*.

### 3.3. Infecția cu o ciupercă parazită neletală este asociată cu o investiție imunitară crescută la furnica *Myrmica scabrinodis*<sup>3</sup>

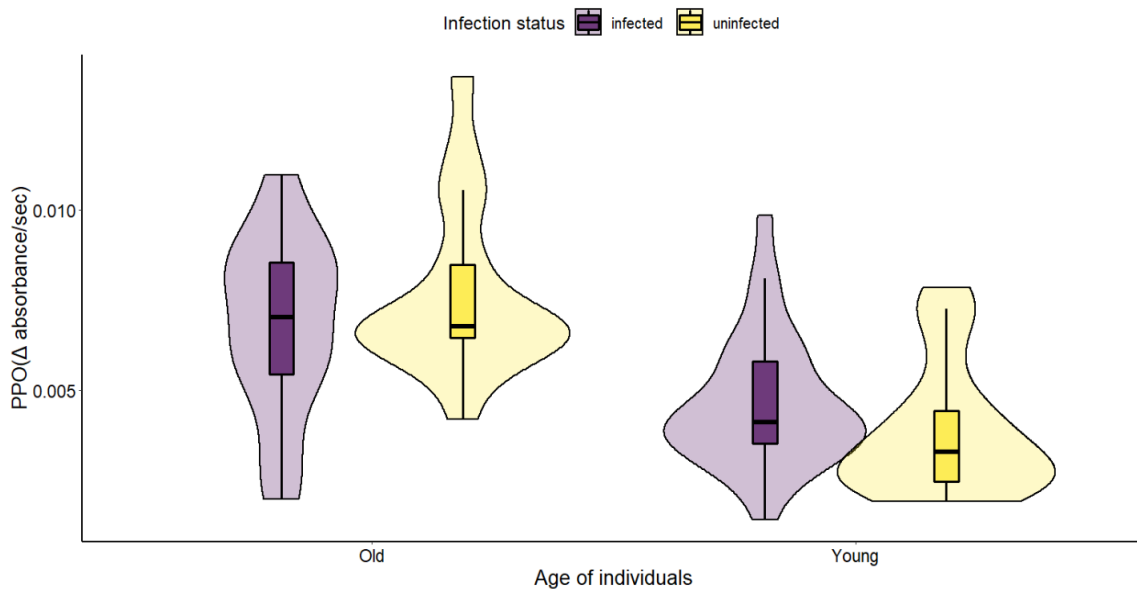
Am investigat imunocompetența generală a lucrătorilor de furnici *M. scabrinodis* asociată cu infecția fungică neletală prin măsurarea nivelurilor de fenoxidază activă (PO) și fenoxidază totală (PPO) (reflectând cantitatea atât a formelor active, cât și a celor inactive ale enzimei) în două clase de vârstă.

Nu am identificat o relație între nivelurile de PO și PPO ( $t = 1,18, p = 0,23$ ). Nivelul de PPO a fost influențat de vârstă: indivizii în vârstă au avut niveluri semnificativ mai mari decât

<sup>3</sup> Published: **Orbán-Bakk K.**, Witek M, Dubiec A, Heinze J, Markó B, Csata E. 2024, Infection with a non-lethal fungal parasite is associated with increased immune investment in the ant *Myrmica scabrinodis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 202: 108027. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2023.108027>

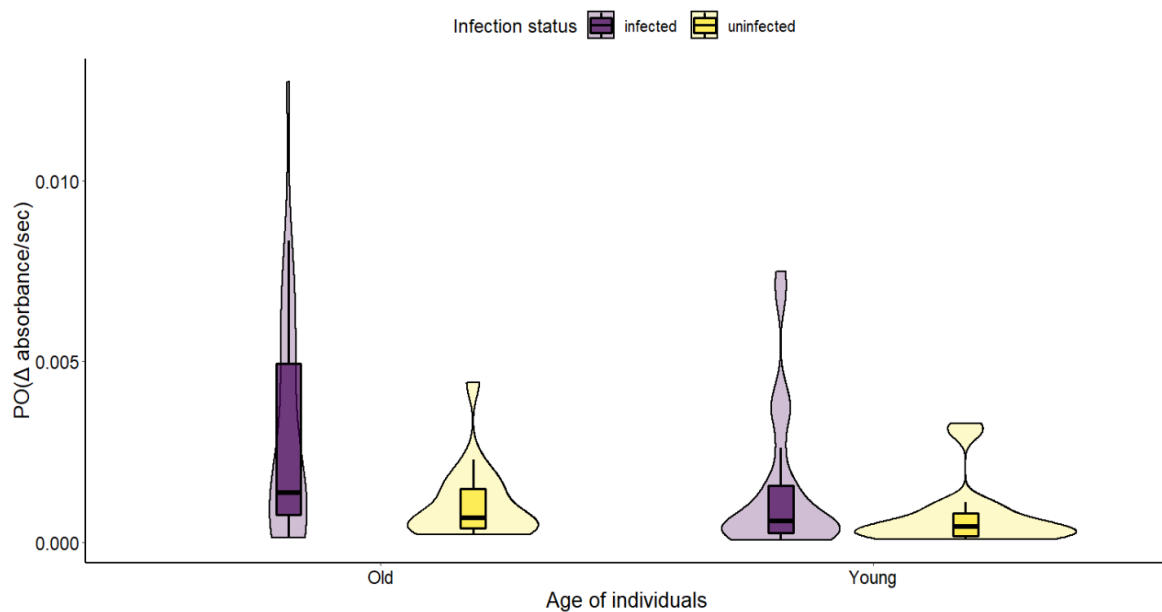


cei tineri ( $\chi^2 = 25,81$ ,  $p < 0,001$ , Cohen's  $d = 1,21$ ) (Fig. 2). Starea de infecție ( $\chi^2 = 0,36$ ,  $p = 0,54$ , Cohen's  $d = 0,1$ ) sau dimensiunea indivizilor (caracterizată prin mărimea capului) ( $\chi^2 = 0,24$ ,  $p = 0,61$ ) nu au avut un efect semnificativ asupra nivelului de PPO. Interacțiunea între starea de infecție și vârsta lucrătorilor a avut doar un efect marginal ( $\chi^2 = 2,94$ ,  $p = 0,08$ ): indivizii tineri din coloniile infectate au avut niveluri mai mari de PPO decât cei din coloniile neinfectate (Fig. 2).



**Figure 2.** Cantitatea totală de fenoloxidază (PPO) ( $\Delta$ absorbție/sec) la lucrătorii de *Myrmica sabrinodis* din diferite categorii de vârstă provenind din colonii infectate și neinfectate.

Nivelul de PO a fost afectat de infecție: lucrătorii din coloniile infectate au avut niveluri semnificativ mai mari de PO ( $\chi^2 = 6,7$ , d.f. = 1,  $p = 0,009$ , Cohen's  $d = 0,53$ ; Fig. 3), iar nivelurile ridicate de PO au fost asociate cu o dimensiune mare a corpului (caracterizată printr-o mărime mai mare a capului) ( $\chi^2 = 18,63$ , d.f. = 1,  $p = 0,001$ ). Însă, nici vârsta ( $\chi^2 = 1,23$ , d.f. = 1,  $p = 0,26$ , Cohen's  $d = 0,64$ ), nici interacțiunea între starea de infecție a coloniilor și vârsta lucrătorilor ( $\chi^2 = 0,1$ , d.f. = 1,  $p = 0,74$ ) nu au prezentat efecte semnificative asupra nivelului de PO (Fig. 3).



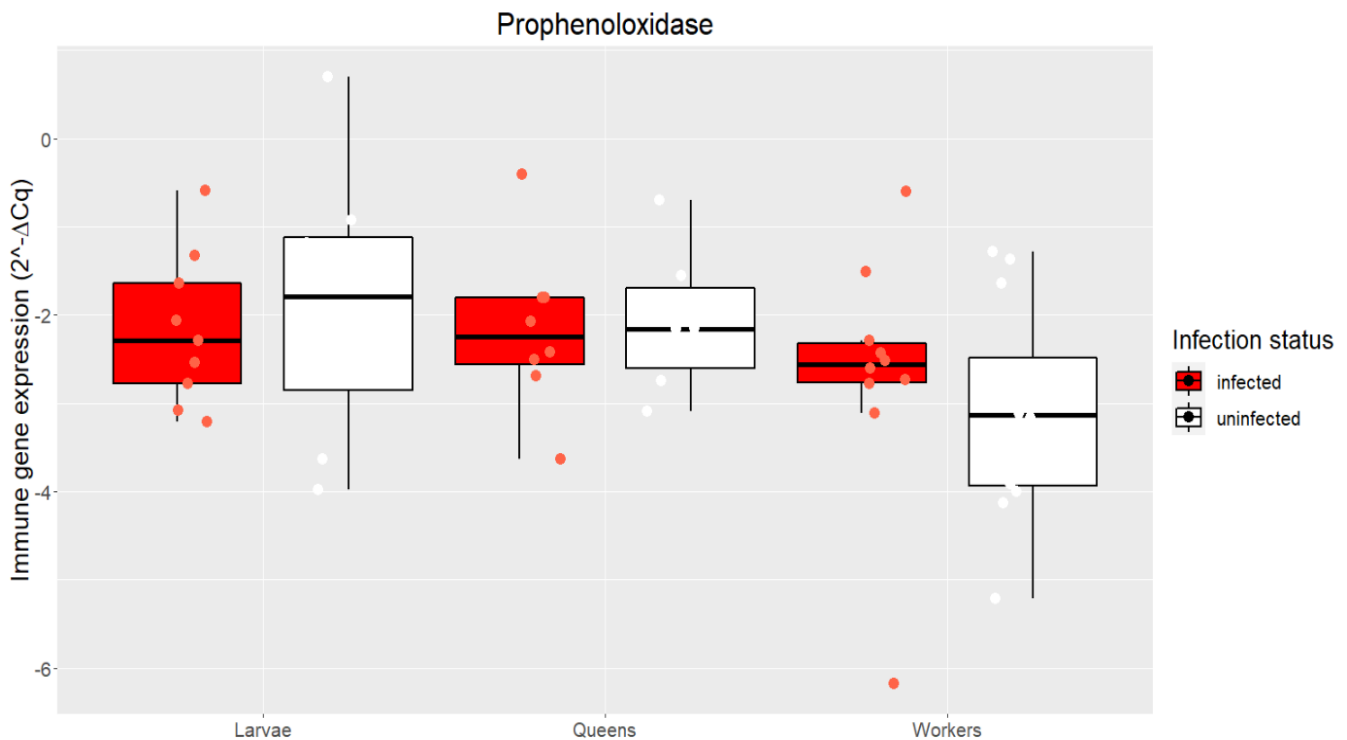
**Figure 3.** Cantitatea de fenoloxidază activă (PO) ( $\Delta$ absorbție/sec) la lucrătorii *Myrmica scabrinodis* din diferite categorii de vârstă provenind din colonii infectate și neinfectate.

### 3.4. Răspunsul imunitar variază între membrii unei societăți de furnici infectate cu o ciupercă<sup>4</sup>

Am investigat cum diferite grupuri din colonii răspund la expunerea la ciupercă prin măsurarea expresiei genelor *defenzină 1* și *prophenoloxidază*, ambele componente vitale ale imunității furnicilor.

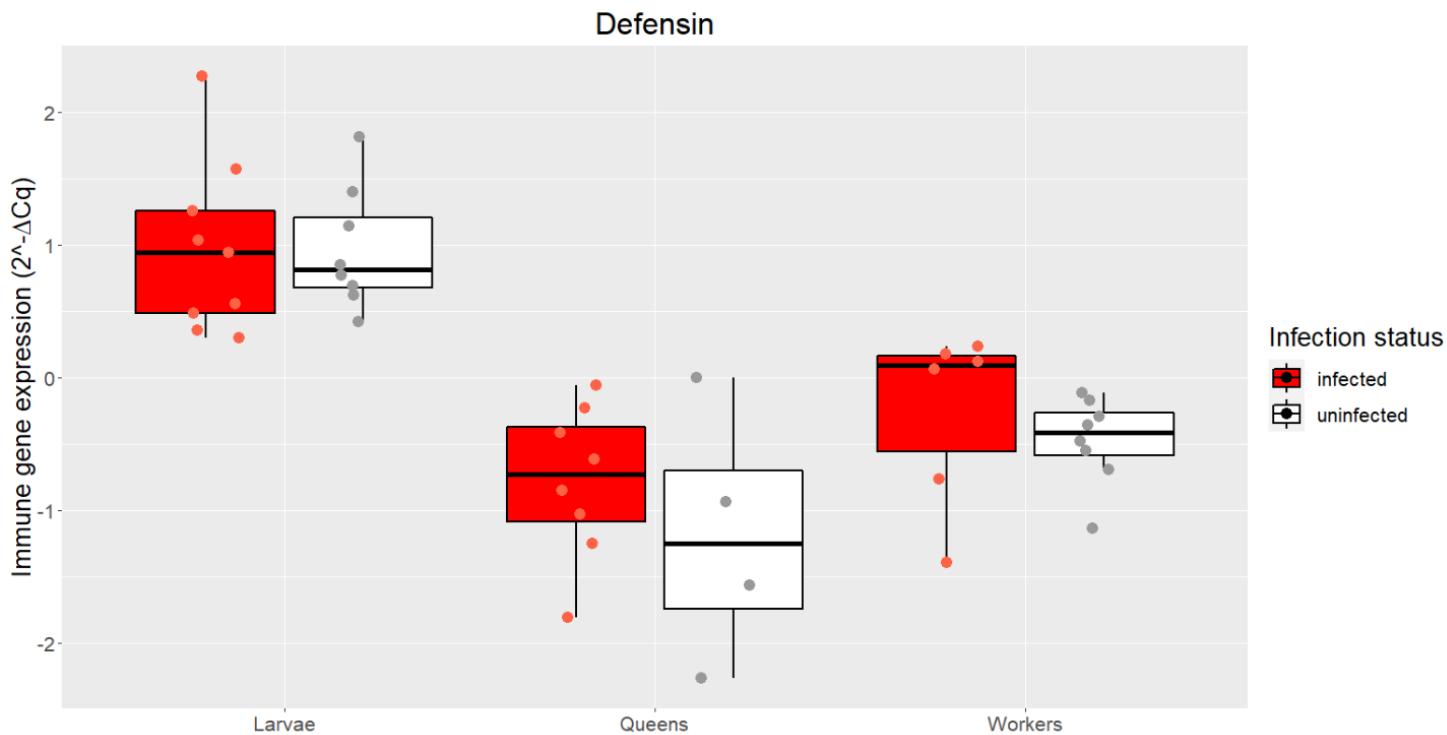
În general, expresia *prophenoloxidazei* a variat relativ puțin între castele (LMM, larve vs regine:  $p = 0,99$ ; larve vs lucrători:  $p = 0,2$ ; regine vs lucrători:  $p = 0,31$ , Figura 4). În larve, starea de infecție a coloniei nu a afectat expresia *prophenoloxidazei* (LMM,  $\chi^2 = 0,05$ ,  $p = 0,94$ ). La lucrători, starea de infecție a coloniei nu a afectat nivelurile de *prophenoloxidază* (LMM, starea de infecție a coloniei,  $\chi^2 = 1,6$ ,  $p = 0,2$ ), nici conținutul de grăsime ( $\chi^2 = 2,4$ ,  $p = 0,12$ ), nici dimensiunea corpului (bazată pe mărimea capului;  $\chi^2 = 2,5$ ,  $p = 0,11$ ). Cu toate acestea, lucrătorii care au avut mulți talii au prezentat o expresie mai mare a *prophenoloxidazei* ( $\chi^2 = 4,18$ ,  $p = 0,04$ ). La regine, aproape toate variabilele măsurate au avut un efect semnificativ asupra expresiei *prophenoloxidazei*, cu excepția dimensiunii corpului (bazată pe mărimea capului; LMM,  $\chi^2 = 0,13$ ,  $p = 0,71$ ). Numărul de talii ( $\chi^2 = 7,8$ ,  $p = 0,005$ ), conținutul de grăsime ( $\chi^2 = 5,75$ ,  $p = 0,01$ ) și starea de infecție a coloniei ( $\chi^2 = 6,67$ ,  $p = 0,009$ ) au influențat pozitiv (creștere) expresia *prophenoloxidazei* (Figura 4).

<sup>4</sup> published: **Orbán-Bakk K**, Schultner E, Heinze J, Markó B, Csata E. 2024, Immune response varies among members of a fungus-infected ant society. bioRxiv: xxx (in prep for publication). <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2024.02.08.579503v1.full>



**Figure 4.** Expresia genelor imune (valori  $2^{-\Delta Cq}$ ) la larve, regine și lucrători din coloniile infectate și neinfectate cu *Rickia*.

În contrast cu *prophenoloxidază*, expresia *defenzinului 1* a fost foarte variabilă între grupuri: larvele au prezentat o expresie mai ridicată a *defenzinului 1* în comparație cu reginele și lucrătorii (LMM, larve vs regine:  $p < 0,001$ ; larve vs lucrători:  $p < 0,001$ ; regine vs lucrători:  $p = 0,10$ ; Figura 5). Expresia *defenzinului 1* la larve nu a fost afectată de starea de infecție a coloniei (LMM, starea de infecție a coloniei,  $\chi^2 = 0,09$ ,  $p = 0,75$ ). Lucrătorii care au avut mai mulți talii au prezentat o expresie mai ridicată a *defenzinului 1* (LMM, numărul de talii,  $\chi^2 = 7,67$ ,  $p = 0,005$ ). Mărimea lucrătorului (reflectedă în mărimea capului; LMM,  $\chi^2 = 0,07$ ,  $p = 0,78$ ), conținutul de grăsime (LMM, conținut de grăsime,  $\chi^2 = 1,53$ ,  $p = 0,21$ ) și starea de infecție a coloniei nu au avut un efect semnificativ (LMM, starea de infecție a coloniei,  $\chi^2 = 2,01$ ,  $p = 0,15$ ). Reginele din coloniile infectate au prezentat o expresie mai ridicată a *defenzinului 1* (LMM, starea de infecție a coloniei,  $\chi^2 = 3,91$ ,  $p = 0,04$ , Figura 5), în timp ce reginele mari au exprimat mai mult *defenzină 1* (reflectat în mărimea capului; LMM,  $\chi^2 = 27,61$ ,  $p < 0,001$ ). Nici numărul de talii (LMM, numărul de talii,  $\chi^2 = 0,37$ ,  $p = 0,54$ ), nici conținutul de grăsime (LMM, conținut de grăsime,  $\chi^2 = 3,08$ ,  $p = 0,07$ ) nu au afectat expresia *defenzinului 1* la regine, deși conținutul de grăsime a prezentat o ușoară tendință de creștere a expresiei.



**Figure 5.** Expresia genelor imune (valori  $2^{-\Delta Cq}$ ) la larve, regine și lucrători din coloniile infectate și neinfectate cu *Rickia* (data transformată este prezentată).

#### IV. Discuție

Trecerea de la viața solitară la cea socială la insecte poate modifica sistemul imunitar, deoarece strategiile sociale evoluează pentru a combate infecțiile. În insecte, există două căi de semnalizare (Toll și Jak/Stat) care determină expresia genelor imune specifice, aceste gene codând peptide și proteine care activează răspunsuri imune innascute precum încapsularea.

Am efectuat analize filogenetice ale a 15 proteine implicate în căile de semnalizare ale încapsulării la furnici. Furnicile s-au grupat separat față de alte grupuri de insecte în majoritatea cazurilor, cu excepții semnificative observate mai ales în cazul proteinelor de recunoaștere a structurilor patogenice, care probabil reflectă adaptări la diferiți patogeni. Cu toate acestea, nu au fost identificate diferențe majore între insectele solitare și cele sociale în ceea ce privește proteinele implicate în încapsulare.

În ciuda absenței variațiilor semnificative în proteinele asociate cu încapsularea între insectele solitare și cele sociale, patogenii prezintă o gamă diversă de efecte asupra organismelor gazdă, de la consecințe letale până la modificări comportamentale minore (Hughes et al., 2012). Datele noastre sugerează că, în cazul lui *M. scabrinodis*, presiunea constantă exercitată de *R. wasmannii* ar putea facilita răspunsul de încapsulare doar la indivizii tineri. Într-o colonie infectată, indivizii tineri sunt expuși încă de la început la ciupercă, ceea

ce ar putea duce la menținerea apărării lor imune la un nivel mai ridicat (Bull et al., 2012). Indivizii tineri sunt cheia succesului unei colonii. Reacția sporită ar putea fi, prin urmare, strategia adecvată într-o situație deja dificilă, menținând ciuperca la distanță pentru o perioadă dată și asigurând astfel supraviețuirea coloniei.

În plus, mai multe studii în privința furnicilor, albinelor și altor insecte arată că nivelul enzimei active fenoloxidază (PO) este un bun indicator al activității imune (Doums et al., 2002; Cerenius și Söderhäll, 2004; Bocher et al., 2007) și corelează pozitiv cu rezistența crescută la patogeni (Adamo, 2004; Mucklow et al., 2004; dar vezi și Leclerc et al., 2006). Studiul nostru arată că conviețuirea pe termen lung cu un patogen fungic neletal ar putea fi asociată cu o activitate imună crescută a lucrătorilor de furnici, indiferent de vârsta acestora. Nivelul general de imunocompetență al lucrătorilor este, în același timp, dependent de vârstă: lucrătorii bătrâni, care își desfășoară activitățile în afara cuibului, mențin un nivel mai ridicat al PO total (PPO), ceea ce ar putea reprezenta un răspuns adaptativ la expunerea crescută la riscuri datorată sarcinilor asumate. Un nivel crescut de PO ar putea conferi o protecție mai mare pentru colonie, fiind util chiar și împotriva unui parazit care ar reuși să pătrundă în fortăreața socială.

Pe baza datelor din literatură și rezultatelor studiului nostru anterior, am prezis că infecția cu un parazit neletal poate conduce la expresia a două gene imune cheie, *prophenoloxidază* și *defenzină 1*, iar efectele infecției asupra expresiei genelor imune pot varia între lucrători, regine și larve datorită rolurilor lor sociale diferite în colonie. Lucrătorii au prezentat profile diverse ale expresiei genelor imune, cu răspunsuri variabile la infecție. Atât nivelurile de *prophenoloxidază*, cât și cele de *defenzină 1* au crescut odată cu încărcăturile patogene în lucrătorii de aceeași vârstă ai speciei *Myrmica scabrinodis*. Reginele au prezentat un răspuns imun mai pronunțat comparativ cu lucrătorii, exprimând niveluri crescute ale ambelor gene când erau puternic infectate. În contrast, larvele nu au prezentat un răspuns imun discernabil la infecție. Caracteristicile morfologice și fiziologice au avut efecte limitate în general, cu excepția cazului reginelor, unde indivizii mai mari au prezentat o expresie mai mare a *defenzinei 1*. Studiul nostru subliniază că aceste răspunsuri divergente probabil provin din nevoile și prioritățile fiziologice diferite ale diferitelor grupuri din colonie.

## Referințe

Adamo SA. 2004, Estimating disease resistance in insects: phenoloxidase and lysozyme-like activity and disease resistance in the cricket *Gryllus texensis*. *Journal of Insect Physiology* **50**(2–3): 209–216.

- Báthori F, Csata E, Tartally A. 2015, *Rickia wasmannii* increases the need for water in *Myrmica scabrinodis* (Ascomycota: Laboulbeniales; Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 126: 78–82.
- Báthori F, Rádai Z, Tartally A. 2017, The effect of *Rickia wasmannii* (Ascomycota, Laboulbeniales) on the aggression and boldness of *Myrmica scabrinodis* (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Hymenoptera Research* 58: 41.
- Bocher A, Tirard C, Doums C. 2007, Phenotypic plasticity of immune defence linked with foraging activity in the ant *Cataglyphis velox*. *Journal of Evolutionary Biology* 20(6): 2228–2234.
- Broderick NA, Welchman DP, Lemaitre B. 2009, Recognition and response to microbial infection in *Drosophila*. *OUP* 13–33.
- Bull JC, Ryabov EV, Prince G, Mead A, Zhang C, Baxter LA, Pell JK, Osborne, JL, Chandler D. 2012, A strong immune response in young adult honeybees masks their increased susceptibility to infection compared to older bees. *PLoS Pathogens* 8(12): e1003083.
- Cerenius L, Söderhäll K. 2004, The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological Reviews* 198(1): 116–126.
- Cremer S, Armitage SAO, Schmid-Hempel P. 2007, Social immunity. *Current Biology* 17: R693–R702.
- Csata E, Bernadou A, Rákósy-Tican E, Heinze J, Markó B. 2017b, The effects of fungal infection and physiological condition on the locomotory behaviour of the ant *Myrmica scabrinodis*. *Journal of Insect Physiology* 98:167–172.
- Csata E, Billen J, Bernadou A, Heinze J, Markó B. 2018, Infection-related variation in cuticle thickness in the ant *Myrmica scabrinodis* (Hymenoptera: Formicidae). *Insectes Sociaux* 65:503–506.
- Csata E, Czekes Z, Erős K, Németh E, Hughes M, Csősz S, Markó B. 2013, Comprehensive survey of Romanian myrmecoparasitic fungi: new species, biology and distribution. *North-Western Journal of Zoology* 9(1):23–29.
- Csata E, Erős K, Markó B. 2014, Effects of the ectoparasitic fungus *Rickia wasmannii* on its ant host *Myrmica scabrinodis*: changes in host mortality and behavior *Insect Society* 61:247–252.
- Csata E, Timuş N, Witek M, Casacci LP, Lucas C, Bagnères AG, Sztencel-Jabłonka A, Barbero F, Bonelli S, Rákósy, L, Markó B. 2017a, Lock-picks: fungal infection facilitates the intrusion of strangers into ant colonies. *Science Reports* 7: 46323.

- Csata E, Casacci LP, Ruther J, Bernadou A, Heinze J, Markó B. 2023, Non-lethal fungal infection could reduce aggression towards strangers in ants. *Communications Biology* **6**(1):183.
- Csősz S, Rádai Z, Tartally A, Ballai LE, Báthori F. 2021, Ectoparasitic fungi *Rickia wasmannii* infection is associated with smaller body size in *Myrmica* ants. *Scientific Report* **11**:14355.
- Doums C, Moret Y, Benelli E, Schmid-Hempel P. 2002, Senescence of immune defence in *Bombus* workers. *Ecological Entomology* **27**(2):138–144.
- Dubovskiy IM, Kryukova NA, Glupov VV, Ratcliffe NA. 2016, Encapsulation and nodulation in insects. *ISJ* **13**:229–246.
- Haelewaters D. 2012, The first record of Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) on ants (Hymenoptera, Formicidae) in The Netherlands. *Ascomycete org* **4**:65–69.
- Hauling T. 2012, The activation of the insect immune system by endogenous danger signals with emphasis on *Drosophila melanogaster*. *Universitaet Kassel Germany*, pp. 149.
- Hillyer JF. 2016, Insect immunology and hematopoiesis. *Developmental & Comparative Immunology* **58**:102–118.
- Hughes DP, Araujo JPM, Loreto RG, Quevillon L, de Bekker C, Evans HC. 2016, From so simple a beginning: the evolution of behavioral manipulation by fungi. *Advanced Genetics* **94**:437–469.
- Hughes DP, Brodeur J, Thomas F. 2012, *Host manipulation by parasites*. Oxford University Press, Oxford.
- Konrad M, Vyleta ML, Theis FJ, Stock M, Tragust S, Klatt M, Drescher V, Marr C, Ugelvig LV, Cremer S. 2012, Social transfer of pathogenic fungus promotes active immunisation in ant colonies. *PLoS Biology* **10**(4): e1001300.
- Leclerc V, Pelte N, El Chamy L, Martinelli C, Ligoxygakis P, Hoffman JA, Reichhart J. 2006, Prophenoloxidase activation is not required for survival to microbial infections in *Drosophila*. *EMBO Reports* **7**:231–235.
- Libert S, Chao Y, Zwiener J, Pletcher SD. 2008, Realized immune response is enhanced in long-lived puc and chico mutants but is unaffected by dietary restriction. *Molecular immunology* **45**(3):810—817.
- Marmaras VJ, Lampropoulou M. 2009, Regulators and signalling in insect haemocyte immunity. *Cell Signal* **21**:186–195.
- Mucklow PT, Vizoso DB, Jensen KH, Refardt D, Ebert D. 2004, Variation in phenoloxidase activity and its relation to parasite resistance within and between populations of

- Daphnia magna*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **271**(1544):1175–1183.
- Rolff J, Reynolds SE. 2009, Insect infection and immunity. *OUP* 272.
- Rosales, C., 2017. Cellular and molecular mechanisms of insect immunity. *Insect Physiology and Ecology*. doi: 10.5772/67107.
- Schmid-Hempel P. 1998, *Parasites in social insects*. Princeton University Press, New Jersey.
- Stroeymeyt N, Grasse AV, Crespi A, Mersch DP, Cremer S, Keller L. 2018, Social network plasticity decreases disease transmission in a eusocial insect. *Science* **362**(6417):941–945.
- Van Valen L. 1973, Body size and numbers of plants and animals. *Evolution* **27**(1):27–35.
- Verble RM, Meyer AD, Kleve MG, Yanoviak SP. 2012, Exoskeletal thinning in *Cephalotes atratus* ants (Hymenoptera: Formicidae) parasitized by *Myrmeconema neotropicum* (Nematoda: Tetrakonematidae). *Journal of Parasitology* **98**:226–228.
- Ward PS. 2006, Ants. *Current Biology* **16**(5):152.
- Witek M, Barbero F, Markó B. 2014, *Myrmica* ants host highly diverse parasitic communities: from social parasites to microbes. *Insectes Sociaux* **61**(4):307–323.



## Lista publicațiilor științifice

Orbán-Bakk K. 2021, Rovarok immunrendszerének működése (The mechanisms of immune responses in insects). *Múzeumi Füzetek – Acta Scientiarum Transylvanica* seria Biologia 25–27/1.

Orbán-Bakk K, Csata E, Markó B, Kósa F. 2023, Phylogenetic analyses of the proteins involved in encapsulation signaling pathways in ants. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Biologia* 68(1):67–101.

Orbán-Bakk K, Marczin MJ, Gál L, Heinze J, Csata E, Markó B. 2022, Under pressure: the effect of long-term fungal infection on the encapsulation response in ants. *Insectes Sociaux* 69(4): 361–367. <https://doi.org/10.1007/s00040-022-00879-z> (IF 1.3)

Orbán-Bakk K, Witek M, Dubiec A, Heinze J, Markó B, Csata E. 2024, Infection with a non-lethal fungal parasite is associated with increased immune investment in the ant *Myrmica scabrinodis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 202: 108027. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2023.108027> (IF 3.4)

Orbán-Bakk K, Schultner E, Heinze J, Markó B, Csata E. 2024, Immune response varies among members of a fungus-infected ant society. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.02.08.579503>.