

## Genmanipulierte Bakterien schützen Honigbienen vor Viren und Parasiten

**Honigbienen sind weltweit durch die Varroamilbe und das von dieser übertragene Flügeldeformationsvirus in ihrer Existenz bedroht. Jetzt ist es gelungen, das symbiotische Darmbakterium *Snodgrassella alvi* genetisch so zu verändern, dass es Bienen vor den beiden Seuchen schützt. Dazu wurden *S. alvi*-Stämme erzeugt, die Doppelstrang-RNA mit zu speziellen viralen bzw. parasitären Genen komplementärer Basensequenz produzieren, die eine Immunabwehr in Virus-infizierten Zellen der Bienen bzw. eine tödliche Reaktion in den Milben induzieren.**

Die Honigbiene (*Apis mellifera*) ist nicht nur bedeutend als Produzent von Honig, sondern auch extrem wichtig als Bestäuber von Kulturpflanzen. Die Honigbiene ist aber bedroht, denn seit einigen Jahren wird bei Bienenvölkern weltweit verstärkt Massensterben beobachtet. Als Ursache des Bienensterbens werden unter anderem die Verbreitung der ektoparasitischen Milbe *Varroa destructor* und die damit einhergehende Ausbreitung des Flügeldeformationsvirus verantwortlich gemacht (vgl. NR 8/2012, S. 421). Werden Bienenstöcke nicht regelmäßig gegen den Milbenbefall behandelt, vermehren sich die Parasiten ungebremst, was zum Kollaps der Völker führen kann. Zur Bekämpfung der Varroamilbe stehen Akarizide (Phosphorsäureester und Pyrethroide), organische Säuren (Ameisensäure, Milchsäure und Oxalsäure) und ätherische Öle zur Verfügung. Die meisten Mittel können allerdings nur während der brutfreien Zeit eingesetzt werden. Eine Behandlung mit Akariziden hat zudem den Nachteil, dass Wachs und Honig mit Rückständen der Pestizide belastet sind. Darüber hinaus sind zahlreiche Milbenpopulationen mittlerweile resistent gegenüber einer Vielzahl von Akarizid-Präparaten.

RNA-Interferenz (RNAi) ist ein zentraler Bestandteil der körpereigenen antiviralen Immunabwehr der Honigbiene. Als Folge einer Infektion mit RNA-Viren bilden infizierte Zellen während der Vervielfältigung der Viren kurze RNA-Moleküle (siRNA, *small interfering RNA*), die zur Erkennung und Zerstörung der fremden RNA dienen. Diese RNAi-Immunabwehr kann durch orale Gabe oder Injektion von Doppelstrang-RNA (dsRNA) in Honigbienen induziert werden und wurde schon erfolgreich zur Hemmung der Vermehrung von RNA-Viren, einschließlich des Flügeldeformationsvirus, eingesetzt. Honigbienen geben verabreichte dsRNA auch an ihre eukaryotischen Parasiten weiter, die dann in den Schädlingen ebenfalls eine RNAi-Antwort auslöst. So konnte mithilfe von dsRNA mit komplementären Sequenzen zu essentiellen parasitären Genen die Vermehrung von Varroamilben und des Einzellers *Nosema apis* gehemmt werden. Allerdings ist der Einsatz von dsRNA zur Kontrolle von Bienenkrankheitserregern im Freiland nicht praktikabel, da dsRNA sehr schnell abgebaut wird.

Damit sich Bienen besser vor Krankheitserregern schützen können, haben jetzt Forscher von der University of Texas in Austin (USA) das symbiotische Darmbakterium *Snodgrassella alvi* genetisch manipuliert, so dass es kontinuierlich pathogen-spezifische dsRNA produziert. Um zu überprüfen, ob die gentechnisch-veränderten *S. alvi*-Bakterien sich im Darm von Bienen ansiedeln können, wurden frisch geschlüpfte Arbeiterinnen mit *S. alvi*-Bakterien

inokuliert, die das grün fluoreszierende Protein (GFP) als Indikator exprimieren. Die gentechnisch-veränderten *S. alvi*-Zellen blieben bis zum Ende des Experiments (15 Tage) lebensfähig und siedelten sich entlang der Darmwand an, wo normalerweise der Symbiont zu finden ist. Anschließend wurde untersucht, ob die gentechnisch veränderten Symbionten dsRNA *in situ* bereitstellen können. Dazu wurden Bienen mit *S. alvi*-Zellen geimpft, die dsRNA mit einem Gensequenzabschnitt des GFPs exprimieren. Die GFP-RNA konnte im Darm, Kopf und in der Hämolymphe der Bienen, die die gentechnisch-veränderten Symbionten beherbergten, nachgewiesen werden. Das Vorkommen der GFP-RNA im Kopf und in der Hämolymphe zeigte, dass dsRNA überallhin im Körper der Bienen transportiert wird. Zudem wurde in Bienen mit den gentechnisch veränderten *S. alvi*-Bakterien eine Aktivierung der Gene für die RNAi-Immunabwehr festgestellt.

Als nächstes wurde getestet, ob von Symbionten produzierte dsRNA Bienen gegen Viren und Parasiten schützen kann. Dafür wurden gentechnisch-veränderten *S. alvi*-Bakterien hergestellt, die dsRNA gegen Gensequenzen des Flügeldeformationsvirus produzieren. Die Bienen wurden mit diesen und sieben Tage später mit dem Flügeldeformationsvirus infiziert. Zehn Tage nach der Infektion überlebten 36,5% mehr Bienen mit den dsRNA produzierenden Symbionten als Kontroll-Bienen. Ferner wurden *S. alvi*-Zellen erzeugt, die dsRNA gegen Sequenzen essentieller Gene der Varroamilbe produzieren. Abermals wurde die Bienen zuerst mit den gentechnisch-veränderten Bakterien geimpft und fünf Tage später mit Varroamilben verseucht. Die Sterblichkeit von Milben, die an Bienen mit diesen Symbionten parasitierten, war deutlich erhöht. So wurden am zehnten Tag des Versuches 70% weniger Milben an Bienen mit dsRNA produzierenden Symbionten gefunden als an Kontroll-Bienen. Dieses Ergebnis zeigt, dass Varroamilben, die sich von der Hämolymphe der Bienen ernähren, dsRNA beim Blutsaugen aufnehmen. Die aufgenommene dsRNA löst schließlich eine RNAi Antwort in den Milben aus, die zum Tod der Parasiten führt.

Ob sich die gentechnisch-veränderten Symbionten auch über ganze Bienenvölker ausbreiten können, müssen weitere Versuche unter Freilandbedingungen zeigen. Denn bislang wurden individuelle Bienen oral mit den manipulierten Bakterien unter Laborbedingungen inokuliert. Die Ausbreitung der genmanipulierten Symbionten innerhalb ganzer Bienenvölker sollte aber prinzipiell möglich sein, denn die natürliche Verbreitung von *S. alvi* und anderen symbiontischen Darmbakterien geschieht durch soziale Kontakte der Bienen im Stock. Zudem konnte in der Studie gezeigt werden, dass gentechnisch veränderte *S. alvi*-Stämme zwischen zusammenlebenden Bienen übertragen werden.

Sollte sich der Einsatz von gentechnisch-veränderten Symbionten zur Bekämpfung von Bienenkrankheitserregern als erfolgversprechend zeigen, könnte im Idealfall eine Einmalbehandlung ausreichen, um ein Bienenvolk vor der Varroamilbe und dem Flügeldeformationsvirus zu schützen. Darüber hinaus könnten beide Seuchen gleichzeitig mit Symbionten-vermittelter RNAi bekämpft werden, was zu synergistischen pharmakologischen Effekten bei Bienen führen könnte, denn die Varroamilbe ist Überträger des Flügeldeformationsvirus. Bevor man jedoch das Risiko eingehen kann, genmanipulierte

*S. alvi*-Stämme ins Freiland zu entlassen, muss sichergestellt sein, dass diese gentechnisch-veränderten Organismen nicht auf andere Insekten übertragen werden.

[S. P. Leonard et al., *Science* **367**, 573 (2020)]

*PD Dr. Dietmar Steverding, Norwich, Großbritannien*