

Bienenviren – ein wenig bekanntes Gebiet

Hélène Berthoud, Anton Imdorf, Jean-Daniel Charrière, Monika Haueter und Peter Fluri
Agroscope Liebefeld-Posieux, Zentrum für Bienenforschung, Liebefeld, CH-3003 Bern

Viren sind obligatorische Parasiten, da sie für ihre Vermehrung voll und ganz von einer Wirtszelle abhängig sind. Bei den Bienen sind rund 20 Viren bekannt, die sowohl die Bienenbrut als auch die erwachsenen Bienen schädigen können.

Was sind Viren?

Die Viren werden nicht als wirkliche Lebewesen betrachtet, da sie inert sind. Die einzigen biologischen Reaktionen sind diejenigen, welche für ihre Vermehrung erforderlich sind und diese werden durch die Wirtszelle gesichert. Viren bestehen aus ihrem genetischen Material sowie aus Proteinen, um das Kapsid und bei einigen zusätzlich eine Hülle zu bilden (Abb.1). Sie werden nach dem Typ ihres genetischen Materials klassifiziert (DNS oder RNS, einsträngig oder doppelsträngig), nach der Form ihres Kapsids und dem Vorhandensein oder Fehlen einer Hülle.

Diese Eigenschaften beeinflussen ihre Verbreitungsstrategie. Einige sind sehr stabil in der Umwelt, andere bleiben in der Wirtszelle inaktiv, indem sie ihr genetisches Material in das Genom der Wirtszelle einbauen oder indem sie in bestimmten, weniger sensiblen Geweben bleiben. Einige weisen eine grosse Spezifizierung auf und können nur einen einzigen Wirtszellentyp infizieren, andere befallen verschiedene Arten und dies mit unterschiedlich hoher Virulenz.

Wirtszellen, denen das Virus nur geringen Schaden zufügt, dienen als Virus-Reservoir. Das Gleichgewicht zwischen einem Virus und seinem Wirt ist anfällig. Auch nur die geringste Veränderung des Virulenzgrades oder der Infektionsrate kann schwerwiegende Konsequenzen für die Population des Wirtes oder des Virus haben.

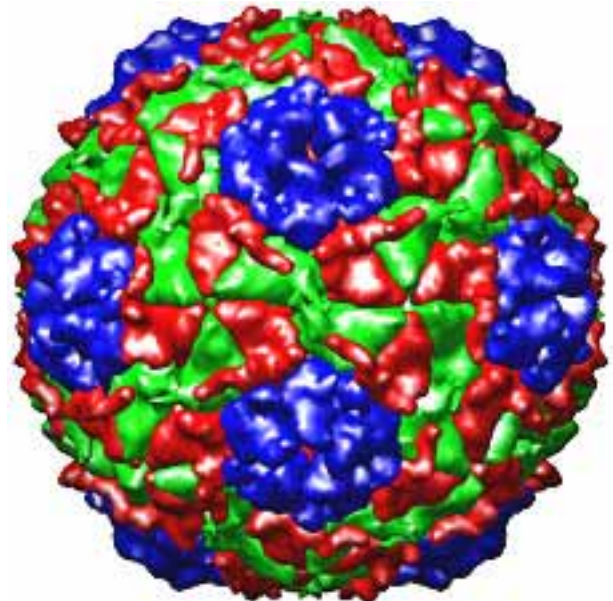


Abbildung 1. Schematische Darstellung eines Virus aus der selben Familie wie das Akute Bienen-Paralyse-Virus (ABPV). Die Struktur des Virus wurde von Reddy et al. (2001)⁷ dargestellt. Die 3 Farben repräsentieren die 3 Proteine des Kapsids.

Die Bienenviren

Die meisten bei den Bienen bekannten Viren, so auch das Poliovirus, ähneln dem Picornavirus. Es sind kleine Viren von weniger als 40 nm Durchmesser, deren genetisches Material ein einfacher RNS-Strang ist, welcher sich in einem aus drei Hauptproteinen bestehenden Kapsid befindet. Bei der Vermehrung liest die Wirtszelle die auf dem einfachen RNA-Strang kodierten Informationen und synthetisiert die Proteine des Kapsids ebenso wie das Enzym zur Herstellung der neuen RNA-Stränge, die für die Bildung neuer infektiöser Viren in die Kapside eingebaut und beim Zellbruch freigesetzt werden.

Bei den Bienen gibt es ungefähr 20 beschriebene Viren. Es handelt sich hierbei um eine Schätzung, da es wahrscheinlich auch Viren gibt, die noch nicht bekannt sind und bestimmte Viren eigentlich nur geografische Varianten anderer Viren sind.

Das erste beschriebene Virus ist das Sacbrood Bee Virus (SBV), der Erreger der Sackbrut Krankheit, deren typische Symptome seit langem bekannt sind (Abb. 2 und 3). Die Krankheit betrifft in erster Linie die Larven, infizierte adulte Bienen besitzen jedoch eine kürzere Lebensdauer⁵. Im Allgemeinen hat das Bienenvolk diese Krankheit unter Kontrolle, da die Bienen die kranken Larven bereits in den ersten Infektionsstadien entdecken und diese entfernen. Zwei Studien berichten über einen hohen Prozentsatz an SBV, der bei adulten toten Bienen festgestellt wurde, die aus Völkern stammen, die durch *Varroa destructor*¹ infiziert waren.

Das zweite Virus, welches entdeckt wurde, ist das Akute Bienen-Paralysevirus (ABPV). Es wurde während experimenteller Infektionen in Larven oder jungen, toten Bienen entdeckt, nachdem diesen ein Extrakt von scheinbar gesunden Bienen injiziert worden war. Das bedeutet, dass das ABPV folglich bei gesunden Bienen in Form einer nicht erkennbaren Infektion präsent war. ABPV scheint in Varroa-infizierten Völkern einer der Sterblichkeitsgründe zu sein. Das Kaschmir-Bienen-Virus (KBV) ähnelt dem ABPV so sehr, dass die beiden Viren manchmal verwechselt werden können. KBV ist das virulenteste Virus im Labor und es tritt ebenfalls bei scheinbar gesunden Bienen auf. Es verursacht in Varroa-infizierten Völkern Epidemien, wurde andererseits aber auch als der für Epidemien verantwortliche Erreger in Varroa-freien Völkern beschrieben¹.

In Europa wurde es nur in Grossbritannien beschrieben¹. Das Trübe Flügelvirus (cloudy wing virus, CWV) ist eines der am meisten verbreiteten Viren in den nordischen Ländern ohne dabei Schäden oder sichtbare Symptome zu erzeugen⁶. Die Verbreitung des Flügeldeformationsvirus (Deformed Wing Virus, DWV) ist eng an diejenige von *Varroa destructor* gebunden. DWV tritt in Europa jedoch bereits länger auf als Varroa. Die typischen Symptome in Form von deformierten Flügeln (Abb.4) treten vor allem in Völkern mit einem hohen Varroabefall auf. Die Symptome einer im Adultstadium zugezogenen Infektion sind nicht bekannt.

Das Schwarze Königinnenzellenvirus (Black Queen Cell Virus, BQCV) führt zum Tod der Königinnenlarven und zu einer Schwärzung der Zellen. Die Infektion der Adulten hängt ab von dem Parasiten *Nosema apis* und verkürzt die Lebensdauer der Bienen, ohne dass dabei typische Symptome auftreten. Das Chronische Bienen-Paralysevirus (chronic bee paralysis virus, CBPV) ist der Erreger der Maikrankheit. Symptomatisch für diese Krankheit ist, dass sich am Eingang des Bienenhauses einzelne, zitternde Bienen befinden, welche nicht in der Lage sind zu fliegen und manchmal auch solche, die schwarz und haarlos sind. Diese Krankheit kann das ganze Volk auslöschen. Das CBPV ist unabhängig von Varroa und befällt anscheinend nur die Adulten. Das Auftreten die-

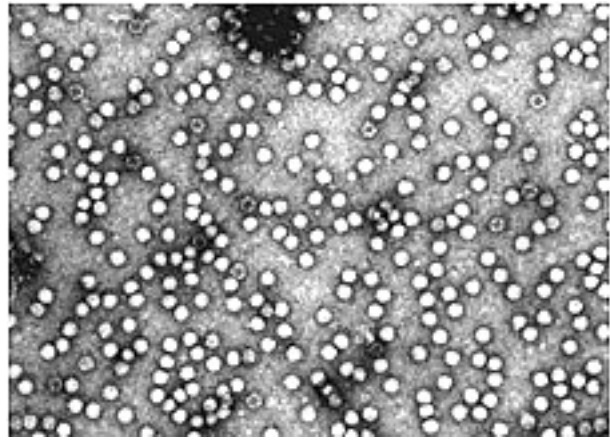


Abbildung 2. Fotografie des Erregers der Sackbrut-Krankheit (SBV) mit dem Elektronenmikroskop (Photo: Ma-sanori Kubo, National Institute of Animal Health, Japan).



Abbildung 3. Larve, welche mit dem Virus der Sackbrut-Krankheit infiziert wurde (SBV). (Photo: Mid-Atlantic Apiculture Research and Extension Consortium)

ser Krankheit wird scheinbar durch eine hohe Bienen- und Völkerdichte sowie durch Nahrungsmangel begünstigt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die meisten Viren in den Völkern in Form von inapparenten Infektionen vorliegen. Die beobachteten Symptome hängen ab von der Infektionsdosis, der Infektionsweise, dem Entwicklungsstadium der Biene und dem Allgemeinzustand des Volkes. Die Ursachen für die Krankheitsentwicklung sind nicht bekannt und können je nach Virus variieren. In bezug auf die Viren DWV, ABPV, KBV, SPV und SBV hat das Auftreten von Varroa in Europa scheinbar das Gleichgewicht zwischen Virus und Biene verändert. Einerseits kann die Varroa das Virus auf die Puppen übertragen, die empfindlicher sind, wohingegen vor der Varroa in erster Linie die adulten Bienen infiziert waren. Andererseits erhöht die Varroa die Infektionsrate und verändert vor allem die Infektionsweise. Unter Laborbedingungen ist die Anzahl ABPV Viren, die erforderlich ist, um eine Infektion auszulösen, 100'000 mal kleiner durch Injektion als durch Kontakt und eine Million mal kleiner als durch Nahrungsaufnahme².



Abbildung 4. Biene, welche durch das Flügeldeformationsvirus (DWV) beeinträchtigt ist (Photo: Martin Dettli, Dornach)

Unsere Forschungsarbeiten – im Jahr 2004

Im Jahr 2004 startete im Schweizerischen Zentrum für Bienenforschung in Liebefeld ein Forschungsprojekt über die Bienenviren. Ziel ist es, zum einen diagnostische Methoden für Viruskrankheiten zu entwickeln, damit die Rolle der Viren im Zusammenhang mit den Völkerverlusten untersucht werden kann und zum anderen die Bedeutung der Viruskrankheiten in der Schweiz zu evaluieren. Die erste Projektetappe bestand darin, die in Frankreich⁴ entwickelten Nachweismethoden für die Viren DWV, ABPV, KBV, SBV, BQCV und CBPV an unser Labor anzupassen. Die verwendeten Methoden sind sogenannte Molekularmethoden. Das allgemeine Prinzip ist der Nachweis von genetischem Material des Virus, in diesem Fall der Nachweis von RNS. Als die Methoden funktionierten, stellte sich zu aller erst die Frage, welche Viren in der Schweiz in den als gesund angesehenen Völkern auftreten.

Dafür schickten uns die Imker verschiedener Regionen im August 2004 Bienen, die sie am Flugloch gesammelt hatten. Die untersuchten Proben bestanden aus ungefähr 50 Bienen. Sie stammten aus 6 Völkern pro Bienenstand und aus 13 Bienenständen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 ersichtlich. Sie zeigen, dass das Kaschmir-Virus (KBV) in keiner einzigen Probe und das Chronische Bienen-Paralyse-Virus in nur 9 von 78 Völkern entdeckt wurde. 66 der 78 Völker enthielten mindestens ein Virus, das Trübe Flügelvirus (DWV) wurde am häufigsten nachgewiesen (in 51 Fällen). 35 Völker waren positiv für mehr als ein Virus.

Diese Ergebnisse stimmen mit denjenigen einer ausführlicheren Studie überein, die vom Laboratoire de Pathologie Comparée des Invertébrés de l'Université de Montpellier durchgeführt wurde⁴. In dieser Untersuchung wurde festgestellt, dass auf fast allen untersuchten Ständen in sogenannten gesunden Völkern vor allem DWV und SBV Viren sowie in einem geringeren Ausmass auch BQCV und ABPV nachgewiesen werden konnten. Die Viren, welche nur selten nachgewiesen wurden, sind KBV und CBPV mit einer Häufigkeit von etwa einem von 10 bzw. einem von 5 Ständen⁴.

Tabelle 1: Viruspräsenzen in gesunden Kolonien in der Schweiz, August 2004.

+++ sehr starkes positives Signal, ++ starkes positives Signal,
 + positives Signal, (+) schwaches positives Signal, +/- sehr
 schwaches positives Signal, +/-? vermutlich positives Signal,
 - negatives Signal

Stock	Kolonie	ABPV	CBPV	DWV	BQCV	SBV	KBV	Stock	Kolonie	ABPV	CBPV	DWV	BQCV	SBV	KBV
								7	1	-	-	-	-	-	-
									2	-	-	+/-	-	++	-
									3	-	-	+	-	-	-
									4	-	-	-	-	-	-
									5	-	-	+/-	-	-	-
									6	-	-	-	-	-	-
1	1	-	-	+++	+/-?	-	-	8	1	++	+	+++	+	-	-
	2	-	-	+++	++	-	-		2	+	+	++	+	-	-
	3	-	-	-	+++	+++	-		3	+++	+	+++	+++	-	-
	4	-	-	+++	+/-?	+/-?	-		4	++	+	+++	+++	+	-
	5	-	-	+++	-	+/-?	-		5	+	-	+	++	-	-
	6	-	-	+++	-	-	-		6	-	-	+/-	++	-	-
2	1	-	-	-	-	-	-	9	1	-	-	+++	+	-	-
	2	-	-	+/-	-	-	-		2	-	-	+++	++	-	-
	3	++	-	+	-	-	-		3	-	-	+++	+++	-	-
	4	-	-	-	-	-	-		4	-	-	+++	+++	-	-
	5	+++	-	-	-	-	-		5	+/-	-	+++	+++	-	-
	6	+++	-	-	-	-	-		6	+/-	-	+++	+	-	-
3	1	+++	-	-	-	-	-	10	1	+++	-	+	-	-	-
	2	-	-	+	-	-	-		2	+	-	+	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-		3	-	-	++	-	-	-
	4	+	-	-	-	-	-		4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-		5	-	-	+	-	-	-
	6	-	-	-	-	+/-	-		6	-	-	-	-	-	-
4	1	-	-	+++	-	-	-	11	1	-	-	-	-	+	-
	2	-	-	+++	-	-	-		2	-	-	+++	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-		3	-	-	+	-	+	-
	4	-	-	-	-	+	-		4	-	-	+++	-	+/-	-
	5	-	-	++	-	-	-		5	-	-	-	-	+	-
	6	-	-	++	+	-	-		6	-	-	+/-	-	+++	-
5	1	-	-	-	+++	-	-	12	1	-	-	+	-	-	-
	2	-	(+)	+	+++	++	-		2	+++	-	+++	+/-	-	-
	3	-	(+)	-	++	-	-		3	+++	-	+++	-	-	-
	4	-	-	+	+++	+/-	-		4	-	-	+++	-	-	-
	5	(+)	(+)	-	++	-	-		5	-	+	+++	-	-	-
	6	-	-	+++	+++	-	-		6	-	+	+++	-	-	-
6	1	+/-	-	-	-	++	-	13	1	-	-	+++	-	-	-
	2	-	-	-	-	++	-		2	-	-	+++	-	-	-
	3	-	-	-	-	+++	-		3	-	-	+++	-	-	-
	4	+/-	-	+	-	++	-		4	-	-	+++	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-		5	+	-	+++	-	-	-
	6	-	-	-	-	-	-		6	-	-	+++	-	-	-

Unsere Forschungsarbeiten – im Jahre 2005

Dadurch dass Viren in Völkern gefunden wurden, die als gesund angesehen werden, war das Ziel im Frühjahr 2005, diejenigen Proben, welche aus gesunden Völkern stammen mit denjenigen zu vergleichen, welche aus Völkern kommen, in denen es zu einer grossen Bienensterblichkeit oder sogar zum Auslöschen des ganzen Volkes gekommen war. Zu Beginn des Jahres meldeten einige Imker grosse Völkerverluste. Die erhobenen Proben bestehen folglich aus Winterbienen. Tote Bienen wurden aus toten Völkern entnommen, lebende und tote Bienen aus geschwächten und lebende Bienen aus den augenscheinlich gesunden Völkern des selben Bienenstandes ebenso wie aus Bienenständen mit einer normalen Überwinterung der Bienenvölker. Bislang sind noch nicht alle Proben analysiert worden. Die Ergebnisse werden in einem noch folgenden Artikel veröffentlicht werden. Eine erste Tendenz scheint jedoch zu sein, dass bei Winterbienen auf allen problematischen Bienenständen nahezu systematisch das ABPV anzutreffen ist und dieses Virus in den Bienenproben von den gesunden Bienenständen nicht vorhanden ist. DWV ist auf allen Bienenständen präsent, im Gegensatz zu KBV, CPBV, SBV und BQCV, die generell fehlen. Für DWV und ABPV wurden quantitative Analysen durchgeführt. Bienen, welche aus toten, geschwächten oder gesunden Völkern stammten, wurden gleichzeitig auch einzeln untersucht, um den Prozentsatz an infizierten Bienen sowie ihre Infektionsrate zu schätzen. Man hofft, auf diese Art gesunde von anderen Völkern analytisch unterscheiden zu können.

Wenn uns im Laufe des Jahres weitere Bienenverluste gemeldet werden, ist nicht ausgeschlossen, dass in diesen Bienenproben andere dominante Viren gefunden werden. Da die Varroa bei der Übertragung von Viren wie DWV und ABPV eine Rolle spielt, möchten wir die Verbindung zwischen der Varroa- und der Virusrate sowie der Volksentwicklung untersuchen. Dabei profitieren wir von einem Forschungsprojekt, welches von Martin Dettli durchgeführt wird³. In diesem Projekt werden 11 isolierte Völker gehalten, von denen 7 nicht gegen die Varroa behandelt werden. Dabei werden pro Volk folgende Daten erfasst: die Populationsgrösse, die aufgezogene Brutmenge und die Entwicklung der Varroa-Population. Dazu werden auch Bienenproben für die Virusanalysen gesammelt. Die Proben werden voraussichtlich erst im Jahre 2006 analysiert.

Dank

Unser herzlicher Dank gilt den Imkern, welche 2004 an der Studie teilgenommen haben und ohne deren Mithilfe die Durchführung nicht möglich gewesen wäre. Wir danken ebenfalls den Herren Laurent Gauthier und Max Bergoin aus Montpellier, die sehr offen ihre Analysenmethoden und ihre Erfahrungen an uns weitergegeben haben.

Nach: Berthoud H., Imdorf A., Charrière J.D., Hauter M., Fluri P. (2005) Bienenviren - ein wenig bekanntes Gebiet. Schweizerische Bienen-Zeitung 128 (8) 19-22.

Literatur

1. Allen, M. and B. Ball. 1996. The incidence and world distribution of honey bee viruses. *Bee World* 77:141-162.
2. Ball, B. 2005. Infectivity tests and their interpretation. *Bee Research And Virology in Europe. Conference Proceeding*
3. Dettli, M. 2004. Bienenhaltung ohne Varroabehandlung. *Versuchsplan*
4. Gauthier, L., D. Tentcheva, F. Cousserans, J. M. Bonmatin, M. Bergoin, and M. E. Colin. 2003. Le point sur la présence de virus dans les ruchers français. *Abeilles et fleurs* 644:28-31.
5. Grabensteiner, E., A. Ritter, M. J. Carter, S. Davison, H. Pechhacker, J. Kolodziejek, O. Boecking, I. Derakhshifar, R. Moosbeckhofer, E. Licek, and R. Nowotny. 2001. Sacbrood virus of the honeybee (*Apis mellifera*): Rapid identification and phylogenetic analysis using reverse transcription-PCR. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 8:93-104.

6. Nordstrom, S., I. Fries, A. Aarhus, H. Hansen, and S. Korpela. 1999. Virus infections in Nordic honey bee colonies with no, low or severe *Varroa jacobsoni* infestations. *Apidologie* 30:475-484.
7. Reddy, V. S., P. Natarajan, B. Okerberg, K. Li, K. V. Damodaran, R. T. Morton, C. L. Brooks, III, and J. E. Johnson. 2001. Virus Particle Explorer (VIPER), a website for virus capsid structures and their computational analyses. *J Virol.* 75:11943-11947.