



Benjamin Lamp

vetmeduni
vienna 

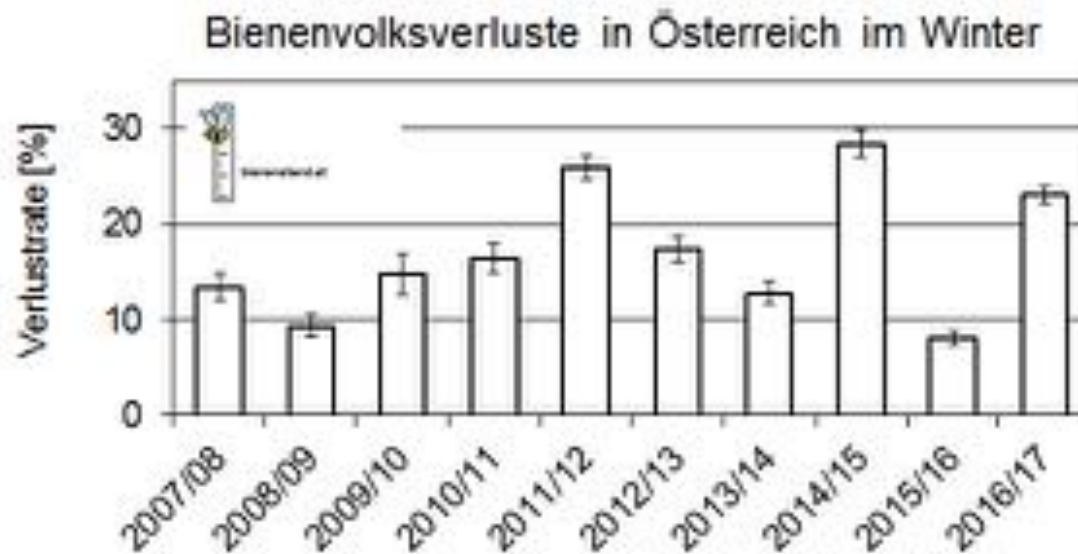
Varroamilben als Überträger des Flügelverkrüppelungsvirus



Die Bienenhaltung steht vor Problemen

- Imker beklagen wiederkehrendes „Bienensterben im Herbst“
 - „Wildlebende“ *Apis mellifera* Bestände nahezu (?) ausgelöscht
 - Zunahme der Völkerverluste in Europa und Nordamerika seit Mitte der 1990er Jahre

Typische „Winterverluste“ als Hauptproblem



Winterverluste (Colony collapse disease?)

■ Starke Völker sterben plötzlich aus

- Aufgeräumter Stock, intakte Waben, Winterfutter vorhanden
- Meist keine oder nur wenige Arbeiter vorhanden
- Klare Anzeichen für Varroaschäden

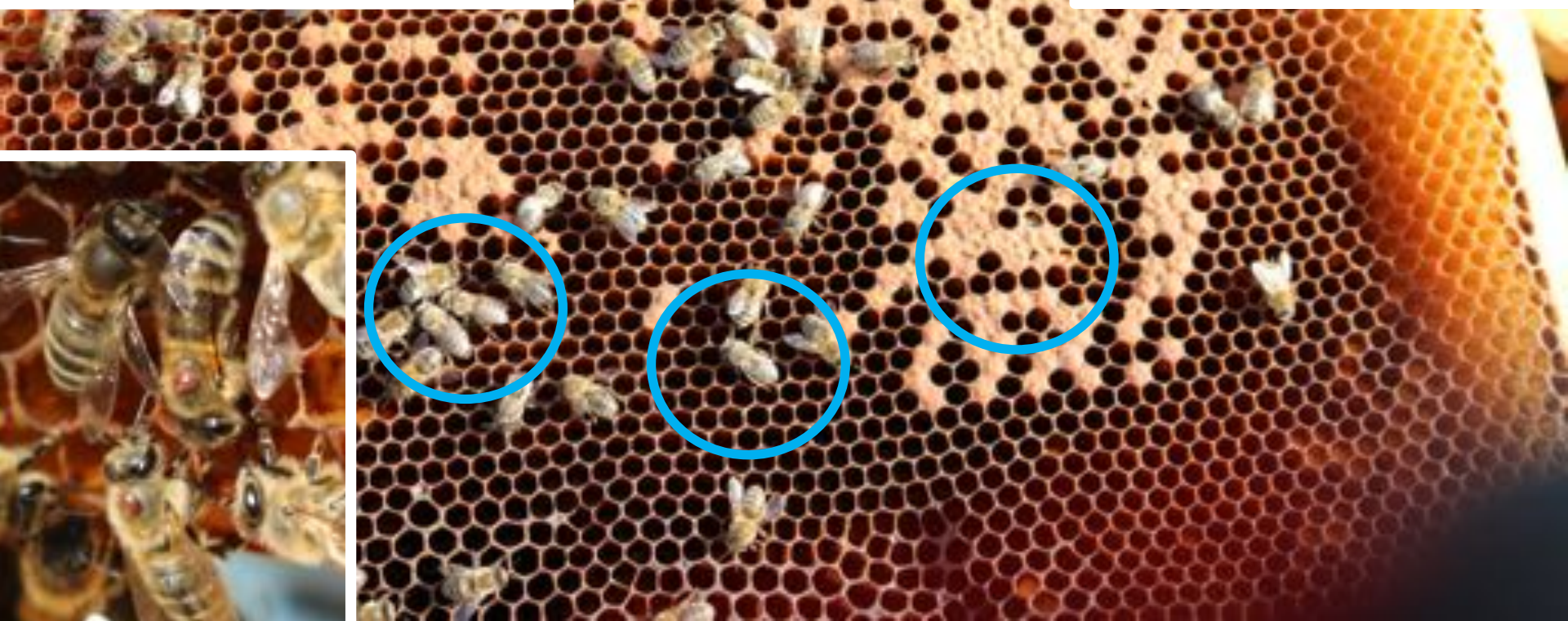


Gesundes Volk



Volk vor dem Untergang

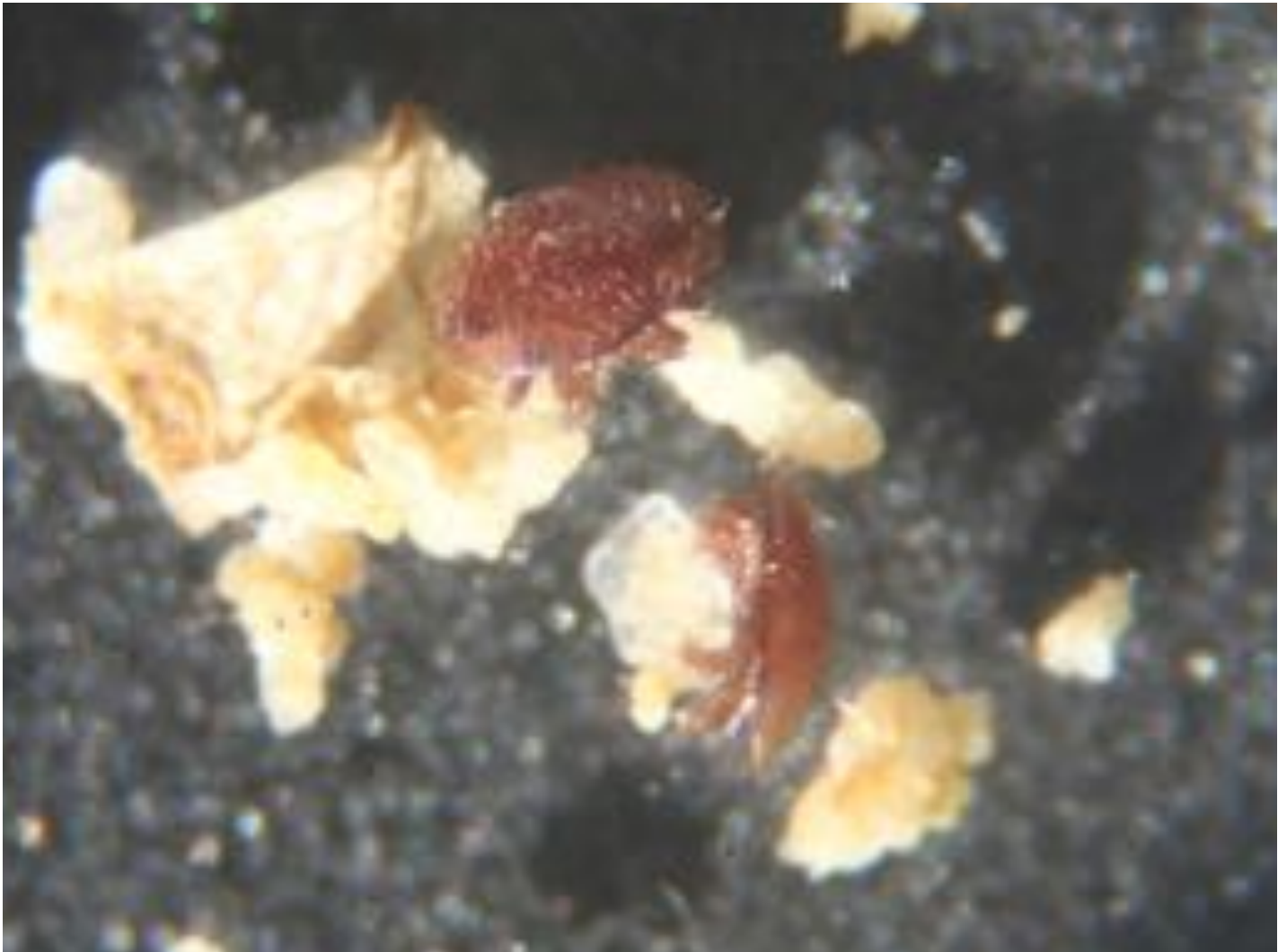
Winterverluste: Wirtschaftsvolk vor dem Untergang



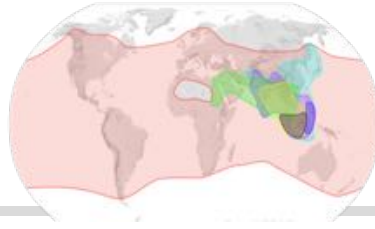
Gesunde Jungvölker (Kunstschwarm)



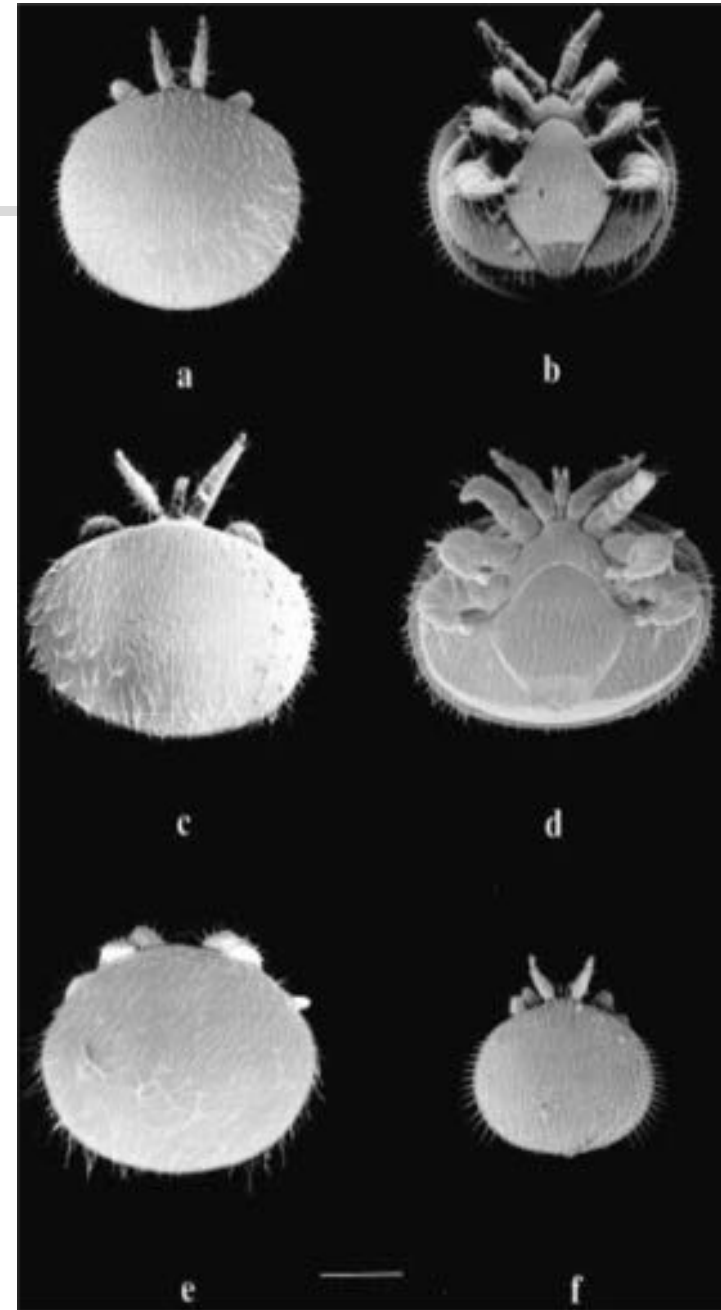
Varroamilben im Gemüll



Varroamilben



- Alle **Varroa-Arten** waren ursprünglich Parasiten Asiatischer Honigbienen
 - ***V. jacobsoni*** (*A. cerana*, Indonesien und Malaysia) in a und b
 - ***V. destructor*** (*A. cerana*, Kontinental Asien und Inseln) in c und d
 - ***V. rindereri*** (*A. koschevnikovi* - Borneo) in e
 - ***V. underwoodi*** (*A. cerana*) in f
- **Euvarroa-Arten** nur bei Zwergbienen
 - ***E. wongsirii*** (*A. adreniformis* - Thailand)
 - ***Euvarroa sinhai*** (*A. forea* - Asien)



Varroen als Brutparasiten bei *Apis mellifera*



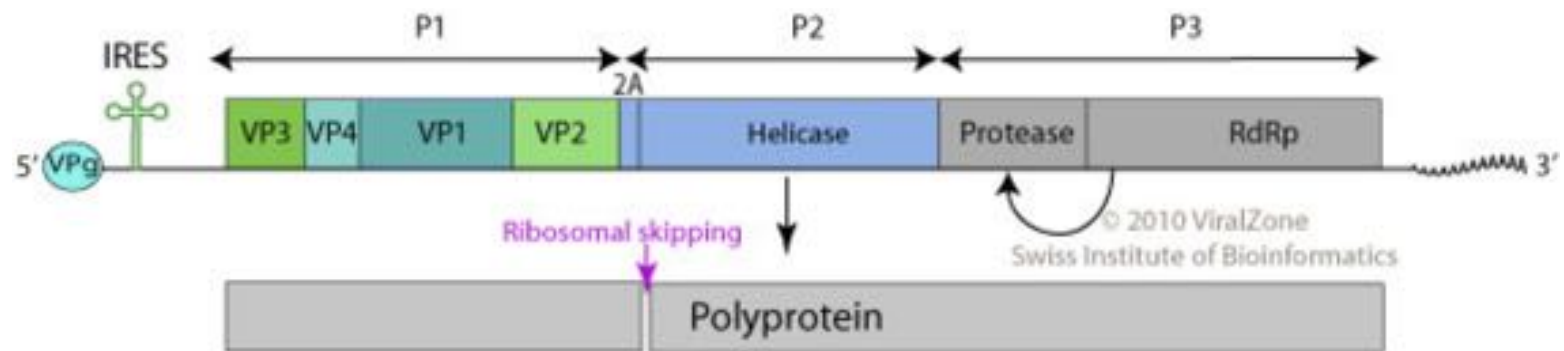
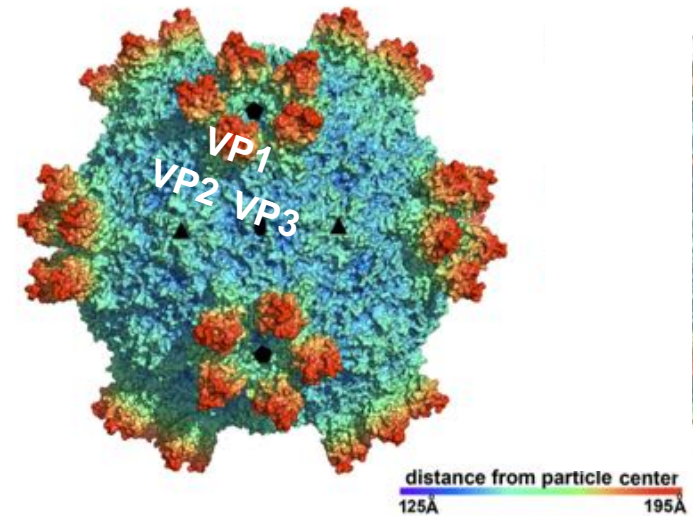
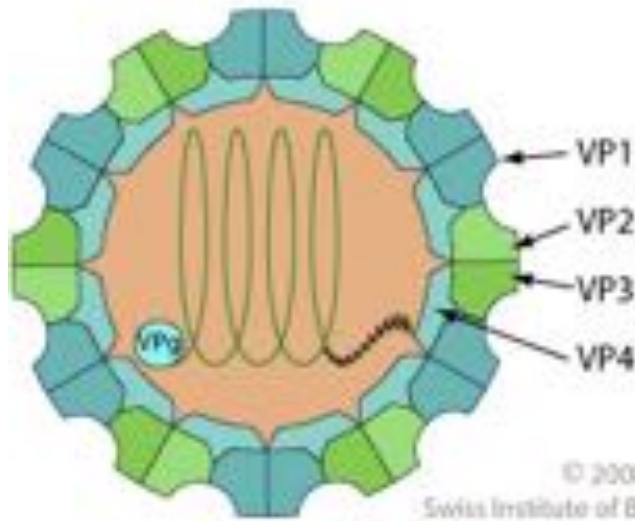
- Beim natürlichen Wirt nur in Drohnenbrut!
- **Varroose:** Parasitic mite syndrome (PMS) bewirkt Untergang der Kolonie innerhalb von Monaten bis Jahren
- ***V. destructor*** (Kontinental Asien und Inseln): Korea Haplotyp (1950 UDSSR --> weltweite Verbreitung), Japan Haplotyp (1957 Japan --> Thailand und USA), viele weitere Haplotypen in Asien
 - K- und J-Haplotypen nahezu klonal: 2 Wirtswechsel zu *A. mellifera* belegt
- ***Varroa jacobsoni*** (Indonesien und Malaysia): Papua New Guinea in 2008 (Roberts 2015)

Parasitic mite syndrome: *V. destructor* als Vektor für das Flügeldeformationsvirus (DWV)

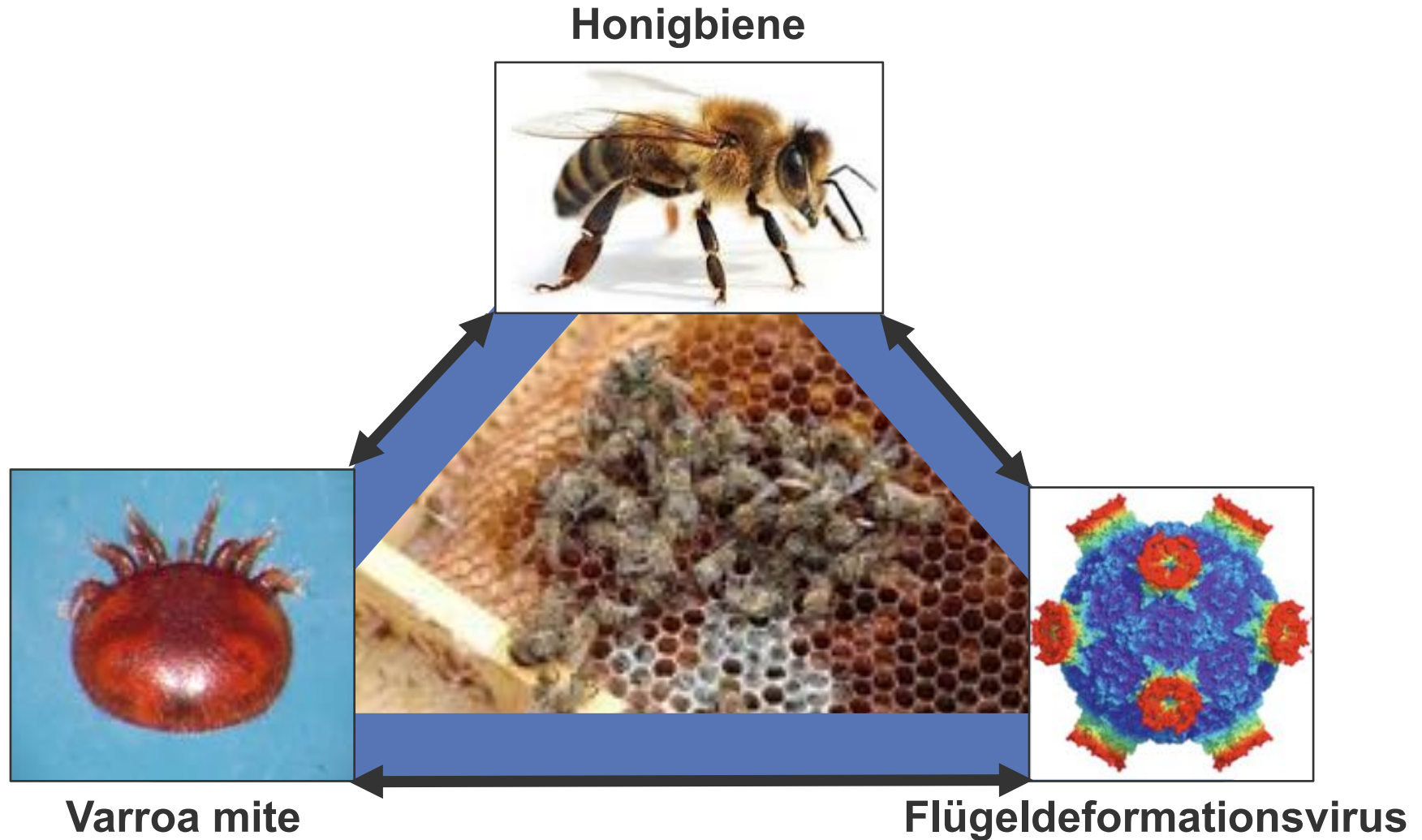
- **Erster Hinweis: Korrelation zwischen Winterverlusten Varroa und DWV**
 - DWV-Titer steigen mit der Varroalast (Allen & Ball 1996) und korrelieren mit Winterverlusten (Highfield 2011)
 - Injektion mit DWV erzeugt verkrüppelte Bienen (Möckel et al. 2011)
 - DWV ist alleine verantwortlich für Puppenmortalität und Verkrüppelungen (Lamp et al. 2017)



Flügeldeformationsvirus: Biologie der Iflaviridae



Eigenes Forschungsinteresse: Zusammenspiel von Wirt, Parasit und Virus

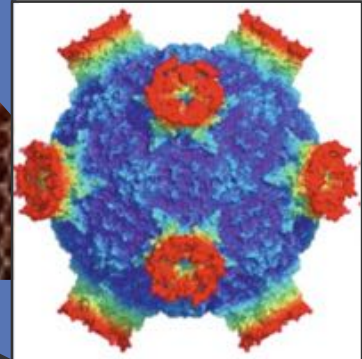


Eigenes Forschungsinteresse: Zusammenspiel von Wirt, Parasit und Virus

Honigbiene



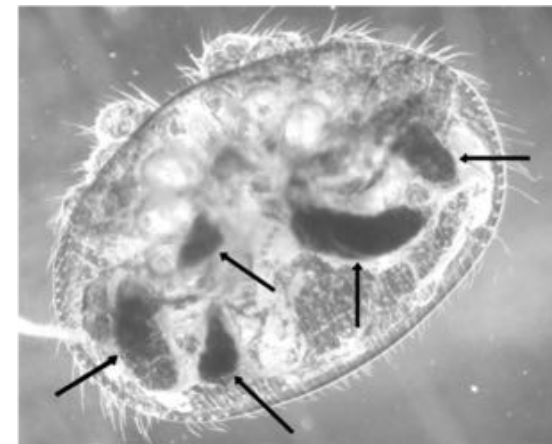
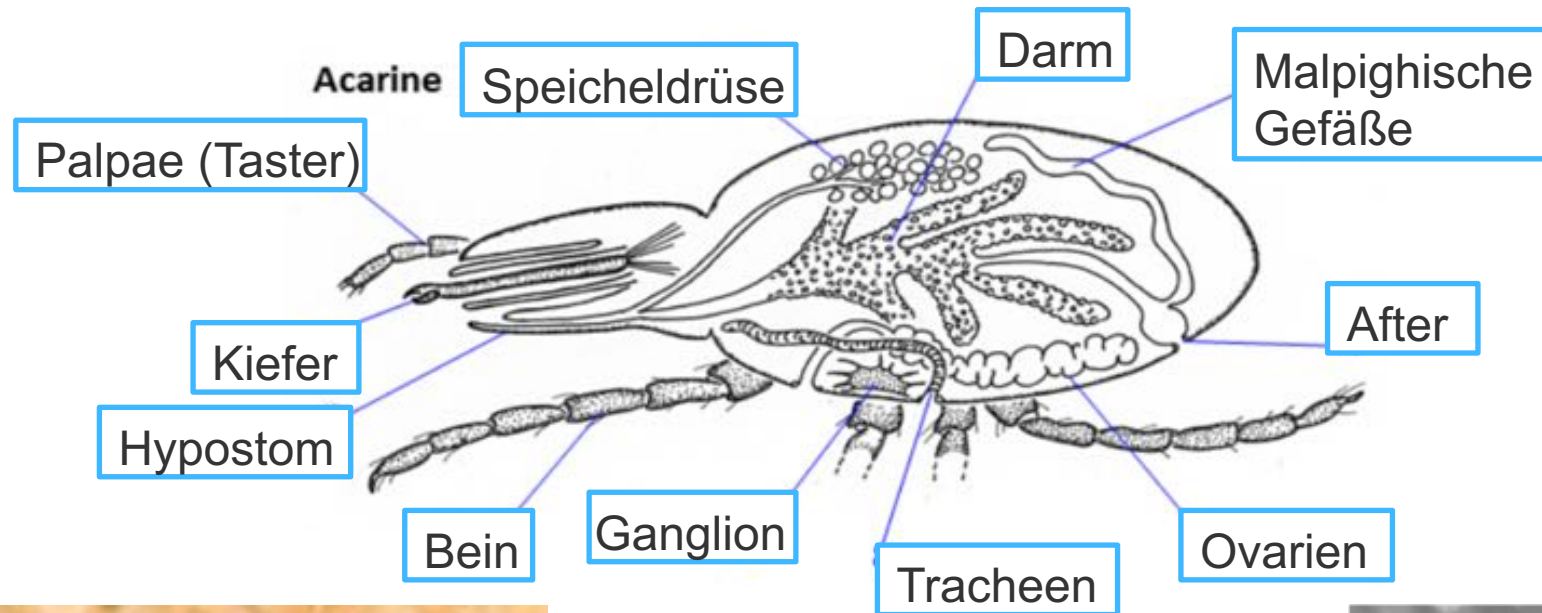
Varroamilbe



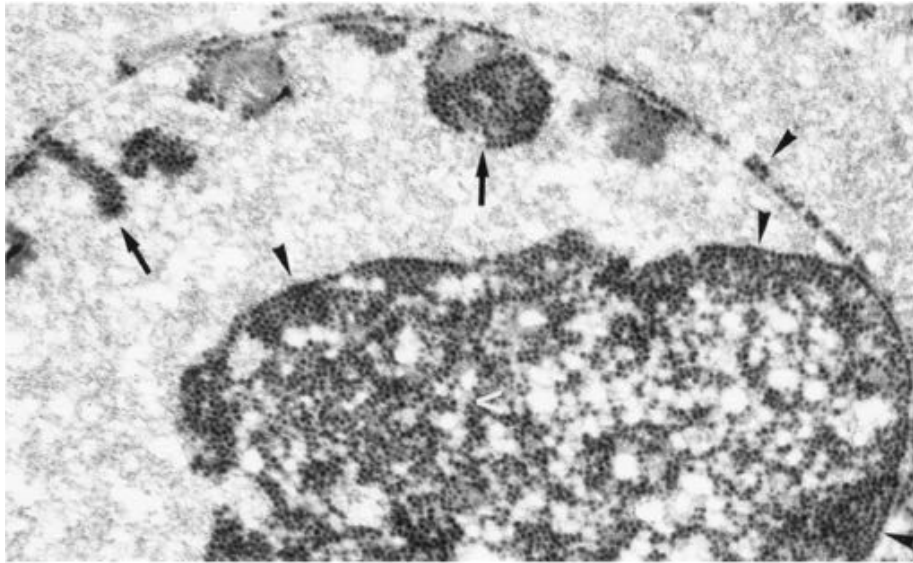
Flügeldeformationsvirus

Vermehrt sich das Virus in Milben?

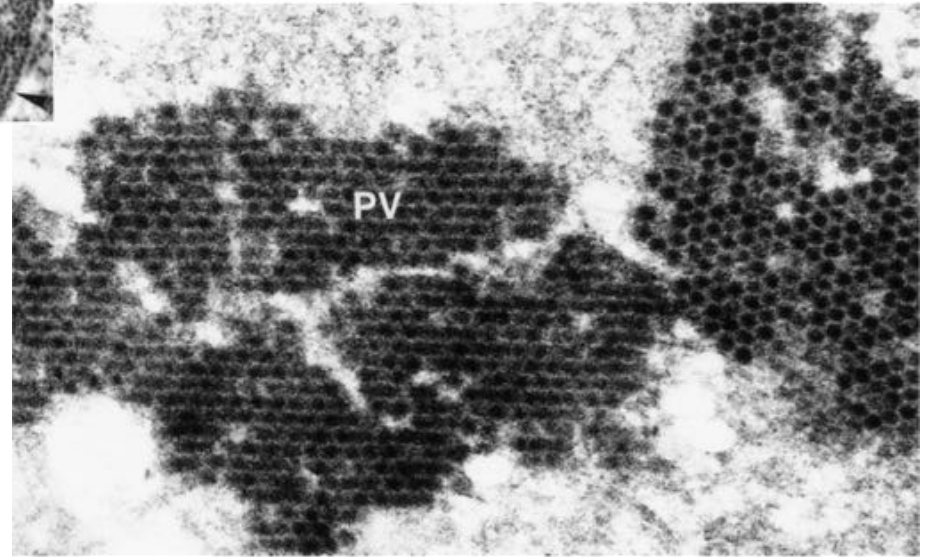
1. Milbenanatomie



Viruspartikel im Fettkörper von Milben (2000)

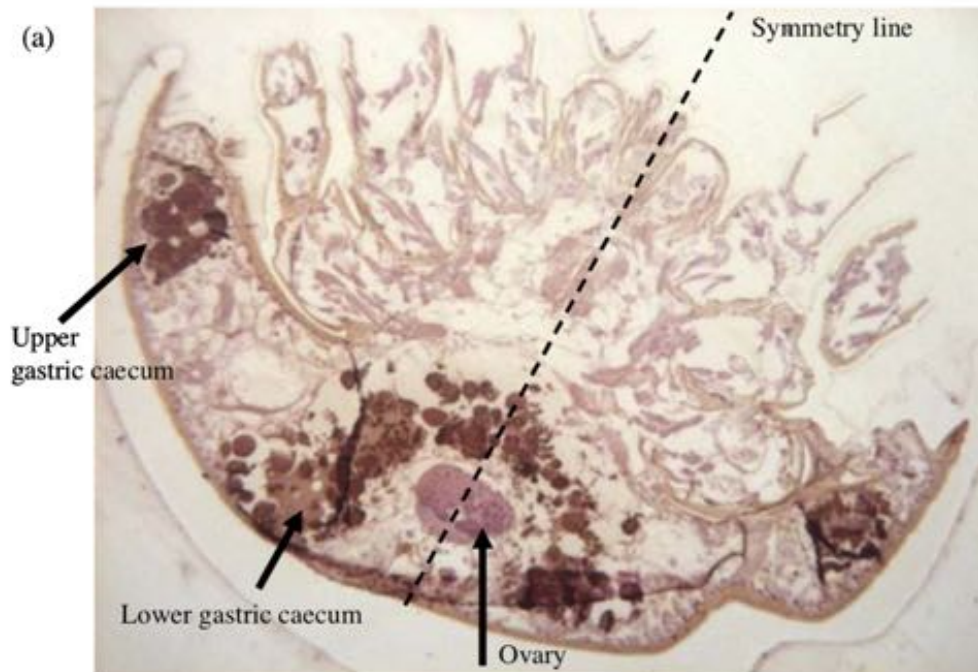


DWV im Zellkern (30 nm)?

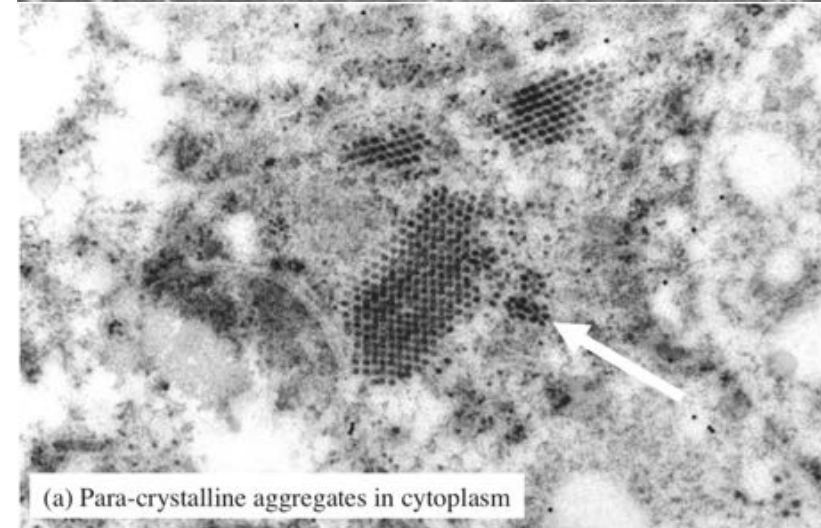
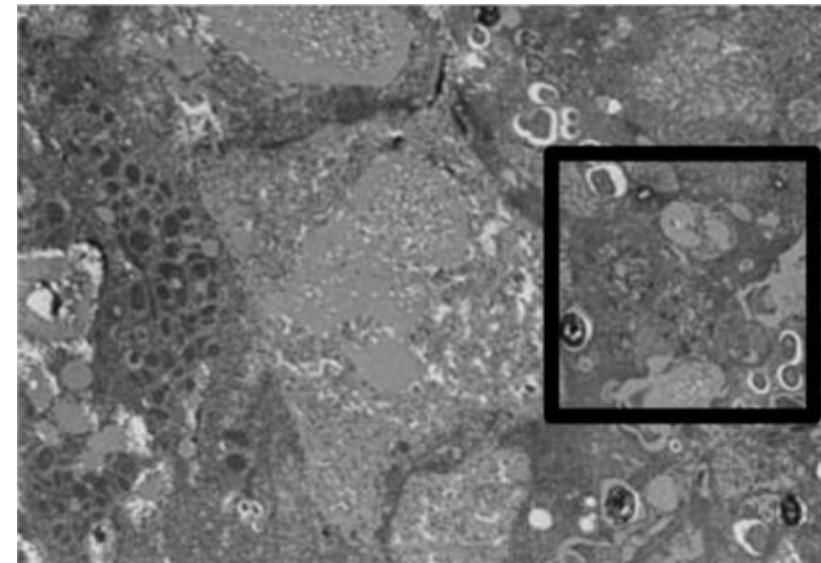


Parakristaline Anordnung im Zytoplasma

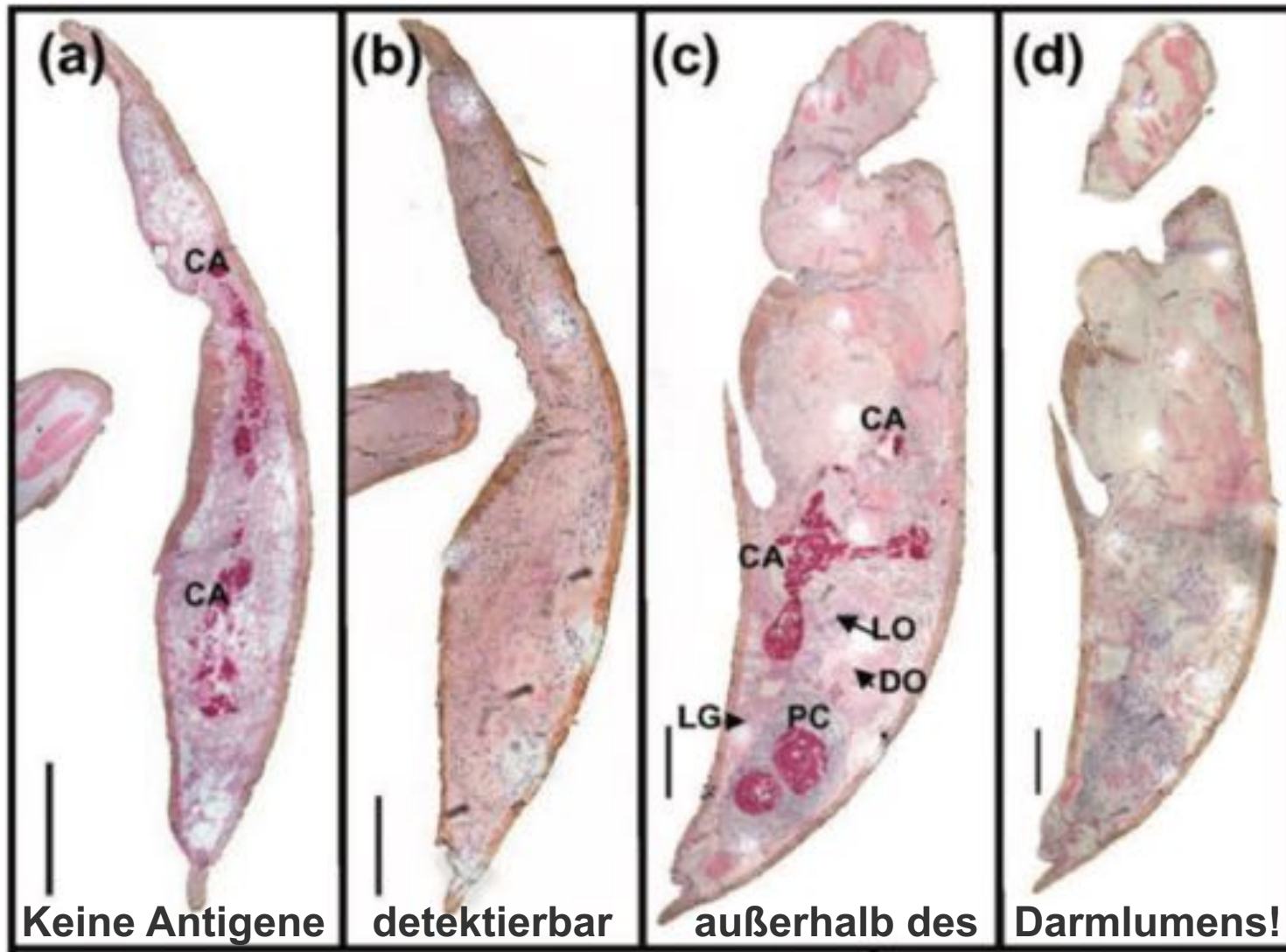
Virus-Detektion in Varroa-Enterozyten (2007)



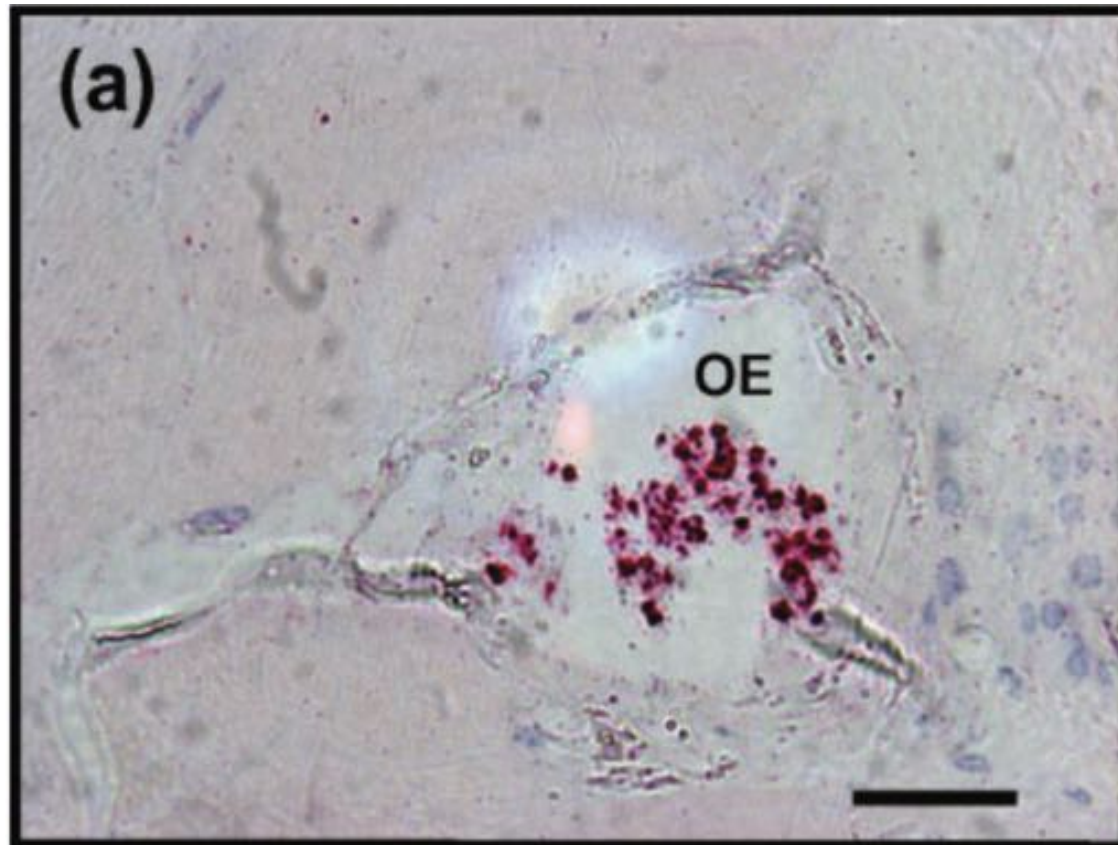
Immunserum gegen Virus aus Milben!



Immunhistologie mit einem spezifischen Antiserum (2008) – Nur im Darmlumen

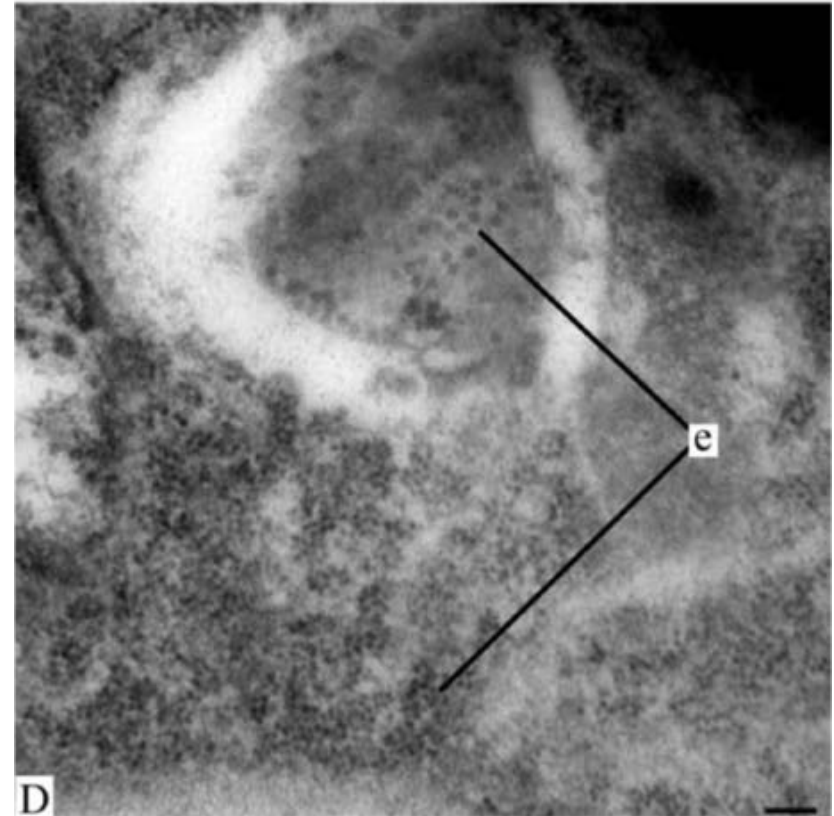
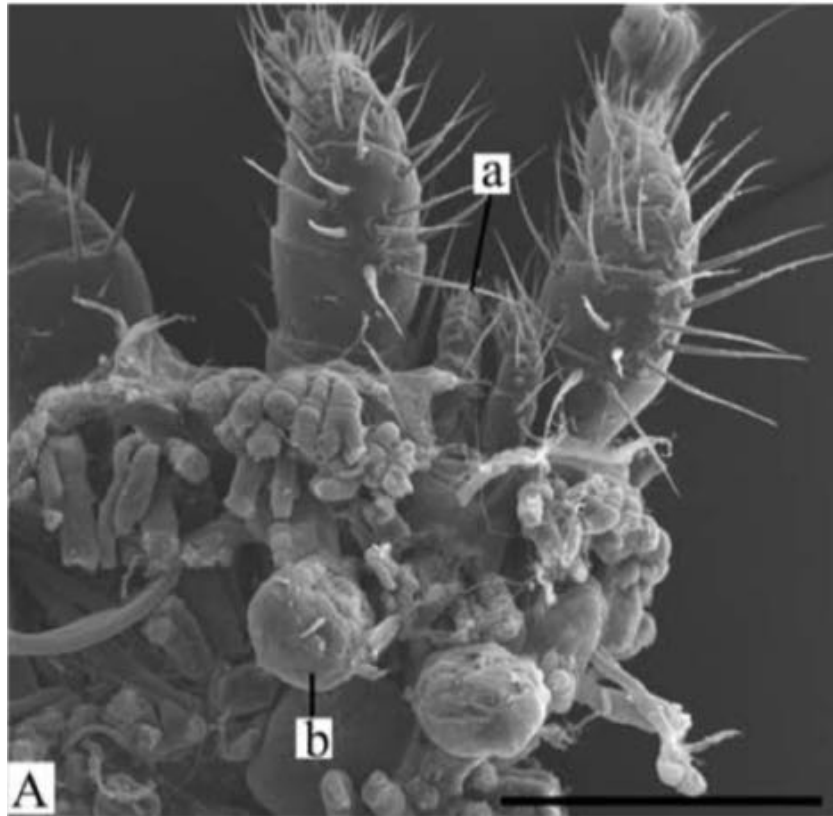


Immunhistologie mit einem spezifischen Antiserum (2008)



Antigene detektierbar im Lumen des Ösophagus

Viruspartikel in EM der Speicheldrüsen sichtbar (2010)?



Eigene Studien: Reportervirus (DWV-GFP)

- Insertion von fluoreszierende Proteinen in das DWV-Genom
- Erleichterte Detektion der Infektion

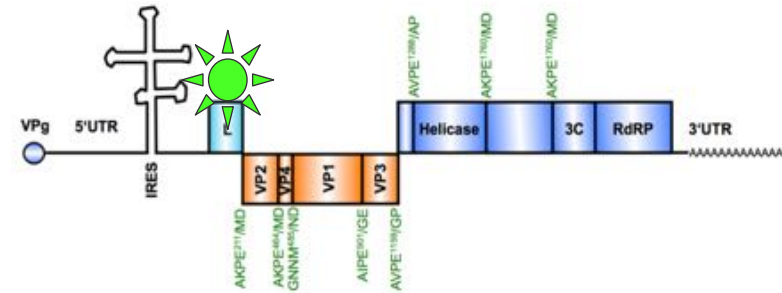


Bild leider nicht zu veröffentlichen!

Flügeldeformationsvirus: Reportervirus (DWV-GFP) – Erklärung der Pathogenese

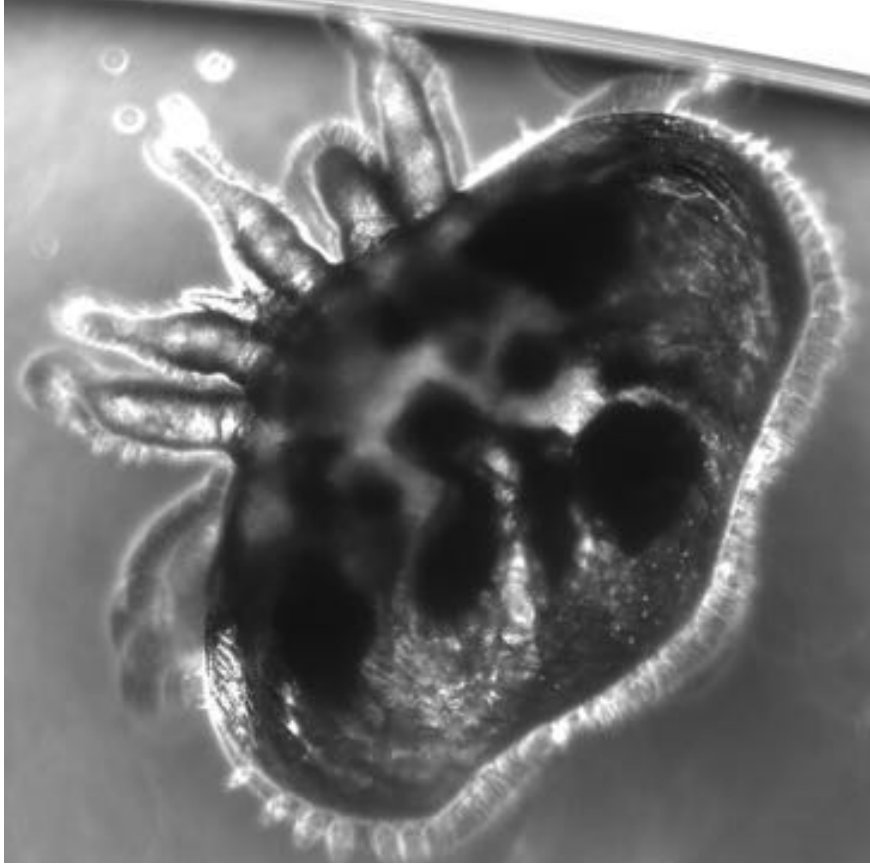
Bild leider nicht zu veröffentlichen!

Eigene Studien: Reportervirus (DWV-GFP)

- Partikelstruktur trotz Genomvergrößerung unverändert
- Reportergen wird über viele Passagen stabil exprimiert

Bild leider nicht zu veröffentlichen!

Signale des roten Reportergens aus einer infizierten Varroanymphe



**Bild leider nicht zu
veröffentlichen!**

Signale des roten Reportergens aus einer infizierten Varroanymphe: Immunhistochemie

Bild leider nicht zu veröffentlichen!

Reportervirus: DWV-GFP Immunhistochemie (B2 anti GFP)

**Gesunde
Kontrollbiene**

Bild leider nicht zu veröffentlichen!

DWV-GFP

Ongus et al. (2004) and Yue & Genersch (2005)

Negativ-Strang RT-PCR

Nicht überzeugend!

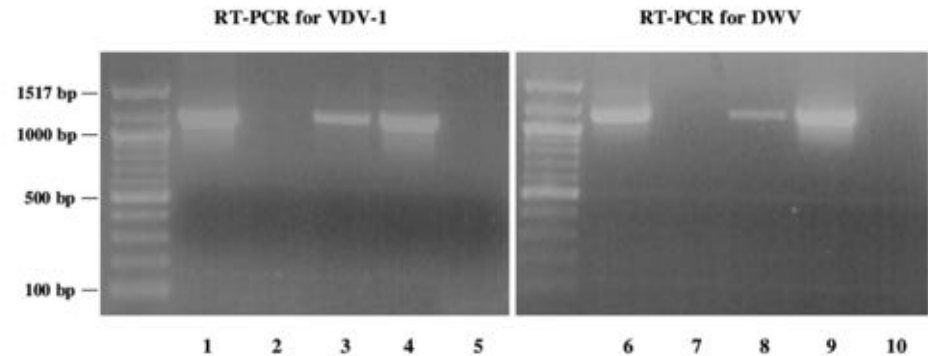
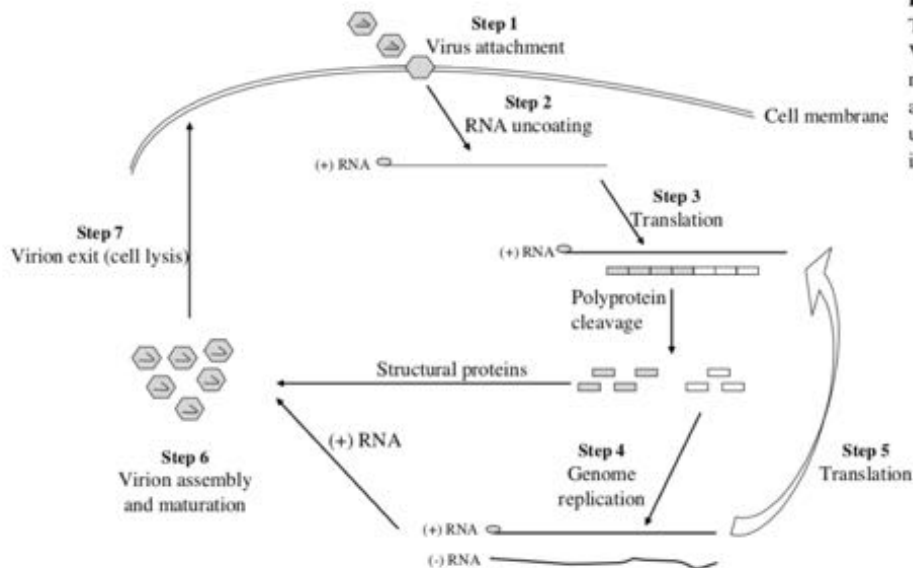


Figure 4-2: Reverse transcription PCR with selective primers for VDV-1 (left panel) and DWV (right panel). The amplified fragments have a length of 1130 bp for VDV-1 and 1129 bp for DWV. In the RT-PCR for VDV-1, PCRs were performed to amplify the positive sense viral RNA genome (lane 1), as well as the negative sense RNA (lane 3). A negative control without a RT step (lane 2) and a positive PCR control using a plasmid clone as template (lane 4) were also performed. The specificity of the primers was checked by PCR using a DWV plasmid clone with VDV-1 primers (lane 5). The replication analysis for DWV was carried out in a similar way (right panel) and lanes 6-10 were loaded in the same order as lanes 1-5.

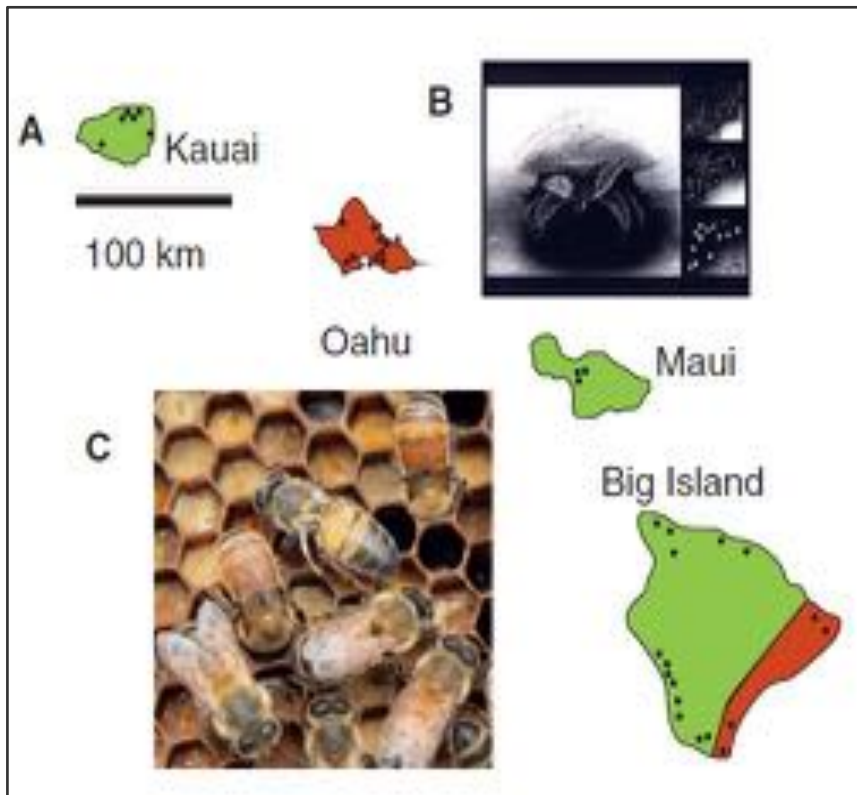
Lebenszyklus des Virus



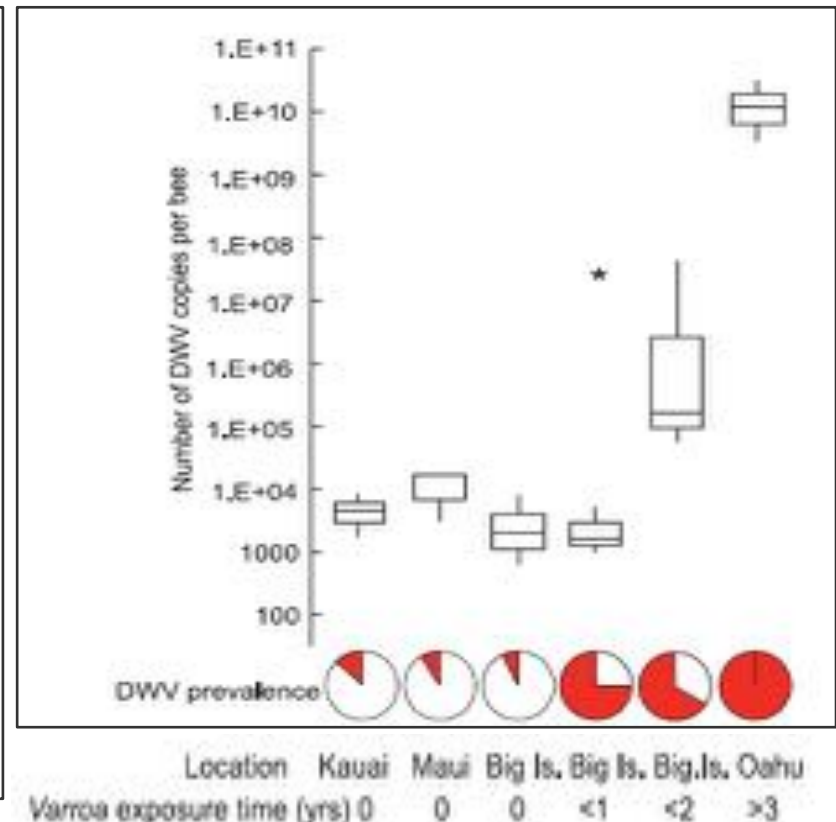
Besser wäre Nachweis der Nichtstrukturproteine!

Selektionshypothese

- DWV ist ein Pathogen der Honigbiene (schon immer da)
- Varroamilben selektieren hochpathogene Stämme, die sie verbreiten



Frontlinie: Varroa erreicht Hawaii



Milbe steigert DWV-Titer

Viruslast bleibt erhalten!

■ DWV-Titer läuft der Milbenlast nach!

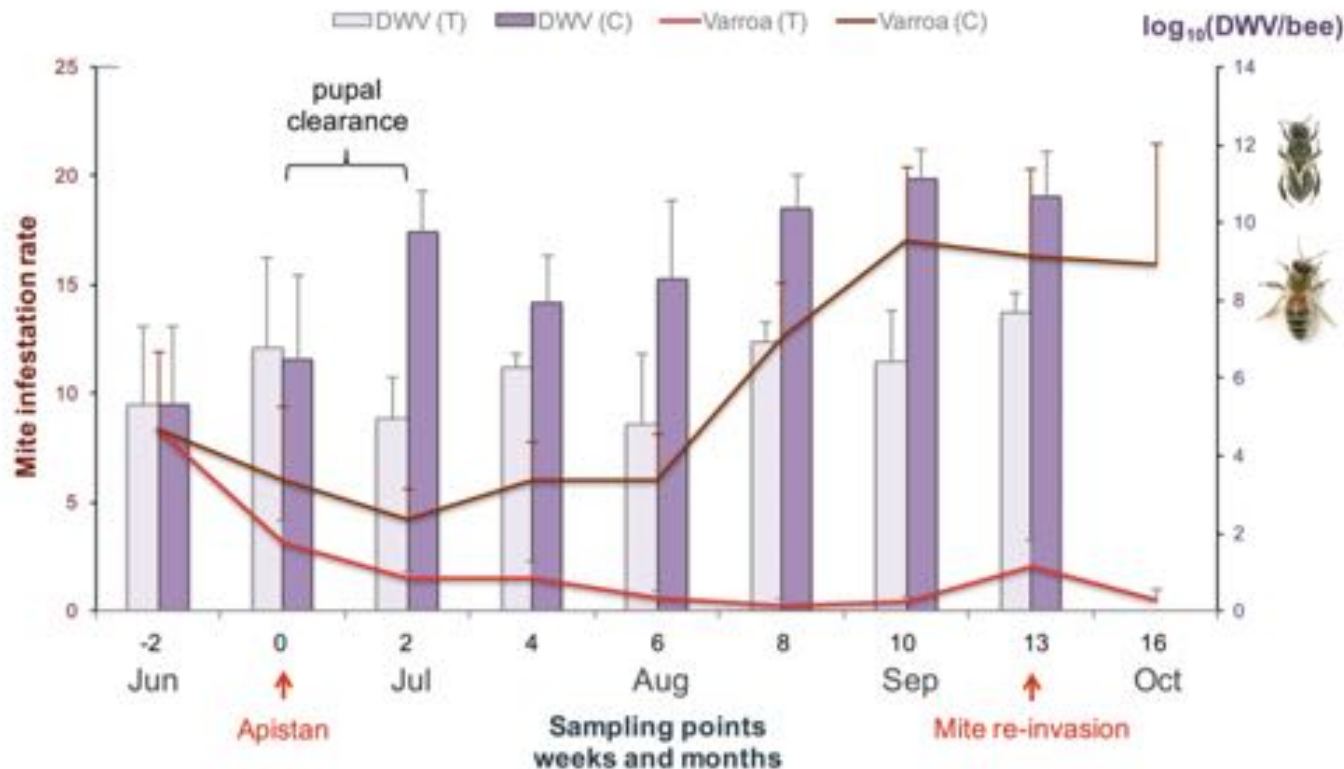
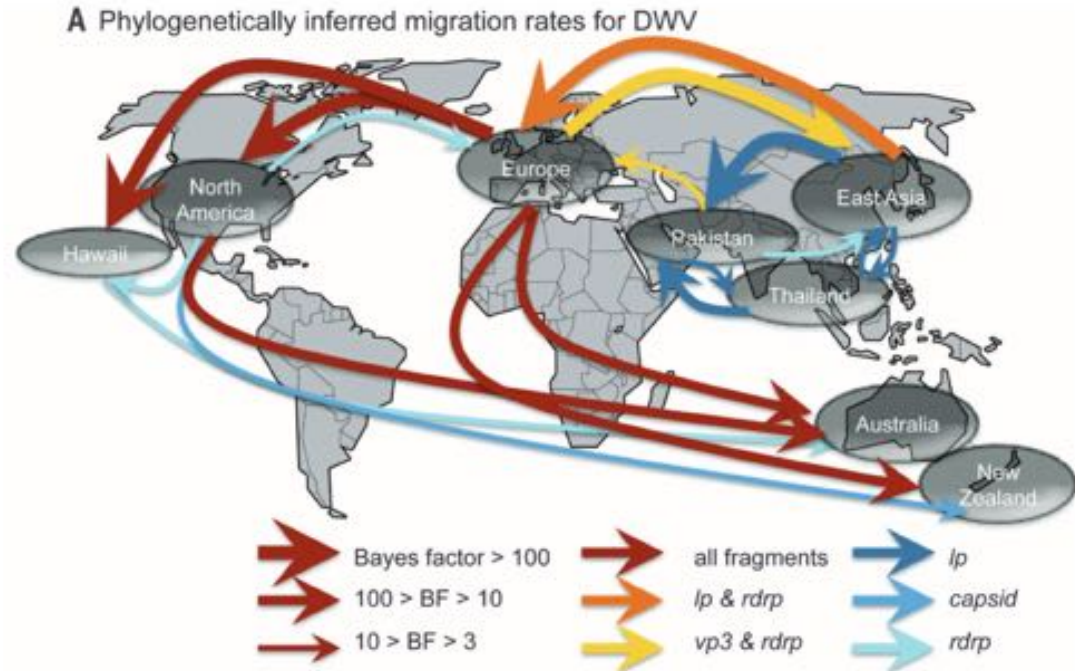
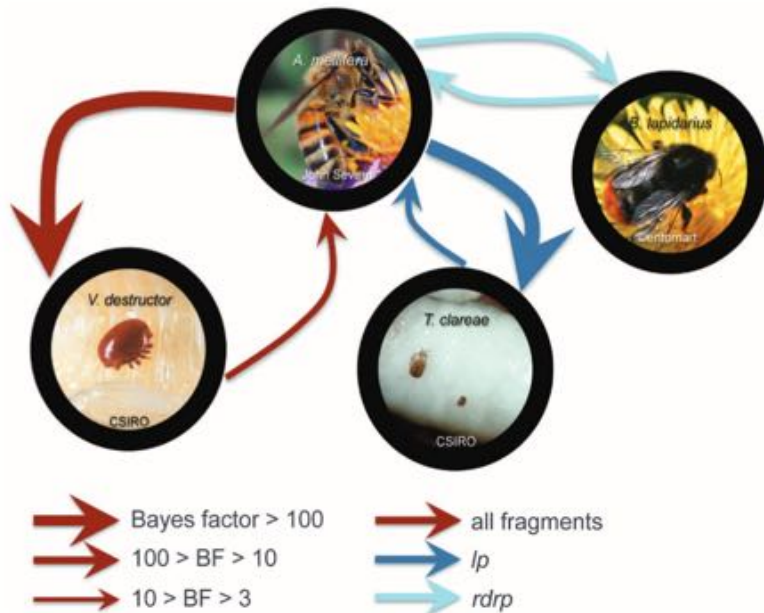


Fig 2. Average DWV titres in pupae. The average DWV titres with standard error bars in pupae in Apistan treated colonies (light bars) and untreated control colonies (dark bars) are presented on the right y-axis. The symptomatic bee with deformed wings and the asymptomatic bee represent the difference in titre amounts between clinical and sub-clinical DWV on the right y-axis. The average mite infestation rates with standard error bars in treated colonies (light red lines) and untreated colonies (dark red lines) are presented on the left y-axis. The sampling points are presented progressively in weeks (and months) in relation to when the Apistan treatment was administered.

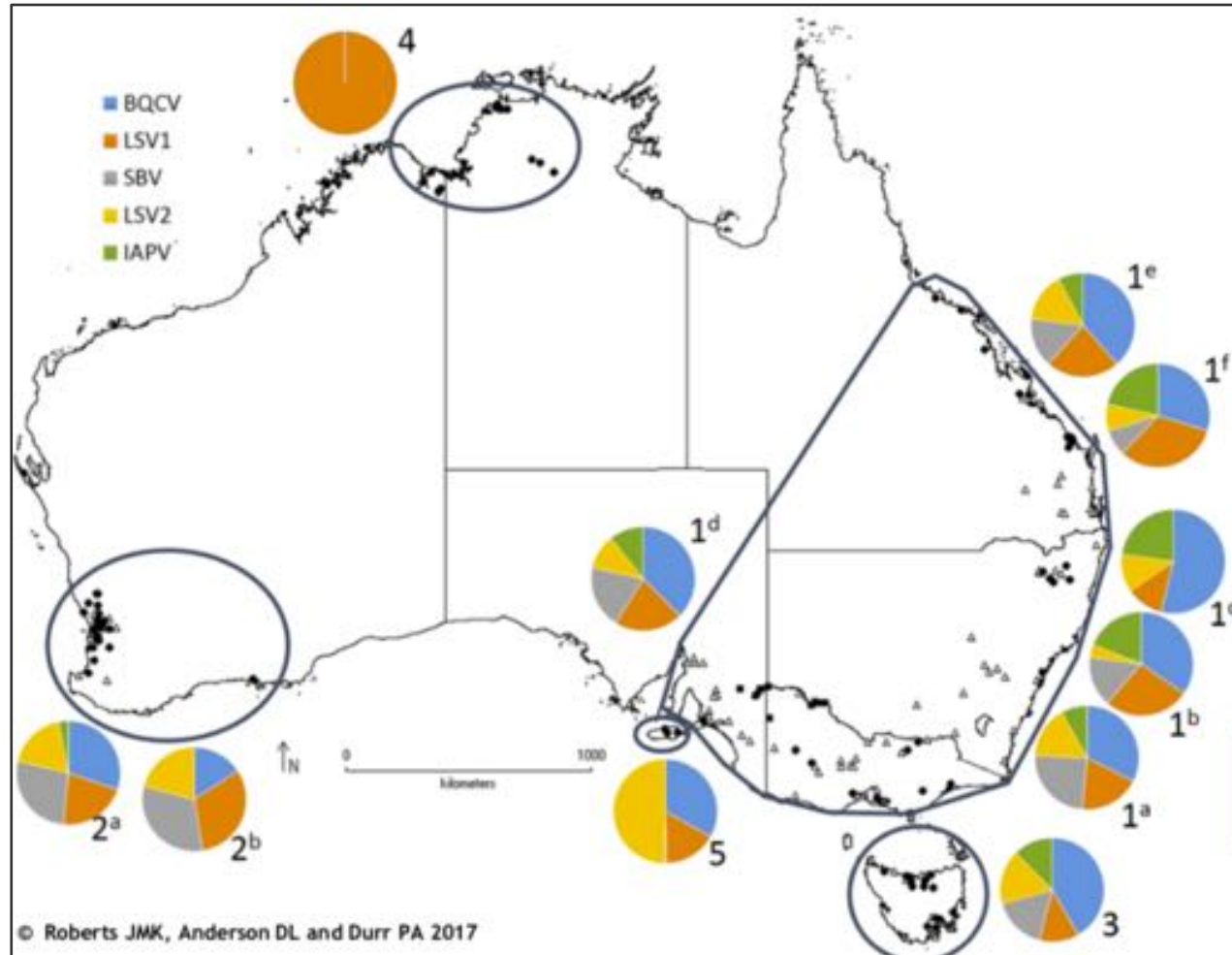
DWV ein natürliches Bienenpathogen?



Aber: DWV unbekannt bevor die Varroa kam!



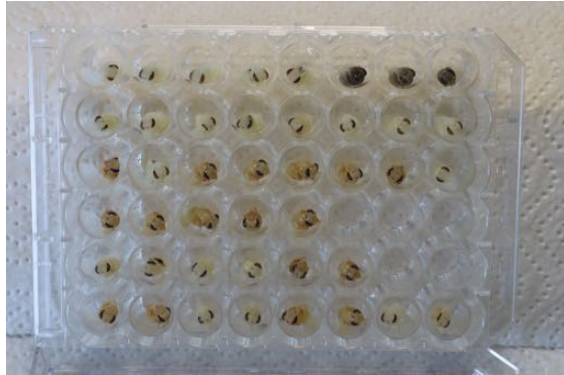
Aber: DWV unbekannt bevor die Varroa kam!



Honigbienen: Infektionsmodelle und Zellkultur

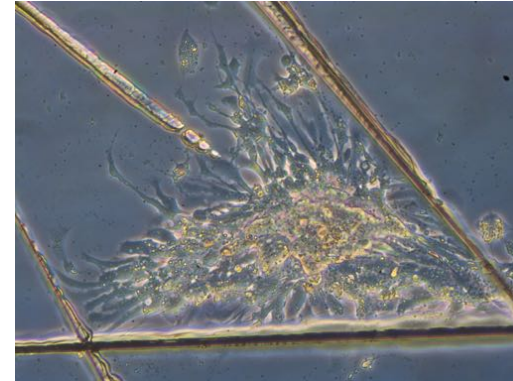
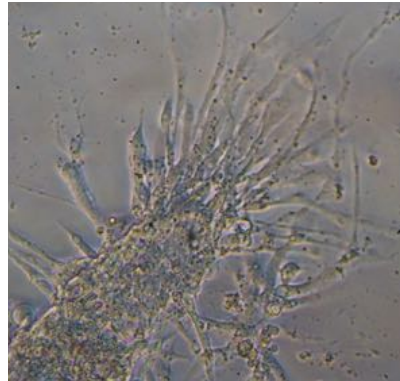
■ Bienen im Labor

- Einzeltiere und Kolonien



■ Zellkultur: Primärzellen und Zelllinien

- Wachstumsfaktoren ermöglichen erfolgreiche Kultur



Varroa destructor: In vitro Systeme zur Milbenhaltung

■ Varroamilben im Labor

- Nachstellung der Parasiten-Wirt-Beziehung im Eppendorfgefäß



Danksagung

- **Institut für Virologie** (Vetmeduni Wien)
K. Seitz, K. Buczolic, T. Rümenapf
- **Institut für Pathologie** (Vetmeduni Wien)
- **Institut für Parasitologie** (Vetmeduni)
- **Fachtierarzt-Kommission Bienen** (ÖTK)
- **Bienenabteilung der AGES**
- **Computer Vision Lab** (TU Wien)
- **CEITEC** (TU Masaryk)
- **ARGE Bienenforschung** (BoKu)



Geldgeber: Many thanks!



Landwirtschaftsministerium
Österreich (BMNT)

Gesundheitsministerium
Österreich (BMFG)

