

Potenziale & Herausforderungen: RNA-basierter Pflanzenschutz

FORSCHUNG AN VIELVERSPRECHENDEN ALTERNATIVEN WIRSTOFFEN

Die zunehmende Notwendigkeit einer nachhaltigen Nahrungsmittelproduktion vor dem Hintergrund multipler globaler Krisen wie Klimawandel, Biodiversitätsverlust und Bevölkerungswachstum erfordert neue Pflanzenschutzstrategien.

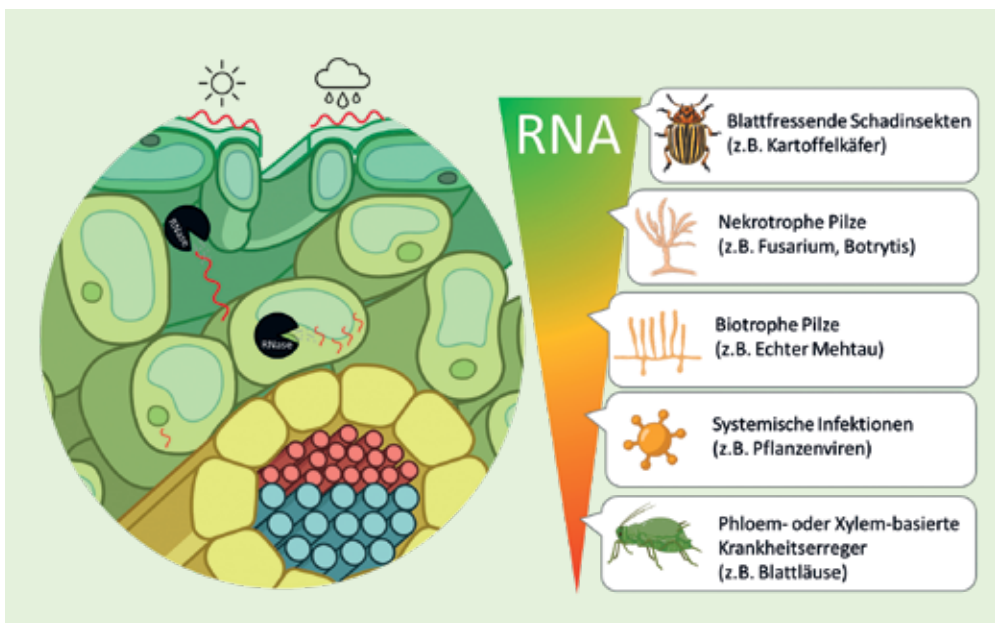
Text & Grafik: A. Koch

Die zunehmende Notwendigkeit einer nachhaltigen Nahrungsmittelproduktion vor dem Hintergrund multipler globaler Krisen wie Klimawandel, Biodiversitätsverlust und Bevölkerungswachstum erfordert neue Pflanzenschutzstrategien. Möglicherweise steht sogar eine Transformation der Pflanzenproduktion bevor, die derzeit intensiv diskutiert wird und ein zentrales Thema vieler Pflanzenschutztagungen ist. Die Tatsache, dass viele Wirkstoffe ihre Zulassung verlieren, verschärft die Situation für viele Anwender erheblich, da geeignete Alternativen meist fehlen. Die gesellschaftliche Forderung nach einer pestizidfreien Landwirtschaft zum Schutz von Umwelt und Biodiversität erhöht den Druck auf die Pflanzenschutzmittelindustrie und die Anwender. Der übermäßige Einsatz von chemisch-synthetischen Pflanzenschutzmitteln wird als eine der wesentlichen Ursachen für den Rückgang von Insektenpopulationen diskutiert (WAGNER ET AL. 2021). Angesichts dieser Herausforderungen werden innovative Lösungen, die im Einklang mit dem Schutz der Biodiversität stehen, immer dringlicher. Diese Notwendigkeit ist in nationalen und internationalen Initiativen wie dem europäischen Green Deal und den Bioökonomiestrategien

Deutschlands, der EU und der UN verankert. Auch wenn das EU-Ziel einer 50-prozentigen Reduktion konventioneller Pestizide bis 2030 vorerst gestoppt wurde, bleibt die Forderung nach einer Reduktion insbesondere in Deutschland bestehen. Der Bedarf an vielversprechenden und praxistauglichen Alternativen zur Bewältigung dieser Herausforderungen ist daher weiterhin hoch.

RNA-WIRKSTOFFE ALS ALTERNATIVE

Eine vielversprechende Alternative sind Wirkstoffe auf Basis doppelsträngiger RNA (dsRNA). Ihr Wirkprinzip ist ebenso einfach wie effektiv: Die doppelsträngigen RNA-Moleküle lösen einen Wirkmechanismus aus, der in den Zellen des Zielorganismus (in diesem Fall des Schädlings) natürlicherweise vorkommt: die RNA-Interferenz (RNAi). Dabei wird die dsRNA zunächst durch spezifische so genannte Dicer-Enzyme zu kleinen RNAs prozessiert und in einen Silencing-Komplex eingebaut. Dieser Komplex steuert dann gezielt komplementäre messenger (m)RNA-Transkripte an, bindet an diese und verhindert so die Bildung eines essentiellen Proteins. Da auf diese Weise (theoretisch) ganz spezifisch nur Proteine eines einzelnen



Barrieren der RNA nach der Sprühapplikation auf Blätter und ihr Einfluss auf die Erregerkontrolle: Nach der Sprühapplikation auf die Blattoberfläche muss die RNA verschiedene Barrieren überwinden, um in die pflanzlichen Gewebe und Zellen aufgenommen zu werden.

Schaderregers oder einer einzelnen Schaderregerart adressiert werden können, weisen dsRNA-Wirkstoffe eine sehr hohe Selektivität auf.

In der Medizin wird die RNAi-Technologie bereits seit 2018 mit derzeit fünf in Deutschland zugelassenen RNAi-Wirkstoffen eingesetzt. Für den Einsatz in der Landwirtschaft stellen sequenzbasierte Wirkstoffe wie dsRNAs aufgrund ihrer hohen Zielspezifität und dem daraus resultierenden Schutz von Nicht-Zielorganismen eine effektive (und wahrscheinlich auch bessere) Alternative zu herkömmlichen chemisch-synthetischen Pflanzenschutzmitteln dar. Mehr als 100 wissenschaftliche Studien haben bereits die hohe Wirksamkeit von RNAi-basierten Pflanzenschutztechnologien zur Bekämpfung von Krankheitserregern und Schadinsekten in der Landwirtschaft und im Gartenbau gezeigt. Insbesondere das gentechnikfreie Sprühen (sog. RNAi-Spray) von RNA-Wirkstoffen stößt in Deutschland und Europa auf großes Interesse.

Zudem wurde im Dezember 2023 der erste RNA-Wirkstoff mit dem Produktnamen Calantha der Firma Greenlight Bioscience in den USA zugelassen. Bereits 2007 publizierten Wissenschaftler in der renommierten Fachzeitschrift *Nature Biotechnology*, dass der **Kartoffelkäfer** mittels RNAi-Verfahren erfolgreich bekämpft werden kann (BAUM ET AL. 2007). In Freilandversuchen in den USA bestätigte GreenLight Biosciences eine vergleichbare Wirksamkeit des Wirkstoffs *Ledprona* im Vergleich zu herkömmlichen Präparaten wie *Spinosad* und *Chlorantraniliprol*. Insbesondere die geringe Aufwandmenge von *Ledprona* von nur 9,9 g ai/ha (ai=active ingredient/Wirkstoff) im Vergleich zu *Spinosad* mit 88 g ai/ha zeigt das Potenzial dieser Technologie (KOCH ET AL. 2023, DLG).

KÄFER REAGIEREN EMPFINDLICH AUF RNAI-WIRKSTOFFE

Die gute Wirksamkeit gegen den **Kartoffelkäfer** ist nach wissenschaftlichen Erkenntnissen naheliegend, da die Ordnung der Käfer (*Coleoptera*) zu den Schadinsekten gehört, die sehr empfindlich auf RNAi-Anwendungen reagieren. Es überrascht daher nicht, dass es sich beim ersten zugelassenen Produkt um ein Präparat gegen Käfer handelt. Aus diesem Grund ist anzunehmen, dass in näherer Zukunft weitere Produkte gegen Käfer entwickelt werden, die zahlreiche bedeutende Schadinsekten beinhalten (**Maiswurzelbohrer, Drahtwürmer, Rapsderrfloh** etc.).

Schädlinge aus anderen Insektenordnungen scheinen weniger gut auf dsRNA anzusprechen, so dass für diese Produkte weitere Forschungs- und Entwicklungsarbeit erforderlich ist. Es gibt jedoch sehr vielversprechende Ansätze, auch weniger empfindliche Schädlinge wie **Schmetterlinge** (*Lepidoptera*) mit RNAi zu bekämpfen. Hier besteht die Herausforderung vor allem darin, die RNA-Wirkstoffe vor dem Abbau durch Nukleasen im Speichel und Darm der Schadinsekten zu schützen. Grundsätzlich ist für die Anwendung von RNAi-Sprays im Freiland eine Stabilisierung des Wirkstoffs notwendig, um ihn vor Umweltbedingungen zu schützen. Vielversprechende Ansätze bieten hier die Verkapselung, z. B. mit bioabbaubaren Chitosan-basierten Mikrogelen, die als Formulierung im biologischen Pflanzenschutz bereits erfolgreich eingesetzt werden. Aber auch Verfahren wie die Verkapselung von dsRNA in

Alginatkapseln im Rahmen einer „Attract and Kill“-Strategie soll den Transfer der RNAi-Technologie ins Freiland ermöglichen (KOCH UND PETSCHENKA 2022).

Trotz zahlreicher „Proof-of-Concept“-Studien und erster Anwendungsbeispiele bzw. Produktzulassung bestehen noch große Wissenslücken hinsichtlich der zugrunde liegenden molekularen Mechanismen, d. h. wie exogen applizierte RNAs in Pflanzen aufgenommen, prozessiert und transportiert werden und welchen Abbauprozessen und -dynamiken sie unterliegen. Die Herausforderung, den Wirkstoff auf der Blattoberfläche gegen Umwelteinflüsse zu stabilisieren (UV-Stabilität, Regenfestigkeit), bis er von einem blattfressenden Insekt wie dem Kartoffelkäfer aufgenommen wird, ist vergleichsweise trivial (s. Abb.).

WIE KOMMT DER WIRKSTOFF IN DIE PFLANZENZELLE?

Will man aber andere Krankheitserreger bekämpfen, also solche, die sehr eng mit ihrer Wirtspflanze interagieren, muss der Wirkstoff in das Pflanzengewebe, in die Pflanzenzellen aufgenommen werden. Das ist die Voraussetzung, wenn man biotrophe Krankheitserreger wie Mehltaupilze mit RNA-Sprays bekämpfen will. Eine weitere Hürde besteht, wenn die RNA von Zelle zu Zelle wandern und sich schließlich systemisch ausbreiten soll, um Blattläuse oder andere phloemsaugende Schadinsekten zu bekämpfen. Neben Verdünnungsfaktoren spielt hier auch der Abbau der RNA durch pflanzeigene RNA abbauende Enzyme, sogenannte Nukleasen, eine Rolle. Das bedeutet, dass die Konzentration der RNA mit jeder zu überwindenden Hürde stetig abnimmt und damit auch die Wirksamkeit in Abhängigkeit von der Lebensweise bestimmter Schaderreger (s. Abb.).

Erschwerend kommt hinzu, dass der RNA-Wirkstoff nach der Aufnahme durch den Schaderreger weiteren Abbauprozessen unterliegt. So haben viele Insekten, darunter auch Schmetterlingsraupen, ein RNA-feindliches Milieu, das durch hohe Enzymaktivität und extreme pH-Werte zu einem raschen Abbau der RNA führt. Neben der unterschiedlichen Sensitivität, d. h. wie gut ein Organismus auf RNAi-Anwendungen anspricht, beobachten wir auch Unterschiede in der Effizienz, mit der RNA in verschiedene Kulturpflanzen aufgenommen wird.

All diese Faktoren machen es notwendig, maßgeschneiderte Formulierungslösungen zu entwickeln, die an die Bedürfnisse des jeweiligen Pathosystems (Pflanze und Pathogen) angepasst sind, d. h. welche spezifischen Barrieren überwunden werden müssen. Um maßgeschneiderte Formulierungen entwickeln zu können, benötigen wir dringend ein besseres mechanistisches Verständnis, das nur durch intensive Grundlagenforschung gewonnen werden kann. Welche Formulierungen zum Einsatz kommen, wird insbesondere im Hinblick auf die Zulassung und die Risikobewertung im Rahmen der Wirkstoffprüfung von entscheidender Bedeutung sein. Die Frage der Zulassung ist derzeit von besonderer Dringlichkeit, da unstrittig ist, dass man sich auch in der EU in den nächsten Jahren verstärkt mit der Prüfung von RNAi Wirkstoffen befassen wird.

Für Antragsteller aus der Industrie und Anwender ist entscheidend, wie das Zulassungsverfahren für die ersten

Wirkstoffprüfungen angepasst wird, d. h. ob ein verkürztes Verfahren in Betracht gezogen wird. Aus Sicht der Wissenschaft gibt es hierfür genügend Anhaltspunkte, wenngleich die bestehenden Wissenslücken durch weitere Grundlagenforschung sukzessive geschlossen werden müssen, um eine fundierte Basis für die Risikobewertung zu schaffen. Da der wesentliche Vorteil der RNAi-Technologie in ihrer Selektivität liegt, ist die Entwicklung spezifischer, bioinformatische Vorhersagewerkzeuge von entscheidender Bedeutung. Diese Programme sollen bereits bei der Auswahl der RNA-Sequenzen sogenannte „Off-Target“-Effekte, die durch zufällige Sequenzähnlichkeiten mit RNA-Sequenzen in Nicht-Zielorganismen verursacht werden, mit Hilfe von Sequenzdatenbanken von Nicht-Zielorganismen abgleichen. Hierfür ist eine entsprechende Softwareentwicklung, die die Unterschiede in der Wirkungsweise und Spezifität verschiedener Organismengruppen berücksichtigt, dringend erforderlich. Gelingt dies, wird auch die Risikobewertung erleichtert und Industrie und Anwender können auf eine beschleunigte Wirkstoffprüfung hoffen. ■

Literatur:

WAGNER, D.L.; GRAMES, E.M.; FORISTER, M.L.; BERENBAUM, M.R.; STOPAK, D. (2021) Insect Decline in the Anthropocene: Death by a Thousand Cuts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2021, 118, e2023989118

BAUM, J., BOGAERT, T., CLINTON, W. ET AL. (2007) Control of coleopteran insect pests through RNA interference. *Nat Biotechnol* 25, 1322–1326 (2007). <https://doi.org/10.1038/nbt1359>

KOCH A. & PETSCHENKA G. (2022). Exogene Anwendung von RNA zur umweltfreundlichen Bekämpfung von Schadinsekten. *Journal für Kulturpflanzen* 74, 75–84. doi:10.5073/JfK.2022.03-04.05.

KOCH A (2023) RNA-Wirkstoffe gegen den Kartoffelkäfer sind vielversprechend. *Kartoffelbau* 4/2023 (74. Jg.)

DIE AUTORIN

Dr. Aline Koch, Universität Regensburg, Institut für Pflanzenwissenschaften/Lehrstuhl für Zellbiologie und Pflanzenbiochemie
E-Mail: aline.koch@biologie.uni-regensburg.de