

**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von *Mycetohabitans* spp.
als Spender- oder Empfängerorganismen
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Die Gattung *Mycetohabitans* wurde im Jahr 2018 nach umfassenden Genomanalysen innerhalb des umfangreichen Taxons *Burkholderia sensu lato* (Familie der *Burkholderiaceae*) geschaffen und dieser die Spezies *Mycetohabitans rhizoxinica* (ehemals (*Para-*)*burkholderia rhizoxinica*) und *Mycetohabitans endofungorum* (ehemals (*Para-*)*burkholderia endofungorum*) sowie weitere Isolate zugewiesen, die noch keiner Spezies zugeordnet wurden [1]. *M. rhizoxinica* und *M. endofungorum* wurden von der ZKBS bereits in die Risikogruppe 2 eingestuft (Az. 45241.0131 für *Burkholderia rhizoxinica*, Az. 45110.1837 für *B. endofungorum*). Bei *M. rhizoxinica* handelt es sich um die Typusart.

Die Spezies der Gattung *Mycetohabitans* sind intrazelluläre, bakterielle Endosymbionten des Pilzes *Rhizopus microsporus*, der als Erreger der Asiatischen Reiskeimlingsfäule beschrieben ist [2-4]. Neben der Pathogenität für Pflanzen sind auch symptomatische Infektionen mit dem Pilz bei Personen mit prädisponierenden Faktoren beschrieben [5;6]. *R. microsporus* wird aber auch freilebend als Boden-Saprophyt gefunden und zudem für die Sojafermentation genutzt [6]. *R. microsporus* wird gemäß § 5 Abs. 1 i. V. m. Anhang I GenTSV als Spender- und Empfängerorganismus der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Der Pilz ist weltweit in verschiedensten ökologischen Nischen angesiedelt. Entsprechend wurden *Mycetohabitans* spp. aus diversen Proben isoliert, die diesen Pilz enthielten, beispielsweise aus dem Boden, Kaninchendung, Getreide, Erdnüssen, Reissämlingen, Sufu-Starterkulturen und Koji-Bier [4;6;7].

Es handelt sich um aerobe, Gram-negative, kurze, bewegliche Stäbchen, die eine jeweils aktive Oxidase und Katalase aufweisen [9]. Die Mitglieder dieser Gattung bilden ein oder mehrere Toxine: Derivate des für eukaryote Zellen zytostatischen und antimittotischen Polyketid-Makrolids Rhizoxin und/oder das stark hepatotoxische Zylopeptid Rhizonin A, bzw. B [4;8].

Rhizoxin wird von *R. microsporus* abgegeben und hemmt durch Bindung an das Reis- β -Tubulin dessen Polymerisierung und somit auch das Wurzel-Wachstum von Reis-Keimlingen. Die Pflanze stirbt ab. Die freigesetzten Nährstoffe werden von den beiden Symbiosepartnern aufgenommen und für das eigene Wachstum genutzt [2]. Der Pilz selbst weist eine Mutation im β -Tubulin auf, wodurch die Bindestelle für das Rhizoxin zerstört wurde. Auch wenn eine metabolische Anpassung der Endosymbionten erkennbar ist, sind die Gene für die Biosynthese z. B. von Aminosäuren und Ko-Faktoren noch vorhanden [8]. Die Pilze benötigen ihren bakteriellen Endosymbionten für die asexuelle und die sexuelle Sporulation. Auf diese Weise wird die Aufrechterhaltung der Symbiose gewährleistet [4;6;8].

Mycetohabitans spp. sind unabhängig von *R. microsporus* in Reinkultur unter aeroben oder mikroaerophilen Bedingungen, nicht aber unter anaeroben Bedingungen, kultivierbar. Geeignete Wachstumsbedingungen umfassen einen Temperaturbereich von 16 bis 45 °C,

eine hohe Luftfeuchtigkeit, mittlere pH-Werte (5,0 – 7,4) sowie NaCl-Konzentrationen von maximal 2 % (w/v). Glucose wird im Gegensatz zu Glycerin nicht verstoffwechselt [9].

Mycetohabitans spp. besitzen ein Typ-III-Sekretionssystem, welches für die Invasion des Pilz-Wirtes benötigt wird. Ein solches System wird von vielen Gram-negativen pathogenen oder mutualistischen Bakterien für die Proteininjektion in den Wirt verwendet [6]. Infektionsexperimente mit *M. rhizoxinica* an Pflanzen (Zwiebel- und Tabak-Pflanze) und dem Nematoden *Caenorhabditis elegans* zeigten, dass keine Pathogenität für Pflanzen besteht, aber negative Effekte auf den Nematoden (reduzierte Beweglichkeit, reduzierte Anzahl erwachsener Nematoden), die vermutlich durch das produzierte Toxin bedingt sind [1]. Bis heute wurde das Bakterium nicht explizit mit humanen Erkrankungen assoziiert. In Analysen von klinischen Proben (Blut, Wundabstriche) ließen sich die Bakterien jedoch mithilfe von 16S-rRNA-Sequenzierung nachweisen [10]. Auch die Isolation aus Proben von nekrotischem Gewebe der Hand wurde beschrieben [7].

Paraburkholderia rhizoxinica und *Paraburkholderia endofungorum* werden in den Technischen Regeln für biologische Arbeitsstoffe (TRBA466) der Risikogruppe 1 „T“ zugeordnet, wobei das „T“ für Toxinbildner steht [11].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV werden *Mycetohabitans* spp. als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Bei Spezies der Gattung *Mycetohabitans* handelt es sich um Symbiosepartner eines Schimmelpilzes, der als opportunistischer Krankheitserreger der **Risikogruppe 2** zugeordnet wird. Die ursprünglich als Mykotoxine beschriebenen Toxine Rhizoxin sowie Rhizonin werden dabei durch das Bakterium synthetisiert. Die Toxine wirken zytostatisch und antimittotisch bzw. stark hepatotoxisch und sind als Virulenzfaktor des Pilzes beschrieben. Auch wenn eine durch die Bakterien verursachte Erkrankung nicht belegt ist, sind die Bakterien in klinischen Proben nachweisbar. Aufgrund der taxonomischen Verwandtschaft zu *Burkholderia sensu stricto* sowie der Wachstumsbedingungen und Nährstoffansprüche kann eine Pathogenität für den Menschen nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

Literatur

[1] Estrada-de Los Santos et al. (2018). Whole genome analyses suggest that *Burkholderia sensu lato* contains two additional novel genera (*Mycetohabitans* gen. nov., and *Trinickia* gen. nov.): Implications for the evolution of diazotrophy and nodulation in the *Burkholderiaceae*. *Genes* 9.

[2] Partida-Martinez & Hertweck (2005). Pathogenic fungus harbours endosymbiotic bacteria for toxin production. *Nature* 437:884-8.

[3] Sato et al. (1983). Studies on rhizoxin, a phytotoxin produced by *Rhizopus chinensis* causing rice seedling blight. *Annu Phytopathol Soc Japan* 49:128.

[4] Dolatabadi et al. (2016). Food preparation with mucoralean fungi: A potential biosafety issue? *Fungal Biol* 120(3):393-401.

[5] Cheng et al (2009). Outbreak of intestinal infection due to *Rhizopus microsporus*. *Clin Microbiol* 47(9):2834-43.

- [6] **Carter et al. (2020)**. A TAL effector-like protein of an endofungal bacterium increases the stress tolerance and alters the transcriptome of the the fungal host. *Proc Natl Acad Sci* **117(29)**:17122-9.
- [7] **Lackner et al. (2009)**. Global distribution and evolution of a toxinogenic *Burkholderia-Rhizopus* symbiosis. *Appl Environ Microb* **75(9)**:2982-6.
- [8] **Lackner et al. (2011)**. Complete Genome Sequence of *Burkholderia rhizoxinica*, an Endosymbiont of *Rhizopus microsporus*. *J Bacteriol* **193**:783-784.
- [9] **Partida-Martinez et al. (2007)**. *Burkholderia rhizoxinica* sp. nov. and *Burkholderia endofungorum* sp. nov., bacterial endosymbionts of the plant-pathogenic fungus *Rhizopus microsporus*. *Int J Syst Evol Microbiol* **57**:2583–90.
- [10] **Gee et al. (2011)**. Characterization of *Burkholderia rhizoxinica* and *B. endofungorum* isolated from clinical specimens. *PLoS one* **6(1)**:e15731.
- [11] Einstufung von Prokaryonten (*Bacteria* und *Archaea*) in Risikogruppen (TRBA 466) Ausgabe: August 2015 GMBI. Nr. 46-50 vom 25. August 2015, S. 910, 7. Änderung: GMBI. Nr. 19 vom 5. Juni 2020, S. 371.