



Mikroskop hilft bei Aufklärung von Wirkmechanismus

# Wackelnde Zellwände



*Pilze haben schon viele edle Trauben verdorben. Im Weinberg tobt deshalb ein ständiger Kampf gegen Mehltau und Co. Das Mittel Iprovalicarb beispielsweise hemmt wirksam Pilze aus der Gruppe der Oomyceten. Aber wie? Ein trickreiches Experiment und ein schlichtes Mikroskop brachten Bayer-Forscher auf die richtige Spur: Das Mittel greift die Zellwände an.*



Auch im Zeitalter von Molekularbiologie und Genforschung leistet das Mikroskop (l.) Bayer-Forschern hilfreiche Dienste bei der Entwicklung von Mitteln zur Bekämpfung von Pilzkrankheiten, die die Rebe (o.) heimsuchen.

Eine Winzerweisheit besagt: Ein guter Wein wird nicht in der Kelter gemacht, sondern im Weinberg. Feste Regeln gibt es dafür jedoch keine, denn zu viele Faktoren bedingen die Qualität der Trauben: Sorte und Alter des Weinstocks, Lage, Boden, Niederschläge, Feuchtigkeit und Temperatur. Ein Winzer braucht also vor allem Erfahrung und Kreativität.

Doch das allein reicht oft nicht aus. Wetterkapriolen, Insekten, Unkräuter und vor allem Pilze machen so manche gute Idee für besondere Kreationen zunichte. Da Weinstöcke 20 Jahre und älter werden, infizieren sie sich immer wieder gegenseitig: Im Herbst fallen die Pilzsporen mit den Blättern zu Boden, von wo sie im Frühjahr über Regen und Wind den Stock und seine Triebe neu befallen. Steuert der Winzer nicht rechtzeitig gegen, kann ein durch schlechte Witterung entfesselter Pilzwachstum die ganze Ernte zunichte machen. Statt Prädikatswein keltert er dann Fusel.

Nur: Welcher Pilz seine Stöcke bedrohen wird, kann der Winzer vorab nicht wissen. So begünstigen feuchte, warme Tage beispielsweise eher den falschen Mehltau, trockene dagegen den echten. Doch die Winzer sind nicht allein. Forscher von Bayer CropScience

haben mit Iprovalicarb ein Pilzmittel auf den Markt gebracht, das spezifisch die Gruppe der Oomyceten bekämpft, zu denen auch der falsche Mehltau gehört.

Was bislang unbekannt war: Wie wirkt Iprovalicarb eigentlich? Eine relevante Frage, denn ist der Wirkmechanismus oder sogar das Zielmolekül bekannt – das so genannte Target, an dem das Mittel angreift –, können Bayer-Forscher die Entwicklung zukünftiger Wirkstoffe darauf abstimmen. Denn nur wenn Pilzmittel nach unterschiedlichen biochemischen Prinzipien funktionieren, können die Winzer auch solche Pilze behandeln, die gegen eines der Mittel unempfindlich geworden sind.

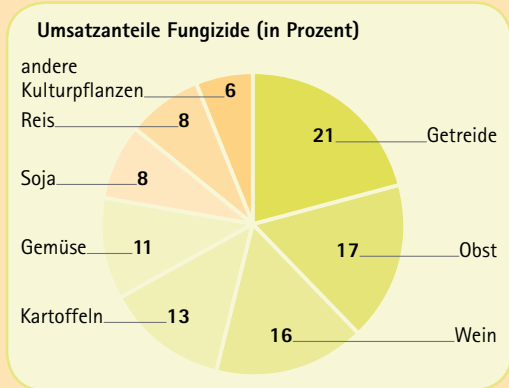
### **Bekannte Wirkmechanismen werden ausgeschlossen**

Um die Frage zu beantworten, engten Bayer-Forscher zunächst den Kreis der Verdächtigen ein: Sie testeten die Mechanismen und Targets, die bereits von anderen Wirkstoffen bekannt waren. Dabei fanden sie unter anderem heraus, dass Iprovalicarb weder die Beweglichkeit der Vermehrungszellen beeinträchtigt – die bewegen sich bei Oomyceten ähnlich den Säugetierspermien mit einer Geißel fort – noch



Im Labor lässt sich der Pilz Phytophthora gut in Kulturschalen züchten (o.). Mit dem Mikroskop konnte Dr. Andreas Mehl in einem Experiment verfolgen, dass Iprovalicarb die Zellwandbildung (hellgrün, auf dem Bildschirm) stört (r.).

## Wo Fungizide eingesetzt werden



Durch Pilze hervorgerufene Pflanzenkrankheiten können ganze Ernten vernichten. Fungizide sind daher aus der Landwirtschaft nicht mehr wegzudenken. Gegen die verschiedenen Schadpilze werden weltweit Pilzmittel im Wert von sechs Milliarden Euro eingesetzt, ein Drittel davon in Nord- und Südamerika, ein Viertel in Asien und 42 Prozent in Europa.

die Atmungskette und damit den Energiegenerator der Zelle hemmt. Einen heißen Kandidaten hatten sie aber noch nicht.

So beschäftigen sich Dr. Isolde Häuser-Hahn von Bayer CropScience in Monheim und ihr Mitarbeiter Dr. Andreas Mehl mit der Aufgabe, den Fall zu lösen. Mehl wechselte zunächst sein Studienobjekt vom falschen Mehltau *Plasmodiophora viticola* zum Erreger der Kraut- und Knollenfäule *Phytophthora infestans*. *Phytophthora* ist nämlich im Gegensatz zu vielen anderen Oomyceten, die als Parasiten auf ihre lebenden Wirtorganismen angewiesen sind, in einem Nährmedium kultivierbar – wenngleich selbst *Phytophthora* „im Labor nicht einfach zu untersuchen“ ist, so der Agrarbiologe.

### Biochemische Untersuchungen brachten keinen Erfolg

Sobald *Phytophthora* wuchs und gedieh, näherte sich der Wissenschaftler der Fragestellung zunächst von der biochemischen Seite und versuchte, eine Stelle im Stoffwechsel der Pilze zu finden, an der Iprovalicarb einhakt. Leider ohne Erfolg. Auch mit molekularbiologischen Methoden, wie sie heute gerade aus der medizinischen Forschung nicht mehr wegzudenken

sind, stieß Mehl schnell an Grenzen. So konnte selbst eine zweidimensionale Auftrennung der Proteinkomponenten nach isoelektrischem Punkt und Größe den Wirkort nicht identifizieren.

Der Forscher begann also wieder von vorn: Iprovalicarb greift nur Oomyceten an. Deren Hauptunterschied zu anderen Pilzgruppen, so überlegten er und Häuser-Hahn, liegt in der Zellwand: Während falscher Mehltau und Co ihrer Zellwand vorwiegend mit Zellulose Stabilität verleihen, verwenden die anderen Pilze das härtere und stabilere Chitin, aus dem auch Insektenpanzer bestehen. Also könnte der Schlüssel zur Oomyceten-Spezifität von Iprovalicarb in einer Störung des Zellwandaufbaus liegen. Das Problem: Über die Prozesse der Synthese von Zellwänden ist bei *Phytophthora* nur wenig bekannt. „Man findet in der Literatur viel zur Zellwandbildung bei Hefen und Pflanzen, aber kaum Informationen zu Oomyceten“, bedauert Mehl.

Eine Enzymmessung brachte zunächst keine Bestätigung dieser These: Glukansynthasen – Enzyme, die am Aufbau der Zellwand beteiligt sind – zeigten nämlich mit Iprovalicarb keine geringere Aktivität als ohne. Doch Mehl ließ nicht locker. Für die weiteren Versuche griff er tief in die Labor-Trickkiste: Er ließ die

Dr. Isolde Häuser-Hahn (r.) ist dem Wirkmechanismus von Iprovalicarb auf der Spur. Der Fungizidwirkstoff bekämpft den falschen Mehltau *Plasmopara viticola*, der im Weinbau große Schäden anrichtet und auf befallenen Weinblättern typische Verfärbungen auslöst (ganz r.)



Zellwand mit einem Cocktail aus verschiedenen Enzymen verdauen, sodass sich einzelne runde Zellen bildeten, die nur noch von einer Zellmembran umschlossen waren. Diese so genannten Protoplasten legte er anschließend in eine spezielle Nährlösung, sodass die Einzelzellen wieder beginnen konnten, eine Zellwand aufzubauen. Nun kam ein Instrument zum Einsatz, das im modernen Labor neben den heute üblichen Großgeräten wie Massenspektrometern, Pipettierautomaten und Gensequenzierern einen stillen Ehrenplatz einnimmt: das Mikroskop.

### Beobachtungen am Mikroskop brachten den Durchbruch

Mit einer speziellen Zellulose-Färbung, die die neu entstehenden Wände der Pilzzellen einheitlich zum Leuchten bringt, konnte Mehl den korrekten Wiederaufbau der Zellwand im zeitlichen Verlauf dokumentieren. Mit der exakt ausgetüftelten Dosis Iprovalicarb dagegen, die das Wachstum der Pilze zwar beeinträchtigen, nicht aber vollständig unterbinden durfte, zeigten sich Muster: Streifen, Knubbel, Wülste und Flecken. Das war der Durchbruch. Denn diese Muster sind ein Beleg dafür, dass Iprovalicarb den korrekten Zellwandaufbau hemmt. Um

allerdings den detaillierten Wirkmechanismus von Iprovalicarb aufzuklären, müsste erst einmal erforscht werden, wie die Zellwand überhaupt aufgebaut wird. „Welche Enzyme, Strukturproteine und Kofaktoren genau bei dem Vorgang in Pilzen oder Oomyceten beteiligt sind, weiß niemand“, sagt Isolde Häuser-Hahn.

Den Details zum Zellwandaufbau werden sich sicherlich einige Wissenschaftler an den botanischen Instituten der Universitäten widmen. Für diese

schwierigen Studien mit Oomyceten wird allerdings viel Fingerspitzengefühl notwendig sein. Eine reizvolle Aufgabe für kreative Pilzforscher.



[www.bmelv.de](http://www.bmelv.de)

Auf der Homepage des Landwirtschaftsministeriums finden sich unter der Rubrik „Landwirtschaft“ und dem Link „Weinbau“ ausführliche Statistiken zum deutschen und europäischen Weinbau.

## Steckbrief Iprovalicarb

Mit Iprovalicarb brachte Bayer CropScience 1998 unter dem Produktnamen Melody® Duo ein neues Fungizid auf den internationalen und 2001, als Melody® Multi, auf den deutschen Markt. Es bekämpft spezifisch Pilze aus der Gruppe der so genannten Oomyceten. Zu diesen Pilzen gehören etwa der falsche Mehltau *Plasmopara viticola*, der Weinstöcke befällt, und der Erreger der Kraut- und Knollenfäule *Phytophthora infestans*, der Mitte des 19. Jahrhunderts mehrere Jahre in Folge die Kartoffelernte Irlands vernichtete und so das Land zur Hälfte entvölkerte. Iprovalicarb dient der Vorbeugung und Behandlung des Pilzbefalls und verhindert obendrein die Sporenbildung. Da es der neuen Wirkstoffklasse der Aminosäureamidcarbamate angehört, hilft es auch gegen Oomyceten-Stämme, die gegen andere Mittel bereits resistent geworden sind. Iprovalicarb ist dabei weder für Pilze anderer Klassen toxisch – und schädigt daher auch nicht die höchst willkommene Weinhefe auf den Traubenschalen – noch für Insekten, Vögel, Fische und Säugetiere. Der Wirkstoff zersetzt sich in Wasser und Boden innerhalb weniger Wochen, dringt gut in die Pflanze ein und wird auch in neue Triebe transportiert.