

# BÖLN

Bundesprogramm Ökologischer Landbau  
und andere Formen nachhaltiger  
Landwirtschaft

## Entwicklung eines biologischen Pflanzenschutzmittels aus Süßholz mit sicherer Wirkung im Freiland unter Nutzung effizienter Anwendungstechnik. Arbeitsschwerpunkt 1: Industrielle Forschung und Grundlagen

Development of a biological plant protection product from Liquorice with proven efficacy in the field using suitable application technology. Work focus 1: Industrial and basic research

**FKZ: 09OE036**

**Projektnehmer:**

Trifolio-M GmbH  
Dr. Hans-Wilhelmi-Weg 1, 35633 Lahnau  
Tel.: +49 6441 20977-0  
Fax: +49 6441 20977-50  
E-Mail: [info@trifolio-m.de](mailto:info@trifolio-m.de)  
Internet: [www.trifolio-m.de](http://www.trifolio-m.de)

**Autoren:**

Kleeberg, Hubertus; Cergel, Sylvia; Treutwein, Jonas; Jacobs, Sophie; Bahlo, Julia; Faust, Stefanie; Wehr, Christine

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.

**Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger  
Landwirtschaft**

**Pflanzenschutz im ökologischen Landbau  
Anbauverfahren im ökologischen Gemüsebau**

Verbundvorhaben:

„Entwicklung eines biologischen Pflanzenschutzmittels aus  
Süßholz mit sicherer Wirkung im Freiland unter Nutzung  
effizienter Anwendungstechnik“

**Arbeitsschwerpunkt 1:**

**„Industrielle Forschung und Grundlagen“**

Teilprojekt 1: 09OE036

**Formulierung, Standardisierung und  
Extraktionsoptimierung**

Schlussbericht 512-06.01-2809OE036

Laufzeit: 04.11.2010 - 31.12.2013

**Trifolio-M GmbH**

Projektleitung: Teilprojekt 1 des Arbeitsschwerpunktes 1 : Dr. Hubertus  
Kleeberg

Koordinatorin Arbeitsschwerpunkt 1: Fr. Dr. Annegret Schmitt, Julius-Kühn-  
Institut (JKI) Darmstadt, Institut für biologischen Pflanzenschutz, FKZ: 09OE101

Koordinatorin des Verbundvorhabens: Fr. Dr. Gabriele Leinhos, DLR Rheinpfalz,  
Abt. Gartenbau, FKZ: 09OE038

Projektpartner: Fr. Ute Gärber, JKI Kleinmachnow, Institut für Pflanzenschutz  
im Gartenbau und Forst, FKZ: 09OE102

## Kurzfassung

Entwicklung eines biologischen Pflanzenschutzmittels aus Süßholz mit sicherer Wirkung im Freiland unter Nutzung effizienter Anwendungstechnik. Arbeitsschwerpunkt 1: Industrielle Forschung und Grundlagen; Teilprojekt 1: Formulierung, Standardisierung und Extraktionsoptimierung

Dr. Hubertus Kleeberg

Trifolio-M GmbH

Dr. Hans-Wilhelmi-Weg 1

35633 Lahnau

Tel.: 06441-20977 0

Fax: 06441-20977 50

E-Mail: info@trifolio-m.de

In dem Verbundvorhaben sollte ein praxistaugliches Süßholzpräparat entwickelt und damit Anwendungsstrategien gegen Falschen Mehltau und *P. infestans* im Freiland an Gurke, Tomate bzw. Kartoffel entworfen werden. Diese sollten eine wirksame Regulierung dieser Schlüssel Pathogene ermöglichen und somit die praxisübliche Anwendung von kupferhaltigen Pflanzenschutzmitteln reduzieren oder sogar ersetzen. In dem zu bearbeitenden Teilprojekt von Trifolio-M lag der Schwerpunkt auf der technischen Optimierung des Extraktionsverfahrens und auf der Entwicklung einer wirkungssicheren Formulierung, die in verschiedenen Test-Systemen unter Glas, Semi-Freiland und Freilandbedingungen getestet wird.

Die bisher entwickelten Formulierungen wiesen trotz vieler Optimierungen keine ausreichende UV- und Regenstabilität für den Einsatz im Freiland auf, folgende Teilziele wurden jedoch erreicht:

- Die Wirksamkeit der drei Hauptinhaltsstoffe, die maßgeblich für die befallshemmende Wirkung des Süßholzextraktes verantwortlich sind, wurde bestätigt.
- *In vitro* und *in vivo* UV-Tests zur Erfassung der UV-Stabilität der optimierten Formulierungen wurden etabliert.
- Ausgewählte Formulierungen demonstrierten einen ausreichend stabilen Wirkstoffgehalt während einer simulierten 2-jährigen Lagerung.
- Ein im Hinblick auf Energie-, Zeit- und Lösungsmittelbedarf optimiertes Extraktionsverfahren konnte weitestgehend in eine großtechnische Aufbereitung übertragen werden.
- Optimierte Formulierungen lassen sich gut mit praxisüblichen Düsen ausbringen.
- Der Wirkstoffbedarf konnte in den Formulierungen um 60% gegenüber dem im Rohextrakt gesenkt werden bei gleicher Wirksamkeit im GWH.
- Durch die Kontaktwirkung des Süßholzextraktes muss ein hoher Bedeckungsgrad auf den zu schützenden Pflanzenteilen erreicht werden.

Die Forschungsarbeiten zur Entwicklung eines Fungizides aus Süßholz werden mit den während des Projektes gewonnenen Erfahrungen z.T. in weiteren nationalen und internationalen Projekten fortgesetzt.

## Abstract

Development of a biological plant protection product from Liquorice with proven efficacy in the field using suitable application technology. Work focus 1: Industrial and basic research. Project Part 1 : Formulations, Standardisation, Optimization of extraction procedure

Dr. Hubertus Kleeberg  
Trifolio-M GmbH  
Dr. Hans-Wilhelmi-Weg 1  
35633 Lahnau  
Tel.: +49 6441-20977 0  
Fax: + 49 6441-20977 50  
E-Mail: info@trifolio-m.de

Leave extracts derived from liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) possesses the potential to be highly effective against downy mildew and *P. infestans* under controlled conditions. However, disease controlling effects in the field are still unstable.

The overall project goal was the development of a plant protection product based on liquorice leave extracts which is highly effective and stable under field conditions.

As a second goal an appropriate application strategy should be developed to control key plant diseases in cucumbers, tomatoes and potatoes. Such novel strategy should replace or reduce the common use of copper- based products.

The main goal of Trifolio-M GmbH was to optimize the extraction procedure and the development of a suitable formulation. Next, suitable formulations should be tested in different locations and target crops. We can conclusively state that no sufficient stable formulation could be identified with a sufficient protection level under field conditions. Nevertheless following main results could be obtained:

- The major active ingredients were identified and their efficacies in controlling *P. infestans* were confirmed.
- The extraction procedure was standardized and optimized in regard of the duration, the amount of solvent and the temperature used and finally transferred on pilot-plant scale level.
- *In vitro* and *in vivo* UV-Test system was established to evaluate UV stability of test-formulations.
- Some of the test-formulations demonstrated sufficient storage stability in regard of the main active substances in a period of two years used simulated storage conditions.
- The application of test-formulations was possible with standard nozzles.

The development of a liquorice based fungicide will be continued in other projects and the results achieved so far will be very helpful and build the fundament to reach the final goal.

# Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung .....	2
Abstract .....	3
Inhaltsverzeichnis .....	4
1. Einführung.....	5
1.1. Gegenstand des Vorhabens .....	5
1.2. Ziele und Aufgabenstellung des Projektes, Bezug des Vorhabens zu den einschlägigen Zielen des Bundesprogrammes Ökologischer Landbau bzw. zu der konkreten Bekanntmachung und Ausschreibung „Erforschung und Entwicklung von Verfahren zur Reduktion oder zum Ersatz kupferhaltiger Pflanzenschutzmittel (Bekanntmachung Nr. 02/09/51 vom 20.5.2009)“ .....	6
1.3. Planung und Ablauf des Projektes .....	6
2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde ....	7
3. Darstellung und Diskussion ausgewählter Ergebnisse .....	9
3.1. Sortenversuche .....	9
3.2. Identifizierung wirksamer Inhaltsstoffe .....	11
4. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse, Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung der Ergebnisse für die Praxis und Beratung.....	13
5. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen .....	14
5.1. M1: Wirkstoffe/Leitsubstanzen sind identifiziert .....	14
5.2. M2: Analysemethoden sind etabliert und validiert.....	15
5.2.1. Standardisierung der Extrakte .....	15
5.2.2. UV- in vitro/ in vivo-Tests.....	15
5.3. M3: Extraktionsverfahren/Up-scaling ist optimiert .....	15
5.4. M4: Geeignete Formulierung ist gefunden .....	15
5.5. M5: Geeignete Formulierung ist toxikologisch unbedenklich und wird patentrechtlich geschützt.....	16
6. Zusammenfassung.....	16
7. Literaturverzeichnis .....	18
8. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt (Printmedien, Newsletter usw.), bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse .....	19

# 1. Einführung

## 1.1. Gegenstand des Vorhabens

*Oomycten*, wie Falscher Mehltau und *Phytophthora* spp. gehören in vielen Freilandgemüseulturen zu den ökonomisch wichtigsten Schaderregern. Im ökologischen Gemüseanbau standen und stehen zu ihrer direkten Kontrolle nur kupferhaltige Präparate zur Verfügung; im Freiland sind sie in Deutschland nur für die entsprechenden Indikationen in Gurken und Tomaten ausgewiesen (BVL, 2009). Zur Sicherung des ökologischen Gemüseanbaus ist es daher nach wie vor dringend notwendig, wirksame und in der Wirkung verlässliche alternative Präparate zu entwickeln. Deshalb wurden im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau in verschiedenen Projekten ausgewählte Pflanzenstärkungsmittel vertiefend unter kontrollierten Bedingungen geprüft. Die Ergebnisse zeigten, dass der äthanolische Extrakt aus dem Laub von *Glycyrrhiza glabra* (Süßholz) im Labor und unter Glas eine gute Wirkung gegen *Oomycten* in verschiedenen Gemüseulturen besitzt und den Befall stark reduzieren kann. In der Freilandanwendung dieses Extraktes wurden jedoch erhebliche Defizite festgestellt. Zusätzlich gab es Hinweise, dass eine angepasste Applikationstechnik und an Infektionsphasen orientierte Behandlungstermine die Freilandwirkung eines formulierten Präparates auf Süßholz-Basis deutlich steigern könnten.

Die Entwicklung dieses Präparates sollte durch koordinierte Arbeiten in einem Verbundprojekt mit zwei Arbeitsschwerpunkten erreicht werden. Die Gesamtkoordination des Verbundes übernahm dabei Frau Dr. Leinhos, DLR Rheinpfalz, die im Arbeitsschwerpunkt 2: „Anwendung im Freiland“ Teilprojekt 1 09OE102 „Tomate, Kartoffel/Applikationstechnik“, zusammen mit Frau Dr. Ute Gärber vom JKI Kleinmachnow im Teilprojekt 2 09OE102 „Gurke/Klimafaktoren, Wirksamkeitsprüfungen, Optimierung von Anwendungsparametern und Applikationstechniken bearbeitete. Der Arbeitsschwerpunkt 1 „Industrielle Forschung und Grundlagen“, wurde von Frau Dr. Annegret Schmitt im JKI Darmstadt im Teilprojekt 2: 09OE101 „Wirkungsmechanismen und Vorprüfungen für Freilandanwendungen“ koordiniert. Im von Trifolio-M zu bearbeitenden Teilprojekt 1: 09OE036 „Formulierung, Standardisierung und Extraktionsoptimierung“ ging es vor allem um die technische Optimierung des Extraktes im Hinblick auf das Extraktionsverfahren sowie der Wirkungssicherheit im Freiland.

Ziel war es, eine geeignete Formulierung zu finden, die sich gut applizieren lässt und ausreichende Regenfestigkeit, UV-Stabilität sowie Lagerfähigkeit der aktiven Wirkstoffe gewährleistet.

## 1.2. Ziele und Aufgabenstellung des Projektes, Bezug des Vorhabens zu den einschlägigen Zielen des Bundesprogrammes Ökologischer Landbau bzw. zu der konkreten Bekanntmachung und Ausschreibung „Erforschung und Entwicklung von Verfahren zur Reduktion oder zum Ersatz kupferhaltiger Pflanzenschutzmittel (Bekanntmachung Nr. 02/09/51 vom 20.5.2009)“

In Untersuchungen vorhergehender Bundesministerium für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) Projekte (06OE150, 06OE188, 06OE073, 06OE049) wurde nachgewiesen, dass Extrakte aus Süßholz in verschiedenen Gemüsekulturen wie Gurke, Tomate, Salat und Zwiebel den Befall mit Falschem Mehltau bzw. *Phytophthora infestans* im Gewächshaus deutlich reduzieren können. Ähnlich wie bei anderen Pflanzenextrakten war jedoch auch die Wirkung der damaligen Süßholz-Rohextrakte unter Freilandbedingungen meist nur gering und stark schwankend. Deshalb sollte in dem vorliegenden Vorhaben ein praxistaugliches formuliertes Süßholzpräparat entwickelt und Anwendungsstrategien im Freiland in Gurke, Tomate bzw. Kartoffel geprüft werden.

Es sollte ein praxisrelevantes Verfahren erhalten werden, das eine wirksame Regulierung von Falschem Mehltau und *P. infestans* ermöglichen und dadurch die Anwendung von kupferhaltigen Pflanzenschutzmitteln in Gurke, Tomate und Kartoffel reduzieren oder sogar ersetzen kann. Das Forschungsvorhaben nahm damit Bezug zu der von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung ergangenen Bekanntmachung. Insbesondere bezogen sich die geplanten Arbeiten auf die von der BLE vorgegebenen thematischen Förderschwerpunkte:

- *Vorbeugende Maßnahmen, auch Einsatz von Pflanzenstärkungsmitteln und deren Entwicklung*
- *Optimierte Pflanzenschutzverfahren*
- *Eine optimale Pflanzenschutzgerätetechnik unter Berücksichtigung der auf den Praxisbetrieben vorhandenen gerätetechnischen Ausstattung und bisher vorliegender Erfahrungen.*

## 1.3. Planung und Ablauf des Projektes

In dem Verbundvorhaben bestanden die Schwerpunkte der Arbeiten bei Trifolio-M in der Bereitstellung der Testformulierungen für die Verbundpartner sowie der Optimierung der Extraktionsmethode und dem Upscaling für eine Übertragung der optimierten Methodik in die großtechnische Aufbereitung des Extraktes. Nach Erhalt einer optimierten Formulierung war es geplant mit Arbeiten zur Vorbereitung des Zulassungsprozedere wie z.B. der Abschätzung des toxikologischen Risikos oder der Entwicklung von Methoden zur Rückstandsanalytik. Ferner war auch eine patentrechtliche Absicherung der

wirkungssicheren Formulierung angestrebt. In Tabelle 1 ist die zeitliche Abfolge der geplanten Arbeiten sowie darunter die zu erreichenden Teilziele (Meilensteine) aufgeführt:

**Tabelle 1:** Balkenplan zur zeitlichen Abfolge der Arbeiten mit Meilensteinen (M)

Jahr	2010	2011				2012				2013			
Quartal	IV (pt.)*	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1. Planung/Vorbereitung, Literatursichtung													
2. Identifizierung der wirksamen Inhaltsstoffe					M1								
3. Entwicklung/Validierung Analysemethoden, Herstellung von Standards										M2			
4. Entwicklung/Bereitstellung von Formulierungen									M3				
5. Extraktionsoptimierung/Upscaling										M4			
6. Wirksamkeitstests in vitro / Mini-pflanzen													
7. Stammhaltung Inokulum													
8. Rückstandsanalytik**													
9. Abschätzung Öko - & toxikologischer Risiken													
10. Patentanmeldungen													M5
11. Erstellen von Zwischen- bzw. Abschlußberichten													

\* pt=partiell; geplanter Beginn des Projektes im November 2010, daher Quartal nicht vollständig

\*\* Die geplanten Arbeiten zur Methodenentwicklung für das Rückstandsverhalten der Wirkstoffe wurden gemäß der Vorgabe im Zuwendungsbescheid vom 22.12.2010 ersatzlos gestrichen.

**M1:** Wirkstoffe/Leitsubstanzen sind identifiziert

**M2:** Analysemethoden sind etabliert und validiert

**M3:** Extraktionsverfahren/Upscaling ist optimiert

**M4:** Geeignete Formulierung ist gefunden

**M5:** Geeignete Formulierung ist toxikologisch unbedenklich und wird patentrechtlich geschützt

## 2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Als Alternativen zu Kupferpräparaten für die direkte Regulierung von Falschem Mehltau und *Phytophthora* in Gemüsekulturen bzw. Kartoffel wurden in den letzten Jahren in verschiedenen Arbeitsgruppen zahlreiche Pflanzenstärkungsmittel, mikrobielle Antagonisten oder Resistenzinduktoren geprüft. Kofoet und Fischer (2007; BLE Projekt 02OE514) konnten in Radies, Zwiebel, Salat und Gurke in Gewächshausversuchen eine Wirkung von z. B. Elot-Vis, Frutogard, Neudo-Vital nachweisen; keines dieser Präparate führte jedoch in anschließenden Freilanduntersuchungen zu einer Befallsreduktion. Die noch zu Projektbeginn gestattete Anwendung von ViCare (seit Juni 2012 durch das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) verboten) und Elot-Vis wurden



vermehrt in der Praxis in Freilandgurken eingesetzt; diese Pflanzenstärkungsmittel waren allerdings nur bedingt wirksam (Schubert, 2009; Kofoet, 2004).

Aussichtsreich für die Regulierung von Falschem Mehltau und *Phytophthora* schien der Einsatz eines wässrigen Extraktes aus dem Myzel des Pilzes *Penicillium chrysogenum* (PEN) zu sein (Thürig, 2004; Thürig et al., 2006). Der Extrakt war hoch wirksam gegen die Krautfäule an Tomate im Gewächshaus, zeigte jedoch an Gurke gegen Falschen Mehltau und *Colletotrichum* nur sehr stark schwankende Effekte unter Gewächshausbedingungen. Besonders interessant sind die im Feld beobachteten Regulierungserfolge von Falschem Mehltau an Zwiebeln, die Krautfäule der Kartoffel wurde im Feld durch PEN jedoch nicht vermindert. Verschiedene Untersuchungen bestätigen eine – abhängig vom Wirt-Parasit-System – spezifisch wirkende Resistenzinduktion (Thürig, 2004; Unger et al., 2006; Sharma et al., 2009). Eine weitere Aufreinigung des PEN-Rohextraktes erscheint notwendig, da dieser auch phytotoxische Effekte u. a. am Zwiebel- und Tomatenlaub zeigte.

Für Süßholz-Extrakte aus den oberirdischen Teilen der Pflanze wurde ein Patentschutz für Griechenland zur Nutzung gegen Falsche Mehltäupilze an Kulturpflanzen („Use of *Glycyrrhiza glabra* extract against downy mildews of crops plants“, OBI Nummer: 20070100461, excepted by OBI on 18. July 2007) erteilt. Mit der Erfinderin und Patentinhaberin Frau Dr. Konstanidou-Doltsinis, bzw. ihren Erblasser besteht eine Kooperationsvereinbarung, in der auch Frau Dr. Annegret Schmitt vom JKI Darmstadt als weitere Erfinderin berücksichtigt ist. Die Prioritätsrechte wurden im Namen von Dr. Hubertus Kleeberg, Julia Runte und Sylvia Cergel von Trifolio-M übernommen und als PCT-Patent beim Europäischen Patentamt unter der Nummer PCT/EP2008/059402 am 17. Juli 2008 unter dem Titel: „A process for the production of a storage stable fungicide extract of *Glycyrrhiza glabra* for the control of phytopathogenic Fungi and other plant diseases“ angemeldet. Die Anmeldung wurde bestätigt und am 22.01.2009 unter der Nummer WO 2009/010567 veröffentlicht.

### 3. Darstellung und Diskussion ausgewählter Ergebnisse

#### 3.1. Sortenversuche

Bei den Besprechungen der Ergebnisse in den Projektmeetings zeigte sich, dass die einzelnen Formulierungen bei den Testpartnern z.T. sehr unterschiedliche Wirksamkeiten aufwiesen, obwohl die Test-Systeme vom Aufbau her ähnlich schienen. Ein Ansatz zur Erklärung dieser Unterschiede war, dass Interaktionen zwischen der verwendeten Tomatensorte und dem Pathogenisolat vorliegen könnten. Deshalb wurde beschlossen, die von Trifolio-M und auch im JKI Darmstadt verwendete Buschtomatensorte „Minibel“ mit anderen Tomatensorten auf ihre Eignung für ihre Verwendung in den Testsystemen zu überprüfen. Es wurden fünf Sortenversuche durchgeführt, indem die Pflanzen mit den „Standards“ P1-Rohextrakt, Kupferpräparat und Wasser behandelt wurden. Beurteilt wurden neben dem Hauptaugenmerk auf Anfälligkeit, der Preis und vor allem auch das Handling während der Aufzucht und bei den Behandlungen/Inokulationen.



**Abb. 1:** „Campari“, robuste Sorte im Bioanbau, in Abhängigkeit von der Behandlung



**Abb. 2:** „Minibel“, Versuchssorte bei Trifolio-M und JKI Darmstadt, in Abhängigkeit von der Behandlung



**Abb. 3:** „Red Cherry“, anfälligste Sorte in den Sortenversuchen, in Abhängigkeit von der Behandlung

Einige Sorten, besonders „Bitonto“ und „Harzfeuer,“ zeigten blasig aufgequollene Blattadern. Diese Schäden entstehen bei suboptimaler Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsführung. Beim Inokulieren mit der Lackierpistole müssen die Pflanzen der Sorte „Pomodoro“ (Versuch wird hier nicht gezeigt) und „Red Cherry“, da sie sehr dünne und empfindliche Blätter haben, mit der Hand fixiert werden, damit sie dem geringen Druck des Inokulums, welches standardmäßig mit der Lackierpistole ausgebracht wird, Stand halten.

In den Sortenversuchen wurde festgestellt, dass es eine Wechselwirkung von Sorte und der Anfälligkeit gibt. Diese ist im aufgezeigten Beispiel am geringsten bei den mit Kupferstandard Atempo behandelten Pflanzen. Hier lag der Befall zwischen 0,7% bei „Minibel“, über 6,3% bei „Campari“ bis zu 12,5% bei „Red Cherry“. Eine große Spanne in den Befallswerten konnte bei den Kontroll-Pflanzen der Sorten bonitiert werden; sie lagen beginnend mit nur 23% bei „Campari“ über 53 % bei Minibel bis zu 97% bei „Red Cherry“. Auch die hemmende Wirkung von 2%igem P1-Rohextrakt variierte, „Campari“ wies den geringsten Befall auf mit 17,5%, gefolgt von „Minibel“ mit 26,5% bis zu 62% bei „Red Cherry“.

Die im biologischen Landbau gern verwendete, sehr teure Sorte „Campari“, erwies sich in den Versuchen als wenig anfällig, was in der Praxis gut, aber für unsere Fragestellungen schlecht ist. Andere Sorten, wie die „Red Cherry“, sind zu anfällig, so dass eine Differenzierung in der Wirksamkeit von unterschiedlichen Test-Formulierungen auch nicht möglich ist.

Die Sorte „Minibel“ bestätigte ihre gute Eignung als Versuchssorte. Als kompakte Busch-Sorte mit robusten, dunkelgrünen Blättern ist sie gut adaptiert an die Bedingungen in unseren Versuchskammern, die, verglichen mit natürlichem Tageslicht durch energieärmere Lichtbedingungen und relativ hohen und schwankenden Luftfeuchtigkeiten gekennzeichnet sind. Diese machten bei anderen Sorten ein Stäben der Pflanzen im 4-Blattstadium



notwendig. Die weniger kompakt wachsenden Sorten erwiesen sich als schwierig bei der Inokulation, da die luftige Anordnung der einzelnen Blätter das Applizieren erschwerten. Zudem konnten die Blätter kaum dem Luftdruck bei der Ausbringung der *P. infestans* Sporensuspension standhalten, so dass jedes Blatt mit der Hand fixiert werden musste. Dies führte, im Vergleich der Inokulation bei der Sorte Minibel, neben einer deutlich längeren Ausbringungszeit, auch zu einem wesentlich höheren Bedarf an Sporangiensuspension.

Mit den Sortenversuchen konnte bestätigt werden, dass die kostengünstige Sorte „Minibel“ mit einer mittleren Anfälligkeit und kompakter Wuchsform mit kräftigen Blättern, welches ein unkompliziertes Handling bei der Versuchsdurchführung zulässt, die geeignetste für die Wirksamkeitsversuche unter den Bedingungen in den Klimaräumen ist.

**Tabelle 2:** Verwendete Tomatensorten im Test auf Eignung für Wirksamkeitsüberprüfungen

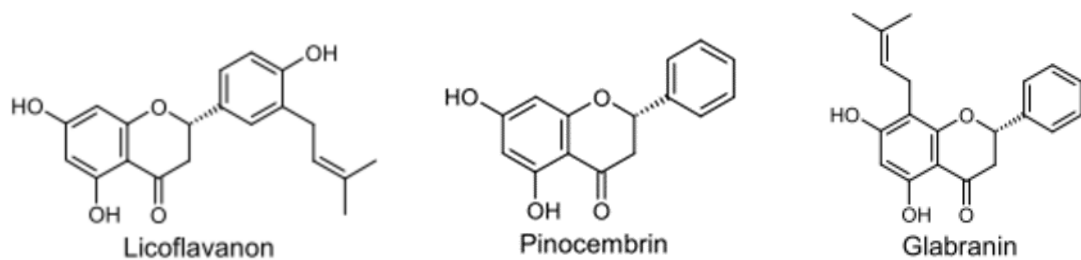
Tomatensorte	Wachstumsform	Preise [Cent / Korn]	Keimfähigkeit [%]
Micro Cherry	Ampeltomate	16 (17) Gärtner Pötschke	92
Campari	Stabtomate	130 (130) Enza Zaden	100
Frühzauber	Stabtomate	18 (23) St. Schmidt Pliezhausen	79
Harzfeuer, F1	Stabtomate	2 (3) Gärtner Pötschke	79
Minibel	Buschtomate	4 (5) Fa. Weigelt	75
Red Cherry	Stabtomate	25 (27) Kräutergarten Storch	94
Siderno, F1	Buschtomate	49 (61) Gärtner Pötschke	81
Bitonto, F1	Buschtomate	33 (35) Gärtner Pötschke	94
Philovita, F1	Kirschtomate	99 Gärtner Pötschke	nicht bestimmt

### 3.2. Identifizierung wirksamer Inhaltsstoffe

Die Firma Trifolio-M GmbH verfügt nicht über Geräte zur Aufnahme von NMR-Spektren oder für Untersuchungen mittels HPLC-MS/(MS). Es war ein glücklicher Umstand, dass in der massenspektrometrischen Abteilung der Philipps-Universität Marburg an diesem Thema gearbeitet wurde. Ab März 2013 wurden der Philipps-Universität Marburg insgesamt drei sogenannte Vertiefungsarbeiten, Semesterarbeiten von Studierenden, zur Fraktionierung und Charakterisierung weiterer Inhaltsstoffe durchgeführt. Die Ergebnisse sind noch nicht veröffentlicht, wurden uns aber durch persönliche Kommunikation zugänglich gemacht.

In der ersten Vertiefungsarbeit (durchgeführt von A. Borowiak) wurde versucht, einen Süßholzextrakt aus Ägypten durch präparative HPLC soweit aufzureinigen, dass es möglich ist, NMR-Spektren von Reinsubstanzen aus

dem Extrakt zu erhalten und somit eine eindeutige Charakterisierung von weiteren Inhaltsstoffen zu ermöglichen. Es wurde der Extrakt aus Ägypten gewählt, da dieser einen deutlich größeren Anteil an weiteren Inhaltsstoffen im Verhältnis zu den bereits charakterisierten drei Polyphenolen Pinocembrin, Licoflavanon und Glabranin enthielt. Es zeigte sich während der Vertiefungsarbeit, dass dieser Extrakt noch deutlich komplexer war, als zunächst angenommen. So konnten über hundert verschiedene Verbindungen in diesem Extrakt mittels HPLC-Chromatogramm detektiert werden. Eine Strukturzuordnung über die Retentionszeiten bzw. über HPLC-MS/MS war wegen der vielen vorkommenden Strukturisomere und fehlenden Referenzsubstanzen nicht möglich. Versuche zur Aufreinigung von einzelnen Komponenten zur weiteren Identifizierung wurden auf Grund von sehr langen Gradienten und Analysezeiten sowie der enormen Komplexität und der zeitlichen Begrenzung der Vertiefungsarbeit nicht weiter verfolgt. Es konnte daher lediglich eine Fraktionierung in fünf Fraktionen durchgeführt werden, wobei eine Trennung lediglich auf Basis der Polaritäten der einzelnen Inhaltsstoffe basierte. Diese fünf erhaltenen Fraktionen wurden dann getrennt auf ihre Wirksamkeit *ad planta* untersucht. Hierdurch konnte zumindest evaluiert werden, in welchen Bereichen des Chromatogramms Peaks mit weiteren aktiven Inhaltsstoffen gefunden werden können. In den weiteren Vertiefungsarbeiten (durchgeführt von A. Grevel und O. Peetz) wurde dann versucht, Teilfraktionen der Süßholzextrakte durch Optimierung von Lösungsmittelgradienten weiter aufzureinigen. Das Ziel hierbei war wieder die Aufreinigung von Reinsubstanzen in ausreichender Menge zur Messung von NMR-Spektren. Für diese Arbeiten wurden dann auch griechische oder spanische Süßholzextrakte verwendet, da die HPLC-Chromatogramme dieser Extrakte darauf hindeuten, dass hier deutlich weniger unterschiedliche Verbindungen enthalten sind als im ägyptischen Extrakt. Leider gelang es auch hier nicht, neue Verbindungen eindeutig zu charakterisieren, da die erhaltenen Mengen für NMR-Studien nach wie vor zu gering waren. Es ist lediglich gelungen, hochaufgelöste Massenspektren und dadurch Summenformeln von vielen weiteren Inhaltsstoffen zu bestimmen. Da die Gruppe der Polyphenole aber sehr groß ist, ist über MS/MS-Spektren – zumindest ohne geeignete Referenzspektren - keine eindeutige Charakterisierung dieser Inhaltstoffe möglich. Es konnte allerdings in den Vertiefungsarbeiten nochmals eindeutig belegt werden, dass es sich bei den drei gefundenen Hauptkomponenten tatsächlich um die Verbindungen Glabranin, Pinocembrin und Licoflavanon handelt.



**Abb. 4:** Strukturformeln der Inhaltsstoffe LPG

Auch zur Klärung dieser Fragestellungen soll die Kompetenz der italienischen Arbeitsgruppe genutzt werden. Über die Form der Zusammenarbeit, evt. in einem neuen gemeinsamen Projekt, stehen wir zur Zeit im Austausch.

#### 4. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse, Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung der Ergebnisse für die Praxis und Beratung

Direkt in der Praxis verwertbare Ergebnisse konnten in der Projektzeit nicht generiert werden. Jedoch wurden einige wichtige Etappenziele auf dem Weg der weiterhin von Trifolio-M angestrebten Zulassung eines biologischen Pflanzenschutzmittels aus Süßholz erreicht. Dieses Produkt, welches den Einsatz von Kupferpräparaten im Ökologischen Landbau (ÖLB) reduzieren oder sogar ersetzen und im konventionellen Anbau im Resistenzmanagement eingesetzt werden kann, wird von Seiten der Behörden und Verbraucher dringend verlangt. Dem gegenüber stehen jedoch die hohen Kosten zur Durchführung der Studien für die Zulassung nach dem novellierten EU-Pflanzenschutzgesetz, die zusätzlich neben den ebenfalls sehr teuren Entwicklungskosten aufgebracht werden müssen. Von der Entwicklung bis zur Zulassung eines Pflanzenschutzmittels aus einem Pflanzenextrakt müssen im Schnitt ca. 10 Millionen Euro aufgebracht werden. Diese Kosten stellen für Kleine/Kleinst und Mittlere Unternehmen (KMU)s nur schwer überwindbare Hindernisse dar. Deshalb sind Kleinst-Unternehmen wie Trifolio-M auf die Unterstützung durch öffentliche Fördergelder und Zusammenarbeit mit Forschungsinstituten angewiesen. Da die Laufzeit der Projekte in der Regel kürzer ist, als die Zeit, die für die Entwicklung eines Pflanzenschutzmittels benötigt wird, können gewonnene Informationen aus einem Projekt nach Erreichen eines Entscheidungspunktes bzw. „Etappensieges“ in ein anderes einfließen. Die Entwicklung bis zur Zulassung von Pflanzenschutzmitteln besteht aus vielen einzelnen Teilabschnitten (Wirksamkeitsuntersuchungen, Identifizierung und Charakterisierung der Wirkstoffe, Mode of Action, Formulierungen, Up-Scaling, Rückstandsanalysen, toxikologischen und ökotoxikologischen Studien etc.). In den einzelnen Projekten können deshalb verschiedene Teilziele bearbeitet und erreicht werden. Die Fortführungen und Einfließen von begonnenen Arbeiten und Ergebnissen in sich anschließenden Projekte maximieren die Aussichten, die angestrebte Zulassung eines biologischen Fungizides aus Süßholz zu erreichen.

Aktuell besteht die Möglichkeit, die im BÖLN-Projekt entwickelten, vielversprechendsten Formulierungen in dem internationalen Verbundprojekt COFREE (Projektnummer 289497, 7. RP, Call KBBE.2011.1.2-06 „Strategies to replace copper-based products as plant protection products in low input and organic farming systems“), in ihrer UV-Stabilität und Regenfestigkeit weiter zu optimieren. In diesem auf 5 Jahre Laufzeit angelegten Projekt, das am 01.01.2012 startete, liegt der Schwerpunkt von Trifolio-M auf der Entwicklung von Spezialformulierungen aus dem Süßholzextrakt für den Einsatz in Sonderkulturen wie Apfelanlagen, Weintrauben und Tomaten.

Weiterhin fließen die im Rahmen des BÖLN-Projektes gewonnenen Erfahrungen bezüglich des Verhaltens der Wirkstoffe und der Formulierungshilfsstoffe in die Arbeiten mit einem völlig anderen innovativen Formulierungsansatz, der auf der Technologie der Mikroverkapselung gründet, ein. In dem seit dem 15.01.2013 vom Zentralen Innovationsprogramm Mittelstand (ZIM) geförderten Projekt „Mikroverkapselung von Süßholzextrakten als neuartiges biologisches Fungizid“, Förderkennzeichen: KF3113801MD3, konnten in Zusammenarbeit mit dem Projektpartner, Lehrstuhl für Prozessmaschinen und Anlagentechnik (iPAT) der Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg, sehr erfolgversprechende Ergebnisse erzielt werden.

So scheint die Verkapselung der aktiven Wirkstoffe in eine Fettmatrix eine Lösung für das Problem der mangelnden UV- und Regenstabilität zu bieten. Das Ziel, die hohen Wirkungsgrade des Süßholzextraktes unter Glas auch im Freiland zu erreichen und ein zugelassenes Produkt, welches dann unmittelbar durch die vorhandenen nationalen und internationalen Distributoren dem Markt zur Verfügung gestellt wird, rückt damit in greifbare Nähe (5-8 Jahre).

## 5. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

### 5.1. M1: Wirkstoffe/Leitsubstanzen sind identifiziert

Die Wirksamkeit der Flavonoide Licoflavanon, Pinocembrin und Glabranin (LPG) konnte validiert werden. Zumindest für die griechische Herkunft P1 sind dies die hauptverantwortlich wirksamen Stoffe. Die im Rahmen des Projektes EUROSTARS GREENPROTECTION 01QE0820 durchgeführten Herkunftsuntersuchungen zeigten jedoch, dass es z.B. in einer Herkunft aus Ägypten noch weitere, nicht identifizierte Wirkstoffe gibt. Auch die hier nicht dargestellten Befunde zur möglichen Potenzierung der Wirksamkeit der drei bekannten Inhaltsstoffe erfordern weitere Untersuchungen, die in Zusammenarbeit mit dem IBC-NCR, Italien, in diesem Jahr durchgeführt werden sollen.

## **5.2. M2: Analysemethoden sind etabliert und validiert**

### **5.2.1. Standardisierung der Extrakte**

Nach erfolgreicher Verifizierung der drei Inhaltsstoffe LPG schon zu Beginn des Projektes wurden diese als Leitsubstanzen zur Standard-Herstellung angereichert und isoliert. Dies war die Voraussetzung, um deren Gehalte in den Extrakten zu quantifizieren und damit die Wirksamkeiten der verschiedenen daraus hergestellten Formulierungen vergleichen zu können.

### **5.2.2. UV- in vitro/ in vivo-Tests**

Geeignete Testsysteme zur Untersuchung der UV- bzw. Tageslichtstabilität der aktiven Inhaltsstoffe sowohl *in vitro* als auch *in vivo* wurden etabliert.

Der weiterentwickelte *in vitro*-UV-Test ermöglicht es, neue Formulierungshilfsstoffe sehr schnell auf ihre UV-stabilisierenden Eigenschaften zu untersuchen. Jedoch zeigen die in der Projektzeit gewonnenen Erfahrungen, dass dieser Test nicht ausreicht, die Wirkung in der Interaktion mit der Pflanze im Klimaraum und vor allem dann unter Freilandbedingungen hinreichend vorhersagen zu können. Eine verlässliche Aussage ist tatsächlich nur durch eine mehrfache Überprüfung in standardisierten Freilandversuchen möglich.

## **5.3. M3: Extraktionsverfahren/Upscaling ist optimiert**

Die vorgesehenen Untersuchungen zur Optimierung des Extraktes wurden alle durchgeführt.

Für die kommerzielle Nutzung des Süßholzextraktes ist eine Produktion in größeren Mengen notwendig. Das im Labormaßstab optimierte Extraktionsverfahren, welches bei niedrigeren Temperaturen eine höhere Ausbeute der aktiven Inhaltsstoffe ermöglicht, konnte weitgehend auf Technikummaßstab übertragen werden. Die bei der Extraktion aufgetretenen, kleineren Schwierigkeiten können bei Bedarf weiter bearbeitet werden, wenn die genauen Spezifikationen für den Extrakt vorliegen, aus dem dann die optimierte Formulierung mit der sicheren Wirkung im Freiland hergestellt wird.

## **5.4. M4: Geeignete Formulierung ist gefunden**

Zur Lösung spezieller Fragestellungen zu den Formulierungen war die Vergabe von Unteraufträgen an Formulierungsspezialisten geplant. Zwei Formulierer wurden diesbezüglich in der Projektlaufzeit kontaktiert. Leider erwiesen sich diese Kontakte als erfolglos, so wurden von [REDACTED] 3 Formulierungen entwickelt, die noch einen sehr hohen Lösungsmittelgehalt aufwiesen und leider auch keinen UV-Schutz für die aktiven Inhaltsstoffe boten. Auch zu Herrn Prof. Dr. rer. nat. [REDACTED] von [REDACTED] wurde Kontakt



aufgenommen. Nach ersten erfolglosen Versuchen, den ethanolischen Extrakt in ████████ verkapseln, wurde die Zusammenarbeit aufgegeben, da Herr ████████ nicht als Unterauftragnehmer daran weiter arbeiten wollte und ein von ihm gestellter Projektantrag nicht bewilligt wurde.

Das große Problem, das Lösungsmittel aus dem Extrakt zu entfernen und trotzdem die Wirkstoffe anschließend für die Herstellung von Spritzbrühen wieder in Lösung zu bringen und zur Applikation auch in Suspension zu halten, wurde sehr gut gelöst. Weiterhin konnte der Wirkstoffbedarf von 5% bei Anwendung des Rohextraktes auf 2% in den Formulierungen bei gleicher Wirksamkeit gesenkt werden.

Darüberhinaus konnte auch mit den nicht optimalen Formulierungen in den Versuchen zur Applikationstechnik die Erkenntnis gewonnen werden, dass die Wirkstoffe eine Kontaktwirkung haben und deshalb ein hoher Bedeckungsgrad auf den zu schützenden Pflanzenteilen erreicht werden muss. Deshalb müssen weiter zu entwickelnde Formulierungen eine gute Verteilung der Wirkstoffe auf den Blättern vermitteln.

Leider ist die UV- und Regenstabilität der bis jetzt entwickelten Formulierungen noch nicht ausreichend für den Einsatz im Freiland. Die Aussicht, dieses Ziel doch noch zu erreichen, besteht in der Weiterentwicklung bestehender bzw. in der Neuentwicklung der fettverkapselten Formulierungen.

#### *5.5. M5: Geeignete Formulierung ist toxikologisch unbedenklich und wird patentrechtlich geschützt*

Da in der Projektlaufzeit keine geeignete Formulierung entwickelt werden konnte, und somit endgültig die Zusammensetzung von Extrakt und Formulierungshilfsstoffen feststeht, wurden Untersuchungen zur Erfassung der toxikologischen und ökotoxikologischen Eigenschaften von Süßholzformulierungen nicht durchgeführt.

Aus diesem Grund ist auch keine weitere patentrechtliche Absicherung über die bestehende Anmeldung zum Extrakt und dessen Anwendung hinaus notwendig geworden.

## 6. Zusammenfassung

In dem Verbundvorhaben „Entwicklung eines biologischen Pflanzenschutzmittels aus Süßholz mit sicherer Wirkung im Freiland unter Nutzung effizienter Anwendungstechnik“ sollte ein praxistaugliches formuliertes Süßholzpräparat entwickelt und damit Anwendungsstrategien im Freiland in Gurke, Tomate bzw. Kartoffel entworfen werden.

Es sollte ein praxisrelevantes Verfahren erhalten werden, das eine wirksame Regulierung von Falschem Mehltau und *P. infestans* ermöglichen und dadurch die Anwendung von kupferhaltigen Pflanzenschutzmitteln in Gurke, Tomate und Kartoffel reduzieren oder sogar ersetzen kann.

Im von Trifolio-M zu bearbeitenden Teilprojekt 1: 09OE036 „Formulierung, Standardisierung und Extraktionsoptimierung“ ging es vor allem um die technische Optimierung des Extraktes im Hinblick auf das Extraktionsverfahren sowie der Wirkungssicherheit im Freiland.

Ziel war es, eine geeignete Formulierung zu finden, die sich gut applizieren lässt und ausreichende Regenfestigkeit, UV-Stabilität sowie Lagerfähigkeit der aktiven Wirkstoffe gewährleistet. Um dieses Ziel zu erreichen, waren verschiedene Aufgabenbereiche zu bewältigen.

- Zunächst wurde die Wirksamkeit von drei Inhaltsstoffen, die maßgeblich für die befallshemmende Wirkung des Süßholzextraktes bei der Kontrolle von Falschen Mehлтаupilzen verantwortlich sind, bestätigt. Diese fungierten sodann als Leitsubstanzen bei allen Optimierungen des Extraktionsverfahrens und der Entwicklung von Formulierungen.
- *In vitro* und *in vivo* UV-Tests zur Erfassung der UV-Stabilität der entwickelten Formulierungen wurden etabliert.
- Versuche zur Erfassung der Lagerstabilität mit ausgewählten Formulierungen wurden in einem Test, der eine 2-jährige Lagerung bei Raumtemperatur simuliert, durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass nicht nur bei den äthanolischen Extrakten sondern auch bei einigen Formulierungen der Abbau der wirksamen Inhaltsstoffe kleiner als für den im Test definierten Wert von 5 % erreicht werden kann.
- Ein im Hinblick auf Energie-, Zeit- und Lösungsmittelbedarf optimiertes Extraktionsverfahren konnte weitestgehend in eine großtechnische Aufbereitung übertragen werden.
- Weiterführende Arbeiten zur Senkung der benötigten Aufwandmenge der Formulierungen durch Anreicherung/Aufreinigung der Wirkstoffe im Extrakt wurden begonnen und zeigten erste vielversprechende Ergebnisse.
- Den Versuchspartnern wurden ausgewählte Formulierungen für weiterführende Tests zur Verfügung gestellt.
- Es gelang, die Wirkstoffe/den Extrakt in eine sprühfähige Form zu bringen, die sich gut mit praxisüblichen Düsen ausbringen lässt
- Der Wirkstoffbedarf konnte von 5% bei Anwendung des Rohextraktes auf 2% in den Formulierungen bei gleicher Wirksamkeit im GWH gesenkt werden

Festzuhalten ist, dass die UV- und Regenstabilität der bis jetzt entwickelten Formulierungen noch nicht ausreichend für den Einsatz im Freiland ist. Die Aussicht, dieses Ziel doch noch zu erreichen, besteht in der Einbringung der im Rahmen des BÖLN-Projektes gewonnenen Erfahrungen bezüglich des Verhaltens der Wirkstoffe und der Formulierungshilfsstoffe bei der Weiterentwicklung der bis dahin entwickelten Formulierungen bzw. bei den innovativen fettverkapselten Formulierungen in einem internationalen und nationalen Projekt.

## 7. Literaturverzeichnis

- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) (2009): Zugelassene Pflanzenschutzmittel – Auswahl für den Ökologischen Landbau nach der Verordnung (EG) Nr. 834/2007, [www.bvl.bund.de](http://www.bvl.bund.de).
- Kofoet, A., Fischer, K. (2004): Regulierung Falscher Mehltau Pilze an Gemüsekulturen im ökologischen Landbau am Beispiel von Salat und Zwiebeln. <http://forschung.oekolandbau.de>, BÖL-Bericht-ID 13561. 85 S.
- Kofoet, A., Fischer, K. (2007): Evaluation of plant resistance improvers to control *Peronospora destructor*, *P. parasitica*, *Bremia lactucae* and *Pseudoperonospora cubensis*. J. Plant Dis. Prot. 114 (2), 54-61.
- Schubert, W. (2009): Weder Vorkultur noch Behandlung mit Pflanzenstärkungsmittel überzeugten. Versuche im Deutschen Gartenbau, Versuchsbericht der LWG Veitshöchheim/Bamberg, 5 S.
- Sharma, K., Schulte-Geldermann, E., Bruns, C., Finckh, M.R. (2009): Resistenzinduktion bei Tomaten gegen *Phytophthora infestans* durch Biodüngemittel und Pflanzenstärkungsmittel. In: Mayer, J.; Alföldi, T.; Leiber, F.; Dubois, D.; Fried, P.; Heckendorn, F.; Hillmann, E.; Klocke, P.; Lüscher, A.; Riedel, S.; Stolze, M.; Strasser, F.; van der Heijden, M. und Willer, H. (Hrsg.): Werte - Wege - Wirkungen: Biolandbau im Spannungsfeld zwischen Ernährungssicherung, Markt und Klimawandel. Beiträge zur 10. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, ETH Zürich, 11.-13. Februar 2009. Band 1: Boden, Pflanzenbau, Agrartechnik, Umwelt- und Naturschutz, Biolandbau international, Wissensmanagement, 360-363.
- Thürig, B. (2004): The effect of an extract from *Penicillium chrysogenum* on plant-pathogen-interactions and characterisation of elicitors in this extract. Diss. Universität Basel (DissB\_7156, online).
- Thürig, B., Binder, A., Boller, TH., Guyer, U., Jimenez, S., Rentsch, Ch. und Tamm, L. (2006): An aqueous extract of dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* induces resistance in several crops under controlled and field conditions. Summary, <http://orgprints.org/9077>.
- Unger, C., Wilhelm, I., Jünger, R., Thalmann, R. (2006): Evidence of induced resistance of tomato plants against *Phytophthora infestans* by a water extract of dried biomass of *Penicillium chrysogenum*. J. Plant Dis. Prot. 113(5), 225-233.

## 8. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt (Printmedien, Newsletter usw.), bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse

Unabhängig von den Verbundpartnern, die bei verschiedenen Tagungen Poster und Vorträge zu Ergebnissen aus der Projektlaufzeit präsentiert haben (siehe deren Berichte), wurde von Trifolio-M nur in dem Vortrag: „Lakritze als Kupferersatz auf der Zielgeraden? Stand der Entwicklung: technische und rechtliche Hürden“, Sylvia Cergel-Trifolio-M GmbH, im Rahmen des Fachgespräch „Kupfer als Pflanzenschutzmittel“ im Julius Kühn-Institut (JKI) in Berlin Dahlem vom 4.-5. Dezember 2013, Ergebnisse der Forschungen an Süßholzextrakten vorgestellt.

Aktivitäten zur Verbreitung von Ergebnissen sind von Trifolio-M nicht geplant. Das ambitionierte Ziel, ein zulassungsfähiges Fungizid aus Süßholz zu erhalten, welches ausreichend Schutz in Gurke, Tomate und Kartoffel vor dem Befall von Falschen Mehltäupilzen unter Freilandbedingungen garantiert, wurde nicht erreicht. Das hat zur Folge, dass nicht, wie ursprünglich angedacht, bei den Verbundpartnern mit der optimierten Formulierung Anwendungsstrategien in den o.g. Kulturen erarbeitet werden konnten. Diese sollten dann von ihnen und vor allem über das DLR Rheinpfalz effizient für die Praxis zur Verfügung gestellt werden.