

Gewinnung alternativer Fungizide aus Traubentrester als Kupferersatz für den ökologischen Landbau

Alternative fungicides from grape pomace for organic farming

FKZ: 09OE040

Projektnehmer:

RLP Agrosience GmbH
Institut für Agrarökologie
Breitenweg 71, 67435 Neustadt/Weinstraße
Tel.: +49 6321 671-429
Fax: +49 6321 671-424
E-Mail: info@agrosience.de
Internet: <http://ifa.agrosience.de>

Autoren:

Singer, Christoph

FKZ: 09OE109

Projektnehmer:

Trifolio-M GmbH
Dr.-Hans-Wilhelmi-Weg 1, 35633 Lahnau
Tel.: +49 6441-209770
Fax: +49 6441-2097750
E-Mail: info@trifolio-m.de
Internet: www.trifolio-m.de

Autoren:

Cergel, Sylvia

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.

Schlussbericht

RLP AgroScience GmbH

Trifolio-M GmbH

Förderkennzeichen 28090E040 / 28090E109

Gewinnung alternativer Fungizide aus Traubentrester als Kupferersatz für den ökologischen Landbau

Laufzeit: 11.2010 - 12.2014

Kooperationspartner

RLP AgroScience GmbH

Institut für Agrarökologie (IfA)

Breitenweg 71

67435 Neustadt / Weinstraße

Tel.: 06321-671-285

Fax: 06321-671-424

E-Mail: roland.kubiak@agroscience.rlp.de

www.agroscience.de

Trifolio-M GmbH

Dr. Hans-Wilhelmi-Weg 1

35633 Lahnau

Tel.: 06441-209770

Fax: 06441-2097750

E-Mail: hubertus.kleeberg@trifolio-m.de

www.trifolio-m.de

RLP  AgroScience

Trifolio-M GmbH

Kurzfassung: Gewinnung alternativer Fungizide aus Traubentrester als Kupferersatz für den ökologischen Landbau

Dr. Christoph Singer, RLP AgroScience GmbH, IfA, Breitenweg 71, 67435 Neustadt/Weinstr., christoph.singer@agriscience.rlp.de

Sylvia Cergel, Trifolio-M GmbH, Dr. Hans-Wilhelmi-Weg 1, 35633 Lahnau, sylvia.cergel@trifolio-m.de

Die einzige derzeit bestehende, voll wirksame und zugelassene Pflanzenschutzmaßnahme gegen verschiedene Schadpilze im Ökologischen Landbau sind Zubereitungen auf der Grundlage von Kupferverbindungen. Dies führt jedoch zur Anreicherung dieses Schwermetalls im Boden, was ab gewissen Konzentrationen zu toxischen Effekten führen kann.

Eine Herangehensweise im Ökologischen Landbau ist es, die natürlichen Widerstandskräfte der Pflanzen gegen Pilzinfektionen zu unterstützen und zu stärken. Das Ziel dieser Studie war es, das Potenzial von Traubenkernextrakten zu untersuchen, um die Pflanzen im ökologischen Weinbau gegen den Falschen Mehltau (*Plasmopara viticola*) und im ökologischen Landbau gegen weitere Schaderreger, wie den Erreger der Kraut- und Braunfäule (*Phytophthora infestans*) bei Tomaten zu schützen oder zu stärken.

Im Projekt wurde zunächst die Gewinnung von Extrakten, deren Zusammensetzung und Lagerfähigkeit untersucht. Anschließend wurden die verschiedenen selbst produzierten und zusätzlich erworbene Extrakte aus Traubenkernen im Gewächshaus und Freiland unter künstlichen oder natürlichen Infektionsbedingungen untersucht. Im Gewächshaus zeigten die mit einigen Extrakt-Mischungen behandelten Pflanzen ähnliche niedrige Infektionsraten wie Pflanzen, die mit konventionellen Pestiziden geschützt wurden. Diese Ergebnisse konnten in den folgenden Freilanduntersuchungen bestätigt werden. Unter natürlichen Infektionsbedingungen, bei rechtzeitiger und ausreichend häufiger Anwendung der Extrakte, wurden die Reben ausreichend gestärkt, um ähnlich niedrige Infektionsraten wie beim Einsatz herkömmlicher Pflanzenschutzmittel zu haben. Auch bei den Tomaten konnten positive Effekte beobachtet werden. In Laborversuchen konnte dagegen keine direkte Wirkung der Extrakte gegen Schadpilze gemessen werden.

Traubenkernextrakte sind als VitoVin-Pflanzenstärkung beim Bundesministerium für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit registriert und als Marke eingetragen.

Abstract: Alternative fungicides from grape pomace for organic farming

Dr. Christoph Singer, RLP AgroScience GmbH, IfA, Breitenweg 71, 67435 Neustadt/Weinstr., christoph.singer@agriscience.rlp.de

Sylvia Cergel, Trifolio-M GmbH, Dr. Hans-Wilhelmi-Weg 1, 35633 Lahnau, sylvia.cergel@trifolio-m.de

The only currently existing fully effective and approved plant protective measures in organic agriculture are preparations based on copper compounds, which leads to accumulation of this heavy metal in the soil, with toxic effects at certain levels. One approach in organic agriculture is to support and strengthen the natural defenses of plants against fungal infections. The aim of this study was to investigate the potential of grape seed extracts to strengthen the plants in organic viticulture against downy mildew (*Plasmopara viticola*) and other pathogens such as *Phytophthora infestans* as cause of blight.

At first, the extraction process, composition of the extracts and their storage stability were investigated. Subsequently, various self-produced and purchased extracts from grape seeds were investigated in the greenhouse and field under artificial or natural infection conditions. In the greenhouse, the plants treated with some extract-mixtures showed similar low infection rates as plants that were protected with conventional pesticides. With a natural infection regime and accurately timed and more frequent extract applications, the vines were strengthened enough to have similar low infection rates as it was the case with conventional plant protection products. Positive effects could also be observed with tomatoes.

Grape seed extracts are registered as VitoVin -Plant Strengthenener at the Federal Office of Consumer Protection and Food Safety and are registered as a trademark.

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung	10
1.1	Gegenstand des Vorhabens	10
1.2	Ziele und Aufgaben des Projekts, Bezug zu Zielen des BÖLN	11
1.3	Planung und Ablauf des Projekts	11
2	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	12
3	Material und Methoden	14
3.1	Traubentrester	14
3.1.1	Beschaffung	14
3.1.2	Untersuchungen zur Konservierung	14
3.1.3	Vorbereitung zur Extraktion	15
3.2	Extrakte	15
3.2.1	Herstellung	15
3.2.2	Aufreinigung der Extrakte	16
3.2.3	Untersuchung der Inhaltsstoffe	17
3.2.4	Polyphenolmessung	17
3.2.5	Rückstandsanalytik	18
3.2.6	Haltbarkeit der Extrakte	20
3.2.7	Herstellung der Formulierungen	20
3.2.7.1	Herstellung flüssiger Formulierungen	20
3.2.7.2	Herstellung fester Formulierungen	20
3.3	Gewächshausversuche	21
3.3.1	RLP AgroScience	21
3.3.1.1	Künstliche Infektion	22
3.3.1.2	Bonitur	23
3.3.2	Trifolio-M	24
3.3.2.1	<i>Phytophthora infestans</i>	24
3.3.2.2	<i>Botrytis cinerea</i>	25

3.4	Freilandversuche	26
3.4.1	RLP AgroScience	26
3.4.1.1	Handspritzen (2012/2013)	26
3.4.1.1.1	Ansetzen der Lösungen	33
3.4.1.1.2	Applikation	33
3.4.1.1.3	Bonitur	34
3.4.1.1.4	Ernte und Kelter	35
3.4.1.2	Maschinelles Spritzen (2014)	35
3.4.1.3	Versuche mit künstlicher Infektion (2012)	37
3.4.2	Trifolio-M	38
3.4.2.1	Durchführung	38
3.4.2.2	Applikation der Extraktformulierungen/Standards	39
4	Darstellung der wichtigsten Ergebnisse	40
4.1	Verarbeitung und Konservierung des Tresters, Extraktionsverfahren	40
4.2	Untersuchung der Inhaltsstoffe	42
4.2.1	Bestimmung der Gesamtphenole	43
4.2.2	Rückstandsanalytik	43
4.2.3	Haltbarkeit der Extrakte	43
4.3	Formulierungen	45
4.4	Gewächshausversuche	49
4.4.1	RLP AgroScience	49
4.4.2	Trifolio-M	51
4.5	Freilandversuche	56
4.5.1	RLP AgroScience	56
4.5.1.1	Handspritzen (2012-2013)	56
4.5.1.2	Maschinelles Spritzen (2014)	61
4.5.1.3	Versuche mit künstlicher Infektion	63

4.5.2	Trifolio-M - Semi-Freiland/Freilandversuche mit natürlicher Infektion.....	63
5	Diskussion.....	68
5.1	Trester	68
5.2	Extraktion	71
5.3	Formulierungen.....	71
5.3.1	Flüssige Formulierungen.....	72
5.3.2	Feste Formulierungen.....	72
5.4	Gewächshausversuche.....	73
5.5	Freilandversuche.....	73
6	Angaben zum Nutzen und der Verwertbarkeit der Ergebnisse.....	78
7	Gegenüberstellung der geplanten und erreichten Ziele.....	80
8	Zusammenfassung.....	82
9	Literaturverzeichnis.....	84
10	Übersicht aller Veröffentlichungen, geplante Aktivitäten zur Verbreitung.....	90

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Rieslingtrester beim Weingut Pflüger, Bad Dürkheim	14
Abbildung 2: Extraktion von geschroteten Rieslingkernen im Perkolationsverfahren	16
Abbildung 3: Frisch getopfte Pfropfreben.....	22
Abbildung 4: Unterschiedlich stark befallene Rebblätter nach künstlicher Infektion	24
Abbildung 5: Lage der Versuchsfläche für die Freilandversuche 2012	26
Abbildung 6: Lage der Versuchsfläche für die Freilandversuche 2012 im Detail.....	27
Abbildung 7: Lage der Versuchsfläche mit Riesling für die Freilandversuche 2013	27
Abbildung 8: Lage der Riesling-Versuchsfläche für die Freilandversuche 2013 im Detail.	28
Abbildung 9: Anordnung der Versuchsgruppen Schwarzriesling 2012.	30
Abbildung 10: Anordnung der Versuchsgruppen Riesling 2013.....	31
Abbildung 11: Anordnung der Versuchsgruppen Schwarzriesling 2013.	32
Abbildung 12: Applikations, Bonitur und Erntedatum der Versuchsflächen	33
Abbildung 13: Einsprühen der noch jungen Austriebe.....	34
Abbildung 14: Beispiel eines relativ stark infizierten Blatts	34
Abbildung 15: Im Versuch verwendete Hydropresse und Glasballon (25L).....	35
Abbildung 16: Geöffnete Hydropresse und fertig befüllte Glasballons.	35
Abbildung 17: Lage der Versuchsflächen der drei Winzer 2014	36
Abbildung 18: Applikation der Extrakte am 13.6.2014	36
Abbildung 19: Applikations, Bonitur und Erntedatum der Versuchsflächen	37
Abbildung 20: Infektions-, Applikations-, Beregnungs-, Boniturdatum DLR Rheinpfalz ...	38
Abbildung 21: Wirkungsgrade der wichtigsten im Gewächshaus untersuchten Extrakte	51
Abbildung 22: Spritzbelag verursacht durch Fremdextrakt	54
Abbildung 23: Spritzbelag auf den verschiedenen Versuchsgruppen.....	54
Abbildung 24: Spritzbelag auf den verschiedenen Versuchsgruppen.....	55
Abbildung 25: Verschiedene CT-Formulierungen, 5d nach Inokulation mit <i>P. infestans</i> ..	55
Abbildung 26: Prozentuale Wirkungsgrade bei Schwarzriesling 2012	57
Abbildung 27: Prozentuale Wirkungsgrade bei Schwarzriesling 2013	59
Abbildung 28: Prozentuale Wirkungsgrade bei Riesling 2012.....	60
Abbildung 29: Infektionszahlen der Reben bei Winzer 1 2014	61
Abbildung 30: Infektionszahlen der Reben bei Winzer 2 2014	62
Abbildung 31: Infektionszahlen der Reben bei Winzer 3 2014	62
Abbildung 32: Befallsentwicklung (%) von <i>P. infestans</i> im Freilandversuch 2013.....	64
Abbildung 33: Befallsstärke und Wirkungsgrad im Freiland 2013	64
Abbildung 34: Behandelte Tomatenpflanzen aus dem Freilandversuch 2013	65
Abbildung 35: Früchte mit Spritzflecken	65

Abbildung 36: Mittlerer Befall und Wirkungsgrad im Freiland 2014	66
Abbildung 37: Befallsentwicklung im Tomaten- Freilandversuch 2014	66
Abbildung 38: Mittlerer Befall und Wirkungsgrad Semi-Freiland 2014	67
Abbildung 39: Befallsentwicklung im Semi-Freilandversuch 2014.....	67

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Geräteparameter der LC-QToF-MS zur Charakterisierung der Extrakte	17
Tabelle 2: Probenmessungen der Gesamtphenole	18
Tabelle 3: Parameter für die Rückstandsanalytik der Extrakte mittels HPLC-ESI-QToF....	19
Tabelle 4: Freilandversuche 2012 an Schwarzriesling	29
Tabelle 5: Freilandversuche 2013 an Schwarzriesling und Riesling	31
Tabelle 6: Rebsorten und Kernaussbeuten.....	40
Tabelle 7: Extraktausbeuten	41
Tabelle 8: Charakterisierung verschiedener Extrakte.	43
Tabelle 9: Lagerfähigkeit der Extrakte bei verschiedenen Temperaturen.....	44
Tabelle 10: Gesamtphenolgehalte bei Lagerung bei Raumtempertur.....	44
Tabelle 11: Prozentuale Abnahme der Gesamtphenolgehalte bei Lagerung	44
Tabelle 12: Übersicht der in der Projektzeit hergestellten Formulierungen	45
Tabelle 13: Auswahl der wichtigsten im Gewächshaus untersuchten Extrakte.	50
Tabelle 14: Infektionsstärke von <i>P. infestans</i> unter geschützten Bedingungen	53
Tabelle 15: Wirkungsgrade bei Schwarzriesling 2012.	56
Tabelle 16: Infektionen der einzelnen Pflanzen der Gruppe „Cuprozin flüssig“ 2012.....	58
Tabelle 17: Wirkungsgrade bei Schwarzriesling und Riesling 2013.	58

1 Einführung

1.1 Gegenstand des Vorhabens

Im ökologischen Weinbau und Landbau sind Präparate auf Kupferbasis die einzigen voll wirksamen Pflanzenschutzmittel gegen eine Reihe pilzlicher Pflanzenkrankheiten, insbesondere den Falschen Mehltau der Weinrebe (*Plasmopara viticola*) und den Erreger der Kraut- und Braunfäule bei Tomaten (*Phytophthora infestans*). Diese können bei starkem Befall zu hohen Ertragsverlusten bis hin zu Totalausfällen führen (Jermini et al., 1997; Müller & Sleumer, 1934). Ein Hauptproblem bei der Anwendung von kupferhaltigen Pflanzenschutzmitteln ist die Anreicherung dieses Schwermetalls im Boden und die daraus resultierenden Auswirkungen auf das Bodenökosystem (KÖSSLER, 2006). Kupfer stellt zwar ein essentielles Spurenelement dar, ab einer gewissen Konzentration wirkt es jedoch auch toxisch (CLAUS, 1979).

Da Kupfer als elementares Schwermetall nicht abgebaut wird, sondern sich im Boden anreichert, werden dringend Alternativen gesucht. In einem Vorläuferprojekt (Pro Inno KF0135207MD7) wurden erste Untersuchungen zur Eignung von Traubentresterextrakten im ökologischen Weinbau durchgeführt. Im Weinbau fallen bei der Ernte große Mengen Traubentrester an, die für eine weitere stoffliche Nutzung prädestiniert sind. Traubenkernextrakte enthalten primäre und sekundäre Pflanzenstoffe, wie z.B. phenolische Verbindungen (Richter, 1998), organische Säuren, Spurenelemente und Mineralien, die die pflanzeigene Abwehr stärken können (Kubo et al., 1985; Soler-Rivas et al., 2000). Besonders die Gruppe der polyphenolischen Verbindungen ist hierbei sehr interessant und vielfach beschrieben (Bisignano et al. 1999, Friedman 2007; Hirasawa & Takada 2004; Kirasch et al. 2009; Satisha et al. 2008)

Aufbauend aus den Ergebnissen dieses Vorläuferprojekts war das Ziel des Projektes die Herstellung und Optimierung eines alternativen Mittels aus Traubentrester zur Kontrolle von Pilzschädlingen für den ökologischen Landbau. Hierdurch sollte die Menge an ausgebrachtem Kupfer möglichst reduziert, im Idealfall die Ausbringung komplett vermieden werden. Der Fokus der Untersuchungen lag dabei auf *P. viticola* und *P. infestans*.

Hierzu wurden Untersuchungen zur Optimierung der Extraktgewinnung und Gewächshaus und Freilandversuche an Weinreben und Tomaten nach künstlicher oder natürlicher Infektion durchgeführt. Am Ende sollte möglichst ein Mittel stehen, mit dem der Befall durch diese Erreger gesenkt und gleichzeitig die Menge der ausgebrachten Kupferpräparate reduziert werden kann.

1.2 Ziele und Aufgaben des Projekts, Bezug zu Zielen und Bekanntmachungen des BÖLN

Das Forschungsvorhaben nimmt Bezug auf die Bekanntmachung 02/09/51 „Erforschung und Entwicklung von Verfahren zur Reduzierung oder zum Ersatz kupferhaltiger Pflanzenschutzmittel im ökologischen Landbau“ vom 20.05.2009.

Ziel des Projektes war es dementsprechend, aus Reststoffen des Weinbaus (Traubentrester) Inhaltsstoffe zu gewinnen, die im ökologischen Landbau und hier speziell im ökologischen Weinbau bzw. Tomatenanbau, helfen sollten, die bisher ausgebrachte Kupfermenge in diesen Bereichen zu reduzieren oder wenn möglich zu ersetzen. Dies sollte durch die Extraktion verschiedener Inhaltsstoffe aus dem Trester erreicht werden, die auf Ihr Potential zur Reduktion von Pilzinfektionen untersucht werden sollten.

1.3 Planung und Ablauf des Projekts

Als ersten Schritt stellte sich die Beschaffung ausreichender Mengen Traubentresters, auch verschiedener Rebsorten, dar. Hierbei wurde darauf geachtet, Trester aus ökologischem Anbau zu nutzen, wobei auch Trester aus konventionellem Anbau nach Ausschluss von Rückständen synthetischer Pflanzenschutzmittel verwendet werden kann. Der Trester wurde charakterisiert und es wurden unterschiedliche Lagermöglichkeiten untersucht. Aus dem Trester bzw. aus Teilen davon (Kerne) wurden im nächsten Schritt Extrakte gewonnen. Hierbei wurde eine Vielzahl von Lösungsmitteln/Gemischen untersucht, um die optimale Kombination zu erreichen.

Die gewonnenen, sowie einige zusätzlich käuflich erworbene Extrakte wurden anschließend, teilweise mit Zusätzen (z.B. Netzmittel, Haftmittel) im Gewächshaus an Topfreben bzw. Tomaten getestet. Hierzu wurden die Pflanzen entsprechend mit den Extrakten/Gemischen besprüht und später künstlich infiziert. Nach einer gewissen Wachstumszeit konnte überprüft werden, ob die Extrakte einen Effekt auf die Infektionsrate haben.

Aus den Ergebnissen der Gewächshausversuche konnten einige vielversprechende Extrakte für Freilandversuche ausgewählt werden. Diese wurden in verschiedenen Konzentrationen und mit unterschiedlichen Zusätzen ausgebracht und regelmäßig die Befallsstärke bonitiert. Am Ende des Projekts wurde der Extrakt ausgewählt, der die größten Effekte im Freiland aufwies. Der Extrakt wurde als Pflanzenstärkungsmittel VitoVin-Pflanzenstärkung in die entsprechende Liste des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) aufgenommen und eine entsprechende Marke angemeldet. VitoVin-Pflanzenstärkung wird ab Februar 2015 erhältlich sein.

2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Der Falsche Rebmehltau (*Plasmopara viticola*) stellt einen der größten Pathogene im Weinbau dar (Ferrari et al. 2000; Heibertshausen et al. 2007). Gleiches gilt für den Erreger der Kraut und Braunfäule (*Phytophthora infestans*) bei Tomaten. Die Bekämpfung dieser Erregers spielt daher eine große Rolle, sowohl im konventionellen, als auch im ökologischen Landbau. Letzterer ist bei der Pilzbekämpfung auf den Einsatz von Kupfer angewiesen, kupferhaltige Präparate werden schon seit längerer Zeit zur Kontrolle des Falschen Mehltaus eingesetzt (Heibertshausen et al. 2007). Bekannte Spritzmittel sind Cuprozin®, Cueva® und das Kombinationspräparat Myco-Sin® VIN. Als Inhaltsstoffe werden meist Kupferhydroxid, Kupferoxychlorid oder Kupferoxalat eingesetzt. Die freigesetzten Kupferionen hemmen dabei die Sporenkeimung und die Zoosporen, weshalb ein präventiver Einsatz nötig ist. Zusätzlich wird auch der Eiweißaufbau in den Pflanzen gefördert, um so die Abwehrkräfte zu stärken (Hofmann 2000). Gegen den Einsatz von Kupfer sprechen jedoch sein Anreicherungspotential im Boden und die negative Auswirkung auf die Umwelt.

Die Suche nach Alternativen hat demnach eine große ökologische und wirtschaftliche Bedeutung. Einige Forschungsprojekte beschäftigen sich mit der Suche nach Alternativen zu Kupfer-Präparaten im Weinbau. Schwerpunkte dieser Projekte waren die Testung von bereits marktreifen Produkten, das Erarbeiten von Strategien zur Optimierung des Kupfereinsatzes (s. BÖL, FKZ06OE324, Zimmer 2010, FKZ02OE371, Mohr 2003), die Gewinnung von Pflanzen- und Algenextrakten aus verschiedenen Rohstoffen als Fungizide (s. BÖL FKZ02OE109, Kollar 2003), der Einsatz von bakteriellen Antagonisten (Athai, 2013; BÖL, FKZ02OE190 Berkemann-Loehnertz 2003), Prognosemodelle und die Züchtung resistenter Rebsorten. Als alternative Fungizide und Pflanzenstärkungsmittel sind Algenextrakte, Aminosäuren, Kaliseifen verschiedener Fettsäuren, Kaliumverbindungen, Kieselsäuren, Schwefelverbindungen, Tonerden und verschiedenste Pflanzen-Extrakte in Tests untersucht worden (Carabet et al. 2007; Hofmann 2000; Kast 2000a, Kast 2000b; Robotic et al. 2000; van Zwieten et al. 2007).

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass der Einsatz von Kupfer durch Kombination verschiedener Präparate und Anwendungstechniken verringert werden kann. Ein Verzicht auf Kupfer in der Praxis ist bisher jedoch noch nicht möglich.

Als vielversprechende Inhaltsstoffe verschiedener organischer Reststoffe wurden polyphenolische Verbindungen identifiziert. Polyphenole sind vielfach als Substanzen beschrieben, die in der natürlichen Resistenz von Pflanzen gegen Krankheitserreger eine wichtige Rolle spielen (Friedman 2007; Hirasawa & Takada 2004; Kirasch et al. 2009; Satisha et al. 2008). Auch die höhere Resistenz von Vitis-Arten mit hohen Polyphenolgehalten

gegenüber *Plasmopara viticola* ist beschrieben (Satisha et al. 2008). Im vorliegenden Projekt soll deshalb die Möglichkeit untersucht werden, ob die Applikation polyphenolhaltiger Extrakte die behandelten Pflanzen so weit stärken kann, dass diese besser gegen den Angriff von Schwächeparasiten gewappnet sind.

Als mögliche Rohstoffe für die Gewinnung von polyphenolhaltigen Extrakten sind verschiedene Obsttrester (Athai, 2014; Corrales & Moreno 2008; Garnweidner 2006; Kammerer et al. 2004; Larrauri et al. 1996; Laufenberg 2003, Negro et al. 2003) denkbar. Die Trester besitzen hohe Gehalte an Verbindungen mit antioxidativer Wirkung (Flavonoide, Hydroxymizsäurederivate, Stilbene, Terpene), die eine nachgewiesene positive Wirkung auf die Gesundheit von Pflanzen haben (Baydar et al. 2004; Maier et al. 2009; Romero-Perez et al. 2001). Dabei sind die größten Mengen Polyphenole in den festen Bestandteilen, wie Kernen und Häuten, zu finden (Bisboaca & Purcarea 2008; Ruberto et al. 2007).

Aufgrund der geringen Fettlöslichkeit sind in Kernölen nur geringe Mengen zu finden, die besten Extraktionserfolge von Kernen und Häuten wurden mit Methanol, Wasser-Methanol/Wasser-Ethanol- oder Wasser-Aceton-Gemischen gefunden (Bisboaca & Purcarea 2008; Corrales & Moreno 2008; Baydar et al. 2007; Nikfardjam 2001; Satisha et al. 2008; Spigno et al. 2007), eine leichte Temperaturerhöhung verkürzte die Extraktionszeit.

Auf Basis dieser Ergebnisse sollte im vorliegenden Projekt ein Mittel entwickelt werden, welches die Infektionszahl von Weinreben und möglichst auch weiteren Kulturen mit Schwächepilzen reduziert und damit möglichst den Einsatz kupferhaltiger Präparate verringert oder im Idealfall vermeidet.

3 Material und Methoden

3.1 Traubentrester

3.1.1 Beschaffung

Als Ausgangsmaterial für die Versuche wurde vom Weingut Pflüger, Bad Dürkheim, einem nach ökologischen Richtlinien arbeitenden Winzer, ausreichende Mengen Trester beschafft. Hierbei wurde sehr frischer Trester (siehe Abbildung 1) verschiedener Rebsorten, (Schwarzriesling, Cabernet Sauvignon, Riesling) meist jedoch Riesling, genutzt. Dieser wurde direkt nach der Pressung gesammelt und zur RLP AgroScience transportiert. Dort wurde er zur weiteren Verwendung vorbereitet. Zu Beginn des Projekts wurde jeweils der komplette Trester (Häute, Kerne, Rappen) verwendet, später wurden, um die Menge unerwünschter Inhaltsstoffe zu reduzieren, nur noch die im frischen Trester enthaltenen Kerne ausgesiebt und nur diese weiterverwendet.



Abbildung 1: Rieslingtrester beim Weingut Pflüger, Bad Dürkheim. a) direkt nach dem Pressvorgang; b) Nahaufnahme des Tresters mit Häuten, Kernen und Rappen

3.1.2 Untersuchungen zur Konservierung

Teile des Tresters wurden für Konservierungsversuche siliert, getrocknet bzw. eingefroren.

Für die Silierung wurde der frische Trester in 60l Kunststofffässer eingebracht, verdichtet und diese luftdicht mit einem Gärröhrchen verschlossen. Nach einem Jahr Lagerzeit bei Raumtemperatur wurde der Trester entnommen und nach der Trocknung (siehe Folgeabsatz) für die weiteren Versuche verwendet.

Die Trocknung des Tresters erfolgte bei 60°C im Wärmeschrank über mehrere Tage bis zu einer Restfeuchte von ca. 10%. Der getrocknete Trester wurde bis zur weiteren Verwendung in luftdicht schließenden Behältern aufbewahrt.

Die Gefrierlagerung erfolgte in luftdichten Gefäßen bei -21°C in Gefriertruhen bis zur späteren Verwendung. Auch der gefrorene Trester wurde nach dem Auftauen wie oben beschrieben getrocknet und erst dann weiter verwendet.

Alle Trester wurden später auf die gleiche Weise weiterverarbeitet und für die Extraktion vorbereitet. Die Bewertung der Qualität eines Lagerungsverfahrens wurde über die Extraktausbeute, die Messung der Polyphenolgehalte bzw. die beobachteten Effekte im Gewächshaus getroffen.

3.1.3 Vorbereitung zur Extraktion

In allen Fällen wurde das Material bei maximal 60°C auf ca. 10% Restfeuchte getrocknet, um die Schimmelbildung zu unterdrücken, verbliebene Verunreinigungen wie Beerenhäute, Stiele usw. wurden per Windsichtung ausgeblasen. Die Trocknung nur der Kerne im Gegensatz zum gesamten Trester bedeutet dabei eine erhebliche Energieeinsparung.

Die getrockneten Trester(bestandteile) wurden anschließen mit einer Getreidemühle zerkleinert, um die Oberfläche zu erhöhen und die Kerne zu öffnen. Dadurch kann das Extraktionsmittel leichter eindringen und es ist eine vollständigere Extraktion möglich. Das so vorbereitete Material konnte dann für die verschiedenen Extraktionsversuche eingesetzt werden.

3.2 Extrakte

3.2.1 Herstellung

Ausgehend von den Erkenntnissen des Vorgängerprojekts wurde die dort erarbeitete Extraktionsmethode weiter verfeinert. Dabei wurden vor allem folgende Fragestellungen untersucht:

- Einfluss des Mahlgrads der Kerne
- Einfluss des Lösungsmittel(gemischs), optimales Lösungsmittel
- Einfluss der Lösungsmittelmenge auf die Ausbeute
- Einfluss des Extraktionsverfahrens

Es wurden zwei verschiedene Korngrößen getestet: 1-4mm und 0-1mm. Als Lösungsmittel kamen Methanol bzw. Ethanol zum Einsatz, jeweils in verschiedenen Mischungsverhältnissen mit Wasser bzw. reines Wasser. Diese Lösungsmittel hatten sich im Vorgängerprojekt als am Vielversprechendsten herausgestellt. Die Mischungen reichten von unverdünntem Alkohol bis 50% Wasseranteil bzw. reinem Wasser. Es wurden verschiedene Lösungsmittelvolumina eingesetzt, die vom zweifachen bis zum vierfachen des Volumens des zu extrahierenden Tresters reichten.

Zwei Extraktionsverfahren wurden getestet: Ein Perkolationsverfahren, bei dem die zerkleinerten Kerne in einer Säule vom Lösungsmittel durchströmt werden und ein Verfahren, bei dem die Kerne zusammen mit dem Lösungsmittel in einem Kolben für 12 Stunden geschüttelt wurden, wobei das Lösungsmittel mehrmals gewechselt wurde.

Das eingesetzte Lösungsmittel wurde durch Vakuumdestillation anschließend wieder zurückgewonnen. Die gewonnenen Extrakte wurden dadurch konzentriert und anschließend teilweise mittels Gefriertrocknung vollständig getrocknet. Dadurch war die Darstellung von flüssigen (gelösten) sowie pulvrigen Extrakten möglich. Die Extraktion in der Säule und die Rückgewinnung der Lösungsmittel im Vakuum-Rotationsverdampfer sind in Abbildung 2 dargestellt.

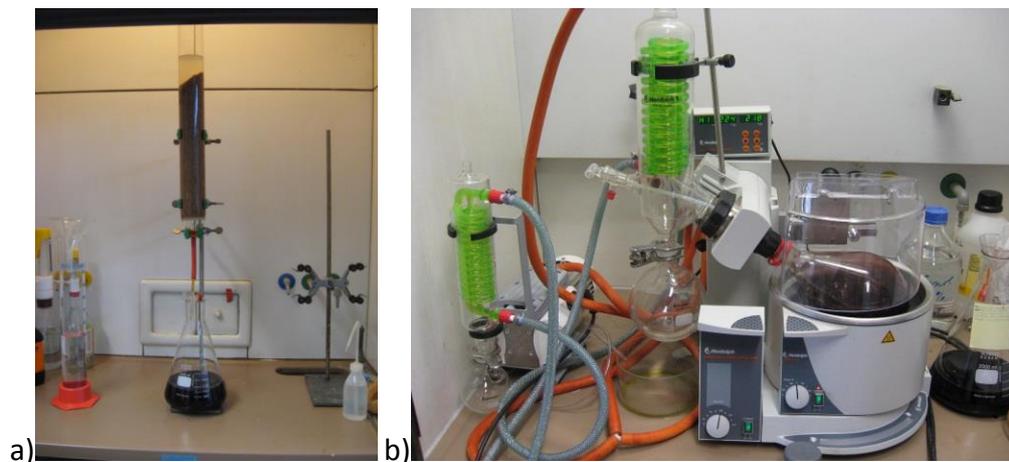


Abbildung 2: a) Extraktion von geschroteten Rieslingkernen im Perkolationsverfahren. Diese befinden sich in einer Glas-Chromatographiesäule mit eingeschmolzener Glasfritte. Von oben wird das Lösungsmittel zugegeben, welches den Kernschrot nach unten durchströmt, dabei die Inhaltsstoffe herauslöst und unten als konzentriertes Perkolat aufgefangen wird. b) Rotationsverdampfer zur Rückgewinnung der Lösungsmittel im Technikumsmaßstab

3.2.2 Aufreinigung der Extrakte

Da die unerwünschten Stoffe möglicherweise einen negativen Einfluss auf die Effektivität haben können, wurden Versuche unternommen, diese so weit wie möglich aus den Extraktlösungen zu entfernen. Hierzu wurden die Extraktpulver zunächst in reinem Wasser gelöst und anschließend in eine Glassäule aufgegeben, die mit Kunstharz (Amberlite XD7) gefüllt war. An diesem Kunstharz adsorbierten die Polyphenole, während organische Säuren, Zucker usw. gelöst bleiben und mit dem ablaufenden Wasser entfernt wurden. Anschließend wurde die Säule mit Wasser gespült, um noch verbliebene Zucker usw. zu entfernen. Danach konnten die adsorbierten Polyphenole mit reinem Methanol von der Säule gelöst und aufgefangen werden, das Methanol wurde wiederum im Rotationsverdampfer entfernt. Die Ergebnisse der Aufreinigung werden bei den Gewächshausversuchen behandelt.

3.2.3 Untersuchung der Inhaltsstoffe

Zur Charakterisierung der Extrakte wurden jeweils 1g/l Extrakt in Modellwein (bestehend aus 12 % Ethanol, 0,5 % Weinsäure, pH 3,6) eingewogen. Als Interner Standard diente die Zugabe von 1 mg/L Cyanidin-3-rutinosid. Für die Messungen mittels LC-QToF-MS wurden die unten dargestellten Geräteparameter (Tabelle 1) eingesetzt.

Tabelle 1: Geräteparameter der LC-QToF-MS zur Charakterisierung der Extrakte
Geräteparameter LC-QToF-MS

Pumpe	Agilent 1260 Infinity Binary Pump
Degaser	Agilent 1260 Infinity HiP Degasser
Autosampler	Agilent 1260 Infinity HiP ALS
Säulenofen	Agilent 1260 Infinity TCC
DAD	Agilent 1260 Infinity DAD
Säule	Phenomenex Kinetex C18, 150x2,10, 2,6µm, 100 Å
Massenspektrometer	6530 Accurate-Mass QToF LC/MS
Software	Agilent Mass Hunter Workstation Software Version B.05.00
Messparameter Massenspektrometer	
Ionisierung	ESI-Positiv
Massenbereich	100 - 1700 Da
Kapillarspannung	3000
Fragmentorspannung	170 V
Skimmer	65 V
Nebulizer	35 psig
Gas Temp.	320°C
Gas Flow	8 L/min
Sheath Gas	380°C
Sheath Gas Flow	11 L/min
Kollisionsenergie MS/MS (CID)	variabel: $\left(\frac{3 \cdot m/z}{100} + 5 \right) eV$

Fließmittelsystem	Gradientenprogramm:		
	Zeit / min	Eluent A / %	Eluent B / %
Eluent A: 93 % Reinstwasser / 5 % Acetonitril / 2 % Ameisensäure	0	100	0
Eluent B: 5 % Reinstwasser / 93 % Acetonitril / 2 % Ameisensäure	2	100	0
Fließgeschwindigkeit: 0,4 ml / min	18	30	70
Säulentemperatur: 40 °C	22	0	100
	23	0	100

3.2.4 Polyphenolmessung

Der Gesamtphenolgehalt der Extrakte wurde als Leitparameter eingesetzt, an diesem wurde bei den Applikationsversuchen auch die Anwendungskonzentration festgelegt. Die Bestimmung des Gesamtphenolgehalts erfolgte mittels Folin-Ciocalteu- Test, einer Mischung aus Phospho-Molybdat und Phospho-Wolframat. Die Messung erfolgte über die Reaktion des Folin-Reagenzes im alkalischen Milieu zu einem blauen Farbstoff, dessen Konzentration

bei einer Wellenlänge von 735,8nm vermessen wurde. Als Standard diene Gallussäure-Monohydrat, die Ergebnisse werden in Gallussäure-Äquivalenten angegeben (GAE).

Für die Messungen wurde eine wässrige Natriumhydroxid Lösung (0,5molar) und eine Gallussäure-Stammlösung (c= 2,643g/L) hergestellt. Aus der Stammlösung wurde anschließend eine Arbeitslösung (c= 528µg/ml) hergestellt. Die zusammenpipettierten Lösungen wurden geschüttelt, in ein Wasserbad (T=37°C) gestellt und genau 15 Minuten reagieren gelassen. Anschließend wurde für eine Minute unter kaltem Wasser abgekühlt und bei 735,8nm in einer Quarzküvette gemessen. Die Quantifizierung erfolgte über die Kalibriergerade.

In Tabelle 2 sind die erforderlichen Lösungen für die Kalibrierung und Probenmessungen dargestellt.

Tabelle 2: Lösungen und Ansatzmengen für die Kalibrierung und Probenmessungen der Gesamtphenole

Reagenz	Wasser (ml)	NaOH (ml)	Gallussäure Arbeitslösung	Folinreagenz (ml)
Kalibrierung 0	2,9	1	0	0,1
Kalibrierung 1	2,8	1	0,1	0,1
Kalibrierung 2	2,7	1	0,2	0,1
Kalibrierung 3	2,5	1	0,4	0,1
Kalibrierung 4	2,4	1	0,5	0,1
Kalibrierung 5	2,2	1	0,7	0,1
Probe	2,4	1	Probe 0,5	0,1

Der Gehalt an phenolischen Substanzen wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\mu\text{g} \frac{\text{GAE}}{\text{ml}} = \frac{\beta * 4}{V}$$

β: durch lineare Regression erhaltener Wert in µg GAE/ml

4: Volumen der Messlösung in ml

V: eingesetztes Probevolumen

Hohe GAE-Werte zeigen hohe Gesamtgehalte an Polyphenolen in den Probelösungen an.

3.2.5 Rückstandsanalytik

Um Rückstände von Pflanzenschutzmitteln und eine daraus ableitbare Wirksamkeit ausschließen zu können, wurden alle verwendeten Extrakte einer Rückstandsanalytik mittels HPLC-ESI-QToF unterzogen. Die eingesetzten Parameter sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Parameter sowie eingesetzte Hard- und Software für die Rückstandsanalytik der Extrakte mittels HPLC-ESI-QToF

LC Conditions

Column: Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm x 100 mm, 1.8 μ m
(p/n 959764-902)
Column temperature: 40°C
Mobile phase: A: 94,8% H₂O, 5% ACN, 0,2% HCOOH
B: 94,8% ACN, 5% H₂O, 0,2% HCOOH
Flow-rate: 0.3 mL/min
Gradient: Time 0 = 0% B
Time 12 = 100% B
Time 16 = 100% B
Time 17 = 0% B
Post-time: 3 min
Injection volume: 5 μ L

MS Conditions

Mode: Positive ESI using Agilent G6530A
Q-ToF, Auto MS/MS
Nebulizer: 35 psi
Drying gas flow: 7 L/min
Drying gas temp: 250°C
Sheath gas flow: 10 L/min
Sheath gas temp: 300°C
V capillary: 3500 V
Fragmentor voltage: 125 V
Mass range: MS: 100 – 1000 m/z, Acquisition rate 1 spectra/sec
MS/MS: 50 – 500 m/z, Acquisition rate 4 spectra/sec
Collision energy: 10, 20, 30 V
Mode: Negative ESI using Agilent G6530A
Q-ToF, Auto MS/MS
Nebulizer: 40 psi
Drying gas flow: 7 L/min
Drying gas temp: 250°C
Sheath gas flow: 10 L/min
Sheath gas temp: 300°C
V capillary: 2500 V
Nozzle voltage: 1500 V
Fragmentor voltage: 125 V
Mass range: MS: 100 – 1000 m/z, Acquisition rate 1 spectra/sec
MS/MS: 50 – 500 m/z, Acquisition rate 6 spectra/sec
Collision energy: 10, 20, 30 V

Software

Acquisition: Agilent MassHunter Workstation Software B.05.00
Qualitative analysis: Agilent MassHunter Qual Analysis B.06.00
Pesticide database: Agilent G6854AA Agilent MassHunter Pesticides PCD Version
B.04.00 (Mar-2011), 1609 compounds, actually 1642 compounds

Die Ergebnisse wurden mit den Angaben einer Pestiziddatenbank (erhältlich von Agilent Technologies) verglichen. Die Datenbank enthält 1609 Pestizide mit CAS-Nummern und

Daten zur Identifikation. Ca. 1400 Pestizide aus dieser Datenbank sind mit dem gewählten HPLC-Verfahren nachweisbar.

Zudem wurde der Kupfergehalt der Extrakte mittels Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) untersucht. Hierzu wurden Extraktlösungen in bidestilliertem Wasser mit der Konzentration hergestellt, wie sie auch für die Spritzungen verwendet wurden (1g/l GAE) und diese vermessen.

3.2.6 Haltbarkeit der Extrakte

Da für einen späteren Vertrieb die Lagerfähigkeit bei gleichzeitiger Erhaltung der positiven Eigenschaften eine große Rolle spielt, wurden Untersuchungen zur Haltbarkeit durchgeführt. Hierbei wurde eine größere Anzahl an Extrakten für ca. 6 Monate bei unterschiedlichen Temperaturen (+ 54°C, +20°C, +4°C bzw. -21°C) gelagert und in regelmäßigen Abständen die Gesamtphenolgehalte als Leitparameter untersucht. Laut GIFAP Technical Monograph No. 17 ist eine Probe, deren Inhaltsstoffe sich bei 54°C Lagertemperatur in zwei Wochen zu weniger als 5% abbauen, zwei Jahre bei Raumtemperatur lagerfähig. Auf diese Weise kann relativ schnell die Haltbarkeit überprüft werden.

Zudem wurden drei Extrakte (zwei zugekaufte und ein selbst hergestellter) für zwei Jahre bei Raumtemperatur gelagert und ebenfalls regelmäßig die Gesamtphenolgehalte gemessen. Durch den Vergleich der Ausgangs- mit den nach einer gewissen Lagerdauer gemessenen Gehalten wurde die Haltbarkeit bestimmt.

3.2.7 Herstellung der Formulierungen

3.2.7.1 Herstellung flüssiger Formulierungen

Für die Herstellung von EC-Formulierungen (EC = Emulsifiable Concentrate) wurde der Extrakt in geeigneten Lösungsmitteln gelöst und mit den jeweiligen Formulierungshilfsstoffen (Emulgatoren, Netzmittel, UV-Stabilisatoren, etc.) versetzt. Teilweise wurde die Lösung des Extraktes mit Hilfe von Wärme- oder Ultraschallbehandlung forciert. Die so hergestellten Formulierungen wurden anschließend bezüglich Löslichkeit bzw. Suspendierbarkeit in Wasser untersucht. Durch Applikation auf Versuchs-Pflanzen wurden die Bildung von Spritzflecken und die Benetzung der Blätter untersucht.

3.2.7.2 Herstellung fester Formulierungen

Für die Herstellung von WP-Formulierungen (WP = Wettable Powder) wurde der Extrakt und ggf. Netzschwefel mit fein vermahlenden Zusatzstoffen gemischt. Falls notwendig, wurden die Pulver anschließend nochmals vermahlen oder gemörsert. Die so hergestellten

Pulver wurden in der entsprechenden Aufwandmenge in Wasser gelöst bzw. suspendiert und anschließend die Löslichkeit und das Sedimentationsverhalten untersucht.

Für die Herstellung der WDG- und SG-Formulierungen (WDG = Waterdispersable Granule; SG = Soluble Granule) wurden ebenfalls alle Inhaltsstoffe gemischt und ggf. nochmals vermahlen. Anschließend wurde durch Zugabe von Wasser ein extrudierbarer Teig hergestellt. Da Trifolio M nicht über einen Laborextruder verfügt, wurde die Extrusion in einer Spritze mit integrierter Siebplatte durchgeführt. Alternativ hierzu wurde der Teig auf einem grob strukturierten Baumwolltuch verstrichen und Trocknen gelassen. Nach der Ablösung der getrockneten Formulierung vom Baumwolltuch entstanden Granulate mit einem Durchmesser von ca. 1 mm. Die so hergestellten Formulierungen wurden ebenfalls bezüglich Löslichkeit bzw. Suspendierbarkeit, sowie auf Bildung von Blattflecken und der Benetzung unterschiedlicher Blattoberflächen (Wein, Tomate) untersucht.

3.3 Gewächshausversuche

3.3.1 RLP AgroScience

Es wurden Extrakte aus unterschiedlichen Herstellungsverfahren in verschiedenen Konzentrationen, Formulierungen und mit diversen Zusätzen getestet.

Neben den reinen Extrakten in verschiedenen Konzentrationen wurden auch Zusätze wie Cocana-Seife, Salicylsäure und Netzschwefel untersucht. Cocana-Seife dient dabei als Netzmittel und hat Wirkung gegen den Echten Rebmehltau, Salicylsäure hat resistenteninduzierende Wirkung und Netzschwefel dient ebenfalls als Wirkstoff gegen den Echten Mehltau. Durch die Zumischung der Zusätze sollte einerseits ein möglicher positiver Effekt, andererseits die Verwendbarkeit dieser teilweise etablierten Zusatzstoffe zusammen mit Extrakt überprüft werden.

Bei den eingesetzten Reben handelte es sich um Pfropfreben der Sorte Müller-Thurgau, Klon AF1 auf der Unterlage 5BB, Klon We48. Sie wurden in einem Gemisch aus Floraton 1 und Perlite (80/20) in 2L-Rosentöpfe gepflanzt. Die Sorte Müller-Thurgau wurde aufgrund deren relativ hoher Empfindlichkeit für den Falschen Mehltau ausgewählt. Die Versuche wurden nach der im Folgenden beschriebenen Vorgehensweise durchgeführt. In Abbildung 3 sind die frisch getopften bzw. versuchsfertigen Reben im Gewächshaus gezeigt.

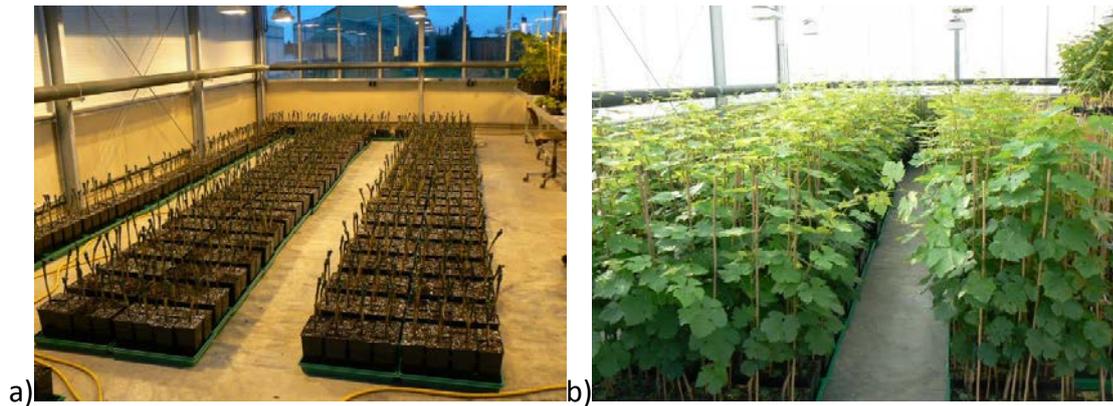


Abbildung 3: a) Frisch getopfte Pfropfreben der Sorte Müller Thurgau; b) Reben nach ca. 6 Wochen. In dieser Größe wurden sie für Versuche eingesetzt. Aufbringen der Pflanzenschutzmittel und Extrakte

Sobald die Reben wenigstens zwölf Blätter entwickelt hatten, wurden Sie für die Versuche eingesetzt. Jeweils acht Rebstöcke wurden dabei zu einer Versuchsgruppe zusammengefasst, die die gleiche Extraktbehandlung erfuhr. Je eine Versuchsgruppe blieb unbehandelt (Kontrolle), bzw. wurde mit Cuprozin flüssig oder Delan WG in den vorgeschriebenen Konzentrationen eingesprüht. Jede Versuchsgruppe wurde mindestens zwei Mal zu unterschiedlichen Terminen getestet. Weitere Versuchsgruppen wurden entsprechend mit den Extraktlösungen in verschiedenen Konzentrationen und Zusätzen behandelt. Alle Lösungen wurden mit einem Druckluft-Pumpsprühsystem auf die Blattunterseiten aufgebracht, bis ein flächiger Flüssigkeitsfilm vorhanden war. Dieser wurde vor der künstlichen Infektion 24 Stunden antrocknen gelassen. So hatte die Pflanze Zeit, auf die aufgebrachten Stoffe zu reagieren.

3.3.1.1 Künstliche Infektion

Für die künstliche Infektion wurde eine Sporangiensuspension des Falschen Rebmehltaus hergestellt. Hierzu wurden entweder stark befallene, sporulierte Blätter aus einem vorangegangenen Versuch oder eingefrorenes Sporangienpulver eingesetzt. Die Blätter mit Sporangienrasen wurden in ein Kunststoffgefäß mit ca. 100ml Leitungswasser gegeben und das verschlossene Gefäß eine Minute kräftig geschüttelt, um die Sporangien von den Blättern zu lösen. Anschließend wurden die Blätter entfernt und die entstandene Sporangiensuspension in einer Fuchs-Rosenthal-Kammer unter dem Mikroskop ausgezählt. Die Suspension wurde dann mit Wasser auf eine Sporangienkonzentration von 40.000/ml eingestellt. Da bei Kontakt mit Wasser der „Schlupf“ der Zoosporen in relativ kurzer Zeit (<1h) erfolgt, mussten diese Arbeiten möglichst zügig durchgeführt werden. Für die künstliche Infektion wurden die Blattunterseiten der bereits tags zuvor behandelten Reben mit dieser Suspension sofort nach Herstellung gleichmäßig eingesprüht. Um eine genügend lange Periode mit flüssigem Wasser auf den Blättern zu erreichen, welches die Zoosporen

des Falschen Mehltaus für eine Infektion benötigen, wurden die Pflanzen nach dem Einsprühen mit Kunststoffbeuteln überzogen, um so die Verdunstung zu verhindern. Die Beutel blieben über Nacht auf den Reben und wurden am nächsten Morgen entfernt. Nach der Infektion konnte der Pilz die Rebblätter eine Woche durchwachsen, bevor die Infektions- und Befallsrate ermittelt wurde.

3.3.1.2 Bonitur

Um den Befall durch die künstliche Infektion und den Effekt der Extrakte bzw. Pflanzenschutzmittel zu bonitieren, wurde zunächst die Sporulation des Pilzes in den befallenen Blättern ausgelöst. Dadurch ist die befallene Blattfläche leichter zu identifizieren. Hierzu wurden die Reben mit einer Brause gründlich befeuchtet und wiederum mit Kunststoffbeuteln überzogen. Durch die unter den Beuteln herrschende hohe Luftfeuchtigkeit wurde der Pilz über Nacht zur Sporulation angeregt. Am nächsten Morgen wurden die Beutel entfernt und die sporulierte Blattfläche im Verhältnis zur Gesamtblattfläche jedes einzelnen Blattes optisch ausgewertet. In Abbildung 4 sind beispielhaft einige Blätter mit unterschiedlich starkem Befall/Sporulation und den zugeordneten prozentualen Befallszahlen dargestellt. Die Befallsrate jedes einzelnen Blatts wurde dabei optisch in 10%-Schritten bewertet. Aus allen Werten der Blätter einer Pflanze wurde ein Mittelwert der Infektion gebildet. Aus allen acht Pflanzen einer Gruppe wurden schließlich die mittlere Infektion und die Standardabweichung dieser Gruppe berechnet.

Anschließend wurde aus den mittleren Infektionsraten der Kontrolle und der Extrakte der Wirkungsgrad nach Abbott mit folgender Formel berechnet:

$$WG = \frac{B_K - B_E}{B_K} \times 100$$

WG: Wirkungsgrad nach Abbott

BK: Befall der Kontrollpflanzen

BE: Befall der mit Extrakt behandelten Pflanzen

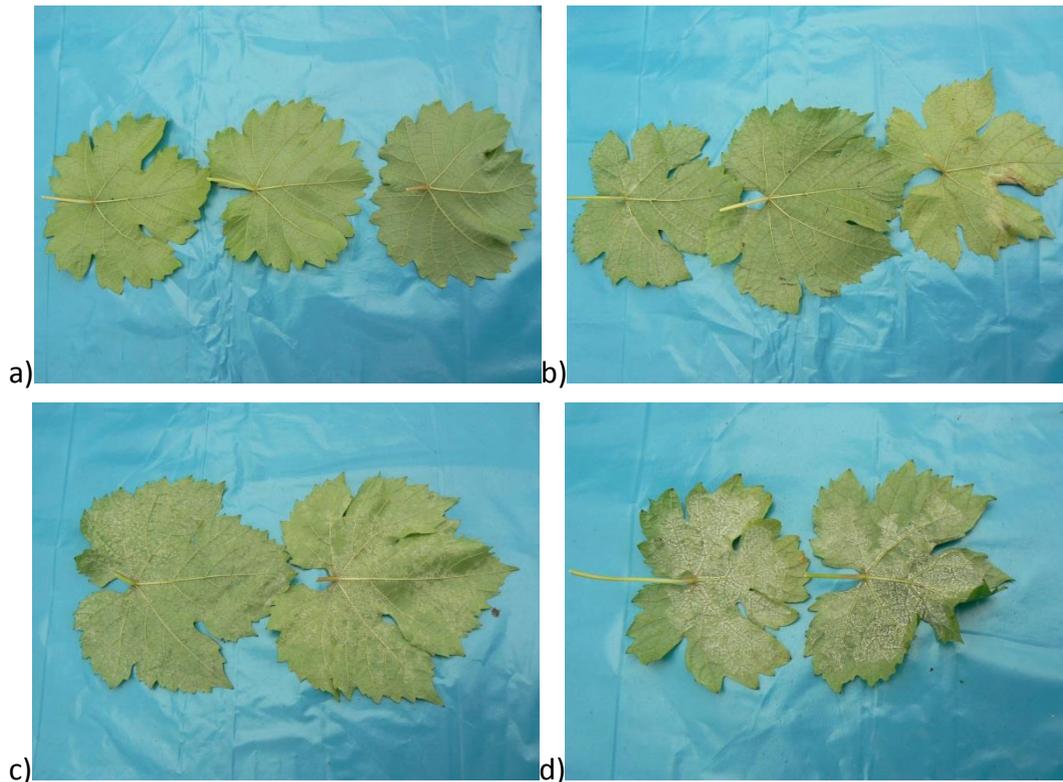


Abbildung 4: Unterschiedlich stark befallene Rebblätter nach künstlicher Infektion mit 40.000 Sporangien/ml und sieben Tagen Inkubationszeit. a) 0%, b) 20%, c) 60%, d) 80%

3.3.2 Trifolio-M

Durchführung von Versuchen im Klimaraum in den Pathosystemen Tomate-/*Phytophthora infestans* und *Botrytis cinerea*

3.3.2.1 *Phytophthora infestans*

Etwa 3–5 Wochen vor Versuchsbeginn erfolgt die Aussaat von Tomatensamen der Sorte „Minibell“ in 55er oder 77er Anzuchtschalen. Als Substrat wird Fruhstorfer Erde Typ T, Struktur fein verwendet. Im 2-3 Blattstadium werden die Tomatenpflanzen in 11x11x11 Töpfe mit Fruhstorfer Erde Typ T, Struktur 1b getopft. Eine Variante besteht aus 5 Wiederholungen mit je einer Pflanze pro Wiederholung. Als interne Standards laufen in allen Versuchen eine wasserbehandelte Kontrolle sowie ein Kupferstandard (Atempo; Kupferoktanoat-Präparat, 1,5%, entspricht 0,027 % Reinkupfer) mit.

Die Versuchsdurchführung findet in den firmeneigenen Klimäräumen statt. Die zu testenden Formulierungen werden protektiv einen Tag vor der Inokulation mit Hilfe eines Handpumpsprühers tropfnass auf die Pflanzen appliziert. Dies entspricht etwa einer Aufwandmenge von ca. 4 ml/Pflanze. Die Pflanzen befinden sich im 3- 4 Blattstadium.

Einen Tag nach der Behandlung werden die Pflanzen mit einer Sporangiensuspension von *P. infestans* infiziert. Dazu wird das Mycel von stark bewachsenen Agarplatten mit je 10

ml Leitungswasser (bzw. Sporangiensuspension) abgeschwemmt, gerührt und durch ein grobes Sieb gefiltert. Für die Bestimmung der Sporangien-dichte wird eine 1:10 Verdünnung der Sporangiensuspension angesetzt und diese mit Hilfe einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer unter dem Mikroskop ausgewertet. Zur Verbesserung des Zoosporenschlupfes wird die Sporangiensuspension für 3,5 Stunden bei 5 °C in den Kühlschrank gestellt.

Die Applikation erfolgt mit Hilfe einer Lackierpistole und eines Kompressors (GÜDE, Typ AL 210/8/249). Die Pflanzen werden tropfnass gespritzt und anschließend bei ca. 16 °C und 100 % rLF ohne Beleuchtung in dem Inkubator aufgestellt. Nach 24 Stunden wird ein Beleuchtungsrhythmus von 16:8 Stunden Tag/Nacht bei 18°C eingestellt und die Pflanzen bis zur Bonitur, die je nach Befallsstärke 5 bis 7 Tage nach Inokulation erfolgt, kultiviert.

Der Befall der Pflanzen wird durch visuelle Erfassung des Anteils (%) erkrankter/nekrotischer Veränderungen an Blättern/Stängeln an der Gesamtmasse einer Pflanze/Wiederholung (100%) angegeben und fotografisch dokumentiert. Boniturskala: 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, ..., 90, 100 %. Mit den Boniturnwerten der einzelnen Wiederholungen werden Mittelwerte und Standardabweichung des Befalls (%) errechnet und der Wirkungsgrad [ABBOTT] für jede Variante ermittelt. Die Ergebnisse werden tabellarisch und graphisch dargestellt.

3.3.2.2 *Botrytis cinerea*

Die Anzucht der Versuchspflanzen und Durchführung der protektiven Behandlung geschieht analog zu den wie für *P. infestans* beschriebenen Arbeiten.

Die Inokulation mit *Botrytis cinerea* erfolgt einen Tag nach der Applikation der Testsubstanzen. Das Mycel von stark bewachsenen Agarplatten wird mit je 10 ml Leitungswasser mit Zusatz von 1 Spatelspitze Tween 85 abgeschwemmt, gerührt und durch ein grobes Sieb gefiltert. Für die Bestimmung der Sporendichte wird eine 1:100 Verdünnung der Sporensuspension angesetzt und diese mit Hilfe einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer unter dem Mikroskop ausgewertet. Zur Verbesserung der Sporenceimung wird der Sporensuspension Fructose und Gamborgs B5 Mineralsalz Mix hinzugegeben und alles für etwa eine Stunde auf dem Magnetrührer gerührt.

Die Applikation des Inokulums, Inkubation, Bonitur und Auswertung siehe Beschreibung wie für *P. infestans*.

3.4 Freilandversuche

3.4.1 RLP AgroScience

Die Extrakte/Mischungen, die im Gewächshaus vielversprechende Effekte zeigten, wurden anschließend im Freiland überprüft. Dies erfolgte über drei Vegetationsperioden von 2012-2014. 2012 wurden zunächst eine große Anzahl an Extraktkonzentrationen und -Mischungen mit verschiedenen Zusätzen, ähnlich wie im Gewächshaus, untersucht. Dabei sollten möglichst geeignete Formulierungen gefunden und die Ergebnisse der Gewächshausversuche überprüft werden. Die Mischungen wurden mittels Handspritzen manuell ausgebracht. Die vielversprechenden Extrakte aus der ersten Freilandepisode 2012 wurden 2013 nochmals, teilweise in abgewandelter Mischung an einer weiteren Rebsorte untersucht. 2014 wurde schließlich der Extrakt in größerem Stil bei drei Winzern an verschiedenen Rebsorten unter praxisnahen Bedingungen untersucht.

3.4.1.1 Handspritzen (2012/2013)

Das nach ökologischen Richtlinien arbeitende Weingut Pflüger (Bad Dürkheim) stellte für die Versuche Rebflächen zur Verfügung, auf dem die verschiedenen Extrakte/Mischungen getestet werden konnten. Es handelte sich dabei zum einen um ca. 6ar Fläche, bestanden mit ca. 350 Rebstöcke der Sorte „Schwarzriesling“ (Fläche 1). Die Reben waren in fünf Reihen à ca. 70 Pflanzen angeordnet. Die Lage der Versuchsfläche ist in den Abbildung 5 und Abbildung 6 dargestellt.

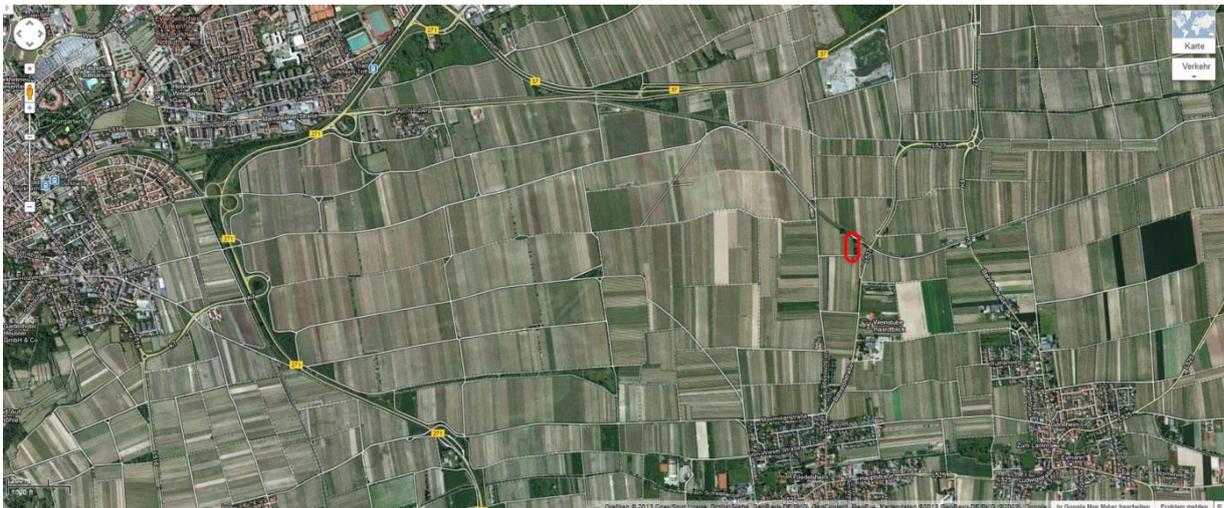


Abbildung 5: Lage der Versuchsfläche für die Freilandversuche 2012 inmitten des Weinbaugebietes Pfalz zwischen Bad Dürkheim (links oben) und Friedelsheim bzw. Gönnheim (rechts unten)



Abbildung 6: Lage der Versuchsfläche für die Freilandversuche 2012 im Detail. Die Fläche besteht aus fünf Rebzeilen à ca. 70 Rebstöcken und grenzt im Osten an ein Privatgrundstück, im Süden an einen Feldweg und weitere Weinberge, im Norden an eine Hecke/Bahnlinie und im Westen ebenfalls an weitere Weinberge

Im Jahr 2013 wurde zusätzlich eine weitere Rebfläche, bestanden mit Riesling, in den Versuch aufgenommen (Fläche 2). Es handelte es sich dabei um eine für den Falschen Mehltau anfällige Lage am Bad Dürkheimer Michelsberg von ca. 30ar Gesamtfläche, wovon ca. 6 ar für den Versuch verwendet wurden. Die genaue Lage ist den Abbildung 7 und Abbildung 8 zu entnehmen.



Abbildung 7: Lage der Versuchsfläche mit Riesling für die Freilandversuche 2013 inmitten des Weinbaugesbietes Pfalz südlich von Bad Dürkheim (links oben) am Michelsberg. Die 2012 genutzte Fläche mit Schwarzriesling ist am rechten Bildrand markiert.



Abbildung 8: Lage der Riesling-Versuchsfläche für die Freilandversuche 2013 im Detail. Die Fläche besteht aus zehn Rebzeilen mit durch die Dreiecksform bedingten unterschiedlichen Rebstockzahlen.

Für die Versuche wurden die in Tabelle 4 (2012) bzw.

Tabelle 5 (2013) aufgelisteten Extrakte/Mischungen eingesetzt. Als Basis dienten dabei einerseits selbst hergestellte Extrakte (Eigenextrakt, EE) sowie andererseits zugekaufte Traubenkernextrakte (Fremdextrakt, FE), da diese im Gewächshaus ebenfalls sehr vielversprechende Ergebnisse lieferten. Neben diesen beiden Extrakten und den daraus hergestellten Mischungen mit verschiedenen Zusatzstoffen wurde Cuprozin flüssig als Kupfer-Standardmittel eingesetzt, zusätzlich gab es eine unbehandelte Kontrolle. Cocana-Seife wurde als Netzmittel eingesetzt. Es handelte sich dabei um ein im ökologischen Landbau zugelassenes Mittel auf Basis von Kokosfettsäuren. In alle Mischungen wurde bei jeder Behandlung Netzschwefel „Stulln“ gegen den Echten Mehltau zugemischt. Ab Ende Juni wurde zusätzlich Salucarb (Kaliumhydrogencarbonat) in der empfohlenen Konzentration zugemischt.

Tabelle 4: Versuchsgruppen, Gruppengröße und Mischungszusammensetzung der Freilandversuche 2012 an Schwarzriesling in Bad Dürkheim

Gruppe	Konzentration GAE/l	Anzahl Pflanzen	Cocana- Seife	Salicylsäure	Netzschwefel	Salucarb
Cu (Cuprozin)		50	-	-	0,5%	1%
FE 0,5	0,5g/l	19	-	-	0,5%	1%
FE 0,5 + Cocana	0,5g/l	14	0,5%	-	0,5%	1%
FE 0,5 + Cocana + Salicylsäure	0,5g/l	20	0,5%	0,1%	0,5%	1%
FE 1	1g/l	20	-	-	0,5%	1%
FE 1 + Cocana	1g/l	20	0,5%	-	0,5%	1%
FE 1,5	1,5g/l	15	-	-	0,5%	1%
FE 1,5 + Cocana	1,5g/l	20	0,5%	-	0,5%	1%
EE 1	1g/l	16	-	-	0,5%	1%
EE 1 + Cocana	1g/l	20	0,5%	-	0,5%	1%
EE 1 + Cocana + Salicylsäure	1g/l	20	0,5%	0,1%	0,5%	1%
EE 1,5	1,5g/l	20	-	-	0,5%	1%
EE 1,5 + Cocana	1,5g/l	20	0,5%	-	0,5%	1%
EE 1,5 + Cocana +Salicylsäure	1,5g/l	17	0,5%	0,1%	0,5%	1%
Kontrolle	-	19	-	-	0,5%	1%
Kontrolle + Cocana	-	16	0,5%	-	0,5%	1%

Auf diese Weise konnte auch die Mischbarkeit der Extrakte mit etablierten und vielfach eingesetzten Mitteln des ökologischen Weinbaus überprüft werden. Die Aufteilung der Reben und Versuchsgruppen auf den Flächen ist in den Abbildung 9 bis Abbildung 11 dargestellt.

Zeile 5	Zeile 4	Zeile 3	Zeile 2	Zeile 1	Garten
FE0,5 + Cocana + Salicylsäure	Kontrolle + Cocana	EE 1	FE0,5 + Cocana	EE 1,5 + Coc. + Salicylsäure	
Cuprozin					
FE 1,5 + Cocana	EE 1 + Cocana	Kontrolle	EE 1 + Coc.+ Salicylsäure	FE 1,5	
Cuprozin					
FE 1 + Cocana	EE1,5 + Cocana	EE 1,5	FE 1	FE 0,5	
Cuprozin					
Feldweg					

Abbildung 9: Anordnung der Versuchsgruppen bei den Freilandversuchen mit Schwarzriesling 2012.

Tabelle 5: Versuchsgruppen, Gruppengröße (Zahl der Pflanzen) und Mischungszusammensetzung der Freilandversuche 2013 an Schwarzriesling und Riesling in Bad Dürkheim

Gruppe	Extraktkonzentration GAE/l	Riesling	Schwarzriesling	Cocana- Seife	Netzschwefel	Salucarb
Kontrolle		31	41		0,5%	1%
Cu (Cuprozin)		34	39		0,5%	1%
FE 1 +0,01% Cuprozin	1g/l	32	40		0,5%	1%
FE 0,5 + Cocana	0,5g/l	34	42	0,5%	0,5%	1%
FE 1	1g/l	30	40		0,5%	1%
FE 1 + Cocana	1g/l	33	40	0,5%	0,5%	1%
EE 1,5	1,5g/l	32	41		0,5%	1%
EE 1,5 + Cocana	1,5g/l	32	40	0,5%	0,5%	1%

Zeile 1	FE 1	EE 1,5+Cocana	FE 1+0,01% Cuprozin	Kontrolle	Cu (Cuprozin)	EE 1,5
Zeile 2	Cu (Cuprozin)	FE 1+Cocana	FE 1	EE 1,5	EE 1,5+Cocana	FE 0,5+Cocana
Zeile 3	EE 1,5	Kontrolle	EE 1,5+Cocana	FE 0,5+Cocana	FE 1	FE 1+0,01% Cuprozin
Zeile 4	FE 1+Cocana	FE 0,5+Cocana	Cu (Cuprozin)	EE 1,5+Cocana		
Zeile 5	FE 1+0,01% Cuprozin	EE 1,5+Cocana	FE 1	FE 1+Cocana	Kontrolle	
Zeile 6	FE 1+Cocana	EE 1,5	FE 1+0,01% Cuprozin			
Zeile 7	Cu (Cuprozin)	Kontrolle	FE 0,5+Cocana			
Zeile 8	FE 1	FE 1+0,01% Cuprozin	FE 1+Cocana			
Zeile 9	EE 1,5	Cu (Cuprozin)				
Zeile 10	FE 0,5+Cocana	Kontrolle				

Abbildung 10: Anordnung der Versuchsgruppen bei den Freilandversuchen mit Riesling 2013.

2012 wurde die Versuchsfläche in 16 Gruppen aufgeteilt, um möglichst viele Mischungen testen zu können, jede Gruppe bestand aus 15-20 Pflanzen. 2013 wurden nur noch vielversprechende Extrakte in den Versuchsaufbau übernommen, daraus ergaben sich 8 Gruppen mit jeweils 30-40 Reben je Sorte. Um standortspezifische Einflüsse (wie sie 2012 vorkamen) auszuschließen, wurde jeder Extrakt auf jeder Versuchsfläche mehrfach an einem Teil der Reben getestet, die jeweiligen Gruppen waren gleichmäßig über die Fläche verteilt.

Während der Vegetationsperiode erfolgten zehn (2012) bzw. 13 (2013) Spritzgänge, wobei als Termine jeweils das Datum gewählt wurde, an dem aufgrund der Witterungsbedingungen eine reguläre Spritzung mit einem Kupferpräparat durchgeführt worden wäre. Die Daten für Applikation, Bonituren und Ernte sind in Abbildung 12 zusammengefasst dargestellt.

Zeile 5		Zeile 4		Zeile 3		Zeile 2		Zeile 1	
EE 1,5 + Cocana	Kontrolle	FE 0,5 + Cocana	Cu (Cuprozin)	EE 1,5	FE 1	FE 1+ 0,01% Cuprozin	FE 1+ Cocana	FE 1+ 0,01% Cuprozin	FE 1+ 0,01% Cuprozin
EE 1,5	FE 1+ Cocana	FE 1	FE 1+ 0,01% Cuprozin	EE 1,5 + Cocana	Kontrolle	EE 1,5 + Cocana	EE 1,5	Kontrolle	FE 1+ Cocana
Cu (Cuprozin)	China 0,5 + Cocana	EE 1,5	Kontrolle	FE 1	FE 1	FE 1 + Cocana	EE 1,5 + Cocana	FE 1 + 0,01% Cuprozin	EE 1,5 + Cocana
Kontrolle	FE 1	EE 1,5	FE 0,5 + Cocana	FE 1 + Cocana	FE 1 + 0,01% Cuprozin	FE 1 + Cocana	Cu (Cuprozin)	FE 1 + 0,01% Cuprozin	EE 1,5
FE 1 + Cocana	EE 1,5I	EE 1,5 + Cocana	FE 1	FE 0,5 + Cocana	FE 1	FE 1 + Cocana	FE 1 + 0,01% Cuprozin	FE 1 + 0,01% Cuprozin	Kontrolle
Garten									
Feldweg									

Abbildung 11: Anordnung der Versuchsgruppen bei den Freilandversuchen mit Schwarzriesling 2013.

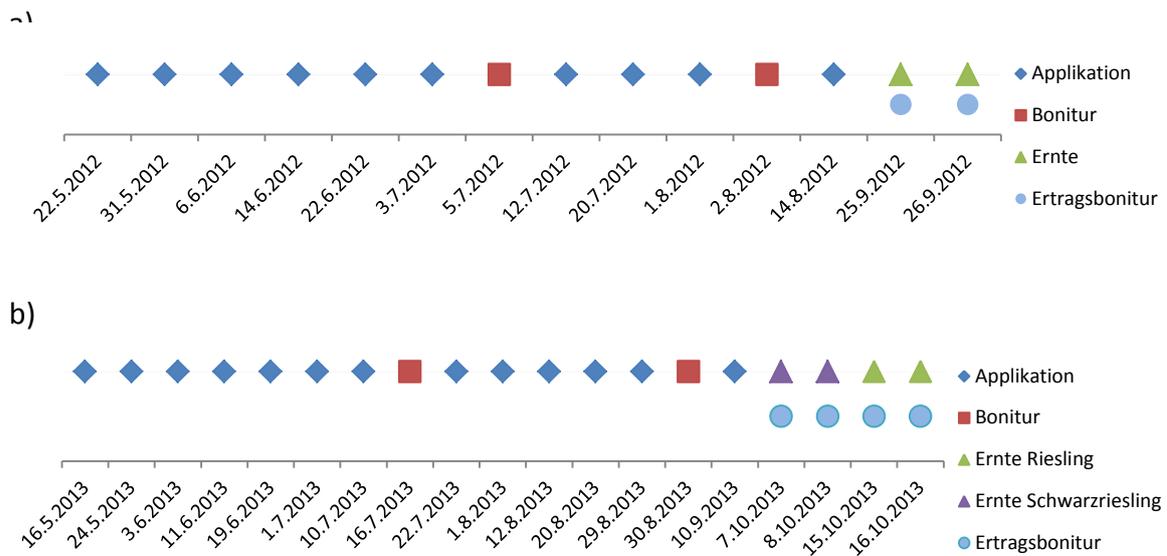


Abbildung 12: Applikations-, Bonitur und Erntedatum der Versuchsfelder a) 2012 und b) 2013

3.4.1.1.1 Ansetzen der Lösungen

Die für die Spritzmischungen benötigten Zutaten (Cuprozin flüssig, Extrakt, Netzschwefel, Cocana, Salucarb) wurden am Tag zuvor abgemessen und bereitgestellt. Auch die benötigte Wassermenge (Leitungswasser) wurde in entsprechend beschriftete 10L-Kanister abgefüllt. Am Applikationstag wurden die jeweiligen Zutaten in die entsprechenden Kanister gefüllt und alles unter starkem Schütteln aufgelöst und gemischt. Dann erfolgte sofort die Fahrt zur Testfläche. Zwischen dem Ansetzen der Mischungen und dem Ausbringen lagen maximal drei Stunden.

3.4.1.1.2 Applikation

Vor der Applikation wurde jeder Kanister nochmals kräftig geschüttelt und die Mischung dann in den Hand-Applikator (Gloria prima 5, Gloria Haus- und Gartengeräte, Witten) umgefüllt. Die Reben wurden zunächst auf der Blattunterseite und dann auf der –Oberseite so eingespritzt, dass sich möglichst ein flächiger, gleichmäßiger Flüssigkeitsfilm ausbildete, ohne dass die Spritzbrühe herunter tropfte. Reste der Spritzbrühe wurden auf dem Randstreifen ausgebracht. Danach wurde der Applikator mit Leitungswasser ausgespült, bevor die nächste Mischung eingefüllt wurde. In Abbildung 13 wird die Vorgehensweise beim Applizieren gezeigt sowie frisch eingesprühte Blätter.

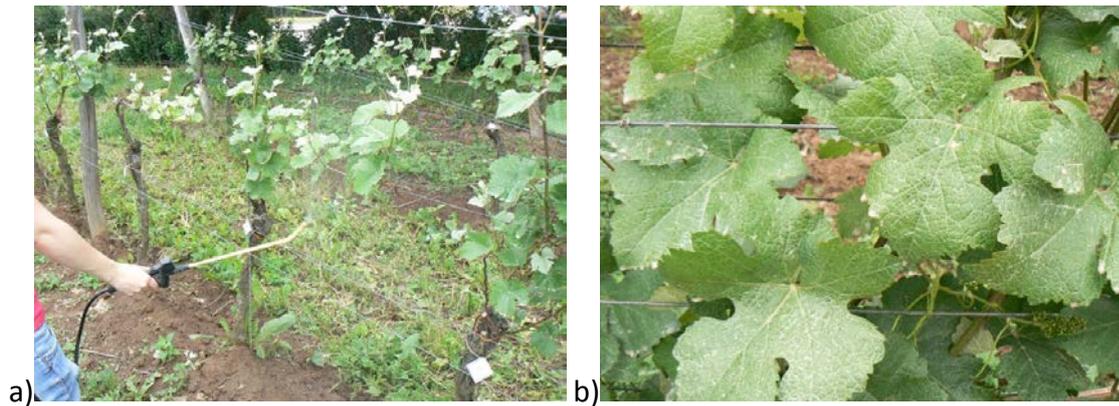


Abbildung 13: a) Einsprühen der noch jungen Austriebe (Gruppe P: Kontrolle + Cocana) b) frisch applizierte, schon etwas ältere Blätter

Bei jeder Applikation wurde die gesamte Blattfläche benetzt, also neben dem Neuzuwachs auch ältere Blätter, die bereits bei vorangegangenen Applikationen besprüht wurden. Da die genaue Grenze zwischen alten Blättern und Neuzuwachs nicht erkennbar war und bei der maschinellen Spritzung ebenfalls immer der ganze Stock eingesprüht wird, wurde für die Versuche diese Vorgehensweise gewählt.

3.4.1.1.3 Bonitur

Zur Auswertung des Befalls wurden die sichtbaren Ölflecken bzw. ausgebrochenen Infektionen aller Reben einer Gruppe gezählt und addiert. Dabei wurde jeder Ölfleck als eine Infektion gewertet, größere Flecken bzw. ineinanderlaufende Flecken entsprechend als mehrere Infektionen. In Abbildung 14 ist ein relativ stark mit dem Falschen Mehltau befallenes Blatt dargestellt, die „Ölflecken“ auf dem Blatt sind deutlich zu erkennen. Bei der Bonitur wurde jeder dieser Flecken als eine Infektion gezählt. Größere und ineinander laufende Flecken (hier z.B. untere Blattspitze) wurden entsprechend als mehrere Infektionen gewertet.



Abbildung 14: Beispiel eines relativ stark mit dem Falschen Mehltau infizierten Blatts, deutlich sind die gelblichen „Ölflecken“ zu erkennen, in denen der Pilz das Blattgewebe befallen hat.

3.4.1.1.4 Ernte und Kelter

Bei der Ernte wurden zunächst alle Trauben eines Rebstocks abgeschnitten und gemeinsam gewogen. Hieraus ergab sich der Ertrag pro Rebstock. Aus der Summe der Erträge einer Versuchsgruppe wurden der Gesamtertrag der Gruppe und daraus der durchschnittliche Ertrag pro Rebstock berechnet. Die frisch geernteten Trauben wurden dann im Weingut Pflüger mit einer kleinen Hydropresse ausgepresst, der Most aufgefangen und in Glasballons gefüllt (siehe Abbildung 15 und Abbildung 16). Kam nach einigen Minuten kein weiterer Most, wurden die teilweise ausgepressten Trauben per Hand durchmischst und anschließend nochmals gepresst. Auf diese Weise wurde eine vollständigere Pressung erreicht. Der gekelterte Most wurde in Glasballons gefüllt und zu Wein verarbeitet.



Abbildung 15: Im Versuch verwendete Hydropresse und Glasballon (25L).



Abbildung 16: Geöffnete Hydropresse mit ausgepressten Versuchstrauben und einige fertig befüllte Glasballons.

3.4.1.2 Maschinelles Spritzen (2014)

Um möglichst praxisnahe Ergebnisse zu erzielen, wurde 2014 ein Extrakt, der aus den vorangegangenen Versuchen als vielversprechend bewertet wurde, bei drei Winzern unter



praxisüblichen Bedingungen an verschiedenen Rebsorten eingesetzt und die Effekte überprüft. In Abbildung 17 sind die Lagen der Versuchsflächen in einer Übersichtskarte der Weinstrasse eingetragen. Winzer 1 und 3 hatten Lagen nordöstlich bzw. nördlich von Bad Dürkheim (oberer Bildrand), Winzer zwei arbeitete mit Lagen zwischen Deidesheim und Ruppertsberg.

Alle drei Winzer arbeiten nach den Prinzipien des ökologischen Weinbaus. Eingesetzt wurden die sonst auch üblicherweise von ihnen verwendeten maschinellen Weinbergsspritzen (Abbildung 18). Der Extrakt wurde in der Konzentration 2g/l (entspricht 1g/l GAE) eingesetzt. Winzer 1 und 3 verwendeten den reinen Extrakt, Winzer 2 setzte Extrakt, gemischt mit einem Kupferpräparat (80% der sonst regulär verwendeten Menge) ein.

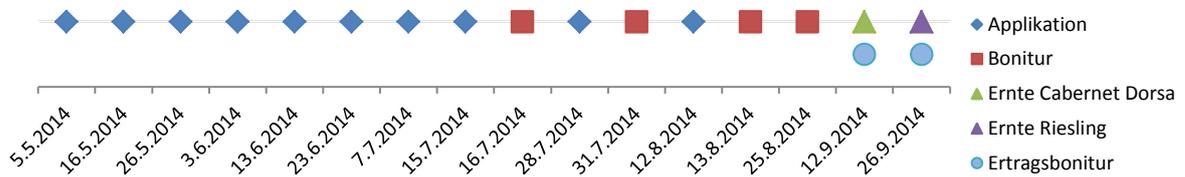
Abbildung 17: Lage der Versuchsflächen der drei Winzer. Winzer 1 und 3 haben Lagen nordöstlich bzw. nördlich von Bad Dürkheim (Oben), Winzer 2 bearbeitet Lagen zwischen Deidesheim und Ruppertsberg (Mitte). Die RLP AgroScience befindet sich in Mußbach, nördlich von Neustadt/Weinstrasse



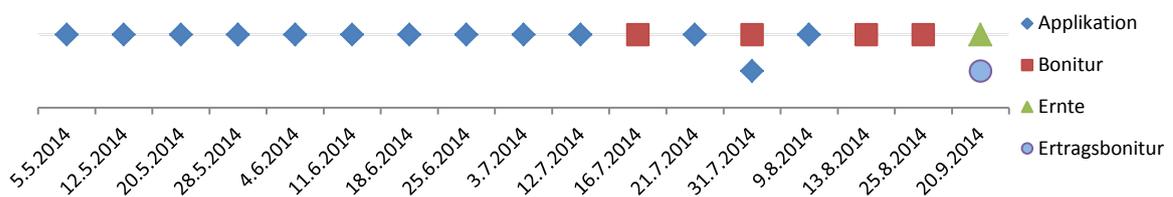
Abbildung 18: Winzer 1 bei der Applikation der Extrakte am 13.6.2014

Die Termine für Spritzungen, Bonituren und Ernte bei den verschiedenen Winzern sind in Abbildung 19 zusammengefasst.

a)



b)



c)

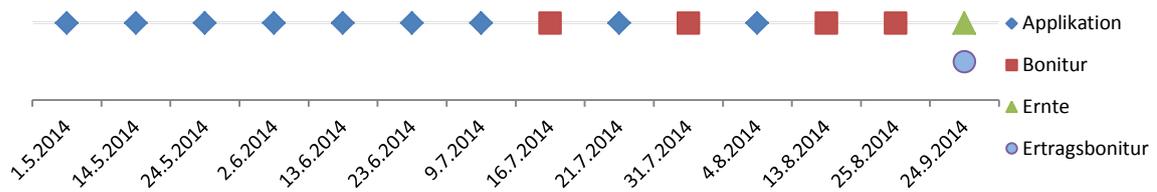


Abbildung 19: Applikations, Bonitur und Erntedatum der Versuchsflächen bei a) Winzer 1, b) Winzer 2 und c) Winzer 3

3.4.1.3 Versuche mit künstlicher Infektion (2012)

Zusätzlich zu den Freilandversuchen beim Weingut Pflüger wurden ebenfalls Versuchsreihen beim DLR Rheinpfalz in Neustadt im Rahmen der regulären Spritzmittelprüfung durchgeführt.

Untersucht wurden selbst hergestellter Extrakt mit 1g/L GAE bzw. zugekaufter Extrakt, ebenfalls mit 1g/L GAE, jeweils mit 0,5% Cocana-Seife-Zumischung. Jede Versuchsgruppe bestand aus je 15 Müller-Thurgau-Reben. Die verschiedenen Arbeitsschritte und Termine sind in Abbildung 20 zusammengefasst. Je Gruppe wurde ein Trieb am 23.5.2012 künstlich mit Falschem Mehltau infiziert. Nach einer Woche (30.5.2012) konnten an diesen Trieben massiv Ölflecken beobachtet werden. In der folgenden Nacht wurde mit einer künstlichen Überkronenberegnung begonnen, so dass optimale Sporulations- und Infektionsbedingungen herrschten. Jeweils nach erneutem Ablauf der Inkubationszeiten bzw. beim erneuten Auftreten von Ölflecken wurde die Überkronenberegnung wiederholt,

um eine neue starke Reinfektion zu gewährleisten. Am 4.7. und 14.7. kam es zu Hagelschlägen, weshalb es bei der Abschlussbonitur nicht möglich war, zwischen Hagelschäden und Schäden durch Peronosporabefall zu unterscheiden.

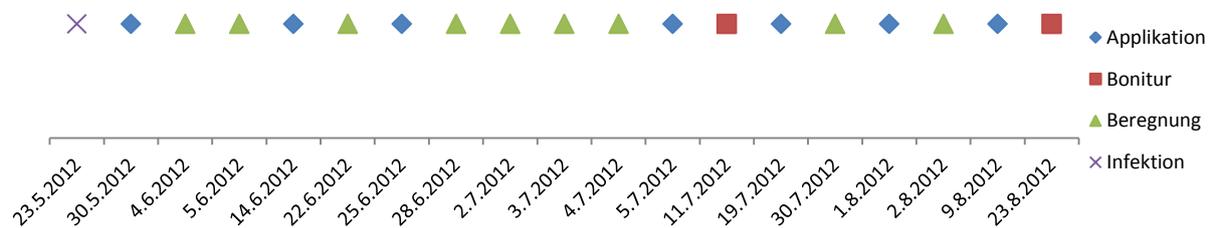


Abbildung 20: Infektions-, Applikations-, Beregnungs- und Boniturdatum beim Freilandversuch des DLR Rheinpfalz

3.4.2 Trifolio-M

Versuche zur Untersuchung von Trester-Formulierungen gegen *P. infestans* an Tomaten der Sorte Harzfeuer unter Freilandbedingungen 2013 und 2014.

3.4.2.1 Durchführung

Die Versuchsdurchführung findet auf der Versuchsfläche „Alter Steinbacher Weg“ der Universität Gießen statt.

Tomaten der Sorte „Harzfeuer“ wurden am 25.04.13 bzw. 22.04.2014 als Einzelkornablage in 77er Multiplatten ausgesät und in den Klimakabinen der Trifolio-M GmbH aufgestellt. Als Substrat wird Fruhstorfer Erde Typ T, Struktur fein verwendet.

Dafür wurden für ca. 150 benötigte Pflanzen ca. 200 Samen gesät. Die Jungpflanzen wurden Mitte Mai umgetopft und gestabt. Anfang Juni wurden die Pflanzen in das freistehende Gehege im Anschluss an die Gewächshauszelle aufgestellt, um sie für das Auspflanzen ins Freiland abzu härten. Diese Anpassungsphase erfolgte 7 Tage lang, wobei die Pflanzen in dieser Zeit mit einem Vlies bzw. Plane, welche direkt über den Pflanzen aufgespannt wurden, vor der starken Sonneneinstrahlung um die Mittagszeit geschützt waren. Die Pflanzen wurden zu diesem Zeitpunkt mit Wuxal N gedüngt (ca. 1 l Düngerwasser mit 15 ml Dünger). Am 12.06.2013 bzw. 01.07.2014 wurden die Pflanzen auf die Versuchsfläche der Universität Gießen im Alten Steinbacher Weg gepflanzt. Abstand in der Reihe: zwischen den Wiederholungen 0,5 m, zwischen den Varianten 1 m, zu den Seitenrändern 0,75 m. Zwischen den Reihen: 1,5 m. Im Juni wurden die Pflanzen regelmäßig ausgegeizt. Bis zum Versuchsstart (Beginn der Spritzungen 02.07.2013 bzw. 22.07.2014) wurden die Pflanzen bei *Phytophthora*-Warnung mit einer Kupferschutzbehandlung behandelt.

3.4.2.2 Applikation der Extraktformulierungen/Standards

Am 02.07.2013 bzw. 28.07.2014 erfolgte die erste Bonitur und es wurde mit den Behandlungen begonnen. Das vorgesehene Spritzintervall war 7- 10 Tage, je nach Witterung und Befallsdruck. Insgesamt wurde in 2013 zwölf Mal behandelt mit einer Abschluss-spritzung am 24.09.2013. In 2014 wurde insgesamt sechsmal behandelt mit einer Abschluss-spritzung am 25.08.2014. Die Pflanzen wurden mit Hilfe einer handelsüblichen Rückenspritze (5 l), auf Blattober- und Unterseite tropfnass gespritzt. Dies entspricht etwa einer Aufwandmenge von 800 ml/Variante (15 Pflanzen) ≤ 50 cm bis 1,3 L/Variante $\geq 1,0$ m. Ab Juli wurde mit einer üblichen Menge von 1,5L Spritzbrühe/Variante gerechnet.

Einmal wöchentlich vor der nächsten Behandlung wird der Befall der Pflanzen mit *Phytophthora infestans* (Pi) festgestellt. Dazu wird visuell der Anteil (%) der symptomaufweisenden Blattflächen in Relation zur Gesamtblattfläche/Pflanze geschätzt. Die Anzahl gesunder und befallener Früchte wird bestimmt und danach nicht entfernt. Aus den Boniturnwerten der einzelnen Pflanzen werden Mittelwerte für jede Variante gebildet, die Standardabweichung berechnet und der Wirkungsgrad nach Abbott ermittelt. Die Werte werden tabellarisch und graphisch dargestellt.

Seitentriebe und Unkrautbewuchs werden regelmäßig entfernt und die Pflanzen an Tomatenstäben hochgebunden. Alle 4 Wochen wurden die Pflanzen gedüngt (1,3 L/Pflanze Neudorf organischer Tomatendünger).

4 Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

4.1 Verarbeitung und Konservierung des Tresters, Extraktionsverfahren

Die Restfeuchte der verwendeten Trester betrug jeweils ca. 70%. Aufgrund der Erfahrungen im ersten Versuchsjahr wurde der Trester in den folgenden Jahren nicht erst getrocknet und danach ausgesiebt, sondern direkt im frisch gepressten Zustand gesiebt, um die Kerne zu erhalten. Die dabei erzielten Ausbeuten der verschiedenen Lagerformen bzw. Extraktionsverfahren sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Rebsorten und die jeweils daraus gewinnbaren Mengen an trockenen Kernen, bezogen auf 1000kg frischen Trester. Die prozentuale Ausbeute der Kerne bezieht sich auf die Menge trockener Kerne, die aus einer Tonne frischen Tresters gewonnen werden, die prozentuale Ausbeute des Extrakts bezieht sich auf die Menge gewinnbaren Extraktpulvers bezogen auf die trockenen Kerne.

Sorte	trockene Kerne (kg)	Ausbeute (%) Kerne	Extrakt (kg)	Ausbeute (%) Extrakt
Riesling 2010	46	4,6	9,2	20,0
Riesling 2010 siliert	46,6	4,7	3,3	7,1
Cabernet Sauvignon 2010	55,2	5,5	4	7,2
Riesling 2011 "kalt"	60,8	6,1	8,1	13,3
Riesling 2011 "60°C"	60,8	6,1	12,8	21,1

Beim Siebvorgang per Hand konnten nicht sämtliche Kerne des Tresters ausgesiebt werden, sondern es wurden nur die relativ freien, nicht in Beerenhüllen eingeschlossenen Kerne erfasst. Sollen alle Kerne erfasst werden, ist eine intensivere mechanische Bearbeitung nötig, die eingeschlossene Kerne aus den Häuten befreit und sie damit zugänglich macht.

Dabei wurde zwischen frischem und siliertem Rieslingtrester und Cabernet Sauvignon aus 2010, sowie Rieslingtrester aus 2011 unterschieden. Es konnte ein deutlicher Unterschied zwischen den Kernanteilen der beiden Jahrgänge festgestellt werden, während der Riesling und der silierte Riesling des gleichen Jahres nur einen geringen Unterschied im Kernanteil aufwiesen. Deutlich höher war der Kernanteil bei Cabernet Sauvignon.

Die Extraktausbeute aus Rieslingkernen war mehr als doppelt so hoch, wie bei Cabernet Sauvignon. Ein Erwärmen des Lösungsmittels brachte nochmals deutlich höhere Extraktmengen.

Der Vergleich zwischen dem Batch-Verfahren und der Perkolation ergab bei geringerem Arbeitsaufwand und niedrigerem Lösungsmittelleinsatz bei Letzterem ähnliche Ausbeuten bei beiden Verfahren. Aus diesem Grund wurden alle weiteren Extraktionsversuche nur mit dem Perkolationsverfahren durchgeführt.

In Tabelle 7 sind einige der hergestellten Extrakte, deren Ausgangsstoffe, die Ausbeute und eingesetzte Lösungsmittel dargestellt.

Tabelle 7: Auswahl einiger Ausgangsstoffe mit Menge, eingesetztem Lösungsmittel (Mischung und Volumen), gewonnener Extrakt (Menge, Ausbeute, Aussehen) und Bemerkungen zur Herstellung

Rebsorte	Kerne (g)	Lösungsmittel (Art)	Lösungsmittel(L)	Extrakt (g)	Ausbeute (mg/g)	Aussehen	Sonstiges
Riesling Kerne 2010	500	MeOH 100%	2,4	40,6	81,1	rotbraun	
Riesling Kerne 2010	333,3	MeOH/H ₂ O 50%	1	58,8	176,3	rotbraun	
Riesling Kerne 2010	500	EtOH 100%	1	41,6	83,2	rotbraun	
Riesling Kerne 2010	400	EtOH 96%	2	56,3	140,7	rotbraun	
Riesling Kerne 2010	500	EtOH/ H ₂ O 50%	1,9	94,3	188,6	rotbraun	vorbefeuchtet
Riesling Kerne 2010	500	EtOH/ H ₂ O 50%	1,5	89,6	179,3	rotbraun	vorbefeuchtet
Riesl. Kerne 2010, siliert	1000	EtOH/ H ₂ O 50%	2	71,2	71,2	gelblich	vorbefeuchtet
Kernölpresslinge 2006	1000	EtOH/ H ₂ O 50%	2	92,3	92,3	rotviolett	vorbefeuchtet
Riesling Kerne 2011	1000	EtOH/ H ₂ O 50%	2	133,3	133,3	rotbraun	vorbefeuchtet
Riesling Kerne 2011	2120	EtOH/ H ₂ O 50%	4	284,8	134,4	rotbraun	vorbefeuchtet
Riesling Kerne 2011	400	EtOH/ H ₂ O 50%	2	84,61	211,5	rotbraun	grob, 60°C
Riesling Kerne 2011	400	EtOH/ H ₂ O 50%	2	84,22	210,5	rotbraun	fein, 60°C

Die höchsten Ausbeuten konnten mit Lösemittelgemischen aus je 50% Alkohol und Wasser erreicht werden. Hierbei gab es keinen Unterschied zwischen Ethanol und Methanol.

Es wurden verschiedene Extraktionsmittelvolumina getestet, um die richtige Menge für eine optimale Extraktion bei gleichzeitig geringsten Lösungsmittel- und Rückgewinnungskosten zu erreichen. Hierzu wurden mehrere Fraktionen aufgefangen und jeweils der Gesamtphenolgehalt bestimmt. Unter einer bestimmten Konzentration wurde der Schrot als vollständig extrahiert angesehen. Die optimale Lösemittelmenge betrug das drei- bis vierfache der eingesetzten Menge Extraktionsgut. Als optimales Lösungsmittel im Hinblick auf Ausbeute, Preis, Unbedenklichkeit und Handhabung wurde deshalb für weitere Extraktionen eine 50%ige Mischung aus Ethanol und Wasser verwendet.

Der Einfluss des Mahlgrades auf die Extraktmengen war dabei vernachlässigbar, feinere Mahlgrade ergaben keine erhöhte Ausbeute. Ein Erwärmen des Lösungsmittels auf ca. 60°C brachte jedoch eine Steigerung der Ausbeute, erforderte jedoch besondere Vorsichtsmaßnahmen wegen der Verdampfung des Ethanols (Giftigkeit, Brennbarkeit) und bedingt einen erhöhten Energieaufwand. Im industriellen Maßstab kann und sollte dieser Effekt mit entsprechend konzipierten Anlagen produktionssteigernd eingesetzt werden.

Es ist jedoch darauf zu achten, dass das Lösungsmittel nicht zu schnell durch den Schrot fließt, um eine optimale Extraktion zu erreichen. In den Versuchen stellte sich eine Strömungsgeschwindigkeit von ca. 50 ml/min für die eingesetzte Säulengröße als guter Kompromiss heraus. Reines Wasser sorgte für eine starke Quellung der Kerne, was zu einer starken Volumenzunahme führte, welche gerade in der Extraktionssäule problematisch war. Deshalb wurden die geschroteten Kerne in späteren Versuchen zunächst mit einem Teil des Lösungsmittels vorgequollen und erst danach in die Säule gefüllt. Zudem ist Wasser später nur mit deutlich höherem Energieaufwand aus den flüssigen Extrakten zu entfernen und es werden viele Eiweißstoffe gelöst, die beim Rückgewinnen des Lösungsmittels koagulieren und im Anschluss nicht wieder in Lösung gehen. Reiner Alkohol löste im Gegensatz dazu

neben den Polyphenolen auch größere Mengen der Kernöle, die später ebenfalls zu Löslichkeitsproblemen führten.

Alle Extrakte waren tief dunkelrot gefärbt, außer der Extrakt aus silierten Kernen, dieser war hellgelb und besaß einen säuerlichen Geruch (Essig), erst in hoher Konzentration war er ebenfalls dunkelrot.

Sinnvoller Weise sollten die Kerne deshalb direkt aus dem frischen Trester gesiebt und sofort getrocknet werden. Der Einsatz von Kernpresslingen aus der Traubenkernöl-Gewinnung brachte nur eine recht geringe Ausbeute, möglicherweise ist dies jedoch auch auf die bereits einige Jahre alten Presslinge zurück zu führen.

Für eine zukünftige Extrakt-Produktion wurden die folgenden Parameter als optimal festgestellt:

- Lösungsmittel-Mischung aus 50% Ethanol/Wasser
- Nur Kerne verwenden, um möglichst wenig Zucker/Säuren zu extrahieren
- Schroten/Aufbrechen der Kerne, um eine bessere Extraktion zu erreichen
- Vorquellen des Kernschrots für ca. 30 min im Extraktionsmittel
- Einsetzen von ca. der drei- bis vierfachen Menge Lösungsmittel pro kg Kerne
- Einsetzen des Perkolationsverfahrens, da einfachere, schnellere Extraktion
- Erwärmen des Lösungsmittels auf max. 60°C

4.2 Untersuchung der Inhaltsstoffe

Bei der Charakterisierung der Extrakte wurden die in Tabelle 8 dargestellten Parameter gemessen.

Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, sind zwischen den untersuchten Extrakten deutliche Unterschiede in der Zusammensetzung zu erkennen. Beim Fremdextrakt sind die Summe der (Epi)Catechine und die Summen der Di-, Tri- und Tetramere bei den Typ-B Proanthocyanidinen sowie die Monomere und die Polymere der galloylierten Proanthocyanidinen im Vergleich zu den selbst hergestellten Extrakten relativ niedrig bzw. nicht vorhanden. Allerdings sind die Werte bei den Typ-A-Proanthocyanidinen beim Fremdextrakt sehr hoch, während dort bei den Eigenextrakten nichts gefunden wurde. Die Eigenextrakte unterscheiden sich deutlich bei den verschiedenen Jahrgängen in Bezug auf die Monomeren Catechinen, die Typ-B- und die galloylierten Proanthocyanidine.

Tabelle 8: Charakterisierung verschiedener Extrakte auf typische Inhaltsstoffe. Alle Ergebnisse sind als Peakflächenverhältnis (Peakfläche Analyt/Peakfläche ISTD) dargestellt.

	Monomere Catechine*		B-Typ-Proanthocyanidine*	
	Summe (Epi)Catechin	Summe Dimere	Summe Trimere	Summe Tetramere
Eigenextrakt 2010	2,975	2,524	0,469	0,033
Eigenextrakt 2012	0,768	1,145	0,145	0,012
Eigenextrakt 2013	1,243	1,985	0,288	0,025
Fremdextrakt	0,315	0,705	0,161	0,003
	A-Typ-Proanthocyanidine*			
	Summe Dimere	Summe Trimere	Summe Tetramere	Summe Pentamere
Eigenextrakt 2010	0,000	0,000	0,000	0,000
Eigenextrakt 2012	0,000	0,000	0,000	0,000
Eigenextrakt 2013	0,000	0,000	0,000	0,000
Fremdextrakt	3,412	1,837	1,078	0,142
	Galloylierte Proanthocyanidine*			
	Monomere	Summe Dimere	Summe Trimere	Summe Tetramere
Eigenextrakt 2010	0,054	0,564	0,070	0,006
Eigenextrakt 2012	0,034	0,251	0,029	0,001
Eigenextrakt 2013	0,039	0,422	0,049	0,002
Fremdextrakt	0,000	0,000	0,000	0,000

4.2.1 Bestimmung der Gesamtphenole

Die gemessenen Gesamtphenolgehalte der verschiedenen Extrakte werden in den entsprechenden Kapiteln (4.2.3; 4.4.1) behandelt.

4.2.2 Rückstandsanalytik

In keinem der Extrakte konnten Rückstände oberhalb der Nachweisgrenze für die im angewandten Verfahren detektierbaren ca. 1400 Pestizide gefunden werden. Auch der Kupfergehalt der Extrakte lag unterhalb der Nachweisgrenze der AAS (0,2mg/l).

4.2.3 Haltbarkeit der Extrakte

Die bei unterschiedlichen Bedingungen gelagerten Extrakte wurden in regelmäßigen Abständen auf ihre Gesamtphenolgehalte untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 dargestellt. Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, existieren keine großen Unterschiede zwischen den Aufbewahrungsmethoden. Tendenziell scheint die Aufbewahrung bei Raumtemperatur eher zu einer Abnahme der GAE zu führen, als im Gefrierfach, trotzdem ist vermutlich eine ausreichend lange Haltbarkeit gewährleistet.

Tabelle 9: Messwerte (als GAE in mg/g) und daraus berechnete Zu/Abnahme des Gesamtphenolgehalts verschiedener Extrakte im Wärmeschrank (54°C), bei Raumtemperatur (20°C), im Kühlschrank (4°C) bzw. im Gefrierfach (-20°C). Hellgrau unterlegt sind die prozentualen Zu/Abnahmen in % bei den im Wärmeschrank aufbewahrten Extrakten nach zwei Wochen.

Probe	17.	24.	10.	10.	08.	Ab/Zunahme	Ab/Zunahme
	Feb.	Feb.	Mrz.	Mai	Aug.	(%) nach 2 Wochen	(%) nach 6 Monaten
Wärmeschrank Riesling gereinigt	544	551	492	430	533	-11	-2
Raumtemperatur Riesling gereinigt	544	548	452	425	558	-20	3
Kühlschrank Riesling gereinigt	559	542	486	429	545	-15	-3
Gefrierfach Riesling gereinigt	517	530	486	431	535	-6	3
Wärmeschrank Riesling ungereinigt	308	375	365	330	388	16	21
Raumtemperatur Riesling ungereinigt	295	354	337	326	372	13	21
Kühlschrank Riesling ungereinigt	302	371	340	369	382	11	21
Gefrierfach Riesling ungereinigt	289	346	353	355	494	18	42
Wärmeschrank Cabernet gereinigt	446	396	456	446	471	2	5
Raumtemperatur Cabernet gereinigt	474	417	457	483	340	-4	-39
Kühlschrank Cabernet gereinigt	408	427	438	456	486	7	16
Gefrierfach Cabernet gereinigt	473	473	450	358	503	-5	6
Wärmeschrank Cabernet ungereinigt	330	444	356	387	330	7	0
Raumtemperatur Cabernet ungereinigt	327	364	327	198	425	0	23
Kühlschrank Cabernet ungereinigt	311	349	305	386	504	-2	38
Gefrierfach Cabernet ungereinigt	294	342	295	371	496	0	41

Die länger gelagerten Extrakte wurden ebenfalls auf ihre GAE-Gehalte untersucht, die Resultate sind in Tabelle 10 und

Tabelle 11 zusammengestellt. Fremdextrakt ist hierbei ein von einem kommerziellen Hersteller bezogener Extrakt, Eigenextrakt wurde im Labor nach dem oben beschriebenen Verfahren selbst hergestellt.

Tabelle 10: Gesamtphenolgehalte verschiedener Extrakte nach unterschiedlicher Lagerdauer in Gallussäureäquivalenten (GAE)

Extrakt	GAE in mg/l		
	2/2012	12/2012	2/2014
Fremdextrakt	520	498	457
Eigenextrakt flüssig	159	149	173

Tabelle 11: Gesamtphenolgehalte verschiedener Extrakte nach unterschiedlicher Lagerdauer in % der ursprünglich (2/2012) vorhandenen Menge

Extrakt	Gehalt in %		
	2/2012	12/2012	2/2014
Fremdextrakt	100	96	88
Eigenextrakt flüssig	100	93	109

Auch nach zwei Jahren Lagerung sind vom Fremdextrakt noch ca. 88% des ursprünglich gemessenen Polyphenolgehalts vorhanden. Dies entspricht, unter Hinzuziehung des Wertes vom Dezember 2012, dass pro Jahr ca. 5-6% des ursprünglich vorhandenen Polyphenolgehaltes abgebaut werden.

Beim selbst hergestellten, flüssigen Extrakt konnte im ersten Lagerungsjahr ein Abbau von ca. 7% festgestellt werden, während im zweiten Lagerjahr wieder eine leichte Zunahme stattfand.

4.3 Formulierungen

Ein Ziel bei der Entwicklung war, die durch die Behandlung mit Fremdextrakt und Netzschwefel entstehenden Spritzflecken zu reduzieren. Für den Einsatz im Freilandversuch sollten die aktiven Inhaltsstoffe durch Zugabe geeigneter UV-Stabilisatoren gegen einen möglichen Abbau durch Sonnenlicht geschützt werden. Die im Projekt hergestellten Formulierungen sind in Tabelle 12 aufgelistet. Die Kriterien für die Untersuchung der Formulierungen in Pflanzentests waren eine gute, stabile Löslichkeit und eine gute Applizierbarkeit (Düsengängigkeit, Spreitung).

Tabelle 12: Übersicht der in der Projektzeit hergestellten Formulierungen

Lfd. Nr	Name	Zusammensetzung für 1 L Spritzbrühe	Art der Formulierung	Aufwandmenge	Bemerkungen
1	CT-001	Fremdextrakt – 2,0 g Netzschwefel – 6,0 g Tensid 1 – 2,0 g	Wetable Powder (WP)	10 g/L	Kriterien für Pflanzentest nicht erfüllt
2	CT-002	Fremdextrakt – 2,0 g Netzschwefel – 6,0 g Tensid 2 – 2,0 g	WP	10 g/L	Kriterien für Pflanzentest nicht erfüllt
3	CT-003	Fremdextrakt – 2,0 g Netzschwefel – 6,0 g Tensid 1 – 1,0 g Tensid 2 – 1,0 g	WP	10 g/L	Kriterien für Pflanzentest nicht erfüllt
4	CT-004	Fremdextrakt – 2,0 g Netzschwefel – 6,0 g Tensid A – 0,4 g Tensid B – 0,4 g UV-Schutz 1 – 0,4 g UV-Schutz 2 – 0,4 g UV-Schutz 3 – 0,4 g	WP	10 g/L	Kriterien für Pflanzentest nicht erfüllt
5	CT-005	Fremdextrakt – 2,0 g Lösungsmittel 1 – 4,0 g Emulgator 1 – 0,4 g UV-Schutz 4 – 0,4 g	Emulsifiable concentrate (EC)	6,8 g/L	Sieht ganz gut aus.
6	CT-006	Fremdextrakt – 2,0 g Emulgator 1 – 2,0 g UV-Schutz 4 – 1,0 g	EC	5,0 g/L	Kriterien für Pflanzentest nicht erfüllt.
7	CT-007	Fremdextrakt – 2,0 g Netzschwefel – 6,0 g Tensid 1 – 3,0 g Füllstoff 1 – 1,0 g	WP	12,0 g/L	Kriterien für Pflanzentest nicht erfüllt

Lfd. Nr	Name	Zusammensetzung für 1 L Spritzbrühe	Art der Formulierung	Aufwandmenge	Bemerkungen
8	CT-008	Fremdextrakt– 2,0 g Netzschwefel – 6,0 g Tensid 1 – 3,0 g Füllstoff 1 – 1,0 g UV-Schutz 1 – 1,0 g UV-Schutz 2 – 1,0 g UV-Schutz 3 – 1,0 g	WP	15,0 g/L	Im Freilandversuch 2013 getestet
9	CT-009	Fremdextrakt– 2,0 g Zusatzstoffmix 1 – 4,0 g	EC	6,0 g/L	Kriterien für Pflanzentest nicht erfüllt
10	CT-010	Fremdextrakt– 2,0 g Zusatzstoffmix 2 – 4,0 g	Suspension concentrate (SC)	6,0 g/L	Im Freilandversuch 2013 getestet
11	CT-011	Fremdextrakt– 2,0 g Zusatzstoffmix 1 – 6,0 g	EC	8,0 g/L	
12	CT-012	Fremdextrakt– 2,0 g Zusatzstoffmix 2 – 6,0 g	EC	8,0 g/L	
13	CT-013	Fremdextrakt– 2,0 g Netzschwefel – 4,0 g Tensid 1 – 2,0 g Füllstoff 1 – 0,5 g UV-Schutz 1 – 0,5 g UV-Schutz 2 – 0,5 g UV-Schutz 3 – 0,5 g	WP	10 g/L	
14	CT-014	Fremdextrakt– 2,0 g Netzschwefel – 2,0 g Tensid 1 – 2,0 g Füllstoff 1 – 0,5 g UV-Schutz 1 – 0,5 g UV-Schutz 2 – 0,5 g UV-Schutz 3 – 0,5 g	WP	8 g/L	
15	CT-015	Fremdextrakt– 2,0 g Tensid 1 – 2,0 g Füllstoff 1 – 0,5 g UV-Schutz 1 – 0,5 g UV-Schutz 2 – 0,5 g UV-Schutz 3 – 0,5 g	WP	6 g/L	
16	CT-016	Fremdextrakt– 2,0 g Netzschwefel – 6,0 g Tensid 1 – 2,0 g Füllstoff 1 – 0,5 g UV-Schutz 1 – 0,5 g UV-Schutz 2 – 0,5 g UV-Schutz 3 – 0,5 g	WP	12 g/L	

Lfd. Nr	Name	Zusammensetzung für 1 L Spritzbrühe	Art der Formulierung	Aufwandmenge	Bemerkungen
17	CT-017	Fremdextrakt– 2,0 g Tensid 1 – 2,0 g	WP	4 g/L	
18	CT-018	Fremdextrakt– 2,0 g Tensid 1 – 3,0 g	WP	5 g/L	
19	CT-019	Fremdextrakt– 2,0 g Emulgator 2 – 2,0 g (vorher ins Wasser geben)		4 g/L	
20	CT-020	Fremdextrakt– 2,0 g Emulgator 3 – 2,0 g (vorher ins Wasser geben)		4 g/L	
21	CT-021	Fremdextrakt– 2,0 g Emulgator 1 – 2,0 g (vorher ins Wasser geben)		4 g/L	
22	CT-022	Fremdextrakt– 2,0 g Tensid 2 – 2,0 g	WP	4 g/L	
23	CT-023	Fremdextrakt– 2,0 g Emulgator 4 – 2,0 g (vorher ins Wasser geben)		4 g/L	
24	CT-024	90% Fremdextrakt 5% UV-Schutz 1 bis 3 5% Dispergiermittel 1 bis 50% Wasser	Waterdispersable Granule (WDG)	2,22 g/L	Ergibt entweder nur nicht benetztes Pulver, oder bei Zugabe von mehr Wasser einen klebrigen Brei, der sich nicht weiter verarbeiten lässt.
25	CT-025	80% Fremdextrakt 3% Netzmittel 1 7% UV-Schutz 1-3 10% Dispergiermittel 1 20% Wasser	WDG	2,5 g/L	Kein verarbeitbarer Teig
26	CT-026	50% Fremdextrakt 30% Füllstoff 2 3% Netzmittel 1 7% UV-Schutz 1 bis 3 10% Dispergiermittel 1 20% Wasser	WDG	4,0 g/L	Lässt sich ganz gut verarbeiten. Extrusion durch Spritze ist ein ziemlicher Kraftakt. SB nach kurzem Trocknen der Granulate ganz schön. Clay schliert etwas in der Spritzbrühe

Lfd. Nr	Name	Zusammensetzung für 1 L Spritzbrühe	Art der Formulierung	Aufwandmenge	Bemerkungen
27	CT-027	50% Fremdextrakt 30% Füllstoff 3 3% Netzmittel 1 7% UV-Schutz 1 bis 3 10% Dispergiermittel 1 30% Wasser	SG = Soluble Granule) SG	4,0 g/L	Erst ab ca. 30% Wasserzugabe so teigig, das eine Extrusion möglich ist. Vorher äußerst fest und zu hart, um durch die Löcher gedrückt werden zu können.
28	CT-028	66,66% Fremdextrakt 6,66% Füllstoff 3 6,66% Konservierungsmittel 1 6,66% Konservierungsmittel 2 6,66% UV-Schutz 1 bis 3 6,66% Dispergiermittel 1 20% Wasser	SG	3,0 g/L	Recht zähe Paste, die nicht durch die Spritze geht. Bei Herstellung auf Handtuch entstehen schöne Granulate, die sich nach kurzer Zeit komplett in Wasser lösen.
29	CT-029	50% Fremdextrakt 10% Füllstoff 3 10% Konservierungsmittel 1 10% Konservierungsmittel 2 10% UV-Schutz 1 bis 3 10% Dispergiermittel 1 20-25% Wasser	SG	4,0 g/L	Im Freilandversuch 2013 mitgetestet
30	CT-030	50% Fremdextrakt 30% Füllstoff 2 5% Dispergiermittel 1 5% UV-Schutz 1 bis 3 10% Dispergiermittel 2 Ca 25% Wasser	WDG	4,0 g/L	Wird direkt nach der Herstellung schon zu einem recht trockenen Teig. Auf Handtuch keine Granulatbildung. Nach Trocknen wird Teig spröde und zerfällt zu Staub. Möglicherweise ist eine Spritzenextrusion möglich
31	CT-031	50% Fremdextrakt 12,5% Füllstoff 3 12,5% Konservierungsmittel 1 12,5% UV-Schutz 1 bis 3 12,5% Dispergiermittel 1 20-25% Wasser	SG	4,0 g/L	
32	CT-032	50% Fremdextrakt 25% Füllstoff 3 10% UV-Schutz 1 bis 3 10% Dispergiermittel 1 5% Netzmittel 2 20-25% Wasser	SG	4,0 g/L	Handtuchherstellung nicht optimal. Spritzenherstellung vermutlich möglich.
33	CT-033	50% Fremdextrakt 30% Füllstoff 3	SG/WP	4,0 g/L	

Lfd. Nr	Name	Zusammensetzung für 1 L Spritzbrühe	Art der Formulierung	Aufwandmenge	Bemerkungen
		10% UV-Schutz 1 bis 3 10% Dispergiermittel 1 20-25% Wasser			

4.4 Gewächshausversuche

4.4.1 RLP AgroScience

In Tabelle 13 sind die wichtigsten im Gewächshaus untersuchten Extrakte, Gemische und Zusatzstoffe sowie berechneten Wirkungsgrade nach Abbott aufgelistet. In Abbildung 21 sind die entsprechenden Wirkungsgrade nochmals grafisch dargestellt. Als Fremdextrakte sind Extrakte gekennzeichnet, die von kommerziellen Herstellern bezogen wurden. Eigenextrakte wurden während des Projekts selbst im Labor hergestellt. Wenn nicht näher bezeichnet, wurden Eigenextrakte immer aus Rieslingtrester gewonnen. Als Vergleichsmittel wurden einmal ein Kupferpräparat (Cuprozin flüssig) und ein synthetisches Fungizid (Delan WG) in den jeweils empfohlenen Konzentrationen unter den gleichen Bedingungen getestet. Dies erlaubt eine Einschätzung des bei den Extrakten beobachteten Effekts. Die angegebenen Einwaagen beziehen sich auf die gemessenen Gallussäureäquivalente, die tatsächliche Einwaage an Extrakt ist abhängig von der GAE-Konzentration im jeweiligen Extrakt.

Der zugekaufte Extrakt zeigte bereits ohne weitere Zusätze starke Effekte, er erreichte bereits einen Wirkungsgrad von ca. 80%. Der Zusatz von Netzschwefel, Netzschwefel und Netzmittel sowie Netzschwefel und Salicylsäure steigerte den Wirkungsgrad auf fast 100%. Allerdings zeigten diese Zusätze auch ohne Extrakte bereits einen gewissen Effekt. Das Netzmittel und die Salicylsäure alleine erreichten zwar nur Wirkungsgrade von 67 bzw. 64%, während Schwefel alleine und alle Mischungen die Schwefel enthielten Wirkungsgrade von annähernd 100% aufwiesen.

Dieses Ergebnis ist auch beim selbst hergestellten Extrakt zu beobachten. Der Extrakt alleine erreicht einen Wirkungsgrad von 63%, bei Zugabe von Netzschwefel steigt er auf 95%.

Die Korngröße spielt bei der Extraktion zwar scheinbar keine Rolle in Bezug auf die Ausbeute, bei den Effekten im Gewächshaus sind jedoch Unterschiede erkennbar, während die Temperatur des Extraktionsmittels hier nebensächlich zu sein scheint (im Gegensatz zur Extraktion). Die Extrakte sollten demnach mit heißem Lösungsmittel (wegen der Ausbeute) und möglichst fein gemahlten Kernen (wegen der Effekte) hergestellt werden. In der Praxis wird es einen Kompromiss aus diesen beiden Faktoren und der Handhabbarkeit geben.

Tabelle 13: Auswahl der wichtigsten im Gewächshaus untersuchten Extrakte, Mischungen, Zusätze und die dort gemessenen Wirkungsgrade (nach Abbott).

Gruppe	Wirkungsgrad(Abbott)
Kontrolle	0
Fremdextrakt (FE)	83
FE + Schwefel	98
FE + Schwefel + Netzmittel	98
FE + Schwefel + Salicylsäure	100
Eigenextrakt (EE) 2012	63
EE 2012 + Schwefel	95
EE grob, heiß extrahiert	48
EE fein heiß extrahiert	66
EE 2009 1g/L + Netzmittel	89
EE 2009 0,5g/L + Netzmittel	73
EE 2010 ungereinigt 1g/L	67
EE 2010 gereinigt 1g/l	60
Cabernet Sauvignon gereinigt 1g/L	43
Cabernet Sauvignon ungereinigt 1g/L	40
Trestersilage 1g/l	-29
Trestersilage 3g/l	55
Oliventrester	59
Schwefel	100
Schwefel + Netzmittel	100
Schwefel + Netzmittel + Salicylsäure	100
Netzmittel	67
Salicylsäure 0,01g/L	26
Salicylsäure 0,05g/L	38
Salicylsäure 0,1g/l	64
Salicylsäure 0,2g/L	-1
Delan WG 1ml/L	100
Cuprozin 0,5g/L	98

Niedrigere Extraktkonzentrationen zeigten geringere Effekte, bei 1g/l GAE konnten ca. 90% Wirkungsgrad erreicht werden, bei 0,5g/l GAE nur noch bestenfalls 73%. Eine Aufreinigung der Extrakte nach der durchgeführten Methode hat keinen Einfluss auf die beobachtbaren Effekte, die Unterschiede waren nur gering und bei verschiedenen Extrakten nicht eindeutig. Insgesamt scheint Extrakt aus Cabernet Sauvignon-Trester deutlich geringere Effekte zu haben als solcher aus Rieslingtrester.

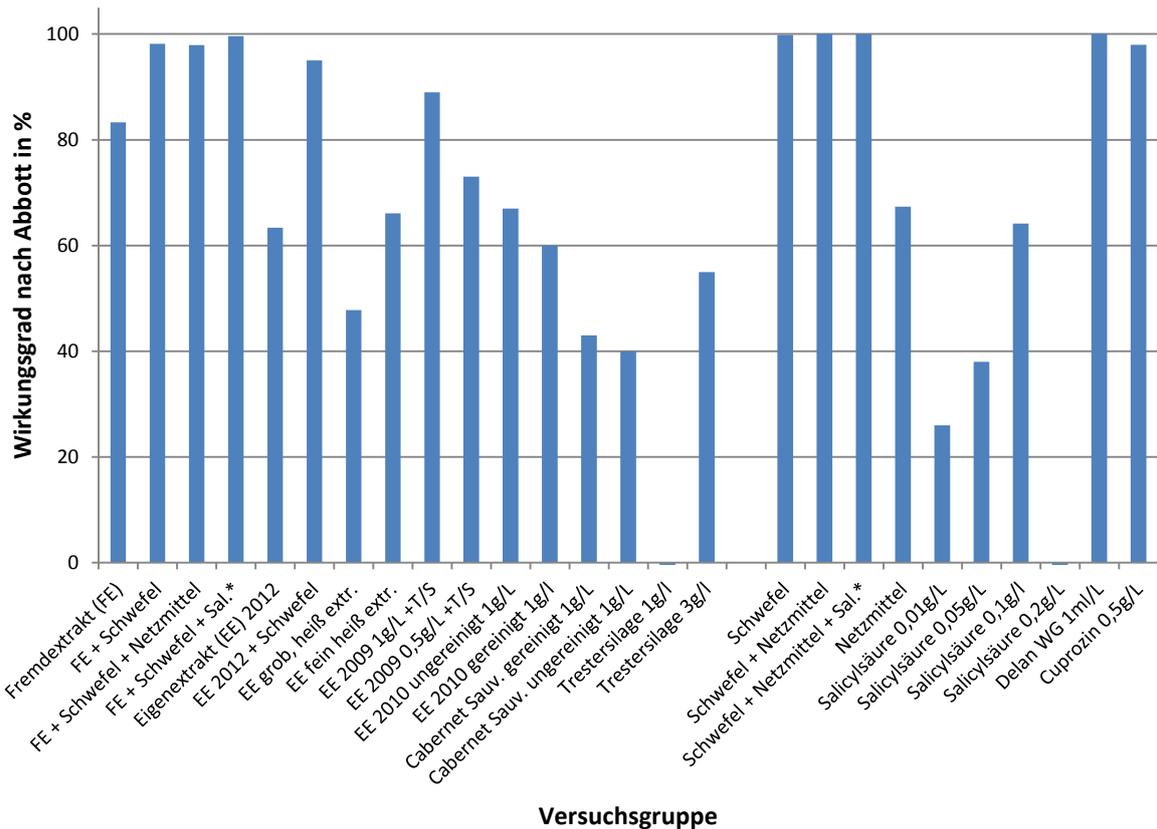


Abbildung 21: Grafische Darstellung der wichtigsten im Gewächshaus untersuchten Extrakte, Mischungen, Zusätze und die dort gemessenen Wirkungsgrade (nach Abbott)

Die Silierung des Tresters führt zu massiv geringeren Effekten der Extrakte bei der Standardkonzentration von 1g/l GAE. Selbst bei einer Erhöhung der GAE-Konzentration auf das dreifache können noch nicht ganz die Effekte von Extrakten aus frischem bzw. gefrorenem Trester erreicht werden. Es scheint also neben einer Reduktion der absoluten Ausbeute auch eine Umwandlung der vorhandenen Stoffe zu geben, die sich nachteilig auf die pflanzenstärkenden Effekte auswirkt.

Die als Vergleich mitgeführten Pflanzenschutzmittel Cuprozin flüssig und Delan WG erreichten erwartungsgemäß extrem hohe Wirkungsgrade von beinahe 100%.

4.4.2 Trifolio-M

Im Projektzeitraum wurden 72 Varianten in Tests hauptsächlich im System an *Solanum lycopersicum/Phytophthora infestans* und ausgewählte Proben an *Solanum lycopersicum/Botrytis cinerea* an getopften Pflanzen unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt.

Die von RLP-AgroScience hergestellten, zunächst ungereinigten, Extrakte (Eigenextrakte) wie Kerne, Riesling, Cabernet, flüssiger Trester-Extrakt (Charge Frühjahr 2012), sowie weitere Rieslingextrakt-Proben fest/flüssig aus 2012 und 2013. etc., zeigten keine

ausreichenden Effekte bezüglich der Infektionsstärke von Tomaten mit *P. infestans*. Zum Teil war der Befall in diesen Varianten sogar wesentlich stärker als der in den Wasser-Kontrollen. Es wurde davon ausgegangen, dass im Extrakt möglicherweise noch Rest-Zucker enthalten sind, welche das Pilzwachstum fördern. Alle Varianten wiesen einen starken Spritzbelag auf. Der beste Wirkungsgrad (WG) von 43% (ABBOTT) wurde mit Variante "Fremdextrakt3" erreicht. Der Befall der Versuchspflanzen mit dem Erreger des Grauschimmels konnte mit den Traubenkernextrakten ebenfalls auch nur bis zu 50% inhibiert werden. Insgesamt ist festzustellen, dass diese Extrakte keine, bzw. keine ausreichenden Effekte für eine erfolgreiche Eindämmung von *Phytophthora* und *Botrytis* an Tomaten aufwiesen.

Ab November 2012 testete Trifolio-M maßgeblich Varianten des von RLP AgroScience bereitgestellten Fremdextraktes, nachfolgend CT abgekürzt. Zunächst wurde dieser Extrakt pur oder mit Hilfsstoffen, wie sie auch von RLP AgroScience bei den Versuchen mit Falschem Mehltau an Wein eingesetzt wurden, getestet. Als Zusätze wurden Netzschwefel, Salukarb und Cocana®-Seife einzeln bzw. in Kombinationen miteinander verwendet. Wie in Tabelle 14 zu sehen, fallen die Ergebnisse zu den Effekten des puren Fremdextrakts bei *Phytophthora infestans* an Tomatenpflanzen in verschiedenen Versuchen mit Wirkungsgraden von 50% bis zu knapp 96% sehr schwankend aus. Unerklärlich bleibt das Ergebnis in Versuch V13.42, wo CT pur überhaupt keinen Effekt hatte, da die Bedingungen bei der Versuchsdurchführung gleich waren. Es wurde allerdings beobachtet, dass nach der Applikation der Spritzbrühe diese sich zunächst mit relativ großen Tropfen auf den Blättern verteilte, die Tropfen dann aber zusammenliefen und vom Blatt abtropften.

Eine nahezu identische Bandbreite an Effektivität wurde mit der Zugabe von Netzschwefel zum Extrakt erzielt (50%, 72%, 89% und 98%). Die Applikation von Netzschwefel ohne Zusätze hemmte den Befall in Versuch V13.03 mit *P. infestans* zu 50%, im Versuch V13.26 dagegen wurde nur ein WG von 2,5% erreicht. Die Zugabe von Cocana® bewirkte eine bessere Verteilung der Spritzbrühe auf den Blättern und es konnte z.T. die Spritzfleckbildung stark vermindert werden. Jedoch setzte Cocana® die Effektivität des CT-Extraktes so stark herab, dass die bessere Spreitung nicht zu einem besseren Wirkungsgrad führte (siehe Abbildung 22 bis Abbildung 24).

Auch der Zusatz des Pflanzenstärkungsmittels Salukarb konnte in diesem Versuchsdesign nicht zu einer Verbesserung beitragen.

Tabelle 14: Verschiedene Extraktvarianten in Versuchen zur Infektionsstärke von *P. infestans* an getopften Tomaten unter geschützten Bedingungen im Klimaraum

Versuch-Nr.	Variante	Konzentration	Mittelwert Befall (%)	Standard-abweichung	WG (%) ABBOTT
V12.35	Fremdextrakt, CT, Lieferung August 2012	0,57%	33	11,51	67,00
	Cocana®	0,50%	86	15,17	14,00
	Netzschwefel	0,60%	98	4,47	2,00
	CT + Cocana®	entsprechend	96	5,48	4,00
	CT + Netzschwefel	entsprechend	27,5	8,66	72,50
	CT + Cocana® + Netzschwefel	entsprechend	72	20,49	28,00
	Cocana® + Netzschwefel	entsprechend	92	8,37	8,00
V13.03	Fremdextrakt, CT, Lieferung August 2012,	0,57% 5,7 g/L	5,2	3,19	87,00
	CT + Netzschwefel	5,7 g + 6,0 g/L	0,8	0,45	98,00
	Netzschwefel	0,60% 6,0 g/L	20	14,72	50,00
	Eigenextrakt (Ch.: 03/12) flüssig in Methanol, Lagerung bei 4°C	50% 16,7 ml/L	16	6,52	60,00
	Eigenextrakt + Netzschwefel	16,7 ml + 6 g/L	10	6,12	75,00
V13.06	CT pur	1,87 g / L	5,25	5,5	75,29
V13.07	CT pur	1,87 g / L	1,2	2,17	95,56
V13.22	CT (Ch. 02/13) + Cocana	1,87g/L 5,0g/L	+ 100	0	-122,22
	CT (Ch.02/2013) + Nufilm P	1,87g/L 0,05%	+ 49	6,52	-8,89
	CT + Netzschwefel	1,87 g/L 6,0g/L	+ 5	0	88,89
	CT + Nufilm P+ Netzschwefel	1,87g/L 0,05%+6g/L	+ 23	6,71	42,50
V13.26	CT + Biomaxima + Netzschwefel	1,87g/L 0,05%+6g/L	+ 13	5,7	67,50
	CT + Netzschwefel	1,87g/L 6,0g/L	+ 20	6,12	50,00
	CT + Biomaxima	1,87g/L 0,05%	+ 23	6,71	42,50
	CT pur	1,87g/L	18	9,75	55,00
	Netzschwefel	6,0g/L	39	8,94	2,50
V13.42	CT-pur	2,0 g/l	54	5,48	0,00
	CT-013	10,0 g/l	7	2,74	82,50
	CT-014	8,0 g/l	13	9,75	67,50
	CT-015	6,0 g/l	10,2	6,72	74,50
	CT-016	12,0 g/l	4,4	3,71	89,00
	CT-018	5,0 g/l	10	5	75,00
	V14.04	CT-017	2,0 g/l	2,4	2,41

Versuch-Nr.	Variante	Konzentration	Mittelwert Befall (%)	Standard-abweichung	WG (%) ABBOTT
V14.09	CT-019	2,0 g/l	66	11,4	15,38
	CT-020	2,0 g/l	70	10	10,26
	CT-021	2,0 g/l	57	25,4	26,92
	CT-022	2,0 g/l	74	19,49	5,13
	CT-023	2,0 g/l	19	10,84	75,64
	CT-023	2,0 g/l	15	11,73	79,73



Abbildung 22: Spritzbelag verursacht durch Fremdextrakt in Kombination mit Netzschwefel, nach Antrocknen der applizierten Spritzbrühe



Abbildung 23: Spritzbelag und Befall mit *P. infestans* auf den verschiedenen Versuchsgruppen, links Atempo; Mitte Fremdextrakt + Netzschwefel, rechts Wasser-Kontrolle, 5d nach Inokulation mit *P. infestans*



Abbildung 24: Befall mit *P. infestans* auf den verschiedenen Versuchsgruppen, links Atempo; Mitte Fremdextrakt mit Cocana®, rechts Wasser- Kontrolle, 5d nach Inokulation mit *P. infestans*

Durch die Zugabe ausgewählter Formulierungshilfsstoffe (Emulgatoren, Spreiter, UV-Stabilisatoren) zum Fremdextrakt scheinen sich die Effekte zu verstärken, da in fast allen getesteten CT-Varianten der Wirkungsgrad erhöht wurde (siehe Abbildung 25). Unter den geschützten Bedingungen konnten mit den CT-Formulierungen ein ebenso hoher Wirkungsgrad bei *P. infestans* erzielt werden wie mit dem Kupferpräparat. Allerdings muss angemerkt werden, dass bei einigen Formulierungen der hohe Wirkungsgrad der CT-Formulierungen z.T. durch eine starke Eigenwirksamkeit des Tensid 1 bedingt ist (siehe Tabelle 12).

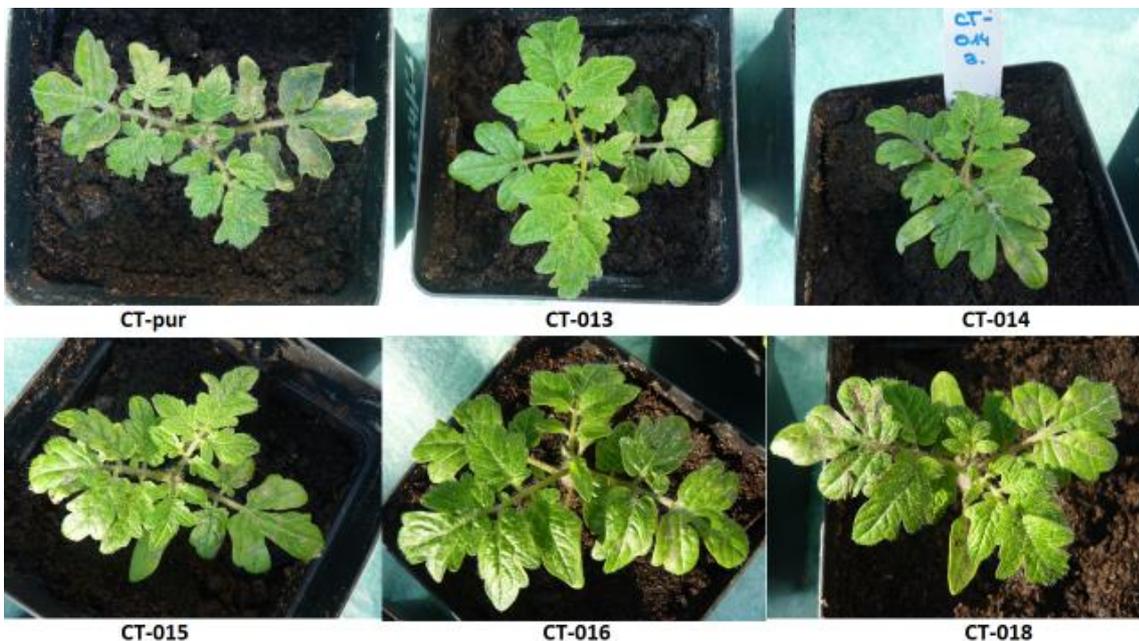


Abbildung 25: Verschiedene CT-Formulierungen, 5d nach Inokulation mit *P. infestans*

Aufbauend auf den in den Klimakammer-Versuchen gewonnenen Erfahrungen, wurden Formulierungen für Semi- und Freilandversuch weiterentwickelt. Ein wichtiges angestrebtes Ziel für diese Formulierungen war die Reduzierung von Spritzflecken.

4.5 Freilandversuche

4.5.1 RLP AgroScience

4.5.1.1 Handspritzen (2012-2013)

In Tabelle 15 und Abbildung 26 sind die Wirkungsgrade der ersten und zweiten Bonitur bei den verschiedenen Versuchsgruppen 2012 dargestellt. Auch die geerntete Traubenmenge pro Gruppe und zur besseren Vergleichbarkeit pro 10 Rebstöcken ist in die Tabelle aufgenommen.

Tabelle 15: Wirkungsgrade nach Abbott der Versuchsgruppen bei Schwarzriesling 2012, errechnet aus den Infektionszahlen der ersten bzw. zweiten Bonitur. Dargestellt sind auch die absolute Traubenmenge, die pro Gruppe geerntet werden konnte und die durchschnittliche Traubenmenge umgerechnet auf je zehn Pflanzen.

Gruppe	Wirkungsgrad nach Abbott Erste Bonitur in % (5.7.2012)	Wirkungsgrad nach Abbott Zweite Bonitur in % (2.8.2012)	Trauben/Gruppe -in kg	Trauben/10 Pflanzen in kg
Cu (Cuprozin)	68	50	67,7	13,5
FE 0,5	78	32	13,4	7,1
FE 0,5 + Cocana	40	58	11,3	8,7
FE 0,5 + Cocana + Salicylsäure	91	83	33,4	16,7
FE 1	78	72	26,5	13,2
FE 1 + Cocana	96	81	27,4	13,7
FE 1,5	9	-85	20,4	13,6
FE 1,5 + Cocana	83	74	35,5	20,9
EE 1	38	56	17,8	11,9
EE 1 + Cocana	55	52	35,6	17,8
EE 1+ Cocana + Salicylsäure	17	14	28,6	14,3
EE 1,5	77	74	29,3	14,6
EE 1,5 + Cocana	83	56	37,6	18,8
EE 1,5 + Cocana +Salicylsäure	25	-41	16,8	9,9
Kontrolle	0	0	43,1	22,7
Kontrolle+ Cocana	55	44	29,1	19,4

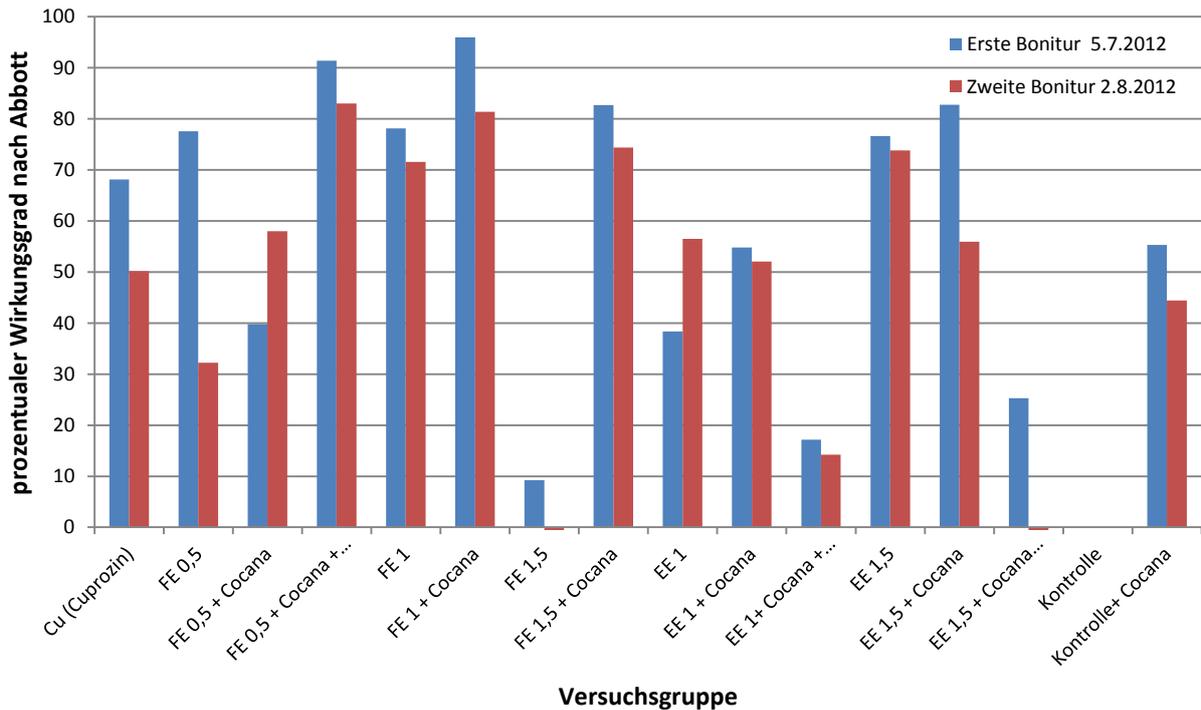


Abbildung 26: Prozentuale Wirkungsgrade nach Abbott der verschiedenen Versuchsgruppen bei Schwarzriesling 2012 nach der ersten bzw. zweiten Bonitur.

Wie der Abbildung zu entnehmen ist, gibt es deutliche Unterschiede bei den Wirkungsgraden zwischen den Gruppen. In der grundsätzlichen Tendenz steigt der Wirkungsgrad mit steigender Extraktkonzentration bei allen untersuchten Gruppen/Mischungen an. Es gibt jedoch auch einige Ausnahmen, wie die Steigerung der Konzentration in der Gruppe „Fremdextrakt + Cocana“. Dort ist ein leichter Abfall des Wirkungsgrads zwischen der Konzentration 1g/l und 1,5g/l zu sehen. Betrachtet man die Versuchsfläche als Ganzes, so kann man einen deutlichen Verlust an Wirkungsgrad feststellen, je näher die Versuchsgruppen beim angrenzenden Garten bzw. der Hecke lagen und je weiter sie im Norden der Versuchsfläche lagen.

Besonders gut lässt sich der Zusammenhang zwischen Standort und Infektionszahl bei den Reben sehen, die mit Cuprozin Flüssig behandelt wurde, da sich die Pflanzen dieser Gruppe über das ganze Versuchsfeld verteilen. Hier wurden bei der zweiten Bonitur die Ergebnisse jeder Pflanze einzeln ausgewertet, so dass ein Bild der verschiedenen Infektionsstärke an den verschiedenen Standorten erhalten werden konnte (siehe Tabelle 16). Deutlich ist der Anstieg der Infektionszahlen pro Pflanze zu erkennen, je weiter nördlich und östlich die jeweilige Pflanze im Versuchsfeld platziert war.

Tabelle 16: Infektionen der einzelnen Pflanzen der Gruppe „Cuprozin flüssig“, zur besseren Übersicht sind die dazwischenliegenden Versuchsgruppen nicht mit aufgeführt.

1	8	17	6	88
2	4	14	12	63
1	7	10	12	65
3	25	13	21	63
9	6	2	2	28
6	12	10	4	40
3	8	2	1	17
11	6	1	12	15
4	4	2	2	7
0	6	7	8	4

Während die zugekauften Extrakte bereits bei 1g/l sehr gute Wirkungsgrade erreichten, zeigten die selbst hergestellten Extrakte bei 1g/l noch relativ niedrige Wirkungsgrade, erst in der höheren Konzentration von 1,5g/l wurde auch hiermit ein akzeptabler Wirkungsgrad von 78-80% erreicht. Die Zusätze wie Cocana oder Salicylsäure erhöhten meist den Wirkungsgrad ein wenig, wobei besonders Cocana eine merkliche Verbesserung erbrachte.

Besonders Anfang des Jahres waren nur sehr geringe Infektionszahlen festzustellen, erst gegen Ende Juni stieg die Zahl an. Da keine Gescheine befallen wurden, waren Ernteauffälle durch *P. viticola* nicht festzustellen, es handelte sich ausschließlich Blattinfektionen.

Nichts desto trotz konnte nach Beendigung der Spritzungen bis zur Lese und auch danach ein deutlicher Anstieg der Infektionen festgestellt werden. Eine Orientierung am Spritzzyklus für Kupferpräparate wird offensichtlich den Extrakten nicht vollkommen gerecht, stellte jedoch als erste Näherung bereits eine recht gute Methode dar.

In Tabelle 17 und den Abbildung 27 und Abbildung 28 sind entsprechend die Wirkungsgrade bei den Versuchsgruppen Riesling und Schwarzriesling 2013 dargestellt.

Tabelle 17: Wirkungsgrade nach Abbott der Versuchsgruppen bei Schwarzriesling und Riesling 2013, errechnet aus den Infektionszahlen der ersten bzw. zweiten Bonitur.

Versuchsgruppe	Schwarzriesling		Riesling	
	Wirkungsgrad nach Abbott in % Erste Bonitur 16.7.2013	Wirkungsgrad nach Abbott in % Zweite Bonitur 30.8.2013	Wirkungsgrad nach Abbott in % Erste Bonitur 16.7.2013	Wirkungsgrad nach Abbott in % Zweite Bonitur 30.8.2013
Kontrolle	0,0	0,0	0,0	0,0
Cuprozin flüssig FE + 0,01%	55,6	31,6	3,3	64,4
Cuprozin	52,1	34,8	9,2	59,6
FE 0,5 + Cocana	16,4	13,4	0,0	21,5
FE 1	24,0	30,2	0,0	60,7
FE 1 + Cocana	27,7	12,5	41,4	40,5
EE 1,5	10,8	35,9	0,1	54,4
EE 1,5 + Cocana	41,4	13,3	25,2	28,0

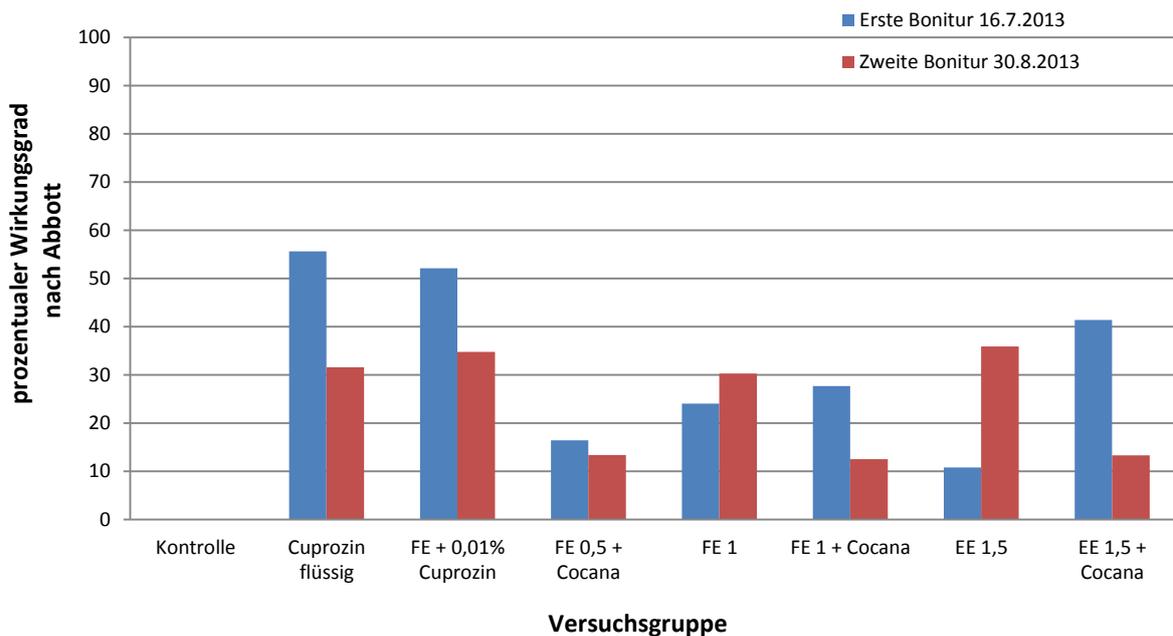


Abbildung 27: Prozentuale Wirkungsgrade nach Abbott der verschiedenen Versuchsgruppen bei Schwarzriesling 2013 nach der ersten bzw. zweiten Bonitur.

Wie den Abbildungen zu entnehmen ist, weisen die verschiedenen Extrakte deutliche Unterschiede in ihren Effekten auf.

Schwarzriesling:

Alle Extrakte zeigen Effekte an den Reben, wobei die Ergebnisse der ersten Bonitur jedoch nur wenig Aussagekraft besitzen, da die Infektionsrate aller Gruppen noch extrem gering war, so dass selbst geringe Unterschiede bei den Infektionszahlen starke Unterschiede beim Wirkungsgrad entstehen lassen.

Zur zweiten Bonitur stiegen bei allen Versuchsgruppen die Infektionsraten stark an und ließen eine sinnvolle Auswertung zu. Der stärkste Effekt war bei der Gruppe „Eigenextrakt 1,5g/l“ zu sehen, die mit ca. 36% Wirkungsgrad sogar leicht besser abschnitt wie „Cuprozin flüssig“ mit 32%. In ähnlichen Bereichen lagen „Fremdextrakt 1g/l“ und „Fremdextrakt 1g/l + Cuprozin 0,01%“ mit jeweils ca. 30%. Somit lagen die Effekte der genannten Mittel in einem ähnlichen Bereich. Besonders das sehr schlechte Abschneiden des Kupfermittels mit 32% Wirkungsgrad zeigt jedoch, dass neben der reinen Wirksamkeit auch noch andere Faktoren eine Rolle spielten. Üblicherweise liegt der Wirkungsgrad von Kupferpräparaten im Bereich zwischen wenigstens 80 -95%.

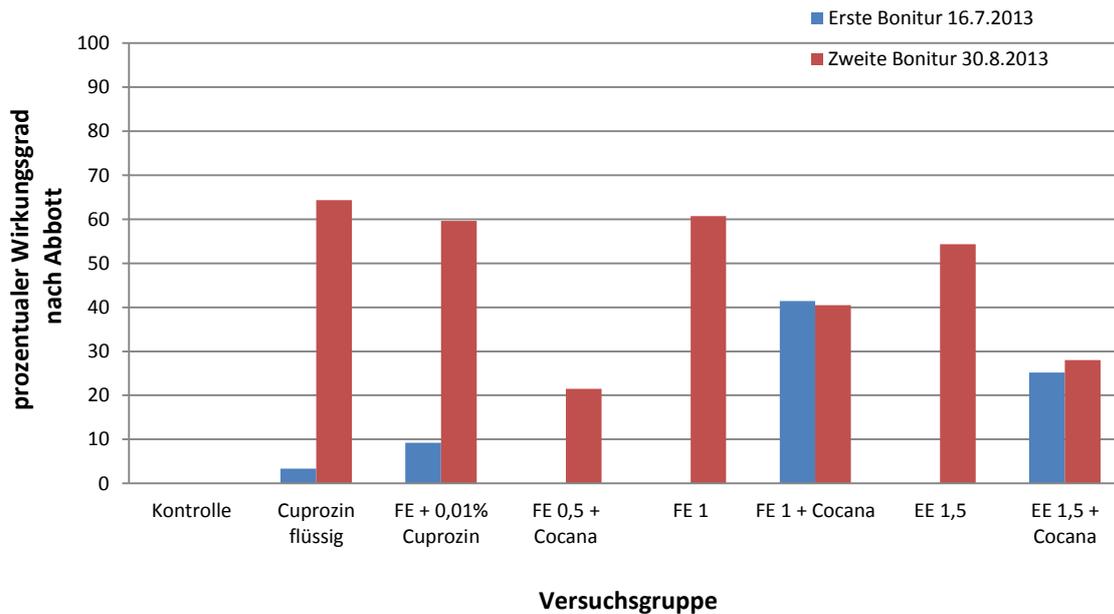


Abbildung 28: Prozentuale Wirkungsgrade nach Abbott der verschiedenen Versuchsgruppen bei Riesling 2013 nach der ersten bzw. zweiten Bonitur.

Riesling:

Ähnliche Resultate konnten auch beim Riesling gefunden werden, wobei hier die absoluten Wirkungsgrade etwas höher waren. Auch hier war bei der ersten Bonitur die Infektionsrate so gering (im Bereich von einer Infektion/Pflanze), dass keine Aussage über die verschiedenen Mittel gemacht werden kann. Auch hier stiegen die Infektionsraten zur zweiten Bonitur hin deutlich an, allerdings auf wesentlich geringere absolute Zahlen wie beim Schwarzriesling. So waren die Rieslingpflanzen mit 10-30 Infektionen pro Stock deutlich schwächer infiziert als die Schwarzrieslingpflanzen zum gleichen Zeitpunkt (100-160 Infektionen/Stock). Dies macht sich auch in besseren Wirkungsgraden bemerkbar. Wieder waren es die gleichen Versuchsgruppen wie beim Schwarzriesling, die die besten Ergebnisse zeigten. Den höchsten Wirkungsgrad hatte „Cuprozin flüssig“ mit 64%, gefolgt von „Fremdextrakt 1g/l + Cuprozin 0,01%“ und „Fremdextrakt 1g/l“ mit jeweils ca. 60% und „Eigenextrakt 1,5g/l“ mit 54%. Wie bei der anderen Rebsorte liegen die Wirkungsgrade der genannten Versuchsgruppen alle in einem ähnlichen Größenbereich. Auch hier war jedoch der Wirkungsgrad des reinen Kupfermittels nicht so hoch, wie man es erwarten würde.

Auch 2013 konnte festgestellt werden, dass die Infektionszahl bis ca. Anfang/Mitte Juli relativ gering blieb und erst ab Ende Juli ein starker Anstieg der Infektionszahlen stattfand. Dementsprechend handelt es sich wieder fast ausschließlich um Blattinfektionen, Gescheinsinfektionen konnten nicht festgestellt werden.

4.5.1.2 Maschinelles Spritzen (2014)

Die 2014 durchgeführten Versuche bestätigten die Ergebnisse der beiden vorherigen Versuchsjahre.

In den Abbildung 29 bis Abbildung 31 sind die Boniturergebnisse der Freilandversuche 2014 bei den drei teilnehmenden Winzern dargestellt. Zu beachten ist, dass die dargestellten Ergebnisse im Gegensatz zu den vorherigen Versuchen keine Wirkungsgrade, sondern die durchschnittliche Zahl an Infektionen je Versuchsgruppe zeigen. Da keine unbehandelte Kontrolle mitgeführt werden konnte, konnte kein Wirkungsgrad berechnet werden. Es ist jedoch ein Vergleich mit den regulär mit Kupfer behandelten Gruppen möglich, so dass eine Einschätzung der Ergebnisse trotzdem möglich ist. Zudem sind aus den vorherigen Jahren die Ergebnisse der Extrakte im Vergleich zu Kupfer und den Extrakten bekannt.

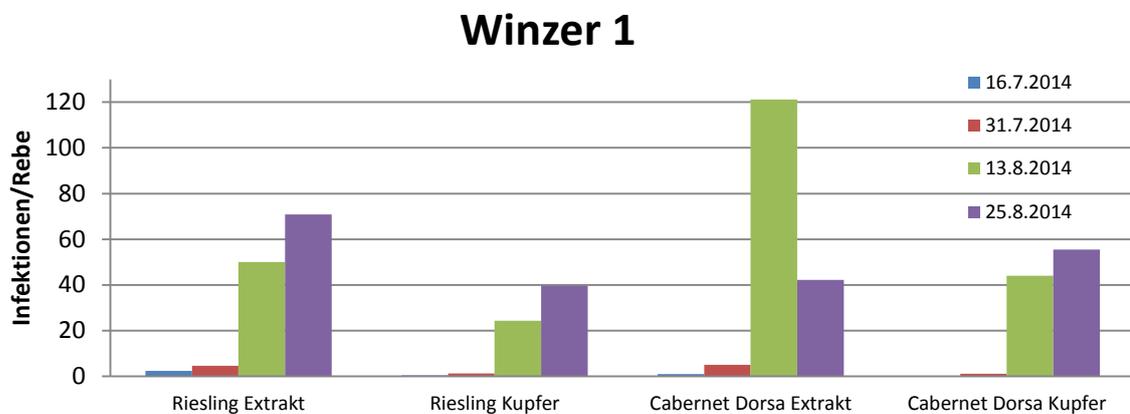


Abbildung 29: Infektionszahlen der Reben bei Winzer 1 zu den vier Boniturerminen 2014

Winzer 1 hat zehn Spritzungen durchgeführt. Dabei waren die mit Extrakt behandelten Reben beim Riesling etwas stärker infiziert als die kupferbehandelten Reben, beim Cabernet Dorsa zeigte der Extrakt ähnlich gute Effekte wie das Kupferpräparat. Anhand der verschiedenen Boniturdaten kann wieder ein Anstieg der Infektionszahlen im Laufe der Vegetationsperiode gut verfolgt werden. Wieder erfolgte ein massiver Anstieg der Infektionszahlen erst gegen Ende Juli, wiederum nur Blatinfektionen. Der Abfall der Infektionszahlen beim Cabernet Dorsa von der dritten zur vierten Bonitur ergibt sich aus einem Rebschnitt, der in dieser Zeit durchgeführt wurde und bei dem einige infizierte Rebteile weggeschnitten wurden.

Zusätzlich zum Falschen Mehltau gab es in bei diesem Winzer auch starken Oidiumbefall und Probleme mit der Kirschessigfliege. Grundsätzlich schneidet der Extrakt vor allem beim Cabernet Dorsa ähnlich gut ab, wie das Kupferpräparat. Aufgrund der genannten Probleme waren allerdings Ertragsausfälle zu verzeichnen.

Winzer 2

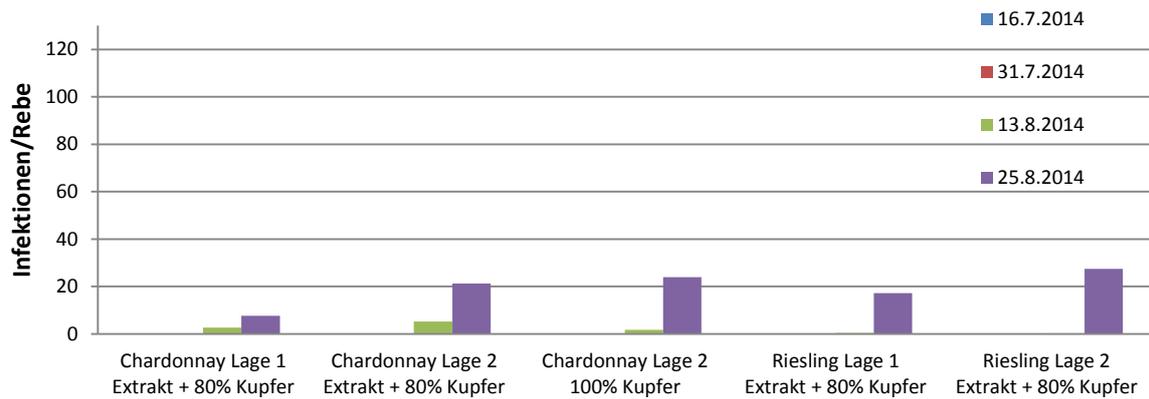


Abbildung 30: Infektionszahlen der Reben bei Winzer 2 zu den vier Boniturterminen 2014

Winzer 2 führte 13 Spritzung durch, wobei hier der Extrakt durchgängig mit einem Zusatz von ca. der 80% der üblichen Kupferdosis versehen wurde. Man kann erkennen, dass die Infektionsraten deutlich niedriger sind wie bei Winzer 1. Die mit Extrakt und verminderter Kupfermenge behandelten Reben waren nur ähnlich stark oder sogar geringer infiziert, wie die regulär mit 100% der Kupferdosis behandelten Reben. Bei diesem Winzer gab es entsprechend keinerlei Ernteaufälle, sowohl Menge als auch Qualität der Trauben entsprachen den Erwartungen.

Winzer 3

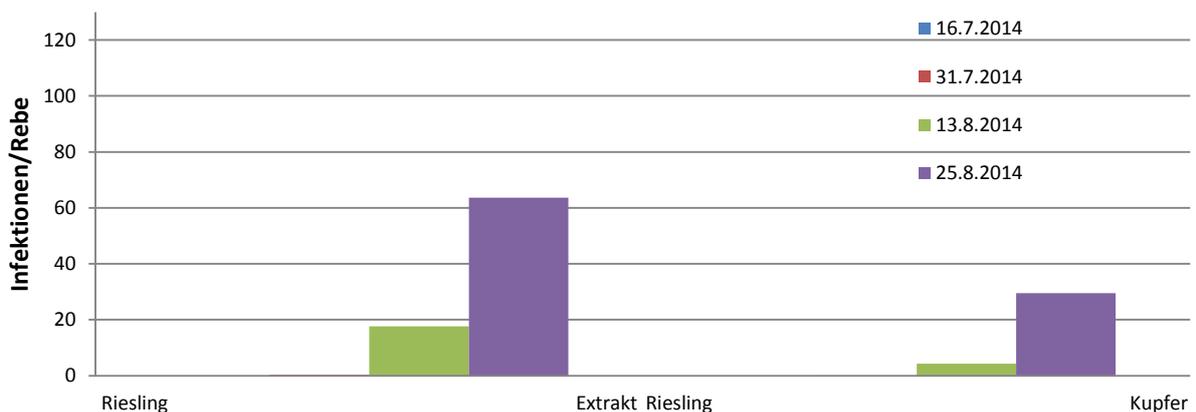


Abbildung 31: Infektionszahlen der Reben bei Winzer 3 zu den vier Boniturterminen 2014

Bei Winzer 3 waren die mit Kupfer gespritzten Reben ca. halb so stark stark infiziert, wie die mit Extrakt behandelten Reben. Hier spielt eventuell die Häufigkeit und der Zeitpunkt der Spritzungen eine Rolle. Aufgrund der recht vielen Infektionen gegen Ende der Wachstumsphase wurde auch hier ein Ernteaufall verzeichnet.

Bei allen drei Winzern war wieder ein Anstieg der Infektionszahlen erst ab Mitte/Ende Juli zu verzeichnen. Zu Beginn der Vegetationsperiode, besonders zur Traubenblüte, lagen die Infektionszahlen sehr niedrig, Blüten/Traubeninfektionen waren nahezu keine zu verzeichnen.

4.5.1.3 Versuche mit künstlicher Infektion

Durch die künstlichen optimalen Sporulations- und Infektionsbedingungen die immer genau nach Ablauf der Inkubationszeit hergestellt wurden, herrschte ein massiver Befallsdruck bei den Reben. Zudem wurde auch wesentlich seltener Extrakt appliziert (sieben- statt zehnmal), als im Freilandversuch. Unter diesen Bedingungen konnten beide untersuchten Extrakte keine ausreichende Effekte zeigen und erreichten nur Wirkungsgrade von ca. 4%. Unter diesen extremen Bedingungen konnte jedoch sogar mit dem synthetischen Mittel Folpan 80 WDG nur ein Wirkungsgrad von 65% erzielt werden, üblich sind damit Wirkungsgrade von knapp 100%.

4.5.2 Trifolio-M - Semi-Freiland/Freilandversuche mit natürlicher Infektion

In den Freilandversuchen 2013 und 2014 wurden ausgewählte Formulierungen auf ihre Anwenderfreundlichkeit (gute Applizierbarkeit), ihren Einfluss bzgl. des Befalls mit *P. infestans* unter Freilandbedingungen (Regenstabilität bzw. UV-Beständigkeit) und Spritzfleckenbildung an der Stabtomate „Harzfeuer“ getestet. Als Vergleichsvarianten wurden neben den Formulierungen eine Wasser-Kontrolle und eine Kupferstandardvariante mitgetestet.

In der Freilandsaison 2013 erfolgte eine ausreichende, natürliche Infektion des Bestandes mit *P. infestans* aufgrund von sehr trockenen Wetterbedingungen im Sommer erst sehr spät Ende September. Da die Pflanzen zu diesem Zeitpunkt schon Seneszenzerscheinungen sowie Kälteschäden durch starke Temperaturabsenkung des Nachts aufwiesen, wurde der Versuch hier bei einem nur mittelstarken Kontrollbefall von 61% beendet. Bei Betrachtung der Befallsentwicklung in Abbildung 32 kann festgestellt werden, dass bis zum 7. Boniturtermin die Effekte der beiden Extraktformulierung etwa genauso gut wie der Schutz des Kupferstandards Atempo war und sich in der Befallsstärke deutlich von den mit Wasser behandelten Kontrollpflanzen unterschied. Mit Erhöhung des Befallsdrucks ließ jedoch der Effekt der Extraktformulierungen stark nach. Zum Zeitpunkt der Abschlussbonitur wiesen beide Extraktformulierungen keinen ausreichenden Effekt bezgl. des Befalls mit *P. infestans* auf, wobei Netzschwefel Variante CT-008 mit einem WG von fast 50% etwa doppelt so gut war wie CT-010 mit nur knapp 25% Wirkungsgrad (Abbildung 33). Beide Formulierungen hinterließen starke Spritzflecken auf den Pflanzen und Früchten (siehe Abbildung 34 und Abbildung 35).

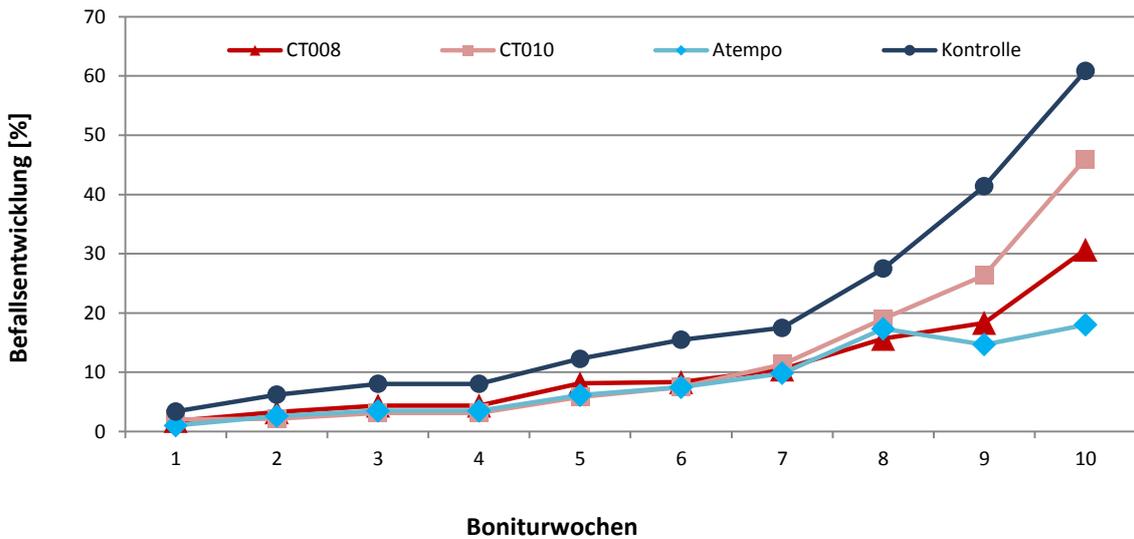


Abbildung 32: Befallsentwicklung (%) von *P. infestans* im Tomaten- Freilandversuch 2013 in Abhängigkeit von der Behandlung. Gegenübergestellt sind die Behandlungen mit der Formulierung CT-008 und CT-010 im Vergleich zum Kupferpräparat Atempo und einer Wasser-Kontrolle.

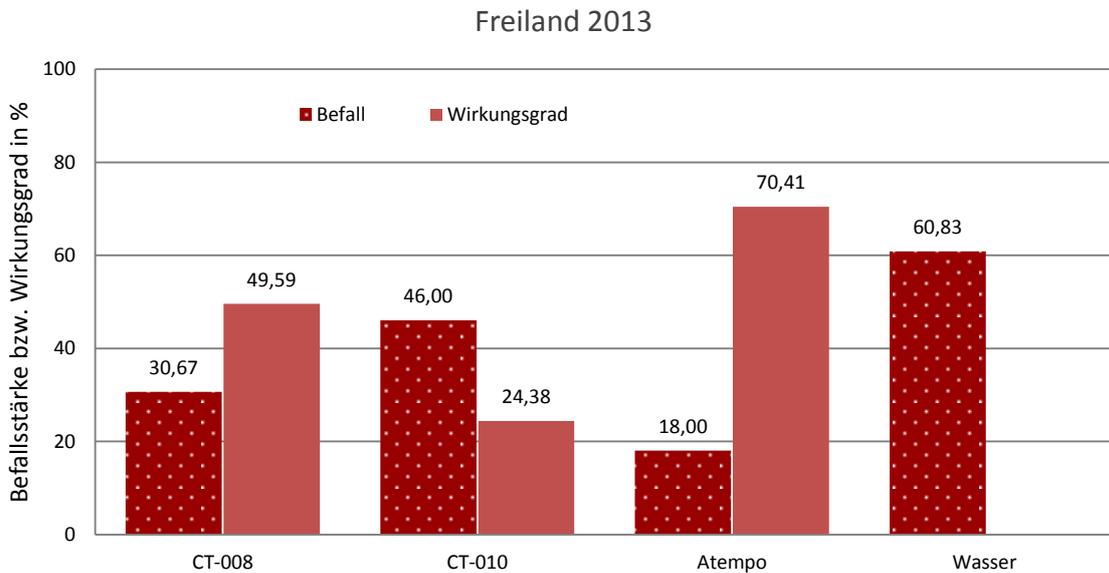


Abbildung 33: Befallsstärke und Wirkungsgrad in [%] ABBOTT von Kupfer- und Extraktvarianten an Tomaten der Sorte „Harzfeuer“ im Freiland 2013 zum letzten Boniturtermin (15.10.2013) gegen *P. infestans*.



Abbildung 34: Behandelte Tomatenpflanzen aus dem Freilandversuch 2013, links Variante CT-008 (Fremdextrakt + Netzschwefel + UV-Schutzstoffe 1-3) und rechts CT-010 (Fremdextrakt + Emulgatormix).



Abbildung 35: Früchte mit Spritzflecken von mehrfach behandelten Tomatenpflanzen aus dem Freilandversuch 2013, links von Variante CT-008 und rechts von Variante CT-010.

Im Freilandversuch 2014 wurde die Formulierung CT-017 unter Freilandbedingungen an der Stabtomate „Harzfeuer“ getestet. Diese Formulierung konnte zuvor unter Klimakammerbedingungen sehr gute Wirkungsgrade gegenüber *P. infestans* (siehe Tabelle 14) erreichen. In der Freilandsaison 2014 erfolgte ab Anfang August eine ausreichende, natürliche Infektion des Bestandes. Wie aus Abbildung 36 und Abbildung 37 zu entnehmen ist, zeigt die Befallsentwicklung, dass die Effekte der Extraktvariante ab dem vierten Boniturtermin (Mitte August) nicht mehr ausreichend waren. Zur Endbonitur Anfang September wiesen die Kontrollpflanzen mit 98% einen sehr starken Befall auf. Der mittlere Befall der Extraktformulierung lag bei 70% und nahezu alle Früchte hatten nekrotische Flecken, wohingegen der Kupferstandard mit einem Wirkungsgrad von knapp 78% noch einen guten Schutz bot.

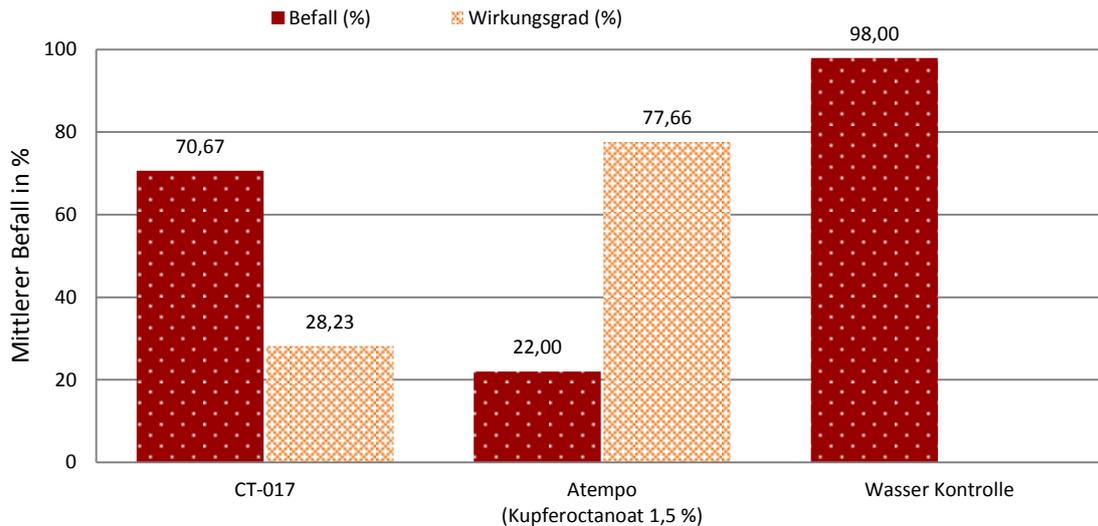


Abbildung 36: mittlerer Befall (%) mit *P. infestans* und Wirkungsgrad in [%] nach ABBOTT von Kupfer- und Extraktvariante CT-017 im Vergleich zur mit Wasser behandelten Kontrolle an Tomaten der Sorte „Harzfeuer“ im Freiland 2014 zur Abschlussbonitur (01.09.2014)

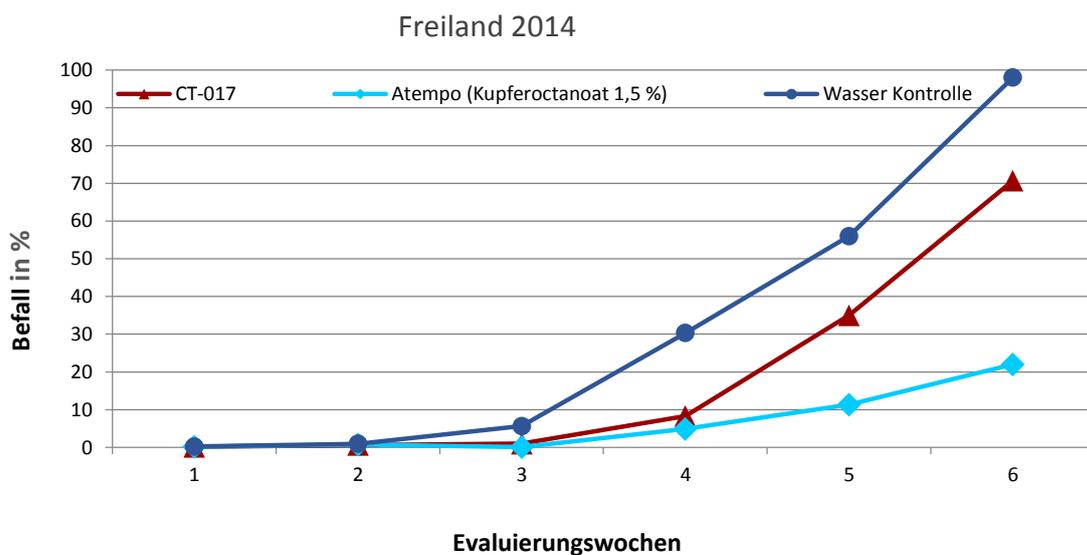


Abbildung 37: Befallsentwicklung (%) von *P. infestans* im Tomaten- Freilandversuch 2014 in Abhängigkeit von der Behandlung. Dargestellt sind die mittleren Befallswerte der Behandlungen mit der Formulierung CT-017 im Vergleich zum Kupferpräparat Atempo und der Wasser-Kontrolle.

Parallel zum Freilandversuch wurde 2014 ein Semi-Freiland Versuch an getopften Tomaten gestartet, der unter gleicher zeitlicher und methodischer Abfolge wie der Freilandversuch durchgeführt wurde. Getopfte Pflanzen der Sorte „Harzfeuer“ wurden durch eine rundherum reichende Umzäunung mit einer Plane vor dem Einfluss von Wind, Regen und Schädlingen etwas geschützter im Freiland aufgestellt. Verglichen mit der

Befallsentwicklung im Freiland-Bestand erfolgte hier die Verbreitung der natürlichen Infektion im Bestand sehr viel langsamer, so dass erst zum neunten Boniturtermin Ende Oktober ein Befall von 86% in den Kontrollpflanzen erreicht wurde. Unter den geschützteren Bedingungen zeigten die Extrakt-Behandlungen deutliche Effekte mit einem Wirkungsgrad von 69% bezgl. der Kraut- und Braunfäule. Jedoch bot der Kupferstandard zur gleichen Zeit einen nahezu 100%igen Schutz vor der Infektion (siehe Abbildung 38 und Abbildung 39).

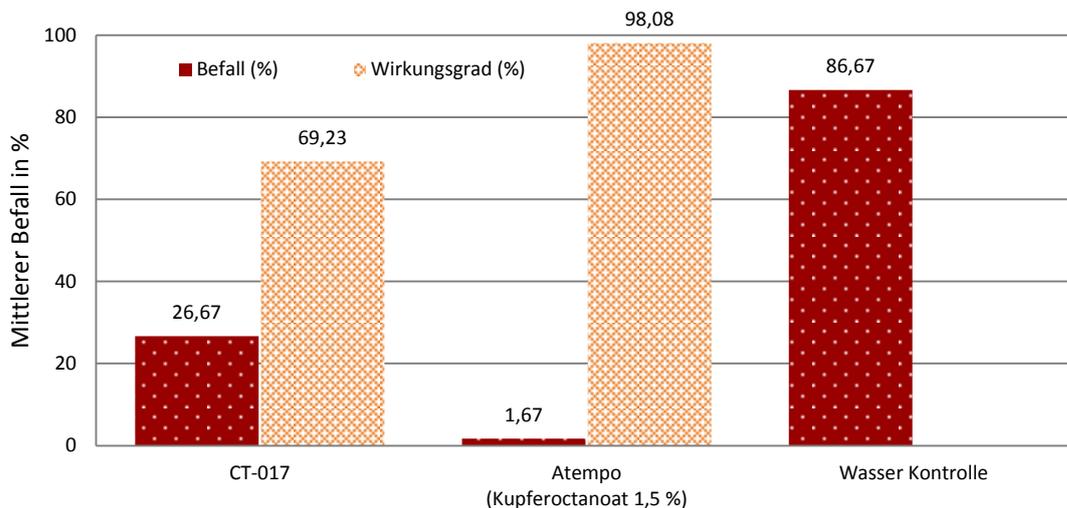


Abbildung 38: Mittlerer Befall (%) mit *P. infestans* und Wirkungsgrad in [%] nach ABBOTT von Kupfer- und Extraktvariante CT-017 im Vergleich zur Wasser behandelten Kontrolle an Tomaten der Sorte „Harzfeuer“ im Semi-Freiland 2014 zur Abschlussbonitur (22.10.2014)

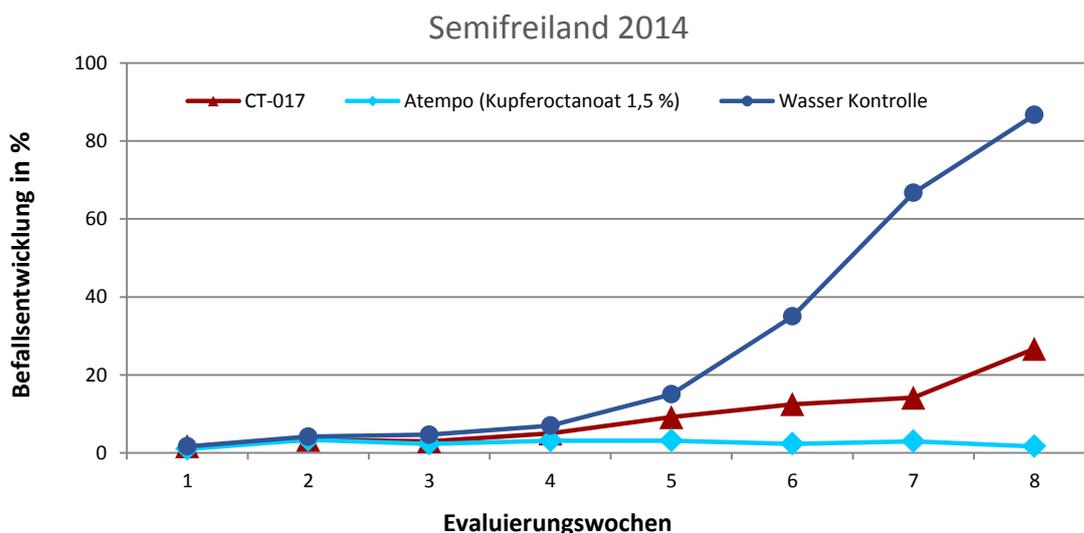


Abbildung 39: Befallsentwicklung (%) von *P. infestans* im Tomaten- Semi-Freilandversuch 2014 in Abhängigkeit von der Behandlung. Dargestellt sind die Behandlungen mit der Formulierung CT-017 im Vergleich zum Kupferpräparat Atempo und der Wasser-Kontrolle.

5 Diskussion

5.1 Trester

Die untersuchten Trester eignen sich unterschiedlich gut für die Gewinnung von Extrakten. Die Extrakte aus Rieslingtrester waren bezüglich der Extraktausbeute und auch was die beobachteten Effekte im Gewächshaus angeht am Besten geeignet.

Die Nutzung ausschließlich der Kerne reduzierte die unerwünschten Stoffe in den Extrakten (vor allem Zucker aus den Häuten und Fruchtfleischresten) deutlich, so dass eine zusätzliche nachträgliche Aufreinigung, zumindest für die Verwendung im Weinbau, unnötig erscheint. Da die Versuche zur Aufreinigung mit Kunstharz keine eindeutige Verbesserung der Effekte im Gewächshaus erbrachten, kann auf dieses aufwändige Verfahren bei ausschließlicher Verwendung der Kerne verzichtet werden. Ein Grund dafür könnte sein, dass bei der Aufreinigung auch Inhaltsstoffe entfernt werden, die für die positiven, pflanzenstärkenden Effekte mitverantwortlich sind. Allerdings konnten die ungereinigten Eigenextrakte bei Tomaten weniger Effekte aufweisen, wie die gereinigten Fremdextrakte.

Da beim manuellem Siebvorgang nicht sämtliche Kerne erfasst werden können, sondern nur die freien, nicht in Beerenhüllen eingeschlossenen, sollte für die technische Gewinnung ausreichender Kernmengen eine intensivere mechanische Bearbeitung und der Einsatz einer Siebanlage zur Anwendung kommen. Da bei ausschließlicher Verwendung der Kerne im Gegensatz zum gesamten Trester wesentlich weniger Material verarbeitet werden muss (Trocknung usw.) kann dabei erheblich Energie gespart werden. Allerdings muss das nicht verwendete Material (Häute, Rappen) auf jeden Fall entsorgt werden. Deshalb ist ein Aussieben der Kerne direkt beim Winzer, zum Beispiel mit mobilen Siebanlagen, oder die Rückführung der ungenutzten Reststoffe zum Winzer, sinnvoll. So können diese Stoffe noch einer Verwertung im Weinberg zugeführt werden, wie es sonst mit dem kompletten Trester gemacht wird. Alternativ ist auch eine energetische Verwertung, z.B. als Tresterpellets, denkbar.

Der deutlich höhere Anteil an leicht gewinnbaren Kernen bei Cabernet Sauvignon im Vergleich zum Riesling ist vermutlich auf das Herstellungsverfahren von Rotweinen zurück zu führen. Rieslingtrauben werden gepresst und der ablaufende Most wird anschließend vergoren. Im Gegensatz dazu werden die Trauben der Rotweinsorte Cabernet Sauvignon gepresst, der Most wird jedoch auf dem Trester stehend über einige Tage vergoren. Dabei lösen sich die Kerne von den Traubenhüllen, die danach leichter abgesiebt werden können, weshalb bei Cabernet Sauvignon eine höhere Kernaussbeute als beim Riesling 2010 erzielt wurde. Die sogar noch höhere Kernaussbeute beim Riesling 2011 lässt jedoch auch auf starke Schwankungen der Kernzahl bzw. des –Gewichts zwischen den Jahrgängen schließen. Diese

Größen können kaum beeinflusst werden, Ertragsschwankungen müssen also in den Wirtschaftlichkeits-Berechnungen berücksichtigt werden.

Die geringere Extraktausbeute bei Cabernet Sauvignon ist wohl ebenfalls auf die Maischegärung zurück zu führen. Während dieser Gärung werden auch einige Polyphenole (durch die immer alkoholischer werdende Maische) herausgelöst (und machen z.B. einen Teil der roten Farbe des Weins aus), es werden aber auch Zucker abgebaut und in Alkohol umgewandelt. Aus diesem Grund ist die Extraktausbeute nach Gewicht bei Rotweinträumen geringer.

Da für einen späteren Vertrieb die Lagerfähigkeit bei gleichzeitiger Erhaltung der Effekte eine große Rolle spielt, wurden umfangreiche Untersuchungen zur Haltbarkeit durchgeführt. Die während der Lagerung teilweise leichte Zunahme der Polyphenole ist möglicherweise auf Umwandlungsprozesse der verschiedenen Verbindungen in der alkoholisch/wässrigen Lösung zurück zu führen, die mehr Hydroxylgruppen an den Molekülen zur Konsequenz haben, wodurch höhere Polyphenolgehalte angezeigt werden.

Insgesamt ist sowohl das feste Pulver als auch der flüssige Extrakt über einen Zeitraum von wenigstens 2 Jahren lagerbar, ohne dass ein zu hoher Verlust an Polyphenolen stattfindet. Auch Versuche im Gewächshaus ergaben, dass in diesem Zeitraum nur geringe Veränderungen beim Wirkungsgrad auftraten.

Die Lagerung der Extrakte für eine spätere Verwendbarkeit stellt demnach zumindest für ein bis zwei Jahre kein Problem dar. Dies bedeutet für die spätere Anwendbarkeit, dass beide Darreichungsformen möglich sind und mit einer Haltbarkeit von zwei Jahren angegeben werden können. Das flüssige Extraktkonzentrat ist leicht dosierbar, deshalb wäre diese Version als Verkaufsform gut geeignet, allerdings kann die Konzentration nicht beliebig erhöht werden und sie ist deshalb geringer als beim Pulver. Bei sehr hohen Konzentrationen der flüssigen Lösung wird diese zu zähflüssig und ist nicht mehr gut dosierbar, zudem ändert sich die Viskosität temperaturabhängig, so dass an kalten Tagen die Handhabung unmöglich werden kann. Diese Effekte müssen für eine spätere Verkaufsform in Betracht gezogen werden.

Da bei der Rückstandsanalytik keine synthetischen Pflanzenschutzmittel und keine erhöhten Kupfermengen in den Extrakten nachgewiesen werden konnten, kann davon ausgegangen werden, dass die beobachteten Effekte auf Stoffe aus den Traubenkernen zurückgeführt werden können. Die Kupferkonzentration einer regulär angesetzten Spritzbrühe (Basisaufwand, Cuprozin progress, 0,1%) beträgt 0,25g/l Cu. Die gemessene Kupferkonzentration in der Spritzbrühe bei den Extrakten liegt jedoch unter der Nachweisgrenze der Flammen-AAS von 0,2mg/l Cu, dies sind mehr als drei Größenordnungen weniger. Eine regelmäßige Kontrolle der eingesetzten Extraktchargen, vor allem aus verschiedenen Jahrgängen muss jedoch durchgeführt werden um diese Werte zu

gewährleisten. Die üblichen Gehalte von Kupfer in Pflanzengewebe betragen in der Regel zwischen 2 und 20 mg/kg TS (Scheffer, 1992).

Die Bestimmung der Gesamtpolyphenole hat sich als zuverlässiges Mittel zur Einschätzung der Extrakte bewährt. Allerdings reagiert die Folin-Ciocalteu-Methode unterschiedlich auf verschiedene Polyphenole, die Messung der Gesamtphenole lässt keine Rückschlüsse auf qualitativen Informationen über einzelne Polyphenole zu (Escarpa et al., 2001; Waterman et al., 1994). Zudem ist das Verfahren nicht spezifisch für Polyphenole, sondern reagiert auf alle leicht oxidierbaren Restketten, so dass andere leicht oxidierbare Substanzen (wie manche Zucker) ebenfalls mit erfasst werden.

Die Gesamtphenole können als Leitsubstanzklasse verwendet werden, anhand derer die notwendige Konzentration der Extrakte in der Spritzlösung festgelegt werden. Bei den Versuchen, sowohl im Gewächshaus als auch im Freiland konnte ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Gesamtphenolgehalt der Lösungen und den beobachteten Effekten festgestellt werden. Da die Bestimmung der verschiedenen Catechin- bzw. Proanthocyanidinbestandteile in Extrakten unterschiedlicher Jahre und Herkunft zwar teilweise starke Abweichungen der Zusammensetzung untereinander aufzeigte, die Extrakte jedoch nach Einstellung der Spritzlösung auf den gleichen GAE-Wert vergleichbare Ergebnisse im Gewächshaus bzw. Freiland zeigten, kann davon ausgegangen werden, dass der Gesamtphenolgehalt zur Einschätzung der Extrakte herangezogen werden kann, ohne dass eine genaue Kenntnis der molekularen Zusammensetzung der jeweiligen Extrakte notwendig ist. Da es sich bei den Extrakten um Stoffgemische handelt, deren Inhaltsstoffe abhängig von den Vegetationsbedingungen in unterschiedlichen, wechselnden Zusammensetzungen vorliegen, ist die Nutzung eines solchen Summenparameters eine einfache und ausreichend genaue Methode. Nichts desto trotz sollte noch eine genauere Untersuchung der Zusammensetzung der Extrakte in Zukunft erfolgen.

Die Silierung des Tresters stellte sich als nicht sinnvoll heraus, da sich dieser Vorgang negativ auf die Inhaltsstoffe und Ausbeute auswirkte (siehe Kapitel 5.2). Vermutlich werden durch die bakterielle Tätigkeit während des Silagevorgangs große Teile der enthaltenen Polyphenole abgebaut. Da auch große Teile der farbgebenden Substanzen (Anthocyane, Anthocyanidine usw.) Polyphenole sind, muss davon ausgegangen werden, dass diese durch die bakterielle Tätigkeit zersetzt werden und damit verloren gehen. Auch war die Extrakt-Ausbeute deutlich geringer als bei unsilierten Kernen. Silierung scheint deshalb kein geeignetes Mittel, um den Traubentrester für den geplanten Zweck haltbar zu machen.

Die anderen Lagermethoden (einfrieren, trocknen) waren jedoch gleichermaßen gut geeignet. Da das Gefrieren extrem energieaufwändig ist und man für große Mengen entsprechende Kühlmöglichkeiten vorhalten muss stellt sich diese Variante als unwirtschaftlich dar. Als beste Möglichkeit hat sich die schonende Trocknung bei maximal

60°C (um einen Zerfall der Polyphenole zu vermeiden) herausgestellt, besonders wenn nur die Kerne gelagert werden. Für die Lagerung nach der Trocknung werden keine aufwändigen Geräte bzw. Hallen benötigt, die Kerne sollten lediglich möglichst kühl und trocken, optimaler Weise auch dunkel und luftdicht gelagert werden.

5.2 Extraktion

Der Vergleich zwischen den beiden untersuchten Extraktionsverfahren (Extraktion im Batch-Verfahren in Kolben bzw. Perkolation in einer Säule) ergab eine deutlich bessere Handhabbarkeit des Perkolationsverfahrens, mit ähnlich guten Ausbeuten, jedoch bei geringerem Lösungsmittel- und Arbeitsaufwand (vgl. Dai, 2010, Pospiech, 2008). Da hierbei der Kernschrot ständig mit frischem Lösungsmittel in Kontakt kommt, kann sich kein Gleichgewicht wie im Kolben einstellen. Dadurch findet die Extraktion schneller und vollständiger statt, bei gleichzeitig geringerem Lösungsmittelleinsatz. Ziel der Extraktion ist es, eine möglichst hohe Ausbeute an Polyphenolen bei gleichzeitig möglichst wenigen Störstoffen zu erhalten (Antolovich et al., 2000). Als optimales Lösungsmittel im Hinblick auf Ausbeute, Preis, Unbedenklichkeit und Handhabung stellte sich eine 50%ige Mischung aus Ethanol und Wasser heraus, der Einfluss des Mahlgrades auf die Extraktmengen war dabei vernachlässigbar, feinere Mahlgrade ergaben keine erhöhte Ausbeute. Vermutlich ist selbst der gröbere Mahlgrad bereits fein genug, um eine vollständige Durchnetzung und Extraktion durch das Extraktionsmittelgemisch zu gewährleisten. Es ist jedoch darauf zu achten, dass das Lösungsmittel nicht zu schnell durch den Schrot fließt, um eine optimale Extraktion zu erreichen. In unseren Versuchen stellte sich eine Strömungsgeschwindigkeit von ca. 50 ml/min als guter Kompromiss heraus.

Auf reines Wasser als Extraktionsmittel sollte verzichtet werden, da es für eine starke Quellung der Kerne sorgte, was zu Problemen in der Säule führte. Geschieht dieses Aufquellen erst in der Extraktionssäule, verringert sich das Porenvolumen zwischen dem Schrot und die Mischung wird so dicht, dass ein Durchsickern des Lösungsmittels sehr lange dauert oder sogar unmöglich wird. Zudem ist es später nur mit deutlich höherem Energieaufwand aus den flüssigen Extrakten zu entfernen und es werden viele Eiweißstoffe gelöst, die später beim Rückgewinnen des Lösungsmittels koagulieren und im Anschluss nicht wieder in Lösung zu bringen sind. Reiner Alkohol löste im Gegensatz dazu neben den Polyphenolen auch größere Mengen der Kernöle, die später ebenfalls zu Löslichkeitsproblemen führten. Optimal war deshalb eine Mischung aus je 50% Alkohol und Wasser. Ein Vorquellen des Kernschrots war, besonders bei wasserhaltigen Lösungsmittelgemischen, sinnvoll und vermeidet die oben beschriebenen Probleme.

Ein Verhältnis von 3-4L Extraktionsmittel pro kg Kerne stellte sich als ausreichend heraus. Da das Lösungsmittelgemisch nach der Extraktion zurückgewonnen werden kann, ist

neben einer anfänglichen Investition nur mit geringen Kosten für den Nachkauf dieser Stoffe zu rechnen.

Ein Erwärmen des Lösungsmittels auf ca. 60°C brachte eine deutliche Steigerung der Ausbeute um ca. 57 % (Riesling 2011), erforderte jedoch besondere Vorsichtsmaßnahmen wegen der Verdampfung des Ethanols (Giftigkeit, Brennbarkeit) und bedingt einen erhöhten Energieaufwand. Im industriellen Maßstab kann und sollte dieser Effekt mit entsprechend konzipierten Anlagen produktionssteigernd eingesetzt werden. Durch das Einstellen der Temperatur kann die Selektivität der Extraktion in gewissen Grenzen gesteuert werden (Aguilera et al., 1999; Escribano-Bailon, 2003; Pospiech, 2008). Bei zu hohen Temperaturen können die Polyphenole jedoch oxidieren bzw. werden abgebaut (Dai, 2010; Havlikova, 1985).

Alle Extrakte waren tief dunkelrot gefärbt, außer der Extrakt aus silierten Kernen, dieser war hellgelb und besaß einen säuerlichen Geruch, erst in hoher Konzentration war er ebenfalls dunkelrot. Dies ist vermutlich auf die oben beschriebene Zersetzung der Inhaltsstoffe während der Silierung zurück zu führen. Dies korreliert auch mit den Ergebnissen aus den Gewächshausversuchen, in denen die Extrakte aus siliertem Trester deutlich geringere Effekte zeigten, die sich erst bei stark erhöhter GAE-Konzentration verbesserten. Für eine zukünftige Extrakt-Produktion wurden die folgenden Parameter als optimal festgestellt:

- Lösungsmittel-Mischung aus 50% Ethanol/Wasser
- Nur Kerne verwenden, um möglichst wenig Zucker/Säuren zu extrahieren
- Schroten/Aufbrechen der Kerne, um eine bessere Extraktion zu erreichen
- Vorquellen des Kernschrots für ca. 30 min
- Einsatz von ca. 3-4L Lösungsmittel pro kg Kerne, Geschwindigkeit ca. 50ml /min
- Einsetzen des Perkulationsverfahrens, da vollständigere, schnellere Extraktion
- Erwärmen des Lösungsmittels auf max. 60°C

5.3 Formulierungen

5.3.1 Flüssige Formulierungen

Zunächst wurde versucht, mit dem Fremdextrakt (CT) EC-Formulierungen oder SC-Formulierungen (SC = Suspension concentrate) herzustellen. Diese Formulierungsformen sind einfach in der Handhabung und ermöglichen den Zusatz flüssiger UV-Stabilisatoren. Insgesamt wurden fünf verschiedene EC- und eine SC-Formulierungen entwickelt. Es zeigte sich aber, dass vor allem bei den EC-Formulierungen sehr hohe Mengen an Lösungsmittel notwendig waren, da die Formulierungen zwar anfangs noch fließfähig, nach ein paar Tagen

jedoch hochviskos wurden. Außerdem neigte der Extrakt zu Ausflockungen, so dass die Formulierungen nach einigen Tagen nicht mehr verwendet werden konnten. Da die Aufwandmengen bei Zugabe von größeren Mengen an Formulierungshilfsstoffen bzw. Lösungsmittel sehr hoch und dadurch wirtschaftlich nicht mehr attraktiv waren, wurde der Ansatz der Entwicklung von flüssigen Formulierungen nicht weiter verfolgt.

5.3.2 Feste Formulierungen

Zunächst wurden 13 verschiedene WP-Formulierungen mit unterschiedlichen Zusatzstoffen zur Verbesserung der Blattbenetzung, zur Reduktion von Blattflecken und zur Erhöhung des UV-Schutzes entwickelt. Hierbei zeigte sich, dass viele der Formulierungen sehr schöne Spritzbrühen ergeben und auch die Entstehung von Blattflecken deutlich reduziert werden konnte. Eine Validierung zur Verbesserung der UV-Stabilität *ad planta* konnte nicht mehr durchgeführt werden. Da WP-Formulierungen aus sehr feinen, lungengängigen Stäuben bestehen, wird dieser Formulierungstyp in der EU möglichst umgangen. Daher wurden aus den WP-Formulierungen durch Zusatz geeigneter Füllstoffe, Netz- und Dispergiermittel WDG- und SG-Formulierungen hergestellt. Insgesamt wurden vier WDG- und sechs SG-Formulierungen mit teilweise sehr guten Eigenschaften entwickelt. Die RLP-AgroScience hatte zu diesem Zeitpunkt bereits die Anmeldung als Pflanzenstärkungsmittel geplant. Deshalb wurden die Testformulierungen ab CT-024 nicht mehr an Pflanzen getestet, da bei Pflanzenstärkungsmitteln keine Formulierungshilfsstoffe zugesetzt sein dürfen.

5.4 Gewächshausversuche

Die Sorte Müller-Thurgau wurde aufgrund deren relativ hoher Empfindlichkeit gegen den Falschen Mehltau ausgewählt. Nach Studien von Jürges & Kassemeyer (2009) und Agrios (2005) gilt diese als besonders anfällig gegenüber dem Erreger des Falschen Mehltaus. Dies ist insofern interessant, als diese Sorte hinter der Rebsorte Riesling (Rebfläche: 22636 ha) in der Bundesrepublik Deutschland im Jahr 2011 die zweitgrößte mit Weißweinrebsorten bestockte Rebfläche (13374 ha) ausmachte (Statistisches Bundesamt, 2012).

Bemerkenswert sind die hohen Wirkungsgrade des gekauften Fremdextrakts. Es handelt sich dabei um ein Produkt, welches vorwiegend als Nahrungsergänzungsmittel bzw. als Zusatz zu Kosmetika vertrieben wird. Laut Hersteller wird der Rohextrakt mittels Säulenchromatographie von Verunreinigungen wie Zucker, Säuren und anderen unerwünschten Begleitstoffen befreit und hat einen Polyphenolgehalt von 95%. Es wurden Produkte verschiedener Hersteller getestet, die jedoch nicht alle gleich gut abschnitten. Wahrscheinlich lassen sich die guten Ergebnisse auf die hohe Reinheit zurückführen. Dabei scheint dieses Reinigungsverfahren zu besseren Ergebnissen zu führen, als das im Projekt

untersuchte. Es ist zu prüfen, ob es zumindest zu Beginn ökonomisch günstiger ist, solchen Fremdextrakt zu kaufen und erst bei entsprechender Nachfrage in die Extraktproduktion (mit den entsprechenden Kosten für Material und Geräte) ein zu steigen bzw. sich einen Partner zu suchen, der die Produktion übernimmt. Selbstverständlich muss der zugekaufte Extrakt einer genauen Rückstandsanalytik unterzogen werden.

Besonders fallen die sehr hohen Wirkungsgrade von Netzschwefel und Mischungen mit diesem auf. Netzschwefel wird normalerweise gegen den Echten Mehltau (*Erysiphe necator*) eingesetzt und hat im Freiland eigentlich keine bedeutende Wirkung gegen den Falschen Mehltau. Der Wirkmechanismus beruht auf der Bildung von Schwefeldioxid in geringer Menge aus dem elementaren Schwefel bei Kontakt mit Wasser. Das gebildete Schwefeldioxid wirkt abtötend auf die Pilze. Im Freien reichen die gebildeten Mengen Schwefeldioxid offensichtlich nicht aus, um den Falschen Mehltau abzutöten. Da im Gewächshaus nach der Applikation der Sporenlösung die Reben über Nacht in Plastikbeutel luftdicht eingepackt werden, wäre es möglich, dass sich durch den fehlenden Luftaustausch Schwefeldioxidkonzentrationen bilden, die hoch genug sind, um auch die Sporen und Hyphen des Falschen Mehltaus abzutöten.

Einen sehr positiven Einfluss auf den Wirkungsgrad hat das Netz/Haftmittel, aber auch Salicylsäure, welche als Resistenzinduktor zugesetzt wurde. Beide Mittel haben bereits als alleiniger Wirkstoff einen bemerkenswerten Wirkungsgrad. Zu beachten ist dabei jedoch, dass beide Stoffe nicht in zu hohen Konzentrationen eingesetzt werden. Salicylsäure verursachte in Konzentrationen über 0,1g/L starke Blattschäden, das Netzmittel förderte bei Konzentrationen über 0,2% die Verklumpung der Extrakte, was die Ausbringung stark erschwerte.

Als effektive Stoffmenge hat sich im Gewächshaus eine Konzentration von wenigstens 1g/L Gallussäureäquivalenten (GAE) als sinnvoll erwiesen. Niedrigere Konzentrationen von 0,1, 0,25 oder 0,5g/L zeigen unzureichende Wirkungsgrade, die jedoch im Falle der 0,5g/L möglicherweise mit Zusatzstoffen noch verbessert werden können. Konzentrationen kleiner 0,5g/L sind als unzureichend anzusehen.

Die hohen Wirkungsgrade der Extrakte sind nicht automatisch auf einen pflanzenschützenden oder vergleichbaren Wirkmechanismus wie z.B. bei den synthetischen Mitteln zurückzuführen. Sie zeigen nur an, dass durch einen Vorgang die Zahl der Infektionen bei behandelten Reben niedriger war, als ohne Behandlung. Im Vorgängerprojekt (Pro Inno KF 0135207MD7) konnte gezeigt werden, dass die Extrakte keinen reproduzierbar hemmenden Effekt auf in Flüssigmedium kultivierte Schadpilze haben. Teilweise wurde das Wachstum durch Zugabe der Extrakte in das Nährmedium sogar noch deutlich angeregt. Ähnliches konnte auch Laufenberg (2003) bei der Untersuchung von polyphenolhaltigen Oliventresterextrakten feststellen. Die beobachteten Effekte gehen also vermutlich auf einen

anderen Mechanismus zurück (vgl. Bonanomi et al., 2006). Dies lässt vermuten, dass die im Extrakt enthaltenen Stoffe keinen direkt den Pilz hemmenden/abtötenden Effekt haben und demnach nicht von einem Schutz der Reben (im Sinne eines Pflanzenschutzmittels) die Rede sein kann. Da eine Erniedrigung der Infektionen nur bei Einbeziehung der lebenden Pflanze ins Testsystem festgestellt werden kann, gehen wir davon aus, dass die „Abwehr“ der Infektionen über eine durch die Inhaltsstoffe der Extrakte hervorgerufene allgemeine Stärkung der Reben stattfindet (vgl. Del Rio et al., 2003) und die Pflanzen einen substantiellen Faktor für den Wirkmechanismus darstellen (vgl. Randhir & Shetty, 2003). Demnach wurde die Traubenkernextrakte als Pflanzenstärkungsmittel eingestuft.

Als eine mögliche Ursache für die schwankenden Effekte des Fremdextrakts pur oder in Verbindung mit Netzschwefel an den Tomatenpflanzen kann eine ungleichmäßige Verteilung bzw. Benetzung der behandelten Blattflächen angenommen werden. Deshalb wurden der Fremdextrakt durch Zugabe weiterer Netzmittel, Spreiter und UV-Stabilisatoren formuliert. Anhand der durchgeführten Versuche ist jedoch noch keine gesicherte Aussage darüber möglich, ob die Konstanz der beobachteten Effekte der Extrakt-Formulierungen durch die Zugabe der einzelnen Additive reproduzierbar stabiler ist, als bei der Anwendung des puren Fremdextrakts.

5.5 Freilandversuche

Trotz der im Freien deutlich veränderten Bedingungen für die Extrakte (z.B. Regen, Wind, UV-Strahlung) konnten die Ergebnisse der Gewächshausversuche im Wesentlichen bestätigt werden. Bei Extraktkonzentrationen von 1g/l (bei Fremdextrakt) bzw. 1,5g/l (Eigenextrakt) konnten ausreichende pflanzenstärkende Effekte bei den Reben beobachtet werden. Netzschwefel bot im Freiland keinen Schutz mehr, wie er im Gewächshaus beobachtet werden konnte. Dies kann als Bestätigung der oben genannten Theorie zur Konzentrationserhöhung des Schwefeldioxids unter den Plastikbeuteln angesehen werden.

Auch der Zusatz von Cocana als Netzmittel erbrachte eine merkliche Verbesserung. Sie, oder ein ähnliches, für den ökologischen Landbau zugelassenes Netzmittel, sollte deshalb bei der Nutzung des Extrakts als Zusatz in Erwägung gezogen werden.

2012 bestand durch das sehr regnerische Frühjahr mit lang anhaltender Blattfeuchte ein hoher Infektionsdruck. Trotzdem wiesen die mit Extrakt behandelten Reben im Frühjahr nur sehr wenige, und dann nur Blattinfektionen auf. Gescheinsinfektionen traten nur einige wenige auf. Allerdings muss der später im Jahr auftretende starke Anstieg der Blattinfektionen noch besser in den Griff bekommen werden (Siehe Kapitel 7). Durch die infolge dessen stark geschädigte Laubwand lagen die Mostgewichte mit 80-85° Oechsle deutlich niedriger, als gewünscht.

Nach übereinstimmenden Aussagen verschiedener Winzer war das Jahr 2013 durch extremen Befall mit verschiedenen Pilzen, neben *Plasmopara viticola* auch *Botrytis cinerea* und Schimmel, geprägt. Sogar benachbarte, konventionell behandelte Flächen anderer Winzer zeigen ebenfalls starke Infektionsherde. Unter diesen Gesichtspunkten ist es umso bemerkenswerter, dass auch in diesem Jahr die Extrakte ähnlich gute Ergebnisse erbachten, wie das mitgetestete Vergleichsmittel auf Kupferbasis. Dies ist sicherlich auch der Erhöhung der Spritzungen von zehn auf 13 zu verdanken. Eine alleinige Orientierung am Spritzzyklus für Kupferpräparate wird offensichtlich der „Wirkungsweise“ der Extrakte nicht vollkommen gerecht.

Die 2012 und 2013 unerwartet niedrigen Wirkungsgrade der Kupferprodukte lassen jedoch auch auf ein Problem mit der Applikation der Spritzbrühe schließen. Unter normalen Bedingungen erreichen Kupfermittel Wirkungsgrade von wenigstens 80-90%. Die massiv niedrigere Wirkung bei Ausbringung in Handspritzen ist deshalb wahrscheinlich auf eine unzureichende Benetzung der Blätter beim gewählten Applikationsverfahren zurück zu führen. Beim Ausbringen der Spritzbrühe konnte oft festgestellt werden, dass durch Wind, dichte Laubwand und ungünstige Düseneinstellungen die Blattflächen nicht optimal gleichmäßig benetzt wurden. Besonders herausstehende Ranken (z.B. an der Oberseite der Laubwand) konnten so oftmals nicht optimal benetzt werden. Hier lagen dann bei der späteren Bonitur auch die stärksten Infektionsherde. Meist war die untere Hälfte des Laubs auch noch gegen Ende der Vegetationsperiode nur schwach befallen, während im oberen Bereich, wo der Zuwachs noch jung war, massive Infektionen vorlagen. Da diese Probleme in gleichem Maße für die Extrakte und die Kupferpräparate zugetroffen haben, ist bei einer besseren Applikationstechnik auch mit besseren Ergebnissen für beide Stoffe zu rechnen. Auch deshalb waren die Freilandversuche 2014 unter realistischen Bedingungen wichtig.

In den Versuchen sollte auch getestet werden, ob mit einer Zumischung verringerter Kupfermengen ein zusätzlicher Schutz erreicht werden kann. Es sollten dabei nach Möglichkeit die positiven Eigenschaften der Extrakte (Stärkung der Pflanzenkonstitution zur besseren Abwehr von Infektionen) und von Kupfer (Schutz durch Abtöten der Pilzsporen) kombiniert werden (Synergieeffekte).

Die Zumischung von 10% der üblichen Kupfermenge (2012) brachte keinen zusätzlichen Effekt der über den der Extrakte alleine hinaus ging. Der Zusatz von 80% der üblichen Kupfermenge erbrachte jedoch ebenso geringe Infektionszahlen, wie sie bei 100% Kupfer gefunden werden konnten. Das Konzept ist demnach aussichtsreich und es sollte in einem Folgeprojekt weiter untersucht werden, wie weit die Kupfermenge bei gleichbleibend guten Ergebnissen reduziert werden kann. Es sind mehrere Szenarien denkbar, z.B. die kontinuierliche Zugabe reduzierter Kupfermengen über die gesamte Vegetationsperiode, oder die Spritzung reiner Extrakte zu Beginn des Jahres und das Umsteigen auf reines Kupfer bei

zu erwartendem Anstieg des Infektionsdrucks (siehe auch Kapitel 7). Beide Szenarien versprechen, wenn auch keinen kompletten Verzicht, so doch eine deutliche Reduktion der ausgebrachten Kupfermenge.

Die Ergebnisse der Freilandversuche mit Extrakt waren so vielversprechend, dass die 2014 am Projekt teilnehmenden Winzer den Einsatz des Extrakts im Folgejahr, zumindest auf Teilen ihrer Fläche, einplanen.

Der im Rahmen der üblichen Spritzmittelprüfungen durch die künstlich optimalen Sporulations- und Infektionsbedingungen, die immer genau nach Ablauf der Inkubationszeit hergestellt wurden, durchgeführte Freilandversuch, scheint für die Prüfung eines Pflanzenstärkungsmittels ungeeignet. Zudem wurde auch wesentlich seltener Extrakt appliziert (sieben- statt wenigstens zehnmal). Unter diesen extremen Bedingungen konnte sogar mit dem synthetischen Mittel Folpan 80 WDG nur ein Wirkungsgrad von 65% erzielt werden, üblich sind damit Wirkungsgrade von deutlich über 90%. Den auf die Prüfung synthetischer Mittel ausgelegten Versuchsbedingungen sind die Traubenkernextrakte nicht gewachsen. Zwar sollen auch Pflanzenstärkungsmittel eine Reduktion der Infektionszahlen erreichen, bedingt durch den völlig anderen Mechanismus müssen dazu jedoch die Applikationsbedingungen entsprechend den Erfordernissen des Stärkungsmittels angepasst werden. Dies sind vor allem rechtzeitige und ausreichend häufige Spritzungen.

In Bezug auf die Nutzung der Extrakte beim System Tomate/*Phytophthora infestans* können folgende Schlussfolgerungen gezogen werden:

Die vorhandenen Effekte von Fremdextrakten zur Eindämmung von *P. infestans* an Tomaten scheint sich durch die Zugabe von Emulgatoren, die eine bessere Verteilung auf den Pflanzen bewirken, erhöhen zu lassen. Eine stabile und verlässliche Reproduktion dieser Effekte konnte aber bis zum Projektende nicht gezeigt werden. Ein Einsatz im Gemüsebau ist fraglich, da hier das Problem der Spritzfleckbildung auf den Früchten besteht. Diese Fleckenbildung konnte zwar auch bei den Weinreben beobachtet werden, dort ist sie jedoch nicht problematisch, da die Trauben nicht in den Direktverkauf gelangen. Möglicherweise ist den Flecken durch eine Waschung der behandelten Früchte (Tomaten) relativ einfach bei zu kommen, inwieweit diese praktikabel ist, ist allerdings fraglich.

6 Angaben zum Nutzen und der Verwertbarkeit der Ergebnisse

Im Projekt konnte gezeigt werden, dass Traubenkernextrakte einen Effekt auf die Infektionsstärke damit eingesprühter Reben haben. Die Verbindung der Ergebnisse des Vorgängerprojekts (keine eindeutige, reproduzierbare Wirkung der Extrakte auf verschiedene Phytopathogene *in vitro*) und des aktuellen Projekts (verringerte Infektion mit *P. viticola* nach Besprühen der Pflanzen) lässt darauf schließen, dass die Pflanze als zentraler Bestandteil für den beobachteten Effekt notwendig ist. Diese scheint durch die applizierten Extrakte und die darin enthaltenen Verbindungen gestärkt und so widerstandsfähiger gegen Schadorganismen zu werden. Auch die hierzu notwendigen Konzentrationen, Spritzfolgen und die Lagerbarkeit der Ausgangsmaterialien konnten erforscht werden. Nach den Projektergebnissen geht RLP AgroScience davon aus, dass es sich bei Traubenkernextrakt um ein Pflanzenstärkungsmittel handelt.

Im Projekt wurden demnach praxisrelevante Ergebnisse erzielt, die im Weinbau, insbesondere im ökologischen Weinbau eingesetzt werden können. Bei Tomaten gegen den Erreger der Kraut- und Knollenfäule (*Phytophthora infestans*) konnten teilweise mit Zusatzstoffen, gute Ergebnisse erzielt werden, so dass ein Einsatz des Mittels bei dieser Kultur, nach weiterer Optimierung möglich scheint. Inwieweit die Ergebnisse auch für andere Kulturen nutzbar sind, muss sich in Zukunft zeigen und sollte weiter untersucht werden.

Auch im konventionellen und integrierten Weinbau hat Kupfer trotz des Gebrauchs von chemisch-synthetischen Pflanzenschutzmitteln aus Gründen des Resistenzmanagements eine wesentliche Bedeutung in der Abschlussspritzung (Scholl & Enkelmann 1984; Wohlfarth, 1995). Deshalb ist auch dort eine Nutzung des neuen Mittels zur Kupferreduktion sinnvoll.

Aus den oben genannten Gründen (Fleckenbildung, noch keine reproduzierbaren Ergebnisse bei Tomaten), ist die Verwertung des Fremdextrakts für Trifolio-M derzeit nicht interessant, da die Firmenphilosophie von Trifolio-M ist nur sicher wirksame biologische (Pflanzenschutz)-Mittel im Portfolio zulässt. Dies trifft für die Anwendung des Traubenkernextraktes an Tomate gegen *P. infestans* bzw. *B. cinerea* nicht zu.

Da die Fremdextrakte die besseren Ergebnisse zeigten, ist der Zukauf der Extrakte derzeit der sinnvollere Weg gegenüber der Eigenproduktion. Allerdings sollte, um sich unabhängig von dieser Zulieferung zu machen und die regionalen Ressourcen im Sinne einer umweltfreundlichen und ökologisch sinnvollen Nutzung zu verwerten, das komplette Processing (Extraktion, Qualitätssicherung, Reinigung) bei einem deutschen Anbieter erarbeitet werden bzw. dieser mit der Herstellung beauftragt werden.

Die Ergebnisse des Projekts wurden deshalb von der RLP AgroScience genutzt, um ein neues Pflanzenstärkungsmittel, VitoVin-Pflanzenstärkung, zu entwickeln. Dieses Mittel wurde bei der Bundesanstalt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) in die

Liste der Pflanzenstärkungsmittel aufgenommen und wird Anfang 2015 auf den Markt kommen. Es kann den Winzern dabei helfen, ihren Kupferverbrauch zu reduzieren, indem das Mittel ergänzend zur herkömmlichen Kupferspritzung eingesetzt wird. Bei Gesprächen mit am Projekt teilnehmenden Winzern konnte eine positive Einstellung dem neuen Mittel gegenüber festgestellt werden, sowie die Bereitschaft der Winzer, VitoVin-Pflanzenstärkung als Teil ihrer Strategie zur Pflanzengesundheit aufzunehmen. Eine Anwendung in anderen Bereichen der ökologischen Landwirtschaft ist nach den Versuchsergebnissen ebenfalls möglich, es muss jedoch in Einzelfall abgewogen werden, inwieweit die genannten Einschränkungen die Einsparung von Kupfermitteln aufwiegen.

7 Gegenüberstellung der geplanten und erreichten Ziele

Das Hauptziel des Projekts war die Erforschung von Traubentresterinhaltsstoffen in Bezug auf die Möglichkeiten zur Kontrolle pilzlicher Krankheitserreger im ökologischen Landbau, speziell des Falschen Mehltaus (*Plasmopara viticola*) im ökologischen Weinbau und dem Erreger der Kraut- und Braunfäule an Tomaten (*Phytophthora infestans*) und die daraus resultierenden Optionen zur Reduktion der dort ausgebrachten Kupfermengen. Mit den Ergebnissen sollte ein praxistaugliches Mittel entwickelt werden, welches einfach und unproblematisch einzusetzen ist und mit dem es möglich ist, den Befall mit Falschem Mehltau gering zu halten bei gleichzeitigem Verzicht auf, oder zumindest der Reduktion kupferhaltiger Pflanzenschutzpräparate.

Nach Erprobung einer Vielzahl verschiedener Extraktionsvarianten und der Testung der daraus resultierenden Extrakte in unterschiedlicher Konzentration, als Gemische mit anderen Produkten und/oder Formulierungshilfsstoffen sowie mit verschiedenen Spritzintervallen konnte ein pflanzenstärkendes Mittel entwickelt werden, das diese Anforderungen erfüllt. Das Mittel VitoVin-Pflanzenstärkung wurde beim Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit als Pflanzenstärkungsmittel angemeldet und ist die entsprechende Liste aufgenommen. Es ist ab Mitte März 2015 im Handel erhältlich. Somit ist das Hauptziel des Projekts erfüllt und ein neues Mittel – nicht als Pflanzenschutzmittel sondern als Pflanzenstärkungsmittel eingeordnet - zur Eindämmung von *P. viticola* bei möglichst verringertem Kupfereinsatz für den ökologischen Weinbau entwickelt und für den Praxiseinsatz auf den Markt gebracht worden. Die Anwendbarkeit im Tomatenanbau oder weiteren Kulturen im ökologischen Landbau muss noch weiter untersucht werden.

Die Nebenziele, die zum Erreichen des Hauptziels notwendig waren (Tresteraufbereitung, Lagerung, Extraktion, Inhaltsstoffanalytik und Test der Extrakte im Zuge von Gewächshaus- und Semi-/Freilandversuchen) wurden ebenfalls erfüllt.

Weitergehende Fragestellungen ergaben sich im Projekt hauptsächlich zur optimalen Anwendung (Spritzhäufigkeit bzw. -Abstand) und der Zumischung von bzw. dem Wechsel zu kupferhaltigen Präparaten gegen Ende der Vegetationsperiode. Diese Fragen, die den Effekt des neu entwickelten Produkts weiter verbessern helfen können, sollten in einem weiterführenden Projekt untersucht werden. Um ein umfassenderes Bild des Potentials in ganz Deutschland zu erhalten, sollten in diesem Nachfolgeprojekt alle größeren Weinbauregionen Deutschlands einbezogen werden, da sich der natürliche Infektionsdruck zwischen den Regionen teilweise deutlich unterscheidet.

Besonders die Zumischung von Kupferpräparaten in geringer Menge zur Steigerung der Effizienz (Kombination Pflanzenstärkung/Pflanzenschutz) sollte untersucht werden. Hierzu

wären zwei Varianten von besonderem Interesse: Die kontinuierliche Zumischung eines Kupferpräparates über die komplette Vegetationsperiode in deutlich verringerter Menge (z.B. 30-50%) bzw. Spritzungen zunächst mit reinem Extrakt und Umschwenken auf ein reines Kupferpräparat in voller Menge bei Erreichen eines kritischen Infektionsdrucks. Beide Varianten erlauben eine deutliche Reduktion der ausgebrachten Kupfermenge im Vergleich zum regulären Einsatz, bei vermutlich gleichzeitig verringerter Infektionsstärke verglichen zum reinen Extrakt. Zudem sollte auch nochmals reiner Extrakt, eventuell auch verschiedener Hersteller, in den verschiedenen Weinbauregionen untersucht werden.

8 Zusammenfassung

Der Falsche Mehltau der Rebe (*Plasmopara viticola*) stellt einen der wichtigsten Pathogene im Weinbau dar. Die Bekämpfung dieses Erregers spielt daher eine große Rolle, sowohl im konventionellen, als auch im ökologischen Weinbau. Auch im ökologischen Landbau allgemein werden Kupferpräparate zur Bekämpfung verschiedener weiterer Schaderreger wie die Kraut- und Braunfäule (*Phytophthora infestans*) eingesetzt. Ökologisch wirtschaftende Betriebe sind also bei der Pilzbekämpfung auf den Einsatz von Kupfer angewiesen. Gegen den Einsatz von Kupfer sprechen jedoch sein Anreicherungspotential im Boden und die negative Auswirkung auf die Umwelt. Die Suche nach Alternativen hat demnach eine große ökologische und wirtschaftliche Bedeutung. In den vergangenen Jahren gab es bereits einige Projekte, die eine Reduktion oder gar den Ersatz von Kupfer durch die Entwicklung von wirkungssicheren biologischen Fungiziden zum Ziel hatten oder alternativ die natürlichen Widerstandskräfte der Pflanzen gegen Pilzinfektionen zu unterstützen und zu stärken. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass der Einsatz von Kupfer durch Kombination verschiedener Präparate und Anwendungstechniken verringert werden kann. Ein Verzicht auf Kupfer in der Praxis ist bisher jedoch noch nicht möglich.

Als vielversprechende Inhaltsstoffe verschiedener organischer Reststoffe wurden polyphenolische Verbindungen identifiziert. Polyphenole sind vielfach als Substanzen beschrieben, die in der natürlichen Resistenz von Pflanzen gegen Krankheitserreger eine wichtige Rolle spielen. Im vorliegenden Projekt sollte deshalb die Möglichkeit untersucht werden, ob die Applikation polyphenolhaltiger Extrakte die behandelten Pflanzen vor dem Angriff von Pathogenen schützen kann. Der Schwerpunkt der Untersuchungen lag dabei auf dem Falschen Mehltau der Weinrebe und dem Erreger der Kraut- und Braunfäule an Tomate.

Es wurden zunächst verschiedene Traubentrester als Ausgangsmaterial untersucht und Versuche zur Lagerung, Extrahierbarkeit/Extrahiertchnik, Lagerfähigkeit der Extrakte, Bestimmung der Inhaltsstoffe, Formulierbarkeit und eventuell vorhandenen Rückständen durchgeführt. Die hergestellten Extrakte wurden mit weiteren, zugekauften Traubenkernextrakten, im Gewächshaus an getopften Reben bzw. Tomaten nach künstlicher Infektion auf mögliche Effekte bezüglich der Infektionsstärke der jeweiligen Erreger untersucht. Dabei konnte bei einigen Extrakten/Mischungen/Formulierungen ein deutlicher Effekt beobachtet werden, so dass damit behandelte Pflanzen eine geringere Infektionsstärke aufwiesen.

Diese, und weitere, neue Mischungen wurden daraufhin in (Semi)Freilandversuchen weitergehend untersucht. Hierbei wurden die Extraktgemische auf reguläre Rebflächen bzw. angepflanzte Tomaten gesprüht und in regelmäßigen Abständen die Infektionsstärke des

entsprechenden Schaderregers bonitiert. Bei den Rebversuchen kristallisierten sich dabei einige Extraktmischungen heraus, bei denen die Pflanzen deutlich schwächer infiziert waren, als bei den Kontrollen. Teilweise reichte der Wirkungsgrad an den des mitgetesteten Kupferpräparates heran. Auch bei den Tomatenpflanzen konnten teilweise deutliche positive Effekte beobachtet werden, allerdings schwankten die Ergebnisse der verschiedenen Versuchsreihen. Auch bei den Rebversuchen konnte festgestellt werden, dass zu Beginn der Vegetationsperiode bei den mit Extrakt eingesprühten Pflanzen nur sehr wenige Blatinfektionen (und keine Gescheinsinfektionen) beobachtet werden konnten. Erst bei massivem Anstieg des Befallsdrucks ab Anfang/Mitte Juli stiegen die Infektionen (Blatt) stark an. Die positiven Effekte der Extrakte scheinen zu diesem Zeitpunkt nicht mehr auszureichen.

Nach Versuchen eines Vorgängerprojekts in Verbindung mit den aktuell durchgeführten Tests am System Pflanze geht RLP AgroScience bei den Traubenextrakten von einem pflanzenstärkenden, keinem pflanzenschützenden Mechanismus aus.

Der Zusatz kupferhaltiger Präparate in deutlich reduzierter Menge oder eine zeitliche Abfolge von Traubenkernextrakten und Kupfermitteln kann die Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit bei der Kontrolle von Schaderregern bei gleichzeitiger Minimierung der Kupferausbringung bewirken.

Aufgrund der guten Ergebnisse im vorliegenden Projekt wurden Traubenkernextrakte von der RLP AgroScience als Pflanzenstärkungsmittel „VitoVin-Pflanzenstärkung“ beim Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit registriert. Das Mittel ist ab Frühjahr 2015 bis auf weiteres bei der RLP AgroScience erhältlich.

9 Literaturverzeichnis

- Agrios, G. N., Ed.(2005): Plant Pathology. Academic Press. San Diego, USA.
- Aguilera, José Miguel; Stanley, David W. (1999): Microstructural principles of food processing and engineering. 2. Aufl. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers
- Antolovich, Michael; Prenzler, Paul; Robards, Kevin; Ryan, Danielle (2000): Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. In: Analyst 125 (5), S. 989-1009.
- Athai, J. (2013): Bewertung des fungiziden Potentials von natürlichen Polyphenolen aus Oliventresterextrakten gegen Pathogene des Obst- und Weinbaus
- Baydar N. G., Ozkan G. & Cetin S. 2007. Characterization of grape seed and pomace oil extracts. Grasas Y Aceites 58 (1). 58. 29–33.
- Baydar N. G., Özkan G. & Sagdiç O. 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. Food Control. 5. 15. 335–339.
- Berkelmann-Loehnertz B. 2003. Kupferersatz im ökologischen Weinbau: Entwicklung und Anwendung neuer Formulierungs- und Produktionstechnologien für den praxisgerechten Einsatz bakterieller Antagonisten.
- Bisboaca S. & Purcarea C. 2008. Determination of antioxidant activity of the phenolic compounds from grape pomace. Ecotoxicology, Zoothenie Si Tehnologii de Industrie Alimentara. 8.
- Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccella N. & Saija A. 1999. On the In-vitro Antimicrobial Activity of Oleuropein and Hydroxytyrosol. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 51. 971–974.
- Bonanomi, G.; Giorgi, V.; Del Sorbo, G.; Neri, D.; Scala, F. (2006): Olive mill residues affect saprophytic growth and disease incidence of foliar and soilborne plant fungal pathogens. In: Agriculture, Ecosystems & Environment 115 (1-4), S. 194-200.
- Carabet A., Grozea I., Stef R. & Virteiu A. M. 2007. The Control Potential of some Plant Extracts against Downy Mildew in Tomato.
- Claus, P. (1979): 90 Jahre Kupferanwendung im Weinbau und immer noch Erkenntnislücken? Weinberg & Keller 26 (5): 142–172, 192–218.

Corrales Moreno M. 2008. Optimal Extraction and technological Revalorisation of bioactive Polyphenols from Grape Pomace. Universität Karlsruhe. Karlsruhe.

Dai, Jin; Mumper, Russell J. (2010): Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. In: *Molecules* 15 (10), S. 7313-7352.

Del Río, J. A.; Báidez, A. G.; Botía, J. M.; Ortuño, A. (2003): Enhancement of phenolic compounds in olive plants (*Olea europaea* L.) and their influence on resistance against *Phytophthora* sp. In: *Food Chemistry* 83 (1), S. 75-78.

Escarpa, A.; Gonzalez, M. C. (2001): Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. In: *Anal.Chim. Acta*, 427, S. 119-127.

Escribano-Bailón, M.T., Santos-Buelga, C. (2003): Polyphenol extraction from foods. In: Santos-Buelga, C., Williamson, G. (Eds.), *Methods in Polyphenols Analysis*. RSC, Cambridge, UK, pp. 2–16.

Ferrari D., Bassignana E. & Pensabene G. 2000. Efficacy Evaluation of Different Low-rate Copper Formulations and Acupric Compounds Against Grapevine Downy Mildew (*Plasmopara viticola*) in Piedmont (North-western Italy) During the Period 1994-1999. In: Willer H.; Meier U. 2000. *Proceedings 6th International Congress on Organic Viticulture*. Stiftung Oekologie und Landbau - Bad Duerkheim.

Friedman M. 2007. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular Nutrition & Food Research*. 51. 116–134.

Friedman M. 2007. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular Nutrition & Food Research*. 51. 116–134.

Garnweidner L. 2006. Vergleich gesundheitsrelevanter Inhaltsstoffe von biologisch und konventionell hergestellten Apfelsäften. Diplomarbeit. Universität Wien. Wien.

Havlíková, Ludmila; Míková, Kamila (1985): Heat Stability of Anthocyanins. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 181 (5), S. 427-432.

Heibertshausen D., Baus-Reichel O., Hofmann U., Kogel K. H. & Berkelmann-Lorenz B. 2007. Using Copper in Organic Viticulture: Doing it best with less?

Hirasawa M. & Takada K. 2004. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 53. 225–229.

Hirasawa M. & Takada K. 2004. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 53. 225–229.

Hofmann U. 2000. Kupferminimierung und Einsatz von Tonerden zur Peronosporabekämpfung im ökologischen Weinbau. In: Willer H.; Meier U. 2000. *Proceedings 6th International Congress on Organic Viticulture*. Stiftung Oekologie und Landbau - Bad Duerkheim.

<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/Wirtschaftsbereiche/LandForstwirtschaft/Weinwirtschaft/Tabellen/Rebflaeche.html> (11.10.2012)

Jermini M., Gessler C., Blaise Ph. (1997): Preliminary Investigations on the Impact of *Plasmopara viticola* on Yield Quantity and Quality of *Vitis vinifera*. *Vitic. Enol. Sci.* 52 (3): S. 154-155

Jürges, G.; Kassemeyer, H.-H; Dürrenberger, M.; Düggelin, M.; Nick, P. (2009): The mode of interaction between *Vitis* and *Plasmopara viticola* Berk. & Curt. Ex de Bary depends on the host species. In: *Plant Biology* 11 (6), S. 886–898.

Kammerer D., Claus A., Carle R. & Schieber A. 2004. Polyphenol Screening of Pomace from Red and White Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 14. 52. 4360–4367.

Kast W. K. 2000a. Investigations on the Effect of Extremely Low Copper Doses and Different Copper Formulations. In: Willer H.; Meier U. 2000. *Proceedings 6th International Congress on Organic Viticulture*. Stiftung Oekologie und Landbau - Bad Duerkheim.

Kast W. K. 2000b. Salicylic and Phosphorous Acid – Possible Alternative of Copper? In: Willer H.; Meier U. 2000. *Proceedings 6th International Congress on Organic Viticulture*. Stiftung Oekologie und Landbau - Bad Duerkheim.

Kirasch J., Galgoczy L., Papp T. & Vagvoelgyi C. 2009. Antimicrobial and antioxidant potential of waste products after juice pressing. *Journal of Engineering annals of faculty of engineering Hunedoara*. Tome VII, Fascicule 4, ISSN 1584-2665.

Kirasch J., Galgoczy L., Papp T. & Vagvoelgyi C. 2009. Antimicrobial and antioxidant potential of waste products after juice pressing. Journal of Engineering annals of faculty of engineering Hunedoara. Tome VII, Fascicule 4, ISSN 1584-2665.

Kollar A. 2003. Untersuchungen zum Einsatz alternativer Stoffe zur Regulierung des Apfelschorfes.

Kössler, P. (2006): Wirkung von Pflanzenextrakten und pflanzlichen Inhaltsstoffen auf die Entwicklung des Falschen Mehltaus der Rebe (*Plasmopara viticola*). Magisterarbeit, Georg-August-Universität Göttingen.

Kubo, I.; Matsumoto, A.; Takase, I. (1985): A multichemical defense mechanism of bitter olive *Olea europaea* (oleaceae). In: Journal of Chemical Ecology 11 (2), S. 251-263.

Larrauri J. A., Ruperez P. & Calixto F. S. 1996. Antioxidant Activity of Wine Pomace. Am. J. Enol. Vitic. 4.47. 369–372.

Laufenberg G. 2003. Regulierung einer Mikroorganismenflora mit Olivenextrakten.

Maier T., Schieber A., Kammerer D. R. & Carle R. 2009. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. Food Chemistry. 3. 112. 551–559.

Mohr H. D. 2003. Reduzierung des Kupfereinsatzes im ökologischen Weinbau.

Müller, K., Sleumer, H. (1934): Biologische Untersuchungen über die Peronosporakrankheit des Weinstocks mit besonderer Berücksichtigung ihrer Bekämpfung nach Inkubationsmethode. Z Wiss Landwirtschaft 79: 509–576.

Negro C., Tommasi L. & Miceli A. 2003. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. Bioresource Technology. 1. 87. 41–44.

Nikfardjam M. S. P. 2001. Polyphenole in Weissweinen und Traubensaften und ihre Veränderung im Verlauf der Herstellung. Dissertation. Justus von Liebig-Universität Giessen. Giessen.

Pospiech, R. (2008): Charakterisierung und Modellierung der Feststoffextraktion von Biophenolen aus Oliventrester. VDI-Verlag GmbH Düsseldorf, Dr.-Ing.

Randhir, R.; Shetty, K. (2003): Light-mediated fava bean (*Vicia faba*) response to phytochemical and protein elicitors and consequences on nutraceutical enhancement and seed vigour. In: *Process Biochemistry* 38 (6), S. 945-952.

Richter, G. (1998): *Stoffwechselfysiologie der Pflanzen, Physiologie und Biochemie des Primärstoffwechsels*. 6. Völlig neubearbeitete Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 365, 382, 386-387

Robotic V., Bosancic R. & Mojic M. 2000. Controlling Vine Powdery and Downy Mildews with the Urticum Preparation. In: Willer H.; Meier U. 2000. *Proceedings 6th International Congress on Organic Viticulture*. Stiftung Oekologie und Landbau - Bad Duerkheim.

Romero-Perez A. I., Lamuela-Raventos R. M., Andres-Lacueva C. & La Torre-Boronat M. C. de 2001. Method for the Quantitative Extraction of Resveratrol and Piceid Isomers in Grape Berry Skins. Effect of Powdery Mildew on the Stilbene Content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1. 49. 210–215.

Ruberto G., Renda A., Daquino C., Amico V., Spatafora C., Tringali C. & Tommasi N. de 2007. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars. *Food Chemistry*. 1. 100. 203–210.

Satisha J., Doshi P. & Adsule P. G. 2008. Influence of Rootstocks on Changing the Pattern of Phenolic. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 32. 1–9.

Satisha J., Doshi P. & Adsule P. G. 2008. Influence of Rootstocks on Changing the Pattern of Phenolic. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 32. 1–9.

Scheffer/Schachtschabel: *Lehrbuch der Bodenkunde*, Ferdinand Enke Verlag, 1992, S.282

Scholl, W., Enkelmann, R. 1984: Zum Kupfergehalt von Weinbergsböden. *Landwirtsch. Forschung* 37, 286–297.

Soler-Rivas, C.; Espín, J.-C.; Wichers, H. J. (2000): Oleuropein and related compounds. In: *J. Sci. Food Agric.*, 80 (7), S. 1013-1023.

Spigno G., Tramelli L. & Faveri D. M. de 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*. 1. 81. 200–208.

van Zwieten M., Stovold G. & van Zwieten L. 2007. Alternatives to copper for Disease Control in the Australian organic Industry.

Waterman, P. G.; Mole, S. (1994): Analysis of Phenolic Plant Metabolites, 1st ed.; Blackwell Scientific Publications: Oxford, U.K.

Wohlfarth, P. (1995): Ökologischer Weinbau – Ergebnisse aus den Jahren 1991 bis 1994. Der Badische Winzer, H. 7, 344–348.

10 Übersicht aller Veröffentlichungen, geplante Aktivitäten zur Verbreitung

Derzeit wird eine Internetseite zum neuen Pflanzenstärkungsmittel VitoVin-Pflanzenstärkung erstellt, über die zunächst auch der Vertrieb des Mittels laufen wird. Die Seite ist unter www.vitovin-pflanzenstaerkung.de bzw. .com erreichbar. Auf dieser Internetseite werden neben der Möglichkeiten zum Kauf des Mittels auch Zahlen und Fakten zum neuen Mittel verfügbar sein. Zudem wird es eine Kontaktadresse für offene Fragen geben. Die Seite wird ab Ende Februar/Mitte März online gehen.

Über die Weinbauberater des DLR Rheinland-Pfalz, aber auch der anderen Dienstleistungszentren von Rheinland-Pfalz sowie der Weinbau-Forschungsinstitute wurden und werden ebenfalls Informationen an interessierte Winzer und Privatpersonen weitergegeben. Dieser Informationsweg wird noch intensiviert werden.

Im Rahmen des Projekts wurden der Demeter Verband und Ecovin mit in die Projektplanung einbezogen. Nach der Anmeldung von VitoVin-Pflanzenstärkung wurden die Unterlagen auch diese beiden Verbände weitergegeben, mit der Bitte zur Prüfung des Mittels und Aufnahme in die jeweiligen Listen erlaubter Betriebsmittel.

Im Rahmen des zehnjährigen Bestehens der RLP AgroScience wurde eine Agrarökologische Tagung abgehalten, bei der das Projekt und die Ergebnisse bzw. das neue Pflanzenstärkungsmittel vorgestellt wurden. Teilnehmer waren unter anderem die Ministerin für Umwelt, Landwirtschaft, Ernährung, Weinbau und Forsten von Rheinland-Pfalz, Frau Ulrike Höfken, Mitglieder des Rheinland-Pfälzischen Landtags, Vertreter von Ministerien und untergeordneter Dienststellen, Winzer und Fachberater des (ökologischen) Wein- bzw. Landbaus. Ein begleitender Artikel in der Regionalzeitung „Rheinpfalz“ über das Jubiläum enthielt ebenfalls Informationen zu VitoVin-Pflanzenstärkung.

Bisher wurden folgende wissenschaftlichen Veröffentlichungen zum Projekt realisiert bzw. finden in nächster Zeit statt:

- „Traubenextrakt zur Stärkung der Pflanze gegen Pilzbefall im ökologischen Weinbau“, Singer, C.; Athai, J.; Pollatz, T.; Kubiak, R. (2014), Poster auf der 69. Pflanzenschutztagung Freiburg/Breisgau
- „Traubenkernextrakte zur Stärkung der Pflanze gegen Pilzbefall im ökologischen Weinbau“, Singer, C.; Athai, J.; Pollatz, T.; Kubiak, R. (2015), Vortrag auf der 13. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau in Eberswalde

Neustadt/Weinstraße, den

Lahnau; den