

**Krankheitsbehandlung bei Pflanzen
mit Extrakten aus Sapindus**

Patent Nr. DE102007004500A1

Dr. Rolf Steiner

Direktor
*Staatliches Weinbauinstitut
Freiburg*



Dr. Tobias Seibicke

Anmelder und Erfinder



Patentanmeldung vom 31.7.2008

Einführung

Gegenstand dieser Patentbeschreibung ist die Verwendung von Saponinen (und deren Derivaten) zur Bekämpfung und Eindämmung von Krankheitserregern (Pilze, Bakterien, Oomyceten, Insekten, Nematoden und Viren) von Pflanzen (Kultur- und Nutzpflanzen). Insbesondere ist die Herstellung und Verwendung eines Extraktes des Waschnussbaumes (*Sapindus mukorossi*) geschützt. Die Resistenzinduktion von Saponinen gegenüber verschiedenen Schaderregern wurde nachgewiesen und experimentell belegt.

Untersuchte Schädlinge:

- Plasmopara viticola* (Peronospora)
- Venturia inaequalis* (Apfelschorf)
- Phytophthora infestans* (Kraut- und Knollenfäule)
- Guignardia bidwellii* (Schwarzfäule)
- Uromyces appendiculatus* (Bohnenrost)

Bei allen untersuchten Schädlingen konnte ein Wirkungsgrad größer 90% nachgewiesen werden.

Nachweis der Aktivierung der pflanzl. Abwehrmechanismen (induced resistance)

Aktivierung eines pflanzlichen Signalweges, der bei Schädlingsbefall stimuliert wird. Hierzu wurden Zellsuspensionskulturen der Weinrebe (*Vitis vinifera*) mit einem wässrigen Extrakt von Nüssen des Waschnussbaumes stimuliert (zu 3 ml Zellsuspensionskultur wurden 30 μ l Rohextrakt) und die Verschiebung von Protonen in das Zellinnere aufgezeichnet.

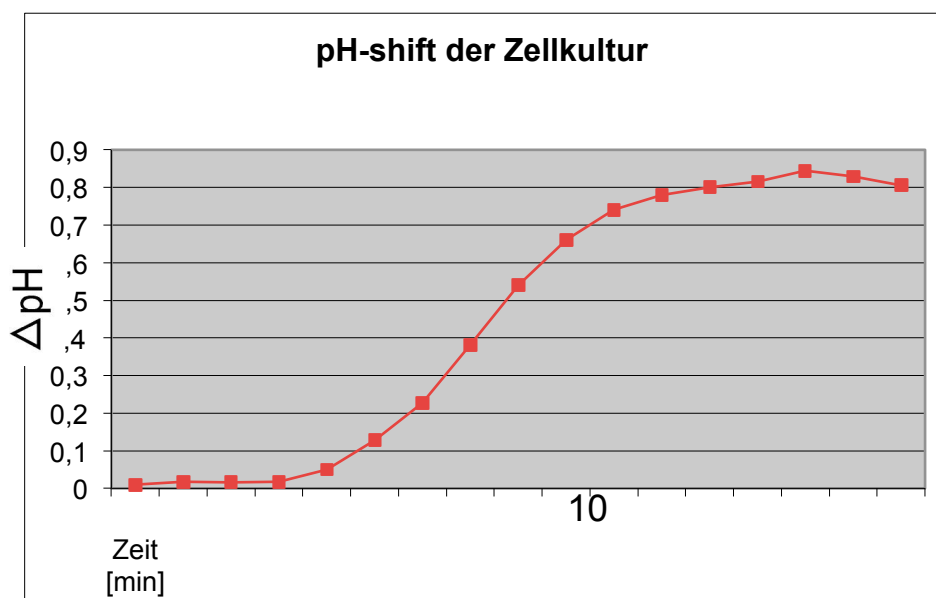


Abb. 1 zeigt die pH-Wert Änderung pflanzlicher Zellsuspensionskultur nach Zugabe eines Extraktes des Waschnussbaumes. (0,02%ig).

Veränderung der Genexpression pflanzlichen Gewebes

Im Rahmen der Analyse des Wirkungsmechanismus wurden Untersuchungen an Abwehrgenen (PR-Genen, stehend für pathogenesis related genes) durchgeführt. Hierzu gehören beispielsweise PR-1 Proteine, β -1,3-Glucanasen (PR-2), Chitinasen (PR-3), Hevein- (PR-4) und Thaumatin/Osmotin-ähnliche Proteine (PR-5).

Untersucht wurde eine Veränderung der Genexpression von *Vitis vinifera* cv. Müller-Thurgau nach Applikation von Rohextrakt der Waschnuss. Nach 12 h Inkubation mit Rohextrakt zeigen die behandelten Blattscheiben teilweise eine deutliche Veränderung des Genexpressionsmusters, wie folgende Tabelle belegt:

Tabelle: Genexpression verschiedener Gene 12 Stunden nach Gabe von Rohextrakt der Waschnuss

Gen	Vervielfachung der Induktion (Faktor)	Standardab- weichung
Vcaf	3,10	1,01
Vcal	1,25	0,34
Vpr1	5,07	1,80
Vchi	9,38	2,88
Vsts	9,85	3,08
Vglu	9,56	3,89

Die Tabelle zeigt, dass eine Behandlung der Weinrebe mit Extrakten der Waschnuss, die pflanzeneigene Abwehrmechanismen aktiviert, indem die Genaktivität von Abwehrgenen zunimmt.

Wirkung gegen *P. viticola*

Die Vermittlung einer Resistenz bzw. Toleranz gegenüber *Plasmopara viticola* nach Behandlung von Blattscheiben der Weinrebe mit einem Extrakt aus Waschnüssen wurde nachgewiesen. Blattscheiben der Weinrebe wurde mit einer 1:1 Verdünnung des Rohextraktes besprüht und nach 24 h mit einer Sporenlösung von *P. viticola* behandelt. Dies führt bei unbehandelten Blattscheiben zu starken Infektionen, die unter optimalen Bedingungen nach 4 Tagen (Inkubationszeit) zu einer Ausbildung eines weissen Sporenrasens führt. Bei zuvor behandelten Blattscheiben kommt es nur zu einer sehr geringen Schadbildung.

- Saponin +Saponin

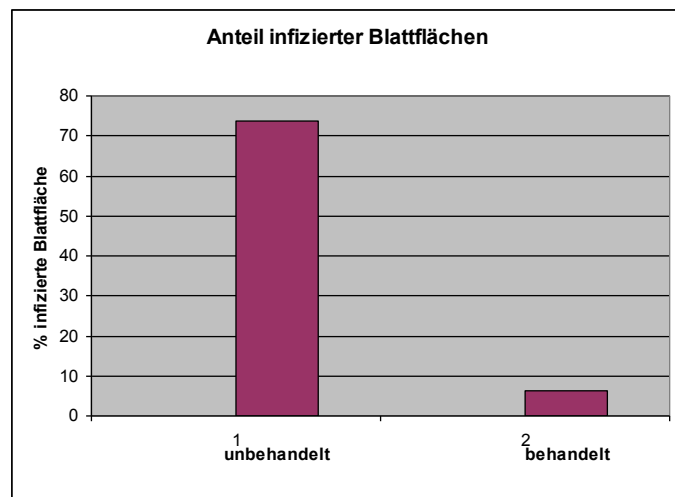


Abb. 2 zeigt zuvor mit Rohextrakt (1:1) behandelte Blattscheiben der Weinrebe, rechts und unbehandelte Blattscheiben, links nach Infektionen mit *P. viticola*. 5 Tage danach weisen die unbehandelten Blattscheiben eine starke Sporulation von *P. viticola* auf, während behandelte Blattscheiben fast keine Schadsymptome zeigen.

Wirkung gegen Apfeschorf (*Venturia inaequalis*)

2 unabhängige Versuche durch das Institut: BIO-FERM RESEARCH GmbH, Konstanz

Präparat	Konzentration [%]	protektiv -18h			Stopp 5h im Regen			kurativ 24h nass			kurativ 24h trocken		
		Mittel	Stabw.	N	Mittel	Stabw.	N	Mittel	Stabw.	N	Mittel	Stabw.	N
SAP-Ex	5	99	0	1	6	0	1	39	2	2	43	32	2

Präparat	Konzentration [%]	protektiv -18h			Stopp 5h im Regen			kurativ 24h nass			kurativ 24h trocken		
		Mittel	Stabw.	N	Mittel	Stabw.	N	Mittel	Stabw.	N	Mittel	Stabw.	N
SAP-Ex	5	98	1	2	49	43	2	39	2	2	43	32	2

In der obersten Zeile ist der Behandlungszeitpunkt angegeben (z.B. protektiv - 18h = 18 Stunden vor der Inokulation mit dem Erreger wurde behandelt); trocken/nass = auf abgetrocknete oder noch nasse Blätter gespritzt; Mittel = Wirkungsgrad; St = Standardabweichung zwischen den Versuchen; N = wie oft der Versuch durchgeführt wurde (standardmäßig machen wir jeden Behandlungszeitpunkt 2 Mal)

In beiden unabhängigen Versuchen konnte nach protektiver Gabe ein **Wirkungsgrad** von **98%** bzw. **99%** gegenüber *Venturia inaequalis* erzielt werden. Eine kurative Wirkung ist nur bedingt zu sehen und die verminderte Wirkung im Regen liegt vermutlich an der Abwaschung des Extraktes aus dem pflanzlichem Gewebe.

Wirkung gegen Schwarzfäule *Guignardia bidwellii*

Eine Wirkung gegen den Erreger der Schwarzfäule *Guignardia bidwellii* wurde durch die Forschungsanstalt Geisenheim, Fachgebiet Phytomedizin veröffentlicht. In Gewächshaustests zeigte ein wässriger Waschnussextrakt sehr gute Ergebnisse gegenüber *Guignardia bidwellii* und *Plasmopara viticola*.

Bei Freilandtests ging die Wirksamkeit gegen *P. viticola* zurück, jedoch blieb die Wirkung gegen Schwarzfäule annähernd unverändert. Eine geeignete Formulierung, die die Regenabwaschbarkeit verbessert kann die Wirkungsweise im Freiland zusätzlich erhöhen.

*„Ein wässriger Extrakt von Schalen der Indischen Waschnuss (*Sapindus mukorossi*) hat in Gewächshausversuchen an Blättern von *Vitis vinifera* (L.) eine **gute Wirksamkeit** gegenüber ***Guignardia bidwellii*** (Erreger der Schwarzfäule an Weinreben) und ***Plasmopara viticola*** (Erreger des Falschen Rebmehltaus) gezeigt. Diese Wirkung bestätigte sich bezüglich *G. bidwellii* grundsätzlich auch an Beeren im Freiland. Im Falle zeitnah vor der Inokulation durchgeführter Applikationen wurden hohe Wirkungsgrade im Bereich der beiden Vergleichswirkstoffe aus dem ökologischen Weinbau (Netzschwefel) bzw. integrierten Rebschutz (Metiram) erzielt (75 bis 90%)...“*

Lit.: JOURNAL FÜR KULTURPFLANZEN, 62 (12). S. 444–450, 2010, ISSN 0027-7479

Einsatz eines *Sapindus mukorossi*-Extraktes zur Regulierung von pilzlichen Pathogenen an Weinreben – eine Alternative für den ökologischen Rebschutz?

http://oekologischerlandbau.jki.bund.de/dokumente/upload/14266_waschnuss.pdf

Wirkung gegen *Phytophthora infestans* (Kraut- und Knollenfäule)

Eine Wirkung gegen *Phytophthora spec.*, dem Erreger der Kraut- und Knollenfäule, konnte an zahlreichen Kulturpflanzen wie Kartoffel, Gurke und Tomate nachgewiesen werden. In Untersuchungen (protektiv) wurde in der Regel bei allen Pflanzen-Pathogen Systemen

Wirkungsgrade höher 90% erzielt.

Da diese Untersuchungen von potentiellen Kooperationspartnern durchgeführt wurden, können validierte Daten hier nicht veröffentlicht werden.

Wirkung gegen *Uromyces appendiculatus* (Bohnenrost)

Ähnlich wie bei der Wirkung gegen unterschiedliche *Phytophthora* Erregern konnte auch eine Wirkung gegen den Erreger der Bohnenrostes *Uromyces appendiculatus* gezeigt werden. Der **Wirkungsgrad** lag hier im Mittel bei **92%**; protektiv.

Auch diese Untersuchungen wurden von potentiellen Kooperationspartnern durchgeführt, so dass validierte Daten hier nicht veröffentlicht werden können.

Zusammenfassung

Der hohe Saponingehalt der Waschnüsse und der damit einhergehende Schutz von Kulturpflanzen nach Applikation mit Rohextrakten, macht diesen prädestiniert als biologisches Pflanzenschutzmittel angewendet zu werden. In den hier gezeigten Untersuchungen gegen

- Plasmopara viticola* (Peronospora)
- Venturia inaequalis* (Apfelschorf)
- Phytophthora infestans* (Kraut- und Knollenfäule)
- Guignardia bidwellii* (Schwarzfäule)
- Uromyces appendiculatus* (Bohnenrost)

konnte ein protektiver **Wirkungsgrad von über 90%** erzielt werden. Dies ist im Vergleich mit anderen biologischen Pflanzenschutzmitteln ein überdurchschnittlich hohes Ergebnis und zeigt das Potenzial welches in den Extrakten des Waschnussbaumes steckt.

Ein kurativer Wirkungsgrad konnte nicht signifikant nachgewiesen werden. Versuche im Freiland bzw. nach Simulation von Niederschlägen reduzieren die Wirksamkeit der Extrakte. Erste Untersuchungen bzgl. der Regenabwaschbarkeit und Erhöhung des Wirkungsgrades im Freiland bestätigen die Vermutung dass die Anheftung der Saponine an den Blättern verbessert werden muss. Getestet werden verschiedene Anteile an Formulierungen. In Kombination mit Kupferpräparaten wird eine Reduktion des Kupferanteils evaluiert.

Zulassung als biologische Pflanzenschutzmittel



Reben, *Vitis vinifera* cv. Müller-Thurgau

Die abgebildeten Reben wurden nicht mit fungiziden gegen *P. viticola* behandelt und diese stattdessen durch Rohextrakt der Waschnuss *Sapindus mukkorossi* ersetzt. Die Aufnahme erfolgte im Sept. 2008

In Zeiten, in denen die Kupferbelastung der Umwelt durch biologischen Pflanzenschutz immer problematischer wird, bieten die Extrakte der Waschnuss eine echte Alternative. Der hohe Wirkungsgrad, den die Rohextrakte gegen Pflanzenschädlinge zeigen, sprechen für sich. In den ersten Untersuchungsreihen wurde nur eine kleine Anzahl an Pflanzenschädlingen untersucht und eine Wirkung gegen eine Vielzahl weiterer Pathogene ist naheliegend, insbesondere aus der Gruppe der Oomyceten. Einer Zulassung zu einem biologischen Pflanzenschutzmittel sollte daher nichts im Wege stehen zumal

- die Beschaffung der Extrakte (auch in hoher Reinheit) kein Problem darstellt
- Waschnussextrakte und Saponine in Waschmittel, Seife, Shampoo und anderen Kosmetika in hohem Maße eingesetzt werden.

Dadurch sollte keine Gefahr für Mensch und Umwelt bestehen. Saponine sind auch in hohem Maße in Spargel und Hülsenfrüchten enthalten.