

Weidenextrakte als Pflanzenstärkungs- und Pflanzenschutzmittel

Berichtverfasser

Prof. Dr. Dr. Christian Ulrichs
Dr. Nadja Förster
BSc. Marcus Müller
Humboldt-Universität zu Berlin
Lebenswissenschaftliche Fakultät
Urbane Ökophysiologie der Pflanzen
Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin

Inhalt

1	Aufgabenstellung/Zielsetzung; Voraussetzung unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	1
1.1	Aufgabenstellung/Zielsetzung	1
1.2	Voraussetzung unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	1
2	Planung und Ablauf des Vorhabens; wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	1
3	Wissenschaftlich-technische Ergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen inkl. der Arbeiten, die zu keiner Lösung führten.....	2
3.1	Beprobung und qualitative und quantitative Analyse der Weidenrindenextrakte	2
3.2	Extraktherstellung und -optimierung, Inhaltsstoffanalyse	2
3.3	Stabilitätstests der Extrakte	3
3.4	Vorversuche: Auswahl des Extrakts, der Darreichungsform und -konzentration	4
3.5	Hauptversuch zur Untersuchung der biologischen Wirksamkeit von Weidenextrakten	6
4	Zusammenfassung der Ergebnisse und resultierende Erkenntnisse (Voraussichtlicher Nutzen)	10

1 Aufgabenstellung/Zielsetzung; Voraussetzung unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

1.1 Aufgabenstellung/Zielsetzung

Dieses Projekt legt den Fokus auf die Testung der Eignung von Extrakten aus der Rinde von *Salix* spp. als Pflanzenstärkungs- bzw. Pflanzenschutzmittel. Hierzu soll ein Rindenextrakt der salicylatreichen Spezies *Salix daphnoides* bzgl. ihres Abwehrpotentials von Schaderregern getestet werden. Neben der Herstellung der Extrakte und Stabilitätsprüfung der sekundären Inhaltsstoffe sollen in ersten kontrollierten Anbauversuchen an *Valerianella locusta* ('Holländischer breitblättriger') Einflüsse auf das Wachstum und die Vermehrung von ausgewählten Schaderregern (Blattlaus und Pilz) sowie auf die Entwicklung der Pflanze untersucht werden. Weiterhin sollen durch die Analysen erste Rückschlüsse auf eine geeignete Verabreichungsform und Anwendungskonzentration des *Salix*-Extraktes möglich sein.

1.2 Voraussetzung unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Aus den ermittelten Ergebnissen sollen erste Erkenntnisse über die pflanzenstärkende und –schützende Wirkung von *Salix*-Extrakten gezogen werden, um in weiterführenden Untersuchungen (Folgeprojekt) die Leistungsfähigkeit von *Salix*-Extrakten für die biologische Pflanzenstärkung und den Pflanzenschutz umfangreich aufzuklären. Langfristiges Ziel ist die Entwicklung eines pflanzlichen Präparates, welches einen Teil der aus dem Verkehr gezogenen Mittel sowie andere weiterhin zugelassene, mit negativen Auswirkungen auf die Umweltgüter verbundene, Wirkstoffe zu ersetzen. Mit den gewonnenen Erkenntnissen kann ein Beitrag zur Steigerung der Rentabilität einer Kurzumtriebswirtschaft geleistet werden, da neben der Nutzung des Rohstoffes Holz für die Verbrennung, die Weidenrinde als Grundlage für die Herstellung von Pflanzenstärkungs- bzw. Pflanzenschutzmittel verwendet werden kann (Kaskadennutzung). Die Ausbringung dieser Präparate soll den Befall von Kulturpflanzen mit Krankheitserregern verhindern bzw. vermindern und Ernteverluste reduzieren. Damit soll zu einer nachhaltigen Landnutzung und Energiewende beigetragen werden.

2 Planung und Ablauf des Vorhabens; wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Bereits vor Projektbeginn wurde eine Feldsalatsorte ausgewählt, welche eine Botrytisanfälligkeit aufwies. Hierzu bedienten wir uns verschiedener alter Sorten und infizierten diese mit *Botrytis cinerea*. Es zeigte sich, dass die Sorte 'Holländischer breitblättriger' durch ihre Blattgröße sehr gut für Infektionsversuche geeignet war und eine Infektion mit *B. cinerea* nachgewiesen werden konnte.

Aufgrund der langjährigen Erfahrungen des Fachgebietes mit dem Anbau sowie der Pflege der Baumbestände von *Salix* sowie einer Vielzahl von angefertigten wissenschaftlichen Arbeiten zur Extrakterstellung, Inhaltsstoffstabilität sowie Identifizierung von sekundären Inhaltsstoffen, verfügt unser Fachgebiet über ausgezeichnete Voraussetzungen zur Durchführung des beantragten Projektes. An diesem Wissen konnte direkt angeknüpft werden. Weiterhin konnte für die Gewinnung von Ausgangsmaterial auf die *Salix*-Bestände des Fachgebietes zurückgegriffen werden, so dass die Arbeiten zum Projekt direkt nach Projektbeginn starten konnten. Auch bildeten das Vorhandensein eines voll ausgestatteten Analyselabors sowie Pflanzenwachstumsräume, welche dem Fachgebiet zur Verfügung stehen, die Basis für die Durchführung aller Analysen und Versuche.

Der im Antrag vorgelegte Zeitplan zur Durchführung der einzelnen Arbeitspakete (AP) konnte im ersten Halbjahr vollständig eingehalten werden. Auch die Vorversuche AP 3.4 (Vorversuche: Auswahl des Extrakts, der Darreichungsform und –konzentration) konnten wie geplant durchgeführt werden. Aufgrund der extremen Wetterverhältnisse in diesem Jahr entstanden jedoch Verzögerungen im Hauptversuch, da sich die Blattlauspopulation nicht etablieren lies und somit erst im Oktober eine ausreichende Anzahl von Blattläusen für die Versuche zur Verfügung stand.

3 Wissenschaftlich-technische Ergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen inkl. der Arbeiten, die zu keiner Lösung führten

Die Humboldt-Universität zu Berlin verfügt am Standort Dahlem der Lebenswissenschaftlichen Fakultät über ein Klonsortiment salicylatreicher Weiden auf das im Rahmen des Vorhabens zurückgegriffen werden konnte.

3.1 Beprobung und qualitative und quantitative Analyse der Weidenrindenextrakte

Von verschiedenen salicylatreichen Klonen von *Salix daphnoides* vom Standort Dahlem wurde ausreichend Rindenmaterial gewonnen, gefriergetrocknet und pulverisiert. Anschließend wurden die Phenolglykoside (einschließlich Salicylate) methanolisch extrahiert und mittels HPLC-Analytik quantitativ und qualitativ bestimmt. Um Informationen über den Gehalt zu gewinnen, wurde die ursprünglich verwendete Methode nach Förster et al. (2008)¹ angewendet. Das vermessene Extrakt wies ein Phenolglykosidgehalt von 92,3 mg/g Trockengewicht (TG) auf (davon 34,7 mg/g TG Salicylatgehalt).

3.2 Extrakterstellung und -optimierung, Inhaltsstoffanalyse

Neben der Herstellung eines wässrigen Extraktes wurde auch ein ethanolisches sowie methanolisches Extrakt hergestellt. Während im wässrigen Extrakt geringe Mengen an Picein nachgewiesen werden konnten, war dies in den beiden anderen Extrakten nicht möglich (Tabelle 1). Da sich die Extraktinhaltsstoffe vom methanolischen sowie ethanolischen Extrakt qualitativ nicht unterschieden, sollen die aufbauenden Versuche an Pflanzen nur mit den wässrigen sowie ethanolischen Extrakten durchgeführt werden. Für die Stabilitätstest (Punkt 3.3) wurde jedoch das methanolische Extrakt mitgeführt.

Tab. 1: Phenolglykosidgehalt von wässrigen, ethanolischen sowie methanolischen *Salix daphnoides*-Extrakten (prozentualer Anteil von einzelnen Inhaltsstoffen am Gesamtgehalt wird mit aufgeführt)

	wässrig		Extrakt ethanolisch		methanolisch	
	µmol/g TG	%	µmol/g TG	%	µmol/g TG	%
Salicin	3,77	4,16	1,82	2,25	4,36	4,00
Picein	0,06	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00
Salirosid	0,32	0,36	0,22	0,27	0,20	0,18
Syrenigin	2,46	2,72	0,69	0,85	2,28	2,10
Chlorogensäure	0,44	0,49	0,18	0,22	0,92	0,84
Catechin	0,56	0,61	0,17	0,21	0,61	0,56
Salicortin	28,81	31,78	27,12	33,59	35,71	32,78
Ampelopsin	0,84	0,92	0,53	0,66	1,27	1,17
Vimalin I	1,04	1,14	0,92	1,14	1,19	1,09
Vimalin II	1,57	1,73	1,44	1,79	1,75	1,61
Eriodictyol-7-glucosid	14,95	16,49	13,07	16,18	17,47	16,04
Naringenin-5-glucosid	12,68	13,99	10,85	13,44	14,65	13,44
Naringenin-7-glucosid	14,01	15,46	13,42	16,62	17,54	16,10
Salicylat unbekannt	1,20	1,33	1,39	1,72	1,63	1,50
Flavonoid unbekannt I	0,52	0,57	0,59	0,73	0,63	0,58
Flavonoid unbekannt II	0,31	0,34	0,31	0,38	0,37	0,34
Purpurein	0,98	1,08	0,97	1,20	1,23	1,13
Tremulacin	1,54	1,70	1,45	1,80	1,93	1,77
Isosalipurposid	4,59	5,06	5,63	6,97	5,21	4,78
Summe	90,64	100	80,74	100	108,96	100

¹ Förster, N., Ulrichs, C., Zander, M., Kätzel, R. & Mewis, I. (2008): Influence of the season on the salicylate and phenolic glycoside contents in the bark of *Salix daphnoides*, *Salix pentandra*, and *Salix purpurea*. Journal of Applied Botany and Food Quality 82: 99-102.

Um ausreichende Extraktmengen für die Versuche zu generieren, wurde ein Up-Scaling der Methode von Förster et al. (2008) durchgeführt. Hierzu wurden 5 g gefriergetrocknetes Weidenrindenmaterial eingewogen und mit 30 ml 80%igen Methanol (zweimalige Re-Extraktion mit jeweils 20 ml) extrahiert. Das Extrakt wurde im Vakuumrotationsverdampfer eingetrocknet und letztlich wieder in 2 x 4 ml Lösungsmittel (Wasser oder Ethanol) aufgenommen. Durch das Up-Scaling war es mit wenigen Extraktionen möglich eine ausreichende Menge an Phenolglykosiden für die Stärkungsmittelversuche am Feldsalat zu generieren.

3.3 Stabilitätstests der Extrakte

Die hergestellten wässrigen, ethanolischen sowie methanolischen Extrakte wurden auf Ihre Stabilität überprüft. Die Extrakte wurden hierbei bei Raumtemperatur sowie im gefrorenen Zustand gelagert. Nachdem nach einer Woche keine Veränderungen im Phenolglykosidprofil bei Raumtemperatur zu erkennen war und sich auch nach fünf Wochen nur geringe Veränderungen zeigten (Anstieg des Salicin-gehaltes bei Extrakten, welche bei Raumtemperatur gelagert wurden), waren nach neun Wochen deutliche Unterschiede im Phenolglykosidprofil zwischen Ausgangs- (Abbildung 1) und Raumtemperaturextrakten (Abbildung 2) zu erkennen. Während der Salicin- sowie Salirosidgehalt deutlich anstieg, nahmen die Gehalte von einem unbekanntem Salicylat sowie Isosalipurposid deutlich ab. Es zeigte sich jedoch auch, dass sich die Gehalte über die gesamte Zeit in den gefrorenen Extrakten nicht veränderten. Folglich können die Extrakte gefroren gelagert werden bis sie für die Versuche verwendet werden.

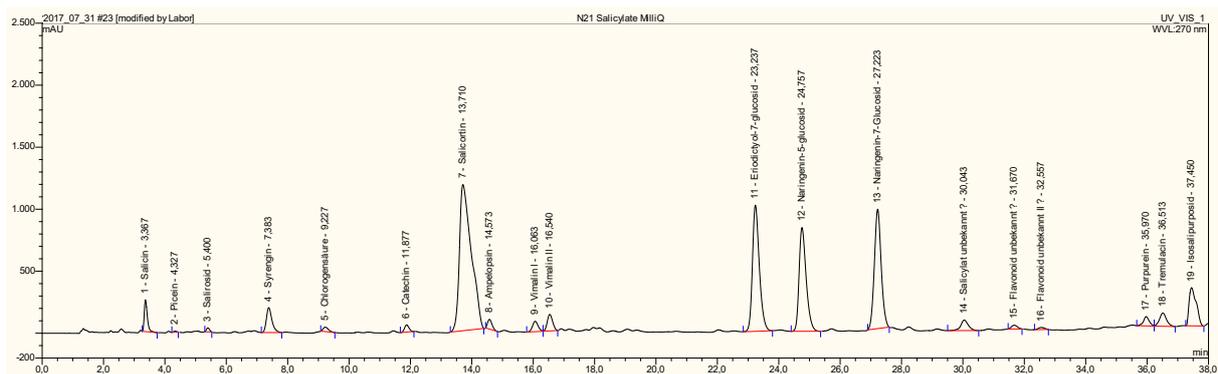


Abb. 1: Phenolglykosidprofil der Rinde von *Salix daphnoides* zu Beginn der Stabilitätsversuche

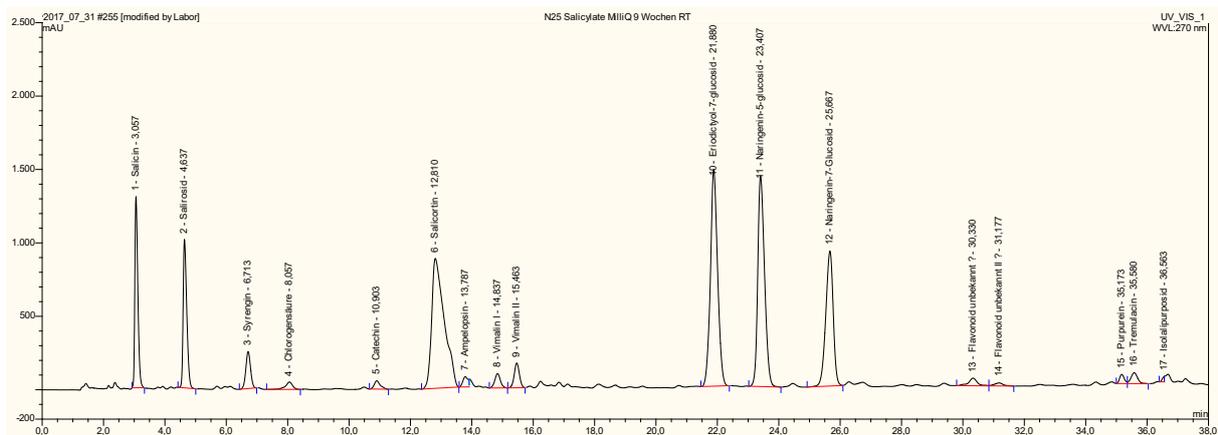


Abb. 2: Phenolglykosidprofil der Rinde von *Salix daphnoides* nach 9 Wochen bei Raumtemperatur

3.4 Vorversuche: Auswahl des Extrakts, der Darreichungsform und -konzentration

Pflanzenschutz- bzw. Pflanzenstärkungsmittel werden in unterschiedlichen Konzentrationen auf Pflanzen ausgebracht. Käuflich zu erwerbende Pflanzenschutzmittel, als Gießmittel zu verwenden, werden häufig in einer Menge von 4-10 g/l eingesetzt. Bei Pflanzenstärkungsmitteln sollen in Abhängigkeit der Herstellung der Mittel 3 – 50 g/l verwendet werden. Hierbei wird jedoch häufig frisches Pflanzenmaterial genutzt, um einen Sud anzusetzen mit dem dann die Pflanzen gegossen werden.

S. daphnoides ist die Weidenart mit einem im Vergleich zu anderen Weidenarten hohen Salicylatanteil. Zusätzlich können im *S. daphnoides*-Extrakt Flavonoide, Catechine sowie andere Phenolglykoside nachgewiesen werden. Aufgrund der vorangegangenen Recherche haben wir uns entschlossen Weidenrindenextrakte mit einer Konzentration von 5 g/l, 10 g/l sowie 20 g/l für die ersten Gießversuche zu verwenden. Aus vorangegangenen Versuchen wissen wir, dass das Material, welches wir für die Herstellung der Extrakte verwenden wollen, einen Phenolglykosidgehalt (PG-Gehalt) von rund 80 mg/g TG aufweist. Weiterhin besteht die Rinde von *Salix* zu 50 % aus Wasser. Auf Grundlage der Nutzung von 5 g/l, 10 g/l sowie 20 g/l frischer Rinde verwenden wir für unsere Gießversuche 200 mg/l, 400 mg/l und 800 mg/l PG-Gehalt. Unter Verwendung der Up-Scaling-PGG-Extraktionsmethode wurde durch das Lösen mit MilliQ ein PGG-Gehalt von 42.804 mg/l bestimmt. 200 mg PGG waren folglich in 4,672 ml des Extraktes. Dieses *Konzentrat wurde verdünnt, so dass am Ende jede Pflanze folgende PG-Menge über 20 ml Gießwasser bekam: 4 mg (200 mg/l; Konzentration 1), 8 mg (400 mg/l; Konzentration 2) sowie 16 mg (800 mg/l; Konzentration 3). Die gleiche PG-Menge wurde den Pflanzen auch über ein 50%-Ethanolgemisch, welches aus dem Ursprungsextrakt hergestellt wurde, verabreicht. Neben dem Gießen wurden die PG-Extrakte auch auf die Blätter gesprüht. Auch hier dienten als Grundlage wässrige sowie ethanolische *Salix*-Gemische, welche auf die 20 Pflanzen pro Variante gleichmäßig aufgeteilt wurden. Jede Pflanze erhielt folglich eine PG-Menge von 4 mg, 8 mg bzw. 16 mg aufgesprüht. Es wurde jeweils eine Kontrolle mitgeführt, die mit der gleichen Wasser- oder Ethanolmenge (50 %) gegossen bzw. besprüht wurde (Abb. 3).

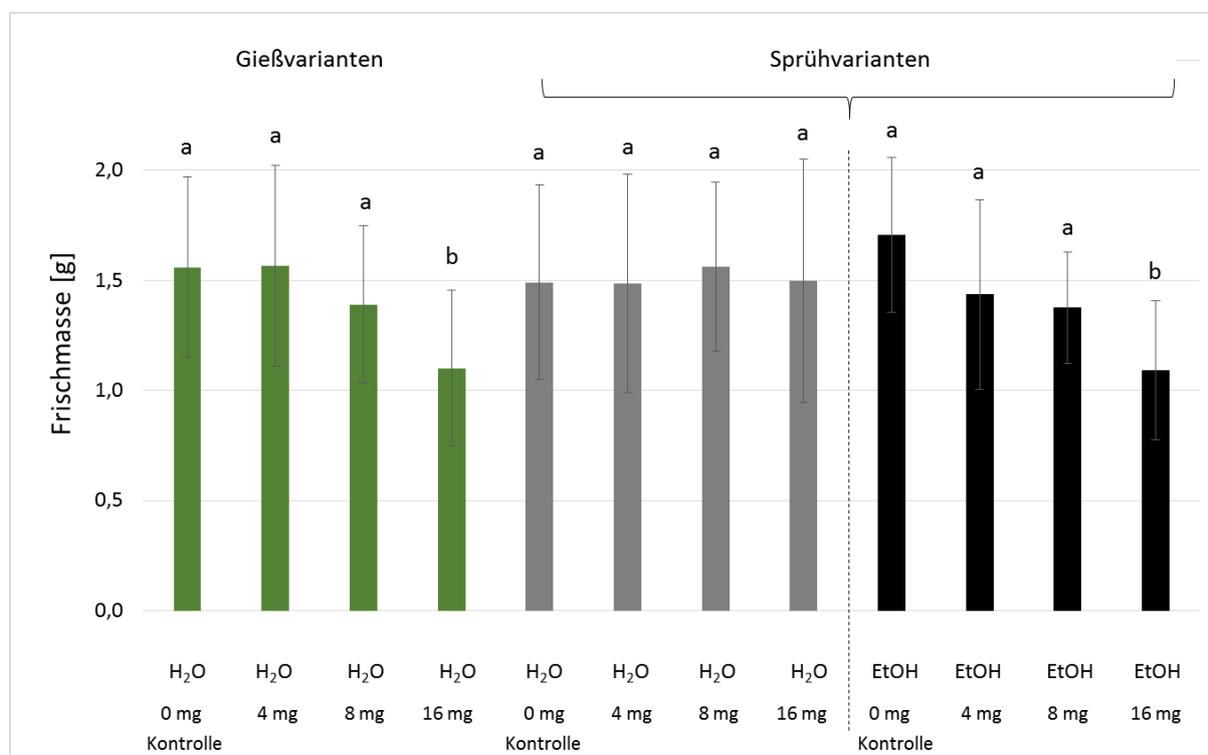


Abb. 3: Frischmasse des Feldsalates in den Gieß- bzw. Sprühvarianten mit unterschiedlichen Phenolglykosidgehalten (Tukey's HSD Test, $p \leq 0,05$)

In der Gießvariante, bei welcher das verabreichte *Salix*-Stärkungsmittel mit Ethanol (50 %) verabreicht wurde, sind alle Pflanzen in kürzester Zeit gestorben, so dass die Ergebnisse hier nicht abgebildet sind. Beim Gießen der Extrakte mit Wasser konnte bei einer Konzentration von 16 mg PG-Menge ein signifikanter Abfall der Frischmasse festgestellt werden (Abbildung 3). Während bei den Wasser-Sprühvarianten kein signifikanter Einfluss auf die Feldsalatfrischmasse nachgewiesen werden konnte, nahm die Frischmasse in der Ethanol-Sprühvariante bei einer PG-Konzentration von 16 mg signifikant ab. Die Pflanzendurchmesser variierten in den verschiedenen Varianten nicht. Da sich Extraktkonzentrationen von 16 mg negativ auf das Pflanzenwachstum des Feldsalates auswirkten (zu erkennen an einer verringerten Frischmasse) und von 0 mg bis 8 mg keine Negativeffekte zu erkennen waren, wurden folgende Konzentrationen pro Einzelpflanze für eine aufbauenden Versuche verwendet: 1 mg, 2 mg, 4 mg, 6 mg (nur bei Gießwasservariante).

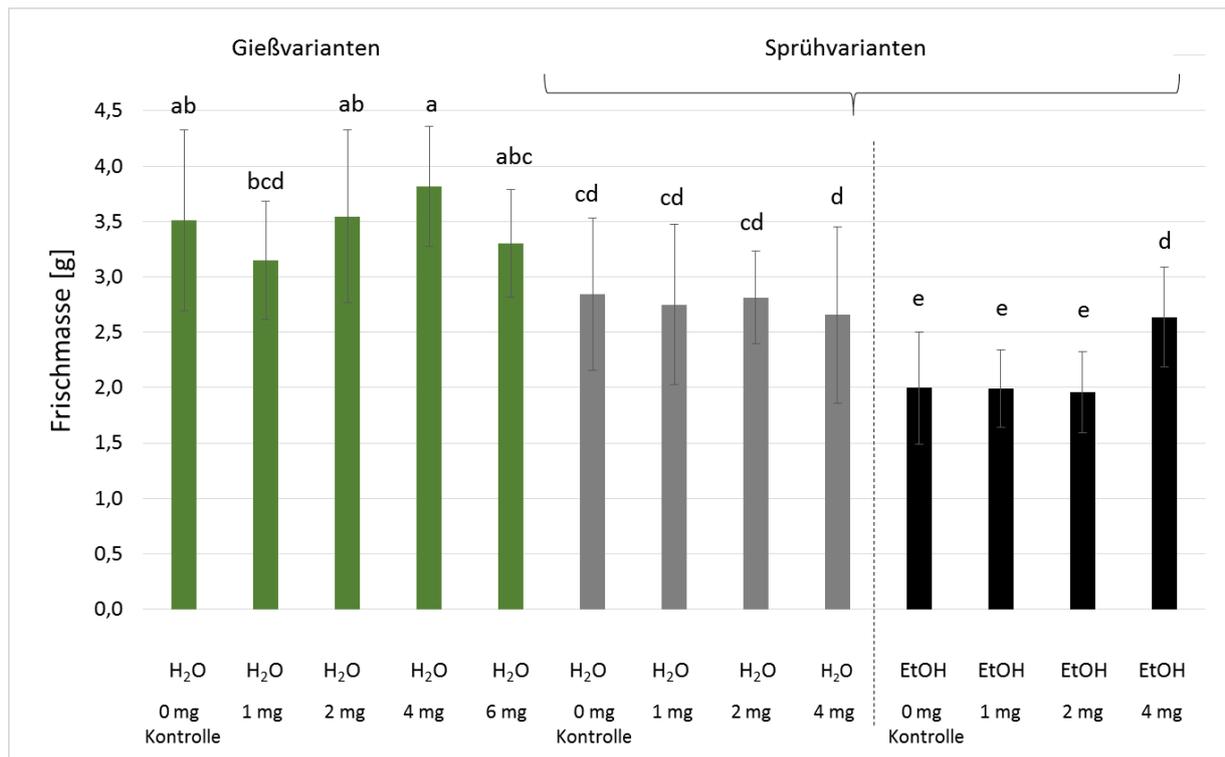


Abb. 4: Frischmasse des Feldsalates in den Gieß- bzw. Sprühvarianten mit unterschiedlichen Phenolglykosidgehalten (Tukey's HSD Test, $p \leq 0,05$)

Generell wurden für den zweiten Vorversuch Feldsalat-Pflanzen mit einer höheren Frischmasse im Vergleich zum ersten Versuch behandelt (Abbildung 4). Es zeigte sich das im Vergleich zu den Gieß- sowie Sprühvarianten mit Wasser in der Ethanolsprühvariante fast durchgängig signifikant geringere Frischmassegewichte erreicht werden konnten. Innerhalb der Gießvariante mit Wasser wurde lediglich ein signifikanter Frischmasseunterschied zwischen dem Gießen mit 1 und 4 mg PG-Gehalt festgestellt. Im Vergleich zur Kontrolle der Wasser-Gießvariante waren die Frischmassegewichte aller Pflanzen in den Sprühvarianten (Wasser sowie Ethanol) signifikant verringert. Unter der Berücksichtigung der gewonnenen Erkenntnisse zum Einfluss der gegossenen sowie gesprühten PG-Extrakte auf die Frischmasse wurden für den Hauptversuch folgende Behandlungen ausgewählt:

- Gießen (H₂O): 0 mg (Kontrolle), 2 mg, 4 mg PG-Gehalt
- Sprühen (H₂O): 0 mg (Kontrolle), 2 mg, 4 mg PG-Gehalt
- Sprühen (EtOH): 0 mg (Kontrolle), 2 mg, 4 mg PG-Gehalt

Bei allen gewählten Varianten war entweder keine signifikante Beeinflussung der Frischmasse zur jeweiligen Kontrolle oder aber sogar eine Frischmasseerhöhung festgestellt worden (Abbildung 4).

3.5 Hauptversuch zur Untersuchung der biologischen Wirksamkeit von Weidenextrakten

Um Erkenntnisse zur biologischen Wirksamkeit von Weidenextrakten zu erhalten, wird Feldsalat, welcher mit Phenolglykosidextrakten unterschiedlicher Konzentrationen behandelt wurde, mit Blattläusen *Myzus persicae*) bzw. mit Schimmelpilzen (*B. cinerea*) infiziert. Aufgrund der Witterungsverhältnisse dieses Jahres und den damit einhergegangenen heißen trockenen Freilandbedingungen, ist die Population der Blattläuse immer wieder eingebrochen. Da die Anzahl der zur Verfügung stehenden Blattläuse daher nicht für einen Versuch ausreichte, wurde zunächst ein Wirksamkeitsversuch nur mit *B. cinerea* durchgeführt. In jeder Variante wurden 20 Pflanzen mit dem Extrakt behandelt (Gießen-H₂O: 0, 2, 4 mg PG-Gehalt, Sprühen-H₂O: 0, 2, 4 mg PG-Gehalt, Sprühen-EtOH: 0, 2, 4 mg PG-Gehalt). Während 10 Pflanzen nicht infiziert wurde, wurden 10 weitere in jeder Variante mit einer Sporenlösung infiziert. Hierbei wurden zwei Blätter der Pflanzen mit Celit (einem Kieselmehl) leicht verletzt. Danach wurde auf dieselbe Stelle des Blattes ein Teil (ca. 1 ml) der Sporenlösung gegeben (ca. 50.000 Sporen/ml). Nach einer Woche wurde die Infektionsrate mit *B. cinerea*, das Erscheinen von Nekrosen sowie ein offensichtliches Einrollen der Blätter (letztere als Abwehrreaktion gegen den Eintritt des Pilzes in das Blattinnere) bonitiert.

Tab 1: Infektionserscheinungen hervorgerufen durch *Botrytis cinerea* auf mit Phenolglykosiden gegossenen bzw. besprühten Feldsalat

	Gießen (H ₂ O)			Sprühen (H ₂ O)			Sprühen (EtOH)		
	Phenolglykosid-Menge pro Pflanze [mg]								
	0	2	4	0	2	4	0	2	4
- Botrytis									
<u>n von 10 Pflanzen</u>									
Nekrosen	-	-	-	-	2	-	2	3	1
Botrytisbefall	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eingerollte Blätter	-	2	3	1	2	2	3	4	2
+ Botrytis									
Nekrosen	-	1	2	-	10	2	-	3	4
Botrytisbefall	1	-	-	4	6	4	-	3	3
Eingerollte Blätter	3	3	2	-	3	4	2	3	5

Bei allen Extraktvarianten, bei denen die Pflanzen mit *Botrytis* infiziert wurden, konnte generell ein Befall mit dem Pilz festgestellt werden. Dies war nicht in den Varianten, welche nicht mit *Botrytis* infiziert wurden der Fall. Aufgrund der sehr unterschiedlichen Anzahlen von Pflanzen, welche in den Kontrollvarianten mit *Botrytis* am Pilz erkrankten, kann festgehalten werden, dass keine zufriedenstellende gleichmäßige Infektion mit dem Pilz zustande kam. Während bei der Variante Gießen (H₂O) 0 mg PG-Menge eine Pflanze befallen war, waren es in der Sprüh-(H₂O)-Variante vier und in der Sprüh-(EtOH)-Variante keine Pflanze. Im zweiten Hauptversuch wird daher auf eine andere Methode zur Infektion der Pflanzen mit *Botrytis* zurückgegriffen. Auch vom Vorhandensein eingerollter Blätter sowie festgestellten Nekrosen kann kein Rückschluss auf die PG-Menge im Extrakt bzw. der Darreichungsform geschlossen werden. Diese Beobachtungen sollen zusätzlich in einem zweiten Hauptversuch validiert werden, um genauere Aussagen treffen zu können.

Nachdem sich die *Myzus*-Population zum Ende des Jahres erholt hatte, wurde ein zweiter Hauptversuch durchgeführt, in welchem die Wirksamkeit der Extrakte auf *B. cinerea* sowie *M. persicae* untersucht wurde. Folgende Parameter wurden in diesem Versuch bestimmt: Wachstum der Blattläuse auf allen Varianten sowie Biomasse der Pflanzen, Wassergehalt der Pflanzen und Pilzinfektionsrate.

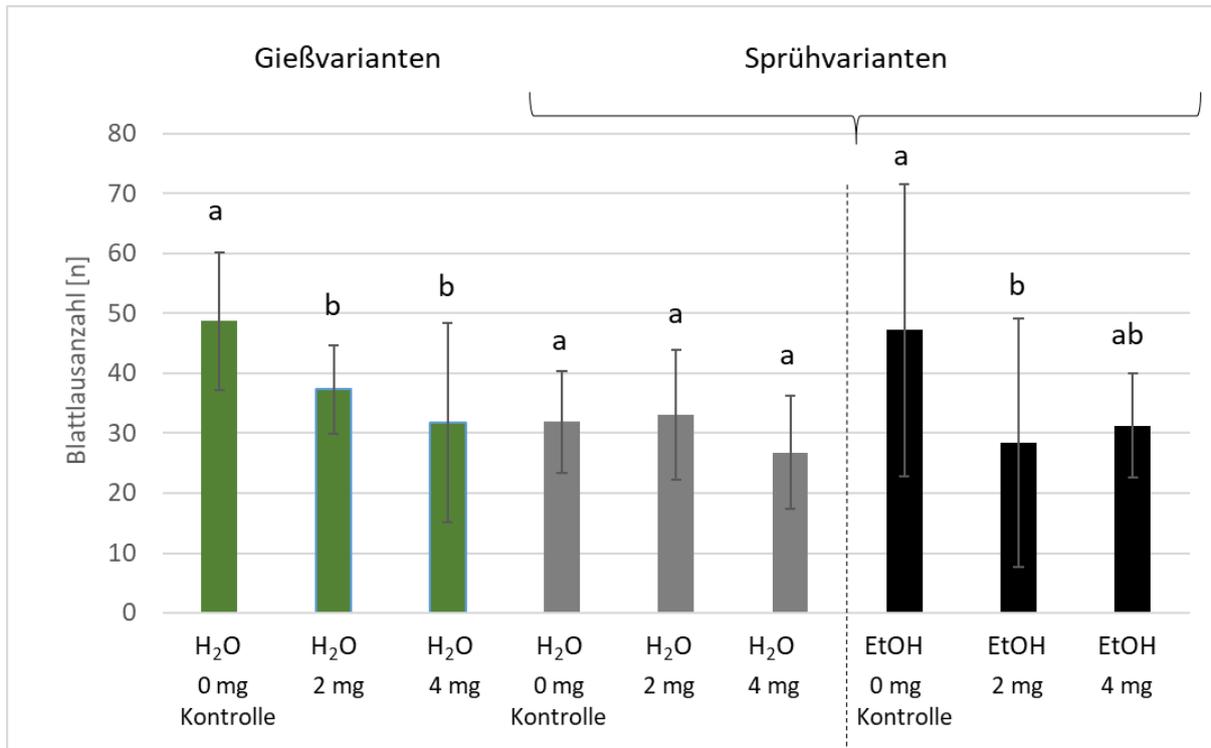


Abb. 5: Blattlausanzahl auf Feldsalat in den Gieß- bzw. Sprühvarianten mit unterschiedlichen Phenolglykosidgehalten (LSD Test, $p \leq 0,1$, innerhalb der drei Behandlungsvarianten)

Auf allen Varianten konnte sich die Blattlauspopulation von ursprünglich 10 Tieren pro Pflanze deutlich erhöhen (Abbildung 5). Signifikant verringert wurde der Populationszuwachs der Blattläuse in den Gieß-H₂O-Varianten (Gieß-H₂O-2 mg, Gieß-H₂O-4 mg im Vergleich zu Gieß-H₂O-0 mg) sowie in der Sprüh-EtOH-Variante (Sprüh-EtOH-2 mg im Vergleich zu Sprüh-EtOH-0 mg). Diese beiden Varianten erwiesen sich daher als geeignet das Wachstum bzw. die Vermehrung der Läuse einzudämmen.

Um den Feldsalat im zweiten Hauptversuch mit *Botrytis* zu infizieren, wurden jeweils zwei Agarstücke (0,5 x 0,5 cm), welche mit dem Myzel des Pilzes durchsetzt sind, auf die Pflanze aufgelegt. Nach zwei Wochen wurde bonitiert, ob und wie stark die Pflanzen mit *Botrytis* befallen wurden. Auch in diesem Versuch war es nicht möglich eine gleichmäßige Infektion der Pflanzen mit dem Pilz zu erreichen. Festgestellt werden konnte, dass die Varianten, welche mit Ethanol +/- dem *Salix*-Extrakt besprüht wurden, generell stärker mit *Botrytis* infiziert waren. Zu vermuten ist hier, dass das Ethanol die Cuticula der Pflanze beschädigt hat und der Pilz besser eindringen konnte.

Bei der Gieß-H₂O sowie bei der Sprüh-EtOH-Variante zeigte sich keine Veränderung der Pflanzenbiomasse der mit *Salix*-Extrakten behandelten Pflanzen im Vergleich zur Kontrolle (Abbildung 6). In der Sprüh-H₂O-Variante konnte mit der Behandlung des Feldsalates mit *Salix*-Extrakten eine erhöhte Biomasse im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden (Abbildung 6). Die Wassergehalte der Pflanzen, welche nicht mit *Botrytis* infiziert wurden, zeigten keine statistisch nachweisbaren Unterschiede (Abbildung 8). Die Biomasse von Feldsalat, welcher mit *Salix*-Extrakten in unterschiedlicher Weise und in unterschiedlichen Konzentrationen behandelt wurde, zeigte nach einer Infektion mit *Botrytis* keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 7). Lediglich in der Sprüh-EtOH-Variante gab es Veränderungen in der Pflanzenbiomasse. Während die Wassergehalte in der Gieß-H₂O-Variante nicht signifikant durch die *Botrytis*-Infektion verändert wurde, zeigte sich im *Botrytis* infiziertem Feldsalat der Sprüh-H₂O- sowie Sprüh-EtOH-Variante mit steigendem *Salix*-Extrakteinsatz zunächst ein Abfall und dann wiederum Anstieg der Blattwassergehalte (Abbildung 8). Durchgängig waren jedoch die Blattwassergehalte bei allen

Varianten im Feldsalat, welcher mit *Botrytis* infiziert wurde, geringer als bei den jeweiligen Varianten ohne *Botrytis*-Infektion (statistisch signifikant für: Gieß-H₂O-2 mg, Gieß-H₂O-4 mg, Sprüh-H₂O-2 mg, Sprüh-EtOH-0 mg, Sprüh-EtOH-2 mg, Tukey's HSD Test, $p \leq 0,05$, Abbildung 8).

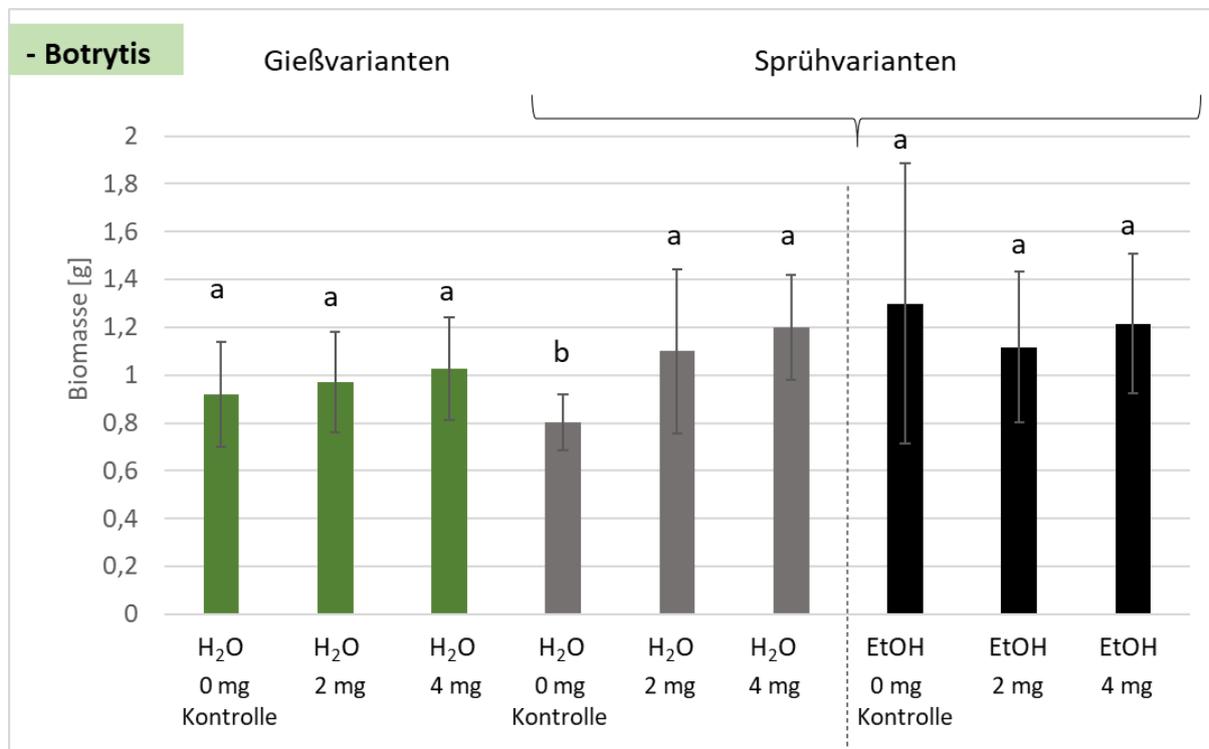


Abb. 6: Biomasse des mit den Phenolglykosiden behandeltes Feldsalates ohne anschließender Infektion mit *Botrytis cinerea* (Tukey's HSD Test, $p \leq 0,05$, innerhalb der drei Behandlungsvarianten)

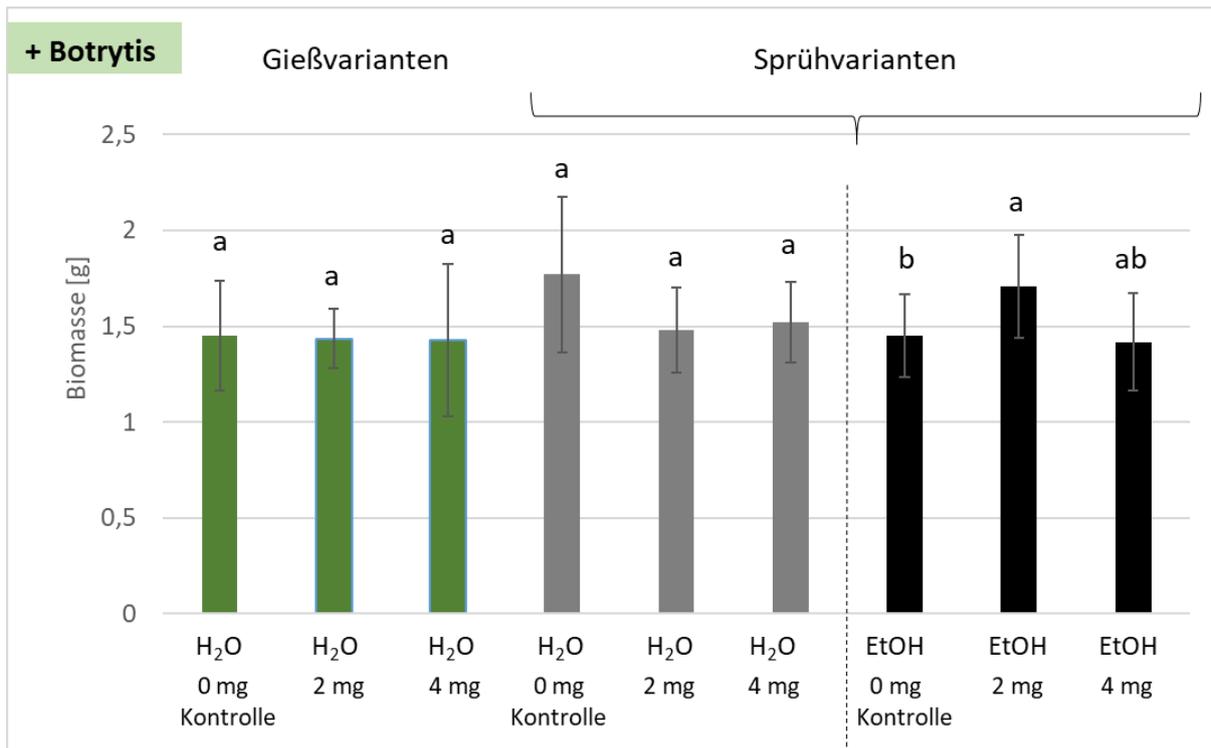


Abb. 7: Biomasse des mit den Phenolglykosiden behandeltes Feldsalates mit anschließender Infektion mit *Botrytis cinerea* (Tukey's HSD Test, $p \leq 0,05$, innerhalb der drei Behandlungsvarianten)

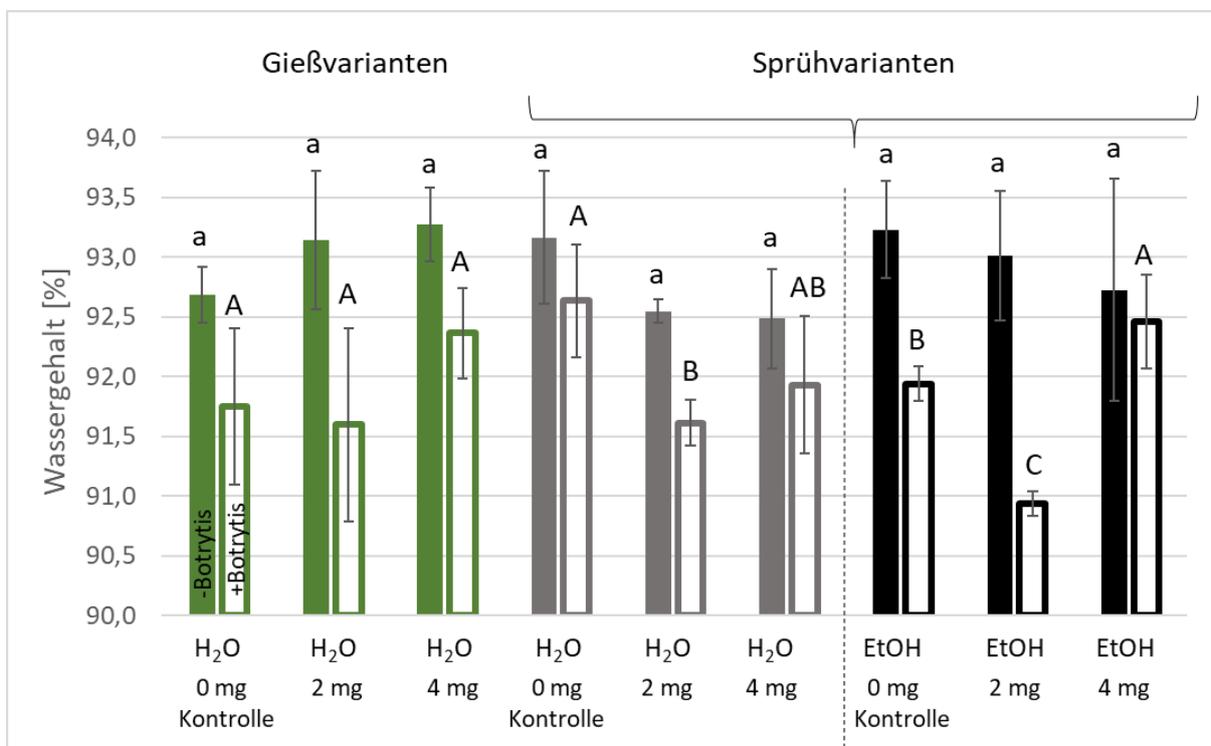


Abb. 8: Wassergehalt des mit den Phenolglykosiden behandeltes Feldsalates mit/ohne anschließender Infektion mit *Botrytis cinerea* (Tukey's HSD Test, $p \leq 0,1$ innerhalb der drei Behandlungsvarianten, Kleinbuchstaben/gefüllte Balken: Varianten ohne anschließender *Botrytis*-Infektion, Großbuchstaben/Balken ohne Füllung: Varianten mit anschließender *Botrytis*-Infektion)

4 Zusammenfassung der Ergebnisse und resultierende Erkenntnisse (Voraussichtlicher Nutzen)

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die hergestellten *Salix*-Extrakte im gefrorenen Zustand ohne Inhaltsstoffverluste gelagert werden können. Auch eine Lagerung bei Raumtemperatur ist über eine kürzere Zeit ohne größere Verluste möglich. Pflanzen können mit den *Salix*-Extrakten gegossen oder besprüht werden. Eine Verabreichung der Extrakte gelöst in Wasser ist zu empfehlen, da die mit Ethanol gegossenen Pflanzen abstarben und die Frischmasse des Feldsalates im Vergleich zu den Wasservarianten in der Ethanol-Sprühvariante signifikant verringert wurde. Ein PG-Gehalt von 2 mg und 4 mg pro Pflanze zeigten sich als optimal für die Anwendung, da die Biomassen durch die Zugabe vom *Salix*-Extrakt auf die Pflanzen nicht negativ beeinflusst wurden. Aufgrund der Ergebnisse der Infektionsversuche mit *B. cinerea* konnte festgestellt werden, dass sich eine Anwendung der *Salix*-Extrakte auf ethanolischer Basis (Sprühextrakt) positiv auf die Etablierung und Vermehrung von *Botrytis* auswirkte (Beobachtungen *Botrytis*-Infektion zweiter Hauptversuch). Die Nutzung dieser als Pflanzenschutz- bzw. Pflanzenstärkungsmittel ist daher nicht zu empfehlen. Eine positive Wirksamkeit zeigten die *Salix*-Extrakte bei der Hemmung des Wachstums der Blattlaus *M. persicae*. In der Gieß-H₂O-Variante sowie in der Sprüh-EtOH-Variante konnte das Populationswachstum der Blattlaus signifikant verringert werden.

Die Ergebnisse bilden die Basis für weiterführende Untersuchungen bzw. die Grundlage für einen umfangreichen Projektantrag bei der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe. Die Leistungsfähigkeit von *Salix*-Extrakten für die biologische Pflanzenstärkung und den Pflanzenschutz muss umfangreich untersucht und aufgeklärt werden, um langfristig ein wirksames, natürliches Präparat zu entwickeln und die Attraktivität und Rentabilität von Umtriebsplantagen (Kaskadennutzung) zu steigern.