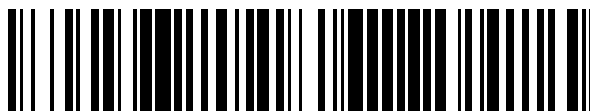


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 747**

51 Int. Cl.:

A01N 65/20 (2009.01)

A01P 3/00 (2006.01)

A01P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2008 PCT/EP2008/059402**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.01.2009 WO09010567**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2008 E 08775182 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.05.2017 EP 2178380**

54 Título: **Procedimiento para la producción de un extracto fungicida de Glycyrrhiza glabra estable en almacenamiento para el control de hongos fitopatógenicos y otras enfermedades en plantas**

30 Prioridad:

18.07.2007 GR 20070100461

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

03.08.2017

73 Titular/es:

**TRIFOLIO-M GMBH, HERSTELLUNG UND
VERTRIEB HOCHREINER BIOSUBSTANZEN
(100.0%)**

**Dr.-Hans-Wilhelmi-Weg 1
35633 Lahnau, DE**

72 Inventor/es:

**KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS, STAVROULA;
SCHMITT, ANNEGRET;**

**CERGEL, SYLVIA;
KLEEBERG, HUBERTUS y
RUNTE, JULIA**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques
o Bemerkungen) en el folleto original publicado
por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 628 747 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la producción de un extracto fungicida de *Glycyrrhiza glabra* estable en almacenamiento para el control de hongos fitopatogénicos y otras enfermedades en plantas

5 El objeto de la presente invención es, en el aspecto más general, el control de enfermedades vegetales fúngicas y/o bacterianas en agricultura mediante la aplicación de un extracto estable al almacenamiento de partes de la planta *Glycyrrhiza glabra*.

En particular, la presente invención se refiere a un procedimiento para la producción de un extracto de *Glycyrrhiza glabra* estable durante el almacenamiento a partir de componentes de la planta y al uso del extracto resultante de *Glycyrrhiza glabra* contra hongos patogénicos de plantas y/o contra bacterias patogénicas de plantas.

10 Las enfermedades fúngicas están causadas ubicuamente por muchos hongos que pertenecen, por ejemplo, a las familias de los filos oomicetos, ascomicetos, deuteromicetos (hongos mitosporicos, Funghi imperfecti) y basidiomicetos. Estos hongos pertenecen a los grupos principales de hongos que conducen a problemas de enfermedades, que dan lugar a enormes pérdidas económicas. Los fungicidas sintéticos se utilizan con frecuencia y en grandes cantidades con el fin de controlar las enfermedades. Sin embargo, esto tiene un fuerte impacto en los ingresos de los productores y el medio ambiente y es inaceptable para la agricultura ecológica.

20 La investigación sobre las aplicaciones de extractos de plantas para el control de enfermedades fúngicas y otros vectores de enfermedades son frecuentes en la agricultura (especialmente para la producción orgánica). El producto comercial Milsana[®], producido a partir del extracto de *Reynoutria sachalinensis*, es un ejemplo de un extracto de planta con éxito utilizado especialmente en la producción orgánica, a fin de controlar con eficacia los mildius pulverulentos de cultivos hortícolas y otros cultivos en varios países. Los productos extractos de plantas, altamente eficaces contra enfermedades fúngicas, sin embargo, no están muy disponibles en el mercado. El control de los hongos en la producción de cultivos integrados y orgánicos se basa principalmente en el uso de compuestos de cobre (fungicidas). En particular, cuando ya se ha establecido la enfermedad, el cobre es el único producto disponible utilizado en la producción orgánica para reducir la gravedad de la enfermedad. Sin embargo, el cobre tiene impactos tóxicos sobre el medio ambiente y, por lo tanto, tiene que reemplazarse con urgencia por otras sustancias en la producción agrícola. Debido a la toxicidad del cobre, la Unión Europea tiene kg/ha hasta 2010 de acuerdo con el Reglamento de la CEE 2092/91. Extractos de plantas con características anti-hongos constituyen una alternativa al uso del cobre y podrían considerarse de gran importancia económica y ecológica.

30 Por lo tanto, es evidente que todavía existe una necesidad de aplicaciones que sean muy eficaces contra enfermedades fúngicas y que podrían utilizarse en la producción de cultivos integrados y orgánicos. Por lo tanto, es un objeto de la presente invención satisfacer tal necesidad. Fukui y col. informan sobre flavonas antimicrobianas aisladas de las hojas de *Glycyrrhiza glabra* en Chem. Pharm. Bull, 1988, 36, 4174-4176

35 Sorprendentemente, el solicitante ha descubierto que un extracto de *Glycyrrhiza glabra*, derivado de partes aéreas de la planta, partes de plantas secas, se puede utilizar para controlar hongos fitopatogénicos de plantas, como plantas de cultivo, ornamentales, etc. El extracto pulverizado (uno o varias aplicaciones) reduce la gravedad de la enfermedad de las plantas de manera eficiente (reducción del 60-100 % de la enfermedad) durante un período de varias semanas. El nivel de reducción de la enfermedad depende de la concentración del extracto utilizado y de la presión de la infestación.

40 En el presente documento se describe un procedimiento para la producción de un extracto de *Glycyrrhiza glabra* estable al almacenamiento de componentes aéreos de la planta, en el que

- (a) los componentes de la planta se reducen a trozos pequeños
- (b) se añade un disolvente para los componentes de la planta de tamaño reducido para extraer el principio activo (p.a.) de los componentes de la planta, en el que el disolvente usado es agua y/o un disolvente orgánico,
- (c) el p.a. se enriquece en el disolvente (extracción) y
- 45 (d) los componentes de la planta que contienen el poco p.a. residual se separan del disolvente que contiene el p.a.

El extracto de la planta derivado de *Glycyrrhiza glabra* actúa como un extracto antifúngico y es apropiado para su uso en la producción agrícola.

50 La presente divulgación tiene la ventaja de controlar enfermedades fúngicas mediante la aplicación de un extracto de planta. Además, el potencial de la sustitución de cobre por nuevas sustancias activas, derivadas de plantas, podría ser de gran beneficio para la producción agrícola.

La expresión "componentes de la planta" de *Glycyrrhiza glabra* se refiere a partes de la planta, sobre todo las partes aéreas de la planta, por ejemplo las hojas. En particular, se secan las partes de la planta (por ejemplo a temperatura ambiente).

55

La reducción de tamaño se prefiere llevar a cabo moliendo los componentes de la planta hasta obtener un polvo uniforme. A continuación, se produce el extracto a partir de este polvo.

5 Los componentes aéreos de la planta se reducen, preferentemente, a un tamaño menor que 1 mm, más preferible menor que 0,1 mm. La reducción de los componentes de la planta puede llevarse a cabo, por ejemplo, con un molino eléctrico.

10 Los componentes de la planta de tamaño reducido, en particular el polvo, se extraen con agua y/o disolventes orgánicos. Preferiblemente, el disolvente orgánico es un disolvente orgánico polar. En particular el disolvente orgánico se selecciona del grupo que consiste en cetonas (como, por ejemplo, acetona, butanona), alcoholes (como, por ejemplo, etanol, metanol, propanol), ésteres (como, por ejemplo, acetato de etilo) e hidrocarburos halogenados (como, por ejemplo, diclorometano, cloroformo). Más preferentemente, los disolventes orgánicos acuosos (como, por ejemplo, acetona acuosa, dimetilsulfóxido acuoso, acetato de etilo acuoso, alcoholes acuosos, preferentemente etanol acuoso) se utilizan para la extracción.

De acuerdo con la invención, los componentes de la planta de tamaño reducido se extraen con la cantidad de 1 a 50 veces de agua y/o mezclas de agua-disolvente orgánico.

15 Si se utiliza un disolvente orgánico acuoso de acuerdo con la invención, la relación en volumen del disolvente orgánico y el agua está entre 10:1 y 1:100, preferiblemente entre 1:1 y 1:10, más preferiblemente aproximadamente 1:4.

En particular, el agua y/o las mezclas de agua-disolvente orgánico añadidos a los componentes de la planta de tamaño reducido está a aproximadamente 20 °C.

20 De acuerdo con una realización preferida de la invención, la extracción con agua y/o mezclas de agua-disolvente orgánico se lleva a cabo durante un período de aproximadamente 1 a 20 horas, en la que la temperatura del sistema se eleva gradualmente hasta aproximadamente 30 a 80 °C. la extracción se lleva a cabo, por ejemplo, con la ayuda de un aparato Soxhlet, mediante percolación o maceración.

25 Se prefiere especialmente una realización de la presente invención, en la que la solución acuosa se agita a intervalos de aproximadamente 30 minutos y, después, se deja reposar durante aproximadamente 1 a 3 horas para la sedimentación.

30 De acuerdo con otra realización preferida de la invención, la extracción con agua fresca y/o mezclas de agua-disolvente orgánico del residuo restante (etapas (b) y (c)) se repite tanto tiempo hasta que aproximadamente el 90 % de la actividad biológica está presente en la fase líquida. La expresión "actividad biológica", tal como se usa en el presente documento, significa la actividad biológica como fungicida.

35 El extracto derivado inicialmente se puede concentrar y almacenar. Un almacenamiento durante 9 meses a 4 °C reduce ligeramente la eficacia en comparación con un extracto recién preparado. Por lo tanto, el disolvente que contiene el p.a. se puede concentrar mediante la reducción de 1/2 a 1/20 de su volumen, posteriormente a la etapa (d). La concentración deseada de la solución de pulverización se puede ajustar mediante la adición de agua al extracto obtenido inicialmente. En particular, el extracto concentrado se diluye con agua en una relación entre 1:5 y 1:200, en particular entre 1:10 y 1:100, antes de la aplicación.

E l disolvente que contiene el p.a. se puede formular mediante la adición de emulsionantes, aceite vegetal y/o agua.

Además, para formular el extracto se puede añadir un adhesivo u otro aditivo protección de plantas apropiado (como, por ejemplo, Trifolio® S-forte) antes de la aplicación.

40 De acuerdo con la presente invención, se proporciona el uso de de un extracto de *Glycyrrhiza glabra* contra oomicetos. El extracto también se puede usar contra hongos patogénicos de plantas, en particular contra mildius pulverulentos de los cultivos y/o contra bacterias patogénicas de plantas. El extracto de *Glycyrrhiza glabra* se puede utilizar contra todos los grupos principales de hongos que conducen a problemas de enfermedades, por ejemplo, hongos que pertenecen a los filos oomicetos, ascomicetos, deuteromicetos (hongos mitospóricos, Funghi imperfecti) y basidiomicetos.

Ejemplo 1: Eficacia contra las enfermedades de mildiu pulverulento

Las partes aéreas de *Glycyrrhiza glabra* anteriores se secaron a temperatura ambiente, después se molieron en un molino eléctrico hasta el punto de que se forma un polvo uniforme. El extracto se produce a partir de, por ejemplo, 50 g de polvo mediante extracción con 1 l de etanol acuoso durante 5 horas con la ayuda de un aparato de Soxhlet.

50 El extracto etanólico inicial se diluye en agua en una relación 1:5. El 1 % (p/v) de la solución derivada, que también es el producto pulverizado, contiene: 1 % (p/v) de *Glycyrrhiza glabra*, 20 % (v/v) de etanol y 80 % (v/v) de agua. Antes de la pulverización se puede añadir a la solución cualquier adhesivo común con el fin de optimizar el rendimiento de la solución y lograr mejores resultados.

El extracto de *Glycyrrhiza glabra* fue eficaz contra las enfermedades de mildiu pulverulento. Por ejemplo, era eficaz contra los mildiús pulverulentos de tomate y pepino, que son causadas por los hongos *Phytophthora infestans* y *Pseudoperonospora cubensis*, respectivamente. De hecho, la gravedad de la enfermedad de las plantas tratadas se redujo excepcionalmente en comparación con las no tratadas. Las plantas de cultivo toleran los pulverizadores con el extracto de *Glycyrrhiza glabra* sin signos adversos. La producción comercial (producto formulado) del extracto de la planta parece factible según estos resultados.

Ejemplo 2: Eficacia contra *Phytophthora infestans* (tizón tardío) en tomates

El extracto etanólico al 1 % (p/v) de *Glycyrrhiza glabra* se pulverizó, una vez, cada 14 y 20 días, en las plantas de tomate. Las aplicaciones comenzaron cuando las plantas habían desarrollado en su totalidad la 5ª hoja y se hizo hasta "escurrimiento". Además, se pulverizó un número similar de plantas con a) una mezcla de etanol y agua desionizada 1:1 (v/v) y b) el fungicida registrado Fosetal® WP (400 g/100 l). La inoculación artificial de las plantas, con una suspensión de zoosporas-esporangios derivada de hongos *Phytophthora infestans* se realizó justo después de la primera aplicación de las soluciones. Las plantas se mantuvieron en el invernadero hasta la evaluación de gravedad de la enfermedad. La gravedad de la enfermedad se evaluó inicialmente 7 días después de la inoculación artificial y se repitieron las evaluaciones cada 2 a 3 días desde entonces (11 veces en total).

Los resultados mostraron que la gravedad del mildiu pulverulento de plantas de tomate se redujo significativamente con el extracto de la planta (74 %, 97 % a 95 % de reducción de la enfermedad) en todas las frecuencias de aplicación utilizadas (0, 14 y 20 días después de la inoculación), en comparación con las plantas control. El nivel de la reducción de la enfermedad fue comparable con el logrado mediante las aplicaciones del fungicida comercial.

Ejemplo 3 (comparativo): Eficacia contra *Uromyces appendiculatus* (roya de la judía) sobre judías en invernadero

Ensayo 1:

Procedimiento de extracción

Las hojas de *Glycyrrhiza glabra* se molieron hasta un polvo fino utilizando un molino eléctrico. Se mezclaron 200 g de polvo con 2 l de 70 % de agua de etanol/30 % y se digirió durante 2 horas a 60 °C. Posteriormente, el extracto se filtró y se almacenó a 4 °C.

Tratamiento de plantas

En un invernadero, se pulverizaron cuatro plantas por tratamiento con 0; 0,2 y 1 % de solución acuosa (en lo sucesivo, la materia seca de polvo de *Glycyrrhiza glabra*). El extracto digerido se diluye en agua y se añade 0,2 % de Trifolio® S-forte (un aditivo de protección de las plantas registrado; adhesivo y penetrador). La solución derivada al 1 % (g/v) contiene 1 % (p/v) de *Glycyrrhiza glabra*, 7 % (v/v) de etanol y 93 % (v/v) de agua. La solución derivada al 0,2 % (g/v) contiene: 0,2% (p/v) de *Glycyrrhiza glabra*, 1,4 % (v/v) de etanol y 98,6% (v/v) de agua.

24 horas después del tratamiento, las plantas se infectaron artificialmente con una suspensión de esporas de la roya de la judía que contiene 75 mg/l de esporas.

Resultados

El grado de infestación de las plantas se controló durante 3 semanas. El grado de la infestación de las judías fue del 9 % en el control no tratado y 2,2 y 1, 9 % en la variante de tratamiento de 0,2 y 1 %, respectivamente; esto corresponde a una eficacia (según Abbott) de 75 y 79 %, respectivamente.

Ensayo 2:

Procedimiento de extracción

Las hojas de *G. glabra* se molieron hasta un polvo y se extrajeron 200 g de material vegetal con 2 l de etanol al 96 % durante 10 horas en un aparato Soxhlet (temperatura de aproximadamente 60 °C). Después, el disolvente se evaporó en un evaporador rotatorio a aproximadamente 200 ml. Este concentrado se volvió a disolver en etanol al 96 %, lo que da como resultado un volumen total de 400 ml, equivalente a una concentración del extracto del 50 %. El extracto se almacenó en un refrigerador hasta su uso. La dilución para su uso en los ensayos se llevó a cabo con agua desionizada.

Tratamiento de plantas

Se pulverizaron tres plantas de judías por concentración del extracto analizado hasta escurrimiento con extracto de *G. glabra* (concentraciones 0,31 %, 0,63 %, 1 %, 0,25, 2,5 y 5 %). Al día siguiente, se inocularon las plantas con uredosporas de *U. appendiculatus* a una concentración de 1 mg/ml en suspensión en 0,0125 % de Tween 20. Las plantas se mantuvieron a 20 °C durante la noche en una cámara húmeda. Después, se transfirieron las plantas al invernadero. Después de 14 días, se contó el número de pústulas de esporulación en la superficie superior de la

hoja en 3 veces 1 cm².

Resultados

5 1. En la variedad cultivada de judías "Primula", el tratamiento con 5 % de extracto de *G. glabra* dio como resultado una eficacia del 86,3 %. En las plantas tratadas con agua se contaron 9 pústulas por cm² para la comparación. La eficacia después del tratamiento con 0,63 % de extracto de *G. glabra* fue del 45 %. Todos los tratamientos de extracto fueron significativamente diferentes al control.

10 2. En la variedad cultivada "Hildora", la aplicación de 5 % de extracto de *G. glabra* dio como resultado una eficacia del 91,0 %, la aplicación de 1,25 % del extracto dio como resultado una eficacia del 59,6 % (el número de pústulas en el control fue de aproximadamente 13 por cm²). Todas las concentraciones de extracto, excepto el 0,31 %, redujeron la infección significativamente en comparación con el control.

Ejemplo 4 (comparativo): Eficacia contra *Sphaerotheca fuliginea* (mildiu pulverulento) en pepino en el campo

Procedimiento de extracción

15 Las hojas de *G. glabra* se molieron hasta un polvo y se extrajeron 200 g de material vegetal con 2 l de etanol al 96 % durante 10 horas en un aparato Soxhlet (temperatura de aproximadamente 60 °C). Después, el disolvente se evaporó en un evaporador rotatorio a aproximadamente 200 ml. Este concentrado se volvió a disolver en etanol al 96 %, lo que da como resultado un volumen total de 400ml, equivalente a una concentración del extracto del 50 %. El extracto se almacenó en un refrigerador hasta su uso. La dilución para su uso en los ensayos se llevó a cabo con agua desionizada.

Tratamiento de plantas

20 Se trataron las plantas de pepino (pulverización hasta escurrimiento) tres veces cada 14 días, se inició cuando las plantas tenían de 6 a 8 hojas y se pudieron ver los primeros síntomas de mildiu pulverulento (infección natural). Las plantas se dividieron en 3 grupos (12 plantas de cada grupo): el grupo 1 permaneció sin tratar; el grupo 2 se trató con una solución acuosa (que contiene 0,2 % de Trifolio® S-forte) de extracto al 2 % (en referencia a la materia seca de polvo de *Glycyrrhiza glabra*) y el grupo 3 se trató con solución acuosa al 4 % con 0,2 % de Trifolio® S-forte.

Resultados

25 El grado de infestación fue del 55 % en el control sin tratar y del 19 % en el grupo del tratamiento al 2 % y del 10 % en el tratamiento al 4 %, respectivamente. Estos resultados corresponden a eficacias (conforme a Abbott) de 63 y 79 %, respectivamente.

Ejemplo 5: Mildiu pulverulento en pepinos (*Pseudoperonospora cubensis*)

Procedimiento de extracción

30 Las hojas de *G. glabra* se molieron hasta un polvo y se extrajeron 200 g de material vegetal con 2 l de etanol al 96 % durante 10 horas en un aparato Soxhlet (temperatura de aproximadamente 60 °C). Después, el disolvente se evaporó en un evaporador rotatorio a aproximadamente 200 ml.

35 Este concentrado se volvió a disolver en etanol al 95%, lo que da como resultado un volumen total de 400 ml, equivalente a una concentración del extracto del 50 % de la materia seca. El extracto se almacenó en un refrigerador hasta su uso. La dilución para su uso en los ensayos se llevó a cabo con agua desionizada.

Tratamiento de plantas

1. Ensayos sobre las plantas en macetas

40 Se pulverizaron de cuatro a ocho plantas de pepino por concentración del extracto analizado hasta escurrimiento con extracto de *G. glabra* (concentraciones 0,31 %, 0,63 %, 1 %, 0,25, 2,5 y 5 %). Al día siguiente se inocularon las plantas con esporangios de *P. cubensis* a una concentración de 5x10³ por ml, se suspendieron en agua desionizada. Las plantas se mantuvieron a 15 °C durante la noche en una cámara oscura y húmeda. Después, se transfirieron las plantas a una cámara climática. Después de 14 días se evaluó el porcentaje de área foliar infectada.

2. Ensayo en el túnel de polietileno

45 Las plantas de pepino se cultivaron en un túnel de polietileno en cuatro repeticiones, que consiste en 4 plantas por duplicado. Las plantas se pulverizaron semanalmente con 5 % de extracto de *G. glabra* y la infección se realizó artificialmente una vez con una suspensión de esporangios de *P. cubensis*. La evaluación del porcentaje de área de la hoja infectada se llevó a cabo en 12 hojas por planta, en tres plantas por duplicación. La clasificación de la enfermedad comenzó cuando fueron visibles los primeros síntomas del mildiu pulverulento. Se llevaron a cabo
50 semanalmente (en total 9 veces).

Resultados

1. Ensayos sobre las plantas en macetas

El tratamiento de pepinos con 5 % de extracto de *G. glabra* dio como resultado una eficacia de 95,3 %. El valor de CE₅₀ fue de 0,5, lo que indica que 0,5 % de la concentración del extracto conduce a una eficacia del 50 %.

5 2. Ensayo en el túnel de polietileno

El tratamiento con 5 % de extracto de *G. glabra* mantuvo la infección con *P. cubensis* muy baja, lo que da como resultado una eficacia del 77,7 % al final del ensayo. En ese momento, las plantas de control mostraron una tasa de infección del 92 %.

Ejemplo 6 (comparativo): Fitopatógenos bacterianos (*Clavibacter michiganensis* y *Xanthomonas hortorum*)

10 Procedimiento de extracción (véase el ejemplo 5)

Ensayos *in vitro*

15 Para los ensayos con *Clavibacter michiganensis* se usó agar de soja tríptico, para los ensayos con *Xanthomonas hortorum* se usó agar con carbonato cálcico. Se inocularon diez placas Petri por bacteria con 100 µl de suspensiones bacterianas, para cada concentración. A continuación se realizaron agujeros en el agar con un perforador de corcho estéril. En cada agujero, se aplicaron 50 µl de extracto de *G. glabra* (concentraciones 0,31 %, 0,63 %, 1,25 %, 2,5 % y 5 %). Las placas se almacenaron a 28 °C durante de dos a cinco días. A continuación se midieron las zonas de inhibición.

Resultados

20 1. Contra *C. michiganensis*, todas las concentraciones del extracto analizadas dieron como resultado la inhibición del crecimiento en comparación con el control de agua. Las zonas de inhibición variaron de 7,9 cm (concentración del extracto 0,5 %) a 2,1 cm (concentración del extracto 0,31 %).

2. Contra *X. hortorum*, las concentraciones de extracto de *G. glabra* de 5 % a 1,25 % dieron como resultado zonas de inhibición, que van desde 4,4 a 1,25 cm.

3. Los controles de agua no tenían zonas de inhibición en todos los ensayos.

25 **Ejemplo 7 (comparativo): Zanahoria, infestadas con *Alternaria dauci* y *A. radicina***

Procedimiento de extracción (véase el ejemplo 5)

Tratamiento de las semillas

30 Las semillas de zanahoria, infestadas con *A. dauci* y *A. radicina* se empaparon y se agitaron en 10 % de extracto de *G. glabra* durante 30 minutos. A continuación, secaron las semillas durante la noche a temperatura ambiente. Al día siguiente, se sembraron 3 x 100 semillas en recipientes y se registró la emergencia de las plántulas después de 19 días.

Resultados

35 En un primer ensayo, el tratamiento de las semillas con 10 % de extracto de *G. glabra* dio como resultado un aumento de las plántulas sanas emergidas de zanahoria del 15,7 % en el control al 32,7 % en las semillas de tratadas con el extracto. Al mismo tiempo, el porcentaje de plántulas emergidas infestadas se redujo en comparación con el control. Aunque la emergencia total es demasiado baja para la aplicación en la práctica, los resultados son prometedores y los procedimientos de extracción optimizada de *G. glabra* pueden conducir a una eficacia mejorada.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un extracto estable en almacenamiento de *Glycyrrhiza glabra* de componentes aéreos de la planta producidos de acuerdo con un procedimiento, en el que
 - (a) los componentes de la planta se reducen a trozos pequeños,
 - (b) se añade un disolvente a los componentes de la planta de tamaño reducido para extraer el principio activo (p.a.) de los componentes de la planta, en el que el disolvente usado es agua y/o un disolvente orgánico, en el que el disolvente orgánico se selecciona del grupo que consiste en cetonas, alcoholes, ésteres e hidrocarburos halogenados,
 - (c) el p.a. se enriquece en el disolvente (extracción) y
 - (d) los componentes de la planta que contienen el poco p.a. residual se separan del disolvente que contiene p.a.,contra hongos patogénicos de plantas, en particular contra mildius pulverulentos de cultivos, en el que los hongos patogénicos de planta pertenecen a la familia del filo oomicetos.
2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los componentes de la planta de tamaño reducido se extraen con la cantidad de 1 a 50 veces de agua y/o mezclas de agua-disolvente orgánico.
3. El uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el agua y/o las mezclas de agua-disolvente orgánico añadidos a los componentes de la planta de tamaño reducido está a aproximadamente 20 °C.
4. El uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que la extracción con agua y/o las mezclas de agua-disolvente orgánico se lleva a cabo durante un periodo de aproximadamente 1 a 20 horas, en el que la temperatura del sistema se eleva gradualmente hasta aproximadamente 30 a 80 °C.
5. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la solución acuosa se agita a intervalos de aproximadamente 30 minutos y, después, se deja reposar durante aproximadamente 1 a 3 horas para la sedimentación.
6. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la relación en volumen del disolvente orgánico y agua está entre 10:1 y 1:100, en particular aproximadamente 1:4.
7. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que después de la etapa (d) el disolvente que contiene p.a. se concentra reduciendo de 1/2 a 1/20 de su volumen.
8. El uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el extracto concentrado se ajusta mediante la adición de agua en una relación entre 1:5 y 1:200.
9. El uso de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en el que para formular el p.a. se añade un adhesivo u otro aditivo de protección vegetal adecuado.
10. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el disolvente que contiene p.a. se formula mediante la adición de emulsionantes, aceite vegetal y/o agua.
11. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 contra mildius pulverulentos de cultivos.