

# Development of **2H13** an additive based on *Meyerozyma guilliermondii* to enhance the efficacy of fungicides

kunz@bio-protect.de

Lohnerhofstr. 7  
D-78467 Konstanz



**Stefan Kunz**



Sarah Hornig-Schwabe



Sonja Weißhaupt



Frederic Bartoli



Monika Schwarz



Armin Weiß



Maurice Schild

## Research projects

### 2013-2016: Biotechnoomy

- Screening of micro-organisms for efficacy against Oomycetes
  - ⇒ *Meyerozyma guilliermondii* Stamm 2H13 (yeast)
  - ⇒ *Lysobacter enzymogenes* JKI-BI6432 (bacterium)



### 2016-2019: EMKUREDÖL

- „Einsatz von Mikroorganismen zur Kupferreduktion bei der Bekämpfung von Kraut- und Knollenfäule in Kartoffeln und von falschen Mehлтаupilzen in Wein und Gurke im ökologischen Anbau“
- Development of *M. guilliermondii* 2H13 to list it as an additive

sponsored by



Deutsche  
Bundesstiftung Umwelt

[www.dbu.de](http://www.dbu.de)

### 2018-2022: mikroPraep

- „Entwicklung eines breit wirksamen mikrobiologischen Präparates zur Bekämpfung pilzlicher Pflanzenkrankheiten“
- *Lysobacter enzymogenes* JKI-BI6432
- cooperation:



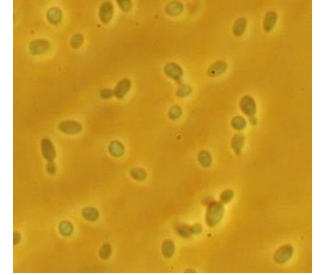
### 2023-2026: Optilyso

- *Lysobacter enzymogenes* JKI-BI6432
- Cooperation:

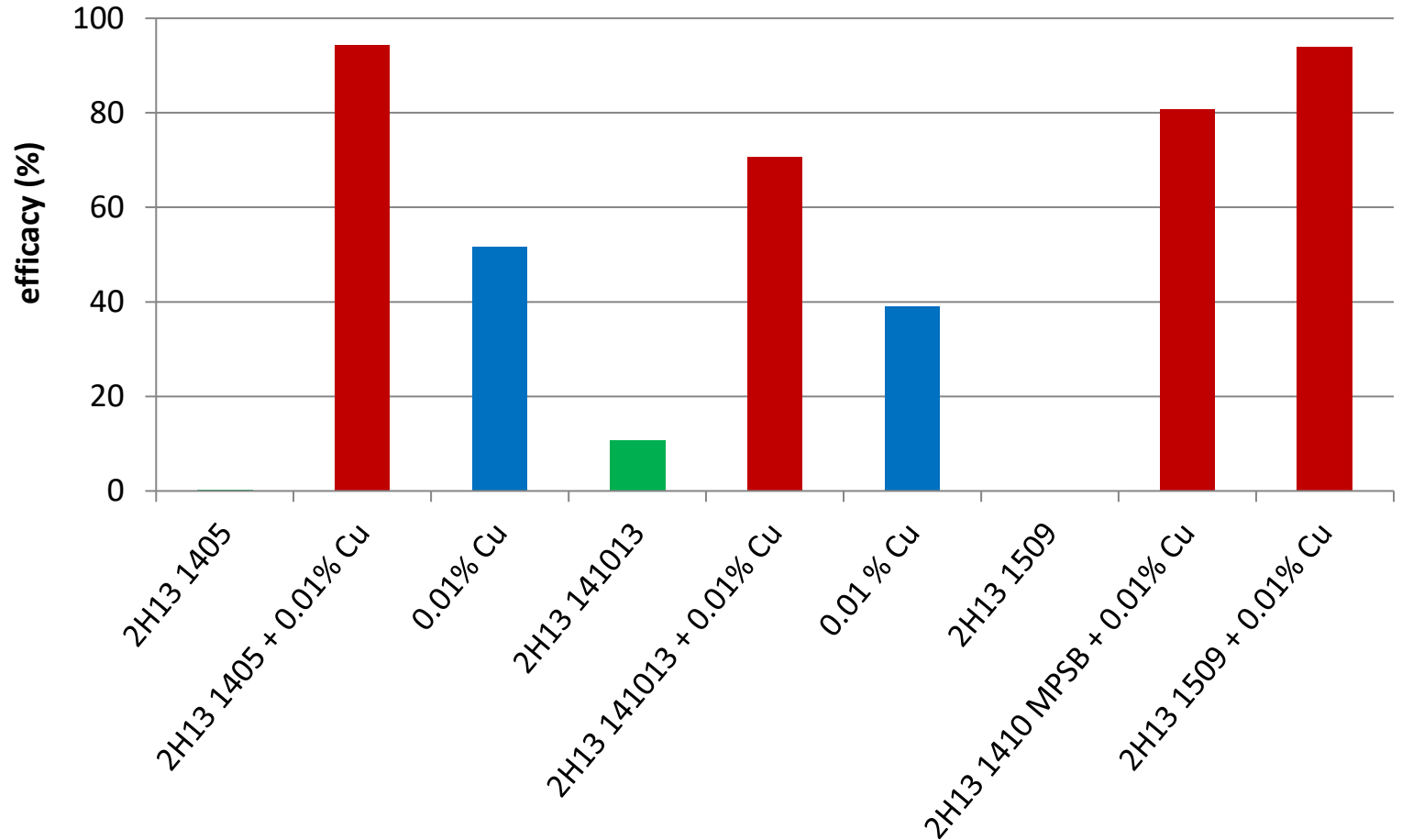
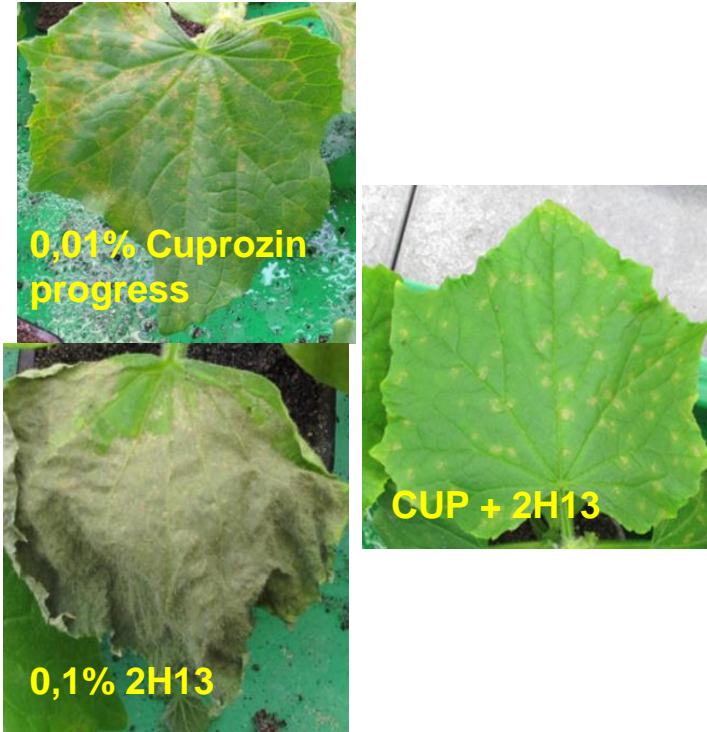


## *Meyerozyma guilliermondii* (2H13)

- Synonyme: *Candida guilliermondii*, *Pichia guilliermondii*
- Ascomycete, yeast like budding blastospores, pseudohyphae possible
- Classification: Order *Saccharomycetales*, Family *Debaryomycetaceae*
- Risk Group 1
- ubiquitous:
  - In soil (Nakayan et al. 2013)
  - In sea water (Savini et al. 2011)
  - Part of the human microflora (Desnos-Ollivier et al. 2008), mainly skin
  - On plant surfaces: grape berries (Li et al. 2010), apple and pears (Pelliccia et al 2011), tropical fruit (de Lima et al. 2013), citrus (Larralde-Corona et al. 2011)...



# JKI, Inst. for biological control – control of *Pseudoperonospora cubensis* (cucumber)



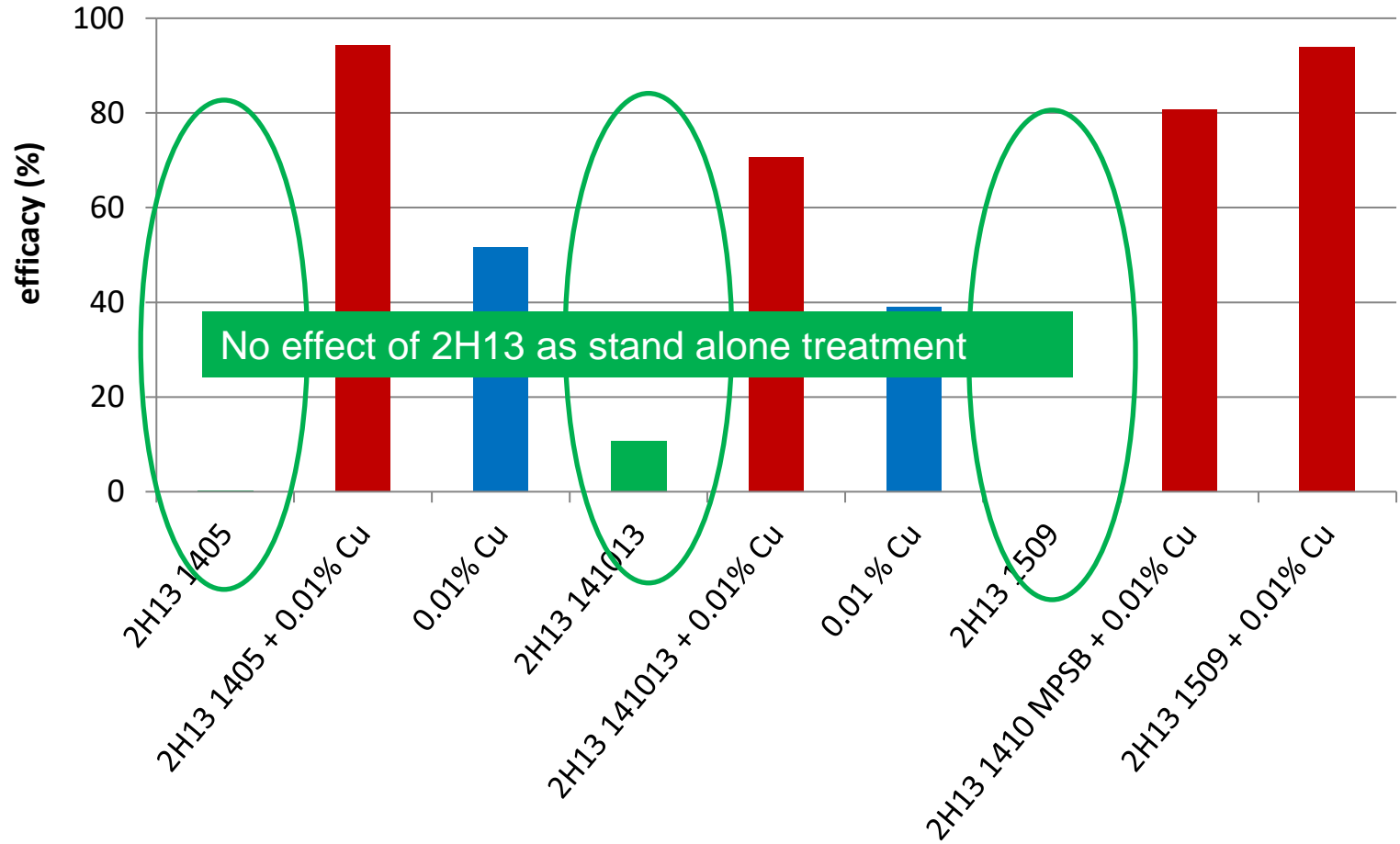
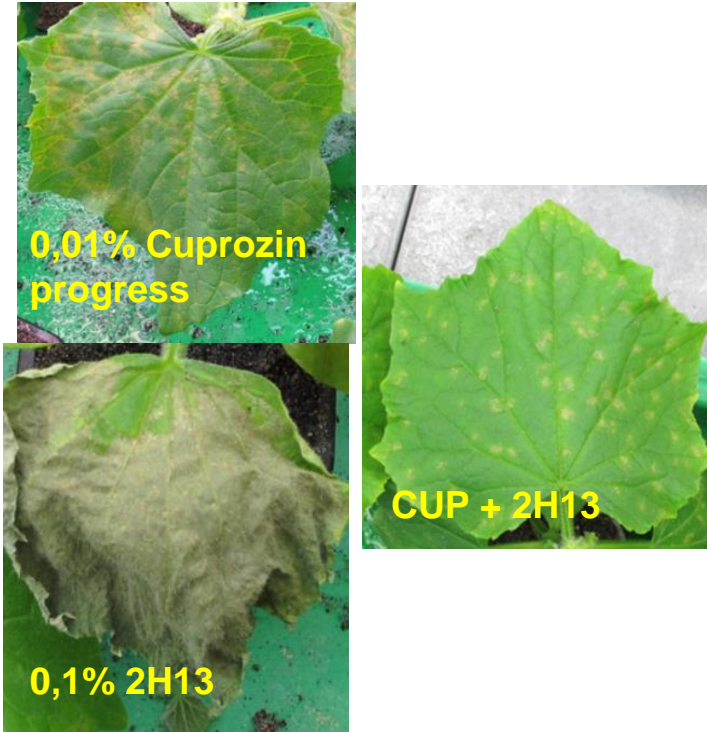
**Cu**= Cuprozin® progress

**Formulation:** freeze dried in MPS (skim milk powder + sucrose)

**2H13 1410 MPSB** was freeze dried in MPS + BP-Buffer



# JKI, Inst. for biological control – control of *Pseudoperonospora cubensis* (cucumber)

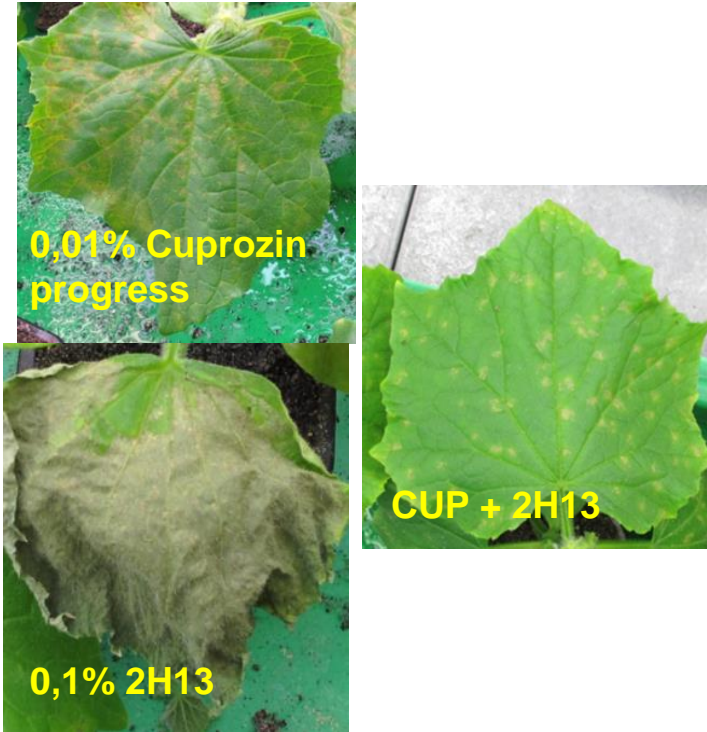


**Cu**= Cuprozin® progress

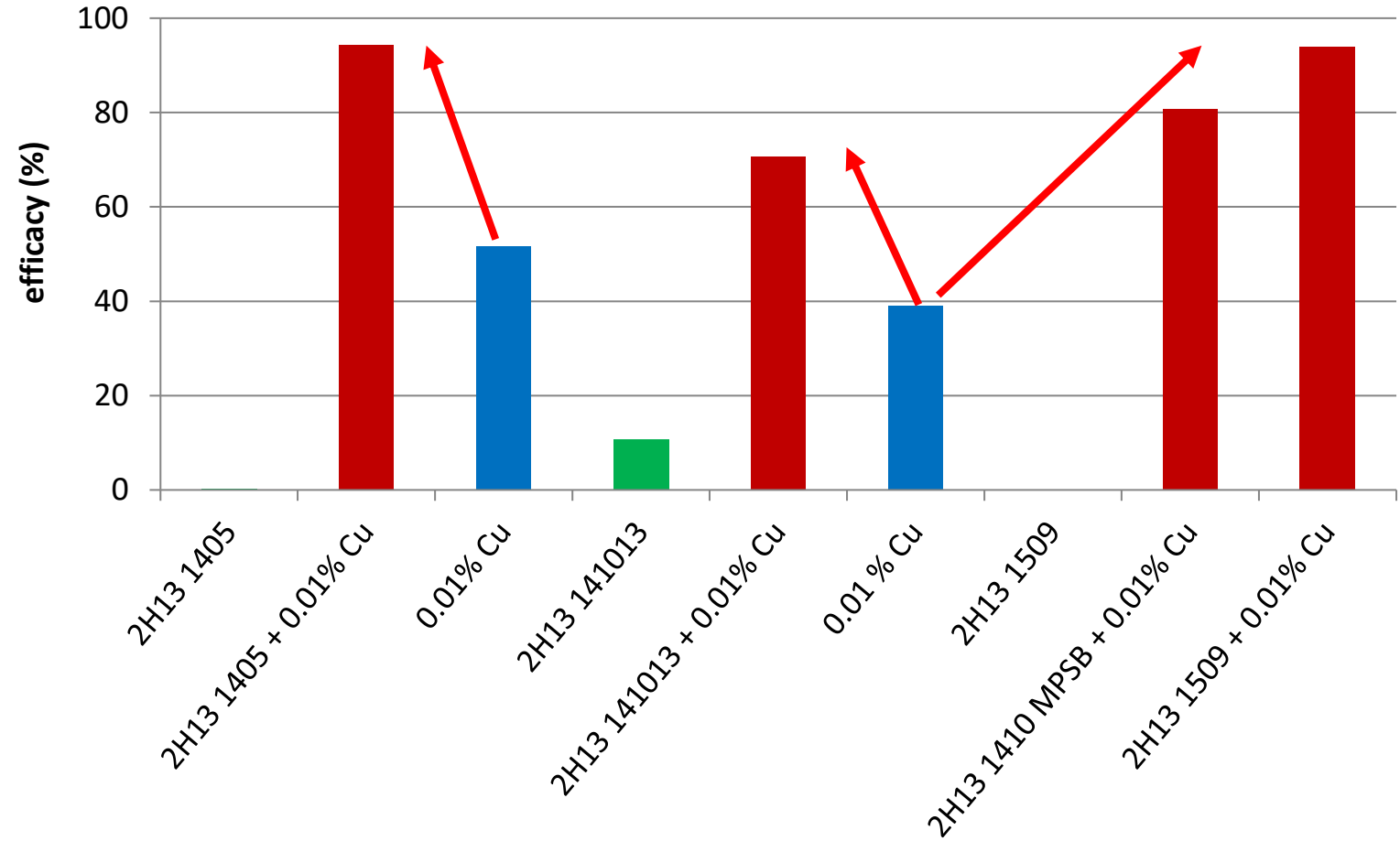
**Formulation:** freeze dried in MPS (skim milk powder + sucrose)

**2H13 1410 MPSB** was freeze dried in MPS + BP-Buffer

# JKI, Inst. for biological control – control of *Pseudoperonospora cubensis* (cucumber)



Enhanced efficacy in mixtures 2H13+Cu compared to Cu stand alone treatment



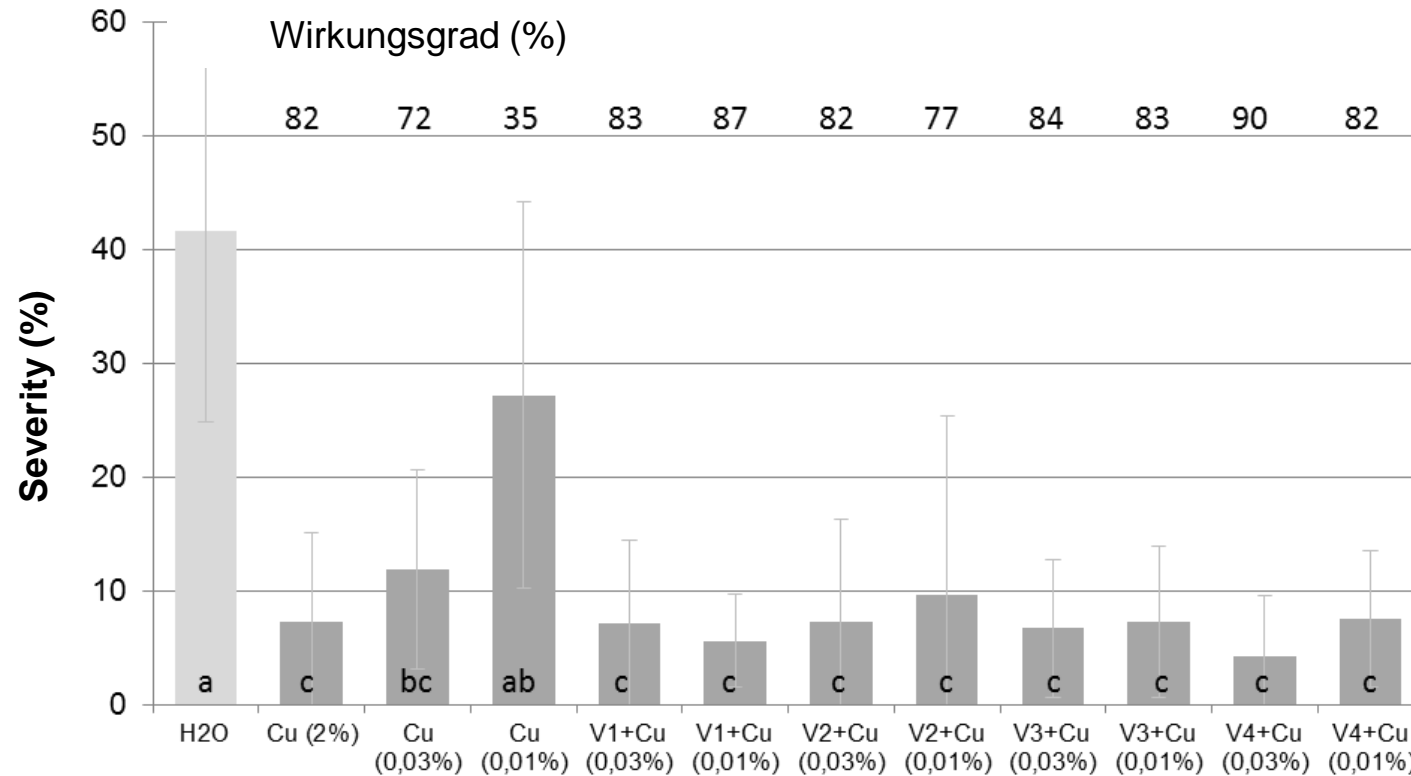
**Cu**= Cuprozin® progress

**Formulation:** freeze dried in MPS (skim milk powder + sucrose)

**2H13 1410 MPSB** was freeze dried in MPS + BP-Buffer

## Klimakammer JKI Darmstadt

*Pseudoperonospora cubensis* / potted cucumber plants



Cuprozin progress (Kupferhydroxid); 250g/L metallic copper

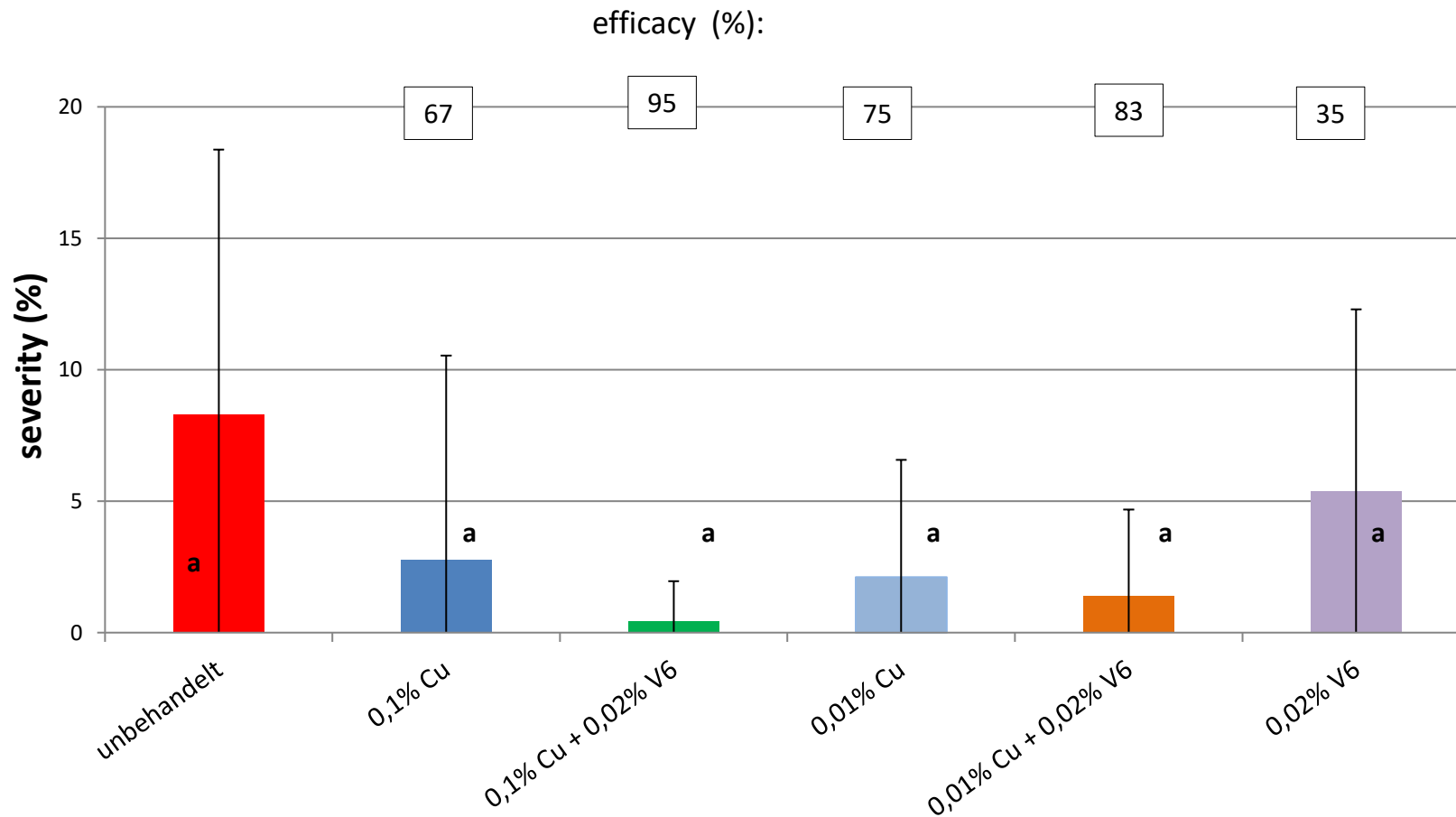
## JKI, Inst. for biological control – control of *Pseudoperonospora cubensis* (cucumber)



	Number of trials	Severity	
		Average Efficacy (%)	T-Test P
0,03% Cuprozin progress	10	58	0,0086
0,03% Cuprozin progress + 2H13	10	71	
0,01% Cuprozin progress	15	53	0,002
0,01% Cuprozin progress + 2H13	15	74	



# Phytophthora Infestans / potted potato plants



Different letters indicate significant differences in Dunn's multiple comparison test ( $p < 0,05$ )

V6: production batch of 2H13

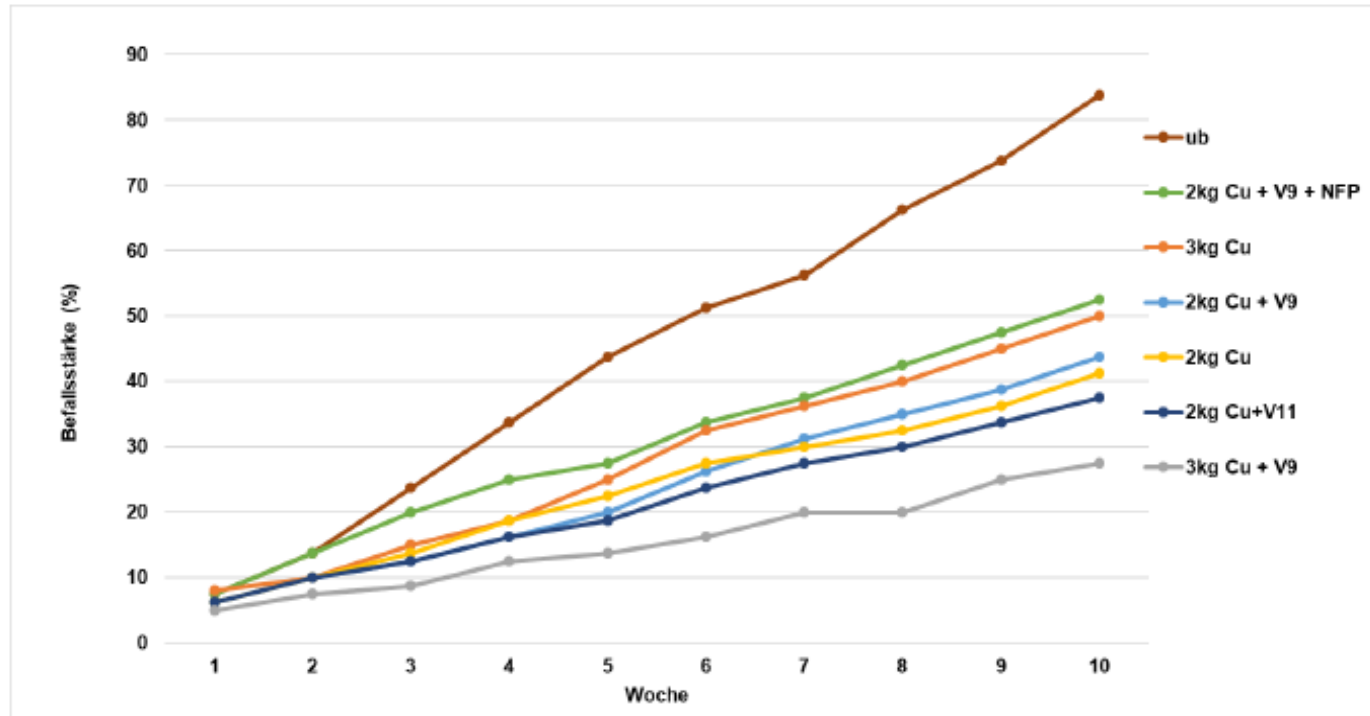
## *P. Infestans* / potted potato plants



	Anzahl	Befallsstärke	
		Mittelwert Wirkungsgrad in %	<i>p</i>
0,1% Cuprozin progress	12	39	0,03
0,1% Cuprozin progress + 2H13	12	56	



# Potato Field Trial, Uni-Hohenheim 2019



*Phytophthora infestans:*  
Disease progress curves

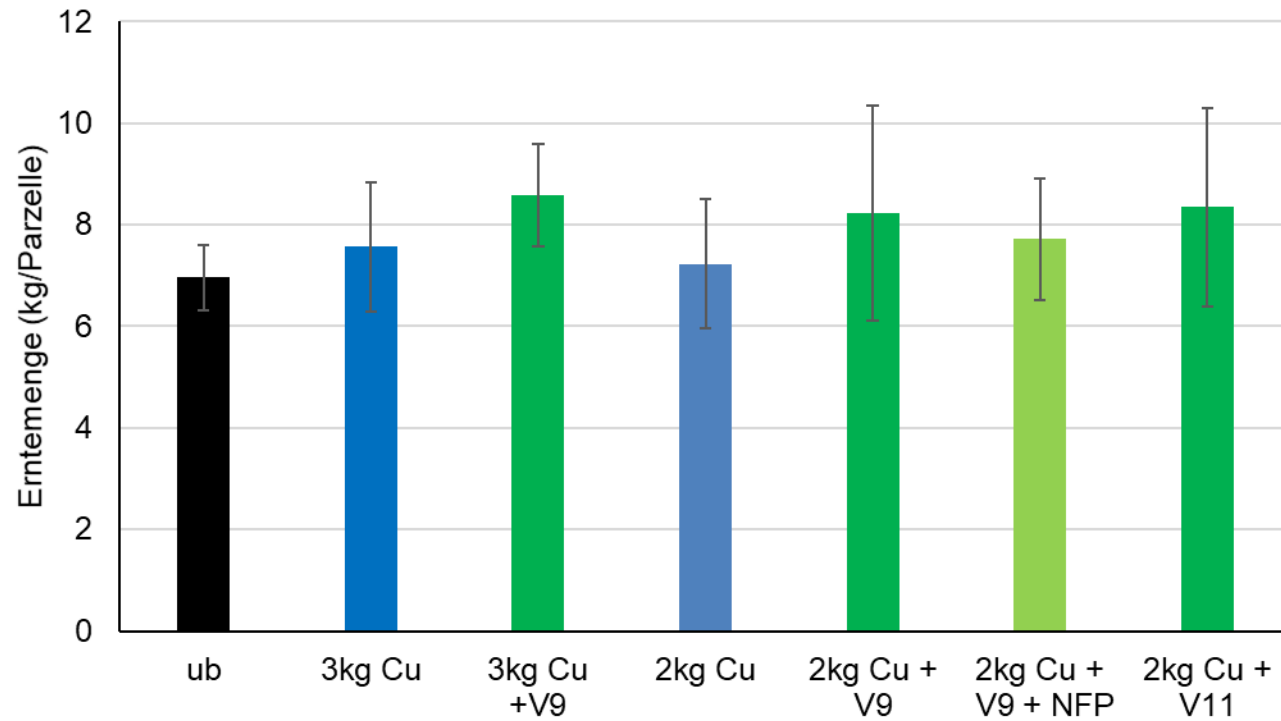


V9; V11: batches of 2H13  
0,02%

NFP: NuFilm P

Cu: metallic copper/ha and  
year (Cuprozin progress)

# Potato Field Trial, Uni-Hohenheim 2019

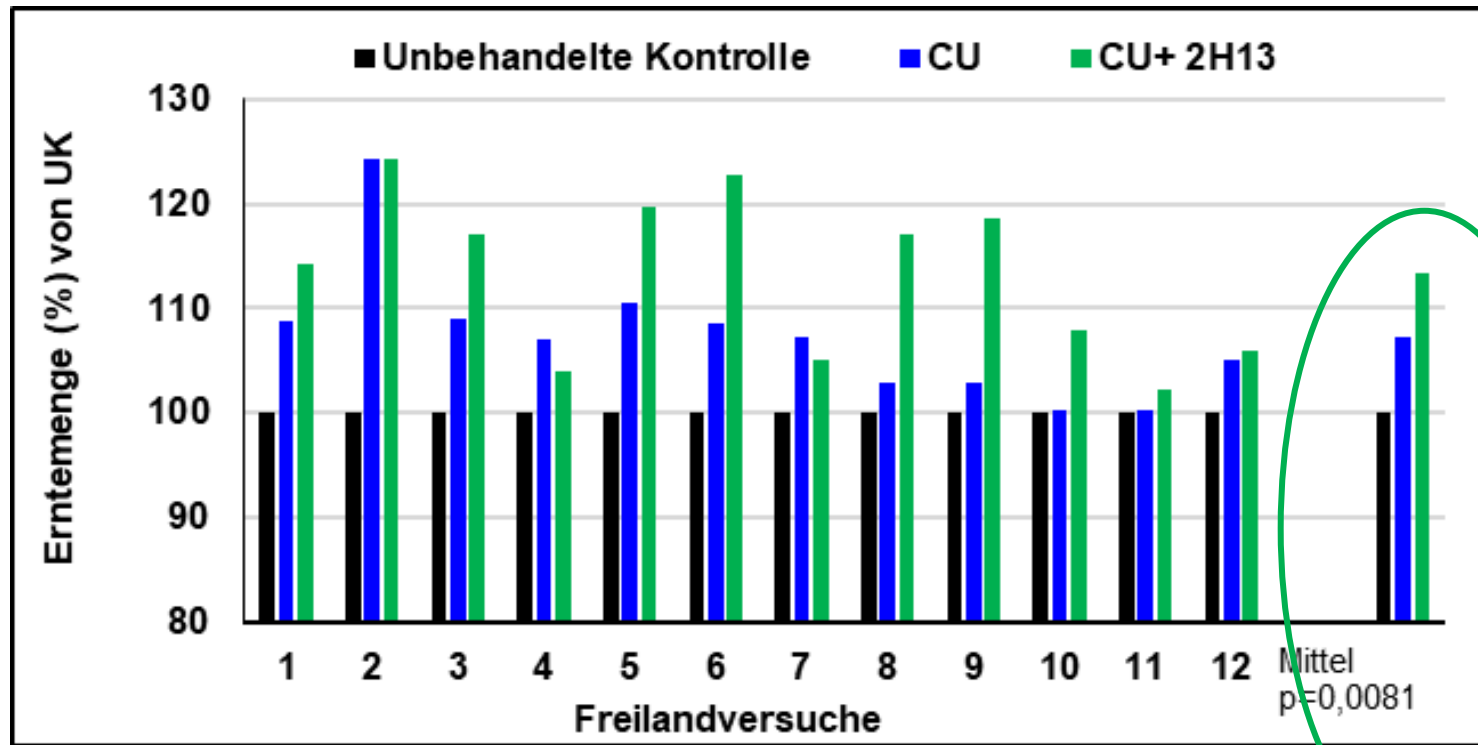


V9; V11: Chargen von 2H13  
0,02%

NFP: NuFilm P

Cu: metallic copper/ha and  
year (Cuprozin progress)

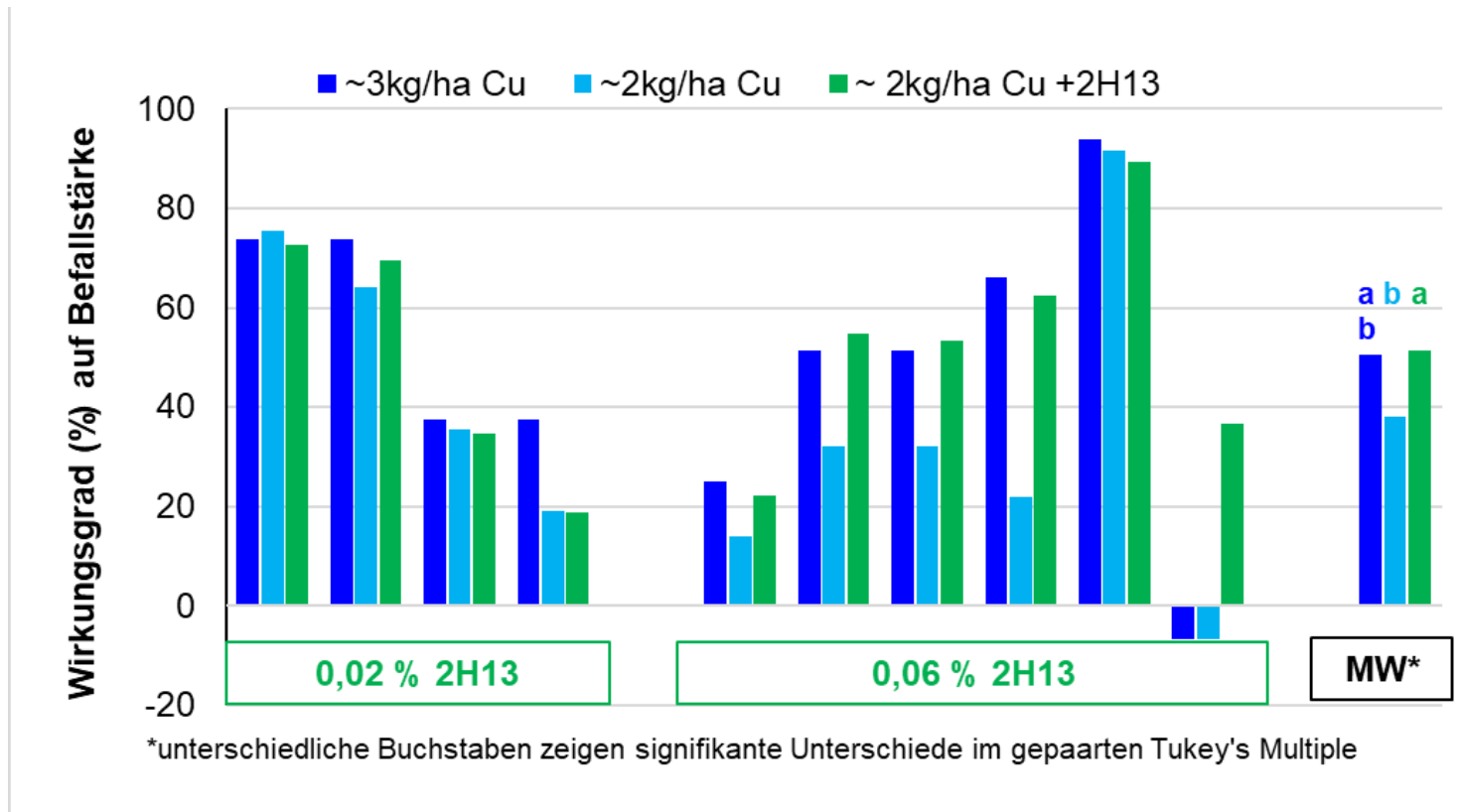
# Potato Field Trials 2017-2020 – Meta-Analysis Yield



Significant higher yield with 2H13



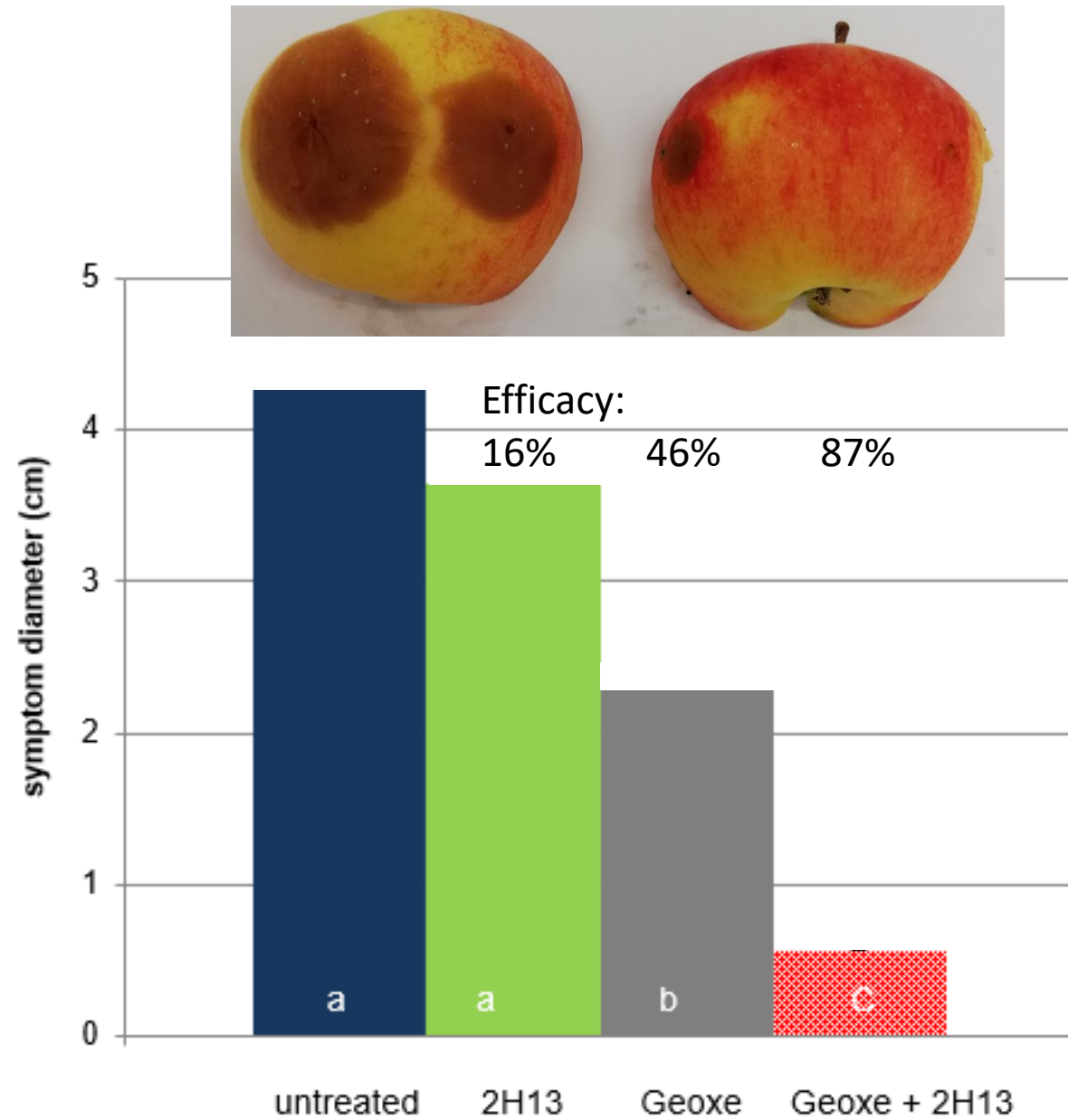
# Field Trials Grapevine 2017-2020– Meta-Analyses severity of *P. viticola* on grapes



\*different letters indicate significant differences in a paired analyses of Variance with subsequent Tukey's Multiple Comparison Test (p<0,05)

# Botrytis sp. in apple

Apple 6 days after inoculation with *Botrytis sp* (20°C).  
Strain Bc73 is multiresistant to fungicides

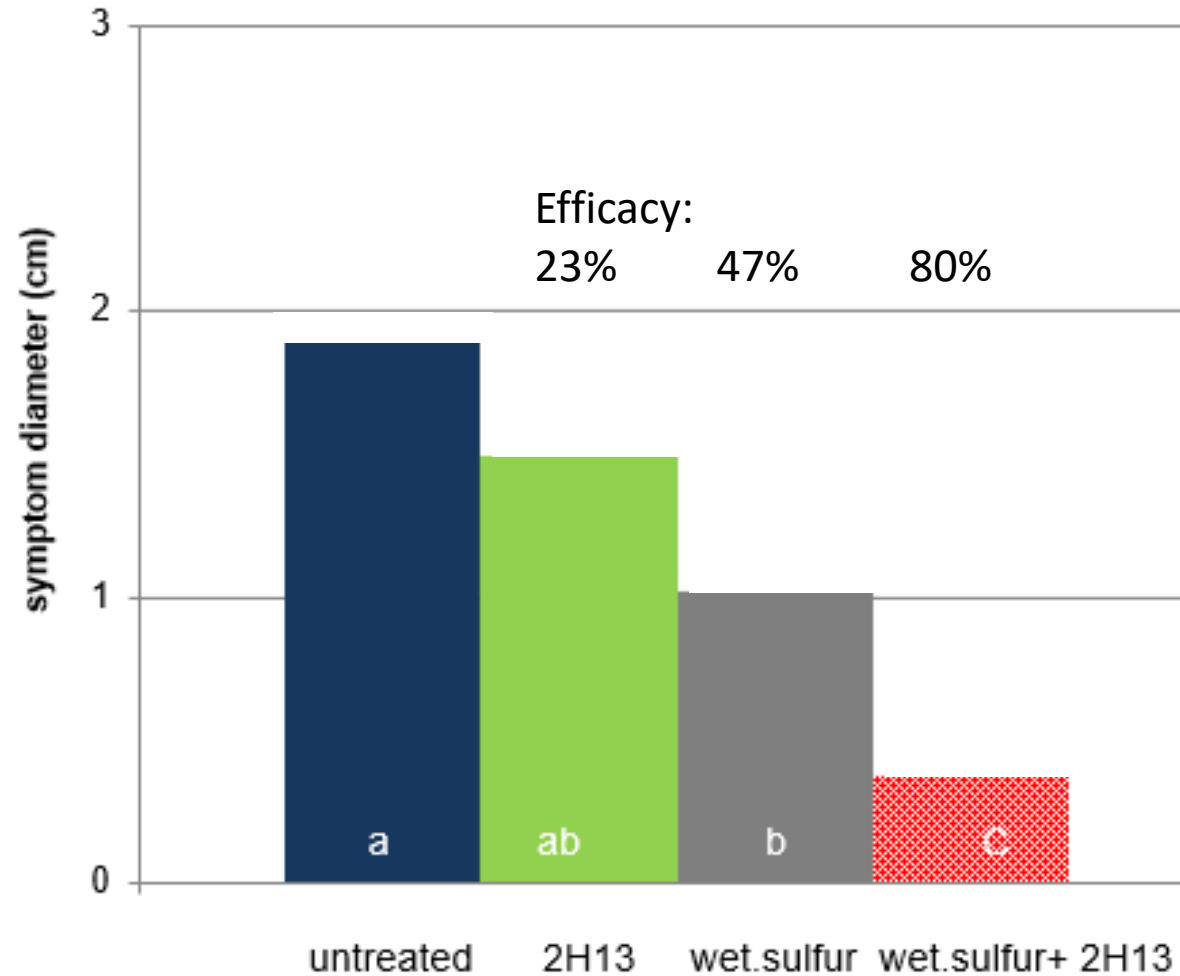


## Neofabraea alba (Gloeosporium) in apple

Apple 6 weeks after inoculation with *Neofabraea alba* (20°C).

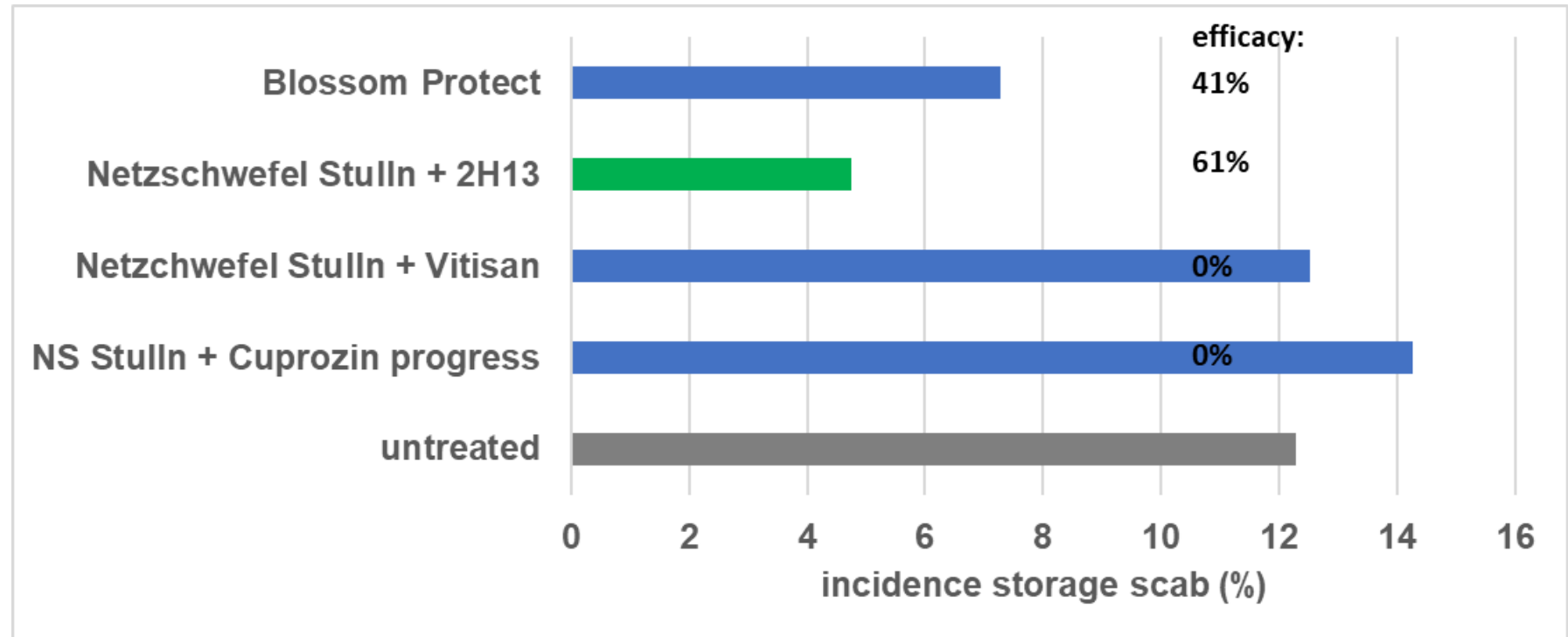
Wet. Sulfur = 0.25% Netzschwefel Stulln

0.06 % 2H13



## Apple field trial – storage scab (*Venturia inaequalis*) – DLR Rheinpfalz 2021

- Cultivar Braeburn
- 6 applications before harvest
- 2H13: 0.25 kg/ha und mKH



Source: Zimmer et al. 2023, organic e-prints in press.

## 2H13 – Additive

- WG-Formulation  
> 900 g/kg blastospores of the strain 2H13 (*Meyerozyma guilliermondii*)  
**4E+10 Blastosporen/g**
- Application rate: 0.05% 2H13
- 06.02.2023 administrative decision on adding „2H13“ to the list of additives in Germany

2H13 is suitable as an additive to registered **copper** and **sulfur**-containing **fungicides** as well as to **fungicidal single-site inhibitors** in fruit, wine, vegetable and ornamental plant cultivation as well as in arable farming.

## 2H13

Neuartiger Zusatzstoff für die Anwendung  
im Wein-, Obst-, Gemüse-, Acker- und Zierpflanzenbau

Zusatzstoff nach § 42 Pflanzenschutzgesetz (Genehmigungsnummer: L200A772-00/00)

Enthält: 4E+10 Blastosporen/g von *Meyerozyma guilliermondii* Stamm 2H13.

**Aufwandmenge:** 0,05% (0,5g/L Spritzbrühe).

Bei Zugabe zu Fungiziden verbessert 2H13 das Sprühverhalten und die Anlagerung der Wirkstoffe an die Pflanzenoberfläche. Die biologische Wirksamkeit von Fungiziden wird dadurch verbessert.

2H13 eignet sich als Zusatz **zu allen zugelassenen und verträglichen Fungiziden im Obst-, Wein-, Gemüse- und Zierpflanzenbau sowie im Ackerbau**. Vor allem der Zusatz zu kupfer- und schwefelhaltigen Fungiziden und zu fungiziden single site Inhibitoren ist zu empfehlen. Nicht Anwenden wenn Verträglichkeitsprobleme zu erwarten sind (detaillierte Liste unter [www.bio-protect.de](http://www.bio-protect.de)). Mehrfachmischungen vermeiden.

### Anwendung

2H13 mit 0,05% zur Spritzbrühe zusetzen (0,2-1 kg/ha). Generell empfehlen wir vor der Anwendung eine Mischungs- und Spritzprobe durchzuführen. Weitere Anwendungshinweise und Informationen über geeignete Mischungspartner finden Sie in der Gebrauchsanleitung und unter [www.bio-protect.de](http://www.bio-protect.de)

### Hinweise zum Schutz des Anwenders

SB001 Jeden unnötigen Kontakt mit dem Mittel vermeiden. Missbrauch kann zu Gesundheitsschäden führen.

SB005 Ist ärztlicher Rat erforderlich, Verpackung oder Etikett des Produktes bereit halten.

SB010 Für Kinder unzugänglich aufbewahren.

SB111 Für die Anforderungen an die persönliche Schutzausrüstung beim Umgang mit dem Pflanzenschutzmittel sind die Angaben im Sicherheitsdatenblatt und die Gebrauchsanweisung des Pflanzenschutzmittels sowie die BVL-Richtlinie „Persönliche Schutzausrüstung beim Umgang mit Pflanzenschutzmitteln“ des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit ([www.bvl.bund.de](http://www.bvl.bund.de)) zu beachten.

SB166 Beim Umgang mit dem Produkt nicht essen, trinken oder rauchen.

SF245-02 Es ist sicherzustellen, dass behandelte Flächen/Kulturen erst nach dem Abtrocknen des Pflanzenschutzmittelbelages wieder betreten werden.

SS110-1 Beim Umgang mit dem unverdünnten Mittel sind Schutzhandschuhe (Pflanzenschutz) zu tragen.

SS206 Arbeitskleidung (wenn keine spezifische Schutzkleidung erforderlich ist) und festes Schuhwerk (z.B. Gummistiefel) tragen bei der Ausbringung/Handhabung von Pflanzenschutzmitteln.

SS2101 Schutzanzug gegen Pflanzenschutzmittel und festes Schuhwerk (z.B. Gummistiefel) tragen beim Umgang mit dem unverdünnten Mittel.

ST1102 Partikelhaltende Halbmaske FFP2 oder Halbmaske mit Partikelfilter P2 (Kennfarbe: weiß) gemäß BVL-Richtlinie für die Anforderungen an die persönliche Schutzausrüstung im Pflanzenschutz, in der jeweils geltenden Fassung, tragen beim Umgang mit dem unverdünnten Mittel.

VH650 Mikroorganismen können ein Potenzial zur Auslösung von Sensibilisierungsreaktionen haben.

Sicherheitshinweise der Mischpartner beachten

### Erste-Hilfe-Maßnahmen:

Den Betroffenen aus dem Gefahrenbereich entfernen. Keine spezifische Behandlung nach Kontakt mit Blastosporen von *Meyerozyma guilliermondii* erforderlich, da kein Auftreten klinischer Symptome bekannt ist. Personen, die vorsichtshalber nach unfallbedingtem Kontakt mit den Zellen von *Meyerozyma guilliermondii* einen Arzt aufsuchen, sollten diesen über den Pilzstamm informieren, und wenn möglich das Gebinde-Etikett als zusätzliche Information vorzeigen. Im Falle von schwerwiegend immunsupprimierten Personen kann trotz der fehlenden Infektiosität des Pilzes eine antimykotische Behandlung angebracht sein.

**Nach Einatmen:** Für Frischluftzufuhr sorgen. **Nach Hautkontakt:** Benetzte Kleidung ablegen, betroffene Hautpartien gründlich mit Wasser und Seife waschen. **Nach Augenkontakt:** Augen sofort mindestens 10 Minuten bei geöffnetem Lidspalt mit viel sauberem Wasser gründlich spülen. **Nach Verschlucken:** Mund mit Wasser ausspülen (nur wenn Verunfallter bei Bewusstsein ist).

Bei anhaltende Beschwerden oder Unwohlsein ärztlichen Rat einholen.

**Gewässerschutz:** Gewässerschutzhinweise und Abstandsaufgaben der Mischpartner beachten.

### Lagerung und Haltbarkeit

Kühl (<8°C), trocken und frostfrei lagern. Keinen Temperaturen über 40 °C aussetzen und vor Sonneneinstrahlung schützen. Für Kinder und Haustiere unzugänglich lagern.

### Entsorgung

Entleerte Packungen zweimal mit Wasser ausspülen und Spüfflüssigkeit der Spritzbrühe zugeben. Gesäuberte Packung der Wertstoffsammlung zuführen. Packung nicht für andere Zwecke wiederverwenden. Altbestände im Biomüll oder Hausmüll entsorgen.

**Haftung:** Die Angaben in dieser Gebrauchsanweisung basieren auf unseren derzeitigen Kenntnissen und Erfahrungen. Sie befreien den Anwender wegen der Fülle möglicher Einflüsse bei der Anwendung unseres Produktes nicht von eigenen Prüfungen und Versuchen. Wir gewährleisten, dass die Zusammensetzung des Produktes in der verschlossenen Originalverpackung dem auf dem Etikett gemachten Angaben entspricht. Eine Vielzahl von Faktoren wie z.B. Witterung, Pflanzensorten, Anwendungstermin, Applikationstechnik, Resistenzen, Mischungen mit anderen Produkten etc. können Einfluss auf die Wirkung des Produkts haben oder zu einer Schädigung an Kulturpflanzen führen. Insbesondere im Obst- Wein- und Gemüsebau können latente phytotoxische Wirkungen von Mischpartnern durch die Zugabe von 2H13 an Früchten oder anderen Pflanzenteilen verstärkt werden und zu Schäden führen. Deshalb empfehlen wir unbedingt zu eigenen Versuchen bzw. Probespritzungen. Gleichfalls können bei Mischungen Ausflockungen nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Für derartige Folgen übernehmen der Vertrieber oder der Hersteller keine Haftung.

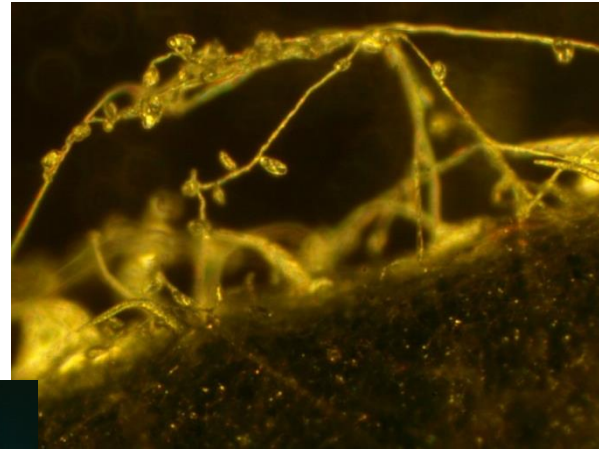


## Compatibility

Präparat	Geprüfte Konz. (%)	Wirkstoff	Wirkstoffgehalt [g/kg] / [g/l]	Mischbar mit 2H13
<b>Fungizide</b>				
Airone WG	0,02	Kupferoxychlorid + Kupferhydroxid	235,3 + 215	<b>Nein</b>
Blossom Protect	0,15	<i>Aureobasidium pullulans</i>	500	<b>Ja</b>
Botector	0,1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	500	<b>Ja</b>
Cantus	0,075	Boscalid	500	<b>Ja</b>
Chorus	0,03	Cyprodinil	500	<b>Ja</b>
Cuprocin progress	1,5	Kupferhydroxid	383	<b>Ja</b>
Curatio	1,6	Calciumpolysulfid (Schwefelkalk)	300	<b>Nein</b>
Delan WG	0,05	Dithianon	700	<b>Nein</b>
Dynali	0,05	Cyflufenamid+Difenoconazol	30 + 60	<b>Ja</b>
Electis	0,18	Zoxamide+Mancozeb	83 + 667	<b>Nein</b>
Flint (WG)	0,01	Trifloxystrobin	500	<b>Ja</b>
Flowbrix	0,83	Kupferoxychlorid	638,7	<b>Nein</b>
Flowbrix	0,415	Kupferoxychlorid	638,7	<b>Ja</b>
Folpan WP 80	0,15	Folpet	800	<b>Nein</b>
Forum	0,4	Dimethomorph	139	<b>Ja</b>
Funguran progress	0,5	Kupferdihydroxid	537	<b>Ja</b>
Geoxe	0,15%	Fludioxinil	50	<b>Ja</b>
Idrox 22 (WG)	0,227	Kupferhydroxid	220	<b>Ja</b>
Kumar (Armicarb)	0,5	Kaliumhydrogencarbonat	850	<b>Nein</b>

Präparat	Geprüfte Konz. (%)	Wirkstoff	Wirkstoffgehalt [g/kg] / [g/l]	Mischbar mit 2H13
<b>Fungizide</b>				
Kumulus WG	0,9	Schwefel	800	<b>Ja</b>
Luna Care	0,2	Fluopyram + Fosetyl	50 + 620,88	<b>Ja</b>
Luna Experience	0,031	Fluopyram + Tebuconazol	200 + 200	<b>Ja</b>
Luna Max	0,1	Fluopyram + Spiroxamine	75 + 200	<b>Nein</b>
Merpan 48 SC	0,1	Captan	480	<b>Nein</b>
Mildicut (SC)	0,1	Cyazofamid	25	<b>Ja</b>
Netzschwefel				
Stulln	0,9	Schwefel	796	<b>Ja</b>
Sercadis	0,02	Fluxapyroxad	300	<b>Ja</b>
Switch	0,2	Fludioxinil+Cyprodinil	250+375	<b>Ja</b>
Talendo	0,025	Proquinazid	200	<b>Ja</b>
Topas (EC)	0,025	Penconazol	100	<b>Ja</b>
Veriphos	0,5	Kaliumphosphit	755	<b>ja</b>
VitiSan	0,5	Kaliumhydrogencarbonat	1000	<b>Ja</b>
Vivando	0,02	Metrafenone	500	<b>Ja</b>

# Thank You!



Supported by:  
  
Federal Ministry of  
Food, Agriculture  
and Consumer Protection  
  
based on a decision of the Parliament  
of the Federal Republic of Germany

  
Federal Office for  
Agriculture and Food

**ptble**  
Projektträger Bundesanstalt  
für Landwirtschaft und Ernährung

sponsored by  
**DBU**  
Deutsche  
Bundesstiftung Umwelt  
[www.dbu.de](http://www.dbu.de)