



Abschlussbericht der Operationellen Gruppe „Vaccinium“

im Rahmen der Europäischen Innovationspartnerschaft (EIP)

Laufzeit: 05.02.2019 – 15.08.2022



Dipl. Biol. Elke Haase, piccoplant Mikrovermehrungen GmbH

Abschlussbericht

Entwicklung und Einsatz von smarten Düngemitteln und Pflanzenstärkungsmitteln für den ökologischen Heidelbeeranbau

1. Kurzdarstellung	5
1.1 Ausgangssituation und Bedarf.....	5
1.2 Projektziel und konkrete Aufgabenstellung.....	6
1.3 Mitglieder OG.....	8
1.4 Projektgebiet.....	10
1.5 Projektlaufzeit und Dauer.....	10
1.6 Budget (Gesamtvolumen und Fördervolumen)	11
1.7 Ablauf des Verfahrens.....	11
1.8 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	12
2. Eingehende Darstellung	13
2.1 Verwendung der Zuwendung.....	13
2.1.1 Gegenüberstellung der geplanten und der tatsächlich durchgeführten und abgeschlossenen Teilschritte.....	13
2.1.2 Darstellung der wichtigsten finanziellen Positionen.....	13
2.2 Detaillierte Erläuterung der Situation zu Projektbeginn.....	14
2.2.1 Ausgangssituation.....	14
2.2.2 Projektaufgabenstellung.....	15
2.3 Ergebnisse der OG in Bezug auf.....	17
2.3.1 Gestaltung der Zusammenarbeit im Einzelnen.....	17
2.3.2 Besonderer Mehrwert bei der Durchführung des Projektes als OG.....	17

2.3.3 Weitere Zusammenarbeit der Mitglieder der OG nach Abschluss des geförderten Projektes.....	17
2.4 Ergebnisse des Innovationsberichtes.....	17
2.4.1 Zielerreichung.....	17
2.4.2 Abweichungen zwischen Planung und Ergebnis.....	18
2.4.3 Projektverlauf.....	18
2.4.4 Beitrag des Ergebnisses zu förderpolitischen EIP-Themen.....	65
2.4.5 Nebenergebnisse.....	66
2.4.6 Arbeiten die zu keinem Ergebnis geführt haben.....	66
2.4.7 Mögliche weitere Verwendung von Investitionsgütern.....	66
2.5 Nutzen der Ergebnisse für die Praxis.....	66
2.6 Geplante Verwertung und Nutzung der Ergebnisse.....	67
2.7 Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit.....	67
2.8 Kommunikations- und Disseminationskonzept.....	68

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Milestone-Plan mit Arbeitspaketen.....	11
Tabelle 2: Tabellarische Gegenüberstellung der geplanten und der durchgeführten Arbeiten.....	14
Tabelle 3: Aufstellung der finanziellen Positionen /Ausgaben der Zusammenarbeit.....	14
Tabelle 4: Eingesetzte Cellulosen.....	21
Tabelle 5: Polymermatrizen und entsprechende Gele.....	22
Tabelle 6: Zusammensetzung der Formulierungen mit Algenextrakt.....	28
Tabelle 7: Granulate mit Hühnertrockenkot (HTK).....	31
Tabelle 8: Ansätze für die Düngemittelversuche (2020).....	34
Tabelle 9: Durchschnittliche Bewertung der Pflanzenqualität.....	37
Tabelle 10: Treatments des Düngeexperiments Sommersaison 2020.....	41
Tabelle 11: Ansätze für die Düngemittelversuche (Aufwandmengen).....	43
Tabelle 12: Beikräuter.....	47
Tabelle 13: Ansätze der Düngemittlexperimente (Sommersaison 2021).....	49

Tabelle 14: Ausgewählte Zeolithe.....	57
Tabelle 15: Versuche mit Pflanzenstärkungsmitteln und Bodenverbesseren.....	65

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vaccinium "Heerma II" behandelt mit Chitosan.....	18
Abbildung 2: Vaccinium "Heerma II" behandelt mit Silikat.....	19
Abbildung 3: Versuche mit Algenextrakten an <i>Vaccinium myrtillus</i>	20
Abbildung 4: FTIR Spektrum von NaCMC & DACMC-4.....	23
Abbildung 5: Hergestellte Hydrogele.....	24
Abbildung 6: Freisetzungsgeschwindigkeit von Fe(II)salz aus unterschiedlichen Matrizen.....	25
Abbildung 7: Einfluss der verschiedenen Formulierungen und Coatings auf das Wachstum von Heidelbeerpflanzen.....	28
Abbildung 8: Behandelte Pflanzen im Gewächshaus.....	29
Abbildung 9: Entwicklung eines Prozesses für HTK-Dünger Granulat mit slow-release Funktion.....	30
Abbildung 10: Formulierter Ammonium-Dünger mit Hühnertrockenkot.....	31
Abbildung 11: Höhenwachstum der Versuchspflanzen nach 4 und 10 Wochen.....	37
Abbildung 12: Unbehandelte Versuchspflanzen (Seitenansicht + Nahaufnahme	
Abbildung 13 der Blätter) nach 9 Wochen.....	38
Abbildung 14: Mit Blutmehl (formuliert) behandelte Versuchspflanzen	
Abbildung 15 nach 9 Wochen.....	38
Abbildung 16: Mit Hühnertrockenkot (formuliert) behandelte Versuchspflanzen	
Abbildung 17 nach 9 Wochen.....	38
Abbildung 18: Blutmehl + Hühnertrockenkot (formuliert) nach 9 Wochen	
Abbildung 19 Nahaufnahme.....	39
Abbildung 20: Mit Biosol behandelte Versuchspflanzen nach 9 Wochen	
Abbildung 21 Nahaufnahme.....	39
Abbildung 22: Effekte (exemplarisch) der Behandlungen nach 14 Wochen.....	42
Abbildung 23: Beispiel für die Farbauswertung der Blätter anhand der Kontrollformulierungen.....	43
Abbildung 24: Einfluss der Formulierungen auf die Blattfarbe zu unterschiedlichen Beprobungszeitpunkten.....	44
Abbildung 25: Effekt der Behandlungen auf die Stickstoffversorgung der Pflanzen.....	45
Abbildung 26: Effekt der Behandlungen auf die Phosphatversorgung der Pflanzen.....	46
Abbildung 27: Unbehandelte Pflanzen vor Beginn der Versuche 2021 (KW 23) und nach 4 bzw. 8 Woche.....	51

Abbildung 28: Mit Biosol gedüngte Pflanzen vor Applikation und nach 4 bzw. 8 Wochen.....	51
Abbildung 29: Mit Blutmehl (formuliert) gedüngte Pflanzen vor Applikation und nach 4 bzw. 8 Wochen.....	51
Abbildung 30: Mit Fischmehl (formuliert) gedüngte Pflanzen vor Applikation und nach 4 bzw. 8 Wochen.....	52
Abbildung 31: Ansatz Hefe mit Aktivkohle vor Applikation und nach 4 bzw. 8 Wochen.....	52
Abbildung 32: Kontrolle (k-Carragenaan, Zeolithe und Chitosan) nach 4 bzw. 8 Wochen.....	52
Abbildung 33: Vaccinium Kulturen im Folientunnel mit 60 L und 30 L Ansätzen.....	56
Abbildung 34: Höhenzuwachs der Pflanzen in cm nach 8 Wochen (Blutmehl-Formulierungen und Kontrollen) n=8.....	58
Abbildung 35: Höhenzuwachs der Pflanzen in cm nach 8 Wochen (Fischmehl-Formulierungen und Kontrollen) n=6.....	58
Abbildung 36: Höhenzuwachs der Pflanzen in cm nach 8 Wochen (HA-Formulierungen und Kontrollen).....	59
Abbildung 37: Zuwachs der Pflanzen in 8 Wochen (Formulierung ohne Zeolithe).....	60
Abbildung 38: Zuwachs der Pflanzen in 8 Wochen (Formulierung mit Zeolithe 1).....	61
Abbildung 39: Zuwachs der Pflanzen in 8 Wochen (Formulierung mit Zeolithe 2).....	61
Abbildung 40: Wurzelballen - Unbehandelte Pflanzen.....	62
Abbildung 41: Wurzelballen - Mit Biosol gedüngte Pflanzen.....	62
Abbildung 42: Wurzelballen - Mit Blutmehl (formuliert) gedüngte Pflanzen.....	63
Abbildung 43: Wurzelballen - Mit Fischmehl (formuliert) gedüngte Pflanzen.....	63
Abbildung 44: Wurzelballen - Ansatz mit Hefe + Aktivkohle.....	63
Abbildung 45: Wurzelballen – Kontrolle (Formulierung ohne Wirkstoffe).....	63

Abkürzungen OG-Miglieder:

Piccoplant: **PP**

FH Bielefeld: **FHB**

SeedForward: **SF**

Biotechnology Consult Nord: **BTN**

Abschlussbericht

1. Kurzdarstellung

1.1 Ausgangssituation und Bedarf

Heidelbeeren sind in Deutschland als Superfood ein signifikant wachsender Markt. Sie werden in Smoothies, Desserts, Müslis, Pfannkuchen, Kuchen oder in Joghurt verarbeitet. 2021 kauften deutsche Kunden über 1 kg pro Kopf, wie der Agrarmarkt Informations-Gesellschaft (AMI) berichtet. Entsprechend stieg auch die Anbaufläche von Heidelbeeren in Deutschland auf über 3.000 ha. Die Fläche hat sich in den vergangenen zehn Jahren mehr als verdoppelt. Hauptanbaugebiet von Heidelbeeren ist Norddeutschland und hier vor allem Niedersachsen. In Niedersachsen werden aktuell 1800 Hektar Heidelbeeren angebaut, wobei etwa 6 - 8 Tonnen pro Hektar geerntet werden.

Dies deckt aber bei weitem nicht die Nachfrage ab. In Deutschland liegt ein Pro-Kopf Bedarf von circa 1.5 kg pro Jahr vor. Hinzu kommt, dass auch die Nachfrage nach biozertifizierten Beeren in den vergangenen Jahren stark zugenommen hat, mit entsprechendem Flächenausbau in der Landwirtschaft. So wurden bereits 2017 laut Zahlen des Bundes ökologische Landwirtschaft (BÖLW) rund 30 Prozent der gesamten Strauchbeerenfläche ökologisch bewirtschaftet, die Tendenz ist deutlich steigend.

Der Anbau von Heidelbeeren ohne Nutzung von industrieller Agrarchemie hat signifikante Nachteile. Einerseits geraten ökologisch arbeitende Betriebe zunehmend durch Befall der Heidelbeeren mit Schädlingen und Krankheitserregern unter Druck (Pilze, Schildläuse, Raupen, Kirschessigfliege etc.).

Zum anderen gedeiht die Heidelbeere nur auf „sauren“ Böden (pH-Wert unter 5) und kann Stickstoff nur in Form von Ammonium, nicht aber Nitrat, aufnehmen. Das in organischen Düngern (tierische Ausscheidungen) enthaltene Ammonium ist relativ instabil und entweicht entweder gasförmig als Ammoniak oder wird im Boden zu Nitrat mineralisiert, das von den Heidelbeeren ganz schlecht aufgenommen wird. Der direkt für die Pflanzen verfügbare Ammonium-Anteil verringert sich deutlich. Eine ungenügende Nährstoffversorgung mit Stickstoff hat zur Folge, dass Biobetriebe im Heidelbeeranbau aktuell nur 3-4 Tonnen pro

Hektar ernten können. Der wirtschaftlich ökologische Anbau von Heidelbeeren wird dadurch in Frage gestellt.

Das Vorhaben der Operationellen Gruppe (OG) verfolgte das Gesamtziel, diese Risikofaktoren im ökologischen Heidelbeeraanbau zu minimieren und so einen ertragsreichen Anbau sicher zu stellen. Dies sollte mit innovativen organischen Düngern und Pflanzenstärkungsmitteln realisiert werden. Insbesondere N-haltige Reststoffe aus der Lebensmittelindustrie sollten zu nachhaltigen Produkten entwickelt werden. Eine Formulierung dieser Stoffe mit Biopolymeren (CMC, Chitosan) sollte eine höhere Stabilität der Produkte im Boden sicherstellen.

1.2 Projektziel und Aufgabenstellung

Im ökologischen Anbau sind keine mineralischen Düngemittel oder Pestizide erlaubt. Aufgrund der hohen Nachfrage nach Bio-Produkten hat die Suche nach Alternativen eine hohe Priorität in der landwirtschaftlichen Forschung. Die OG verfolgt im vorliegenden Projekt neue ökologische Ansätze, wie mit organischen Düngemitteln und Pflanzenstärkungsmitteln die Resilienz und Wirtschaftlichkeit der Kulturen erhöht werden kann. Es galt, einen Herstellungsprozess für Dünge-Produkte zu entwickeln, die zugleich nachhaltig und ökonomisch sind. Die Produkte sollen im ökologischen Heidelbeeraanbau einerseits als N-organischer Flüssig- / Feststoffdünger dienen, andererseits als Pflanzenstärkungsmittel wirken.

Die Entwicklung von Feststoffdüngern sollte von SeedForward vorangetrieben werden, die von Flüssigdüngern und der Formulierung von Wirkstoffen von der FH Bielefeld. Die Anwendungsversuche sollten bei Piccoplant vorgenommen werden.

Bei den OG-Mitgliedern fand Ende 2020 / Anfang 2021 ein Wechsel von SeedForward zu Biotechnology Consult Nord statt. Der neue N-Dünger-Schwerpunkt lag bei Polypeptiden / Polysacchariden.

Beim Feststoffdünger wurden landwirtschaftliche Wirtschaftsdünger oder Ernterückstände, (Mist, Stroh, Klee) mit Reststoffen der Agrar- und Lebensmittelindustrie behandelt. Bei Piccoplant wurden die Dünger noch mit Mykorrhizasporen und Bakterien beimpft. Das neu entwickelte Düngemittel sollte die Aktivierung des Bodenlebens, die Bodenlockerung und Förderung der Humusbildung, eine erhöhte Wasserspeicherung, verbesserte Nährstoff-

verfügbarkeit und mehr Widerstandskraft für die Pflanzen fördern. Als Flüssigdüngerbasis wurden organische Düngemittel wie Hornmehl, Gülle, Gärsubstrate, Guano, Geflügelmist und Federmehl verwendet, später Blutmehl, Fischmehl und Algenextrakte.

Untersucht wurde auch die Widerstandsfähigkeit gegen Schädlinge und Krankheiten. Auch verschiedene Pilze (ericoid Mykorrhiza) und Bakterien wie *Bacillus subtilis*, wurden auf ihre Effektivität untersucht. Die benötigte Beerenobstsorten wurden vom OG-Partner piccoplant in vitro vermehrt, die Minipflanzen („Stecklinge“) ins Gewächshaus und dann in die Baumschule überführt (Jungpflanzen). Diese Jungpflanzen wurden in Containerkulturen unter Folie angezogen, um die Düngemittelwirkungen unter kontrollierten Bedingungen zu untersuchen. Versuche mit beiden Düngemitteln (fest / flüssig) wurden auch an verschiedenen alten Heidelbeerkulturen (einjährig, zweijährig, und dreijährig) im Container durchgeführt. Ziel war es, Parameter wie Wachstum, Versorgung mit Nährstoffen, Abwehr Krankheitsbefall zu optimieren und eine mehrmonatige Freisetzung der Produkte zu gewährleisten. Das verfahrenstechnische Scale-Up der Herstellung sollte zu einem N-organischen Dünger als Produkt führen.

1.3 Mitglieder der OG Vaccinium

piccoplant Mikrovermehrungen GmbH

Die Diplombiologin und Geschäftsführerin Elke Haase gründete das Unternehmen piccoplant Mikrovermehrungen GmbH im Jahr 1988 als Labor zur in vitro-Vermehrung von Pflanzen. Im Jahr 2017 belief sich die Jahresproduktion auf etwa 6 Millionen Exemplare. Piccoplant beschäftigt sich sowohl in vitro (im Labor), als auch in vivo (in Gärtnerei und Freiland) mit der Kultivierung und Vermehrung verschiedenster Pflanzen. Die Firma begann schon früh mit der Produktion von Elitepflanzen mittels des Verfahrens der in vitro- Mikrovermehrung. Aushängeschild des Unternehmens ist die Inkulturnahme des Gewebes einer Vielzahl verschiedener Fliederarten und -sorten, so dass das Unternehmen nicht nur regional und national, sondern auch international, als "Fliederspezialist" bekannt ist. Einen weiteren Kernpunkt bildet die in-vitro-Vermehrung von Azaleen, Bambus und Rhododendren. Für die Landwirtschaft führt das Unternehmen unter anderem eine Kartoffelgenbank.

Da die Firma Piccoplant Interesse an einer Diversifizierung der Aktivitäten sowie Ausrichtung auf eine nachhaltige Wirtschaftsweise hat, sowie als landwirtschaftlicher Betrieb registriert ist, soll nun auch eine landwirtschaftliche Primärproduktion von Heidelbeeren auf dem Betriebsgelände realisiert werden.

FH Bielefeld (FHB)

Die Arbeitsgruppe von Prof. Patel beschäftigt sich mit der Fermentation und Formulierung von Biologicals und Chemicals insbesondere für Agraranwendungen. Im Bereich der Anzucht und Formulierung von „Agrobiologicals“ verfügt die FHB über große Erfahrung (z.B. Projekt „Fermentation & Formulierung“, gefördert vom BMBF). Ein weiteres Kerngebiet der FHB ist die systematische Entwicklung von Materialien, Methoden und Verfahren zur Herstellung von Formulierungen, insbesondere Mikro- und Nanokapselsysteme, Coatings und Sprüh-suspensionen und deren Charakterisierung. Weitere Projekte umfassen die Entwicklung, von slow-release Dünger auf Basis von Algenextrakten, Immobilisierung und Cokultivierung von Mikroalgen, Verkapselung von Pflanzenextrakten.

SeedForward GmbH (bis 31.12.2020, Ausstieg aus OG)

Das Unternehmen SeedForward GmbH ist ein Start-Up, welches den Fokus auf regenerative und natürliche Betriebsmittel für die Landwirtschaft legt. Die durch EXIST geförderte Saatgutbehandlungs-Innovation „FREYA“, welche aktuell mit Firmen wie KWS, Stroetmann Saaten und der Bröring Unternehmensgruppe, sowie der HS Osnabrück, Uni Hohenheim und der LWK Niedersachsen in breiten Praxisversuchen getestet wird, ist das erste Produkt in einer Reihe von weiteren Innovationsvorhaben im Saatgut-, Düngemittel- und Wachstumshormonbereich. SeedForward setzt vor allem organisch basierte Lösungen ein, um ökologische Prozesse zu unterstützen. Basierend auf diesem Ansatz können Funktionen von Böden verbessert werden, um die Wasser- und Nährstoffspeicherfähigkeit zu erhöhen. Außerdem kann der Druck von Schädlingen und Krankheiten verringert werden. SeedForward entwickelt Lösungen, die sich positiv auf die Widerstandsfähigkeit und Effizienz von Pflanzen auswirkt.

Biotechnology Consult Nord (ab 01.04.2021, Nachfolge für SeedForward))

Herr Prof. Dr. Englisch setzte mit seiner Firma ab dem 1. April 2021 die Arbeiten des ausgeschiedenen Partners SeedForward fort. Schwerpunkt ist die Charakterisierung und Anwendung von Biopolymeren aus industriellen biologischen Reststoffe (Proteine oder Polysaccharide) wie z.B. Chitosan aus Krabbenschalen, Proteine aus Blutmehl / Fischmehl oder Alginat aus Makroalgen. Diese Stoffe dienen als organische N-Quellen und Pflanzenstärkungsmittel für die Experimente in der Vaccinium Anzucht.

Das neue OG-Mitglied bringt seine biochemischen Schwerpunkte in folgenden Bereichen ein:

- Analyse von Polypeptiden (Protein), Peptid- und Aminosäuremischungen,
- Analyse von Polysacchariden, Oligo- und Monosaccharidmischungen (Chitosan, Alginat)
- Hydrolysen von Proteinen zu Mischungen von Peptiden und Aminosäuren
- Hydrolysen von Oligosacchariden zu Mischungen von Oligo- und Monosacchariden
- Hydrolysen mit Enzymen: Proteasen und Carbohydrasen

Wechsel bei OG-Mitgliedern

Innerhalb der Projektlaufzeit fand ein Wechsel eines Mitgliedes der OG statt. Die Firma Seedforward stieg zum 31.12.20 aus der OG aus. Es konnte von der OG zum 01.04.2021 ein neues Mitglied (Prof. Dr. Englisch, Lübeck) als Ersatz für Seedforward eingeworben werden, das Projekt konnte somit fortgeführt werden.

1.4 Projektgebiet / Thematische Schwerpunkte:

Das Projekt umfasste die Entwicklung neuer organischer Stickstoff-Dünger und deren praktischer Langzeit-Anwendung mit Vacciniumkulturen (Container). Die Umsetzung des EIP-Projektes erfolgte meist in Laboren und landwirtschaftlichen Flächen in Niedersachsen (Piccoplant, SeedForward, Biotech-Consult Nord). Weitere Experimente (Formulierungen / Analysen) wurden von der FH Bielefeld (NRW, Prof. Dr. Patel) durchgeführt. Die Herstellung von N-Biopolymer-Hydrolysaten (Proteine, Chitosane) und ihre Analysen (TLC etc.) wurden nach dem Ausscheiden von Seedforward von Herrn Prof. Dr. Englisch in den Laboren von Piccoplant und am Centrum für Industrielle Biotechnologie (Lübeck) durchgeführt. Der thematische Schwerpunkt bei der Entwicklung von N-Düngern wurde nach verschiedenen

Versuchen (Labor, Container) von Hühner-Trockenkot (HTK) zu Proteinhydrolysaten (Blutmehl, Fischmehl) und Polysaccharidhydrolysaten (Chitosan, Alginat) als N-organische Quelle umgestellt..

1.5 Projektlaufzeit und Dauer:

Ursprünglicher Bewilligungszeitraum: 05.02.2019 bis 04.02.2022.

Eine kostenneutrale Verlängerung bis zum 15.08.2022 wurde genehmigt.

Gründe:

- Später Einstellungstermin eines Wissenschaftlers in Bielefeld
- OG-Mitgliederwechsel SeedForward zu Biotechnologie Consult Nord
- Pandemiebedingte Schließungen von Hochschulen und Firmen

1.6: Budget:

Für das Projekt wurde ein Fördervolumen von 492.178,91 Euro bewilligt, bei einer Förderquote von 100 Prozent.

1.7: Ablauf des Verfahrens:

Tabelle 1: Milestone-Plan mit Arbeitspaketen

Arbeitspaket	Partner	2019				2020				2021				2022				
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	
1. Screening nach Polymeren und Formulierungshilfsmitteln	FHB, SF, PP, UE																	
2. Weiterentwicklung von Fest- und Flüssigdüngern	SF, PP, UE																	
3. Entwicklung von Formulierungen für Ammonium-Dünger	SF, FHB																	
4. Lager – und Feldversuche	SF, FHB, PP, UE																	
5. Entwicklung von Co-Applikationen und Co-Formulierungen	FHB, PP, UE																	
6. Scale-up (Verfahrenstechnik)	FHB, PP																	
Meilensteine																		
M1: Es liegt eine fest- bzw. Flüssigformulierung vor, die bei den Pflanzen zu mehr Wachstum führt																		
M2: Es liegt eine Formulierung vor die 6 Monate bei Raumtemperatur keinen Wirkverlust zeigt																		
M3: Es liegt eine Formulierung vor, die zusätzliche Synergien in der Baumschule zeigt (Chitosan)																		

Das Arbeitspaket 6 (Scale Up) konnte aufgrund der Schließungen der Labore und Institute an den Hochschulen sowie der F&E-Bereiche bei Piccoplant (Covid 19) nicht zu Ende geführt werden. Die Experimente mit Protein- und Polysaccharid-Hydrolysaten (AP 1, 2, 4) wurden bei PP und BTN bis August 2022 fortgeführt.

Die Meilensteine (M1, M2 und M3) konnten erreicht werden:

Am Ende der Arbeitspakete konnte festgestellt werden, dass Blutmehl-Hydrolysate als N-Dünger die beste Wirkung zeigten. Die Wirkung der Mischungen als Pflanzenstärkungsmittel als auch Bindung und freisetzung von Fe-Ionen (Hämoglobin) waren überdurchschnittlich gut. Diese Mischungen (Blutmehl / Fischmehl-Hydrolysate) und ihre Formulierungen werden nach Projektende bei PP weiterentwickelt.

1.8: Zusammenfassung der Ergebnisse

Im Projekt wurden verschiedene N-organische Düngemittel / Pflanzenstärkungsmittel auf ihre Wirkung bei Heidelbeeren untersucht. Die Wachstumsversuche ergaben, dass zwei Klassen von organischen Reststoffen sehr geeignet waren. Diese umfassten Polypeptide (Proteine) und ihre Hydrolyseprodukte (Peptide und Aminosäuren) sowie Polysaccharide (Chitosan) und Oligo- und Monoglucosamine. Die Wirkung von Hühnertrockenkot und verschiedenen Formulierungen war im Vergleich nicht so gut. Die Versuche mit Blutmehl- / Fischmehl ergaben, dass nicht die Proteine selbst, sondern ihre Hydrolysate (Peptide, Aminosäuren) von Pflanzen gut aufgenommen wurden. Die Versuche mit Polysaccharid-Hydrolysaten (Chitosan) zeigten auch gute Ergebnisse bei Monosacchariden (Glucosamin).

Die besten Wachstumsergebnisse (Container) wurden mit Blutmehl-Hydrolysaten erzielt. Die Langzeitwirkung (Protein-Hydrolysegrad, Formulierung) sollte weiter in kontrollierten Containerversuchen optimiert werden, um ein auf Boden/Pflanze angepasstes N-Dünger Produkt auf den Markt zu bringen. Einige Experimente konnten aufgrund der Pandemie-Situation nicht durchgeführt werden (z. B. Zugangssperre Institute / Labore an Hochschulen)

Summary of results

In the project, various N-organic fertilizers / plant strengtheners were examined for their effect on blueberries. The growth experiments showed that two classes of N-organic molecules were very promising. These included polypeptides (proteins) and their hydrolysis products (peptides and amino acids), as well as polysaccharides (chitosan) and oligo- and monoglucosamines. The effect of dry chicken droppings and different formulations was not so convincing in comparison. The experiments with blood meal / fish meal proteins showed that proteins themselves did not work, peptides and free amino acids were almost completely absorbed by the plants. The experiments with polysaccharide hydrolysates (chitosan) also showed acceptable results.

The best growth results (containers) were obtained with blood meal hydrolysates. The long-term effect (depending on degree of hydrolysis) should be examined further in controlled container trials in order to launch a soil/plant-adapted N fertilizer product on the market.

Various experiments could not be carried out due to the pandemic situation (e.g. access block of institutes / laboratories at universities).

2. Eingehende Darstellung

2.1 Verwendung der Zuwendung

2.1.1 Gegenüberstellung der in der Planung und der tatsächlich durchgeführten und abgeschlossenen Teilschritte jeweils für ein OG-Mitglied und die Aufgaben im Rahmen der laufenden Zusammenarbeit einer OG

Tabelle 2: Tabellarische Gegenüberstellung der geplanten und der durchgeführten Arbeiten

Nr.	Arbeitspaket	OG-Mitglied	Umsetzung ja/nein
1	Screening nach Polymeren und Formulierungshilfen	FHB, SF, BTN	ja
2	Weiterentwicklung von Fest- und Flüssigdüngern	FHB, SF, PP, BTN	ja
3	Entwicklung von Formulierungen für Ammoniumdünger	FHB, SF	ja
4	Lager- und Feldversuche	PP, BTN	ja
5	Entwicklung von Co-Applikationen und Co-Formulierungen	FHB, PP, BTN	ja
6	Scale-up	FHB	nein*
7	Öffentlichkeitsarbeit	PP	ja

* Das Arbeitspaket 6 (Scale Up) konnte aufgrund der Covid-Schließung von Laboren / Instituten sowie personellen Problemen in den F&E-Bereichen nicht zu Ende geführt werden. Einzelne Einschränkungen gab es auch in anderen Arbeitspaketen (siehe Abschnitt 2.4.3.). Auch die Lieferzeitprobleme für Ausrüstung, Ersatzteile, Laborgeräte und Chemikalien verzögerten die Experimente.

2.1.2 Darstellung der wichtigsten finanziellen Positionen

Die Auflistung der einzelnen Ausgaben und der zahlenmäßige Nachweis der Kosten des Projekts erfolgte mittels verbindlicher Beleglisten. Die finanziellen Positionen zur Umsetzung des Projektes sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3.: Aufstellung der finanziellen Positionen /Ausgaben der Zusammenarbeit

Ausgaben der Zusammenarbeit	Eur
Summe	104.234,00
Ausgaben piccoplant Mikrovermehrungen GmbH	
Summe	125.620,00
Ausgaben FH Bielefeld (FHB)	
Summe	124.934,00
Ausgaben SeedForward GmbH (bis 31.12.2020)	30.563,00
Summe	
Ausgaben Biotechnology Consult Nord (ab 01.04.2021)	
Summe	50.003,00
Gesamt	435.354,00
Bewilligt	492.178,00

2.2 Detaillierte Erläuterung der Situation zu Projektbeginn

2.2.1. Ausgangssituation

In Niedersachsen werden aktuell 1800 ha Heidelbeeren angebaut, wobei circa 6-8 Tonnen Ertrag pro Hektar erwirtschaftet werden. Dies deckt bei weitem nicht die Nachfrage. In Deutschland liegt ein Pro-Kopf Bedarf von mehr als 1.5 kg pro Jahr vor. Hinzu kommt, dass die Nachfrage für Beeren aus biologischem Anbau in den vergangenen Jahren stark zugenommen hat, mit entsprechenden Auswirkungen auf die Landwirtschaft. So wurden bereits 2017 rund 30 % der gesamten Strauchbeerenfläche ökologisch bewirtschaftet, Tendenz steigend. Der Anbau ohne Nutzung von Agrarchemie bringt jedoch betriebliche Herausforderungen mit sich. Zum einen geraten ökologisch wirtschaftende Beerenbetriebe zunehmend durch Schädlings- und Krankheitsbefall unter Druck. Zum anderen gedeiht die Heidelbeere

nur auf „sauren“ Böden und kann Stickstoff nur in Form von Ammonium aufnehmen. Das in organischen Wirtschaftsdüngern enthaltene Ammonium ist relativ instabil und entweicht entweder als Ammoniak gasförmig oder wird im Boden zu Nitrat mineralisiert. Bei einem Boden pH unter 5 ist zudem die Eisenaufnahme gehemmt. Auch die abnehmende Biodiversität sorgt für geringere Ernteerträge. Probleme wie diese haben zur Folge, dass Biobetriebe im Heidelbeeranbau aktuell nur an die 3-4 Tonnen pro Hektar ernten können, wodurch der wirtschaftlich ökologische Anbau dieser Sonderkulturen in Frage gestellt wird. Hinzu kommt, dass in Heidelbeerkulturen große Mengen (400-1000 Kubikmeter) Mulchmaterial benötigt werden.

Das Vorhaben der Operationellen Gruppe (OG) verfolgt daher das Gesamtziel, die obigen wirtschaftlichen Risikofaktoren im ökologischen Heidelbeeranbau zu minimieren und so zu einem nachhaltigen und ertragsreichen Anbau beizutragen.

2.2.2. Projektaufgabenstellung

Die Düngung von Heidelbeeren geschieht in der Regel mit anorganischen Nitrat-Salzen. Die Heidelbeere verwertet jedoch Ammonium-Salze (NH_4^+) sehr viel effizienter. Diese Tatsache und die hohe Mobilität von Nitrat im Boden haben zur Folge, dass Nitrat-Auswaschungen oft hohe Werte annehmen. Aus dieser Problematik resultieren eine geringe Effizienz der Stickstoff-Nutzung und hohe Nitrat-Austräge, die die Umwelt und das Grundwasser belasten. Im ökologischen Anbau sind zudem keine mineralischen Düngemittel oder Pestizide erlaubt.

Da die Nachfrage nach Bio-Heidelbeeren stetig zunimmt, verfolgt die OG alternative ökologische Ansätze, welche eine bessere Widerstandsfähigkeit (Resilienz) und höhere Wirtschaftlichkeit der Kulturen zeigen. Entwicklung und Einsatz von biobasierten smarten Flüssig- und Feststoffdüngern, die auch als Pflanzenstärkungsmittel ob dieser wirken, sind das Ziel des Projektes. Beim OG-Partner SeedForward soll ein Feststoffdünger entwickelt werden, der eine Langzeitstabilität (Monate) im Boden ermöglicht. Das Produkt soll bei der Neubepflanzung von Plantagen (Feld- oder Containerkultur) mit in das Grundsubstrat gegeben wird. Für die Herstellung des Feststoffdüngers werden landwirtschaftliche Wirtschaftsdünger oder Ernterückstände sowie Reststoffe der Agrar- und Lebensmittelindustrie (Proteine, Polysaccharide) verwendet.

Der Langzeit-Dünger sollte auch die Aktivierung des Bodenlebens, Bodenlockerung und Förderung der Humusbildung, erhöhte Wasserspeicherung, verbesserte Nährstoffverfügbarkeit und mehr Widerstandskraft für die Pflanzen erzielen.

Der Flüssigdünger (Seedforward, FH Bielefeld) sollte Ammonium langsam und an das Pflanzenwachstum angepasst abgeben (slow release). Zudem soll das Düngemittel den pH-Wert des Bodens senken bzw. zwischen 4,5 –5 halten. Durch am Wirkort gebildete organische Säuren sollte zudem die Ausgasung von Ammoniak vermindert werden. Als Flüssigdüngerbasis sollten ebenfalls N-haltige Reststoffe der Agrar- und Lebensmittelindustrie verwendet werden (Hornmehl, Gülle, Gärsubstrate, Guano-, Geflügelmist, Federmehl etc.). Der Flüssigdünger sollte dem Bewässerungswasser zugesetzt werden.

Untersucht werden sollten sowohl die verschiedenen Düngemittel, als auch die aktive Mykorrhizierung (ericoide Mykorrhiza) und die Effektivität von pflanzenstärkendem *Bacillus subtilis* bei Piccoplant. Die im Labor gezüchteten Minipflanzen („Stecklinge“) werden danach in das firmeneigene Gewächshaus und nach einer gewissen Reifezeit dort in die firmeneigene Baumschule überführt (Jungpflanzen). Nach den ersten Tests werden die bei Piccoplant produzierten Jungpflanzen unterschiedlichen Beerenobstes in Containerkulturen unter Folie gepflanzt und die verschiedenen Parameter untersucht, um die Düngemittelwirkung unter kontrollierten Bedingungen zu gewährleisten. Die Düngemittel sollten an Heidelbeeren in verschiedenen Wachstumsstadien (ein-, zwei-, dreijährig) getestet werden. Dabei wurden pflanzenphysiologische Parameter, wie Wachstum, Nährstoffversorgung, Krankheitsbefall, etc. untersucht.

2.3 Ergebnisse der OG in Bezug auf

2.3.1 Gestaltung der Zusammenarbeit im Einzelnen

Die Zusammenarbeit im Einzelnen lief gut. Es gab regelmäßige persönliche- und Online-meetings der Projektpartner mit gemeinsamer Planung / Auswertung von Versuchen. Der Ausstieg von SeedForward und der Einstieg von Biotechnology Consult Nord als Nachfolger wurde sehr positiv bewertet. Durch die Corona-Pandemie konnten oft persönliche Treffen nicht durchgeführt werden, jedoch wurde das durch Zoom-Meetings aufgefangen.

2.3.2 Besonderer Mehrwert bei der Durchführung des Projektes als OG

Die Verbindung von der Urproduktion zu forschenden Gruppen und Einbeziehung von Fragestellungen aus der Praxis heraus führten zu einem deutlichen Mehrwert.

2.3.3 Weitere Zusammenarbeit der Mitglieder der OG nach Abschluss des Projektes

Nach Beendigung des Projektes wurde die Zusammenarbeit zwischen piccoplant und Biotechnologie Consult Nord auf dem Gebiet der biologischen und organischen N-Dünger intensiviert. Der Schwerpunkt liegt auf Entwicklung von Biostimulantien auf der Basis von Proteinhydrolysaten..

2.4 Ergebnisse des Innovationsberichtes

2.4.1 Zielerreichung

Für die Produktentwicklung wurde der entscheidende Meilenstein des „Proof of Concept“ für einen organischen N-Dünger erreicht. Ein Dünger auf Basis von Blutmehl-Hydrolysen zeigte in Containern auch bei Wachstums-Langzeitversuchen sehr positive Ergebnisse. Wirkung / Spezifität weiterer Blutmehl- und Fischmehl-Hydrolysate werden weiter untersucht. Hierbei sollten auch ericoide Mykorrhiza und Bakterien weiter als Pflanzenstärkungsmittel getestet werden. Eine Langzeitdemonstration auf Ertrag und Vitalität wird im Anschluss an das Vorhaben auf ca. 1000 qm Freifläche von Piccoplant angelegt und steht der Öffentlichkeit zur Verfügung.

2.4.2 Abweichungen zwischen Planung und Ergebnissen

In den Arbeitspaketen z.B. Scale Up konnte aufgrund der Schließungen von Laboren und Instituten der Hochschulen sowie personellen Einschränkungen in den F&E-Bereichen auch bei Piccoplant (Covid 19) einzelne Pakete nicht zu Ende geführt werden. Sie werden nach Beendigung des Projektes zum Teil weitergeführt (siehe oben).

2.4.3 Projektverlauf

Die OG-Gruppe bestand aus den Biotechnologieunternehmen Piccoplant Mikrovermehrungen GmbH und SeedForward GmbH aus der Privatwirtschaft, sowie der Fachhochschule Bielefeld aus der Wissenschaft. Die Firma SeedForward ist zum 31.12.2020 als Mitglied aus der OG ausgestiegen, die Firma Biotechnology Consult Nord (Prof. Dr. Englisch) ist als neuer Partner zum 01.04.2021 eingetreten. Das Projekt ist kostenneutral bis zum 15.08.2022 verlängert worden.

Über das gesamte Projekt hinweg wurde regelmäßig eine Recherche der aktuellen wissenschaftlich-technischen Literatur zu N-organischen Stoffen, Verkapselungen / Formulierungen, Vaccinium etc. durchgeführt wurden. Dies geschah mit Hilfe von Recherche-Algorithmen (CAS-USA) und öffentlich zugänglichen Suchmaschinen (z.B. Scholar). Auswertung und Dokumentation in einer Literaturlistenbank (Endnote) folgten. Informationen zur Patentsituation wurden durch Recherchen bei der Datenbank www.depatisnet.de, espace.net und bei der Datenbank des US Patent and Trademark Office erhalten.



Abbildung 1: Vaccinium "Heerma II" behandelt mit Chitosan

Die Firma Piccoplant hat zu Beginn des Projektes erste Jungpflanzen produziert, an denen sowohl im Labor, als auch in der Baumschule (Container) Probeapplikationen mit bereits existierenden Substraten wie Chitosan, Algenextrakten, Silikaten, ericoide Mykorrhiza und *Bacillus subtilis* durchgeführt wurden. Die Auswertungen der Versuchsreihen mit den Substraten ergaben ein unterschiedliches Bild. Die bei der FH Bielefeld vorliegenden Granulate aus Algenextrakt und Silikaten zeigten keine besseren Ergebnisse als die Pflanzen aus der

Kontrollgruppe. Chitosan sowie die Pilze und Bakterien (ericoid Mykorrhiza und *Bacillus subtilis*) zeigten dagegen eine positive Wirkung auf das Pflanzenwachstum. Eine mögliche Erklärung für dieses Ergebnis ist, dass diese Mikroorganismen über Enzymsysteme verfügen mit denen andere Biopolymere wie Polysaccharide (Chitosan) und Polypeptide (Proteine) hydrolysiert werden, um sie als Nährstoffe zu verwenden.



Abbildung 2: Vaccinium "Heerma II" behandelt mit Silikat

Diese Vorversuche deuten darauf hin, dass insbesondere eine Behandlung mit Chitosan gute Erträge ergibt. Die Versuche mit Silikaten waren ebenfalls vielversprechend. Die Zugabe von Pilzen und Bakterien zu den Substraten war sehr positiv, es ergab sich ein signifikant dichteres Wachstum.

Konkrete Laborversuche sind im Abschnitt Projektverlauf (2.4.3) an Beispielen dokumentiert (Laborprotokolle, SOPs)

Außerdem wurden erste Versuche mit Granulaten aus Algenextrakt durchgeführt, die von der FH Bielefeld zur Verfügung gestellt wurden (Abbildung 3, nächste Seite).



Abbildung 3: Versuche mit Algenextrakten an *Vaccinium myrtillus*

Das Wachstum war im Vergleich zu Chitosan signifikant schwächer, allerdings wurde nur ein Algen-Extrakt (von FHB) eingesetzt. Wenn, dann sollten in Zukunft Extrakte von verschiedenen Algen-Arten untersucht werden.

Diese ersten Experimente zeigten deutlich, dass Chitosan einen positiven Effekt hat. Es wurde im Verlauf des Projektes noch mit weiteren Chitosan-Chargen, Chitosan sowie Oligosacchariden und Monomeren von Herrn Prof. Dr. Englisch experimentiert. Die Zugabe von ericoid Mykorrhiza und *Bacillus subtilis* verstärkte auch hier das Wachstum deutlich (Enzymaktivitäten).

Screening nach Polymeren und Formulierungshilfsmitteln

Im Arbeitspaket 1 wurde dann das Screening nach biobasierten Trägermaterialien, wie Biopolymere, synthetische Polymere sowie komplexer Substrate nach Einstellung eines Mitarbeiters an der FH Bielefeld aufgenommen. Weiterhin wurden Formulierungsmethoden zur Herstellung von Kapseln und Granulaten untersucht. Die spezielle Analytik wurde in Bielefeld etabliert (Molare Masse der Biopolymere, Polydispersionsgrad, Substitutionsgrad, Polymerkonzentration, Polymermischungen, Vernetzungszeit, pH-Wert...) auf die physikochemischen Formulierungseigenschaften (Stabilität, Partikelgröße, und -verteilung).

Das Screening nach biobasierten Trägermaterialien, insbesondere Biopolymere (Alginat, Carrageenane, Pektinate, Cellulosen, Stärken, Chitosane, Guargums, Gellangums,

Gelatine), Silizium-Biopolymer-Komposite sowie Wachse wurde primär in Bielefeld (FHB) und in Oldenburg (PP, BTN) durchgeführt. Nach Einstieg von BTN wurden die Arbeiten in Oldenburg auf Proteine, Polysaccharide und Hydrolysate konzentriert.

Biobasierte Trägermaterialien

Es wurden zahlreiche biobasierte Trägermaterialien zur Konstruktion von Kapseln und Granulaten gescreent. Dabei wird der Einfluss der Materialien, -konzentration und -viskosität auf die Granulatqualität bzw. -stabilität untersucht. Zudem wurde sichergestellt, dass die in den Boden eingebrachten Granulate einen sauren pH-Wert um pH 5 besaßen um den pH-Wert des Bodens nicht zu verändern.

Tonmaterialien mit einer sehr großen, negativ geladenen inneren Porenoberfläche, wie Bentonite, sollten zu einer verlangsamten Freisetzung des Wirkstoffes führen werden und Biopolymere, wie Cellulose, mit einem hohen Anteil an negativ geladenen Seitengruppen in der Molekülkette positiv geladene Moleküle wie Ammoniumionen (NH₄⁺) und die positiv geladenen Leitsubstanzen des Pflanzenextraktes durch ionische Wechselwirkungen zurückhalten können. Die untersuchten Materialien sind in Tabelle 4 und Tabelle 5 zusammengestellt.

Tabelle 4: Eingesetzte Cellulosen

Cellulose	Viskosität	Eingesetzte Konzentration
Blanose 7ULC	sehr gering	6%
Blanose 7L	gering	4%
Blanose 7M	mittel	4%
Cellulose	Viskosität	Eingesetzte Konzentration
Klucel L IND	gering	2%
Klucel M IND	mittel	2%
Klucel H IND	hoch viskos	2%

Zudem wurden drei unterschiedliche Bentonite (Zeolithe) als Trägermaterialien eingesetzt: Bentonit 112 (pH 2-4), Bentonit 210 (pH 2.5-5,0), Bentonit 510 (pH 8)

Detaillierte Angaben zu den spezifischen Eigenschaften / Strukturen finden sich in den Datenblättern vom Hersteller Clariant.

Im Rahmen der Untersuchungen nach Polymeren und Formulierungshilfsmitteln wurde nach biologisch abbaubaren Polymeren und Formulierungshilfsmitteln gesucht, die Ammonium- und Eisenionen verlangsamt freisetzen. Ziel war es, den Zeitraum der Freisetzung an die Nährstoffbedürfnisse der Heidelbeerpflanzen anzupassen. Es wurden Formulierungen auf der Basis von Cellulose entwickelt. Dafür wurde eine Carboxymethyl-Cellulose (CMC) eingesetzt, die besonders viele negative Ladungen im Polymer aufweist. Diese können mit den positiv geladenen Ammonium Ionen interagieren und so die Freisetzung verzögern.

Tabelle 5: Polymermatrizen und entsprechende Gele

Gel	Matrix	Beschreibung	Ladung
DG1	CMC-7M	Mit den wenigsten Carboxygruppen	geringste neg. Ladung
DG2	CMC-9M	Mit mehreren Carboxygruppen	mittlere neg Ladung.
DG3	CMC-12M	Mit den meisten Carboxygruppen	höchste neg Ladung

Zunächst wurden die molaren Massen der drei verschiedenen NaCMC-Polymere und andere strukturelle Parameter bestimmt (Small-Angle X-ray Scattering) und DLS- (Dynamic Light Scattering). Die Ergebnisse werden benötigt um zu ermitteln wie sich Kationen (Ammonium-Ionen) im Netzwerk (CMC) einlagern können und wie die Freisetzungseigenschaften beeinflusst werden können.

Die Ergebnisse aus SAXS- und DLS-Messungen zeigten, dass drei wasserlöslichen NaCMC Polymere unterschiedlichen Partikelgrößen besitzen (ca. 10 – 12 nm). Diese wurden für die Formulierungsexperimente verwendet.

Für Untersuchungen zum slow-release von Ammonium-Ionen wurde die Carboxymethyl-Cellulose (CMC-12M, viele negative Ladungen) verwendet.

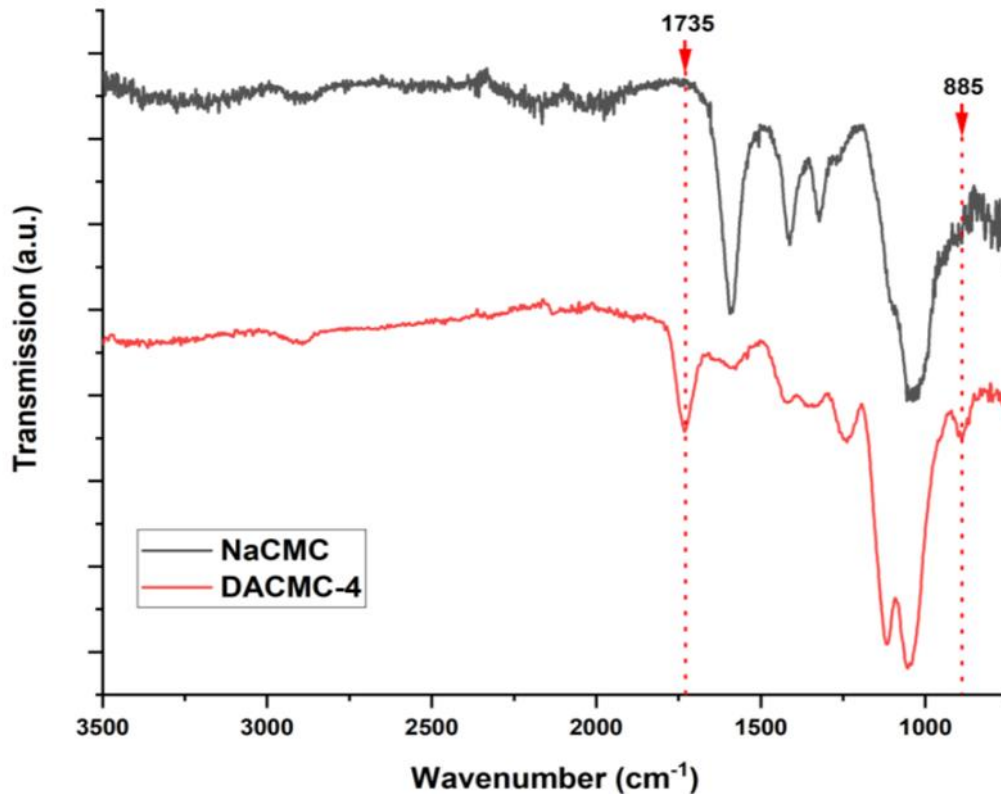


Abbildung 4: FTIR Spektrum von NaCMC & DACMC-4 (rot) zwischen 3500 – 750 cm

Die erfolgreiche Oxidation von NaCMC zu Dialdehyd-CMC (DACMC) wurde mittels Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) bestätigt. In einem weiteren Schritt wurde Gelatine hinzugegeben, um das Hydrogel zu bilden. Auch die Hydrogele wurden mit FT-IR charakterisiert.

Die Eliminierung der Peaks bei 885 und 1735 bzw. die Überlappung von den Signalen der Gelatine (blau) und des DACMCs (rot) in dem Signal des Hydrogels (schwarz, Abb. 5) waren Beweis für die erfolgreiche Herstellung von den Hydrogelen. Die Fotos zeigen hergestellte Hydrogele (a) vor und (b) nach Gefriertrocknen. (c) Nachweis der Strukturen durch FT-IR.

Um die Poren des Gels zu charakterisieren wurden rasterelektronenmikroskopische (SEM) Aufnahmen hergestellt. Die SEM zeigt, dass diese Hydrogele eine flache Oberfläche haben und im Inneren der Hydrogele porös sind. SEM-Bilder des NH₄⁺-beladenen DACMC-GEL-Hydrogels zeigen, dass eine dichte aber poröse Struktur im Inneren des Hydrogels vorliegt.

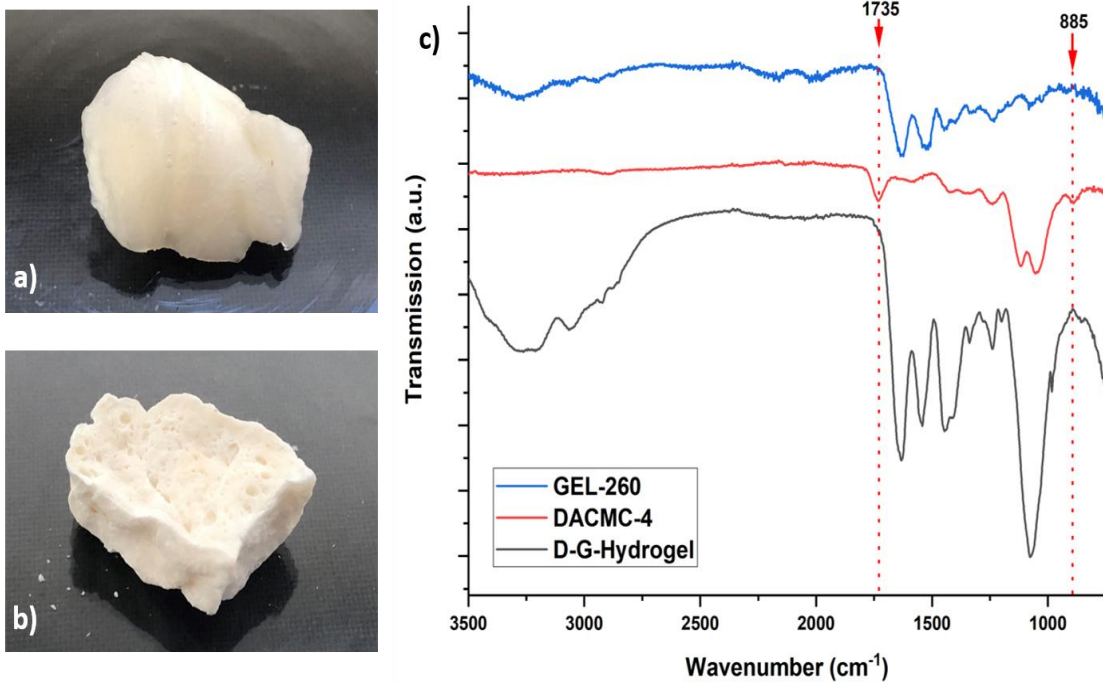


Abbildung 5: Hergestellte Hydrogele (a) vor und (b) nach Gefriertrocknen.
(c) Nachweis der gebildeten Bindungen durch FT-IR

Die Freisetzungsgeschwindigkeit der kationischen Nährstoffe aus unterschiedlichen Polymermatrices (Carboxymethyl-Cellulose (CMC) mit verschiedenen stark negativ geladenen Seitengruppen wurde untersucht (Tab 4.). Die Freisetzung der kationischen Nährstoffe: Ammoniumsalz und von Eisen(II)salz wurde analysiert. Zur Untersuchung der Freisetzungskinetik der Kationen wurden die beladenen Hydrogele in Wasser gegeben und über die Zeit analysiert. Die Analyseergebnisse der Freisetzungsgeschwindigkeit (UV-Vis) zeigt, dass die Freisetzung der Ammoniumsalze aus den Gelen sehr schnell erfolgte. Bereits nach einer Stunde war das Maximum erreicht. In Bezug auf kontrolliertes „Slow release“ ist das Ergebnis sehr ernüchternd.

Daher wurde für den Einsatz im Container / Freiland um alle Formulierungen noch zusätzlich ein Coating mit Chitosan aufgebracht. Wird die Freisetzung von Eisen (II) verfolgt, so konnte gezeigt werden, dass erst nach 24 Std. das Maximum der Freisetzung erreicht wurde (siehe Abb. 6: Freisetzungsgeschwindigkeit von Fe(II)salz).

Je nach Ladung des CMC erfolgt aber teilweise nur eine niedrigere Diffusion (DG3.1) und bei allen Experimenten zeigt sich, dass nach dem Maximum nach 24 Stunden die Fe-Ionen zurück in die Poren der Matrix diffundieren. Es stellt sich ein Gleichgewicht ein.

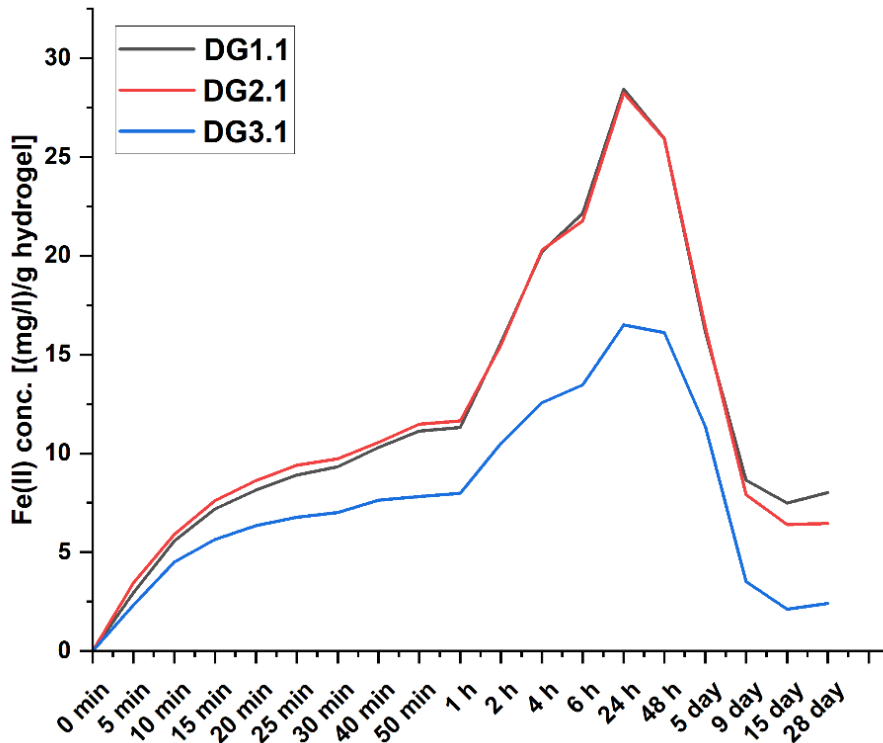


Abbildung 6: Freisetzungsgeschwindigkeit von Fe(II)salz aus unterschiedlichen Matrizen

Das DG3 Gel, mit den meisten Carboxylgruppen, zeigte die niedrigste Freisetzung, da es am stärksten mit den Kationen interagiert. (Abb. 6). Während die zwei anderen Gele (DG1 und DG2) keinen signifikanten Unterschied zeigten.

Im Rahmen der Arbeiten zu biologisch abbaubaren Polymeren und Formulierungshilfsmitteln, die das Ammonium und Eisen verlangsamt freisetzen können, wurden weitere Stoffklassen untersucht. Ziel war es, den Zeitraum der Freisetzung der Wirkstoffe an die Nährstoffbedürfnisse der Heidelbeerpflanzen anzupassen. Untersucht wurde Algen-Polysaccharide (Carragenane) und Zeolithe.

K-Carrageen, ein biologisches Algenpolymer. Dies diente als Matrix

Zeolithe-1 / Zeolithe-2 (Gesteinsmehle mit einer großen inneren Oberfläche und vielen Bindungsstellen für geladene Moleküle wie Ammonium. Dies dient der Verzögerung der Freisetzung.

Chitosan (als Coating) verzögert die Freisetzung in den Boden.

Weiterentwicklung von Feststoffdüngern

Ziel: Formulierung, Herstellung und Wirkungsversuche von verschiedenen Pflanzenextrakten und Bodenhilfsstoffen. Screening nach Pflanzen und Bodenhilfsstoffen, die an die Bedingungen des Heidelbeeranbaus angepasst sind. Herstellung dieser Stoffe durch verschiedene Extraktionsverfahren (Dampfdestillation, Alkoholextraktion, etc.). Erste Wirkungsversuche der Extrakte und Bodenhilfsstoffe in den Gewächshäusern der Firma piccoplant.

Methoden zur Herstellung von Kapseln und Granulaten

Ionotrope Gelbildung mit Algenextrakten zur Herstellung von Kapseln

Durch ein ionotropes Tropfverfahren wurden Hydrogele entwickelt. Dazu wurden die in AP1 ausgewählten Tonmineralien mit dem Algenextrakt als aktivem Bestandteil und 2% (w/w) Algenpolymer Alginat (FMC-Biopolymer) gemischt. Die viskose Lösung wurde in eine 2% (w/w) Vernetzungen aus CaCl_2 getropft und hier 20 min vernetzt. Zum Aufbringen einer dünnen Coatingschicht wurden der Vernetzungen noch 0,5 % (w/w) des Algenpolymers Carrageen (Sigma Aldrich) beigefügt. Die Temperaturen von Polymer und Vernetzungen, sowie die Autoklavierbarkeit der Materialien waren dabei von entscheidender Bedeutung und wurden geprüft. Die entwickelten Kapseln wurden bei piccoplant in einem Gewächshausversuch eingesetzt..

Laborprotokoll: Herstellung von Kapseln und Granulaten

Für die Entwicklung von Granulaten wurden die unterschiedliche Bentonite (Clariant), Cellulosen (Ashland) (Tabelle. 4), untersucht. Verschiedene Vinasse (Südzucker) Konzentrationen wurden gewählt sowie verschiedene Coatingkonzentrationen (0,25 - 2%). Dies war notwendig da sich, im Gegensatz zu den ionotropen Gelen, die Matrix in Wasser auflöst.

Entwicklung von Formulierungen für Ammonium-Dünger

Ziel: Eine Formulierung, welche Ammoniumionen verlangsamt freisetzt und Eisen mobilisiert

Einarbeitung von biobasierten N-Düngern (siehe 2.2.2) in Formulierungen aus AP1 • Einarbeitung von Zusätzen wie Kaffeesäure und andere organische Säuren, saure und säurebildende Reststoffe, Tonmineralien, Antioxidantien, geruchsmaskierende Coatings, biobasierte Puffersubstanzen. • Technische Trocknung der feuchten Formulierungen (Messung von Restfeuchte, Wasseraktivität, Schüttguttemperatur, Sphärizität, Rückquellung, Dispergierbarkeit) • Bestimmung der Eisenmobilisierung und Ammoniumfreisetzung mit Hilfe verschiedener Chromatographieverfahren (LC-MS und GC-MS) in Laborversuchen (LUFAS-Standardböden und Felderde) und als Rückstand in den Formulierungen). Die Bestimmung der physikochemischen Formulierungseigenschaften, insbes. Diffusionseigenschaften mit einer Diffusionsmesszelle, Mikrosensoren und MALDI-TOF (in Kooperation mit Uni Bielefeld) im Labormaßstab.

Einfluss der hergestellten Formulierungen auf das Pflanzenwachstum

Es wurde der Einfluss der hergestellten Formulierungen basierend auf der Ionotropen Gelbindung bzw. den Granulaten und verschiedener Coatings auf das Wachstum der *Vaccinium myrtillus*-Pflanzen untersucht. Die Versuchsdauer betrug 9 Wochen im Gewächshaus. Es wurden Topfballen mit 9 cm Durchmesser (Tb 9) verwendet. Als Positivkontrolle wurden gedüngte Pflanzen mit Universol blau (NPK 3:2:3 nach Herstellerangaben) untersucht (Abbildung 7).

Tabelle 6: Zusammensetzung der Formulierungen mit Algenextrakt

Treatment	Formulierung	Aktiver Bestandteil	Coating
Pos. Kontr:		Universol blau	
Treatment T1	Kapsel Bentonit 210 30%, Na-Alginat 2% Algenextrakt 10%	+ Algenextrakt	- Coating
Treatment T2		+ Algenextrakt	+ Chitosan 0,5%
Treatment T3		+ Algenextrakt	+ Carrageen 0,2%
Treatment C1	Granulat Bentonit 210, Vinasse 0,75 g, Cellulose 2.5%	+ Algenextrakt	- Coating
Treatment C2		+ Algenextrakt	+ Chitosan 0,5%
Treatment C3		+ Algenextrakt	+ Carrageen 0,2%

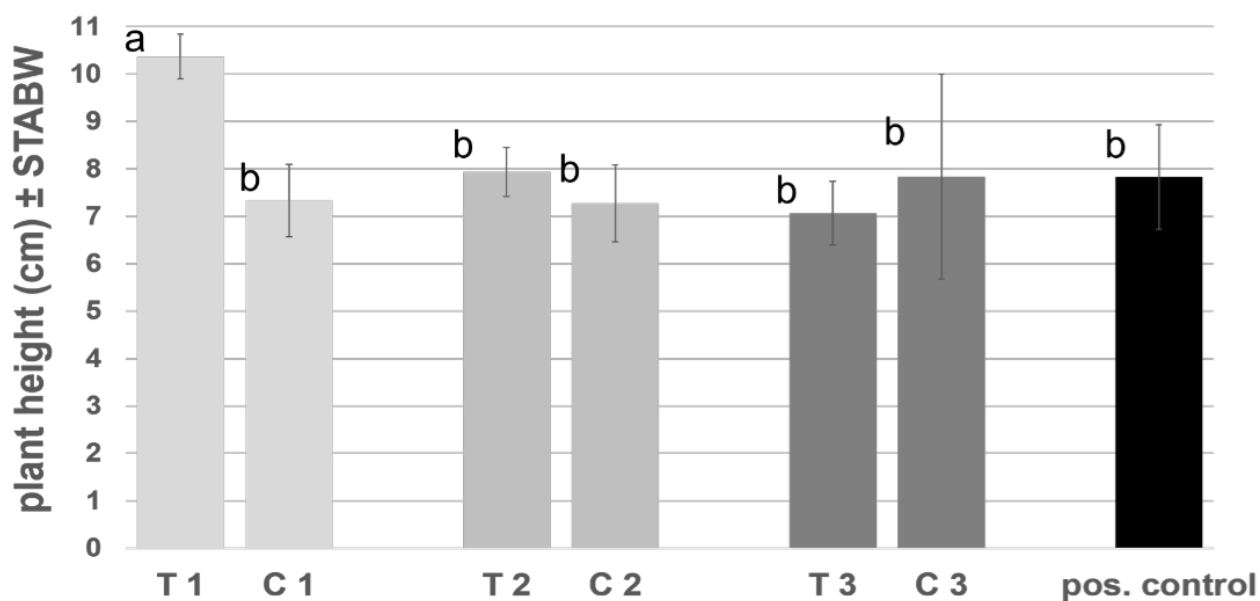


Abbildung 7: Einfluss der verschiedenen Formulierungen und Coatings auf das Wachstum von Heidelbeerpflanzen. (Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede nach der Einweg-ANOVA und dem Duncan-Post-Hoc-Test hin)

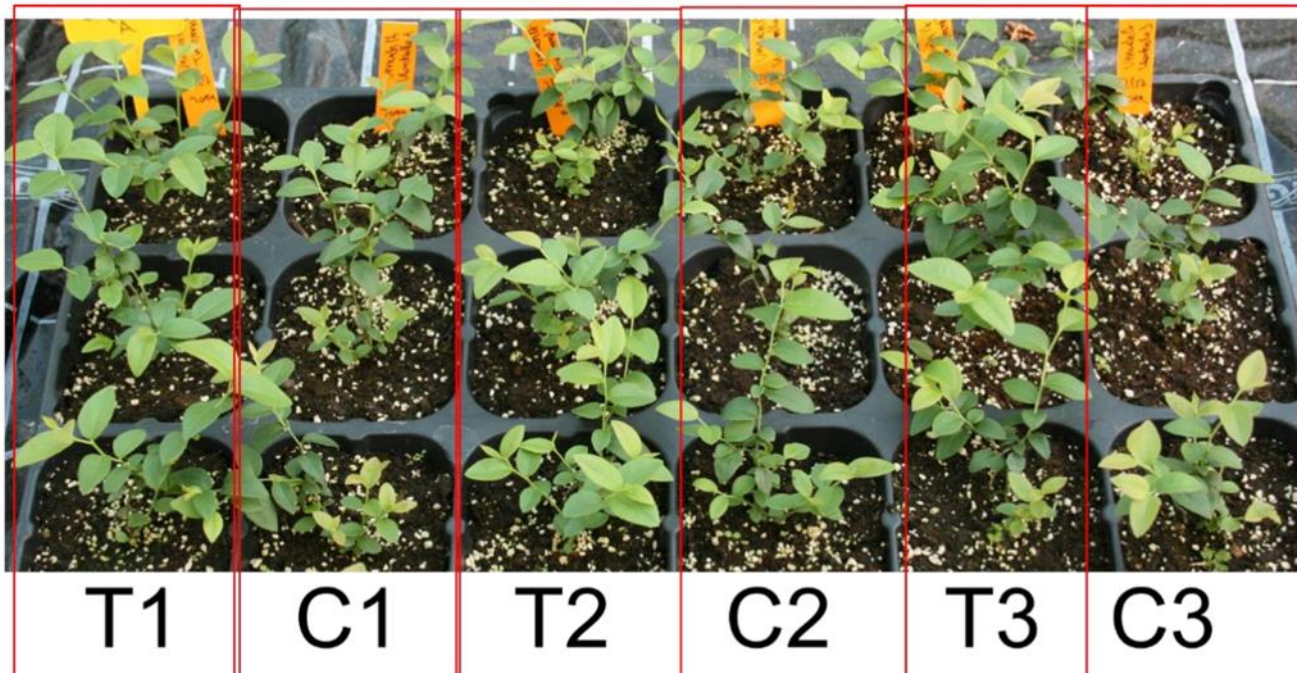


Abbildung 8: Behandelte Pflanzen im Gewächshaus

Im Vergleich zur Positivkontrolle (Klassischer Mineraldünger), führte die Anwendung der entwickelten Produkte bei den Heidelbeeren zu ähnlich großen Pflanzen oder im Falle der T1-Rezeptur zu höheren Pflanzen. Beide Beschichtungen (T2 und T3) führten im Vergleich zu T1 nur zu einer schwachen Erhöhung der Pflanzenhöhe.

Die Herausforderung der Formulierungsentwicklung bestand in der Realisierung einer effektiven Bindung von Ammonium an den Träger mit einer zeitlich kontrollierten Freisetzung der Nährstoffe (Ammonium) im Boden. Dies sollte über den sauren pH-Wert geschehen. Zudem passte des Wachstums der Heidelbeere bei saurem pH-Wert des Bodens, zur Freisetzung der Kationen bei pH 4 - 5.

Da die Nährstoffverfügbarkeit und -dynamik unter anderem stark vom pH-Wert abhängig ist, musste für die entsprechenden Nährstoffe eine ausreichende Verfügbarkeit realisiert werden. Für die Entwicklung des Düngers bedeutet dies, dass eine Erhöhung des pH-Wertes im Boden durch den Dünger nicht stattfinden darf. Die Freisetzungsdynamik des Düngers soll den zu Vegetationsbeginn erhöhten N-Bedarf der Heidelbeere abbilden, aber auch über die Vegetationsperiode hinweg zeitlich moderat Ammonium freisetzen.

Die Projektpartner hatten sich während ihrer ersten Projekttreffen auf den Einsatz von ökologisch gewonnenen Hühnertrockenkot (HTK) und Algenextrakten als Quelle für Ammonium und Mikronährstoffe entschieden. Der HTK bietet sich an, da hier im Vergleich zu anderen organischen Quellen die Konzentration an Ammonium (NH₄-N) mit 8,8 kg/t hoch ist. Der Hühnerkot wurde von SeedForward über einen ökologisch wirtschaftenden Geflügelbetrieb in der Region bezogen. Die Verwendung von HTK trägt zur Schließung des Nährstoffkreislaufes aus der Tierproduktion bei und hat gleichzeitig das Potential, umweltrelevante Probleme des ökologischen Heidelbeeranbaus durch die Entwicklung einer kontrollierten NH₄⁺-Freisetzung zu entlasten. (Kontrolle: Biosol® Dünger).

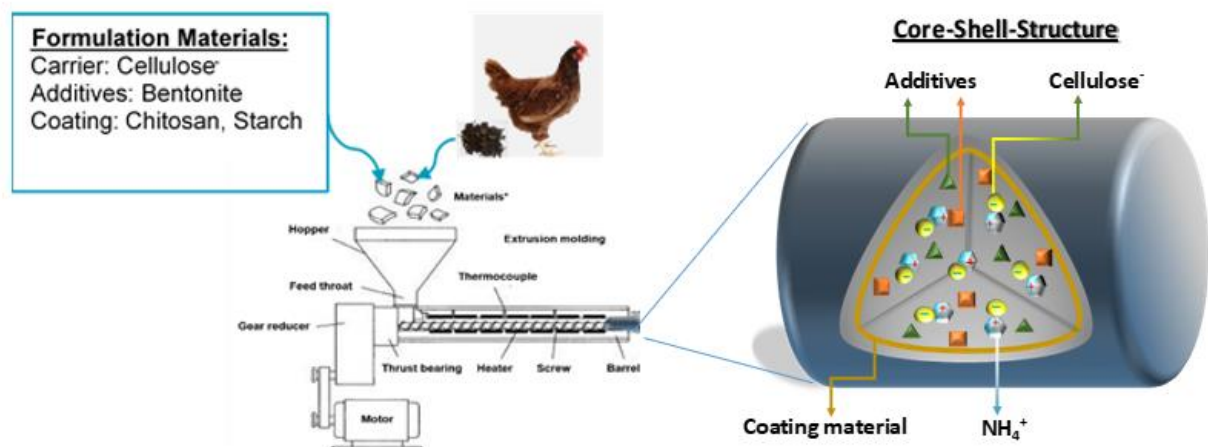


Abbildung 9: Entwicklung eines Prozesses für HTK-Dünger Granulat mit slow-release Funktion.

Dazu wurden folgende erste Vorprodukte entwickelt (Tabelle 7). Die Trocknung hat einen relevanten Einfluss auf die Stabilität bzw. auf die Release Eigenschaften. Zudem hat auch die Konzentration der Cellulose einen signifikanten Einfluss auf die Release Eigenschaften.

Dazu wurden folgende erste Granulate entwickelt (Abbildung 10). Die verschiedenen Trocknungsmethoden haben einen relevanten Einfluss auf die Stabilität / Release Eigenschaften. Gleiches gilt für die Konzentration der Cellulose.

Tabelle 7: Granulate mit Hühnertrockenkot (HTK)

Probe	pH	Ammonium	Beschreibung
a) V2.001 EX	9,20	/	HTK-Lsg. + Cellulose (0.52%) gelöst bei 80°C, Trocknung Exsikkator
b) V2.001 HG	9,20	/	HTK-Lsg+ Cellulose (0.52%) gelöst bei 80°C, Trocknung Ventilation
c) V2.001 RT	9,20	0,457 mg / g	HTK-Lsg. + Cellulose (0.52%) gelöst bei 80°C, Trocknung Raumluft
d) V2.002 BEX	9,35	0,468 mg / g	HTK-Lsg. + Cellulose (6%) gelöst bei Raum Temperatur, Trocknung Exsikkator
e) V2.002 EX	6,58	0,529 mg / g	HTK-Lsg. Cellulose (6%), gelöst bei Raum Temperatur, Trocknung Exsikkator
f) V2.002 RT	6,58	0,529 mg / g	HTK-Lsg. + Cellulose (6%) gelöst und getrocknet Trocknung Raumluft

Die einzelnen Formulierungen (Granulate) sind in Abb. 10 abgebildet. Diese wurden auf ihre Ammonium-Release Eigenschaften hin untersucht.



Abbildung 10: Formulierter Ammonium-Dünger mit Hühnertrockenkot bei variierenden Cellulose Konzentrationen und unterschiedlicher Trocknung.

Die Formulierungsentwicklung hat immer zum Ziel einen Carrier zu finden, der eine Substanz effektiv bindet aber auch unter definierten Bedingungen (z.B. pH-Wert Änderung) wieder freisetzt. Dabei stellt die Ladung von Träger und Target neben der Struktur des Trägers (Diffusion Target) die entscheidende Rolle. Im Projekt heißt dies: effektive Bindung von Ammonium an den Carrier und zugleich eine zeitlich kontrollierte (bedarfsangepasste) Freisetzung der Nährstoffe (Ammonium-Ionen) im Boden.

Die Heidelbeere benötigt für ein gutes Wachstum einen pH-Wert von 4,5 - 5. Auch Nährstoffkonzentration und -dynamik sind vom leicht sauren pH-Wert abhängig ist. Der Träger (Dünger) muss also bei saurem pH beginnen seine Matrix zu hydrolysieren und das release des Ammonium-Ions beginnen. Oberhalb dieses pH-Wertes muss der Träger stabil sein (z.B. CMC).

Lager- und Feldversuche

Es sollten Formulierungen entwickelt werden, die 6 Monate bis zwei Jahre bei Raumtemperatur ohne Wirkstoffverlust gelagert werden können. Die Wachstumsversuche sind bei Piccoplant durchgeführt worden.

- Düngemittelleffekte unter Folie (Container) aufzeigen.
- Vergleich mit realen Lagerungen (Fortführung 2021 / 2022)
- Gewächshausversuche im Container (kontrollierte Bedingungen)

Entwicklung von Co-Applikationen und Co-Formulierungen

Hierzu fanden 2021 / 2022 Untersuchungen von Synergien mit weiteren Biodüngern, Pflanzenextrakten und organischen Düngern (*Bacillus subtilis*, Hornmehl etc.) statt.

Co-Applikation fanden mit Formulierungen aus AP 2 und 3, Einarbeitung von Synergisten in Formulierung aus AP 2 und 3 (einfach durchmischte Systeme, Multihüllen und Multikompartiment-Systeme) statt. Die Freisetzung der Eisen- und Ammonium-Ionen wurde mit Hilfe verschiedener Chromatographie- und Nachweisverfahren (LC-MS und GC-MS) in Laborversuchen in LUFA-Standardböden und als Rückstand in den Formulierungen überprüft.

Entwicklung von Formulierungen für Ammonium-Dünger

Eine zu Beginn des Projektes durchgeführte ausgiebige Recherche und anschließendes Ideensammlung zur Umsetzung ergab unter anderem, dass die Verwendung von Hühnerkot als Kernbestandteil von formulierten Feststoffdüngern einen positiven Effekt zeigen sollte. Der Hühnerkot (HTK) wurde von SeedForward zur Verfügung gestellt. Die Analyseergebnisse der LUFA ergaben einen Gesamt-Stickstoffanteil des Hühnerkots von 7,18% (in Trockenmasse). Dies spricht dafür, dass nahezu der gesamte Stickstoffanteil in organischer gebundener Form vorliegt.

Laborprotokoll (SOP)

Zur Herstellung des Düngers wurde zunächst eine NH_4^+ -haltige Lösung aus dem Hühner-trocknenkot (HTK) hergestellt. Zur Herstellung der Cellulose-Matrix wurde NaCMC (12M31F-PH), verwendet. NaCMC wurde mit Casein und Glycerin homogenisiert und mit der HTK-Lösung ($\text{C}(\text{NH}_4^+) = 24 \text{ g/l}$) bzw. Blutmehl (BM, $\text{C}(\text{NH}_4^+) = 0,12 \text{ g/g}$) separat oder zusammen vermischt.

Diese pastöse Formulierung wurde extrudiert und bei 60°C für 1 h getrocknet. Nach dem Trocknen erfolge die Zerkleinerung in ca. 5 mm lange Granulate. Zum Auftragen des Coatings wurde im Trommeltrockner eine 0,5% Chitosan Lösung (Heppe) auf die Granulate aufgesprüht und bei 45°C getrocknet. Die Aufbringung des Coatings wurde notwendig um die Granulate im Wurzelraum zu stabilisieren.

Lager – und Feldversuche

Einfluss der entwickelten Formulierungen auf 3 Jahre alte *Vaccinium corymbosum* Pflanzen

Die entwickelten Dünger-Formulierungen wurden seit KW 20 (2020) im Folientunnel bei picoplant untersucht. Für die Versuche wurden drei Jahre alte Heidelbeeren der Sorte *Vaccinium corymbosum* 'Bluecrop' ausgewählt. Insgesamt wurden 120 Pflanzen in acht verschiedenen Ansätzen zu jeweils 15 Pflanzen, getestet. Die Düngemittel-ansätze sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8.: Ansätze für die Düngemittelversuche. Die Aufwandmengen wurden auf die N-Mengen des Kontrolldüngers Biosol® angepasst.

	Treatment	Aufwandmenge/3,5L Topf
1	Unbehandelte Pflanzen	
2	Organischer Dünger Biosol (Kontrolldünger)	7,5 g (= 2,14 g/L)
3	Hühnertrockenkot (HTK) unformuliert	13,13 g
4	Blutmehl unformuliert.	4,37 g
5	Formulierung 1.: Hühnertrockenkot + Blutmehl mit Cellulosematrix und Casein als Kleber (Vollformulierung) mit Chitosancoating	25 g
6	Formulierung 2.: Blutmehl allein mit Cellulosematrix und Casein als Kleber mit Chitosancoating	22,46 g
7	Formulierung 3.: Hühnertrockenkot allein mit Cellulosematrix und Casein als Kleber und Chitosancoating	23,57 g
8	Formulierung ohne Wirkstoffe mit Coating	12,14 g

Als Kontrolldünger wurde der organische NPK-Dünger Biosol®, einem organischen Langzeitdünger aus Pilzbiomasse, verwendet. Für die Versuche wurde ein modifiziertes Substrat der Firma Brill zum Anbau von Beerenobst mit einem pH-Wert von 4,5 verwendet. Die Pflanzen wurden in 3,5 L Töpfen getopft und die unterschiedlichen Düngerstoffe beim Topfen mit in das Substrat gemischt.

Die Applikation erfolgte in KW20. Die Pflanzen wurden erst direkt nach der Applikation bewässert dann über die Bewässerungsanlage im Folientunnel.

Untersucht werden sollte die Wirksamkeit der formulierten Düngemittel auf das Wachstum der Heidelbeere. Hierfür werden Nährstoffanalysen der Blätter und der Wurzeln durchgeführt, das Höhenwachstum der Pflanzen gemessen und die Vitalität der Pflanzen nach optischen Kriterien bewertet. Über eine umfangreiche fotografische Auswertung sollten zudem Parameter wie Blattgröße und das seitliche Wachstum der Versuchspflanzen bestimmt werden.

Zusätzlich wurde das Aufkommen von Beikräutern als Indikator für ein hohes freies Nährstoffaufkommen ermittelt.

Für die Untersuchung der Release-Eigenschaften der Kapseln wurden Sickerwasserproben genommen und für weitere Analysen eingefroren. Da die Nährstoffaufnahmeeffizienz der Heidelbeere stark vom pH-Wert abhängig ist, wurden stichprobenartig Messungen des pH-Wertes durchgeführt. Die Versuche wurden Ende August abgeschlossen.

Zu Beginn der Versuche wurden von 5 unterschiedlichen Pflanzen Blattproben genommen, um den Ernährungszustand der unbehandelten Pflanzen zu bestimmen. Nach 4 Wochen (Kalenderwoche 24) und nach 10 Wochen (Kalenderwoche 30) wurden jeweils erneut Blattproben genommen.

Für die Auswertung der Versuche wurde die Qualität der Pflanzen auf einer Skala von 1 (=sehr gut) bis 6 (Ausfall; tote Pflanze) nach optischen Kriterien bewertet. Beurteilt wurden pro Ansatz jeweils 5 Pflanzen. Die durchschnittlichen Bewertungen der Pflanzenqualität sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Pflanzen mit schlechtem Sprosswachstum wurden mit 5 (sehr schlecht) gewertet. Die Bewertung der Blätter erfolgte aufgrund der Blattfarbe und Mangelercheinungen. Pflanzen mit kräftig dunkelgrünen Blättern wurden mit 2 (gut) bewertet. Pflanzen mit deutlichen Mangelercheinungen der Blätter mit 5 (Sehr schlecht) bewertet. Erwartet wurden Pflanzen mit buschigem Wuchs und gesunden grünen Blättern ohne Mangelercheinungen.

Die unbehandelten Heidelbeeren in Treatment 1 sind im Vergleich zu den anderen Ansätzen wenig gewachsen und bildeten kaum neue Triebe aus. Die Blätter zeigten bei allen Pflanzen rötliche Färbungen (Abb. 13), was auf die Mangelerkrankung zurückzuführen sein kann. Spross und Blätter wurden hier jeweils mit 5 bewertet.

Mit Biosol behandelte Pflanzen in Treatment 2 sind deutlich vitaler und buschiger im Wuchs (Abb. 14 und 15). Die Pflanzen hatten wenig Höhenwachstum, bildeten aber mehr neue Triebe aus. Für n=5 Pflanzen betrug der mittlere Zuwachs 4,8 cm.

Die mit reinem Hühnertrockenkot (HTK) behandelten Pflanzen sind weniger buschig und die Blätter haben im Vergleich zu den mit Biosol behandelten Pflanzen eine weniger intensive Grünfärbung. Ältere Blätter sind teilweise abgestorben. Einzelne Triebe sind im Vergleich zu den anderen Treatments, höher gewachsen.

Die Pflanzenvitalität der mit reinem Blutmehl behandelten Pflanzen (Treatment 4) wurde als gut bewertet. Die Blätter hatten gesunde grüne Blätter. Zudem zeigte sich in diesem Ansatz das meiste Höhenwachstum nach 10 Wochen mit durchschnittlich 14,5 cm für n=5 Versuchspflanzen.

Die mit Treatment 5 (Hühnertrockenkot + Blutmehl) behandelten Pflanzen hatten im Durchschnitt wenig Höhenwachstum. Für n=5 Pflanzen betrug der mittlere Zuwachs 2 cm nach 10 Wochen Versuchszeit. Bei den jungen Blättern kann an der gelblichen Färbung mit grünen Blattadern deutlich einen Chlorophyllmangel (Chlorose) abgelesen werden, was ein Hinweis auf Eisenmangel ist (Abb. 19).

Bei den mit Formulierung in Treatment 6 (Blutmehl allein) war die Chlorose junger Blätter ausgeprägter als bei Treatment 5. Die Vitalität der älteren Blätter war besser.

Bei den mit Treatment 7 (Hühnertrockenkot allein) behandelten Pflanzen war die Chlorose junger Blätter ähnlich ausgeprägt, wie bei den mit Treatment 6 behandelten Pflanzen. Die Pflanzen waren aber etwas buschiger im Wuchs (Abb. 16).

Die Blätter der Pflanzen, die mit der Formulierung ohne Wirkstoffe behandelt worden sind, hatten ein überwiegend vitaleres Erscheinungsbild im Vergleich zu den anderen Formulierungen.

Tabelle 9: Durchschnittliche Bewertung der Pflanzenqualität* und mittlerer Höhenzuwachs, für n=5 pro Treatment (40 Pflanzen) nach 10 Wochen

Treatment	Spross	Blatt	Mittlerer Zuwachs (cm)
1. Unbehandelte Pflanzen	5	5	2,9
2. Organischer Dünger Biosol (Kontrolldünger)	3,2	2,8	4,8
3. Hühnertrockenkot (HTK) unformuliert	3,2	2,4	8,4
4. Blutmehl unformuliert	2,8	2,4	14,5
5. Formulierung 1.: Hühnertrockenkot + Blutmehl	3,8	3,6	2
6. Formulierung 2.: Blutmehl allein	2,8	3,8	4,4
7. Formulierung 3.: Hühnertrockenkot allein	2,6	3,8	6,6
8. Formulierung ohne Wirkstoffe	2,6	2,2	6

*Von 1 (Sehr gut) bis 6 (Ausfall) - Einschätzung der Pflanzenvitalität für Spross und Blätter

Die Höhe der Versuchspflanzen wurde nach der Applikation der Düngemittel gemessen. Nach 4 Wochen wurde die Höhe erneut ausgemessen und nach weiteren 6 Wochen. Das gemittelte Höhenwachstum für n=5 Versuchspflanzen ist in Abbildung 11 dargestellt.

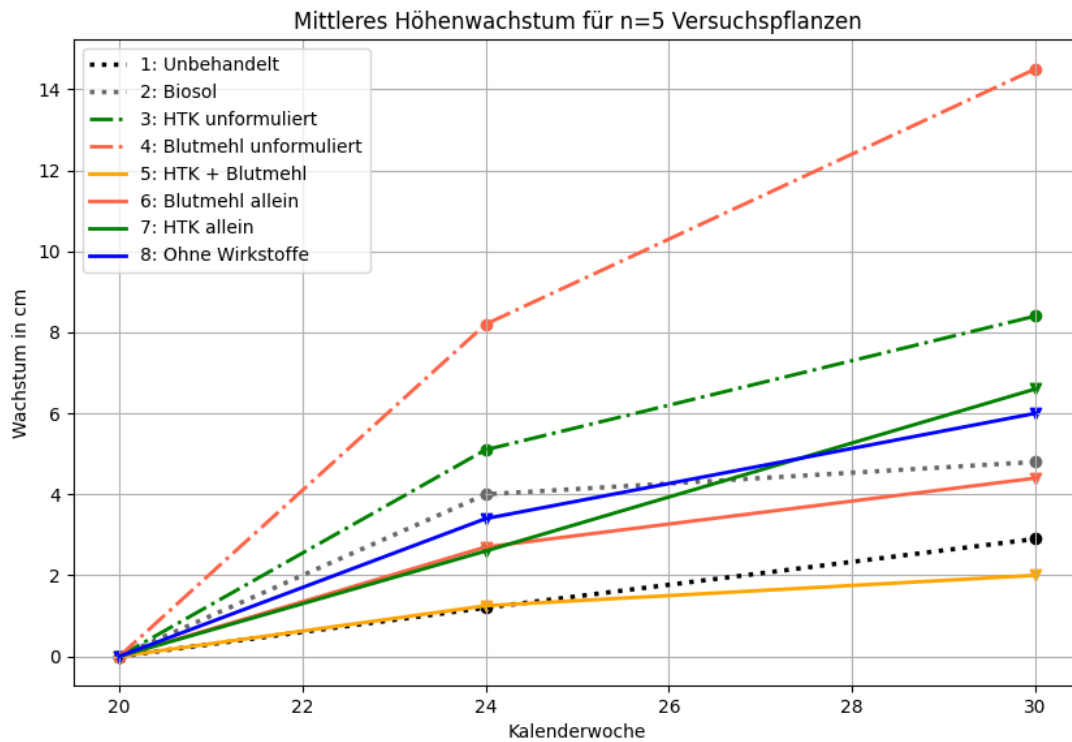


Abbildung 11: Höhenwachstum der Versuchspflanzen nach 4 Wochen und 10 Wochen

Die Abbildung 11 zeigt die Wirkung der N-Dünger. Blutmehl in der unformulierten Form bewirkt das beste Wachstum über 10 Wochen. Hühnertrockenkot ist signifikant schwächer als N-Dünger und die Kombination von beiden zeigt überraschender Weise das geringste Ergebnis.

Auch das kommerzielle Produkt Biosol war trotz seiner Pilz-Myzel-Grundlage (Protein, Polysaccharide) im Vergleich zum Blutmehl schwach in der Induktion des Wachstums. (Abb. 11)

Unbehandelte Pflanzen



Abbildung 12: unbehandelt nach 9 Wochen



Abbildung 13: Nahaufnahme der Blätter

Formulierung mit Blutmehl



Abbildung 14: Blutmehl formuliert nach 9 Wochen



Abbildung 15: Nahaufnahme der Blätter

Formulierung mit Hühnertrockenkot



Abbildung 16: Hühnertrockenkot formuliert nach 9 Wochen



Abbildung 17: Nahaufnahme der Blätter

Formulierung Blutmehl und Hühnertrockenkot



Abbildung 18: Blutmehl formuliert nach 9 Wochen



Abbildung 19: Nahaufnahme der Blätter

Kontrolldünger Biosol



Abbildung 20: Kontrolldünger Biosol nach 9 Wochen



Abbildung 21: Nahaufnahme der Blätter

Experimente in 2022

Neben Biomasseproben von Wurzeln und Blättern wurden während der Bonituren, nach 4 Wochen und nach 10 Wochen auch Erdproben genommen. Nach Ende der Pandemie wurden mit diesen Proben wurde mittels C/N Analytik der Ernährungszustand der Pflanzen ermittelt. Mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) wurde auch die Menge an gebundenem Eisen detektiert.

Diese Resultate wurden in Bezug auf den Einfluss den die Formulierungen auf den Ernährungszustand der Pflanzen haben, von einer umfangreichen fotografischen Auswertung begleitet. Hier werden die Pflanzen in regelmäßigen Abständen fotografiert und mittels computergestützter Auswertung (Programm Image J) charakterisiert. Es wird über die Blattfarbe und -größe, seitliche Ausrichtung und Zunahme der Blattmasse ein „Score“ ermittelt. Dieser Wert wird dann mit den Daten der C/N Analytik und Eisenanalytik korreliert.

Ergebnisse

Alle Formulierungen und auch die Zugabe reiner Wirkstoffe (HTK oder Blutmehl) hatten einen durchweg positiven Effekt auf das Pflanzenwachstum und auch, nach Ableitung der Blattfarben, auf den allgemeinen Ernährungszustand. Im Vergleich zum kommerziellen Dünger führten besonders die reinen Wirkstoffe in den ersten Behandlungswochen zu einem Wachstumsschub in der Höhe. Dies zeigt ein hohes Nährstoffangebot zu Beginn des Experimentes. Es zeigte sich im Laufe des Experimentes, wie lange dieser Effekt anhielt. Die Formulierungen hingegen zeigen diesen Wachstumsschub nicht (Abb. 11). Einige N-Dünger zeigen keine lange Verfügbarkeit der Nährstoffe.

Einfluss neuer Formulierungen auf 5 Jahre alte *Vaccinium corymbosum* Pflanzen

Mitte Juni 2021 wurden außerdem 5 Jahre alte Pflanzen der Sorte *Vaccinium corymbosum* 'Bluecrop' mit den Ansätzen 5 und 8 aus Tabelle 8 behandelt und mit dem Kontrolldünger Biosol, sowie den unbehandelten Pflanzen verglichen. Für diese Pflanzen sollen 2022 regelmäßig Blattprobenanalysen durchgeführt werden, welche Aufschluss über den Ernährungszustand der Pflanzen geben.

Entwicklung von Formulierungen für Ammonium-Dünger

In der Sommersaison 2020 und 2021 wurde bei Piccoplant ein großes Düngeexperiment an Heidelbeerkulturen durchgeführt (Tabelle 10).

Tabelle 10: Treatments des Düngeexperiments Sommersaison 2020

1	Native Pflanzen 3 Jahre alt, im 3,5L Topf	Rot/weiß
2	Biosol (ökologischer Kontrolldünger)	Blau/Gelb
3	Hühnertrockenkot (HTK) unformuliert	Grün/rot
4	Blutmehl unformuliert	Weiß
5	Formulierung 1 HTK + Blutmehl mit Cellulosematrix und Casein als Kleber (Vollformulierung) mit Chitosancoating	Rot
6	Formulierung 2 Blutmehl allein mit Cellulosematrix und Casein als Kleber mit Chitosancoating	Gelb
7	Formulierung 3 HTK allein mit Cellulosematrix und Casein als Kleber mit Chitosancoating	Grün
8	Formulierung ohne Wirkstoffe mit Coating	blau

Hühnerkot und Blutmehl wurden nach den Ergebnissen der Vorversuche zur Entwicklung von Dünger-Formulierungen gewählt. Beide zeigen eine hohe Konzentration von Stickstoff bzw. Eisen. Die Formulierungen wurden mit CMC, Casein und Chitosan als Coating durchgeführt.

Lager – und Containerversuche

Einfluss der Formulierungen auf 3 Jahre alte *Vaccinium corymbosum* Pflanzen

Tabelle 11.: Ansätze für die Düngemittelversuche. Die Aufwandmengen wurden auf die N-Mengen des Kontrolldüngers Biosol[®] angepasst.

	Treatment	Aufwandmenge/3,5L Topf
1	Unbehandelte Pflanzen	
2	Organischer Dünger Biosol (Kontrolldünger)	7,5 g (= 2,14 g/L)
3	Hühnertrockenkot (HTK) unformuliert	13,13 g
4	Blutmehl unformuliert.	4,37 g
5	Formulierung 1.: Hühnertrockenkot + Blutmehl mit Cellulosematrix und Casein als Kleber (Vollformulierung) mit Chitosancoating	25 g
6	Formulierung 2.: Blutmehl allein mit Cellulosematrix und Casein als Kleber mit Chitosancoating	22,46 g
7	Formulierung 3.: Hühnertrockenkot allein mit Cellulosematrix und Casein als Kleber und Chitosancoating	23,57 g
8	Formulierung ohne Wirkstoffe mit Coating	12,14 g

Die entwickelten Dünger-Formulierungen wurden von Mai 2020 bis Juli 2020 im Folientunnel bei piccoplant getestet. Es folgten Untersuchungen mit weiteren Formulierungen in 2021 / 2022 (Proteinhydrolysate: Blut / Fisch) sowie Chitosan-Hydrolysaten. HTK wurde aufgrund der sehr hohen Aufwandmenge (13,13 g) nicht weiter einbezogen.

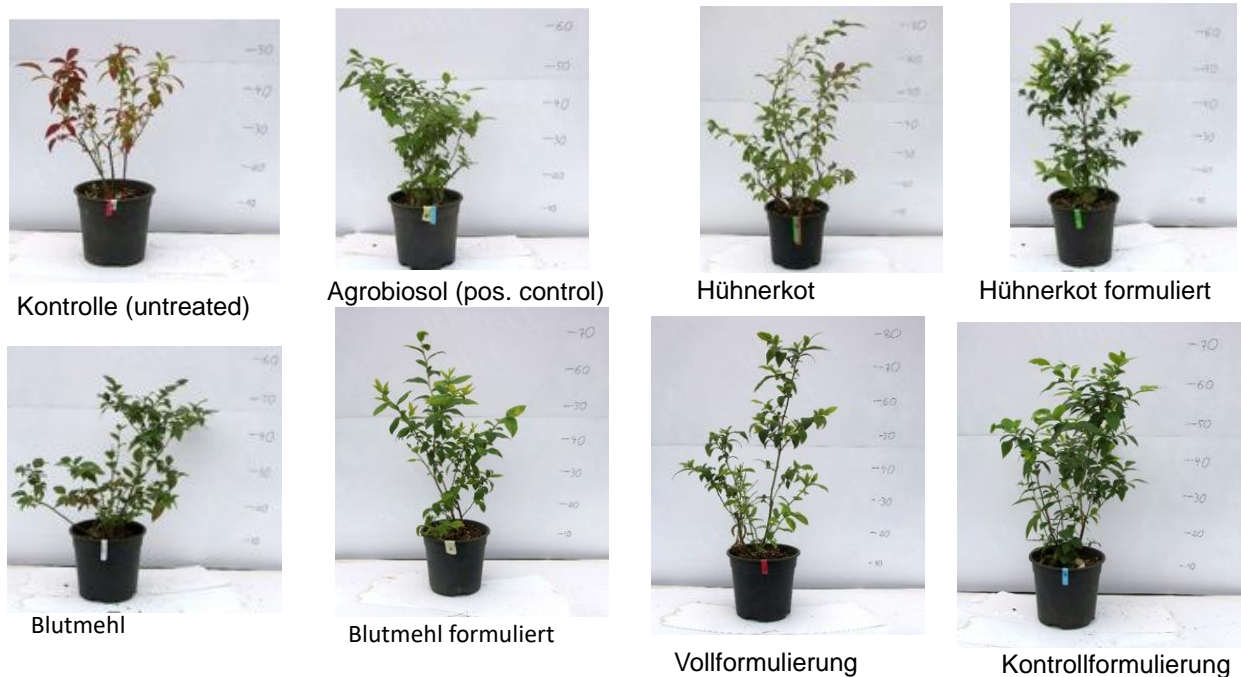


Abbildung 22: Effekte (exemplarisch) der Behandlungen nach 14 Wochen

Für die Versuche wurden drei Jahre alte Heidelbeeren der Sorte *Vaccinium corymbosum* 'Bluecrop' ausgewählt. Insgesamt wurden 120 Pflanzen in acht verschiedenen Ansätzen zu jeweils 15 Pflanzen, getestet. Die Düngemittelansätze sind in Tabelle 11 (oben) zusammengefasst. Als Kontrolldünger wurde der organische NPK-Dünger Biosol® verwendet.

Es wurde ein modifiziertes Substrat der Firma Brill zum Anbau von Beerenobst mit einem pH-Wert von 4,5 verwendet. Das Substrat wurde ohne zusätzlichen NPK-Dünger und Spurenelementen eingesetzt, um die Ergebnisse nicht zu verfälschen. Die Pflanzen wurden in 3,5 L Töpfen getopft und die unterschiedlichen Düngertreatments beim Topfen mit in das Substrat gemischt. Die Applikation erfolgte Mitte Mai (KW 20). Die Pflanzen wurden direkt nach der Applikation bewässert, sonst nach Bedarf über die Bewässerungsanlage im Folientunnel. Untersucht wurde die Wirksamkeit formulierten Düngemittel auf das Wachstum der Heidelbeere. Hierfür werden Nährstoffanalysen der Blätter durchgeführt, das Höhenwachstum der Pflanzen gemessen und die Vitalität der Pflanzen nach optischen Kriterien mittels einer Fotoauswertung (Farbe/Helligkeit/Sättigung) bewertet. Zusätzlich wurde das Aufkommen von Beikräutern als Indikator für ein hohes freies Nährstoffaufkommen ermittelt.

Die Qualität der Pflanzen wurde zudem spektroskopisch untersucht. Es wurde der Effekt der Formulierungen auf die Blattfarbe als Indikator für die Versorgung der Pflanzen mit Nährstoffen ausgewertet. Es wurde geprüft, ob besser versorgte Pflanzen einen höheren Anteil an grünen Blättönen aufweisen (Abbildung 23).

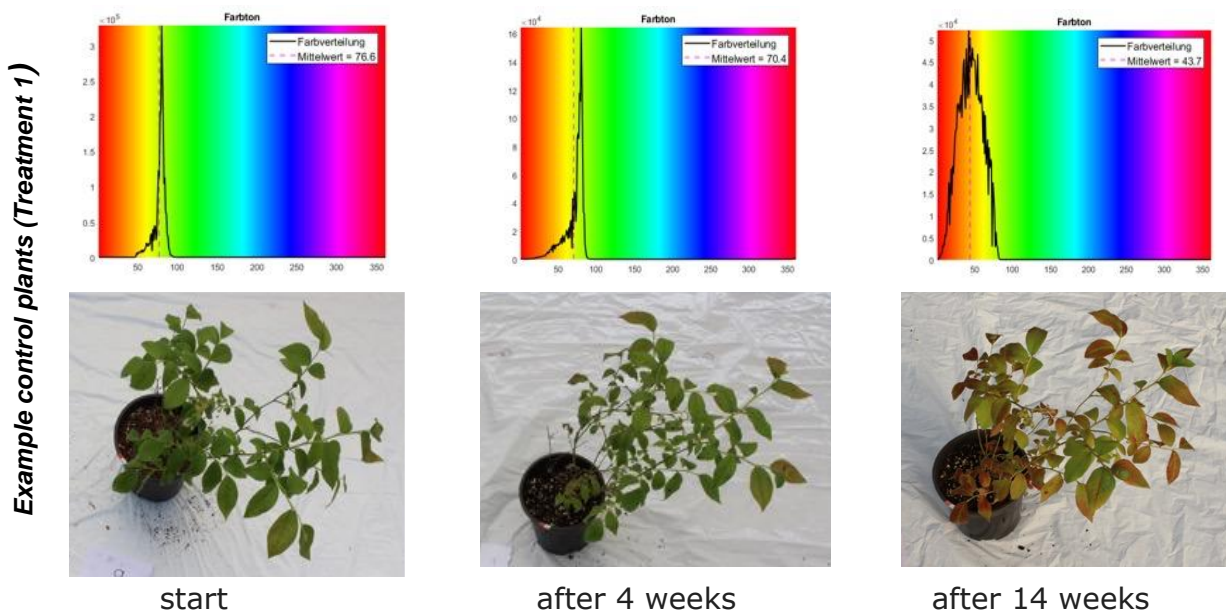


Abbildung 23: Beispiel für die Farbauswertung der Blätter anhand der Kontrollformulierungen zu Beginn, nach 4 Wochen und zum Ende des Experimentes nach 14 Wochen.

Die nächsten Abbildungen (24 – 26) sind englische Versionen von einem Tagungs-Poster

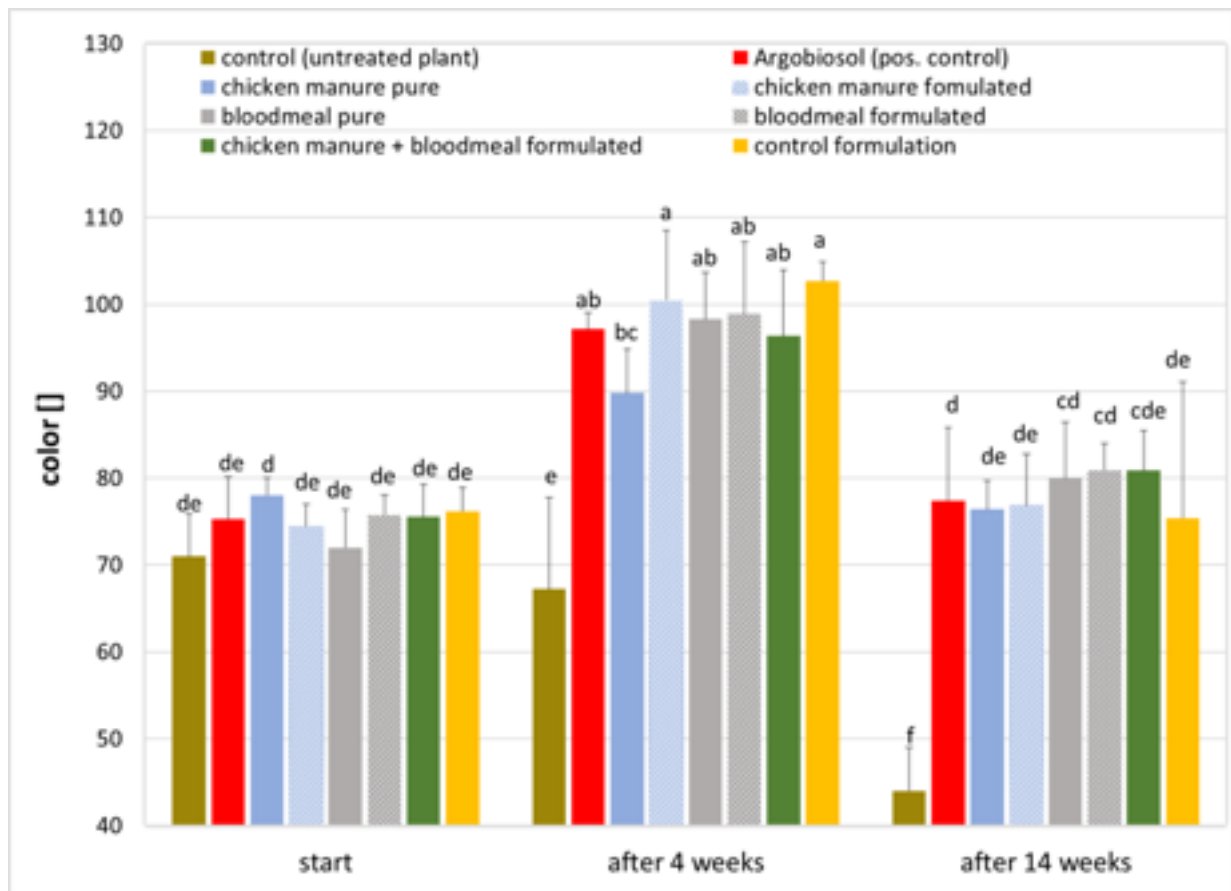


Abbildung 24: Einfluss der Formulierungen auf die Blattfarbe zu unterschiedlichen Beprobungszeitpunkten. Unterschiedliche Buchstaben über den Balken zeigen signifikante Unterschiede (Statistiken: Two-way ANOVA und Tukey post hoc Test ($P < 0,05$)).

Je niedriger die Grünanteile, desto weniger Energie haben die Pflanzen in die Photosynthese investieren können (Chlorophyll). Alle Treatments führten zu einer höheren Photosyntheserate, also zu mehr Wachstum. (Abbildung 24).

Es wurden zudem die Farbwerte (H (englisch hue) in Einzelpixel) als Werte miteinander verglichen: Farbwinkel auf dem Farbkreis (0° für Rot, 120° für Grün, 240° für Blau). Die weiteren Messungen S = Saturation (0-100) Größe der Farbsättigung (saturation) ist: (0% = Neutralgrau, 50% = wenig gesättigte Farbe, 100% = gesättigte, reine Farbe), entspricht einem Intervall von Null bis Eins. Mit Biosol als Positivkontrolle zeigt sich, dass alle Formulierungen in Bezug auf den Farbton gleich gut oder besser abschnitten. Nach 14 Wochen sehen wir eine Tendenz zu braunen Farbtönen. Das scheint der natürliche Blattfall im „Herbst“ zu sein, da auch die Positiv-Kontrolle mehr Braunanteile zeigt.

Zur Untersuchung, wie gut die Pflanzen mit Nährstoffen versorgt waren, wurden Stickstoff-, Kohlenstoff- und Phosphatgehalt der Blätter ermittelt. (Stickstoff in Biotrockenmasse.)

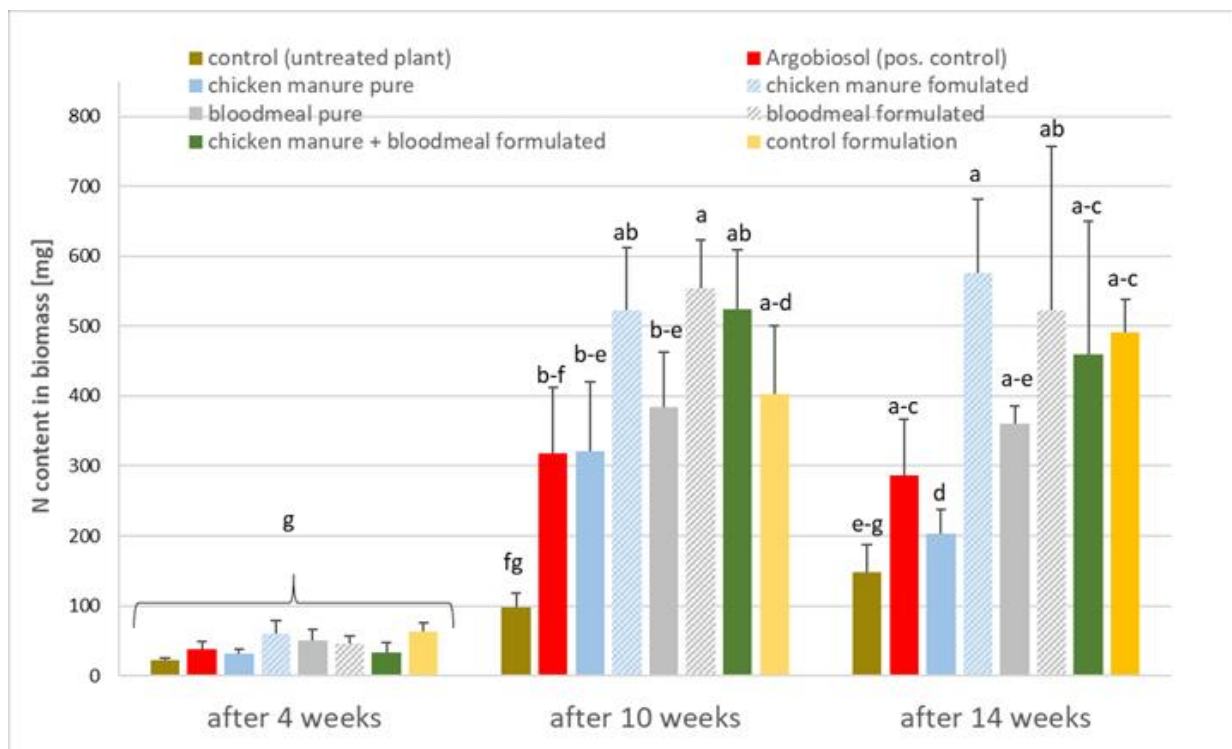


Abbildung 25: Effekt der Behandlungen auf die Stickstoffversorgung der Pflanzen

War zu Beginn des Experimentes noch in allen Pflanzen eine ziemlich gleich hohe Konzentration an Stickstoff gespeichert zeigten sich nach Applikation der Behandlungen nach 10 Wochen signifikante Unterschiede (Abb. 25). Die beste Stickstoffversorgung konnte hier mit formuliertem Blutmehl erzielt werden. Nach 14 Wochen zeigte auch der formulierte Hühnerkot eine gute Versorgung. Die Formulierungen führten im Vergleich zur Positivkontrolle zu einer signifikanten Erhöhung.

In der Phosphatversorgung der Pflanzen waren die Trends weniger eindeutig als beim Stickstoff (Abbi.28). Pflanzen die mit einem formulierten aktiven Bestandteil gedüngt wurden, zeigten einen insgesamt höheren Phosphatgehalt

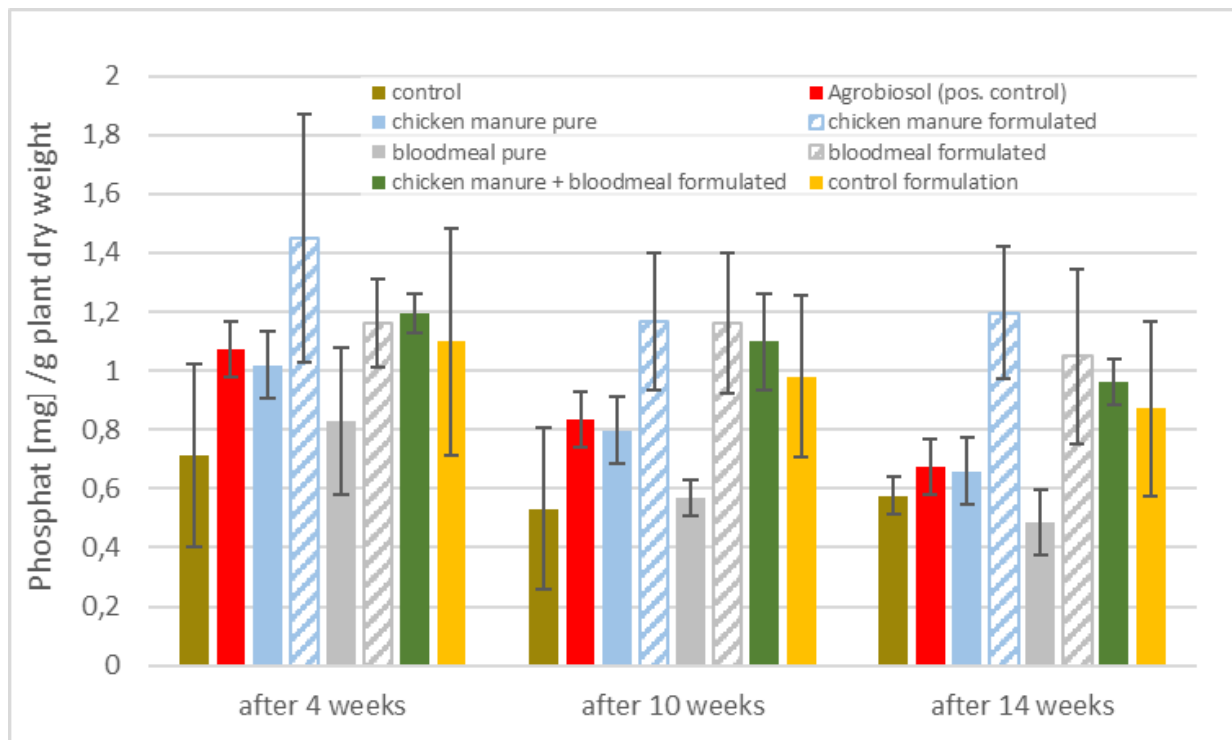


Abbildung 26: Effekt der Behandlungen auf die Phosphatversorgung der Pflanzen

Als weiterer Parameter der Nährstoffverfügbarkeit im Substrat wurde das Aufkommen von Beikräutern bonitiert (Tabelle 12). Der hohe Anteil an Beikräutern bei den mit Hühnertrockenkot (hohe Konz.) behandelten Pflanzen, deutet auf einen hohen Anteil verfügbarer Nährstoffe hin. Dies konnte sowohl bei den unformulierten Hühnertrockenkot (HTK), als auch bei der Formulierung, beobachtet werden. Im Vergleich dazu zeigt Blutmehl (BM) signifikant weniger für Beikräuter frei verfügbare Nährstoffe.

Auch aus diesem Grund wurde kein Hühnertrockenkot mehr verwenden.. Gegen die Verwendung von Hühnertrockenkot sprach außerdem die geringe Ammoniumkonzentration und die sehr heterogene Zusammensetzung (biologische/konventionelle Fütterung). Es gab kein standardisiertes HTK, weshalb sich Unterschiede (z. B. Konzentration Ammonium-Ionen) von Charge zu Charge ergaben.

Tabelle 12: Gelistet ist die Menge der gewachsenen Beikräuter. Benotung: 0= nichts; 1= wenig; 2= mittel; 3=viel; 4=sehr viel; a= Nachtkerzengewächse (Weidenröschen-ähnlich); b= Korbblüter (Löwenzahn-ähnlich/Pippau/Ferkelkraut); b=Schmetterlingsblüter (Klee); c= Kreuzblüter (Arabidopsis spp)

Block	Ohne Dünger	Biosol	HTK	BM	BM+HTK mit Coating	HTK mit Coating	BM mit Coating	Coating-Kontrolle
1	0	3 a	3 a	3 b	0	2 a	0	4 a
2	0	3 a	0	0	1 a	3 a	0	2 a
3	0	2 a	0	0	1 a	0	0	0
5	0	4 a	3 b	0	3 a	3 a	2 a	2 a
6	0	4 a	3 b	1a *Läuse	0	0	0	0
8	0	3 a	3 a	0	3 a	3 a	2 a	3 a
9	0	3 a	3 a,b	0	3 a	1 a	0	2 a, d
10	0	3 a	0	0	0	2 a	0	2 c
13	0	4 a	3 a	1a	4 a	3 a	0	4 a
15	0	3 a	3 a	0	1 a	4 a	0	1 a

Zusammenfassung Nährstoffversorgung

In den Untersuchungen zur Nährstoffversorgung der Versuchspflanzen, konnte bei den formulierten Wirkstoffen Blutmehl und Hühnertrockenkot, eine verbesserte Versorgung mit Stickstoff nachgewiesen werden. Die Versorgung war gegenüber einer Düngung mit reinen Wirkstoffen signifikant erhöht. Auch zeigte sich eine Verbesserung der Phosphatversorgung bei Pflanzen, die mit einem aktiven formulierten Bestandteil gedüngt wurden.

In zwei Versuchen (2021, 2022) wurde der Einfluss der entwickelten Formulierungen auf 5 Jahre alte Heidelbeeren der Sorte „Bluecrop“ über einen längeren Zeitraum untersucht. Die bisher gewonnenen wissenschaftlich-technischen Ergebnisse führten auch hier zu weiteren Formulierungen. Neben Blutmehl als aktiven Bestandteil, setzten wir auch Fischmehl ein. Hierfür wurden Versuche im Folientunnel unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt, sowie umfangreichere Versuche in größeren Containerkulturen im Freiland. Außerdem wurden weitere Synergien mit Pflanzenstärkungsmitteln untersucht, als Beispiel seien ericoide Mykorrhiza und *Bacillus subtilis* angeführt.

Screening Polymere und Formulierungshilfsmittel (2021)

Ziel ist es den Zeitraum der Freisetzung an die Nährstoffbedürfnisse der Heidelbeerpflanzen anzupassen.

- K-Carrageenan (Roth), ein biologisches Algenpolymer. Dies dient als Matrix
- Zeolithe-1 / Zeolithe-2 (Lithosprotect) Ein Gesteinsmehl mit einer großen inneren Oberfläche und vielen Bindungsstellen für geladene Moleküle wie Ammonium. Dies dient der Verzögerung der Freisetzung.
- Chitosan (als Coating): Verzögert die Freisetzung in den Boden.

Entwicklung von Formulierungen für Ammonium-Dünger

Die Formulierungen mit Blutmehl (BM) und den Hydrolyseprodukten (Peptide, Aminosäuren) als organische Stickstoffquelle wurden weiterentwickelt und auch 2021/2022 auf die Wirkung an Heidelbeeren untersucht. Außerdem wurden in diesem Zeitraum Fischmehl (FM), Chitosanhydrolysate und Hefeextrakt (HA) als aktive Bestandteile zur Entwicklung von Dünger-Formulierungen ausgewählt. Es wurde zusätzlich in jeder Formulierung mit und ohne Chitosan-coating experimentiert. Die verschiedenen Ansätze sind in Tabelle 13 aufgeführt.

Laborprotokoll

Zur Herstellung der Formulierungen wurden für jedes Treatment jeweils Blutmehl oder Fischmehl und Zeolithe in 2% *k*-Carrageenan Lösung bei 60° gelöst. Diese wurde unter geeignetem Druck bei 65° C in eine KCl-Lösung extrudiert, um die kugelförmigen Granulate zu formen. Anschließend wurden diese über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet. Für die Treatments mit Coating wurde im Trommeltrockner eine 0,5% Chitosan Lösung auf die Granulate aufgesprüht und getrocknet. Zur Herstellung der Formulierungen mit Hefedickwasser wurden die festen Bestandteile abzentrifugiert und bei 60°C getrocknet. Für jedes Treatment wurden Hefedickwasser und Zeolithe in 2% *k*-Carrageenan Lösung bei 60°C gelöst, bis sich eine homogene Paste gebildet hat. Diese wurde bei 65°C unter geeignetem Druck in eine KCl-Lösung extrudiert, um die kugelförmigen Prototypen zu formen. Diese wurden über Nacht getrocknet. Für die Treatments mit Coating wurde wie oben beschrieben verfahren. Die eingebrachte Menge an Gesamt-Stickstoff betrug in allen Treatments ca. 2,5 g pro Pflanze

Tabelle 13: Ansätze der Düngemittelexperimente für die Sommersaison 2021

Treatment Nummer	Formulierung	Coating	n	Aufwandmenge pro Topf
T1.1.1	Blutmehl (BM) + 2% <i>k</i> -Carra* + Zeolithe-1	Chitosan	10	25 g
T1.1.2	BM + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-1	/	9	25 g
T1.2.1	BM + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-2	Chitosan	8	25 g
T1.2.2	BM + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-2	/	9	25 g
T1.3.1	BM + 2% <i>k</i> -Carra	Chitosan	9	25 g
T1.3.2	BM + 2% <i>k</i> -Carra	/	8	25 g
T1	Blutmehl (BM)		10	25 g
T2.1.1	Fischmehl (FM) + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-1	Chitosan	6	25 g
T2.1.2	FM + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-1	/	6	25 g
T2.2.1	FM + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-2	Chitosan	6	25 g
T2.2.2	FM + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-2	/	6	25 g
T2.3.1	FM + 2% <i>k</i> -Carra	Chitosan	6	25 g
T2.3.2	FM + 2% <i>k</i> -Carra	/	6	25 g
T2	Fischmehl (FM)		10	25 g
T3.1.1	Hefe mit Aktivkohle (HA) + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-1	Chitosan	6	10 g
T3.1.2	HA + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-1	/	6	10 g
T3.2.1	HA + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-2	Chitosan	6	13 g
T3.2.2	HA + 2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-2	/	6	13 g
T3.3.1	HA + 2% <i>k</i> -Carra	Chitosan	6	13 g
T3.3.2	HA + 2% <i>k</i> -Carra	/	6	13 g
T3	Hefe mit Aktivkohle (HA)		10	30 g
K1.1	2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-1	Chitosan	10	5 g
K1.2	2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-1	/	10	4 g
K2.1	2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-2	Chitosan	9	4 g
K2.2	2% <i>k</i> -Carra + Zeolithe-2	/	9	4 g
K3.1	2% <i>k</i> -Carra	Chitosan	10	2,5 g
K3.2	2% <i>k</i> -Carra	/	9	2,5 g
K4	Vorgedüngtes Substrat		10	
K5	Kontrolldünger Biosol		10	
K6	Kontrolldünger Osmocote		10	
K7	Unbehandelte Pflanze		10	
		Insgesamt	252 Pflanzen	

Einfluss der entwickelten Formulierungen auf *Vaccinium corymbosum*

Die entwickelten slow-release Dünger werden seit Anfang Juni im Folientunnel der Firma piccoplant getestet. In diesem Jahr wurden für die Versuche Heidelbeeren der Sorte „Goldtraube“ ausgewählt. Insgesamt sind 232 Pflanzen im Versuch. Die Ansätze der verschiedenen Düngemittelformulierungen sind in Tabelle 13 (siehe oben) zusammengefasst. Als Kontrolldünger wurde wie im vergangenen Jahr der organische NPK-Dünger Biosol (7-1-1) verwendet. Neben diesem wurde auch Osmocote als mineralischer Langzeitdünger in die Experimente mit aufgenommen.

Die Aufwandmengen wurden so angepasst, dass jede Pflanze 2,5 g Stickstoff (N) erhält.

Für die Versuche wurde ein Substrat der Firma Gramoflor zum Anbau von Heidelbeeren mit einem pH-Wert von 4,5 verwendet. Alle Bestandteile des Substrats sind FiBL- gelistet und für den ökologischen Anbau von Heidelbeeren geeignet. Für die Versuche wurde wieder ein Substrat ohne Vordüngung verwendet, um die Wirkung der organischen Dünger besser beurteilen zu können. In einem Ansatz (n=10) wurden auch Pflanzen mit einer vorgedüngten Variante dieses Substrats mit getestet. Der Dünger in diesem Substrat ist ein organischer NPK- Dünger von Gramoflor (GramoECO-Fert 4,5-7-1,5).

Die Pflanzen wurden in 3,5 L Containern getopft und die Düngemittel beim Topfen in das Substrat eingemischt. Die Applikation erfolgte hier Anfang Juni (KW 22). Die Laufzeit des Experimentes war auf 12 Wochen ausgelegt.

Blattproben wurden genommen und auf ihren Gehalt an Stickstoff, Eisen und Phosphat ausgewertet. Untersucht werden die Wirksamkeit der neuen formulierten Düngemittel auf das Wachstum der Heidelbeere. Fotos der Pflanzen wurden nach 4 Wochen (KW 27) und nach 8 Wochen (KW 31) gemacht. Eine finale Bonitur um den Langzeiteffekt abzuschätzen erfolgt nach 12 Wochen. Entwicklung. Die folgenden Abbildungen zeigen exemplarisch die Entwicklung der Pflanzen nach Applikation der verschiedenen Treatments zu den unterschiedlichen Beprobungszeitpunkten.

Unbehandelt



KW 23



KW 27



KW 31

Abbildung 27: Unbehandelte Pflanzen vor Beginn der Versuche (KW 23) und nach 4 bzw. 8 Wochen

Biosol



KW 23



KW 27



KW 31

Abbildung 28: Mit Biosol gedüngte Pflanzen vor Applikation und nach 4 bzw. 8 Wochen

T1.2.2 Blutmehl + 2% *k*-Carrageenan + Zeolithe-2



KW 23



KW 27



KW 31

Abbildung 29: Mit Blutmehl (formuliert) gedüngte Pflanzen vor Applikation und nach 4 bzw. 8 Wochen

T2.2.2 Fischmehl + 2% *k*-Carrageenan + Zeolithe-2



KW 23



KW 17



KW 31

Abbildung 30: Mit Fischmehl (formuliert) gedüngte Pflanzen vor Applikation und nach 4 bzw. 8 Wochen

T3.2.2 Hefe mit Aktivkohle + 2% *k*-Carrageenan + Zeolithe-2



KW 23



KW 27



KW 31

Abbildung 31: Ansatz Hefe mit Aktivkohle vor Applikation und 4 bzw. 8 Wochen danach

K2.1 2% *k*-Carrageenan + Zeolithe-2 + Chitosan



KW 23



KW 27



KW 31

Abbildung 32: Kontrolle (*k*-Carrageenan, Zeolithe und Chitosan)

Die Ergebnisse der Wachstumsexperimente zeigten bereits ohne Software-gestützte Auswertung optisch deutliche Unterschiede in der Entwicklung der Pflanzen. Bei den unbehandelten Kontrollpflanzen war über den Versuchszeitraum ein deutlicher Nährstoffmangel zu erkennen. Die Blätter waren gelb bis rötlich gefärbt und die Pflanzen sind kaum gewachsen.

Bei den mit Blutmehl und Fischmehl behandelten Versuchspflanzen konnte im Vergleich zu den unbehandelten Pflanzen, bei allen formulierten Ansätzen ein gesundes starkes Pflanzenwachstum beobachtet werden. Die Qualität und Vitalität der Pflanzen (Blattfärbung und Wachstum als Kriterien) war vergleichbar gut mit den Pflanzen, die mit dem organischen Kontrolldünger Biosol und dem mineralischen Kontrolldünger Osmocote, behandelt worden sind. Es waren keine oder sehr wenig Chlorosen der Blätter zu beobachten. Auch in den Ansätzen mit den unformulierten Wirkstoffen Blutmehl (T1) und Fischmehl (T2) zeigten die Pflanzen ein sehr gutes Wachstum und eine gute Vitalität.

Die Pflanzen die mit formulierter Hefe und Aktivkohle (T3.2.2) behandelt wurden, sahen im Vergleich deutlich schlechter aus. Nährstoffmangel ist hier schon deutlich erkennbar an der blassgrünen Blattfarbe und den teilweise rötlichen Verfärbungen der Blätter. Die Pflanzen, die mit den Kontrollformulierungen behandelt wurden, zeigten ein ähnlich schwaches Wachstum wie die unbehandelten Pflanzen. Auch hier sind anhand der Blattfärbungen deutliche Nährstoffmängel zu erkennen. Dies bedeutet, dass die Formulierungsbestandteile allein keinen wachstumsfördernden Effekt auf die Pflanzen hatte.

Einfluss der Formulierungen auf das Pflanzenwachstum

Die Einflüsse der Formulierungen auf das Höhenwachstum der Versuchspflanzen sind auf den Fotos auch zu sehen: Blutmehl (Abb. 29 T1.2.2), Fischmehl (Abb. 30 T2.2.2) und Hefe + Aktivkohle (Abb. 31 T3.2.2) im Vergleich mit den Kontrollformulierungen (K1.1 – K3.2), den Kontrolldüngern GramoECO-Fert, dem ökologischen Kontrolldünger Biosol, dem mineralischen Langzeit-Kontrolldünger Osmocote und den unbehandelten Pflanzen nach 8 Wochen zusammengestellt. Die Zusammensetzung der einzelnen Formulierungen finden sich in Tabelle 13 (Seite 49). Die Versuchspflanzen, die mit den Blutmehl-Formulierungen behandelt wurden zeigten sowohl gegenüber den unbehandelten Pflanzen, als auch den Formulierungen ohne Wirkstoffe, ein besseres Höhenwachstum innerhalb von 8 Wochen.

Ein ähnlicher Einfluss konnte auch bei den mit den Fischmehl- und HA-Formulierungen behandelten Versuchspflanzen beobachtet werden. Im Vergleich zu den Blutmehl- und Fischmehl-Formulierungen, zeigten die mit HA- behandelten Pflanzen das geringste Höhenwachstum. Den größten Höhenzuwachs konnte hier bei den Pflanzen beobachtet werden, die mit dem mineralischen Langzeitdünger Osmocote behandelt worden sind.

Das Höhenwachstum allein ist allerdings allein kein Kriterium für die Qualität der Düngemittel und ihrer Wirkung, da die Pflanzen sich auch zur Seite hin ausbreiten.

Die Versuchspflanzen, die mit den Blutmehl-Formulierungen behandelt wurden, zeigten sowohl gegenüber den unbehandelten Pflanzen, als auch den Formulierungen ohne Wirkstoffe, ein besseres Höhenwachstum innerhalb von 8 Wochen. Ein ähnlicher Einfluss konnte auch bei den mit den Fischmehl- und HA-Formulierungen behandelten Versuchspflanzen beobachtet werden. Im Vergleich zu den Blutmehl- und Fischmehl-Formulierungen, zeigten die mit HA- behandelten Pflanzen das geringste Höhenwachstum. Den größten Höhenzuwachs konnte hier bei den Pflanzen beobachtet werden, die mit dem mineralischen Langzeitdünger Osmocote behandelt worden sind.

Experimente zu biologischen Stickstoffquellen (2021 - 2022)

Als biologische Stickstoffquellen wurden definierte Reststoffe der Tierproduktion (Blutmehl) sowie der Fischverarbeitung (Fischprotein) und Brauindustrie (Schlempe) ausgewählt. Die Auswahl beruhte auf Daten der chemischen Zusammensetzung (Proteine, Peptide, Aminosäuren). Verschiedene kommerzielle Proben wurden chemisch analysiert. Die Hefen entstammten der Schlempe aus der Brauereiindustrie (Firma Leiber). Hier sind auch wertvolle Mineralien und eine hohe Stickstoffkonzentration verfügbar.

Zur Gewinnung eines Gemisches aus festen und flüssigen Inhaltsstoffen wurden die Proteine (Polypeptide) sowohl sauer als auch enzymatisch (Proteasen) zu kleineren Peptiden (Oligopeptide) und monomeren Aminosäuren hydrolysiert. Die Hydrolysebedingungen variierten in pH, Enzymkonzentration, Temperatur und Reaktionszeit. Verschiedene Hydrolysate wurden standardisiert (pH 4,5 etc.) und anschließend zu *Vaccinium*-Kulturen als biologische N-Quelle hinzugefügt.

Für die Saison 2022 wurden 120 Pflanzen der Sorte *Vaccinium corymbosum* „Bluecrop“ in 30 L und 60 L Containern gepflanzt, die mit den entwickelten Düngemittelformulierungen

behandelt werden sollen. Zu den Pflanzen wurden verschiedene Pflanzenstärkungsmittel und Bodenverbesserer gegeben. Hierzu zählen ericoide Mykorrhiza, Huminsäuren (Perhumus Granulat) und ein Präparat mit Algenextrakt, *Trichoderma harzianum* und *Bacillus subtilis* Stämmen.

Außerdem wurden jeweils 10 Pflanzen der Heidelbeersorten Dixi-Früh, Sunshine Blue, Atlantic, Heerma II, Goldtraube und der Waldheidelbeere *Myrtillus*, in 15 L Containern gepflanzt, um zum einen eine größere Sortenvielfalt abzudecken, zum anderen die Fruchtbarkeit durch Fremdbestäubung zu erhöhen und damit den Ertrag.



Abbildung 33: Vaccinium Kulturen im Folientunnel mit 60 L und 30 L Ansätzen.

Entwicklung neuer Formulierungen für Ammonium-Dünger (Zeolithe)

Zur Reduktion der Freisetzung von Ammonium, Eisen und weiterer Nährstoffe aus den Kapseln wurden zwei unterschiedliche Zeolithe (Tab.14) mit in die Kapselmatrices eingebracht. Jede Formulierung wird jeweils mit und ohne Chitosan Coating untersucht. Das Coating sollte auch die Freisetzung verlangsamen. Die verschiedenen Ansätze sind in Tabelle 13 aufgeführt.

Als Nährstoffquelle (Stickstoff) wurde Blutmehl oder Fischmehl verwendet. Blutmehl konnte bereits in der Saison 2020 mit Erfolg getestet werden. Eine weitere, neu getestete Stickstoffquelle stellte Schlempe (Brauerei, Hefedickwasser) dar.

Tabelle 14: Ausgewählte Zeolithe

Produkt	Körnung gem. Datenblatt [μm]	Ergebnis KAK [meq/100g] bzw. [cmol+/kg]	Ergebnis Analyse (NH ₄ -N, at pH=7) [meq/100g]
LithoFill MM	10	163,56	115,28
LithoFill 100	180	102,93	80,45

Laborprotokoll

Zur Herstellung der Formulierungen mit Blutmehl und Fischmehl wurden für jedes Treatment jeweils Zeolithe in 2% k-Carrageenan Lösung bei 60° gelöst. Diese wurde unter geeignetem Druck bei 65° C in eine KCl-Lösung extrudiert, um die kugelförmigen Granulate zu erziehen. Anschließend wurden diese über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet. Für die Treatments mit Coating wurde im Trommeltrockner eine 0,5% Chitosan Lösung auf die Granulate aufgesprüht und bei Raumtemperatur über Nacht getrocknet.

Zur Herstellung der Formulierungen mit Hefedickwasser wurden die festen Bestandteile abgetrennt und über Nacht bei 60°C getrocknet. Für die Herstellung wurden Hefedickwasser und Zeolithe in 2% k-Carrageen Lösung bei 60°C gelöst, bis sich eine homogene Paste gebildet hat. Diese wurde bei 65°C unter geeignetem Druck in eine KCl-Lösung extrudiert, um die kugelförmigen Produkte zu formen. Anschließend wurden diese unter Raumtemperatur über Nacht getrocknet. Die eingebrachte Menge an Gesamt-Stickstoff betrug in allen Treatments ca. 2,5 g pro Pflanze. Dies ermöglicht die direkte Vergleichbarkeit.

Als Kontrollen dienten GramoECO-Fert (vorge düngtes Substrat = K4), ökologischer Kontrolldünger Biosol (K5), mineralischer Langzeit-Kontrolldünger Osmocote (K6) und unbehandelte Pflanzen (K7).

Die folgenden Abbildungen zeigen den Einfluss der Formulierungen auf das Höhenwachstum der Versuchspflanzen. Es wurden verschiedene Ansätze untersucht.

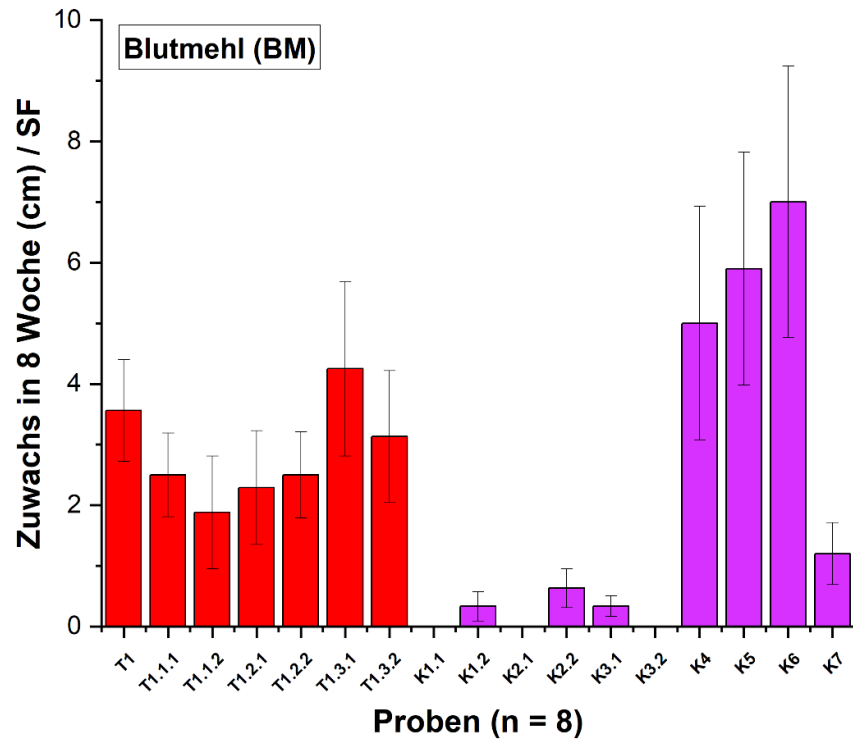


Abbildung 34: Höhenzuwachs der Pflanzen in cm nach 8 Wochen (Blutmehl-Formulierungen und Kontrollen) n=8

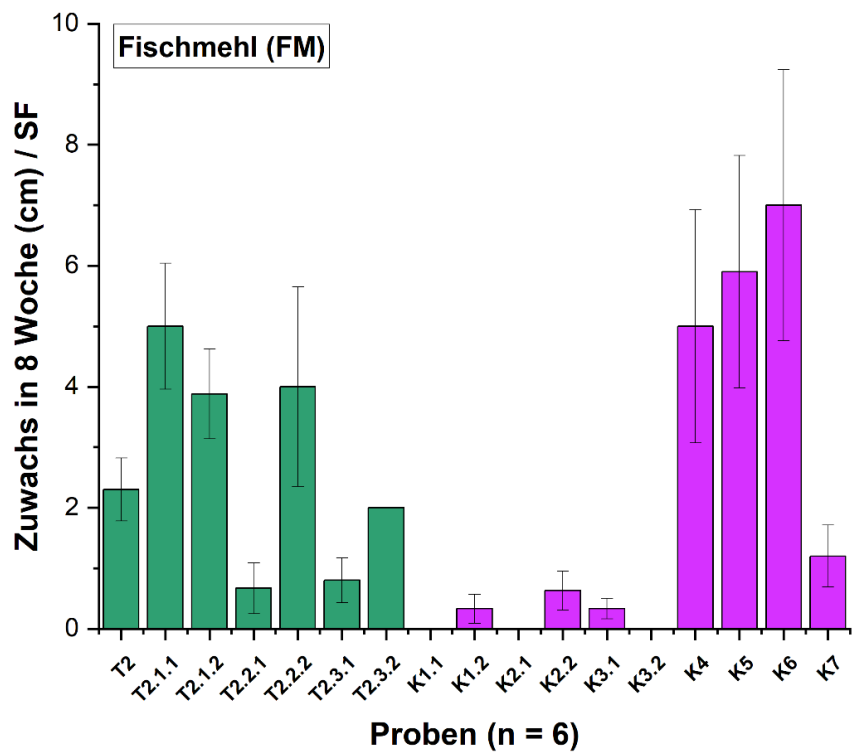


Abbildung 35: Höhenzuwachs der Pflanzen in cm nach 8 Wochen (Fischmehl-Formulierungen und Kontrollen) n=6

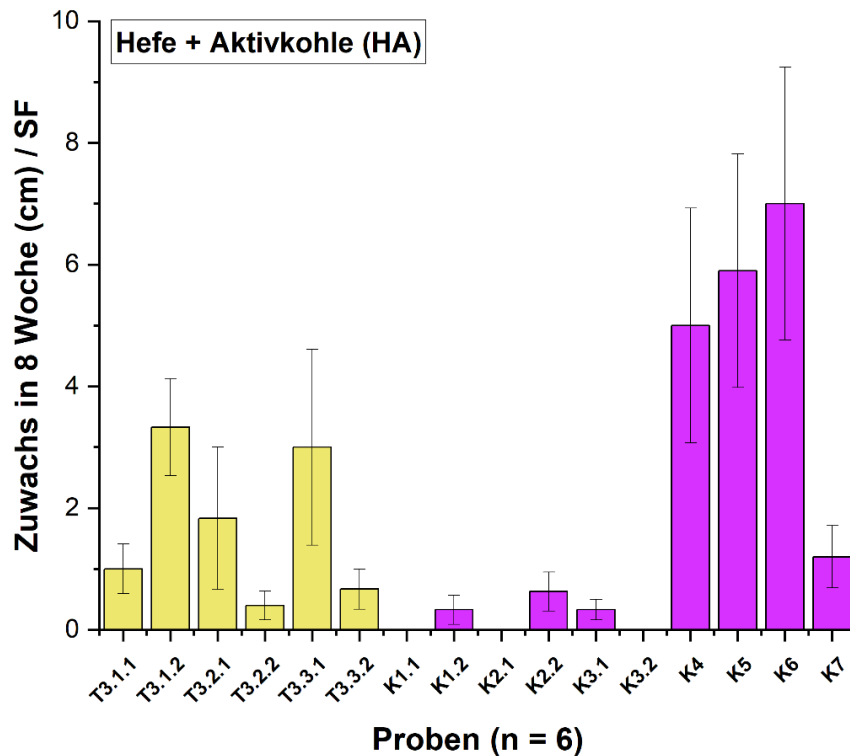


Abbildung 36: Höhenzuwachs der Pflanzen in cm nach 8 Wochen (HA-Formulierungen und Kontrollen)

Ergebnisse

Die Zugabe von Zeolithe 2 (LithoFill MM) führt zu einer reduzierten Freisetzung, weil die Porengröße viel kleiner ist (10 µm) als bei Zeolithe 1 (LithoFill 100, 180 µm).

Blutmehl zeigte den besten Effekt auf das Wachstum, weil die Hydrolyse des Blutmehl (Peptide, Aminosäuren) die beste Absorption von Heidelbeeren zeigt und es außer N-Peptiden noch andere Nährstoffe gibt, die das Wachstum von Heidelbeeren verbessern..

Das größte Höhenwachstum zeigten Pflanzen die mit dem mineralischen Langzeitdünger Osmocote (K6) behandelt wurden. Das niedrigste Wachstum war in den Pflanzen ohne Düngereinsatz (K7) bzw. die mit Formulierungen ohne Wirkstoffe behandelt wurden (K1-K3).

Die Heidelbeeren, die mit Formulierungen behandelt wurden die Zeolithe enthielten wie Blutmehl (T1.1.1 – T1.2.2) bzw. Hefehydrolysat (T3.1.1 – T3.2.2) zeigten ein durchschnittlich niedrigeres Wachstum im Vergleich mit den Heidelbeerpflanzen, die mit Formulierungen ohne Zeolithe (T1.3.1 – T1.3.2 & T3.3.1 – T3.3.2) behandelt wurden. Dies kann mit einer verzögerten Freisetzung der Wirkstoffe durch die Zeolithe zusammenhängen.

Demgegenüber zeigten die Heidelbeerpflanzen behandelt mit Formulierungen mit Zeolithen und Fischmehl (T2.1.1 – T2.2.2) ein höheres Wachstum im Vergleich mit den entsprechenden Heidelbeerpflanzen behandelt mit Formulierungen ohne Zeolithe (T2.3.1 – T2.3.2).

Werden nun die drei aktiven Wirkstoffe, Blutmehl, Fischmehl und Hefehydrolysat miteinander verglichen, so zeigt sich das Blutmehl in Formulierungen ohne Zeolithe die beste Wirkung auf das Höhenwachstum aufweist. Gleiches gilt für Fischmehl in Kombination mit Zeolithen.

Die geringsten Effekte hatte das Hefehydrolysat. Dieses wird daher in weiteren Experimenten ausgeschlossen. Auch hier werden noch die Sickerwasserproben ausgewertet und die Bilder der Blätter (wie im vergangenen Jahr berichtet) weiter untersucht, um eine Aussage über den Ernährungsstand der Pflanzen treffen zu können.

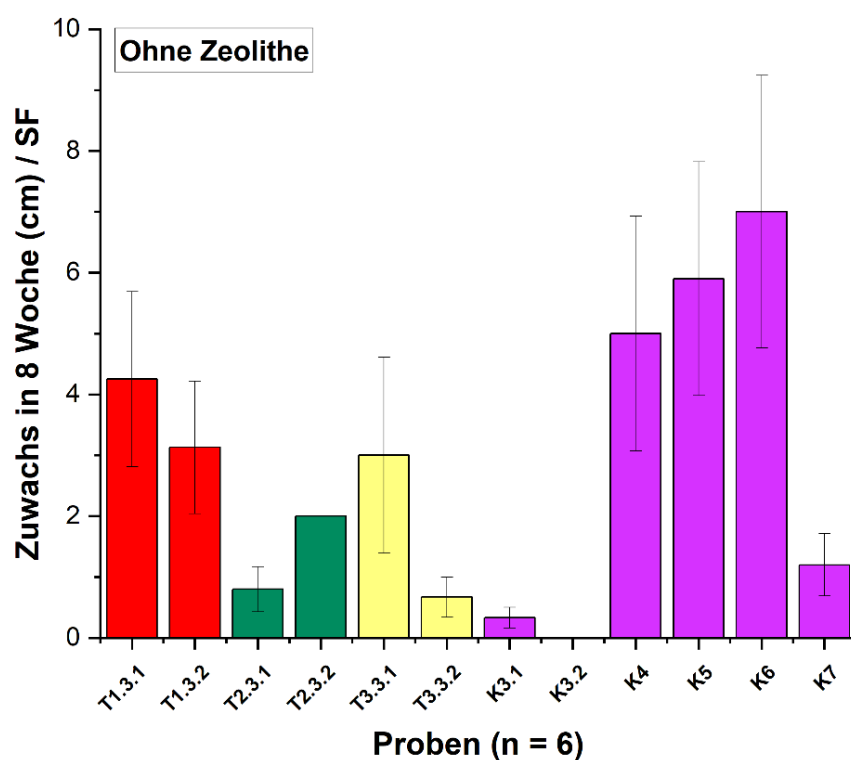


Abbildung 37: Zuwachs der Pflanzen in cm in 8 Wochen (Formulierung ohne Zeolithe)

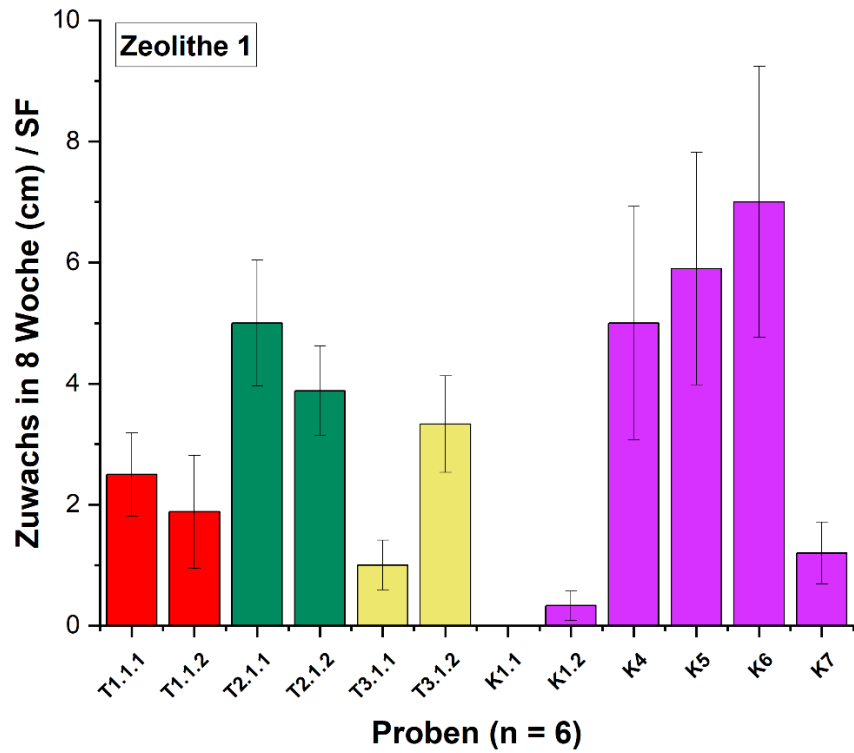


Abbildung 38.: Zuwachs der Pflanzen in cm in 8 Wochen (Formulierung mit Zeolithe 1)

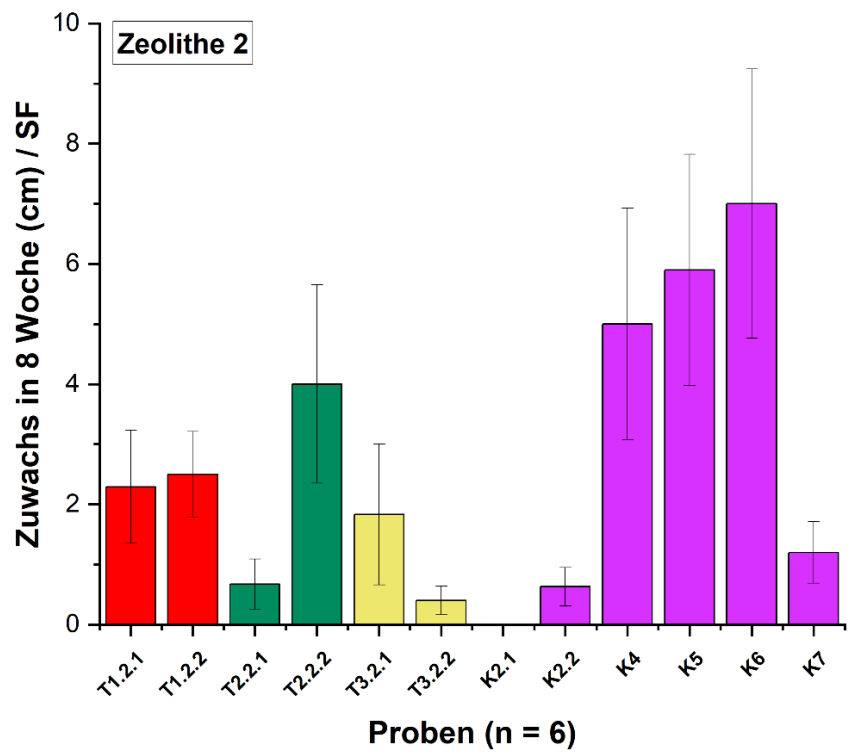


Abbildung 39.: Zuwachs der Pflanzen in cm in 8 Wochen (Formulierung mit Zeolithe 2)

Einfluss der entwickelten Formulierungen auf *Vaccinium corymbosum*

Die Wirkung der entwickelten Formulierungen von 2021 auf das Sprosswachstum von *Vaccinium corymbosum* „Goldtraube“ wurde im Anschluss untersucht. Die verschiedenen Formulierungsansätze und die jeweiligen Stückzahlen der Versuchspflanzen sind noch einmal in Tabelle 13 zusammengefasst.

Einfluss der entwickelten Formulierungen auf die Bewurzelung

Auf den Fotos sind exemplarisch die Wurzelballen einzelner Versuchspflanzen abgebildet (Zeitpunkt der Aufnahmen: Februar / März 2022).



Abbildung 40: **Unbehandelte Pflanzen**



Abbildung 41: **Biosol**



Abbildung 42: **T1.1.1 Blutmehl (BM)** + 2% k-Carra* + Zeolithe-1 + Chitosan



Abbildung 43: **T2.1.1 Fischmehl (FM)** + 2% k-Carra + Zeolithe-1 + Chitosan



Abbildung 44: **T3.1.1 Hefe mit Aktivkohle (HA)** + 2% k-Carra + Zeolithe-1 + Chitosan



Abbildung 45: **K2.1** 2% k-Carra + Zeolithe-2 + Chitosan

Ergebnisse Wurzelversuche 2022:

Alle Versuchspflanzen zeigten ein gesundes Wurzelwachstum. Nach subjektiver Einschätzung sind nur kleine Unterschiede zwischen den einzelnen Ansätzen erkennbar. Die Versuchspflanzen, die mit den formulierten Wirkstoffen Blut- und Fischmehl (Hydrolysate) behandelt wurden, sind gegenüber den Kontrollformulierungen (ohne Wirkstoffe) deutlich besser durchwurzelt. Es haben sich signifikant mehr Wurzeln gebildet und das Wurzelgeflecht ist verzweigter. Positiv hervorzuheben ist hier auch die Aktivität zahlreicher Regenwürmer, was generell für eine hohe Bodenfruchtbarkeit spricht.

Die formulierten Varianten zeigten auch gegenüber den unbehandelten Pflanzen und der vorgedüngten Variante eine bessere Durchwurzlung des Substrates. Beim organischen Kontrolldünger Biosol und dem mineralischen Kontrolldünger waren die Wurzeln teilweise etwas kräftiger ausgebildet.

Im Gegensatz zum Sprosswachstum, war das Wurzelwachstum der Versuchspflanzen mit der Hefe + Aktivkohle Formulierung, nach optischen Kriterien deutlich schwächer. Nur sehr vereinzelt war es auf ähnlichem Niveau wie die anderen Formulierungen.

Für die Saison 2022 wurden im vergangenen Jahr 120 Pflanzen der Sorte *Vaccinium corymbosum* „Bluecrop“ in 30 L und 60 L Containern gepflanzt und mit verschiedenen Pflanzenstärkungsmitteln und Bodenverbesserern vorbehandelt. Dazu zählen ericoide Mykorrhiza (INOQ), Huminsäuren (Perlhumus; Humintech) und eine Kombination aus Algenextrakt (*Ascophyllum nodosum*), *Bacillus subtilis* (BS) und *Trichoderma harzianum* (TH) zur Förderung des Pflanzenwachstums und Stärkung der Widerstandskraft gegenüber Schädlingen (Biohealth WSG TH BS; Humintech). Die Ansätze mit den jeweiligen Stückzahlen sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

Tabelle 15: Versuche mit Pflanzenstärkungsmitteln und Bodenverbesseren

Änsätze für 30 L Container (C30)	Anzahl
0-Substrat	5
Vorgedüngtes Substrat (Gramo Eco-Fert)	5
0-Substrat + Mykorrhiza	10
0-Substrat + Perlhumus 200 g	5
0-Substrat + Perlhumus 100 g	5
0-Substrat + Biohealth TH BS WSG	10
0-Substrat mit allen Zusätzen	70
Gesamt:	110

Weitere 10 Pflanzen der Sorte Bluecrop mit den aufgeführten Zusätzen wurden in 60 L Containern getopft. Die Pflanzen sollen Anfang der kommenden Wachstumsperiode 2022 mit den entwickelten Düngemitteln gedüngt werden. Synergieeffekte mit den in Tabelle 15. aufgeführten Zusätzen sollen weiter beobachtet werden (2022 / 2023).

Weiter geplant ist die Nutzung von Mikroklee als Bodendecker zur Eindämmung von Beikräutern. Dieser pflanzliche Stickstoff-Dünger und Pflanzenstärkungsmittel soll die Entwicklung neuer organischer N-Dünger ermöglichen.

2.4.4 Beitrag des Ergebnisses zu förderpolitischen EIP-Themen

Die erzielten Ergebnisse dienen der Stärkung der Innovationspotenziale im ländlichen Raum über die Nutzung neuer organischer N-Dünger. Sie sind auf die Anwendung in landwirtschaftlichen Betrieben ausgelegt. Bei einer Steigerung der daraus resultierenden Ernteerträge ergibt sich eine Innovation für den landwirtschaftlichen Bereich, speziell in Niedersachsen. Ein ökologisches Stickstoff-Düngemittel in dieser Form und Effizienz existiert bislang nicht. Weitere Nutzungspotenziale dieser Produkte liegen potentiell im gesamten Pflanzen- und Ackerbau. Der Lösungsansatz mit neuen N-organischen Düngern trägt auch zur Lösung aktueller Klimaaspekte bei. Nährstoff-, Boden-, Insekten- und Wasserproblematik in der Landnutzung seien hier genannt. Die Stärkung der Wettbewerbsfähigkeit der niedersächsischen Landwirtschaft durch eine nachhaltige Rohstoffnutzung im Nährstoffmanagement sind von großer Bedeutung.

Das auf pflanzlichen / tierischen Inhaltsstoffen basierende Düngemittel / Pflanzenstärkungsmittel, das in diesem Projekt entwickelt wurde (Proof of Concept), kann daher eine Alternative zu den konventionellen Nitrat-Düngern darstellen. Durch die Nutzung von biologischen N-Düngemitteln, die auf Reststoffen der Agrar- / Lebensmittelindustrie beruhen, streben wir auch eine nachhaltigere Landwirtschaft an. Übergeordnetes Ziel ist eine ressourcenschonende Kreislaufwirtschaft im Pflanzenbau.

Auch die sehr energieaufwendige Produktion anorganischer N-Dünger (Haber-Bosch Verfahren) kann zumindest teilweise durch die neuen biologischen Produkte ersetzt werden.

Der thematische Schwerpunkt der Ergebnisse liegt einerseits auf den EIP-Zielen nach Nr. 1.3 der EIP-Richtlinie: „*Stärkung der Wettbewerbsfähigkeit* und nachhaltige Rohstoffnutzung im Nährstoffmanagement“ und andererseits auf dem niedersächsischen thematischen Schwerpunkt: „*Stärkung der Innovationspotenziale im ländlichen Raum*“.

2.4.5 Nebenergebnisse

Es wurden keinerlei unerwartete Nebenergebnisse erzielt, die zu einer weiteren Produktentwicklung führten.

2.4.6. Arbeiten, die zu keiner / zu keinem Ergebnis geführt haben

Die Produkte aus Hühnertrockenkot (HTK) führten im Feldversuch (Piccoplant) zu keinen befriedigenden Effekten auf das Langzeit-Wachstum. Selbst bei deutlich erhöhten Konzentrationen an HTK in Container-Versuchen war dies der Fall.

2.4.7 Mögliche weitere Verwendung von Investitionsgütern

Es sind keine Investitionsgüter über das Projekt angeschafft worden.

2.5 Nutzen der Ergebnisse für die Praxis (verwertbare Empfehlungen)

Der Umstieg von konventionellem zu ökologischem Landbau soll durch die erzielten Ergebnisse (N-Dünger und Pflanzenstärkung) erleichtert werden. Weiterhin soll die ökonomische Situation der ökologischen Produktion erleichtert werden, auch über den Anbau von Heidelbeeren hinaus.

2.6 Geplante Verwertung und Nutzung der Ergebnisse

Nach Beendigung dieses Projektes, sollen die Produkte auf weiteren konventionell und ökologisch wirtschaftenden Heidelbeerbetrieben, in der Region, getestet werden. Hier können entsprechende Kontakte aufgezeigt werden. Zusätzlich sollen auch „Best Practices“ rund um den Anbau von Heidelbeeren bei den Betrieben promoviert werden. Dies beinhaltet die Schaffung von Habitaten für Bestäuber und Antagonisten sowie ein verbessertes Mulchsystem und Untersaaten zur Erhöhung der Biodiversität und Mitigation der Insektenproblematik in der Bestäubung.

2.7 Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit

Für die OG wird es einen deutlichen Nutzen in wirtschaftlicher Hinsicht durch dieses Projekt geben. Beim OG-Partner Piccoplant werden die Ergebnisse des Projektes mit der Etablierung eines ökonomisch und ökologisch optimierten Anbausystems für Heidelbeerkulturen weiter umgesetzt. Das neue Produkt beruht auf spezifischen Proteinhydrolysaten (Blutmehl). Die weitere Entwicklung von Biostimulanzien als organischer N-Dünger und Pflanzenstärkungsmittel wird in einem folgenden wissenschaftlichen Projekt von Piccoplant, der Universität Oldenburg und der Biotechnologie Nord eine zentrale Rolle spielen.

Unter wirtschaftlichen Aspekten ist auch die angestrebte Produktion von N-organisch kultivierten Jungpflanzen / Halbfertigware als Ausgangsmaterial für andere Betriebe zu sehen.

2.8 Kommunikations- und Disseminationskonzept

Zur Verbreitung verfolgte die OG eine ausgedehnte Disseminationsstrategie ab dem Start des Projektes. Zur Information über die Durchführung des Projektes und Bekanntgabe von Terminen wurde über der Facebook-Account der Piccoplant genutzt. Mit Posterbeiträgen machten die Mitglieder der OG auf Fachmessen und auch beim EIP-Workshop auf das Projekt aufmerksam. In der Fachpresse wurden Artikel über das Projekt publiziert.

Die Web-Seite www.Vaccinium-og.de wird auch über das Projektende hinaus aufrechterhalten und aktualisiert.

Öffentlichkeitsarbeit:

- Erstellung eines Projekt-Flyers
- Konzeption einer Webseite
- Öffentlichkeitsarbeit im Rahmen des EIP-Agri Netzwerks
- Internet Homepage Piccoplant
- Vortragsveranstaltungen / Tagungen / Konferenzen
-

Konferenz	Datum	Teilnehmer	Vortrag / Poster
Bioencapsulation Tagung	August 2019 Straßburg	Jakobs Patel	Encapsulation of a novel Seaweed biostimulant
International Conference of the German Society of plant nutrition	September 2019 Berlin	Yi Qu Jakobs Haase Patel	Development of novel slow and controlled release Fertilizer formulations
Treffen OG	Juni 2019 Dezember 2019 April 2022	OG-Mitglieder	Diskussion Absprachen
Zoom-Meetings	Pandemie		



EUROPÄISCHE UNION

Europäischer Landwirtschaftsfonds für
die Entwicklung des ländlichen Raums - ELER
Hier investiert Europa in die ländlichen Gebiete

