



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2004 040 726 A1** 2006.02.23

(12)

## Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2004 040 726.6**

(22) Anmeldetag: **20.08.2004**

(43) Offenlegungstag: **23.02.2006**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **A01C 1/06** (2006.01)

(71) Anmelder:

**Biopract GmbH, 12489 Berlin, DE**

(74) Vertreter:

**Baumbach, F., Dr.rer.nat. Pat.-Ing., Pat.-Ass.,  
13125 Berlin**

(72) Erfinder:

**Liste, Hans-Holger, Dr.habil., 14163 Berlin, DE;  
Lentzsch, Peter, Dr.rer.nat., 15370 Petershagen,  
DE; Höflich, Gisela, Prof. Dr., 15374 Müncheberg,  
DE; Wolf, Hans-Jürgen, Dr.rer.nat., 15374  
Müncheberg, DE; Gerhardt, Matthias, Dr.-Ing.,  
12527 Berlin, DE; Ringpfeil, Manfred, Prof. Dr.,  
97647 Sondheim, DE; Wolf, Monika, Dr., 12559  
Berlin, DE**

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

(54) Bezeichnung: **Verfahren zur integrierten Verkapselung von Pflanzensamen, phytoeffektiven Mikroorganismen und Zusatzstoffen in biologisch abbaubaren polymeren Hüllmaterialien**

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung und zum Einsatz von Umhüllungen wie Kapseln aus biologisch abbaubaren Polymeren für Pflanzensaatgut, Mikroorganismen und Zusätze in unterschiedlichen Kombinationen mit dem Ziel, bevorzugte und geschützte Bedingungen für die Keimung der Pflanzensamen, das Überleben mikrobiellen Inokulums und die Besiedlung der austretenden Keimwurzel durch inokulierte Mikroorganismen zu schaffen.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass der Pflanzensamen in unterschiedlichen Kombinationen mit Mikroorganismen oder deren Präparaten, Düngemitteln, Leistungsförderern, Enzymen und anderen, die Samenkeimung, das Überleben inokulierter Mikroorganismen und die Ausbildung einer gesunden Jungpflanze unterstützenden Zusätzen in einer biologisch abbaubaren Kapsel kombiniert wird.

Das Kapselmaterial gestattet den gewünschten Austausch mit der Umgebung (Feuchtigkeit, Sauerstoff, Licht) und verhindert zugleich das Eindringen von Mikroorganismen und deren Dauerformen aus der Umwelt in das Kapselinnere sowie das Austreten der in der integrieren Kapsel befindlichen Zusätze in die Umgebung.

## Beschreibung

**[0001]** Gegenstand der Erfindung ist ein neuartiges Verfahren zur integrierten Verkapselung von Pflanzensamen, phytoeffektiven Mikroorganismen und Zusatzstoffen in biologisch abbaubaren polymeren Hüllmaterialien. Im Vordergrund stehen Anwendungen der Erfindung im nachhaltigen landwirtschaftlichen (Nahrung, nachwachsende Rohstoffe), gartenbaulichen, forstlichen und umweltbiotechnologischen Anbau von Pflanzen.

**[0002]** Der landwirtschaftliche Anbau von Nutzpflanzen ist in hohem Maße von ertragssteigernden Maßnahmen abhängig, was im folgenden anhand des Beispiels Leguminosen dargestellt wird.

**[0003]** Die Synthese mineralischer Stickstoffdünger bedarf großer Mengen fossiler Energieträger, ist damit abhängig von schwankenden und steigenden Rohstoffpreisen und belastet die Umwelt. Der Einsatz synthetischer N-Dünger wird im Ökolandbau abgelehnt. Ein vermehrter Anbau von Leguminosen ist somit aus ökonomischer und ökologischer Sicht unumgänglich und ist der entscheidende Faktor für den N-Eintrag in Betrieben des ökologischen Landbaus (Römer & Lehne, 2004, J. Plant Nutr. Soil Sci. 167: 106–113).

**[0004]** Leguminosen fixieren Luftstickstoff auf biochemischem und damit die Umwelt entlastendem Wege in Symbiose mit Rhizobium – Bakterien, sind eine exzellente Proteinquelle für Mensch und Tier, verbessern die N- und Humusbilanz in der Fruchtfolge, unterdrücken bodenbürtige Schaderreger, fördern den mikrobiellen Abbau organischer Bodenschadstoffe, erhöhen damit insgesamt die Bodenfruchtbarkeit und letztlich die Erträge und Qualität aller Früchte in der Fruchtfolge nachhaltig. Hochrechnungen belegen zudem, daß z. B. durch Soja-Getreide-Fruchtfolgen in Illinois (USA) mineralische Stickstoffdünger im Wert von jährlich bis zu 185 Millionen Dollar eingespart werden (Gregor et al., 2003, Can. J. Microbiol. 49: 483–491). Aus diesen Gründen und wegen des Fütterungsverbots von Proteinfuttermitteln tierischer Herkunft, dem Importverbot von Hühnertrockenkot als organischer Stickstoffdünger und dem deutlich gestiegenen Verbraucherinteresse an gleichwertigen einheimischen Alternativen zu importierten und gentechnisch veränderten Sojaprodukten erklärt sich das wieder und weiter zunehmende Interesse deutscher Landwirte am Anbau von Leguminosen. Dennoch, die Marktbedeutung der Hülsenfrüchte in Deutschland ist aufgrund unbefriedigender Erträge gering.

## Stand der Technik

**[0005]** Die biologische N<sub>2</sub>-Fixierungsleistung, Vitalität und somit der Ertrag von Leguminosen kann

durch den Einsatz hochwirksamer Rhizobium-Impfpräparate wie in den USA, Kanada und Australien seit Jahren im großen Maßstab und erfolgreich praktiziert, deutlich erhöht werden. In Deutschland hingegen spielt die Rhizobium-Impfung eine untergeordnete Rolle, obwohl die positiven Effekte belegt sind und der Leguminosenanbau aus o. g. Gründen an Bedeutung gewinnt. Die bisher in Deutschland vertriebenen Präparate basieren überwiegend auf importierten Bakterienstämmen, deren Einsatz unter den hiesigen Standortbedingungen keine maximale Pflanzenwirksamkeit erzielen dürfte. Das in unseren Breiten verwendete Saatgut (z.B. Luzerne) wird zum Großteil importiert (u.a. aus Nordafrika) und ist folglich mit Rhizobium-Stämmen infiziert, die unter hiesigen Klimabedingungen keine effektive Symbiose ausbilden werden. Die Entwicklung und der Einsatz hochwirksamer einheimischer Rhizobium-Präparate auf der Basis selektierter, natürlich leistungsfähiger und an die hiesigen Standortbedingungen angepaßter Rhizobium-Stämme ist daher Voraussetzung für einen profitablen Anbau von Leguminosen in Deutschland.

**[0006]** Deutliche Mehrerträge wurden durch Impfung mit importierten Rhizobium-Präparaten in Produktionsversuchen mit Lupine in Deutschland erzielt, wobei die Autoren davon ausgehen, dass durch den Einsatz besser geeigneter Rhizobium-Stämme zusätzliche Ertragssteigerungen zu erwarten sind (Saueremann & Gronow, 2003, Raps 21: 33–35).

**[0007]** Internationale und eigene Forschungsergebnisse haben wiederholt gezeigt, dass die Wirksamkeit einer Rhizobium-Impfung bei Leguminosen durch die Kombination mit phytoeffektiven assoziativen Wurzelbakterien (PGPR) verbessert werden kann. Diese bakteriellen Partner (z.B. Bacillus und Pseudomonas spp.) können u.a. die Phosphornährung von Leguminosen durch Bio-Mobilisierung des im Boden reichlich vorhandenen Phosphors verbessern, phytopathogene Pilze verdrängen, wachstumsfördernde Phytohormone bereitstellen oder die Pflanzen durch eine Vielzahl weiterer Mechanismen stärken. Eine nicht ausreichende Versorgung der Leguminosen mit Phosphor, Kalium und Schwefel vermindert deren Stickstoff-Fixierungsleistung und damit die Ausschöpfung des Gesamtpotentials der pflanzlichen Produktion (Römer & Lehne, 2004, J. Plant Nutr. Soil Sci. 167: 106–113).

**[0008]** Die Pflanzenwirkung von Rhizobium/PG-PR-Partnern kann durch ausgewählte Mykorrhiza-Pilze als dritte Komponente eines multifunktionalen Impfpräparates noch weiter verbessert werden. Durch Mykorrhiza wird eine stabile und schnelle Jungpflanzenentwicklung gefördert und es ist bekannt, dass im etablierten Bestand durch Mykorrhizierung Trockenstress reduziert wird und Nährstoffe mobilisiert werden. Dabei belegen eigene Untersuchungsergebnisse, dass die kombinierte Beimpfung

nicht nur Ertrag und Qualität der direkt beimpften Leguminosen fördert sondern auch der nachfolgenden Kulturen in der Fruchtfolge. Dennoch sind weder kommerzielle Anbieter noch die praktische Anwendung solch multimikrobieller Kombinationspräparate zur nachhaltigen Ertragssteigerung bei Leguminosen und bei anderen Kulturen im Produktionsmaßstab bekannt.

#### Aufgabenstellung

**[0009]** Ziel der Erfindung ist eine nachhaltige Ertragssteigerung bei Leguminosen und anderen Kulturen. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Saatgutformen mit einer wesentlich verbesserten Keimfähigkeit des enthaltenen Saatgutes und Leistungsfähigkeit der auflaufenden Pflanze herzustellen und anzuwenden.

**[0010]** Die Erfindung wird gemäß den Ansprüchen realisiert. Der Grundgedanke der Erfindung ist die gemeinsame Verkapselung von Saatgut mit pflanzenwirksamen und die spätere Pflanzenleistung fördernden Zusätzen. Dabei wird ein unmittelbarer und exklusiver Kontakt zwischen Saatgut und Zusätzen und über die Phase des Auskeimens hinaus bis hin zur Ausbildung des Keimlings gewährleistet. Aufgabe der Kapsel ist es, in einer Art "Mikrokosmos" einen Zugang von externen Mikro- und Mesorganismen und deren Dauerformen zum Samen und Pflanzenkeimling auszuschließen und einen besseren Schutz von Samen und Pflanzenkeimling vor extremen und für die Entwicklung der Pflanze ungünstigen Umweltbedingungen zu gewährleisten. Saatgutkapseln tragen so zu einem verbesserten Feldaufgang und geschlossenen Beständen bei, ermöglichen durch deren einheitliche Größe und Form eine verbesserte Einzelkornaussaat und können so insgesamt Saatgut und Aufwendungen im späteren Bestand einsparen.

**[0011]** Die Verkapselung der Pflanzensamen erfolgt mit Werkstoffen, die wasser- und luftdurchlässig sind, eine Barriere gegenüber Bodenorganismen und deren Dauerformen bilden und im Boden biologisch so abgebaut werden, dass die Stabilität der Kapsel bis zur Ausbildung der Jungpflanze gegeben ist und eine Hemmung des Auskeimens ausgeschlossen werden kann. Als Werkstoff für die Kapseln werden biologisch abbaubare Polymere, bevorzugt Polymilchsäure, stärke- bzw. cellulosebasierte Polymere und andere, biologisch vollständig abbaubare Rohstoffe bzw. Rohstoffkombinationen eingesetzt. Die Herstellung der Kapseln erfolgt im Spritzgussverfahren, durch Tiefziehen, Umhüllung oder die Kombination einzelner Verfahren. Dabei kann das Verfahren so gestaltet werden, dass die Herstellung der Kapseln ein- oder mehrschichtig erfolgt, wobei die gewünschten Inhaltsstoffe in einzelne Schichten implementiert werden können. Zweckmäßigerweise werden die Werkstoffauswahl, die Kapselform und -größe sowie

die Kapseloberfläche so gewählt, dass Schütteeigenschaften, physikalisch-chemische Stabilität, Lagerungs- und Aussaateigenschaften den Erfordernissen des Verwendungszweckes entsprechen.

**[0012]** Das o. g. Verfahren ist geeignet, unbehandelte und behandelte Pflanzensamen von ackerbaulich, gartenbaulich und forstwirtschaftlich genutzten Pflanzen und Gewächsen zu behandeln. Es können einzelne oder auch mehrere Pflanzensamen verpackelt werden.

**[0013]** Wesentlich für die Erfindung ist die Verkapselung der Pflanzensamen gemeinsam mit Mikroorganismen oder Mikroorganismenpräparate einzeln oder in Kombination. Hierbei können natürliche und gentechnisch veränderte Mikroorganismen oder Mikroorganismenpräparate eingesetzt werden. Bevorzugte Mikroorganismen gemäß der Erfindung sind Rhizobien, assoziative phytoeffektive Wurzel- und Bodenbakterien sowie VA-Mykorrhiza-Pilze einzeln oder in Kombination.

**[0014]** Zusätzlich können Düngemittel, Leistungsförderer und/oder Enzympräparate allein oder in Kombination mit Mikroorganismen oder Mikroorganismenpräparaten, eingesetzt werden.

**[0015]** Als Enzympräparate werden bevorzugt Hydrolasen eingesetzt.

**[0016]** Zur Steigerung der Wasseraufnahmefähigkeit der Kapsel können der Kapsel ferner hygroskopische Zusätze insbesondere Silikagel, Kieselgur, Tonminerale, und Kalziumchlorid zugesetzt werden.

**[0017]** Als Pflanzensamen werden insbesondere Samen von Leguminosen (Ackerbohne, Futtererbse, Lupine, Sojabohne, Klee, Luzerne) und Getreide (Weizen, Gerste, Roggen, Hafer, Mais) eingesetzt.

**[0018]** Das Kapselmateriale gestattet den gewünschten Austausch mit der Umgebung (Feuchtigkeit, Sauerstoff, Licht) und verhindert zugleich das Eindringen von Mikroorganismen und deren Dauerformen aus der Umwelt in das Kapselinnere sowie das Austreten der in der integrieren Kapsel befindlichen Zusätze in die Umgebung.

#### Ausführungsbeispiel

**[0019]** Die Erfindung soll nachfolgend durch Ausführungsbeispiele näher erläutert werden:

#### Ausführungsbeispiele:

##### Beispiel 1

**[0020]** Körnererbsen-Saatgut (Attika) und ein Torfpräparat der symbiontischen Bakterien Rhizobium le-

guminosarum biovar. viceae (Stamm E163) (1 mg Torfpräparat/Korn) wurden gemeinsam in Polymilchsäure (PLA)-Kapseln (1 Korn/Kapsel) mit einer Wandstärke von 200 µm und mit einem Durchmesser von 5 mm eingefüllt. Die Aussaat (60 Kapseln/m<sup>2</sup>) erfolgte auf einem lehmigen Sandboden (IS) im Land Brandenburg in 4 cm Tiefe und bei 12 cm Reihenabstand auf 1 ha. Als Kontrolle wurden unverkapselte und mit losem E163-Torfpräparat (600 g/ha) inokulierte Erbsen (60 Körner/m<sup>2</sup>) ausgesät. Die integrierte Verkapselung von Erbsensaatgut mit E163 bewirkte unter den hier angegebenen Bedingungen eine Erhöhung des Kornertrages um 24% verglichen zur unverkapselten Kontrolle.

#### Beispiel 2

**[0021]** Gelblupinen-Saatgut (Borsaja) und Torfpräparate mit entweder symbiontischen Bakterien *Rhizobium lupini* (Stamm Lup152) oder mit einer Mischung aus Lup152 und den assoziativen Bakterien *Pseudomonas fluorescens* (Stamm PslA12) (1 mg Torfpräparat/Korn) wurden in PLA-Kapseln mit einer Wandstärke von 200 µm und mit einem Durchmesser von 5 mm eingefüllt. Die Aussaat (70 Kapseln/m<sup>2</sup>) erfolgte auf einem lehmigen Sandboden (IS) im Land Brandenburg in 3 cm Tiefe und bei 12 cm Reihenabstand auf 20 ha. Als Kontrollen wurden unverkapselte und mit losem Lup152 (mit/ohne PslA12)-Torfpräparat (700 g Torfpräparat/ha) behandelte Lupinensamen (70 Samen/m<sup>2</sup>) ausgesät. Die kombinierte Beimpfung von Lupine mit Lup152+PslA12 als loses Torfpräparat erbrachte 21% höhere Sproßstrockenmasseerträge als eine alleinige Beimpfung mit Lup152. Durch Verkapselung wurde unter den herrschenden Bedingungen eine weitere Steigerung der Sproßstrockenmasseerträge von inokulierter Lupine um 19% (Lup152) bzw. 23 (Lup152+PslA12) gegenüber den unverkapselten Inokulations-Kontrollen erzielt.

#### Patentansprüche

1. Verfahren zur separaten, integrierten oder kompartimentierten Verkapselung von Pflanzensamen und Zusätzen in unterschiedlichen Kombinationen zur Schaffung von bevorzugten und geschützten Bedingungen für die Inokulation im Zeitraum von Pflanzensamenaussaat bis zur Entwicklung der Keimpflanze sowie für eine technologisch optimierte Aussaat.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Verkapselung des Pflanzensamens mit Werkstoffen erfolgt, die wasser- und luftdurchlässig sind, eine Barriere gegenüber Bodenorganismen und deren Dauerformen bilden, im Boden biologisch so abgebaut werden, dass die Stabilität der Kapsel bis zur Ausbildung der Jungpflanze gegeben ist und eine Hemmung des Auskeimens ausge-

schlossen wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass als Werkstoff für die Kapsel biologisch abbaubare Polymere wie Polymilchsäure, stärke- bzw. cellulosebasierte Polymere und andere, biologisch vollständig abbaubare Rohstoffe bzw. Rohstoffkombinationen eingesetzt werden.

4. Verfahren nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Herstellung der Kapseln im Spritzgussverfahren, durch Tiefziehen, Umhüllung oder die Kombination einzelner Verfahren erfolgt.

5. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Herstellung der Kapseln ein- oder mehrschichtig erfolgt, wobei die in den Folgeansprüchen genannten Inhaltsstoffe gegebenenfalls in einzelne Schichten implementiert werden.

6. Verfahren nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Werkstoffauswahl, die Kapselform und -größe sowie die Kapseloberfläche so beschaffen sind, dass Schütteeigenschaften, physikalisch-chemische Stabilität, Lagerungs- und Aussaateigenschaften den Erfordernissen des Verwendungszweckes entsprechen und gegenüber nicht verkapselten Pflanzensamen verbessert sind.

7. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass unbehandelte und behandelte Pflanzensamen von ackerbaulich, gartenbaulich und forstwirtschaftlich genutzten Pflanzen und Gewächsen eingesetzt werden.

8. Verfahren nach Anspruch 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass Pflanzensamen insbesondere von Leguminosen wie Ackerbohne, Futtererbse, Lupine, Sojabohne, Klee und Luzerne oder Getreide wie Weizen, Gerste, Roggen, Hafer oder Mais eingesetzt werden.

9. Verfahren nach Anspruch 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass einzelne oder mehrere Pflanzensamen verkapselt werden.

10. Verfahren nach Anspruch 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass gemeinsam mit dem Pflanzensamen Mikroorganismen oder Mikroorganismenpräparate einzeln oder in Kombination verkapselt werden.

11. Verfahren nach Anspruch 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass natürliche und gentechnisch veränderte Mikroorganismen oder Mikroorganismenpräparate eingesetzt werden.

12. Verfahren nach Anspruch 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass insbesondere Rhizobien, assoziative phytoeffektive Wurzel- und Bodenbakterien

sowie VA-Mykorrhiza-Pilze einzeln oder in Kombination eingesetzt werden.

13. Verfahren nach Anspruch 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass allein oder in Kombination mit Mikroorganismen oder Mikroorganismenpräparaten, Düngemittel, Leistungsförderer und/oder Enzympräparate eingesetzt werden.

14. Verfahren nach Anspruch 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass als Enzympräparate Hydrolasen eingesetzt werden.

15. Verfahren nach Anspruch 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass der Kapsel hygroskopische Zusätze insbesondere Silikagel, Kieselgur, Tonminerale, und Kalziumchlorid.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen