

# Anorganische Biostimulanzien – eine kausale Interpretation der Ertragssteigerung und der positiven Auswirkungen auf die pflanzliche Biomasse am Beispiel von Phosphit

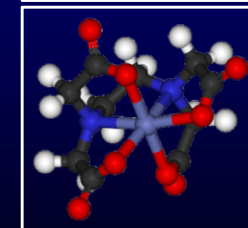
Klink, H.,  
Birr, T., Prahl, K, Zheng, Z., Cai, D., Verreet, J.-A.

Institut für Phytopathologie  
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, 2020

## Welche Arten von Biostimulanzien sind im Markt zu finden?

Die Herkunft von Biostimulanzien kann derzeit in vier große Gruppen untergliedert werden und diese Gruppen sind in ihrer Bandbreite weit aufgefächert:

- Mikroorganismen
- Natürliche Verbindungen wie Seetang und Algen
- Organische Verbindungen wie Aminosäuren, Humin- und Fulvosäuren
- Anorganische Verbindungen

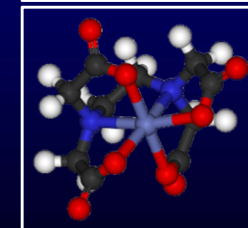


## Welche Arten von Biostimulanzien sind im Markt zu finden?

Die Herkunft von Biostimulanzien kann derzeit in vier große Gruppen untergliedert werden und diese Gruppen sind in ihrer Bandbreite weit aufgefächert:

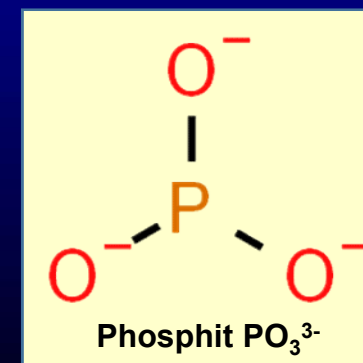
- Mikroorganismen
- Natürliche Verbindungen wie Seetang und Algen
- Organische Verbindungen wie Aminosäuren, Humin- und Fulvosäuren
- Anorganische Verbindungen
  - „Phosphit“

Bei unseren Untersuchungen haben wir uns auf die anorganischen Biostimulanzien konzentriert, da die Inhaltsstoffe genau definiert sind!!!



## Anorganische Biostimulanzien am Beispiel „Phosphit“

- Phosphor ist eines der wichtigsten Makronährstoffen und **kommt in der Natur nicht als freies Element** vor, sondern immer in Kombination .
- Die Salze der Phosphorsäure liegen dann als „Superphosphat, Ammoniumphosphat oder Kaliumphosphat in Düngern vor.
- **Phosphonate (veraltet: Phosphit)** sind Salze und Verbindungen der **Phosphonsäure**  $\text{H}_3\text{PO}_3$  (**veraltet Phosphorige Säure**)
- **Phosphonate** sind eine **reduzierte Form von Phosphat** und werden sowohl als Dünger oder auch als Teilbestandteil von Fungiziden vermarktet.
- Man entdeckte vor rund 30 Jahren, dass **Kalium-Phosphit zu „unerwarteten Effekten“** im Freiland führte.
- In „der Wissenschaft“ gibt es heftige Diskussionen hinsichtlich Ursachen dieser Effekte !



## Stand der Forschung:

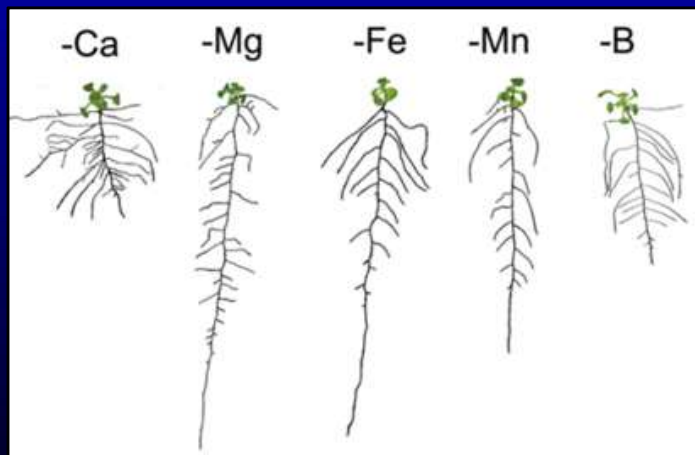
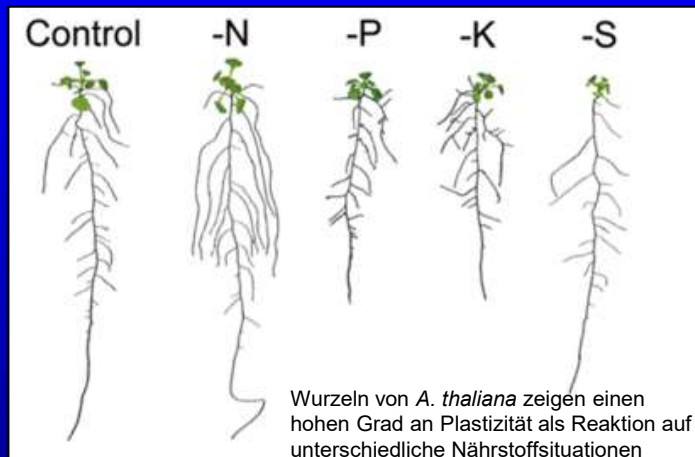
- Kaliumphosphit wird durch die **Blätter leicht aufgenommen** (Lovatt, 1990).
- Es ist **kein Enzym in der Pflanze bekannt, welches Phosphit aufoxidieren** und somit verstoffwechseln kann (Carswell et al. 1996, 1997).
- Lediglich **einige Bakterien sind dazu in der Lage** (*Pseudomonas stutzeri*, *Alcaligenes faecalis* und *Xanthobacter flavus* (Weiß und Metcalf, 2007).
- Doch **dieser Prozess** verläuft sehr langsam und **kann somit vernachlässigt werden.**
- Es gibt somit **keine Hinweise**, dass **Phosphit direkt als P-Quelle** den Pflanzen zur Verfügung steht – Effekt und Menge stehen hierbei auch nicht im Einklang!

„Was ist an den Effekten  
von anorganischen Biostimulanzien dran?“

„Esoterik oder Chance?“

## Abhängigkeit der Wurzelarchitektur auf interne und externe nährstoffabhängige Signale

Studien von: (Lima et al., 2010; Giehl et al., 2012; Gruber et al., 2013; Giehl und von Wirén, 2014; Giehl et al., 2014)



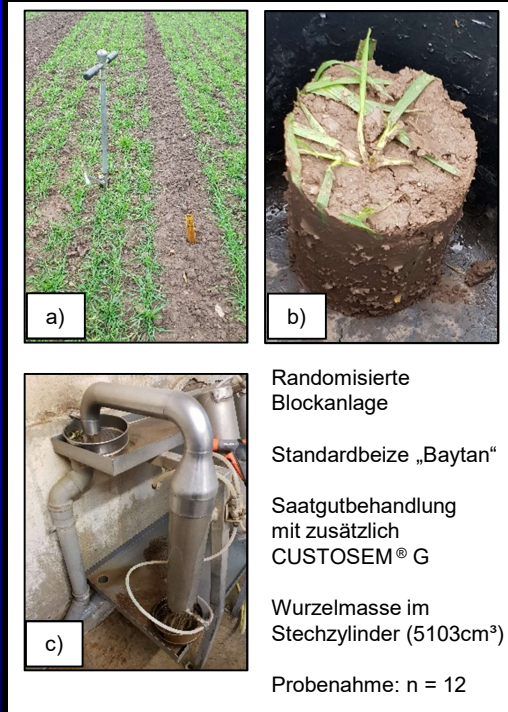
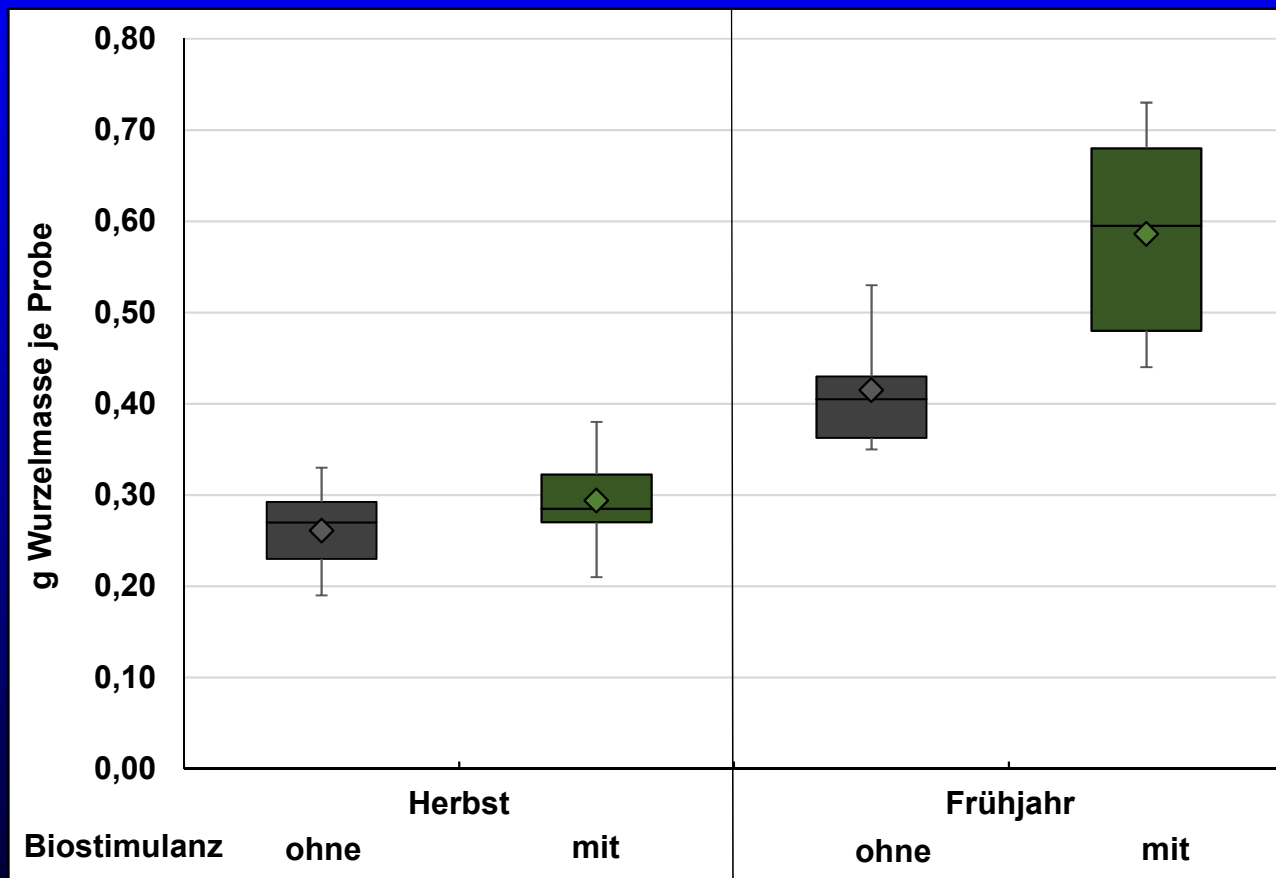
Quelle: Gruber et al., 2013, Plant Physiol.

- Pflanzen sind auf effiziente Wurzelreaktionen angewiesen.
- Wiss. Studien konnten belegen, dass Veränderungen des **Ernährungszustandes der Pflanze** oder der externen Verfügbarkeit **direkt einen Einfluss auf die Wurzelarchitektur** haben.
- Nachgewiesene Reaktionen sind der Grad der **Verzweigung, Längenwachstum sowie Anteil Feinwurzeln**.
- Die **Wurzelarchitektur** ist in hohem Maße für die **Effizienz der Nährstoffaufnahme** verantwortlich

Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass **nährstoffabgeleitete Signale unterschiedliche architektonische Wurzelmodifikationen** hervorrufen

# Einfluß einer phosphithaltigen Saatgutbehandlung im Weizen auf die Wurzelmasse im Herbst und Frühjahr

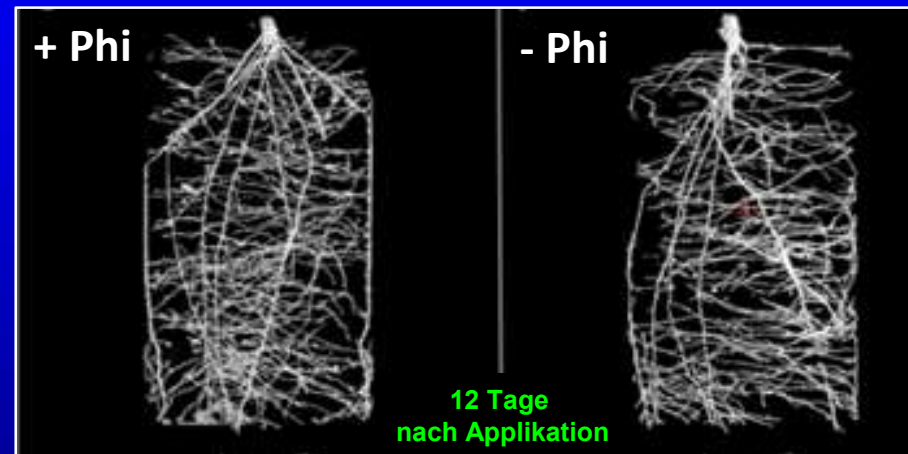
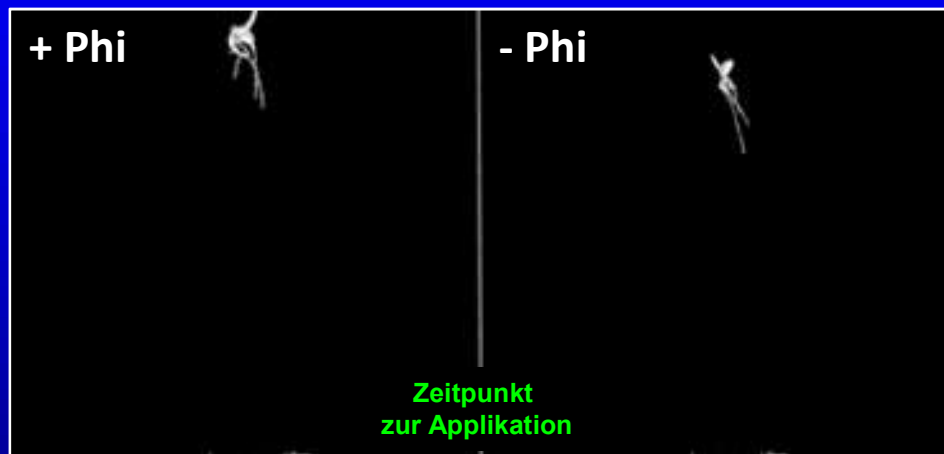
Sorte: RGT Reform, Schleswig-Holstein, 2019



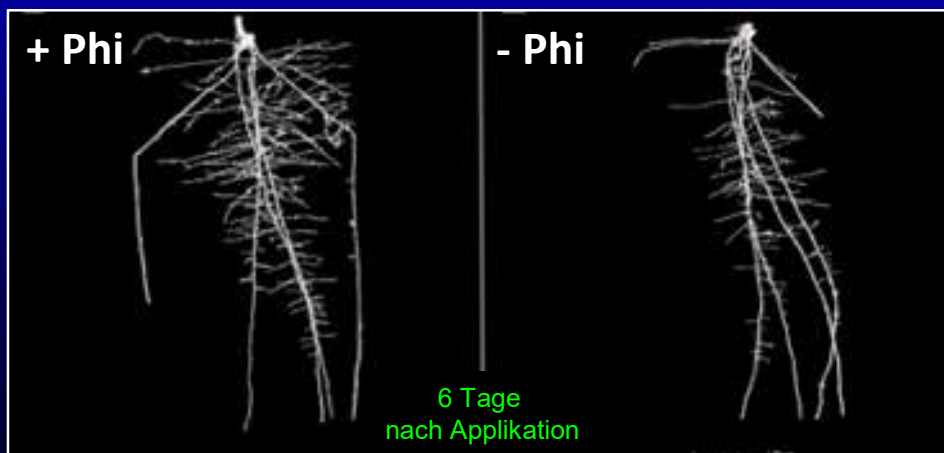
	CUSTOSEM® G	
	ohne	mit
Herbst:	0,26g	0,29g
Frühjahr:	0,42g	0,59g

# Einfluß einer phosphithaltigen Saatgutbehandlung auf die Wurzelmasse

(CT Röntgenaufnahme nach Applikation von Phosphit)



verändert nach Mohamed, U., Davis, J., Rossall, S., Swarup, R., University of Nottigham, 2019



## Fazit:

Durch die Zugabe von „Phosphit“ wurde  
das Wurzelwachstum stimuliert!

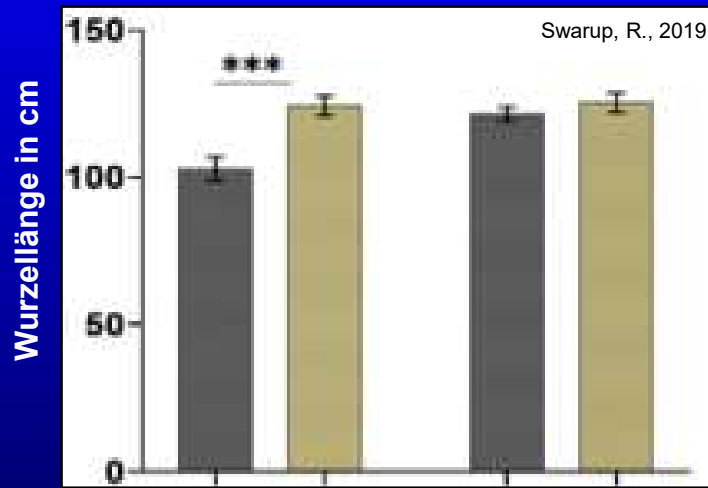
# Einfluß der Stimulierung des Wurzelwachstums auf die Effektivität der Wasser- und Nährstoffaufnahme

(Applikation zu EC 12-16, Untersuchungen 30-45 Tage nach Behandlung)

Quelle: Umar Mohammed, Jayne Davis, Steve Rossall and Ranjan Swarup, UK, 2019



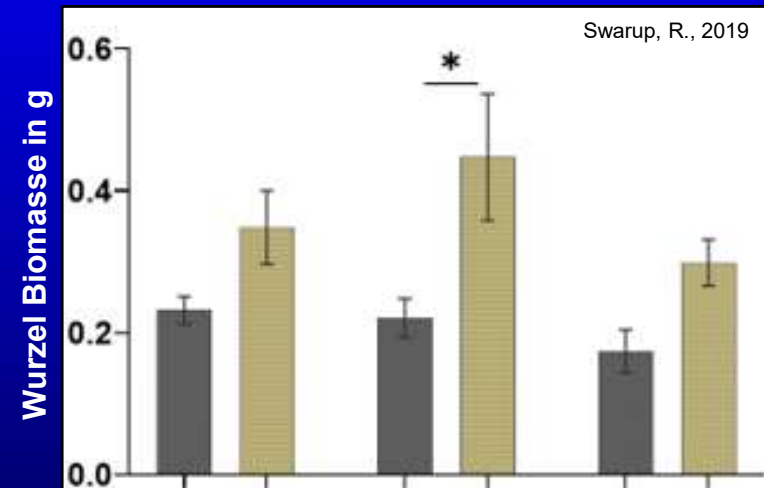
Effektivität der Wasseraufnahme



- Phi + Phi - Phi + Phi  
 aride Verhältnisse (Trockenstress) humide Verhältnisse (stressfrei)

**Mit Phosphit behandelte Pflanzen zeigen eine Zunahme der Wurzellänge auch unter Trockenstress (ab 7. Tag nach der Aussaat)**

Effektivität der Nährstoffaufnahme



- Phi + Phi - Phi + Phi - Phi + Phi  
 Nährstoffversorgung 100% 75% 50%

**Mit Phosphit behandelte Pflanzen zeigen eine Zunahme der Wurzelbiomasse unter unterschiedlichen Bedingungen**

# Einfluß einer phosphithaltigen Applikation auf die Wurzelmasse verschiedener Kulturen

(Quelle: Rossall et al, 2016, University of Nottigham, UK)

Weizen

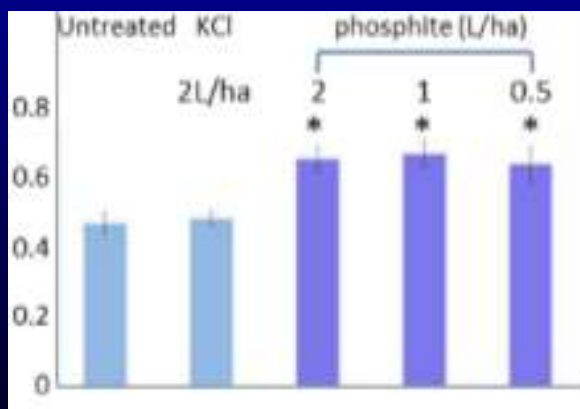
Raps

Zuckerrübe



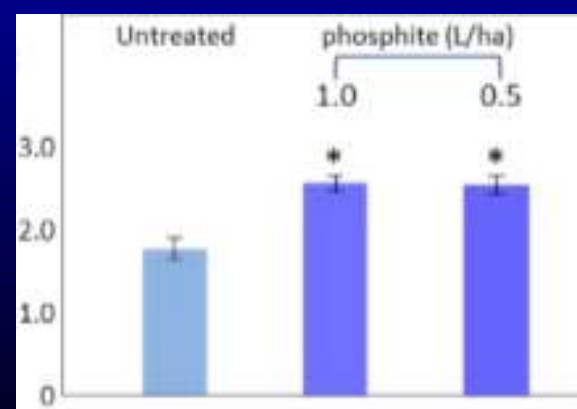
- Phi

+ Phi



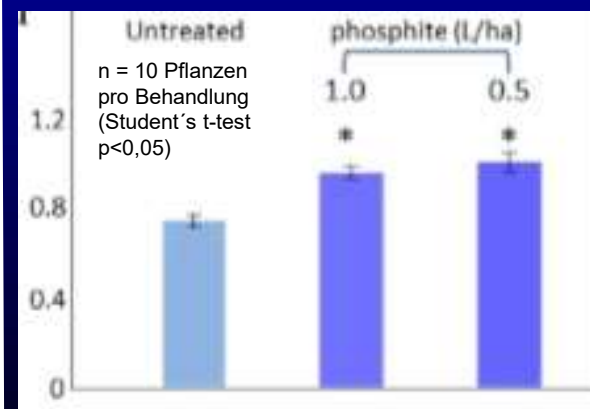
- Phi

+ Phi



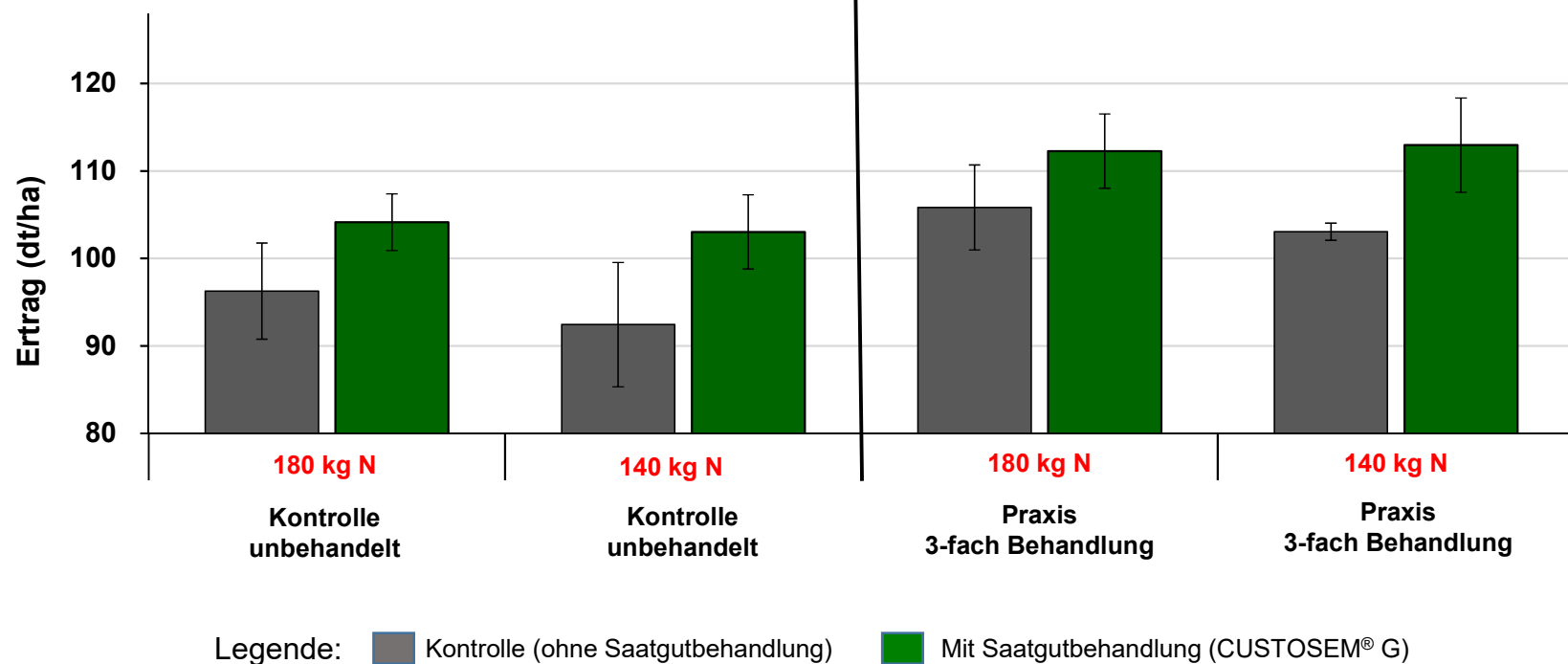
- Phi

+ Phi



# Ertraglicher Einfluß einer phosphithaltigen Saatgutbehandlung

Sorte: RGT Reform, Gut Panker, östliches Schleswig-Holstein, 2019



Vorfrucht: Hafer

Praxisvariante: 180 kg N/ha; 70-60-50

N-Reduktionsvariante: 140 kg N/ha 40-60-40

Fungizide: EC32 (Amistar Opti + Agent), EC 37/39 (Ceriax), EC 65 (Osiris)

CUSTOSEM® G: 30 ml Nutri-Phite® Magnum S (PO<sub>3</sub>-Quelle) + 45 ml KANTOR® je 100 kg Saatgut

# Ertraglicher Einfluß einer phosphithaltigen Saatgutbehandlung\* in Kombination mit einer Blattbehandlung\* auf die Stickstoffverwertung

Sorte: RGT Reform, Gut Panker, östliches Schleswig-Holstein, 2019

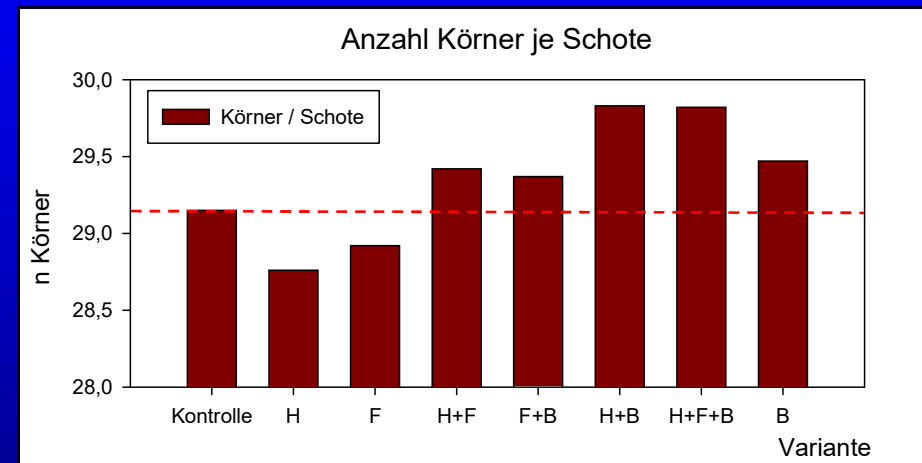
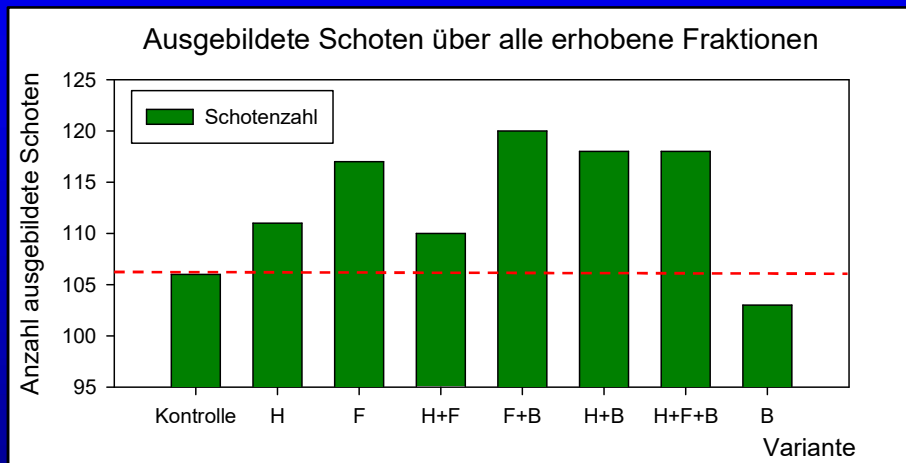
	Kornertrag (dt/ha)	Rohprotein (%)	N-mobilisierung Korn (kg/ha)
Unbehandelte Kontrolle	96,3	9,6	167,7
Betriebsüblich	105,8	10,3	180,4
Optimiertes System	119,3	11,8	206,0
Vergleich (Optimiertes System - Kontrolle)	+ 23	+ 2,2	+ 38,3
Vergleich (Betriebsüblich - Kontrolle)	+ 9,5	+ 0,7	+ 12,7
Vergleich (Optimiertes System - Betriebsüblich)	<b>+13,5</b>	<b>+ 1,5</b>	<b>+ 25,6</b>

\*Saatgutbehandlung mit CUSTOSEM® G und Blattapplikation in Form von Nutri-Phite® Magnum S

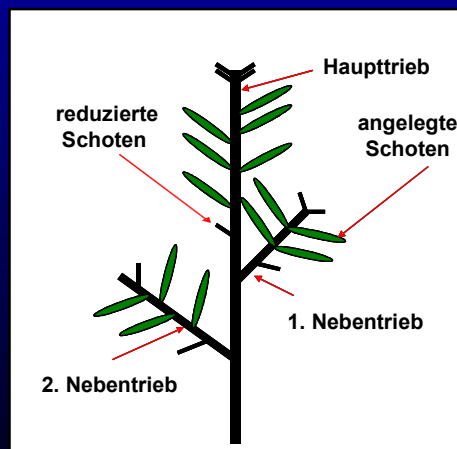
Die Ertragssteigerung und die höhere N-Aufnahme deuten auf eine verbesserte "Nährstoffeffizienz" hin und sind ein wichtiger Faktor für die "Nährstoffbilanz,, von Stickstoff.

# Ertragliche und monetäre Effekte von „Phosphit“ in befallsfreien Raps

(Detailanalyse, CAU-Kiel, Schleswig-Holstein, 2007)



Zugabe von Phosphit in Form von 0,5 l/ha Nutri-Phite® Magnum S je Applikation (F = Frühjahr, H = Herbst, B = Blüte)



- Phosphit zeigt in der Rapskultur **keinerlei Wirkung auf das Pathogenspektrum** (*Phoma lingam*, *Sclerotinia sclerotirium*, *Verticillium longi sporum*) auf !
- Phosphit weist positive physiologische Effekte hinsichtlich **erhöhte Schotenzahl auf (+ 13 %)**
- Phosphit weist positive physiologische Effekte hinsichtlich **erhöhte Kornzahl/Schote auf (+ 2 %)**

## Ertragliche und monetäre Effekte von „Phosphit“ in befallsfreien Raps - Langzeitversuch

(Seit 2005 Versuche, CAU-Kiel n=14, Schleswig-Holstein)

		Mittelwert	Minimum	Maximum
<b>Kontrolle</b> (praxisüblich, ohne Biostimulator)	dt/ha	<b>44,27</b>	34,98	61,10
<b>Mit Biostimulans</b> (0,5 l/ha Nutri-Phite® Magnum S, jeweils Herbst und Frühjahr)	dt/ha	<b>46,72</b>	35,45	63,40
<b>Ertragsdifferenz</b>	dt/ha	<b>2,45</b>	0,41	5,90
<b>monetärer Nettoerlös</b> (35,00 €/dt Raps, 29,50 €/L Nutri-Phite® Magnum S)	€/ha	<b>56,25</b>	-15,15	177,00



Positive Ergebnisse konnten durch verschiedene Versuchsansteller mehrjährig bestätigt werden:

Agrartest

(Mecklenburg Vorpommern, n = 5)

Landesforschungsanstalt MV

(Mecklenburg Vorpommern, n = 4)

AGRICOLA

(Bayern, n = 1)

Landwirtschaftskammer NRW

(Nordrhein Westfalen, n = 3)

## Stand der Forschung:

- Führt zu **Mehrerträgen und Qualitätssteigerungen bei verschiedenen Kulturen** (Albrigo, 1999; Lovatt, 1999; Rossall, 2019; Swarup, 2019)
- **Verbesserung der Blüten- und Fruchtausprägung** (Watanabe, 2005)
- Feldversuche bei **Sellerie, Zwiebeln, Kartoffeln, Pfirsiche, Orange und Baumwolle** reagieren ausgesprochen **positiv auf Kaliumphosphit** (Rickard, 2000)
- Bei **Tomaten und Pfeffergewächsen** wurden auch **negative Effekte** gemessen (Forster et al., 1998)
- **Kritiker sehen ausschließlich eine fungizide Wirkung** gegenüber der Gruppe der „*Peronosporales*“ – welches aber **keineswegs die Effekte bei „Nicht-Wirtspflanzen“ erklärt !!!**

## Stand der Forschung:

- Führt zu **Mehrerträgen und Qualitätssteigerungen bei verschiedenen Kulturen** (Albrigo, 1999; Lovatt, 1999; Rossall, 2019; Swarup, 2019)
- **Verbesserung der Blüten- und Fruchtausprägung** (Watanabe, 2005)
- Feldversuche bei **Sellerie, Zwiebeln, Kartoffeln, Pfirsiche, Orange und Baumwolle** (Rickard, 2000)  
**Der Wirkungsmechanismus ist bisher nicht genau bekannt!**
- Bei **Tomaten und Pfeffergewächsen** wurden auch **negative Effekte** gemessen (Forster et al., 1998)
- **Kritiker sehen ausschließlich eine fungizide Wirkung** gegenüber der Gruppe der „*Peronosporales*“ – welches aber **keineswegs die Effekte bei „Nicht-Wirtspflanzen“ erklärt !!!**

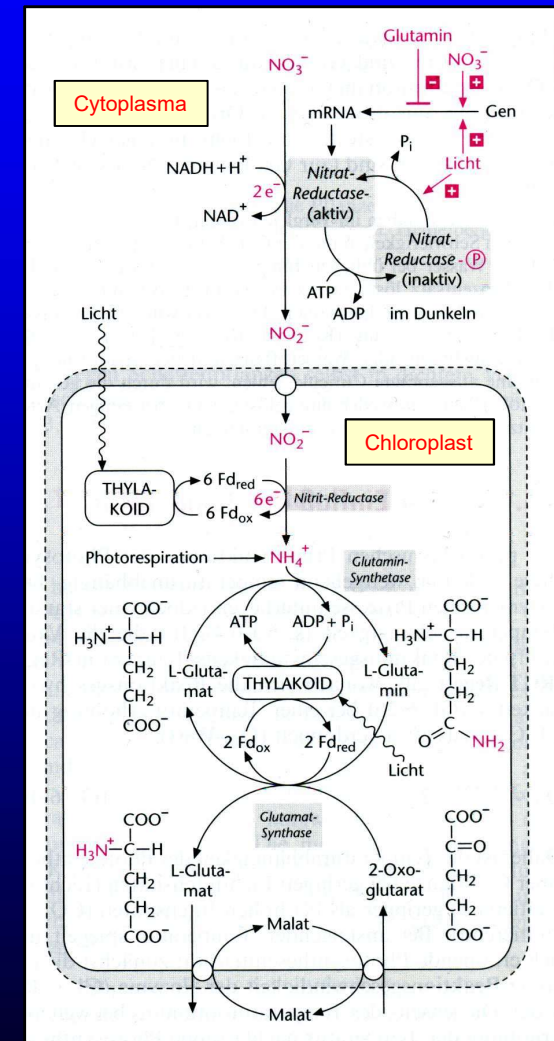
# Photosynthetische Nitratassimilation

## Funktionsweise der Nitratreduktase

- In photosynthetisch aktiven Zellen wird **Nitrat** durch das cytoplasmatische Enzym **Nitrat-Reduktase** zu **Nitrit reduziert**
- Bei C4-Pflanzen findet diese ausschließlich im Mesophyll statt
- Sowohl die **Bildung von  $\text{NH}_4$  aus  $\text{NO}_2$**  als auch dessen Weiterverarbeitung **ist lichtabhängig!**

## Strikte Regulierung!

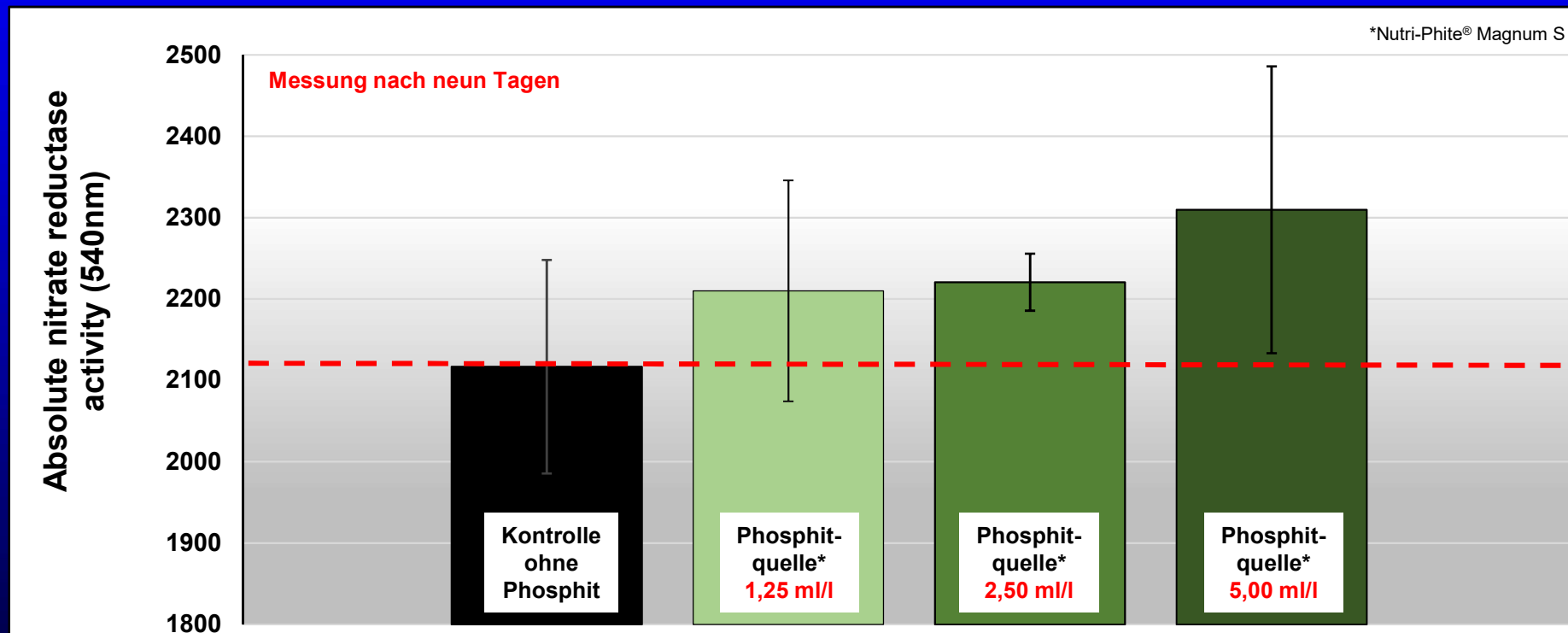
- Nitrit ( $\text{NO}_2$ ) ist chemisch sehr reaktiv! Es darf daher zu keiner Anreicherung im Chloroplasten kommen (im Dunkeln)
- Daher besitzt die Nitratreduktase nur eine **sehr geringe biologische Halbwertszeit** von wenigen Stunden
- Die Synthese von diesem Schlüsselenzym kann daher durch **regulierte Genexpression** angepasst werden
- Sowohl Licht als auch Nitrat **aktivieren die Transkription der Nitrat-Reduktase-Gene**



abgeändert nach Strasburger, 2002

# Einfluß einer phosphithaltigen Blattbehandlung auf die Aktivität der Nitratreduktase in der Kultur Raps

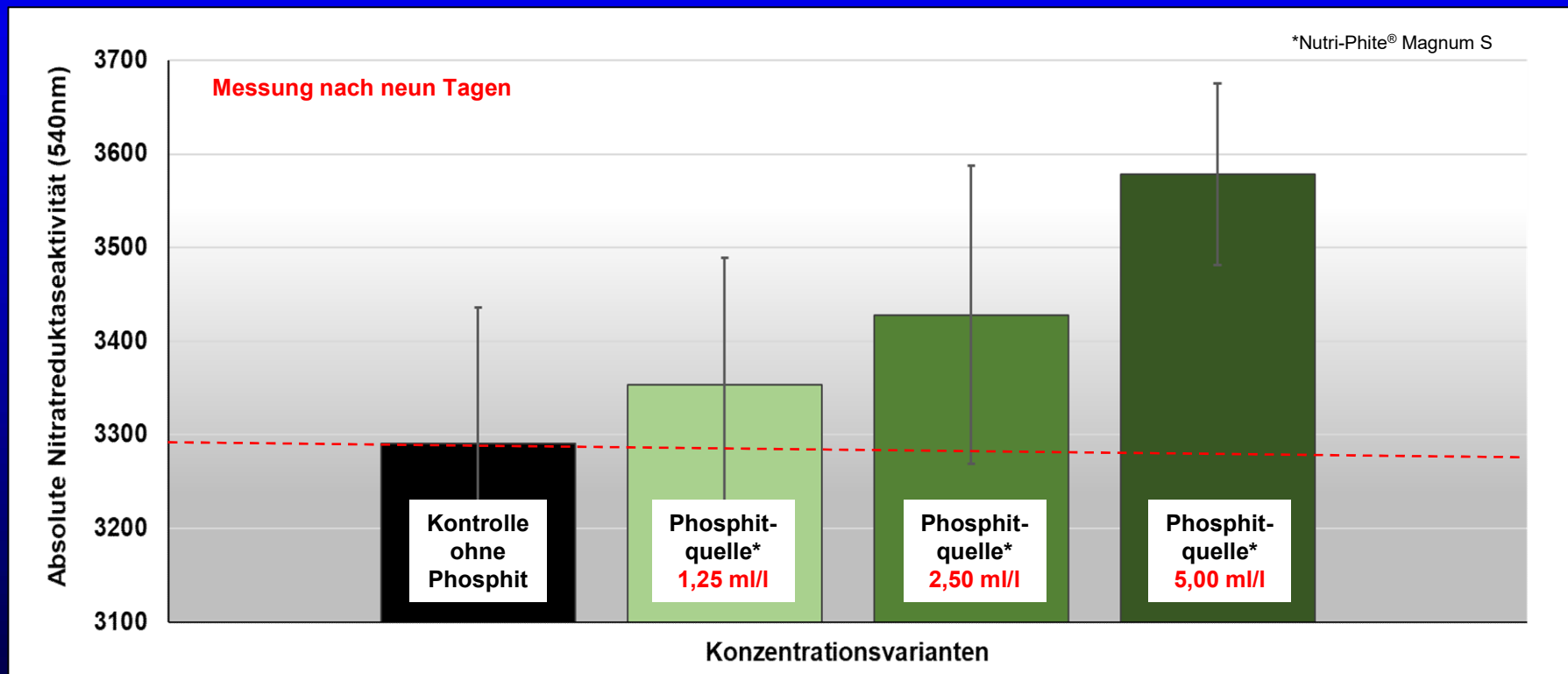
Absorption photometrisch gemessen bei 540nm, gemessen neun Tage nach Applikation



Neun Tage nach Applikation von „Phosphit“  
war die Nitratreduktase in der Kultur Raps stimuliert!

# Einfluß einer phosphithaltigen Blattbehandlung auf die Aktivität der Nitratreduktase in der Kultur Weizen

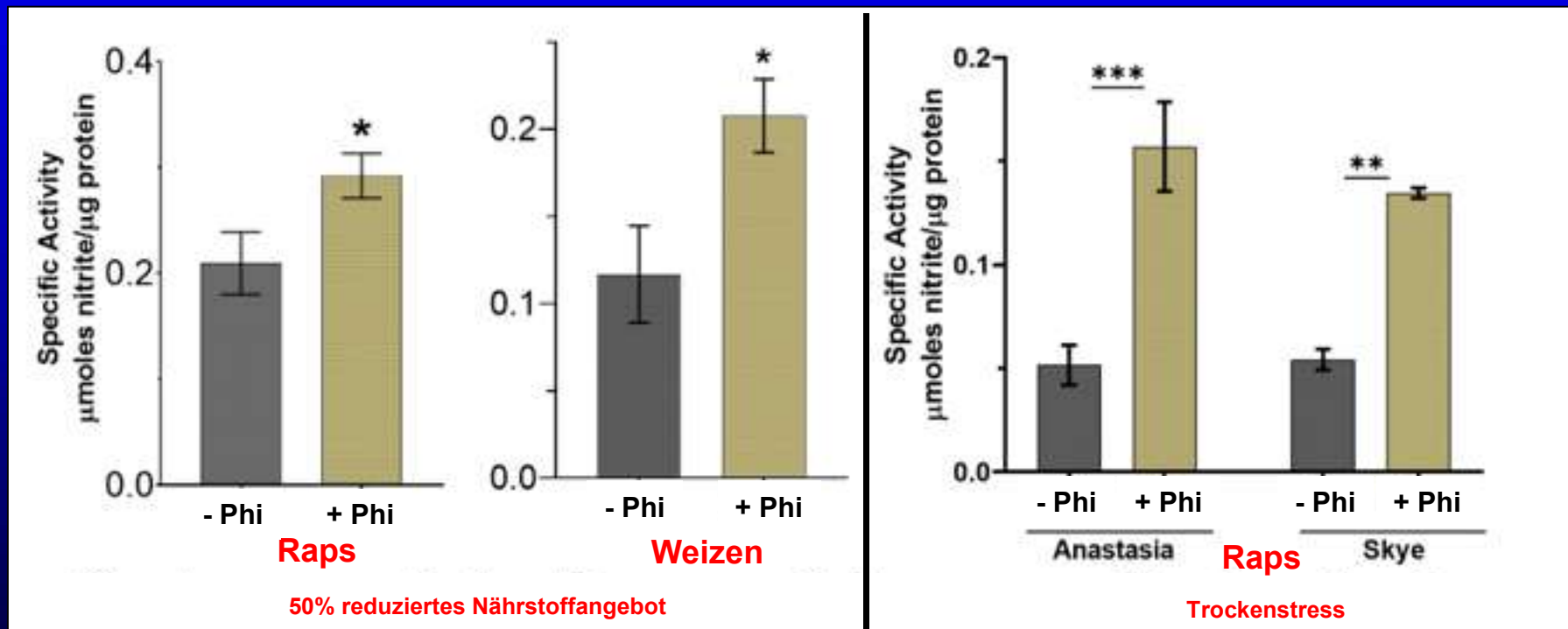
Absorption photometrisch gemessen bei 540nm, gemessen neun Tage nach Applikation



Neun Tage nach Applikation von „Phosphit“  
war die Nitratreduktase in der Kultur Weizen stimuliert!

# Einfluß einer phosphithaltigen Blattbehandlung auf die Aktivität der Nitratreduktase bei Trockenstress und reduziertem Nährstoffangebot in der Kultur Weizen und Raps

School of Biosciences, UK, 2019

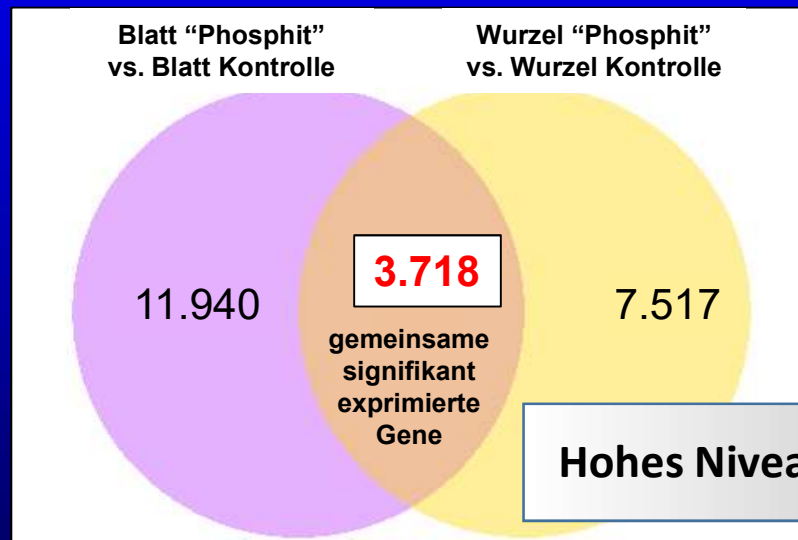


Die Applikation von „Phosphit“ stimuliert die Nitratreduktase in verschiedenen Umweltsituationen!

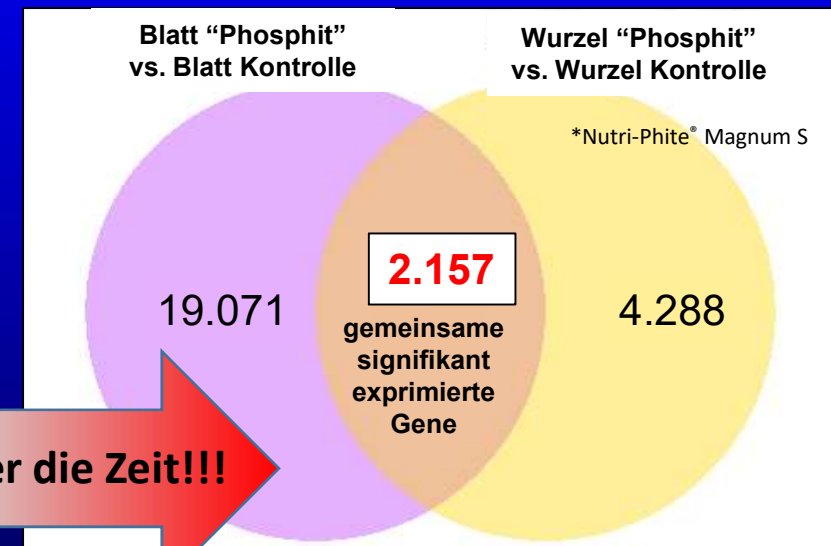
Können die stimulierenden Effekte von „Phosphit“  
auf die Schlüsselenzyme der Stickstoffverwertung  
auch auf genetischer Ebene belegt werden?“

# Einfluß einer phosphithaltigen\* Blattbehandlung auf die Expression (Stimulation) verschiedener Gene am Beispiel Winterraps, 2020; \*Nutri-Phite® Magnum S

Signifikanter Einfluss der Expression  
nach 3 Tagen



Signifikanter Einfluss der Expression  
nach 9 Tagen



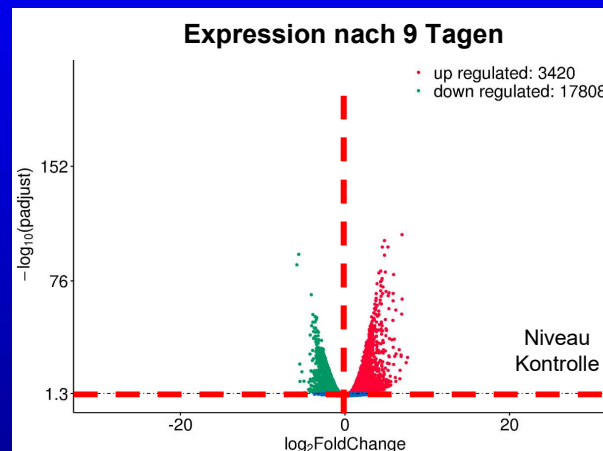
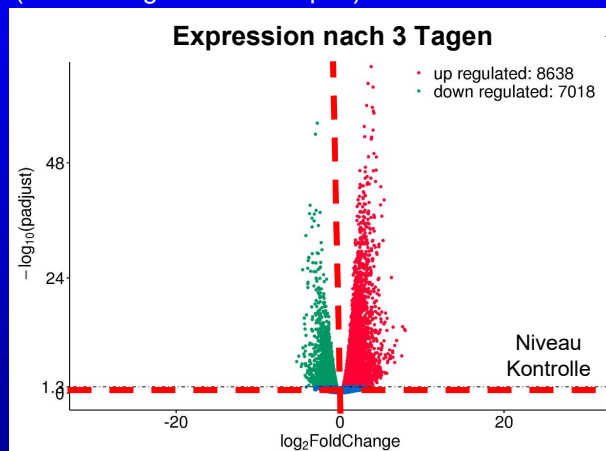
Hohes Niveau über die Zeit!!!

(Darstellung als Venn)

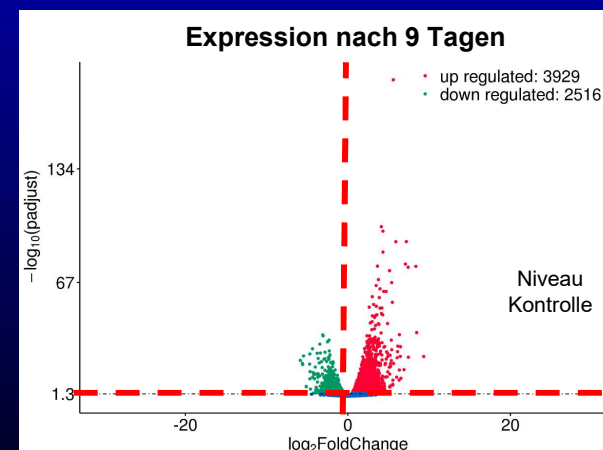
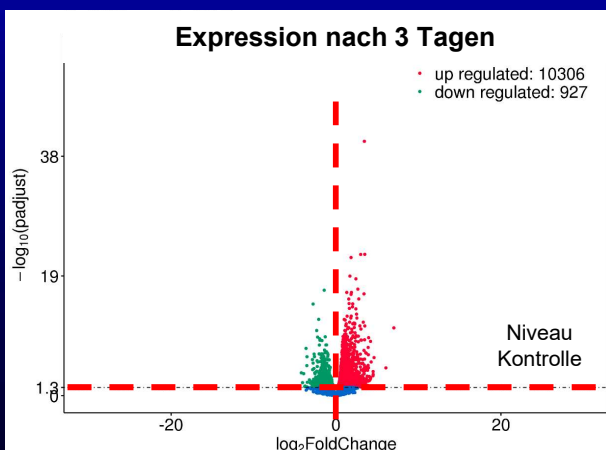
1. Nach einer „Phosphit“-Blattbehandlung sind deutliche Reaktionen bei der Expression der Gene signifikant messbar – somit ist eine Stimulierung belegt!
2. Besonders interessant sind gemeinsam exprimierte Gene von Wurzel und Blatt, die nach Zugabe von „Phosphit“ signifikant auf hohem Niveau verbleiben!

# Einfluß einer phosphithaltigen\* Blattbehandlung auf die Expression (Stimulation) verschiedener Gene am Beispiel Winterraps, 2020; \*Nutri-Phite® Magnum S

(Darstellung als Volcano plot)



Blatt "Phosphit" vs. Blatt Kontrolle

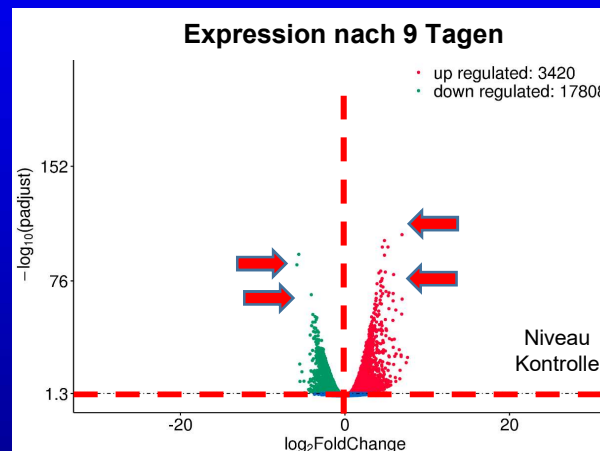
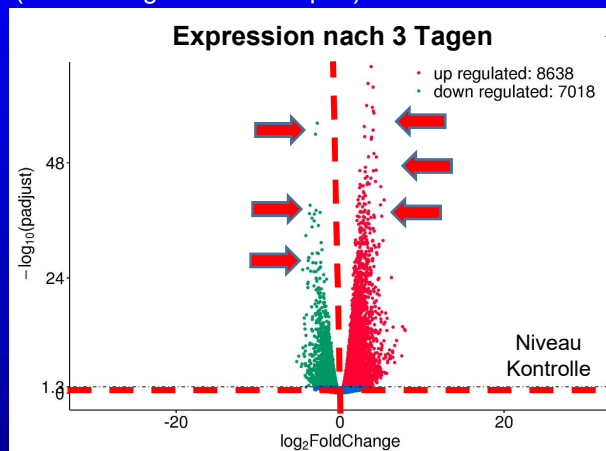


Wurzel "Phosphit" vs. Wurzel Kontrolle

Dargestellt sind lediglich die signifikanten Veränderungen in der Expression gegenüber der unbehandelten Kontrolle.

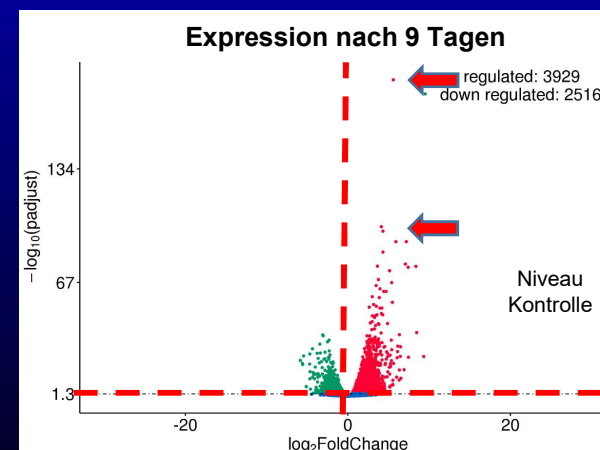
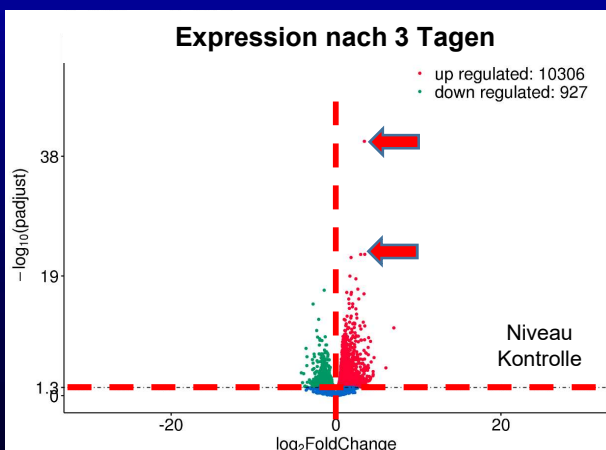
# Einfluß einer phosphithaltigen\* Blattbehandlung auf die Expression (Stimulation) verschiedener Gene am Beispiel Winterraps, 2020; \*Nutri-Phite® Magnum S

(Darstellung als Volcano plot)



## Blatt "Phosphit" vs. Blatt Kontrolle

Gerade die Gene, die nach einer „Phosphit“-Stimulierung um ein Vielfaches stärker reagieren stehen im Focus der weiteren Untersuchungen. Der Rest ist „genetisches Rauschen“

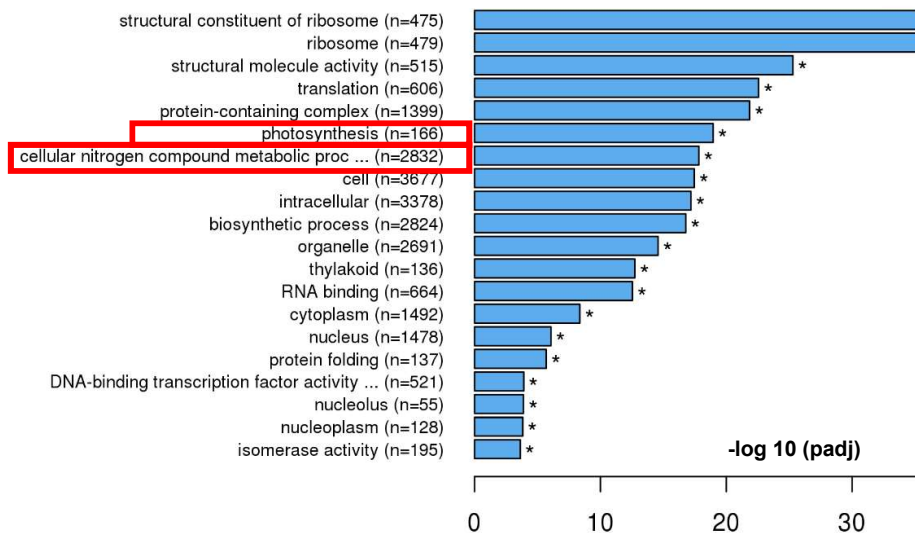


## Wurzel "Phosphit" vs. Wurzel Kontrolle

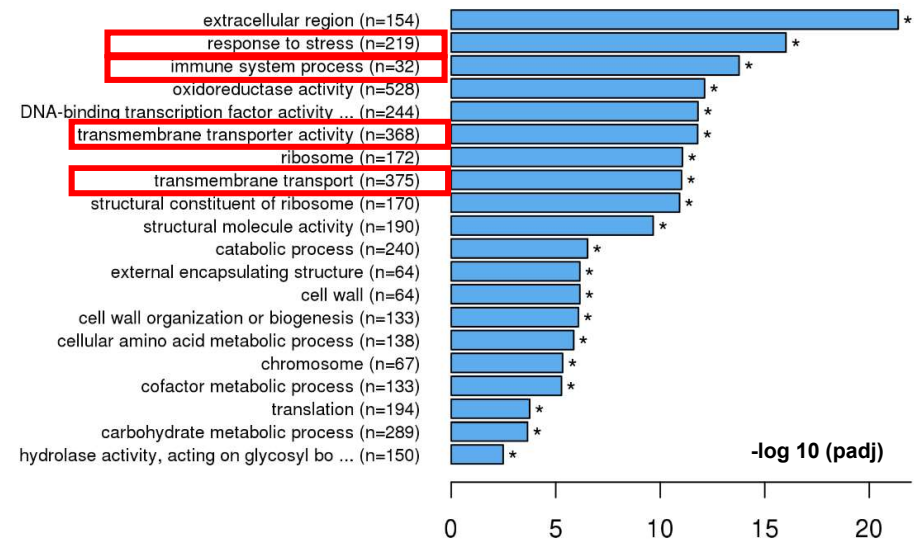
Dargestellt sind lediglich die signifikanten Veränderungen in der Expression gegenüber der unbehandelten Kontrolle.

# Einfluß einer phosphithaltigen\* Blattbehandlung auf die Stimulation von biologischen Prozessen nach 9 Tagen am Beispiel Winterraps, 2020; \*Nutri-Phite® Magnum S

Blatt "Phosphit" vs. Blatt Kontrolle  
nach 9 Tagen



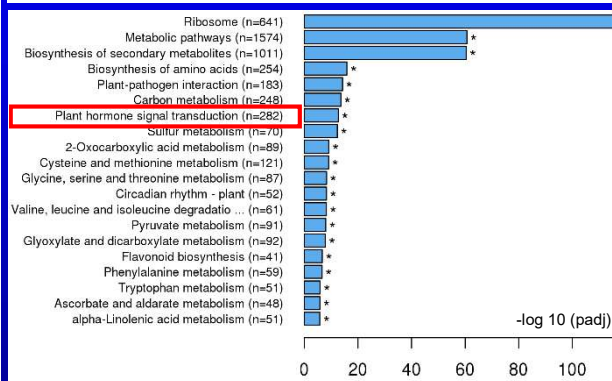
Wurzel "Phosphit" vs. Wurzel Kontrolle  
nach 9 Tagen



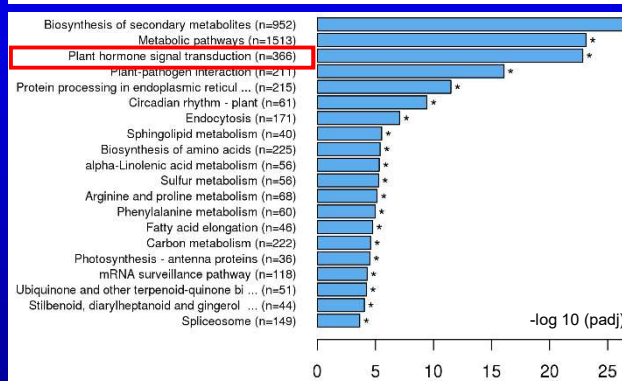
1. Verschiedene biologische Prozesse werden durch "Phosphit" signifikant stimuliert.
2. Gerade solche Prozesse, die mit dem Transport von Stoffen eine wesentliche Rolle spielen, könnten eine wichtige Erklärung für die enzymatische Stimulation darstellen.
3. Zelluläre Prozesse in der Stickstoffversorgung werden im Blatt stimuliert.
4. Der „transmembrane Transport“ in der Wurzel wird durch "Phosphit" signifikant stimuliert.
5. Stress- und Immunregulatorische Prozesse werden in der Wurzel signifikant stimuliert.

# KEGG-Analyse auf die Stimulation von biologischen Prozessen nach Zugabe von „Phosphit“\* am Beispiel Winterraps, 2020; \*Nutri-Phite® Magnum S

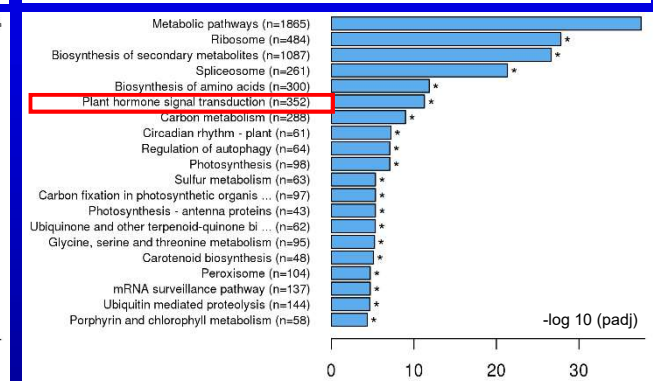
**Blatt "Phosphit" vs. Blatt Kontrolle nach 3 Tagen (KEGG - Analyse)**



**Blatt "Phosphit" vs. Blatt Kontrolle nach 6 Tagen (KEGG - Analyse)**



**Blatt "Phosphit" vs. Blatt Kontrolle nach 9 Tagen (KEGG - Analyse)**



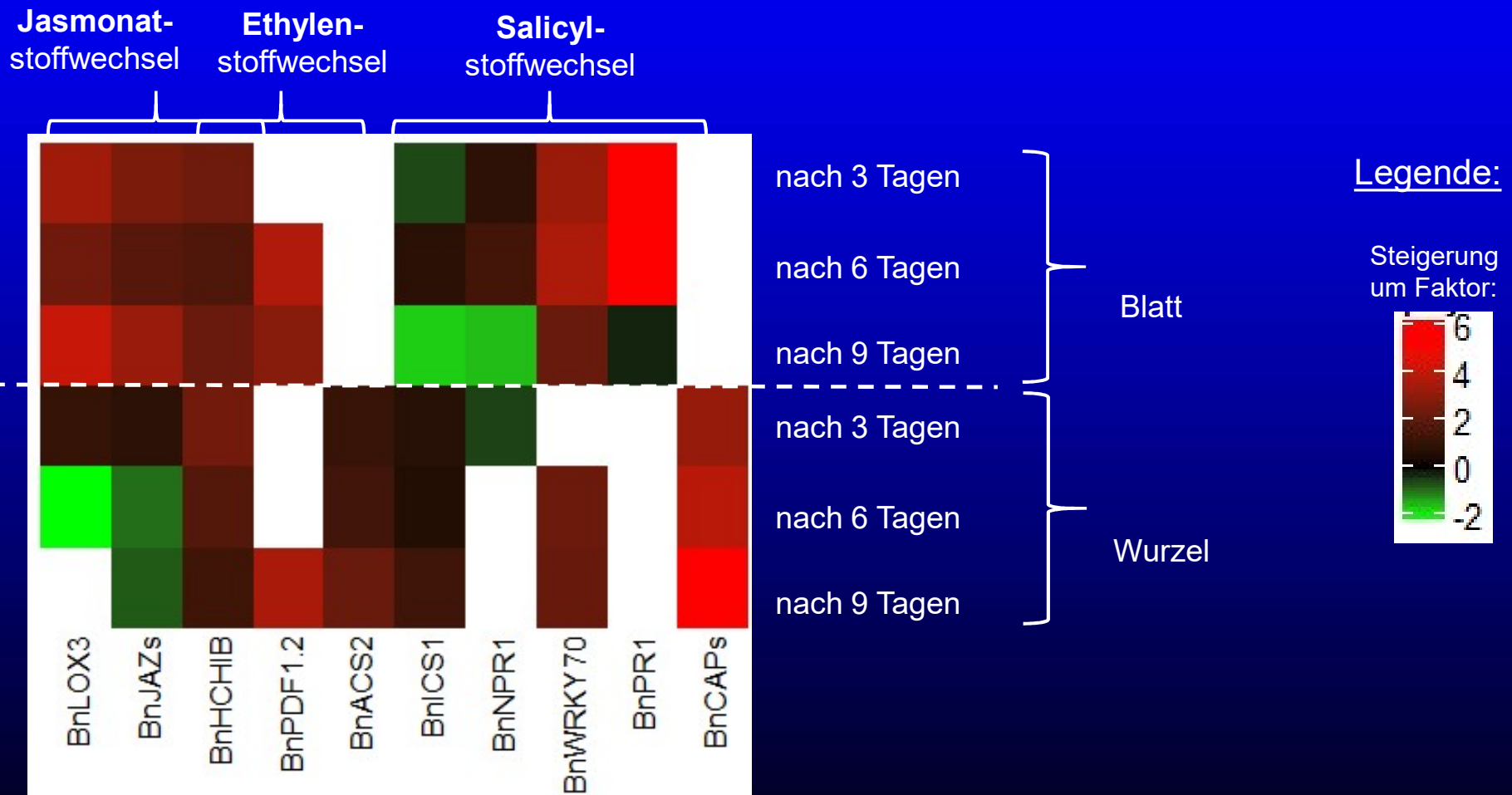
Die **KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)** ist eine frei zugängliche Datenbank mit strukturierten Informationen über Strukturen von Biomolekülen, Reaktionsgleichungen, Stoffwechselwegen, Genen der funktionalen Hierarchie biologischer Systeme in verschiedenen Organismen. Sie hat zum Ziel, die gesamten Zellen, Organismen und letztlich die Biosphäre bioinformatisch zu repräsentieren, um Vorhersagen komplexer Zellprozesse aufgrund genetischer und molekularer Informationen machen zu können.

## Anzahl der Gene, die in unterschiedlichen Stoffwechselprozessen stimuliert werden (KEGG-Analyse)

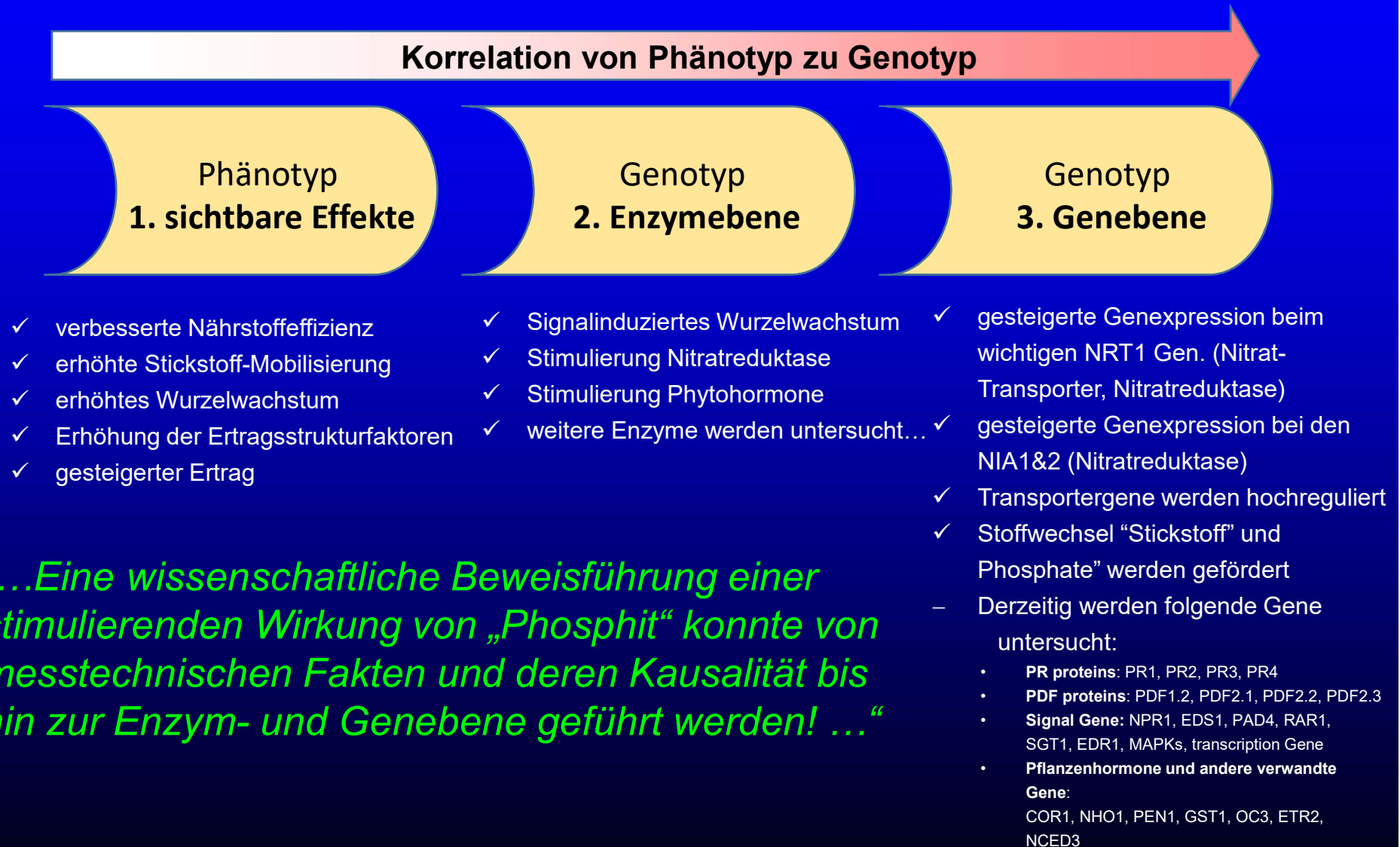
Funktion	3 Tage		6 Tage		9 Tage	
	Blatt	Wurzel	Blatt	Wurzel	Blatt	Wurzel
Stickstoff - Stoffwechsel	41	45	41	36	--	24
Signalübertragung pflanzl. Hormone	282	--	366	1.079	352	1.079

# Zusammenfassung der induzierten Wirkung von „Phosphit“\* auf die Signaltransportkette von Phytohormonen

am Beispiel Winterraps, 2020; \*Nutri-Phite® Magnum S



# Wissenschaftliche Beweisführung einer stimulierenden Wirkung



*„...Eine wissenschaftliche Beweisführung einer stimulierenden Wirkung von „Phosphit“ konnte von messtechnischen Fakten und deren Kausalität bis hin zur Enzym- und Genebene geführt werden! ...“*

## Fazit:

- **Phosphit weist einen positiv stimulierenden Einfluss auf das pflanzliche Schlüsselenzym, die Nitrat-Reduktase (NR) auf.**
  - Erstmalig konnte der Positiv-Einfluss auf die Nitrat-Reduktase nachgewiesen werden
  - Die Ergebnisse wurden 2019 durch die Universität Nottingham (UK) bestätigt
  - Nachweis einer genregulierten Genexpression (nicht nur Licht und Nitrat regulieren die Synthese der Nitrat-Reduktase, sondern auch Phosphonate)

### Kriterien nach EU-Verordnung 2019/2009 für Pflanzen-Biostimulanzien:

- Effizienz der Nährstoffverwertung
- Verfügbarkeit von im Boden oder in der Rhizosphäre enthaltenen Nährstoffen
- Toleranz gegenüber abiotischen Stress
- Qualitätsmerkmale

### Durch Versuche wissenschaftlich nachgewiesen:

- ✓ verbesserte Nährstoffeffizienz
- ✓ erhöhte Stickstoff-Mobilisierung
- ✓ erhöhtes Wurzelwachstum
- ✓ Erhöhung der Ertragsstrukturfaktoren
- ✓ gesteigerter Ertrag

**„Phosphit“ erfüllt somit alle Kriterien für ein Pflanzen-Biostimulans gemäß der Produktfunktionskategorie (PFC 6) !!!**

## Problemfelder: **Warum werden diese Chancen nicht mehr genutzt?**

### Nationale (D) Schwierigkeiten

#### Düngeverordnung

- Ausbringen von Düngemitteln mit “wesentlichem” Gehalt an Stickstoff (> 1,5% Ges. –N in der TS) an Sperrfristen gebunden.
- Viele Formulierungen oder Biostimulanzien können somit einen “wesentlichen Stickstoffgehalt aufweisen”, obwohl die Wirkungsausprägung definitionsbedingt nicht vom Nährstoffgehalt kommen kann.
- Oftmals sind sie unvermeidbarer Anteil in der Formulierung mit passive Ausbringung (Mangannitrat).
- Maßstäblichkeit ist nicht mehr gegeben. Es geht insgesamt um g/ha. Somit können Biostimulanzien nicht zeitlich optimal früh im Herbst eingesetzt werden.

### Internationale (EU) Schwierigkeiten

#### EU-Düngeprodukt Verordnung 2019/1009

- Generelle Aussage in Satz 6: “...Phosphonate dürfen in einem EU-Düngeprodukt nicht absichtlich zugesetzt werden...”
- Phosphonate sollen aktuell ausgenommen werden, da ein versteckter Pflanzenschutz Einsatz vermutet wird. Eine Wirkung ist aber nur bei *den Peronosporales* nachgewiesen. Diese Gruppe an Pilzen sind aber in den Hauptfrüchten (Getreide, Raps etc.) kaum von Bedeutung.
- Biostimulanzien können grundsätzlich auch Komponenten enthalten, welche auch in anderen Produkten verwendet werden, aber diese müssen gemäß „Stoffrecht“:
  - a) in einer **anderen Dosierung** ausgebracht werden
  - b) zu einem **anderen Zeitpunkt** ausgebracht werden.
  - c) Anwendung zur **ausschließlich biostimulierende Wirkung**

Rechtlich gilt der Indikationsbezug und das „Dual-Use“ Prinzip!

**Forderung:** Pflanzen-Biostimulanzien müssen von den Sperrfristen der nationalen Düngeverordnung (DüV) für Stickstoff und Phosphor ausgenommen werden.

**Forderung:** Für die Produktfunktionskategorie (PFC) 6 muss eine Ausnahme für Phosphonate erteilt werden. Somit bleiben alle anderen Bestimmungen gültig und vereinfachen das Verfahren.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit !