

Standardisierung eines Kressetestes für das biologisch-dynamische Hornmistpräparat

Morau A¹ & Fritz J¹

Keywords: biodynamic preparations, cow horn manure, P500, bioassay, cress.

Abstract

*The biodynamic preparations have been investigated mainly in field trials. By contrast bioassays with high repeatability have hardly been considered. The aim of the authors' long-term project is to establish a rapid bioassay to evaluate the effectiveness of the horn manure preparation (HMP). The investigated bioassay is based on hydroponically grown cress (*Lepidium sativum* L.) as an indicator plant. Past results indicated its sensitivity for typical dilutions of HMP in agricultural practice. However one limiting point was the use of non-standard local well water as hydroponic solution. The aim of the present study was to standardise this parameter. A series of 8 experiments was conducted to compare a selected mineral water with well water. The results indicate a highly significant ($p < 0,001$) effect of the HMP on the root's length (+8,1%). No influence of the water on the HMP's effect was detected. The growth level was more stable with the mineral water. The investigated mineral water therefore does not affect the bioassay's sensitivity, but improves its stability. It can be concluded that the bioassay can be standardised with the selected mineral water as hydroponic solution.*

Einleitung und Zielsetzung

Zu den Richtlinien des Demeter-Verbands gehört die Anwendung der biologisch-dynamischen (BD) Präparate. Ihre Wirkung wurde in zahlreichen wissenschaftlichen Untersuchungen geprüft (Leiber et al. 2006, Turinek et al. 2009). Dabei wurde ihre Wirksamkeit jedoch oft nicht spezifisch untersucht, sondern im Zusammenhang mit anderen BD Maßnahmen. Ein Großteil der Versuche wurde unter schwer kontrollierbaren Feldbedingungen durchgeführt. Deswegen war die Prüfung der Reproduzierbarkeit schwierig, Versuche unter kontrollierten Laborbedingungen wurden kaum durchgeführt.

Ziel des langzeit Forschungsprojekts der Autoren ist die Entwicklung eines schnellen Labortests zur Untersuchung der Wirkung des BD Hornmistpräparats (HMP). Dafür wurde ein Testdesign basierend auf Kressekeimlingen in Hydrokultur entwickelt. Die untersuchten Verdünnungsverhältnisse orientierten sich an der Verdünnung der HMP-Suspension im Bodenwasser unter BD-Praxisbedingungen (um 0,013%), basierend auf Schätzungen von Giannattasio et al. (2013). Bei der Anwendung des Tests wurde eine Wirksamkeit des HMP auf die Wurzellänge festgestellt, die Stabilität der Ergebnisse wurde durch die Kontrolle der Einflussfaktoren verbessert (Publikationen in Vorbereitung). Allerdings lag die Wirksamkeit des HMP unter Verwendung des Brunnenwassers des Laborstandortes als Kulturwasser vor, nicht jedoch bei Verwendung einer Hoagland-Nährlösung (bei gleichem pH).

¹ Fachgebiet Ökologischer Land- und Pflanzenbau, Universität Kassel, Nordbahnhofstraße 1a, 37213 Witzenhausen, Deutschland. alain.morau@uni-kassel.de, j.fritz@uni-kassel.de.

Exemplarisch wird in diesem Beitrag die Standardisierung des Kulturwassers als ein Schritt der Testentwicklung dargestellt. Die hier beschriebenen Untersuchungen haben die Verwendung eines Mineralwassers als Alternative zum Brunnenwasser zum Ziel. Es sollte ermittelt werden, (i) ob die HMP-Suspension bei praxisnahen Dosierungen das Wachstum der Kressekeimlinge beeinflusst und (ii) ob das Kulturwasser einen Einfluss auf die Wirkung des HMP hat. Zusätzlich wurde die Teststabilität geprüft.

Material und Methoden

Im entwickelten Kresstest bestand eine Randomisierungseinheit aus einem mit 6 ml Kulturwasser gefüllten LDPE-Beutel (Minigrip® 120x170mm, Intoplast Group, USA), in welchem 16 Kressesamen (Bingenheimer Saatgut AG, Deutschland) hydroponisch kultiviert wurden. Die Kressesamen wurden auf Chromatographiepapier (FN 1, Sartorius AG, Deutschland) gelegt. Die Beutel wurden in einem lichtisolierten Inkubator (KB 720, Binder GmbH, Deutschland) bei einer Temperatur von 19°C aufgehängt. Die Spross- und Wurzellänge wurden durch eine tägliche Markierung bis zum 8. Tag erfasst.

Die Tropfen-Behandlung umfasste die einmalige Applikation eines 1 µL-Tropfens beim Ansetzen der Beutel. Der Tropfen bestand entweder aus Wasser als Kontrollbehandlung (Variante K) oder aus einer HMP-Suspension (Variante HM). Die HMP-Suspension (3 g L⁻¹) wurde am gleichen Tag entsprechend den Kriterien von Wistinghausen (2007) vorbereitet. Durch die Applikation des Tropfens wurde eine Verdünnung der HMP-Suspension von 0,017% im Kulturwasser erreicht. Die Beutel wurden auf ein Gestänge gehängt und bildeten eine randomisierte Blockanlage mit 20 Blöcken. Je ein Beutel der Variante HM und K bildeten zusammen einen Block.

Die Versuchsserie bestand aus 8 wöchentlich durchgeführten Versuchen zwischen 29.2. und 20.4.2016. Zu jedem Termin wurden zwei Gestänge à 40 Beutel mit je zwei verschiedenen Kulturwassern angesetzt: das Brunnenwasser (Faktorstufe BW) des Versuchstandortes (Landbauschule Dottenfelderhof e.V., Deutschland) oder das Mineralwasser (Faktorstufe MW) *Bad Brückenaue Naturell* (Staatl. Mineralbrunnen AG, Deutschland). Mit Ausnahme der Applikation des Tropfens erfolgten alle Schritte auf codierten Beuteln.

Die Versuchsserie bildete eine Spaltanlage mit dem Beutel als Kleinteilstück und dem Gestänge als Großteilstück. Die statistische Analyse wurde mittels eines gemischten Modells mit SAS (Version 3.5, SAS Institute Inc., USA) durchgeführt. Die Heterogenität der Varianzen zwischen den Terminen für die Faktorstufen BW und MW wurde im Modell berücksichtigt. Die einzelnen Gestänge wurden ebenfalls als Blockanlage mittels eines gemischten Modells statistisch analysiert.

Ergebnisse und Diskussion

Insgesamt wurden 8640 Samen in 540 Beuteln angesetzt. Durchschnittlich wurden 15,6 (±0,9)% der Samen eines Beutels wegen krummen oder verzögerten Wachstums nicht ausgewertet. Zusätzlich wurden fünf Beutel (0,9%) wegen Wachstumsstörungen als Ausreißer deklariert und nicht ausgewertet.

Ein signifikanter Einfluss der Tropfen-Behandlung lag ausschließlich für die Wurzellänge ab dem 4. Tag vor (Tabelle 1). Der Effekt des HMP war fördernd und nahm im Wachstumsverlauf zu (Abb. 1). Zum Ende des Versuchs (8. Tag) waren die

Wurzeln in der Variante HM höchst signifikant um 8,1% länger (P-Wert <0,001). Somit wurde die Hypothese (i) der Beeinflussung des Wachstums der Kressekeimlinge durch die HMP-Suspension bei einer praxisnahen Verdünnung (0,017%) verifiziert. Dies bestätigte unveröffentlichte Ergebnisse der Autoren aus vorhergehenden Untersuchungen (Publikation in Vorbereitung).

Tabelle 1: P-Werte (Wald F-Test der Versuchserie) der Faktoren Tropfen, Kulturwasser und ihre Wechselwirkung für die Wurzellänge am 2. bis 8. Tag.

Tag	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Tropfen (T)	0,54	0,22	0,02	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Kulturwasser (W)	0,25	0,003	<0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
T x W	0,70	0,81	0,96	0,83	0,24	0,39	0,91

Statistisch signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt (Wald F-Test, P < 0,05).

Die Wurzellängen der Beutel mit unterschiedlichen Kulturwassern unterschieden sich ab dem 3. Tag signifikant voneinander. Die Wechselwirkungen zwischen den Tropfen-Behandlungen und den Kulturwassern waren hingegen nicht signifikant: Die Reaktion der Keimlinge auf das HMP hing nicht von dem verwendeten Kulturwasser ab. Somit wurde die Hypothese (ii) des Einflusses des Kulturwassers auf die Wirkung des HMP nicht verifiziert.

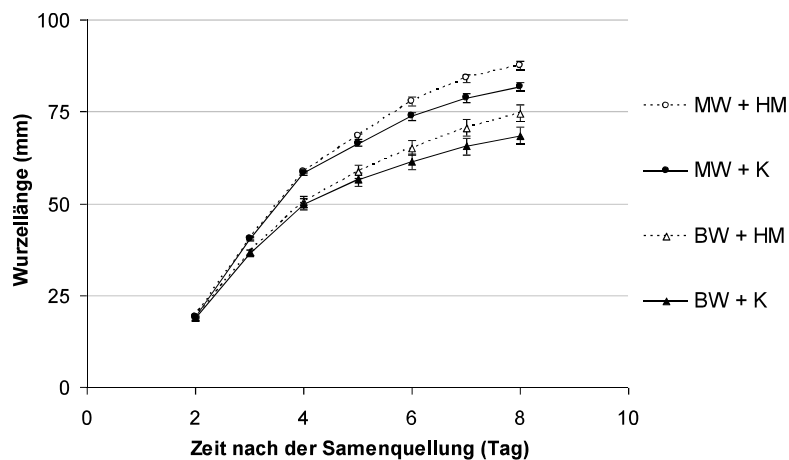


Abbildung 1: Wurzelwachstum in Abhängigkeit von Kulturwasser (BW: Brunnenwasser; MW: Mineralwasser) und Tropfen-Behandlung (HM: Hormmistsuspension; K: Kontrolle Wasser). Balken: ± Standardfehler der Mittelwerte.

Zur Prüfung der Stabilität der Ergebnisse über die Dauer der Serie wurde jeder einzelne Versuch als Blockanlage statistisch ausgewertet (Tab. 2). In den Varianten BW und MW lagen signifikante wachstumsfördernde Behandlungseffekte an 6 von 8 Terminen (75%) vor. Auch in den nicht signifikanten Versuchen lag tendenziell ein

wachstums-fördernder Effekt vor (Ergebnisse nicht dargestellt). In den Varianten BW und MW war somit die Stabilität der Ergebnisse ähnlich.

Die Standardfehler des Mittelwerts waren in Variante BW größer als in Variante MW (Abb.1). Zugrunde liegend war ein stärkerer Einfluss des Termin-Faktors auf die Variante BW, was auf Schwankungen der mineralischen Zusammensetzung des Brunnenwassers vermutlich zurückgeführt werden kann. Somit war in Variante MW der Biotest stabiler.

Tabelle 2: P-Werte (Wald F-Test der einzelnen Blockanlage) des Faktors Tropfen-Behandlung in den Versuchen 1 bis 8 (Parameter: Wurzellänge am 8. Tag).

Kulturwasser	Versuch							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Brunnenwasser (BW)	0,076	0,007	<0,001	0,002	0,01	0,02	0,003	0,16
Mineralwasser (MW)	<0,001	0,003	0,025	0,003	0,74	0,007	0,029	0,14

Statistisch signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt (Wald F-Test, $P < 0,05$).

Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse bestätigen den in früheren Untersuchungen gezeigten Einfluss des HMP auf Kressekeimlinge unter praxisüblichen Dosierungen. Die Testsensibilität wird von den untersuchten Kulturwassern nicht beeinflusst, allerdings ist die Teststabilität bei Verwendung von Mineralwasser höher. Das untersuchte Mineralwasser kann somit angewendet werden. Die Testsstandardisierung wurde dadurch verbessert, jedoch sollte die Anwendung von standardisierten Nährlösungen weiter untersucht werden. Zudem ist zu prüfen, inwieweit das Testsystem für längere Zeitspannen stabil ist und gegenüber dem HMP spezifisch reagiert. Hierfür sollten die Einflüsse verschiedener Faktoren während der Herstellung des HMP untersucht werden.

Danksagung

Wir danken Prof. Piepho (Universität Höhenheim) für das Erstellen der statistischen Modelle. Diese Arbeit wurde durch das Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft und die Software AG Stiftung gefördert.

Literatur

- Giannattasio M, Vendramin E, Fornasier F, Alberghini S, Zanardo M, Stellan F, Concheri G, Stevanato P, Ertani A, Nardi S, Rizzi V, Piffanelli P, Spaccini R, Mazzei P, Piccolo A & Squartini A (2013) Microbiological features and bioactivity of a fermented manure product (Preparation 500) used in biodynamic agriculture. *Journal in Microbiology and Biotechnology* 23(5): 644-651.
- Leiber F, Fuchs N & Spiess H (2006) Biodynamic agriculture today. In: Kristiansen P, Taji A & Reganold J (Hrsg) *Organic agriculture: A global perspective*. Comstock Publishing Assoc., Ithaca, NY: 141-149.
- Turinek M, Grobelnik-Mlakar S, Bavec M & Bavec F (2009) Biodynamic agriculture research progress and priorities. *Renewable Agriculture and Food Systems* 24(2): 146-154.
- Wistinghausen C von, Scheibe W, Wistinghausen E von & König UJ (2007) *Anleitung zur Herstellung der Biologisch-Dynamischen Präparate*. Verlag Lebendige Erde, Darmstadt.