

## Entwicklung, in-house Validierung und Praxiserprobung eines Biotests mit Gartenkresse zur Erfassung der Pflanzenreaktionen nach Behandlungen mit dem biologisch-dynamischen Hornmistpräparat

Development, in-house validation and practical testing of a bioassay with garden cress to record plant reactions after treatment with the biodynamic horn-manure preparation

**FKZ: 13OE006**

**Projektnehmer:**

Universität Kassel, FB 11  
Fachgebiet Ökologischer Land- und Pflanzenbau  
Nordbahnhofstraße 1a, 34213 Witzenhausen  
Tel.: +49 5542 981565  
Fax: +49 5542 981568  
E-Mail: [j.fritz@uni-kassel.de](mailto:j.fritz@uni-kassel.de)  
Internet: [www.uni-kassel.de](http://www.uni-kassel.de)

**Autoren:**

Morau, Alain; Fritz, Jürgen

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.



## ***Abschlussbericht***

# **Entwicklung, in-house Validierung und Praxiserprobung eines Biotests mit Gartenkresse zur Erfassung der Pflanzenreaktionen nach Behandlungen mit biologisch-dynamischem Hornmistpräparat**

**FKZ:** 2813OE006

**Laufzeit :** 01.01.2015 – 30.06.2017

**Dr. Jürgen Fritz und Dipl. Ing. Alain Morau**  
Fachgebiet Ökologischer Land- & Pflanzenbau  
Universität Kassel

## **Entwicklung, in-house Validierung und Praxiserprobung eines Biotests mit Gartenkresse zur Erfassung der Pflanzenreaktionen nach Behandlungen mit biologisch-dynamischem Hornmistpräparat**

**Dr. Jürgen Fritz und Dipl. Ing. Alain Morau**

Fachgebiet Ökologischer Land- & Pflanzenbau

Universität Kassel

Nordbahnhofstr. 1a

37213 Witzenhausen

Tel: 05542-981565 (Sekretariat), Fax: -981568,

[j.fritz@uni-kassel.de](mailto:j.fritz@uni-kassel.de); [alain.morau@uni-kassel.de](mailto:alain.morau@uni-kassel.de)

### **Kurzfassung**

Wie andere natürliche Biostimulanten wird das biodynamische Hornmistpräparat (HMP) auf landwirtschaftliche Flächen in sehr geringen Mengen ausgebracht. Wegen der schwierigen Reproduzierbarkeit von Forschungsergebnissen in Feldversuchen ist die Entwicklung eines standardisierten spezifischen Labortests für die Bioaktivität des HMP notwendig. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass ein Biotest mit Gartenkresse (*Lepidium sativum* L.) signifikant auf HMP reagierte. Ziel des vorliegenden Projektes war, die Wiederholbarkeit und –spezifität dieses Biotests zu ermitteln. Der Biotest bestand aus einer hydroponischen Kultur von Kressekeimlingen in Polyethylen-Beutel, die in einer randomisierten vollständigen Blockanlage (n=20) eingeordnet wurden. Die untersuchten HMP-Dosierungen entsprachen den Anwendungsmengen in der Praxis. Zur Frage der Testwiederholbarkeit wurde die Interaktion zwischen der Bioaktivität des HMP und Testfaktoren untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass die Effekte des HMP bei (i) Wasserüberdosierung (HMP-Effekt bis +4.2%), (ii) ausgeprägter Störung des Geotropismus (bis +9.5%) and (iii) Einwirkung von Neonlicht (bis +12.3%) höchst signifikant und am deutlichsten waren. Das HMP wirkte kompensierend auf Wachstumsstress bei Wasserüberdosierung und Störung des Geotropismus, synergetisch auf Neonlichteinwirkung. Die Interaktion mit (iv) der Wasserzusammensetzung war höchst signifikant ( $p < 0.0001$ ), jedoch mit langzeitigen Fluktuationen, deren Ursprung unerklärt blieb. In ersten Versuchen zur Frage der Test-Spezifität wurde kein Einfluss der Rührzeit der HMP-Suspension (als spezifischer biodynamischer Maßnahme) festgestellt. Auf die Wirksamkeit von einer anderen humusartigen Substanz wurde hingewiesen. Wir schlussfolgerten, dass unsere mehrfaktorielle Herangehensweise erfolgreich war, um die Testsensibilität zu verbessern. HMP förderte vermutlich die Selbstregulation der Pflanzen unter Wachstumsstress. Der Biotest ist jedoch nicht genügend entwickelt für die Anwendung als Praxistest. In weiteren Untersuchungen sollte die Interaktion mit der Wasserzusammensetzung untersucht werden. Auf dieser Grundlage sollte die Test-Wiederholbarkeit weiter verbessert und die Test-Spezifität genauer geprüft werden.

## **Abstract**

In agriculture, natural substances are used in part by very low concentration as biostimulant. For instance, fermented cow manure is sprayed as biodynamic horn manure preparation (HMP) onto agricultural fields. Significant plant reactions after treatment with biodynamic preparations have been in field trials repeatedly shown, but their reproducibility was difficult, presumably because of fluctuating natural conditions. Hence, the development of a standardised, specific bioassay is required to evaluate the effectiveness of the HMP. Previous investigations have established the sensitivity of a bioassay with garden cress (*Lepidium sativum* L.). In the present study, we investigated the reproducibility and specificity of this bioassay by studying the interactions of the HMP's bioactivity with test factors. The bioassay consisted of the hydroponic cultivation of cress seedlings in polyethylene bags. The layout was a randomized complete block design with 20 replicates. The investigated HMP doses were relevant for practical applications in the biodynamic managed agriculture. We investigated the influence of the test factors (i) water volume in the bags, (ii) geotropism disturbance induced by laying down the bags during measurement, (iii) exposure to light and (iv) water composition. Concerning test specificity (v) the influence of steering time (as a part of the specific biodynamic directives) and (vi) the efficiency of other humus-like substances were investigated. The results show that the HMP effects compared to the control were maximal (i) at water overdoses (HMP effect up to +4.2%,  $p=0.0008$ ,  $n=4$ ), (ii) at severe geotropism disturbances (up to +9.5%,  $p<0.0001$ ,  $n=8$ ) and (iii) with neon light exposure (up to +12.3%,  $p<0.0001$ ,  $n=6$ ). The HMP compensatory effect under stressed conditions (water overdose, geotropism disturbance) and a synergetic effect under neon light exposure. The interaction of the HMP effectiveness to (iv) the water composition was highly significant ( $p<0.0001$ ). Though, this interaction fluctuated over a long period of time, for unexplained reasons. In preliminary tests (v) no effect of the steering time was shown and (vi) the efficiency of another humus-like substance was indicated. We conclude that our multi-factorial approach successfully increased the bioassay's sensitivity. The HMP mode of action is likely a stimulation of the plant's self-regulating processes. Though, the test system is not enough developed for practical application. Further research is necessary for understanding the interaction between the HMP efficiency and the water composition. On this basis the test reproducibility should be further improved and the specificity should be verified more accurately.

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Einführung</b>	<b>6</b>
1.1 Gegenstand des Vorhabens	6
1.2 Aufgabenstellung und Ziele des Projekts	6
1.3 Planung und Ablauf des Projektes	7
<b>2. Wissenschaftlicher und technischer Stand</b>	<b>9</b>
2.1 Wirkung des HMP	9
2.2 Eigene Vorversuche	9
<b>3. Material und Methode</b>	<b>10</b>
3.1 Material	10
3.2 Testverfahren	10
3.3 Die Hauptversuchsserien	11
3.4 Statistische Analyse	12
<b>4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse</b>	<b>13</b>
4.1 Testwiederholbarkeit	13
4.1.1 Einfluss der Wassermenge	13
4.1.2 Einfluss des Gravitropismus (Liegedauer)	14
4.1.3 Einfluss der Lichteinwirkung	15
4.1.4 Einfluss des Beutelwassers	16
4.1.5 Zusätzliche Einflussfaktoren	17
4.2 Testspezifität	18
4.2.1 Einfluss der Rührzeit	18
4.2.2 Vergleich mit anderen Substanzen	18
4.3. Langzeitversuche	19
4.3.1 Hauptserie	19
4.3.2 Wechselwirkung mit dem Beutelwasser	20
<b>5. Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>21</b>
5.1 Einflussfaktoren und Wirkungsweise des HMP	21
5.2 Testspezifität	21
5.3 Hypothese zur Wirkungsweise des HMP	21
5.4 Verständnis und Optimierung des Testsystems	22
<b>6- Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse</b>	<b>23</b>
<b>7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten und tatsächlich erreichter Ziele</b>	<b>23</b>
<b>8. Zusammenfassung</b>	<b>23</b>
<b>9. Literaturverzeichnis</b>	<b>23</b>
<b>10. Übersicht der realisierten Veröffentlichungen zum Projekt</b>	<b>25</b>

## Abkürzungsverzeichnis

HMP: Hornmistpräparat

BD: biologisch-dynamisch

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1.</b>	Einfluss des Wasservolumens und Wechselwirkung zwischen Wasservolumen und HMP-Behandlungen auf das Wurzelwachstum der Kressekeimlinge.....	13
<b>Abb. 2.</b>	Einfluss der Dauer des Waagrecht-Liegens bei der Längenbonitur und ihre Wechselwirkung mit den HMP-Tropfen-Behandlungen auf das Wurzelwachstum von Kressekeimlingen. ....	14
<b>Abb. 3.</b>	Einfluss von unterschiedlichem Licht bei der Längenbonitur und ihre Wechselwirkung mit HMP- Behandlungen auf das Wurzelwachstum von Kressekeimlingen. ....	15
<b>Abb. 4.</b>	Wurzelwachstum in Abhängigkeit von Kulturwasser und HMP-Behandlung.....	17
<b>Abb. 5.</b>	Wurzelwachstum in Abhängigkeit von der Behandlung mit unterschiedlich lang gerührten HMP-Suspensionen .....	18
<b>Abb. 6.</b>	Wurzelwachstum in Abhängigkeit von der Behandlung mit verschiedenen humusartigen Substanzen und HMP-Suspensionen .....	19
<b>Abb. 7.</b>	Wurzellänge in Abhängigkeit von HMP-Behandlungen in 32 unabhängigen Experimenten mit Mineralwasser 4 (in mm). ....	20

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1.</b>	Zeitablauf des Projektes.....	8
<b>Tabelle 2.</b>	Beschreibung der Hauptversuchsserien.....	12
<b>Tabelle 3.</b>	Untersuchte Wässer.....	16
<b>Tabelle 4.</b>	Mittelwert der Wurzellängen in Abhängigkeit von Beutelwasser und HMP-Faktor (mm).....	21

## **1. Einführung**

### **1.1 Gegenstand des Vorhabens**

Die Frage nach der Wirksamkeit von niedrig konzentrierten Stoffmengen auf das Leben ist hoch aktuell. In der Medizin bekommen allergische Phänomene immer mehr Bedeutung. In der Umweltwissenschaft wird die Toxizität von hoch verdünnten Schadstoffen untersucht. In der Pflanzenphysiologie wurden Wirkungen bioaktiver Stoffe, wie Pflanzenhormone und Signalstoffe, auch in sehr niedrigen Konzentrationen festgestellt. Auch in der Landwirtschaft wird die Anwendung von Biostimulanten, beispielsweise Algenextrakt oder Huminstoffe, zur Pflanzenwachstumsstimulierung, Steigerung der Erntequalität und Stresseffektverminderung immer mehr in Betracht bezogen. Yakhin et al. (2017) charakterisierten Biostimulanten durch ihre neuen und emergenten Eigenschaften, die nicht auf die einzelnen Elemente dieser komplexen Substanze, sondern auf deren Gesamtheit zurückzuführen sind.

Diese Sichtweise wirft ein neues Licht auf die biologisch-dynamischen (BD) Präparate. Wie für Biostimulanten üblich werden sie in kleinen Mengen direkt auf Felder oder über Dünger zur Stimulierung und Regulierung der Lebensprozesse angewendet (Koepf et al. 1979). In der europäischen Union sind diese Präparate aufgrund der EU-Regulierung 834 erlaubt (Council of the European Union 2007). Ihre Wirksamkeit ist jedoch umstritten. In einer Veröffentlichung fassen Turinek et al. (2009) und Geier et al. (2016) bestehende Untersuchungen zusammen und zeigen, dass die Wirkungen der BD Präparate auf die Ernte und den Boden in mehreren Studien belegt wurden. Die Veröffentlichung von Chalker-Scott (2013) weist hingegen auf die mangelnde Aussagekraft der Daten hin.

Die geringe Anzahl von aussagekräftigen Ergebnissen ist zum Teil auf einen methodologischen Bias zurückzuführen, da die BD Präparate hauptsächlich in Freilandversuchen untersucht wurden. Dabei ist die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse durch vielfältige Faktoren erschwert. Während Laboruntersuchungen für die BD Präparate kaum durchgeführt wurden, wurden in der Pflanzenphysiologie (Audus, 1972), der Ökotoxikologie (O.E.C.D., 2009) und der Medizin (Agarwal et al., 2014; Butterweck and Nahrstedt, 2012) standardisierte Labor-Biotests entwickelt, um bioaktive Substanzen unter geringen Konzentrationen zu untersuchen.

Phytohormon-ähnliche Bioaktivität von üblichen Biostimulanten wurde mit diesen Biotests geprüft (Ertani et al., 2011; Colla et al., 2014). Jedoch wurden keine Biotests für komplexe Biostimulanten entwickelt, um deren spezifischen Eigenschaften zu untersuchen. Dem vorliegenden Projekt liegt in Bezug auf die BD Präparate ein Ansatz zur Untersuchung komplexer Biostimulanten zugrunde. Im Fokus der Untersuchung stand das Hornmistpräparat (HMP). Das HMP besteht aus einer humusartigen Substanz aus fermentiertem Kuhmist. In der Praxis wird es in einer Menge von 120-300 g ha<sup>-1</sup> auf den Feldern ausgebracht.

### **1.2 Aufgabenstellung und Ziele des Projekts**

Zielsetzung des Projektes war, einen Labortest für das BD Hornmistpräparat zu entwickeln. Vier Schritte waren geplant: die Entwicklung des Testes, die Prüfung seiner Spezifität, seine Validierung, und letztendlich die Erprobung unter einer praxisorientierten Fragestellung.

Die Entwicklung dieses Kressetests entspricht den folgenden Zielen der Richtlinien des „Bundesprogramms zur Förderung von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben sowie von Maßnahmen zum Technologie- und Wissenstransfer für eine nachhaltige Erzeugung, Verarbeitung und Vermarktung von landwirtschaftlichen Produkten“ vom 29.Juli 2015:

- « Weiterentwicklung landwirtschaftlicher Nutzungssysteme zur Erreichung des Einklangs zwischen nachhaltiger Nutzung und Erhaltung der biologischen Vielfalt »

- « Nachhaltige Steigerung und Sicherung des Ertrags »

Die Anwendung von Biostimulanten eröffnet aufgrund ihrer potentiellen Eigenschaften, z. B. der Steigerung der Pflanzenresilienz, neue Möglichkeiten für die Landwirtschaft (Calvo et al. 2014). Es wurde in eigenen Voruntersuchungen auf ähnliche Eigenschaften des HMP hingewiesen, weil eine regulierende Wirkung des HMP auf das Wachstum festgestellt wurde. Die Anwendung von Biostimulanten, wie dem HMP, in der Landwirtschaft ist schonend für die Umwelt (geringer Energieverbrauch, keine unerwünschte Nebenwirkung). Die Entwicklung eines spezifischen Biotestes kann einen Beitrag zum besseren Verständnis und einer optimierten Herstellung und Anwendung des HMP leisten. Dementsprechend werden die Bedingungen der Praxis berücksichtigt, insbesondere in Bezug auf die applizierte Dosis des HMP.

### 1.3 Planung und Ablauf des Projektes

Das Projekt fand im Zeitraum 01.01.2015-30.06.2017 statt. Geplant waren vier Schritte: die Prüfung der Wiederholbarkeit, die Prüfung der Spezifität, Validierung und Erprobung unter einer praxisorientierten Fragestellung. In der Beschreibung des Vorhabens wurde darauf hingewiesen, dass die Prüfung der Testwiederholbarkeit ein kritisches Teilvorhaben ist. In der Tat lagen in Vorversuchen starke Schwankungen der Wirksamkeit des HMP vor, da Zeitperioden mit einer stabilen Wirkung mit Perioden ohne stabile Wirkung alternierten.

In Tabelle 1 ist der Ablauf des Projektes dargestellt. Drei Schritte sind zu unterscheiden.

#### 1- Prüfung der Testfaktoren (Januar 2015-Mai 2016)

In Voruntersuchungen von Januar 2013 bis Dezember 2014 lagen kaum statistisch signifikante Wirkungen des HMP vor. Die Untersuchungen in Januar 2015 – Mai 2015 blieben in dieser Kontinuität. Es wurde aber der Einfluss eines spezifischen Stressfaktors festgestellt (Störung des Geotropismus), woraufhin das Testsystem modifiziert wurde.

Aufgrund des neuen Testdesigns wurden zwischen Juni 2015 und Mai 2016 folgende Test- und Probenfaktoren systematisch geprüft: Störung des Geotropismus, Saatgut, Wasservolumen, Licht und Beutelwasser.

Anhand der Ergebnisse wurde das Testdesign optimiert. Im Mai 2016 war die Wiederholbarkeit der Wirkung im neuen Testdesign stabil. Somit schien der erste Meilenstein M1 (Testwiederholbarkeit) erreicht.

#### 2- Prüfung der Testsensibilität (Juni 2016- November 2016)

Zur Prüfung der Testspezifität wurde der Einfluss des Rührprozesses auf die Wirksamkeit des HMP untersucht (als spezifische biodynamische Maßnahme) und das HMP mit anderen Substanzen verglichen. Im November 2016 wurde jedoch festgestellt, dass die Wiederholbarkeit nicht mehr gewährleistet war (M2). Die Versuche zur Testspezifität wurden dementsprechend gestoppt. Es wurde die Hypothese einer Wechselwirkung zwischen der HMP-Wirksamkeit, der Jahreszeit und dem Kulturwasser im Plastikbeutel (Beutelwasser) formuliert.

#### 3- Langzeitserie (Juni 2016-Juni 2017)

Ab Juni 2016 wurde eine Langzeitserie im optimierten Testdesign initiiert, um die Langzeit-Wiederholbarkeit zu prüfen. Ab Dezember 2016 (Meilenstein M2) wurden drei weitere Versuchsreihen parallel durchgeführt. Zusammen bilden diese vier Versuchsreihen eine Langzeitige-Versuchsreihe, um den Einfluss des Kulturwassers zu untersuchen.



**Tabelle 1.** Zeitablauf des Projektes

Arbeitschritte	2015				2016				2017	
	I-III	IV-VI	VII-IX	X-XII	I-III	IV-VI	VII-IX	X-XII	I-III	IV-VI
<b>1- Prüfung der Testfaktor</b>										
Geotropismus	■		■		■					
Volumen		■								
Licht				■						
Saatgut		■			■					
Beutelwasser					■					
<b>2- Testspezifität</b>										
Rührdauer							■			
Vergleich mit anderen Substanzen								■		
<b>3- Langzeitserie</b>										
Wiederholbarkeit des optimiertem Testdesignes							■			■
Einfluss des Beutelwassers								■		■

Meilenstein

M1: Festsetzung eines optimierten Testdesigns

M2: Feststellung der mangelnden Wiederholbarkeit

## 2. Wissenschaftlicher und technischer Stand

### 2.1 Wirkung des HMP

Das HMP ist chemisch und mikrobiell komplex zusammengesetzt. Molekulare Analysen haben eine Komposition mit aromatischen Ligninderivaten, Polysacchariden und Alkylkomponenten gezeigt (Spaccini et al. 2012). Im Vergleich mit üblichen fermentierten Düngern ist der Anteil von labilen und bioaktiven Komponenten höher. Hypothetisch ist dies auf die Langsamkeit des Fermentationsprozesses des HMP zurückzuführen. Dies weist auf eine höhere Bioaktivität, gesteigertes Pflanzenwachstum und eine gesteigerte Labilität im Boden hin. In Kohärenz mit diesen Ergebnissen wurde in Laboruntersuchungen eine regulierende Wirkung des HMP auf die mikrobielle Bodenaktivität beschrieben, die von der Verfügbarkeit organischer Substanzen im Boden abhängt (Dewes and Ahrens 1990). Zudem wurde eine hoch enzymatische Aktivität festgestellt (Giannattasio et al. 2013). Spezifische Untersuchungen nur über das HMP sind jedoch selten. Meistens wurde die Wirkung von mehreren BD Präparate untersucht, weil eine synergetische Wirkungsweise zwischen ihnen angenommen wird.

Mehrere Hypothesen über der Bioaktivität des HMP liegen vor:

- **Phytohormon:** Cytokinin wurde im HMP nachgewiesen, jedoch in geringeren Konzentrationen als in im Handel verfügbaren Biostimulationsprodukten; andere Phytohormone (IAA, Abscincinsäure) wurden nicht gefunden (Botelho et al., 2015). Auxin-ähnliche Bioaktivität wurde jedoch beschrieben, allerdings bei höheren Konzentrationen als in der BD Praxis vorkommend (Giannattasio et al. 2013). Auxin produzierende Bakterienstämme wurden ebenfalls im HMP identifiziert (Radha and Rao, 2014).
- **Huminstoff:** Das HMP ist eine humusartige Substanz. Die Bioaktivität von Huminstoffen bei niedrigen Konzentrationen soll die Wurzelernährung und die Stressanpassung fördern (du Jardin, 2015). Die in Versuchen ermittelten Konzentrationen für eine Wirksamkeit von Huminstoffen sind mit den von uns verwendeten Konzentrationen für HMP vergleichbar. Z.B. wirkt das Ligninsulfonat-Humat bei 0.5 mg C L<sup>-1</sup> auf das Wurzelwachstum von Kressekeimlinge (Ertani et al. 2011).
- **Emergente Eigenschaft:** Nach Yakhin et al. (2017) ist die Bioaktivität von Biostimulanten nicht auf ihre einzelnen Elemente, sondern auf deren Wirkung in Gesamtheit zurückzuführen.

### 2.2 Eigene Vorversuche

Das vorliegende Projekt schließt an eigene Voruntersuchungen von 2011 bis 2014 an. 2011-2013 wurde die Testsensibilität untersucht. Zwei Langzeiterien mit zwei verschiedenen HMP mit je 76 und 38 Experimenten über 18 bzw. 9 Monate wurden durchgeführt. In der ersten Serie war die Wirkung des HMP in 35.5% der einzelnen Experimente signifikant. In der Meta-Analyse von den einzelnen Experimenten war die Wirkung des HMP hoch signifikant (-2.5% verglichen mit der Kontrolle-Variante, p=0.004, Tukey-Kramer-Test). Jedoch fluktuierte die Wirkung des HMP stark zwischen den einzelnen Experimenten (von -32.7%, p<0.0001, bis +17.7%, p=0.005). Diese Fluktuationen traten in einer Zeitspanne von mehreren Monaten auf. Die Wirkung des HMP war in Zeitabschnitten stabil und in anderen Zeitabschnitten wurde keine Wirksamkeit festgestellt. Die Ergebnisse der parallel durchgeführten zweiten Serie waren ähnlich.

Zusätzlich wurde eine Versuchsserie mit 22 Pseudo-Behandlungen durchgeführt, in der statt HMP eine Applikation von Wasser zur Prüfung des Testsystems durchgeführt wurde. Die Versuchsserie mit den Pseudo-Behandlungen hatte eine akzeptable falsch-positive Quote von signifikanten Einzelversuchen unter 5 %. Diese Versuchsserie mit Pseudo-Behandlungen zeigte eine ausreichende Stabilität des Testes gegenüber falsch-positiv Ergebnissen von HMP Wirkungen.

Die Auswertung mit statistischen Modellen wies auf eine wachstumsstabilisierende Wirkungsweise des HMP hin ( $p < 0.05$ , Likelihood-Verhältnistest). Sie ist durch eine Wachstumssteigerung bei suboptimalen Bedingungen und Wachstumsreduzierung bei förderlichen Bedingungen gekennzeichnet.

Zudem wurde gezeigt, dass die Sensitivitätsgrenze des Tests für Kaliumnitrat um den Faktor  $10^5$  höher war, als die für das HMP. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Wirkung des HMP nicht auf eine Stickstoff-Düngung zurückgeführt werden kann. Dies würde auch die fluktuierende Wirkung des HMP ausschließen, die das Kressewachstum entweder steigern oder bremsen kann.

2013-2014 wurde die Langzeitserie weitergeführt. In dieser Zeitperiode wurden jedoch kaum signifikante Wirkungen des HMP festgestellt. Die Ursachen dafür waren nicht bekannt.

### **3. Material und Methode**

#### **3.1 Material**

Die Herstellung des HMP und die Vorbereitung der HMP-Suspension erfolgten nach den biodynamischen Kriterien (Koepp et al., 1979) auf dem Versuchsstandort Dottenfelderhof (Bad Vilbel, Deutschland). Kuhhörner wurden Ende September mit frischen Kuhfladen aus dem Stall gefüllt. Die Hörner wurden 50 cm tief in einen Wiesenboden eingegraben. Sie wurden im April ausgegraben und geleert. Der Inhalt war ein dunkelbrauner geruchsarmer Kuhdung. Er wurde in einem Keller in Tongefäßen gelagert. Die HMP-Suspension wurde am Tag des Ansetzens des Experiments hergestellt. 21g HMP wurde in 7L Brunnenwasser mit der Hand in abwechselnden Richtungen eine Stunde gerührt. Die HMP-Suspension wurde maximal 5 Stunden nach ihrer Herstellung appliziert (siehe unten).

Testorganismen waren Kresse-Keimlinge (*Lepidium sativum* L.) aus Demeter-zertifiziertem Saatgut (Keimfähigkeit 99%, Bingenheimer Saatgut AG, Echzell, Deutschland). Geschädigte und durch Größe und Formen vom Durchschnitt abweichende Samen wurden aussortiert.

#### **3.2 Testverfahren**

Kressesamen wurden hydroponisch in aufgehängten LD-PE Beutel (Minigrip ® 120x170 mm, Inteplast Group, USA) im lichtisolierten Inkubator (KB 720, Binder GmbH, Deutschland) bei 19°C kultiviert. Die Beutel wurden mit 6 ml Wasser aus verschiedenen Herkunft (siehe unten) als Kultivierungsmedium gefüllt. Ein Chromatographiepapier (FN 1, Sartorius AG, Deutschland) wurde in jeden Beutel gelegt. 16 Kressesamen wurden auf einer Linie auf dem Wasser-getränkten Papier 10 cm über dem Beutelgrund angesetzt. Die Behandlung bestand aus der Applizierung eines Tropfens auf das Chromatographiepapier mit einer Mikroliterspritze (Acura 825, Socorex Isba S.A., Schweiz) 5 bis 7 Stunden nach der Samenbefeuchtung. Der Tropfen bestand aus (i) 1 µl Wasser (Kontrollbehandlung, K), (ii) 0,1 µl der HMP-Suspension ( $D_{0,1\mu l}$ ) oder (iii) 1 µl der HMP-Suspension ( $D_{1\mu l}$ ). Jede Behandlung wurde in 20 Beuteln als Wiederholungen durchgeführt. Die Beutel wurden in einer zufälligen Blockanlage ( $n=20$  Block) auf Gestänge im Inkubator aufgehängt.

Die Entwicklung der Wurzel- und Sprosslänge wurde täglich ab dem 2. Tag mit einem Punkt 1-2 mm neben der Wurzelspitze und dem Hypokotylende markiert. Keimlinge mit verspätetem oder abnormal schiefem Wachstum wurden ignoriert. Während dieses täglichen Vorganges lagen die Beutel waagrecht auf einem Tisch bei Raumtemperatur. Das Experiment wurde nach frühestens 7 Tagen abgeschlossen, sobald die Wurzeln den Beutelboden erreicht hatten oder kein Wachstum mehr erkennbar war. Nach Abschluss wurden die Beutel fotografiert. Das Wachstum von Hypokotyl (Tag 3-6) und Wurzel (Tag 2-7) wurde anhand der Markierungspunkte mit einer Bildanalyse-Software (Sigma Scan Pro 5.0, SPSS Inc., USA) bestimmt.

Die Behandlungen waren in der Phase der Tropfen-Applikation nicht verschlüsselt, weil die Zugabe von zwei Tropfenvolumen (0.1 µl und 1 µl) notwendigerweise unterschieden werden musste. In allen anderen Verfahrensphasen wurden die Behandlungen durch Anwendung von codierten Beuteln ohne Kenntnis der Probenzuordnung verschlüsselt (Blindtest). Die Entkodierung fand zum Ende des Experiments statt, nach der Messung aller Längen.

*Anmerkung zur Praxis-Relevanz:* In der landwirtschaftlichen biologisch-dynamischen (BD) Praxis wird die HMP-Suspension vor der Aussaat in Tropfen auf dem Acker verteilt (Koepp et al., 1979). Bei dem untersuchten Biotest ahmt die Tropfenapplikation die Anwendung der landwirtschaftlichen Praxis nach. Die Verteilung des HMP im Beutel ist ungleichmäßig und Konzentrationen können nur geschätzt werden. Die Applikation eines 1 µl- bzw. 0,1 µl - Tropfens der HMP-Suspension ( $D_{1\mu\text{l}}$  bzw.  $D_{0,1\mu\text{l}}$ ) in den mit 6ml Wasser gefüllten Beutel entsprach einer Konzentration von  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  und  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ . Diese Konzentrationen entsprechen den von Giannattasio et al. (2011) geschätzten Verdünnung der HMP-Suspension von  $0.4 \text{ mg L}^{-1}$  im Bodenwasser. Die applizierten Dosierungen waren somit Praxisrelevant.

*Anmerkung zur Verwendung des Brunnenwassers:* Die Verwendung des Brunnenwasser als hydroponische Lösung war ein unkontrollierter Faktor, da die Qualität des Brunnenwassers als nicht konstant angenommen werden kann. Die alternative Anwendung von standardisierten Nährlösungen wurde in Vorversuchen untersucht. Sie hat sich für den Test nicht bewährt, da nur unter künstlichen, praxisfremden Bedingungen (pH > 10) eine Wirkung des HMP auf die Keimlinge vorlag.

### **3.3 Die Hauptversuchsserien**

- *Prüfung der einzelnen Faktoren*

Der Einfluss der Faktoren *Geotropismus*, *Volumen* und *Licht*, wurde jeweils in 2-faktoriellen Versuchsserien untersucht (Tabelle 2). Die Behandlung mit dem Faktor HMP war jeweils der zweite Faktor. Diese Versuchsserien hatten ein Split-plot Versuchsdesign mit dem untersuchten Testfaktor als Großteilstückfehler und dem *HMP-Faktor* als Kleinstückfehler.

Voruntersuchungen zum Einfluss des Faktors *Beutelwasser* wurden in unabhängigen Versuchsserien untersucht.

- *Prüfung der Testspezifität*

Der Einfluss des Faktors *Rührdauer* und der Vergleich mit anderen Substanzen wurden in 1-faktoriellen Versuchsreihen (*HMP-Faktor*) untersucht.

- *Langzeitserie*

Zur Prüfung der Wiederholbarkeit wurde eine 1-faktorielle (*HMP-Faktor*)-Langzeitserie durchgeführt.

Zur systematischen Untersuchung des Faktors *Beutelwasser* wurde eine 2-faktorielle Versuchsreihe mit einem Split-Plot-Design (*Beutelwasser* als Großteilstückfehler und *HMP-Faktor* als Kleinstückfehler) durchgeführt.

**Tabelle 2:** Beschreibung der Hauptversuchsserien

Versuchserie	Termine		Testfaktor				Behandlung
	Zeitperiode	Anzahl Termine	Beutelwasser	Wasservolumen	Liegedauer	Lichteinwirkung	
<b>1- Prüfung der einzelnen Faktoren</b>							
Faktor Wasservolumen	Mai 2015- Juni 2015	4	Brunnenwasser	· 4 ml · 5 ml · 6 ml	20 min	Sonnenlicht	· K · D <sub>0,1µl</sub> · D <sub>1µl</sub>
Faktor Liegedauer	Juni 2015- August 2015	8	Brunnenwasser	6 ml	· 1 min · 20 min · 40 min · 60 min	Sonnenlicht	· K · D <sub>0,1µl</sub> · D <sub>1µl</sub>
Faktor Lichteinwirkung	Sept. 2015 - Nov. 2015	6	Brunnenwasser	6 ml	40 min	· Sonnenlicht · 100 Lux · 500 Lux · 1000 Lux · 1500 Lux	· K · D <sub>1µl</sub>
Faktor Beutelwasser	Februar 2015- Juni 2016	mindestens 3	· Brunnenwasser · destilliertes Wasser · Bad Brückenaauer Mineralwasser + 10 andere Mineralwässer	6 ml	40 min	1000 Lux	· K · D <sub>1µl</sub>
<b>2- Testspezifität</b>							
Faktor Rührdauer	Sept. 2015 - Nov. 2015	5	Bad Brückenaauer Mineralwasser	6 ml	40 min	1000 Lux	· K · D <sub>1µl</sub> (60 min) · D <sub>1µl</sub> (40 min) · D <sub>1µl</sub> (20 min) · D <sub>1µl</sub> (1 min)
Vergleich mit anderen Substanzen	Nov. 2015 - Dez. 2015	6	Bad Brückenaauer Mineralwasser	6 ml	40 min	1000 Lux	· K · D <sub>1µl</sub> · + 7 andere Varianten
<b>3- Langzeitserie</b>							
Wiederholbarkeit	Juni 2016 - Juni 2017	32	Bad Brückenaauer Mineralwasser	6 ml	40 min	1000 Lux	· K · D <sub>0,1µl</sub> · D <sub>1µl</sub>
Faktor Beutelwasser	Dez. 2016 - Juni 2017	14	· Brunnenwasser · Bad Brückenaauer Mineralwasser + 2 andere Mineralwässern	6 ml	40 min	1000 Lux	· K · D <sub>0,1µl</sub> · D <sub>1µl</sub>

### 3.4 Statistische Analyse

Die einzelnen Kressetests wurden statistisch in einem gemischten Modell mit festen und zufälligen Effekten ausgewertet.

Die statistische Auswertung der Versuchsserien basierte auf den Mittelwert der Keimlingslänge in einem Beutel. Auch hier wurde ein gemischtes Modell angewendet. Die Analysen erfolgte mit dem *MIXED* Verfahren (Prozedur) von SAS (Version 3.5, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Die Mittelwerte der Behandlungen und der Faktoren, samt ihrer Wechselwirkungen, wurden mit LSMEANS und PDIFF unter Berücksichtigung der versuchsbezogenen Fehler (*option Tukey*) gerechnet und miteinander verglichen. Die vorausgesetzte Normalität der Distribution der Restfehler wurde visuell verifiziert.

## 4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

Im Folgenden werden die Effekte auf das Wurzelwachstum dargestellt, die Effekte auf das Sprosswachstum waren gering.

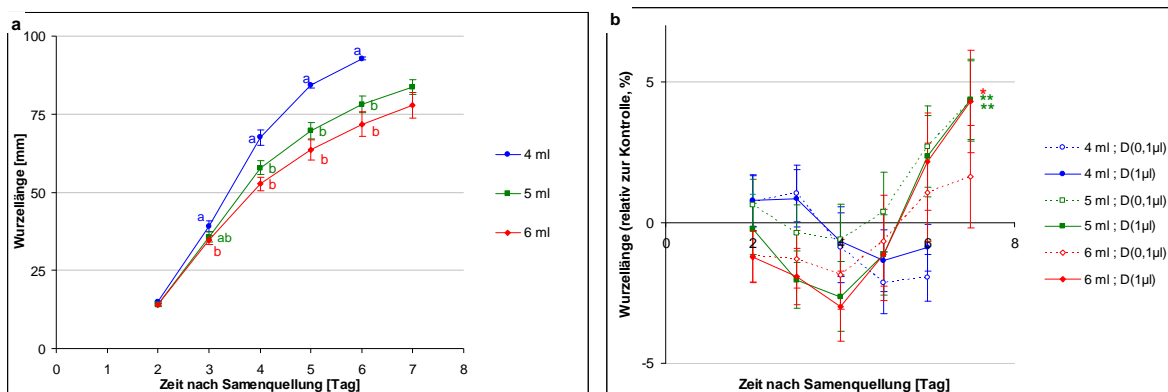
### 4.1 Einflussfaktoren auf das Testsystem

#### 4.1.1 Einfluss der Wassermenge

*Hintergrund:* Frühere Vorversuche wiesen auf einen Einfluss der Wassermenge auf die Wirkung von HMP hin. Zur Untersuchung der Wechselwirkung dieses Testfaktors mit der HMP-Wirksamkeit wurde eine 2-faktorielle Versuchsreihe durchgeführt.

*Ergebnisse:* Der Haupteffekt der *Volumen* (ab dem 3. Tag), der Haupteffekt des *HMP-Faktors* (ab dem 4. Tag) waren signifikant, jedoch nicht ihre Wechselwirkung. Die Wurzel war in den Varianten mit 5 ml (ab dem 4. Tag) und 6 ml (ab dem 3. Tag) signifikant kürzer als in der 4 ml Variante (5ml : - 15,7%; 6ml : - 22,6 % ; am 6. Tag,  $p < 0,0001$ ; Abb. 1a). Die Wurzeln waren am 4. Tag in  $D_{1\mu l}$  signifikant kürzer als in der Kontrolle (-2,1%,  $p < 0,05$ ) (Abb. 1b). Ab Tag 5 war der HMP-Effekt in den Varianten 5 und 6 ml tendenziell wachstumsfördernd. Am Tag 7 waren die Wirkungen von  $D_{1\mu l}$  (+4,2%;  $p = 0,0006$ ) und  $D_{0,1\mu l}$  (+2,9%,  $p = 0,03$ ) auf das Wurzelwachstum signifikant fördernd (ohne die Variante 4ml, da der Versuch am 6.Tag abgebrochen wurde).

*Schlussfolgerung:* Die Wassermenge von 5 und 6 ml ist ein Stressfaktor für das Wurzelwachstum. Die fördernde Wirkung der HMP-Behandlung weist auf eine ausgleichende Wirkung von HMP hin.



**Abb. 1:** Einfluss des Wasservolumens und Wechselwirkung zwischen Wasservolumen und HMP-Behandlungen auf das Wurzelwachstum der Kressekeimlinge.

(a) Wurzelwachstum in Abhängigkeit vom Wasservolumen. Ein Punkt stellt die Länge im Mittelwert von 240 Beuteln aus 4 Einzelversuchen dar (in mm). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar, unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Liegedauern (Wald-Statistik, Tukey-Kramer Test,  $p < 0,01$ ,  $n=4$ ,  $DF=6$ ).

(b) Wurzelwachstum der  $D_{1\mu l}$  - und  $D_{0,1\mu l}$  - Behandlungen mit HMP bei gleichem Volumen (% relativ zur Wasserkontrolle). Ein Punkt stellt den Unterschied zwischen  $D_{1\mu l}$  oder  $D_{0,1\mu l}$  ( $n = 80$  Beutel) zur Kontrolle ( $n = 80$  Beutel) bei gleichem Volumen dar (% relativ zum allgemeinen Mittelwert von  $n=720$  Beuteln). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler der Differenzen dar (in %, relativ zum allgemeinen Mittelwert). Signifikante Unterschiede zur Wasserkontrolle bei gleichem Volumen werden durch  $*$  ( $0,01 < p < 0,05$ ),  $**$  ( $0,001 < p < 0,01$ ) und  $***$  ( $p < 0,001$ ) gekennzeichnet (Wald Statistik, Tukey-Kramer Test,  $n=4$ ,  $DF=474$ ).

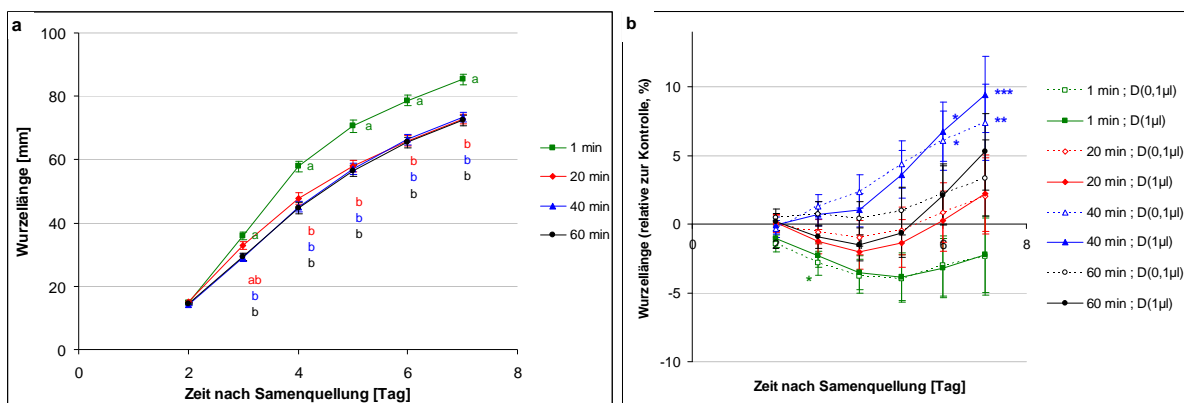
#### 4.1.2 Einfluss des Gravitropismus (Liegedauer)

*Hintergrund:* Voruntersuchungen von Januar bis Mai 2015 wiesen auf einen Einfluss der Störung des Gravitropismus hin. Zur Untersuchung dieses Faktors wurden die Beutel 1 min, 20 min, 40 min oder 60 min täglich bei der Bonitur der Wurzel- und Sprosslängen flach hingelegt. Damit wurde der Gravitropismus der Keimlinge in einem unterschiedlichen Umfang gestört.

*Ergebnisse:* Die Haupteffekte *Liegedauer* (ab dem 3. Tag) und *HMP-Faktor* (ab dem 7. Tag) waren in ihrer Wechselwirkung (ab dem 3. Tag) signifikant. Die *Liegedauer* war global interpretierbar, aber nicht die *Dosis*. Ab dem 4. Tag unterschieden sich alle *Liegedauer* Varianten über 20min von der Variante 1min, aber nicht voneinander. Es trat eine Hemmung des Wachstums gegenüber 1 min Liegedauer auf (20min: -14.7%, 40min: -14.1%, 60min: -15.2%,  $p < 0.0001$ , 7. Tag, Abb. 2a).

Signifikante Wechselwirkungen bei der Statistikauswertung zeigten, dass die *HMP-Dosis*-Effekte von der *Liegedauer* abhingen (Abb. 2b). Am 3. Tag war ein hemmender Effekt auf das Wachstum in der Variante  $D_{0,1\mu l}$  (im Vergleich mit der Kontrolle K) für die *Liegedauer*-Variante 1 min signifikant (-2,5%,  $p < 0,05$ , Abb. 2b). Ab dem 6. Tag war bei einer Liegedauer von 40 min ein fördernder Effekt signifikant ( $D_{1\mu l}$ : + 9,5%,  $p < 0,001$ ;  $D_{0,1\mu l}$ : + 8,1%,  $p < 0,01$ , 7. Tag). Tendenziell lag ebenfalls eine fördernde Wirkung von  $D_{1\mu l}$  und  $D_{0,1\mu l}$  in den Varianten 60 min ( $D_{1\mu l}$ : +5,7%;  $D_{0,1\mu l}$ : +3,6%) und 20 min ( $D_{1\mu l}$ : +2,4%;  $D_{0,1\mu l}$ : +2,2%) vor.

*Schlussfolgerung:* Liegezeiten von 20, 40 und 60min waren ein Stressfaktor für das Wurzelwachstum im Vergleich zu 1min. Grund ist eine Störung des Gravitropismus. Die fördernde Wirkung der HMP-Behandlung bei 20, 40 und 60min entspricht einer ausgleichenden Wirkung von HMP auf Wachstumsstress.



**Abb. 2:** Einfluss der Dauer des Waagrecht-Liegens bei der Längenbonitur und ihre Wechselwirkung mit den HMP-Tropfen-Behandlungen auf das Wurzelwachstum von Kressekeimlingen.

(a) Wurzelwachstum in Abhängigkeit von der Liegedauer. Ein Punkt ist der Mittelwert der Länge von 480 Beutel aus 8 Einzelversuchen (in mm). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar, unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Liegedauern (Wald-Statistik, Tukey-Kramer Test,  $p < 0,001$ ,  $n=8$ ,  $DF=21$ ).

(b) Wurzelwachstum der  $D_{1\mu l}$  - und  $D_{0,1\mu l}$  - Behandlungen bei gleicher Liegedauer (% relativ zur Wasserkontrolle). Ein Punkt stellt den Unterschied zwischen  $D_{1\mu l}$  oder  $D_{0,1\mu l}$  ( $n= 160$  Beutel) mit der Kontrolle ( $n= 160$  Beutel) bei gleicher Liegedauer dar (% relativ zum allgemeinen Mittelwert). Die Fehlerbalken stellen  $\pm$  den Standardfehler der Differenzen dar (in % relativ zum allgemeinen Mittelwert). Signifikante Unterschiede zur Wasserkontrolle bei gleicher Liegedauer werden durch \* ( $0,01 < p < 0,05$ ), \*\* ( $0,001 < p < 0,01$ ) und \*\*\* ( $p < 0,001$ ) gekennzeichnet (Wald Statistik, Tukey-Kramer Test,  $n=8$ ,  $DF=1269$ ).

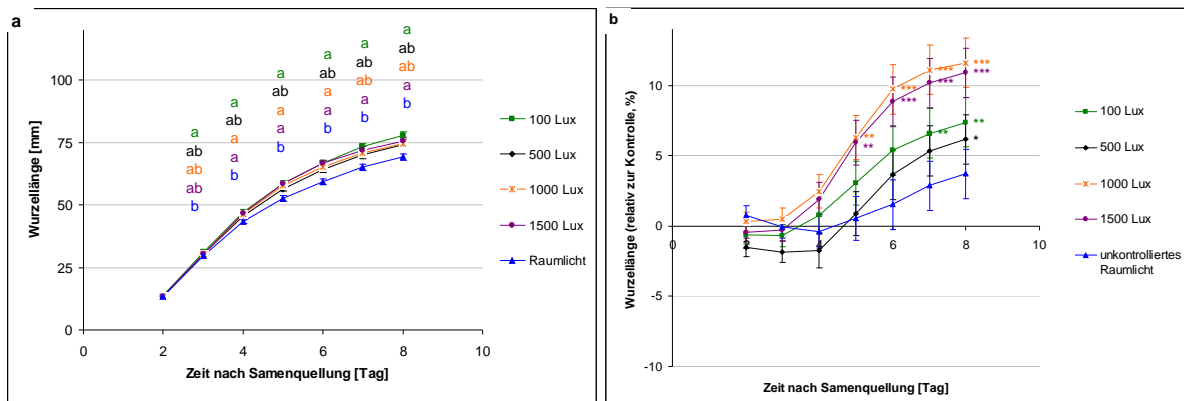
### 4.1.3 Einfluss der Lichteinwirkung

*Hintergrund:* Zur Untersuchung des Einflusses des Lichtes wurden die Keimlinge dem Raumlicht oder einem Neonlicht (unter vier verschiedenen Lichtstärke) bei der täglichen Längenmarkierung exponiert.

*Ergebnisse:* Der Haupteffekt des *Lichtes* (ab dem 3. Tag), der Haupteffekt des *HMP-Faktors* (ab dem 5. Tag) und ihre Wechselwirkung (ab dem 5. Tag) waren signifikant bei der statistischen Auswertung. Ab dem 3. Tag wurde das Wachstum bei den Neonlicht-Varianten signifikant ( $p < 0.05$ ) gefördert im Vergleich zum natürlichen Raumlicht (Abb. 3a). Am 8. Tag lag diese Förderung in der Variante 100 Lux bei +12,4%, ( $p = 0,002$ , Tukey-Test), 500 Lux bei 6,9% ( $p = 0,14$ ), 1000 Lux bei 7,7% ( $p = 0,08$ ) und 1500 Lux bei 9,4% ( $p = 0,02$ ) im Vergleich zum natürlichen Raumlicht. Die Varianten mit Neonlicht unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

Die signifikante Wechselwirkungen in der statistischen Auswertung von HMP und Licht zeigten, dass der HMP-Dosis-Effekt ab dem 5. Tag von der Lichteinwirkung abhing (Abb. 3b). Das Wachstum wurde signifikant gesteigert mit HMP  $D_{1\mu l}$  (im Vergleich zur Kontrolle K) ab dem 5. Tag bei 1000 Lux und 1500 Lux), ab dem 7. Tag bei 100 Lux und am 8. Tag bei 500 Lux signifikant. Am 8. Tag waren die Unterschiede mit der HMP Behandlung, im Vergleich zur Kontrolle, +12.3% (1000 Lux,  $p < 0.0001$ ), +11.3% (1500 Lux,  $p < 0.0001$ ), +7.3% (100 Lux,  $p = 0.001$ ) und +6.4% (500 Lux,  $p = 0.02$ ). Das Wachstum bei Raumlicht wurde durch HMP  $D_{1\mu l}$  tendenziell gefördert (+4.0%).

*Schlussfolgerung:* Das Neonlicht wirkte im Vergleich zu dem Raumlicht fördernd auf das Wurzelwachstum. HMP Behandlung verstärkte die wachstumsfördernde Wirkung des Neonlichts, was auf eine synergetische Interaktion hinweist.



**Abb. 3:** Einfluss von unterschiedlichem Licht bei der Längenbonitur und ihre Wechselwirkung mit HMP-Behandlungen auf das Wurzelwachstum von Kressekeimlingen.

(a) Wurzelwachstum in Abhängigkeit von unterschiedlichem Licht. Ein Punkt ist der Mittelwert der Länge von 360 Beuteln aus 6 Einzelversuchen (in mm). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Lichtvarianten (Wald-Statistik, Tukey-Kramer Test,  $p < 0,05$ ,  $n = 6$ ,  $DF = 20$ ).

(b) Wurzelwachstum der  $D_{1\mu l}$ - und  $D_{0,1\mu l}$ -Behandlungen bei gleichem Licht (% relativ zur Wasserkontrolle). Ein Punkt stellt den Unterschied zwischen  $D_{1\mu l}$  oder  $D_{0,1\mu l}$  ( $n = 120$  Beuteln) mit der Kontrolle ( $n = 120$  Beuteln) bei gleichem Licht dar (% relativ zum allgemeinen Mittelwert von  $n = 1200$  Beuteln). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler der Differenzen dar (in % relativ zum allgemeinen Mittelwert). Signifikante Unterschiede zur Wasserkontrolle bei gleichem Licht werden durch \* ( $0,01 < p < 0,05$ ), \*\* ( $0,001 < p < 0,01$ ) und \*\*\* ( $p < 0,001$ ) gekennzeichnet (Wald Statistik, Tukey-Kramer Test,  $n = 6$ ,  $DF = 595$ ).



#### 4.1.4 Einfluss des Beutelwassers

*Hintergrund:* In Vorversuchen (März – November 2015) wurde gezeigt, dass die Schwankungen des Wachstumsniveaus der Kressekeimlinge hauptsächlich auf die Anwendung des Brunnenwassers des Versuchsstandortes zurückzuführen waren. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden verschiedene Mineralwässern als standardisierbare Alternativen untersucht. Mit 9 Versuchen zu unterschiedlichen Terminen wurden verschiedene Wässer, u.a. ein destilliertes Wasser, geprüft (Tabelle 3).

**Tabelle 3:** Untersuchte Wässer

Nummer	Wassername	Anzahl Versuche	Mineralstoffe (ppm)						
			Na	K	Mg	Ca	Cl	HCO <sub>3</sub>	Total
1	Laurentia	3	1.2	0.2	0.3	1.3	0.25	4.7	9
2	Plose	3	1.3	0.17	1.5	2.3	<1	13.0	21
3	Hornberger	3	1.0	1.6	2.1	4.8	1.5	18.4	37
4	Bad Brückenauer	7	2.4	2.7	3.9	14.3	4.2	60.0	92
5	Rhön Sprudel	3	2.9	10.9	20.9	41.7	3.9	226	324
6	St. Leonhards	3	6.3	1.6	26	90	12.2	406	542
7	Elisabethen	3	15.3		28.3	96.9	12	431	596
8	Gerolsteiner	3	12	3	49	140	9	652	885
9	Fachingen	3	564	16.1	59.2	98.7	139	1846	2762
10	Förstina	3	36	15.5	58	460	41	866	2116
11	Rosbacher	3	47.4	2.9	69	156	71.8	810	1173
12	destilliertes Wasser	3	<1	<1	<1	<1	<1	<1	1
13	Brunnenwasser	9	NB	NB	NB	NB	NB	NB	800

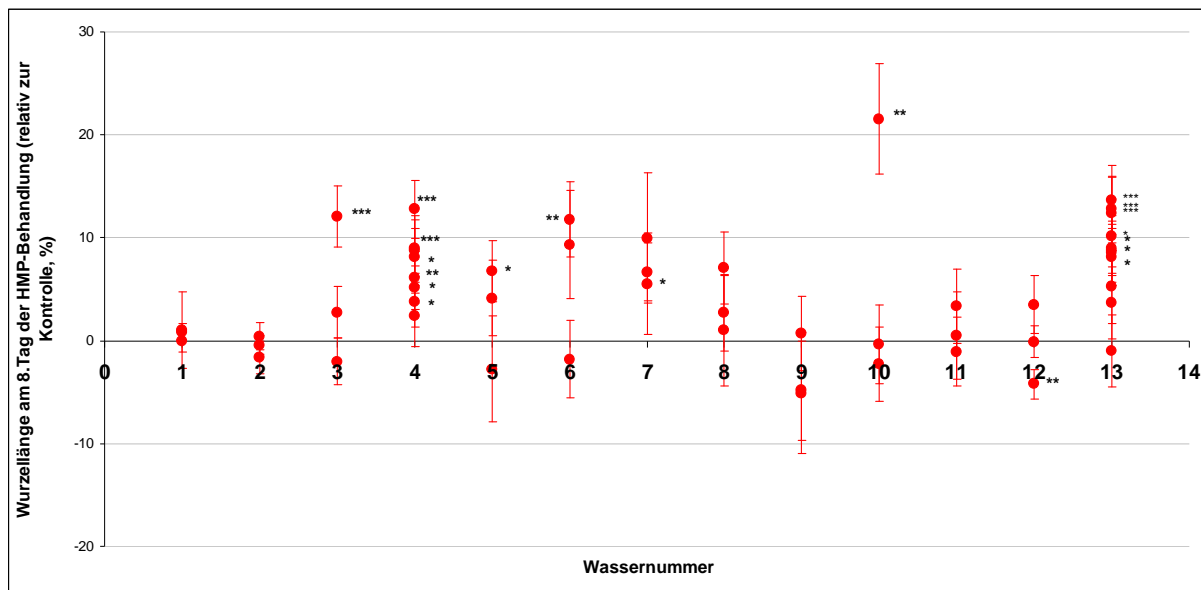
Wässer 1 bis 12: Daten der Hersteller.

NB: nicht bestimmt.

*Ergebnisse:* Die HMP-Wirkungen in allen Experimenten sind in Abb. 4 dargestellt. Der Effekt war im Wasser 4 an 6 Terminen signifikant (86%), im Brunnenwasser an 7 Terminen (77%), im destillierten Wasser und in Mineralwässern 3, 4, 5, 6, 7 und 10 zu jeweils einem Termin (33%). Alle signifikanten Effekte waren wachstumsfördernd (außer mit destillierten Wasser).

Es wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt, um den Einfluss der Mineralkonzentration auf die Wurzellänge zu modellieren. Die Linearkoeffizient ist signifikant negativ ( $\alpha = -16.7$ ,  $p < 0.0001$ ).

*Schlussfolgerung:* Die Ergebnisse weisen auf einen Einfluss des Mineralstoffgehaltes im Wasser auf die HMP-Wirksamkeit hin. Mit einem Mineralgehalt von 92 mg.L<sup>-1</sup> hatte das Wasser 4 (Tab. 3) die ausgeprägteste wachstumsfördernde Wirkung mit HMP Behandlungen. Daraus wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass dieses Wasser am besten geeignet ist für ein standardisiertes Testdesign.



**Abb. 4:** Wurzelwachstum in Abhängigkeit von Kulturwasser und HMP-Behandlung (% relativ zur Wasserkontrolle). Die Wassernummern sind in der Tabelle 3 erklärt. Ein Punkt stellt den Unterschied zwischen  $D_{1\mu l}$  ( $n=20$  Beutel) mit der Kontrolle ( $n=20$  Beutel) in einem Experiment dar (% relativ zum allgemeinen Mittelwert von  $n=40$  Beutel). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler der Differenzen dar (in % relativ zum allgemeinen Mittelwert). Signifikante Unterschiede zur Wasserkontrolle werden durch \* ( $0,01 < p < 0,05$ ), \*\* ( $0,001 < p < 0,01$ ) und \*\*\* ( $p < 0,001$ ) gekennzeichnet (Wald Statistik, Tukey-Kramer Test,  $n=20$ ). Wasser 1-11: siehe Tabelle 3.

#### 4.1.5 Zusätzliche Einflussfaktoren

##### - Einfluss des Saatgutes

Im Dezember 2015 wurden sechs Saatgutpartien miteinander verglichen in 3 Einzelversuchen. Statistisch signifikante Unterschiede lagen nur zu einem der drei Termine vor. Zu diesem Termin lag mit einer Ausnahme in allen Saatgutpartien eine statistisch signifikante Wirkung des HMP vor. Eine Wechselwirkung zwischen Saatgut und der HMP-Wirksamkeit wurde aufgrund dieser Ergebnisse nicht festgestellt.

##### - Liegedauer von 24 Stunden

In einer Versuchsserie mit 5 Einzelversuchen wurde der Einfluss einer gesteigerten Störung des Gravitropismus geprüft, indem die Beutel einmalig 24 Stunden flach hingelegt wurden. Das Wurzelwachstum war dadurch stark beeinträchtigt. Die Pflanzen hatten keine Ausfälle, aber die Streuung im Wachstum war stark erhöht. In nur 2 Experimenten lagen signifikante Wirkungen vor. Aufgrund der hohen Streuung wurde diese Versuchsserie nicht weiter verfolgt.

## 4.2 Testspezifität

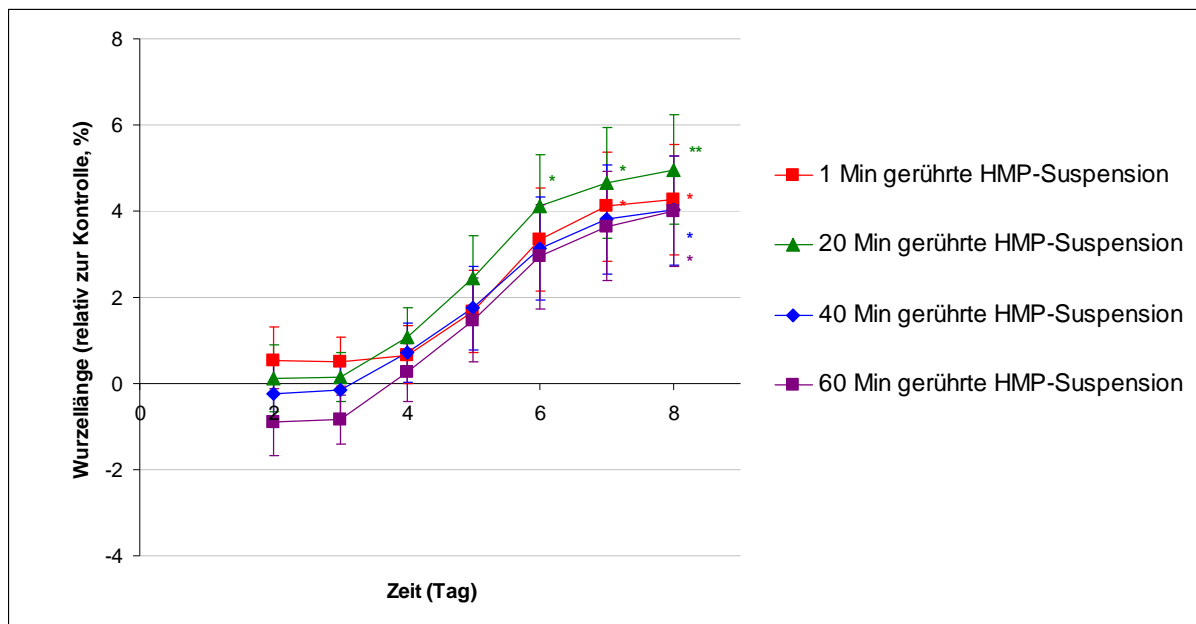
Es stellte sich die Frage, ob die Wirksamkeit des HMP auf spezifische BD Maßnahmen zurückzuführen ist.

### 4.2.1 Einfluss der Rührzeit

*Hintergrund:* Proben wurden während des Rührprozesses der HMP-Suspension nach 1 min, 20 min und 40 min entnommen. Diese Proben wurden mit der üblichen HMP-Lösung (60 min Rührzeit) und der Kontrollvariante verglichen. Eine Versuchsserie mit 5 Einzelversuchen wurde durchgeführt.

*Ergebnisse:* Alle HMP-Variante unterschieden sich am 8. Tag signifikant von der Kontrolle, aber nicht voneinander (Abb. 5).

*Schlussfolgerung:* Die Rührdauer hatte keinen Einfluss auf die Wirksamkeit des HMP.



**Abb. 5:** Wurzelwachstum in Abhängigkeit von der Behandlung mit unterschiedlich lang gerührten HMP-Suspensionen (% relativ zur Wasserkontrolle). Ein Punkt stellt den Unterschied zwischen den HMP-Varianten (n= 100 Beutel) mit der Kontrolle dar (n= 100 Beutel) (in % relativ zum allgemeinen Mittelwert von n=500 Beutel). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler der Differenzen dar (in %, relativ zum allgemeinen Mittelwert). Signifikante Unterschiede zur Wasserkontrolle werden durch \* (0,01<p<0,05), \*\* (0,001<p<0,01) und \*\*\* (p < 0,001) gekennzeichnet (Wald Statistik, Tukey-Kramer Test, n=5).

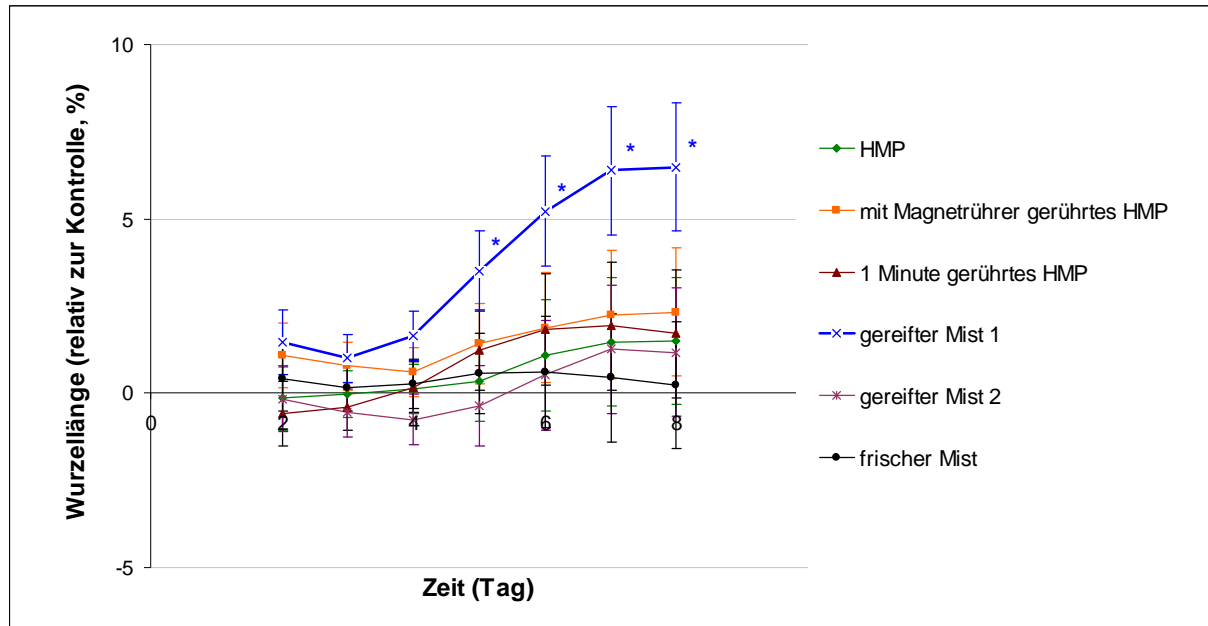
### 4.2.2 Vergleich mit anderen Substanzen

*Hintergrund:* Folgende Suspensionen wurden miteinander verglichen: gewöhnliche HMP-Suspension, mit einem Magnetrührer gerührte HMP-Suspension, kurz gerührte (1 min) HMP-Lösung, Suspension mit frischem Mist, Suspension mit gereiftem Mist 1 und Suspension mit gereiftem Mist 2. Mist 1 und Mist 2 waren unterschiedlich und kamen von dem Versuchsstandort (Dottenfelderhof, Bad Vilbel). Eine Versuchsserie mit 6 Einzelversuchen wurde durchgeführt.

*Ergebnisse:* Nur die Variable „gereifter Mist 1“ unterschied sich signifikant von der Kontrolle (+6,2%, p=0,02, Tukey-Test).

*Schlussfolgerung:* Der signifikante Unterschied bei einem der untersuchten humusartigen Substanzen (gereifter Mist 1) weist darauf hin, dass humusartige Substanzen ebenfalls eine Wirkung im durchgeführten Kressetest haben können. Das Signifikanzniveau

war aber gering ( $0,01 < p < 0,05$ ) bei nur einem Versuch in einer Variante. Deshalb muss dieses Ergebnis in weiteren Versuchen geprüft werden. Es lag keine Wirksamkeit des HMP vor, was zeigt, dass die Testwiederholbarkeit noch nicht ausreichend gewährleistet ist.



**Abb. 6: Wurzelwachstum in Abhängigkeit von der Behandlung mit verschiedenen humusartigen Substanzen und HMP-Suspensionen** (% relativ zur Wasserkontrolle). Ein Punkt stellt den Unterschied dar zwischen den Varianten der humusartigen Substanzen und HMP-Suspensionen (n= 120 Beutel) und der Kontrolle (n= 120 Beutel, % relativ zum allgemeinen Mittelwert, n=840 Beutel). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler der Differenzen dar (in % relativ zum allgemeinen Mittelwert). Signifikante Unterschiede zur Wasserkontrolle werden durch \* ( $0,01 < p < 0,05$ ) gekennzeichnet (Wald Statistik, Tukey Test, n=6).

### 4.3. Langzeitversuche

#### 4.3.1 Hauptserie

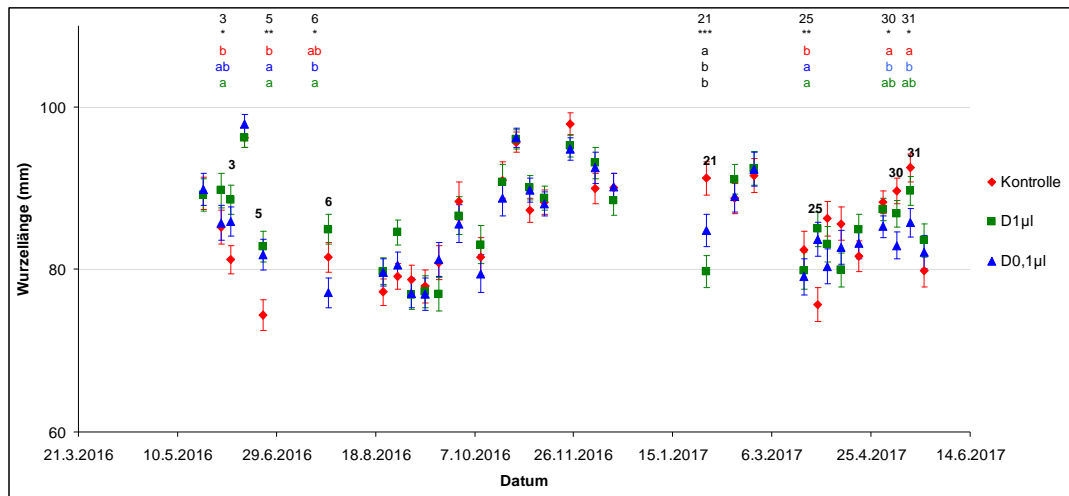
*Hintergrund:* Bei den Untersuchungen zum Einfluss des Beutelwassers lagen statistisch signifikante Ergebnisse zu 6 der 7 Termine/Einzelversuche (86%) mit Wasser 4 (siehe Tab. 3 und Abb.4) als Beutelwasser vor. Eine Langzeitversuchsserie mit 32 Experimenten wurde über 12 Monaten (23.05.2016-22.05.2017) durchgeführt, um die Wiederholbarkeit des Testsystems mit diesem Mineralwasser zu prüfen.

*Ergebnisse:* Wirkungen von HMP  $D_{1\mu l}$  oder  $D_{0.1\mu l}$  relativ zur Kontrolle waren in 6 einzelnen Experimenten signifikant (15.6% der 32 Terminen). Die Wirkungen waren entweder wachstumsfördernd (bis +12%,  $p < 0.0001$ ) oder wachstumshemmend (bis -10%,  $p = 0.03$ ). In der globalen Metaanalyse der 32 Experimente war der HMP-Faktor nicht signifikant ( $p = 0.56$ , Wald F-Test,  $n = 32$ ). Wenn die 7 Experimente der Voruntersuchungen einbezogen werden, wird ein geringerer global positiver Effekt deutlich (+2.0%,  $p = 0.07$ ,  $n = 39$ ).

Die Regression zwischen den Mittelwerten des HMP und den Kontrolle-Varianten ( $D_{1\mu l}$ : Regressionskoeffizient 0.84,  $R^2 = 0,47$ ;  $D_{0.1\mu l}$ : 0.75,  $R^2 = 0.66$ ) wies auf eine stabilisierende Wirkungsweise hin. Jedoch wurde die Hypothese einer stabilisierenden Wirkungsweise durch einen Likelihood-Verhältnistest nicht bestätigt.

Der Variationskoeffizient zwischen den Experimenten lag bei 6.0%, was auf ein stabiles Wachstumsniveau hinweist.

**Schlussfolgerung:** Die Wiederholbarkeit der HMP-Wirksamkeit im Jahreslauf war nicht gegeben, obwohl das Wachstumsniveau mit Mineralwasser im Vergleich zum Brunnenwasser stabiler war.



**Abb. 7:** Wurzellänge in Abhängigkeit von HMP-Behandlungen in 32 unabhängigen Experimenten mit Mineralwasser 4 (in mm). Ein Punkt stellt den Mittelwert von 20 Beuteln dar. Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler dar. Statistische Analyse von Experimenten mit signifikanten Ergebnissen, im Detail: (i) Sternchen kennzeichnen die p-Werte der HMP-Behandlungen (Wald-Test,  $n=20$ ) \* ( $0.01 < p < 0.05$ ), \*\* ( $0.001 < p < 0.01$ ), \*\*\* ( $p < 0.001$ ) dar. (ii) Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den HMP-Behandlungen (Wald-Statistik, Tukey-Kramer Test,  $p < 0,05$ ,  $n=20$ ).

#### 4.3.2 Wechselwirkung mit dem Beutelwasser

**Hintergrund:** In der vorigen Versuchsserie wurde festgestellt, dass die Wiederholbarkeit der HMP-Wirksamkeit nicht gewährleistet war. Als Hypothese wurde eine Wechselwirkung zwischen der HMP-Wirksamkeit, der Jahreszeit und dem Beutelwasser angenommen. Ab dem 07.12.2016 wurden drei andere Wässer (Wasser 3, Wasser 6 und Brunnenwasser, siehe Tab. 3) als Beutelwasser, parallel zur Hauptserie (Wasser 4), geprüft. Es wurde also eine 2-faktorielle Versuchsreihe mit insgesamt 14 Terminen durchgeführt.

**Ergebnisse:** In den einzelnen Experimenten lagen für den HMP-Effekt ( $D_{1\mu l}$  oder  $D_{0,1\mu l}$ ) in 4 Experimenten mit Wasser 4 (26.7% aller Versuche), in 2 Experimenten im Brunnenwasser (13.3%), in einem Experiment im Wasser 6 (7%) und in keinem Experiment im Wasser 3 signifikante Ergebnisse vor (Tukey-Test,  $p < 0.05$ ,  $n=20$ ).

Eine 2-faktorielle Meta-Analyse wurde mit den Faktoren Beutelwasser (4 Varianten) und HMP-Behandlung (3 Varianten) durchgeführt (Tabelle 4). Die Faktoren Wasser ( $p < 0.0001$ ), HMP ( $p = 0.002$ ) und ihre Wechselwirkung ( $p < 0.0001$ ) waren signifikant. Der Effekt von HMP  $D_{1\mu l}$  im Vergleich mit der Kontrolle war nur im Brunnenwasser signifikant (+ 4.9%,  $p < 0.0001$ , Tukey-Kramer-Test). Die Variationskoeffizienten zwischen den Experimenten lagen im Brunnenwasser bei 13.6% und bei Wasser 4 bei 6%.

**Schlussfolgerung:** Die Hypothese zur Wechselwirkung zwischen der HMP-Wirksamkeit und dem Beutelwasser wurde bestätigt. Das Wachstumsniveau war wie erwartet bei Wasser 4 stabiler als im Brunnenwasser. Ein HMP-Effekt war nur im Brunnenwasser langfristig stabil.

**Tabelle 4:** Mittelwert der Wurzellängen in Abhängigkeit von Beutelwasser und HMP-Faktor (mm)

	Wasser 4	Wasser 3	Wasser 6	Brunnenwasser
Kontrolle	87.19	90.86	64.33	70.93a
D <sub>0,1µl</sub>	85.53	-	-	72.73ab
D <sub>1µl</sub>	86.27	91.99	63.59	74.65b

Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den HMP-Varianten (Wald-Statistik, Tukey-Kramer Test,  $p < 0,0001$ ,  $n=14$ ).

## 5. Diskussion der Ergebnisse

### 5.1 Einflussfaktoren und Wirkungsweise des HMP

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Sensibilität des Testsystems gegenüber dem HMP bestätigt. Zusätzlich wurden vier Arbeitshypothesen geprüft und bestätigt: (i) Das Volumen der hydroponischen Kultur, (ii) die tägliche Störung des Gravitropismus der Kressepflanze, (iii) die tägliche Lichteinwirkung und (iv) die Wasserzusammensetzung der hydroponischen Kultur beeinflussen die Wirkung des HMP.

Zu (i) und (ii): Der Einfluss des Wasservolumens auf das Wurzelwachstum kann auf einen gemäßigten Sauerstoffmangel (Hypoxia) zurückgeführt werden. Der Einfluss der Liegedauer der Beutel kann auf eine Störung des Gravitropismus zurückgeführt werden. Beide Stressfaktoren verursachten eine gemäßigte Beeinträchtigung des Wurzelwachstums (etwa minus 20%). Es wurde keine Pflanzenausfälle oder akuten Schädigungen beobachtet. Die Lebensfunktionen der Pflanzen wurden insofern nicht überfordert.

Die Hemmung des Wurzelwachstums durch die beiden Stressfaktoren wurde teilweise durch die wachstumsfördernde Wirkung der HMP-Behandlung kompensiert. Dies weist auf eine ausgleichende Wirkung von HMP hin.

Zu (iii): Das Neonlicht wirkte im Vergleich zum Raumlicht fördernd auf das Wurzelwachstum. Die Intensität des Neonlichtes hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Wurzelwachstum. Die unterschiedlichen Einflüsse des Sonnen- und Neonlichts sind wahrscheinlich auf ihr Spektrum zurückzuführen. Die Lichtempfindlichkeit der Wurzel durch Photorezeptorzelle kann eine Rolle bei der Anpassung der Pflanze an ihre Umwelt und der Wachstumsregulierung spielen (Galen et al. 2007).

Das HMP wirkte fördernd auf das Wurzelwachstum und verstärkte somit die wachstumsfördernde Wirkung des Neonlichts. Mit steigender Lichtintensität war eine stärkere Wirkung des HMP zu beobachten. Die Interaktionen war somit synergetisch.

Zu (iv): Die HMP-Wirksamkeit hängt vom Kulturwasser ab. Möglicherweise beeinflusst der Mineralgehalt des Kulturmediums die Wirksamkeit des HMP. Eine Wirkung des HMP lag hauptsächlich beim Quellwasser mit einem mittleren Mineralgehalt (Wasser 4 / Bad Brückenauer, Mineralgehalt bei  $100 \text{ mg l}^{-1}$ ), weniger in mineralärmeren oder -reicheren Wässern, vor.

### 5.2 Testspezifität

Aufgrund der geringen Wiederholbarkeit der Wirksamkeit konnte die Testspezifität bisher nur unzureichend geprüft werden. Es lag bisher noch kein Einfluss der Rührdauer vor. Es wurde festgestellt, dass auch eine andere humusartige Substanz (fermentierter Mist) in einem Versuch eine Wirksamkeit auf den Kressetest haben konnte. Diese ersten Ergebnisse weisen nicht auf eine Testspezifität hin. Eine ausführlichere Prüfung ist aber notwendig und möglich, sobald eine hohe Wiederholbarkeit der Wirksamkeit von HMP im Testsystem erarbeitet wurde.

### 5.3 Hypothesen zur Wirkungsweise des HMP

Aufgrund der aufgetretenen Wechselwirkungen zwischen Wachstumsfaktoren und HMP sind einige Schlussfolgerungen auf die Bioaktivität des HMP möglich. In Bezug auf die Wechselwirkung mit der Wasserüberdosierung ist keine klare Schlussfolgerung möglich, weil sehr unterschiedliche Pflanzenreaktionen bei Wasserüberdosierung stattfinden können. Hingegen sind die Reaktionen der Pflanze im Fall einer Störung des Gravitropismus stark von dem Phytohormon Auxin abhängig (Eschel 2013, Seite 19-4). Somit scheinen die vorliegenden Ergebnisse die Hypothese einer Auxin-ähnlichen Wirkung des HMP zu unterstützen. Das Vorhandensein von Auxinen im HMP wurde jedoch nicht bestätigt (Bothelo et al. 2015). Dem entgegen stellte Radha (2014) fest, dass das HMP Auxin-produzierende Bakterienstämme enthält.

Bei einer anderen Hypothese sind es die Huminstoffe die verantwortlich sind für die Bioaktivität (Spaccini et al. 2012). Die von uns verwendeten Konzentrationen für HMP sind vergleichbar mit der in anderen Studien ermittelten Sensitivitätsgrenze von Huminstoffen. Z.B. wirkt das Ligninsulfonat-Humat bei  $0.5 \text{ mg C L}^{-1}$  auf das Wurzelwachstum von Kressekeimlinge (Ertani et al. 2011). Huminstoffe haben das Potenzial, die Pflanzenresilienz gegenüber verschiedenen Stressfaktoren wie Wassermangel, Salinität oder Schwermetallverschmutzung zu erhöhen (Calvo et al. 2014). Diese Wirkungsweise entspricht der regulierenden Bioaktivität des HMP, die in den vorliegenden Ergebnissen beobachtet wurde.

### 5.4 Verständnis und Optimierung des Testsystems

Mit den vorliegenden Ergebnissen wurde ein Grundverständnis des Testsystems erarbeitet, Das Testsystem beruht auf der ausgleichenden Wirkung des HMP in Interaktion mit drei Wachstumsfaktoren: a) als Stressfaktoren Wasserüberdosierung und Störung des Gravitropismus und b) Neonlicht. Das Stressniveau bleibt im Testsystem unter der Grenze einer dauerhaften Schädigung der Pflanze.

Ein Wasservolumen von 6ml, die Liegezeit von 40 min und eine Lichtstärke der Neonröhre von 1500 Lux wurden als Testbedingungen für eine maximale Wirkung des HMP ermittelt. Unter diesen Bedingungen fördert die HMP-Behandlung das Wurzelwachstum bis zu 12,3% ( $p < 0,0001$ ).

Die Interaktion von HMP mit dem vierten Wachstumsfaktor (Kulturwasser) war hochsignifikant. Die HMP-Sensibilität trat am deutlichsten bei dem Mineralwasser 4 (Bad Brückenauer) mit durchschnittlichen Mineralgehalten auf. Bei Kulturwasser mit hohen oder niedrigen Mineralgehalten war die Testsensitivität für HMP sehr gering. Möglicherweise sind vor allem mittlere Mineralgehalte günstig für das Testsystem. Dies ist in ausführlicheren Versuchen noch genauer zu prüfen. Möglicherweise müssen die für das Brunnenwasser eingestellten Wachstumsbedingungen im Testsystem neu auf andere Kulturwasser eingestellt werden.

Die gezielte Kombination von Faktoren in einem Biotest ist ungewöhnlich. In der Ökotoxikologie werden jedoch auch multifaktorielle Biotests entwickelt, um die natürlichen Umweltbedingungen zu simulieren (Scherer et al. 2013, Segner et al. 2014). Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse ist diese Herangehensweise für die Untersuchung von komplexen Substanzen wie dem HMP vorteilhaft.

## **6. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse**

Die vorliegenden Ergebnisse zeigten eine Wirksamkeit des HMP auf Kresse in Mengen und Konzentrationen die mit dem Einsatz von HMP auf landwirtschaftlichen Flächen vergleichbar sind. Wachstumsstress wurde zum Teil durch HMP Behandlungen kompensiert. Diese Untersuchungen unterstützen die Ergebnisse aus Feldversuchen, dass HMP die Resilienz landwirtschaftlicher Systeme steigern kann.

Der Biotest wurde jedoch noch nicht validiert. Der Biotest mit Kresse für HMP muss in weiteren Untersuchungen bis zur Anwendungsreife entwickelt werden (Voraussetzungen siehe Kap. 7).

## **7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten und tatsächlich erreichter Ziele; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen**

In der Vorhabenbeschreibung wurden 4 Ziele genannt: Die Testwiederholbarkeit, die Testspezifität, seine Validierung und seine Erprobung unter einer praxisorientierten Fragestellung. Die ersten zwei Ziele wurden als kritisch eingestuft.

Durch die Faktorenanalyse der Wachstumsbedingungen Wasserdosierung, Störung Geotropismus, Licht und Wasserzusammensetzung wurde das Testsystem in seiner Sensitivität gegenüber HMP deutlich verbessert (zum Teil waren diese Faktoren ursprünglich nicht geplant). Mit der kompensierenden Wirkung von HMP auf Wachstumsstress wurden grundlegende Einsichten über die Wirkungsweise des HMP erarbeitet. Die Testwiederholbarkeit bleibt aber noch das zentrale Problem bei der Testentwicklung, was die ursprüngliche Vorhersage bestätigt. Wegen dieser niedrigen Testwiederholbarkeit konnte das geplante Ziel der abschließenden Testentwicklung noch nicht erreicht werden.

Für eine abschließende Testentwicklung sind weitere Untersuchungen zuerst zur Verbesserung der Testwiederholbarkeit (insbesondere Ermittlung zur Wirkung des Beutelwassers) und dann zur Testspezifität notwendig.

## **8. Zusammenfassung**

Ziel dieser Arbeit war, einen Labortest für das HMP zu entwickeln. Dafür wurde die Interaktion der HMP-Wirksamkeit mit Wachstumsfaktoren untersucht. Die Wirksamkeit des HMP bei Praxis-relevanten Konzentrationen und Mengen wurde bestätigt. Es wurde eine regulierende Wirkungsweise des HMP in Bezug auf eine Wasserüberdosierung und eine Störung des Gravitropismus und eine synergetische Wirkungsweise mit einer Neonlichteinwirkung festgestellt. Ein Einfluss des Beutelwassers auf die HMP-Wirksamkeit wurde beobachtet.

Die Ergebnisse geben Hinweise auf stabilisierende und regulierende Effekte von HMP auf das Pflanzenwachstum, die die Resilienz des landwirtschaftlichen Systems steigern können. Der Biotest mit Gartenkresse für HMP ist jedoch noch nicht genügend entwickelt für die Anwendung als Praxistest. In weiteren Untersuchungen sollte zuerst die Interaktion zwischen Kressereaktionen nach HMP Behandlung und der Wasserzusammensetzung untersucht werden. Auf dieser Grundlage sollte dann die Test-Wiederholbarkeit verbessert werden und die Test-Spezifität genauer geprüft werden.

## **9. Literaturverzeichnis**

Agarwal, A., D'Souza, P., Johnson, T.S., Dethe, S.M., Chandrasekaran, C.V. (2014). Use of in vitro bioassays for assessing botanicals. *Current Opinion in Biotechnology*. 25, 39-44.



Audus, J. (1972). *Plant Growth Substances, Vol. 1 Chemistry and Physiology*. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Interscience Publishers Inc.

Botelho, R.V., Roberti, R., Tessarin, P., Garcia-Mina, J.M., Rombolà, A.D. (2015). Physiological responses of grapevines to biodynamic management. *Renewable Agriculture and Food Systems*. 31, 5. doi: 10.1017/S1742170515000320

Butterweck, V., Nahrstedt, A. (2012). What Is the Best Strategy for Preclinical Testing of Botanicals? A Critical Perspective. *Planta Med.* 78, 747-754.

Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil*. 383, 3-41. doi: 10.1007/s11104-014-2131-8

Chalker-Scott, L. (2013). The Science behind biodynamic preparations: A Literature Review. *HortTechnology*. 23(6), 814-819.

Council of the European Union (2007). Council Regulation (EC) No 834/2007 on organic production and labelling of organic products. Accessed 9 Mai 2017. Available online at: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:32007R0834>

Dewes, T. and Ahrens, E. (1990). Wechselwirkungen zwischen organischer Düngung und der Anwendung des biologisch-dynamischen Präparates P500 im aeroben Inkubationsversuch. *Agribiol. Res.*43(1), 65-73.

du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation Patrick. *Scientia Horticulturae*. 196, 3-14. doi: [dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021](http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021)

Ertani, A., Francioso, O., Tugnoli, V., Righi, V., Nardi S. (2011). Effect of commercial lignosulfonate-humate on *Zea mays* L. Metabolism. *J. Agric. Food Chem.* 59, 11940–11948.

Eschel, A. (2013) *Plant Roots: The Hidden Half*. Boca Raton (USA): CRC Press.

Galen, C., Rabenold, J.J., Liscum, E. (2007) Light-Sensing in Roots. *Plant Signaling & Behavior*. 2(2), 106-108.

Geier, U., Fritz, J., Greiner, R., Olgrich-Mejer, M. (2016). Biologisch-dynamische Landwirtschaft. In *Ökologischer Landbau: Grundlagen, Wissensstand und Herausforderungen*, ed. B. Freyer (Bern: UTB), 101-123.

Giannattasio, M., Vendramin, E., Fornasier, F., Alberghini, S., Zanardo, M., Stellin, F. et al. (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.

Koepf, H., Pettersson, B., Schaumann, W. (1979). *Bio-dynamic Agriculture: an Introduction*. Spring-Valley: The Anthroposophic Press.

O.E.C.D. (2009). Guidance document for the development of OECD Guidelines for the testing of chemicals, revised version. OECD Series on Testing and Assessment. Number 1. Accessed 9 Mai 2017. Available online at: <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/49803789.pdf>

Radha, T.K., Rao, D.L.N. (2014). Plant Growth Promoting Bacteria from Cow Dung Based Biodynamic Preparations. *Indian J Microbiol.* 54(4), 413-418.

Scherer, C., Seeland, A., Oehlmann, J., Müller, R. (2013) Interactive effects of xenobiotic, abiotic and biotic stressors on *Daphnia pulex* - Results from a multiple stressor experiment with a fractional multifactorial design. *Aquatic Toxicology*. 138– 139, 105– 115 <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.04.014>

Segner, H., Schmitt-Jansen, M., Sabater, S. (2014) Assessing the Impact of Multiple Stressors on Aquatic Biota: The Receptor's Side Matters. *Environ. Sci. Technol.* 48: 7690–7696. [dx.doi.org/10.1021/es405082t](http://dx.doi.org/10.1021/es405082t)

Spaccini, R., Mazzei, P., Squartini, A., Giannattasio, M., Piccolo, A. (2012). Molecular Properties of a fermented manure preparation used as field spray in biodynamic agriculture. *Environ Sci Pollut Res.* 19, 4214-4225.

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.

Yakhin, O.I., Lubyantsev, A.A., Yakhin, I.A., Brown, P.H. (2017). Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Front. Plant Sci.* 7:2049. doi: doi.org/10.3389/fpls.2016.02049

## **10. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt (Printmedien, Newsletter usw.), bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse**

### **Realisierte Veröffentlichung zum Projekt**

Morau, A. (2016) Einflussfaktoren auf die Wirksamkeit des biodynamischen Hornmistpräparates in einem Kressetest. In *Jahresbericht 2016. Landbauschule Dottenfelderhof*. LBS Dottenfelderhof eV, Bad Vilbel.

Morau, A., Fritz, J. (2017) Standardisierung eines Kressetestes für das biologisch dynamische Hornmistpräparat. In *Ökologischen Landbau weiterdenken - Verantwortung übernehmen - Vertrauen stärken. Beiträge der 14. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau*, ed. Wolfrum, S., Heuwinkel, H., Reents, H.J. u.a. Verlag Dr. Köster, Berlin.

### **Geplante Veröffentlichungen**

Die Vorversuche (2011-2014) und die vorliegende Arbeit (2015-2017) sollen die Grundlage einer kumulativen Doktorarbeit an der Universität Kassel in Witzenhausen sein. Drei wissenschaftliche Publikationen sind geplant:

Morau, A., Piepho, H.-P., Fritz, J. (XXX) Development of Garden Cress (*Lepidium sativum* L.) Bioassay to Assess Growth Responses to Low Dose Fermented Cow Manure Preparation

Morau, A., Piepho, H.-P., Fritz, J. (XXX) Interaction of water overdose, geotropic disturbance and light exposure as factors for testing the effect of biodynamic horn manure preparation

Morau, A., Piepho, H.-P., Fritz, J. (XXX) Interaction of water quality with the effect of biodynamic horn manure preparation

Zudem ist ein Artikel in der Fachzeitschrift der biodynamischen Landwirtschaft „*Lebendige Erde*“ geplant.