

ANALYSE DES MIKROBIOMS BEI DER REIFUNG VON PRÄPARAT 500

BAKTERIEN, PILZE UND PEPTIDE MACHEN WIRKSAMKEIT PLAUSIBEL

AUTOR: **MICHELE LORENZETTI**

ist Demeter-Winzer in der Toskana und bio-dynamischer Weinbauberater, u.a. international. Er wirkte am Projekt zu Hornmist der Uni Padua mit. miklorenzetti@libero.it



Übersetzung eines Beitrags des Autors aus Millevigne 3/2021: „Nuove risposte dal microbiota del letame“ – zu einem Forschungsprojekt der Universität Padua zu Hornmist.

Biodynamik ist als landwirtschaftliche Praxis in der Welt des Ökolandbaus bekannt und weit verbreitet. Diese von Rudolf Steiner 1924 gegründete Methode wird weltweit von fast 6.000 Demeter-zertifizierten Unternehmen praktiziert. Die speziellen Praktiken der biodynamischen Methode sind Grundlage vieler Kontroversen, sowohl in der landwirtschaftlichen als auch in der wissenschaftlichen Welt. Der gesamte Vorgang der Herstellung, Lagerung, Dynamisierung und Verteilung des Präparats P500 (Hornmist) und der des Präparats P501 (Hornkiesel) sowie die Herstellung und Verwendung von Sammelpräparaten (502 – 507) sind Anlass für teils intensive Diskussionen.

Um eines der bekanntesten Präparate dieser Methode, den Hornmist (P500), auszuleuchten, wurde kürzlich eine Studie (Zanardo et al., 2020) in Form einer (noch nicht peer-reviewten) Vorabpublikation (<https://www.preprints.org/manuscript/202008.0727/v1>) veröffentlicht, an der auch Mitglieder des wissenschaftlichen Ausschusses von Professione Biodinamica – einer biodynamischen Bildungseinrichtung in Italien – und Forscher der Universität Padua in Italien teilnahmen. Die Frage der Untersuchung war: Welche Bakterien und Pilze machen die Zusammensetzung des biodynamischen Hornmistes aus und wie ist deren Entwicklung vom Einfüllen bis zur Reife des Präparates? Vielleicht ließen sich so Hinweise finden wie Hornmist, der ja in minimalen Mengen auf den Boden aufgebracht wird, dessen Fruchtbarkeit fördern kann?

Genetische Analyse vor und nach dem Vergaben

Die Ausgangsidee war, die Entwicklung des Mistes vom Zeitpunkt seines Einsammelns und umgehenden Füllen ins Horn bis zum Ausgraben der Hörner nach etwa sechs Monaten zu untersuchen. Rudolf Steiner schlug während seines Koberwitzer Kurses 1924 vor, dies so zu handhaben und dann das erhaltene Präparat zu verwenden, um die Böden zu revitalisieren.

In der zitierten Forschung lassen sich mikrobiologisch zum Zeitpunkt Null, wenn der Mist von der Weide gesammelt (die Rinder standen im Freien und beweideten ausschließlich frische, vielfältige Herbstwiesen) und ins Horn eingebracht wird, durchschnittlich 95 Pilzgattungen und 63 Gattungen von Bakterien

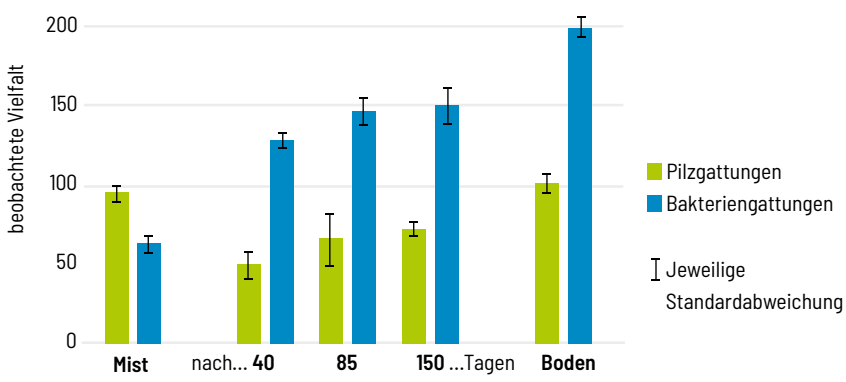
identifizieren. Bei der Analyse der in frischem Dung vorkommenden Pilzarten war ein Pilz der Ordnung *Onygenales* (vom griechischen onyx: Nagel) vorherrschend, mit Keratin auflösenden Eigenschaften. Sein Vorkommen in frischem Dung wird dadurch erklärt, dass Säugetierepithelien, die den Schutz des Epithels vor Abblättern während der peristaltischen Passage sichern, einschließlich der „Innenhaut“ des Darmtraktes, Keratin enthalten, in Form einer fadenförmigen Proteinstruktur des sogenannten Zellskeletts (Coch und Leube, 2016). Der erwähnte Pilz der Ordnung der *Onygenales* ist daher im Kot reichlich vorhanden, er ist repräsentativ für das Rinderdarmmikrobiom, die Biota.

Interessant ist der folgende Schritt in der Herstellung des biodynamischen Hornmistes – das Einbringen von Dung in das Horn, das in seiner inneren Schicht vollständig aus Keratin besteht. Es scheint also kein Zufall zu sein, dass Steiner sich diesen biochemischen Zusammenhang zwischen Darm und Horn vorgestellt hatte.

Keratin und Keratinersetzer

Der nächste Schritt bestand darin, zu verstehen, was das Auftreten dieser *Onygenales*-Gruppe im Mist und folglich in Kontakt mit der Innenwand des Horns bedeutet. In der zitierten Veröffentlichung wird die Hypothese aufgestellt, dass dank der keratinolytischen Aktivität dieses Pilzes, der dann progressiv die innere Oberfläche des Horns verbrauchen kann, auch Aminosäuren freigesetzt werden. Unter diesen sind die schwefelhaltigen Aminosäuren eine wichtige Wachstumsquelle für verschiedene Mikroorganismen, sowohl pilzliche als auch bakterielle, die zum Mikrobiom des Dungs gehören, da Schwefel für die ein oft limitierender Makronährstoff ist. Darüber hinaus kann die Proteolyse zur Bildung und Akkumulation von Peptiden im reifenden Material der Hornfüllung beitragen. Diese Proteinfragmente, Peptide, sind in der Welt der Biologie auch als potenzielle Signalpeptide oder Biostimulatoren bekannt. Ihre Bildung in der Zubereitung P500 und das spezifische Vorhandensein von Klassen der Peptide, die der Biostimulation gegenüber Mikroorganismen und Pflanzen entsprechen, wurden bereits in einer früheren Forschung dokumentiert (Spaccini et al., 2012), ebenso wie das Vorhandensein von Verbindungen mit hormonähnlichen Eigenschaften der Auxin-Natur (Giannattasio et al., 2013).

ABB. 1: REIFUNG DES HORNMISTPRÄPARATES IM BODEN



Dynamik der bakteriellen und pilzlichen Vielfalt im vergrabenen Hornmistpräparat während des Reifungsvorgangs im Boden, gemessen zu verschiedenen Zeitpunkten. Mittelwerte und Standardabweichung bei drei Wiederholungen. Der Mittelwert für 150 Tage enthält Werte sowohl für die innere wie für die äußere Schicht.

Mehr und andere Arten nach der Reifung im Horn

Der Kuhmist im Horn erlebt in den Tagen nach seinem Einfüllen die Abfolge anderer Formen von Pilzen und Bakterien. Dieser Vorgang ist sehr interessant, da wir den fortschreitenden Ersatz von Bakterien des *Phylum firmicutes* durch andere beobachten, die immer massiver durch *Actinomyceten* – also Pilze – repräsentiert werden, deren spezifische Haltung für die Eigenschaften von Nutzen und Nutzen für Pflanzen im Kontext der landwirtschaftlichen und ökologischen Mikrobiologie bekannt ist, verglichen mit den *Firmicutes* zu Anfang, die mehr mit Biomasse in tierischen Mikrobiomen und Lebensmittelverarbeitungsprozessen zusammenhängen.

Die endgültige Zusammensetzung dieser Mikroorganismengemeinschaft, die sich im Horn entwickelt, weist eine Vielfalt von etwa 149 Bakteriengattungen und 72 Pilzgattungen auf, die sich in Bezug auf ihre Anwesenheit und relative Häufigkeit stark von der des ursprünglichen Mistes unterscheidet. Der oben genannte keratinolytische Pionierpilz bereitet offenbar den Grund für eine gut definierbare, ökologische Sukzession: Daher kann das Einbringen von Mist in Hörner, die aus Keratin bestehen, als die einzige Maßnahme angesehen werden, die voraussehbar zu dieser Komposition und solchem Artenreichtum der endgültigen mikrobiellen Gemeinschaft führt. Anscheinend hat Rudolf Steiner damals in den zwanziger Jahren erahnt, dass das Einbringen von Mist in ein Kuhhorn ein rationaler Schritt ist, der es ermöglicht, in einer bestimmten Jahreszeit, über Herbst und Winter, eine wirksame Zubereitung zu entwickeln, die für die Felder verwendet werden kann, sobald sie gereift ist.

Kann die ausgebrachte Menge überhaupt wirken?

Das P500 ist daher sowohl eine echte mikrobiologische Gemeinschaft (Zanardo et al., 2020) als auch eine Mischung aus biochemischen Verbindungen, die sich beide sehr von denen eines Komposts unterscheiden (Spaccini et al., 2012). Das Präparat ist mit sehr starken enzymatischen Eigenschaften und organogener Aktivität gegenüber Pflanzen ausgestattet (Giannattasio et al., 2013). Was wird mit diesem Präparat in der biodynamischen agronomischen Praxis gemacht? Die Verteilung von P500 auf den und im Boden

muss insbesondere für den Aspekt der ausgebrachten geringen Mengen verstanden werden: normalerweise verwenden biodynamische Landwirte 100 – 200 Gramm Präparat pro Hektar. Ist diese Größenordnung plausibel für einen möglichen Effekt auf die biologische Aktivität? Das Präparat definieren wir gerne als biologischen Prozess und nicht als Substanz an sich. Wer z. B. Wein herstellt, weiß sehr gut, wie hundert Hektoliter Most in der Gärung durch ein paar hundert Gramm Hefe umgewandelt werden. Der Aspekt des absoluten Gewichts verliert in einem solchen Prozess an Bedeutung. Die geringe Anwendungsmenge bei P500 sollte ähnlich betrachtet werden. Biologische Prozesse in der Natur finden in diesen Größenordnungen statt, auch die mikrobiellen des Bodens. In Bezug auf Moleküle mit Signaleigenschaften wurde bei der Berechnung der Dosen im Verhältnis zur Wassermenge im Boden von einem Hektar gezeigt (Giannattasio et al., 2013), wie die tatsächlichen Mengen zusammenhängen. Die ausgebrachten Mengen, um die es geht, liegen im Bereich zwischen 10^{-8} und 10^{-10} , ausgedrückt in Molarität bzw. Menge in Gramm, die dem Molekulargewicht (= Mol) pro Liter Lösung entspricht. Bekanntlich zeigen biologische Phänomene volle Aktivität innerhalb dieser Konzentrationsschwelle, wenn man bedenkt, dass für die hormonellen Aktivitäten, die der analytischen und der Pflanzenphysiologie bekannt sind, der Bereich sogar bis zu 10^{-15} reicht, also einem Millionstel eines/ bis Milliardstel der 1-Mol-Konzentration, was im Falle von Kochsalz 60 Gramm Liter entsprechen würde.

Dynamisierung ist der Schritt, welcher dem Ausbringen von P500 auf den Boden vorausgeht. Es wird reines und warmes Wasser (30 Grad) verwendet, das Präparat wird allmählich in das Wasser eingeführt, um es an diese Temperatur zu gewöhnen, und es wird für eine Stunde „dynamisiert“ – also meist gerührt. Die Zeit ist hier ebenso wie die Temperatur ein grundlegender Faktor, um sicherzustellen, dass die mikrobielle Gemeinschaft des Hornmists die Möglichkeit hat, sich zu aktivieren und bereit zu sein, im Boden anzukommen. Der Vorgang endet mit der Verteilung im Freiland mit großen Tropfen und bei feuchten Bodenverhältnissen. Der Übergang von der festen Zubereitung zur flüssigen Präparat-Suspension ist hierbei die Basis, die es ermöglicht, das Volumen von 100 – 200 Gramm auf die 50 Liter pro Hektar zu vergrößern, was den Einsatz im offenen Feld ermöglicht.

Prä-biotische und pro-biotisch: zum Verständnis der Effekte

Was bringt nun die Zubereitung und Ausbringung des Hornmistes, P500? Offensichtlich wirken im Gleichgewicht der biologischen Prozesse eine Vielzahl von „arbeitenden“ Mikroben an der Erhaltung der lebenswichtigen biologischen Struktur des Bodens. Davon gehen biodynamische Landwirte aus, und das bleibt auch im Wesentlichen gültig. Aber da ist noch mehr, und vor allem Wichtiges: Die gleiche Studie hat es uns ermöglicht, zu verstehen, wie das Präparat 500 eine präbiotische Rolle zusätzlich zur bereits bekannten probiotischen Rolle im Boden spielt. Tatsächlich regt der an Signalpeptiden reiche Hornmist, P500, auch die „autochthone“ Mikrobiologie des Bodens an, die sich sehr oft aufgrund widriger Umweltbedingungen in eine „inaktive“ Form zurückzieht. Somit erfolgt eine Stimulation der mikrobiellen Gemeinschaft des Bodens durch das Präparat in der richtigen Dosis im richtigen Gleichgewicht der biologischen Prozesse des Bodens.

Die biodynamische Gemeinschaft kann hier von einem erweiterten Verständnis ausgehen, das über das praktische Feedback zur Verwendung von Präparaten, die Erfahrungen der biodynamischen Landwirte hinausgeht: durch den vorgelegten wissenschaftlichen Beleg, dass diese Maßnahme, obwohl zunächst eigenartig scheinend, rational nachvollziehbar ist. Die Herstellung und Ausbringung von Hornmist oder Präparat 500 ist ein Eckpfeiler des biody-

namischen Landbausystems. Das Präparat wirkt tiefgreifend auf die biologische Struktur des Bodens, auf direkte und probiotische Weise und auf indirekte und präbiotische Weise, indem es dessen Mikroflora zur Wiederaufnahme der Aktivität stimuliert. •

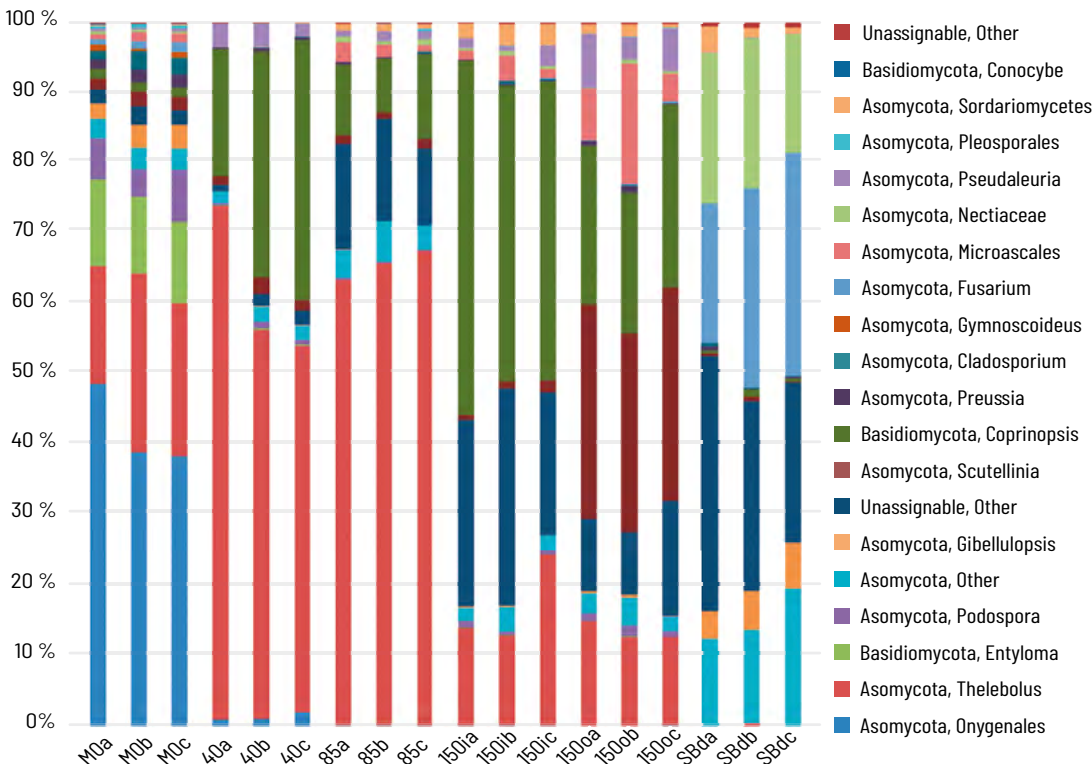
Wissenschaftliche Originalpublikation

Marina Zanardo, Matteo Giannattasio, Gaurav Sablok, Massimo Pindo, Nicola La Porta, Michele Lorenzetti, Carlo Noro, Piergiorgio Stevanato, Giuseppe Concheri, Andrea Squartini: „Metabarcoding Analysis of the Bacterial and Fungal Communities during the Maturation of Preparation 500, Used in Biodynamic Agriculture, suggests a rational link between Horn and Manure“ doi: 10.20944/preprints202008.0727.v1

Quellen

Coch, R.; Leube, R. Intermediäre Filamente und Polarisation im Darmepithel. *Zellen* 2016, 5, doi:10.3390/cells5030032. Spaccini, R.; Mazzei, P.; Squartini, A.; Giannattasio, M.; Piccolo, A. Molekulare Eigenschaften einer fermentierten Güllezubereitung, die als Feldspray in der biodynamischen Landwirtschaft verwendet wird. *Umgeben. Sci. Umweltverschmutzung. Res.* 2012, 19, doi:10.1007/s11356-012-1022-x.14. Giannattasio, M.; Vendramin, E.; Fornasier, F.; Alberghini, S.; Zanardo, M.; Stellin, F.; Concheri, G.; Stevanato, P.; Ertani, A.; Nardi, S.; et al. Mikrobiologische Merkmale und Bioaktivität eines fermentierten Düngprodukts (Preparation 500), das in der biologisch-dynamischen Landwirtschaft verwendet wird. *J.Mikrobiol. Biotechnol.* 2013, 23, doi:10.4014/jmb.1212.12004. Zanardo, M.; Giannattasio, M.; Sablok, G.; Pindo, M.; Porta, N.L.; Lorenzetti, M.; Noro, C.; Stevanato, P.; Concheri, G.; Squartini, A. Metabarcoding-Analyse der Bakterien- und Pilzgemeinschaften während der Reifung der Zubereitung 500, die in der biologisch-dynamischen Landwirtschaft verwendet wird, deutet auf eine rationale Verbindung zwischen Horn und Gülle hin. *Preprints* 2020, 2020080727 (doi: 10.20944/preprints202008.0727.v1).

ABB. 2: HORNMISTPRÄPARATION: MIKROBIOM VERÄNDERT SICH



Die 20 häufigsten Pilzgattungen im Hornmist, gemessen zu verschiedenen Zeitpunkten des Reifevorgangs

a, b, c = drei Wiederholungen

0, 40, 85, 150 = Tag der Messung

Am Schluss wurden Kern (150i) und Oberfläche des Hornmistpräparates (150o) getrennt gemessen, zum Vergleich die Werte für die Böden (SBd)