

Zur Validierung von Saatgutprüfmethoden einst und jetzt

A.M. STEINER, M. KRUSE und R. HERR

Prolog

Auf wissenschaftlicher Grundlage erstellte Methoden und Einheitlichkeit in deren Anwendung sind die Voraussetzungen für eine international anerkannte und wirkungsvolle Saatgutprüfung.

1869 Nobbes Statut

1869 veröffentlichte NOBBE sein Statut mit Empfehlungen zur Probenahme, Größe der Einsendungsprobe sowie Bewertung der Keimfähigkeitsbestimmung. Die Angaben waren nach dem Kenntnisstand der Zeit zukunftsweisend verfasst, eine Validierung gab es nicht (cf. STEINER und KRUSE 2007).

1875 Die Versammlung in Graz

1875 fand in Graz die 1. Versammlung der Vorstände der Samencontrol-Stationen statt. Hier wurden von NOBBE ausgearbeitete Vorschläge „Die Technik der Untersuchung von Samenproben betreffend“ beraten. NOBBE hatte allen Teilnehmern seine Vorschläge vorab zugestellt, so dass eine zügige Diskussion und Beschlussfassung möglich war. Damit war eine erste Stufe der Validierung geschaffen: Für die Saatgutprüfung Verantwortliche stimmten über die Methoden ab, die zur „einmütigen Anwendung“ empfohlen wurden (cf. STEINER 2001).

1876 Die Versammlungen von Vorständen der Samenkontroll-Stationen

1876 diskutierte unter der Leitung von NOBBE die 2. Versammlung von Vorständen der Samencontrol-Stationen über die Weiterentwicklung der Prüfmethodik auf wissenschaftlicher Grundlage sowie die Einheitlichkeit bei deren Anwendung: „Uniformity in seed testing, ISTA“. Auf der 3. Versammlung 1877 wurde zur Vereinheitlichung und Verbesserung der Keimfähigkeitsbestimmung bei Wiesenrispe die erste Vergleichsuntersuchung beschlossen, über die auf der 4. Versammlung 1878 berichtet wurde. Damit

war eine zweite Stufe der Validierung geschaffen: Zum Kenntnisstand traten Vergleichsuntersuchungen hinzu. Auf dieser Grundlage wurde 1891 die „Die Technik der Samenprüfungen“ beschlossen (cf. STEINER 2000).

1893 Die Gründung des Ausschusses für Samenprüfungen

1893 wurde auf der Hauptversammlung des Verbands der landwirtschaftlichen Versuchs-Stationen im Deutschen Reiche „hauptsächlich zur Ausbildung einheitlicher Untersuchungsmethoden“ ein ständiger Ausschuss für Samenprüfungen gegründet. Damit war eine dritte Stufe der Validierung erreicht:

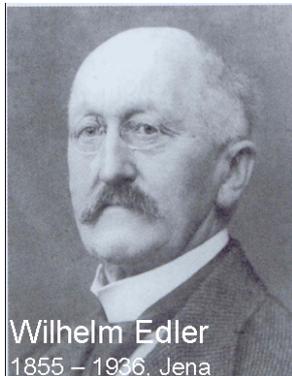
1. Begründung eines Vorschlags für eine Methode und Ausarbeitung einer Arbeitsanweisung für Vergleichsuntersuchungen
2. Begutachtung des Vorschlags und der Anweisung durch den Ausschuss und gegebenenfalls Überarbeitung
3. Versand der endgültigen Anweisung sowie einer Tabelle zum Eintrag der Ergebnisse an die teilnehmenden Samenkontroll-Stationen
4. Wahl der Saatgutproben und Durchführung der Vergleichsuntersuchung, Bericht der Ergebnisse an den Ausschuss
5. Auswertung der Ergebnisse durch den Ausschuss oder einen Beauftragten ggf. externe Begutachtung

6. Formulierung der erarbeiteten Vorschrift durch den Ausschuss oder einen Beauftragten
7. Übermittlung der Ergebnisse nebst Auswertung sowie der vorgeschlagenen Vorschrift an die Samenkontroll-Stationen
8. Vorlage und Diskussion der Vorschrift sowie mehrheitliche Beschlussfassung über deren Aufnahme in die Vorschriften durch die Versammlung der Vorstände der Samenkontroll-Stationen.

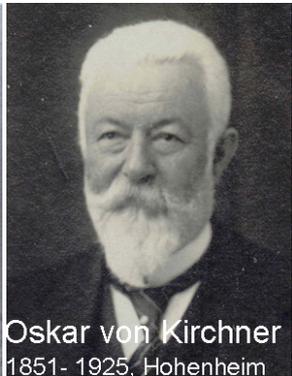
So wurden die „Technischen Vorschriften des Verbandes landwirtschaftlicher Versuchs-Stationen i. D. R. für die Samenprüfungen“ 1899 erarbeitet (cf. STEINER 2000). In anderen Ländern verlief die Entwicklung ähnlich wie in Deutschland. Beim 1. Internationalen Kongress für Samenprüfungen zu Hamburg 1906 wurden die Vorschriften aus Deutschland, Russisch-Polen, der Nordischen Reiche sowie der USA vorgestellt (cf. STEINER und KRUSE 2006).

1901 Beispiel einer Validierung

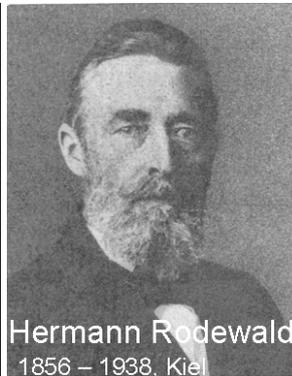
Von der Saatucht-Abteilung der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft (DLG) wurde als Voraussetzung für die Regelung von Handelsgebräuchen eine Überprüfung von Saatgutprüfmethoden und deren einheitlicher Anwendung initiiert. Dazu wurde 1901 auf einer Versammlung von 20 Vorständen von Samenkontroll-Stationen ein „Ausschuss für die Samenprüfungen“ berufen mit



Wilhelm Edler
1855 – 1936, Jena

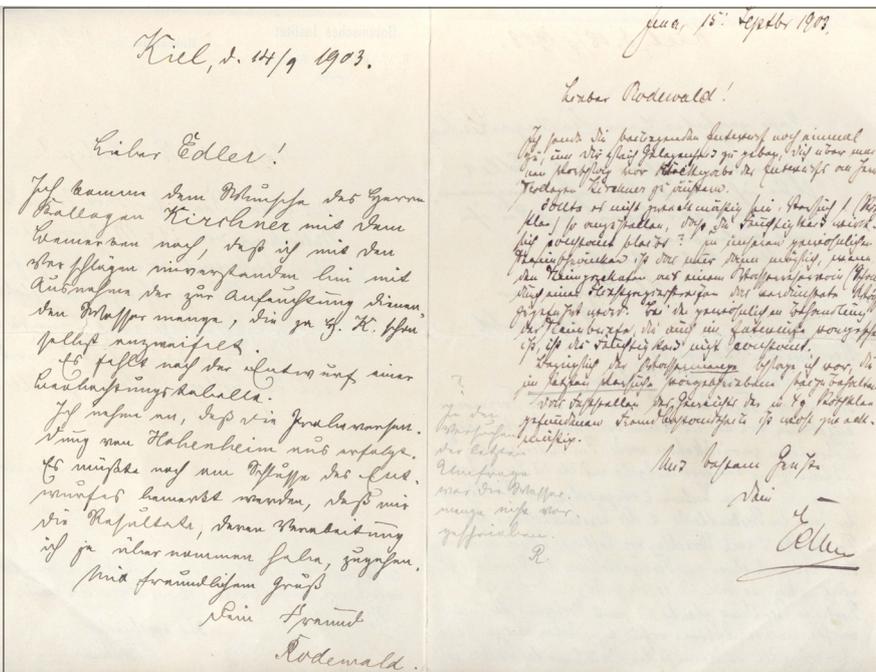
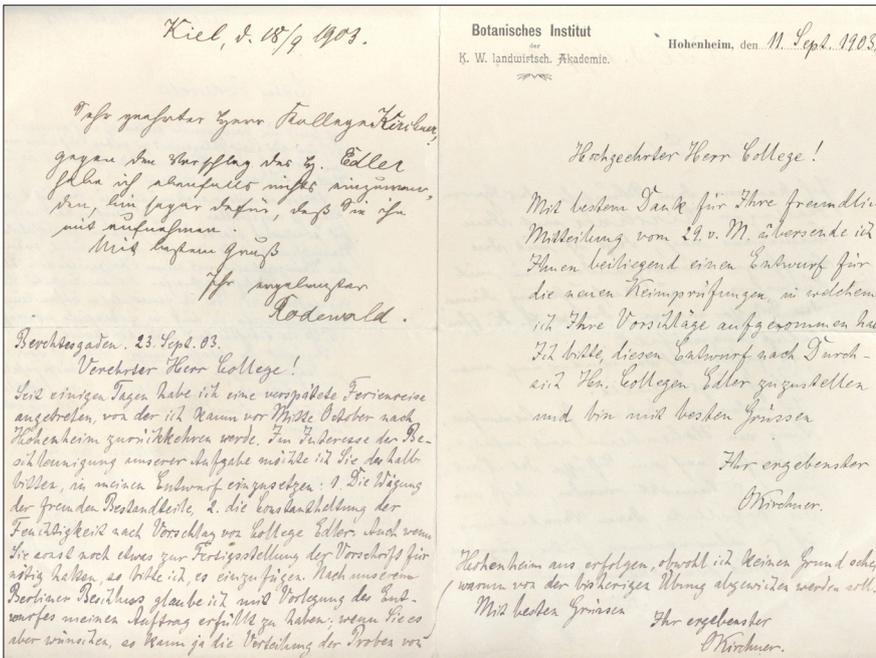


Oskar von Kirchner
1851- 1925, Hohenheim



Hermann Rodewald
1856 – 1938, Kiel

Autoren: Prof. Dr. Dr. h. c. Adolf Martin STEINER, Prof. Dr. Michael KRUSE und Dr. Romeo HERR, Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Universität Hohenheim, D-70593 STUTTGART



WALD an EDLER; 15.9.1903 (Dienstag)
 EDLER an RODEWALD; 18.9.1903 (Freitag)
 RODEWALD an KIRCHNER und Nachsendung von Hohenheim nach Berchtesgaden; 23.9.1903 (Mittwoch)
 KIRCHNER an RODEWALD; fünf Briefe innerhalb von nur 12 Tagen!

Die Briefe KIRCHNERS und RODEWALDS sind leicht zu lesen, der Brief EDLERS in deutscher Schrift lautet:

„Lieber Rodewald! Ich sende Dir beiliegenden Entwurf noch einmal zu, um Dir gleich Gelegenheit zu geben, Dich über meinen Vorschlag vor Rückgabe des Entwurfs an Herrn Kollegen Kirchner zu äußern. Sollte es nicht zweckmäßig sein, Vorschlag 1 (Rothklee) so anzustellen, daß die Feuchtigkeit wirklich constant bleibt? In unseren gewöhnlichen Keimschranken ist das nur dann möglich, wenn den Keimpaketen aus einem Wasserreservoir (Schale) durch einen Filterpapierstreifen das verdunstete Wasser zugeführt wird. Bei der gewöhnlichen Behandlung der Keimbrieftage, die auch im Entwurf vorgesehen ist, ist die Feuchtigkeit nicht constant. Bezüglich der Wassermenge schlage ich vor, die im letzten Versuche vorgeschriebene beizubehalten. Das Feststellen des Gewichts der in 4 g Rothklee gefundenen Fremdbestandteile ist wohl zweckmäßig. Mit besten Grüßen Dein Edler.“

Die Anrede- und Grußformeln lassen in schöner Weise erkennen, wie vornehm damals Kollegen miteinander umgingen. Übrigens, die Untersuchungen zeitigten Erfolg.

1931 Die Internationalen Vorschriften für die Prüfung von Saatgut

Die Geschichte der Internationalisierung der Saatgutprüfung ist bekannt (cf. STEINER 2000). Das bislang national geübte Verfahren der Validierung von Methoden wurde von der Internationalen Vereinigung für Saatgutprüfung (ISTA) weitergeführt. An die Stelle eines allgemeinen Ausschusses traten die Technischen Ausschüsse, an die Stelle der Vorstände der Saatgutkontroll-Stationen die stimmberechtigten Mitglieder, das ISTA Sekretariat übernahm organisatorische Aufgaben. Die 1. Internationalen Vorschriften für die Prüfung von Saatgut 1931 wurden vom ISTA Forschungsausschuss für Länder mit gemäßigttem Klima

den Professoren Dr. RODEWALD, Dr. KIRCHNER und Dr. EDLER als fachkundigen Mitgliedern (Foto) und seitens der DLG mit dem Vorsitzenden des Direktoriums Ritterschaftsrat von Arnim, Criewen, als Vorsitzendem und dem Geschäftsführer Dr. P. HILLMANN als Schriftführer. Niederschriften von Sitzungen von 1901-1905, Anweisungen für die gemeinsamen Samenprüfungen sowie persönlicher Schriftwechsel der Ausschussmitglieder zur Ausarbeitung der Anweisungen befinden sich im Archiv des Fachgebiets Saatgutwissenschaft und -technologie der Universität

Hohenheim. Die Vorgehensweise folgte dem für die Validierung von Methoden geübten Verfahren (siehe oben). Ein reizvoller Auszug des Briefwechsels zwischen den Ausschussmitgliedern sei dargestellt. Es handelt sich um die Ausarbeitung einer Anweisung für die Keimfähigkeitsbestimmung bei Rotklee sowie die Bestimmung der TKM bei Knaulgras. Fünf Briefe sind auf der Vorder- und Rückseite eines DIN A4 Briefbogens in der Art heutiger E-Mails nacheinander geschrieben (Abbildung): 11.9.1903 (Freitag) KIRCHNER an RODEWALD; 14.9.1903 (Montag) RODE-

erarbeitet, auf dem VI. Internationalen Samenkontrollkongress zu Wageningen 1931 diskutiert und von den stimmberechtigten Mitgliedern beschlossen (ANONYMUS 1931). Die Validierung von Methoden wird durch die Berichte der Technischen Ausschüsse sowie Veröffentlichungen in den ISTA Proceedings und anderen Zeitschriften eindrucksvoll belegt. STEINER (1997, cf. LEIST 1997) fertigte ein Flussdiagramm zur Validierung und schilderte Beispiele. Auch die Geschichte und Aufgabe der Technischen Ausschüsse wurden beschrieben (STEINER 1998).

ISTA Method Validation 2007

HAMPTON (2005) schreibt „Method Validation was introduced to ISTA by the Seed Health Committee ... in 2000... Using the ISTA validation process will ensure that the final product is a sound, validated seed quality test method.“ Ferner schreibt HAMPTON (2007) „... the process is new to most other TCOMs.“ Weder im ISTA Handbook of Method Validation for the Detection of Seed-borne Pathogens (SHEPPARD und COCKERELL 2000) noch in der Schrift ISTA Method Validation in Seed Testing (ANONYMUS 2007) wird auf das bisherige Verfahren Bezug genommen. Da stellt sich die Frage: Handelt sich bei der Validierung 2007 um ein Novum, und sind die bisherigen Methoden nicht „sound, validated“? Die ISTA Method Validation 2007 schreibt 11 Punkte vor:

1. Draft plan: The test organizer prepares a detailed draft test plan, a well defined time schedule and a list of participants for the comparative test and submits the draft test plan to the Technical Committee
2. In-house test run: The test organizer conducts an in-house test-run of the entire test method using the actual samples to be used in the comparative test

3. Review of draft test plan by three reviewers, organized by the Technical Committee
4. The test organizer prepares the final test plan, incorporating the comments of the reviewers
5. Distribution of the seed samples, time schedule, data record sheet and final test plan to the participants
6. Test reports: draft report sent to the laboratories - final test report sent to the Technical Committee
7. Review of the test results by two reviewers
8. Approval, revision or rejection of the validated method by the Technical Committee
9. Proposal for the ISTA Rules to be submitted to the Rules Committee
10. Report and rules proposal are listed on the ISTA Online website. Any interested party may submit comments for or against the adoption of the proposal
11. Methods accepted by a majority vote at the ISTA membership meeting will be published in the Rules for Seed Testing

Vergleicht man dieses Verfahren mit dem seit 1893 geübten Verfahren, so sind keine grundsätzlichen Unterschiede erkennbar (s. o., cf. STEINER 1997). In der Tat handelt es sich um eine äußerst ausführliche Darstellung des seit über 100 Jahren geübten Verfahrens. Neu ist allenfalls, dass die Vorschläge, dank Internet, nun jedermann zur Diskussion gestellt werden. Von „introduced to ISTA in 2000“ (HAMPTON l. c.) kann keine Rede sein.

Brauchbarkeit der ISTA Method Validation 2007

Im Gegensatz zum bisherigen Verfahren, das bezüglich der Handhabung Flexibilität ließ, wohlgermerkt aber nicht bei der

strengen Prüfung durch den Technischen Ausschuss und die Beschlussfassung durch die stimmberechtigten Mitglieder, macht das Verfahren 2007 äußerst stringente Verfahrensvorschriften, die zu befolgen mühsam und zeitraubend sind. Ein Beispiel: Im November 2006 vereinbarten M. KRUSE, Hohenheim, und N. LEIST, Augustenberg, eine Validierungsstudie zur Tetrazoliumuntersuchung bei Tomate, Zwiebel, Kopfsalat und Gurke, für die im ISTA Handbook on Tetrazolium Testing (MOORE 1985) und den ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing (LEIST und KRÄMER 2003) Methoden angegeben sind. Die Untersuchungen bei Tomate sind am weitesten fortgeschritten und in der Tabelle dargestellt. Von der ISTA Method Validation 2007 wurde in folgenden Punkten abgewichen: Der Entwurf eines Arbeitsplans (1) sowie dessen Begutachtung (4) wurden durch die in den Working Sheets beschriebene Methode und eine Besprechung ersetzt, auf eine Begutachtung (3) wurde verzichtet. Der Exekutivausschuss wurde über diese Verkürzungen unterrichtet. Die Punkte 2, 5 und 6 wurden erfüllt, Punkt 7 wird übersprungen. Die Punkte 8-11 obliegen ISTA-Funktionsträgern. Ungeachtet der Verkürzung dauerte die Bearbeitung schon acht Monate. Hätte man die Punkte 1, 3, 4 und 7 erfüllen müssen, wären weitere Monate hinzugekommen. Die Punkte 8-10 werden nochmals Monate in Anspruch nehmen; im Falle von Rückfragen wohl mehrere Monate. Damit stellt sich die Frage, ob eine genaue Befolgung der ISTA Method Validation 2007 überhaupt praktikabel ist, und darüber hinaus auch, ob sie allgemein notwendig ist. Das Beispiel zeigt, dass schon auf Grund wissenschaftlicher und praktischer Evidenz die gewählte Verkürzung gerechtfertigt ist. Denn MOORE (1985) zitiert für Tomate sechs Referenzen, und dazu liegen die nach umfangreicher Prüfungserfahrung

Tabelle 1: Arbeitsplan der abgekürzten ISTA-TTC-Validierungsstudie der Universität Hohenheim und des LTZ Augustenberg für Tomate (*Lycopersicon esculentum* L.)

Datum	Verfahrensschritt	Zeitaufwand [Monate]
04.12.06	Besprechung des Programms mit S. KRÄMER (TZ Chair), N. LEIST (TZ Past-Chair), R. HERR (Organisator)	0,0
14.12.06	Information des Exekutivausschusses über Abkürzung	0,5
Dez.-Jan.	Beschaffung und Prüfung von 4 Saatgutpartien	1,0
30.01.07	Auswahl und Zusage von 8 ISTA Labors	1,5
08.02.07	Versand der Teilproben an die mitarbeitenden Labors	2,0
30.03.-09.07.07	Eingang der Ergebnisse	7,0
20.07.-31.07.07	Zusammenstellung und Auswertung der Ergebnisse	8,0

gefertigten Data Sheets vor. Wollte man alle in *Tabelle 5* aufgeführten Arten für *Tabelle 6* nach der ISTA Method Validation 2007 bearbeiten, benötigte man über Jahrzehnte ein Heer von Saatgutprüfern. Insofern mag die ISTA Method Validation 2007 als hoch angesetzter Standard für kritische Fälle angemessen sein, durchgängig ist sie aber schlicht nicht praktikabel.

Zusammenfassung und Ausblick

Die Saatgutprüfung und die Validierung von Methoden zur Saatgutprüfung entwickelten sich Hand in Hand. Schon vor der 1. Internationalen Konferenz für Samenprüfung 1906 (STEINER und KRUSE 2006) wurden die Grundsätze wissenschaftlicher Validierung weltweit beachtet. Die ISTA übte seit 1924 das etablierte, flexible und erfolgreiche Verfahren (STEINER 1997, 1998). Die ISTA Methode Validation 2007 beschreibt das bisherige Verfahren für Vergleichsuntersuchungen in einer äußerst detaillierten Art und Weise, allerdings ohne das bisherige Verfahren irgendwie zu erwähnen. Eine strikte Anwendung der ISTA Method Validation 2007 auf alle Fälle erscheint des sehr hohen Aufwands wegen weder erfolgversprechend, noch allgemein geboten. Das bisher bewährte

Verfahren einer flexiblen Handhabung des Einzelfalls unter Berücksichtigung der Veröffentlichten wissenschaftlichen Evidenz sowie der bekannten praktischen Erfahrung hat sich bewährt, weil zielführend und in der Praxis durchführbar.

Widmung

Diesen Beitrag widmen wir mit herzlichem Dank Herrn O. Univ. Prof. em. Dipl.-Ing. Dr. nat. techn. Peter RUCKENBAUER in hoher Wertschätzung seiner Arbeit und Verdienste als langjähriger wissenschaftlicher Leiter der Arbeitstagungen der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs (VPSÖ) in Raumberg-Gumpenstein.

Literatur

- ANONYMUS, 1931: ISTA Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut. Proc. Intern. Seed Test Ass. 3, 313-385
- ANONYMUS, 2007: ISTA Method Validation for Seed Testing. ISTA, Zurich, Switzerland
- HAMPTON, J., 2005: ISTA Method Validation. ISTA Seed Testing International 130, 22-23
- HAMPTON, J., 2007: ISTA Method Validation. ISTA Seed Testing International 133, 39
- LEIST, N., 1997: The ISTA Rules and the Tetrazolium Handbook. In: Proceedings ISTA of the Tetrazolium Workshop, OSTs Edinburgh, 1997. Eds.: N. Leist, R. Don und A. M. Steiner. ISTA, Zurich, Switzerland

- LEIST, N. und S. KRÄMER, 2003: ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing, Vol. I. ISTA, Zurich, Switzerland
- MOORE, R.P., ed., 1985: Handbook on Tetrazolium Testing. ISTA, Zurich, Switzerland
- SHEPPARD, J.W. und V. COCKERELL, 2000: ISTA Handbook of Method Validation for the Detection of Seed-borne Pathogens. ISTA, Zurich, Switzerland
- STEINER, A.M., 1997: The current procedure for the improvement, incorporation and deletion of methods in the ISTA International Rules for Seed Testing. ISTA News Bulletin 115, 2-3
- STEINER, A.M., 1998: History and tasks of the Technical Committees of the International Seed Testing Association (ISTA). ISTA News Bulletin 116, 2-3
- STEINER, A.M., 2000: Landmarks of seed testing - ISTA for future. ISTA News Bulletin 121, 9-12, 2000
- STEINER, A.M., 2000: 100 Jahre Technische Vorschriften des Verbandes Landwirtschaftlicher Versuchs-Stationen im Deutschen Reiche für die Samenprüfungen. VDLUFA-Schriftenreihe 55, 100-105
- STEINER, A.M., 2001: 125 Jahre Vorschriften zur Saatgutuntersuchung. Die erste Versammlung der Vorstände von Samencontrol-Stationen zu Graz 1875. Bericht, 51. Arbeitstagung 2000 der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, Gumpenstein, 77-84
- STEINER, A.M. und M. KRUSE, 2006: Centennial - The 1st International Conference for Seed Testing 1906 in Hamburg, Germany. ISTA Seed Testing International 132, 19-21
- STEINER A.M. und M. KRUSE, 2007: Nobbe's „Statute concerning the Testing of Agricultural Seeds“ of August 1869. ISTA Seed Testing International 134, (in press)