

Langlebigkeit von Saatgut in der *ex situ* Genbank in Gatersleben

M. NAGEL, S. PISTRICK und A. BÖRNER

Einleitung

Im Verlauf des 20. Jahrhunderts führten Veränderungen in der landwirtschaftlichen Praxis und die dringende Notwendigkeit der Nahrungssicherung der Weltbevölkerung zu einer steigenden Erosion der genetischen Diversität unserer Kulturpflanzen. Um diese pflanzengenetischen Ressourcen zu schützen gab u.a. N.I. VAVILOV den Startschuss für eine weltweite Konservierungsinitiative, die in der Gründung von Genbanken mündete (LININGTON und PRITSCHARD 2001).

Das Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) in Gatersleben beherbergt heute eine der vier größten Genbanken der Welt. In dieser wurden innerhalb der vergangenen 60 Jahre insgesamt 148.128 Akzessionen aus 3.032 Arten und 890 Gattungen zusammengetragen und werden für die Zukunft *ex situ* erhalten. Allein 122.225 orthodoxe Saatgutmuster sind in den Kühlzellen zwischen 0 und -15°C eingelagert (BÖRNER 2006). Unter Verwendung dieser und weiterer Konservierungsmethoden kann ein großer Teil der pflanzengenetischen Kollektion verschiedenen Nutzern mit wissenschaftlichen, züchterischen und

kulturhistorischen Fragestellungen zur Verfügung gestellt werden.

Für die längerfristige Bewahrung der Akzessionen im Samenkühlager und zur Vermeidung häufiger Reproduktionsanbauten werden die Abgaben an die Saatgutnutzer innerhalb der ersten Jahre nach der Ernte aus dem Restsaatgutlager (Samensaal) getätigt. Diese Saatgutreserven erfahren unter den ambienten Bedingungen des Raumes (21°C, 51% relative Luftfeuchte) eine wesentlich schnellere Reduktion in der Keimfähigkeit als in den Kühlzellen. Um dem Saatgutnutzer dennoch qualitativ hochwertiges Saatgut einer Akzession zur Verfügung stellen zu können, besteht das Ziel der durchgeführten Untersuchungen in der Ermittlung der höchstmöglichen Nutzungsdauer ausgewählter Kulturpflanzenarten aus dem Samensaal.

Material und Methoden

Material

Insgesamt erfolgte die Prüfung von 18 verschiedenen Kulturpflanzenarten (Tabelle 1), deren Saatgut den Reproduktionsanbauten von 1980 bis 2005 entstammte. Jede geprüfte Art wurde durch fünf Akzessionen pro Erntejahrgang

repräsentiert, wobei sich die Genotypen zwischen den verschiedenen Erntejahren vollständig unterschieden. Die verwendeten Kulturpflanzenarten wurden im Anschluss innerhalb der Speicherstoffgruppen kohlehydrathaltiger, proteinhaltiger, lipidhaltiger Saatgutarten und der Gruppe der unbestimmten Speicherstoffe Miscellaneous diskutiert.

Keimfähigkeit

Aus jeder Kulturpflanzenart wurden fünf Akzessionen pro vorhandenen Erntejahrgang ausgewählt, wovon 50 Samen pro Akzession nach den „Internationalen Vorschriften zur Prüfung von Saatgut“ (ISTA 2005) auf ihre Keimfähigkeit untersucht wurden. Für die folgenden statistischen Auswertungen wurde das reale Alter der Akzessionen verwendet, welches zusammen mit den Resultaten aus der Keimfähigkeitsprüfung einen Vergleich der Arten im Probitmodell realisierte.

Das Probitmodell entstand durch die Übertragung der kumulativ, normalverteilten Keimfähigkeiten (Abbildung 1a) in die Probiteinheit (Abbildung 1b). Mittels weiterer Gewichtung der Keimfähigkeitswerte entstand aus der sigmoidalen Samenüberlebenskurve eine Gerade mit spezifischen Parametern (ROBERTS

Tabelle 1: Angaben über verwendete Arten und Anzahl an Akzessionen (n) innerhalb der Keimfähigkeits- (KF), Feldaufgangs- (FA) und Leiffähigkeitsprüfung (LF)

Art	KF	FA	LF	Art	KF	FA	LF
Kohlehydrathaltige Arten							
<i>Avena sativa</i> L.	(95)	(24)	(25)	<i>Triticale</i> Wittm.	(33)	(13)	(13)
<i>Hordeum vulgare</i> L.	(78)	(20)	(22)	<i>Triticum aestivum</i> L.	(75)	(20)	(25)
<i>Secale cereale</i> L.	(59)	(19)	(24)	<i>Zea mays</i> L.	(92)	(17)	(22)
Proteinhaltige Arten							
<i>Lupinus albus</i> L.	(67)	(18)	(18)	<i>Pisum sativum</i> L.	(129)	(25)	(25)
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	(120)	(25)	(25)	<i>Vicia sativa</i> L.	(148)	(17)	(22)
Lipidhaltige Arten							
<i>Brassica oleracea</i> L.	(61)	(18)	(18)	<i>Linum usitatissimum</i> L.	(44)	(20)	(15)
<i>Helianthus annuus</i> L.	(36)	(17)	(17)	<i>Papaver somniferum</i> L.	(36)	(15)	(15)
Miscellaneous							
<i>Allium schoenoprasum</i> L.	(30)	(15)	(15)	<i>Daucus carota</i> Arcang.	(32)	(14)	(15)
<i>Cucumis sativus</i> L.	(52)	(18)	-	<i>Lactuca sativa</i> L.	(36)	(15)	(15)

Autoren: M.Sc. Manuela NAGEL, Sibylle PISTRICK und Priv.-Doz. Dr. habil Andreas BÖRNER, Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Corrensstraße 3, D-06466 GATERSLEBEN, nagel@ipk-gatersleben.de

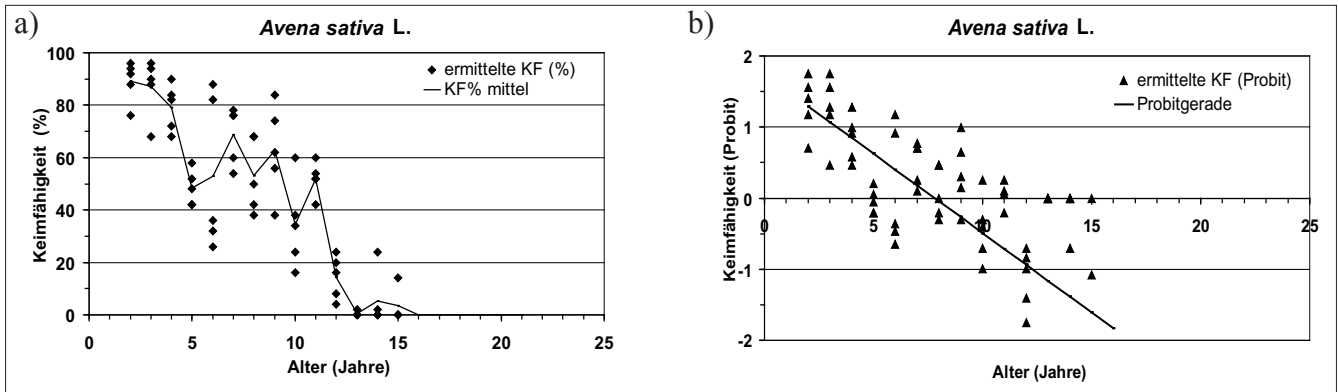


Abbildung 1a, b: Transformation der ermittelten Keimfähigkeiten von *Avena sativa* L. aus dem a) Keimfähigkeitsmodell in das b) Probitmodell

1972). Dabei waren die Geraden durch die Schnittpunkte mit der Abszisse vergleichbar, die im Weiteren als mittlere Samenüberlebensrate bezeichnet wurden und durch die Kürzel KF50% bzw. in der Literatur als P50 vertreten sind.

Feldaufgang

Aufgrund einer besseren Übersichtlichkeit wurden anhand der Keimfähigkeitsergebnisse nur spezifische Jahrgänge (25 Samen je Akzession in 2 Wiederholungen) ausgewählt, die das gesamte Spektrum der Keimungsrate abdeckten. Eine Bestimmung des Feldaufgangs erfolgte 2 Wochen bzw. 4 Wochen nach der Aussaat (Aussaat: 22. September 2006). Der Feldaufgang konnte erneut mit Hilfe des Probitmodells verrechnet werden, wobei analog zum KF50%-Wert der Schnittpunkt mit der Abszisse als FA50%-Wert bezeichnet wurde.

Leitfähigkeit

In Anlehnung an den Feldaufgang wurden die gleichen Akzessionen (100 Samen je Akzession in 2 Wiederholungen) für die Leitfähigkeitsprüfung ausgewählt. Die Prüfung der Leitfähigkeit wurde entsprechend den Vorschriften zur Prüfung von Saatgut (ISTA 2005) durchgeführt und ein Zusammenhang zwischen der Leitfähigkeit und dem Alter mittels der ANOVA überprüft. Im Weiteren zeigte der Duncan-Test, welche Ergebnisse sich signifikant voneinander unterschieden.

Ergebnisse und Diskussion

Keimfähigkeit

Die Untersuchung von natürlich gealtertem Kulturpflanzensaatgut auf seine

Keimfähigkeit ergab eine Abnahme der Keimungsrate mit steigendem Lebensalter der Samen. Dabei reduzierte sich die prozentuale Keimungsrate entlang einer sigmoidalen Kurve, die nach ROBERTS (1972) als Samenüberlebenskurve definiert wurde. Die Ausprägung dieser Kurve unterschied sich zwischen den einzelnen Kulturpflanzenarten. Innerhalb einer Art entstanden partiell große Unterschiede zwischen den Keimfähigkeiten der Genotypen eines Jahrganges, wodurch die Standardabweichungen sich stark vergrößerten. Im Besonderen verursachten die Akzessionen von *Lupinus albus* L., *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L., *Triticum aestivum* L., *Daucus carota* Arcang. und vor allem *Phaseolus vulgaris* L. große Streuungen innerhalb der Jahrgänge. Hingegen war die genotypische Variation zwischen den Keimfähigkeiten einer Alterungsstufe bei den Akzessionen von *Pisum sativum* L., *Vicia sativa* L., *Zea mays* L. und *Cucumis sativus* L. deutlich geringer. Sie wiesen Analogien im Keimungsverlauf auf und erreichten innerhalb ähnlicher Zeiträume einen artspezifischen Abfall der Keimungsrate. Auf der Grundlage dessen liegt der Zusammenhang nahe, dass die innerartliche Variabilität bei einigen Arten größer ist als bei anderen.

Weiterhin ist nach Umwandlung und Transformation der Keimfähigkeitsergebnisse in Probitgeraden zu erkennen, dass die Abnahme der Keimfähigkeit mit zunehmendem Alter artspezifisch unterschiedlich verläuft. Innerhalb der geprüften kohlehydrathaltigen Arten (Abbildung 2a) ist *Zea mays* L. die Art, die mit 12,3 Jahren den höchsten KF50%-Wert besitzt (KF50% = Anzahl der Lagerungsjahre bis Keimfähigkeit

von 50% erreicht ist). Gefolgt wird diese Art von *Hordeum vulgare* L. (KF50%-Wert: 9,8 Jahre), *Avena sativa* L. (KF50%-Wert: 7,9 Jahre) und *Triticum aestivum* L. mit einem KF50%-Wert von 7,2 Jahren. *Secale cereale* L. und *Triticale* Wittm. waren während der Untersuchungen die kohlehydrathaltigen Saatgutarten mit den geringsten KF50% Werten von 5,9 Jahren.

Die proteinhaltigen Arten (Abbildung 2b) konnten durchschnittlich höhere KF50%-Werte erreichen. So war *Pisum sativum* L., die Art mit dem höchsten KF50%-Wert von 13,9 Jahren, gefolgt von *Lupinus albus* L. (KF50%-Wert: 13,7 Jahre), *Vicia sativa* L. (KF50%-Wert: 10,7 Jahre) und *Phaseolus vulgaris* L. (KF50%-Wert: 9,9 Jahre).

Im Gegensatz dazu befanden sich die KF50%-Werte der lipidhaltigen Saatgutarten auf einem geringeren Niveau (Abbildung 2c). *Linum usitatissimum* L. besaß den höchsten KF50%-Wert in dieser Gruppe mit 10,4 Jahren. Mit abnehmenden KF50%-Werten folgten *Papaver somniferum* L. mit 8,2 Jahren, *Brassica oleracea* L. mit 7,3 Jahren und *Helianthus annuus* L. mit 4,7 Jahren.

Starke Unterschiede zwischen der mittleren Samenüberlebensrate (KF50%) traten in der Gruppe der Miscellaneous auf (Abbildung 2d). Durch den hohen KF50%-Wert von 14,9 Jahren verwies *Cucumis sativus* L. auf die Fähigkeit lange keimfähig zu bleiben. Im Gegensatz dazu konnten die Samen von *Daucus carota* Arcang. bereits nach 6,1 Jahren, die Samen von *Lactuca sativa* L. nach 4,6 Jahren und die Samen von *Allium schoenoprasum* L. nach 2 Jahren nur noch zu 50% keimen.

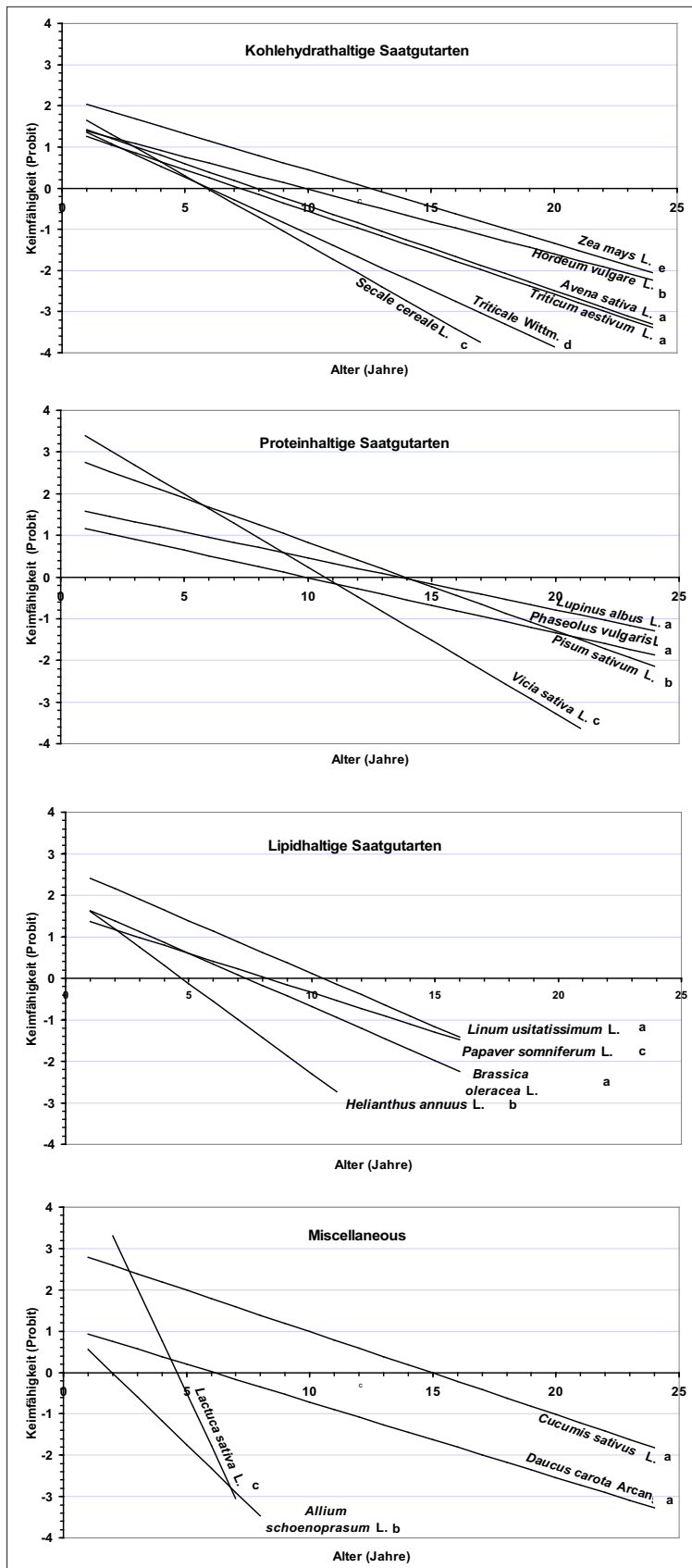


Abbildung 2 a,b,c,d: Entwicklungen der Keimfähigkeiten (Probit) von a) kohlehydrathaltigen b) proteinhaltigen c) lipidhaltigen Saatgutarten und d) der Gruppe unbekannter Speicherstoffe Miscellaneous. Unterschiedliche Buchstaben (a,b,c,d,e) symbolisieren signifikant verschiedene Anstiege der Probitgeraden ($p < 0,05$)

Da der Mittelwert der KF50%-Werte der kohlehydrathaltigen Saatgutarten bei 8,4 Jahren, der der proteinhaltigen Saatgutarten bei 12,0 Jahren und der der lipidhaltigen Saatgutarten bei 7,6 Jahren lag, lässt sich eine Beziehung zwischen der Länge der Keimfähigkeit und der Speicherstoffe vermuten. WALTERS et al. (2005) beschreiben diesen Zusammenhang allerdings als hypothetisch, da ihre Studien an 42.000 Akzessionen der NPGS (National Plant Germplasm System) Kollektion der USA keine eindeutigen Beziehungen zwischen den Reservestoffen eines Samens und der Länge der Keimfähigkeit herstellen konnten. Beide Studien besitzen allerdings den Nachteil, dass die genaue Speicherstoffmenge nicht bestimmt und ins Verhältnis gesetzt worden ist.

Dennoch ergibt sich beim Vergleich der KF50%-Werte der aktuellen Studie und der P50-Werte der Literaturdaten von WALTERS et al. (2005) ein Korrelationskoeffizient von 0,594* bei insgesamt 16 vergleichbaren Arten. Aus diesem Ergebnis ergibt sich die Schlussfolgerung, dass die Keimfähigkeit der einzelnen Genotypen in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer zwar variiert, aber dennoch artspezifisch ist. Lediglich die Länge der Keimfähigkeit kann durch äußere Faktoren verändert werden, das Verhältnis der Langlebigkeit gegenüber anderen Arten jedoch nicht.

Feldaufgang

Die Feldaufgangsprüfung ausgewählter Jahrgänge der untersuchten Arten sollte weitere Schlussfolgerungen im Hinblick auf den Anbau von natürlich gealtertem Saatgut geben. Zu diesem Zweck wurde analog für den KF50%-Wert (mittlere Samenüberlebensrate) der FA50%-Wert kreiert, der die Anzahl an Lagerungsjahren darstellt bis nur noch 50% der Samen im Feld aufaufen.

Innerhalb der kohlehydrathaltigen Arten formierten sich zwei Gruppen, die ähnliche FA50%-Werte und analoge Anstiege der Probitgeraden besaßen. Die FA50%-Werte der ersten Gruppe waren für *Hordeum vulgare* L. 13,6 Jahre, für *Avena sativa* L. 11,4 Jahre und für *Zea mays* L. 11,2 Jahre. Die Arten der zweiten Gruppe besaßen bereits nach 7,3 Jahren (*Triticum aestivum* L.) und nach 6,4 Jahren (*Secale cereale* L.) nur noch einen 50%-igen Feldaufgang. Insgesamt reagierten vier der fünf kohlehydrathaltigen Saatgutarten mit einer Erhöhung des FA50%-Wertes im Vergleich zum KF50% aus den Keimfähigkeitsprüfungen. Lediglich bei *Zea mays* L. nahm dieser Wert im Feld im Gegensatz zum KF50%-Wert ab, was in einem engeren Zusammenhang mit den für *Zea mays* L. ungünstigen Feldbedingungen stehen könnte. Als Wärme liebende Pflanze mit C_4 -Photosynthesemechanismus konnten die Wachstumsbedingungen im September keine Kompensation der abnehmenden Globalstrahlung erreichen.

Innerhalb der proteinhaltigen Arten war *Lupinus albus* L. die Art mit dem höchsten FA50%-Wert von 17,2 Jahren. Nacheinander verringerte sich dieser Zeitraum bei *Vicia sativa* L. mit 13,7 Jahren über *Pisum sativum* L. mit 12,0 Jahren zu *Phaseolus vulgaris* L. mit 11,6 Jahren. Bis auf *Pisum sativum* L. konnten alle proteinhaltigen Arten den FA50%-Wert im Vergleich zum KF50%-Wert erhöhen.

In ähnlicher Weise reagierte auch das Saatgut der lipidhaltigen Arten auf die Feldaussaat. Eine Zunahme der FA50%-Werte erfuhren die Arten *Linum usitatissimum* L. mit 12,6 Jahren, *Helianthus annuus* L. mit 6,8 Jahren und *Brassica oleracea* L. mit 6,8 Jahren. Lediglich *Papaver somniferum* L. erreichte innerhalb eines kürzeren Zeitraumes von 6,6 Jahren einen Feldaufgang von 50%.

Im Gegensatz zu den anderen Speicherstoffgruppen besaßen die Arten der Gruppe Miscellaneous einen geringeren FA50%-Wert im Feld. Im Speziellen bewegte sich der FA50%-Wert bei *Cucumis sativus* L. um 7,6 Jahre, bei *Daucus carota* Arcang. um 5,6 Jahre, bei *Lactuca sativa* L. um 3,3 Jahre und bei *Allium schoenoprasum* L. um 1,8 Jahre.

Obwohl der Feldaufgangversuch Ende September durchgeführt wurde, waren die mittleren Samenüberlebensraten auf dem Feld (FA50%-Werte) der meisten Spezies besser als im Labor. Dieser Unterschied weist daraufhin, dass das Saatgut an die Bedingungen im Feld angepasst ist und diese für einen optimalen Aufgang auch benötigt. Nach POWELL (1988) wird das Auflaufen der Samen durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst, die im Zusammenhang mit dem Wasserhaushalt, aber auch mit mikrobiologischen Aktivitäten stehen. Im Gegensatz wurde eine Abnahme der mittleren Samenüberlebensrate auf dem Feld vorwiegend bei kleinsamigen Arten beobachtet, die generell durch ihre kleinere Größe und ihr geringeres Samengewicht zu einem geringeren Feldaufgang im Vergleich zur Keimfähigkeit tendieren.

Leitfähigkeit

Die Prüfung der elektrischen Leitfähigkeit von Saatgut beruht auf dem

Prinzip, dass die löslichen Stoffe der Saat während der Einquellung ins Wasser übergehen und die Elektrolytmenge gemessen werden kann (MATTHEWS und POWELL 1987). Mit steigendem Alter wird die Membranstruktur der Samen unbeständiger, wodurch sich die Diffusion von Ionen während der Quellung verstärkt (MCDONALD 1999). Dies führt zu dem Schluss, dass mit steigendem Alter der Akzessionen auch deren Elektrolytmenge in der Lösung ansteigt. Die Muster von *Pisum sativum* L., *Vicia sativa* L., *Linum usitatissimum* L., *Brassica oleracea* L. und *Daucus carota* Arcang. konnten diesen Aspekt bestätigen. Für die weiteren geprüften Arten der verschiedenen Speicherstoffgruppen traf dies jedoch nicht zu. Besonders die Akzessionen der kohlehydrathaltigen Arten und der Gruppe Miscellaneous stellten keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen der Leitfähigkeit und dem Alter sowie auch nicht zwischen der Leitfähigkeit und dem Feldaufgang her. Kohlehydrathaltige Samen sind zum Teil aus totem Speichergewebe aufgebaut, dass bei einer Verletzung zwar die Leitfähigkeit erhöht, aber nicht zwingend sich auf den Feldaufgang oder die Keimfähigkeit auswirkt. Im Gegensatz dazu nutzen die Samen von *Pisum sativum* L. lebendes Gewebe zur Speicherung, welches bei Beschädigung die Leitfähigkeit erhöht und sich in der Reduktion von Feldaufgang und Keimfähigkeit äußert.

Hoch signifikante Beziehungen zwischen der Leitfähigkeit und dem Feldaufgang mit einem hohen Korrelationskoeffizienten erreichten jedoch nur *Pisum sativum* L., *Vicia sativa* L. und *Linum usitatissimum* L. Diese Ergebnisse ermöglichen die Annahme, dass die Prüfung der Leitfähigkeit als schnelle und zerstörungsfreie Methode für diese drei Arten zum Ersatz der Keimfähigkeitsprüfung führen könnte. Doch die genotypischen Unterschiede zwischen den Messwerten und die schwierige Unterscheidung zwischen totem und lebensfähigem Material (THORNTON et al. 1990) würde einen enormen Arbeitsaufwand und unkalkulierbare Risiken nach sich ziehen, so dass die Prüfung der Keimfähigkeit stets zuverlässiger ist.

Zusammenfassung

Insgesamt konnten die Untersuchungen zeigen, dass der Zeitraum der Lagerung für jede Art einzeln bestimmt werden muss, da die Langlebigkeiten bereits innerhalb einer Gattung variieren. Ebenso unterscheiden sich diese innerhalb einer Art zwischen den einzelnen Genotypen.

Weiterhin konnte der Feldaufgang verdeutlichen, dass die meisten Arten im Feld ein größeres Potential zum Auflaufen besitzen als es die Ergebnisse der Keimfähigkeit belegen. Lediglich kleinsamige Arten besitzen im Feld aufgrund ihrer Größe einen Nachteil.

Die Messungen zur Leitfähigkeit führten zu dem Schluss, dass einige Arten mit steigendem Alter verstärkt Elektrolyte abgeben. Doch für eine standardisierte Nutzung über ein weites Spektrum an Arten ist diese Methode wesentlich ungenauer und damit für den Einsatz in der Genbank nicht geeignet.

Literatur

- BÖRNER, A., 2006: Preservation of Plant Genetic Resources in the Biotechnology Era. *Biotechnology Journal*, 1: 1393-1404.
- ISTA, 2005: Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut. Internationale Vereinigung für Saatgutprüfung, Bassersdorf.
- MATTHEWS, S. und A.A. POWELL, 1987: Elektrischer Leitfähigkeitstest. In: Handbuch der Methoden zur Prüfung der Triebkraft (Hrsg. D.A. Perry). Internationale Vereinigung der Saatgutprüfung, 2. Auflage, Zürich.
- MCDONALD, M.B., 1999: Seed Deterioration: Physiology, Repair and Assessment. *Seed Science and Technology*, 27: 177-237.
- LININGTON, S.H. und H.W. PRITSCHARD, 2001: Gene Banks. In: *Encyclopaedia of Biodiversity* (Hrsg. S.A. Levin), Volume 3, 165-181. Academic Press, San Diego.
- POWELL, A.A., 1988: Seed Vigour and Field Establishment. *Advances in Research and Technology of Seeds*, 11: 29-61.
- ROBERTS, E.H., 1972: *Viability of Seeds*. Chapman and Hall, London.
- THORNTON, J.M., A.A. POWELL und S. MATTHEWS, 1990: Investigation of the Relationship between Leachate Conductivity and Germination of Brassica Seed. *Annals of Applied Biology*, 117: 129-135.
- WALTERS, C., L.M. WHEELER und J.M. GRO-TENHIUS, 2005: Longevity of Seeds Stored in a Genbank: Species Characteristics. *Seed Science Research*, 15: 1-20.