

Entwicklung von Methoden zur zerstörungsfreien Bestimmung der intraspezifischen Lebensfähigkeit von langzeitgelagertem Saatgut

Das Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung in Gatersleben (IPK) beherbergt eine der vier größten *ex situ* Genbanken der Welt. Neben der Bearbeitung von wissenschaftlichen, züchterischen und kulturhistorischen Fragestellungen steht die Erhaltung und Bereitstellung der pflanzengenetischen Ressourcen unserer landwirtschaftlichen und gartenbaulichen Kulturpflanzen im Mittelpunkt der Arbeit. Aus insgesamt 890 Gattungen und 3.032 Arten wurden innerhalb der vergangenen 60 Jahre rund 150.000 Akzessionen zusammengetragen, wovon 90% als Saatgutmuster in den Kühlzellen zwischen 0 und -15 °C lagern (Börner 2006).

Da das Saatgut selbst unter kühlen und trockenen Bedingungen den natürlichen Alterungsprozessen unterliegt, muss es entsprechend der Art und Gattung und den langjährigen Erfahrungen der Sortimentsbearbeiter nach bestimmten Zeitintervallen vermehrt werden. Die Abnahme der Keimfähigkeit ist dabei nicht nur für die Gattung spezifisch, sondern unterscheidet sich auch zwischen den einzelnen Arten einer Gattung (Nagel et al. 2007) und nach unveröffentlichten Studien von Landjeva (2007) auch zwischen den Genotypen einer Art. Um die vorhandenen Saatgutmuster nicht den Gefahren einer frühzeitigen Reproduktion, verbunden mit eventuellen Vermischungen und genetischer Drift, oder einer zu späten Reproduktion, verbunden mit dem Verlust wertvoller Genotypen, auszusetzen, sind regelmäßige Kontrollen der Keimfähigkeiten erforderlich. Diese sind langwierig und die Kapazitäten der Genbank beschränkt.

Ziel der geplanten Untersuchungen ist es, eine Methode zu entwickeln, die vor allem schnell und wenn möglich zerstörungsfrei die Keimfähigkeiten der Genbankakzessionen erfasst. Zu diesem Zweck werden die folgenden Untersuchungen in mehrere Phasen eingeteilt.

1. Da nicht das gesamte Spektrum des Gaterslebener Genbanksortimentes analysiert werden kann, musste zunächst eine Vorauswahl des Untersuchungsmaterials erfolgen. Zunächst sollen große aber auch schwierig vermehrbare Kollektionen analysiert werden. Zu den großen ausgewählten Kollektionen gehören der Weizen (*Triticum sp.*) mit einem Umfang von 28.200 Akzessionen, die Gerste (*Hordeum sp.*) mit 21.500 Akzessionen und die Gartenbohne (*Phaseolus vulgare*) mit 8.600 Akzessionen. Zu den schwierigen zu erhaltenden Sammlungen zählen als Fremdbefruchter mit eingeschränkten Vermehrungsflächen der Roggen (*Secale sp.*) und der Kohl (*Brassica sp.*) sowie als Kurztagspflanze mit ungünstigen Standortbedingungen in Gatersleben die Sojabohne (*Glycine max*).
2. Da für die beginnenden Untersuchungen zunächst kein wertvolles Genbankmaterial verwendet werden sollte, stellten verschiedene Züchterfirmen Zuchtlinien und Sorten zur Verfügung. Diese mussten in der Keimfähigkeit verringert werden, um ein großes Spektrum an Keimfähigkeiten mit den geplanten Untersuchungsmethoden erfassen zu können. Unter Zuhilfenahme der ISTA-Methode „Controlled Deterioration Test“ werden zunächst die Zuchtlinien, bestehend aus Weizen-, Gersten- und Roggenmustern auf einen Samenfeuchtegehalt von 18% angehoben und bei 44°C für zwei, drei und vier Tage im Klimaschrank gealtert. Aufgrund dieses Verfahrens erreicht das Material Keimfähigkeiten um jeweils 80, 50 und 20%.
3. Um auch Genbankakzessionen in künftige Untersuchungen mit einbeziehen zu können, wurden im September/Oktober 2007 und März/April 2008 Vermehrungen von Weizen, Gerste und Roggen ausgedrillt. Die angebauten Getreideakzessionen werden voraussichtlich im Juli/ August 2008 geerntet, aufgearbeitet und wie unter 2. beschrieben künstlich gealtert.

4. Durch die Zusammenarbeit mit Prof. Hartwig Schulz und Dr. Rolf Quilitzsch vom Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz des Julius Kühn-Institutes in Quedlinburg soll das gealterte Material mit Hilfe der Nah-Infrarot Spektroskopie vermessen werden. Zu diesem Zweck bestrahlt ein Multi-Purpose-Analyzer (Fa. Bruker) das Saatgut mit elektromagnetischen Wellen im Nah-Infraroten Bereich. Die Moleküle werden in Schwingungen versetzt und geben ein spezifisches Spektrum wieder. Anhand der Korrelation der Spektren mit den Keimfähigkeiten des Saatgutes soll eine Kalibrierung erfolgen mit der unbekannte Keimfähigkeiten vorhergesagt werden können.
5. Zur weiteren Grundlagenforschung soll die Raman-Spektroskopie klären, in welchen Bereichen eines Getreidekornes die Effekte der Saatgualterung auftreten. Dazu nutzt diese Form der Spektroskopie den Raman-Effekt. Die Unterschiede zwischen den eingestrahnten, monochromatischen Wellen und den austreten Wellen werden durch Streufrequenzen verursacht, deren charakteristische Energien ein Spektrum wiedergeben. Zum einen soll dieses mit der Keimfähigkeit korreliert werden und zum anderen mit dem Raman-Mapping der Bereich auf dem Getreidekorn mit den größten Unterschieden ermittelt werden.
6. Neben den spektroskopischen Methoden sollen Messungen von Biophotonen erfolgen. In diesem Zusammenhang wird die lichtinduzierte Lumineszenz genutzt, bei der ein organischer Stoff beginnt Photonen zu emittieren, sobald dieser selbst mit einer Erregerfrequenz angestrahlt wird. Untersuchungen von Costanzo et al. (2008) ergaben einen negative Korrelation zur Alterung von einzelnen Sojabohnensamen. Diese Methode wird für die vorhandenen, gealterten Saatgutproben angewendet.

Die Beschreibung der ersten Versuchsphasen dient dem Einstieg in die schnelle und zerstörungsfreie Bestimmung von Weizen-, Gerste- und Roggensaatzgut. Weiterführend sollen Kohl, Sojabohnen und Gartenbohnen in die Untersuchungen mit einbezogen werden. Da die Funktionalität der erwähnten Methoden noch nicht vollständig geklärt ist, können während der weiteren Planung Änderungen auftreten, die zum Verzicht bestimmter Methoden oder Untersuchungsarten führen. Mit Beendigung der Promotion soll mindestens eine Methode zur schnellen Ermittlung der Keimfähigkeit zur Verfügung stehen mit der die entsprechenden Kollektionen der Genbank gescreent werden können.

Projektleitung: Priv. Doz. Dr. habil. Andreas Börner (IPK Gatersleben; Abt. Genbank)

Doktorandin: Manuela Nagel (IPK Gatersleben; Abt. Genbank)

Projektbeteiligte: Prof. Dr. Rolf Rauber (Uni Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften; Abteilung Pflanzenbau)

Prof. Dr. Hartwig Schulz (JKI Quedlinburg; Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz)

Dr. Rolf Quilitzsch (JKI Quedlinburg; Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz; Abteilung Pflanzenanalytik)

Dr. Ralf Neurohr (Techn.-Wiss. Büro Dr. R. Neurohr, Spiesen-Elversberg)

Laufzeit: 01. Januar 2008 bis 31. Dezember 2010

Publikationen:

Börner, A. (2006). Preservation of plant genetic resources in the biotechnology era. *Biotechnology Journal*, 1, 1393-1404

Costanzo, E.; Gulino, M.; Lanzano, L.; Musumeci, F.; Scordino, A.; Tudisco, S.; Sui, L. (2008). Single seed viability checked by delayed luminescence. *European Biophysical Journal* 37: 235-238

Hosius, B. (2005): Prüfung von forstlichem Saatgut mit Hilfe der NIR-Technologie. (Internet: http://service.ble.de/fpd_ble/index2.php?detail_id=77&site_key=141&stichw_suche=DUMMY&zeile_nzahl_zaeher=1052&NextRow=970)

ISTA (1987): Controlled Deterioration Test. Handbook of vigour test methods, 2nd Edition

Nagel, M.; Pistrick, S.; Börner, A. (2007). Langlebigkeit von Saatgut in der *ex situ* Genbank in Gatersleben. Bericht über die 58. Tagung 2007 der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs LFZ Raumberg-Gumpenstein, 20-22. November 2007