



## **IGNISCUM® – Prüfung der Keimfähigkeit und Lebensfähigkeit der Samen**

**Julia Haller**

Sachgebiet Rohstoffpflanzen und Stoffflüsse  
Technologie- und Förderzentrum (TFZ)



*Abbildung 1: Samen an einer  
IGNISCUM®-Pflanze*

### **Einleitung**

IGNISCUM® ist ein Knöterichgewächs, das durch spontane Mutation und Selektion aus dem Sachalin-Staudenknöterich entstanden ist. Nach der Pflanzung im Frühjahr und einer Etablierungszeit von zwei Jahren bilden die Pflanzen bis zu 40 Triebe pro m<sup>2</sup> und werden bis zu 3 Meter hoch. Sie wachsen sehr schnell und bilden zumindest augenscheinlich viel Biomasse. Aus diesem Grund wird IGNISCUM® auch hinsichtlich seiner Eignung als Rohstoffpflanze für die Biogasgewinnung und die Brennstoffproduktion untersucht. Laut Angaben des Züchters besitzt IGNISCUM® im Gegensatz zur Wildform keine unterirdischen Seitenausläufer und ist steril, sodass er nicht als invasive Art einzustufen ist. Am TFZ in Straubing wird das Knöterichgewächs seit 2012 erforscht. Im August 2014 konnte zum ersten Mal die Bildung von Samen beobachtet werden, was eine vollkommene Sterilität der Pflanzen widerlegt (*Abbildung 1*). Um das Vermehrungspotenzial der Samen festzustellen, wurden ein Keimfähigkeitstest und ein Vitalitätstest (TTC-Test) durchgeführt.

### **Material und Methoden**

Zur Überprüfung der potenziellen Keimfähigkeit der Samen wurde ein Keimfähigkeitstest in Petrischalen durchgeführt (*Abbildung 2*). Dazu wurden sowohl reife Samen, als auch unreife Samen herangezogen. Während die unreifen Samen an ihrer weiß-grünlichen Blütenhülle erkennbar waren, war die Blütenhülle der reifen Samen bereits abgetrocknet und verbräunt. Für den Keimfähigkeitstest wurden jeweils 50 Samen ohne Vorbehandlung in einer Petrischale auf nassem Filterpapier ausgelegt und für 14 Tage bei Zimmertemperatur gelagert. Da die Keimfähigkeit sehr gering war, wurde der Keimfähigkeitstest um weitere 14 Tage verlängert.



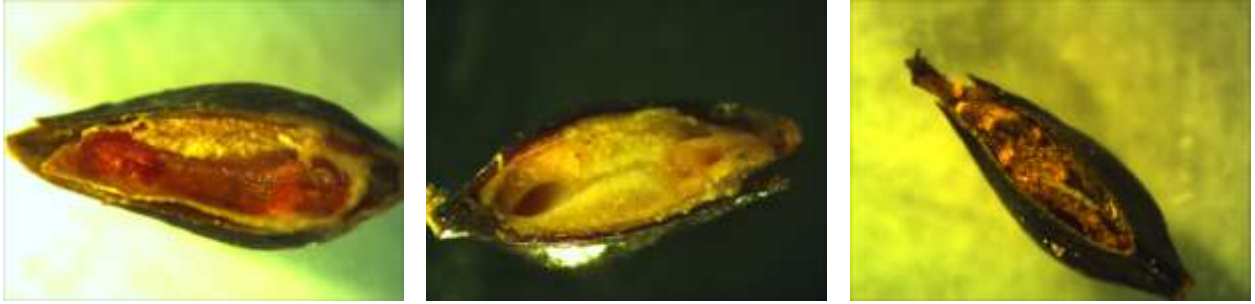
Abbildung 2: Keimfähigkeitstest (links) und TTC-Test mit den halbierten IGNISCUM<sup>®</sup>-Samen (rechts)

Zeitgleich wurde die Lebensfähigkeit der Samen geprüft. Lebensfähige Samen, die eine geringe Keimfähigkeit aufweisen, deuten auf eine mögliche Keimruhe (Dormanz) des Saatguts hin. Zur Feststellung wurde ein Triphenyltetrazoliumchlorid-Test (TTC) durchgeführt (Abbildung 2). Dafür wurden 69 reife und 112 unreife Samen getrennt voneinander für 12 h in einer Petrischale auf nassem Filterpapier ausgelegt. Den gequollenen Samen wurden anschließend die „Flügel“ entfernt, um das Samenkorn freizulegen. Mit einem Skalpell wurden die Samen nun, teils unter dem Mikroskop, halbiert, sodass der Embryo im Inneren sichtbar wurde. Die präparierten Samenhälften wurden mit einer Lösung aus 20 ml Wasser und 0,2 g Triphenyltetrazoliumchlorid in einer Petrischale aufgegossen bis sie vollständig bedeckt waren. Da die Lösung stark lichtempfindlich ist, wurden die Petrischalen anschließend in Alufolie eingewickelt. Bei der Samenkeimung wird durch die Atmung Energie in Form von Reduktionsäquivalenten (z.B.  $\text{NADH} + \text{H}^+$ ) bereitgestellt. Gibt man den gequollenen Samen in die Lösung des Wasserstoffakzeptors Triphenyltetrazoliumchlorid, wird dieser durch die Reduktionsäquivalente zu rotem, wasserunlöslichem Formazan reduziert. Der Embryo lebensfähiger Samen färbt sich dadurch rot. Nach 24 h wurden die Samen deshalb erneut unter dem Mikroskop betrachtet.

### Ergebnisse

Die Keimfähigkeit der IGNISCUM<sup>®</sup>-Samen war insgesamt sehr gering. Nach 2 Wochen keimte lediglich ein reifer Samen. Erst durch die Verlängerung des Keimtests um weitere 14 Tage stieg die Zahl auf 7 reife Samen und 6 unreife Samen. Dies entspricht einer Keimfähigkeit von 14 % bzw. 12 %. Ob die Samen diese Keimfähigkeit auch unter natürlichen Gegebenheiten erreichen, muss noch untersucht werden.

Mit dem TTC-Test wurde die Lebensfähigkeit der Samen ermittelt. Die Beurteilung erfolgte optisch unter dem Mikroskop. Aus den 69 reifen Samen wurden durch die Halbierung 138 Samenhälften. Insgesamt war der Embryo in 43 Samenhälften stark angefärbt und in weiteren 11 leicht. Bei 20 Samenhälften war er aufgrund der ungenauen Teilung nicht erkennbar und 64 Hälften schienen leer zu sein (Abbildung 3). Hierfür wird angenommen, dass sich der Embryo in der jeweils anderen Samenhälfte befand. Ein ungefärbter Embryo wurde nicht entdeckt. Das Ergebnis zeigt deutlich, dass die reifen IGNISCUM<sup>®</sup>-Samen lebensfähig sind.



*Abbildung 3: Von links nach rechts: Samenhälfte mit stark angefärbtem Embryo, leere Samenhälfte, ungleich zerteilte Samenhälfte*

Bei den unreifen Samen wurden 224 Samenhälften in die TTC-Lösung gegeben. Auch hier war nicht jeder Embryo erkennbar und nicht jede Hälfte gefüllt. Insgesamt waren nur 18 Embryonen stark angefärbt und weitere 26 leicht. In 19 Hälften war der Embryo zwar deutlich erkennbar, jedoch nicht angefärbt und in 11 war er nicht zu identifizieren. Auffällig ist, dass 150 der 224 Samenhälften leer waren. Dies deutet darauf hin, dass sich in den Samen aufgrund der fehlenden Reife noch kein Embryo gebildet hat. Die unreifen Samen sind somit zum größten Teil nicht lebensfähig.

Allein die Bildung der Samen spricht gegen die vom Züchter versprochene Sterilität der Pflanzen. Zwar ist die Keimfähigkeit der Samen sehr gering und konnte bisher nur unter optimalen Bedingungen nachgewiesen werden, jedoch weisen vor allem die reifen Samen eine hohe Lebensfähigkeit auf. Ob die geringe Keimfähigkeit durch eine Keimruhe hervorgerufen und durch den Einfluss von Umweltreizen erhöht wird, muss in weiteren Versuchen geklärt werden.