



ENSCONET

Protokolle und & Empfehlungen für Saatgutbanken

Deutsche Fassung des
*ENSCONET CURATION PROTOCOLS
& RECOMMENDATIONS*

Herausgeber:
Royal Botanic Gardens, Kew

Fassung vom: 15 Juni 2009



ISBN: 978-84-692-6447-8

Bitte zitieren als: ENSCONET (2009) ENSCONET Protokolle und & Empfehlungen für Saatgutbanken

Die Inhalte dieses Dokuments basieren auf dem
ENSCONET workshop

“Ein kritischer Überblick über Schlüsselmethoden
für Saatgutbanken”

durchgeführt am
Fachbereich “Ecologia del Territorio”, Universität von Pavia,
Via S. Epifanio 14 - 27100 Pavia, Italien

22 - 26 Oktober 2007

Übersetzung von Elke Zippel

Auch in Englisch, Französisch, Griechisch, Ungarisch, Italienisch, Polnisch,
Portugiesisch und Spanisch verfügbar.



ENSCONET wird durch das sechste Rahmenprogramm der Europäischen Gemeinschaft als integrierte Maßnahme, die in Form einer Koordinierungsmaßnahme durchgeführt wird, gefördert. Der Text spiegelt nur die Sicht der Vertragspartner wieder. Die Europäische Gemeinschaft haftet für keinerlei Folgen, die aus dem Gebrauch der vorliegenden Informationen entstehen.

DANKSAGUNGEN & ENSCONET MITGLIEDER

Die in diesem Dokument verwendeten Akronyme sind Abkürzungen des Institutsnamens und der Adresse

RBGK - Seed Conservation Department, Royal Botanic Gardens, Kew, Wakehurst Place, Ardingly, West Sussex RH17 6TN, GROSSBRITANNIEN

NKUA - Department of Botany, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15784, GRIECHENLAND

IB SAS - Institute of Botany, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 14, 845 23 Bratislava, SLOWAKEI

BZBG - Budapest Zoo & Botanical Garden, P.O. Box 469, Állatkerti körút 6-12, H-1146 Budapest, UNGARN

MAICH - Mediterranean Agronomic Institute of Chania, Alsyllion Agrokepion, P.O. Box 85, 73100 Chania (Crete), GRIECHENLAND

JB Cordoba - IMGEMA - Jardín Botánico de Córdoba, Avda. de Linneo s/n, 14004 Córdoba, SPANIEN

TCD - Trinity College Botanic Garden, Palmerston Park, Dartry, Dublin 6, IRLAND

Jardin Canario - Jardin Botanico Viera y Clavijo del Cabildo de Gran Canaria, Apdo 14, 35017 Tafira Alta, Las Palmas de Gran Canaria, SPANIEN

CYARI - Agricultural Research Institute, P.O.Box 22016, 1516 Nicosia, ZYPERN

UPM - Departamento de Biología Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, SPANIEN

NBGB - National Botanic Garden of Belgium, Domein van Bouchout, 1860 Meise, BELGIEN

MNHN - Muséum National d'Histoire Naturelle, Département des Jardins Botaniques et Zoologiques, Case postale 45, 57, rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05, FRANKREICH

UNI-PAV-CFA - Università degli Studi di Pavia, Dipartimento di Ecologia del Territorio e degli Ambienti Terrestri, Via S. Epifanio, 14, 27100 Pavia, ITALIEN

Pisa Botanic Garden - Department of Biology, Pisa University, Via Luca Ghini 5, 56126 Pisa, ITALIEN

JB Soller - Jardí Botànic de Sóller, Ctra. Palma-Port de Sóller Km 30,5, Apartat de Correus 44, 07100 Sóller, SPANIEN

MTSN - Museo Tridentino di Scienze Naturali Trento, Via Calepina 14, 38100 Trento, ITALIEN

UVEG - Jardí Botànic de la Universitat de València, C/ Quart, 80, 46008 Valencia, SPANIEN

HBV - Department of Biogeography and Botanical Garden, University of Vienna, Rennweg 14, 1030 Vienna, ÖSTERREICH

BG-CBDC PAS - Botanical Garden, Center for Biological Diversity Conservation of the Polish Academy of Sciences, Prawdziwka 2, 02-973 Warszawa 76, POLEN

FUB-BGBM - Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 6-8, 14191 Berlin, DEUTSCHLAND

HUBG - Botanic Garden, P.O.Box 44 (Jyrängöntie 2), 00014 University of Helsinki, FINNLAND

FUL - Jardim Botânico / Botanical Garden, Museu da Politécnica, R. Escola Politécnica 58, 1269-102 Lisboa, PORTUGAL

NHMOSLO - Botanical Garden, Natural History Museum, University of Oslo, P.O. Box 1172, Blindern, 0318 Oslo, NORWEGEN

IB-BAS - Department of Applied Botany, Institute of Botany, Bulgarian Academy of Sciences, 23, Acad. G. Bonchev Str., 1113 Sofia, BULGARIEN

AS-BOKU - Institute of Botany and Botanical Garden, Department of Integrative Biology, University of Natural Resources and Applied Sciences, Gregor-Mendel-Str. 33, 1180 Wien, ÖSTERREICH

Luxembourg - Living plant collections, Musée national d'histoire naturelle, 25 rue Munster, 2160 Luxembourg, LUXEMBURG

Geneva - Conservatoire et Jardin botaniques de la ville de Genève, 1 chemin de l'Imperatrice, Case postale 60, 1292 Chambésy/GE, SCHWEIZ

FIT Nicosia - Frederick University Cyprus, Nature Conservation Unit, P.O.Box 24729, 1303 Nicosia, ZYPERN

Andere Institute, die mit wertvollen Kommentaren zu diesem Manual beigetragen haben

Hungarian Academy of Sciences, Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry Department of Soil Biology, Herman Ottó út 15, H-1022 Budapest, UNGARN

Global Crop Diversity Trust, c/o FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, ITALIEN

INHALTSVERZEICHNIS

ENSCONET Empfehlungen für Saatgutbanken.....	i
Einführung.....	1
Thema 1. Samenaufreinigung.....	4
Thema 1a. Ausstattung und allgemeine Arbeiten.....	5
Thema 2. Trocknen der Samen.....	11
Thema 2a. Heterogenität der Proben und Geschwindigkeit des Trockenvorganges.....	11
Thema 2b. Luftzirkulation.....	12
Thema 2c. Überwachung der Trocknung.....	13
Thema 2d. Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen für den Trocknungsprozess.....	13
Thema 2e. Geräteausstattung für den Trocknungsprozess.....	15
Thema 3. Überprüfung der Saatgutfeuchte.....	17
Thema 3a. Messung der relativen Gleichgewichtsfeuchte.....	17
Thema 3b. Verwendung von Hygrometern zur Überwachung der Samenfeuchte.....	19
Thema 4. Verpackung.....	21
Thema 5. Langzeitlagerung : Temperatur.....	23
Thema 5a. Lagerungstemperatur.....	23
Thema 5b. Wahl der Kühleinrichtung.....	24
Thema 6. Keimungstests.....	27
Thema 7. Herbarbelege und Überprüfung der Bestimmung.....	31
Thema 8. Dokumentation.....	32
Thema 9. Regenerierung von Saatgut.....	33
Anhang 1. Zusammenfassung der Reproduktionsbiologie der Pflanzen.....	38
Anhang 2. Mögliches Datenblatt für Samenaufsammlungen aus Regenerierungen.....	40
Thema 10. Weitergabe der Samen.....	42
Literatur.....	44

ENSCONET EMPFEHLUNGEN FÜR SAATGUTBANKEN

AUFREINIGUNG DER SAMEN

Für mehr Einzelheiten, *siehe Thema 1.*

- Im Idealfall werden alle anhaftenden Pflanzenteile von den Samen entfernt. Manchmal wird es nötig sein, die Samen ungereinigt einzulagern; dieses ist in der Datenbank zu vermerken.
- Samen von Wildarten sollten mit Hilfe geeigneter Geräte manuell gereinigt werden. Die Geräte müssen diese zwischen der Bearbeitung verschiedener Aufsammlungen gesäubert werden.
- Die Mitarbeiter benötigen Kenntnisse über Samen- und Fruchtmorphologie und müssen die Strukturen unter dem Binokular interpretieren können.
- Die Reinigung der Samen sollte unter einem Abzug mit Staubfilter oder in einem abgeschlossenen Raum, in dem die Mitarbeiter geeignete Staubmasken tragen, durchgeführt werden.
- Während der Reinigung müssen die Samen unter einem Binokular auf Beschädigungen hin untersucht werden.
- Die Pflanzenabfälle, die bei der Aufreinigung anfallen, sollten unter kontrollierten Bedingungen verbrannt werden.
- Um den Anteil tauber Samen in der gereinigten Saatgutprobe zu ermitteln, sollten Samen durchgeschnitten oder mit Röntgenstrahlen untersucht werden.

TROCKNUNG UND ÜBERWACHUNG DER FEUCHTIGKEIT

Für mehr Einzelheiten *siehe Themen 2 & 3.*

- Bis neue Daten verfügbar sind wird empfohlen, die Samen für eine Lagerung unter null Grad so lange zu trocknen, bis sie die gleiche Feuchtigkeit haben wie die Luft bei 15 % relativer Luftfeuchtigkeit bei 10-20 °C (das sind schätzungsweise 3,5 – 6,5 % Restfeuchte im Samen, abhängig vom Fettgehalt des Samens). Ultratrocknung wird empfohlen, wenn die Samen über null Grad gelagert werden. Eine Trocknung mit warmer Luft oder im Ofen wird nicht empfohlen.
- Wo möglich, sollten Samen, die sich offensichtlich in verschiedenen Reifegraden befinden, in Teilsammlungen aufgeteilt und jede Teilsammlung bis zur Reife getrocknet werden.
- Um die Trocknung zu beschleunigen, sollten die Samen in einer dünnen Schicht an der Luft ausgebreitet werden.
- Unreife Samen und Früchte werden für 2-3 Wochen unter ähnlichen Bedingungen wie am Wuchsort zum Nachreifen aufbewahrt.
- Samen, die aus reifen fleischigen Früchten herausgelöst wurden, sollten zunächst bei Arbeitsraumbedingungen gelagert werden (60-70 % RH, 20-25 °C, für 1-2 Wochen), bevor sie in den Trockenraum gebracht werden.
- Der Trocknungsprozess sollte anhand der Gleichgewichtsfeuchte (eRH) überwacht werden, mögliche Fehlerquellen sind zu beachten. Die Gleichgewichtsfeuchte wird mit Hilfe von Hygrometern, Datenloggern oder Indikator-Silikagel gemessen.
- Für eine große Saatgutbank (einige 100 bis einige 1000 Akzessionen pro Jahr) wird ein Trockenraum, in dem eine bestimmte relative Luftfeuchtigkeit eingestellt werden kann, empfohlen. Für kleinere Genbanken mit einer geringen Anzahl an Akzessionen (weniger als 100 pro Jahr), ist die Trocknung der Samen mit Silikagel oder die Verwendung einer kleinen Trockenkammer sinnvoll.
- Sehr feuchte Samen sollten erst für zwei bis drei Tage bei Zimmertemperatur gelagert werden, damit das freie Wasser abtrocknet. Wird Silikagel benutzt, sollte ein Verhältnis von Trockenmittel – Samen von 1:1 das Heruntertrocknen der Samen auf einen sicheren Feuchtigkeitsgehalt ermöglichen (<30 % eRH).

VERPACKUNG

Für mehr Einzelheiten, *siehe Thema 4.*

- Werden von einer Akzession regelmäßig Proben entnommen, sind für die Langzeitlagerung wiederverschließbare, durchsichtige Glasbehälter zu verwenden; werden keine Proben entnommen, sind mit einer Flamme versiegelte oder doppelt verpackte und wiederverschließbare Glasbehälter die beste Verpackung für die Samen.
- Die Samen sollten vorzugsweise in einer Umgebung mit kontrollierter Luftfeuchtigkeit verpackt werden.
- Mit einem Silikagel-Päckchen zur Feuchtigkeitskontrolle wird die Dichte des Behälters überwacht und das Saatgut vor den Abbauprodukten des Stoffwechsels geschützt. Im Behälter müssen die gleichen Bedingungen wie in der Samenbank herrschen (in der Regel 15% relative Luftfeuchtigkeit).
- Die Dichtungen sind regelmäßig zu überprüfen und gegebenenfalls auszutauschen.
- Behälter einer Charge sind mit einer Standardüberprüfung auf ihre Dichtigkeit hin zu kontrollieren.

KONTROLLIEREN LAGERUNG

Für mehr Einzelheiten, *siehe Thema 5.*

- Für die Langzeitlagerung der meisten orthodoxen Samen wird eine Lagerungstemperatur unter 0° C empfohlen (gewöhnlich zwischen -18 und -20 °C).
- Bei einer herkömmlichen Lagerung unter nicht extremkalten Bedingungen ist eine Absenkung der Temperatur unter -35°C für die meisten Arten nicht in dem Maße von Nutzen, wie es für die Rechtfertigung der hohen Zusatzkosten nötig wäre. Für Arten mit sehr kurzlebigen orthodoxen Samen kann eine Lagerung bei extrem tiefen Temperaturen oder eine Lagerung in flüssigem Stickstoff angebracht sein.
- Von allen Proben müssen Duplikate in einer zweiten Saatgutbank gelagert werden.

KEIMUNGSTESTS

Für mehr Einzelheiten, *siehe Thema 6.*

- Es wird empfohlen, Keimungstest bei so vielen Akzessionen wie möglich sowohl nach der Trocknung und Aufreinigung der Samen als auch, wenn machbar, nach der Einlagerung durchzuführen. Im Idealfall werden Keimtests vor und nach der Trocknung durchgeführt, um zu überprüfen, ob die Keimungsfähigkeit von der Trocknung beeinflusst wird. Sind die Ressourcen begrenzt und kann nur ein Eingangstest durchgeführt werden, sollte dieser im ersten Monat nach der Einlagerung stattfinden.
- Die Keimrate sollte auf Grundlage der offensichtlich keimfähigen Samen (Gesamtmenge der Samen minus beschädigte oder taube Samen) in Prozenten angegeben werden.
- Eine Probengröße von 200 Samen ist ideal, zwei Ansätze mit 50 oder 25 Samen sind in den meisten Fällen akzeptabel.
- Um Schäden bei der Aufnahme von Wasser zu vermeiden, sollten Samen von empfindlichen Arten vor dem Keimtest angefeuchtet werden.
- Die Keimung von Samen ist extrem plastisch. Die Keimungsbedingungen können zwischen Arten, Populationen, Aufsammlungen in verschiedenen Jahren und sogar zwischen verschiedenen langen Lagerungen erheblich variieren. Anhaltspunkte für Keimbedingungen geben Literaturquellen oder Datenbanken wie die RBGK's Seed Information Database (Liu *et al.*, 2008: <http://data.kew.org/sid/sidsearch.html>) und die LEDA traitbase (<http://www.leda-traitbase.org/tomcat/LEDAportal/index.jsp>) Liegen dort keine Informationen vor (auch über verwandte Arten), helfen das Klima des Wuchsortes, die Ökologie der Art und die Samenstruktur weiter.

- Als Substrat, auf dem die Samen für die Keimtests ausgesät werden, können Agar, Filterpapier oder Sand verwendet werden. Agar (gewöhnlich 1 %) hat den Vorteil, dass die Aussaaten wenig pflegeintensiv sind, das Risiko eines Schadens durch zu viel Wasser vermindert ist und die Konzentration beigefügter Chemikalien gleich bleibt. Ferner können Keimwurzeln gegen einen dunklen Hintergrund leicht erkannt und Sämlinge leicht für ein Umpflanzen entnommen werden.
- In jedem Fall sollte deionisiertes oder destilliertes Wasser verwendet werden.
- Die Samen sollten sich nicht auf dem Medium gegenseitig berühren.
- Wenn möglich, sollten konstante Temperaturen vermieden werden, Ausnahme sind die meisten Stratifizierungen. Ebenso sollte kontinuierliches Licht vermieden werden, da sonst das Risiko einer Keimhemmung besteht.
- Ein Samen kann dann als gekeimt gelten, wenn die Keimwurzel 1-2 mm herausragt oder so lang wie der Samen selbst ist.

BESTIMMUNG

Für mehr Einzelheiten, *siehe Thema 7.*

- Für jede Population, von der Samen gesammelt wurden, sollte ein repräsentativer Herbarbeleg entnommen werden, es sei denn, die Population ist sehr gut bekannt. Bei gefährdeten Population oder seltenen Arten ist der Herbarbeleg besonders achtsam zu entnehmen.

DOKUMENTATION

Für mehr Einzelheiten, *siehe Thema 8.*

- Bei der Dokumentation jeder Samenaufsammlung ist es wichtig, sich darüber im Klaren zu sein, dass diese Daten jetzt und für die gesamte Aufbewahrungszeit der Samen (vielleicht 200 Jahre später) aussagekräftig sein müssen. Die Daten müssen daher objektiv sein und auf allgemeine Standards hin überprüft werden.

REGENERIERUNG VON SAATGUT

Für mehr Einzelheiten, *siehe Thema 9.*

- Die Nachgewinnung neuer Samen aus einer bestehenden Aufsammlung ist teuer, schwierig gut durchzuführen und sollte am besten, wenn möglich, durch eine große, qualitativ hochwertige Samenaufsammlung im Gelände vermieden werden. In einigen Fällen wird es besser sein, die Samen wieder in der freien Natur zu sammeln, als neues Saatgut aus der bestehenden Sammlung zu gewinnen.
- Die Mitarbeiter der Samenbank sollten ihr Bestes tun, um das Risiko einer Selektion, genetischen Drift oder Hybridisierung nahe verwandter Arten zu vermeiden, obwohl zu akzeptieren ist, dass Perfektion nur selten erreicht werden kann. Das verfügbare Wissen über die Bestäubung der Art muss beachtet werden (so kann z.B. fremdbestäubten Arten keine Selbstbestäubung aufgezwungen werden, und die genetische Isolierung einzelner Aufsammlungen ist aufrecht zu erhalten). Daneben sollten schwache oder untypische Pflanzen nicht verworfen werden, da sie anderes genetisches Material enthalten können.
- Eine qualitativ hochwertige Kultivierung ist unabdingbar, um den Verlust von Individuen zu vermeiden (bei einem Wachstum unter ähnlichen Bedingungen wie am natürlichen Standort), und um den Samenertrag zu maximieren (durch Reduzierung von Wettbewerbsnachteilen und Optimierung des Blüten- und Samenansatzes).
- Im Idealfall sollten die Pflanzen wechselseitig bestäubt werden. Da das in den meisten Fällen zu zeitaufwändig ist und Kreuzungen in so vielen Kombinationen wie möglich notwendig sind, sollte die Bestäubung mit Pollen von möglichst vielen Elternpflanzen gewährleistet sein.
- Handbestäubung zu verschiedenen Zeitpunkten deckt frühe und späte Blüte ab.

- Wenn möglich, sollten die Samen verschiedener Mutterpflanzen getrennt aufbewahrt und gleiche Mengen jeder Aufsammlung für die Anzucht der nächsten Generation verwendet werden. Ist dieses nicht möglich, sollte von jeder Mutterpflanze die gleiche Menge an Samen geerntet und diese gemischt werden; die nächste Generation wird zufällig ausgewählt und sollte nicht weniger Individuen als die vorherige umfassen, um Flaschenhalseffekte zu vermeiden.
- Kulturbedingungen und Ergebnisse der Kultur werden vollständig dokumentiert.

SAMENWEITERGABE

Für mehr Einzelheiten, siehe Thema 10.

- Von den Aufsammlungen, von denen eine ausreichende Menge von Samen vorhanden ist, die akzeptable Keimraten haben und die sicher bestimmt sind, werden Listen erstellt; diese sollten keine Aufsammlungen von Arten, deren Sammlung Beschränkungen unterliegt, oder keine bekanntermaßen sehr invasiven Arten enthalten.
- Es ist wichtig, dass die Saatgutbank einen Grundbestand an Samen behält, der nicht weitergegeben wird. Dies wird entweder durch die physische Trennung der Schutz- (Basis-)sammlung von der genutzten (aktiven) Sammlung oder durch ein ausfallsicheres Kontrollsystem über den Bestand in der Datenbank erreicht.
- Aufgrund der nationalen Souveränität und der Eigentumsrechte bezüglich der genetischen Ressourcen werden normalerweise Samen unter der Bedingung einer rechtsverbindlichen Übereinkunft zur Materialabgabe (material transfer agreement, MTA) abgegeben. Diese Übereinkunft regelt die Verwendung der Samen, die mögliche Weitergabe der Samen an Dritte und die Verteilung der aus dem Nutzen hervorgehenden Gewinne.
- Pflanzengesundheit, CITES und die Habitatdirektive müssen beachtet werden, wenn das Material über nationale Grenzen gebracht wird.
- Proben sollten in einem Folienpaket versendet werden, beigelegt werden die Dokumentation der Akzession sowie die Keimungsdaten.
- Die Saatgutbank sammelt die Berichte der Empfänger und die Verwendung der abgegebenen Proben. Diese Informationen sind unabdingbar, um unmittelbar den Wert der Sammlungen in den Saatgutbanken zu demonstrieren. Wo möglich, erörtern die wissenschaftlichen Leiter der Samenbanken, wie und welche Aufsammlungen benötigt werden, um einen maximalen Gebrauch der Sammlungen zu erreichen.

EINFÜHRUNG

Ziel dieses Dokuments

Dieses Dokument soll die derzeit am besten verfügbaren Ratschläge für alle liefern, die in die Langzeitlagerung von Wildpflanzen-Samen involviert sind oder damit beginnen. Es ist eher als Leitfaden als ein beschreibendes Manual gedacht. Kuratoren seien detaillierte Handbücher empfohlen (Nutzpflanzensamen - Rao *et al.*, 2006; Baumsamen - Schmidt, 2000; Wildarten – CPC, 1986; Bacchetta *et al.*, 2008; Offord & Meagher, 2009); für einen detaillierten Hintergrundtext siehe Smith *et al.*, (2003) und insbesondere die Kapitel Terry *et al.* (2003). Es werden für Samenbanken, die Wildpflanzensamen lagern, Empfehlungen für alle Themenbereiche gegeben. Die Empfehlungen beruhen auf den Genbankstandards, die von der FAO / IPGRI (1994) publiziert wurden. Ferner wird hier die Möglichkeit gegeben, Themen für weitere Forschungen hervorzuheben.

Abgedeckte Themen

Samentrocknung, Kontrolle der Samenfeuchtigkeit, Verpackung, Samenlagerung, Samenkeimung, Überprüfung der Bestimmung, Dokumentation, Samenregenerierung und Samenweitergabe (siehe Abbildung 1 für die Abfolge der Tätigkeiten in einer recht typischen Saatgutbank für Wildpflanzen. Abbildung 2 zeigt diese Tätigkeiten in Beziehung zum Aufbau einer Saatgutbank).



Abbildung 1 Saatgut in der Langzeitlagerung. (© RBGK)

Abbildung 2	Wesentliche, verallgemeinerte Arbeitsabläufe in einer Saatgutbank (aus Smith et al., 2003)
Planung und Sammlung	<p>Planung und Beantragung der Sammelgenehmigungen</p> <p>↓</p> <p>Sammlung der Samen und Herbarbelege im Feld, Dokumentation der Daten im Gelände</p> <p>↓</p> <p>Rasches Versenden der Samen zur Saatgutbank</p>
Aufbereitung und Testen	<p>↓</p> <p>Dokumentation jeder Akzession</p> <p>↓</p> <p>Abschätzen der wahrscheinlich benötigten Lagerbedingungen für die Samen (wenn unbekannt)</p> <p>↓</p> <p>Abschätzung der voraussichtlichen Lagerungsbedingungen für das Saatgut(wenn unbekannt)</p> <p>↓</p> <p>Samenreinigung¹</p> <p>↓</p> <p>Röntgenanalyse oder Schnitttest</p> <p>↓</p> <p>Bestimmung der Samenanzahl</p> <p>↓</p> <p>Trocknung</p> <p>↓</p> <p>Bestimmung der Samenfeuchte</p> <p>↓</p> <p>Erster Keimungstest²</p>
Lagerung und Verwendung	<p>↓</p> <p>Verpackung und Abpacken einer Sicherheitsdublette³</p> <p>↓</p> <p>Lagerung unter kalten Bedingungen</p> <p>↓</p> <p>Charakterisierung und Beurteilung⁴</p> <p>↓</p> <p>Versand der beschrifteten Teilproben an die Nutzer (im Laufe der Zeit)</p> <p>↓</p> <p>Wiederholungen der Keimungstests (im Laufe der Zeit)</p> <p>↓</p> <p>Regenerierung / Vermehrung der Sammlungen (wenn notwendig)⁵</p>

1 Manchmal werden die Samen vor der Reinigung eine Weile getrocknet. Kleine Proben können zu diesem Zeitpunkt vervielfacht werden, mit anschließender gleicher Verfahrensweise wie bei Aufsammlungen im Gelände.

2 Dieser Schritt wird manchmal erst nach der Einlagerung durchgeführt, wenn eine Bestätigung benötigt wird, dass die Samen sowohl Austrocknung als auch Gefrieren überleben. Die Proben werden dazu in einen wieder verschließbaren Behälter gelegt.

3 Die Duplikate sollten gut entfernt von der Saatgutbank aufbewahrt werden.

4 Soweit erforderlich.

5 Arbeitsschritte nach der Ernte für im Gelände gesammeltes Material.

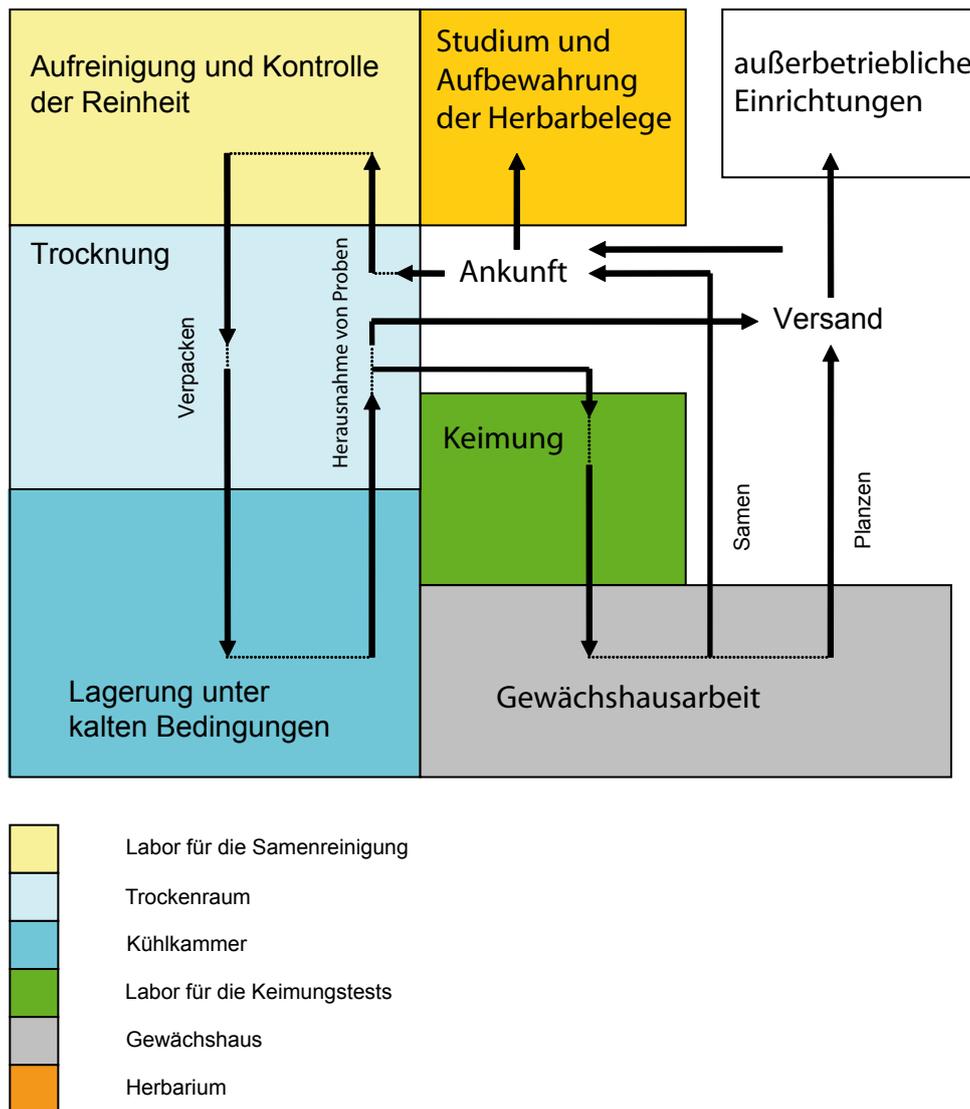


Abbildung 3 Grafik der Hauptarbeitsabläufe und Einrichtungen einer Saatgutbank.

THEMA 1. SAMENAUFREINIGUNG

Zusammenfassung von Gianni Bedini (Botanischer Garten Pisa) auf der Grundlage der Erfahrungen von UVEG, MNHN, RBGK, dem Botanischen Garten und anschließenden Diskussionen.

Allgemeine Bemerkungen

Bei der Samenreinigung werden alle Teile und Gewebe rund um den Samen herum entfernt, sowie auch nicht-pflanzliches Material (z.B. anhaftende Insekten oder Bodenpartikel) und Samen von anderen Arten (siehe MSBP Technical Information Sheet 14 <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/14-Seed%20cleaning.pdf>). Eine sorgfältige und fachgerechte Reinigung der Samen ist zeitaufwändig und erfordert Erfahrung, erheblichen Laborraum und spezielle Ausrüstung. Sie dient mehreren Zielen:

- Die Samenreinigung spart Platz in der Gefriertruhe oder in der Kältekammer. Werden die Samen vor dem Trocknen gereinigt, spart dieses ebenfalls Platz und verkürzt die Trocknungszeit im Trockenraum bzw. in der Trockenkammer.
- Die Samenreinigung hilft, die Samenaufsammlung visuell auf taube, unreife, beschädigte oder befallene Samen (die für Artenschutz Zwecke nutzlos sind) zu überprüfen.
- Die Samenreinigung entfernt Krankheitserreger (Pilze, Bakterien und Viren), die eher in den Pflanzenresten als in den Samen mitgeführt werden. So wird, wenn die Samen für die Nutzer versandt werden, die Einhaltung von Bestimmungen zur Pflanzengesundheit einfacher.
- Die Samenqualität kann besser bei gereinigten als bei ungereinigten Samenaufsammlungen bestimmt werden.

Im Idealfall werden die Samen gründlich gereinigt, bis alle anhaftenden Pflanzenteile entfernt sind. Das ist nicht bei allen Arten möglich, z.B. bei bestimmten Fruchttypen oder kleinen Samen. Bei aufspringenden Früchten bzw. großen Samen ist die Samenreinigung relativ einfach. Jedoch ist es zuweilen nicht in einer angemessenen Zeit zu schaffen, winzige Samen, die in Größe, Form und Dichte Resten des Perikarps gleichen, von den Samen zu trennen. Auch kann die Isolierung von Samen aus Schließfrüchten (z.B. geflügelte Früchte, Achänen und Nüsse) zu lange dauern oder zur Beschädigung der Samen führen. In diesen Fällen wird es notwendig sein, die Aufsammlungen so einzulagern, wie man sie bekommen hat, und dieses in der Datenbank zu vermerken.

Samen von Wildpflanzen sollten in der Regel von Hand gereinigt werden, jedoch ist der Gebrauch von bestimmten Werkzeugen für die Aufreinigung akzeptabel. Ein automatisches Vorgehen, wie es für den Großteil des Saatgutes in Landwirtschaft, Gartenbau und Forstwirtschaft üblich ist, ist für die meisten der kleinen und z.B. in Größe und Form variablen Samen der Wildpflanzen nicht geeignet. Die Zeit, die benötigt wird, um ein Gerät zwischen den einzelnen Proben zur Vermeidung von Verunreinigungen zu reinigen, steht in keinem Verhältnis zu der großen Zahl kleiner Proben. Manche Aufsammlungen, insbesondere solche, die von bedrohten Arten stammen, umfassen manchmal nur eine kleine Anzahl von Samen. Weiterhin müsste die Ausrüstung auf jede der verschiedenen Arten abgestimmt werden und kann nicht die große Variabilität von Frucht- bzw. Samenform, -größe und -gewicht innerhalb einer Probe bewältigen. Nach Studien mit Nutzpflanzensamen können Geräte die Samen erheblich beschädigen, so dass deren Langlebigkeit vermindert wird.

Für das Reinigen von Wildpflanzensamen wird mehr Geschick benötigt, als viele annehmen. Die Mitarbeiter brauchen Kenntnisse der Samen- und Fruchtmorphologie der Pflanzenfamilien. Sie müssen wissen, wie die Strukturen unter dem Mikroskop zu interpretieren sind, so dass die Techniken, die für die Aufreinigung angewendet werden, die für die Lagerung unnötigen Strukturen entfernen und dennoch keinen Schaden verursachen. Das Wesentliche einer guten Samenreinigung ist, die Techniken für verschiedene Typen von Früchten und Samen anzupassen.

Meistens wird das Reinigen der Samen durch das Trocknen erleichtert. Ausnahme sind fleischige Früchte, bei denen das Herauslösen der Samen vor dem Trocknen angebracht ist.

Während eine einfache Vorreinigung gleich nach dem Sammeln im Feld stattfinden kann, sollten die meisten Arbeiten besser in einem Labor durchgeführt werden, das mit angemessener Arbeitsfläche und Staubschutz und folgender Ausrüstung ausgestattet ist:

- Siebe, Stopfen und Bürste
- Staubabzug und / oder -masken
- Gummihandschuhe
- Reinigungsmaschine (mit Gebläse)
- Stereolupe & Präparierbesteck
- Waschbecken
- Abfallentsorgung



Abbildung 4 Labor für die Reinigung der Samen. (© RBGK)

THEMA 1A. AUSSTATTUNG UND ALLGEMEINE ARBEITEN

Allgemeine Bemerkungen

Siebe, Stopfen und Bürste

Im Allgemeinen werden in Saatgutbanken rostfreie Stahlsiebe mit verschiedenem großem Drahtgeflecht verwendet. Sie erlauben, in zwei oder mehreren Durchgängen die Samen von den Verunreinigungen zu trennen. Objekte, die größer als die Siebweite sind, bleiben in dem Sieb, während die anderen hindurch fallen. Sind die Abfallpartikel größer als die Samen, kann ein Sieb mit einer Maschenweite, die etwas größer als die Samen ist, benutzt werden, um den Abfall im Sieb und die Samen in einer Schale unter dem Sieb zu sammeln. Sind umgekehrt die Samen größer als der Abfall, dann werden in einem Sieb, dessen Maschenweite etwas kleiner als der Samendurchmesser ist, die Samen gesammelt, während der Abfall hindurch fällt. Eine Kombination von Sieben mit verschiedener Maschenweite kann genutzt werden, um die Samen von verschiedenem großem Abfall zu trennen. Diese Methode funktioniert nicht, wenn Samen und Abfall gleich groß sind. In diesem Fall werden Samen und Pflanzenreste zusammen eingelagert oder die Samen mit einer anderen Methode vom Rest getrennt.

Die ungereinigte Samenaufsammlung kann mit einem Gummistopfen vorsichtig in einem Sieb gerieben werden. Das Reiben hilft, den Abfall zu zerbrechen, um ihn durch das Gitter zu sieben, aber kräftiges Reiben kann den Samen durch Quetschen oder Brechen beschädigen. Sind die Samen brüchig, können sie in der Hand gerieben werden; in diesem Fall sollte der Mitarbeiter Handschuhe aus Latex oder PVC tragen, um die Finger zu schützen und gleichzeitig noch die Samen unter den Fingerspitzen ausreichend zu spüren.



Abbildung 5 Reinigung der Samen mit Hilfe eines Siebes und eines Stopfens. (© RBGK)

Die Samen müssen mit einer Stereolupe auf mögliche Schäden hin untersucht werden: wenn Schädigungen wie übermäßiger Abrieb der Samenschale, ein Knicken längerer Karyopsen der Poaceen oder Achänen der Asteraceen auftreten, sollte vorsichtiger gerieben werden. Es ist auch wichtig, die verschiedenen Siebfractionen zu untersuchen: liegt eine Mischung aus Pflanzenresten und intakten Samen vor, muss erneut gesiebt werden.

Siebe, Schalen und Arbeitsflächen müssen zwischen der Bearbeitung verschiedener Samenaufsammlungen sorgfältig gereinigt werden, um Verunreinigungen zu vermeiden. Siebe werden am besten mit einer Stahlbürste gereinigt.

Staubabzug und / oder -Masken

Insbesondere das Sieben oder Worfeln trockener Samen oder Früchte verursacht eine Menge Staub, bestehend aus feinen Partikeln, die von den Mitarbeitern eingeatmet werden oder sich auf den Laborgeräten ablagern können. Zuweilen kann dieser Staub Lungenirritationen oder Allergien verursachen. Daher muss die Samenaufreinigung unter einem Abzug mit einem Staubfilter oder in einem abgeschlossenen Raum durchgeführt werden, in dem die Mitarbeiter Staubmasken (mit einem geeigneten Standard, z.B. EN 149: 2001 FFP3) tragen. Natürlich ist der Schutz nur so gut wie der Filter, daher sollten die Filter in den Abzügen und in den Staubmasken regelmäßig ausgetauscht werden.

Reinigungsmaschine (mit Gebläse)

Mit Hilfe dieses Gerätes werden die Samen von den Pflanzenresten aufgrund verschiedener Dichte getrennt. Das Gerät produziert einen regulierbaren Luftstrom, der durch die auf einem Netz liegende Samenaufsammlung und einen anschließenden Hohlzylinder geblasen wird. Der Luftstrom ergreift das leichte Material, das durch den Zylinder geblasen und in einem Gefäß an der Spitze des Zylinders gesammelt wird, während das schwere Material in dem Zylinder verbleibt. Das Gerät basiert auf dem gleichen Prinzip wie ein Worfler, ist aber zuverlässiger, weil der Luftstrom in der gewünschten Stärke eingestellt werden kann.

Es ist wichtig, zu überprüfen, ob die Trennung so effektiv und praktikabel wie möglich ist, alle richtig geformten Samen auf dem Netz verbleiben und alle Pflanzenreste (d.h. ohne möglicherweise lebende Samen) im Abfallbehälter landen. Dies wird durch Versuch und Irrtum mit einer präzisen Regulierung des Luftstroms erreicht. Mit einer kleinen Probe wird zunächst der Luftstrom schwach eingestellt, gerade so viel, dass einige Pflanzenreste im Abfallbehälter landen. Dieses kann mit einem Blick durch den normalerweise aus transparentem Material gebauten Zylinder beurteilt werden. Der Abfall wird anschließend mit einer Stereolupe auf gesunde Samen hin untersucht. Wenn keine Samen im Abfall landen, wird der Luftstrom um einen kleinen Schritt verstärkt und das Vorgehen wiederholt. Wenn normal geformte Samen Abfallbehälter gefunden werden, muss der Luftstrom zur vorherigen Einstellung zurückgedreht werden. Diese Methode kann im Anschluss an den Siebvorgang sehr effektiv sein.

Wie bei den anderen Techniken müssen die Geräte (Korb, Zylinder, Abfallbehälter) sorgfältig zwischen den einzelnen Samenaufsammlungen gereinigt werden, um Verunreinigungen der Proben untereinander zu vermeiden. Die Geräte können sich aufgrund der Reibung des Luftstroms statisch aufladen. Daher werden antistatische Kleidung oder ein entsprechendes Spray empfohlen.



Abbildung 6 Abzug für die Reinigung der Samen.
(© RBGK)



Abbildung 7 Binokular. (© RBGK)



Abbildung 8 Eimer für zu verbrennende Pflanzenabfälle. (© RBGK)

Stereolupe & Präparierbesteck

Eine Stereolupe ist für zahlreiche Arbeiten, die während der Samenreinigung anfallen, nützlich, einschließlich der Schnittproben und der Überprüfung der Abfälle auf intakte, lebensfähige Samen hin.

Um die Anzahl der tauben oder innen beschädigten Samen zu ermitteln (d.h. Samen, bei denen das Endosperm und/oder der Embryo fehlen oder gebrochen sind), werden die Samen geschnitten. Da dieser Test die Samen zerstört, wird er nur bei einer kleinen Teilprobe der Samenaufsammlung durchgeführt. Die Samen werden mit einem Skalpell oder anderem geeigneten Werkzeug durchgeschnitten und auf ein intaktes Endosperm und einen vollständig ausgebildeten Embryo hin überprüft. Ist das Verhältnis von tauben zu gesunden Samen sehr hoch, z.B. >50%, sollte die Probe nach Möglichkeit noch einmal gereinigt werden.

Waschbecken

Samen, die aus fleischigen Früchten herausgelöst wurden, sollten rasch gewaschen werden, um anhaftende Reste des Perikarps zu entfernen (s. unten). Auch wenn für Saatgutbanken im Allgemeinen nicht empfohlen, kann Wasser genutzt werden, um Samen zu trennen: taube Samen schwimmen, gesunde Samen sinken ab.

Abfallentsorgung

Pflanzenreste können Krankheitskeime und lebende Samen invasiver Arten enthalten. Verarbeitet die Saatgutbank exotisches Material, ist besondere Vorsicht geboten. Gelangen die Krankheitskeime bzw. die Samen invasiver Arten in die Umwelt, kann dies eine ernsthafte Bedrohung für das heimische Ökosystem werden. Daher sollten alle Pflanzenreste in der Saatgutbank sorgfältig verpackt werden. Eine gute Möglichkeit ist, sie in Plastiktüten in Abfalleimern, die deutlich für Pflanzenreste gekennzeichnet sind, zu sammeln. Sind die Tüten gefüllt, werden sie dicht verschlossen und zu einer amtlich zugelassenen Abfallentsorgung geschickt. Eine Verbrennung nach medizinischen Standards ist der sicherste Weg, um die Ausbreitung lebenden Materials zu verhindern und sollte, wo möglich, durchgeführt werden.

Reinigung fleischiger Früchte

Unreife Früchte sollten unter hoher Luftfeuchtigkeit nachreifen können, bevor die Samen extrahiert und getrocknet werden. Die Samen werden durch Aufschneiden, Spalten, Quetschen oder Drücken der Früchte durch ein Sieb isoliert. Anschließend können, wenn nötig, Reste des Perikarps mit lauwarmem Wasser abgewaschen werden. Die Samen werden dann in einer dünnen Schicht ausgebreitet und in den Trockenraum gebracht. Bedeckt eine Schleimschicht die Samen, kann diese nach dem Trocknen einfach durch vorsichtiges Reiben mit der Hand entfernt werden.

Spezialfall 1: klebriges Fruchtfleisch

Daphne alpina subsp. *alpina* entwickelt kleine Steinfrüchte mit wenig, aber sehr klebrigem Fruchtfleisch. Drückt man die Steinfrüchte durch ein Sieb, werden die Kerne mit anhaftenden klebrigen Perikarpresten herausgedrückt, so dass in Folge die Kerne in großen Klumpen aneinanderkleben. Das klebrige Fruchtfleisch löst sich nicht auf und kann nicht mit Wasser entfernt werden. In diesem Fall können die Kerne so lange in Asche gewälzt werden, bis sie vollständig von dieser bedeckt sind. Dann ist das Fruchtfleisch weniger klebrig und kann entfernt werden, indem man die Kerne vorsichtig auf einem Sieb rollt, dessen Maschenweite kleiner als der Durchmesser der Kerne ist.

Spezialfall 2: Überreife Früchte im Gelände

Fleischige Früchte (z.B. Beeren der Solanaceae) benötigen eine teilweise oder vollständige Reinigung, wenn sie überreif sind oder während des Sammelns beschädigt oder zerdrückt wurden, um eine Fermentation vor der eigentlichen Reinigung zu vermeiden. Mit Hilfe eines Siebes und kaltem, fließendem Wasser wird soviel Fruchtfleisch wie möglich von den Samen entfernt. Anschließend sollten die Samen im Trockenraum oder –während des Geländeaufenthaltes – auf einem feinen Drahtgeflecht oder dickem Filterpapier gelagert werden, bis ihre Oberfläche trocken ist und sie, in Gewebetüten verpackt, transportiert werden können.

Spezialfall 3: Früchte / Samen zum Zeitpunkt der Ausbreitung unreif

Bei einigen krautigen Waldarten (z.B. *Anemone nemorosa*) und aquatischen Arten (z.B. *Caltha palustris*) werden auch noch unreife Samen ausgebreitet. In diesem Fall sollten die Samen nicht direkt nach dem Sammeln aus den Früchten gelöst werden, sondern die ganzen Früchte bzw. Fruchtstände unter hoher Luftfeuchtigkeit nachreifen können.

Reinigen trockener Fruchtstände

Trockene Fruchtstände werden im Allgemeinen mit Hilfe von Sieben und Stopfen gereinigt. Fruchtstände werden in ein Sieb mit geeigneter Maschenweite gelegt, durch das die Samen nicht durchfallen können, und werden dann mit dem Stopfen über das Sieb gerollt, bis die Samen freigelassen werden und die trockenen Pflanzenreste in kleine Stückchen zerbrochen werden, die durch das Sieb fallen.

Ist man dabei zu energisch, kann der Stopfen die Samen beschädigen. Es ist daher wichtig, die Samen während des Reinigens zu kontrollieren; wird irgendein Schaden festgestellt, muss vorsichtiger gerieben werden. Dies trifft vor allem für brüchige Samen zu, die auseinander brechen können, wenn sie gegen das Sieb gepresst werden. In diesem Fall sollten die Samen mit den Händen gerollt werden. PVC- oder Latexhandschuhe können getragen werden, um die Finger zu schützen.

Es wird solange gesiebt, wie es angemessen ist. Wenn weiteres Reinigen die Samen beschädigt oder zu zeitaufwändig ist, dann kann eine andere Technik, wie z.B. das Worfeln der Probe, angewendet werden, oder die Aufsammlung wird unfertig in der Bank eingelagert und dieses in der Datenbank entsprechend vermerkt. Wenn angebracht, können Teilsammlungen gereinigt werden, wenn sie für Keimungstests oder eine Weitergabe aus der Bank entnommen werden.

Spezialfall 1: aufspringende trockene Früchte

Werden Samen von vollreifen, trockenen und großen Früchten gesammelt, werden die Samen rasch und zügig durch vorsichtiges Öffnen der Früchte per Hand entnommen. Kapseln, Schoten oder Hülsen können entlang ihrer natürlichen Naht vorsichtig geöffnet und über einer Schale geschüttelt oder "gemolken" werden, um die Samen ohne Verunreinigungen aus den Früchten zu lösen. Mit einiger Vorsicht kann dieses auch schon im Feld geschehen. Plötzlich aufplatzende Früchte müssen in einer mit Papier bedeckten Schale oder Box aufbewahrt werden, um Verluste zu vermeiden.

Spezialfall 2: trockene Schließfrüchte

Schießfrüchte wie Nüsse, Achänen oder Flügelnüsse werden als Diasporen ausgebreitet und sollten als solche eingelagert werden. Generell sollte das Entfernen von Strukturen an der natürlichen Ausbreitungseinheit (Flügel, Haare, Vor- und Deckspelzen), vor allem, wenn sie mit der Diasporen verwachsen oder fest an sie angeheftet sind, mit Vorsicht geschehen oder besser vermieden werden, da der Samen dabei leicht beschädigt werden kann.

Röntgenanalyse

Die Röntgenanalyse von Samen ermöglicht es, die Aufsammlung auf taube, beschädigte oder befallene Samen hin zu überprüfen oder die Anzahl der Samen in Früchten festzustellen, aus denen die Samen nicht herausgelöst werden können. Sie ist eine Hightech-Alternative zum einfachen Schnitttest, benötigt eine spezielle Ausstattung (Röntgengerät) und, im Fall von Analoggeräten, Fotomaterial, Dunkelkammer und Lichtkasten sowie entsprechend ausgebildete Mitarbeiter. Im Vergleich mit dem einfachen Schnitttest ermöglicht die Röntgenanalyse eine schnellere, genauere und besser dokumentierte Überprüfung der Samen. Auch wenn die Samen nicht zerstört werden, wird aufgrund möglicher genetischer Schäden vorsorglich nur ein Teil der Aufsammlung untersucht, und dieser nicht in die Hauptprobe zurückgelegt. Die mit Röntgenstrahlen untersuchten Samen können für Keimungstest benutzt werden (die Ergebnisse dürften gleich oder schlechter sein als bei nicht analysierten Samen; mögliche genetische Veränderungen sind zu beachten).



Abbildung 9 Röntgenbild von leeren, von Maden befallenen und gesunden Samen von *Albizia bernieri*. (© RBGK)

Mögliche Bestandteile einer Samenaufsammlung:

	Bestandteil eines Tests zur Überprüfung der Lebensfähigkeit	Aussehen im Röntgenbild
Nicht-dormante* Samen	Ja	Gefüllt
Dormante* Samen	Ja – Zur Unterscheidung von toten Samen Durchführung des Tetrazoliumtests oder Beurteilung des Samens nach dem äußeren Erscheinungsbild	Gefüllt
Tote Samen	Ja	Gefüllt
Taube Samen	Nein – verwerfen	Leer
Samen mit Schädigung durch Insektenfraß	Nein – verwerfen, wenn nicht Schaden oberflächlich ist	Beschädigt
Pflanzenabfall	Nein – verwerfen	Pflanzenabfall

* für Definitionen [siehe Thema 6](#)

$\% \text{ Lebensfähigkeit} = (\text{Nichtdormante Samen} + \text{dormante Samen}) / (\text{Gesamtanzahl der Samen} - \text{taube Samen} - \text{Samen mit Schädigung durch Insektenfraß}) \times 100$

Schätzen der Samenanzahl

Das Schätzen der Samenanzahl ist wichtig, um die weitere Verwendung der Aufsammlung zu planen (Keimungstests, Bereitstellung von Duplikaten, Artenschutzmaßnahmen, Kultivierung und Samengewinnung etc.). Folgende Vorgehensweise wird empfohlen:

- Wiegen der gesamten Samenmenge
- Wiegen von fünf Proben à 50 Samen
- Berechnung des Durchschnittsgewichtes von 50 Samen
- Berechnung der oberen 95%-Konfidenzgrenze (upper confidence limit, UCL)
- Abschätzen der Samenanzahl (Gesamtgewicht der Probe /UCL) x 50

Zu beachten ist, dass die vorgeschlagene Vorgehensweise dazu führt, die tatsächliche Samenanzahl zu unterschätzen. Dieses ist einer Überschätzung der Samenanzahl vorzuziehen, die bei einer einfacheren Berechnung mit Hilfe des Gewichtes nur einer Teilprobe von 50 Samen, d.h. $(\text{Gesamtgewicht der Probe} / \text{Gewicht einer Teilprobe von 50 Samen}) \times 50$, leicht geschieht. In diesem Fall wird, wenn die Einzelprobe signifikant leichter als der Durchschnitt ist, das Gewicht der Gesamtprobe zu hoch berechnet.

THEMA 2. TROCKNEN DER SAMEN

Zusammenfassung geschrieben von Costantino Bonomi (MTSN), basierend auf dem Vortrag von Robin Probert (RBGK), weiteren Vorträgen von UPM and NBGB , und anschließender Diskussion.

Allgemeine Bemerkungen

Eine gute Trocknung ist bei den meisten Arten der Schlüssel für eine maximale Langlebigkeit der Samen¹. Es wird häufig angenommen, dass die Kühlung in einer Saatgutbank der wesentliche Punkt ist, jedoch verdeutlichen empirische Modelle die zentrale Bedeutung der Trocknung.



Abbildung 10 Reifestadien von Kapseln von *Fritillaria tubaeformis*, die den Zeitpunkt der Ausbreitung aufzeigen. (© MTSN)

THEMA 2A. HETEROGENITÄT DER PROBEN UND GESCHWINDIGKEIT DES TROCKENVORGANGES

Allgemeine Bemerkungen

Samen und Früchte sollten vollreif zum Zeitpunkt der natürlichen Ausbreitung gesammelt werden (Abbildung 10). Natürlich werden im Fall von spät reifenden Arten die Früchte manchmal viele Jahre vor dem natürlichen Ausbreitungsvorgang gesammelt. Das andere Extrem sind Arten, deren Früchte schlagartig und unvermittelt ausgebreitet werden, oder Arten wie z.B. die Orchideen, bei denen die Samen ausgebreitet werden, bevor sich die Kapsel vollständig geöffnet hat. In diesen Fällen müssen die Früchte gesammelt werden, bevor die Ausbreitung begonnen hat. Die Früchte können dann in einem Stoffbeutel, in dem die Samen aufgefangen werden, nachreifen.

Samen und Früchte der meisten Wildarten sind durch eine heterogene Reife gekennzeichnet. Dies birgt Probleme, wenn die Samen nach der Reife verschiedenen Behandlungen inkl. der Trocknung unterzogen werden. Schnelles Trocknen wird die Langlebigkeit von unreifen Samen und solchen Samen, die aus fleischigen Früchten entnommen wurden, erheblich reduzieren. Eine Anzahl von Publikationen (Hay & Probert, 1995, Probert & Hay, 2000, Probert *et al.*, 2007) zeigen übereinstimmend, dass sich die Samenqualität verbessert, wenn unreife Samen und Früchte verzögert oder verlangsamt getrocknet werden. Darüber hinaus hat eine aktuelle Publikation am

¹ Die meisten Pflanzenarten bilden Samen, die bei Vollreife austrocknungsresistent sind. Diese werden als "orthodox" bezeichnet. Für weitere Informationen über die Klassifikationen von Samen für die Einlagerung siehe das MSBP Technical Information Sheet 10 <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/10-Desiccation%20tolerance.pdf>; für weitere Informationen über den Effekt des Trocknens auf die Langlebigkeit der Samen siehe Pritchard & Dickie, 2003; zur Überprüfung, ob etwas über den Status einer bestimmten Art bekannt ist siehe die Sameninformationsdatenbank der RBGK (Seed Information Database, Liu *et al.*, 2008: <http://kew.org/data/sid/>).

RBGK (Butler, *et al.*, 2009) gezeigt, dass unreife Samen bemerkenswert belastbar gegenüber Schwankungen der relativen Luftfeuchtigkeit sind und sich nicht nur nach Perioden mittlerer Luftfeuchtigkeit erholen, sondern auch den Reifungsprozess fortsetzen können, wenn sie wieder befeuchtet werden.

Empfehlungen

Es wird empfohlen, unreife Früchte (und damit auch Samen) 2-3 Wochen unter ähnlichen Bedingungen wie am Wuchsort nachreifen zu lassen. Gewöhnlich wird der Reifungsprozess durch einen Wechsel der Fruchtfarbe offenkundig, häufig von grün nach rot oder strohfarben. Auch die Samenfarbe in den Früchten wechselt während des Prozesses, häufig von einer weißlichen zu einer dunkleren Farbe.

Für Samen, die aus reifen, fleischigen Früchten entnommen werden, empfiehlt sich eine langsame erste Trocknung unter Raumbedingungen (1-2 Wochen bei 60-70 % rel. Luftfeuchte und 20-25 °C), alle anderen vollreifen Früchte können wie unten angegeben getrocknet werden.

Wo möglich, werden Samen oder Früchte, die sich offensichtlich in verschiedenen Reifestadien befinden, in verschiedene Teilsammlungen aufgeteilt. Unreife Samen lässt man nachreifen und trocknet sie wie oben geschildert, reife Samen und Samen aus reifen, nicht-fleischigen Früchten sollten sofort (unter den Bedingungen wie unten angegeben) getrocknet werden, um Verluste der Keimfähigkeit zu minimieren.

Es gibt Unsicherheiten über die Geschwindigkeit, mit der verschiedene Samen unter den Bedingungen im Trockenraum die Gleichgewichtsfeuchte erreichen. Die Mitarbeiter der Samenbank sollten besonders darauf achten, daß Samen mit dicker Samenschale vor der Einlagerung in die Saatgutbank wirklich trocken sind.

Forschungsprioritäten

Weitere Untersuchungen über die Trocknungsrate von Samen verschiedener Arten sind sinnvoll und wünschenswert.

THEMA 2B. LUFTZIRKULATION

Allgemeine Bemerkungen

Mit Ausnahme von Samen, die aus fleischigen Früchten extrahiert wurden (siehe oben), sollte die Trocknung halbwegs schnell geschehen, um einerseits die Zeit zu minimieren, die die Samen hoher Luftfeuchtigkeit ausgesetzt sind, und um andererseits den Durchsatz der Trocknungseinrichtung zu maximieren. Die Trocknungsrate wird von der Geschwindigkeit des Luftstroms, der über die Oberfläche des Samens streicht, beeinflusst. Ein schnellerer Luftstrom entfernt Feuchtigkeit von der Oberfläche des Samens und maximiert den Feuchtigkeitsgradienten (Wasserpotential) zwischen der Außen- und der Innenseite des Samens. Werden in einer großen oder verschlossenen Tüte mit wenig Luftzirkulation Samen dicht zusammen gelagert, kann sich in der Tüte viel Feuchtigkeit sammeln, die für die Langlebigkeit der Samen schädlich ist, auch wenn die Tüte unter geeigneten trockenen Bedingungen aufbewahrt wird.

Empfehlungen

Um die Trocknung zu beschleunigen, sollten die Samen in einer dünnen Schicht an der Luft ausgebreitet werden. Luftzirkulation durch ein Gebläse unterstützt diesen Prozess.

THEMA 2C. ÜBERWACHUNG DER TROCKNUNG

Allgemeine Bemerkungen

Am besten wird die relative Gleichgewichtsfeuchte (eRH), die sich in den Samen in einem geschlossenen Raum einstellt, als Meßwert für die Trocknung verwendet, besser als der Feuchtigkeitsgehalt des Samens (mc). Die eRH gibt einen Wert, der unabhängig vom Ölgehalt des Samens ist.

Ist der Ölgehalt der Samen bekannt, kann der Feuchtigkeitsgehalt vom eRH-Wert abgeleitet werden (siehe <http://data.kew.org/sid/viability/mc1.jsp>). Dadurch kann die direkte Messung des Feuchtegehalts vermieden werden, durch die die Samen zerstört werden. Ist der Ölgehalt unbekannt, muss der Feuchtegehalt allerdings direkt gemessen werden.

Zur Messung der relativen Gleichgewichtsfeuchte (eRH) generell siehe Probert *et al.* (2003) und Cromarty *et al.* (1990) zur Umrechnung der eRH in den Feuchtigkeitsgehalt (mc).

Empfehlungen

Um den Trocknungsprozess zu kontrollieren, sollte die relativen Gleichgewichtsfeuchte (eRH) verwendet werden (s. unten).

THEMA 2D. TEMPERATUR- UND FEUCHTIGKEITS BEDINGUNGEN FÜR DEN TROCKNUNGSPROZESS

Allgemeine Bemerkungen

Das Trocknen bei heißen oder warmen (>40 °C) Temperaturen insbesondere über längere Zeiträume wird nicht empfohlen. Es gibt einige Anhaltspunkte, dass sorgfältig überwacht Trocknen bei hohen Temperaturen, so das Trocknen an der Sonne, nicht schädlich ist. Es besteht jedoch die Gefahr, dass die Samen zu lange hohen Temperaturen ausgesetzt sind, wenn sie den gewünschten Trocknungsgrad bereits erreicht haben. Ferner können große Samen durch Risse geschädigt werden, wenn sie bei hohen Temperaturen getrocknet werden. Die Temperaturen zum Trocknen der Samen liegen in den meisten Saatgutbanken zwischen 10 und 20 °C. Es gibt unterschiedliche Meinungen über die Höhe der Restfeuchte, die die Samen vor der Einlagerung aufweisen sollen und daher auch über die relative Luftfeuchtigkeit, die für das Trocknen geeignet ist. Viele Samenbanken lagern Samen ein, die bis zu einer Gleichgewichtsfeuchte bei 15% relativer Luftfeuchtigkeit getrocknet wurden (das entspricht einer Restfeuchtigkeit im Samen von 3.5 – 6.5 %, abhängig vom Ölgehalt). Andere Samenbanken arbeiten unter noch niedrigeren Bedingungen (Pérez-García *et al.*, 2007 & 2008). Andere trocknen bei etwas höherer Luftfeuchtigkeit (20 - 25 %), weil das Wasserpotential (equivalent zu eRH) der verpackten Samen, die bei 15 % RH getrocknet wurden, theoretisch auf einen für die Langzeitlagerung bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt suboptimalen Wert sinken könnte (Vertucci *et al.*, 1994). Für dieses Problem wird es keine einheitliche Lösung geben. Einige der unterschiedlichen Meinungen beruhen darauf, dass für die Versuche verschiedene Methoden und Arten angewendet wurden. In jedem Fall bleibt das Problem der optimalen Trocknung eine der noch nicht beantworteten großen Fragen in der Langzeitlagerung von Samen.

Empfehlungen

In einer Saatgutbank kann man nicht darauf warten, bis die Lösung für den optimalen Feuchtigkeitsgehalt der jeweiligen Samen gefunden wird. Es ist momentan nicht möglich, einen einzigen Feuchtigkeitsgehalt für alle Fälle zu empfehlen. Daher wird, bis neue Daten verfügbar sind, empfohlen, die Samen bis zu einer Gleichgewichtsfeuchte von 15 % relativer Luftfeuchtigkeit

(ungefähr 3.5 – 6.5 % Feuchtigkeit in Abhängigkeit vom Ölgehalt des Samens) bei 10-20 °C zu trocknen, wenn sie bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt gelagert werden sollen. Ultratrocknung unterhalb von diesem Wert wird empfohlen, wenn die Samen über dem Gefrierpunkt gelagert werden.

Forschungsprioritäten

Weitere Untersuchungen zum optimalen Feuchtigkeitsgehalt von Samen für die Langzeitlagerung sind wünschenswert. Natürlich kann es gut sein, dass der für die Lagerung optimale eRH-Wert bei verschiedenen Arten unterschiedlich ist.

Es sollte ein gemeinsames Experiment durchgeführt werden, um vergleichende Daten für die Samenlagerung bei verschiedenen Feuchtigkeitsgehalten (am trockeneren Ende der Skala) zu erhalten. Damit kann festgestellt werden, ob ein genereller Standardwert für verschiedene Artengruppen oder für Arten aus unterschiedlichen biogeographischen Regionen, die verschiedene ökologische Ansprüche haben, empfohlen werden kann. Der Fokus dieses Experiments sollte auf Arten liegen, die nach dem vorliegenden Kenntnisstand in der Saatgutbank-Lagerung kurzlebig sind. Die potentielle Langlebigkeit dieser Arten ist wahrscheinlich recht stark von verschiedenen Bedingungen beim Trocknen abhängig.

Samenbanken sollten ihre Daten über die Lagerung inklusive der Lagerbedingungen entweder in durch Fachleute begutachteten Zeitschriften, technischen Berichten oder online, z.B. der Sameninformationsdatenbank (Seed Information Database, Liu *et al.*, 2008: <http://kew.org/data/sid/>) veröffentlichen.

Vorgeschlagenes Experiment

Jeder Partner des Experimentes sollte mindestens eine Art (wenn möglich, mehrere Arten) mit kurzlebigen orthodoxen Samen, bekannten Keimungsbedingungen und großem Probenumfang auswählen. Diese Samenaufsammlungen sollten unter verschiedenen Bedingungen getrocknet, kontrolliert gealtert und anschließend Keimtests unterzogen werden. Zum Beispiel können Samenaufsammlungen bei drei verschiedenen Feuchtigkeiten (25, 15 und 5 % relative Luftfeuchtigkeiten) und bei einer gebräuchlichen Temperatur (15 °C) getrocknet werden. Diese Feuchtigkeitslevel stimmen mehr oder weniger mit denen der von verschiedenen Saatgutbanken überein, nämlich dem National Center for Genetic Resources Preservation bei Fort Collins, USA, den weithin gebräuchlichen Saatgutstandards der FAO / IPGRI (1994) und der von verschiedenen Saatgutbanken verwendeten Ultratrocknung (z.B. UPM in Madrid). Die Samen werden dann bei drei verschiedenen Temperaturen (30, 5 und -20 °C) gelagert und ihre Lebensfähigkeit über zehn Jahre im Abstand von 6 Monaten mit 4 Ansätzen á 25 Samen / Test überprüft. Die von jedem Partner benötigte Samenmenge pro Art ist $3 \times 3 \times 21 \times 4 \times 25 = 18,900$ Samen. Anschließend können die P50-Werte ermittelt und die verschiedenen untersuchten Arten miteinander verglichen werden.



Abbildung 11 Trockenkammer. (© UPM)



Abbildung 12 Trockenraum. (© MAICH)

Allgemeine Bemerkungen

Folgende Methoden werden zum Trocknen der Samen verwendet:

(a) Verschlossene Behälter mit Trockenmitteln. Trockenmittel sind hygroskopische Substanzen wie z.B. Silikagel, die genutzt werden, um die Feuchtigkeit aus der Luft zu entfernen. Diese Methode ist billig, aber der endgültige Feuchtigkeitsgehalt der Samen kann nur grob (oder mit aufwändigen Methoden im Labor) kontrolliert werden und hängt vom Verhältnis Silikagel – Samen, dem Feuchtigkeitsgehalt des Silikagels sowie dem Zeitfaktor ab. Sie kann für relativ kleine Aufsammlungen genutzt werden.

(b) Trockenkammern. Samen können effektiv in einer gekühlten Trockenkammer oder einem gekühlten Trockenschrank getrocknet werden, in dem die Feuchtigkeit kontrolliert niedrig gehalten wird. Die Bedingungen werden mit einem Datenlogger kontrolliert. Damit ist ein kleiner Trockenraum (s. unten) vorhanden. Die Luft lässt man mit Hilfe eines Gebläses zirkulieren. Bei dieser Methode können der endgültige Feuchtigkeitsgehalt recht genau kontrolliert und größere Samenmengen als bei (a) getrocknet werden.

(c) Trockenraum. Ein Trockenraum ist die teuerste Variante, die für Saatgutbanken, in die jährlich viele Samenaufsammlungen kommen, empfehlenswert ist. Die relative Luftfeuchtigkeit und die Temperatur des Raumes können mit Hilfe eines Absorptionsmittels und einer Klimaanlage auf bestimmte Werte eingestellt werden. Die Trockenanlagen enthalten normalerweise Silikagel oder Lithiumchlorid (LiCl) als Trockensubstanz. Die Trockenanlagen sind mit der Klimaanlage verbunden und diese über eine Düse, die den Luftstrom produziert, mit einem gut isolierten Raum. Ein separater Satz Düsen erlaubt, die Feuchtigkeit nach draußen zu leiten, wenn der Trockner automatisch regeneriert wird. Die Häufigkeit der Regeneration des Trockenmittels wird durch Kontrollen anhand eines Hygrometers im Trockenraum ermittelt. Die Aufsammlungen können im Trockenraum verbleiben, bis die Mitarbeiter die Bearbeitung der Aufsammlung fortsetzen können. Der Leser sei bezüglich der Ausgestaltung eines Trockenraums auch an Linington (2003) (http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_33.pdf) verwiesen.



Abbildung 13 Behälter zum Trocknen mit Silikagel. (© RBGK)

(d) Geschlossene Behälter mit einer gesättigten Salzlösung. Bestimmte Salzlösungen wie z.B. Lithiumchlorid in einer bestimmten Konzentration erzeugen in geschlossenen Räumen eine bestimmte relative Luftfeuchtigkeit. Diese wird durch die Aufnahme und Abgabe von Wasserdampf aktiv erhalten. Lithiumchlorid ist aufgrund seiner relativen Unabhängigkeit von Wasser für diesen Zweck besonders brauchbar. Samen, die in einem Behälter auf eine Ebene über die Salzlösung gelegt werden, trocknen bis zur Gleichgewichtsfeuchte bei der in dem Raum herrschenden Temperatur herunter. Diese Ausstattung empfiehlt sich für sehr kleine Samenmengen. Vorsicht ist aber geboten, dass die Salzlösung nicht verschüttet wird. Einige andere Chemikalien können gefährlich sein, so z.B. Ammoniumchlorid oder Natriumnitrit.

Empfehlungen

Eine warme Trocknung oder eine Trocknung im Ofen bei Temperaturen über 35 °C wird nicht empfohlen.

Ein geeigneter Trockenraum, der auf eine bestimmte relative Luftfeuchtigkeit eingestellt werden kann, ist die beste Wahl. Die Trockenanlage ist die Schlüsseleinrichtung in einer modernen großen Samenbank, in die eine mittlere bis große Menge von Samen (wenige hundert bis mehrere tausend Akzessionen per Jahr) jährlich gebracht wird. Diese Lösung ist flexibel und kann an die meisten Einsatzfelder angepasst werden.

Gefriertrocknung wurde im Workshop kurz diskutiert, mit der Schlussfolgerung, dass über die Auswirkung dieser Technik noch keine hinreichenden Daten vorliegen. Ferner besteht in nassen Proben das Risiko des Gefrierens, das die Langzeitlagerung der Samen gefährden würde. Als Vorsichtsmaßnahme wird diese Methode zur Zeit nicht empfohlen.

Für Arbeiten im kleinen Maßstab mit wenigen Akzessionen (weniger als 100 im Jahr) wird die Trocknung mit Trockenmitteln wie Silikagel oder Kohle empfohlen. Alle Trockenmittel müssen vor dem Gebrauch im Ofen getrocknet und überprüft sowie während des Trocknungsprozesses aktiv gesteuert werden, um ihre Wirksamkeit zu sichern. Es gibt speziell angefertigte Schrankmodelle und Trockengeräte (für Details sind die RBGK zu kontaktieren) oder auch Trockenkits wie die Minisaatgutbank des RBGK (siehe: http://www.kew.org/shops/miniseedbank_standard.html), siehe auch die in UPM verwendeten Trockenschränke (http://www.etsia.upm.es/banco_germoplasma/inicio_bgv_archivos/Page497.htm).

Das Verhältnis von Trockenmittel zu Samen zur Trocknung der Samen auf einen sicheren Wert (und zur Vermeidung einer zu starken Trocknung) hängt von dem Feuchtigkeitsgehalt der Samen zu Beginn des Trocknungsprozesses ab. Frisch gesammelte Samen mit einer hohen Feuchtigkeit benötigen große Mengen Trockenmittel, das erneuert werden muss, bevor die Samen trocken sind. Daher wird empfohlen, die Samen erst unter Zimmerbedingungen für 2-3 Tage vorzutrocknen. Die Samen verlieren dann das freie Wasser, bevor sie im Trockenmittel getrocknet werden. Anschließend sollten die Samen in einer gleichmäßigen Schicht in einem verschließbaren Behälter über einer Lage des jeweiligen Trockenmittels ausgebreitet werden.

Die Wasserhaltekapazität der Trockenmittel ist verschieden. Bei einer Verwendung von Silikagel in einem Volumen-Verhältnis von 1:1 von Trockenmittel zu Samen sollten die Samen auf einen sicheren Feuchtigkeitsgehalt <30 % eRH heruntergetrocknet werden (Probert, 2003). Für Kohle wird ein Verhältnis von 3:1 benötigt.

Zusammenfassung geschrieben von Robin Probert (RBGK), basierend auf dem Vortrag von Costantino Bonomi (MTSN), einer Präsentation von PAV-UNI und der anschließenden Diskussion.

Allgemeine Bemerkungen

Die Einführung verlässlicher Sensoren für die relative Luftfeuchtigkeit in den letzten Jahrzehnten hat unsere Möglichkeiten verändert, die Feuchtigkeit an verschiedenen Schritten während der Sameneinlagerung zu überprüfen. Sensoren, die die relative Luftfeuchtigkeit überprüfen, sind das Herzstück des in Trockenräumen verwendeten Kontrollsystems und dienen dazu, zu warnen, wenn die Geräte ausfallen oder die Trocknungsbedingungen aus der erlaubten Spanne fallen. Aber wohl der wichtigste Fortschritt in der Technologie für die Saatgutlagerung der letzten Jahre ist der Routineeinsatz der Feuchtigkeitssensoren als Hilfsmittel zur Kontrolle der Samenfeuchte (siehe MSBP Technical Information Sheet 5. <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/05-eRH%20moisture%20measurement.pdf>). Diese Sensoren messen die relative Luftfeuchtigkeit im Gleichgewicht mit einer Samenprobe. Wenn nötig, kann die relative Gleichgewichtsfeuchte (eRH) in das Verhältnis zum Feuchtigkeitsgehalt des Samens gesetzt werden

Der Hauptvorteil dieser Methoden ist, verglichen mit konventionellen Methoden der Bestimmung der Samenfeuchte, dass dieser Test die Samen in der Regel nicht zerstört und so wertvolle Samen erhalten bleiben. Ein anderer Vorteil ist, dass der Messwert nicht vom Ölgehalt des Samens abhängig ist, weil Samen mit unterschiedlichem Ölgehalt, die unter den gleicher relativer Luftfeuchtigkeit und Temperatur in das Gleichgewicht gebracht wurden, einen verschiedenen Feuchtigkeitsgehalt, aber das gleiche Wasserpotential haben.

Die Verfügbarkeit der Geräte für die Messung der Samenfeuchte hat nicht zur Folge, dass konventionelle Methoden nicht mehr benötigt werden. Die gravimetrische Feuchtebestimmung (für allgemeine Informationen siehe ISTA, 2008) spielt in den meisten Saatgutbanken eine wichtige Rolle. Sie ist in Kombination mit der Gleichgewichtsfeuchte, bestimmt über eine weite Spanne von Feuchtigkeitsgehalten bei einer bestimmten Temperatur, die Basis für die Berechnung von Isothermen für die Absorption von Feuchtigkeit.

Inzwischen wird in Samenbanken zur Kontrolle des Feuchtigkeitsgehaltes von Samen während und nach dem Trockenprozess und in der Forschung eine Anzahl von relativ preiswerten handlichen Tischgeräten routinemäßig eingesetzt. Nur Taupunkthygrometer ermöglichen eine direkte Messung von psychrometrischen Parametern der Luft im Gleichgewicht, der Taupunkttemperatur (für weitere Diskussionen über die psychrometrischen Eigenschaften der Luft siehe Probert, 2003).

Andere Hygrometer beruhen auf der physikalischen oder chemischen Umkehr einer Substanz, die in direktem Zusammenhang mit der Feuchtigkeit (gegen einen geeichten Standard) steht. Solche Instrumente enthalten hydrolytische, belastbare und resistive Sensoren. Moderne Digitalhygrometer arbeiten mit einer Software, die die benötigten Einheiten nach psychrometrischen Prinzipien berechnet. Normalerweise werden die Werte in relativer Feuchtigkeit (% RH); Wasseraktivität (aw); Wasserpotential (MPa) oder Taupunkttemperatur (°C) angezeigt. Geräte mit einer für Samen oder anderes hygroskopisches Material konstruierten Probenkammer messen die Gleichgewichtsfeuchte (eRH) oder Wasseraktivität (identisch mit eRH, aber ausgedrückt in Skalenwerten von 0 bis 1).



Abbildung 14 Feuchtigkeitsreihe von Silikagel von voller bis zu geringer Wassersättigung (von links nach rechts) (© MTSN)

Empfehlungen

Hygrometer mit Messfühler

Meteorologische Hygrometer mit Messfühler können für die Messung der Gleichgewichtsfeuchte von Samen genutzt werden, vorausgesetzt, der Sensor hat einen luftdichten Verschluss am Ende des Fühlers und kann in einer geeigneten Probenkammer durch eine ebenfalls luftdichte Dichtung hindurch platziert werden.

Geschlossene Datalogger

Kleine Luftfeuchtigkeits- und Temperatur-Datalogger können genutzt werden, um die Gleichgewichtsfeuchte von Samenproben in einem geschlossenen Gefäß zu messen. Die Geräte werden zum Beispiel verwendet, um das Verhalten von Samensammlungen und Samenbehältern zu überwachen, die von Raumbedingungen in Temperaturen unter den Gefrierpunkt und zurück gebracht werden. Sie sind auch nützlich, um die Feuchtigkeit von Samensammlungen während eines Transportes zu überprüfen.

Zwischen die Samen in einer eigenen Baumwolltasche oder einige Sammlungen in einem Paket für den Versand gelegt, können Datalogger wichtige Informationen für die Erklärung der endgültige Qualität einer Samenaufsammlung, die in der Saatgutbank ankommt, liefern.

Preiswerte mechanische und elektronische Hygrometer

Mechanische und kleine elektronische Hygrometer können für unter 50 Euro gekauft werden. Auch wenn sie generell weniger genau sind, können diese Instrumente verwendet werden, um den Feuchtigkeitsgehalt von Samen grob abzuschätzen. Diese Geräte können, zwischen die Samenaufsammlungen während einer Sammelreise gelegt, Hinweise darauf geben, ob bestimmte Sammlungen weiter getrocknet werden sollten. Die Geräte können auch genutzt werden, um zu überprüfen, ob die Bedingungen für eine Trocknung geeignet sind und ob bereits eine Trocknung stattgefunden hat.

Silikagel mit Farbumschlag (Indikator-Silikagel)

Eine raffinierte und sehr billige Art und Weise, den Fortschritt der Samentrocknung zu überprüfen, ist die Zugabe von feuchtem Indikator-Silikagel zu den Samen. Werden die Silikagelkügelchen in durchlässige Päckchen getan, können sie während des Trocknungsvorgangs zwischen die Samen gelegt werden. Sind die Samen trocken, verliert auch das Silikagel Wasser und wechselt die Farbe.

Forschungsprioritäten

Zwei Fragen ergaben sich während und nach dem workshop, die bei zukünftigen Arbeiten beachtet werden sollten.

Datenbank über den Feuchtigkeitsgehalt von Samen

Da die meisten Saatgutbanken routinemäßig den Feuchtigkeitsgehalt der Samen überprüfen und eine steigende Zahl ebenfalls routinemäßig die eRh-Werte erfasst, wäre es nützlich, diese Daten in einer Datenbank zusammenzutragen (z.B. in der ENSCONET-Datenbank). Weil der Feuchtigkeitsgehalt bei einem bestimmten eRh-Wert ein guter Indikator für den Ölgehalt des Samens ist, würde eine solche Datenbank erheblich zu unserem Verständnis der taxonomischen Verbreitung ölhaltiger Samen beitragen.



Abbildung 15 Rotronic Hygrometer zur Messung der Gleichgewichtsfeuchte von Saatgutproben. (© Rotronic Instruments (UK) Ltd)



Abbildung 16 Datenlogger zur Kontrolle der Gleichgewichtsfeuchte in einem abgedichteten Gefäß mit Saatgut. (© RBGK)



Abbildung 17 Auswahl von mechanischen und elektronischen Hygrometern. (© RBGK)

Trocknungsprobleme bei bestimmten Arten

Von den RBGK gesammelte Anhaltspunkte weisen darauf hin, dass die Samen von Arten bestimmter Familien wie die Fabaceae, vor allem aber relativ große Samen, langsam trocknen können. Das mögliche Risiko dabei ist, dass eventuell Samenaufsammlungen eingelagert werden, bevor sie vollständig trocken sind. Dieses Problem steht mit den oben beschriebenen Schwierigkeiten in Zusammenhang, einen genauen eRH Meßwert zu erhalten, ohne die Samen zu zerstören. Es ist nötig, weitere Daten über Feuchtigkeitsgehalt und Gleichgewichtsfeuchte von Samen während der Trocknung und zum Zeitpunkt der Einlagerung für bestimmte Familien zu erfassen.

THEMA 3B. VERWENDUNG VON HYGROMETERN ZUR ÜBERWACHUNG DER SAMENFEUCHTE

Allgemeine Bemerkungen

Es sind einige mögliche Fehlerquellen bei der Überprüfung der Samenfeuchte mit Hygrometern zu beachten.

Samen mit undurchlässiger Samenschale

Zur Sicherheit wird empfohlen, Samen mit einer physikalischen Dormanz (d.h. die Samenschale ist undurchlässig für Wasser, siehe Tabelle 1) direkt vor dem Test aufzuschneiden oder zu zerkleinern. Um eine Aufnahme oder einen Verlust von Wasser zu vermeiden, wenn das innere Gewebe des Samens offen liegt, ist es sehr wichtig, die zerkleinerten Samen so schnell wie möglich in die Probenkammer des Hygrometers zu legen. Der offenkundige Nachteil dieses Vorgehens ist die Zerstörung der Samen.

Tabelle 1. Familien, bei denen Gattungen mit physikalischer Dormanz bekannt sind. Für weitere Einzelheiten siehe Baskin (2003).

Anacardiaceae
Bixaceae (mit Cochlospermaceae)
Cannaceae
Cistaceae
Convolvulaceae mit Cuscutaceae
Cucurbitaceae
Dipterocarpaceae (Unterfamilien Montoideae und Pakaraimoideae, nicht aber Dipterocarpoideae)
Fabaceae (Unterfamilien Caesalpinoideae, Mimosoideae und Papilionoideae)
Geraniaceae
Malvaceae (mit Bombacaceae, Sterculiaceae und Tiliaceae)
Nelumbonaceae
Rhamnaceae
Sapindaceae
Sarcocaulaceae

Wahl der Probenkammer und Probengröße

Im Idealfall wird die größte Probenkammer, die komplett mit den Samen gefüllt werden kann, ausgewählt. Ist der Probenumfang klein, wird folgende Faustregel empfohlen: Das Gewicht der Samen in Gramm sollte mindestens 10 % der gewählten Probenkammer in cm³ betragen. Zum Beispiel sollte das Gewicht der Samen, die in einer Probenkammer von 70 cm³ gemessen werden, mindestens 7 g betragen (siehe Probert *et al.*, 2003 für weitere Einzelheiten).

Messung von Proben, die sich nicht in der Gleichgewichtsfeuchte befinden

Wird die Gleichgewichtsfeuchte oder die Wasseraktivität von Samen gemessen, die sich nicht im Gleichgewicht mit der Umgebung befinden (zum Beispiel aktiv trocknende Samen), ist es extrem

wichtig, den Samen eine Zeit zu geben, die Gleichgewichtsfeuchte in der Probenkammer zu erreichen. Es wird dringend empfohlen, nach Möglichkeit währenddessen Messungen mit einem Datalogger vorzunehmen, oder zumindest die Werte regelmäßig zu überprüfen und zu notieren, um Zeit gegen Gleichgewichtsfeuchte grafisch darstellen zu können.

Bedeutung der Temperatur

Wir wissen aus Isothermen der Feuchtigkeitsaufnahme, dass die Werte der Gleichgewichtsfeuchte von der Temperatur abhängen (ISTA, 2008). Infolgedessen kann, wenn sich die Temperatur der Samen und die Temperatur des Hygrometers unterscheiden, ein falscher Wert gemessen werden. Solch eine Situation kann zum Beispiel entstehen, wenn ein Hygrometer zur Messung der Wasseraktivität verwendet wird, um den Feuchtigkeitsgehalt von Sammlungen zu messen, die in einer Samenbank lagern. Normalerweise werden solche Messungen bei Raumtemperatur oder im Trockenraum durchgeführt. Wenn die Temperatur der zu testenden Samenaufsammlung sich noch nicht vollständig an die Temperatur des Raumes angeglichen hat, sondern noch signifikant kälter ist, könnte ein inkorrekt gemessener Wert gemessen werden. Dieser ungenaue Wert kann höher oder niedriger als der korrekte Wert sein, in Abhängigkeit davon, wie schnell die Samen in die Probenkammer gebracht wurden. Werden zum Beispiel sehr kalte Samen der freien Luft ausgesetzt, wenn auch nur wenige Minuten, besteht ein signifikantes Risiko, dass Wassermoleküle auf der Oberfläche der Samen kondensieren. Dieses (zusätzliche) Wasser würde während der Messung rasch an die Luft in der Probenkammer abgegeben, so dass ein falscher, zu hoher Wert gemessen würde. Werden Messungen bei Temperaturen, die sich von denen unterscheiden, bei denen die Samen gelagert werden, durchgeführt, wird empfohlen, die Behälter mit den Samen zunächst an die umgebende Raumtemperatur anzupassen, bevor der Behälter geöffnet und die Samen in die Probenkammer des Hygrometers gegeben werden.

Empfehlungen

Die folgenden Leitfäden für die routinemäßige Überwachung der Samenfeuchte (aus Probert et al., 2003) werden empfohlen:

- Es ist eine geeignete Probenkammergröße zu wählen, um den freien Raum über der Samenprobe zu minimieren.
- Das Gewicht der Samen in Gramm darf nicht weniger als 10 % des Volumens der Probenkammer in cm^3 sein.
- Haben die Samen bekanntermaßen undurchlässige Samenschalen (Vorhandensein einer physikalischen Dormanz), sollten die Samen direkt vor der Messung in der Probenkammer geschnitten, grob gemahlen oder zerbrochen werden. Stößel und Mörser müssen zwischen den Messungen gereinigt und getrocknet werden.
- Die Temperatur der Samenprobe muss vor der Messung vollständig der Temperatur der Probenkammer angeglichen sein.
- Es ist zu beachten, dass der menschliche Körper ständig Wasser durch die Haut und die Atmung verliert. Die direkte Arbeit an den Samen ist zu minimieren, Berührungen der Innenseite der Probenkammer sowie ein Anhauchen des Messfühlers sind zu vermeiden.
- Die Angaben des Herstellers der für die Herstellung des Feuchtigkeits-Gleichgewichtes benötigte Zeit sind mit Vorsicht zu betrachten. Wir empfehlen mindestens 30 Minuten für eine genaue Messung von Samen, die einen stabilen Feuchtigkeitsstatus haben und erheblich länger, wenn angenommen werden muss, dass inneres und äußeres Gewebe der Samen sich nicht im Gleichgewicht befinden.
- Wo immer möglich, sollten Messungen mit einem Datalogger vorgenommen werden und die Zeit, die für die Herstellung des Gleichgewichts benötigt wird, auf der Grundlage der Graphen bestimmt werden.
- Die Sensoren sollten regelmäßig gemäß den Anleitungen der Hersteller kalibriert werden. Zahlreiche Hygrometer können sowohl mit Batterien als auch mit Netzteilen betrieben werden und können daher auch im Gelände benutzt werden. Der Sensorkopf kann der Luft ausgesetzt werden (wenn nicht auf die Probenkammer aufgesetzt), um Daten über die relative Luftfeuchtigkeit und Temperatur der Umgebung zu liefern. In einer geeigneten Probenkammer kann ferner die Gleichgewichtsfeuchte der Samen zum Zeitpunkt der Aufsammlung bestimmt werden.

THEMA 4. VERPACKUNG

Zusammenfassung geschrieben von Costantino Bonomi (MTSN), basierend auf dem Vortrag von Cesar Gomez Campo (UPM), weiteren Vorträgen von RBGK and MAICh, und anschließender Diskussion.

Allgemeine Bemerkungen

Die geeignete Verpackung ist enorm wichtig, um die Samen trocken zu halten und so ihre Lebensfähigkeit während der Lagerung zu erhalten (siehe Gomez-Campo, 2002). Bei den für die Lagerung von Samen üblichen niedrigen Temperaturen herrscht oft eine hohe relative Luftfeuchtigkeit, wodurch das Risiko, dass Feuchtigkeit in die Behältnisse mit den Samen dringt, verstärkt wird. Auch wenn dieser Prozess aufgrund der niedrigen Temperaturen sehr langsam ist, wird er über lange Zeit eventuell schädlich für die Samen sein. Ein effektiver Schutz gegen Wasserdampf ist für die Langzeitlagerung entscheidend. Wird dieses übersehen, wird die sichere Lagerung von Sammlungen in Saatgutbanken gefährdet. Daher ist es von herausragender Bedeutung, sorgfältig überprüfte, geeignete und feuchtigkeitsundurchlässige Behälter auszuwählen (siehe insbesondere Gomez-Campo, 2002 und Manger *et al.*, 2003 für eine Beschreibung verschiedener Behälter) sowie ein System zu implementieren, dass die Dichtigkeit der Behälter überwacht.

Nur sehr wenige Materialien sind wirklich dicht. Weicher Kunststoff (wie PET) wird nicht empfohlen, harter Kunststoff (wie PVC) mag besser sein, eine mögliche Verwendung bedarf aber weiterer Untersuchungen und wird zur Zeit nicht empfohlen. Zur Zeit ist nach unserem Kenntnisstand Glas die beste Alternative.

Bezüglich der Dichtigkeit von dreilagigen Folienbeuteln (geschichtetes Polyester, Aluminium und Polythen) gibt es Bedenken (see Gomez-Campo, 2006). Dreischichtige Folienbeutel werden in vielen Samenbanken verwendet (siehe auch Walters, 2007 und Gomez-Campo, 2009). Ein Nachteil dieser nicht-transparenten Verpackung ist, dass sie nicht visuell überprüft werden kann.

Um die Dichtigkeit der Behälter während der Langzeitlagerung zu überprüfen, wird empfohlen, kleine, mit Indikator-Silikagel gefüllte Päckchen in die Behälter zu den Samen zu geben. Silikagel hat den weiteren Vorteil, dass es Ethylen und andere möglicherweise schädliche Gase absorbiert, die von den Samen als Stoffwechselprodukte während des langsamen Alterungsprozesses selbst produziert werden. Das Silikagel in den Päckchen muss die gleiche Feuchtigkeit wie die Samen in der Saatgutbank haben, um eine Übertrocknung zu vermeiden.

Andere kritische Punkte sind die Dichtung der Behälter sowie die Zugänglichkeit des Samenmaterials, wenn wieder verschließbare Behälter verwendet werden. Die Dichtung muss regelmäßig überprüft und ersetzt werden. Es wird empfohlen, Dichtungen aus Naturgummi zu verwenden, da sich diese Dichtungen in Tests und im Gebrauch bewährt haben (Daten von RBGK).

Behälter werden von verschiedenen Saatgutbanken regelmäßig auf ihre Dichtigkeit hin überprüft (siehe unten zur Methode). Diese Maßnahme wird allen Saatgutbanken empfohlen, um die Unterschiede in der Funktion von Charge zu Charge zu erfassen. Es gibt einige Hinweise



Abbildung 18 Auswahl von Saatgutverpackungen. (© NBGB, UPM, MAICh & RBGK).

darauf, dass ölhaltige Samen von einer Vakuumverpackung profitieren, da Sauerstoff in der Umgebungsluft die Oxidation von Fetten fördert (siehe Ellis & Hong, 2007). Andererseits erhöht eine Vakuumverpackung das Risiko, dass aufgrund des Unterdrucks Feuchtigkeit in die Verpackung gelangt und, im Fall von unregelmäßig geformten Früchten, die Verpackung Löcher bekommt. Zusätzlich können Kanten den Druck auf den Beutel erhöhen.

Dichtigkeitstest

1 Gramm Indikator-Silikagelperlen werden pro 1 Liter Volumen in den leeren Behälter (0.1 %, Verhältnis Gewicht zu Volumen) gelegt. Das Silikagel sollte Ofen-getrocknet sein und der Behälter sich im Gleichgewicht mit der Feuchtigkeit im Trockenraum befinden. Zum Test werden die Behälter für mindestens 4 Wochen in eine feuchte Umgebung bei Raumtemperatur gebracht (z.B. in eine geschlossene Box mit Wasser) und anschließend bei -20 °C für mindestens ein Jahr, möglichst länger, eingefroren. Mindestens 10 Behälter pro Charge sollten getestet werden und zu 100 % dicht sein. Ist ein einzelner Container undicht, sollte die ganze Charge verworfen werden.

Empfehlungen

- Die Behälter werden mit der Entscheidungshilfe (s. unten) ausgewählt.
- Die Samen werden vorzugsweise im Trockenraum oder in einem anderen Raum mit kontrollierter Luftfeuchtigkeit verpackt.
- Man verwende transparente Glasbehälter (in den bestehenden Saatgutbanken werden Glasröhrchen und Flaschen mit Schraubverschluss sowie Röhrchen und Gläser mit Klemmverschluss als am besten funktionierende Behälter genutzt); Plastikbehälter sind zu vermeiden.
- In jeden Behälter wird ein Päckchen mit Indikator-Silikagel gelegt, um die Dichtigkeit des Behälters überprüfen zu können und das Saatgut vor Stoffwechselprodukten zu schützen. Das Silikagel muss mit der relativen Luftfeuchtigkeit im Trockenraum übereinstimmen (gewöhnlich 15 % RH). Einmal jährlich wird die Dichtigkeit der Behälter routinemäßig überprüft.
- Die Dichtungen sind regelmäßig zu überprüfen und ggf. auszutauschen.
- Insbesondere für "Basisaufsammlungen", die für lange Zeit unangetastet bleiben, empfiehlt sich zum erhöhten Schutz vor eindringendem Wasserdampf eine doppelte oder dreifache Verpackung (wie eine russische Puppe).
- Die Dichtigkeit der einzelnen Behälterchargen ist mit einem Standardtest zu überprüfen.

Entscheidungshilfe für die Auswahl der Saatgutbehältnisse

1 Die Akzessionen werden zwischen verschiedenen Institutionen oder anderweitig über lange Distanzen transportiert	Verwende Folientüten (geringes Gewicht, geringes Risiko von Beschädigungen)
1 Die Akzessionen werden eingelagert, ohne dass sie über lange Distanzen transportiert werden	
2 Es ist geplant, die Samen eine kurze Zeit zu lagern	Verwende entweder Folientüten oder Glasbehälter
2 Es ist geplant, die Samen eine lange Zeit zu lagern	
3 Die Aufsammlungen müssen ständig zugänglich sein	Verwende wiederverschließbare Glasbehälter mit einem Kontrollsystem gegen Durchlässigkeit, oder teile die Sammlung in mehrere mit einer Flamme versiegelte Glasröhrchen auf
3 Die Aufsammlungen müssen nicht ständig zugänglich sein	Verwende mit einer Flamme versiegelte Glasröhrchen (für kleine Sammlungen) oder zweifach wiederverschließbare Glasbehälter mit Tütchen mit Indikator-Silikagel. Eine regelmäßige Überprüfung der Container ist notwendig.

Forschungsprioritäten

- In Zusammenarbeit mit Arbeitsgruppen der Werkstoffkunde können die physikalischen Eigenschaften verschiedener Materialien (einschließlich Hartplastik) und Behälterverschlüsse getestet werden, um einen Behälter für die Langzeitlagerung zu entwickeln, der wasserdicht und preiswert ist sowie leicht geöffnet und verschlossen werden kann.
- Es sind mehr Daten über den Effekt einer Vakuumverpackung auf ölhaltige Samen zu erheben. 22

THEMA 5. LANGZEITLAGERUNG : TEMPERATUR

Zusammenfassung geschrieben von M. Elena González-Benito (UPM), basierend auf dem Vortrag von Hugh Pritchard (RBGK), einer Präsentation von MAICH und der anschließenden Diskussion.

Allgemeine Bemerkung. Es ist allgemein bekannt, dass eine Reduzierung des Feuchtigkeitsgehaltes von Samen und / oder eine niedrige Lagerungstemperatur die Lebensdauer von orthodoxen Samen verlängert (siehe Roberts & Ellis, 1989; Pritchard & Dickie, 2003). Daher wird für die Langzeitlagerung der meisten orthodoxen Samen eine Temperatur unter 0° C (gewöhnlich zwischen -18 und -20 °C) empfohlen (FAO Genbank Standards, 1994; Rao *et al.*, 2006). Mit dieser generellen Empfehlung im Hintergrund werden folgende Punkte diskutiert: (1) die zu verwendende Lagerungstemperatur; (2) die Identifizierung der Samen, die schlecht bei -20 °C aufbewahrt werden können und Schritte die gemacht werden können dieses Problem zu verbessern; und (3) die Möglichkeiten und Risiken der Kryokonservierung in flüssigem Stickstoff. Diese Empfehlungen sollen hilfreich sein, eine Saatgutbank für wildlebende Pflanzenarten insbesondere dort zu planen, wo es keine veröffentlichte Informationen über die Lagerfähigkeit der Samen gibt.

THEMA 5A. LAGERUNGSTEMPERATUR

Allgemeine Bemerkungen

Der Nutzen niedriger Lagerungstemperaturen von Samen ist durch Vergleiche der Lebensfähigkeit der Samen quantifiziert worden (Ellis & Roberts, 1980). Wird die Lagerungstemperatur abgesenkt, steigt die Langlebigkeit der Samen. Sinkt die Temperatur stärker ab, wird der Nutzen wieder proportional schwächer (Tompsett, 1986; Dickie *et al.*, 1990; Walters *et al.*, 2004). Die Entscheidung über die zu verwendende Lagerungstemperatur ist eine Frage der Abwägung zwischen Kosten und technischem Aufwand gegenüber der Langlebigkeit der Samen. Die meisten gewöhnlichen Gefrierschränke und -truhen laufen bei -18 bis -20 °C, daher wird dieser Temperaturbereich oft genutzt. Für eine Lagerung in diesem Temperaturbereich wird eine Samen-Restfeuchte von 3.5 – 6.5 % empfohlen (siehe Thema 2D). Es soll jedoch angemerkt werden, dass empirische Daten fehlen, die den Gebrauch dieser gemeinhin verwendeten Lagerungstemperaturen als ein optimales Gleichgewicht zwischen Kosten und Langlebigkeit der Samen bestätigen. Wahrscheinlich wird eine Reduzierung der Temperatur unter -35 °C der Langlebigkeit der Samen weniger zu nützen, als dass die Extrakosten dafür gerechtfertigt wären. Temperaturen von -196 °C, die bei der Kryokonservierung in flüssigem Stickstoff erreicht werden, können für kurzlebige, austrocknungstolerante Samen empfohlen werden (Stanwood, 1985). Theoretisch liegt dann die Langlebigkeit der Samen 175-fach höher als bei gewöhnlicher Lagerung bei -20 °C (Dickie *et al.*, 1990; Pritchard & Dickie, 2003). Aktuelle Arbeiten an trockenen Salatsamen weisen auf Halbwertszeiten von 500 bzw. 3400 Jahren in gasförmigem bzw. flüssigem Stickstoff hin. Dies ist mindestens 50 mal länger als bei konventioneller Lagerung erwartet wird (Walters *et al.*, 2004). Kryokonservierung wird auch für die Saatgutlagerung von gefährdeten oder endemischen Arten bei denen nur eine geringe Anzahl von Samen verfügbar ist, und für Gewebe (Embryonen, Sprossspitzen) von recalcitranten Samen empfohlen.

Es gibt Hinweise, dass einige orthodoxe Samen vollständig die Trocknung tolerieren, aber die Keimfähigkeit verlieren oder nach der Lagerung bei -20° C oder anderen Temperaturen unter 0 °C eine kürzere Lebensdauer als erwartet haben (Ellis *et al.*, 1990; Pritchard *et al.*, 1999). Zum Beispiel zeigten trockene Samen von *Cattleya aurantiaca* (Orchidaceae; Pritchard & Seaton, 1993) und *Cuphea carthagenensis* (Lythraceae; Crane *et al.*, 2003) eine niedrige Keimungsrate nach der Lagerung bei -18 °C, möglicherweise ein Resultat der Veränderung oder Kristallisierung von Fetten. Bei *C. carthagenensis*, wurde die Keimfähigkeit zum Teil durch Erwärmen der Samen vor ihrer

Befeuchtung wieder hergestellt (Crane *et al.*, 2003). Die Behandlungen, die benötigt werden, um die Keimfähigkeit wiederherzustellen (wenn kein Schaden am Samen besteht) sind artspezifisch und umfassen langsame Benetzung der Samen, Befeuchtung der Samen bei höheren Temperaturen sowie eine Erwärmung der Samen vor der Befeuchtung (siehe Pritchard & Nadarajan, 2008).

Empfehlungen

Für die Langzeitlagerung der meisten orthodoxen Samen wird eine Lagerung bei Temperaturen unter 0 °C (gewöhnlich zwischen -18 und -20 °C) empfohlen.

Bei einer herkömmlichen Lagerung unter nicht extremkalten Bedingungen ist eine Absenkung der Temperatur unter -35 °C für die meisten Arten nicht in dem Maße von Nutzen, wie es für die Rechtfertigung der Zusatzkosten nötig wäre.

Forschungsprioritäten

Zeigt das Saatgut einer Art nach der Lagerung unter 0 °C eine niedrige Keimungsrate, heißt das nicht unbedingt, dass die Samen tot sind oder eine Lagerung unter 0 °C für sie ungeeignet ist. Hier sind weitere Studien auf Artebene angebracht. Ferner sollten spezifische Behandlungen zum Brechen von Dormanz und/oder für die Feuchtigkeitsaufnahme des Samens untersucht werden. Zusätzlich sollten Versuche zur Lagerung bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt werden.

Ferner wäre eine Studie wichtig, die die Kosteneffizienz bei verschiedenen Temperaturen unter 0 °C untersucht.

THEMA 5B. WAHL DER KÜHLEINRICHTUNG

Allgemeine Bemerkung

Begehrter Kühlraum und Gefriergeräte

Die Entscheidung zwischen einem begehrten Kühlraum oder einem Gefrierschrank bzw. einer Gefriertruhe hängt von der Anzahl der Akzessionen, dem Volumen der Akzessionen und damit auch von der Größe der Samen ab. Ist die Anzahl der Akzessionen klein, ist ein Gefriergerät die beste Wahl. Gefrierschränke haben gegenüber Gefriertruhen den Vorteil, dass die Proben einfacher zugänglich sind und sie weniger Platz benötigen. Entscheidet man sich für Gefrierschränke oder -truhen, ist es angebracht, ein Ersatzgerät zu haben.

Übersteigt die benötigte Lagerkapazität 10-15 m³, ist ein begehrter Kühlraum effizienter (Cromarty *et al.*, 1990). In diesem Fall sind zwei kleinere Räume mit voneinander unabhängigen Kälteanlagen besser als ein Raum, insbesondere wenn nicht die Absicht besteht, den Lagerraum in naher Zukunft vollständig zu füllen (siehe auch die Diskussion über die Konzeption einer Saatgutbank in Linington, 2003).

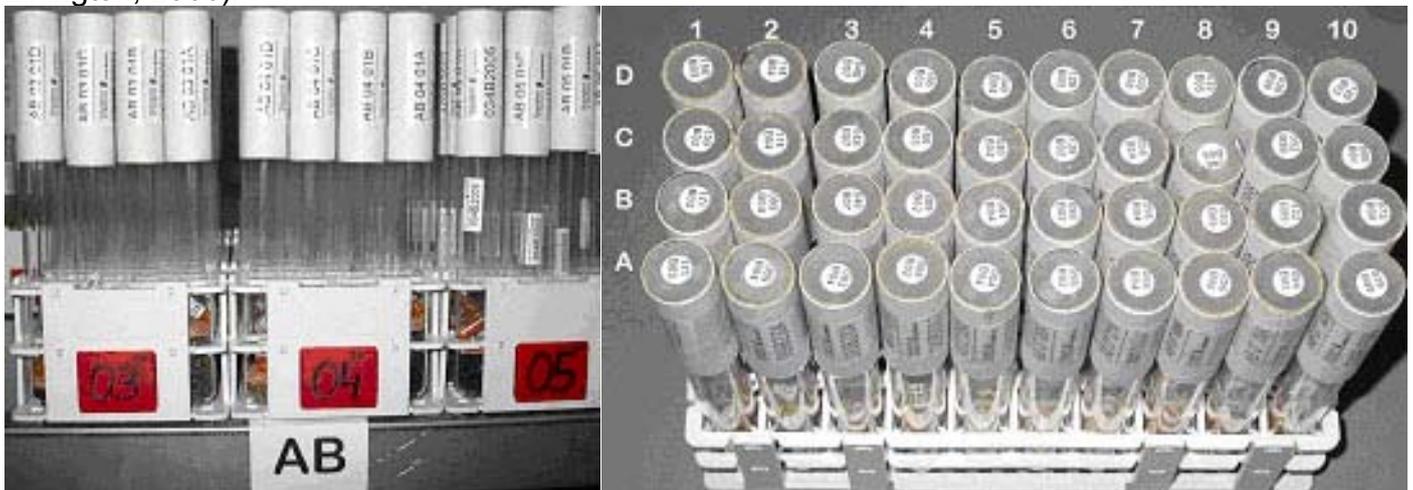


Abbildung 19 Aufbewahrung der Sammlungen in der UVEG Saatgutbank. (© UVEG)

Welche Einrichtung auch immer gewählt wird – es ist daran zu denken, dass ein geeignetes Etikettier- oder Strichcodesystem für das einfache und schnelle Auffinden der Proben unerlässlich ist. Ein schnelles Auffinden der Proben ist insbesondere dann wichtig, wenn bei der Entnahme der Probengefäße die Tür oder der Deckel der Gefriereinrichtung offen gelassen werden muss. Akzessionsnummer, Standortnummer (zum Beispiel, in UVEG ist z.B. ein Nummer aus Regal/ Ständer/Behälter wie AB/04/10B – siehe Abbildung 19) und der Strichcode auf dem Etikett müssen in der Datenbank der Saatgutbank vermerkt sein.

Basis- und aktive Sammlung sowie Duplikate

Üblicherweise teilen Saatgutbanken jede Aufsammlung in eine Basisprobe, die für die Langzeitlagerung unangetastet bleibt, und in eine aktive Probe, die leichter zugänglich ist und der Entnahme von Teilproben für die weitere Verwendung des Saatgutes dient. Die Basisproben werden normalerweise in hermetisch abgeschlossene Gefäße verpackt (verschweißte Gläser oder doppelte Verpackungen) und unter Langzeit-Lagerbedingungen aufbewahrt. Im Gegensatz dazu werden die aktiven Proben bei Temperaturen, die für die Mitarbeiter zuträglicher sind, und in leichter zu öffnenden Gefäßen (oder auch offen in Trockenräumen) gelagert.

Möglicherweise gibt es Probleme mit einer genetischen Divergenz der zwei Proben (siehe Thema 9, Regeneration von Saatgut). Weiterhin kann die Entscheidung schwierig sein, wie viel der Sammlung einerseits für die Weitergabe und andererseits für die Langzeitlagerung benötigt wird. Die RBGK (Millennium Seed Bank) führen eine aktive und eine Basissammlung, halten aber beide unter Bedingungen für die Langzeitlagerung. Der Großteil der Sammlung verbleibt unangetastet in der Basissammlung.

Ein großer Vorteil von Saatgutbanken ist die Möglichkeit, einen großen Teil genetischer Diversität an einem Platz zu bewahren. Diese Konzentration genetischer Diversität ist gleichzeitig eine wesentliche Schwäche, da durch einen Unfall extrem wertvolles (und in einigen Fällen unersetzbares) Material zerstört werden kann. Daher ist es unabdingbar notwendig, zusätzlich zu allen praktikablen Sicherheitsmaßnahmen für die Sammlungen der Saatgutbank eine Probe als Duplikat (letztendlich als separate Basissammlung) in einer geographisch weit entfernten Saatgutbank einzulagern.

Cryokonservierung

Obwohl eine Lagerung in flüssigem Stickstoff (-196 °C) oder gasförmigem Stickstoff (ungefähr -150 °C) die Lebensdauer von Samen verlängern kann, ist solch eine Lagerung aus technischen und praktischen Gründen nicht die erste Wahl (siehe unten). Eine Kosten-Nutzenanalyse von Kryokonservierung im Vergleich mit konventioneller Langzeitlagerung scheint seit über dreißig Jahren nicht veröffentlicht worden zu sein. Solch eine Analyse wäre sehr hilfreich. Kryokonservierung ist vor allem für die Lagerung kurzlebiger orthodoxer Samen oder für den Fall, dass von einer Art oder Population nur eine sehr geringe Menge an Samen verfügbar ist (z.B. von gefährdeten oder Stenoendemiten), geeignet.



Abbildung 20 Kryokonservierung in flüssigem Stickstoff. (© RBGK)

Auch wenn die Samen von Hunderten von Arten eine Behandlung und eine Lagerung mit flüssigem Stickstoff tolerieren, gibt es bei der Kryokonservierung Schwierigkeiten:

- Flüssiger Stickstoff ist aufgrund der Brandgefahr und der Erstickungsgefahr ein Gefahrstoff. Spezielle Ausbildung der Mitarbeiter, angemessene Kleidung und sichere Vorgehensweisen sind unerlässlich. Da flüssiger Stickstoff verdampft und rasch den Sauerstoff in der Luft verdrängt, ist es unbedingt notwendig, Sauerstoffalarm dort zu installieren, wo flüssiger Stickstoff aufbewahrt und verwendet wird.
- Ein Lieferant von flüssigem Stickstoff muss in der Nähe sein.
- Große Tanks für flüssigen Stickstoff (z.B. 600 Liter für 12000 Kryoröhrchen) sind teuer. Die Tanks müssen regelmäßig bis zur erforderlichen Höhe gefüllt werden, um die Proben bei der entsprechenden Temperatur zu halten (ungefähr $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$). Kleine Kryobehälter (ca. 30 Liter mit einer maximalen Kapazität für 855 Kryoröhrchen à 2 ml) können manuell nachgefüllt werden, große benötigen jedoch ein Nachfüllgefäß. Auch wenn die Anschaffungskosten für einen großen Behälter sehr hoch sind, sind die Lieferpreise für flüssigen Stickstoff niedriger im Vergleich zu den Unterhaltskosten der kleinen Behälter, da hier der häufigere Transport von flüssigem Stickstoffes teuer wird.
- Die Methode ist nur für kleine Mengen an Samen pro Akzession geeignet.
- Für eine optimale Handhabung der Samen sollten drei Hauptaspekte beachtet werden (Pritchard & Nadarajan, 2008): 1) die Samenfeuchte sollte niedriger sein als die obere Feuchtigkeitsgrenze des Gefrierens "high moisture freezing limit" (Stanwood, 1985) ; 2) zu schnelles Tiefkühlen oder Aufwärmen kann sehr trockene Samen mechanisch beschädigen, aber dies kann vermieden werden; 3) langsames Befeuchten, insbesondere wird empfohlen, ein Eintauchen der Samen in Wasser bei ungeeigneten Temperaturen zu vermeiden sowohl vor als auch während der Keimungstests. Abgesehen von dem Vorteil einer längeren Lebensdauer der Samen in Kryolagerung sollte beachtet werden, dass Kryotanks eine fünfmal längere Lebensdauer als Gefriergeräte haben (J. Puchalski, pers. comm.) und Ausfälle durch Unterbrechungen in der Stromversorgung ausgeschlossen sind.

Empfehlungen

Für Arten mit sehr kurzlebigen orthodoxen Samen ist eine Kryokonservierung in oder über flüssigem Stickstoff empfehlenswert. Duplikate aller Proben müssen in einer zweiten Saatgutbank hinterlegt werden. Diese Saatgutbank sollte genügend weit entfernt sein, damit die Proben nicht vom gleichen Katastrophenfall zerstört wird wie die Hauptsammlung.

Forschungsprioritäten

Eine Kosten-Nutzenanalyse der Kryokonservierung im Vergleich zu konventioneller Lagerung würde hilfreich sein.

THEMA 6. KEIMUNGSTESTS

Zusammenfassung geschrieben von David Draper and M. Elena González-Benito (UPM), basierend auf dem Vortrag von Costas Thanos (NKUA), weiteren Vorträgen von PAV-UNI und RBGK und der anschließenden Diskussion.

Allgemeine Bemerkungen

In einer Saatgutbank ist es wichtig, über die Lebensfähigkeit der gelagerten Samen Bescheid zu wissen. Die Lebensfähigkeit von Samen wird definiert als die Anzahl der Samen in einer Aufsammlung, die am Leben sind und zu einem Pflänzchen heranwachsen können (Gosling, 2003; Rao *et al.*, 2006).

Da die Langlebigkeit von Samen von der Samenqualität abhängt, ist es wichtig, dass die Samen bei der Einlagerung eine hohe Qualität aufweisen, oder zumindest ihre Lebensfähigkeit bekannt ist. Die zuverlässigste Methode, um die Lebensfähigkeit von Samen zu testen, ist ein Keimungstest, d.h., die Samen unter optimalen Bedingungen keimen zu lassen, wenn nötig, mit vorheriger Behandlung zum Brechen der Dormanz. Probleme treten auf, wenn – wie bei vielen Wildpflanzen – die optimalen Keimungsbedingungen und die geeignete Methode, die Dormanz zu brechen, unbekannt sind.

Es gibt weiterhin biochemische Tests (z.B. mit Tetrazolium-Chlorid, TTC), mit denen die Lebensfähigkeit von Samen ohne Keimungstest überprüft wird. Solche Tests sind hilfreich, um tote und dormante Samen zu unterscheiden. Der Nachteil ist, dass dieses Tests nicht so genau wie Keimungstests und die Ergebnisse manchmal schwierig zu interpretieren sind. In jedem Fall ist es wichtig, dass wir wissen, wie die Samen zum Keimen zu bringen sind, damit sie in Zukunft verwendet werden können. Daher liegt der Fokus des folgenden Abschnitts auf den Keimungstest sowie auf Verfahren, die für die Gewinnung von normalen Sämlingen nötig sind.

Empfehlungen

Wann wird der Keimungstest durchgeführt?

Im Idealfall werden Keimungstests vor und nach dem Trocknungsprozess sowie nach der Einlagerung durchgeführt, um mögliche Hinweise zu erhalten, ob die Keimung von der Trocknung oder dem Einfrieren beeinflusst wird. Das wird jedoch für die meisten Saatgutbanken nicht möglich sein. Sind die Ressourcen vorhanden, wird empfohlen, bei so vielen Akzessionen wie möglich Keimungstests zum einen nach der Trocknung, zum anderen kurz nach der Einlagerung durchzuführen. Sind die Ressourcen limitiert und kann nur ein Keimungstest durchgeführt werden, sollte dieser innerhalb des ersten Monats nach der Einlagerung vorgenommen werden. Das Ergebnis dieses Tests ist der Bezugswert, an dem die zukünftigen Tests gemessen werden.

Wie viele Samen sind zu testen?

Vor den Keimungstests sollte der Anteil tauber und beschädigter Samen abgeschätzt werden. Die Keimungsrate wird auf Grundlage der Samen, die physikalisch keimfähig sein sollten, berechnet (Gesamtmenge der Samen – beschädigte oder taube Samen). Die für Nutzpflanzen empfohlene Anzahl von 200 Samen (zwei Ansätze mit je 100, FAO / IPGRI, 1994; ISTA 2008) wird in vielen Fällen für Aufsammlungen von Wildpflanzen zu groß sein. Das trifft insbesondere für bedrohte Arten mit kleinen Populationen oder Arten mit großen Samen zu. In diesen Fällen wird ein Keimungstests mit 100 oder auch 50 Samen, geteilt



Abbildung 21 Ergebnis des Keimungstests. (© RBGK)

in zwei Ansätze mit je 50 bzw. 25 Samen, als ausreichend angesehen (es ist zu beachten, dass es für die Anzahl der zu testenden Samen keine allgemeinen Regelungen gibt, zum Beispiel verwenden einige Institute wie MAICH drei Ansätze à 30 Samen). Diese Empfehlung gilt auch für Saatgutbanken, die große Mengen an Akzessionen einlagern und nur begrenzt verfügbare Möglichkeiten und / oder Personal zur Verfügung haben.

Befeuchtung trockener Samen

Die Behälter mit dem Saatgut sollten, bevor die Samen entnommen werden, aufgewärmt werden (siehe Thema 10). Von einigen Arten ist bekannt, dass ihre Samen bei der Aufnahme von Wasser leicht beschädigt werden, zum Beispiel große Samen der Leguminosen (Fabaceae). Diese Samen werden nach der Entnahme aus dem Behälter zunächst angefeuchtet, um eine Schädigung durch die Wasseraufnahme zu vermeiden. Solch ein Schaden entsteht, wenn in den Zellen sehr trockener oder alter Samen aufgrund schneller Wasseraufnahme Löcher entstehen und die Zellmembranen nicht in der Lage sind, die entstandenen Löcher zu reparieren. Die Samen können in eine Box mit einem dichten Verschluss (ähnlich wie für Nahrungsmittelaufbewahrung) oder in einen Exsikkator, der wiederum eine Schale mit Wasser enthält, gelegt werden. Die Samen werden vor der Aussaat für 24 Stunden in der feuchten Umgebung, aber ohne direkten Kontakt mit Wasser, belassen.

Wahl der Keimbedingungen

Die Keimung von Samen ist extrem variabel und kann zwischen Arten, Populationen, Aufsammlungen in verschiedenen Jahren wie auch zwischen verschiedenen langen Lagerungszeiträumen erheblich variieren. Bereits vorhandenes Wissen über die Keimbedingungen einer bestimmten oder ihr nahe verwandten Art aus Literatur oder von Datenbanken wie die RBGK's Seed Information Database (Liu *et al.*, 2008: <http://data.kew.org/sid/sidsearch.html>) und LEDA traitbase (<http://www.leda-traitbase.org/tomcat/LEDAPortal/index.jsp>) kann wichtige Hinweise liefern. Zuweilen sind Trends auf dem Gattungs- oder auch Familienlevel zu erkennen.

Gibt es kein Vorwissen (was häufig der Fall ist), können die Keimungsbedingungen anhand der Ökologie (Habitat- und Klimapräferenzen) und der Samenstruktur der jeweiligen Art vorausgesagt werden. Zum Beispiel weisen Samen mit reichlich Endosperm und kleinem Embryo (morphologische Dormanz wahrscheinlich) aus Regionen mit kalten Wintern und / oder heißen, trockenen Sommern (physiologische Dormanz wahrscheinlich) wahrscheinlich morphologisch-physiologische Dormanz auf. Diese Samen benötigen daher eine verlängerte Inkubation und Keimbedingungen, die denjenigen ähneln, die in der Natur in der Jahreszeit vor der Keimung herrschen

Behandlungen zur Brechung der Dormanz

Samen keimen unter optimalen Bedingungen manchmal nicht, obwohl sie am Leben sind. Diese Samen befinden sich in einer Dormanz. Dormanz kann auf Eigenschaften des Embryos oder der Samenhülle beruhen (siehe einen kürzlich erschienenen Überblick über Dormanz: Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006). Samen zahlreicher Wildarten können Dormanz aufweisen. Einige Gründe für Dormanz sind (siehe Baskin & Baskin, 1998):

- *Ein unterentwickelter Embryo.* Dies ist im Allgemeinen bei Samen mit kleinen Embryos und reichlich Endosperm der Fall. Bei diesem Samentyp (mit morphologischer Dormanz) muss der Embryo noch wachsen, bevor er zur Keimung fähig ist (Baskin *et al.*, 2006). Gewöhnlich ist eine warme oder kalte Stratifizierung nötig, entsprechend dem Zeitpunkt der natürlichen Ausbreitung (z.B. Frühling oder Herbst). Keimt ein unterentwickelter Embryo unmittelbar nach der Ausbreitung nicht, kann auch eine physiologische Dormanz vorliegen. Ist dieses der Fall (morphologisch-physiologische Dormanz), muss der Samen erst einer kalten oder warmen Stratifizierung unterzogen werden, bevor der Embryo beginnt, sich zu entwickeln.

- *Harte (wasserundurchlässige) Samen- / Fruchthülle.* Dies kommt bei vielen Arten folgender Familien vor: Anacardiaceae, Bixaceae, Cistaceae, Combretaceae, Convolvulaceae,

Curcubitaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Malvaceae, Rhamnaceae, Rutaceae, Sapindaceae und Violaceae. Um eine Wasseraufnahme solcher Samen zu ermöglichen, muss die Samenschale vor der Aussaat aufgeritzt, abgeschabt, gefeilt oder mit Sandpapier angeschliffen werden.

- *Chemische Hemmstoffe* können entweder im Embryo oder in der Samenschale vorliegen. Diese Dormanz kann durch (kalte oder warme) Stratifizierung, Auswaschen der Samen unter fließendem Wasser oder den Zusatz von GA₃ (Gibberellinsäure) aufgehoben werden.

Keimungsbedingungen: Wasser/Agar, Temperatur, Licht

Als Substrat für die Aussaat kann Agar, Filterpapier oder Sand verwendet werden. Erstere werden in Petrischalen verwendet, letzterer ist üblich für die Aussaat großer Samen (Rao *et al.*, 2006) in Schalen oder größeren Plastikbehältern. Das Papier sollte von hoher Qualität sein. Es muss einheitlich sein, um reproduzierbare Ergebnisse erzielen zu können.

Agar (gewöhnlich 1 %) hat gegenüber Filterpapier einige Vorteile:

- Niedriger Arbeitsaufwand (Agarplatten benötigen keine regelmäßige Bewässerung) und daher weniger Variabilität
- Geringeres Risiko eines Schadens durch zu schnelles Aufsaugen des Wassers (Imbibition)
- Konstante Konzentration zugesetzter Chemikalien (frischer Agar nach 3 Wochen)
- Weiße Keimwurzeln sind auf dunklem Hintergrund leicht zu erkennen
- Es ist möglich, Keimlinge zum Umpflanzen zu entnehmen

Dauert der Keimungstest länger als 4 Wochen, beginnt der Agar möglicherweise auszutrocknen und die Samen müssen eventuell auf frischen Agar überführt werden. Um das zu auf ein Minimum zu reduzieren, können die Agarplatten in Plastiktüten gelegt oder mit Parafilm umwickelt werden. Es sollte ferner beachtet werden, dass es bei einigen Samen nötig ist, vor der Aussaat die Oberfläche zu sterilisieren. Samen können sterilisiert werden, indem sie in einer 10%-igen Lösung eines bleichenden Haushaltsreinigers (Natriumhypochlorit) eingeweicht und anschließend mit deionisiertem Wasser gespült werden. Grundsätzlich sollte destilliertes oder deionisiertes Wasser verwendet werden. Wird Filterpapier benutzt, hängt die benötigte Wassermenge von der Dicke des Papiers ab. Das Papier sollte nicht so nass sein, dass auf Druck mit dem Finger ein Wasserfilm erscheint (Rao *et al.*, 2006). Die Samen werden gleichmäßig ausgesät und sollten sich nicht gegenseitig berühren. Anschließend werden die Schalen in die Keimschränke gebracht. Der Feuchtigkeitsgehalt des Substrats wird überprüft, wenn die gekeimten Samen ausgezählt werden, insbesondere, wenn mit hohen Temperaturen (25-30 °C) gearbeitet wird. Wird Filterpapier verwendet, wird das Wasser regelmäßig (alle 2-3 Tage) ausgetauscht.



Abbildung 22 Schneiden eines Samens mit harter samenschale mit dem Skalpell. (© RBGK)



Abbildung 23 Keimschrank mit Simulierung von Tag-/Nachtbedingungen. (© RBGK)

Die Bedingungen im Keimschrank sollen, wo immer möglich, die Umweltbedingungen zum Zeitpunkt der Samenkeimung am natürlichen Standort simulieren. Daher ist es im Allgemeinen besser, die Samen bei alternierenden Temperaturen und Licht während der Tagesphase keimen zu lassen (Baskin *et al.*, 2006). Wo möglich, sollten konstante Temperaturen mit Ausnahme der meisten Stratifizierungen wie auch kontinuierliches Licht aufgrund des Risikos einer Keimungshemmung vermieden werden (Reaktion auf hohe Bestrahlungsstärke, high irradiance reaction – HIR). Die optimalen Temperaturen für die Keimung mediterraner Arten sind in der Regel niedrig (10- 20 °C), und in vielen Fällen sind alternierende Temperaturen von 10/20 °C oder 15/20 °C (Dunkelheit/ Licht) empfehlenswert. Subtropische, tropische und alpine Arten keimen gewöhnlich am besten bei warmen Temperaturen (20-25 °C). Im Allgemeinen wird eine Photoperiode von 8, 12, oder 16 Stunden angewendet. Bei etlichen alpinen und temperaten Arten ist bekannt, dass eine kalte Stratifizierung (z.B. 0 °C für 4-20 Wochen) die Samenkeimung steigert. Auch wenn eine Präferenz für eine Keimung im Dunkeln recht ungewöhnlich ist, sollte an diese Möglichkeit gedacht werden. Große Samen benötigen eher Dunkelheit zum Keimen, wie es von einigen Cucurbitaceae bekannt ist. *Galanthus nivalis* keimt ebenfalls besser im Dunkeln.

Mögliche Informationsquellen für Keimbedingungen und Behandlungen zur Dormanzbrechung sind Ellis *et al.* (1995) und die Seed Information Database (Liu *et al.*, 2008: <http://kew.org/data/sid/>).

Die Keimung der Samen sollte je nach Anzahl der Keimproben und den personellen Möglichkeiten regelmäßig überprüft werden, mindestens einmal pro Woche. Können die gekeimten Samen alle 1-2 Tage gezählt werden, kann die Geschwindigkeit der Keimung bestimmt werden. Die Dauer des Keimungstests hängt von der Art und den jeweiligen Bedingungen ab.

Auszählung der Keimlinge

Bei Keimtests wird ein Samen dann als gekeimt definiert, wenn die Keimwurzel 1-2 mm lang herausragt oder mindestens so lang wie der Samen selbst ist. Es ist wichtig, vor der Auszählung für jede Art eine erfolgte Keimung klar zu definieren. Gekeimte Samen werden aus der Schale entnommen und gezählt. Ferner ist es wichtig, schimmelnde Samen zu entfernen, um die Ausbreitung der Infektion zu verhindern (Rao *et al.*, 2006), dieses muss notiert werden. Der Zeitraum, in dem die gekeimten Samen gezählt werden, hängt von der Art ab und kann zwischen einer Woche und mehreren Monaten liegen. Für Wildarten werden in der Regel vier bis sechs Wochen benötigt.

Beobachtungen wie die Anzahl der verschimmelten Samen oder abnormale Keimlinge werden protokolliert. Am Ende des Keimungstests sollten nicht gekeimte Samen geschnitten werden, um die Anzahl der vollen, festen und frisch aussehenden Samen (wahrscheinlich dormant) sowie der verschimmelten und weichen (toten) und tauben Samen zu ermitteln. Die durchschnittliche Keimrate ergibt sich aus den Ergebnissen aller Ansätze unter Berücksichtigung der tauben / beschädigten Samen. Wurden die Keimlinge alle 1-2 Tage ausgezählt, kann auch die Geschwindigkeit der Keimung berechnet werden. Zum Beispiel ist T_{50} der Keimratenindex, definiert als die Zeit, die für die Keimung der Hälfte der lebensfähigen Samen (50 %) benötigt wird. Die Keimdaten (endgültiger prozentualer Anteil gekeimter Samen, Keimrate) sollten zusammen mit den jeweiligen Vorbehandlungen und Keimungsbedingungen in die Datenbank der Saatgutbank eingegeben werden.

Forschungsprioritäten

Eine Beurteilung der Relation zwischen dem Erscheinen der Keimwurzel und der normalen Keimlingsproduktion von Wildarten wäre nützlich. Die Verbindung zwischen den zwei "Formen" des Wachstums gibt einen Querverweis zur Methode der Samenkeimung der ISTA. Fotografien der Keimlinge können für die Identifizierung nützlich sein.

THEMA 7. HERBARBELEGE UND ÜBERPRÜFUNG DER BESTIMMUNG

Zusammenfassung geschrieben von Simon Linington (RBGK), basierend auf dem Vortrag von Gianni Bedini (Botanischer Garten Pisa) und anschließender Diskussion.

Allgemeine Bemerkungen

Der korrekte wissenschaftliche Artnamen der Samenaufsammlung ist von herausragender Bedeutung. Er verbindet die Samenaufsammlung mit dem Wissen über die jeweilige Art (Goldblatt *et al.*, 1992). Er sichert weiterhin, dass der Nutzer der Samen keine Zeit damit verschwendet, mit falschem Material zu arbeiten und dann irrtümlich Ergebnisse publiziert (Funk *et al.*, 2005). Manchmal sind Pflanzenpopulationen so gut bekannt, oder der Sammler ist so vertraut mit der Art, dass eine Feldbestimmung akzeptiert werden kann. In der Regel werden aber im Feld ein oder mehr gepresste Belege (siehe Bridson & Forman, (1998) für die Technik und weitergehende Informationen) gesammelt. Diese sollten die Pflanzen repräsentieren, von der die Samen entnommen wurden. Sie werden genutzt, um die Bestimmung anhand bekannter Belege in einem Herbarium zu bestätigen. Im Allgemeinen wird der Beleg ("Herbarbeleg") zur gleichen Zeit wie die Samen gesammelt. Jedoch können die Pflanzen zu diesem Zeitpunkt nicht mehr für eine Bestimmung geeignet sein. Daher ist es manchmal notwendig, die Belege vor den Samen zu sammeln.

RBGK (Millennium Seed Bank Project) rät momentan, dass alle Belege von verholzten Arten vom gleichen Individuum genommen werden sollen, das die Merkmale der Population repräsentiert und von dem einige der Samen geerntet wurden; dieses sichert, dass alle Herbarien, die Duplikate erhalten, identisches Material haben. Jedoch könnte man auch sagen, dass jedes Duplikat von einem anderen Individuum geerntet und entsprechend etikettiert werden sollte, um mehr Informationen über die morphologische Variation zu erhalten. Es ist wichtig, dass die Saatgutbank Namensänderungen aufgrund taxonomischer Revisionen für die Herbarbelege beachtet. Daher sollte das Herbaretikett einen Hinweis haben, dass dieser mit einer gelagerten Saatgutprobe verbunden ist.



Abbildung 24 Herbarbeleg. (© RBGK)

Die Überprüfung der Bestimmung kann von einem erfahrenen Botaniker im Feld oder später im Herbarium vorgenommen werden. Dafür werden gewöhnlich botanische Bestimmungsschlüssel verwendet. Name des Bestimmers und anderer Revisoren werden auf dem Etikett vermerkt.

Für mehr Details zum Pressen und Aufbewahren von Herbarbelegen siehe Bridson & Forman (1998).

Für mehr Details zum Pressen und Aufbewahren von Herbarbelegen siehe Bridson & Forman (1998).

Empfehlungen

Mit der Ausnahme der wenigen Fälle, wo die Population gut bekannt ist, sollte ein gepresster Beleg gesammelt werden, der die Population, von der die Samen gesammelt wurden, repräsentiert. Fotos sind ebenfalls nützlich.

THEMA 8. DOKUMENTATION

Zusammenfassung geschrieben von Simon Linington (RBGK), basierend auf dem Vortrag von Gianni Bedini (Botanischer Garten Pisa) und anschließender Diskussion.

Allgemeine Bemerkungen

Sammlungen ohne gute Dokumentation sind weitgehend nutzlos. Beim Aufnehmen der Daten jeder einzelnen Samenaufsammlung ist es wesentlich, sich daran zu erinnern, dass die Daten für die Nutzer sowohl jetzt als auch über die gesamte Lebensdauer der Sammlung hinweg (vielleicht 200 Jahre von jetzt an) aussagekräftig sein müssen. Die Daten müssen daher objektiv sein und sollten einheitlich zusammengetragen werden.

Dies wird durch die Verwendung von Datenstandards erreicht. ENSCONET hat Datenstandards publiziert (siehe ENSCONET Collecting Manual, 2009) An diesen Standards sollten sich die Daten halten. Aufsammlungsdaten (siehe ENSCONET Anleitung zum Sammeln von Wildpflanzensamen) werden im Gelände aufgenommen. Die Daten über die weiterführende Behandlung der Aufsammlung und des Beleges werden mit den Aufsammlungsdaten verknüpft. Sind die Daten gut strukturiert, können sie helfen, die Bearbeitung des Materials zu verfolgen. Es ist wichtig, Bereitstellung und Verwendung der Sammlung zu notieren.

Die Syntax und vor allem die Regeln der Dateneingabe, sind wichtig. Daher muss die Dateneingabe geprüft werden, z.B. ob keine zukünftigen Daten eingegeben wurden, die Monatszahl ≤ 12 ist, etc.

Daten über die Aufbereitung können zusammengefasst werden (siehe z.B. Bone *et al.*, 2003):

- Reinigung
- Trocknung
- Verpackung
- Lagerung
- Bestimmung
- Abgabe

Details der individuellen Felder und ihre Standards sind im ENSCONET Datenschema aufgeführt. Das Notizfeld kann verwendet werden, um Änderungen in der Vorgehensweise zu notieren; es ist aber zu beachten, dass nach diesen Daten eventuell nicht gesucht werden kann.

Wo möglich, sollte das Internationale Übertragungsformat, das vom BGCi entwickelt wurde, verwendet werden, das die gemeinsame Verwendung von Daten erlaubt und die Datenaufbereitung vereinfacht, wenn die Daten in eine gemeinsame Datenbank übertragen werden.

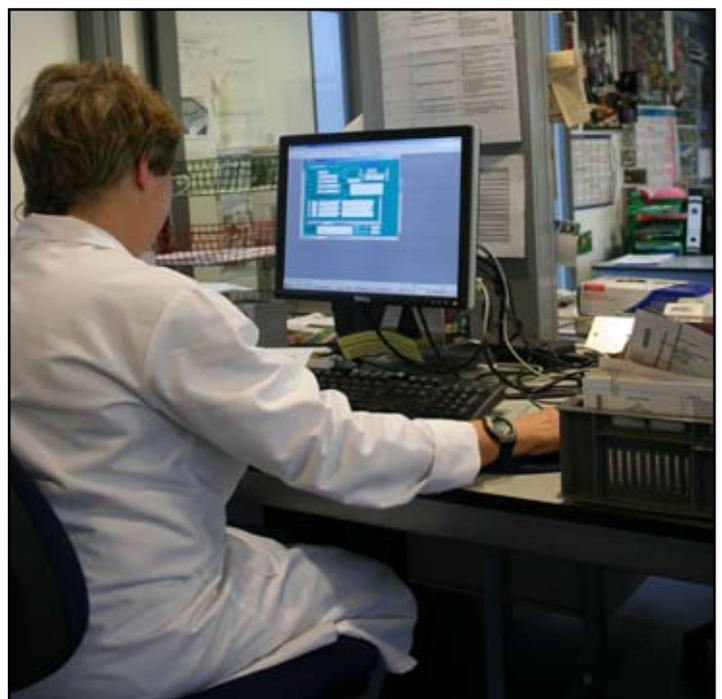


Abbildung 25 Gutes Datenmanagement ist unerlässlich. (© RBGK)

THEMA 9. REGENERIERUNG VON SAATGUT

Zusammenfassung geschrieben von Albert-Dieter Stevens (BGBM), basierend auf dem Vortrag von Simon Linington (RBGK) und anschließender Diskussion.

Allgemeine Bemerkungen

Definition & Verwendungszweck

Saatgutgewinnung ist die Produktion neuen Saatguts, wenn entweder die Lebensfähigkeit in einer alten Samenaufsammlung oder die Anzahl der Samen in einer Aufsammlung unter einen bestimmten Level gefallen ist.

Ein wesentlicher Gesichtspunkt der Saatgutvermehrung ist die Aufrechterhaltung der genetischen Reinheit der Originalsammlung. Die beiden Schwierigkeiten sind, die Vorkommen der verschiedenen Allele zu sichern und, wenn möglich, die Frequenz dieser Allele beizubehalten. Saatgutgewinnung ist eine teure Arbeit, die schwer gut durchzuführen ist und am besten, wenn möglich, durch eine große Aufsammlung hochqualitativer Samen im Gelände vermieden werden sollte. In einigen Fällen mag es besser sein, die Samen wieder direkt im Gelände zu sammeln (so das noch möglich ist), als wieder Saatgut heranzuziehen.

Der Grad der Lebensfähigkeit, bei dem Samenaufsammlungen erneuert werden müssen, ist der "Regenerierungsrichtwert". Dieser wird gewöhnlich hoch angesetzt (75-85 %), um genetischen Schaden, verbunden mit einem Verlust von Lebensfähigkeit und einer verschlechterten Etablierung im Gelände zu vermeiden. Da die Lebensfähigkeit einer Samenaufsammlung normalerweise in Intervallen von 5 oder 10 Jahren überprüft wird, ist es wichtig, dass zunächst die Dormanz gebrochen wird. Es ist unter Umständen schwierig, sicher zu sein, ob die Lebensfähigkeit der Aufsammlung noch über dem Richtwert ist.

Ein Vorgehen, bei dem die Probengröße erhöht wird, bis die Entscheidung getroffen werden kann, ist vorgeschlagen worden (genannt 'sequential testing', siehe Ellis, Hong & Roberts, 1985). Da dies jedoch ein aufwändiges Verfahren ist, werden die meisten Saatgutbanken entweder sicherheitshalber früh Samen regenerieren oder das Risiko eingehen, dass die Saatgutgewinnung zu spät durchgeführt wird. Es sollte berücksichtigt werden, dass die Etablierung im Gelände signifikant niedriger als die Keimungsrate im Labor ist. Daher sollte eine erhöhte Anzahl von Pflanzen für die Kultivierung in Erwägung gezogen werden.

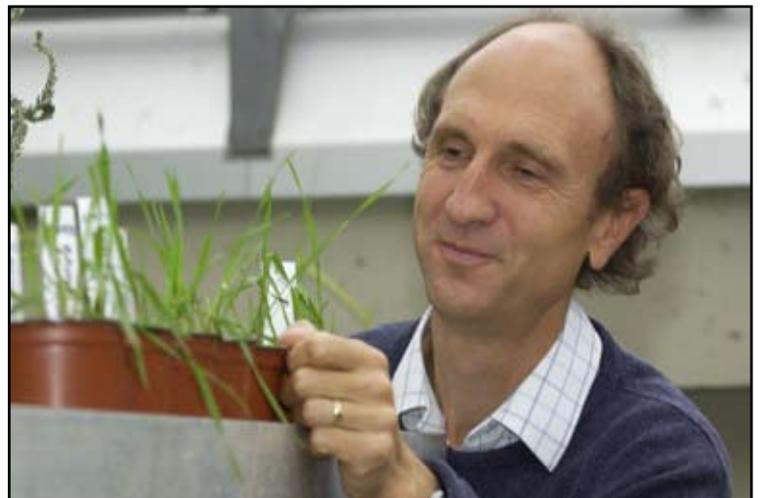


Abbildung 26 Regenerierung von *Bromus bromoideus* (in der Natur ausgestorben). (© RBGK)

Die Vermehrung von Saatgut muss durchgeführt werden, wenn die im Gelände gesammelte Anzahl von Samen niedrig ist (z.B. für kleine Populationen gefährdeter Arten) oder wenn die Samen in der Lagerung auf eine bestimmte Anzahl reduziert sind. Dieser Level sollte so gesetzt werden, dass genügend Samen für mehrere (etwa drei) Versuche zur Verfügung stehen (500-1000 lebende Samen). Die Anzahl von Samen in einer Lagerung geht aus zwei Gründen zurück. Zu einen werden Samen verwendet, um die Sammlung zu überprüfen. Dieser Schwund ist aufgrund der Häufigkeit der Tests und der Anzahl der dafür verwendeten Samen einigermaßen vorherzusagen. Zum zweiten werden Samen für Forschung oder Artenschutzprogramme zur Verfügung gestellt. Dies ist nicht vorher abzuschätzen, einige Sammlungen werden sehr beliebt sein, andere nur selten genutzt

werden. Eine Reihe von Saatgutbanken teilt jede Aufsammlung in eine konservierte Basisprobe und in eine aktive Probe. In diesem Fall wird die Basissammlung nur selten angetastet und die aktive zur Weitergabe genutzt. In den meisten Saatgutbanken wird die aktive Sammlung unter Bedingungen für eine kürzere Lagerung aufbewahrt, andere (z.B. RBGK) lagern beide Teilproben unter ähnlichen Langzeitlagerungsbedingungen. Im Falle sehr beliebter Proben kann die Anzahl der Samen in der aktiven Sammlung sehr rasch fallen. Dann sollte die aktive Probe gewählt werden, um eine frische Saatgutprobe zu regenerieren. Geschieht dies zu oft (vor allem an einem Ort, der weit entfernt vom Ort der Aufsammlung ist) besteht die Gefahr, dass die aktive Sammlung eines Tages genetisch von der Basissammlung abweicht. Daher sollten gelegentlich auch Proben aus der Basissammlung verwendet werden, um die aktive Sammlung zu regenerieren.

Akzessionen mit einer geringen Lebensfähigkeit sollten gegenüber Akzessionen mit einer kleinen Anzahl von Samen bevorzugt regeneriert werden.

Risiken

Die Saatgutgewinnung beinhaltet aufgrund von Selektionsprozessen, genetischer Drift (der zufällige Verlust seltener Allele in kleinen Proben) oder Hybridisierung mit nahe verwandtem Material (insbesondere der gleichen Art), das in der Nähe wächst, Risiken für die genetische Reinheit der Samenakzessionen (siehe Breese, 1989 für eine klare, detaillierte Diskussion). Die Mitarbeiter der Saatgutbank sollten ihr Bestes tun, um diese Risiken zu minimieren. Es ist aber zu akzeptieren, dass selten perfekte Ergebnisse erreicht werden können.

Hybridisierung ist bei Fremdbestäubern ein großes Risiko. Es muss angemerkt werden, dass Selbstbestäuber einen niedrigen Level von Fremdbestäubung aufweisen, dieser Level kann unter bestimmten Umweltbedingungen ansteigen. Auch können einige apomiktische Arten fakultative Fremdbestäuber sein.

Selektion kann in vielen Formen auftreten und ist besonders offensichtlich, wenn das Material unter Bedingungen angezogen wird, die sich von denen am natürlichen Wuchsort erheblich unterscheiden. Selektion wird durch klimatische und edaphische (einschließlich mikrobielle) Unterschiede, verglichen mit dem Originalstandort, hervorgerufen. In der Kultivierung können Krankheiten oder Schädlinge auftreten, mit denen die Pflanzen am Wildstandort nicht in Berührung gekommen sind. Wachsen die Pflanzen signifikant dichter als es am Wildstandort vorkommt, können Wettbewerbseffekte auftreten. Leiter der Saatgutbanken müssen daran denken, dass in der Gartenkultur normalerweise schwache oder abweichende Pflanzen entfernt werden; es müssen klare Anweisungen gegeben werden, dieses nicht zu tun. Weitere Selektionsprozesse resultieren aus Unterschieden sowohl im Zeitpunkt als auch der Menge der Blüten-, Pollen- und Samenproduktion. Diese Effekte können begrenzt werden, wenn von jeder Pflanze die gleiche Samenmenge geerntet wird.

Wenn nicht ein Teil der Sammlung als Sicherung zurückgehalten wird, besteht ferner bei ungünstigen Umweltbedingungen das Risiko eines kompletten Verlustes. Daher muss bei der Gewinnung von Saatgutproben, die viel kleiner als die Originalaufsammlung sind, eine Balance zwischen der Teilung der Sammlung aus Sicherheitsgründen und der Entstehung eines Flaschenhalseffektes erreicht werden. Ein Flaschenhalseffekt hat zur Folge, dass Allele nicht in die nächste Generation vererbt werden oder Inzuchtdepression (im Fall von Fremdbestäubern) auftritt.

Ein weiteres Risiko besteht darin, die Samen nach der Ernte mit morphologisch ähnlichen Samen anderer Aufsammlungen zu vermischen. Dieses Risiko sollte nicht höher sein als bei anderen Samenaufsammlungen oder –aufbereitungen, vorausgesetzt, man nutzt den gesunden Menschenverstand.

Genetische Aspekte der Saatgutregenerierung

Das Ziel der Vermehrung des Saatgutes ist, eine zufällige Paarung zwischen einer konstanten Anzahl von Eltern jeder Generation zu erreichen und den reproduktiven Ertrag der Elternpflanzen abzugleichen (siehe Breese, 1989). In der Natur tragen aufgrund verschiedener Ursachen nicht alle Pflanzen einer Population gleichmäßig zur nächsten Generation bei, daher repräsentieren einzelne Wildaufsammlungen selten die gesamte genetische Variation einer Art an einem bestimmten Standort. Bei der Regenerierung ist der Verlust der genetischen Variation zu minimieren, so dass die genetische Ausstattung der in der Natur gesammelten Samen der ersten Generation, der zweiten Generation usw. entspricht. Im Idealfall wird eine Regenerierung so selten wie möglich und mit einer maximalen Anzahl von Individuen durchgeführt. Ein "Flaschenhals" allein kann bereits einen signifikanten Verlust genetischer Vielfalt verursachen. Zum Beispiel sollten, wenn 50 Individuen in der freien Natur besammelt wurden, mindestens 50 Individuen für die Saatgutvermehrung eingesetzt werden. Werden nur 10 Individuen verwendet, ist mit einem signifikanten Verlust genetischer Diversität zu rechnen. Auch wenn in der anschließenden Saatgutvermehrung jeweils 50 Individuen verwendet werden, wird der Flaschenhals der ersten Vermehrung deutlichen Einfluss haben.

Es besteht die Gefahr, dass das zufällige Auswählen der Samen, aus denen die Pflanzen für die Saatgutvermehrung angezogen werden sollen, nicht zufällig genug ist. Zum Beispiel könnten durch Zufall 10 der 50 Samen von einer im Gelände besammelten Pflanze stammen. Um dieses Problem zu vermeiden, werden von verschiedenen Pflanzen geerntete Samen separat gehalten (siehe unten).

Es ist unbedingt notwendig, dass die Reproduktionsbiologie der Art beachtet wird. Die Reproduktionsbiologie einer Art ist definiert als "all factors, apart from mutation, affecting the degree to which gametes (that) fuse at fertilisation are genetically alike" (Thain & Hickman, 2000 – siehe auch Annex 1). Es ist jedoch wichtig anzumerken, dass sich das Fortpflanzungssystem zwischen Populationen der gleichen Art unterscheiden und die Inkompatibilität bei vielen Arten am Ende der Blütezeit aufhören kann. Obligate Selbstbestäuber (z.B. Arten mit geschlossenen (kleistogamen) Blüten), und apomiktische Arten benötigen keine kontrollierte Bestäubung, aber alle Fremdbestäuber müssen kontrolliert bestäubt werden (siehe unten). Es muss beachtet werden, dass, wenn Fremdbestäuber sich selbst bestäuben müssen (z.B. wenn die Populationsgröße nur wenige Individuen umfasst) sich unter Umständen in dem Maße eine Inzuchtdepression entwickelt, wie die Frequenz der Homozygotie steigt. Zum Beispiel ist es möglich, die Selbst-Inkompatibilität bei *Brassica oleracea* zu überwinden (indem die Blütenknospe geöffnet und die Narbe bestäubt wird) und die Art zur Selbstbestäubung zu zwingen. Dieses kann zu einer Inzuchtdepression führen. Ähnlich kann, wenn Selbstbestäuber bei der Fremdbestäubung unterstützt werden, sich eine 'outbreeding depression' entwickeln und die Frequenz der Heterozygotie steigen. In beiden Fällen kann die Fitness der Individuen gemindert werden.

Methoden der Bestäubung

Meistens muss die Bestäubung künstlich mit verschiedenen Hilfsmitteln durchgeführt werden, die Pollenüberträger nachahmen. Meistens wird der Pollen von den Antheren einer Pflanze mit einem Pinsel auf die Narbe einer anderen Pflanze übertragen.

Entscheidend für einen erfolgreichen Fruchtansatz ist die Wahl des richtigen Zeitpunktes. Die Empfänglichkeit der Narbe ist wie die Öffnung der Antheren und die Freisetzung des Pollens ist auf ein bestimmtes Zeitfenster beschränkt. Ferner reicht die natürliche Lebensdauer von Pollen von 30 Minuten bei einigen Gräsern über länger als einen Tag bei Gymnospermen und einigen Obstbäumen (Richards, 1997) bis hin zu vielen Tagen, zum Beispiel bei Orchideen (Pritchard, H.W., pers. Mitt.). Der Zeitpunkt der Freisetzung des Pollens kann als Richtschnur für die Pollenreife angesehen werden (Pritchard, H.W., pers. Mitt.). Weil die Reife der Narbe weitaus schwieriger zu beurteilen ist, sollte die Handbestäubung über mehrere Tage erfolgen. Die ideale Methode, die

genetische Diversität bei der Saatgutvermehrung zu sichern, ist eine paarweise reziproke Kreuzung (siehe Breese, 1989). Die Individuen sind zufällig zu paaren und dann (im Fall von monözischen Arten) in beide Richtungen (reziprok) zu kreuzen, indem jede Pflanze sowohl als mütterliche als auch als väterliche Pflanze dient. Um eine Vermischung zu verhindern, sollten die Pflanzen etikettiert werden. Im Idealfall werden die Samen von jeder Elternpflanze separat gehalten, oder – als nächstbeste Methode – von jedem Paar. Obwohl die genetische Integrität so erhalten bleibt, mag dies zuweilen nicht praktikabel sein, weil die Aufbereitung und Lagerung aufwändiger wird. Zum Beispiel müssen für die Keimungstests und das Versenden von Saatgutproben an Nutzer die Saatgutproben umfangreich sein.

Bei einer etwas praktikableren Herangehensweise, die die genetische Integrität der Proben allerdings reduziert, werden von jeder Pflanze gleich viele Samen in die Gesamtprobe gegeben. Einige Institute (siehe Chorlton *et al.*, 2003) halten als Sicherheitsprobe eine solche "ausgewogene Probe" vor. Die verbleibende "nichtausgewogene Probe" (z.B. von Pflanzen, die überzählige Samen produziert haben) dient Zwecken, bei denen die genetische Vielfalt keine oder eine geringere Rolle spielt. In zahlreichen Fällen wird die paarweise Handbestäubung zu zeitaufwändig sein. Dann kann eine Kreuzung aller Elternpflanzen, die für die Saatgutvermehrung ausgewählt wurden, durchgeführt werden. Die Anzahl der Individuen, die zur Saatgutvermehrung beitragen, kann durch die Handbestäubung an mehreren Tagen erhöht werden, indem auch frühe und späte Blüte abgedeckt werden. Es ist darauf zu achten, dass nicht nur der Pollen einer oder weniger Pflanzen verwendet wird. Noch einmal: von jedem Individuum sollten, wenn möglich, 30 Samen getrennt aufbewahrt werden. Weniger gut ist es, die eine gleiche Anzahl Samen von jeweils verschiedenen Elternpflanzen zusammenzufassen. Die letzte noch befriedigende Lösung ist, eine zufällige Bestäubung mit Hilfe natürlicher Bestäuber wie Wind oder geeigneten Insekten, die vorhanden sind, zu erlauben.

Genetische Isolierung

Während der Saatgutgewinnung ist es notwendig, Kontaminationen durch versehentlich eingeschleppten Pollen der gleichen oder einer nahe verwandten Art zu vermeiden. Dieses wird erreicht, indem die Pinsel und Pinzetten, die für die Bestäubung benutzt werden, sorgfältig gereinigt werden und die Kulturen voneinander getrennt sind. Eine einfache Isolierung wird erreicht, indem man die Sammlungen räumlich trennt. Die Distanz hängt davon ab, ob die Art insekten- oder windbestäubt ist und welche Barrieren (z.B. Gewächshauswände oder Insektengaze) die Sammlungen voneinander trennen. Innerhalb der meisten Institute bzw. botanischen Gärten werden die möglichen Distanzen für eine räumliche Isolierung begrenzt sein. Daher wird gewöhnlich entweder die Blüte verwandter Aufsammlungen während der Bestäubungszeit unterbunden (das ist möglich bei ausdauernden Arten) oder die Blüten werden vor der Freisetzung des Pollens in luftdurchlässige "Butterbrottüten" halb aus Folie, halb aus Papier verpackt und vorsichtig bestäubt, indem die Tüten kurz abgenommen werden. Werden Tüten verwendet, ist es wichtig, dass sich Blüten und Früchte ohne erhöhte Schädigung aufgrund erhöhter Luftfeuchtigkeit oder Infektionen entwickeln. Die Tüten sollten bereits während des frühen Knospenstadiums angebracht und erst dann entfernt werden, wenn die Entwicklung der Früchte begonnen hat.



Abbildung 27 Insektenbestäubung sollte vermieden werden, da sie Hybridisierung zur Folge haben kann. (© RBGK)

Kulturbedingungen

Es ist unmöglich, den Regenerierungsprozess für alle Arten zu standardisieren, daher müssen Empfehlungen und Protokolle jeweils für jede einzelne Art entwickelt werden. Spezifische Informationen über die Ökologie der Art, Forschungsergebnisse und eine umfassende Dokumentation aller Kultivierungsschritte sind für die Saatgutvermehrung von entscheidender Bedeutung. Um die benötigte Anzahl von Pflanzen zu erhalten, müssen ausreichend Samen ausgesät werden. Wird direkt auf Kompost oder Boden ausgesät, wird die Keimrate geringer als im Labor ausfallen. Zusätzlich können Pflanzen absterben, bevor sie Blüten zur Reproduktion entwickeln.

Die Kultur sollte unter ähnlichen ökologischen Bedingungen, wie sie am Standort der Originalpopulation herrschen, erfolgen (Licht, Wasser, Bodentyp, pH, Temperatur etc.), aber Fressfeinde, Unkräuter und Krankheiten ausschließen. Um Wettbewerb zu verhindern, benötigen die Pflanzen ausreichend Platz. Eine große Anzahl von Pflanzen wird im ersten Jahr / in den ersten Jahren keine Samen produzieren, daher sollte die Pflege über einen längeren Zeitraum und eine Stabilität der Kulturbeete gewährleistet sein. Blühen und Fruchten kann durch bestimmte Umweltreize ausgelöst werden, die appliziert oder künstlich kontrolliert werden müssen, wie eine bestimmte Wasserversorgung oder die Temperatur. Dieses kann insbesondere für das Reifen der Früchte oder der Samen von Bedeutung sein. Die Keimung und anschließende Wachstumsphasen sollten in Einklang mit den Jahreszeiten geplant werden, so dass die Reifung der Samen mit günstigen Wetterbedingungen zusammenfällt.

Die Pflanzen sollten in regelmäßigen Abständen kontrolliert werden. Diese Inspektionen bieten auch die Möglichkeit zu kontrollieren, ob das richtige Pflanzenmaterial dort heranwächst. Die Ernte sollte zum Zeitpunkt der natürlichen Ausbreitung stattfinden. Bei einer Reihe von Fällen wie bei aufspringenden Kapseln wird es nötig sein, die Fruchtstände kurz vor dem Zeitpunkt der Ausbreitung einzutüten.

Dokumentation

Gärtner haben die Tendenz, Informationen eher in ihrem Kopf zu behalten als sie niederzuschreiben. Für zahlreiche Arten gibt es wenig Literatur über ihre Kultivierung, geschweige denn über ihre Regenerierung. Daher sollten die Mitarbeiter angehalten werden, jeden Aspekt der Regenerierung zu dokumentieren. Liegen diese Informationen in einer Datenbank vor, sind sie die vielleicht einzigen für eine Art und können daher sehr wertvoll für andere Saatgutbanken oder andere Institutionen sein, die in Artenschutz- oder Wiederausbringungsprogramme involviert sind. In [Anhang 2](#) wird ein Datenblatt für die Dokumentation vorgeschlagen. Werden die Daten weithin verteilt, ist es hilfreich, die jeweiligen Standortbedingungen der Kultur zu charakterisieren, einschließlich Bodentyp, Temperaturregime, Lichtbedingungen, Wasserregime, Aufbereitung und Pflanzschema. Wenn auch nicht im Datenblatt in [Anhang 2](#) vorgegeben, sind Daten über den Anteil bestäubter Blüten, die Samen ansetzen, und über die Samenernte (Anzahl) pro Pflanze nützlich, um zukünftige Bemühungen in der Saatgutvermehrung zu unterstützen.

Forschungsprioritäten

Forschungen über die genetische Diversität von Wildpflanzen tragen dazu bei, unseren Kenntnisstand über die minimale Anzahl von Proben und die für die effektive Regenerierung von Pflanzen nötige Populationsgröße zu verbessern. Verlässliche Identifizierung (genetisches Fingerprinting) von Akzessionen, die relativ einfach und billig durchzuführen sind, würden helfen, die genetische Reinheit von nachgezogenen Proben zu überprüfen.

Das Fehlen von Informationen über das Reproduktionssystem der meisten Arten erschwert ein passendes Management der Saatgutgewinnung. Untersuchungen der Reproduktionsbiologie (z.B. Raten von Fremdbestäubung, geschlechtliche Fortpflanzung versus Apomixis) können dazu beitragen, das Vorgehen zur Saatgutgewinnung der jeweiligen Art angemessen anzupassen.

ANHANG 1. ZUSAMMENFASSUNG DER REPRODUKTIONS BIOLOGIE DER PFLANZEN

Siehe Richards (1997) für weitere Einzelheiten.

♂ - männlich (Staubblatt = Staubbeutel mit Pollenkörnern + Filament)

♀ - weiblich (Fruchtblatt = Ovar mit einer oder mehreren Eizellen + Narbe + Griffel)

♂♀ - hermaphroditisch (– kann sich auf Pflanzen oder Blüten beziehen)

Blütenverhältnisse	Pflanzen	Blüten		Note
Diözie ¹	♂ oder ♀	♂ oder ♀	Fremdbestäubung (obligatorisch)	A
Monözie ²	♂♀	♂ oder ♀	Fremdbestäubung	B
Hermaphroditie	♂♀	♂♀	siehe unten	C



Selbstinkompabilität				
- gametophytisch	♂♀	♂♀	Fremdbestäubung	D
- sporophytisch	♂♀	♂♀	Fremdbestäubung	E
Verschiedene Blütentypen ^a	♂♀	♂♀	Fremdbestäubung	F
Antheren und Narbe getrennt – Bestäubung erfordert Insektenbesuch ^b	♂♀	♂♀	Fremdbestäubung	G
Pollen- und Narbenreife sind zeitlich getrennt ^c	♂♀	♂♀	Fremdbestäubung	H
Selbstbestäubung	♂♀	♂♀	Selbstbestäubung	I
Asexuell gebildete Samen ^d	♂♀	♂♀ oder ♀	Asexuelle Vermehrung	J

^a Heteromorphie, ^b Herkogamie, ^c Dichogamie (Protandrie - ♂ reifen zuerst auf der Pflanze; Protogynie - ♀ reifen zuerst auf der Pflanze), ^d Agamospermie.

¹&² viele Varianten, z. B.:

Blütenverhältnisse	Pflanzen	Blüten
¹ Gynodioecie	♂♀ oder ♀	♂♀, ♂ oder ♀
¹ Androdioecie	♂♀ oder ♂	♂♀, ♂ oder ♀
² Gynodioecie	♂♀	♂♀ oder ♀
² Androdioecie	♂♀	♂♀ oder ♂

Note	Kommentar	Beispiel
A Dioecie	Selten. Betrachte die Blüten.	Salicaceae. Tropische Waldbäume.
B Monoecy	Selten. Betrachte die Blüten. Häufig zeigen sie Dichogamie.	Große wind- oder wasserbestäubte Arten / mit Blütenköpfchen oder Dolden. Cyperaceae
C Hermaphroditie	Sehr verbreitet. Betrachte die Blüten. Die natürliche Bestäubung kann wichtige Hinweise zur Reproduktionsbiologie geben.	
D GSI ³	Häufiger als SSI. In den meisten Ordnungen der Blütenpflanzen. Experimenteller Nachweis oder Literatur.	Einige Poaceae, <i>Corylus avellana</i>
E SSI ⁴	Experimenteller Nachweis oder Literatur.	Viele Brassicaceae, Asteraceae
F Heteromorphie	Verschiedene Blütentypen – häufig reziproke Herkogamie (siehe unten). Betrachte die Blüten. Blüten verschiedener Morphen sind kreuzkompatibel, gleicher Morphen inkompatibel.	Rubiaceae, Boraginaceae, Plumbaginaceae, Primulaceae ((lange Stempel / kurze Antheren und umgekehrt in <i>Primula</i>)
G Herkogamie	Antheren und Narben deutlich voneinander getrennt. Betrachte die Blüten.	Orchidaceae, Primulaceae
H Dichogamie	Experimenteller Nachweis oder Literatur.	Caryophyllaceae (proterandrisch), einige Brassicaceae, Rosaceae (protogyn)
I Selbstbestäuber	Mit Selbstbestäubung gekoppelte Merkmale (siehe unten) oder geschlossene Blüten. ("Kleistogamie"), experimenteller Nachweis oder Literatur.	Viele annuelle Pionierarten, Nutzpflanzen.
J Agamospermie	Einige Arten können ihre Samen sexuell oder asexuell bilden. Literatur.	<i>Taraxacum</i> , einige <i>Ranunculus</i> -Arten

³ GSI. Siehe Richards (1997). Die gleichen Allele kontrollieren die Erkennungs-Faktoren des Pollens und der Narbe. Die Faktoren bestehen unabhängig voneinander in der diploiden Narbe und im haploiden Pollen. Tragen Pollen und Narbe den gleichen Faktor, besteht eine Inkompatibilität und der Pollenschlauch wächst nicht zur Eizelle herunter.

Pollengenotyp	$S_1 \text{ \& } S_2$	$S_1 \text{ \& } S_2$	$S_1 \text{ \& } S_2$
Narbengenotyp	$S_1 S_2$	$S_1 S_3$	$S_3 S_4$
	Inkompatibel	zum Teil kompatibel	voll kompatibel

⁴ SSI. Siehe Richards (1997). Die Kontrolle des Pollenkorns beruht auf der sporophytischen Anthere, die die Pollenkörner bildet. Es gibt eine Dominanz der Faktoren des Pollens, aber eine unabhängige Expression der Allele in der Narbe.

Pollenphänotyp	S_1 (angenommen $S_1 > S_2$)	S_1	S_1
Narbengenotyp	$S_1 S_2$	$S_1 S_3$	$S_3 S_4$
	Inkompatibel	Inkompatibel	voll kompatibel

THEMA 10. WEITERGABE DER SAMEN

Zusammenfassung geschrieben von Albert-Dieter Stevens (BGBM) basierend auf dem Vortrag von Simon Linington (RBGK) und anschließender Diskussion.

Allgemeine Bemerkungen

Samenproben werden von Wildpflanzen-Genbanken für verschiedene Zwecke verschickt. Die Weitergabe kann intern im Institut oder extern (national / international) erfolgen. Die Verwendung umfasst Grundlagen- und angewandte Forschung, Bildung, Zucht, Wiederausbringung der Art und Habitatwiederherstellung. Die angewandte Forschung und Züchtung schließt private Sparten mit ein. Zahlreiche Saatgutbanken geben Samenlisten heraus (manche online), aus denen die Nutzer wählen können. Diese Listen sollten von Sammlungen erstellt werden, die eine adäquate Menge von Samen, eine akzeptable Keimungsrate sowie eine überprüfte Bestimmung aufweisen.

Aufsammlungen sollten dann aus der Liste ausgeschlossen werden, wenn sie aufgrund von Übereinkünften unter Sammelbeschränkungen fallen, z.B. durch eine Regierung, Nationalpark oder den Landeigentümer. Arten, von denen bekannt ist, dass sie extrem invasiv oder schädlich sind, sollten nicht in die Liste aufgenommen werden (oder, wenn sie in der Liste aufgeführt werden, sollte eine eindeutige Warnung dabeistehen). Nahezu alle Arten haben das Potential, unter den richtigen Bedingungen invasiv zu werden, daher ist eine generelle Warnung vor diesem Risiko wichtig. Wenn möglich, sollten alle relevanten Daten (einschließlich der Keimungsbedingungen) mit der Samenliste verbunden sein; wenn nicht, sollten die zu der angefragten Samenprobe gehörenden Daten entweder als Kopie zusammen mit der Sendung oder elektronisch weitergegeben werden. Fallen Bearbeitungsgebühren an, sollte dieses deutlich auf der Samenliste vermerkt werden, realistische Bearbeitungsgebühren decken kaum die Kosten, die von der Verwaltung für den Eingang dieses Geldes benötigt werden.

Es ist wichtig, dass Saatgutbanken über einen Grundstock an Samen verfügen, der nicht weitergegeben wird. Dieses wird entweder durch die physische Trennung der Basissammlung von der Sammlung für die Samenweitergabe erreicht, oder durch ein Kontrollsystem in der Saatgut-Datenbank der Saatgutbank, das meldet, wenn alle aktiven Portionen der Probe aufgebraucht sind. Für den letzten Fall ist eine ausfallsichere Grundsicherung nötig, wobei der Computer anzeigt, wenn nur noch wenige Samen in der Saatgutbank vorhanden sind. Dieses kann durch einen hohen Level beim Bestimmen der Vertrauensgrenze erreicht werden, indem vom Durchschnittsgewicht von fünf Proben à 50 Samen der Wert durch das gesamte Samengewicht geteilt und mit 50 multipliziert wird, um die Gesamtanzahl der Samen zu erhalten (siehe Thema 1).

Aufgrund nationaler Souveränität und Eigentumsverhältnissen genetischer Ressourcen (die sich aus der Konvention über die Biologische Vielfalt –CBD, <http://www.cbd.int> ergeben, siehe auch den Internationalen Vertrag über Pflanzengenetische Ressourcen für Ernährung und Landwirtschaft <http://www.planttreaty.org/>), werden Saatgutproben normalerweise unter den Bedingungen einer verbindlichen Materialübertragungsvereinbarung (MTA) abgegeben, die vorschreibt, wofür die Samen verwendet werden dürfen, ob sie an Dritte weitergegeben werden können und wie aus der Nutzung der Samen erzielte Einkünfte geteilt werden.

Damit werden die Bedingungen, unter denen die Samen gesammelt wurden, auf den Nutzer übertragen. In den meisten Fällen werden die Samen gegen den Erhalt einer unterschriebenen MTA versendet. Alternativ kann eine Vereinbarung getroffen werden, die der Nutzer mit dem Empfang der Samen akzeptiert. Ein Beispiel einer MTA ist auf den Webseiten der Millennium Seed Bank zu finden (<http://data.kew.org/seedlist/msa.pdf>). Es ist wichtig, dass Nutzer gefragt werden, wofür die Samen verwendet werden, dies kann Bestandteil der MTA sein. Ein anderer Aspekt,

der beim Versand der Samen beachtet werden muss, ist der Pflanzenschutz. Innerhalb der EU können Samen ohne Beschränkungen versendet werden. Werden Samen in die oder aus der EU gebracht, muss das entsprechende Pflanzenschutzrecht beachtet werden. Weiterhin müssen im Falle von der Weitergabe von Arten, die auf der CITES-Liste (<http://www.cites.org>) stehen oder die Habitatdirektive (http://ec.europa.eu/environment/nature/legislation/habitatsdirective/index_en.htm) fallen, die entsprechenden nationale Behörden kontaktiert werden.

Bevor die Proben aus den Behältern entnommen werden, sollten diese die Umgebungstemperatur des Arbeitsraumes haben, um Kondensation auf den Samen zu vermeiden (die Aufwärmzeit hängt von der Behältergröße ab, für die meisten Behälter sollte eine Zeit von 24 Stunden ausreichen). Die Samen werden zufällig ausgewählt und anschließend in Folientüten verpackt (um eine Feuchtigkeitsaufnahme zu verhindern), bevor sie in bruchstabilen (gepolsterten) Briefumschlägen versendet werden.

Dokumente zum Pflanzenschutz und andere wichtige Papiere sollten außen auf dem Umschlag in einer Folientasche beigelegt werden. RBK hat die Erfahrung gemacht, dass eine selbstprüfende Seriennummer (eine sechsstellige Zahl mit einer aus dieser Zahl berechneten Kontrollziffer) hilfreich ist, um Fehler beim Bearbeiten der Anfragen zu vermeiden. Die Samenbank sollte ferner dokumentieren, wer die Samenproben verschickt hat (das hilft auch, um Wiederholungen zu vermeiden), und für welche Zwecke die Samen verschickt wurden. Diese Information ist unverzichtbar, um den Wert von Sammlungen in Samenbanken aufzuzeigen. Wo immer möglich, sollten die Leiter von Genbanken über die Art von Aufsammlungen, die von potentiellen Nutzern benötigt wird, diskutieren; dieses würde helfen, eine maximale Verwendung der Sammlungen zu gewährleisten.



Abbildung 28 Aktive Sammlung in der Millenium Seed Bank. (© RBGK)

LITERATUR

- Bacchetta, G., Fenu, G., Mattana, E. Piotto, B. & Virevaire, M. (eds). (2006). Manuale per la raccolta, studio, conservazione e gestione ex situ del germoplasma. Manuali e Linee Guida 37/2006. APAT, Italy.
- Bacchetta, G., Bueno Sánchez, Á., Fenu, G. Jiménez-Alfaro, B., Mattana, E., Piotto, B. & Virevaire, M. (eds). (2008). Conservación ex situ de plantas silvestres. Principado de Asturias / La Caixa. pp. 378.
- Baskin, C.C. & Baskin, J.M. (1998). Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press, London.
- Baskin C.C. (2003). Breaking physical dormancy in seeds: focusing on the lens. *New Phytologist* 158(2): 229-232.
- Baskin, C.C., Thompson, K. & Baskin, J.M. (2006). Mistakes in germination ecology and how to avoid them. *Seed Science Research* 16: 165-168.
- Bone, J., Turner, R. & Tweddle, J. (2003). The Millennium Seed Bank Project's specimen and taxon databases. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert (eds). *Seed Conservation: Turning Science into Practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 327-336. http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_18.pdf
- Bridson, D. & Forman, L. (1998). *The herbarium handbook*. Revised edition. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Breese, E.L. (1989). Regeneration and multiplication of germplasm resources in seed genebanks: the scientific background. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. Free download from: http://www.bioversityinternational.org/publications/Web_version/209/
- Butler, L.H., Hay, F.R., Ellis, R.H. & Smith, R.D. (2009). Post-abscission pre-dispersal seeds of *Digitalis purpurea* L. remain in a developmental state that is not terminated by desiccation ex planta. *Annals of Botany* 103: 785-794.
- Chorlton, K.H., Sackville Hamilton, N.R., Thomas, I.D. & Jones, M.H. (2003). Vegetative collection of forage grasses and legumes, and method of regeneration for seed. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert (eds). *Seed Conservation: Turning Science into Practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 203-207. http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_10.pdf
- Center for Plant Conservation (1986). *Recommendations for the Collection and Ex Situ Management of Germplasm Resources from Rare Wild Plants*. Jamaica Plain, Mass., USA.
- Crane, J., Miller, A.L., Van Roekel, J.W. & Walters, C. (2003). Triacylglycerols determine the unusual storage physiology of *Cuphea* seed. *Planta* 217: 699-708.
- Cromarty, A.S., Ellis, R.H. & Roberts, E.H. (1990). *Handbooks for Genebanks: no. 1, The Design of Seed Storage Facilities for Genetic Conservation*. Revised edition. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.
- Dickie, J.B., Ellis, R.H., Kraak, H.L., Ryder, K. & Tompsett, P.B. (1990). Temperature and seed storage longevity. *Annals of Botany* 65: 197-204.
- Ellis, R.H., Hong, T.D. & Roberts, E.H. (1985). *Handbooks for Genebanks: No. 2, Handbook of Seed Technology for Genebanks, Volume I. Principles and Methodology*. International Board for Plant Genetic

Resources, Rome, Italy. http://www.biodiversityinternational.org/publications/publications/publication/publication/handbook_of_seed_technology_for_genebanks_vol_i_principles_and_methodology.html

Ellis, R.H., Hong, T.D. & Roberts, E.H. (1990). An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. *Journal of Experimental Botany* 41:1167-1174.

Ellis, R.H., Hong, T.D. & Roberts, E.H. (1995). Handbooks for Genebanks: No. 3 Handbook of Seed Technology for Genebanks - Volume II. Compendium of Specific Germination Information and Test Recommendations. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. Available on the internet: <http://www.biodiversityinternational.org/publications/Web%5Fversion/52/>

Ellis, R.H. & Hong, T.D. (2007). Seed longevity – moisture content relationships in hermetic and open storage. *Seed Science & Technology* 35: 423-431.

Ellis, R.H. & Roberts, E.H. (1980). Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany* 45: 13–30.

ENSCONET (2009). ENSCONET Seed Collecting Manual for Wild Species. <http://www.ensconet.eu/Download.htm>

ENSCONET database schema (2009) <http://www.ensconet.eu/Database.htm>

FAO / IPGRI (1994). Genebank Standards. Food and Agriculture Organisation of the United Nations / International Plant Genetic Resource Institute, Rome, Italy. http://www.biodiversityinternational.org/publications/publications/publication/publication/genebank_standards.html

Finch-Savage, W.E. & Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171: 501–523.

Funk, V.A., Hoch, P.C., Prather, L.A. & Wagner, W.L. (2005) The Importance of Vouchers. *Taxon* 54(1): 127-129.

Goldblatt, P., Hoch, P.C. & McCook, L.M. (1992) Documenting Scientific Data: The Need for Voucher Specimens. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 74(4): 969-970.

Gomez-Campo, C. (2002). Long-term seed preservation: the risk of selecting inadequate containers is very high. *Monographs ETSIA, Univ. Politecnica de Madrid* 163: 1-10.

Gomez-Campo, C. (2006). Erosion of genetic resources within seed banks: the role of seed containers. *Seed Science Research* 16: 291-294.

Gomez-Campo, C. (2009). Efficient long term seed preservation. *Monographs ETSIA, Univ. Politecnica de Madrid* 171: 1-3.

Gosling, P.G. (2003). Viability testing. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert (eds). *Seed Conservation: Turning Science into Practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 445-481. http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_24.pdf

Havens, K., Guerrant, E.O., Maunder M. & Vitt, P. (2004). Appendix 3. Guidelines for Ex Situ Conservation Collection Management: Minimising Risks. In: Guerrant, E.O., Havens, K. & Maunder, M. (eds). *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild*. Island Press, U.S.A.

Hay, F.R. & Probert, R.J. (1995). Seed maturity and the effect of different drying conditions on desiccation tolerance and seed longevity in foxglove (*Digitalis purpurea* L). *Annals of Botany* 76: 639-647.

ISTA (2008). International Rules for Seed Testing (edition 2008). International Seed Testing Association. Switzerland.
Linington, S.H. (2003). The design of seed banks. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert (eds). Seed Conservation: Turning Science into Practice. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 591-636. http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_33.pdf

Liu, K., Eastwood, R.J., Flynn, S., Turner, R.M. & Stuppy, W.H. (2008). Seed Information Database (release 7.1, May 2008). <http://www.kew.org/data/sid>

Manger, K.R., Adams, J. & Probert, R.J. (2003). Selecting containers for the Millennium Seed Bank Project: a technical review and survey. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert (eds). Seed Conservation: Turning Science into Practice. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 637-652. http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_34.pdf

Millennium Seed Bank Project website www.kew.org/msbp

MSBP Technical Information Sheet 5. <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/05-eRH%20moisture%20measurement.pdf>

MSBP Technical Information Sheet 10 <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/10-Desiccation%20tolerance.pdf>

MSBP Technical Information Sheet 14 <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/14-Seed%20cleaning.pdf>

MSBP Technical Information Sheets and Manuals http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/info_sheets.htm

Offord, C.A. & Meagher, P.F. (2009). Plant Germplasm Conservation in Australia: Strategies and guidelines for developing, managing and utilising ex situ collections. The Australian Network for Plant Conservation in partnership with Australian Seed Conservation and Research.

Pérez-García, F., González-Benito, M.E. & Gómez-Campo, C. (2007). High viability recorded in ultra-dry seeds of 37 species of Brassicaceae after almost 40 years of storage. *Seed Science and Technology* 35: 143-153.

Pérez-García, F., González-Benito, M.E. & Gómez-Campo, C. (2008). Germination of fourteen endemic species from the Iberian Peninsula, Canary and Balearic Islands after 32-34 years of storage at low temperature and very low water content. *Seed Science and Technology* 36: 407- 422.

Pritchard, H.W. & Dickie, J.B. (2003). Predicting seed longevity: use and abuse of seed viability equations. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert (eds). Seed Conservation: Turning Science into Practice. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 653-722. http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_35.pdf

Pritchard, H.W. & Nadarajan, J. (2008). Cryopreservation of orthodox (desiccation tolerant) seeds. In: *Plant Cryopreservation: A Practical Guide*, Reed B.M. (ed.). Springer Verlag, pp 485- 501.

Pritchard, H.W., Poynter, A.C. & Seaton, P.T. (1999). Interspecific variation in orchid seed longevity in relation to ultra-drying and cryopreservation. *Lindleyana* 14: 92-101.

Pritchard, H.W. & Seaton, P.T. (1993). Orchid seed storage. Historical perspective, current status and future prospects. *Selbyana* 14: 89-104.

Probert, R.J. (2003). Seed viability under ambient conditions and the importance of drying, In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert (eds). Seed Conservation: Turning Science into Practice. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 337-365. <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/>

Probert, R., Adams, J., Coneybeer, J., Crawford, A. & Hay, F. (2007). Seed quality for conservation is critically affected by pre-storage factors. *Australian Journal of Botany* 55: 326-335.

Probert, R.J., & Hay, F.R. (2000). Keeping Seeds Alive. In: Black, M. & Bewley, J.D. (eds.), *Seed Technology and its Biological Basis*. 375-410. Sheffield Academic Press.

Probert, R.J., Manger, K.R. & Adams, J. (2003). Non-destructive measurement of seed moisture. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert (eds). *Seed Conservation: Turning Science into Practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 367-387. http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_20.pdf

Rao, N.K., Hanson, J., Dulloo, M.E., Ghosh, K., Nowell, D. & Iarinde, M. (2006). Manual of seed handling in genebanks. Handbooks for genebanks No. 8. Bioversity International, Rome, Italy. For free download: http://www.bioversityinternational.org/publications/publications/publication/publication/manual_of_seed_handling_in_genebanks.html

Richards, A.J. (1997). *Plant Breeding Systems*. Chapman & Hall, London.

Roberts, E.H. & Ellis, R.H. (1989). Water and seed survival. *Annals of Botany* 63: 39-52.

Schmidt, L. (2000). *Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed*. Danida Forest Seed Centre, Humlebaek, Denmark.

Smith, R.D., Dickie, J.B, Linington, S.H. Pritchard, H.W. & Probert, R.J. (eds). (2003). *Seed Conservation: Turning Science into Practice*: Royal Botanic Gardens, Kew, UK. <http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/sctsip.htm>

Stanwood, P.C. (1985). Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation. In: *Cryopreservation of Plant Cells and Organs*, Kartha K.K. (ed). pp. 199-226. Boca Raton: CRC Press.

Terry, J., Probert, R.J. & Linington, S.H. (2003). Processing and maintenance of the Millennium Seed Bank collections. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert (eds). *Seed Conservation: Turning Science into Practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 307-325. http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_17.pdf

Thain, M. & Hickman, M. (2000). *The Penguin Dictionary of Biology*. Tenth edition. Penguin Books, London, UK.

Tompsett, P.B. (1986). The effect of temperature and moisture content on the longevity of seed of *Ulmus carpiniifolia* and *Terminalia brassii*. *Annals of Botany* 57: 875-883.

Vertucci, C.W., Roos, E.E. & Crane, J. (1994). Theoretical basis of protocols for seed storage. 3. Optimum moisture contents for pea-seeds stored at different temperatures. *Annals of Botany* 74: 531-540.

Walters, C., Wheeler L. & Stanwood, P.C. (2004). Longevity of cryogenically stored seeds. *Cryobiology* 48: 229-244.

Walters, C. (2007). Materials used for seed storage containers: response to Gómez-Campo [Seed Science Research 16: 291–294 (2006)]. *Seed Science Research* 17(4): 233-242.