

Markus Gansberger

## Samenmorphologie, Keimprozess, Saatgutaufbereitung und Bestimmung der Lebensfähigkeit von *Silphium perfoliatum* L. Samen

Seed morphology, germination process, seed processing and assessment of the viability of *Silphium perfoliatum* L. seeds

### Zusammenfassung

Die vielversprechende mehrjährige Energiepflanze *Silphium perfoliatum* L. erlangt in Mitteleuropa zunehmend Interesse als nachwachsender Rohstoff für die Biogasproduktion. Zur Ausweitung der Anbauflächen wird hochwertiges Saatgut benötigt, um einen vollständigen und raschen Feldaufgang bei einer Saat zu erreichen. An der Gewinnung und an der Bestimmung der Saatgutqualität wird aktuell gearbeitet. Die Abreife der Fruchtstände erfolgt wegen der laufenden Bildung neuer Blüten unregelmäßig, wodurch das Erntegut aus reifen, unreifen und tauben Früchten besteht.

Die Ziele der Arbeit waren den reinen Samen sowie den Keimprozess anhand eines normalen Keimlings von *Silphium perfoliatum* L. zu beschreiben, ein reproduzierbares Aufbereitungsverfahren zu entwickeln und eine Tetrazoliumtestmethode zur Bestimmung der Lebensfähigkeit von *Silphium perfoliatum* L. zu adaptieren.

Charakteristisch sind die flachen Achänen mit einem anhängenden Spreublatt und eine epigäische Keimung, bei der zwei Keimblätter aus der Fruchtschale über die Erde gehoben werden. Die Saatgutqualität wurde durch den Einsatz einer Siebmaschine mit unterschiedlichen Sieben und eines Gewichtsauslesers erhöht. Von der Rein-

ware wurde eine Lebensfähigkeit von 97,5% mit der erarbeiteten Tetrazoliumtestmethode ermittelt.

**Stichwörter:** Bestandesbegründung, Durchwachsene Silphie, Saatgutbehandlung, Saatgutqualität, Tetrazoliumtest

### Abstract

The interest in the promising perennial bioenergy crop *Silphium perfoliatum* L. to be used as a feedstock for biogas production in Europe is increasing. To expand the area under cultivation, high-quality seeds for stand establishment by sowing are needed, to guarantee a complete and rapid field emergence. Seed processing and defining the seed quality are current research topics. The ripening of the infructescence occurs irregularly and over an extended period due to the constant new formation of flowers, resulting in the harvesting of ripe, unripe and sterile seeds. The goals of this work were to describe the ripe seed as well as the germination process of *Silphium perfoliatum* L., to develop a reproducible method for seed processing and to adapt a tetrazolium test to define the viability of the seeds.

### Institut

Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Institut für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen, Wien, Österreich

### Kontaktanschrift

DDI Dr. Markus Gansberger, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Institut für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen, Spargelfeldstraße 191, 1220 Wien, Österreich, E-Mail: markus.gansberger@ages.at

### Zur Veröffentlichung angenommen

31. Oktober 2016

Characteristic for *Silphium perfoliatum* L. are the flatly-shaped achenes with its attached chaff, which germinate epigeally by lifting two cotyledons above ground. Seed quality was increased by using a sieving machine with different sieves as well as a gravity separator. The processed seeds had a viability of 97.5%, as determined by the newly developed tetrazolium test method.

**Key words:** Crop establishment, cup plant, seed treatment, seed quality, tetrazolium test

## Einleitung

*Silphium perfoliatum* L. ist eine hochwüchsige, ausdauernde, gelb blühende C<sub>3</sub>-Pflanze (HAYEK und HEGI, 1918; NEUMERKEL et al., 1978; SOKOLOV und GRITSAK, 1972; STANFORD, 1990; WROBEL et al., 2013), die aufgrund ihres hohen Biomasseerzeugungspotentials als nachwachsender Rohstoff für die Biogaserzeugung von hohem Interesse ist (AURBACHER et al., 2012; CONRAD et al., 2009; ŠIAUDINIS et al., 2012a, 2012b; SLEPETYS et al., 2012; VETTER et al., 2010).

Die Bestandesetablirung erfolgt weitgehend durch Auspflanzung mit vorgezogenen Jungpflanzen, da bei der Saat Probleme bestehen.

Durch die ungleichmäßige Abreife der Blütenstände und durch die Beschaffenheit der Blüten werden reife, unreife und taube Früchte (in der Folge wird die Bezeichnung „Samen“ verwendet) geerntet. Das geerntete Saatgut ist folglich ein Gemisch aus reifen, unreifen und tauben Samen sowie von Stängel- und Blütenteilen. Bei mangelhaft aufbereitetem Saatgut entstehen mindere Saatgutqualitäten, wodurch in der Folge der Feldaufgang bei der Saat gering ausfallen kann. BIERTÜMPFEL et al. (2013) und VETTER et al. (2010) führen die geringe Keimfähigkeit auf eine vorliegende Dormanz zurück. Die Saatgutqualität sowie das Potential an keimfähigen Samen (einschließlich dormanter Samen) können rasch durch die Bestimmung der Lebensfähigkeit mit einem Tetrazoliumtest bestimmt werden (ISTA, 2016; MOORE, 1973). Allerdings ist für *Silphium perfoliatum* L. noch keine Methode definiert.

Die Ziele der Arbeit waren den reinen Samen sowie den Keimprozess anhand eines normalen Keimlings von *Silphium perfoliatum* L. zu beschreiben, ein reproduzierbares Aufbereitungsverfahren zu entwickeln mit dem ein Saatgut hergestellt werden kann, dass aus nahezu 100% reinen und unbeschädigten Samen besteht und anhand einer adaptierten Tetrazoliumtestmethode die Lebensfähigkeit von *Silphium perfoliatum* L. zu bestimmen.

## Material und Methoden

### Samenherkünfte

Für die Versuche wurden zwei Samenherkünfte ausgewählt. Samenherkunft A wurde im September 2012 in Wien, Österreich (48°15'23"N, 16°29'5"E) geerntet. Samenherkunft B stammt von einer Ernte im September 2011 aus Rheinstetten-Forchheim, Deutschland

(48°58'1"N, 8°20'3"E) und wurde aufbereitet zur Verfügung gestellt. Die Lagerung des Saatgutes erfolgte über die gesamte Versuchsdauer in einem Klimaraum bei konstant 10°C.

### Samenmorphologie und Keimprozess von *Silphium perfoliatum* L.

Die Beschreibung des „reinen Samens“ und des Keimprozesses erfolgte an zerlegten Samen sowie anhand eines „normalen Keimlings“ der Samenherkunft A.

### Saatgutaufbereitung

Das händisch geerntete Saatgut der Samenherkunft A war nach der Ernte ein Gemisch aus reifen, unreifen und tauben Samen, Stängel- und Blütenteilen. Bei den Versuchen zur Saatgutaufbereitung, in Zusammenarbeit mit der Cimbria Heid GmbH (Stockerau, Österreich), wurden Geräte (Siebmaschine, Gewichtsausleser, Trieur, etc.) und Verfahren eingesetzt, die eine Sortierung und Trennung nach unterschiedlichen Eigenschaften (spezifisches Gewicht, Größe, Oberflächenbeschaffenheit, etc.) gewährleisten (SCHWANZ und PIPPEL, 2008). Die durchgeführten Versuche und die erhaltenen Fraktionen in Gewichtsprozent (Ausputz, Mischware, Reinware) wurden dokumentiert. Die zielführendste Variante wurde mit einer weiteren Saatgutpartie überprüft und schließlich schriftlich in den Ergebnissen ausformuliert. Von der Reinware bzw. von den „reinen Samen“ beider Samenherkünfte wurde abschließend die geometrische Dimension (Länge, Breite, Dicke), das Tausendkorngewicht, die Reinheit sowie die Lebensfähigkeit der Samen ermittelt.

Die mittlere geometrische Dimension wurde an acht Wiederholungen zu je 25 Samen mit einer Schublehre gemessen. Ebenso wurden acht Wiederholungen verwendet, um das mittlere Tausendkorngewicht zu bestimmen. Die Reinheitsuntersuchung erfolgte jeweils an einer Probe von 300 g. Das Ergebnis wurde in Gewichtsprozent dargestellt.

### Lebensfähigkeitsprüfung

Da für die Bestimmung der Lebensfähigkeit der Samen von *Silphium perfoliatum* L. keine Tetrazoliumtestmethode vorhanden ist, wurde die Methode von *Helianthus annuus* L., die mit *Silphium perfoliatum* L. verwandt ist, adaptiert (Tab. 1).

Im ersten Schritt wurden die Samen in deionisiertem Wasser für 18 Stunden bei 20°C in Dunkelheit eingeweicht. Am Ende der Einweichdauer wurden die Samen in Längsrichtung (auf der Seite der Keimblätter) zu 2/3 durchgeschnitten und die Samen- und Fruchtschalen vom Embryo entfernt. Anschließend wurden die Samen drei Stunden in einer 1%igen Lösung von 2,3,5-Triphe-nyltetrazoliumchlorid bei 30°C unter Dunkelheit inkubiert.

Mit dieser Methode wurde schlussendlich die Lebensfähigkeit von beiden Samenherkünften an jeweils 200 Samen (4 Wiederholungen \* 50 Samen) ermittelt, gemäß den Bewertungskriterien in die Kategorien „lebensfähig“, „nicht lebensfähig“ und „fehlender Embryo“ eingeteilt und die Lebensfähigkeit in Prozent ausgewiesen (ISTA, 2016).

**Tab. 1. Adaptierte Tetrazoliumtestmethode für *Silphium perfoliatum* L.**

Art	Vorbehandlung: Art/Mindest- dauer (h)/Tempe- ratur (°C)	Präparation vor der Färbung	Färbe- lösung (%)	Optimale Färbe- dauer (h)/Tem- peratur (°C)	Präparation für die Beurteilung und zu betrachtende Gewebe	Zulässiger nichtlebens- fähiger Gewebebereich
<i>Silphium perfoliatum</i> L.	Wasser/18/20	Schneide in Längsrichtung 2/3 durch die Keimblätter und die Radicula-Hypokotylachse. Entferne Samen- und Fruchtschale vom Embryo	1	3/30	Betrachte beide Seiten des Samens	1/3 der Wurzel, gemessen von der Wurzelspitze, 1/2 vom äußeren Ende des Keimblattes wenn oberflächlich, 1/3 vom äußeren Ende wenn durchgehend

## Ergebnisse und Diskussion

### Samenmorphologie und Keimprozess von *Silphium perfoliatum* L.

Die Frucht von *Silphium perfoliatum* L. ist eine graubraune, flache Achäne (Abb. 1). Die Achäne besteht aus einem herzförmigen Embryo, der von einer dünnen Samenschale und einer Fruchtschale umschlossen ist. Eine Besonderheit der Achäne ist das anhängende Spreublatt an der Fruchtschale und in Summe den „reinen Samen“ definiert.

Die Keimung beginnt mit der Wasseraufnahme. Nach dem Quellen des Samens durchstößt die Keimwurzel die Samen- und Fruchtschale (Abb. 2). Anschließend kommt es zur Streckung des Hypokotyls und die beiden Keimblätter werden angehoben. *Silphium perfoliatum* L. gehört folglich zu der Gruppe der dikotylen Pflanzen mit einer epigäischen Keimung.

### Saatgutaufbereitung

Die Saatgutaufbereitung beruht auf einer Trennung des Saatgutes in unterschiedliche Komponenten. Die klassische, mechanische Aufbereitung erfolgt mittels Sieb und Wind. Siebe trennen Komponenten auf Basis der geometrischen Kornmerkmale, sprich nach Breite, Dicke und bedingt auch nach Länge. Der Wind trennt nach der Sinkgeschwindigkeit, die unter anderem von der Dichte,

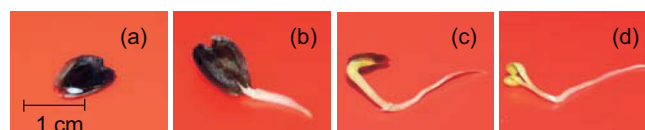
Oberflächenbeschaffenheit und Form des Samens beeinflusst wird (SCHWANZ und PIPPEL, 2008).

Bei den Versuchen zur Aufbereitung des Saatgutes von *Silphium perfoliatum* L. erwies sich die Abfolge aus Siebmaschine und Gewichtsausleser als die effizienteste Variante. Der erste Aufbereitungsschritt erfolgte mit der Siebmaschine, mit einem Rundlochsieb nach Samenbreite und mit zwei Langlochsieben nach Samendicke. Dem Rundlochsieb  $\geq 8,5$  mm als oberstes Sieb folgten ein Langlochsieb  $\geq 3$  mm und ein Langlochsieb  $\geq 1,5$  mm. Die Fraktion auf dem Langlochsieb  $\geq 1,5$  mm wurde anschließend mit dem Gewichtsausleser nach Dichte und Raummaße verlesen. Die schwerste Fraktion (Reinware, Saatgut) mit höchstem Reinheitsgrad wanderte am Gewichtsausleser nach vorne und nach oben, während die leichtere Fraktion (Ausputz) sich abwärts bewegte. Die Trenngrenze zwischen Reinware und Ausputz wurde manuell bestimmt. Rund 50% vom Ausgangsmaterial blieben nach der Aufbereitung durch die Siebmaschine und den Gewichtsausleser als Reinware übrig.

Von der Reinware (Samenherkunft A) sowie von der vorliegenden, bereits aufgereinigten Samenherkunft B wurden abschließend die geometrischen Dimensionen (Samenabmessungen), das Tausendkorngewicht und die Reinheit bestimmt. Die Samen der Reinware (Samenherkunft A) sowie von der vorliegenden Samenherkunft B waren etwa 9 bis 10 mm lang, 6 mm breit und 1 mm dick. Das Tausendkorngewicht lag in einem Bereich von 17 bis 19 g. Die ermittelten geometrischen Dimensionen liegen damit in dem von NIQUEUX (1981) angegebenen Schwankungsbereich. NIQUEUX (1981) ermittelte eine Samenlänge von etwa 9 bis 15 mm, eine Breite von etwa 6 bis 9 mm und eine Höhe von etwa einem Millimeter. Auch



**Abb. 1.** Samenmorphologie von *Silphium perfoliatum* L.: (a) Rückseite der Achäne mit Spreublatt, (b) Vorderseite der Achäne, (c) Embryo mit der Fruchtschale an der Unterseite, (d) herzförmiger Embryo, (e) Embryo mit Samenschale und entfernter Fruchtschale.



**Abb. 2.** Keimverlauf eines normalen Keimlings von *Silphium perfoliatum* L.: (a) Keimwurzel durchstößt die Samen- und Fruchtschale, (b) Streckung der Keimwurzel, (c) Streckung des Hypokotyls, (d) Ausbildung von zwei Keimblättern.

Tab. 2. Geometrische Dimension, Tausendkorngewicht (TKG) und Reinheit von Samenherkunft A und B

Art	Samenherkunft	Geometrische Dimension (mm)*			TKG (g)**	Reinheit (%)***
		Länge	Breite	Dicke		
<i>Silphium perfoliatum</i> L.	A	9,81 ± 1,09	6,14 ± 0,77	1,32 ± 0,17	18,62 ± 0,72	99,1
	B	9,46 ± 0,96	6,35 ± 0,92	1,24 ± 0,15	16,99 ± 0,47	99,4

\* Mittelwert ± Standardabweichung; 8 Wiederholungen \* 25 Samen

\*\* Mittelwert ± Standardabweichung; 8 Wiederholungen \* 1000 Samen

\*\*\* Probe mit 300 g

das Tausendkorngewicht lag im Bereich von NEUMERKEL und MÄRTIN (1982) mit 14 g und KOWALSKI und WIERCINSKI (2004) mit etwa 21,5 g.

Die Reinheitsuntersuchung, zur Überprüfung der Qualität der Saatgutaufbereitung, ergab eine Reinheit von rund 99% (Tab. 2). Der Rest waren Verunreinigungen wie Spreu.

#### Lebensfähigkeitsprüfung

Von der Reinware der Samenherkunft A und von der Samenherkunft B (jeweils 4 Wiederholungen \* 50 Samen) wurde mit der definierten Methode die Lebensfähigkeit bestimmt. Die Lebensfähigkeit des Saatgutes der Samenherkunft A betrug  $97,5 \pm 2,18\%$  und von Samenherkunft B  $98,5 \pm 0,87\%$ . Somit liefert die Saatgutaufbereitung qualitativ hochwertiges Saatgut mit hohem Keimfähigkeitspotential. Wird bei der Keimfähigkeitsprüfung dieses Niveau nicht erreicht, liegt vermutlich eine physiologische Dormanz vor oder die erforderlichen Keimbedingungen sind nicht gegeben. Ausgeschlossen werden kann eine morphologische Dormanz, da alle Embryos vollständig entwickelt waren.

#### Danksagung

Ein großer Dank an dieser Stelle gilt Herrn Wolfgang WURM und Herrn DI Stefan BRUNA von der Cimbria Heid GmbH (Stockerau, Österreich) für die gute Zusammenarbeit bei den Versuchen zur Saatgutaufbereitung von *Silphium perfoliatum* L.

#### Literatur

- AURBACHER, J., M. BENKE, B. FORMOWITZ, T. GLAUERT, M. HEIERMANN, C. HERRMANN, C. IDLER, P. KORNAZ, A. NEHRING, C. RIECKMANN, G. RIECKMANN, D. REUS, A. VETTER, B. VOLLRATH, F. WILKEN, M. WILLMS, 2012: Energiepflanzen für Biogasanlagen. Broschüre Nr. 553. Rostock, Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR).
- BIERTÜMPFEL, A., G. REINHOLD, R. GÖTZ, W. ZORN, 2013: Leitlinie zur effizienten und umweltverträglichen Erzeugung von Durchwachsener Silphie. Leitlinie Nr. 1. Leitlinien der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft. Jena, Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL).
- CONRAD, M., A. BIERTÜMPFEL, A. VETTER, 2009: Durchwachsene Silphie (*Silphium perfoliatum* L.) – von der Futterpflanze zum Koferment. In: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR, Hrsg.), Gülzower Fachgespräche. 2. Symposium Energiepflanzen. Gülzow, FNR, 281-289.
- HAYEK, A., G. HEGI, 1918: Dicotyledones. In: HEGI, G. (Hrsg.), Illustrierte Flora von Mittel-Europa. Mit Besonderer Berücksichtigung von Österreich, Deutschland und der Schweiz. Wien, A. Pichler's Witwe & Sohn, 495-496.
- ISTA, 2016: International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, ISTA.
- KOWALSKI, R., J. WIERCINSKI, 2004: Evaluation of chemical composition of some *Silphium* L. species seeds as alternative foodstuff raw materials. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences 13/54 (4), 349-354.
- MOORE, R.P., 1973: Tetrazolium staining for assessing seed quality. In: HEYDECKER, W. (Ed.), Seed Ecology. London, Butterworths, 347-366.
- NEUMERKEL, W., B. MÄRTIN, 1982: *Silphium* (*Silphium perfoliatum* L.) – a new feed plant. Archives of Agronomy and Soil Science 26 (4), 261-271.
- NEUMERKEL, W., B. MÄRTIN, G. LINKE, 1978: *Silphium perfoliatum* L. – eine Nutzpflanze? Mathematisch-Naturwissenschaftliche Reihe – Wissenschaftliche Zeitschrift 27 (3), 31-38.
- NIQUEUX, M., 1981: A new forage plant: *Silphium perfoliatum* L. Fourrages 87, 119-136.
- SCHWANZ, H., G. PIPPEL, 2008: Saatgutaufbereitung. In: KRUSE, M. (Ed.), Handbuch Saatgutaufbereitung. Clenze, Agrimedia, 55-129.
- ŠIAUDINIS, G., A. JASINSKAS, A. ŠLEPETIENĖ, D. KARČAUSKIENĖ, 2012a: The evaluation of biomass and energy productivity of common mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) and cup plant (*Silphium perfoliatum* L.) in Albeluvisol. Zemdirbyste 99 (4), 357-362.
- ŠIAUDINIS, G., A. ŠLEPETIENĖ, D. KARČAUSKIENĖ, 2012b: The Evaluation of Dry Mass Yield of New Energy Crops and their Energetic Parameters. In: RIVŽA, P., S. RIVŽA, (Eds.), Renewable Energy and Energy Efficiency. Presented at the International Scientific Conference, Latvia University of Agriculture, Jelgava, 24-28.
- SLEPETYS, J., Z. KADZIULIENE, L. SARUNAITE, V. TILVIKIENE, A. KRZYVICIENE, 2012: Biomass Potential of Plants Grown for Bioenergy Production. In: RIVŽA, P., S. RIVŽA, (Eds.), Renewable Energy and Energy Efficiency. Presented at the International Scientific Conference, Latvia University of Agriculture, Jelgava, 66-72.
- SOKOLOV, V.S., Z.I. GRITSAK, 1972: *Silphium* – a valuable fodder and nectariferous crop. World Crops 24 (6), 299-301.
- STANFORD, G., 1990: *Silphium perfoliatum* (cup-plant) as a new forage. In: SMITH, D.D., C.A. JACOBS (Eds.), Recapturing a Vanishing Heritage. 12. North American Prairie Conference, University of Northern Iowa, Cedar Falls, 33-38.
- VETTER, A., M. CONRAD, A. BIERTÜMPFEL, 2010: Optimierung des Anbauverfahrens für Durchwachsene Silphie (*Silphium perfoliatum* L.) als Kofermentpflanze in Biogasanlagen sowie Überführung in die landwirtschaftliche Praxis. Abschlussbericht No. 42.32.430. Jena, Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL).
- WROBEL, M., J. FRACZEK, S. FRANCIK, Z. SLIPEK, M. KRZYSZTOF, 2013: Influence of degree of fragmentation on chosen quality parameters of briquette made from biomass of cup plant *Silphium perfoliatum* L. In: Latvia University of Agriculture (Ed.), Engineering for Rural Development. 12. International Scientific Conference, Latvia University of Agriculture, Jelgava, 653-657.