Zusammenfassung

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidg. Tech. Hochschule, Stiftung Rübel, in Zürich**

Band (Jahr): **112 (1993)**

PDF erstellt am: **01.05.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung einer Kryokonservierungsmethode für *Lemnaceae* (Wasserlinsen), damit zukünftig ganze Sammlungen ohne grossen Zeit- und Arbeitsaufwand lebend aufbewahrt werden können. Von den weltweit 34 bekannten Arten wurden deren 24 in die Untersuchungen miteinbezogen. Getestet wurden im allgemeinen vegetative, aus einem oder mehreren Gliedern bestehende Pflanzen. Wenige Zusatzexperimente wurden mit Turionen von *Spirodela polyrrhiza* und Samen von *Lemna aequinoctialis* durchgeführt. Sofern nichts weiter bemerkt wird, beziehen sich die hier aufgeführten Beobachtungen immer auf ganze Pflanzen.
Bei sämtlichen 16 Arten der Gattungen *Spirodela* und *Lemna* wurden nach dem Auftauen lebende Exemplare festgestellt, die weiterkultiviert und vermehrt werden konnten. Bei *Spirodela polyrrhiza* gelang dies allerdings nur bei einem Vorversuch, und dieses Resultat war seither nicht mehr reproduzierbar. Die Gefrierresistenz der einzelnen Arten ist sehr unterschiedlich. Ähnliches gilt für die Stämme innerhalb einer Art. Es besteht keine Korrelation zwischen der Überlebensrate und der geographischen Herkunft der Pflanzen.
Glieder, Wurzeln und aus den Gliedtaschen herausragende Teile der Tochterglieder werden bereits durch die Zugabe der benötigten Gefrierschutzmittel oder deren Entfernung abgetötet. Die Gliedtaschen scheinen für die *Lemnaceae*-Kryokonservierung eine sehr wichtige Rolle zu spielen, indem sie jene Gewebeteile, die sich in den Taschen befinden vor einem Osmoschock bewahren, vermutlich, weil nur ein allmähliches Eindringen der dazugegebenen Flüssigkeit in die Taschen stattfindet. Für die eigentliche Kryokonservierung stehen somit lediglich noch Knospen und junge Tochterglieder zur Verfügung, aber die Regeneration zu neuen Individuen erfordert bei *Lemnaceae*, im Gegensatz zu den meisten anderen Blütenpflanzen, keine speziellen Zuchtbedingungen. Die mit *Lemnaceae* gemachten Feststellungen stimmen gut mit den Erfahrungen der Pflanzenkryobiologie überein, da bisher praktisch ausschliesslich junges, teilungsfähiges Gewebe meristematischer Herkunft erfolgreich tiefgefroren werden konnte. Die überlebenden Knospen sind teilweise ebenfalls geschädigt. Dies zeigt sich darin, dass nicht alle nach dem Auftauen noch lebenden Knospen auswachsen. Weiter können kallusförmige Gebilde und sukkulente Pflanzen auftreten, die in vielen Fällen für eine Weiterkultivierung unbrauchbar sind. Leicht geschädigte Exemplare neigen bei gewissen Arten zur Produktion von Anthozyanen. Ein verhältnismässig spätes Auswachsen nach dem Auftauen lässt vermuten, dass viele Knospen eine Regenerationsphase benötigen.
Voraussetzung für eine erfolgreiche Kryokonservierung der *Lemnaceae* ist, dass die Pflanzen vor dem Einfrieren durch das Gefrierschutzmittel entwässert werden und die Gefrierschutzlösung während dem Kühlvorgang vitrifiziert. Beim Auftauen kann teilweise eine geringe Kristallbildung toleriert werden. Glyzerin ist das einzige der getesteten Gefrierschutzmittel, das in Konzentrationen um 50 Vol.% diese Anforderungen erfüllt und zumindest für die *Lemnoideae*-Arten verhältnismässig untoxisch ist. Die Kühlrate muss allerdings mindestens -3°C/Min. betragen und die Proben müssen im 30°C-Wasserbad rasch aufgetaut werden. *Lemna minor*, die mit Abstand gefrierresistenteste Art, kann mit 50 Vol.% Glyzerin sehr gut lebend kryokonserviert werden und eine markante Steigerung der Überlebensrate scheint kaum möglich zu sein. Bei sämtlichen anderen *Lemnoideae*-Arten empfiehlt es sich, auch während dem Auftauen jegliches Kristallwachstum zu verhindern. Dies kann entweder durch ultrarasches Einfrieren und Auftauen der sich in einem 50 Vol.% Glyzerintropfen befindenden Pflanzen erreicht werden, oder aber durch eine Erhöhung der Glyzerinkonzentration auf 60 Vol.%, bei gleichzeitiger Verkürzung der Dehydrationsphase. Ob Glyzerin eine rein äusserliche Gefrierschutzwirkung besitzt oder ob diese Substanz in die Zellen einzudringen vermag, konnte nicht festgestellt werden.
Für die Überlebensrate der Pflanzen ist die Art der Kultivierung vor und nach der Kryo-

konservierung ebenfalls wichtig. Besonders gut eignen sich auf Agarnährmedien gehaltene Pflanzen. Die Erhöhung der Gefrierresistenz durch eine nitratreiche Ernährung lässt vermuten, dass viele Arten Proteine produzieren, die wahrscheinlich durch Nukleationshemmung des Zellsafts und/oder Membranstabilisierung Schutz vor Gefrierschäden bieten. Nach dem Auftauen ist darauf zu achten, dass den Pflanzen Zucker (Saccharose) zur Verfügung steht, der für die Regeneration der Knospen von Bedeutung ist. Insbesondere wenig gefrierresistente Arten können sich in einer zuckerfreien Nährlösung nicht weiter entwickeln, und die Knospen sterben mit der Zeit ab. Die Überlebensrate wird ebenfalls durch das Kulturalter beeinflusst. Aus jungen und sehr alten Kulturen stammende Pflanzen zeigen eine verminderte Gefrierresistenz.
Samen von *Lemnaceae* weisen einen vergleichsweise hohen Wassergehalt auf, und die verwendeten *Lemna aequinoctialis*-Samen konnten nur dank vorangegangener Lufttrocknung erfolgreich kryokonserviert werden. Die Gefrierschutzmittelkonzentration war bedeutend tiefer, als sie für ganze Pflanzen benötigt wird, und die Lösung kristallisierte bereits während dem Kühlen aus. Bei Einfrierexperimenten mit Turionen von *Spirodela polyrrhiza* gelangen keine positive Resultate.
Die Kryokonservierung ist als Lagermethode für die Unterfamilie *Lemnoideae* grundsätzlich geeignet. Die folgenden acht Arten können in flüssigem Stickstoff bedenkenlos aufbewahrt werden: *Spirodela punctata*, *Lemna gibba*, *Lemna disperma*, *Lemna minor*, *Lemna japonica*, *Lemna obscura*, *Lemna ecuadoriensis* und *Lemna turionifera*. Für die restlichen *Lemnoideae*-Arten, ausser *Spirodela polyrrhiza*, ist eine Flüssig-Stickstofflagerung ebenfalls möglich, sofern eine genügend grosse Stückzahl eingefroren wird. Allerdings sollte bei diesen Arten vorerst jeder Stamm überprüft werden, ob zumindest eine geringe Gefrierresistenz vorhanden ist. Aus der erfolgreichen Kryokonservierung von *Lemna minor* über einen Zeitraum von 21 Monaten kann geschlossen werden, dass kein Vitalitätsverlust während einer Langzeitlagerung zu befürchten ist. Die erarbeitete Kryokonservierungsmethode kann bei *Wolffia*- und *Wolffiella*-Arten, die sehr sensibel auf osmotische Änderungen reagieren, nicht angewandt werden.

SUMMARY

The aim of the present work was to develop a cryopreservation method for *Lemnaceae* (duckweeds), so that whole collections can be stored without great expense of time and work in the future. Of the 34 world-wide known species, 24 were involved in these investigations. Generally vegetative plants of one to several fronds were tested. In addition a few experiments were conducted with turions of *Spirodela polyrrhiza* and seed of *Lemna aequinoctialis*. Unless stated otherwise, the present observations belong always to whole plants.
After thawing living specimens were obtained by all 16 species of the genera *Spirodela* and *Lemna*, which could be cultivated further on and multiplied. But with *Spirodela polyrrhiza* only one pre-experiment was successful, and since then this result was irreproducible. The freezing resistance of each species is very different. This establishment applies also to clones of one species. There is no noticeable correlation of geographical origin of the plants and survival rate.
Fronds, roots, and parts of daughter fronds, which are outside of the pouches, are killed by the addition of the cryoprotectant or by its removal. The pouches seems to play a very important role to the *Lemnaceae* cryopreservation by keeping those parts of tissue, which are inside the pouches, from osmotic shock, supposedly due to the slow penetration of the fluid added into these pouches. Thus buds and young daughter fronds are exclusively available for the actual cryopreservation, but regeneration to new individuals requires no special culture conditions for *Lemnaceae*, in contrast to most other flowering plants. The