

Somatische Hybridisierungen zwischen *Cyclamen persicum* und *Cyclamen coum*

Anika Prange, Melanie Bartsch, Margrethe Serek und Traud Winkelmann
Leibniz Universität Hannover, Institut für Zierpflanzen- und Gehölzwissenschaften, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

(traud.winkelmann@zier.uni-hannover.de)

Abb. 1: Pflanzenregeneration aus Protoplasten von *Cyclamen persicum* (Winkelmann et al. 2006)



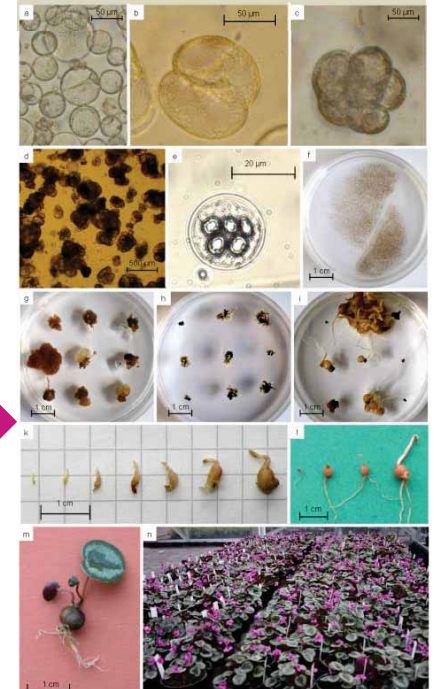
Hintergrund und Ziele

Cyclamen persicum ist eine wirtschaftlich bedeutende Zierpflanze. Die Züchtungserfolge bei *C. persicum* resultieren bisher allein aus Kreuzungen innerhalb dieser Art. Unter den zahlreichen interessanten und wertvollen Eigenschaften anderer *Cyclamen* Arten ist die Winterhärte von *C. coum* im Hinblick auf neue Nutzungen der Pflanze im Außenbereich von großer Bedeutung. Eine Hybridisierung beider Arten auf natürlichem Weg oder unter Einbeziehung von „Embryo Rescue“ Techniken ist nicht möglich. Ziel dieser Arbeit war daher die Erstellung von somatischen Hybriden über Protoplastenfusion.

Voraussetzungen

Voraussetzung für die erfolgreiche Durchführung somatischer Hybridisierungen ist, dass sich bei beiden Partnern Protoplasten in großer Zahl isolieren lassen und dass daraus bei mindestens einem Partner Pflanzen regeneriert werden können. Dies ist für beide Arten der Fall (Abb. 1 und 2).

Abb. 2: Pflanzenregeneration aus Protoplasten von *Cyclamen coum* (Prange et al. 2010)



Material und Methoden

Anfärbung der Protoplasten mit Fluoreszenzfarbstoffen zur Bestimmung der Heterofusionsfrequenzen:

- *C. coum*: Scopoletin (blau) (Kanchanapoom et al. 1985)
- *C. persicum*: Fluorescein diacetat (FDA) (grün) (verändert nach Durieu und Ochatt 2000)

Protoplastenfusion

- PEG 6000 nach Kao (1975)
- PEG 6000 mit NaOH Zusatz (nach Menczel und Wolfe 1984, Durieu und Ochatt 2000)

Protoplastenkultur und Pflanzenregeneration

Prange et al. (2010)

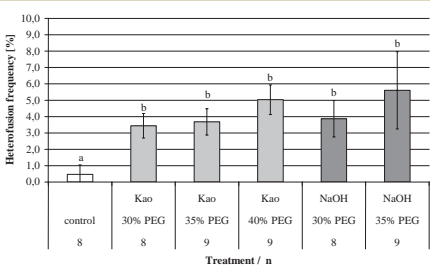


Abb. 4: Einfluss der Fusionsbehandlung auf die Heterofusionsfrequenz

C. coum: Scopoletin *C. persicum*: FDA

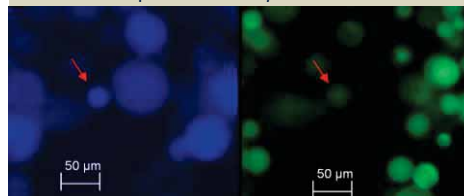


Abb. 3: Identifikation von Heterofusionsprodukten anhand der zweifachen Fluoreszenz (rote Pfeile)

Ergebnisse / Fazit

- Heterofusionsfrequenzen von 5% erreicht (Abb. 4)
- Potentielle Hybridpflanzen durchflusscytometrisch nachgewiesen (Abb. 5)
- DNA Marker zeigen nur schwache Banden bei dem *C. persicum* spezifischen Marker (Abb. 6)
- In-vitro-Pflanzen zeigen mehr Ähnlichkeit mit *C. coum* (Abb. 7)



Abb. 7: Potentielle somatische Hybride

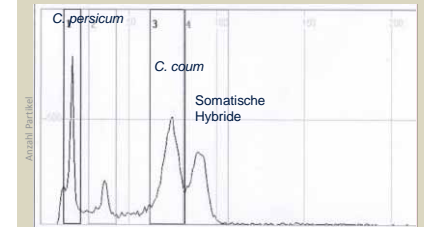


Abb. 5: Detektion von potentiellen somatischen Hybriden mit Hilfe der Durchflusszytometrie

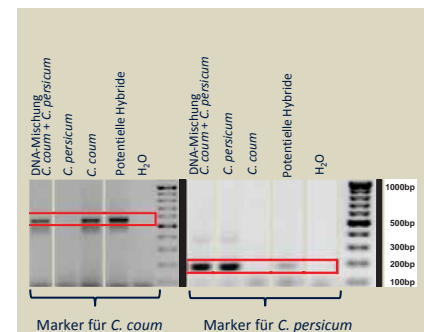


Abb. 6: Detektion von potentiellen somatischen Hybriden mit Hilfe art-spezifischer molekularer Marker

Literatur

- Durieu P, Ochatt SJ (2000) Efficient intergeneric fusion of pea (*Pisum sativum* L.) and grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protoplasts. J Exp Bot 51:1237-1242
- Kanchanapoom K, Brightman AO, Grimes HD, Boss WF (1985) A novel method for monitoring protoplast fusion. Protoplasma 124, 65-70
- Kao KN (1975) A method for fusion of plant protoplasts with polyethylene glycol. In Gamborg OL, Wether LR (eds) Plant Tissue Culture Methods. Saskatoon, Canada. pp 22-27
- Menczel L, Wolfe K (1984) High frequency of fusion induced in freely suspended protoplast mixtures by polyethylene glycol and dimethylsulfoxide at high pH. Plant Cell Rep 3:196-198
- Prange ANS, Serek M, Bartsch M, Winkelmann T (2010) Efficient and stable regeneration from protoplasts of *Cyclamen coum* Mill. via somatic embryogenesis. Plant Cell Tiss Organ Cult 101:171-182
- Winkelmann T, Specht J, Serek M (2006) Efficient plant regeneration from protoplasts isolated from embryogenic suspension cultures of *Cyclamen persicum* Mill. Plant Cell Tiss Org Cult 86:337-347

Danksagung

Die Autoren danken dem Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie, das dieses Projekt im Rahmen von ProInno finanziell unterstützt hat, den Projektpartnern für die gute Zusammenarbeit und der Cyclamen Society für das Saatgut.