

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1 DIE PELARGONIE ALS ZIERPFLANZE	5
1.2 BEDEUTENDE BAKTERIOSEN AN PELARGONIEN	6
1.3 RESISTENZZÜCHTUNG UND RESISTENZMECHANISMEN	9
1.4 KREUZUNGSBARRIEREN BEI PELARGONIEN	11
1.5 SOMATISCHE HYBRIDISIERUNG	13
1.6 ZIELSTELLUNG	17
2. Material und Methoden.....	18
2.1 RESISTENZEVALUIERUNG.....	18
2.1.1 Methodenentwicklung.....	21
2.1.1.1 <i>Xanthomonas</i> -Test	21
2.1.1.2 <i>Ralstonia</i> -Test	24
2.1.2 Virulenzanalysen	24
2.1.3 Durchführung der Resistenzprüfung.....	24
2.1.4 Gewinnung von Bakterientoxinen.....	25
2.2 IN-VITRO-PFLANZENMATERIAL.....	26
2.2.1 Kulturbedingungen In-vitro-Pflanzen.....	26
2.2.2 Suspensionskulturen	26
2.3 PROTOPLASTENISOLIERUNG.....	27
2.3.1 Isolierung und Aufarbeitung von Mesophyll-, Suspensions- und Petalenprotoplasten.....	27
2.3.2 Bestimmung der Protoplastendichte	28
2.3.3 Färbung der Suspensionsprotoplasten mit Rhodamin G und CellTracker Blue	29
2.3.4 Inaktivierung der Protoplasten durch UV-Bestrahlung	29
2.4 PROTOPLASTENFUSION.....	30
2.4.1 Fusionen mit Polyethyleneglycol (PEG).....	30
2.4.2 Elektrofusion	30
2.4.3 Bestimmung der Vitalitäts-, Heterofusions- und Teilungsrate.....	31
2.5 KULTIVIERUNG UND REGENERATION DER PROTOPLASTEN	32
2.5.1 Flüssigkultur der Protoplasten	32
2.5.2 Kalluskultur und Sprossregeneration aus Protoplasten	33
2.5.3 Einsatz verschiedener Zusatzstoffe während der Regeneration.....	34
2.5.4 Überführung der Regenerate.....	35
2.6 CHARAKTERISIERUNG DER REGENERATE.....	36
2.6.1 Messung des DNA - Gehaltes mittels Flowcytometrie (FCM)	36
2.6.2.1 DNA Isolierung und Bestimmung der DNA Konzentration	37
2.6.2.2 Molekulargenetische Untersuchungen mit Hilfe von Mikrosatelliten	39
2.6.3 Zytologische Charakterisierung der Regenerate mittels Genomischer-in-situ- Hybridisierung (GISH).....	40
2.6.4 Inhaltsstoffanalyse	41
2.7 STATISTISCHE AUSWERTUNG	42

3. Ergebnisse	43
3.1 RESISTENZEVALUIERUNG	43
3.1.1 Methodenentwicklung	43
3.1.1.1 <i>Xanthomonas</i> -Test	43
3.1.1.2 <i>Ralstonia</i> -Test	43
3.1.2 Virulenzanalysen	44
3.1.3 Ergebnisse der Resistenztestungen	48
3.1.4 Statistische Auswertung der Resistenztestungen	55
3.2 PROTOPLASTENISOLIERUNG	58
3.2.1 Isolierung von Mesophyllprotoplasten	59
3.2.2 Isolierung von Suspensionsprotoplasten	62
3.2.3 Isolierung von Petalenprotoplasten	63
3.3 PROTOPLASTENFUSIONEN	63
3.4 PROTOPLASTENREGENERATION	65
3.4.1 Einfluss verschiedener Zusatzstoffe auf die Protoplastenregeneration	66
3.5 CHARAKTERISIERUNG DER REGENERATE AUS PROTOPLASTENFUSIONEN	68
3.5.1 Phänotypische Charakterisierung der Regenerate	68
3.5.2 Messung des DNA – Gehaltes mittels Flowcytometrie (FCM)	69
3.5.2 Molekulargenetische Untersuchung	72
3.5.4 Zytologische Charakterisierung der Fusionate mittels GISH	80
3.5.5 Inhaltsstoffanalyse	81
4. Diskussion	85
4.1 RESISTENZEVALUIERUNG	85
4.2 PROTOPLASTENFUSION	91
4.2.1 Protoplastenkultur und –regeneration	94
4.3 CHARAKTERISIERUNG DER REGENERATPFLANZEN	98
7. Literatur	109
8. Anhang	124