

Alternative Selektionsstrategien bei der Transformation von Apfel (*Malus domestica* Borkh.)

J. Degenhardt, Annika Poppe, Lennart und I. Szankowski

Institut für Gemüse- und Obstbau, Abt. Obstbau, Universität Hannover, Am Steinberg 3, D-31157 Sarstedt; Iris.Szankowski@obst.uni-hannover.de

Bei der Herstellung transgener Pflanzen werden mit zusammen mit Zielgenen meist sog. Markergene, deren Produkte die Selektion transformierter Zellen ermöglichen, transferiert. Üblicherweise werden hierbei Gene eingesetzt, die eine Resistenz gegenüber Antibiotika oder Herbiziden hervorrufen. Zwei alternative Selektionsstrategien wurden für die Apfeltransformation getestet, die auf der Selektion mit nicht-metabolisierbaren Zuckern Mannose und Galactose basieren. Mannose wird in Mannose-6-Phosphat umgewandelt; die Akkumulation ist letztendlich toxisch für Pflanzenzellen. Die Expression einer Phosphomannose-Isomerase (PMI) aus *E.coli* führt zur Umwandlung in Fructose-6-Phosphat, was der Glykolyse zugeführt wird. Auch Galactose ist für Pflanzenzellen toxisch. Laut Joersbo et al. (2003) soll die Expression einer UDP-Glucose:Galactose-1-Phosphat Uridyltransferase (*galT*). ausreichend sein, um die Empfindlichkeit gegenüber Galactose herabzusetzen. Im Rahmen der Arbeit wurde das PMI-Gen mittels des *Agrobacterium tumefaciens*-vermittelten Gentransfers in Apfel übertragen. Zur Transformation wurde das Plasmid pNOV2819 (Syngenta) eingesetzt. Das Plasmid wurde durch die Integration eines Gens für eine β -Glucuronidase (GUS) modifiziert (freundlicherweise von Dr. M. Wallbraun, Centrum Grüne Gentechnik zur Verfügung gestellt). Verschiedene Selektionsschemata mit unterschiedlichen Konzentrationen von Sorbitol und Mannose wurden getestet. Erste GUS-exprimierende Sprosse wurden auf Medium mit Sorbitol und Mannose regeneriert. Die Integration des PMI-Gens wurde mittels PCR und Southern Analysen bestätigt. Das System erwies sich als effektiver als die Selektion mit Herbiziden oder Antibiotika. Das *galT* Gen wurde in den binären Vektor pBI121 inkloniert und zur Apfeltransformation eingesetzt. Obwohl die Selektionsbedingungen ermittelt und optimiert wurden, konnten bisher keine transgenen Sprosse regeneriert werden.