

# Optimierung der Transformationseffizienz bei *Petunia hybrida*

Stefanie Klemm, Heiko Mibus, Viola Mußmann und Margrethe Serek

Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Abteilung Zierpflanzenbau,  
Leibniz Universität Hannover, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover

*Petunia hybrida* zählt zu den weltweit beliebtesten Beet- und Balkonpflanzen und besitzt ein sehr großes Sortenspektrum. Mit Hilfe Agrobakterien-vermittelter Transformation ist es uns heute möglich bestimmte Petuniensorten mit neuen Merkmalen zu erzeugen, die sowohl den Bedürfnissen der Gärtner als auch denen der Kunden entsprechen. Mittels einer sortenunspezifischen Effizienzsteigerung der Transformation und einer Verbesserung der Reproduzierbarkeit kann diese Technik besser nutzbar gemacht werden und somit breitere Anwendung finden.

Die Optimierung der Transformationseffizienz soll durch eine Steigerung der Expression von Selektions- und Reportergenen erreicht werden.

Eine Möglichkeit, um dies zu erreichen, stellen Expressions-regulierende Sequenzen im 5'UTR von Genen dar. Der positive Einfluss von Intron- und Leadersequenzen wurde bereits in anderen Pflanzen getestet (z.B. Reis, Arabidopsis und Tabak).

Durch Agrobakterien-vermittelte Transformation wurden stabile transgene Pflanzenlinien mit der jeweiligen Verbesserung vor dem *gfp*-Gen erzeugt, die dann mit dem Fluoreszenzmikroskop einer ersten visuellen Untersuchung unterzogen wurden. Es zeigte sich, dass die verwendete Intronsequenz vermutlich keinen Einfluss auf die Expression hat, wohingegen die Leadersequenz zu einer drastischen Steigerung der Fluoreszenz führt.

Ein weiterer Ansatzpunkt zur Steigerung der Transformationseffizienz ist eine Anpassung in der Codonvariabilität der Selektionsgene. Oftmals stammen diese Gene aus Bakterien, die im Vergleich zu Pflanzen für die Codierung der Aminosäuren andere Codons bevorzugen. Eine solche Codonoptimierung lieferte bereits in einer Vielzahl von Organismen vielversprechende Ergebnisse. Durch eine Anpassung im Codonusage und die Reduktion der Codonanzahl konnte für das *bar*-Gen eine signifikante Erhöhung an transgenen Sprossen pro Transformation erzielt werden.

In einem nächsten Schritt soll mit den transgenen Linien, die regulierende Sequenzen im 5'UTR enthalten, eine GFP-Quantifizierung durchgeführt werden, um so die ersten visuellen Ergebnisse zu verifizieren. Im Bereich der Selektionsgene ist es geplant, dass auch andere Gene (*hptII*, *nptII* und *pml*) einer Codonoptimierung unterzogen und anschließend analysiert werden.