

**“Erstellung einer genetischen Karte an Hanf (*Cannabis sativa* L.)
mit molekularen Markern”**

Der Landwirtschaftlichen Fakultät
der
Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg

als

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor agriculturarum (Dr. agr.)

vorgelegt von

Diplomagraringenieur Henryk Flachowsky

geb. am 05.10.1971

in Meerane

Deutschland

Gutachter: 1. Gutachter: Prof. Dr. habil W. E. Weber

2. Gutachter: Prof. Dr. habil W. Diepenbrock

3. Gutachter: PD Dr. habil Th. Debener

Verteidigung am: 07.07.2003

Halle / Saale 2003

urn:nbn:de:gbv:3-000005637

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000005637>]

Inhaltsverzeichnis

	Thema	S. 1
1.	Einleitung	S. 2
2.	Stand des Wissens	S. 4
2.1.	Botanische Grundlagen	S. 4
2.1.1.	Taxonomische Zuordnung	S. 4
2.1.2.	Aufbau der Hanfpflanze	S. 5
2.1.3.	Geschlechts- und Wuchsformen bei Hanf	S. 6
2.2.	Zytologische Grundlagen	S. 7
2.3.	Die Größe des Hanfgenoms	S. 7
2.4.	Die Geschlechtsvererbung	S. 8
2.4.1.	Allgemeine Geschlechtsvererbung	S. 8
2.4.2.	Geschlechtsvererbung bei Pflanzen	S. 9
2.4.2.1.	Sexuell monomorphe Pflanzen	S. 9
2.4.2.2.	Sexuell polymorphe Pflanzen	S. 11
2.5.	Die Hanfzüchtung	S. 13
2.6.	Genetische Marker	S. 15
2.6.1.	AFLP-Marker	S. 18
2.6.2.	Mikrosatellitenmarker	S. 19
2.7.	Stand der molekularen Arbeiten bei Hanf	S. 20
3.	Material und Methoden	S. 21
3.1.	Material	S. 21
3.1.1.	Pflanzenmaterial	S. 21
3.1.2.	Bakterien und Vektoren	S. 22
3.1.3.	Zusammensetzung von Puffern und verwendete Chemikalien	S. 22
3.2.	Methoden	S. 27
3.2.1.	Erstellung des Ausgangsmaterials für die DNA-Gewinnung	S. 27
3.2.2.	DNA-Isolierung (Saghai Maroof et al., 1984)	S. 28
3.2.3.	RNA-Verdau	S. 28
3.2.4.	Restriktionsverdau	S. 29

- Inhaltsverzeichnis -

3.2.5.	PCR (polymerase chain reaction) basierte Methoden	S. 29
3.2.6.	Elektrophorese	S. 32
3.2.7.	Isolierung spezifischer Fragmente aus AFLP-Gelen	S. 33
3.2.8.	Elution von DNA	S. 34
3.2.9.	Klonierung von DNA	S. 35
3.2.10.	Dauerkulturen	S. 36
3.2.11.	Mini-Präparation	S. 36
3.2.12.	DNA-Sequenzierung	S. 37
3.2.13.	Blotten von DNA	S. 37
3.2.14.	Blotten von Bakterienkolonien	S. 37
3.2.15.	Hybridisierung von Nylonmembranen	S. 38
3.2.16.	Erstellung der genetischen Karte	S. 39
4.	Ergebnisse	S. 41
4.1.	Entwicklung von AFLP-Markern	S. 41
4.1.1.	Entwicklung geschlechtsspezifischer AFLP-Marker mittels Bulked Segregant Analysis	S. 41
4.1.2.	Größenbestimmung ausgewählter Marker der Klasse 1	S. 45
4.1.3.	Überprüfung der männlich spezifischen Banden an den Einzelpflanzen der Bulks	S. 46
4.2.	Konvertierung von AFLP-Markern in sequenzspezifische SCAR-Marker	S. 50
4.2.1.	Isolierung und Klonierung spezifischer AFLP-Fragmente	S. 51
4.2.2.	Bestimmung der Nukleinsäuresequenz der Inserts ausgewählter Klone und Erstellung sequenzspezifischer Primer	S. 54
4.2.3.	Überprüfung der abgeleiteten Primerpaare an männlichen und weiblichen Hanfpflanzen und Entwicklung neuer Primer	S. 56
4.3.	Mikrosatelliten	S. 65
4.4.	Erstellung der genetischen Karte	S. 68
5.	Diskussion	S. 74
5.1.	Erstellung einer Kartierungspopulation	S. 74

- Inhaltsverzeichnis -

5.2.	Etablierung einer geeigneten Methode zur Isolierung genomischer DNA	S. 74
5.3.	Entwicklung geschlechtsspezifischer AFLP-Marker	S. 75
5.3.1.	Auswahl, Anzucht und Bonitur von Pflanzen für eine Markeranalyse	S. 76
5.3.2.	Bulk-Analyse	S. 77
5.3.3.	Überprüfung der Marker an den Einzelpflanzen der Bulks	S. 79
5.3.4.	Überprüfung der 8 AFLP-Kombinationen an der Kartierungs- population	S. 81
5.3.5.	Konvertierung von AFLP-Markern in PCR-Marker	S. 81
5.3.5.1.	Entwicklung einer Methode zur Isolierung von Banden aus einem ALF-Gel	S. 83
5.3.5.2.	Ableiten sequenzspezifischer Primerpaare	S. 86
5.3.5.3.	Ableiten neuer Primer anhand bestehender Sequenzunterschiede	S. 88
5.4.	Entwicklung von Mikrosatellitenmarkern	S. 90
5.5.	Erstellung einer genetischen Karte	S. 92
5.5.1.	Generelle Karte	S. 92
5.5.2.	Kartierung der Geschlechtschromosomen	S. 93
6.	Zusammenfassung	S. 98
7.	Literaturverzeichnis	S. 100
8.	Anlage	S. 120
	- Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	
	- Fach- und Fremdwortverzeichnis	
	- Abkürzungen	
	- Erklärung	
	- Selbständigkeitserklärung	
	- Danksagung	
	- Lebenslauf	

**Erstellung
einer genetischen Karte an Hanf (*Cannabis sativa* L.)
mit molekularen Markern**

