

## 1. Einleitung

Hanf (*Cannabis sativa* L.) gehört aufgrund seines umfangreichen Anwendungsspektrums zu den bedeutendsten Nutzpflanzen in der Menschheitsgeschichte. Verwendung finden vor allem die Hanffasern (Textil- und Papierherstellung), die Hanfsamen (Nahrungsmittel und Ölproduktion) sowie die rausch-erzeugenden Blüten weiblicher Hanfpflanzen (für pharmazeutische sowie spirituelle Zwecke und als Genußmittel).

Da wichtige Eigenschaften des Hanfes wie Faserqualität und -quantität sowie der Rauschmittelgehalt stark vom Geschlecht der ursprünglich zweihäusigen (diözisch) Pflanze beeinflusst werden, wurde versucht einhäusige (monözisch) Hanfsorten zu züchten. Bei solchen einhäusigen Sorten spalten allerdings immer wieder rein männliche Pflanzen heraus (**Hoffmann, 1947; Bocsa et al., 1997**).

Umfassende Studien zur Aufklärung der komplizierten Vorgänge der Geschlechtsvererbung des Hanfes sind nötig.

Das Ziel der hier vorliegenden Arbeit ist es, mit Hilfe von molekularen und cytologischen Methoden das Wissen über die Struktur und die Organisation von geschlechtsgekoppelten DNA-Bereichen zu erweitern, um damit Einblick in die Geschlechtsvererbung diözischer Hanfformen zu erhalten. Die durch diese Arbeit entwickelten Methoden sollen zukünftig auch zur Klärung der Natur monözischer Hanfformen genutzt werden.

Der experimentelle Teil der Arbeit ist in zwei Teile gegliedert. Dabei liegt der Schwerpunkt im ersten Teil in der Identifizierung und molekularen Charakterisierung geschlechtsspezifischer DNA-Bereiche. Im zweiten Teil sollen diese DNA-Bereiche als Sonden genutzt werden, um ihre Position auf den Chromosomen des Hanfes mittels Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH) sichtbar zu machen. Die Technik der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung ist eine Kombination cytogenetischer und molekulargenetischer Methoden mit dem Ziel, mikroskopische Präparate mit markierten DNA-Sonden zu hybridisieren. Das Einsatzspektrum dieser Technik umfasst u. a. die physikalische Kartierung von DNA-Sequenzen, die Identifizierung und Charakterisierung von Chromosomen bzw. Chromosomensegmenten sowie die Identifikation chromosomaler Umbauten durch rezente evolutionäre Prozesse (**Schwarzacher und Heslop-Harrison, 2000**).

Um geschlechtsspezifische DNA-Fragmente zu identifizieren, wurden mehrere Strategien verfolgt. Zum einen sollten PCR-Techniken genutzt werden, um geschlechtsspezifische Marker zu entwickeln deren DNA-Fragmente als Sonde einsetzen werden können.

---

Zum anderen wurde getestet, ob geschlechtsspezifische Klone einer anderen diözischen Pflanzenart (*Silene latifolia*) als Sonde bei Hanf einsetzbar sind. Eine andere Strategie bestand in der Suche nach repetitiven geschlechtsspezifischen Klonen in einer Hanf-DNA-Bibliothek. Die Klone einer Hanf-DNA-Bibliothek sollten dazu mit männlichen bzw. weiblichen Sonden hybridisiert werden. Klone, die nur mit einer der Sonden hybridisieren, sollten für das entsprechende Geschlecht spezifisch sein. Als Sonden sollte gesamte DNA männlicher und weiblicher Hanfpflanzen verwendet werden. Hiermit wäre es möglich, männlich-spezifische Klone zu identifizieren. Weibliche Klone sind mit diesen Sonden nicht identifizierbar, da sowohl männliche als auch weibliche Hanf-DNA ein X-Chromatin enthält, dessen Hybridisierungssignale sich überlagern. Um dennoch weiblich-spezifische Klone identifizieren zu können, sollten Sonden aus dem haploiden Genom einzelner Hanfpollen hergestellt werden. Ausgegangen von der Annahme, dass Hanf X- und Y-Chromosomen besitzt, weisen die drei Kerne des Hanfpollens neben neun Autosomen jeweils nur je ein Geschlechtschromosom (X oder Y) auf. Durch eine Amplifikation der DNA einzelner Hanfpollen mit degenerierten Primern sollte genügend DNA für die Sondenherstellung erzeugt werden. Mit solchen Sonden kann eine Überlagerung der Hybridisierungssignale verhindert werden.