

## 5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollten molekular- und cytogenetische Methoden genutzt werden, um Informationen über Struktur und Organisation geschlechtsgekoppelter DNA-Bereiche des Hanfes zu erlangen. Die Technik der *in situ* Hybridisierung sollte genutzt werden, um die Geschlechtschromosomen mit spezifischen Sonden zu markieren. Dazu wurden verschiedene Strategien zum Auffinden und Isolieren von geschlechtsgekoppelten DNA-Fragmenten entwickelt und angewendet. Hierbei erwies sich die Umwandlung von männlich- und PAR-spezifischen RAPD- bzw. AFLP-Markern als erfolgreichste Vorgehensweise. Es gelang, einen männlich-spezifischen RAPD-Marker (OPC-11<sub>2700</sub>) sowie einen PAR-spezifischen AFLP-Marker (AGA\_AAT\_330) in spezifische SCAR-Marker umzuwandeln. Das 2,2 kb große Fragment des von dem RAPD-Marker OPC-11<sub>2700</sub> abstammenden SCAR-Markers C11Seq zeigte beim Screening von 74 Pflanzen einer Kreuzungspopulation Kopplung mit dem männlichen Geschlecht. Zum Ausgangsmarker kosegregierendes Verhalten zeigten die beiden aus dem PAR-spezifischen AFLP-Marker AGA\_AAT\_330 hergestellten SCAR-Primerpaare 330Komp und 330CA. Dabei wies der Marker 330CA ein kodominantes Amplifikationsmuster auf. Um aus dem 0,3 kb langen PAR-spezifischen DNA-Fragment des SCAR-Markers 330Komp eine für die *in situ* Hybridisierung geeignete Sonde herzustellen, wurden die flankierenden DNA-Bereiche links und rechts des Fragmentes mittels PCR Walking amplifiziert. Damit gelang es, das Fragment auf ca. 8,0 kb zu vergrößern.

Die Methode der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung von Hanfchromosomen konnte erfolgreich etabliert werden. Erstmals konnte damit die Lokalisierung der 5S- und 25S-rDNA Bereiche auf den Chromosomen des Hanfes festgestellt werden. Damit gelang es, zwei der zehn Chromosomenpaare des Hanfes eindeutig zu markieren. Mit der von dem RAPD-Marker OPC-11<sub>2700</sub> abstammende Sonde C11Seq konnten bei der *in situ* Hybridisierung von Chromosomenpräparaten der Herkunft CAN 18 je ein Signal auf zwei Chromosomen erzeugt werden. Aufgrund der unterschiedlichen Größe der beiden Chromosomen kann angenommen werden, dass es sich dabei um das Geschlechtschromosomenpaar des Hanfes handelt. Die Signale der von dem AFLP-Marker AGA\_AAT\_330 abstammenden Sonden waren bei der *in situ* Hybridisierung repetitiv im heterochromatischen Bereich aller Chromosomen lokalisiert.