

## **Development of Simple Sequence Repeat (SSR) and AFLP Markers for Linkage Mapping in Lentil (*Lens culinaris* Medik)**

Die Linse (*Lens culinaris* Medik.) ist eine wichtige Kulturpflanze des Orients. Ihr Hauptanbaugebiet sind der Mittelmeerraum sowie Afrika. Sie gilt als wichtige Quelle für die Proteinversorgung in westasiatischen und nordafrikanischen Gebieten. Die Linse ist ein einjähriger diploider Selbstbefruchter ( $2n=2x=14$ ). Die Entwicklung einer detaillierten, genetischen Karte mit Markern für züchterisch interessante Merkmale ist ein wertvolles Instrument für die Marker-gestützte Selektion. Bisher wurden für die Linse Karten mit Hilfe von random amplified polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP), und morphologischen Markern entwickelt.

Mikrosatelliten (SSR) sind tandemartige Wiederholungen kurzer DNA-Sequenzen von 2-5 Basenpaaren, die in pflanzlichen als auch in tierischen Organismen in hoher Anzahl vorkommen. Die Variabilität von Mikrosatelliten kann genutzt werden, um mit Hilfe von PCR-Techniken, die Unterschiede in der Häufigkeit der Sequenzwiederholungen zu detektieren. Hierzu werden Primer eingesetzt, die spezifisch an die die Tandemsequenz flankierenden DNA-Bereiche binden und lokusspezifischen Amplifikationsprodukte erzeugen.

In dieser Arbeit wurde eine genomische Bank in der Kulturlinse (ILL 5588) erstellt. Es wurden über 200.000 Klone auf das Vorhandensein von 6 unterschiedlichen SSRs untersucht. Insgesamt wurden 371 positive Klone identifiziert. Hiervon wurden 243 sequenziert, 220 davon von beiden Seiten. 173 der so untersuchten Klone zeigten perfekte Sequenzwiederholungen (56.8%), und 28.8% der Klone hatten zusammengesetzte, unvollständige Sequenzwiederholungen. Von den Klonen mit perfekten Sequenzwiederholungen hatten 24.2% CA/GT Mikrosatelliten. Von insgesamt 142 Sequenzen wurden 170 Primerkombinationen entwickelt. Die flankierenden Primer von 58 Loci erzeugten monomorphe und von 66 Loci polymorphe PCR-Produkte.

30 Primerkombinationen ergaben 46 polymorphe dominante und kodominante Fragmente zwischen den Eltern der Kartierungspopulation. Die Kartierungspopulation beinhaltet 86 Rekombinationsinzuchtlinien. 39 dieser polymorphen Marker wurden in den Rekombinationsinzuchtlinien kartiert. Zusätzlich wurden 49 AFLP Marker und 5 morphologische Marker für Musterung der Samenschale (*Scp*), Blütenfarbe (*W*), Platzfestigkeit der Hülsen (*Pi*), Resistenz gegen Fusarium-Welke (*Fw*) und Frosttoleranz kartiert (*Rt*). Die so erhaltene Karte umfasst 750.5 cM mit einer durchschnittlichen Markerdichte von 2,6 cM. Die Karte beinhaltet 283 Marker, die auf 14 Kopplungsgruppen verteilt sind. Das Fusarium resistenzgen wurde auf Kopplungsgruppe 6 lokalisiert. Dieses Gen wird flankiert von einem Mikrosatellitenmarker SSR59-2B und einem AFLP Marker p17m30710 mit Abständen von 8.0 cM bzw. 3.5 cM. Detailliertere Untersuchungen zur Kartierung der *Fw* haben ergeben, daß nur SSR59-2B nahe bei *Fw* liegt nicht aber p17m30710. Die Entwicklung und Kartierung von Mikrosatellitenmarkern kann die Linsen-Karte verbessern und ermöglicht außerdem die Lokalisierung von agronomisch interessanten Merkmalen in verschiedenen Linsenarten, die mit entsprechenden Kartierungspopulationen erstellt wurden