

Veröffentlichung der Ergebnisse von Forschungsvorhaben im BMBF-Programm

B I O L O G I E

"Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 0315702B gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor".

Forschungsvorhaben: Forschungsvorhaben: 'GABI - KBBE II-Verbundvorhaben: Nutzbarmachung der genetischen Variabilität für die Resistenz gegenüber bedeutsamen Pathogenen bei Gerste (ExpResBar) (Teilprojekt B)'

Förderkennzeichen: 0315702B

Zuweisungsempfänger: Julius Kühn-Institut Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI), Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

Ausführende Stelle: Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI) - Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

Projektleitung: Herr Prof. Dr. Frank Ordon

Laufzeit: 01.04.2010 bis 30.09.2013

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Kurze Darstellung	3
1. Aufgabenstellung	3
2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	3
3. Planung und Ablauf des Vorhabens	4
4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	5
5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen	5
II. Eingehende Darstellung	6
1. Verwendung der Zuwendung und der erzielten Ergebnisse	6
2. Wichtige Positionen des zahlenmäßigen Nachweises	16
3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	16
4. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	16
5. Bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens in anderen Projekten	16
6. Erfolgte und geplante Veröffentlichung der Ergebnisse	17
III. Zitierte Literatur	19

I. Kurze Darstellung

1 Aufgabenstellung

Ziel des Plant-KBBE II Projektes „ExpResBar“ war es, neue und potentiell dauerhafte Resistenzen gegen wichtige Pathogene der Gerste wie *Blumeria graminis*, *Rhynchosporium secalis*, *Puccinia hordei*, *Pyrenophora teres*, *Ramularia collo cygni* und *Barley yellow dwarf virus (BYDV)*, die bereits in früheren Screening-Programmen beispielsweise innerhalb der *Spanish barley core collection (SBCC)* und unterschiedlichen serbischen Landrassen identifiziert werden konnten, für die praktische Züchtung nutzbar zu machen. Wesentliche Ziele der Arbeiten am JKI waren (i) eng gekoppelte Marker für Mehltaresistenz-QTL auf den Chromosomen 7HS, 7HL und 6H zu entwickeln, (ii) Gene zu identifizieren, die in eine aus *H. bulbosum* stammende BYDV-Toleranz involviert sind, (iii) eine Phänotypisierung für Resistenz gegenüber *Pyrenophora teres* durchzuführen sowie (iv) eine hochauflösende Kartierungspopulation für ein auf Chromosom 1HS lokalisiertes Zwergrostresistenzgen aufzubauen. Darüber hinaus galt es im Rahmen der Identifikation neuer Allele mit der HaploChIP Technik ausgewählte Genotypen mit Mehltau und Zwergrost zu infizieren sowie weiterhin im Rahmen der Entwicklung einer integrativen Karte der Gerste für Pathogenresistenz Daten über Resistenzgene und molekulare Marker zur Verfügung zu stellen.

2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Arbeitspaket 1. Identifikation neuer Resistenzressourcen und Entwicklung diagnostischer molekularer Marker

Zu Beginn der Arbeiten lagen bereits umfangreiche Kenntnisse über die Mehltaresistenz der SBCC vor (Silvar et al. 2010a, 2010b, 2011a) und es waren durch Analyse der DH-Population SBCC97 x Plaisant bereits zwei QTL für Mehltaresistenz auf Chromosom 7HS und 7HL bekannt (Silvar et al. 2011b). Ferner war bekannt, dass die Akzession SBCC145, welche ursprünglich für eine Kartierung einer *R. secalis* Resistenz genutzt werden sollte, auch ein hohes Resistenzniveau gegenüber *B. graminis* besitzt. Effektive Screeningverfahren auf Mehltaresistenz unter Nutzung verschiedener Isolate waren am JKI etabliert.

Toleranz gegenüber BYDV konnte in Zusammenarbeit mit Dr. Richard Pickering, Neuseeland und der KWS-LOCHOW in einer Linie identifiziert werden, die eine *H. bulbosum* Introgression auf Chromosom 2HL trägt. Eine 212 DH-Linien umfassende Population der Kreuzung (Emir x Introgressionslinie) x Emir stand zu Projektbeginn zur Verfügung. Ferner lagen wenige Marker zum Nachweis der Introgression vor und effektive Screeningverfahren auf BYDV-Toleranz waren etabliert.

Zur Erfassung der Resistenz gegenüber *Pyrenophora teres*, dem Erreger der Netzfleckenkrankheit war zu Projektbeginn eine effektive Screeningmethode, d.h. eine Horst-Aussaart im August etabliert, die eine verlässliche Erfassung des Befalls mit Netzflecken ermöglicht (König et al 2013).

In Bezug auf Zwergrost (*Puccinia hordei*) war die Position eines neuen Resistenzgens aus der serbischen Landrasse MBR1012 auf Chromosom 1HS bereits bekannt (Perovic et al 2003, König et al 2012) und es lagen aus anderen Projekten umfangreiche Erfahrungen in der Erstellung hochauflösender Kartierungspopulationen und der Markerabsättigung (Pellio et al. 2005, Lüpken et al. 2013) vor, ebenso wie effektive Screeningverfahren zur Erfassung der Resistenz.

Arbeitspaket 2 Identifikation von weiteren Allelen, die mit Resistenzreaktionen von Gerstegenotypen in Verbindung stehen

Ziel des Arbeitspaketes 2 war die Identifizierung der allelischen Variation ausgewählter Resistenzen gegenüber *B. graminis*, *R. secalis* und *P. hordei*. Innerhalb dieses Arbeitspaketes wurde vom Partner

MPIPZ die HaploChip-Technologie (Knight et al., 2003) genutzt. Diese ermöglicht die Erfassung des Zusammenhanges zwischen allelischer Ausprägung und der Genexpression, so dass auch nicht kodierende Regionen in die Analysen einbezogen werden konnten. Das JKI war an der Probenvorbereitung von mit *B. graminis* und *P. hordei* inokuliertem Pflanzenmaterial für die HaploChip-Analysen beteiligt. Effektive Inokulationstechniken standen für beide Pathogene zur Verfügung (s.o.).

Arbeitspaket 3. Entwicklung einer integrativen Karte für Pathogenresistenz in Gerste

Eine Zusammenstellung über Markerinformationen zu Resistenzgenen in Gerste lag zu Projektbeginn bis zum Jahr 2009 beim JKI vor.

3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz des JKI war an den Arbeitspaketen 1, 2 und 3 beteiligt.

Im Rahmen der Markerabsättigung der zwei in der spanischen Landrasse SBCC097 auf Chromosom 7H identifizierten Mehltresistenz-QTLs sollte zunächst auf die in der Gerste vorhandenen genomischen und genbasierten Markerressourcen zurückgegriffen werden. In einem ersten Schritt sollte dabei in einer 262 RILs umfassenden Population der Kreuzung SBCC097×Plaisant, unter Verwendung von vier SSR Markern für beide QTLs, rekombinante Linien identifiziert werden, und basierend auf diesen segmental rekombinanten RILs und den entsprechenden Markern, die als Anker dienten, aus den verschiedenen zur Verfügung stehenden Ressourcen Marker zur Eingrenzung der beiden Intervalle entwickelt werden. Im Rahmen der Kartierung der Mehltresistenz der spanischen Landrasse SBCC145 sollten die Resistenzeigenschaften von 190 DH Linien der Kreuzung SBCC145 x Beatrix gegenüber *Blumeria graminis* erfasst werden. Diese Daten sollten dann weiterhin für die komparative Feinkartierung mit Hilfe der Sequenzinformationen von Reis, Brachypodium und Sorghum unter Verwendung des GenomeZippers (Mayer et al. 2011) genutzt werden.

Zur Identifikation von Genen, die an einer Toleranz gegen BYDV beteiligt sind und der Entwicklung diagnostischer Marker, sollten in fertilen DH-Linien der Rückkreuzung [(203S11 x *Emir*) x *Emir*] solche Linien identifiziert werden, welche die Introgression auf Chromosom 2HL tragen und anschließend diese Introgression unter Nutzung eines 384 Illumina Beadexpress Assays und des Infinium 9K iSelect Chips weiter eingegrenzt und entsprechende rekombinante Linien phänotypisiert werden. Für eine weitere Eingrenzung des Intervalls sollten weiterhin *exome capture* Analysen durchgeführt werden. Im Rahmen der Identifikation von Kandidatengen sollte eine BAC-Bibliothek erstellt sowie von den Eltern zusätzlich Transkriptionsanalysen mittels RNAseq nach einer Virusinfektion durchgeführt werden.

Zur Identifikation von *Pyrenophora teres* Resistenz sollte die SBCC Kollektion sowie segregierende DH-Linien Populationen mit der neu entwickelten Prüfmethode für dieses Pathogen analysiert werden.

Für die Kartierung und Isolierung des Zwergrostresistenzgens der Landsorte MBR1012 sollte zunächst eine hochauflösende Kartierungspopulation entwickelt und eine Markerabsättigung entsprechend der Arbeiten zur Mehltresistenz (s.o.) durchgeführt werden. Weiterhin sollte eine BAC-Bibliothek der Linie MBR1012 erstellt werden.

Im Rahmen der Identifikation von weiteren Allelen, die mit Resistenzreaktionen von Gerstengenotypen in Verbindung stehen, sollten F₁-Pflanzen inokuliert werden, um solche Allele zu identifizieren, welche zu quantitativer Resistenz gegenüber *B. graminis*, *P. hordei* und *R. secalis* führen (siehe Abschlussbericht des MPIPZ).

Weiterhin sollten Markerdaten zu Resistenzgenen in Gerste gegenüber verschiedensten Pathogenen in der Literatur gesammelt und dem Partner (MPIMP) als Basis für die Erstellung einer integrativen Karte der Resistenz der Gerste zur Verfügung gestellt werden (siehe Abschlussbericht des MPIMP).

4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

In der SBCC und in einer Kollektion serbischer Landrassen wurden bereits umfangreiche Screening-Programme für die hier untersuchten Pathogene (*Blumeria graminis*, *Rhynchosporium secalis*, *Puccinia hordei*, *Pyrenophora teres*) durchgeführt und so neue Resistenzressourcen identifiziert (Silvar et al. 2010a, Perovic et al. 2003). In der spanischen Landsorte SBCC97 waren bereits zwei QTL auf den Chromosomen 7HL und 7HS identifiziert (Silvar et al. 2010b) und die Lokalisation der Rostresistenz aus der serbischen Landrasse MBR1012 auf Chromosom 1HS war bekannt (König et al. 2009). Neben den in Gerste bereits bekannten QTL für BYDV-Toleranz (Ordon et al. 2009), war bekannt, dass die *H. bulbosum* Introgressionslinie 203S11 eine Toleranz gegenüber BYDV auf Chromosom 2HL trägt (R. Pickering, pers. Mitt.). Für alle genannten Pathosysteme lagen effektive Inokulationsmethoden und Verfahren zur Erfassung der Resistenz am JKI vor (z.B. Niks et al. 2004, Silvar et al. 2010). Weiterhin lagen umfangreiche Erfahrungen in der Erstellung hochauflösender Kartierungspopulationen sowie der Markerabsättigung von Zielintervallen (Pellio et al. 2005, Lüpken et al. 2013) vor. Für die Markerentwicklung und -absättigung standen hochdichte genetische Karten (z.B. Varshney et al. 2007, Stein et al. 2007, Sato et al. 2009) zur Verfügung und die Illumina iSelect 9K Plattform zur Hochdurchsatzgenotypisierung war in der Entwicklung (Comadran et al. 2012). Weiterhin standen zu Projektbeginn zur Verfügung bzw. wurden im Verlauf des Projektes verfügbar: (i) der "Genome Zipper" des Gerstengenoms (Mayer et al., 2011), (ii) physikalische und sequenzbasierte Karten des Gerstengenoms (IBGS 2012, Ariyadasa et al. 2014), (iii) eine auf den 9K iSelect Daten beruhende genetische Karte (Comadran et al., 2012), (iv) Exome capture für das Gerstengenom (Mascher et al., 2013), (v) RNAseq zur Identifikation von Expressionsunterschieden und SNPs (Kugler et al. 2013), (vi) Verfahren zur kostengünstigen Erstellung von spezifischen BAC-Bibliotheken (Alfares et al. 2009; Gonthier et al. 2010) sowie (vii) hochdichte Sequenzkarten (Mascher, et al. 2013a, 2013b).

5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

In diesem Projekt kooperierten das Julius Kühn-Institut (Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Quedlinburg), das Max-Planck Institut für Pflanzenzüchtungsforschung (MPIPZ), das Max-Planck Institut für Pflanzenphysiologie (MPIMP), die Bayerische Landesanstalt für Pflanzenzucht (LfL) und Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Die Arbeiten wurden in Kooperation mit der KWS LOCHOW (KWS-L), der Saaten-Union BioTec (SU BIO), Sejet Plantbreeding (SEJ), Eurosemillas SA (EUSEM), Centre UdI-IRTA (UdI-IRTA), und der Saatzucht Josef Breun (BREUN) durchgeführt. Innerhalb des Arbeitspakets 1 wurde Aufgabe 2 durch das JKI und das CSIC bearbeitet, während Aufgabe 3 durch das JKI in Kooperation mit der KWS-LOCHOW bearbeitet wurde. Die aus der Bearbeitung der Aufgabe 5 resultierenden Ergebnisse wurden durch das JKI und die Saatenunion-BioTec erarbeitet. Die exome Capture Analysen und die RNAseq-Analysen wurden in Zusammenarbeit mit dem IPK Gatersleben, und die BAC-Bibliotheken in Zusammenarbeit der INRA CNRG Toulouse durchgeführt.

II. Eingehende Darstellung

1 Verwendung der Zuwendung und der erzielten Ergebnisse

Entwicklung eng gekoppelter Marker für Mehltreuresistenz-QTL auf den Chromosomen 7HS, 7HL und 6HS.

Im Rahmen der Kartierung der zwei in der spanischen Landrasse SBCC097 auf Chromosom 7H identifizierten QTLs (Silvar et al. 2010b), wurden in der 262 RILs umfassenden Population der Kreuzung SBCC097×Plaisant unter Verwendung von GBM1126 und GBM1060 für den QTL auf Chromosom 7HS sowie GBM1122 und EBmac0755 für den QTL auf Chromosom 7HL, 94 rekombinante Linien identifiziert. In einem ersten Markerabsättigungsschritt wurde zunächst auf die in der Gerste vorhanden Markerressourcen (Stein et al. 2007) zurückgegriffen sowie auf EST-basierte genetische Karten (Marcel et al. 2007, Sato et al. 2009, Close et al. 2009). Basierend auf den genannten Markern, die als Anker dienten, wurden aus den verschiedenen zur Verfügung stehenden Ressourcen 52 Marker für beide Intervalle ausgewählt. Von diesen waren 32 polymorph und wurden kartiert (Abb. 1B) (Silvar et al., 2012).

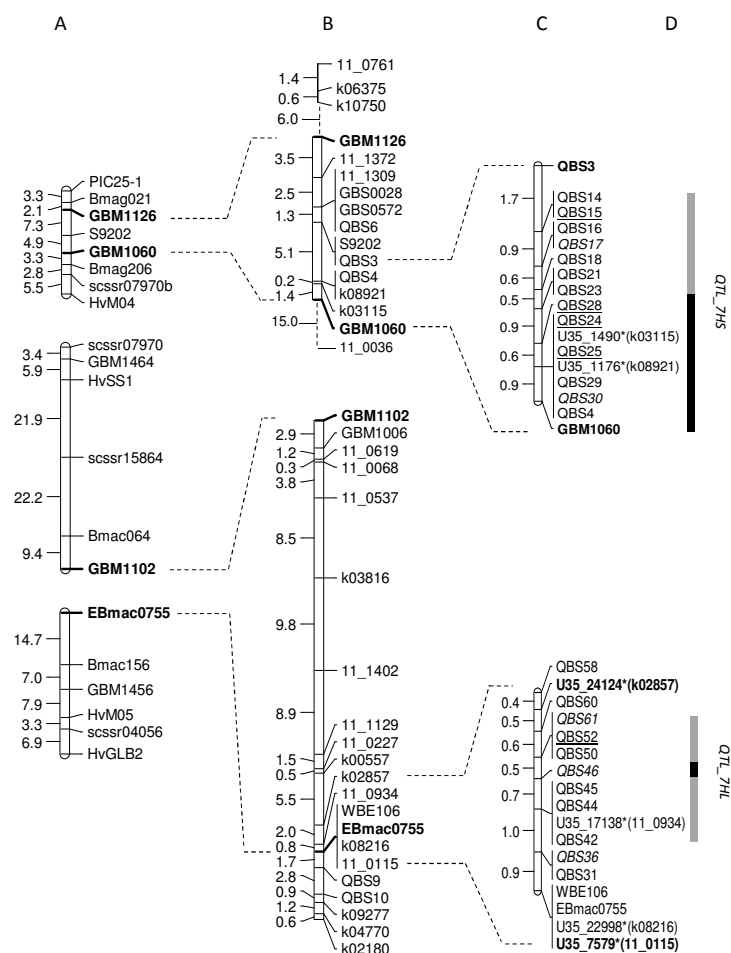


Abbildung 1: Genetische Karte der auf Chromosom 7H detektierten QTLs für die Mehltreuresistenz in der Kreuzung SBCC097×Plaisant. (A) vor der Markerabsättigung, (B) nach der Markersättigung Phase 1 (32 neue Marker), (C) nach der Markerabsättigung Phase 2 (23 neue Marker). (D) die schwarzen vertikalen Säulen stellen die neuen QTL-Intervalle dar (Silvar et al. 2012).

In weiteren Arbeiten wurde eine komparative Feinkartierung mit Hilfe der für Reis, Brachypodium und Sorghum zur Verfügung stehenden Datenbanken und unter Verwendung des GenomeZippers

(Mayer et al. 2011) durchgeführt. Es wurden ca. 40 Gerstenunigene aus den Sequenzinformationen der wahrscheinlichsten, orthologen Kandidatengene identifiziert. Mit diesem Vorgehen wurde eine höhere Markerabsättigung der Karte erreicht und 23 Marker, die im Bereich der vermuteten Mehltaresistenz lokalisiert sind, identifiziert (Abb. 1C) (Silvar et al., 2012). In einem nächsten Schritt wurden die zunehmenden Sequenzinformationen der Gerste und die lineare Anordnung der entsprechenden Gene (GenomeZipper) genutzt, um orthologe Sequenzen in den Sorten Morex und Betzes mittels BLASTn zu identifizieren. Die flankierenden Marker der beiden QTLs wurden wieder als Startpunkt für eine komparative Kartierung mit Hilfe des GenomeZippers verwendet. Dies ermöglichte die Identifikation einer Region mit der Länge von 0,64 cM, die 30 Gerstenloci umfasst und auf dem Chromosom 7HS lokalisiert ist. Im Weiteren konnte auf dem Chromosom 7HL eine 4,30 cM große Region identifiziert werden, die 34 Gerstenloci umfasst. Insgesamt wurden schließlich 64 Unigene der Gerste aus den verfügbaren Sequenzinformationen identifiziert, die im Rahmen der Markerabsättigung für die Kartierung geeignet waren.

Parallel zu diesen Arbeiten im Rahmen der Kartierung der Mehltaresistenz der spanischen Landrasse SBCC145 wurden am Julius Kühn-Institut die 190 DH Linien der Kreuzung SBCC145 x Beatrix mit den *Blumeria graminis* Isolaten, I211 und I224 inokuliert und deren Resistenzreaktion erfasst. In Zusammenarbeit mit dem CSIC und der LfL konnte basierend auf diesen Daten und den genotypischen Daten, die mittels 1536 SNPs des Illumina GoldenGate Oligonucleotide Pool Assay (BOPA1) generiert wurden, ein Haupt QTL für die Resistenz gegen diese beiden Isolate auf dem langen Arm von Chromosom 6H identifiziert werden, der 60% der phänotypischen Varianz erklärt (Abb. 3) (Silvar et al., 2011c).

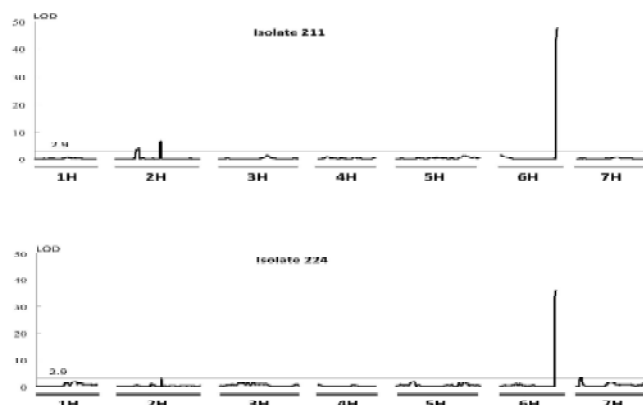


Abbildung 2. Kartierung von QTL für die Resistenz gegenüber den *Blumeria graminis* Isolaten I211 und I224 in der Kreuzung SBCC145 auf Chromosom 6H (Silvar et al. 2011c).

Im Rahmen der weiteren Arbeiten zu dem auf Chromosom 6HL lokalisierten QTL der Landsorte SBCC145 wurden unter Nutzung des Genome Zippers (Mayer et al. 2011) ca. 40 Gerstenunigene im interessierenden Bereich identifiziert.

Zusammenfassend konnten mit Hilfe der komparativen Kartierung für die Zielregion auf Chromosom 7HS 12 neue Marker, für 7HL 9 neue Marker und für 6HL 12 neue Marker kartiert werden (Abb. 1D).

Die äußeren flankierenden Marker der QTLs auf den Chromosomen 7HS, 7HL und 6HL umspannen eine physikalische Länge von 4,0 Mb, 3,7 Mb und 3,2 Mb (Abb. 3). Insgesamt konnten mit Hilfe des dargestellten Vorgehens 21, 10, und 16 potentielle Kandidatengene, die mit der Pathogenabwehr in Zusammenhang stehen, für die Mehltaresistenz in diesen Regionen identifiziert werden (Silvar et al. 2013b).

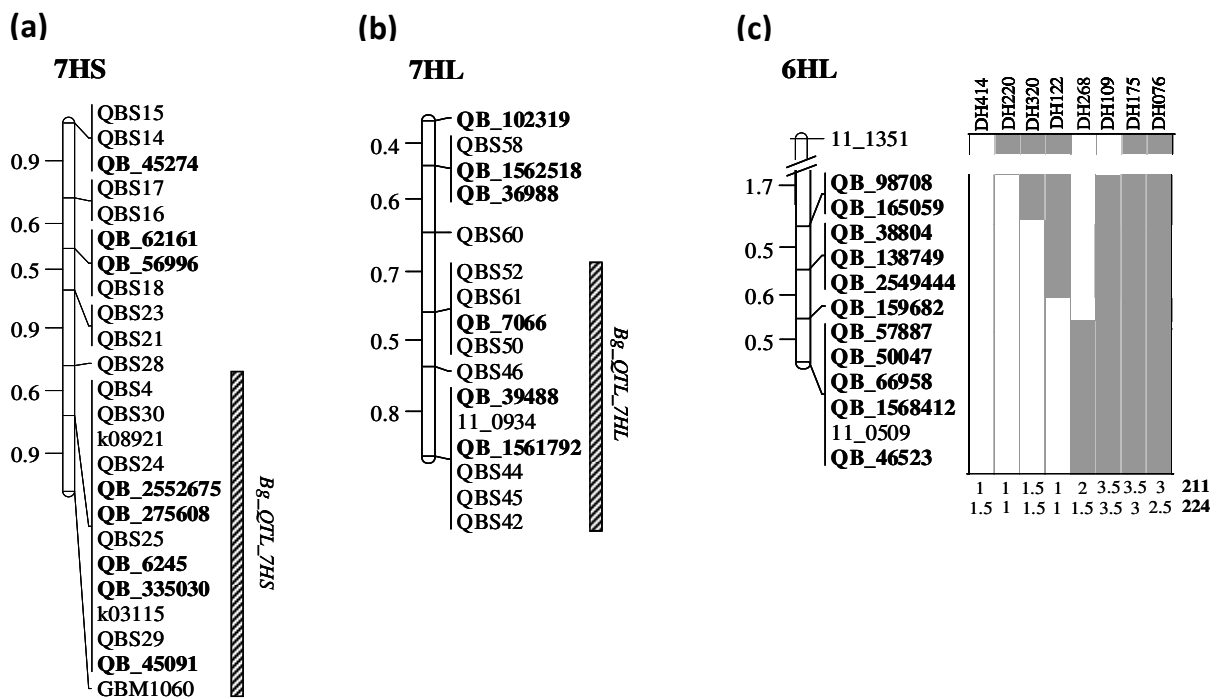


Abbildung 3. Genetische Karte der Chromosomen 7HS (a), 7HL (b) und 6HL (c) nach Absättigung mit den aus contigs von Morex entwickelten neuen Markern (fett). Die schraffierten Balken zeigen die chromosomalen Regionen, die QTLs für Resistenz gegen *B. graminis* auf den Chromosomen 7HS und 7HL aufweisen. Das Diagramm der DH Linien aus der Kreuzung SBCC145xBeatrix stellt die Rekombinationen aus der Region dar, die den QTL auf Chromosom 6HL beinhaltet (Silvar et al. 2013b).

Tabelle 1: Alleldetektion für Marker mit sehr enger Kopplung zu den auf Chromosom 7H lokalisierten Mehлта Resistenz-QTL. Die unterschiedlichen Buchstaben stehen für unterschiedliche Allele und NA für keine Amplifikation (Silvar et al. 2013a).

Chrom	Marker	Gerstelinien				
		SI-4 (<i>mlt</i> , <i>Mlf</i>)	SI-6 (<i>mlt</i> , <i>Mlf</i>)	RS42-6*O (<i>mlt</i>)	RS137- 28*E (<i>Mlf</i>)	SBCC097
7HS	QBS23	a	a	a	a	b
	k08921	a	a	a	a	b
	QBS30	a	b	NA	NA	b
	GBM1060	a	b	a	a	c
7HL	QBS52	a	a	a	b	b
	QBS46	a	b	a	a	b
	QBS44	a	b	a	a	b

Die zwei Haupt-QTL für die Mehлтаuresistenz wurden in der spanischen Linie SBCC097 auf dem Chromosom 7H lokalisiert an vergleichbaren Positionen wie die Gene *mlt* und *Mlf*, die in *Hordeum vulgare* spp *spontaneum* abgeleiteten Gerste-Linien beschrieben wurden. Um weitergehende Informationen zu gewinnen, wurden diese Linien mit einem Set von 27 *Blumeria graminis* Isolat inokuliert. Dieser Test zeigte, dass die spanische Linie ein einzigartiges Resistenzmuster aufweist. Die mikroskopische Beurteilung der zytologischen Entwicklung der Resistenzreaktion zeigte weiterhin, dass der Anteil der etablierten Kolonien und die Anzahl sekundärer Hyphen in der spanischen Landrasse im Vergleich zu den *H. spontaneum* Linien deutlich reduziert sind. Diese Ergebnisse

stimmen mit denen der visuellen Beobachtung des Infektionstyps überein (Silvar et al. 2013a). Die genetischen Analysen aller Linien basierend auf den flankierenden Markern der QTL von SBCC097 (Tab. 1), gestützt von makroskopischen und mikroskopischen Daten, deuten auf eine neuartige Resistenz in der Linie SBCC97 hin (Silvar et al 2013a).

Saatgut von acht rekombinanten Inzuchtlinien (RILs) mit dem QTL von Chromosom 7HS wurden von den spanischen Projektpartnern (Ernesto Igartua, Ana Cassas) zur Verfügung gestellt und werden mittels Inokulation mit dem *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* Isolat 225 auf Resistenz getestet, um im Hinblick auf eine Isolation des betreffenden Gens das Zielintervall weiter einzuzengen.

Identifikation von Genen mit Beteiligung an der BYDV-Toleranz und Entwicklung spezifischer Marker

Die Introgressionslinie 203S11 enthält ein *H. bulbosum* Fragment auf Chromosom 2HL, welches Toleranz gegen BYDV verleiht. Diese Linie wurde mit Emir zweimal zurückgekreuzt und 520 DH-Linien von der KWS-LOCHOW entwickelt. Für die Arbeiten standen nach Diplodisierung 212 DHLinien zur Verfügung. Diese Linien wurden mit 5 für die *Hordeum bulbosum* Introgression spezifischen CAPS Markern sowie vier SSR-Markern analysiert. Dabei wiesen 118 DH-Linien das *H. bulbosum* Fragment in seiner ursprünglichen Länge auf, 22 zeigten Rekombinationen im *Hordeum bulbosum* Fragment und 72 trugen kein *H. bulbosum* Fragment. Abbildung 4 zeigt die graphischen Genotypen von Linien mit Rekombinationen im Introgressionsfragment.

Marker	SSR1	SSR2	CAPS1	CAPS2	SSR3	CAPS3	CAPS4	SSR4	CAPS5
DH line	Bin12	Bin12	Bin12	Bin13	Bin13	Bin14	Bin14	Bin14	Bin15
DH-Pick14	HV	HV	HV	HV	HB	HB	HB	HB	HB
DH-Pick15	HV	HV	HV	HV	HB	HB	HB	HB	HB
DH-Pick22	HB	-	HV	HV	HV	HV	HB	-	HB
DH-Pick167	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HV	HB
DH-Pick168	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HV	HV
DH-Pick200	HV	HV	HV	HB	HB	HB	HB	HB	HB
DH-Pick204	HV	HV	HV	-	HV	HV	HV	HV	HB
DH-Pick214	HV	HV	HV	-	HV	HV	HV	HV	HB
DH-Pick245	HV	HV	HV	HV	HV	HV	HV	HB	HB
DH-Pick267	HV	HV	HV	HV	HV	HV	HB	HB	HB
DH-Pick272	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HV	HV
DH-Pick275	HV	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HB
DH-Pick276	HB*	HV	HV	HV	HV	HV	HV	HV	HV
DH-Pick279	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HV	HV
DH-Pick287	HB	HB	HV	HV	HV	HV	HV	HB	HB
DH-Pick307	HB	HB	HB	HB	HV	HV	HV	HV	HV
DH-Pick311	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HV
DH-Pick313	HB	HV	-	HV	HB	HB	HB	HB	HB
DH-Pick323	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HV	HV	HV
DH-Pick364	HV	HV	HV	HV	HV	HV	HV	HB	HB
DH-Pick383	HV	HV	HV	HV	HB	HB	HB	HB	HB
DH-Pick391	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HB	HV	HV
DH-Pick403	HV	HV	HV	HV	HB	HB	HB	HB	HB

Abbildung 4. Graphische Genotypen von Linien mit Rekombinationen im *Hordeum bulbosum* Introgressionsfragment ermittelt mittels CAPS- und SSR-Markern

Die rekombinanten Linien wurden zur weiteren Markerabsättigung mit einem Illumina BeadExpress Arrays (384 SNPs) von der KWS LOCHOW GMBH analysiert. Unter Nutzung dieser 384 SNPs konnte die Größe der Introgression auf ca. 12 cM eingegrenzt werden. Desweiteren wurden diese DH-Linien im Gewächshaus künstlich mit BYDV-tragenden Blattläusen infiziert (20 Pflanzen) und anschließend gemeinsam mit gesunden Kontrollen der entsprechenden DH-Linien ins Freiland (Gazehäuser) gepflanzt, um deren Reaktion gegenüber einer BYDV-Infektion zu ermitteln. Nach Analyse der rekombinanten Introgressionslinien mit dem 9k iSelect Chip und den phänotypischen Daten nach künstlicher Inokulation, konnte die toleranzbedingende Introgression auf einen Bereich von ca. 3cM

in der Telomerregion eingegrenzt werden. Unter Verwendung des GenomeZippers konnten weitere 16 Marker entwickelt und im Zielintervall kartiert wurden. (Abb. 5).

Konsensus Karte	Emir	DHRd204	DHRd214	DHRd259	DHRd276	DHRd207	DHRd223	DHRd279	DHRd103	DHRd167	DHRd272	DHRd304	DHRd157	DHRd113	DHRd275	HS-203S11	DHRd301	DHRd111	DHRd114	DHRd115	DHRd300	DHRd103	DHRd303	DHRd122	DHRd227	DHRd237	DHRd245		
	Emir	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	
SSR1	a	a	a	b	a	b	b	b	b	b	b	a	a	a	b	b	b	b	a	a	a	a	a	a	a	b	a	a	
iSNP1	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	a	a	a	a	b	-	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	
iSNP2	a	a	a	a	a	-	-	-	-	-	-	a	a	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
iSNP3	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	a	a	a	a	b	-	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	
iSNP4	a	a	a	a	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
iSNP5	a	a	a	a	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
iSNP6	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	a	a	a	a	b	b	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	
iSNP7	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	a	a	a	b	b	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	
iSNP8	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	a	a	a	b	b	-	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	
iSNP9	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	
SSR2	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	
iSNP10	a	a	a	a	a	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
QBS 81 ^a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a	
QBS 82 ^b	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a	
QBS 83 ^c	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a	
iSNP11	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	a	b	b	b	-	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b	
QBS 84 ^d	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b	
QBS 85 ^e	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b	
QBS 86 ^f	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b
QBS 87 ^g	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b
QBS 88 ^h	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b
QBS 89 ⁱ	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b
iSNP12	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
QBS 90 ^j	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	
SSR3	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	
iSNP13	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	-	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	
QBS 91 ^k	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	
QBS 92 ^l	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	
iSNP14	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	-	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	
iSNP15	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
QBS 93 ^m	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	
% Ertrag/Pflanze	6,0	7,8	7,4	6,3	10,3	15,2	12,7	14,0	9,5	10,0	17,8	19,1	32,1	28,0	28,1	53,7	56,6	54,9	49,4	44,7	51,5	31,2	41,1	30,4	34,2	33,0	41,4		

Abbildung 5: Ergebnis der Markerabsättigung der *H. bulbosum* Introgression auf Chromosom 2HL Orange =Emir-Allele,Blau=*H. bulbosum* Introgressionen.

Der Vergleich der genetischen Position zu anderen bereits bekannten BYDV Toleranzgenen und QTL lieferte den Nachweis, dass es sich bei der bearbeiteten Toleranz um einen neuen Locus handelt. Da dieser Locus aus *H. bulbosum* stammt, kann angenommen werden, dass er spezifisch für *H. bulbosum* ist, und daher sehr wahrscheinlich in den für *H. vulgare* vorhandenen BAC-Bibliotheken nicht vorhanden ist. Daher ist in der physikalischen Isolierung und Sequenzierung des entsprechenden Fragmentes direkt aus *H. bulbosum* der kürzeste und effektivste Weg zu sehen, um Kandidatengene zu identifizieren, die in die BYDV-Toleranz involviert sind. Aus diesem Grund wurde für die BYDV-tolerante *H. bulbosum* Introgressionslinie 203S11 eine „Non-gridded BAC-Bibliothek“ mit dreifacher Genomabdeckung bei INRA-CNRGV erstellt. Gegenwärtig wird diese Bibliothek bei INRA-CNRGV mit drei der zuvor entwickelten PCR-Marker untersucht, welche auf dem kürzesten Fragment, welches noch zur Ausprägung der Toleranz führt, lokalisiert sind.

Weiterhin wurde im Rahmen der Identifikation von Kandidatengenen für die BYDV Toleranz ein RNASeq Experiment durchgeführt. Pflanzen der Sorte Emir und der Introgressionslinie 203S11 wurden künstlich mit BYDV/PAV unter kontrollierten Bedingungen unter Nutzung von BYDV-infizierten und nicht-infizierenden Aphiden inokuliert. 12 Stunden nach der Inokulation wurde Blattmaterial von Einzelpflanzen entnommen und bei -80 °C gelagert. Einzelpflanzen, die mit den infizierenden Aphiden inokuliert wurden, wurden mit DAS ELISA auf das Vorhandensein von Viruspartikeln untersucht und nur Pflanzen mit positivem Ergebnis wurden für die RNASeq Analyse verwendet. Die RNA wurde von den folgenden sechs Proben extrahiert (Tabelle 2).

Tabelle 2. Überblick über das Pflanzenmaterial für RNASeq

Tube Nr.	Genotyp	Variante	Zeitpunkt	RNA-Messung
				ng/μl
1	Emir	BYDV_PAV	12 h pl	1902
3	203 S11	BYDV_PAV	12 h pl	1700
5	Emir	K_ Läuse virusfrei	12 h pl	1609
7	203 S11	K_ Läuse virusfrei	12 h pl	1432
9	Emir	Mock	12 h pl	1482
11	203 S11	Mock	12 h pl	1248

Die Konstruktion der Bibliothek, Qualitätskontrolle und Sequenzierung wurde in Zusammenarbeit mit dem IPK Gatersleben durchgeführt. Die Analyse zeigt, dass in der toleranten Linie nach Virusinokulation 12 Gene, welche alle SNPs tragen und auf Chromosom 2HL lokalisiert sind, herunter reguliert werden und 30 weitere auf anderen Chromosomen lokalisierte Gene herauf reguliert werden (Abb. 6).

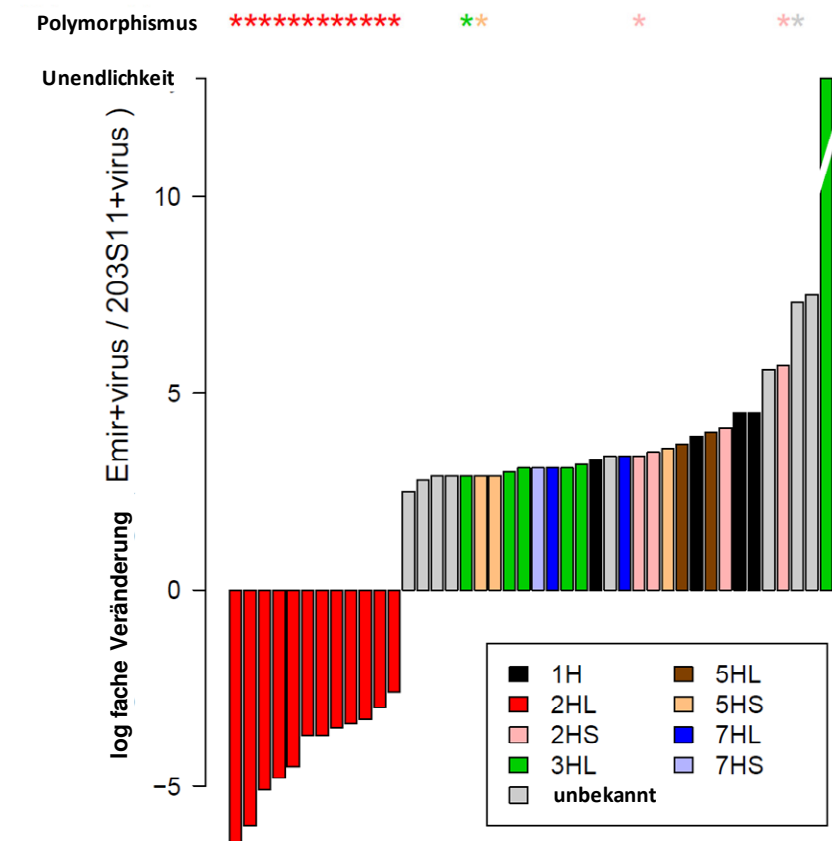


Abbildung 6: Ergebnisse der RNASeq-Analyse.

Zusätzlich zu den RNAseq Analysen wurden Exome capture Analysen mit den Elternlinien sowie zwei rekombinanten DH-Linien in Zusammenarbeit mit dem IPK durchgeführt (Abb. 7). Die auf diese Weise identifizierten SNPs dienen der weiteren Markerabsättigung.

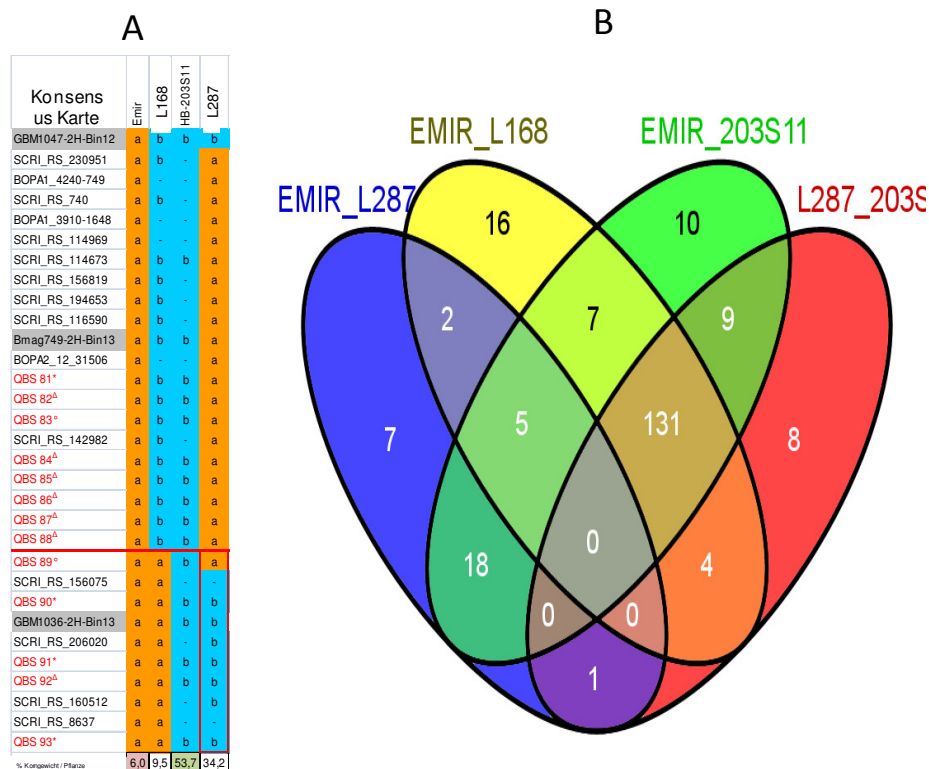


Abbildung 7: A. Graphische Genotypen der Eltern und zweier DH-Linien mit Rekombinationen in der *Hordeum bulbosum* Introgression. Das Introgressionsfragment wurde mit Hilfe von CAPS, SNP und SSR Markern ermittelt und für “Exome capture” Analysen genutzt. B. Anzahl von Polymorphismen, die sowohl in Eltern als auch in den untersuchten DH-Linien mit Hilfe der “Exome capture” Analyse auf Basis der verankerten WGS contigs aus Gerste (Kultivar Morex) bestimmt wurden. Die Zahlen repräsentieren die Anzahl an Polymorphismen zwischen den analysierten Linien.

Identifikation von *Pyrenophora teres* Resistenz

Der Anbau der Prüfglieder [Spanische Core Collection (175 Linien), DH-Population HightlightxHHOR9484 (155Linien) und FridericusxHHOR9484 (164 Linien)] erfolgte in Horsten mit 50cm Abstand. Vor der Aussaat (Anfang August) der zu prüfenden Genotypen wurde infiziertes Stroh in die Versuchsfläche eingearbeitet, um das Ausgangsinokulum mit *Pyrenophora teres f. teres* zu erhöhen. Die erste Bonitur wurde mit dem Erscheinen deutlicher Symptome an den anfälligen Standards durchgeführt. Die Bewertung der Genotypen erfolgte anhand der Bonitur des prozentualen Befalls der Blattfläche und des Reaktionstyps nach Tekauz (1985). Der Standort Quedlinburg hatte im Jahr 2012 einen ausreichenden Befall, um die Daten auswerten zu können.

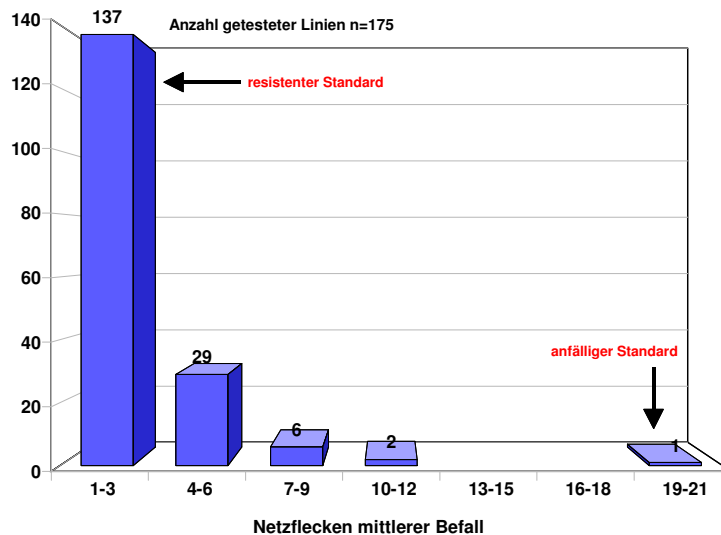


Abbildung 8: Mittlerer Befall mit *Pyrenophora teres* f. *teres* in der Spanischen Gersten Core Collection (SBCC) im 'Sommerversuch' am Standort Quedlinburg 2012

Von den 175 getesteten Linien der spanischen Gersten zeigen 78% eine resistente Reaktion (Abb. 8). Die DH-Population 'Highlight x HHOR9484' wies im Vergleich zur DH-Population 'Fridericus x HHOR9484' eine höhere Anzahl anfälliger Linien auf. Bei der Population 'Highlight x HHOR9484' zeigen nur 15% der Linien einen mittleren Befall unter 10%, bei der Population 'Fridericus x HHOR9484' waren es 70%.

Entwicklung einer hochauflösenden Kartierungspopulation für ein Zwergrostresistenzgen auf Chromosom 1H

Die Position des Rost-Resistenzgens aus MBR1012, das ursprünglich auf nur 65 DH-Linien zurückging, konnte in einer nun 91 DH-Linien umfassenden Population bestätigt werden (Abbildung 9). Diese 91 aus einer Kreuzung der resistenten Landrasse MBR1012 und der anfälligen Sorte "Scarlett" erzeugten DH Linien segregierten in 48 resistente und 43 anfällige Pflanzen ($\chi^2 = 0,29$; König et al. 2012).

Um den diagnostischen Wert der vier am engsten zur Zwergrostresistenz in MBR1012 gekoppelten Marker zu analysieren, wurden zunächst 51 Gerste Akzessionen untersucht. Mit Hilfe des Markers GBMS187 konnte dabei ein Nullallel im resistenten Elter MBR1012 identifiziert werden, während in anderen Genotypen acht unterschiedliche Allele beobachtet werden konnten. Der untersuchte Marker zeigte in MBR1012 ein einheitliches Signal, ist aber aufgrund seines dominanten Charakters nur von begrenztem Nutzen für die praktische Züchtung (Abb. 9).

Im Zuge der Entwicklung der hochauflösenden Kartierungspopulation wurden 4775 F_2 Pflanzen ausgesät, DNA-extrahiert und mit den flankierenden Markern (BOPA8670 und BOPA7372) analysiert, welche nach der Genotypisierung der DH-Population MBR1012 x Scarlett mittels 9k iSelect chip abgeleitet wurden (s.u.). Von diesen 4775 Pflanzen wurde ein Set von etwa 2600 Pflanzen vom Projektpartner SU-Biotec analysiert und ein Set von 450 heterozygot rekombinanten Pflanzen an das JKI übergeben. Von den 4775 untersuchten F_2 Pflanzen erwiesen sich 750 Pflanzen als heterozygot rekombinant während 50 Pflanzen homozygot rekombinant zwischen den oben genannten flankierenden Markern waren. Daraus ergibt sich für die flankierenden Marker in dieser Population ein Intervall von 8.2 cM. Die teilheterozygot rekombinanten F_2 -Pflanzen wurden in segmental homozygote RILs umgewandelt und vermehrt (vgl. Pellio et al. 2005, Lüpken et al. 2013). Von den heterozygot rekombinanten Pflanzen wurden in der F_3 Generation 12 Einzelpflanzen untersucht, um homozygot rekombinante Inzuchtlinien zu identifizieren. Bislang wurden aus dem Set von 305 F_3

Familien, die auf 2175 F₂ Pflanzen zurückgehen 3660 F₃ Pflanzen analysiert und in F₄ RILs umwandelt. Da der Arbeitsaufwand, der aufgrund des Abstandes zwischen den eingesetzten flankierenden Markern (8.2 cM), sehr hoch war, wurden parallel Untersuchungen zur Entwicklung enger gekoppelter co-dominanter Marker durchgeführt.

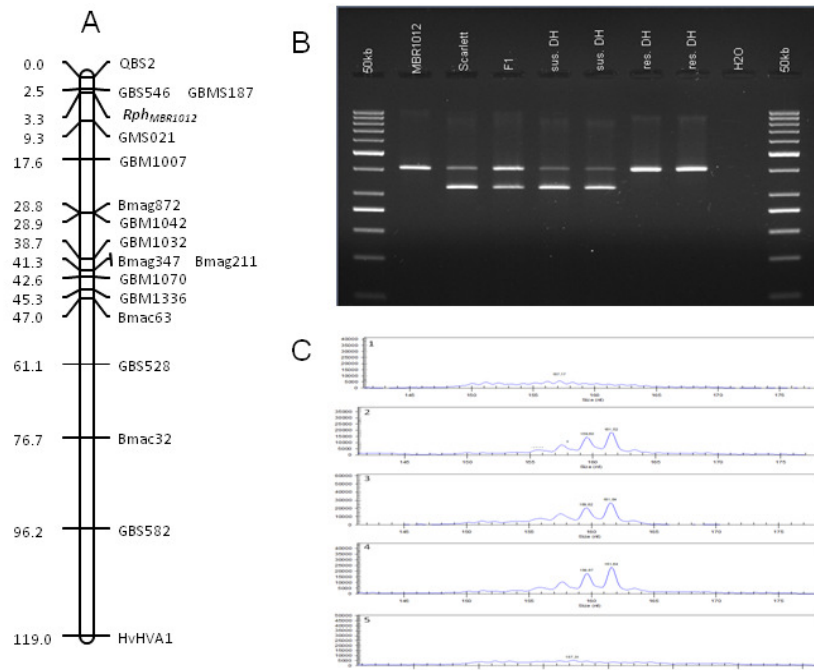


Abbildung 9. A. Genetische Karte des Chromosomes 1H mit dem Zwergrost Resistenzgen aus MBR1012. B. Agarosegel des mit dem Locus *Rph_{MBR1012}* eng gekoppelten CAPS Markers GBS546 nach der Restriktion mit dem Enzym HhaIRe; C. Chromatogramm des mit Locus *Rph_{MBR1012}* eng gekoppelten SSR Markers GBMS187 der Genotypen MBR1012 (resistenter Elter, 1) und Scarlett (anfälliger Elter, 2), einer F₁-Pflanze (3), eine DH Linie (anfällig, 4) und einer weiteren DH Linie (resistent, 5). Dargestellte Daten sind teilweise aus König et al. (2012) übernommen.

Um eine Markerabsättigung zu erreichen, wurde die DH-Population der Kreuzung MBR1012 x Scarlett mit dem Illumina iSelect 9K Chip genotypisiert. Es konnte eine Vielzahl weiterer Marker im Bereich des Zielintervalls kartiert werden (Abb. 10), die anschließend im Hinblick auf ihre Eignung für den Aufbau einer hochauflösenden Kartierungspopulation analysiert wurden. Insgesamt konnten in der Population MBR1012 x Scarlett 311 Marker auf Chromosom 1H kartiert werden. Der interessierende Bereich dieser Karte ist Abbildung 10 zu entnehmen.

Um den Locus mit weiteren Markern abzusättigen wurde weiterhin der GenomeZipper (s.o.) verwendet. Mit Hilfe des GenomeZippers konnten 15 weitere Marker innerhalb des Zielintervalls kartiert werden. Im Berichtszeitraum wurde weiterhin ein Set von 259 F₄ rekombinanten Inzuchtlinien (RIL) aus 2175 F₂ Pflanzen, die homozygote Rekombination in dem Zielintervall aufweisen, mit Hilfe dieser Marker untersucht. Die Auflösung der gegenwärtigen Kartierungspopulation aus 259 RILs beträgt 0.023 cM. Mit den Zwergrostisolaten I80 und I90-2 wurden bisher 159 RILs künstlich inokuliert.

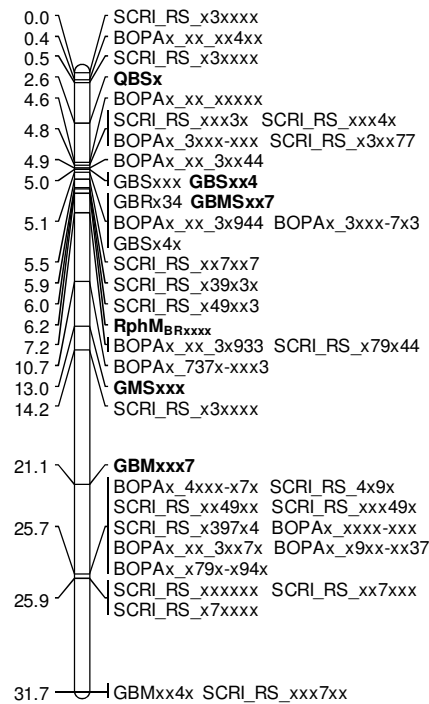


Abbildung 10. Genetische Karte des Chromosomes 1H mit dem Resistenzgen RphMBR1012 nach Markerabsättigung mit dem Illumina iSelect 9K Chip.

Die Bonitur der Krankheitsausprägung unter kontrollierten Bedingungen ergab einheitliche und identische Daten für beide Isolate und es konnte ein Spaltungsverhältnis von 85 resistenten Linien zu 74 anfälligen Linien, welches der erwarteten 1r:1s ($\chi^2=0,761$) entsprach, nachgewiesen werden. Die hochauflösende Kartierungspopulation wurde bisher mit einem Set von 25 Markern analysiert. Das Zwergrost- Resistenzgen RphMBR1012 ist zwischen GBMS187 und einem Cluster aus den Markern GBS626, GBS546 und GBR534 mit einem Abstand von jeweils 0,023 cM lokalisiert (Abb. 11).

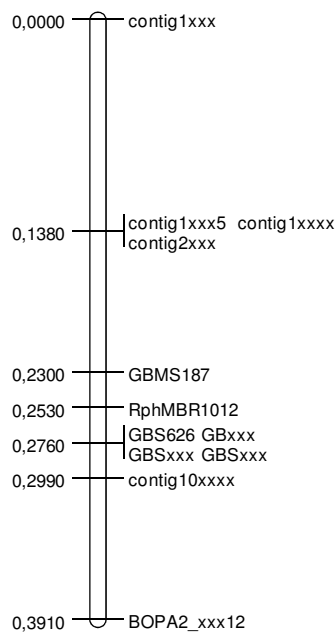


Abbildung 11. Ausschnitt aus der hochauflösenden genetischen Karte für das Zwergrostresistenzgen RphMBR1012.

Analog dem Vorgehen bei BYDV (s.o.) wurde für die Landrasse MBR1012 zur Isolation des Gens eine „Non-gridded BAC Bibliothek“ erstellt und die drei am engsten gekoppelten Marker für Analysen verwendet.

Identifikation von weiteren Allelen, die mit Resistenzreaktionen von Gerstengenotypen in Verbindung stehen

Um genügend Saatgut für die am MPIPZ durchzuführende HaploChip Analyse zur Verfügung zu haben, wurden weitere 500 F₁-Körner der reziproken Kreuzungen MBR1012 x Scarlett erstellt. Für die Haplo-ChIP Analyse wurden die F₁-Pflanzen der Kreuzung MBR1012 x Scarlett und die Eltern ausgesät, im Primärblattstadium künstlich mit *Puccinia hordei* inokuliert und vom Projektpartner MPIPZ die Fixierung in Formaldehyd zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Inokulation vorgenommen. Analog wurde für die Untersuchungen zur Mehltaresistenz mit den F₁-Pflanzen der Kreuzung SBCC097 x Plaisant und den entsprechenden Eltern verfahren (Für Einzelheiten siehe Bericht des MPIPZ).

Entwicklung einer integrativen Karte für Pathogenresistenz in Gerste

Basierend auf umfangreichen Literaturrecherchen wurden dem Projektpartner MPIMP Marker für 69 Resistenzgene der Gerste zur Verfügung gestellt.

2. der wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Siehe gesonderte Darstellung.

3. der Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die durchgeführten Arbeiten waren notwendig und angemessen, um die Projektziele, d.h. die Erstellung einer hochauflösenden Kartierungspopulationen für RphMBR1012 sowie die entsprechende Markerabsättigung für die Mehltaresistenz-QTLs und BYDV Toleranz zu erreichen.

4. des voraussichtlichen Nutzens, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Für alle kartierten Resistenzgene konnten molekulare Marker entwickelt werden, die einen beschleunigten Transfer dieser Gene in Elitezüchtungsmaterial und Hochleistungssorten ermöglichen. Durch die erfolgreiche Markerabsättigung konnten Marker entwickelt werden, die einen effizienten Transfer von Resistenzen aus Wildformen bzw. Landrassen in Elitezüchtungsmaterial ermöglichen und mit deren Hilfe die Übertragung nicht gewünschter Eigenschaften (Linkage drag) minimiert werden kann. Im Weiteren erlaubt die Entwicklung der „non gridded BAC-Bibliotheken“ zukünftig die Identifikation von Kandidatengenen für die BYDV und *P. hordei* Resistenz, die zuvor im Rahmen dieses Projektes hochauflösend kartiert wurden. Nach Identifikation entsprechender Gene kann basierend auf deren Sequenz ein Allele-Mining durchgeführt werden und somit die genetische Basis der Resistenz verbreitert werden.

5. Bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens in anderen Projekten

Zu Beginn des Projektes 2010 befanden sich für die Hochdurchsatzgenotypisierung notwendige Plattformen wie die Illumina iSelect 9K Plattform in der Entwicklung (Comadran et al. 2012). Andere Methoden, die im Verlauf des Projektes genutzt werden konnten, waren der „Genome zipper“ des

Gerstegenoms (Mayer et al., 2011), physikalische und sequenzbasierte Karten des Gerstegenoms (IBGS, 2012, Ariyadasa et al. 2013), eine auf den 9K iSelect Daten beruhende genetische Karte (Comadran et al., 2012), Exome capture für das Gerstegenoms (Mascher et al., 2013), RNAseq zur Identifikation von Expressionsunterschieden und SNPs (Kugler et al. 2013) und Verfahren zur kostengünstigen Erstellung von spezifischen BAC-Bibliotheken (Alfares et al. 2009; Gonthier et al. 2010,) sowie hochdichte Sequenzkarten (Mascher, et al. 2013a, 2013b). Im Rahmen des Projektes wurde versucht, die Ziele immer unter Berücksichtigung dieser neuesten Entwicklungen zu erreichen.

6 Erfolge und geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Die Veröffentlichung der Ergebnisse erfolgte in Form von Publikationen, Postern und Vorträgen, Alle Publikationen, Poster und Präsentationen werden im Folgenden chronologisch geordnet dargestellt (Projektbeteiligte des JKI sind fett gedruckt):

Publikationen

- König J, Steffenson B, Kopahnke D, Przulj N, Romeis T, **Ordon F** and **Perovic D** (2012) Genetic mapping of novel leaf rust (*Puccinia hordei* Otth) resistance in barley landrace MBR1012. *Mol breed*, 30:1253–1264.
- König J, **Perovic D**, Kopahnke D, **Ordon F** (2013) Development of an efficient method for assessing resistance to the net type of net blotch (*Pyrenophora teres f. teres*) in winter barley in field-trials and mapping of QTL for resistance. *Molecular Breeding*, 32: 641-650.
- Ordon F** and **Perovic D** (2013) Virus resistance in barley. *Translational Genomics for Crop Breeding, Volume I: Biotic Stresses, First Edition*. Edited by Rajeev K. Varshney and Roberto Tuberosa. © 2013 John Wiley & Sons, Inc. Published 2013 by John Wiley & Sons, Inc. 63-75.
- Perovic D**, J König, D Kopahnke, B J Steffenson, J Förster, B Kilian, J Plieske, G Durstewitz, **F Ordon** (2012) MBR1012 x Scarlett: A new DH population for genetic dissection of resistance to different pathogens in barley. *EWAC – The European Cereals Genetics Co-operative Newsletter*. 7-11. 11. 2011. Novi Sad, Serbia, pp: 82 – 86.
- Perovic D**, Doris Kopahnke, Brian J. Steffenson, Jutta Förster, Janine König, Benjamin Kilian, Jörg Plieske, Gregor Durstewitz, Viktor Korzun, Ilona Kraemer, Antje Habekuss, Paul Johnston, Richrad Pickering, **Ordon F** (2013) Genetic fine mapping of a novel leaf rust resistance gene and a Barley yellow dwarf virus tolerance (BYDV) introgressed from *Hordeum bulbosum* by the use of the 9K iSelect chip. In: Guoping Zhang, Chengdao Li, Xu Liu (Eds.) *Advance in Barley Sciences. Proceedings of 11th International Barley Genetics Symposium*. Springer and Zhejiang University Press, pp. 269-284.
- Perovic J, Silvar C, Koenig J, Stein N, **Perovic D**, and **Ordon F** (2013) A versatile fluorescence-based multiplexing assay for CAPS genotyping on capillary electrophoresis systems. *Mol Breed* 32:61-69.
- Silvar C, **Perovic D**, Casas AM, Igartua E, and **Ordon F** (2011a) Development of a cost-effective pyrosequencing approach for SNP genotyping in barley. *Plant Breed* 130: 394-397.
- Silvar C, **Perovic D**, Scholz U, Casas AM, Igartua E, and **Ordon F** (2012) Fine mapping and comparative genomics integration of two quantitative trait loci controlling resistance to powdery mildew in a Spanish barley landrace. *Theor Appl Genet* 124: 49-62.
- Silvar C, Kopahnke D, Flath K, Serfling A, **Perovic D**, Casas AM, Igartua E, and **Ordon F** (2013a) Resistance to powdery mildew in one Spanish barley landrace hardly resembles other previously identified wild barley resistances. *European J Plant Pathol* 136: 459-468.
- Silvar C, **Perovic D**, Nussbaumer T, Spannagl M, Usadel B, Casas A, Igartua E and **Ordon F** (2013b) Towards Positional Isolation of Three Quantitative Trait Loci Conferring Resistance to Powdery Mildew in Two Spanish Barley Landraces. *Plos One* 8: e67336.

Silvar C, **Perovic D**, Kopahnke D, Casas AM, Igartua E, **Ordon F** (2013c) Contribution of serbian and spanish landraces to disease resistance in barley. Proceedings of the international conference Newenviro. New approaches for assessment and improvement of environmental status in Balkan region: interactions between organisms and environment. Sremska Kamenica; Serbia, pp. 29-35.

Poster

Perovic D, C. Silvar, A.M. Casas, E. Igartua, D. Kopahnke, J. Förster and **F Ordon** (2011) ExpResBar: Genetic characterization of novel resistance genes and QTLs against *Puccinia hordei* and *Blumeria graminis* in Serbian and Spanish barley landraces. 11th Status Seminar in Berlin-Potsdam, 15-17.03.2011.

Ordon F, **Perovic D**, Cristina Silvar, Kerstin Hofmann, Günther Schweizer, Ana Casas, Ernesto Igartua, José Luis Molina-Cano, Mario Roccaro, Björn Usadel, Jose Pellicer, Merethe Bagge, Viktor Korzun, Jutta Förster (2011) Exploiting genetic variation for resistance to important pathogens in barley (ExpResBar). 11th Status Seminar in Berlin-Potsdam, 15-17.03.2011. Abstract, pp.41.

Perovic D, Koenig J, Kopahnke D, Steffenson BJ, Foerster J, Kilian B, **Ordon F** (2012) Use of high density 9K iSelect based map for dissection of resistance to different pathogens in barley, Breeding crops for sustainable agricultural production, 28.02. – 1.03.2012, Giessen, Germany, Poster 50

Perovic D, Ilona Kraemer, Antje Habekuss, Nicolai Haag, Paul Johnston, Sonja Kollers, Richard Pickering, Jörg Großer, Viktor Korzun, **Ordon F** (2013) Fine mapping of a novel BYDV-tolerance introgressed from *Hordeum bulbosum* on barley chromosome 2HL. PLANT 2030 Status Seminar March 6-8 2013, Potsdam Germany. Poster. pp. 92

Silvar C, **Perovic D**, Scholz U, Casas A, Igartua E, **Ordon F** (2012) Towards positional isolation of two novel quantitative trait loci controlling resistance to powdery mildew in a Spanish barley landrace, Proceedings of 11th International Barley Genetics Symposium, 15.-20.04.2012, Hangzhou, China, Seite: 46, Poster

Vorträge

Perovic D (2010) Kartengestützte Isolierung eines neuen *Puccinia hordei* Resistenzgens in Gerste, Treffen der AG Genomanalyse des Julius Kühn-Instituts (JKI), Dossenheim, 01.-02.07.2010. (invited talk)

Perovic D, J König, D Kopahnke, B J Steffenson, J Förster, B Kilian, J Plieske, G Durstewitz, **F Ordon** (2011) MBR1012 x Scarlett: A new DH population for genetic dissection of resistance to different pathogens in barley. EWAC – The European Cereals Genetics Co-operative Newsletter. 7-11. 11. 2011. Novi Sad, Serbia (invited talk)

Perovic D (2011) Nutzung hochdichter Gerstenkarten zur Nutzbarmachung von Resistenzen aus Landrassen der Gerste. Resistenztagung Fulda, 5-6.12 2011. Fulda, Germany <http://www.gpz-online.de/ag/07.html>

Perovic D, Doris Kopahnke, Brian J. Steffenson, Jutta Förster, Janine König, Benjamin Kilian, Jörg Plieske, Gregor Durstewitz, Viktor Korzun, Ilona Kraemer, Antje Habekuss, Paul Johnston, Richrad Pickering, **Frank Ordon** (2012) Genetic fine mapping of a novel leaf rust resistance gene and a Barley yellow dwarf virus tolerance (BYDV) introgressed from *Hordeum bulbosum* by the use of the 9K iSelect chip. In: G. Zhang et al. (Eds.) Proceedings of 11th Barley Genetic Symposium. Advance in Barley Sciences pp. 162-172, 15-20 April 2012, Hangzhou, China.

Perovic D (2012) The use of the 9K iSelect Illumina chip for characterization of three novel resistance genes in Barley, 24.04.2012, CNU University, Peking, China.

- Perovic D** (2012) Use of the 9K iSelect chip for fine characterization of novel barley resistance genes, 01.06.2012 Belgrad, Faculty of Agriculture, Zemun, Serbia.
- Perovic D** (2012) High density mapping of a novel leaf rust resistance gene and a barley yellow dwarf virus tolerance (BYDV) introgressed from *Hordeum bulbosum* by the use of the 9K iSelect chip. GPZ Tagung "Genomanalyse" Plant Stress and Genomics, 18.-20. 9.2012. Halle Saale, Germany.
- Silvar C, D Kopahnke, A Serfling, S Gonzalez-Perez, **Perovic D**, A Casas, E Igartua, **F Ordon** (2013) Broad resistance to powdery mildew in spanish barley landraces is likely governed by "intermediate-acting" genes. XIII Congresso Luso-Espanhol de Fisiologia Vegetal, Lisboa (Campo Grande), from the 24th to the 27th July, 2013
- Kilian B, J Keilwagen, **Perovic D**, H Özkan, S Babben, R Sharma, K Neumann, R K. Pasam, S Dhanagond, A Walther, CH Poskar, A Börner, H Knüpfper, M Ganal, **F Ordon**, S Friedel, A Graner (2013) Valorizing Genetic Diversity Stored in Genebanks for Cereal Improvement. 7ITS

Geplante Veröffentlichungen:

- Perovic D**, Koenig J, Kopahnke D, Kilian B, **Ordon F**: High density 9K iSelect based map of the population MBR1012 x Scarlett for dissection of resistance to different pathogens in barley.
- Perovic D**, Rauser R, Kopahnke D, Steffenson BJ, Foerster J, Kilian B, **Ordon F**: Fine mapping of novel barley leaf rust resistance gene originating from landrace MBR1012.
- Perovic D**, I Kraemer, A Habekuss, N Haag, S Kollers, R Pickering, V Korzun, **F Ordon**: Fine mapping of a novel BYDV-tolerance introgressed from *Hordeum bulbosum* on barley chromosome 2HL.

III. Zitierte Literatur

- Alfares W, Bouguennec A, Balfourier F, Gay G, Bergès H, Vautrin S, Sourdille P, Bernard M, Feuillet C. (2009) Fine Mapping and Marker Development for the Crossability Gene SKr on Chromosome 5BS of Hexaploid Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetics* 183: 469-481.
- Ariyadasa R, Mascher M, Nussbaumer T, Schulte D, Frenkel Z, Poursarebani N, Zhou R, Steuernagel B, Gundlach H, Taudien S, Felder M, Platzer M, Himmelbach A, Schmutzer T, Hedley PE, Muehlbauer GJ, Scholz U., Korol A., Mayer KFX, Waugh R, Langridge P, Graner A, Stein N (2014) A sequence-ready physical map of barley anchored genetically by two million SNPs. *Plant Physiology*. 164, 412-423.
- Close TJ, Bhat PR, Lonardi S, Wu Y, Rostoks N, Ramsay L (2009) Development and implementation of high-throughput SNP genotyping in barley. *BMC Genomics* 10:582.
- Comadran J, Kilian B, Russell J, Ramsay L, Stein N, Ganal M, Shaw P, Bayer M, Thomas W, Marshall D, Hedley P, Tondelli A, Pecchioni N, Francia E, Korzun V, Walther A, Waugh R (2012) Natural variation in a homolog of *Antirrhinum* CENTRORADIALIS contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley. *Nature Genet* 44:1388-1392.
- Friedt W, Ordon F, 2007. Molecular markers for gene pyramiding and disease resistance breeding in barley. In: R. V. Varshney and R. Tuberoso (eds), *Genomics-Assisted Crop Improvement: Vol. 2: Genomics Application in Crops*, 81-101. Springer, Netherlands.
- Gonthier L, Bellec A, Blassiau C, Prat E, Helmstetter N, Rambaud C, Huss B, Hendriks T, Bergès H, Quillet MC. (2010) Construction and characterization of two BAC libraries representing a deep-coverage of the genome of chicory (*Cichorium intybus* L., Asteraceae). *BMC Res Notes*. 11;3:225.
- Knight JC., Keating BJ, Rockett KA and Kwiatkowski DP (2003). In vivo characterization of regulatory polymorphisms by allele-specific quantification of RNA polymerase loading. *Nature Genet*. 33, 469-475.

- König J, Steffenson B, Kopahnke D, Przulj N, Romeis T, Ordon F and Perovic D (2012) Genetic mapping of novel leaf rust (*Puccinia hordei* Otth) resistance in barley landrace MBR1012. *Mol breed*, 30:1253–1264.
- König J, Perovic D, Kopahnke D, Ordon F (2013) Development of an efficient method for assessing resistance to the net type of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) in winter barley in field-trials and mapping of QTL for resistance. *Molecular Breeding*, 32: 641-650.
- Kugler K, Siegwart G, Nussbaumer T, Ametz C, Spannagl M, Steiner B, Lemmens M, Mayer KFX, Buerstmayr H, Schweiger W (2013) Quantitative trait loci-dependent analysis of a gene co-expression network associated with *Fusarium* head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Genomics*, 14 :728.
- Lüpken T, N Stein, D PEROVIC, A Habekuß, I Krämer, U Hähnel, B Steuernagel, U Scholz, R Zhou, R Ariyadasa, S Taudien, M Platzer, M Martis, K Mayer, W Friedt, F Ordon (2013) Genomics based high resolution mapping of the BaMMV/BaYMV resistance gene *rym11* of barley, *Theor. Appl. Genet.* 32: 27-37.
- Mascher M., Muehlbauer G.J., Rokhsar D.S., Chapman J., Schmutz J., Barry K., Munoz-Amatriain M., Close T.J., Wise R.P., Schulman A.H., Himmelbach A., Mayer K.F.X., Scholz U., Poland J.A., Stein N., Waugh R. (2013a) Anchoring and ordering NGS contig assemblies by population sequencing (POPSEQ). *Plant J.* 76 (2013) 718-727.
- Marcel, T. C., R. K. Varshney, M. Barbieri, H. Jafary, M. J. D. de Kock, A. Graner, and R. E. Niks, 2007: A high-density consensus map of barley to compare the distribution of QTLs for partial resistance to *Puccinia hordei* and of defence gene homologues. *Theor Appl Genet* 114, 487–500.
- Mascher M., Wu S., Amand P.S., Stein N., Poland J. (2013b) Application of genotyping-by-sequencing on semiconductor sequencing platforms: a comparison of genetic and reference-based marker ordering in barley. *PLoS One* 8 (2013) e76925.
- Mayer KFX, Martis M, Hedley PE, Kimková H, Liu H, Morris JA, Steuernagel B, Taudien S, Roessner S, Gundlach H, Kubaláková M, Suchánková P, Murat F, Felder M, Nussbaumer T, Graner A, Salse J, Endo T, Sakai H, Tanaka T, Itoh T, Sato K, Platzer M, Matsumoto T, Scholz U, Doležel J, Waugh R, Stein N (2011) Unlocking the barley genome by chromosomal and comparative genomics. *Plant Cell* 23:1249-1263.
- Niks RE, Habekuss A, Bekele B, Ordon F (2004) A novel major gene on chromosome 6H for resistance of barley against the Barley yellow dwarf virus. *Theor Appl Genet* 109:1536–1543
- Ordon F, Habekuss A, Kastirr U, Rabenstein F, Kühne T (2009) Virus resistance in cereals: Sources of resistance, genetics and breeding. *J. Phytopathol* 157:535-545.
- Ordon F and Perovic D (2013) Virus resistance in barley. *Translational Genomics for Crop Breeding, Volume I: Biotic Stresses, First Edition*. Edited by Rajeev K. Varshney and Roberto Tuberosa. C 2013 John Wiley & Sons, Inc. Published 2013 by John Wiley & Sons, Inc. 63-75.
- Pellio B, Streng S, Bauer E, Stein N, PEROVIC D, Schiemann A, Friedt W, Ordon F & Graner A (2005) High-resolution mapping of the *Rym4/5* locus conferring resistance to the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) in barley (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet.* 110: 283-293.
- Perovic D, N Przulj, M Milovanovic, S Prodanovic, J Perovic, D Kophanke, F Ordon and A Graner (2003): Characterisation of spring barley genetic resources in Yugoslavia. In *Proceedings of a symposium dedicated to the 100th birthday of Rudolf Mansfeld, Band 22*: 301-306.
- Perovic D, Doris Kopahnke, Brian J. Steffenson, Jutta Förster, Janine König, Benjamin Kilian, Jörg Plieske, Gregor Durstewitz, Viktor Korzun, Ilona Kraemer, Antje Habekuss, Paul Johnston, Richrad Pickering, Frank Ordon (2013) Genetic fine mapping of a novel leaf rust resistance gene and a Barley yellow dwarf virus tolerance (BYDV) introgressed from *Hordeum bulbosum* by the use of the 9K iSelect chip. In: Guoping Zhang, Chengdao Li, Xu Liu (Eds.) *Advance in*

- Barley Sciences. Proceedings of 11th International Barley Genetics Symposium. Springer and Zhejiang University Press, pp. 269-284.
- Sato K, Nankaku N, Takeda K (2009) A high-density transcript linkage map of barley derived from a single population. *Heredity* 103:110–117.
- Silvar C, Casas AM, Kopahnke D, Habekuß A, Schweizer G, Gracia MP, Lasa JM, Ciudad FJ, Molina-Cano JL, Igartua E, and Ordon F (2010a) Screening the Spanish Barley Core Collection for disease resistance. *Plant Breed* 129: 45-52.
- Silvar C, Dhif H, Igartua E, Kopahnke D, Gracia MP, Lasa JM, Ordon F, and Casas AM (2010b) Identification of quantitative trait loci for resistance to powdery mildew in a Spanish barley landrace. *Mol Breed* 25:581-592.
- Silvar C, Perovic D, Casas AM, Igartua E, and Ordon F (2011a) Development of a cost-effective pyrosequencing approach for SNP genotyping in barley. *Plant Breed* 130: 394-397.
- Silvar C, Flath K, Kopahnke D, Gracia MP, Lasa JM, Casas AM, Igartua E, and Ordon F (2011b) Analysis of powdery mildew resistance in the Spanish Barley Core Collection. *Plant Breed* 130:195-202.
- Silvar C, Casas AM, Igartua E, Ponce-Molina LJ, Gracia MP, Schweizer G, Herz M, Waugh R, Kopahnke D, and Ordon F (2011c) Resistance to powdery mildew in Spanish barley landraces is controlled by different sets of Quantitative Trait Loci. *Theor Appl Genet* 123: 1019-1028.
- Silvar C, Perovic D, Scholz U, Casas AM, Igartua E, and Ordon F (2012) Fine mapping and comparative genomics integration of two quantitative trait loci controlling resistance to powdery mildew in a Spanish barley landrace. *Theor Appl Genet* 124: 49-62.
- Silvar C, Perovic D, Nussbaumer T, Spannagl M, Usadel B, Casas A, Igartua E and Ordon F (2013b) Towards Positional Isolation of Three Quantitative Trait Loci Conferring Resistance to Powdery Mildew in Two Spanish Barley Landraces. *Plos One* 8: e67336.
- Silvar C, Kopahnke D, Flath K, Serfling A, Perovic D, Casas AM, Igartua E, and Ordon F (2013a) Resistance to powdery mildew in one Spanish barley landrace hardly resembles other previously identified wild barley resistances. *European J Plant Pathol* 136: 459-468.
- Stein N, Prasad M, Scholz U, Thiel T, Zhang H, Wolf M, Kota R, Varshney RK, Perovic D, Graner A (2007) A 1000 loci transcript map of the barley Genome-new anchoring points for integrative grass genomics. *Theor Appl Genet* 114:823-839.
- Tekauz A (1990) Characterisation and distribution of pathogenic variation in *Pyrenophora teres* f. *teres* and *Pyrenophora teres* f. *maculata* from western Canadian. *Can J Plant Pathology* 12:141-148.
- The International Barley Genome Sequencing Consortium (2012) A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature* 491: 711–716.
- Varshney RK, Marcel TC, Ramsay L, Russell J, Röder MS, Stein N, Waugh R, Langridge P, Niks RE, Graner A (2007) A high density barley microsatellite consensus map with 775 SSR loci. *Theor Appl Genet* 114:1091-1103.