

Janine König

Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz

Kartierung und züchterische
Nutzung neuer Resistenzquellen
gegen die pilzlichen
Schaderreger

Pyrenophora teres f. teres
und *Puccinia hordei* der Gerste
(*Hordeum vulgare*)



Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut

Kontakt/Contact:
Janine König
Julius Kühn-Institut
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Erwin-Baur-Straße 27
06484 Quedlinburg

Die Schriftenreihe „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ veröffentlicht Doktorarbeiten, die in enger Zusammenarbeit mit Universitäten an Instituten des Julius Kühn-Instituts entstanden sind

The publication series „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ publishes doctoral dissertations originating from research doctorates completed at the Julius Kühn-Institut (JKI) either in close collaboration with universities or as an outstanding independent work in the JKI research fields.

Der Vertrieb dieser Monographien erfolgt über den Buchhandel (Nachweis im Verzeichnis lieferbarer Bücher - VLB) und OPEN ACCESS im Internetangebot www.jki.bund.de Bereich Veröffentlichungen.

The monographs are distributed through the book trade (listed in German Books in Print - VLB) and OPEN ACCESS through the JKI website www.jki.bund.de (see Publications)

Wir unterstützen den offenen Zugang zu wissenschaftlichem Wissen.
Die Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut erscheinen daher OPEN ACCESS.
Alle Ausgaben stehen kostenfrei im Internet zur Verfügung:
<http://www.jki.bund.de> Bereich Veröffentlichungen

We advocate open access to scientific knowledge. Dissertations from the Julius Kühn-Institut are therefore published open access. All issues are available free of charge under <http://www.jki.bund.de> (see Publications).

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation
In der Deutschen Nationalbibliografie: detaillierte bibliografische
Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek (German National Library)

The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at <http://dnb.dnb.de>.

ISBN 978-3-95547-020-3
DOI 10.5073/dissjki.2015.005

Herausgeber / Editor

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg, Deutschland
Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Quedlinburg, Germany

© Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen sowie der genannten Universität, 2015.
Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersendung, des Nachdrucks, des Vortrages, der Entnahme von Abbildungen, der Funksendung, der Wiedergabe auf fotomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten.

Kartierung und züchterische Nutzung neuer Resistenzquellen gegen die
pilzlichen Schaderreger *Pyrenophora teres f. teres* und *Puccinia hordei*
der Gerste (*Hordeum vulgare*)

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

eingereicht am
Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Dipl. – Biol. Janine König

aus Berlin

Quedlinburg 2015

Diese Arbeit entstand im Zeitraum vom Februar 2009 bis Januar 2015 am Julius Kühn-Institut (JKI), Quedlinburg und der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Prof. Prof. Dr. Frank Ordon und Prof. Dr. Tina Romeis

im

Julius Kühn-Institut (JKI)

Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz

Erwin-Baur-Str. 27

06484 Quedlinburg

1. Gutachter: Prof. Prof. Dr. Frank Ordon
2. Gutachter: Prof. Dr. Tina Romeis

Tag der Disputation: 13.04.2015

„Das Einmalige an einer Freundschaft ist weder die Hand, die sich einem entgegenstreckt, noch das freundliche Lächeln oder die angenehme Gesellschaft. Das Einmalige an ihr ist die geistige Inspiration, die man erhält, wenn man merkt, dass jemand an einen glaubt.“

Ralph Waldo Emerson

*Ich widme diese Arbeit
all denen, die an mich geglaubt haben*

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung

1.1 Gerste (*Hordeum vulgare* L.)

1.1.2 Wirtschaftliche Bedeutung der Gerste

1.2 *Pyrenophora teres* f. *teres*

1.2.1 Wirtschaftliche Bedeutung des Erregers

1.2.2 Lebenszyklus

1.2.3 Infektion

1.2.4 Bekämpfungsmaßnahmen

1.2.5 Resistenzen

1.3 *Puccinia hordei* (Othh)

1.3.1 Wirtschaftliche Bedeutung des Erregers

1.3.2 Lebenszyklus

1.3.3 Infektionskreislauf

1.3.4 Bekämpfungsmaßnahmen

1.3.5 Resistenzen

1.4 Kartierungspopulationen

1.5 Molekulare Markertechniken

1.5.1 Bulked Segregant Analyse (BSA) und Erstellung genetischer Karten

1.5.2 Marker gestützte Selektion [Marker assisted selection (MAS)]

1.5.3 Analyse quantitative vererbter Merkmale [Quantitative Trait Loci (QTL)]

1.6 Zielsetzung

2. Veröffentlichungen

- (a) König J, Kopahnke D, Steffenson BJ, Przulj N, Romeis T, Roeder MS, Ordon F, Perovic D (2012) Genetic mapping of a leaf rust resistance gene in former Yugoslavian barley landrace MBR1012. *Molecular Breeding* 30:1253-1264. doi:10.1007/s11032-012-9712-0
- (b) 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 and mapping of QTL for resistance. *Molecular Breeding* 32:641-650. doi: 10.1007/s11032-013-9897-x
- (c) König J, Perovic D, Kopahnke D, Ordon F (2014) Mapping seedling resistance to net form of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) in barley using detached leaf assay. *Plant Breeding* 133:356-365. doi:10.1111/pdr.12147

3. Diskussion

3.1 Eignung verschiedener Phänotypisierungsmethoden zur Resistenzfeststellung

3.2 Vergleich der in unterschiedlichen Entwicklungsstadien detektierten Resistenzen

3.3 Stand und Perspektiven der Nutzung von Resistenzen in der Sortenentwicklung

3.4 Anwendung der markergestützten Resistenzzüchtung

3.5 Entwicklungen in der Markertechnologie und deren Nutzung

4. Literatur

5. Zusammenfassung

6. Abstract

7. Tabellenverzeichnis

8. Abbildungsverzeichnis

9. Lebenslauf

10. Veröffentlichungsliste

Diese kumulative Dissertation basiert auf folgenden Artikeln in wissenschaftlichen Fachzeitschriften:

- König J, Kopahnke D, Steffenson BJ, Przulj N, Romeis T, Roeder MS, Ordon F, Perovic D (2012) Genetic mapping of a leaf rust resistance gene in former Yugoslavian barley landrace MBR1012. *Molecular Breeding* 30:1253-1264. doi:10.1007/s11032-012-9712-0
- 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 and mapping of QTL for resistance. *Molecular Breeding* 32:641-650. doi: 10.1007/s11032-013-9897-x
- König J, Perovic D, Kopahnke D, Ordon F (2014) Mapping seedling resistance to net form of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) in barley using detached leaf assay. *Plant Breeding* 133:356-365. doi:10.1111/pdr.12147

1. Einleitung

Pyrenophora teres f. *teres* und *Puccinia hordei*, die Erreger der Netzfleckenkrankheit und des Zwergrostes, sind bedeutende Pathogene der Gerste (Liu et al. 2011, Karaoglu und Park 2014). Beide Schaderreger können epidemisch im Gerstenanbau auftreten und Ertragsverluste von bis zu 30% verursachen (Das et al. 2007, Murray und Brennan 2010). Zusätzlich kommt es zur Minderung der Kornqualität (Grewal et al. 2008, Mathre 1997), wodurch die wirtschaftlichen Verluste noch verstärkt werden. Die Nutzung genetisch bedingter Resistenzen ist die kostengünstigste, sowie verbraucher- und umweltfreundlichste Methode die Ernteerträge zu sichern (Silvar et al. 2013). Da die Anzahl neuer Resistenzgene in den heutigen Gerstensorten jedoch begrenzt ist, werden für die Züchtung neuer, resistenter Sorten häufig Landsorten und Wildformen genutzt (Johnsten et al. 2013). Eine verlässliche Bonitur des Befalls der genannten pilzlichen Schaderreger ist essentiell, um entsprechende Resistenzen erfassen zu können. Diese ist jedoch häufig Zeit und arbeitsaufwendig und zudem subjektiv (Rousseau et al. 2013). Eine weitere Schwierigkeit entsteht durch den Einfluss weiterer Faktoren (z.B.: Temperatur, Niederschlag, Luftfeuchtigkeit usw.), die den Infektionserfolg bedingen und von Jahr zu Jahr variieren (Odilbekov et al. 2014). Besonders bei Versuchen mit dem Netzfleckenreger kommt es häufig zu Infektionen mit weiteren Pathogenen z.B. *Rynchosporium commune* (Xue et al. 1994), welche die Erfassung des Befalls mit *P. teres* f. *teres* erschweren. Um den Befall mit diesen Pathogenen zu verhindern und optimale klimatische Bedingungen für eine Infektion zu schaffen, wird die Anfälligkeit gegen Zwergrost und Netzflecken häufig standardisiert im Gewächshaus getestet (Arabi et al. 1990), doch auch hier gibt es jahreszeitliche Schwankungen des Infektionserfolgs. Durch die Entwicklung molekularer Marker, die mit dem Zielgen gekoppelt sind, können die gewünschten Eigenschaften in einem frühen Entwicklungsstadium der Pflanze sicher nachgewiesen werden (Marker gestützte Selektion) und die aufwendigen phänotypischen Tests können auf ein Minimum reduziert werden (Miedaner and Korzun, 2012). Die Suche nach neuen Resistenzquellen ist für die Gerstenzüchtung von besonderem Interesse, da der Infektionsdruck aufgrund der großen Anbaufläche sehr hoch ist und die derzeit genutzten Resistenzen in den Sorten i. d. R. nicht dauerhaft sind. Ziel der Arbeit war es daher für neue Resistenzen molekulare Marker zu entwickeln, um damit die Grundlagen zu schaffen, die Resistenz gegen Zwergrost und Netzflecken beschleunigt auf eine breitere genetische Basis zu stellen.

1.1 Die Gerste (*Hordeum vulgare* L.)

Die Gerste (*Hordeum vulgare*) gehört zu der Familie der *Poaceae*, die in 13 Unterfamilien gegliedert ist. Dort wird die Gattung *Hordeum* gemeinsam mit anderen Gattungen wie *Triticum*, *Secale* und *Avena* der Unterfamilie der *Pooaideae* zugeordnet (Bresinsky et al. 2008). Sie hat von allen Getreidearten das größte Anbaugebiet, welches von den Hochebenen der Anden und des Himalaya zu den Trockengebieten Afrikas, des mittleren Ostens und Chinas bis an den Polarkreis reicht (Horsley und Hochhalter 2004). Die Gerste ist somit großflächig an verschiedene Umweltbedingungen angepasst und besitzt eine höhere abiotische Stresstoleranz als der Weizen (Nevo et al. 2012). Der Vorläufer unserer heutigen Kulturgerste *Hordeum vulgare* L. ist die Wildform *H. spontaneum* (Badr et al. 2000). Die beiden Arten sind jedoch so eng miteinander verwandt, dass sie heute als eine Art betrachtet werden (Hancock 2012). Die domestizierte Form wird als *Hordeum vulgare* subsp. *vulgare* und die Wildform als *Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum* bezeichnet.

Das Ursprungsgebiet der Gerste ist der fruchtbare Halbmond, d.h. das Gebiet von Israel und Jordanien bis in den Süden der Türkei, den Irak, Kurdistan und den südwestlichen Iran (Harlan und Zohary 1966, Nevo 1992). Mit Hilfe einer genomweiten Analyse von Single nucleotide polymorphisms (SNPs) an 448 Landrassen und Wildform-Akzessionen der Gerste gelang es Russell et al. (2011) das Entstehungsgebiet auf Jordanien sowie Südsyrien mit Teilen von Nordsyrien einzugrenzen. Die ältesten Nachweise der Gerste in menschlichen Siedlungen und somit der Beginn der Domestikation stammen aus der Zeit von 13.000 bis 8.000 v. Chr. (Hancock 2012). Zwei Merkmale erwiesen sich als wichtige Selektionskriterien in dieser Zeit, der Verlust der Spindelbrüchigkeit, um die Ernteverluste gering zu halten und die Ertragsteigerung durch sechs- anstelle von zweizeiligen Ähren, welche besonders während der Domestikationsphase im mittleren Osten erfolgt ist (Pourkheirandush und Komatsuda 2007). Die wichtigsten Gene zur Verhinderung der Spindelbrüchigkeit sind die Gene *btr1* und *btr2* (Takahashi und Yamamoto 1949, Takahashi 1955).

Bereits seit der Jungsteinzeit (5.000 v. Chr.) (Badr et al. 2000) wird auch in Mitteleuropa Gerste angebaut. Durch die kontinuierliche Produktion haltbarer Nahrungsmittel wurde es dem Menschen schließlich möglich sesshaft zu werden und städtische Hochkulturen zu gründen (Hancock, 2012).

Die Kulturgerste ist diploid ($2n=2x=14$), doch sind in der Gattung *Hordeum* auch tetraploide ($2n=4x=28$), z.B. *H. tetraploidum* (Covas) und hexaploide ($2n=6x=42$), z.B. *H. parodii* (Covas), Arten bekannt (von Bothmer et al. 2003). Anhand ihrer unterschiedlich ausgeprägten Ähren wird die Gerste in zwei- und mehrzeilige Formen unterschieden. Bei der zweizeiligen Gerste sind die lateralen Ährchen steril, wohingegen bei der sechszeiligen Gerste alle Ährchen fertil sind (Komatsuda et al. 2007). Die Änderung der Zeiligkeit wird durch eine einzelne Mutation am *Vrs1*-Locus bedingt, wobei das Wildtyp-Allel *Vrs1* die Zweizeiligkeit in der Gerste bedingt und einen Transkriptionsfaktor codiert, der eine Homeodomäne mit Leucine-Zipper-Motiv beinhaltet (Komatsuda et al. 2007). In phylogenetischen Analysen konnten Komatsuda et al. (2007) zusätzlich zeigen, dass der sechszeilige Phänotyp mehrfach unabhängig voneinander entstanden ist. Weiterhin unterscheidet man die Gerste nach ihrem Vernalisationsbedürfnis in Winter- und Sommergerste (von Bothmer et al. 2003). Die Wintergerste ist ertragreicher und wurde in Deutschland 2013 mit 1.212.000 ha dreimal so häufig angebaut wie Sommergerste (Burghardt et al. 2014). Die Kulturgerste ist darüber hinaus durch ihre sehr diversen Phänotypen, ihr diploides Genom, der leichten Kreuz- und Kultivierbarkeit besonders für genetische Studien geeignet (Graner et al. 2011). Die Kulturgerste besitzt sieben Chromosomenpaare ($2n=2x=14$), die ursprünglich mit arabischen Ziffern von 1-7 bezeichnet wurden (Nilan 1964, Ramage 1985). Aufgrund der Homologie zwischen den Chromosomen der *Triticeae* wurden diese umbenannt (Linde-Laursen 1997). Die Gerstenchromosomen werden nun als 1 (7H), 2 (2H), 3 (3H), 4 (4H), 5 (1H), 6 (6H) und 7 (5H) bezeichnet

1.1.2 Wirtschaftliche Bedeutung der Gerste

Die Gerste ist nach Weizen die bedeutendste Getreideart in Mitteleuropa. Weltweit wurden 2013 144.755.038t Gerste produziert, davon 85.837.672t in Europa und 10.343.600t in Deutschland (www.fao.org). Verwendung findet die Gerste in Deutschland vor allem als Futtermittel, wie die Aufschlüsselung der Ernte des Anbaujahres 2012/13 zeigt. Der größte Teil (45,2%) wurde als Futtermittel, 4% industriell, 6,3% zur Energiegewinnung, 3,3% als Saatgut und inklusive Braugerste 37,7% des Gesamtertrages als Nahrungsmitteln/Genussmitteln genutzt. 3,5% des Gerstenertrages gingen verloren (Burghardt et al. 2014). Trotz des nur geringen Anteils der Gerste in der menschlichen Ernährung, wurde sie besonders in den letzten Jahren als gesunder Stärkelieferant wiederentdeckt.

Die Gerste ist besonders reich an Ballaststoffen und besitzt einen hohen β -Glucan-Gehalt, welche das Risiko an Diabetes Typ II, Herz-Kreislauf-Krankheiten und an einem kolorektalem Karzinom zu erkranken, verringern (Collins et al. 2010). Die European Food Safety Authority (ESFA) bestätigte 2011, das drei Gramm des in der Gerste enthaltenen β -Glucan am Tag ausreichen, um den Cholesteringehalt im Blut zu senken und somit Herz-Kreislaufferkrankungen vorzubeugen. Das Gerstenkorn besteht aus ca. 80% Kohlenhydraten, 2% Fett, 10-12% Protein sowie Vitaminen und Mineralien (MacGregor und Fincher 1993). Die größte wirtschaftliche Bedeutung hat die Gerste jedoch nach wie vor in der Futtermittelindustrie bzw. der Brauerei (Baumann et al. 2012).

1.2 *Pyrenophora teres f. teres*

Der Pilz *Pyrenophora teres f. teres* Drechs. (Nebenfruchtform: *Drechslera teres* (Sacc.) Shoemaker) gehört zum Stamm der *Ascomycotina*, in die Klasse der *Dothideomyceten* und dort in die Familie der *Pleosporaceae* (Liu et al. 2011). Er ist der Erreger der Netzfleckenkrankheit der Gerste und bildet charakteristische Symptome an den Blättern aus: Selten kommt er auf anderen Getreidearten wie z.B. Weizen vor (Tóth et al. 2008). Die Symptome bestehen aus einem nekrotischen Netzmuster auf den Blättern, das von gelben Chlorosen unterschiedlicher Ausdehnung umgeben ist (Netztyp) (Abb. 1). Bei einem starken Befall können die Symptome auch an Blattscheiden, Stängeln und Körnern auftreten.



Abb. 1: Symptome von *Pyrenophora teres f. teres* an einer anfälligen Gerstenpflanze

1.2.1 Wirtschaftliche Bedeutung des Erregers

Netzflecken treten weltweit in allen Gerste-Anbaugebieten auf. Sie verursachen Ertragsverluste zwischen 10 - 40% (Ma et al. 2004). In Exaktversuchen konnte gezeigt werden, dass der durch Netzflecken verursachte Ertragsverlust zwischen 30 - 42% liegt, sobald die obersten drei Blätter befallen sind (Jebbouj und Yousfi 2009). Der Ertragsverlust ist sowohl durch die Reduktion des 1000 Korngewichts, als auch durch eine geringere Anzahl Körner pro Ähre bedingt (Deimel und Hoffman 1991). Wirtschaftlich bedeutender sind die durch die Krankheit verursachten Qualitätsverluste, durch die Braugerste oftmals nur noch als Futtergerste verwendet werden kann (Grewal et al. 2012). Durch seine weltweite Verbreitung und die unterschiedlichen Virulenzen der verschiedenen Pathotypen hat dieser Erreger das Potenzial unter günstigen Umweltbedingungen einen großflächigen epidemischen Befall zu verursachen.

1.2.2 Lebenszyklus

Der Pilz *P. teres* f. *teres* ist ein samenbürtiger Erreger, der auf Ausfallgetreide, oder den Strohresten der letzten Vegetationsperiode verbleibt (Mathre 1997). Er zählt zu den nekrotrophen Pilzen, so dass zunächst die vom Pilz befallenen Zellen absterben und bei starkem Befall letztendlich die ganze Pflanze (Liu 2011). Der Lebenszyklus dieses Pilzes ist in Abbildung 2 schematisch dargestellt. Auf dem Substrat bildet der Pilz Pseudothecien, die als schwarze Punkte auf den Strohresten zu erkennen sind. Im Frühjahr bilden sich Ascosporen, die aktiv ausgeschleudert und vom Wind verbreitet werden (van den Berg und Rossnagel 1990). Sie bilden das Inoculum für die Primärinfektion der Gerstensämlinge (McLean et al. 2009) in der nächsten Vegetationsperiode. Nach der erfolgreichen Infektion bildet der Pilz eine große Anzahl von Konidien, welche die sekundäre Quelle für die Netzfleckeninfektion und Verbreitung darstellen. Sie werden über die gesamte Vegetationsperiode gebildet und können sowohl mit dem Wind über weite Distanzen, als auch lokal durch Wassertropfen verbreitet werden (Jordan 1981). Durch die auf den unterschiedlichen Blattetagen ausgeprägten netzartigen Symptome und die dadurch bedingte Reduktion der Assimilationsfläche entstehen die genannten Ertragsverluste. Bei hoch anfälligen Sorten kann der Befall sogar zum Absterben der gesamten Pflanze und somit zum Totalausfall führen (Mathre 1997).

Die Verbreitung, Keimung und erfolgreiche Infektion der Konidien hängt hauptsächlich von der Temperatur (Optimum zwischen 20° - 25°C) und der Blattfeuchte ab (van den Berg und Rossnagel 1990; Jordan 1981). Am Ende der Vegetationsperiode verbleibt der Erreger auf den abgestorbenen Blättern und bildet Pseudothecien als Überwinterungsform (Mathre 1997).

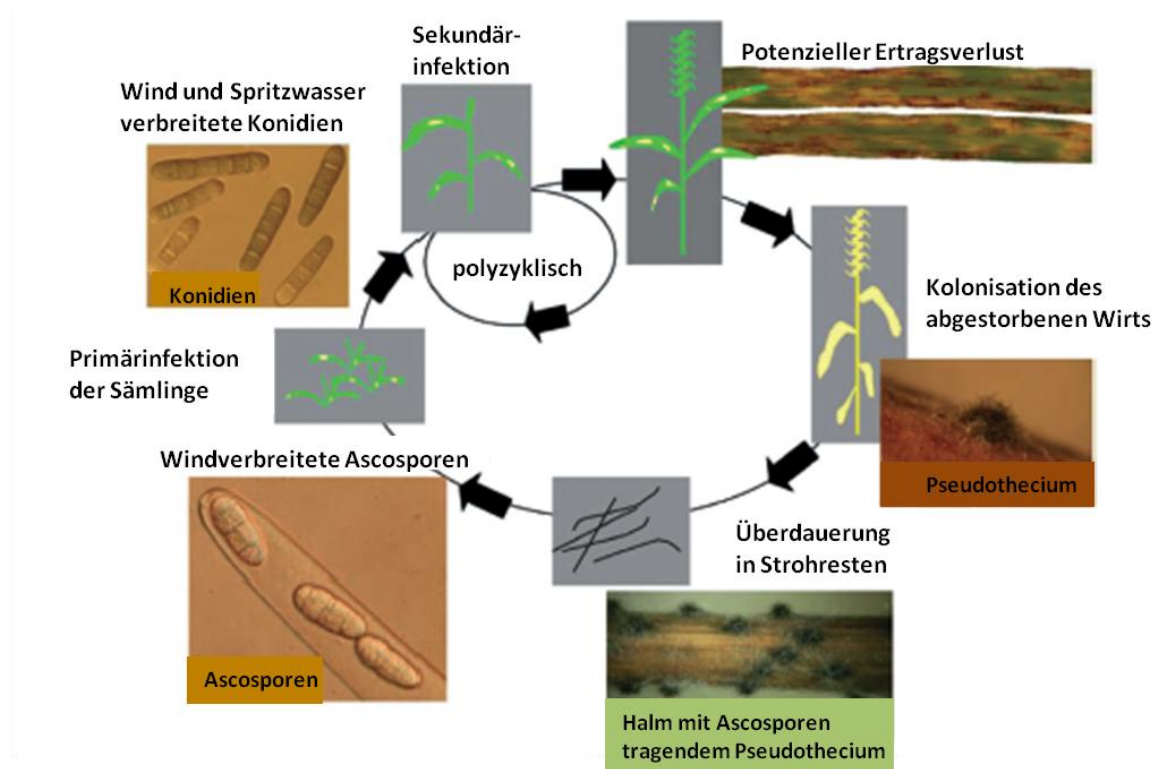


Abb. 2: Der Lebenszyklus von *Pyrenophora teres f. teres* verändert nach Liu et al. (2011)

1.2.3 Infektion

Die Infektion beginnt mit dem Auskeimen einer Ascospore bzw. Konidie auf einem Gerstenblatt. Beide Sporenarten sind in der Lage innerhalb weniger Stunden auszukeimen, sobald angemessene Temperaturen herrschen und ein Wasserfilm auf der Blattoberfläche vorhanden ist (van den Berg und Rossnagel 1990). Dabei bildet eine der terminalen Zellen einen Keimschlauch aus, der sich zu einem keulenförmigen Appressorium entwickelt. Es konnte gezeigt werden, dass die Penetration des Appressoriums meist direkt durch die Kutikula in die Epidermiszellen erfolgt (Jørgensen et al. 1998), oder gelegentlich auch über eine Spaltöffnung. Das Eindringen des Pilzes erfolgt sowohl durch enzymatische Hydrolyse der Kutikula und der Epidermiszellen, als auch durch mechanischen Druck des Appressoriums (van Caesele und Grumbles, 1979).

Die Hyphen wachsen interzellulär. Während des Infektionsprozesses kommt es zur Ausbildung der typischen netzartigen Nekrosen, die zumeist von Chlorosen umgeben sind. Die Symptome werden hervorgerufen durch das Toxin A [L, L-N-(2-amino-2-carboxyethyl)], das dunkle chlorotische Symptome mit kleinen Nekrosen verursacht, das Toxin B (*Anhydroaspergillomarasin A*), das nur eine schwache Wirkung auf die Wirtspflanze aufweist und das Toxin C (*Aspergillomarasin A*), welches verschiedene Nekrosen und hell gelbe Chlorosen hervorruft (Weiergang et al. 2002). Dadurch wird die Assimilationsfläche der Blätter zerstört, wodurch es zu Ertragsverlusten und unter starkem Befallsdruck zum Absterben der Pflanze kommt.

1.2.4 Bekämpfungsmaßnahmen

Das epidemische Auftreten des Netzfleckererregers kann mit der Applikation von Fungiziden, einer wendenden Bodenbearbeitung und mit dem Anbau von resistenten Sorten verhindert werden (Liu et al. 2011). Zur chemischen Bekämpfung der Netzfleckenkrankheit sind Fungizide als Beize auf Samenkörnern oder als flüssige Verbindung zur Applikation auf den Blättern verfügbar. In den unterschiedlichen Fungiziden werden oft Strobilurine eingesetzt, diese Wirkstoffgruppe wirkt bei Pilzen auf die Atmungskette, so dass ihr Wachstum unterbunden wird (Bresinsky 2008). Bereits 2005 konnte in Frankreich und Großbritannien jedoch beobachtet werden, dass Netzfleckenisolate mit der Mutation F129L resistent gegen Strobilurine sind (Sierotzki et al. 2007) und 2012 konnte diese Mutante auch vermehrt in Deutschland nachgewiesen werden (Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen 2012).

Zur Eindämmung des Ausgangsinokulum sollte eine möglichst großräumige Bereinigung der Aussaatfläche von infizierten Korn- und Strohresten erfolgen (Liu et al. 2011). Dies führt jedoch meist nicht zur Verhinderung einer Neuinfektion, sondern wirkt nur befallsmindernd. Die Verfügbarkeit resistenter Sorten mit einem breiten Resistenzspektrum gegen die Netzfleckenkrankheit würde den Fungizideinsatz zugunsten einer nachhaltigen, ökologisch verträglichen Landwirtschaft minimieren. Die züchterische Bearbeitung dieses Wirt-Pathogen-Systems wird jedoch durch die hohe physiologische Variabilität des Erregers erschwert (Liu et al. 2011). Für die Züchtung dauerhaft resistenter Sorten bieten sich Resistenzen mit einem breiten Wirkungsspektrum an, d.h. quantitative vererbte horizontale Resistenzen (Miedaner und Korzun 2012).

Quantitative Resistenzen werden durch mehrere Gene mit unterschiedlich starken Effekten vermittelt, meist sind sie rassenunspezifisch und beruhen auf keiner direkten genetischen Interaktion mit dem Pathogen. Quantitative Resistenz wird auch als horizontale Resistenz bezeichnet (Van der Plank 1968).

1.2.5 Resistenzen

Die Resistenz gegenüber *P. teres* führte Schaller (1955) in der Gerstensorte 'Tifang' auf ein einzelnes unvollständig dominantes Gen auf Chromosom 3H zurück und bezeichnete dieses mit "Rpt 1a". Graner et al. (1996) lokalisierten im Jungpflanzenstadium ein weiteres Resistenzgen "*Pt, α* " gegen Netzflecken auf Chromosom 3H. Die hohe Variabilität des Erregers und dominant vererbte Resistenzen machen eine Gen-für-Gen-Interaktion nach Flor (1971) in diesem Fall wahrscheinlich. In neueren Untersuchungen wurden in Sämlingen vermehrt quantitative Resistenzen (Quantitative trait loci (QTL)) detektiert (Tab. 1).

Tab. 1: In Sämlingen detektierte QTL für Resistenz gegen *P. teres*

Name	Lokation	Zitation
QRpts2S	2HS	Raman et al. 2003
QRpts3L	3HL	Raman et al. 2003
QRpts2L	2HL	Raman et al. 2003
QRpts3La	3HL	Raman et al. 2003
QRpts3Lb	3HL	Raman et al. 2003
QRpts4	4H	Raman et al. 2003
QRpts6L	6HL	Raman et al. 2003
Rpt-4H-5-7	4H	Yun et al. 2005
Rpt-3H-4	3H	Yun et al. 2005
Rpt-1H-5-6	1H	Yun et al. 2005
Rpt5	6H	Manninen et al. 2006
QRpt6	6H	Grewal et al. 2008
QRtts2	2H	Grewal et al. 2008
QRtts4	4H	Grewal et al. 2008
rpt.r	6H	Abu Qamar et al. 2008
rpt.k	6H	Abu Qamar et al. 2008
QRpt 1.1	1H	Grewal et al. 2012
QRpt 1.2	1H	Grewal et al. 2012

Verschiedene Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass die Netzfleckenresistenz bei adulten Pflanzen und unter Feldbedingungen fast ausschließlich quantitative vererbt wird (Douglas und Gordon 1985; Arabi et al. 1990; Steffenson et al. 1996; Robinson und Jalli 1997) (Tab. 2).

Tab. 2: In adulten Pflanzen detektierte QTL für Resistenz gegen *P. teres*

Name	Lokation	Zitation
QNFNBAPR.AI/S-2H	2HC	Lehmensiek et al. 2007
QNFNBAPR.AI/S-3H	3HL	Lehmensiek et al. 2007
QNFNBAPR.AI/S-4H.b	4HL	Lehmensiek et al. 2007
QNFNBAPR.AI/S-7Ha	7HS	Lehmensiek et al. 2007
QNFNBAPR.AI/S-4H	4HL	Lehmensiek et al. 2007
QNFNBAPR.AI/S-5H	5HS	Lehmensiek et al. 2007
QNFNBAPR.AI/S-1H	1HS	Lehmensiek et al. 2007
QNFNBAPR.AI/S-7H	7HS	Lehmensiek et al. 2007
QRtts5	5H	Grewal et al. 2008
QRpt6	6H	Grewal et al. 2008
QRptts2	2H	Grewal et al. 2008
QRtta3	3H	Grewal et al. 2008
QRtta5	5H	Grewal et al. 2008
QRpts4	4H	Grewal et al. 2008
QRpt7	7H	Grewal et al. 2008
QRptta2	2HL	Grewal et al. 2012
QRptta5.1	5H	Grewal et al. 2012
QRptta5.2	5H	Grewal et al. 2012

Bereits 1996 stellten Steffenson et al. (1996) fest, dass sich die in Sämlingen bzw. adulten Pflanzen detektierten Resistenzen voneinander unterscheiden. Die in neueren Studien lokalisierten Resistenzen (siehe oben) stützen zum großen Teil diese Aussage. Andererseits konnten Grewal et al. (2008) zeigen, dass der Resistenzlocus auf Chromosom 6H in beiden Entwicklungsstadien wirksam ist. Durch die große Anzahl der unterschiedlichen Virulenzen des Netzfleckererregers ist es nicht verwunderlich, dass ihnen auch eine Vielzahl von Resistenzen gegenübersteht. Wichtig für die erfolgreiche Resistenzzüchtung ist die genaue Charakterisierung und Lokalisation dieser Gene, um sie erfolgreich in Elitematerial übertragen zu können.

1.3 *Puccinia hordei* (Otth)

Der Pilz *Puccinia hordei* (Otth) ist der Erreger des Zwergrosts der Gerste und gehört zu der Gruppe der *Uredinales* und hier in die Ordnung der Rostpilze (*Pucciniales*). Die Rostpilze sind eine artenreiche Pilzgruppe mit mindestens 7000 beschriebenen Arten (Braune et al. 1999). Sämtliche Pilze in dieser Gruppe sind Haplo - Dikaryonten und obligatbiotrophe Parasiten, die an verschiedene höhere Pflanzen angepasst sind. Bis jetzt ist es nicht gelungen sie auf künstlichen Nährmedien zu kultivieren. Die optisch sichtbaren Symptome auf der Gerstenpflanze sind gelblich, braune Sporenlager auf der Oberfläche der Wirtspflanze (Abb.3).



Abb. 3: Symptome von *Puccinia hordei* (Otth) an einer anfälligen Gerstenpflanze

1.3.1 Wirtschaftliche Bedeutung

P. hordei ist ein wichtiges Gerstenpathogen in verschiedenen Gebieten der Erde, wie Australien (Murray and Brennan 2010), Afrika (Woldeab et al. 2006), Europa (Jaiser und Kopahnke 2001) und Nordamerika (Griffey et al. 1994). Der Pilz ist besonders in Gebieten verbreitet, in denen Winter- und Sommergerste gleichzeitig angebaut werden (Mathre 1997). Die Ertragsverluste können dabei in gemäßigten Breiten bis zu 60% betragen (Cotterill et al. 1992). Die Verluste entstehen hauptsächlich durch die Reduktion des Tausendkorngewichtes (bis zu 30%) und eine geringere Kornzahl pro Ähre (Prigge 2004). Zusätzlich wird bei den Braugerstenbeständen die Malzqualität durch die Pilzinfektion beeinträchtigt, so dass sie nur als Futtergerste verwendet werden kann (Murray und Brennan 2010).

Bereits 1998 stellten Fetch et al. (1998) fest, dass kaum noch ein *Rph*-Gen weltweit wirksam ist und die Virulenzen des Erregers zwischen unterschiedlichen Regionen stark variieren.

Die ersten Virulenzen gegen das in vielen Sorten enthaltene Gen *Rph7* traten bereits 1978 in Israel (Golan et al. 1978) und Marokko (Parlevliet et al. 1981) auf, doch erst in den 1990er Jahren konnten auch in den USA ein Befall an *Rph7*-tragenden Sorten nachgewiesen werden (Steffenson et al. 1993). In Europa wurde 2004 der erste Pathotyp mit dieser Virulenz in Cordoba (Spanien) identifiziert. Bisher haben diese Pathotypen noch nicht zu einer weiträumigen Zwergrostepidemie geführt, doch wurde in den Jahren 2010-2012 an der Sorte 'Doyce' in Virginia (USA) ein zunehmender Befall mit *Rph3* und *Rph7* brechenden Isolaten beobachtet (Rouse et al. 2013). Im Gegensatz dazu ist gegenüber dem aus *Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum* stammenden Gen *Rph15* (und gegenüber dem als allelisch beschriebenen Gen *Rph16* [Perovic et al. 2003]) bis jetzt nur eins (I90-3) von 350 getesteten Isolaten virulent (Fetch et al. 1998). *Rph15* gehört zu den effektivsten *Rph*-Genen und vermittelt ein besonders breites Resistenzspektrum (Bernardo et al. 2012). Um in den nächsten Jahren Ertragsverluste durch ein epidemisches Auftreten des Erregers zu verhindern, ist es erforderlich weitere Resistenzquellen zu identifizieren und damit einen nachhaltigen und ökologisch verträglichen Gerstenanbau weiterhin zu ermöglichen.

1.3.2 Lebenszyklus

Puccinia hordei (Oth) zeigt einen charakteristischen Wirtswechsel zwischen *Hordeum vulgare* und *Ornithogalum umbellatum* (Dolden-Milchstern) und anderen Arten der Liliaceen und weist einen sehr komplexen Lebenszyklus auf (Abb. 4) (Hiratsuka und Sato, 1982). Für viele Rostspezies, wie auch für *Puccinia hordei*, ist die Ausprägung der sexuellen Phase nicht zwingend notwendig, da sie unbegrenzt asexuell überleben können (Marcel 2007). Die Blätter des Aecidienwirts (Zwischenwirt) *Ornithogalum umbellatum* werden von haploiden, einkernigen Basidiosporen infiziert. Der Keimschlauch durchdringt die Epidermis und bildet im Gewebe ein haploides Mycel, das bis zur Blattunterseite reicht (Heath et al. 1997). An der Blattoberfläche entwickeln sich aus dem Mycel Spermogonien (Pyknien), zwischen denen Empfängnisshyphen (Trichogyne) hervorragen.

Durch die Wirtspflanze wird jedes Spermogonium mit einer glucosehaltigen Flüssigkeit überschichtet, welche auch die Spermastien (Pykniosporen) enthält (Vaz Patto und Niks 2001). Hierdurch werden Insekten angelockt, welche die Spermastien verbreiten und zur Befruchtung beitragen.

Das Spermastium entlässt nach der Befruchtung seinen Kern in die Empfängnishyphe und dieser wandert bis zu den Basalzellen des Aecidiums an der Blattunterseite. Hier kommt es zur Dikaryotisierung und die Basalzellen bilden orange-rote Aecidiosporen. Nun erfolgt der Wirtswechsel zu *Hordeum*, wo die dikaryoten Aecidiosporen die Blätter infizieren und den nächsten Sporentyp, die Uredosporen bilden. Sie bestehen aus zahllosen gestielten, einzelligen, dikaryotischen Konidien und sind für die Massenvermehrung des Pilzes verantwortlich (Mendgen et al. 2000). Sie bedingen auch das charakteristische Schadbild des Zwergrosts mit ihren runden gelblich, braunen Sporenlagern, meist auf der Blattoberseite. Zum Ende der Vegetationsperiode bildet der Pilz die Teleutosporenlager, die vorwiegend an der Blattunterseite als schwarze Punkte zu erkennen sind. Die dickwandigen, zweizelligen Teleutosporen besitzen zwei Kerne in jeder Zelle, die meist schon im Herbst miteinander verschmelzen. Die überwinternde Teleutospore besteht somit aus zwei Zygoten, die im Frühjahr unter Meiose mit je einer querseptierten Phragmobasidie auskeimen und Basidiosporen bilden (Longo et al. 2006).

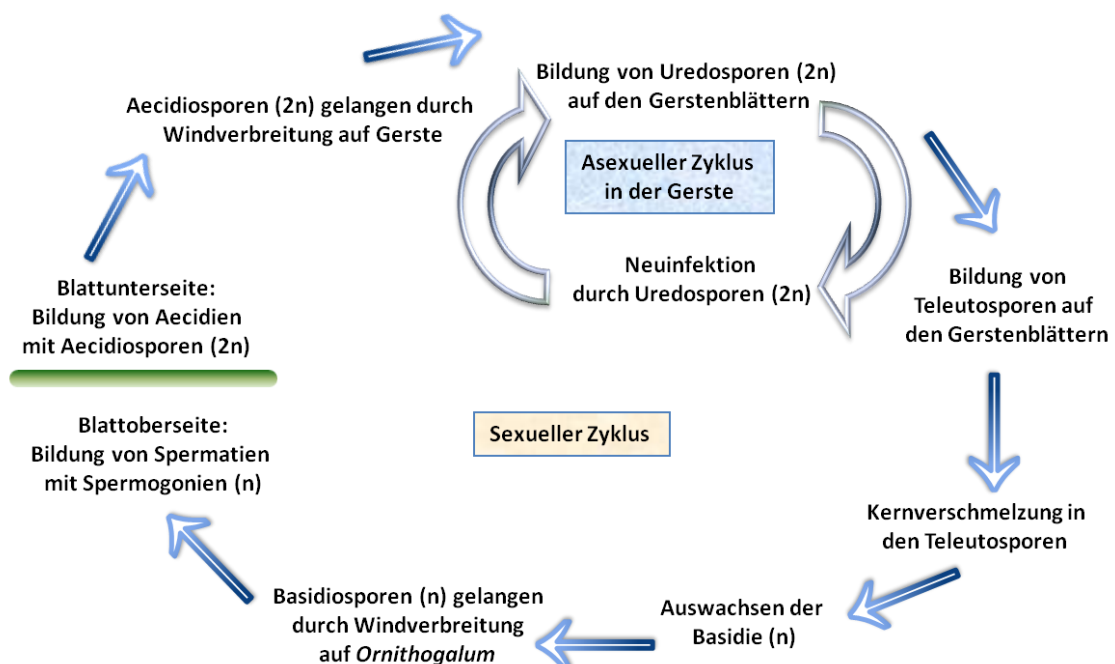


Abb. 4: Der Lebenszyklus von *Puccinia hordei* (Otth) (verändert nach Hiratsuka und Sato, 1982)

1.3.3 Infektion

Die Infektion kann bereits bei Temperaturen um 5°C erfolgen, optimale Temperaturen für die Sporenproduktion und Keimung liegen jedoch bei 15-22°C bei einem gleichzeitigen Auftreten eines Feuchtigkeitsfilms auf der Blattoberfläche vor (Mathre 1997).

Die Vermehrung des Zwergrostes in Gerstenbeständen erfolgt zu meist über die Uredosporen, wohingegen die zweizelligen Teleuto- und Aecidiosporen, die an *Ornithogalum*-Arten gebildet werden, epidemiologisch ohne Bedeutung sind (Mathre 1997). Ihre Bedeutung ist gering, da die *Ornithogalum*-Arten in Deutschland nur sehr selten vorkommen und meist nur als Zierpflanzen in Gärten vertreten sind (Obst und Paul, 1993). Nach der Ernte verbleibt der Pilz als ruhendes Myzel auf Strohrefen oder aufgelaufenem Ausfallgetreide.

Gelangt eine Uredospore auf die Oberfläche eines Gerstenblattes beginnt der Infektionsprozess mit der Sporenkeimung und Ausstülpung des Keimschlauches. Der Keimschlauch wächst auf der Blattoberfläche senkrecht zur Längsachse des Blattes bis eine Spaltöffnung (Stoma) erkannt wird, daraufhin wird ein Appressorium ausgebildet und mittels Penetrationsschlauch erfolgt das Eindringen in das Pflanzeninnere (Clifford 1985). Nach der Bildung einer substomatären Blase wachsen aus dieser die Infektionshyphen interzellulär. Bei Kontakt der Hyphen mit der Wirtszelle werden an der Spitze Haustorienmutterzellen abgegrenzt und in der Zelle Haustorien gebildet (Niks 1983). Bereits nach 8-10 Tagen können sich aus dem Mycel neue Uredo- und später Teleutosporenlager bilden. Im Sommer können so zahlreiche Uredosporengenerationen entstehen und den Pilz in warmen nicht zu feuchten Sommern epidemisch verbreiten (Simkin und Wheeler 1974).

1.3.4 Bekämpfungsmaßnahmen

Es liegt zwar nahe den Zwergrost durch die Eliminierung seines Zwischenwirtes kontrollieren zu wollen, doch ist dieser in Mitteleuropa nicht von Bedeutung und es kommt durch die winterharten und sehr weit verbreiteten luftgetragenen Uredosporen immer wieder zu einer Neuinfektion der Gerste (Mathre 1997). Es ist daher sinnvoller das Ausfallgetreide durch mehrmalige Stoppelbearbeitung zu beseitigen und somit den Lebenszyklus des Pilzes zu unterbrechen (Häni et al. 2008). Weiterhin sollte die Wintergerste nicht zu früh gesät und der Sommer- und Wintergerstenanbau räumlich getrennt werden, um hier eine direkte Übertragung zu verhindern.

Bei der chemischen Bekämpfung werden im Wesentlichen Strobilurine, meist in Verbindung mit Azolen eingesetzt (LfL Bayern 2014). Jedoch ist hier - genau wie bei dem Netzfleckenerreger - eine latente Gefahr zur Bildung von resistenten Stämmen vorhanden, so dass resistente Sorten eine umwelt- und verbraucherfreundliche Alternative darstellen (Shtaya et al. 2006).

Die meisten heute in Sorten verwendeten Resistenzen beruhen auf den rassenspezifischen *Rph*-Genen, die nach der Gen- für Gen Hypothese nach Flor (1971) relativ schnell von einzelnen Rassen überwunden werden können, was die Züchtung dauerhaft rostresistenter Sorten erschwert. Deshalb ist die Identifikation neuer Resistenzträger und deren genetische Analyse von besonderer Bedeutung.

1.3.5 Resistenzen

In der Resistenzzüchtung gegen *Puccinia hordei* (Otth) wurden bereits 22 verschiedene Resistenzgene in Sämlingen "*Rph1* bis *Rph19*, *Rph21*" (Quellen in Tab.3) und zwei Resistenzgene "*Rph20*" und "*Rph23*" in adulten Pflanzen (Hickey et al. 2011, Dracatos et al. 2014) beschrieben. 2013 gelang es Johnston et al. (2013) ein weiteres Resistenzgen *Rph22* aus *Hordeum bulbosum* in die Kulturgerste zu überführen. Dieses Gen vermittelt eine hohe Resistenz gegen Zwergrost während der gesamten Entwicklungsperiode der Gerste und beruht nicht auf einer hypersensitiven Reaktion. Getrennt davon entdeckten Qi et al. (1998) in der Kreuzung L94 x Vada eine quantitative Resistenz, die ebenfalls nicht auf eine hypersensitive Reaktion zurückzuführen ist. Sie identifizierten drei QTL (*Rphq1*, *Rphq2* und *Rphq3*) in Sämlingen und fünf (*Rphq2*, *Rphq3*, *Rphq4*, *Rphq5* und *Rphq6*) in adulten Pflanzen. Nur *Rphq2* und *Rphq3* sind in beiden Entwicklungsstadien wirksam. Weitere QTL wurden von Schmalenbach et al. (2008) beschrieben. Basierend auf der Analyse von Introgressionslinien der Sommergersten Sorte Scarlett (*H. vulgare* ssp. *vulgare*) und der Wildform ISR42-8 (*H. vulgare* ssp. *spontaneum*) gelang es vier QTL (QLr.S42IL-2H.a, QLr.S42IL-2H.b, QLr.S42IL-4H.a, QLr.S42IL-7H.a) auf den Chromosomen 2H, 4H und 7H für Zwergrostresistenz zu identifizieren. Von den genannten Resistenzen wurden jedoch bisher nur wenige in Sorten überführt. So wurden bzw. werden in Europa überwiegend *Rph2*, *Rph3*, *Rph4*, *Rph7* und *Rph12* genutzt (Walther et al. 1984, Dreiseitl und Steffenson 2000) und in den USA *Rph2*, *Rph6* und *Rph7* (Steffenson et al. 1993).

Um die Resistenzzüchtung zu erleichtern, wurden molekulare Marker für entsprechende Resistenzen entwickelt. Für die Resistenzgene *Rph2* (Borovkova et al. 1997), *Rph9* bzw. das allelische *Rph12* (Borovkova et al. 1998), *Rph16* (Ivandić et al. 1998) und *Rph7.g* (Brunner et al. 2000) wurden bereits molekulare Marker veröffentlicht und in der Züchtung eingesetzt.

Tab. 3: Resistenzgene der Gerste gegen den Zwergrost

Sorte bzw. Akzession	Gen	Chromosom	Quelle
Sudan	<i>Rph1</i>	2H	Roane and Starling (1989)
Peruvian	<i>Rph2</i>	5HS	Borovkova et al. (1997)
HOR679-3	<i>Rph3</i>	7HL	Jin et al. (1993)
Gold	<i>Rph4</i>	1HS	McDaniel an Hathcock (1969)
195-269-1	<i>Rph5</i>	3HS	Mamadov et al. (2003)
195-270-2	<i>Rph6</i>	3HS	Brunner et al. (2000)
HOR4270	<i>Rph7</i>	3HS	Roane and Starling (1989)
Egypt4	<i>Rph8</i>	7HS	Borovkova et al. (1997)
HOR2596	<i>Rph9</i>	5HS	Borovkova et al. (1998)
195-273-2	<i>Rph10</i>	3HL	Feuerstein et al. (1990)
195-272-1	<i>Rph11</i>	6HS	Feuerstein et al. (1990)
Vada	<i>Rph12</i>	5HL	Borovkova et al. (1998)
195-288-2	<i>Rph13</i>	3H	Sun et al. (2007)
195-290-2	<i>Rph14</i>	2HS	Golegaonkar et al. (2009)
<i>H. vulgare ssp.spontaneum</i>	<i>Rph15</i>	2HS	Weerasena et al. (2004)
<i>H. vulgare ssp.spontaneum</i>	<i>Rph16</i>	2HS	Ivandić et al. (1998)
<i>H. bulbosum</i>	<i>Rph17</i>	2HS	Pickering et al. (1998)
<i>H. bulbosum</i>	<i>Rph18</i>	2HL	Pickering et al. (2000)
Prior	<i>Rph19</i>	7HL	Park and Karakousis (2002)
Vada	<i>Rph20</i>	5HS	Hickey et al. (2011)
Ricardo	<i>Rph21</i>	4H	Sandhu et al. (2012)
182Q20	<i>Rph22</i>	2HL	Johnston et al. (2013)
'LV-Taganrog'	<i>Rph23</i>	7HS	Dracatos et al. 2014

Eine Vielzahl der genannten Resistenzgene sind, zumindest in einzelnen Regionen, unwirksam. Die durch *Rph3* und *Rph12* vermittelte Resistenz wurde bereits Mitte der 80er Jahre in Europa überwunden (Clifford 1985, Walther 1984) und Cotterill et al. (1992) zeigten das *Rph12* auch in Australien seine Wirksamkeit verloren hat.

In Europa ist zurzeit großräumig nur noch *Rph7* wirksam, doch konnten in Israel (Golan et al. 1978), Marokko (Parlevliet et al. 1981), USA (Steffenson et al. 1993, Griffey et al. 1994, Rouse et al. 2013) und Spanien (Shtaya et al. 2006) bereits gegen dieses Gen virulente Zwergroststämme nachgewiesen werden. Deshalb ist es wichtig noch unbekannt Resistenzen innerhalb der Gerste zu identifizieren und diese gegebenenfalls mit anderen zu kombinieren. Zu diesem Zweck werden nun vermehrt Wild- und Primitivformen der Gerste in die Kulturform eingekreuzt (de Carvalho et al. 2013).

1.4 Kartierungspopulationen

Zur Anfangszeit der genetischen Kartierung wurden fast ausschließlich F_2 -Populationen verwendet (Melzer et al. 1988, Song et al. 1991, Reiter et al. 1991). Heute werden immer häufiger "unveränderliche", aus homozygoten Individuen bestehende Kartierungspopulationen genutzt, da sie wiederholte phänotypische Analysen ermöglichen (Keurentjes et al. 2007). Homozygote Populationen können durch die wiederholten Selbstungen der Nachkommenschaft, wie bei den Rekombinanten Inzucht Linien (RILs) erstellt werden, oder durch die induzierte chromosomale Aufdopplung von haploiden Pflanzen (Han et al. 1997, von Korff et al. 2004). Vorteile dieser homozygoten Linien sind zum einen ihre genetische Stabilität bei Vermehrungsschritten und eine leichtere Auswertung von molekularen Ergebnissen, da dominante Markersysteme den selben Informationsgehalt wie co-dominante Systeme haben. Doch erlauben diese DH-Populationen nicht zwischen dominant und rezessiv vererbten Merkmalen zu unterscheiden.

Doppelhaploide Populationen (DHs) wurden bereits in einer Vielzahl von genetischen Studien verwendet (Manninen et al. 2000, Barabaschi et al. 2007, Chen et al. 2010, Dahlén et al. 2012). Für die Untersuchung und Lokalisation von verschiedenen Merkmalen sind DH-Linien gut geeignet, wie Carbonell et al. (1993) mit Hilfe einer Computersimulation zeigen konnten. Bei gegebener Populationsgröße, Markerdichte und erklärter genetischer Varianz werden in doppelhaploiden Linien theoretisch zweimal so viele QTL wie mit Rückkreuzungsnachkommenschaften detektiert, da hier die rezessiv vererbten Merkmale homozygot vorliegen und ausgeprägt werden. Auch bei Gerste-Züchtern sind DH-Linien heute weit verbreitet, wie sich an der Vielzahl wirtschaftlich erfolgreicher Sorten (z.B. 'Henni', 'Anthere', 'Uschi', 'Sarah', 'Carola' und 'Nelli') zeigt (Friedt 2011).

In der vorliegenden Arbeit wurden drei unterschiedliche DH-Populationen (MBR1012 x Scarlett, Uschi x HHOR3073 und (PxV) x HHOR9484) verwendet, bei denen sowohl qualitative, wie auch quantitative Resistenzen detektiert werden konnten.

1.5 Molekulare Markertechniken

Basierend auf der Polymerase-Kettenreaktion [polymerase chain reaction (PCR)] (Mullis et al. 1986) wurden zwei wichtige Markertechniken, nämlich die Amplified fragment length polymorphism (AFLP) (Vos et al. 1995) und die Simple-sequence-repeats (SSR) (Weber und May 1989) entwickelt.

Mitte der 90er Jahre wurden verstärkt Techniken zum gezielten Nachweis von single-nucleotide polymorphisms (SNPs), d.h. zum Nachweis einzelner Basenpaarunterschiede, die sehr häufig im Genom vorkommen (Chee et al. 1996), entwickelt. Erste Verwendung fanden SNP-Marker in der Humangenetik (Delahunty et al. 1996), doch bereits 1999 gelang es Cho et al. (1999) eine genomweite genetische Karte mit 237 biallelischen SNP-Markern in *Arabidopsis thaliana* zu erstellen. Die Mikrosatelliten und SNPs zeichnet aus, dass sie relativ gleichmäßige im Genom verteilt sind, co-dominant vererbt werden und leicht anwendbar sind (Close et al. 2009; Ganai et al. 2009; Gupta und Varshney 2000), so dass sie in verschiedensten genetischen Untersuchungen verwendet werden können. Eine weitere Markerklasse sind Sequence tagged site (STS) Marker (Tragoonrung et al. 1992). Sie werden basierend auf bekannten DNA-Sequenzen, mit Primerpaaren, die meist länger als 20bp sind, entwickelt und amplifizieren DNA-Fragmente mit einer spezifischen Länge, die polymorph sind. Bei nicht polymorphen PCR-Produkten kann ein Basenpaarunterschied zwischen zwei Genotypen in einer Restriktionsenzymchnittstelle genutzt werden, um cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) Marker (Konieczny und Ausubel 1993) zu entwickeln.

Durch die von verschiedenen Arbeitsgruppen bei Gerste veröffentlichten Konsensus-Karten ist eine große Auswahl genetischer Marker in der Gerste verfügbar (Ramsay et al. 2000, Li et al 2003, Wenzel et al. 2006, Varshney et al. 2007). Für die Entwicklung der Diversity Array Technologie (DArT) war es nötig die Komplexität zu reduzieren und trotzdem eine hinreichende Genomabdeckung mit Markern zu erzielen.

Es wurden daher zunächst zwei Gruppen unterschieden: (i) konstante Fragmente, die in allen Genotypen vorhanden sind und die Art definieren (ii) variable (polymorphe) Fragmente, die nur in manchen Genotypen präsent sind (www.diversityarrays.com/molecularprincip.html). Aus den sequenzierten variablen Fragmenten wurden die sogenannten DArT-Marker entwickelt (Wenzl et al. 2004). Durch die Microarray-Hybridisation kann diese Technik in einem multiparallelen Hochdurchsatzverfahren zur genetischen Charakterisierung ganzer Populationen verwendet werden bzw. für die bulked segregant analysis (Michelmore et al. 1991, Wenzel et al. 2007). Neben den DArTs steht heute ein 9k iSelect Chip für die Erstellung genetischer Karten in der Gerste zur Verfügung (Comadran et al. 2012). Weiterhin ist heute bei der Gerste eine weitgehend genomabdeckende physikalische Karte und entsprechende Sequenzinformationen bekannt (IBGS 2012), welche neue Möglichkeiten in der Markerentwicklung eröffnen, ebenso wie die Verfügbarkeit des sogenannten Genome-Zippers (Mayer et al. 2011), welcher eine virtuelle lineare Anordnung der Gene verschiedener Getreidearten darstellt. Weiterhin konnte bei Gerste eine Exome Capture Plattform entwickelt werden (Mascher et al. 2013), hierbei handelt es sich um eine Plattform zur hochspezifischen Detektion und reproduzierbaren Analyse von codierenden Exons in mRNA-Sequenzen. Durch die Analyse der codierenden Exons wird die Komplexität des Gersten Genoms um das ca. 50-fache reduziert, so dass das Sequenzier- und Analysevolumen dramatisch reduziert werden kann. Zur Analyse greift das System auf die Sequenzdaten des Genomassambley der Sorte 'Morex', die öffentlich zugänglichen cDNA-Contigs und *de novo* zusammengesetzte RNA-Sequenzen zurück.

1.5.1 Bulk Segregant Analyse und Erstellung einer genetischen Karte

Für eine effektive Suche nach gekoppelten molekularen Markern für monogene Eigenschaften bietet sich die bulked segregant Analyse nach Michelmore et al. (1991) an. Hierbei wird eine definierte Anzahl von Genotypen die sich hinsichtlich des Zielmerkmals phänotypisch unterscheiden in zwei Gruppen („Bulks“) aufgeteilt (z.B. resistent / anfällig). Die in den Gruppen enthaltenden Pflanzen haben an dem für die Merkmalsausprägung verantwortlichen Genort alle die gleiche Ausprägung, wohingegen die übrigen Bereiche des Genoms zufällig verteilt sind. Wenn zwischen den Gruppen Polymorphismen auftreten, sind diese somit mit hoher Wahrscheinlichkeit mit dem Zielgen gekoppelt.

Wichtig für den Erfolg dieser Analyse ist die monogene Vererbung des untersuchten Merkmals. Mit Hilfe dieser Methode ist es möglich, schnell mit dem Zielgen gekoppelte Marker zu identifizieren. Um in der Gerste eine BaYMV/BaYMV-2-Resistenz in einer komplexen DH-Population zu lokalisieren verwendeten z.B. Werner et al. (2003) erfolgreich dieses Verfahren. Sie bildeten verschiedene Gruppen von resistenten bzw. anfälligen Linien und testeten ein Set von 28 genomabdeckenden SSR-Markern, wobei nur zwei in einer benachbarten Position auf Chromosom 5H lokalisierte SSRs einen Polymorphismus zwischen den divergierenden DNA-Gemischen zeigten. Nachdem noch weitere in dieser Region lokalisierte Marker getestet wurden, konnte die Resistenz auf diesem Chromosom kartiert werden. Dies zeigt die Zeit und Ressourcen sparende Anwendbarkeit dieser Methode. Eine genetische Karte ist notwendig, um das mit dem Merkmal gekoppelte Gen lokalisieren zu können. Die Genauigkeit der Kartierung ist dabei abhängig von der Größe der Population und der Markerdichte. In ersten Studien wurden Skelettkarten mit Hilfe von AFLP-Markern (Becker et al. 1995) und SSR-Markern erstellt (Hearnden et al. 2007). Die größte Absättigung erhält man heute mit den SNP-basierten Genotypisierungschips (Close et al. 2009, Comadran et al. 2012) oder Exome capture (Mascher et al. 2013). Mit ihnen kann sowohl eine große Anzahl von Individuen als auch eine hohe Markeranzahl in einem Arbeitsschritt analysiert werden. Dies führt zu einer Zeitersparnis sowie einer deutlichen Reduktion der Kosten pro Datenpunkt.

Während für die DH-Population MBR1012 x Scarlett noch ausschließlich SSR - und CAPS-Marker für die Erstellung der Kopplungskarte verwendet wurden (König et al. 2012), wurden für die Populationen Uschi x HHOR3073 und (PxV) x HHOR9484 zusätzlich DArT-Marker (Wenzl et al. 2004) analysiert (König et al. 2013). Dadurch konnte eine höhere Markerdichte innerhalb der sieben Kopplungsgruppen erreicht werden, wodurch die QTL-Intervalle verkürzt werden konnten. In den vergangenen Jahren sind auf Grund der sich schnell weiterentwickelnden Hochdurchsatzverfahren verschiedene genetische Karten für die gleiche Spezies erstellt worden (Chen und Yang, 2010) durch deren Kombination Konsensuskarten mit einer höheren Markerdichte und damit besseren Genomabdeckung erstellt werden können (Chen und Yang, 2010). Jedoch gibt es bei der Erstellung von Konsensuskarten oftmals Probleme mit der exakten Abfolge der Marker, die meistens auf fehlenden Datenpunkten oder falsch zugeordneten Marker bei der Erstellung der individuellen Karten beruhen (Close et al. 2009).

Trotz dieser Schwierigkeiten gibt es mittlerweile eine Vielzahl von Konsenskarten (Langridge et al. 1995, Rostoks et al. 2005, Varshney et al. 2007) in Gerste, mit deren Hilfe es möglich ist, trotz der Verwendung unterschiedlicher Markersysteme, die Karten miteinander zu vergleichen und somit auf Beziehungen zwischen den in verschiedenen Studien detektierten Resistenzregionen zu schließen. Dies wird heute insbesondere durch die weitgehende Verfügbarkeit der Gerstensequenz weiter erleichtert (IBGS 2012).

1.5.2 Marker gestützte Selektion [Marker assisted selection (MAS)]

Die Nutzung molekularer Marker erlaubt eine erfolgreiche Selektion z.B. auf Resistenzen unabhängig vom Auftreten des Pathogens im Freiland und den herrschenden Umweltbedingungen in frühen Entwicklungsstadien der Pflanze im Labor. Dadurch kann die Resistenzzüchtung wesentlich beschleunigt werden (Paloix und Ordon 2011). Desweiteren können mit Hilfe molekularer Marker erfolgreich verschiedene Resistenzgene gegen ein Pathogen kombiniert werden (Pyramidisierung), wie dies in Gerste für die BaMMV/BaYMV-Resistenz gezeigt werden konnte (Werner et al. 2005). Durch den vom Entwicklungsstadium unabhängigen genetischen Nachweis des Ziellokus in der Zuchtlinie wird die Zeit für die notwendigen Selektionen verkürzt und die Kosten verringert. Es ist jedoch zu bedenken, dass nur bei monogen vererbten Merkmalen und bei Vorliegen einer hinreichend engen Kopplung die Korrelation von Marker und Merkmal nahezu 1 beträgt. Bei komplex vererbten Merkmalen (QTL) kann die Korrelation deutlich unter 1 liegen, da hier meist nur ein Teil der genetischen Variation durch die Marker erklärt wird (Becker 2011). Hier ist eine MAS somit nur bei einer hinreichend erklärten genetischen Varianz sinnvoll (Miedaner und Korzun 2012). Die MAS wurde jedoch in den vergangenen Jahren für eine Vielzahl von Merkmalen etabliert (Langridge und Barr 2003, Ordon 2009).

1.5.3 Analyse quantitative vererbter Merkmale [Quantitative Trait Loci (QTL)]

Eine quantitative Variation für ein betrachtetes Merkmal innerhalb einer Population kommt durch die Beteiligung mehrerer Gene an der Merkmalsausprägung, die zudem von der Umwelt beeinflusst wird, zu Stande (Xu 2010). Das führt dazu, dass diese Merkmale nur sicher in mehrjährigen und mehrortigen Versuchen zu erfassen sind (Miedaner und Korzun 2012).

Zur Detektion quantitativer Merkmale werden Beziehungen zwischen der Merkmalsvariation und der DNA-Variation innerhalb der untersuchten Population berechnet und bei signifikanten phänotypischen Unterschieden zwischen den Gruppen ein QTL in dieser Region identifiziert (Jansen 1993). Aus diesem Grund wurden detaillierte Analysen erst durch die Erstellung genomabdeckender molekularer Karten möglich, wobei bereits Thoday (1961) eine Marker-gestützte-Analysemethode zur Lokalisation von an quantitativen Merkmalen beteiligten Chromosomregionen entwickelt hat. Für die zuverlässige Detektion quantitativer Merkmale ist sowohl eine ausreichende Heritabilität als auch Populationsgröße nötig (Xu 2010). In diesem Zusammenhang konnten van Ooijen et al. (1992) zeigen, dass die Möglichkeit QTL zu detektieren bei niedriger Heritabilität des Merkmals sehr gering ist. Um überhaupt für solche Merkmale QTL detektieren zu können, muss die Populationsgröße sehr hoch sein.

Für die Berechnung von QTL sind verschiedene Algorithmen verfügbar, im Weiterem werden die Unterschiede der am häufigsten verwandten Funktionen erläutert. Die einfachste Methode, um QTL zu lokalisieren, beruht auf der einfaktoriellen ANOVA Analyse, sie testet jeweils an einzelnen Markerpositionen auf das Vorhandensein von QTL (Lynch und Walsh 1998). Je nachdem wie groß die Abstände der Marker in der genetischen Karte sind, werden hier zum Teil große Bereiche nicht erfasst. Beim Intervall Mapping hingegen wird um jeden Marker innerhalb eines Intervalls von meist 2cM auf das Vorhandensein eines QTL getestet, so dass sie besser erfasst und dargestellt werden können (Sorensen und Gianola 2002). Hierbei beruht die angegebene logarithmierte Chancenwahrscheinlichkeit "logarithm of the odds ratio" (LOD) auf dem Pearson Korrelationskoeffizienten zwischen dem Phänotyp und dem Marker für jedes Individuum in der Population. Die Methode des multiplen QTL mapping (MQM) wurde von R. C. Jansen (1993) entwickelt und ermöglicht eine multi-dimensionale Berechnung von QTL. Der angewandte Algorithmus bestimmt an fehlenden Datenpunkten zunächst multiple Genotypen und setzt diese anhand ihrer Wahrscheinlichkeiten in die Datenmatrix ein. Anschließend werden auf Grundlage der multiplen Regression genetische Marker vorselektiert, die wahrscheinlich mit dem Merkmal gekoppelt sind. Die Marker werden als Co-Faktoren gesetzt und ihr Einfluss auf den genetischen Effekt des betrachteten QTL berechnet. Bei diesem Verfahren wird die gegenseitige Beeinflussung der QTL in die Berechnung einbezogen (Arend 2010).

Doch kann der Algorithmus nur im geringen Masse epistatische Effekte aufzeigen, da das Model keine multiplen QTL-Effekte (mehr als zwei) und ihre Interaktionen betrachtet (Kao et al. 1999). Zur Bestimmung der genomweiten Signifikanzgrenze für die detektierten QTL wird i.d.R. ein Permutationstest durchgeführt. Dabei werden die Merkmalswerte des Datensatzes tausendfach vertauscht und jedes Mal die Genotyp-Phänotyp-Relation berechnet und mit dem tatsächlichen Datensatz verglichen (Arend 2010). Dabei sollte der Datensatz mit den tatsächlichen Werten mit einem LOD-Wert $> 95\%$ assoziiert sein, woraus sich die Signifikanzgrenze für das gesamte Genom ergibt (Doerge und Churchill 1996).

1.6 Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand aus der Charakterisierung und Lokalisation von Resistenzen gegen *Pyrenophora teres f. teres* in den Gerstenlinien "HHOR3073" und "HHOR9484" und gegen *Puccinia hordei* (Otth) in der aus dem ehemaligen Jugoslawien stammenden Landrasse "MBR1012".

Zur Lokalisation der Resistenzen gegen den Netzfleckenerreger sollten zwei DH-Populationen im Feldversuch und Blattsegmenttest phänotypisch charakterisiert und mittels Mikrosatteliten-, SNP- und DaRT-Analysen genetische Karten erstellt werden. Basierend auf diesen Daten sollte eine QTL-Analyse erfolgen. Zur Lokalisation des Resistenzgens gegen *Puccinia hordei* in der Gerstenlandrasse "MBR1012", konnte auf erste Ergebnisse meiner Diplomarbeit zurückgegriffen werden. Bei der Untersuchung einer Gersten-Landrassenkollektion aus Serbien und Montenegro (Perovic et al. 2003) erwies sich die Linie MBR1012 als resistent gegen die *P. hordei*-Isolate I80 und I90. Im Rahmen der Diplomarbeit "Kartierung der Zwergrost- und Netzfleckenresistenz der Gerste MBR1012" konnte gegen das Isolat I80 eine monogene Vererbung der Resistenz mit der Lokalisation auf Chromosom 1H nachgewiesen werden. Im weiteren Verlauf sollte dies bestätigt und das Marker-Intervall verkürzt werden. Die Arbeit sollte damit die Grundlagen für eine markergestützte Verbesserung der Resistenz gegenüber den obengenannten Pathogenen legen.

2. Veröffentlichungen

- König J, Kopahnke D, Steffenson BJ, Przulj N, Romeis T, Roeder MS, Ordon F, Perovic D (2012) Genetic mapping of a leaf rust resistance gene in former Yugoslavian barley landrace MBR1012. *Molecular Breeding* 30:1253-1264. doi:10.1007/s11032-012-9712-0
- 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 and mapping of QTL for resistance. *Molecular Breeding* 32:641-650. doi: 10.1007/s11032-013-9897-x
- König J, Perovic D, Kopahnke D, Ordon F (2014) Mapping seedling resistance to net form of net blotch (*Pyrenophora teres f. teres*) in barley using detached leaf assay. *Plant Breeding* 133:356-365. doi:10.1111/pdr.12147

Genetic mapping of a leaf rust resistance gene in the former Yugoslavian barley landrace MBR1012

J. König · D. Kopahnke · B. J. Steffenson ·
N. Przulj · T. Romeis · M. S. Röder · F. Ordon ·
D. Perovic

Received: 15 March 2011 / Accepted: 8 February 2012 / Published online: 23 February 2012
© Springer Science+Business Media B.V. 2012

Abstract Leaf rust, caused by *Puccinia hordei* Otth, is an important disease of barley (*Hordeum vulgare* L.) in many areas of the world. The appearance of new virulent races necessitates the identification of new resistance genes in barley. Screening of spring barley landraces from former Yugoslavia led to the identification of an accession (MBR1012) carrying resistance to the most widespread virulent leaf rust pathotypes in

Europe. Ninety-one doubled haploid lines derived from a cross between landrace MBR1012 and the susceptible German cultivar Scarlett were evaluated for resistance to *P. hordei* isolate I-80 and segregated 48 resistant : 43 susceptible ($\chi^2_{1:1} = 0.29$, $p = 0.6$), indicating a monogenic inheritance of resistance. Using simple sequence repeats (SSR) and single nucleotide polymorphism (SNP) markers, the resistance gene in MBR1012 was mapped to the telomeric region of chromosome 1HS. This gene is assigned the temporary locus designation of *Rph*_{MBR1012} until it can be unequivocally determined to be different from all previously reported resistance genes. The closest flanking markers for *Rph*_{MBR1012} are located 0.8 cM distal (SNP marker GBS546 and SSR marker GBMS187) and 6.0 cM proximal (SSR marker GMS21). The diagnostic value of the closest linked markers was assessed in a genetically diverse collection of 51 susceptible and resistant barley lines and cultivars. The SSR GBMS187 predicted the presence of *Rph*_{MBR1012} with 100% accuracy. However, this marker could not be used singly for the rapid incorporation of resistance into high yielding barley cultivars, since it detects a null allele in MBR1012. Therefore, simultaneous use of the markers closely linked to *Rph*_{MBR1012} is needed for transferring *Rph*_{MBR1012} into adapted cultivars.

J. König · D. Kopahnke · F. Ordon · D. Perovic (✉)
Julius Kuehn-Institute (JKI), Federal Research Institute
for Cultivated Plants, Institute for Resistance Research
and Stress Tolerance, Erwin-Baur-Str. 27,
06484 Quedlinburg, Germany
e-mail: dragan.perovic@jki.bund.de

J. König · T. Romeis
Department of Physiology
and Biochemistry of Plants and Microbiology, Institute
for Biology, Free University Berlin, Königin-Luise-Str.
12-16, 14195 Berlin, Germany

B. J. Steffenson
Department of Plant Pathology, University of Minnesota,
495 Borlaug Hall, 1991 Upper Buford Circle, St. Paul,
MN 55108-6030, USA

N. Przulj
Scientific Institute of Field and Vegetable Crops Novi
Sad, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad,
Republic of Serbia

M. S. Röder
Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant
Research (IPK), Corrensstr. 3, 06466 Gatersleben,
Germany

Keywords Barley · Leaf rust · *Rph*_{MBR1012} ·
Molecular markers

Introduction

Leaf rust, caused by the biotrophic pathogen *Puccinia hordei* Otth, is an economically important foliar disease of barley in many temperate regions worldwide (Mathre 1997). Under experimental conditions, yield losses as high as 60% can occur in highly susceptible barley cultivars, but losses of about half that level are common in practice (Clifford 1985; Cotterill et al. 1992; Das et al. 2007). The deployment of single race-specific resistance genes alone or in combination by pyramiding (Werner et al. 2005) can be an effective and environmentally-friendly method of disease control. In cultivated barley (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*) and wild barley (*H. vulgare* ssp. *spontaneum*), 19 major genes (*Rph1* to *Rph19*) effective in the seedling stage have been described (Golegaonkar et al. 2009). These major genes are effective against different pathotypes of *P. hordei*, but when deployed singly have often been overcome by new pathotypes. The leaf rust resistance genes *Rph7*, *Rph15*, and *Rph16* are still effective in Europe (Niks et al. 2000; Perovic et al. 2004), but are potentially vulnerable because pathotypes with virulence for *Rph7* are known in Israel (Golan et al. 1978), Morocco (Parlevliet 1981) and USA (Steffenson et al. 1993). Therefore, it may be just a matter of time until these resistance genes are overcome in Europe in the same way as *Rph3* and *Rph10* (Dreiseitl 1990; Fetch et al. 1998). It appears that the frequency of mutation in asexually reproducing populations of *P. hordei* is sufficient to overcome many resistance genes in barley (Cromey and Viljanen Rollinson 1995). Thus, the economic impact of leaf rust on barley production and the ability of the fungus to generate new virulent pathotypes in a short period of time highlights the importance of searching for new resistance genes and, in parallel, for the development of tools for their efficient deployment in barley breeding programs.

Within the primary gene-pool of barley, which includes cultivars, landraces and wild barley accessions (*H. vulgare* ssp. *spontaneum*), the latter two are of particular importance regarding breeding for disease resistance. Incorporation of new leaf rust resistance genes from landraces was reported only for the genes *Rph3* and *Rph7* (Walther and Lehmann 1980; Jin et al. 1995), while a much greater number (*Rph2*, *Rph10*, *Rph11*, *Rph12*, *Rph13*, *Rph15* and *Rph16*) was identified in the wild progenitor *H. vulgare* ssp.

spontaneum (Franckowiak et al. 1996; Ivandic et al. 1998).

To identify new sources of leaf rust resistance, barley germplasm from eco-geographically diverse collection sites in former Yugoslavia was evaluated (Perovic et al. 2001), as this is a region of high disease pressure (Reinhold and Sharp 1980; Boskovic and Boskovic 2009). One of the landraces from this collection (MBR1012) exhibited a strong resistant (hypersensitive) reaction to *P. hordei* isolate I-80 (Perovic et al. 2001), which is virulent to all known major resistance genes in the European barley gene pool, except *Rph7*, *Rph15* and *Rph16* (Weerasena et al. 2004). Therefore, the aims of this study were to investigate the genetics of leaf rust resistance in MBR1012 and develop molecular markers for this resistance gene, facilitating efficient marker-based selection procedures.

Materials and methods

Plant materials

An F1-derived doubled haploid (DH) population, produced via anther culture, comprising 91 lines of a cross between the resistant landrace MBR1012 and the susceptible German cultivar Scarlett was used for mapping. In addition, a collection of 51 barley accessions was evaluated for resistance to several leaf rust isolates to determine the diagnostic value of the closest linked molecular markers to the gene identified in MBR1012. This barley collection consisted of the original sources of described *Rph* genes, i.e. near-isogenic lines of the cultivar Bowman carrying the introgressed *Rph* genes, two lines with partial leaf rust resistance, and 10 susceptible genotypes. A set of 7 barley genotypes [MBR1012, Scarlett, Gold (*Rph4*); Cebada Capa (*Rph7*), NIL Bowman*Rph15* (*Rph15*), Hsp680 (*Rph16*) and L94] was used to determine the leaf rust infection patterns (see below).

Phenotyping

Five to ten plants of each DH line and the parents were inoculated with the leaf rust isolate I-80 in the greenhouse. Plants were inoculated at the seedling stage, according to Ivandic et al. (1998). The inoculated plants were placed in a growth chamber (20–22°C) under a plastic cover for 24 h to provide

a moist environment for successful infection. Infection types were recorded between 10 and 12 days after inoculation according to the 0–4 scale of Levine and Cherewick (1952). The DH lines were classified based on their infection types. Plants exhibiting infection types from 0, 0_{nc} (hypersensitive reactions with necrotic/chlorotic ‘flecks’), 1, 2-, or 0-2- were considered resistant, while those exhibiting infection types 2+, 3, 3-4 and 4 were considered susceptible. The Chi-squared test was used to assess segregation ratios for goodness of fit to expected ratios.

Additionally, a collection of 13 European leaf rust isolates (Walther 1987) was tested on the parental lines and accessions of Gold (carrying leaf rust resistance gene *Rph4*); Cebada Capa (*Rph7*), NIL Bowman-*Rph15* (*Rph15*) Hsp680 (*Rph16*), and L94 (susceptible control) in order to determine whether the resistance of MBR1012 is different from previously described resistance genes. Inoculation and scoring was performed as described for isolate I-80. The leaf rust isolates were collected from different parts of Europe and selected from single spore progenies (Walther 1979, 1987). The isolates are maintained at the Julius Kuehn-Institute, Federal Research Institute for Cultivated Plants (JKI), Institute for Resistance Research and Stress Tolerance, in Quedlinburg, Germany.

Marker analyses

Genomic DNA was extracted from leaves of 14-day-old plants according to Stein et al. (2001). The concentration and quality of DNA was determined using the NanoDrop ND-100 spectrophotometer (PeQLab, Erlangen, Germany) and gel electrophoresis. All samples were adjusted to a final concentration of 20 ng/ μ l. For bulk segregant analysis (BSA) (Michelmore et al. 1991), equal aliquots (10 μ l) of DNA from nine resistant and nine susceptible DH lines were pooled.

A total of 175 SSRs and 73 SNPs were screened for polymorphism between the parents and between the bulks. The sequences of the SSR primer pairs and amplification protocols were obtained from Struss and Plieske (1998), Ramsay et al. (2000), Maccaulay et al. (2001), Thiel et al. (2003), and Varshney et al. (2007), while the sequences of the SNP primer pairs, amplification protocol and restriction sites were obtained from Kota et al. (2008) and Perovic et al. (2007). All

markers which generated polymorphic PCR products between the parental lines and between the bulks were assayed in all DH lines (Table 1).

PCR was performed in a volume of 10 μ l, containing 1 μ l of $10 \times$ buffer, 1 μ l of 25 mM $MgCl_2$, 0.2 μ l of each 10 mM dNTPs, forward primer (1.0 pmol/ μ l) and reverse primer (10.0 pmol/ μ l), 0.08 μ l 5U Hot FIREPol[®]DNA polymerase (Solis BioDyne, Tartu, Estonia), 6.12 μ l HPLC gradient grade water (Carl Roth, Karlsruhe, Germany) and 1 μ l template DNA. For SSR amplification, M13 tailed forward primers were used, so that 0.1 μ l of M13 primer (10.0 pmol/ μ l) (5'-CACGACGTTGTAAACGAC-3') labelled with 5' fluorescent dyes was added to the reaction mix (Boutin-Ganache et al. 2001). DNA amplification was performed in a Gene Amp[®] PCR System 9700 (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany). The following PCR conditions were used for all primers: 94°C for 5 min followed by a touchdown PCR (–0.5°C/cycle) with 12 cycles of 30 s at 94°C, 30 s at 62°C, 30 s at 72°C; and then 35 cycles with 30 s at 94°C, 30 s at 56°C, 30 s at 72°C, and a final extension at 72°C for 10 min. For marker GBMS187, the second amplification phase was extended to 50 cycles, while the other parameters remained the same. Detection of allele sizes for the SSR marker was conducted using a capillary electrophoresis ABI PRISM[®] 3100 genetic analyzer (Applied Biosystems) or a CEQ[™] 8000 Genetic Analysis System (Beckman). SNP markers (Kota et al. 2008) were amplified in a volume of 20 μ l, containing 2.0 μ l of $10 \times$ PCR buffer with $MgCl_2$ (25 mM), 0.4 μ l of each 10 mM dNTPs, 0.5 μ l forward primer (1.0 pmol/ μ l) and reverse primer (10.0 pmol/ μ l), 0.16 μ l 5U Taq DNA-polymerase (Qiagen, Hilden, Germany), 6.12 μ l HPLC gradient grade water and 2.0 μ l template DNA using the same PCR conditions as described for the SSRs. The applied SNP markers were converted to cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) markers by digesting PCR products with corresponding restriction endonucleases. A restriction site for the GBS546 SNP marker was previously described by Kota et al. (2008). The other two markers were firstly sequenced to detect SNPs and then converted into CAPS markers by the use of the SNP2CAPS tool (<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/snp2caps/>; Thiel et al. 2004). The PCR products were digested with a set of three restriction endonucleases to generate CAPS. Three enzymes, *HpyCH4IV*, *HhaI* and *SsiII*, were used according to the

Table 1 Size of alleles detected in the resistant (MBR1012) and susceptible (Scarlett) parents for 17 polymorphic markers located on chromosome 1H of barley

Marker	Endonuclease	Allele size (bp)		References
		MBR1012	Scarlett	
QBS2	GBR218 derived	361	328	Stein et al. (2007); this publication
GBS546	<i>CAPS-HhaI</i>	424	308/116	Kota et al. (2008)
GBMS187		Null	161	Li et al. (2003)
GMS21		183	Null	Struss and Plieske (1998)
GBM1007		218	216	Thiel et al. (2003)
GBM1042		312	308	Thiel et al. (2003)
Bmag872		134	118	Ramsay et al. (2000)
GBM1032		115	117	Thiel et al. (2003)
Bmag211		204	200	Ramsay et al. (2000)
GBM1070		180	182	Thiel et al. (2003)
Bmag347		129	125	Ramsay et al. (2000)
GBM1336		147	143	Varshney et al. (2007)
Bmac63		150	146	Ramsay et al. (2000)
GBS528	<i>CAPS-HpyCH4IV</i>	390	282/108	Kota et al. (2008)
Bmac32		243	231	Ramsay et al. (2000)
GBS582	<i>CAPS-SsiII</i>	446	219/196	Kota et al. (2008)
HvHVA1		153	157	Maccaulay et al. (2001)

manufacturer's instructions (New England Biolabs) and performed in a total volume of 20 μ l with 10 μ l PCR-product, 2 μ l of the relevant NE Buffer, 7.9 μ l HPLC gradient grade water and 0.1 μ l enzyme. The cleaved DNA fragments were separated on 1.8% agarose gels as described previously. Conversion of restriction fragment length polymorphism (RFLP) marker GBR218 into PCR-based marker QBS2 (QBS2f 5'-AGCTGAATCCAACCCAACAC-3' and QBSr 5'-AGTCGCAGAGCCACAAGTTC-3') was performed according to Perovic et al. (2007).

Map construction

The genetic map was constructed using JoinMap 4.0 (van Ooijen 2006) applying the Kosambi function (Kosambi 1944). Only markers with a LOD score of 3 were integrated into the map.

Results

Phenotypic analysis

The infection type of the susceptible parent Scarlett was 2-3, whereas that of the resistant parent MBR1012 was

0-2-. The 91 DH lines derived from the cross of the resistant landrace MBR1012 and the susceptible German cultivar Scarlett segregated 48 resistant: 43 susceptible ($\chi^2 = 0.29$, $p = 0.6$). This segregation pattern fits well to the expected 1 resistant : 1 susceptible ratio, indicating that leaf rust resistance against isolate I-80 in MBR1012 is inherited in a monogenic manner.

Linkage analysis

The parents and the two bulks were analysed with a set of 248 co-dominant molecular markers, which were evenly distributed along the seven chromosomes of barley. Of these, 89 SSR (51%) and 21 SNP markers (29%) were polymorphic. Polymorphisms between the resistant and susceptible bulk were detected on chromosome 1H. Overall, out of the 32 SSR and 11 SNP markers localized on chromosome 1H, 14 and 3 were polymorphic, respectively. Based on these markers, a final genetic map of 119 cM of chromosome 1H was constructed (Fig. 1). The leaf rust resistance gene in MBR1012 was mapped in the telomeric region of the short arm of chromosome 1H. The closest linked markers are GBMS187 and GBS546, which map 0.8 cM distal to the resistance gene. On the proximal side, the closest marker

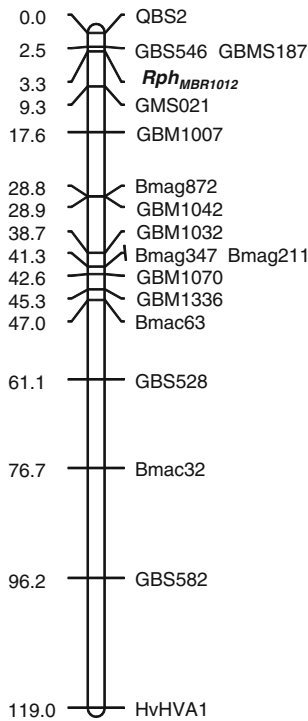


Fig. 1 Genetic map of chromosome 1H including the resistance locus *Rph*_{MBR1012}

identified is GMS21, which maps 6.0 cM from the resistance locus. The allele sizes and the restriction patterns of all mapped markers from chromosome 1H are given in Table 1.

Leaf rust infection patterns

The seven barley accessions displayed very different reaction patterns in response to the collection of 13 European leaf rust isolates (Table 2). Susceptible L94 and Gold carrying *Rph4* were highly susceptible to the entire collection of leaf rust isolates, while susceptible parental cultivar Scarlet exhibited resistance to 12 isolates and was only susceptible to isolate I-80. Although Cebada Capa (*Rph7*), H.sp.680 (*Rph16*) and MBR1012 turned out to be resistant to all isolates, their reaction patterns varied from 0_c (chlorosis), 0_n (necrosis) to 0-2-, respectively.

Diagnostic value of closest markers

To assess the diagnostic value of the four closest linked markers to the leaf rust resistance gene in MBR1012, a set of 51 barley accessions was assayed. This barley collection consisted of the original sources of the described *Rph* genes, near-isogenic lines of cultivar Bowman with introgressed *Rph* genes, two lines with partial leaf rust resistance, and 10 susceptible lines with no known *Rph* genes (Table 3). The number of detected alleles per marker in this analysed collection varied from three alleles for GBS546 and six alleles for GMS21 to nine and eleven alleles for QBS2 and GBMS187, respectively. Restriction pattern B of SNP marker GBS546 (Fig. 2), characteristic

Table 2 Differential reactions of seven barley cultivars/lines possessing known leaf rust resistance genes after inoculation with 13 *Puccinia hordei* isolates

Cultivar Isolate/gene	Gold <i>Rph4</i>	Cebada capa <i>Rph7</i>	Bowmann <i>Rph15</i>	Scarlett <i>Rph3/Rph9/Rph12</i>	H.sp. 680 <i>Rph16</i>	MBR1012 <i>Rph</i> _{MBR1012}	L 94 Susceptible
R 8-1	3-4	0 _c	0	0	0 _n	0	3-4
R 8-2	3-4	0 _c	0	0	0 _n	0	3-4
R 14-1	3-4	0 _c	0	0	0 _n	0	3-4
R 14-2	3-4	0 _c	0	0	0 _n	0	3-4
R 16-1	3-4	0 _c	0	0	0 _n	0	3-4
R 34-3	3-4	0 _c	0	0	0 _n	0	3-4
R 54-3	3-4	0 _c	0	0	0 _n	0	3-4
I 80	3-4	0 _c	0-2-	3	0 _n	0-2-	3-4
30-1*	3-4	0 _c	0-2-	0	0 _n	0, 0-1	3-4
30-1/2*	3-4	0 _c	0	0, 0-2-	0 _n	0, 0-2-	3-4
23- 3	3-4	0 _c	0	0	0 _n	0	3-4
23-1/2/3*	3-4	0 _c	0	0	0 _n	2-	3-4
23-1+3*	3-4	0 _c	0	0	0 _n	0, 0-2-	3-4

* Additional virulence to the Trumpf (*Rph12*)

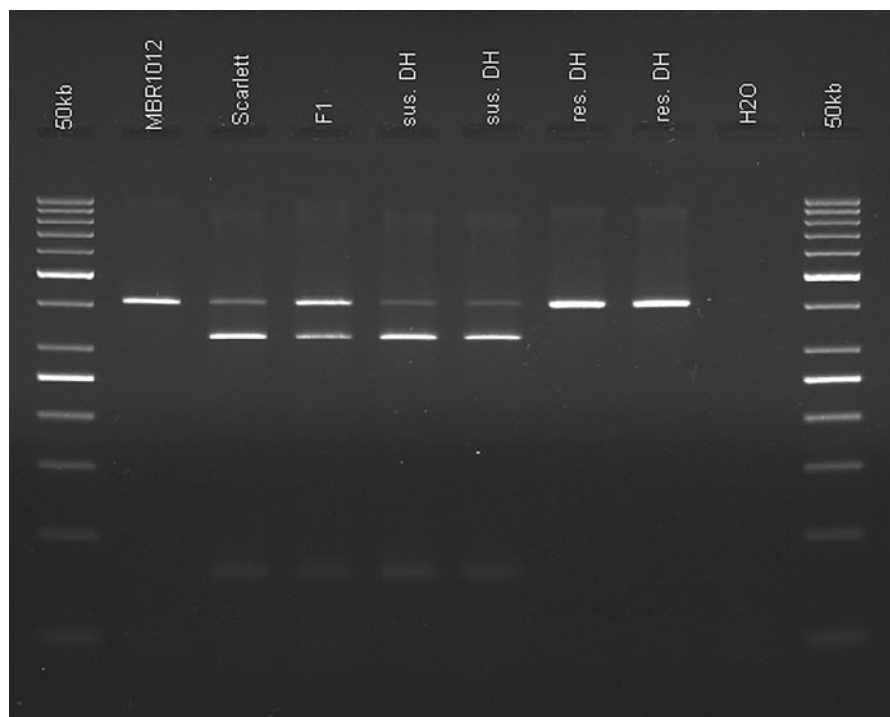
Table 3 Size of alleles and restriction patterns detected on 52 barley lines screened with the four markers most closely linked to the resistance locus on chromosome 1H

Cultivar/accession	Gene	Gene-locus	QBS2	GBMS187	GBS546	GMS21	Origin	Genbank no.	Locus
1 MBR1012	Resistant/Rph _{MBR1012}	–	361	Null	B	183	YU	Landrace	–
2 Scarlett	Rph3/Rph9/Rph12	7HL/5HS/5HL	328	161	A	Null	GER	Cultivar	Jin et al. (1993)/Borovkova et al. (1998)
3 Bowman	Susceptible	–	–	176	A	175	USA	Cultivar	–
4 Bowman Rph15	Rph15	2HS	–	176	A	175	USA	NIL Bowman	Weerasena et al. (2004)
5 195-264-1	Rph1a	2H	328/361	178	A	175	USA	NIL Bowman	Roane and Starling (1967)
6 195-266-1	Rph2.b	5HS	361	178	A	175	USA	NIL Bowman	Borovkova et al. (1997)
7 195-343-1	Rph2.y	5HS	328	148/178	A	170	USA	NIL Bowman	Borovkova et al. (1997)
8 195-267-2	Rph3.c	7HL	328/361	178	A	175	USA	NIL Bowman	Jin et al. (1993)
9 195-268-4	Rph4.d	1HS	328	178	B	170	USA	NIL Bowman	McDaniel and Hathcock (1969)
10 195-269-1	Rph5.e	3HS	361	178	B	175	USA	NIL Bowman	Mammadov et al. (2003)
11 195-270-2	Rph6.f	3HS	361	178	A	175	USA	NIL Bowman	Brunner et al. (2000)
12 196-424-2	Rph7.ac	3HS	321	178	A	175	USA	NIL Bowman	Brunner et al. (2000)
13 193-21	Rph7.g	3HS	361	178	A	178	USA	NIL Bowman	Brunner et al. (2000)
14 195-349-4	Rph8.h	7HS	328	178	A	175	USA	NIL Bowman	Borovkova et al. (1997)
15 194-224	Rph9.i	5HS	361	178	A	183	USA	NIL Bowman	Borovkova et al. (1998)
16 195-274-1	Rph9.z	5HS	361	178	A	175	USA	NIL Bowman	Borovkova et al. (1998)
17 195-273-2	Rph10.o	3HL	361	178	A	175	USA	NIL Bowman	Feuerstein et al. (1990)
18 195-272-1	Rph11.p	6HS	323	178	A	183	USA	NIL Bowman	Feuerstein et al. (1990)
19 195-288-2	Rph13.x	7HS	328/361	178	A	175	USA	NIL Bowman	Sun and Neate (2007)
20 195-290-2	Rph14.ab	7HS	361	148/178	A	183	USA	NIL Bowman	Golegaonkar et al. (2009)
21 195-282-2	Rph15.ad	2HS	361	178	A	175	USA	NIL Bowman	Weerasena et al. (2004)
22 Sudan	Rph1	2H	328	178	A	175	USA	AHOR 307	Roane and Starling (1967)
23 Peruvian	Rph2	5HS	374	178	B	183	USA	AHOR 255	Borovkova et al. (1997)
24 Rika x FI	Rph3	7HL	361	178/161	A	178	GER	AHOR 1308	Jin et al. (1993)
25 Gold	Rph4	1HS	327	178	B	178	DNK	AHOR 118	McDaniel and Hathcock (1969)
26 Cebada Capa	Rph7	3HS	327	178	A	175	TUR	AHOR 4270	Brunner et al. (2000)
27 Quinn	Rph2+Rph5	5HS+3HS	321/327/363	178	A	175	USA	AHOR 2397	Borovkova et al. (1997)/Mammadov et al. (2003)
28 Bolivia	Rph2+Rph6	5HS+3HS	321/341	178	B	183	USA	AHOR 4506	Borovkova et al. (1997)/Brunner et al. (2000)

Table 3 continued

	Cultivar/accession	Gene	Gene-locus	QBS2	GBMS187	GBS546	GMS21	Origin	Genbank no.	Locus
29	Egypt4	Rph8	7HS	328/373	178	A	183	USA	AHOR 3875	Borovkova et al. (1997)
30	HOR 500-1	Rph1d+Rph1r	2H	328	178	B	175	TUR	AHOR 500	Roane and Startling (1967)
31	HOR 1132	Rph2r	5HS	328/361	178	C	187	France	AHOR 1132	Borovkova et al. (1997)
32	HOR 2596	Rph9	5HS	–	178	A	183	ETH	Abyssinian	Borovkova et al. (1998)
33	HOR 679-3	Rph3	7HL	361	178	A	183	GRC	AHOR 679	Jin et al. (1993)
34	Estate	Rph3+r	7HL	328	178	C	175	USA	AHOR 2476	Jin et al. (1993)
35	Oderbrucker	Rph1	2H	328	181	A	175	GER	AHOR 1898	Roane and Startling (1967)
36	Rekal	Rph3+?	7HL	328	181	B	183	USA	AHOR 4845	Jin et al. (1993)
37	HOR 4280	Rph1d+Rph1r	2H	328	181	A	183	ITA	AHOR 4280	Roane and Startling (1967)
38	Trumpf	Rph12	5HL	328/361	181	B	170	GER	AHOR 4967	Borovkova et al. (1998)
39	H.spon.680	Rph16	2HS	328	181	A	183	GER	–	Ivandic et al. (1998)
40	Hanka	Rph7	3HS	–	181	A	175	Israel	–	Brunner et al. (2000)
41	Krona	Rph12	5HL	361	181	A	170	GER	–	Borovkova et al. (1998)
42	HOR 1063	Partial res.	–	361	148	C	170	ETA	AHOR 3036	–
43	Vada	Partial res.	–	–	178	B	170	GER	AHOR 10987	–
44	Karat	Susceptible	–	328/361	178	A	175	NLD	–	–
45	L94	Susceptible	–	328	178	A	170	GER	–	–
46	Grossklappige	Susceptible	–	328	148/178	A	175	CSK	AHOR 9796	–
47	Salome	Susceptible	–	328	178	A	175	GER	AHOR 9735	–
48	Lada	Susceptible	–	328/361	181	B	175	GER	HHOR 2276	–
49	Alexis	Susceptible	–	328/348	178	A	170	GER	–	–
50	Igri	Susceptible	–	321	161/178	A	175	TUR	AHOR 1063	–
51	MBR532	Susceptible	–	328	178	A	170	YU	–	–
52	Emir	Susceptible	–	328/361	178	C	170	NLD	AHOR 3548	–

Fig. 2 Pattern of the CAPS marker GBS546 after digestion with *Hha*I closely linked to resistance locus $Rph_{MBR1012}$



of the resistant parent MBR1012, was observed for ten other genotypes. Similarly, for the closest proximal marker SSR GMS21, ten genotypes showed the same allele pattern as the resistant parent MBR1012. Accuracies in prediction of $Rph_{MBR1012}$ were 74.5% for QBS2, 78.5% for GMS21, 80.5% for GBS546 and 100% for GBMS187. Therefore, we conclude that QBS2, GBS546 and GMS21 have no diagnostic value for tagging the resistance gene described in MBR1012, but could be used for the transfer of the resistance gene into elite cultivars. The closely linked marker GBMS187 (Fig. 3) detected a null allele in the resistant parent MBR1012, whereas in the other genotypes examined eight different alleles were identified. Although the null allele of the GBMS187 in the parent MBR1012 is unique in the germplasm investigated, the use of this marker in breeding is of limited value due to its dominant mode of inheritance.

Discussion

The gene pool of cultivated barley is largely depleted of major resistance genes for many fungal and viral pathogens (Graner et al. 2000a). The collection of spring barley landraces from the former Yugoslavia

that was used in this study is a rich resource of important disease resistances (Perovic et al. 2001). Although the diversity present in this barley collection represents a good base for the transfer of many important traits into elite cultivars, it is seldom used in breeding programs. To enhance the use of genetic diversity from this collection, the leaf rust resistance in line MBR1012 was evaluated in detail.

Leaf rust resistance in landrace MBR1012 is conferred by a major gene, which exhibits a hypersensitive reaction to many of the most widespread virulent European *P. hordei* isolates and is located on the distal portion of the short arm of chromosome 1H.

A linkage map was constructed for chromosome 1H. In general, the order of markers in this genetic map was in agreement with previously published maps (Stein et al. 2007; Varshney et al. 2007; Kota et al. 2008). Only slight deviations in the marker order among the different maps were observed and they may be explained by the fact that the maps of Varshney et al. (2007) and Stein et al. (2007) are consensus maps constructed by the integration of four independent genetic maps of barley. In order to convert the RFLP marker GBR218 that is mapped to the most telomeric region of chromosome 1H according to Stein et al. (2007), specific primers were designed for

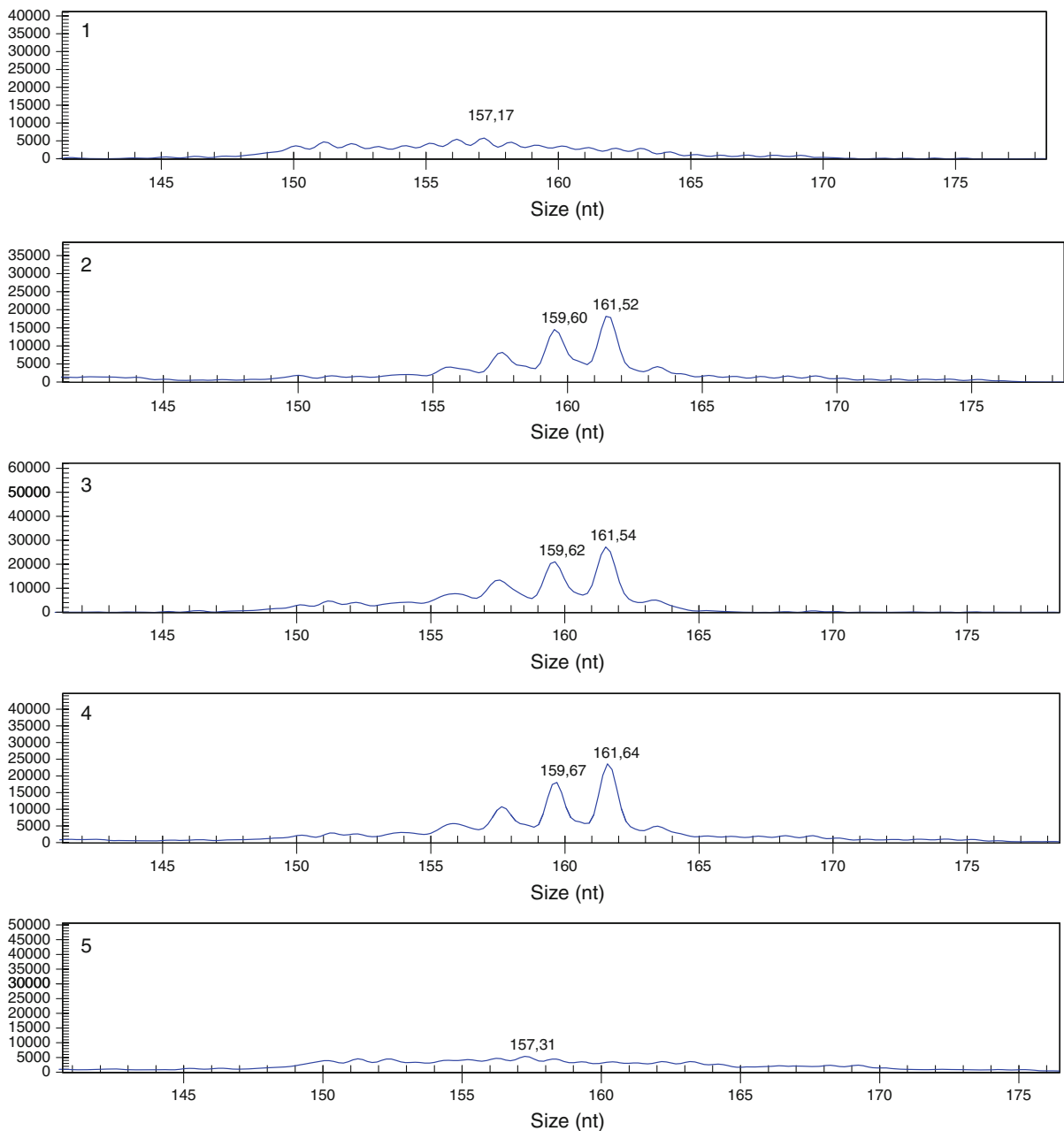


Fig. 3 Chromatograms of the SSR marker GBMS187 closely linked to the resistance gene Rph_{MBR1012} . The order of genotypes are: 1 resistant parent MBR1012, 2 susceptible parent Scarlett, 3 F1-plant, 4 susceptible DH line and 5 resistant DH line

amplification and sequencing. Generally, RFLP markers are very robust markers, but their analysis is expensive and laborious. Here, we converted the GBR marker into an easy-to-use PCR marker. The newly developed PCR marker QBS2 directly detects an insertion/deletion polymorphism of 33 bp between the

parents (Table 1), was locus-specific and showed the same map location as the corresponding RFLP marker.

The leaf rust resistance locus Rph_{MBR1012} was mapped in a 6.8-cM interval between the markers GBMS187/GBS546 and GMS21. GBMS187 and GBS546 co-segregate and are the closest linked

markers (0.8 cM distal) to *Rph*_{MBR1012}. Because of this genetic position, it was assumed that they may be useful as diagnostic molecular markers in breeding programs employing marker-assisted selection (MAS). Although they co-segregated, an assessment of germplasm revealed different accuracies in the prediction of the MBR1012 resistance gene, viz. 80.5% for GBS546 and 100% for GBMS187. It is important to note that GBMS187 (Fig. 3) is a dominant marker in our population; hence, it may not be the best marker for MAS of this leaf rust resistance gene. Since we were able to convert SNP markers into CAPS markers, an easy-to-use PCR MAS scheme can be conducted in combination with flanking markers GBS546/GBMS187 and GMS21.

Other dominant leaf rust resistance genes have been mapped to nearly all barley chromosomes (see overview by Golegaonkar et al. 2009). The genes *Rph7* and *Rph10* were mapped to chromosome 3H (Feuerstein et al. 1990; Graner et al. 2000b; Zhong et al. 2003), *Rph2* to chromosome 5HS (Borovkova et al. 1997), *Rph3* to 7HL (Jin et al. 1993), *Rph11* to 6HL (Feuerstein et al. 1990) and *Rph15* and *Rph16* to 2H (Weerasena et al. 2004). Only the dominant gene *Rph4*, derived from cultivar Gold, was localized on chromosome 1HS through its linkage (~17 cM) with the powdery mildew resistance locus *Mla* (McDaniel and Hathcock 1969). However, this chromosome 1H assignment is probably incorrect, based on comprehensive SNP data from cultivar Bowman and the corresponding near-isogenic line carrying *Rph4* (Arnis Druka, personal communication). The most likely location of *Rph4* according to this information is chromosome 2H. This, coupled with the fact that the leaf rust resistance gene in MBR1012 exhibits a completely different resistance spectrum from *Rph4* to the common European leaf rust isolates (including I-80, Table 2), provides strong evidence that the two genes are different. Before we can unequivocally determine that the leaf rust resistance gene in MBR1012 is different from all other previously described genes in barley, a provisional locus designation of *Rph*_{MBR1012} is being assigned.

*Rph*_{MBR1012} provides effective resistance against leaf rust isolate I-80, which is capable of overcoming all common leaf rust resistance genes in the European barley gene pool, except for *Rph7*, *Rph15* and *Rph16*. While *Rph7* has been incorporated into many European barley cultivars, there are no reports to our

knowledge on the incorporation of *Rph15* and *Rph16*, which are derived from *H. vulgare* ssp. *spontaneum*. In contrast to genes derived from wild barley where linkage drag can be a serious problem, the resistance gene *Rph*_{MBR1012} is derived from a landrace and may be integrated into adapted cultivars much faster, thereby broadening the genetic base of leaf rust resistance. Although further research on this gene is needed, the results of this work open the opportunity to broaden the genetic base of resistance to *P. hordei* in barley and provide breeding programs with genetic markers that will facilitate the faster incorporation of this resistance into elite cultivars.

References

- Borovkova IG, Jin Y, Steffenson BJ, Kilian A, Blake TK, Kleinhofs A (1997) Identification and mapping of a rust resistance gene in barley line Q21861. *Genome* 40:236–241. doi:10.1139/g97-033
- Borovkova IG, Jin Y, Steffenson BJ (1998) Chromosomal location and genetic relationship of leaf rust resistance genes *Rph9* and *Rph12* in barley. *Phytopathology* 88:76–80. doi: 10.1094/PHYTO.1998.88.1.76
- Boskovic J, Boskovic M (2009) Durable resistance to *Puccinia triticina* by accumulation of resistance genes. *Genetika-Belgrade* 41:353–378. doi:10.2298/GENSRO903355B
- Boutin-Ganache I, Raposo M, Raymond M, Deschepper CF (2001) M13-tailed primers improve the readability and usability of microsatellite analyses performed with two different allele sizing methods. *Biotechniques* 31:24–28
- Brunner S, Keller B, Feuillet C (2000) Molecular mapping of *Rph7.g* leaf rust resistance gene in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 101:783–788. doi:10.1007/s001220051544
- Clifford BC (1985) Barley leaf rust. In: Roelfs AP, Bushnell WR (eds) *The cereal rusts. Diseases, distribution, epidemiology, and control*, vol II. Academic Press, New York, pp 173–205
- Cotterill PJ, Rees RG, Platz GJ, Dill-Macky R (1992) Effects of leaf rust on selected Australian barley. *Aust J Exp Agric* 32:747–751. doi:10.1071/EA9920747
- Cromey MG, Viljanen Rollinson SLH (1995) Virulence of *Puccinia hordei* on barley in New Zealand from 1990 to 1993. *N Z J Crop Hort Sci* 23:115–119
- Das MK, Griffey CA, Baldwin RE, Waldenmaier CM, Vaughn ME, Price AM, Brooks WS (2007) Host resistance and fungicide control of leaf rust (*Puccinia hordei*) in barley (*Hordeum vulgare*) and effects on grain yield and yield components. *Crop Prot* 26:1422–1430. doi:10.1016/j.cropro.2006.12.003
- Dreiseitl A (1990) Overcoming the resistance of barley conferred by gene *Pa3* against leaf rust (*Puccinia hordei* Oth). *Genet Sel* 26:159–160

- Fetch TG, Steffenson BJ, Jin Y (1998) Worldwide virulence of *P. hordei* on barley. *Phytopathology* 88(Suppl):28–34
- Feuerstein U, Brown AHD, Burdon JJ (1990) Linkage of rust resistance genes from wild barley (*Hordeum spontaneum*) with isozyme markers. *Plant Breed* 104:318–324. doi:10.1007/BF000442-x
- Franckowiak JD, Jin Y, Steffenson BJ (1996) Recommended allele symbols for leaf rust resistance genes in barley. *Barley Genet Newsl* 27:36–44
- Golan T, Anikster Y, Moseman JG, Wahl I (1978) A new virulent strain of *Puccinia hordei*. *Euphytica* 27:185–189. doi:10.1007/BF00039134
- Golegaonkar PG, Karaoglu H, Park RF (2009) Molecular mapping of leaf rust resistance gene *Rph14* in *Hordeum vulgare*. *Theor Appl Genet* 119:1281–1288. doi:10.1007/s00122-009-1132-0
- Graner A, Michalek W, Streng S (2000a) Molecular mapping of genes conferring resistance to viral and fungal pathogens. In: *Proc. VIIIth Int. Barley Genetics Symp.*, Adelaide, Australia, vol I, pp 45–52
- Graner A, Streng S, Drescher A, Jin Y, Borovkova I, Steffenson BJ (2000b) Molecular mapping of the leaf rust resistance gene *Rph7* in barley. *Plant Breed* 119:389–392. doi:10.1111/j1439-0523,1990tb00442.x
- Ivancic V, Walther U, Graner A (1998) Molecular mapping of a new gene in wild barley conferring complete resistance to leaf rust (*Puccinia hordei* Otth). *Theor Appl Genet* 97:1235–1239. doi:10.1007/s001220051015
- Jin Y, Statler GD, Franckowiak JD, Steffenson BJ (1993) Linkage between leaf rust resistance genes and morphological markers in barley. *Phytopathology* 83:230–233. doi:10.1094/Phyto-83-230
- Jin Y, Steffenson BJ, Bockelman HE (1995) Evolution of cultivated and wild barley for resistance to pathotypes of *Puccinia hordei* with wide virulence. *Genet Resour Crop Evol* 42:1–6. doi:10.1007/BF02310678
- Kosambi DD (1944) The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugen* 12:172–175
- Kota R, Varshney RK, Prasad M, Zhang H, Stein N, Graner A (2008) EST-derived single nucleotide polymorphism markers for assembling genetic and physical maps of the barley genome. *Funct Integr Genomics* 8:223–233. doi:10.1007/s10142-007-0060-9
- Levine MN, Cherewick WJ (1952) Studies on dwarf leaf rust of barley. *US Dept Agr Tech Bull* 1056:1–17
- Li JZ, Sjakste TG, Röder MS, Ganai MW (2003) Development and genetic mapping of 127 new microsatellite markers in barley. *Theor Appl Genet* 107:1021–1027. doi:10.1007/s00122-003-1345-6
- Maccaulay M, Ramsay L, Powell W, Waugh R (2001) A representative, highly informative ‘genotyping set’ of barley SSR’s. *Theor Appl Genet* 102:801–809. doi:10.1007/s001220000487
- Mammadov JA, Zwonitzer JC, Biyashev RM, Griffey CA, Jin Y, Steffenson BJ, Saghai Maroof MA (2003) Molecular mapping of leaf rust resistance gene *Rph5* in barley. *Crop Sci* 43:388–393
- Mathre DE (1997) *Compendium of Barley Diseases*, 2nd edn. American Phytopathological Society Press, St. Paul
- McDaniel ME, Hathcock BR (1969) Linkage of *Pa₄* and *M_{1a}* loci in barley. *Crop Sci* 9:822. doi:10.2135/cropsci1969.0011183X000900060047
- Michelmore RW, Paran I, Kesseli RV (1991) Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:9828–9832
- Niks RE, Walther U, Jaiser H, Martinez F, Rubiales D, Anderson O, Flath K, Gymer P, Heinrichs F, Jonsson R, Kuntze L, Rasmussen M, Richter E (2000) Resistance against barley leaf rust (*Puccinia hordei*) in West European spring barley germplasm. *Agronomie* 20:769–782. doi:10.1051/agro:2000174
- Parlevliet JE (1981) Race-non-specific disease resistance. In: Jenkyn JF, Plumb RT (eds) *Strategies for the control of cereal disease*. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, pp 47–54
- Perovic D, Przulj N, Milovanovic M, Prodanovic S, Perovic J, Kophanke D, Ordon F, Graner A (2001) Characterisation of spring barley genetic resources in Yugoslavia. In: *Proceedings of a symposium dedicated to the 100th birthday of Rudolf Mansfeld, Band 22*, pp 301–306
- Perovic D, Stein N, Zhang H, Drescher A, Prasad M, Kota R, Kophanke D, Graner A (2004) An integrated approach for comparative mapping in rice and barley with special reference to *Rph16*. *Funct Integr Genomics* 4:74–83. doi:10.1007/s10142-003-0100-z
- Perovic D, Tiffin P, Douchkov D, Bäumlein H, Graner A (2007) An integrated approach for comparative analysis of multigene families with special reference to the barley nicotianamine synthase genes. *Funct Integr Genomics* 7:169–179. doi:10.1007/s10142-006-0040-5
- Ramsay L, Maccaulay M, degli Ivanisovich S, McLean K, Cardle L, Fuller J, Edwards KJ, Tuvevsson S, Morgante M, Massari A, Maestri E, Marmiroli N, Sjakste T, Ganai M, Powell W, Waugh R (2000) A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics* 156:1997–2005
- Reinhold M., Sharp EL (1980) Some virulence types of *Puccinia hordei* from semi-arid environments. In: *Proceedings of 5th European and Mediterranean Cereal Rusts Conference, Bari, Italy*, pp 147–148
- Roane CW, Starling TM (1967) Inheritance of reaction to *Puccinia hordei* in barley. II Gene symbols for loci in differential cultivars. *Phytopathology* 57:66–68
- Steffenson BJ, Jin Y, Griffey CA (1993) Pathotypes of *Puccinia hordei* with virulence for the barley leaf rust resistance gene *Rph7* in the United States. *Plant Dis* 77:867–869
- Stein N, Herren G, Keller B (2001) A new DNA extraction method for high-throughput marker in a large-genome species such as *Triticum aestivum*. *Plant Breed* 120:354–356. doi:10.1046/j.1439-0523.2001.00615.x
- Stein N, Prasad M, Scholz U, Thiel T, Zhang H, Wolf M, Kota R, Varshney K, Perovic D, Grosse I, Graner A (2007) A 1,000-loci transcript map of the barley genome: new anchoring points for integrative grass genomics. *Theor Appl Genet* 114:823–839. doi:10.1007/s00122-006-0480-2
- Struss D, Plieske J (1998) The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. *Theor Appl Genet* 97:308–315. doi:10.1007/s001220050900
- Sun Y, Neate S (2007) Genetics and molecular mapping of *Rph13*, a gene conferring resistance to leaf rust in barley. *Phytopathology* 97:S112–S112

- Thiel T, Michalek W, Varshney RK, Graner A (2003) Exploiting EST databases for the development and characterization of gene derived SSR markers in barley. *Theor Appl Genet* 103:411–422. doi:[10.1007/s00122-002-1031-0](https://doi.org/10.1007/s00122-002-1031-0)
- Thiel T, Kota R, Grosse I, Stein N, Graner A (2004) SNP2CAPS: a SNP and INDEL analysis tool for CAPS marker development. *Nucleic Acids Res.* doi:[10.1093/nar/gnh006](https://doi.org/10.1093/nar/gnh006)
- Van Ooijen JW (2006) Join Map[®]4.0 software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma BV, Wageningen, The Netherlands
- 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. doi:[10.1007/s00122-007-0503-7](https://doi.org/10.1007/s00122-007-0503-7)
- Walther U (1979) Virulence and resistance—the situation in *Puccinia hordei* West. *Archiv für Züchtungsforschung* 9:49–54
- Walther U (1987) Inheritance of resistance of *Puccinia hordei* Oth in the spring barley variety Trumpf. *Cereal Rusts Bull* 15:20–26
- Walther U, Lehmann CO (1980) Resistenzeigenschaften im Gersten- und Weizensortiment Gatersleben. 24. Prüfung von Sommer- und Wintergersten auf Verhalten gegenüber Zwergrost (*Puccinia hordei* Oth.). *Kulturpflanze* 28: 227–228
- Weerasena JS, Steffenson BJ, Falk AB (2004) Conversion of an amplified fragment length polymorphism marker into a co-dominant marker in mapping of the *Rph15* gene conferring resistance to barley leaf rust, *Puccinia hordei* Oth. *Theor Appl Genet* 108:712–719. doi:[10.1007/s00122-003-1470-2](https://doi.org/10.1007/s00122-003-1470-2)
- Werner K, Friedt W, Ordon F (2005) Strategies for pyramiding resistance genes against the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV2). *Mol Breed* 16:45–55. doi:[10.1007/s1132-005-3445-2](https://doi.org/10.1007/s1132-005-3445-2)
- Zhong S, Effertz RJ, Jin Y, Franckowiak JD, Steffenson BJ (2003) Molecular mapping of the leaf rust resistance gene *Rph6* in barley and its linkage relationships with *Rph5* and *Rph7*. *Phytopathology* 93:604–609. doi:[10.1094/Phyto.2003.93.5.604](https://doi.org/10.1094/Phyto.2003.93.5.604)

Development of an efficient method for assessing resistance to the net type of net blotch (*Pyrenophora teres f. teres*) in winter barley and mapping of quantitative trait loci for resistance

J. König · D. Perovic · D. Kopahnke ·
F. Ordon

Received: 21 December 2012 / Accepted: 27 May 2013 / Published online: 21 June 2013
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2013

Abstract Breeding for resistance against *Pyrenophora teres f. teres* in barley is difficult due to the high virulence diversity of the pathogen and the fact that in field trials a simultaneous infection with *Rhynchosporium commune*, *Puccinia hordei* or *Blumeria graminis f. sp. hordei* often takes place. To avoid this, a so-called “summer hill trial” was developed in which winter barley is sown at the beginning of August at optimum conditions for *P. teres* infection. These trials allowed an unequivocal scoring of *P. teres* resistance. Using this approach, strong correlations of the results obtained in 3 years at two locations were observed and heritability was estimated at $h^2 = 0.80$ for the doubled haploid (DH) population Uschi × HHOR3073 and $h^2 = 0.62$ for (Post × Viresa) × HHOR9484. In parallel, genetic maps based on DArT, SSR and SNP markers were constructed, comprising 705.7 cM for the DH

population Uschi × HHOR3073 and 1,035.8 cM for (Post × Viresa) × HHOR9484. In the population Uschi × HHOR3073, one quantitative trait locus (QTL) was detected on each of chromosomes 2H and 3H and two on chromosome 5H, explaining between 9.4 and 19.0 % of the phenotypic variance. In the population (Post × Viresa) × HHOR9484, three QTL were detected on chromosome 5H and one on chromosome 7H, explaining between 12.6 and 34.7 % of the phenotypic variance. These results show that the new summer hill trial design is best suited to obtain reliable phenotypic data for *P. teres* resistance under field conditions, as on the one hand already known QTL were confirmed and on the other hand new QTL were detected.

Keywords Barley · Summer hill · Net blotch · QTL · DArT · *Pyrenophora teres f. teres*

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s11032-013-9897-x) contains supplementary material, which is available to authorized users.

J. König (✉) · D. Perovic · D. Kopahnke · F. Ordon
Federal Research Institute for Cultivated Plants,
Institute for Resistance Research and Stress Tolerance,
Julius Kühn-Institut (JKI), Erwin-Baur-Str. 27,
06484 Quedlinburg, Germany
e-mail: janine.koenig@jki.bund.de

J. König
Department Physiology and Biochemistry of Plants
and Microbiology, Institute for Biology, Free University
Berlin, Königin-Luise-Str. 12–16, 14195 Berlin, Germany

Introduction

The fungus *Pyrenophora teres f. teres* Drechsler, the causal agent of the net type of net blotch in barley (*Hordeum vulgare*), causes an important disease of the crop in all growing areas around the world. Yield losses range from 10 to 40 % if susceptible cultivars are grown under moderate disease pressure (Ma et al. 2004; Murray and Brennan 2010). In addition, infection leads to a reduction in kernel size and negatively affects malting and feeding quality of barley (Grewal et al.

2008; Mathre 1997). The net type of net blotch is a highly variable pathogen and is composed of a large number of distinct pathotypes (Tekauz 1990; Steffenson and Webster 1992; Afanasenko et al. 1995, 2007; Robinson and Jalli 1996). This variability, combined with the adoption of reduced or zero tillage practices, has significantly increased the incidence of the net type of net blotch in recent years (Lehmensiek et al. 2007).

With respect to breeding for resistance to *P. teres*, it was shown that results obtained in greenhouse tests are in several cases not identical to field data obtained on adult plants (Steffenson et al. 1996; Grewal et al. 2008), due to the fact that resistance against *P. teres* f. *teres* is influenced by the developmental stage of plants tested and the pathotype used (Ho et al. 1996; Steffenson et al. 1996; Afanasenko et al. 1999; Manninen et al. 2000; Cakir et al. 2003).

Variation in the virulence of *P. teres* f. *teres* has often been reported (Tekauz 1990; Steffenson and Webster 1992; Gupta and Loughman 2001; Wu et al. 2003; Afanasenko et al. 2007). Therefore, in order to get reliable data it is of particular importance for barley breeding to have a robust field test for assessing resistance to net blotch. This method should facilitate phenotyping without a strong secondary affliction with other fungal pathogens like *Rhynchosporium commune* (formerly *R. secalis*; Zaffarano et al. 2011), *Puccinia hordei* or *Blumeria graminis*. In particular, scald caused by *Rhynchosporium commune* and net blotch often occur simultaneously (Xue et al. 1994) in natural infection. In this respect, Xi et al. (2008) observed that scald severity tends to be higher than net blotch severity at early sowing dates whereas net blotch severity was generally higher than scald severity at late sowing in Canada in 2001 and 2003.

Due to the difficulties in assessing resistance against *P. teres* in field trials, molecular markers for resistance against *P. teres* are of prime importance in barley breeding. With respect to markers, starting from restriction fragment length polymorphism (RFLP) (Graner et al. 1991) via simple sequence repeat (SSR) markers (Ramsay et al. 2000), high-throughput techniques like the Diversity Array Technology (DArT) (Wenzl et al. 2004) and single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping platforms (Close et al. 2009; Comadran et al. 2012) are available today. In contrast to phenotyping, molecular markers facilitate selection at early growth stages of plants in a high-throughput manner and the respective

markers are relatively cheap since the advent of SNP detection platforms (Miedaner and Korzun 2012). As a result, markers for many major resistance genes in barley (Ordon et al. 2009) and quantitative trait loci (QTL) involved in resistance against viral (Scheurer et al. 2001; Riedel et al. 2011) or fungal diseases (Dahleen et al. 2012; Schweizer and Stein 2011) have been developed. Molecular markers linked to resistance to *P. teres* are the base for marker-assisted selection (MAS) procedures in developing cultivars with improved resistance (Grewal et al. 2010). Studies on resistance against the net type of net blotch in barley have largely been accomplished using biparental linkage mapping of QTL (Mackay and Powell 2006). Several groups identified net blotch resistance to be quantitatively inherited, especially in adult plants and under field conditions (Douglas and Gordon 1985; Arabi et al. 1990; Steffenson et al. 1996; Robinson and Jalli 1997). Known QTL for resistance to the net type of net blotch in adult plants are: QNFNBAPR.AI/S-2H (2HC), QNFNBAPR.AI/S-3H (3HL), QNFNBAPR.AI/S-4H.b (4HL), QNFNBAPR.AI/S-7Ha (7HS), QNFNBAPR.AI/S-4H (4HL), QNFNBAPR.AI/S-5H (5HS), QNFNBAPR.AI/S-1H (1HS), QNFNBAPR.AI/S-7H (7HS) (Lehmensiek et al. 2007), *QRts5* (5H), *QRpt6* (6H), *QRpts2* (2H), *QRtta3* (3H), *QRtta5* (5H), *QRpts4* (4H), *QRpt7* (7H) (Grewal et al. 2008), *QRpta2* (2HL), *QRpta5.1* (5H) and *QRpta5.2* (5H) (Grewal et al. 2012). In addition, Grewal et al. (2008) compared seedling and adult plant resistance within the same population and showed that the QTL located on chromosome 6H is effective at both developmental stages.

The aim of our study was therefore (1) to develop an efficient and reliable method for field testing of net blotch resistance and (2) to detect QTL for net blotch resistance in two doubled haploid (DH) populations based on this reliable test as a base for MAS procedures.

Materials and methods

Plant material

Two winter barley F1-derived DH populations comprising 133 lines of a cross between the resistant parent HHOR3073 and the susceptible cultivar Uschi and 85 lines of the cross between the resistant parent HHOR9484 and a susceptible F7 line of the cross

Post \times Viresa (P \times V) were used in this study. DH lines were provided by Saaten-Union Biotech (Leopoldshöhe, Germany).

Field trials and phenotyping

Field trials were conducted at two locations in Germany—Quedlinburg, (Saxony–Anhalt) and Thüle (Lower Saxony)—each with two replications in 3 years (2008/2009/2010). In order to get reliable results, so-called “summer hill trials” were developed to test resistance to net blotch in winter barley. DH lines were sown in hill-plots with 25 seeds per hill in two replications at a distance between hills of 50 cm at the beginning of August (04.08–10.08). The temperature in the 3 years of field trials in Quedlinburg ranged between 9.1–9.2 °C (min) and 17.2–19.2 °C (max) in the trial period from August to October. The mean value of relative humidity was also very similar, ranging from 82.7 to 87.4 %. Only rainfall was markedly higher in 2010 (266 ml/m²) over that recorded in the other 2 years (140 and 143.2 ml/m², respectively). Because of the high relative humidity and rainfall, artificial irrigation was not needed to induce infection in the field trials.

As a resistant standard, the gene bank accession HHOR10860 was sown in regular intervals (each 40th genotype) between the DH lines. To achieve a continuous pressure of infection, the susceptible standards Candesse and Stamm4046 were grown on each side of the hills (Fig. 1). Artificial inoculation was conducted by distributing naturally infested straw debris before sowing (early August). The inoculum consists of naturally infected barley straw debris harvested from both locations and mixed before applying to the field. The same debris was used every year at both locations, so that we assume that the same mixture of pathotypes was present in all years and locations. The seeds were sown with the help of a so-called ‘hill-pipe’ (length 80 cm). This plastic pipe has a diameter of 11 cm and at its end a wire mesh is fixed in order to achieve a better distribution of seeds.

The net blotch development was monitored over the season on the basis of these hills from the time when first symptoms were detected on the susceptible standard (mostly at the beginning of tillering, BBCH 21). The symptoms of the net type of net blotch were scored by estimating the percentage of leaf area with chlorosis and necrosis. The disease severity was recorded in September and October at a minimum of three times.

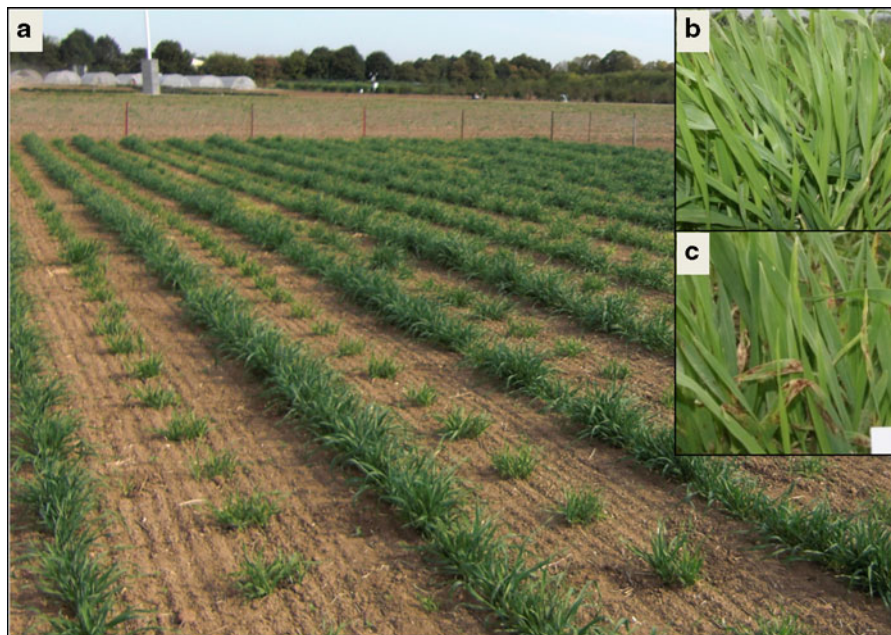


Fig. 1 **a** Summer hill trial in early September with DH lines in single hills and susceptible standards Candesse and Stamm 4046 in rows, respectively, on each side. **b** Resistant parental

line HHOR3073. **c** Susceptible parental line Uschi showing symptoms of *Pyrenophora teres* f. *teres* infection

Statistical analysis

The area under the disease progress curve (AUDPC) was calculated using the software RESI (Moll et al. 1996) and from that the mean value of the percentage leaf area infested over the time was calculated (Moll et al. 2000). All further statistical analyses were conducted with the software package SAS 9.1. Testing for normal distribution was done by the Kolmogorov–Smirnov test ($p < 0.05$) and the coefficient of correlation was determined according to Pearson. Based on the results of the analysis of variance (ANOVA), heritability was calculated according to the formula of Allard (1960).

Marker analyses

Genomic DNA was extracted from leaves of 14-day-old plants according to Stein et al. (2001). The concentration and quality of DNA was determined using the NanoDrop ND-100 spectrophotometer (PeQLab, Erlangen, Germany) and gel electrophoresis. All samples were adjusted to a final concentration of 20 ng/ μ l.

At first, a total of 175 SSRs and 73 SNPs (König et al. 2012) were screened for polymorphism between the parents. All markers which were polymorphic between the parental lines were used for genotyping. PCR was performed in a volume of 10 μ l for SSR markers and 20 μ l for SNP (Kota et al. 2008) markers. PCR conditions were similar to those described by Perovic et al. (2013). Detection of allele sizes for the SSR markers was conducted using a capillary electrophoresis ABI PRISM[®] 3100 genetic analyzer (Applied Biosystems) or a CEQ[™] 8000 Genetic Analysis System (Beckman).

DArT analyses

To get better marker saturation, DArT analyses (Wenzl et al. 2004) were conducted on both populations. The whole DH population of the cross ($P \times V$) \times HHOR9484 was analyzed, along with 92 DH lines out of the population Uschi \times HHOR3073 representing the phenotypic distribution observed on the whole population. Analyses were carried out by Diversity Arrays Technology Pty Ltd, CSIRO, 1 Wilf Crane Cr., Yarralumla, ACT 2600, Australia.

Map construction and QTL calculation

The genetic map was constructed using JoinMap 4.0 (van Ooijen 2006), applying the Kosambi function (Kosambi 1944). Only markers with a LOD (logarithm of odds) score of 3 were integrated into the map.

These maps together with the phenotypic data based on the summer hill trials were used to map QTL for resistance to the net type of net blotch using MapQTL 5.0 (van Ooijen 2004), applying the restricted MQM mapping. The significant LOD threshold was calculated with the permutation test for each population, resulting in LOD 2.5 for both populations. QTL plots were produced by MapChart software (Voorrips 2002).

Results

Phenotypic analysis

In 3 years of experiments, the conditions at the various sowing times in August were optimal for net blotch infection, growth of the net blotch pathogen, and the sporulation and spread of the conidia. In particular, the humidity in the morning (dew) and additionally the temperature during the day distinguishes this method from normal sowing in autumn. The symptoms of the net type of net blotch were scored three times, mostly from September until the end of October. In 3 years of experiment, no secondary infection with *Rhynchosporium commune*, *Puccinia hordei* or *Blumeria graminis* was observed at any location (Fig. 1), despite the fact that the parental lines Uschi and Post are susceptible or moderately resistant to these pathogens, respectively (Anonymous 2005; Wagner et al. 2008). In the susceptible standard rows, a mean value of 70 % leaf area infested over 3 years and two locations was observed, so that they functioned as disease spreaders over the entire season. Using this method an unequivocal scoring of resistance against *P. teres* was possible (Fig. 1). Disease scores were used to study segregation of both DH populations, viz. Uschi \times HHOR3073 (Fig. 2) and ($P \times V$) \times HHOR9484 (Fig. 3). In both populations a quantitative variation of resistance against *P. teres* was observed and both show a continuous distribution, which does not fit to a normal distribution ($p > 0.05$).

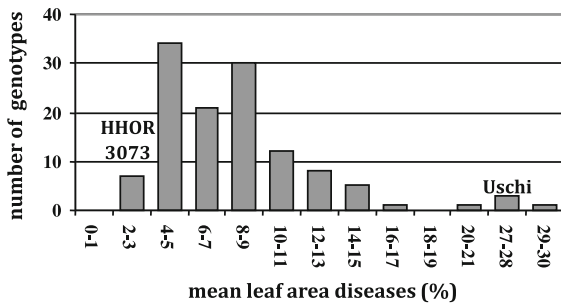


Fig. 2 Distribution of the average leaf area diseased of the population Uschi × HHOR3073 calculated using the AUDPC in two locations and 3 years

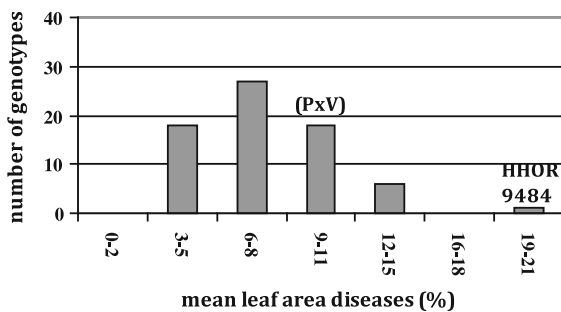


Fig. 3 Distribution of the average leaf area diseased of the population (P × V) × HHOR9484 calculated using the AUDPC in two locations and 3 years

In the population Uschi × HHOR3073 the percentage of leaf area diseased ranged from 2 to 30 % with a mean value of 7.9 %. In the population (P × V) × HHOR9484 a strong transgression towards a higher level of resistance was observed, which implies the presence of positive alleles in both parental lines. The percentage of leaf area diseased in (P × V) × HHOR9484 ranged from 3 to 21 % with an average of 8.2 %. In this study, strong correlations of the results obtained between years and locations were observed, ranging from $r = 0.82$ (Quedlinburg 2009/Thüle 2009) to $r = 0.64$ (Quedlinburg/Thüle 2009). Based on the results obtained in 3 years and two locations, the heritability of resistance to *P. teres* was calculated at $h^2 = 0.80$ for the DH population Uschi × HHOR3073 and $h^2 = 0.62$ for (P × V) × HHOR9484.

Genetic map construction

Based on the analyzed DArT, SSR and SNP markers, a genetic map comprising 403 markers with a length of 705.7 cM covering all chromosomes was constructed

for Uschi × HHOR3073. These markers represent 361 different loci, with an average marker distance of 1.75 cM. The size of the linkage groups and number of markers assigned to the different chromosomes varied from 74.7 cM for chromosome 4H (29 markers) to 146.0 cM for chromosome 7H (58 markers). For the population (P × V) × HHOR9484, a map was constructed based on 441 markers representing 288 different loci comprising 1,035.8 cM with an average marker distance of 2.3 cM. In this population, the size of linkage groups and the number of markers assigned to the different linkage groups varied between 243.6 cM for chromosome 3H (70 markers) and 71.1 cM for chromosome 7H (101 markers).

QTL mapping

Based on these maps and the respective phenotypic data, four QTL for resistance to *P. teres* were detected in the population Uschi × HHOR3073: one each on chromosomes 2H (QTL_{UH}-2H) and 3H (QTL_{UH}-3H) and two on chromosome 5H (QTL_{UH}-5H-1 and QTL_{UH}-5H-2) (Fig. 4). All positive alleles of the QTL were derived from the resistant parental line HHOR3073. The most significant QTL (QTL_{UH}-5H-1) is located on chromosome 5H with the nearest marker bPb-9476 explaining 19.0 % (LOD = 3.72) of the phenotypic variance. QTL_{UH}-5H-2 explains 17.5 % (LOD = 4.19), QTL_{UH}-3H 10.6 % (LOD = 2.52) and QTL_{UH}-2H 9.4 % (LOD = 3.72) of the phenotypic variance. In the population (P × V) × HHOR9484, four QTL were also detected (Fig. 5): three on chromosome 5H (QTL_{PH}-5H-1, QTL_{PH}-5H-2 and QTL_{PH}-5H-3) and one on chromosome 7H (QTL_{PH}-7H). QTL_{PH}-5H-2 is derived from the parental line (P × V) and explains 34.7 % of the phenotypic variance with a LOD score of 4.82. The other QTL were derived from HHOR9484 and explain the following phenotypic variance: QTL_{PH}-7H 22.6 % (LOD = 3.61), QTL_{PH}-5H-1 15.9 % (LOD = 2.53) and QTL_{PH}-5H-3 12.6 % (LOD = 3.59) (Table 1).

Discussion

In the current study, it was shown that reliable data on resistance to net blotch can be obtained by a combination of sowing time in August and artificial inoculation using straw debris with a hill-plot design. A hill-plot

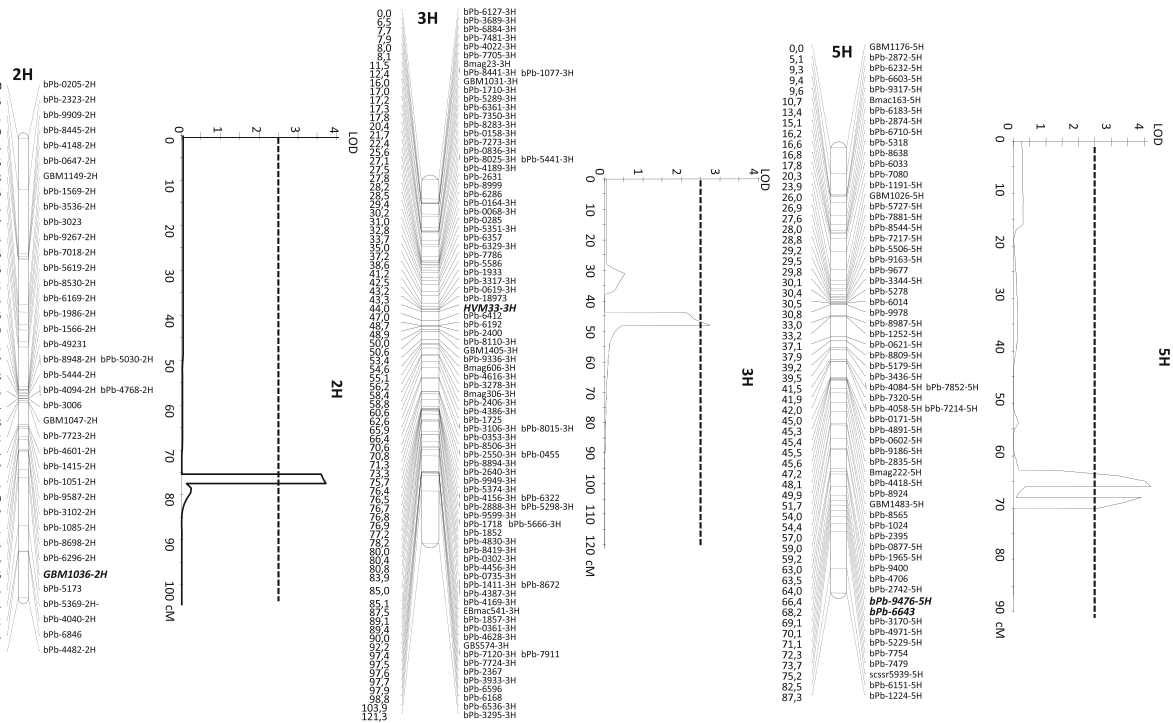


Fig. 4 Results of QTL analyses for *P. teres* resistance in the DH population Uschi × HHOR3073

design needs almost the same space as a microplot design, but fewer seeds to represent one genotype. In addition, by applying straw debris no propagation of the pathogen and artificial inoculation procedures are needed, making the method easy to handle. The hill-plot design in field trials has already been used in several other studies (e.g. Masterbroek et al. 1988; Hysing et al. 2007). Falk et al. (1996) even demonstrated that the hill-plot design is a useful technique for evaluating homozygous lines for yield and other agronomic traits in a DH recurrent selection program. With respect to a reliable scoring of resistance to *P. teres*, it was shown in the literature that the severity of scald on barley leaves is reduced by later sowing dates and that net blotch infection is in general higher than scald infection at late sowing (Kavak 2004; Xi et al. 2008). This was also observed in our trials. Despite the fact that the mean rainfall at Quedlinburg was much higher than at the other field trials, no scald infection could be detected. Thus, it is assumed that the higher mean temperature in September in particular is conducive to net blotch infection, but not scald infection. *P. teres* f. *teres* and *R. commune* are both seed-borne pathogens, but the most important sources of inocula are crop debris, infected

stubble and volunteer plants. For a successful infection, both pathogens need adequate moisture for spore germination, infection and subsequent disease development (Mathre 1997). However, in contrast to net blotch, scald can rapidly develop under cold and wet growing conditions and net blotch develops more rapidly under warm damp conditions (Xi et al. 2008). This was also shown in our own trials conducted with the same DH populations at the normal sowing time of winter barley, i.e. sowing in September and scoring in March–April, in Quedlinburg (Saxony–Anhalt) where in 3 years a strong infection with *R. commune* (mean value = 36.1 % for (P × V) × HHOR9484 and 9.6 % for Uschi × HHOR3073) and *P. hordei* (mean value = 24.0 % for (P × V) × HHOR9484 and 9.1 % for Uschi × HHOR3073) was observed, making scoring of resistance to *P. teres* impossible as this fungus only had a limited leaf area available for infection. Correlations of the results obtained in these trials to the summer hill trials were rather low (Pearson $r < 0.5$) as no reliable results could be obtained at normal sowing time. This demonstrates how important sowing time is for a successful scoring of resistance to *P. teres* f. *teres*.

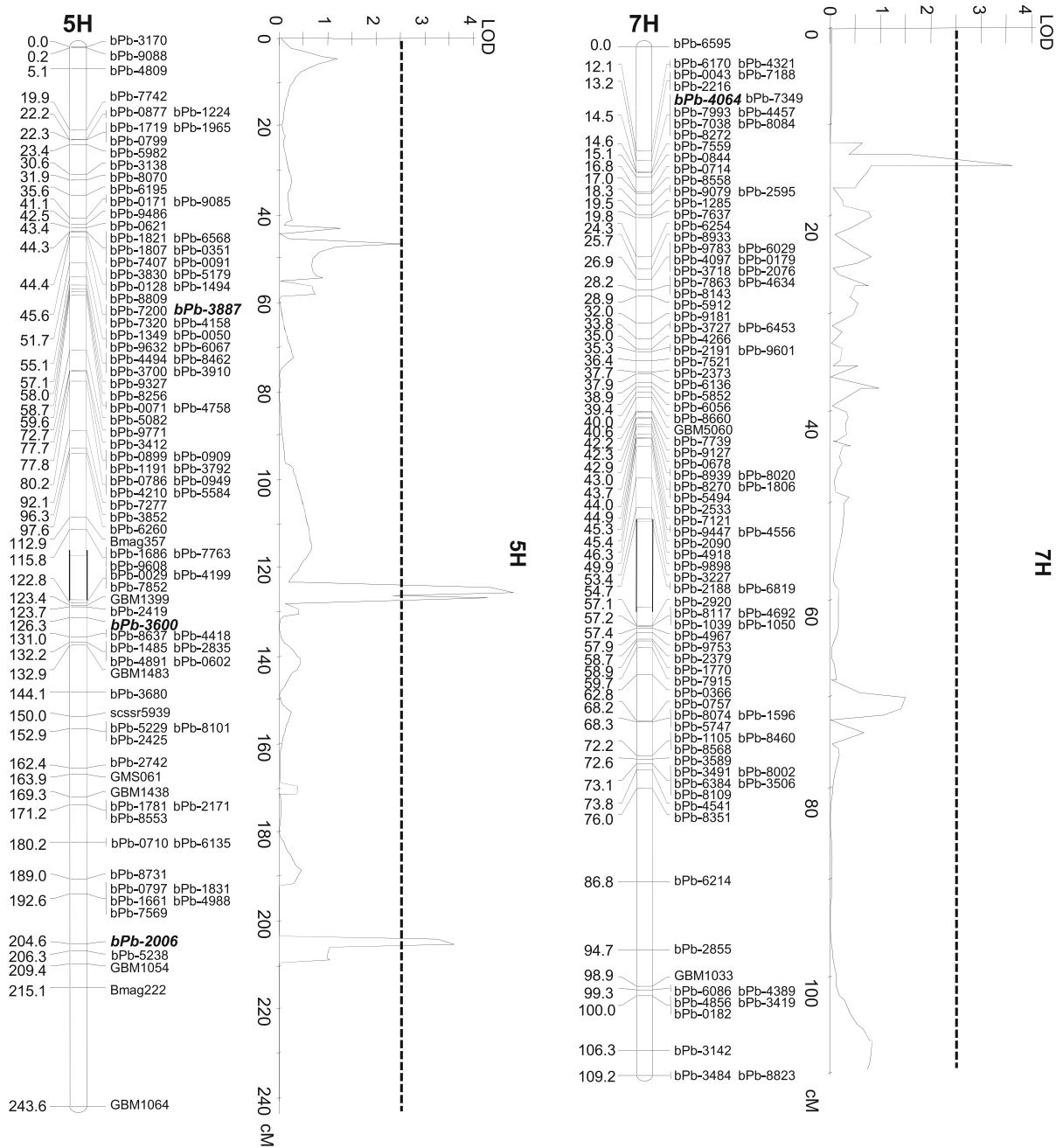


Fig. 5 Results of QTL analyses for *P. teres* resistance in the DH population (P × V) × HHOR9484

The reliability and efficiency of phenotyping using summer hill trials is shown by the fact that we detected QTL in chromosomal regions previously reported to carry net blotch resistance loci. The QTL located in the population (P × V) × HHOR9484 on chromosomes 5H and 7HS were detected in regions in which

Lehmensiek et al. (2007) and Grewal et al. (2008, 2012) also detected QTL for net blotch resistance. Of special interest in this respect are the results of Grewal et al. (2008, 2012), as they also worked with natural infection and not with specific isolates. Besides the major QTL *QRpt6* on chromosome 6H, they detected

Table 1 Overview of the biometrical parameters of QTL identified showing locations, position of QTL, LOD scores, phenotypic variance explained and the significant marker loci associated with disease resistance

	QTL ^a	Chromosome	Position (cM)	Marker	LOD	Phenotypic variance explained (%)	Additive effect	Origin
Uschi × HHOR3073	QTL _{UH} -2H	2H	75–79	GBM1036	3.72	9.4	1.25	HHOR3073
	QTL _{UH} -3H	3H	45–51	HVM33	2.52	10.6	0.92	HHOR3073
	QTL _{UH} -5H-1	5H	64–68	bPb-9476	3.72	19.0	4.22	HHOR3073
	QTL _{UH} -5H-2	5H	68–70	bPb-6643	4.19	17.5	4.19	HHOR3073
(P × V) × HHOR9484	QTL _{PH} -5H-1	5H	46–48	bPb-3887	2.53	15.9	2.17	HHOR9484
	QTL _{PH} -5H-2	5H	125–129	bPb-3600	4.82	34.7	3.48	P × V
	QTL _{PH} -5H-3	5H	205–208	bPb-2006	3.59	12.6	2.62	HHOR9484
	QTL _{PH} -7H	7H	14–17	bPb-4064	3.61	22.6	3.69	HHOR9484

^a “QTL_{UH}” indicates a QTL for resistance to *P. teres* f. *teres* in the population Uschi × HHOR3073 and “QTL_{PH}” for the population (P × V) × HHOR9484. “QTL_{XX}” is followed by the barley chromosome on which the QTL was mapped and numbered if there is more than one QTL on the same chromosome in one population

several QTL on chromosomes 2H, 3H, 5H and 7H. In our study we detected no QTL against net blotch on chromosome 6H, but three on chromosome 5H, for which Grewal et al. (2008, 2012) detected *QRpts5*, *QRpts5.1* and *QRpts5.2*. The detection of QTL_{PH}-5H-2 derived from the more susceptible parental line P × V explains the strong transgression towards resistance observed in this population. In addition, Lehmsiek et al. (2007) detected no major QTL on 6H, but different QTL on all other chromosomes. The QTL (QNFN-BAPR.A1/S-7Ha) on chromosome 7H is located in the same region as the QTL detected in this study.

The QTL mapped in the population Uschi × HHOR3073 on chromosomes 2H and 3H are located in regions where Lehmsiek et al. (2007) also detected the QTL QNFNBSLR_Ar/F-2Hb and QNFNBSLR_Ar/F-3Ha, even if these were mapped in seedlings. Of the QTL detected in this study on chromosome 5H, QTL_{UH}-5H-2 may be located in a region in which QTL *QRtta5.1* was mapped (Grewal et al. 2012), while the other (QTL_{UH}-5H-1) has not been detected up to now. However, a meta-QTL effective against different fungal pathogens has been mapped in this region (Schweizer and Stein 2011). It remains to be analysed using tests for allelism whether the QTL detected in our studies are different from those already described in the literature. The fact that no QTL in common between both the populations analyzed were detected in this study may be due to the different origin of the resistance donors, i.e. HHOR3073 derived from Russia and HHOR9484 originated from China. However, this is the first study

proving that these QTL, which were mainly discovered in Australia, may also be suitable for MAS in Europe, despite the fact that the pathogen is highly variable. Miedaner and Korzun (2012) conclude that for MAS QTL should explain at least 10–20 % of the phenotypic variance. Based on this, the QTL_{PH}-5H-2, QTL_{PH}-7H, QTL_{UH}-5H-1 and QTL_{UH}-5H-2, explaining between 34.7 and 17.5 % of the phenotypic variance, are suitable for MAS. For this purpose, flanking DArT markers may be converted into PCR-based markers as described by Hickey et al. (2011). Due to the availability of the 9 k iSelect chip (Comadran et al. 2012), the physical map of barley (IBGS 2012) and the Genome-Zipper (Mayer et al. 2011), it will be possible to delimit the QTL interval in the near future, as this has already been shown for QTL conferring resistance to powdery mildew in barley (Silvar et al. 2011, 2012).

Acknowledgments We thank the Innovation Programme of the Federal Ministry for Nutrition, Agriculture and Consumer Protection (BMELV, PGI-06.01-28-1-43.031-07) for financial support and Ms. D. Günzke for excellent technical assistance. In addition, we thank Michael Koch (Deutsche Saatveredelung) and Dr. Laszlo Cselenyi (W. von Borries-Eckendorf) for conducting field trials and Dr. Jens Weyen (Saaten-Union Biotech) for providing DH lines.

References

- Afanasenkov OS, Hartleb H, Guseva NN, Minarikova V, Janosheva M (1995) A set of differentials to characterize populations of *Pyrenophora teres* Drechs. for international

- use. *J Phytopathol* 143:501–507. doi:[10.1111/j.1439-0434.1995.tb04562.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1995.tb04562.x)
- Afanasenکو OS, Makarova IG, Zubkovich AA (1999) The number of genes controlling resistance to *Pyrenophora teres* Drechs. strains in barley. *Russ J Genet* 35:274–283
- Afanasenکو O, Mironenko N, Filatova O, Kopahnke D, Krämer I, Ordon F (2007) Genetics of host-pathogen interactions in the *Pyrenophora teres* t. *teres* (net form) – barley (*Hordeum vulgare*) pathosystem. *Eur J Plant Pathol* 117:267–280. doi:[10.1007/s10658-006-9093-5](https://doi.org/10.1007/s10658-006-9093-5)
- Allard RW (1960) Principles of plant breeding. Wiley, New York
- Anonymous (2005) Beschreibende Sortenliste 2005. Getreide, Mais, Ölfrüchte, Leguminosen (großkörnig), Hackfrüchte (außer Kartoffeln). Bundessortenamt, Hannover
- Arabi M, Al-Safadi B, Barrault G, Alertini L (1990) Inheritance of partial resistance to net blotch in barley. *Plant Breed* 105:150–155. doi:[10.1111/j.1439-0523.1990.tb00468.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1990.tb00468.x)
- Cakir M, Gupta S, Platz GJ, Ablett GA, Loughman R, Embiri LC, Poulsen D, Li CD, Lance RCM, Galwey NW, Jones MGK, Appels R (2003) Mapping and validation of the genes for resistance to *Pyrenophora teres* f. *teres* in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Aust J Agric Res* 54:1369–1377. doi:[10.1071/AR02229](https://doi.org/10.1071/AR02229)
- Close TJ, Bhat PR, Lonardi S et al (2009) Development and implementation of high-throughput SNP genotyping in barley. *BMC Genomics* 10:582. doi:[10.1186/1471-2164-10-582](https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-582)
- Comadran J, Kilian B, Russell J et al (2012) Natural variation in a homolog of Antirrhinum CENTRORADIALIS contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley. *Nat Genet* 44:1388–1392. doi:[10.1038/ng.2447](https://doi.org/10.1038/ng.2447)
- Dahleen LS, Morgan W, Mittal S, Bregitzer P, Brown RH, Hill NS (2012) Quantitative trait loci (QTL) for Fusarium Elisa compared to QTL for Fusarium head blight resistance and deoxynivalenol content in barley. *Plant Breed* 131:237–243. doi:[10.1111/j.1439-0523.2012.01952.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2012.01952.x)
- Douglas GB, Gordon LL (1985) Quantitative genetics of net blotch in barley. *N Z J Agric Res* 28:147–155
- Falk DE, Reinbergs E, Chhina BS, Mather DE (1996) Hill plots for yield evaluation in a doubled haploid recurrent selection program in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Can J Plant Sci* 76:757–761
- Graner A, Jahoor A, Schondelmaier J, Siedler H, Pillen K, Fischbeck G, Wenzel G, Herrmann RG (1991) Construction of an RFLP map of barley. *Theor Appl Genet* 83:250–256
- Grewal TS, Rossnagel BG, Pozniak CJ, Scoles GJ (2008) Mapping quantitative trait loci associated with barley net blotch resistance. *Theor Appl Genet* 116:529–539. doi:[10.1007/s00122-007-0688-9](https://doi.org/10.1007/s00122-007-0688-9)
- Grewal TS, Rossnagel BG, Scoles GJ (2010) Molecular markers associated with agronomically important traits were proposed for marker-assisted selection (MAS) to aid in developing improved cultivars. *Crop Sci* 50:177–184. doi:[10.2135/cropsci2009.01.0011](https://doi.org/10.2135/cropsci2009.01.0011)
- Grewal TS, Rossnagel BG, Scoles GJ (2012) Mapping quantitative trait loci associated with spot blotch and net blotch resistance in a doubled-haploid barley population. *Mol Breed* 30:267–279. doi:[10.1007/s11032-011-9616-4](https://doi.org/10.1007/s11032-011-9616-4)
- Gupta S, Loughman R (2001) Current virulence of *Pyrenophora teres* on barley in Western Australia. *Plant Dis* 85:960–966. doi:[10.1094/PDIS.2001.85.9.960](https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.9.960)
- Hickey LT, Lawson W, Platz GJ, Dieters M, Arief VN, Germán S, Fletcher S, Park RF, Singh D, Pereyra S, Franckowiak J (2011) Mapping *Rph20*: a gene conferring adult plant resistance to *Puccinia hordei* in barley. *Theor Appl Genet* 123:55–68. doi:[10.1007/s00122-011-1566-z](https://doi.org/10.1007/s00122-011-1566-z)
- Ho KM, Tekauz A, Choo TM, Martin RA (1996) Genetic studies on net blotch resistance in a barley cross. *Can J Plant Sci* 76:715–719
- Hysing SC, Hsam SLK, Singh RP et al (2007) Agronomic performance and multiple disease resistance in T2BS.2RL wheat-rye translocation lines. *Crop Sci* 47:254–260. doi:[10.2135/cropsci2006.04.0269](https://doi.org/10.2135/cropsci2006.04.0269)
- International Barley Genome Sequencing Consortium (IBGS) (2012) A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature* 491:711–718. doi:[10.1038/nature11543](https://doi.org/10.1038/nature11543)
- Kavak H (2004) Effects of different sowing times on leaf scald and yield components of spring barley under dryland conditions. *Aust J Agric Res* 55:147–153. doi:[10.1071/AR020580004-9409/04/020147](https://doi.org/10.1071/AR020580004-9409/04/020147)
- König J, Kopahnke D, Steffenson BJ, Przulj N, Romeis T, Roeder MS, Ordon F, Perovic D (2012) Genetic mapping of a leaf rust resistance gene in former Yugoslavian barley landrace MBR1012. *Mol Breed* 30:1253–1264. doi:[10.1007/s11032-012-9712-0](https://doi.org/10.1007/s11032-012-9712-0)
- Kosambi DD (1944) The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugen* 12:172–175
- Kota R, Varshney RK, Prasad M, Zhang H, Stein N, Graner A (2008) EST-derived single nucleotide polymorphism markers for assembling genetic and physical maps of the barley genome. *Funct Integr Genomics* 8:223–233. doi:[10.1007/s10142-007-0060-9](https://doi.org/10.1007/s10142-007-0060-9)
- Lehmensiek A, Platz GJ, Mace E, Poulsen D, Sutherland MW (2007) Mapping of adult plant resistance to net form of net blotch in three Australian barley populations. *Aust J Agric Res* 58:1191–1197. doi:[10.1071/AR07141](https://doi.org/10.1071/AR07141)
- Ma ZQ, Lapitan NLV, Steffenson B (2004) QTL mapping of net blotch resistance genes in a doubled-haploid population of six-rowed barley. *Euphytica* 137:291–296. doi:[10.1023/B:EUPH.0000040441.36990.58](https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000040441.36990.58)
- Mackay I, Powell W (2006) Methods for linkage disequilibrium mapping in crops. *Trends Plant Sci* 12:57–63. doi:[10.1016/j.tplants.2006.12.001](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.12.001)
- Manninen O, Kalendar R, Robinson J, Schulman AH (2000) Application of *BARE-1* retrotransposon markers to the mapping of a major resistance gene for net blotch in barley. *Mol Gen Genet* 264:325–334. doi:[10.1007/s004380000326](https://doi.org/10.1007/s004380000326)
- Masterbroek HD, Vandenbos J, Balkemaboomstra AG (1988) Infection by powdery mildew, *Erysiphe graminis* f.-sp. *Hordei*, in small hill-plots of spring barley varieties at different levels of allo-infection. *Cereal Res Commun* 16:223–229
- Mathre DE (1997) Compendium of barley disease, 2nd edn. American Phytopathological Society, St. Paul, MN
- Mayer KFX, Martis M, Hedley PE, Simkova H, Liu H, Morris JA, Steuernagel B, Taudien S, Roessner S, Gundlach H, Kubalakova M, Suchankova P, Murat F, Feldner M, Nussbaumer T, Graner A, Salse J, Endo T, Sakai H, Tanaka

- T, Itoh T, Sato K, Platzer M, Matsumoto T, Scholz U, Dolezel J, Waugh R, Stein N (2011) Unlocking the barley genome by chromosomal and comparative genomics. *Plant Cell* 23:1249–1263. doi:[10.1105/tpc.110.082537](https://doi.org/10.1105/tpc.110.082537)
- Miedaner T, Korzun V (2012) Marker-assisted selection for disease resistance in wheat and barley breeding. *Phytopathology* 102:560–566. doi:[10.1094/PHYTO-05-11-0157](https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-11-0157)
- Moll E, Walther U, Flath K, Prochnow J, Sachs E (1996) Methodische Anleitung zur Bewertung der partiellen Resistenz und die SAS-Anwendung RESI. *Berichte a d Biol Bundesanst f Land- und Forstwirtschaft H* 12:60
- Moll E, Flath K, Piepho HP (2000) Die Prüfung von Pflanzen auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Schadorganismen in der Biologischen Bundesanstalt (Teil3). *Mitt a d Biol Bundesanst f Land- und Forstwirtschaft H* 374:11–12
- Murray GM, Brennan JP (2010) Estimating disease losses to the Australian barley industry. *Aust Plant Pathol* 39:85–96. doi:[10.1071/AP09064](https://doi.org/10.1071/AP09064)
- Ordon F, Habekuss A, Kastirr U, Rabenstein F, Kühne T (2009) Virus resistance in cereals: sources of resistance, genetics and breeding. *J Phytopathology* 157:535–545. doi:[10.1111/j.1439-0434.2009.01540.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01540.x)
- Perovic J, Silvar C, Koenig J, Stein N, Perovic D, Ordon F (2013) A versatile fluorescence-based multiplexing assay for CAPS genotyping on capillary electrophoresis systems. *Mol Breed*. doi:[10.1007/s11032-013-9852-x](https://doi.org/10.1007/s11032-013-9852-x)
- Ramsay L, Macaulay M, degli Ivanisovich S et al (2000) A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genet* 156:1997–2005
- Riedel C, Habekuss A, Schliephake E, Niks R, Broer I, Ordon F (2011) Pyramiding of Ryd2 and Ryd3 conferring tolerance to a German isolate of barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV-ASL-1) leads to quantitative resistance against this isolate. *Theor Appl Genet* 123:69–76. doi:[10.1007/s00122-011-1567-y](https://doi.org/10.1007/s00122-011-1567-y)
- Robinson J, Jalli M (1996) Diversity among Finnish net blotch isolates and resistance in barley. *Euphytica* 92:81–87. doi:[10.1007/BF00022832](https://doi.org/10.1007/BF00022832)
- Robinson J, Jalli M (1997) Quantitative resistance to *Pyrenophora teres* in six Nordic spring barley accessions. *Euphytica* 94:201–208. doi:[10.1023/A:1002996722383](https://doi.org/10.1023/A:1002996722383)
- Scheurer KS, Friedt W, Huth W, Waugh R, Ordon F (2001) QTL analysis of tolerance to a German strain of BYDV-PAV in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 103:1074–1083. doi:[10.1007/s001220100632](https://doi.org/10.1007/s001220100632)
- Schweizer P, Stein N (2011) Large-scale data integration reveals colocalization of gene functional groups with Meta-QTL for multiple disease resistance in barley. *Mol Plant Microbe Interact* 24:1492–1501. doi:[10.1094/MPMI-05-11-0107](https://doi.org/10.1094/MPMI-05-11-0107)
- Silvar C, Casas AM, Igartua E, Ponce-Molina LJ, Gracia MP, Schweizer G, Herz M, Flath K, Waugh R, Kopahnke D, Ordon F (2011) Resistance to powdery mildew in Spanish barley landraces is controlled by different sets of quantitative trait loci. *Theor Appl Genet* 123:1019–1028. doi:[10.1007/s00122-011-1644-2](https://doi.org/10.1007/s00122-011-1644-2)
- Silvar C, Perovic D, Scholz U, Casas AM, Igartua E, 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. doi:[10.1007/s00122-011-1686-5](https://doi.org/10.1007/s00122-011-1686-5)
- Steffenson BJ, Webster RK (1992) Pathotype diversity of *Pyrenophora teres* f. *teres* on barley. *Phytopathology* 82:170–177. doi:[10.1094/Phyto-82-170](https://doi.org/10.1094/Phyto-82-170)
- Steffenson BJ, Hayes PM, Kleinhofs A (1996) Genetics of seedling and adult plant resistance to net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) and spot blotch (*Cochliobolus sativus*) in barley. *Theor Appl Genet* 92:552–558
- Stein N, Herren G, Keller B (2001) A new DNA extraction method for high-throughput marker in a large-genome species such as *Triticum aestivum*. *Plant Breed* 120:354–356. doi:[10.1046/j.1439-0523.2001.00615.x](https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2001.00615.x)
- 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 Pathol* 12:141–148
- Van Ooijen JW (2004) Map QTL 5: software for the mapping of quantitative trait loci in experimental population. Kyazma BV, Wageningen
- Van Ooijen JW (2006) Join Map® 4.0 software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma BV, Wageningen, Netherlands
- Voorrips RE (2002) MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *J Hered* 93:77–78. doi:[10.1093/jhered/93.1.77](https://doi.org/10.1093/jhered/93.1.77)
- Wagner C, Schweizer G, Krämer M, Dehmer-Badani AG, Ordon F, Friedt W (2008) The complex quantitative barley—*Rhynchosporium secalis* interaction: newly identified QTL may represent already known resistance genes. *Theor Appl Genet* 118:113–122. doi:[10.1007/s00122-008-0881-5](https://doi.org/10.1007/s00122-008-0881-5)
- Wenzl P, Carling J, Kudrna D, Jaccoud D, Huttner E, Kleinhofs A, Kilian A (2004) Diversity arrays technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:9915–9920. doi:[10.1073/pnas.0401076101](https://doi.org/10.1073/pnas.0401076101)
- Wu HL, Steffenson BJ, Li Y, Oleson AE, Zhong S (2003) Genetic variation for virulence and RFLP markers in *Pyrenophora teres*. *Can J Plant Pathol* 25:82–90
- Xi K, Bos C, Turkington TK, Xue AG, Burnett PA, Juskiw PE (2008) Interaction of net blotch and scald on barley. *Can J Plant Pathol* 30:329–334
- Xue G, Burnett PA, Helm J (1994) Severity of, and resistance of barley varieties to, scald and net blotch in Central Alberta. *Can Plant Dis Surv* 74:13–17
- Zaffarano PL, McDonald BA, Linde CC (2011) Two new species of *Rhynchosporium*. *Mycologia* 103:195–202. doi:[10.3852/10-119](https://doi.org/10.3852/10-119)

Mapping seedling resistance to net form of net blotch (*Pyrenophora teres f. teres*) in barley using detached leaf assay

JANINE KÖNIG^{1,2,3}, DRAGAN PEROVIC¹, DORIS KOPAHNKE¹ and FRANK ORDON¹

¹Julius Kühn-Institute (JKI), Federal Research Institute for Cultivated Plants, Institute for Resistance Research and Stress Tolerance, Erwin-Baur-Str. 27, 06484, Quedlinburg, Germany; ²Department Physiology and Biochemistry of Plants and Microbiology, Free University Berlin, Institute for Biology, Königin-Luise-Str. 12-16, 14195, Berlin, Germany; ³Corresponding author, E-mail: janine.koenig@jki.bund.de

With 4 figures and 2 tables

Received July 8, 2013/Accepted November 18, 2013
Communicated by J. Léon

Abstract

To develop molecular markers against *Pyrenophora teres f. teres* in barley, a detached leaf assay was conducted on two DH populations with a set of 11 single conidial lines (SCLs). Out of these, three showed different reactions in the DH population 'Uschi × HHOR3073' and two in '(P × V) × HHOR9484'. For SCL 'QLB', a 1r : 1s ($\chi^2 = 2.78$) segregation was observed in the population 'Uschi × HHOR3073'. In contrast to this, a continuous variation was observed for the SCL 'WvB' and 'd8_4' in the DH population 'Uschi × HHOR3073' and for 'AR' and 'net1840' in '(P × V) × HHOR9484'. With respect to resistance to the SCL 'QLB', a single major gene was located on chromosome 7H, and for resistance against SCL 'WvB', two QTLs were detected on chromosome 3H and 7H, and against SCL 'd8_4', two loci were mapped on chromosome 3HS in 'Uschi × HHOR3073'. In the DH population '(P × V) × HHOR9484', one locus conferring resistance to the SCL 'AR' was located on chromosome 3H. For resistance to SCL 'net1840', two QTLs were mapped on chromosome 4H and 5H.

Key words: *Pyrenophora teres f. teres* — detached leaf test — net blotch — QTL — DArT — barley — major gene — single conidial lines

The net form of net blotch, caused by *Pyrenophora teres f. teres*, belongs to the most important diseases of barley (*Hordeum vulgare* L.) and is present worldwide in barley-growing regions. Losses caused by this pathogen result from both yield reduction that is ranging between 10% and 40% (Ma et al. 2004) and reduced grain quality (Mathre 1997). *Pyrenophora teres f. teres* is a highly variable pathogen and capable to generate many isolates varying in virulence (Tekauz 1990, Steffenson and Webster 1992, Robinson and Jalli 1996, Cromei and Parkes 2003). The variability of the pathogen and the lack of lines resistant to all isolates (Tekauz 2000) require the detection of isolate-specific resistance genes and subsequent pyramiding of these genes in elite cultivars (Grewal et al. 2010). For this purpose, detached leaf tests are well suited as they facilitate an easy and cost-effective screening of large populations with different isolates (Arabi et al. 1990). In addition, uniform inoculation of leaves in controlled conditions allows easier monitoring of symptom development than on the whole plant level.

Selection for net blotch resistance has been mainly conducted in breeding programmes by phenotypic selection at the seedling and/or adult plant stage (Raman et al. 2003). However, in recent years, several net blotch resistance genes and QTLs have been mapped on nearly all seven barley chromosomes using

different molecular techniques (Gupta et al. 2011). Molecular markers such as simple sequence repeat (SSR) markers (Ramsay et al. 2000), single nucleotide polymorphism (SNP) (Rostoks et al. 2005, Comadran et al. 2012) and microarray-based markers such as DArT markers (Wenzl et al. 2004) are indispensable tools in breeding today, as they facilitate selection in early growth stages of plants in a high-throughput manner and are relatively cheap since the advent of SNP detection platforms (Close et al. 2009, Comadran et al. 2012, Miedaner and Korzun 2012). Seedling tests have been used in many studies on resistance to *Pyrenophora teres f. teres* (Graner et al. 1996, Richter et al. 1998, Raman et al. 2003, Ma et al. 2004, Friesen et al. 2006, Gupta et al. 2011). The resistance is mostly isolate specific and controlled by one or two genes (Afanasenko et al. 2007). Resistance genes and QTLs against the net form of net blotch in seedlings were identified on nearly all barley chromosomes, for example *Pt.,a* on chromosome 3HL (Graner et al. 1996), *QRpts2S* (2HS), *QRpts3L* (3HL), *QRpts2L* (2HL), *QRpts3La* (3HL), *QRpts3Lb* (3HL), *QRpts4* (4H), *QRpts6L* (6HL) (Raman et al. 2003), *Rpt-4H-5-7*, *Rpt-3H-4* and *Rpt-1H-5-6* (Yun et al. 2005), *Rpt5* (6H) (Manninen et al. 2006), *QRpt6* (6H), *QRpts2* (2H), *QRpts4* (4H) (Grewal et al. 2008) and *rpt.r* and *rpt.k* on chromosome 6H (Abu Qamar et al. 2008) as well as *QRpt 1.1* and *QRpt 1.2* on chromosome 1H (Grewal et al. 2012). In most cases, loci identified in the seedling stage are different from those detected at the adult plant stage (Steffenson et al. 1996). However, Grewal et al. (2008) compared seedling and adult plant resistance within the same population and revealed that the resistance locus mapped on chromosome 6H is effective at both developmental stages. Screening for disease resistance at the seedling stage may not always reflect the reaction of adult plants (Tekauz 1986, Douiyssi et al. 1998), however, seedling resistance is advantageous in regions where susceptibility at the seedling stage can result in poor stands and will lead to a high amount of inoculum (Tekauz 1986).

The use of resistant barley cultivars is the most cost-effective and environmentally sound means of controlling this disease (Afanasenko et al. 2009). The objective of the present investigation was therefore to study (i) the inheritance of resistance to a selected collection of single conidial lines (SCLs) of *Pyrenophora teres f. teres* in two DH populations under controlled conditions in the seedling stage and (ii) to integrate these genes into the genetic map of barley.

Materials and Methods

Plant material: Two F₁-derived DH populations comprising 92 lines of a cross between the resistant parent ‘HHOR3073’ (http://gbis.ipk-gatersleben.de/gbis_i/) and the susceptible cultivar ‘Uschi’ [pedigree: (Tapir × 76079) × BE 212887] and 85 DH lines of the cross between the resistant parent ‘HHOR9484’ (http://gbis.ipk-gatersleben.de/gbis_i/, accession name Moy Wah China) and a susceptible F₇ line of the cross ‘Post × Viresa’ (P × V) were analysed in this study. The cultivar ‘Post’ is derived from the cross Harrison × Will, and ‘Viresa’ from the cross ‘HVW823/75 × Birgit’. As infection control, in all experiments, the susceptible cultivar ‘Compana’ (USDA World collection Beltsville, C.I.5438) was used.

***Pyrenophora teres f. teres* single conidial lines:** Name, origin and date of collection of all SCLs used in this study are shown in Table 1. The SCLs ‘d8_4’ and ‘F74’ were already analysed in detail in a genetic study on host–pathogen interaction by Afanasenko et al. (2007). To develop single conidial lines, natural infected leaves were cut into 10-mm pieces and surface-sterilized in 70% alcohol for 3sec and transferred to V8 agar medium plates (Lamari and Bernier 1989). Plates were incubated at 18–20°C with 12 h light/12 h darkness for 10 days. Single conidia were transferred to new V8 agar plates. The resulting colonies were subcultured and kept at 19°C for 12 h light for 7 days. After that, the mycelium was compressed with a metallic stamp and exposed to UV light for 12 h. Next, Petri dishes were kept dark and cold (16°C) for 24 h, and conidia developing at the tips of conidiophores were harvested for inoculation of the test plants.

Plant inoculation: DH lines and the susceptible control cultivar ‘Compana’ were grown in plastic trays for 3 weeks in the glasshouse at 20–22°C with alternating 12 h periods of light/12 h of darkness (exposure min. 5000 lux) until the third leaf was fully expanded.

Conidia were harvested from V8 agar plates by adding 10 ml of sterile water containing 0.01% Triton and scrapping the conidia carrying mycelium from the agar plate. The suspension was filtered through gauze and carefully mixed. Concentration of the spore suspension was adjusted using a haemocytometer [Fuchs-Rosenthal[®] – cell counter (www.carlroth.de)] to 3000 conidia/ml. Leaf segments (ca. 100–120 mm) were placed in plastic trays on filter paper moistened with sterile water containing 60 ppm benzimidazole. For each SCL, the leaf segment test was conducted in three replications, which were conducted independently at different times of the year, and each line was represented by five leaf segments per replication derived from five different plants. Each segment was inoculated with 0.3 ml conidial suspension by spraying. Leaves were incubated in plastic trays with a relative humidity of 100% for 24 h at

16°C in the dark and then for 6 days at 20°C and a lighting regime of 16/8 h (light/dark).

Scoring infection types: Infection types were scored 7 days after inoculation using the scale developed by Tekauz (1985). It consists of 10 distinct infection types, that is resistant (1), resistant to moderately resistant (2), moderately resistant (3), moderately resistant to moderately susceptible (4), moderately resistant to moderately susceptible with first chlorosis (5), moderately resistant to moderately susceptible with clear chlorosis (6), moderately susceptible (7), moderately susceptible to susceptible (8), susceptible (9) and very susceptible (10).

Statistical analyses: The statistical analyses were conducted with the software package SAS 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Testing for normal distribution was carried out by the Kolmogorov–Smirnov test ($P < 0.05$). Based on the results of the analysis of variance (ANOVA), heritability was calculated according to the formula of Allard (1960). A χ^2 test was used to calculate the goodness of fit of the observed segregation to expected ratios.

Genetic mapping: For mapping, the genetic maps described for respective populations in König et al. (2013) were used. Together with the phenotypic data based on the detached leaf assay, MAPQTL 5.0 (Van Ooijen 2004) applying the restricted MQM mapping was used to map resistance to the net form of net blotch. The significant logarithm of odds (LOD) threshold was calculated with the permutation test for each population resulting in LOD 2.5 for both populations. In case of ‘QLB’ in the DH population ‘Uschi × HHOR3073’, for which a 1r : 1s segregation was observed, JoinMap 4.0 (Van Ooijen 2006) was used.

Results

Parental and population response against SCL of net blotch

Initially, a set of 11 SCLs was tested on parental lines and a differentiating reaction for five of these was detected (Table 1). In the population ‘Uschi × HHOR3073’, three net blotch SCLs differentiated between the parents, that is ‘d8_4’ derived from Russia, ‘QLB’ collected in Quedlinburg (Germany, Saxony–Anhalt) and ‘WvB’ collected in Leopoldshöhe (Germany, North Rhine Westphalia). Parental lines of the ‘(P × V) × HHOR9484’ population showed a differential infection pattern for two SCLs, that is ‘net1840’ from Winnipeg (Canada) and the SCL ‘AR’ derived from Aachen (Germany, North Rhine Westphalia).

Table 1: Name, origin and year of collection of single conidial lines of *Pyrenophora teres f. teres* and the reaction of parental lines of the DH populations studied in the detached leaf test

Name of single conidial lines	Country	Location	Year collected	Reaction of parental lines							
				Uschi	SE	HHOR 3073	SE	P × V	SE	HHOR 9484	SE
net1840	Canada	Winnipeg	2000	8	1	7	0.5	8 ¹	0.5	3	0.58
97 : 1	Sweden	Svalöv	2001	7	0.5	7	0	6	0	7	0.5
Dänemark	Denmark	Kopenhagen	2008	6	1	6	1	2	0.5	2	0
d8_4	Russia	St. Petersburg	2003	7	0.5	1	0	3	0.5	2	0.5
F74	Russia	St. Petersburg	2003	3	0.5	2	0.5	3	0	3	0.5
ReAm	Germany	Rostock	1992	7	0.5	7	0	7	0.5	6	0
140/94 Sachs	Germany	Kleinmachnow	2000	2	0	2	0	2	0.5	2	0
QLB	Germany	Quedlinburg	2008	8	1.1	2	0	8	1.1	7	0.5
WvB	Germany	Leopoldshöhe	2008	7	0	2	0.5	6	0.5	6	0
AR	Germany	Aachen	1992	3	0	3	0.5	7	0.5	3	0.5
Licifizolt	Hungary	Szeged	2003	2	0	2	0.5	1	0	2	0.5

¹Differentiating reactions are printed in bold. The reaction of parental lines (1 = resistant, 10 = very susceptible) is given according to Tekauz (1985). SE, Standard error.

Segregation analysis

The frequency distributions observed in the DH populations after inoculation with differentiating SCLs are shown in Fig. 1. Only the segregation ratio detected for 'QLB' in the population 'Uschi × HHOR3073' shows a clear-cut segregation which fits to a 1r : 1s segregation ($\chi^2 = 2.78$). A more or less continuous variation was observed for the 'WvB' and 'd8_4' in the population 'Uschi × HHOR3073' and for 'AR' and 'net1840' in the population '(P × V) × HHOR9484', which does not fit to a normal distribution ($P > 0.05$). Based on the results obtained in three replications in which each DH line was represented by five leaf segments, the heritability of resistance to *P. teres* was calculated for the isolate 'QLB' at $h^2 = 0.97$, for 'WvB' at $h^2 = 0.91$ and for 'd8_4' at $h^2 = 0.94$ in the DH population 'Uschi × HHOR3073' and for the isolate 'AR' at $h^2 = 0.92$ and for 'net1840' at $h^2 = 0.96$ in '(P × V) × HHOR9484' (Table 2).

Mapping of resistance against different *P. teres* SCLs

Based on already existing genetic maps (König *et al.* 2013) and respective phenotypic data obtained in this study, genetic mapping of resistance against the different SCLs was conducted

(Table 2). In the '(P × V) × HHOR9484' population, a single QTL (QTL_{PHS-3H}) effective against 'AR' (Fig. 2) was mapped in the telomeric region on chromosome 3HL explaining about 77.7% of the phenotypic variance. The positive allele was derived from HHOR9484. In the same population, resistance against 'net1840' was mapped on chromosome 4HL (QTL_{PHS-4H}) and 5HS (QTL_{PHS-5H}) (Table 2, Fig. 3). Two QTLs were detected for 'd8_4' in the DH population 'Uschi × HHOR3073', both derived from the resistant parent 'HHOR3073'. QTL_{UHS-3H-1} was mapped in the telomeric region of chromosome 3HS and QTL_{UHS-3H-2} 30 cM proximal of the first one, but also on the short arm of chromosome 3H (Table 2, Fig. 4). With respect to 'WvB', two QTLs were detected on chromosome 3HS (QTL_{UHS-3H}) and 7HS (QTL_{UHS-7H}) (Fig. 4), both derived from HHOR3073. For 'QLB', one resistance gene (Iso_QLB) was mapped on chromosome 7HS (Fig. 4) located in an interval of 6 cM between GBM1464 and bPb-8424.

Discussion

In the current study, different genetic backgrounds of resistance, that is, 'HHOR9484' originated from China and 'HHOR3073' derived from Russia were analysed against different SCLs of

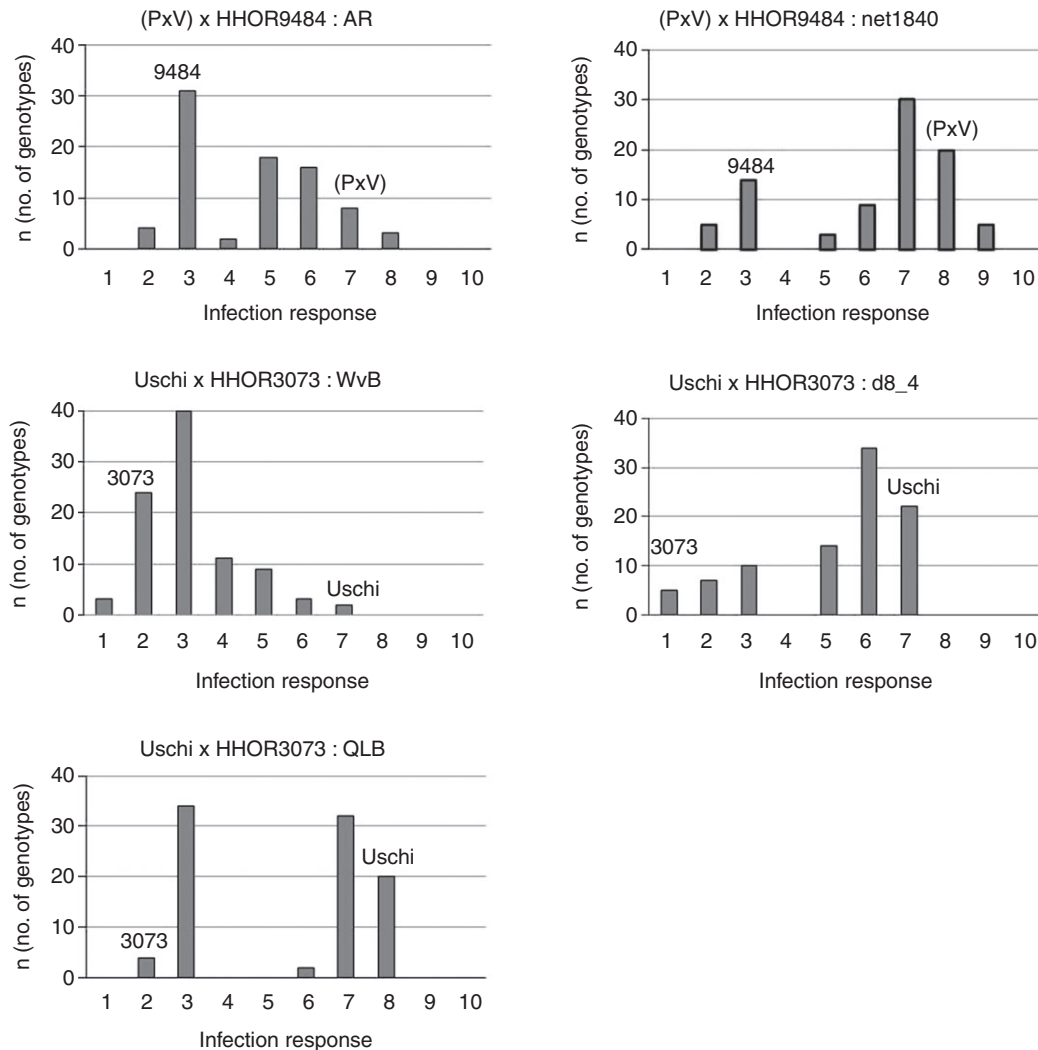


Fig. 1: Frequency distributions observed for the reaction to different single conidial lines of *Pyrenophora teres* f. *teres* in the DH populations '(Post × Viresa) × HHOR9484' and 'Uschi × HHOR3073'

Table 2: Overview on single gene and QTLs detected for resistance to *P. teres f. teres* in a detached leaf assay

	Isolate	QTL _I /Monogen	Chr. arm	Marker interval (cM)	Closest marker	h ²	LOD	Phenotypic variance explained (%)	Additive effect
Uschi × HHOR3073	QLB	Iso_QLB	7HS	62.0	bPb8424	0.97	–	100	–
	WvB	QTL _{UHs} -3H	3HS	29–31	bPb-0164	0.91	3.06	10.3	1.84
		QTL _{UHs} -7H	7HS	60–65	GBM1464		2.54	32.2	1.48
	d8_4	QTL _{UHs} -3H-1	3HS	0.6–6	bPb-6127	0.94	3.67	57.4	1.01
QTL _{UHs} -3H-2		3HS	34–38	bPb-6329		3.48	12.5	1.19	
(P × V) × HHOR9484	AR	QTL _{PHs} -3H	3HL	76–101	GBM1026	0.92	4.75	77.7	0.84
	net 1840	QTL _{PHs} -4H	4HL	121–123	GBM1388	0.96	4.99	48.8	1.65
		QTL _{PHs} -5H	5HS	47–52	bPb-9632		3.28	12.3	0.74

'QTL_{UH}' indicates a QTL for resistance to *P. teres f. teres* detected in the DH population 'Uschi × HHOR3073' and 'QTL_{PH}' in the DH population '(P × V) × HHOR9484'. 'QTL_{XX}' is followed by an 's' because it is effective at the seedlings stage and followed by the barley chromosome onto which the QTL was mapped.

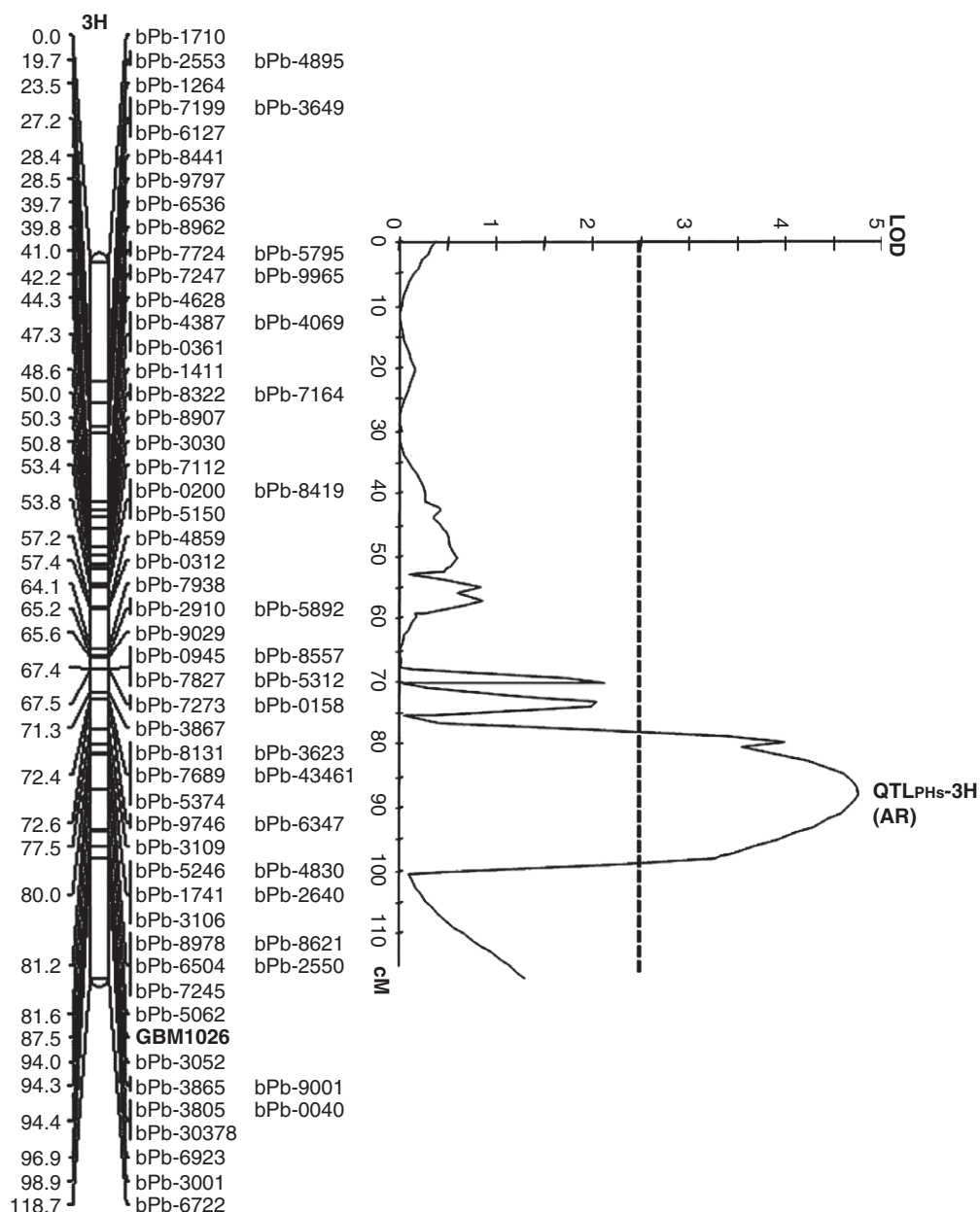


Fig. 2: QTL detected for resistance to the single conidial line 'AR' in the DH population '(Post × Viresa) × HHOR9484'. The dashed line represents the calculated LOD threshold

P. teres f. teres. Arabi et al. (2003) observed that the resistance to net blotch in most barley cultivars is encoded by one to three genes. That fits to our results; we detect one resis-

tance gene effective against 'QLB', two QTLs effective against 'WvB' and two QTLs conferring resistance against 'd8_4' in the population 'Uschi × HHOR3073'. In the popula-

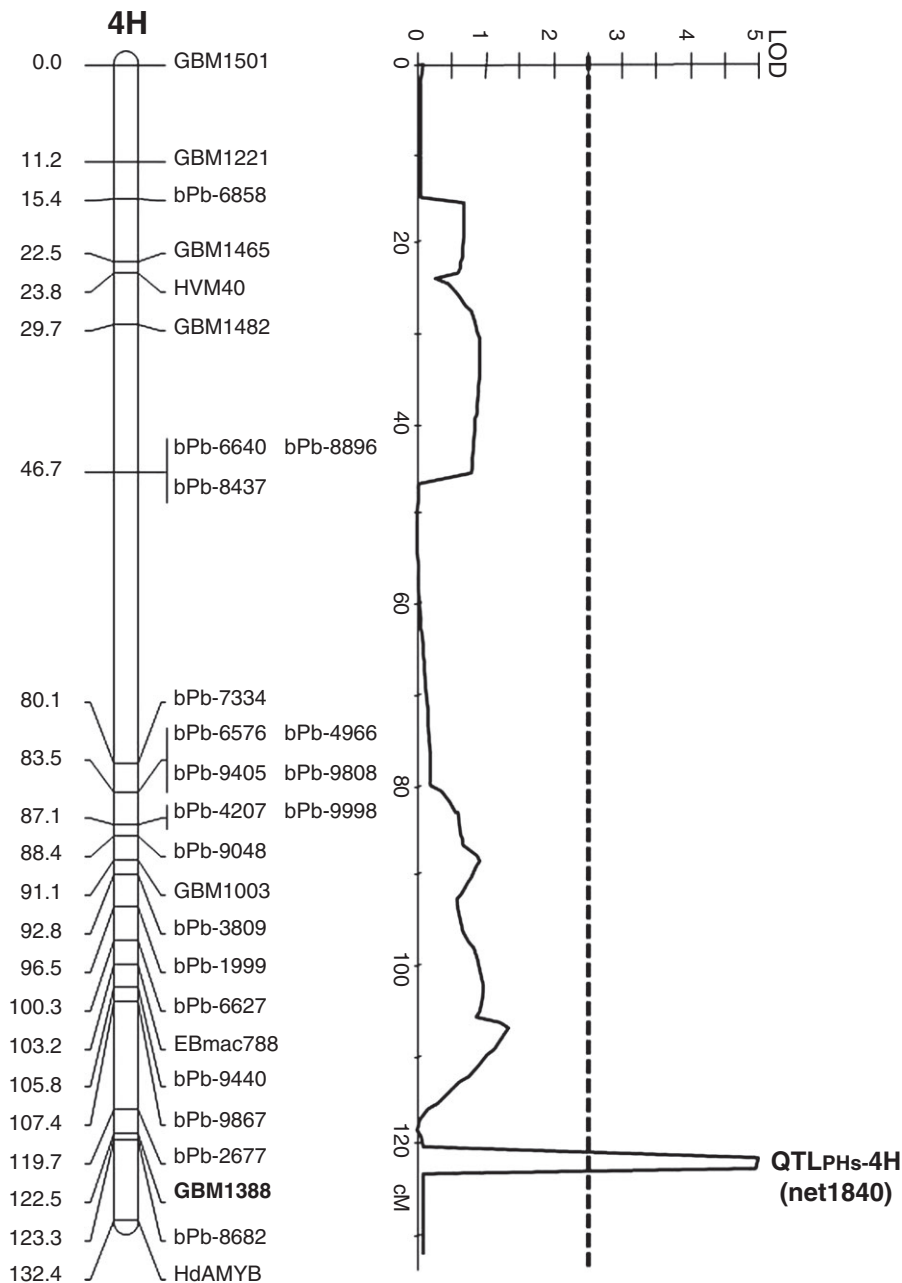


Fig. 3: QTLs detected for resistance to the single conidial line 'net1840' in the DH population '(Post × Viresa) × HHOR9484'. The dashed line represents the calculated LOD threshold

tion '(P × V) × HHOR9484', two SCLs differentiated between the parental lines, and for 'AR', a single gene was mapped on chromosome 3H, and for 'net1840', two QTLs were located on chromosomes 4H and 5H. Grewal *et al.* (2012) also showed that in the CDC Bold × TR251 population resistance to the net blotch isolates 'WRS858' and 'WRS1607' is due to one identical QTL on chromosome 6H and two different QTLs on chromosome 1H like it is shown in our study for the population 'Uschi × HHOR3073' (Fig. 4).

Applying the classification by Graner *et al.* (1996) on the phenotypic data, that is, classes 1–3 of the scale of Tekauz (1985) are classified as resistant and classes 4–10 as susceptible, the segregation ratios obtained give hint to the following mode of inheritance: the DH population '(P × V) × HHOR9484' shows

a 1r : 1s segregation for 'AR' ($\chi^2 = 2.98$), using 'WvB' in the DH population 'Uschi × HHOR3073', a segregation ratio of 3r : 1s ($\chi^2 = 0.23$) was observed giving hint to the presence of two genes which independently confer resistance to this SCL. In contrast to this, analyses of 'd8_4' in the DH population 'Uschi × HHOR3073' and of 'net1840' in the DH population '(P × V) × HHOR9484' resulted in a segregation ratio of 1r : 3s [$\chi^2 = 0.23$ for 'd8_4' and $\chi^2 = 0.39$ for 'net1840']. This segregation ratio gives hint to a two gene model in which resistance is observed only if the resistance encoding alleles of both genes are present. These segregation ratios to some extent fit to the number of QTLs detected in the respective populations.

Regarding QTL mapping, several groups reported about QTLs for resistance against *P. teres* on chromosome 3H (Cakir *et al.*

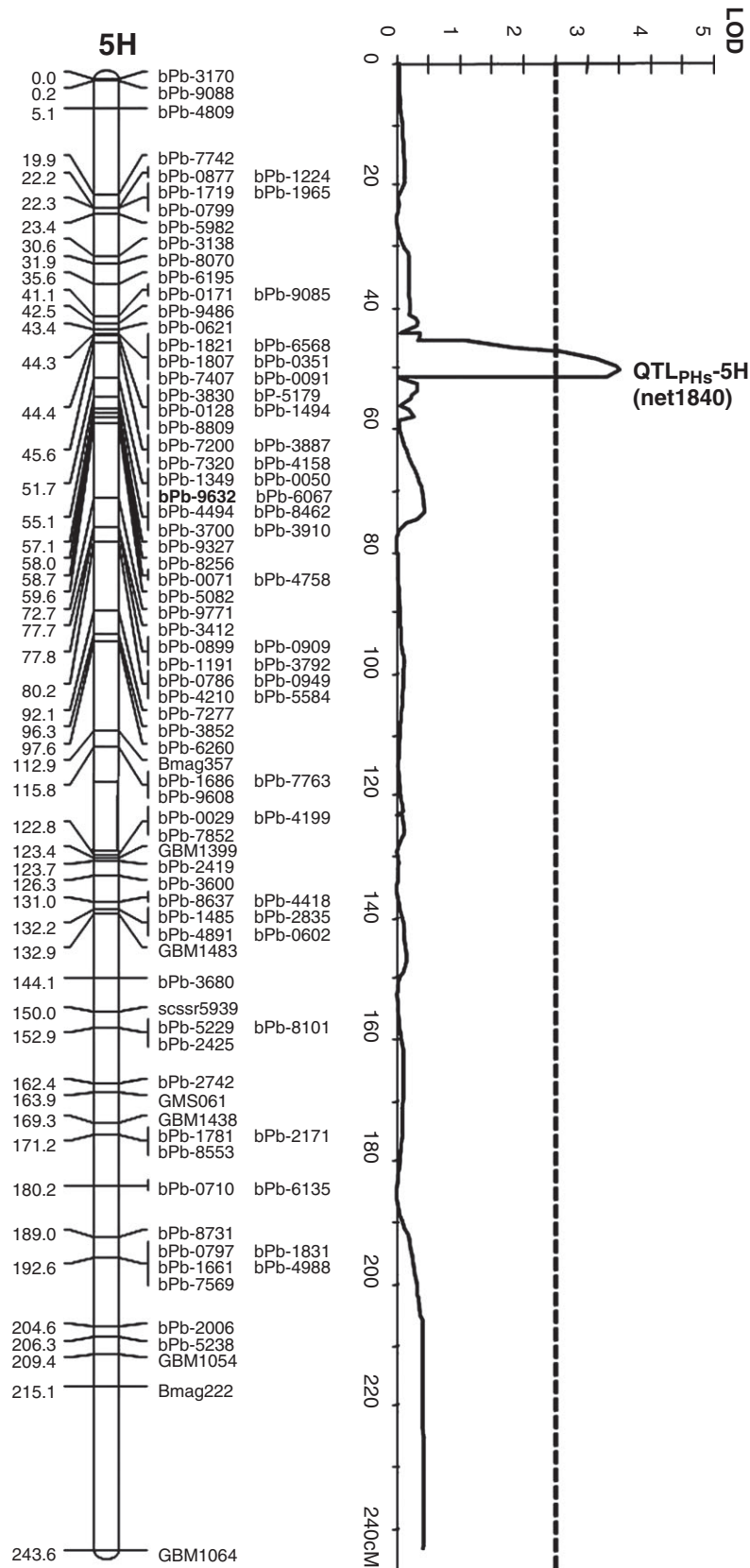


Fig. 3: Continued

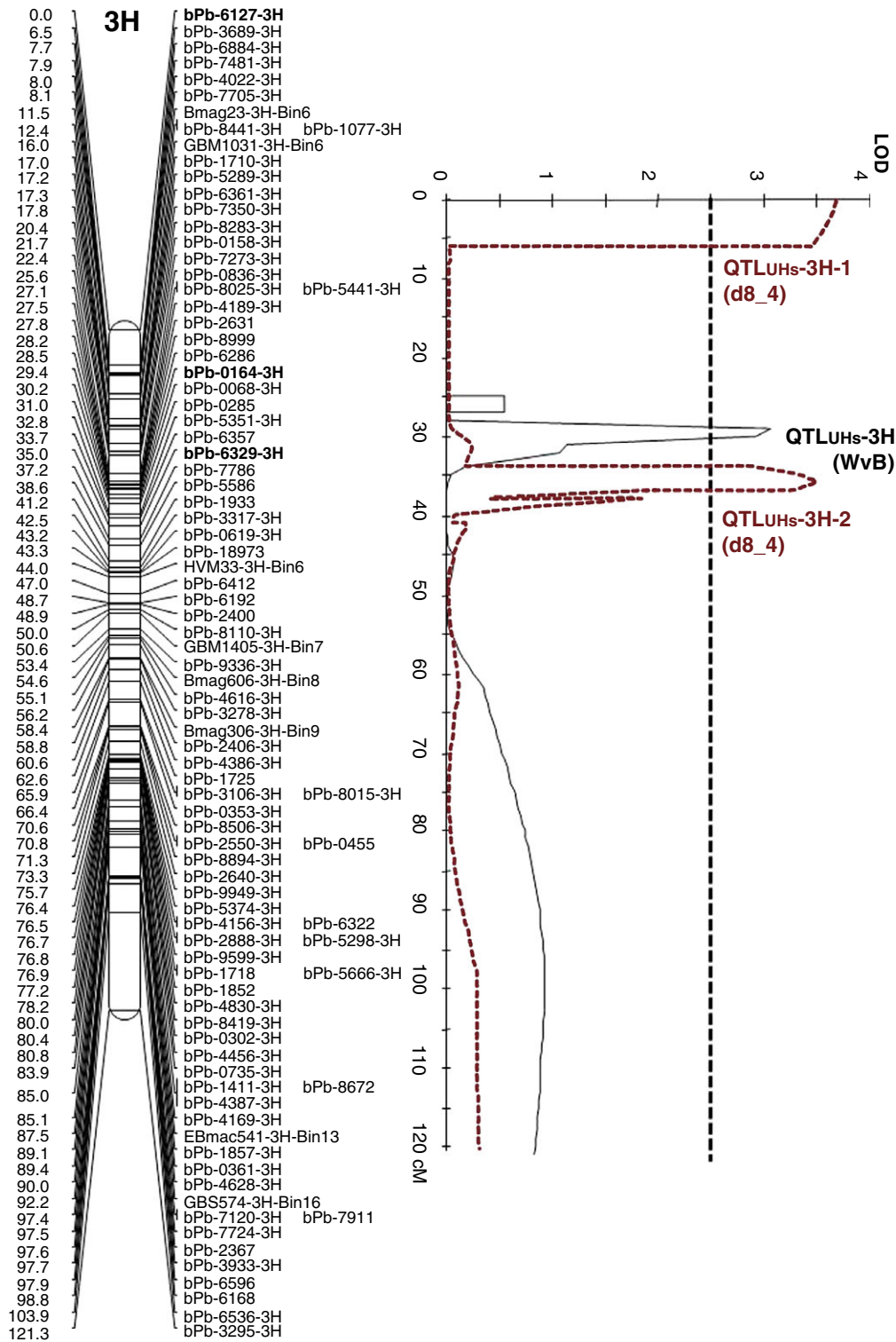


Fig. 4: QTLs detected for resistance to the single conidial line ‘d8_4’, ‘WvB’ and location of the major gene detected for resistance to ‘QLB’ in the DH population ‘Uschi × HHOR3073’. The dashed line represents the calculated LOD threshold

2003, Raman *et al.* 2003, Yun *et al.* 2005, Grewal *et al.* 2008). Therefore, we compared the localization of detected QTLs with those described in literature by the help of the most dense consensus map of Aghnoum *et al.* (2010) as this map comprises AFLP, DAiT, SSR and EST markers. The QTL localized against the isolate 84-28-1 (Richter *et al.* 1998) revealed most likely co-localization of QTL_{UHs}-3H-1. Additional QTLs for net blotch

resistance were detected on chromosome 3H by Gupta *et al.* (2010) and Cakir *et al.* (2003), but neither of them seems to be identical to QTL_{UHs}-3H-2 based on the consensus map of Aghnoum *et al.* (2010). The QTL_{UHs}-3H identified for resistance against ‘WvB’ is located in the same region like *Rpt-3H-4* (Yun *et al.* 2005) detected in seedling analysis of the population OU602 × Harrington. On chromosome 7H, Manninen *et al.*

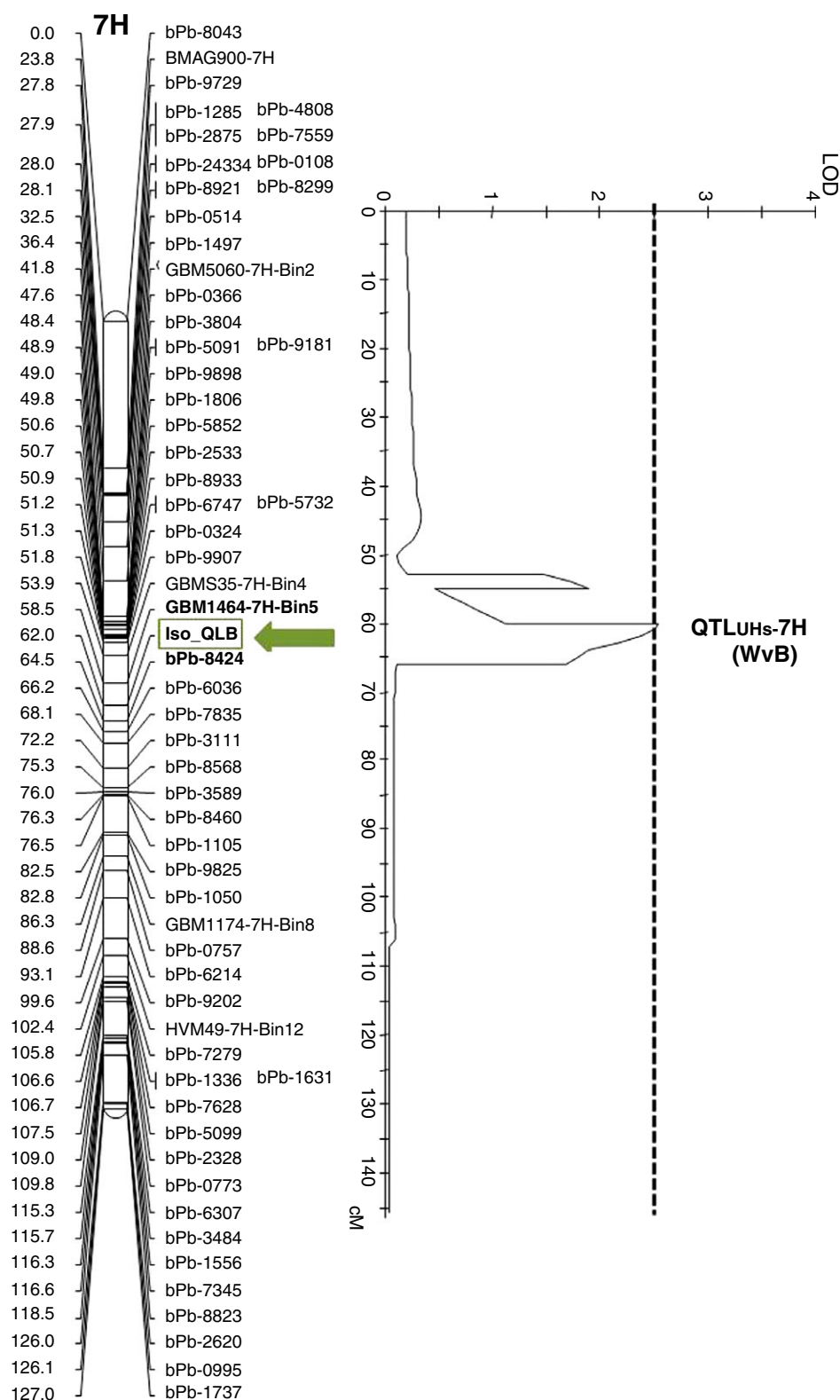


Fig. 4: Continued

(2006) detected a minor QTL for seedling resistance, but this is located in another region compared to QTL_{UHs-7H}. Spaner et al. (1998) detected a QTL for net blotch resistance in the 'Harrington × TR306' population on chromosome 7H which is by comparing the marker order in the consensus map by Aghnoum et al. (2010) located in the telomeric region and

therefore most likely not identical with the QTL detected in our study. However, the gene *Iso_QLB* was mapped directly into this interval, so that it may be assumed that the same gene is acting against two different SCLs. We could show based on the infection with different isolates that resistance is due to a different number of QTLs. In this respect, Jubault et al. (2008)

postulated that quantitative resistance can result from the action of weak *R*-gene alleles and qualitative resistance from particularly strong alleles.

In the DH population '(P × V) × HHOR9484', a single gene effective against 'AR' was mapped on chromosome 3HL, which does not correspond to the major gene '*Pt.,a*' on 3HL detected in seedling tests in the DH population 'Igrī × Franka' (Graner *et al.* 1996). Although both experiments are based on SCL infection, the '*Pt.,a*' gene is located closer to the centromere than the resistance locus detected in our study. However, the position of the QTL loci detected by Richter *et al.* (1998) and the position of QTL *QRpts3La* (Raman *et al.* 2003), which are mapped within large intervals encompassing the same region in which the QTL_{PHs-3H} is located, may give hint that they are the same. In different studies, QTLs against the net form of net blotch were detected on chromosome 4H (Raman *et al.* 2003, Read *et al.* 2003, Yun *et al.* 2005, Grewal *et al.* 2008). Although they were all detected by analysing plants in the seedling stage, the QTLs are not located in the same region like QTL_{PHs-4H}. On chromosome 5H, Manninen *et al.* (2006) mapped a net blotch QTL in seedlings, and one minor QTL is close to QTL_{PHs-5H} identified for resistance to 'net1840'. Distal of this QTL detected on chromosome 5H, Grewal *et al.* (2008) mapped the QTL *QRpta5* which is very close to the interval detected in our study. Furthermore, 2 cM distal of QTL_{PHs-5H}, the QTL_{PH-5H-1} was detected in the same population under field conditions (König *et al.* 2013). This is of special interest as these results give hint that this locus is effective in different developmental stages (seedling/adult).

The donors of resistance are differentiated by different SCLs reflecting the high variability of *P. teres f. teres*. The identification of QTLs in both DH populations, that is, 'Uschi × HHOR3073' and '(P × V) × HHOR9484' contributing to net blotch resistance in the seedling and adult plant stage (König *et al.* 2013) may be the starting point to improve net blotch resistance in German barley cultivars and will contribute to a sustainable and environmentally sound barley production. For this purpose, the flanking DArT marker should be converted in PCR-based sequence-tagged site marker which can be easily used for marker-assisted selection in barley breeding.

Acknowledgements

This research was funded by the Innovation Programme of the Federal Ministry for Nutrition, Agriculture and Consumer Protection (BMELV, PGI-06.01-28-1-43.031-07). The authors would like to thank Ms. D. Günzke and Ms. G. Oettel for excellent technical assistance. Besides this, we thank Dr. Jens Weyen (Saaten-Union Biotec) for providing DH lines.

References

- Abu Qamar, M., Z. H. Liu, J. D. Faris, S. Chao, M. C. Edwards, Z. Lai, J. D. Franckowiak, and T. L. Friesen, 2008: A region of barley chromosome 6H harbours multiple major genes associated with net type net blotch resistance. *Theor. Appl. Genet.* **117**, 1261–1270.
- Afanasenko, O., N. Mironenko, O. Filatova, D. Kopahnke, I. Kraemer, and F. Ordon, 2007: Genetics of host–pathogen interactions in the *Pyrenophora teres f. teres* (net form) – barley (*Hordeum vulgare*) pathosystem. *Eur. J. Plant Pathol.* **117**, 267–280.
- Afanasenko, O. S., M. Jalli, H. O. Pinnschmidt, O. Filatova, and G. J. Platz, 2009: Development of an international standard set of barley differential genotypes for *Pyrenophora teres f. teres*. *Plant. Pathol.* **58**, 665–676.
- Aghnoum, R., T. C. Marcel, A. Jhrde, N. Pecchioni, P. Schweizer, and R. E. Niks, 2010: Basal host resistance of barley to powdery mildew: connecting quantitative trait loci and candidate genes. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **23**, 91–102.
- Allard, R. W., 1960: Principles of Plant Breeding. Wiley, New York.
- Arabi, M. I., A. Sarrafi, G. Barrault, and L. Albertini, 1990: Inheritance of partial resistance to net blotch in barley. *Plant Breed.* **105**, 150–155.
- Arabi, M. I. E., B. Al-Safadi, and T. Charbaji, 2003: Pathogenic variation among isolates of *Pyrenophora teres*, the causal agent of barley net blotch. *J. Phytopathol.* **151**, 376–382.
- Cakir, M., S. Gupta, G. J. Platz, G. A. Ablett, R. Loughman, L. C. Embiri, D. Poulsen, C. D. Li, R. C. M. Lance, N. W. Galwey, M. G. K. Jones, and R. Appels, 2003: Mapping and validation of the genes for resistance to *Pyrenophora teres f. teres* in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Aust. J. Agric. Res.* **54**, 1369–1377.
- Close, T. J., P. R. Bhat, S. Lonardi, Y. H. Wu, N. Rostoks, L. Ramsay, A. Druka, N. Stein, J. T. Svensson, S. Wanamaker, S. Bozdog, M. L. Roose, M. J. Moscou, S. A. M. Chao, R. K. Varshney, P. Szucs, K. Sato, P. M. Hayes, D. E. Matthews, A. Kleinhofs, G. J. Muehlbauer, J. DeYoung, D. F. Marshall, K. Madishetty, R. D. Fenton, P. Condamine, A. Graner, and R. Waugh, 2009: Development and implementation of high-throughput SNP genotyping in barley. *BMC Genomics* **10**, 582–595.
- Comadran, J., B. Kilian, J. Russell, L. Ramsay, N. Stein, M. Ganal, P. Shaw, M. Bayer, W. Thomas, D. Marshall, P. Hedley, A. Tondelli, N. Pecchioni, E. Francia, V. Korzun, A. Walther, and R. Waugh, 2012: Natural variation in a homolog of *Antirrhinum CENTRORADIALIS* contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley. *Nat. Genet.* **44**, 1388–1392.
- Cromey, M. G., and R. A. Parkes, 2003: Pathogenic variation in *Drechslera teres* in New Zealand. *N. Z. Plant Prot.* **56**, 251–256.
- Douiyyi, A., D. C. Rasmusson, and A. P. Roelfs, 1998: Responses of barley cultivars and lines to isolates of *Pyrenophora teres*. *Plant Dis.* **82**, 316–321.
- Friesen, T. L., J. D. Faris, Z. Lai, and B. J. Steffenson, 2006: Identification and chromosomal location of major genes for resistance to *Pyrenophora teres* in a doubled-haploid barley population. *Genome* **49**, 855–859.
- Graner, A., B. Foroughi-Wehr, and A. Tekauz, 1996: RFLP mapping of a gene in barley conferring resistance to net blotch (*Pyrenophora teres*). *Euphytica* **91**, 229–234.
- Grewal, T. S., B. G. Rosnagel, C. J. Pozniak, and G. J. Scoles, 2008: Mapping quantitative trait loci associated with barley net blotch resistance. *Theor. Appl. Genet.* **116**, 529–539.
- Grewal, T. S., B. G. Rosnagel, and G. J. Scoles, 2010: Validation of molecular markers associated with net blotch resistance and their utilization in barley breeding. *Crop Sci.* **50**, 177–184.
- Grewal, T. S., B. G. Rosnagel, and G. J. Scoles, 2012: Mapping quantitative trait loci associated with spot blotch and net blotch resistance in a doubled-haploid barley population. *Mol. Breed.* **30**, 267–279.
- Gupta, S., C. D. Li, R. Loughman, M. Cakir, G. Platz, S. Westcott, J. Bradley, S. Broughton, and R. Lance, 2010: Quantitative trait loci and epistatic interactions in barley conferring resistance to net type net blotch (*Pyrenophora teres f. teres*) isolates. *Plant Breed.* **129**, 362–368.
- Gupta, S., C. Li, R. Loughman, M. Cakir, S. Westcott, and R. Lance, 2011: Identifying genetic complexity of 6H locus in barley conferring resistance to *Pyrenophora teres f. teres*. *Plant Breed.* **130**, 423–429.
- Jubault, M., C. Lariagon, M. Simon, R. Delourme, and M. J. Manzaneres-Dauleux, 2008: Identification of quantitative trait loci controlling partial clubroot resistance in new mapping populations of *Arabidopsis thaliana*. *Theor. Appl. Genet.* **117**, 191–202.
- König, J., D. Perovic, D. Kopahnke, and F. Ordon, 2013: Development of an efficient method for assessing resistance to the net type of net blotch (*Pyrenophora teres f. teres*) in winter barley and mapping of QTL for resistance. *Mol. Breed.* **30**, 1253–1264.
- Lamari, L., and C. C. Bernier, 1989: Evaluation of wheat lines and cultivars to tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) based on lesion type. *Can. J. Plant Pathol.* **11**, 49–56.

- Ma, Z. Q., N. L. V. Lapitan, and B. Steffenson, 2004: QTL mapping of net blotch resistance genes in a doubled-haploid population of six-rowed barley. *Euphytica* **137**, 291—296.
- Manninen, O. M., M. Jalli, R. Kalendar, A. Schulman, O. Afanasenko, and J. Robinson, 2006: Mapping of major spot-type and net-type net blotch resistance genes in the Ethiopian barley (*Hordeum vulgare*) line CI 9819. *Genome* **49**, 1564—1571.
- Mathre, D. E., 1997: Compendium of Barley Diseases, 2nd edn. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Miedaner, T., and V. Korzun, 2012: Marker-assisted selection for disease resistance in wheat and barley breeding. *Phytopathology* **102**, 560—566.
- Raman, H., G. J. Platz, K. Chalmers, R. Raman, B. J. Read, A. R. Barr, and D. B. Moody, 2003: Mapping of genetic regions associated with net form of net blotch resistance in barley. *Aust. J. Agric. Res.* **54**, 1359—1367.
- Ramsay, L., M. Macaulay, S. degli Ivanisovich, K. MacLean, L. Cardle, J. Fuller, K. J. Edwards, S. Tuvesson, M. Morgante, A. Massari, E. Maestri, N. Marmioli, T. Sjakste, M. Ganal, W. Powell, and R. Waugh, 2000: A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics* **156**, 1997—2005.
- Read, B. J., H. Raman, G. McMichael, K. J. Chalmers, G. A. Ablett, G. J. Platz, R. Raman, R. K. Genger, W. J. R. Boyd, C. D. Li, C. R. Grime, R. F. Park, H. Wallwork, R. Prangnell, and R. C. M. Lance, 2003: Mapping and QTL analysis of the barley population Sloop x Halcyon. *Aust. J. Agric. Res.* **54**, 1145—1153.
- Richter, K., J. Schondelmaier, and C. Jung, 1998: Mapping of quantitative trait loci affecting *Drechslera teres* resistance in barley with molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* **97**, 1225—1234.
- Robinson, J., and M. Jalli, 1996: Diversity among Finnish net blotch isolates and resistance in barley. *Euphytica* **92**, 81—87.
- Rostoks, N., S. Mudie, L. Cardle, J. Russell, L. Ramsay, A. Booth, J. T. Svensson, S. I. Wanamaker, H. Walia, E. M. Rodriguez, P. E. Hedley, H. Liu, J. Morris, T. J. Close, D. F. Marshall, and R. Waugh, 2005: Genome-wide SNP discovery and linkage analysis in barley based on genes responsive to abiotic stress. *Mol. Genet. Genomics* **274**, 515—527.
- Spaner, D., L. P. Shugar, T. M. Choo, I. Falak, K. G. Briggs, W. G. Legge, D. E. Falk, S. E. Ullrich, N. A. Tinker, B. J. Steffenson, and D. E. Mather, 1998: Mapping of disease resistance loci in barley on the basis of visual assessment of naturally occurring symptoms. *Crop Sci.* **38**, 843—850.
- Steffenson, B. J., and R. K. Webster, 1992: Pathotype diversity of *Pyrenophora teres* f. *teres* on barley. *Phytopathology* **30**, 47—66.
- Steffenson, B. J., P. M. Hayes, and A. Kleinhofs, 1996: Genetics of seedling and adult plant resistance to net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) and spot blotch (*Cochliobolus sativus*) in barley. *Theor. Appl. Genet.* **92**, 552—558.
- Tekauz, A., 1985: A numerical scale to classify reactions of barley to *Pyrenophora teres*. *Can. J. Plant Pathol.* **7**, 181—183.
- Tekauz, A., 1986: Effect of plant age and leaf position on the reaction of barley to *Pyrenophora teres*. *Can. J. Plant Pathol.* **8**, 380—386.
- 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 Pathol.* **12**, 141—148.
- Tekauz, A., 2000: Evaluation of barley cultivar resistance to *Pyrenophora teres* using combined seedling and adult-plant reactions. In: S. Logue (ed.), Proceedings of the 8th International Barley Genetic Symposium, 182—183, Depart. Plant Sci., Australia
- Van Ooijen, J. W., 2004: Map QTL 5: Software for the Mapping of Quantitative Trait Loci in Experimental Population. B. V. Kyazma, Wageningen, the Netherlands.
- Van Ooijen, J. W., 2006: Join Map[®] 4.0 Software for the Calculation of Genetic Linkage Maps in Experimental Populations. B. V. Kyazma, Wageningen, the Netherlands.
- Wenzl, P., J. Carling, D. Kudrna, D. Jaccoud, E. Huttner, A. Kleinhofs, and A. Kilian, 2004: Diversity arrays technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **101**, 9915—9920.
- Yun, S. J., L. Gyenis, P. M. Hayes, I. Matus, K. P. Smith, B. J. Steffenson, and G. J. Muehlbauer, 2005: Quantitative trait loci for multiple disease resistance in wild barley. *Crop Sci.* **45**, 2563—2572.

3. Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es die Voraussetzungen zu schaffen, um das Resistenzniveau der Kulturgerste gegen die pilzlichen Schaderreger *Puccinia hordei* (Zwergrost) und *Pyrenophora teres* f. *teres* (Netzfleckenkrankheit) zu verbessern. Zusätzlich sollte eine effektive und robuste Methode zur Erfassung der Netzfleckenresistenz unter Feldbedingungen entwickelt werden. Im folgendem wird die Eignung verschiedener Phänotypisierungsmethoden zur Ermittlung der Resistenz diskutiert und die in dieser Arbeit lokalisierten Resistenzgene mit den in der Literatur beschriebenen verglichen. Anschließend wird die Nutzung von Markern in der Sortenentwicklung sowie der heutige Stand der markergestützten Resistenzzüchtung in Gerste diskutiert und ein Ausblick auf zukünftige Methoden und ihre Anwendung in der Resistenzzüchtung gegeben.

3.1 Eignung verschiedener Phänotypisierungsmethoden zur Resistenzfeststellung

Der Phänotyp eines Individuums wird bestimmt durch den Genotyp, die herrschenden Umweltbedingungen und die entsprechenden Wechselwirkungen (Xu 2010). Um Resistenzen erfassen und Rückschlüsse auf den Genotyp ziehen zu können, müssen eindeutige und reproduzierbare Versuchsbedingungen geschaffen werden. Besonders bei quantitativ ausgeprägten Merkmalen erweist sich eine genaue Erfassung oft als schwierig (Rousseau et al. 2013). Die visuelle Erfassung quantitativer Unterschiede ist subjektiv und hängt stark von dem Bewerter und dessen Erfahrung ab. Poland und Nelson (2011) konnten jedoch zeigen, dass bei Erfassung des Krankheitsbefalls durch unterschiedliche Bewerter, trotzdem die gleichen QTL für Resistenz gegen die Blattfleckenkrankheit in Mais detektiert werden können. Die Bewertung erfolgte sowohl mit Hilfe des prozentualen Befalls, als auch nach einer Boniturskala von 0-9. Zusammenfassend kommt die Studie zu dem Schluss, dass trotz einiger Abweichungen zwischen den Bewertern, die Identifikation von QTL größtenteils einheitlich war. Aus diesem Ergebnis kann geschlossen werden, dass eine erfolgreiche Infektion mit dem Pathogen wichtiger für die Lokalisation der Resistenz ist, als der Fehler, der durch die subjektive Bewertung entsteht. Die Ausprägung der Resistenz ist neben den Umweltfaktoren auch vom Entwicklungsstadium der Pflanze anhängig.

Bei den monogen vermittelten Zwergrostresistenzen der Gerste wurden bis jetzt 21 Resistenzgene (*Rph1-19*, *Rph21*, *Rph22*) beschrieben, die eine hypersensitive Abwehrreaktion vermitteln und in der frühen Entwicklungsphase (Sämlinge) wirken, so wie das in dieser Arbeit beschriebene "*Rph_{MBR}*". Die Resistenzgene *Rph 20* und *Rph23* (Golegaonkar et al. 2009, Hickey et al. 2011, Dracatos et al. 2014) bedingen dagegen eine Zwergrostresistenz nur in adulten Pflanzen. Die Resistenzen gegen die Netzfleckenkrankheit (*Pyrenophora teres f. teres*) der Gerste folgen zumeist einer quantitativen Vererbung, doch auch sie werden nicht alle im gleichen Entwicklungsstadium der Pflanze ausgeprägt. Momentan sind 19 QTL und 1 Monogen beschrieben, die bei Sämlingen eine Resistenz gegen den Netz-Typ vermittelt, bei adulten Pflanzen sind 6 Resistenz-QTL bekannt (Liu et al. 2011). In den DH-Populationen Uschi x HHOR3073 und (PxV) x HHOR9484 konnte in beiden Entwicklungsstadien Resistenz nachgewiesen werden, doch wirken meist unterschiedliche QTL in den beiden Entwicklungsstadien (König et al. 2013, König et al. 2014). Nur der QTL_{PH-5H-1} (adult) und der QTL_{PHS-5H} (Sämling) in der Population (PxV) x HHOR9484 liegen in der gleichen Region, so dass vermutet werden kann, dass hier ein QTL in beiden analysierten Entwicklungsstadien wirksam ist.

Bei einer Phänotypisierung unter Freilandbedingungen kommt es zusätzlich noch zu einer Konkurrenz zwischen unterschiedlichen Blattpathogen, so kann ein starker Befall mit *Rynchosporium commune* einen Befall mit Netzflecken fast vollkommen maskieren (Xue et al. 1994). Diese Beobachtung ist auch in mitteleuropäischen Anbaugebieten häufig. Die Sporenproduktion von *Rynchosporium commune* beginnt im Frühjahr bereits ab einer Temperatur von 4°C (Obst et al. 1995) während die von *Pyrenophora teres* erst ab einer Temperatur von 8°C beginnt (van den Berg und Rossnagel 1991). Dadurch hat *R. commune* besonders im Frühjahr einen zeitlichen Vorteil und oft bereits einen großen Teil der Blattfläche infiziert, bevor die Netzfleckeninfektion auftritt. Durch diesen Befall mit *R. commune* wird eine Bonitur auf Netzflecken stark erschwert, oder z.T. unmöglich. Um diese Problem zu umgehen, und eine eindeutige und wiederholbare Netzfleckenbonitur zu erreichen, wurde in unseren Versuchen der Aussattermin für die Wintergerste auf Anfang August verschoben. Zu diesem Zeitpunkt ist die Durchschnittstemperatur höher als im Frühjahr, mit einer immer noch ausreichenden Feuchtigkeit für eine starke Verbreitung des Netzfleckenerregers (König et al. 2013).

Mit der Entwicklung des Sommer-Hill Versuchs ist es gelungen, eine stabile und reproduzierbare Methode zur Bewertung des Netzfleckenbefalls unter Feldbedingungen zu etablieren, was für die spätere praktische Anwendung zur Resistenzbewertung von besonderer Bedeutung ist (König et al. 2013).

Wenn das Ziel allein die Charakterisierung einer neuen Resistenz ist, ist es oft von Vorteil eine Resistenzbewertung der Pflanzen im Gewächshaus mit künstlicher Inokulation vorzunehmen. Feldversuche sind zeitaufwendiger und die Ergebnisse können durch unkontrollierbare Umweltbedingungen beeinflusst werden (Odilbekov et al. 2014). Im Blattsegmenttest können zudem einzelne Monokonidiallinien mit unterschiedlichen Virulenzen an verschiedenen Genotypen getestet werden, wohingegen auf dem Feld immer ein Isolatgemisch vorliegt. Anhand der 11 getesteten Monokonidiallinien spiegelt sich die unterschiedliche Virulenz der verschiedenen Pathotypen wider. Für die Population Uschi x HHOR3073 konnten drei differenzierende Monokonidiallinien und für die Population (PxV) x HHOR9484 zwei identifiziert werden (König et al. 2014). Bereits Tekauz (1990) stellte fest, dass der Erreger *Pyrenophora teres* f. *teres* ein hoch variables Pathogen ist, welches viele unterschiedliche Pathotypen bildet, die sich in ihrer Virulenz stark unterscheiden können. Somit weist jede Methode spezifische Vor- und Nachteile auf, die es im Bezug auf die Fragestellung ab zu wägen gilt.

3. 2 Vergleich der in unterschiedlichen Entwicklungsstadien detektieren Resistenzen

Auf fast allen Chromosomen sind in der Gerste Resistenzgene gegen Zwergrost bekannt (siehe Tab. 3), doch auf dem Chromosom 1HS wurde nur *Rph4* aus der Sorte "Gold" lokalisiert (McDaniel und Hathcock 1969). Wie von König et al. (2012) ausführlich diskutiert, ist diese Angabe u.U. nicht zutreffend. Basierend auf den SNP-Daten der Sorte 'Bowman' und übereinstimmenden Daten von *Rph4* tragenden Linien, ist dieses Resistenzgen sehr wahrscheinlich auf Chromosom 2H lokalisiert, so dass *Rph_{MBR}* wahrscheinlich das einzige bisher auf Chromosom 1HS lokalisierte Zwergrostresistenzgen ist. Diese Vermutung ist in einen Allelietest (Tsuchiya und Haus 1973) zu prüfen.

Die Beziehungen der einzelnen in dieser Arbeit detektierten QTL für Netzfleckenresistenz zu den in der Literatur beschriebenen wurden bereits ausführlich in König et al. (2013) und König et al. (2014) diskutiert und sind zusätzlich in der Abb. 5 und 6 dargestellt.

Aus diesem Grund wird im weiteren der Fokus der Diskussion auf die Wirkung der detektierten QTL in den einzelnen Entwicklungsstadien gelegt und ihre Beziehung zu einander. In der Population 'Uschi x HHOR3073' konnten acht gegen Netzfleckenbefall wirksame QTL und ein Resistenzgen lokalisiert werden (Abb. 5). Im Bezug auf QTL für Netzfleckenresistenz berichtet eine Vielzahl von Arbeitsgruppen über unterschiedliche QTL auf verschiedenen Chromosomen, die z.T. nur in definierten Entwicklungsstadien wirksam sind (Tab. 1 und Tab. 2). Nur Grewal et al. (2008) gelang es in der DH-Population 'CDC Dolly x TR251' den gleichen QTL (*QRpt6*) in Sämlingen (Infektion mit einzelnen Isolaten) und in adulten Pflanzen (natürliche Infektion) zu lokalisieren. In den Untersuchungen von Steffenson et al. (1996) wurde die DH-Population 'Steptoe x Morex' mit dem Isolat 'ND89-19' im Sämlingsstadium und im Adultpflanzenstadium getestet, in jedem Entwicklungsstadium wurden unterschiedliche QTL detektiert. Diese Beispiele zeigen, dass die beteiligten Loci für die Netzfleckenresistenz bei der Gerste sich innerhalb des Entwicklungsstadiums der Pflanze unterscheiden. Auch in den eigenen Versuchen war lediglich der auf Chromosom 5H in der Population (PxV) x HHOR9484 lokalisierte QTL in beiden Entwicklungsstadien wirksam (Abb. 6).

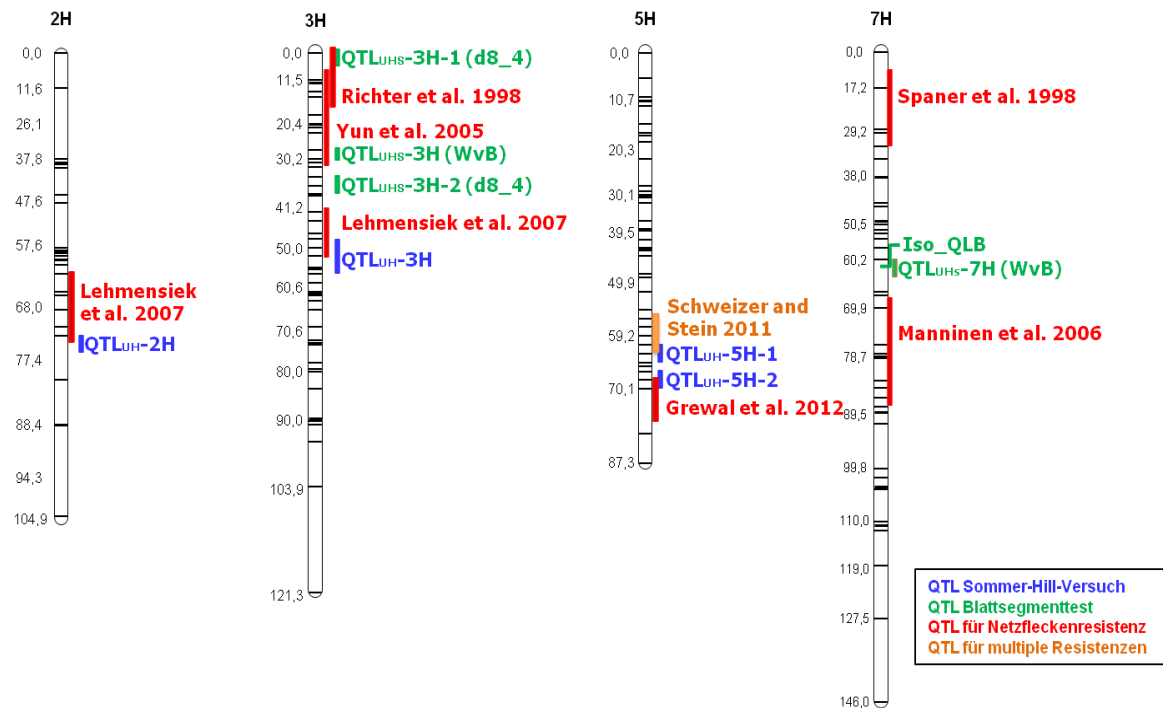


Abb. 5: Vergleich der in der DH-Population Uschi x HHOR3073 lokalisierten QTL gegen den Netzfleckenerreger *P. teres f. teres* mit den in der Literatur beschriebenen Resistenzen. In blauer Schrift die QTL, die mit Hilfe des "summer-hill"-Versuchs an adulten Pflanzen detektiert wurden, in grüner Schrift die Resistenzen, die im Blattsegmenttest an Sämlingspflanzen detektiert wurden und in roter Schrift, die QTL gegen Netzflecken, die in der Literatur beschrieben sind und in der Nähe eines in dieser Arbeit detektierten QTL lokalisiert sind. In orangener Schrift ist ein QTL angegeben, das gegen multiple Erreger wirksam ist.

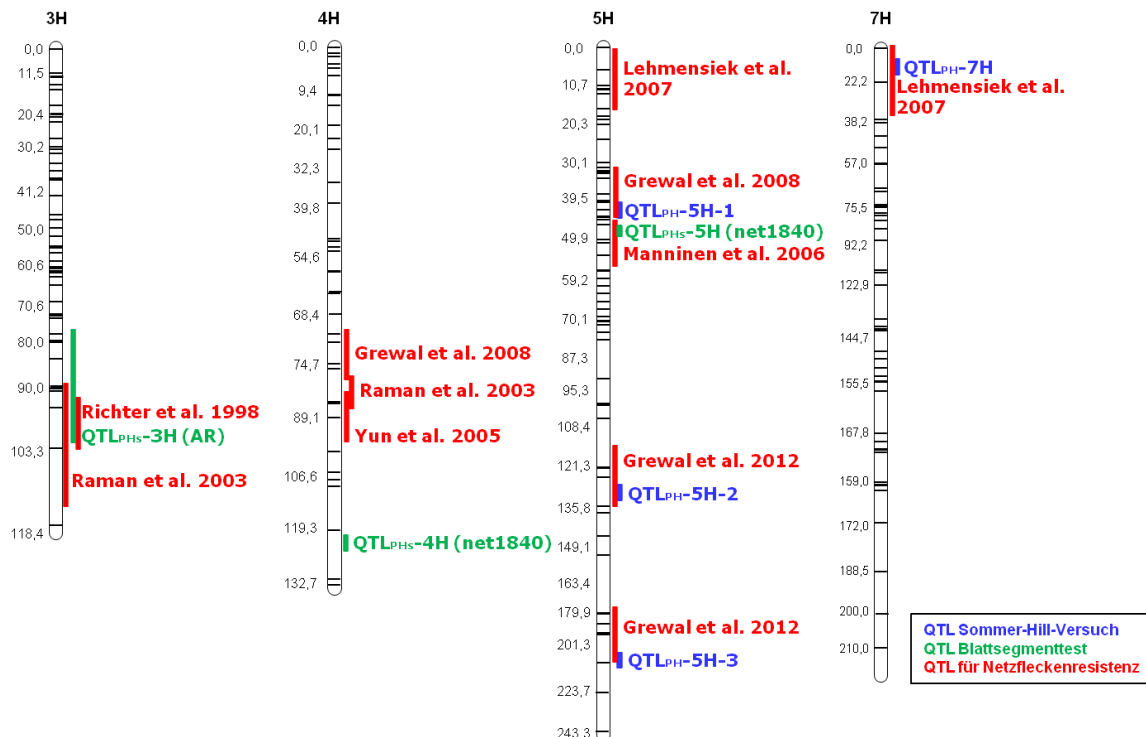


Abb. 6: Vergleich der in der DH-Population (PxV) x HHOR9484 lokalisierten QTL gegen den Netzfleckenreger *P. teres* f. *teres* mit den in der Literatur beschriebenen Resistenzen. In blauer Schrift die QTL, die an Hand des "summer-hill"-Versuchs an adulten Pflanzen detektiert wurden, in grüner Schrift die QTL, die im Blattsegmenttest an Sämlingspflanzen detektiert wurden und in roter Schrift die in der Literatur beschriebenen QTL, welche in der Nähe eines der in dieser Arbeit detektierten QTL lokalisiert sind.

3.3 Stand und Perspektiven der Nutzung von Resistenzen in der Sortenentwicklung

Kommerziell genutzte Sorten müssen ein adäquates Niveau an Resistenzen gegenüber den in dem jeweiligen Anbauggebiet vorherrschenden Phytopathogenen besitzen (Kling et al. 2011). In Deutschland werden die Resistenzeigenschaften einer Sorte bei deren Zulassung durch das Bundessortenamt geprüft (Beschreibende Sortenliste, 2014). Die in Deutschland neu zugelassenen Sorten zeigen i.d.R. ein gutes bis mittleres Resistenzniveau gegen *P. hordei* und *P. teres*. An Hand der Angaben der beschreibenden Sortenliste 2002 bis 2014 kann man erkennen, dass der Anteil zwergrostresistenter Sorten in den letzten Jahren zugenommen hat, jedoch die Anzahl Sorten mit Netzfleckenresistenz nahezu gleich geblieben ist (Tab. 4).

Dies lässt sich zum Teil mit der monogenen Vererbung der Zwergrostresistenz erklären, die schneller in etabliertes Sortenmaterial zu überführen ist, als die meist polygen vererbten Resistenzen gegen Netzflecken (Miedaner und Korzun, 2012). Der gleiche Trend zeigt sich für die ebenfalls monogen vererbte Gelbmosaikvirusresistenz, für die der Anteil resistenter Sorten im betrachteten Zeitraum von 49% auf 95% stieg.

Tab. 4: Vergleich des Resistenzverhaltens der in der Beschreibenden Sortenliste aufgeführten Wintergerstensorten von 2002 bis 2014 für Netzflecken, Zwergrost und Gelbmosaikvirus. Dabei wurden Sorten mit einer Boniturnote von 1-3 als resistent gewertet.

Jahr	Anzahl Sorten	Netzflecken	%	Zwergrost	%	Gelbmosaikvirus	%
2002	83	5	6	16	19.3	49	59
2003	82	2	2.4	13	15.9	50	61
2004	79	3	3.8	9	11.4	51	64.6
2005	77	4	5.2	12	15.6	54	70.1
2006	74	4	5.4	13	17.6	51	68.9
2007	73	7	9.6	17	23.3	54	74
2008	74	10	13.5	20	27	56	75.7
2009	71	5	7.1	18	25.4	56	78.9
2010	74	7	9.5	28	37.8	58	78.4
2011	78	7	9	29	37.2	69	88.5
2012	78	6	7.7	25	32.1	73	93.6
2013	83	6	7.2	26	31.3	77	92.8
2014	81	6	7.4	26	32.1	77	95.1

In der Sortenzüchtung finden sowohl qualitative, wie auch vermehrt quantitative Resistenzen Verwendung (Xu 2010). Es wurde bereits eine Vielzahl von qualitativen, monogen, rassenspezifischen Resistenzen zum Beispiel gegen Zwergrost (*Puccinia hordei*), Mehltau (*Blumeria graminis*), Gerstengelbmosaikvirus (*Barley yellow mosaic virus*, *Barley mild mosaic virus*) und das Gerstengelbverzwergungsvirus (*Barley yellow dwarf virus*) in verschiedene Gerstensorten eingebracht (Chelkowski et al. 2003, Dreiseitl 2011, Beschreibende Sortenliste 2014). Jedoch wurden viele dieser Resistenzgene relativ schnell überwunden, da häufig nur einzelne Resistenzgene in Sorten überführt wurden (Miedaner und Korzun 2012).

Für den Zwergrost wurde eine Vielzahl von Resistenzgenen beschrieben (Tab. 3), doch wurden nur wenige von diesen in der Sortenzüchtung genutzt (Woldeab et al. 2006). Niks et al. (2000) stellten fest, dass in den Sorten überwiegend *Rph3*, *Rph12* oder *Rph9* vorkommt und diese häufig einzeln vorliegen.

Virulenzuntersuchungen dieser Arbeitsgruppe ergaben im gleichen Jahr, dass für die genannten *Rph*-Gene virulente Pathotypen in Mitteleuropa weit verbreitet sind und nur *Rph7* noch eine adäquate Resistenz vermittelt. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch in Australien (Park, 2003), Afrika (van Niekerk et al. 2001, Woldeab et al. 2006), Neuseeland (Cromey und Viljanen-Rollinson 1995) und in den USA (Long et al. 1998). Wenn das in dieser Arbeit detektierte Resistenzgen *Rph_{MBR}* in der Sortenzüchtung genutzt werden sollte, ist es empfehlenswert es mit anderen Resistenzgenen zu pyramidisieren, um eine dauerhaftere Resistenz gegen den Erreger zu erzielen (Liu et al. 2000). Für das *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) konnten Riedel et al. (2011) zeigen, dass bereits die Pyramidierung von *Ryd2* und *Ryd3* zu einer quantitativen Resistenz führt, wohingegen jedes Gen einzeln nur eine Toleranz gegen BYDV bewirkt.

Durch die Vielzahl der beteiligten Loci sind die meist rassenunspezifischen, quantitativen Resistenzen züchterisch schwieriger zu bearbeiten, d.h. in Elitematerial zu übertragen (Xu, 2010). Besonders QTL, die einen hohen Anteil der phänotypischen Varianz erklären, eignen sich für eine Übertragung in Elitematerial, doch auch QTL mit einer phänotypischen Erklärungsrate zwischen 10 - 20% sind geeignet, um sie mit Hilfe molekularer Marker in neue genetische Hintergründe zu überführen (Miedaner und Korzun 2012). Nach dieser Einschätzung wären sieben von acht im Sommer– Hill Versuch und alle im Blattsegmenttest detektierte QTL vom züchterischen Wert (König et al. 2013, König et al. 2014). Ein Beispiel für die erfolgreiche markergestützte Übertragung von quantitativen Resistenzen konnte Parlevliet (1995) bereits im Jahr 1995 gegen den Erreger *Puccinia hordei* in der Gerste zeigen.

3.4 Anwendungen der markergestützten Resistenzzüchtung

Die Hauptanwendung findet die markergestützte Selektion (marker assisted selection [MAS]) in der Pflanzenzüchtung, um neue, erwünschte Gene aus einer genetischen Ressource in Elitematerial zu transferieren, oder um Resistenzgene aus verschiedenen Herkünften in einem gemeinsamen genetischen Hintergrund zu pyramidisieren (Xu 2010). Seit die Gerste großflächig angebaut wird, wird sie von vielen Pathogenen gleichzeitig befallen, welche oftmals eine schnelle Adaption an die Wirtsresistenz zeigen. Resistenzzüchtung ist somit eine komplexe Aufgabe (Friedt 2011).

Die Entwicklung molekularer Marker, welche den Transfer der Selektion vom Phänotyp zum Genotyp erlauben, eröffnet neue Möglichkeiten für eine effizientere Gerstenzüchtung mit der angestrebten Kombination von Resistenz, Ertrag und Qualität (Wendler et al. 2014). Zu diesem Zweck werden bereits seit vielen Jahren routinemäßig verschiedene Markersysteme genutzt, doch sind die meisten von ihnen in ihrer Anwendung durch eine beschränkte Verfügbarkeit im Genom und die hohen Kosten der Analysen nur eingeschränkt nutzbar (He et al. 2014). Erst durch die Entwicklung der Next-Generation-Sequencing (NGS) Systeme entstanden die ersten Hochdurchsatz-Verfahren, durch die die Kosten und der Zeitaufwand für die Genotypisierung erheblich gesenkt werden konnte (Wendler et al. 2014). Die Weiterentwicklung des NGS senkte die Kosten der Sequenzierung so weit, dass z.B. ein Genotyping-by-Sequencing (GBS, Elshire et al. 2011), oder die Nutzung von SNP-Chips (z.B. Comadran et al. 2012) für viele Spezies einschließlich der Gerste heute rentabel ist.

Für die Züchtungsunternehmen ist MAS besonders durch die Ressourcen- und Zeiterparnis von Interesse, weil die Analysen vegetationsunabhängig durchgeführt werden können (Kling et al. 2011). Beispiele für eine erfolgreiche Anwendung dieser Technik in Gerste sind z.B. die Pyramidisierung der Virusresistenzgene *rym4*, *rym5*, *rym9* und *rym11* (Werner et al. 2005), sowie die Übertragung von drei QTL, die eine Resistenz gegen Gelbrost (Richardson et al. 2006) bewirken. Für die Pyramidisierung verschiedener Resistenzgene, die gegen das gleiche Pathogen wirken, ist es eine der wenigen Möglichkeiten die Anzahl der erfolgreich eingebrachten Resistenzgene zu kontrollieren, da die Individuen mit einem oder mehreren Resistenzgenen häufig den gleichen Phänotyp ausprägen (Xu 2010). Bei der Verwendung co-dominanter Marker kann zusätzlich zwischen homozygot dominant und heterozygoten Genotypen unterschieden werden, welche bei der konventionellen Selektion einen identischen Phänotyp aufweisen (Kling et al. 2011). Angewendet wird die MAS ebenfalls bei Merkmalen deren phänotypische Erfassung sehr schwierig und/oder teuer ist (Xu 2010). Nach einer weltweiten Umfrage über die Anwendung von molekularen Markern innerhalb des Züchtungsprozess von Gerste bei insgesamt 37 Züchtern stellten Thomas et al. (2011) fest, dass MAS generell zur Charakterisierung der Elternlinien, weniger bei den entstehenden Züchtungslinien, jedoch wieder bei der finalen Selektion der Sortenkandidaten und hier besonders bei Resistenzmerkmalen genutzt wird.

In den USA wurde die Sorte "Valier" ausschließlich unter Anwendung von MAS entwickelt, welche sich durch exzellente agronomische Eigenschaften und Futterqualitäten auszeichnet (Kling et al. 2011). Während die Markeranalyse in der Pflanzenzüchtung immer mehr an Bedeutung gewinnt und mittlerweile in der Sortenentwicklung etabliert ist, werden nun vor allem Hochdurchsatzverfahren mit geringen Kosten für die praktische Anwendung benötigt (Friedt 2011). Diese sind in den letzten Jahren in Form der auf dem Next-Generation-Sequencing basierenden SNP-Detektionsplattformen wie z.B. Roche 454 FLX Titanium (Thudi et al. 2012), Illumina MiSeq und HiSeq (Bentley et al. 2008), GoldenGate-Assay (Close et al. 2009, Comadran et al. 2012) verfügbar geworden und ermöglichen eine kostengünstige und sichere Genotypisierung.

3.5 Entwicklungen in der Markertechnologie und deren Nutzung

Molekulare Marker stellen heute ein wichtiges Werkzeug in der Pflanzenzüchtung dar und durch die Kostenreduktion bei der Sequenzierung werden sie vermehrt zur Detektion einzelner Gene bis hin zum genomweiten Profiling genutzt (Poland and Rife 2012).

Generell ist es durch die erfolgreiche Entwicklung verschiedener Hochdurchsatzverfahren, z.B. Genotyping by Sequencing (GBS, Poland et al. 2012), zur Genotypisierung von pflanzlichen Genomen möglich geworden, komplette Populationen hochauflösend zu kartieren und diese Informationen für MAS zu nutzen (He et al. 2014). Für eine weitere Absättigung von Zielregionen mit Markern steht in der Gerste der sogenannte "Genome-Zipper" (Mayer et al. 2011) zur Verfügung. In diesem Model wurden mehr als 21.000 Gene integriert, wobei nur 13% auf experimentellen Ergebnissen beruhen und 87% auf der konservierten, co-linearen Syntähnie zwischen den genomischen Sequenzen der Modelorganismen Reis, Sorghum und *Brachypodium distachyon* (Mayer et al. 2011). Trotzdem ergibt sich eine 95% Übereinstimmung mit genetisch kartierten Markern in der Gerste, so dass die hierdurch entstandene virtuelle genetische Karte der Gerstenchromosomen, auch zur Anordnen physikalischer Contigs des Weizen und zum Erstellen einer physikalischen Karte genutzt werden kann (Poursarebani et al. 2013). Daneben steht in der Gerste ein Exome-Capture-Assay zur Verfügung, der ca. 62 Mb Exon-Sequenzen enthält (Mascher et al. 2013) und eine Großteil der Sequenz des Gerstengenoms ist bereits publiziert (IBGS 2013).

Diese heute zur Verfügung stehenden Techniken können zukünftig effizient für die züchterische Verbesserung der Adaption der Gerste an den Klimawandel genutzt werden, z.B. im Hinblick auf Resistenzen gegenüber vom Klimawandel begünstigten Pathogenen, oder Hitze- und Trockenstresstoleranz. In der näheren Zukunft wird deshalb ein wesentliches Ziel in der Identifikation und Charakterisierung genetischer Ressourcen im Hinblick auf diese Eigenschaften liegen, wobei mit den Kulturarten verwandte Wildformen eine wichtige Ressource darstellen (Wendler et al. 2014). *Hordeum bulbosum* L. repräsentiert den sekundären Genpool in der Gattung *Hordeum* (Harlan und de Wet 1971) und wurde verwendet um z.B. Resistenzen über Introgressionen in Elitematerial von *H. vulgare* einzubringen (Pickering et al. 2010). Mit Hilfe oben genannter Techniken ist es nun möglich die Größe dieser Introgressionen exakt zu bestimmen und damit möglichst kleine Introgressionen, welche die Zielgene tragen, in der Züchtung zu nutzen. (Wendler et al. 2014). Weiterhin können diese Techniken effizient im Rahmen der Genisolation mittels kartengestützter Klonierung eingesetzt werden.

So konnten z.B. Perovic et al. (2012) beschleunigt eine hochauflösende genetische Karte des Zwergrostresistenzlocus *Rph_{MBR}* (König et al. 2012) durch die Anwendung des Illumina iSelect 9k Bead Chip erstellen, mit dessen Hilfe innerhalb kürzester Zeit 32 neue SNP-Marker in dem flankierenden Intervall kartiert werden konnten. Als ein weiteres sehr effizientes Werkzeug im Rahmen der Markerabsättigung hat sich auch der "GenomeZipper" (Mayer et al. 2011) erwiesen (Silvar et al. 2012, Lüpken et al. 2013, 2014). Diese Möglichkeit der beschleunigten Markerabsättigung wird zukünftig zu einer vermehrten Isolation von Resistenzgenen führen, wie dies z.B. jüngst von Yang et al. (2014) für das Gelbmosaikvirusresistenzgen *rym11* gezeigt werden konnte. In ähnlicher Weise könnten so zukünftig auch die QTL gegen die Netzfleckenkrankheit an Gerste aus 'HHOR3073' und 'HHOR9484' (König et al. 2013, König et al. 2014) hochauflösend kartiert und letztendlich isoliert werden. Die Kenntnis der Sequenz entsprechender Gene erlaubt anschließend die Identifikation neuer u.U. wirkungsvollerer Allele (Allele mining, Hofinger et al. 2011) und verlagert die Resistenzzüchtung zunehmend auf die Allelebene (Ordon und Kühne 2015). Der Pflanzenzüchtung wird es damit möglich werden zukünftig gezielter und schneller auf neue Herausforderungen zu reagieren.

4. Literatur

- Abu Qamar M, Liu ZH, Faris JD, Chao S, Edwards MC, Lai Z, Franckowiak JD, Friesen TL (2008) A region of barley chromosome 6H harbours multiple major genes associated with net type net blotch resistance. *Theor Appl Genet* 117:1261-1270. doi:10.1007/s00122-008-0860-x
- Arabi M, Al-Safadi B, Barrault G, Alertini L (1990) Inheritance of partial resistance to net blotch in barley. *Plant Breed* 105:150-155. doi:10.1111/j.1439-0523.1990.tb00468.x
- Arend D (2010) Expanding QTL Analysis, high performance computing of QTLs for experimental crosses. Masterthesis in State university of Groningen.
- Badr A, Müller K, Schäfer-Pregl R, El-Rabey H, Effgen S, Ibrahim HH, Pozzi C, Rohde W, Salamini F (2000) On the Origin and Domestication History of Barley. *Mol Biol Evol* 17:499-510
- Barabaschi D, Campani L, Francia E, Toubia-Rahme H, Valè GP, Gianinetti A, Delogu G, Stanca AM, Pecchioni N (2007) Haplotype structure around the *nud* locus in barley and its association with resistance to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*). *Plant Breed* 126:24-29
- Baumann K, Potthast S, Schaack D, von Schenck W (2012) Daten, Fakten, Entwicklungen. In: AMI Markt Bilanz Getreide, Ölsaaten, Futtermittel. Agrarmarkt Informations-Gesellschaft mbH, Dreizehnmorgenweg 10, 53175 Bonn.
- Becker J, und Heun M (1995) Mapping of digested and undigested random amplified microsatellite polymorphisms in barley. *Genome* 38:991-998. doi: 10.1139/g95-130
- Becker H (2011) Pflanzenzüchtung, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, Smith GP, Milton J, Brown CG, Hall KP, Evers DJ, Barnes CL, Bignell HR, et al. (2008) Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature* 456:53-59. doi:10.1038/nature07517
- Beschreibende Sortenliste des Bundessortenamts (2014) Getreide, Mais, Ölfrüchte, Leguminosen (großkörnig), Hackfrüchte (außer Kartoffeln). Bundessortenamt, Hannover
- Bernardo L, Prinsi B, Negri AS, Cattivelli L, Espen L, Vale G (2012) Proteomic characterization of the Rph15 barley resistance gene-mediated defence responses to leaf rust. *BMC Genom* 13:642-658. doi:10.1186/1471-2164-13-642

- Borovkova IG, Jin Y, Steffenson BJ, Kilian A, Blake TK, Kleinhofs A (1997) Identification and mapping of a rust resistance gene in barley line Q21861. *Genome* 40:236-241. doi: 10.1139/g97-033
- Borovkova IG, Jin Y, Steffenson BJ (1998) Chromosomal location and genetic relationship of leaf rust resistance genes *Rph9* and *Rph12* in barley. *Phytopathology* 88:76-80
- Braune W, Leman A, Taubert H (1999) Pflanzenanatomisches Praktikum. Band II. Zur Einführung in den Bau, die Fortpflanzung und die Ontogenie der niederen Pflanzen (auch Bakterien und Pilze) und die Embryologie der Spermatophyta. 4. Auflage – Elsevier.
- Bresinsky A, Körner C, Kadereit JW, Neuhaus G, Sonnewald U (2008) Systematik und Stammgeschichte Pp. 862 – 866 in Lehrbuch der Botanik 36. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- Brunner S, Keller B, Feuillet C (2000) Molecular mapping of *Rph7.g* leaf rust resistance gene in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 101:783-788. doi:10.1007/s001220051544
- Burghardt B, Schaack D, von Schenck W (2014) Daten, Fakten, Entwicklungen. In: AMI Markt Bilanz Getreide, Ölsaaten, Futtermittel. Agrarmarkt Informations-Gesellschaft mbH, Dreizehnmorgenweg 10, 53175 Bonn.
- Carbonell EA, Asins MJ, Baselga M, Balansard E, Gerig TM (1993) Power studies in the estimation of genetic parameters and the localization of quantitative trait loci backcross and doubled haploid populations. *Theor Appl Genet* 86:411-416
- Chee M, Yang R, Hubbell E, Berno A, Huang XC, Stern D, Winkler J, Lockhart DJ, Morris MS, Fodor SPA (1996) Accessing genetic information with high-density DNA arrays. *Science* 274:610 – 614. doi: 10.1126/science.2745287.610
- Chelkowski J, Tyrka M, Sobkiewicz A (2003) Resistance genes in barley (*Hordeum vulgare* L.) and their identification with molecular markers. *J Appl Genet* 44:291-309
- Chen X, Niks RE, Hedley PE, Morris J, Druka A, Marcel TC, Vels A, Waugh R (2010) Differential gene expression in nearly isogenic lines with QTL for partial resistance to *Puccinia hordei* in barley. *BMC Genomics* 11: 629-642.
- Chen X and Yang JY (2010) Constructing consensus genetic maps in comparative Analysis. *J computational Biology* 17:1561-1573. doi:10.1089/cmb.2009.0268

- Cho R, Mindrinos M, Richards DR, Sapolsky RJ, Anderson M, Drenkard E, Dewdney J, Reuber TL, Stammers M, Federspiel N, Theologis A, Yang WH, Hubbell E, Au M, Chung EY, Lashkari D, Lemieux B, Dean C, Lipshutz RJ, Ausubel FM, Davis RW, Oefner PJ (1999) Genome-wide mapping with biallelic markers in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genetics* 23: 203-207
- Clifford BC (1985) Barley leaf rust. Pages 173-205 In: Roelfs AP and Bushnell WR (ed) *The Cereal Rusts*. Volume II. Diseases, Distribution, Epidemiology, and Control, Academic Press, New York.
- Close TJ, Bhat PR, Lonardi S et al (2009) Development and implementation of high-throughput SNP genotyping in barley. *BMC Genomics* 10:582. doi:10.1186/1471-2164-10-582
- Collins HM, Burton RA, Topping DL, Liao ML, Bacic A, Fincher GB (2010) Variability in fine structures of noncellulosic cell wall polysaccharides from cereal grains: Potential importance in human health and nutrition. *Cereal Chemistry* 87:272-282. doi:10.1094/CCHEM-87-4-0272
- Comadran J, Kilian B, Russell J et al (2012) Natural variation in a homolog of *Antirrhinum CENTRORADIALIS* contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley. *Nat Genet* 44:1388-1392. doi:1038/ng.2447
- Cotterill PJ, Rees RG, Platz GJ, Dill-Macky R. (1992) Effects of leaf rust on selected Australian barley. *Aust J Exp Agric* 32:747-751. doi: 10.1071/EA9920747
- Cromeley MG, Viljanen-Rollinson SLH, 1995. Virulence of *Puccinia hordei* on barley in New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Sciences* 23, 115-119.
- Dahleen LS, Morgen W, Mittal S, Bregitzer P, Brown RH, Hill NS (2012) Quantitative trait loci (QTL) for Fusarium ELISA compared to QTL for Fusarium head blight resistance and deoxynivalenol content in barley. *Plant Breed* 131:237-243. doi:10.1111/j.1439-0523.2012.01952.x
- Das MK, Griffey CA, Baldwin RE, Waldenmaier CM, Vaughn ME, Price AM, Brooks WS (2007) Host resistance and fungicide control of leaf rust (*Puccinia hordei*) in barley (*Hordeum vulgare*) and effects on grain yield and yield components. *Crop Pro* 26:1422-1430. doi: 10.1016/j.cropro.2006.12.003

- de Carvalho MAAP, Bebeli PJ, Bettencourt E, Costa G, Dias S, Dos Santos TMM, Slaski JJ (2013) Cereal landraces genetic resources in worldwide GeneBanks. A review. 33:177-203. doi:10.1007/s13593-012-0090-0
- Deimel H und Hoffmann GM (1991) Detrimental effects of net blotch disease to barley plants caused by *Drechslera-teres* (Sacc) Shoemaker. J Plant diseases Protection 98:137-161
- Delahunty C, Ankener W, Deng Q, Eng J, Nickerson DA (1996) Testing the feasibility of DNA typing for human identification by PCR and on oligonucleotide ligation assay. J Human Genet 58:1239-1246.
- Doerge RW und Churchill GA (1996) Permutations tests for multiple loci affecting a quantitative character. Genet 142:285-294
- Douglas GB und Gordon LL (1985) Quantitative genetics of net blotch in barley. N Z J Agric Res 28:147-155
- Dracatos P, Singh D, Derevnina L, Zhou M, Park RF (2014) Novel additive adult plant resistance sources to leaf rust in barley. 1st International Workshop on barley leaf diseases, Salsomaggiore Terme, 03-06 June 2014, 48
- Dreiseitl A und Steffenson BJ (2000) Postulation of leaf-rust resistance genes in Czech and Slovak barley cultivars and breeding lines. Plant Breeding 119:211-214
- Dreiseitl A (2011) Postulation of resistance genes to barley diseases in heterogeneous varieties. Biologia 66:762-767. doi:10.2478/s11756-011-0080-8
- Elshire RJ, Glaubnitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, Buckler ES, Mitchell SE (2011) A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. PLoS ONE 6:. doi: 10.1371/journal.pone.0019379
- Fetch TG, Steffenson, BJ, Jin Y (1998) Worldwide virulence of *P. hordei* on barley. Phytopathol, 88 Suppl:28-34
- Feuerstein U, Brown AHD, Burdon JJ (1990) Linkage of rust resistance genes from wild barley (*Hordeum spontaneum*) with Isozyme markers. Plant Breed 104:318-324
- Flor HH (1971) Current status of the gene – for – gene concept. Annual Review of Phytopathology 9:275 – 296.
- Friedt W (2011) Barley breeding history, Progress, Objectives, and technology. In: Barley: Production, Improvement, and Uses. Blackwell Publishing Ltd.

- Ganal MW, Altmann T, Röder MS (2009) SNP identification in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology* 12:211-217. doi: 10.1016/j.pbl.2008.12.009
- Golan T, Anikster Y, Moseman JG, Wahl I (1978) A new virulent strain of *Puccinia hordei*. *Euphytica* 27:185-189. doi: 10.1007/BF00039134
- Golegaonkar PG, Karaoglu H, Park RF (2009) Molecular mapping of leaf rust resistance gene *Rph14* in *Hordeum vulgare*. *Theor Appl Genet* 119:1281-1288. doi:10.1007/s/00122-009-1132-0
- Graner A, Foroughi – Wehr B, Tekauz A (1996) RFLP mapping of a gene in barley conferring resistance to net blotch (*Pyrenophora teres*). *Euphytica* 91:229-234.
- Graner A, Kilian A, Kleinhofs A (2011) Barley genome organization, mapping, and synteny. In: *Barley: Production, Improvement, and Uses*. Blackwell Publishing Ltd.
- Grewal TS, Rossnagel BG, Pozniak CJ, Scoles GJ (2008) Mapping quantitative trait loci associated with barley net blotch resistance. *Theor Appl Genet* 116:529-539. doi:10.1007/s00122-007-0688-9
- Grewal TS, Rossnagel BG, Scoles GJ (2012) Mapping quantitative trait loci associated with spot blotch and net blotch resistance in a doubled-haploid barley population. *Mol Breed* 30:267-279. doi:10.1007/s11032-011-9616-4
- Griffey CA, Das MK, Baldwin RE, Walenmaier CM (1994) Yield losses in winter Barley resulting from a new race of *Puccinia hordei* in North – America. *Plant Disease* 78: 256 – 260
- Gupta PK und Varshney RK (2000) The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* 113:163-185
- Han F, Romagosa I, Ullrich SE, Jones BL, Hayes PM, Wesenberg DM (1997) Molecular marker-assisted selection for malting quality traits in barley. *Mol Breed* 3:427-437. doi:10.1023/A:1009608312385
- Hancock JF (2012) Origins of Agriculture. In: *Plant Evolution and the Origin of Crop Species*. 3rd Edn. (2012): 99-114
- Häni FJ, Popow G, Reinhard H, Schwarz A, Voegeli U (2008) *Pflanzenschutz im nachhaltigen Ackerbau*. Edition LMZ, 7. Auflage
- Harlan und de Wet (1971) Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20:509-517.

- Harlan JR und Zohary D (1966) Distribution of wild wheats and barley. *Science* 153:1074–1080
- He J, Zhao X, Laroche A, Lu ZX, Liu HK, Li Z (2014) Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Plant Sci* 5:1-8. doi:10.3389/fpls.2014.00484
- Heath MC (1997) Signalling between pathogenic rust fungi and resistant or susceptible host plants. *Ann Bot Lond* 80:713–720
- Hearnden PR, Eckermann PJ, McMichael GL, Hayden MJ, Eglinton JK, Chalmers KJ (2007) A genetic map of 1,000 SSR and DArT markers in a wide barley cross. *Theor Appl Genet* 115:383-391. doi:10.1007/s00122-007-0572-7#
- Hickey LT, Lawson W, Platz GJ, Dieters M, Arief VN, Germán S, Fletcher S, Park RF, Singh D, Pereyra S, Franckowiak J (2011) Mapping *Rph20*: a gene conferring adult plant resistance to *Puccinia hordei* in barley. *Theor Appl Genet* 123:55-68. doi: 10.1007/s00122-011-1566-z
- Hiratsuka Y, Sato S. Morphology and taxonomy of rust fungi (1982) In: Scott KJ, Chakravorty (eds), *The rust fungi*, pp 1–36, Academic Press, New-York, New-York
- Hofinger BJ, Russell JR, Bass CG, Baldwin T, Dos Reis M, Hedley PE, Li YD, Macaulay M, Waugh R, Hammond-Kosack KE, Kanyuka K (2011) An exceptionally high nucleotide and haplotype diversity and a signature of positive selection for the eIF4E resistance gene in barley are revealed by allele mining and phylogenetic analyses of natural populations. *Mol Ecology* 20:3653-3668. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05201.x
- Horsely RD und Hochhalter M (2004) Agronomy in *Encyclopedia of Grain Science*, pp. 38-46.
- Internationale Barley Genome Sequencing Consortium (2012) A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature* 491:711-716. doi:10.1038/nature11543
- Ivandić V, Walther U, Graner A (1998) Molecular mapping of a new gene in wild barley conferring complete resistance to leaf rust (*Puccinia hordei* Otth). *Theor Appl Genet.* 97:1235 – 1239. doi: 10.1007/s001220051015

- Jaiser H und Kopahnke D (2001) Möglichkeiten für die Züchtung auf Zwergrostresistenz in der Gerste – Erfahrungen aus Ringtest und Evaluierung der Barley Core Collection. Berichte über die 52. Tagung 2001 der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkäufer Österreichs BAL Gumpenstein:67-72
- Jansen RC (1993) Interval Mapping of multiple quantitative trait loci. *Genetics* 135:205-211
- Jebbouj R und Yousfi BE (2009) Barley yield losses due to defoliation of upper three leaves either healthy or infected at boot stage by *Pyrenophora teres* f. *teres*. *Eur J Plant Pathol* 125:303-315. doi: 10.1007/s10658-009-9483-6
- Jin Y, Statler GD, Franckowiak JD, Steffenson (1993) Linkage between leaf rust resistance genes and morphological markers in barley. *Phytopathol* 83:230-233
- Johnsten PA, Niks RE, Meiyalaghan V, Blanchet E, Pickering R (2013) *Rph22*: mapping of a novel leaf rust resistance gene introgressed from the non-host *Hordeum bulbosum* L. into cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 126:1613-1625. doi: 10.1007/s00122-013-2078-9
- Jordan VWL (1981) Aetiology of barley net blotch caused by *Pyrenophora teres* and some effects on yield. *Plant Pathol* 30: 77–87
- Jørgensen HJL, Lübeck PS, Thordal-Christensen H, de Neergaard E, Smedegaard – Petersen V (1998) Mechanisms of induced resistance in barley against *Drechslera teres*. *Phytopathology* 88:698-707
- Kao CH, Zeng ZB, Teasdale RD (1999) Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genet* 152:1203-1216
- Karaoglu H und Park RF (2014) Isolation and characterization of microsatellite markers for the causal agent of barley leaf rust, *Puccinia hordei*. *Australasian Plant Pathol.* 43:47-52. doi: 10.1007/s13313-013-0244-9
- Keurentjes JJB, Bentsink L, Alonso-Blanco C, Hanhart CJ, Blankestijn-De Vries H, Effgen S, Vreugdenhil D, Koornneef M (2007) Development of a near-isogenic line population of *Arabidopsis thaliana* and comparison of mapping power with a recombinant inbred line population. *Genetics* 175:891-905. doi:10.1534/genetics.106.066423
- Kling JG, Hayes PM, Ullrich SE (2004) *Genetics and Breeding in: Barley*. Elsevier Ltd.

- Komatsuda T, Pourkheirandish M, He C, Azhaguvel P, Kanamori H, Perovic D, Stein N, Graner A, Wicker T, Tagirl A, Lundqvist U, Fujimura T, Matsuoka M, Matsumoto T, Yano M (2007) Six – rowed barley originated from a mutation in a homeodomain – leucine zipper I – Class homeobox gene. Proceedings of the Natinal Academy of Sciences (PNAS) 104:1424-1429
- Konieczny A und Ausubel FM (1993) A procedure for mapping Arabidopsis mutations usind codominant ecotype-specific PCR-based markers. Plant J 4:403-410. doi: 10.1046/j.1365-313X.1993.04020403.x
- König J, Kopahnke D, Steffenson BJ, Przulj N, Romeis T, Roeder MS, Ordon F, Perovic D (2012) Genetic mapping of a leaf rust resistance gene in former Yugoslavian barley landrace MBR1012. Mol Breed 30:1253-1264. doi:10.1007/s11032-012-9712-0
- 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 and mapping of QTL for resistance. Mol. Breed. 32:641-650. doi: 10.1007/s11032-013-9897-x
- König J, Perovic D, Kopahnke D, Ordon F (2014) Mapping seedling resistance to net form of net blotch (*Pyrenophora teres f. teres*) in barley using detached leaf assay. Plant Breed 133:356-365. doi:10.1111/pdr.12147
- Landesanstalt für Landwirtschaft Bayern (2014) Gerstenmodell Bayern 2014 – Arbeitsanleitung für Praxisbetriebe.
- Landwirtschaftskammer Nordrhein Westphalen - Pflanzenschutzdienst (2012) www.landwirtschaftskammer.de/lufa/neues/aktion-getreide.html
- Langridge P, Karakousis A, Collins N, Kretschmer J, Manning S (1995) Mol Breed 1:389-395. doi:10.1007/BF01248416
- Langridge P and Barr AR (2003) Preface to ‘better barley faster: the role of marker assisted selection’. Aust J Agri Res 54:i-iv. doi:10.1071/Arv54n12_PR
- Lehmensiek A, Platz GJ, Mace E, Poulsen D, Sutherland MW (2007) Mapping of adult plant resistance to net form of net blotch in three Australian barley populations. Aust J Agric Res 58:1191-1197. doi:10.1071/AR07141
- Li JZ, Sjakste TG, Röder MS, Ganai MW (2003) Development and genetic mapping of 127 new microsatellite markers in barley. Theor Appl Genet 107:1021-1027. doi:10.1007/s00122-003-1345-6

- Linde-Laursen I, HeslopHarrison JS, Shepherd KW, Taketa S (1997) The barley genome and its relationship with the wheat genomes. A survey with an internationally agreed recommendation for barley chromosome nomenclature. *Hereditas* 126:1-16. doi:10.1111/j.1601-5223.1997.00001.x
- Liu J, Liu D, Tao W, Li W, Wang S, Chen P, Cheng S, Gao D (2000) Molecular marker-facilitated pyramiding of different genes for powdery mildew resistance in wheat. *Plant Breed* 119:21-24. doi:10.1046/j.1439-0523.2000.00431.x
- Liu F, Gupta S, Zhang XQ, Jones M, Loughman R, Lance R, Li C (2011) PCR markers for selection of adult plant leaf rust resistance in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Mol Breed* 28:657-666. doi: 10.1007/s11032-010-9517-y
- Long DL, Steffenson BJ, Fetch TG Jr, Leonard KJ, Huges ME, Casper DH (1998) Barley rust in the United States in 1998. *USDA Barley Newsletter* 42,1-6.
- Longo N, Naldini B, Fiordi AC, Tani G, Di Falco P (2006) Host surface tissues and basidiospore-derived infection strategies of some rust fungi. *Caryologia* 59: 168–176
- Lüpken T, Stein N, Perovic D, Habekuß A, Krämer I, Hähnel U, Steuernagel B, Scholz U, Zhou R, Ariyadasa R, Taudien S, Platzer M, Martis M, Mayer K, Friedt W, Ordon F (2013) Genomics-based high-resolution mapping of the BaMMV/BaYMV resistance gene *rym11* in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 126:1201-1212. doi: 10.1007/s00122-013-2047-3
- Lüpken T, Stein N, Perovic D, Habekuß A, Serfling A, Krämer I, Hähnel U, Steuernagel B, Scholz U, Ariyadasa R, Martis M, Mayer K, Niks RE, Collins NC, Friedt W, Ordon F (2014) High-resolution mapping of the barley *Ryd3* locus controlling tolerance to BYDV *Mol Breed* 33:477-488. doi:10.1007/s11032-013-9966-1
- Lynch M und Walsh B (1998) *Genetics and Analysis of quantitative traits*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 980 pp
- Ma ZQ, Lapitan NLV, Steffenson B (2004) QTL mapping of net blotch resistance genes in a doubled-haploid population of six-rowed barley. *Euphytica* 137:291-296. doi:10.1023/B:EUPH.0000040441.36990.58
- MacGregor AW und Fincher GB (1993) Carbohydrates of the barley grain. In AW MacGregor AW und Bhatta, RS eds, *Barley: Chemistry and Technology*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, pp 73–130

- Mamadov JA, Zwonitzer JC, Biyashev RM, Griffey CA, Jin Y, Steffenson BJ, Saghai Maroof MA (2003) Molecular mapping of leaf rust resistance gene *Rph5* in barley. *Crop Sci* 43:388-393.
- Manninen O, Kalendar R, Robinson J, Schulman AH (2000) Application of BARE-1 retrotransposon markers to the mapping of a major resistance gene for net blotch in barley. *Mol Gen Genet* 264:325-334. doi:10.1007/s004380000326
- Manninen OM, Jalli M, Kalendar R, Schulman A, Afanasenko O, Robinson J. (2006) Mapping of major spot-type and net-type net blotch resistance genes in the Ethiopian barley (*Hordeum vulgare*) line CI 9819. *Genome*, 49, 1564–1571. doi:10.1139/G06-119
- Marcel TC (2007) Genetic architecture of basal resistance of barley to *Puccinia hordei*. Dissertation Universität Wageningen
- Mascher M, Richmond TA, Gerhardt DJ, Himmelbach A, Clissold L, Sampath D, Ayling S, Steuernagel B, Pfeifer M, D'Ascenzo M, Akhunov ED, Hedley PE, Gonzales AM, Morrell PL, Kilian B, Blattner FR, Scholz U, Mayer KFX, Flavell AJ, Muehlbauer GJ, Waugh R, Jeddeloh JA, Stein N (2013) Barley whole exome capture: a tool for genomic research in the genus *Hordeum* and beyond. *Plant J* 76:494-505. doi:10.1111/tpj.12294
- Mathre DE (1997) Compendium of Barley Diseases. 2nd Ed. American Phytopathological Society Press, St. Paul.
- Mayer KFX, Martis M, Hedley PE, Simkova H, Liu H, Morris JA, Steuernagel B, Taudien S, Roessner S, Gundlach H, Kubalaková M, Suchanková 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, Dolezel J, Waugh R, Stein N (2011) Unlocking the barley genome by chromosomal and comparative genomics. *Plant Cell* 23:1249-1263. doi:10.1105/tpc.110.082537
- McDaniel ME und Hathcock BR (1969) Linkage of the *Pa4* und *Mla* Loci in barley. *Crop Sci* 9:822-828
- McLean MS, Howlett BJ, Hollaway GJ (2009) Epidemiology and control of spot form of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *maculate*) of barley: a review. *Crop and Pasture Science* 60:303-315. doi: 10.1071/CP08173
- Melzer JM, Kleinhofs A, Kudrna DA, Warner RL, Blake TK (1988) Genetic mapping of the barley nitrate reductase-deficient *nar1* und *nar2* loci. *Theor Appl Genet* 75:767-771

- Mendgen K, Struck C, Voegelé RT, Hahn M (2000) Biotrophy and rust haustoria. *Physiol Mol Plant P* 56: 141–145
- Michelmore RW, Paran I, Kesseli RV (1991) Identification of markers linked to disease – resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:9828 – 9832
- Miedaner T und Korzun V (2012) Marker-assisted selection for disease resistance in wheat and barley breeding. *Phytopathology* 102:560-566. doi:10.1094/PHYTO-05-11-0157
- Mullis KB, Faloon F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H (1986) Estimating disease losses to the Australian barley industry. *Australien Plant Pathology* 39: 85-96. doi: 10.1071/AP09064
- Murray GM und Brennan JP (2010) Estimating disease losses to the Australian barley industry. *Aust Plant Pathol* 39:85-96. doi:10.1071/AP09064
- Nevo E (1992) Origin, evolution, population genetics and resources for breeding of wild barley, *Hordeum spontaneum*, in the Fertile Crescent. Pp. 19–43 in P. R. SHEWRY, ed. *Barley: genetics, biochemistry, molecular biology and biotechnology*. C.A.B. International, The Alden Press, Oxford.
- Nevo E, Fu YB, Pavlicek T, Khalifa S, Tavasi M, Beiles A (2012) Evolution of wild cereals during 28 years of global warming in Israel. *Proc Natl Acad Sci USA* 109: 3412–3415. doi: 10.1073/pnas.1121411109
- Niks RE (1983) Comparative Histology of partial resistance and the nonhost reaction to leaf rust pathogens in barley and wheat seedlings. *Phytopathologie* 73:60-64
- Niks RE, Walther U, Jaiser H, Martinez F, Rubiales D, Anderson O, Flath K, Gymer P, Heinrichs F, Jonsson R, Kuntze L, Rasmussen M, Richter E (2000) Resistance against barley leaf rust (*Puccinia hordei*) in West European spring barley germplasm. *Agronomie* 20, 769-782.
- Nilan RA (1964) The cytology and genetics of barley, 1951-1962. *Monogr Suppl Wash St Univ*: 32:278pp.
- Obst A und Paul V (1993) In: *Krankheiten und Schädlinge des Getreides*. Verlag Th. Mann
- Obst A, Sachs E, Gebhart C, Appel J, Beer E, Habekuß A, Kiewnick L, Zimmermann H (1995) Die häufigsten Blattkrankheiten bei Gerste. *Der Pflanzendoktor* 5:19-26.

- Odilbekov F, Carlson-Nilsson U, Liljeroth E (2014) Phenotyping early blight resistance in potato cultivars and breeding clones. *Euphytica* 197:87-97. doi: 10.1007/s10681-013-1054-4
- 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. doi:10.1111/j1439-0434.2009.01540.x
- Ordon F, Kühne T (2015) Response to Viral Pathogens (Chapter 10); Biotechnological Approaches to Barley Improvement. Kumlehn J, Stein N (eds.) Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg Heft 69 : 181-196. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. ISSN/ISBN: 3-662-44405-4, 978-3-662-44405-4
- Palloix A, Ordon F (2011) Advanced breeding for virus resistance in plants. *Recent Advances in Plant Virology*. Caranta C, Aranda MA, Tepfer M, López-Moya JJ. Caister Academic Press. Norfolk : 195-218. ISSN/ISBN: 978-1-904455-75-2
- Park RF und Karakousis A (2002) Characterization and mapping of gene RPH19 conferring resistance to *Puccinia hordei* in the cultivar 'Reka 1' and several Australian barleys. *Plant Breed* 121:232-236.
- Park RF (2003) Pathogen specialization and pathotype distribution of *Puccinia hordei* in Australia, 1992-2001. *Plant Disease* 87, 1311-1316.
- Parlevliet JE (1981) Race-non-specific disease resistance. Pages 47-54 In: Jenkyn JF, Plumb RT (ed), *Strategies for the control of cereal disease*. Blackwell Scient. Publ., Oxford.
- Parlevliet JE (1995) Genetic and breeding aspects of durable resistance of crops to pathogens. *Plant Breed* 3:1-13
- Pickering RA, Steffenson BJ, Hill AM, Borovkova I (1998) Association of leaf rust and powdery mildew resistance in a recombinant derived from a *Hordeum vulgare* x *Hordeum bulbosum* hybrid. *Plant Breed* 117:83-84
- Pickering RA, Malyshev S, Kunzel G, Johnston PA, Korzun V, Menke M, Schubert I (2000) Locating introgression of *Hordeum bulbosum* chromatin within the *H. vulgare* genome. *Theor Appl Genet* 100:27-31
- Pickering R, Johnston P, Meiyalaghan V, Ebdon S, Morgen E (2010) *Hordeum vulgare* – *H. bulbosum* introgression lines. *Barley Genetics Newsletter* 40:1

- Perovic D, Stein N, Zhang H, Drescher A, Prasad M, Kota R, Kopahnke D, Graner A (2003) An integrated approach for comparative mapping in rice and barley with special reference to the Rph16 resistance locus. *Functional & Integrative Genomics* (●), 1-10.
- Perovic D, Kopahnke D, Steffenson BJ, Förster J, König J, Kilian B, Plieske J, Durstewitz G, Korzun V, Krämer I, Habekuss A, Johnston P, Pickering R, Ordon F (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.
- Prigge G, Gerhard M, Habermeyer J (2004) Pilzkrankheiten und Schadsymptome im Getreideanbau. *Landwirtschaftlicher Verlag GmbH und BASF*, pp. 80–86.
- Poland JA und Nelson RJ (2011) In the eye of the beholder: The effect of rater variability and different rating scales on QTL mapping. *Phytopathol* 101:290-298.
doi:10.1094/PHYTO-03-10-0087
- Poland JA und Rife TW (2012) Genotyping-by-sequencing for plant breeding and genetics. *Plant Genome* 5, 92-102. doi: 10.3835/plantgenome2012.05.0005
- Poland JA, Brown PJ, Sorrells ME, Jannink JL (2012) Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *PLoS ONE* 7:e32253. doi:10.1371/journal.pone.0032253
- Pourkheirandish M und Komatsuda T (2007) The Importance of barley genetics and domestication in a global perspective. *Ann Botany* 100:999-1008.
doi:10.1093/aob/mcm139
- Poursarebani N, Ariyadasa R, Zhou R, Schulte D, Steuernagel B, Martis MM, Graner A, Schweizer P, Scholz U, Mayer K, Stein N (2013) Conserved synteny-based anchoring of the barley genome physical map. *Funct Integr Genomics* 13:339-350.
doi:10.1007/s10142-013-0327-2
- Qi X, Niks RE, Stam P, Lindhout P (1998) Identification of QTLs for partial resistance to leaf rust (*Puccinia hordei*) in barley. *Theor Appl Genet* 96:1205-1215
- Ramage RT (1985) Coordinator's report: translocations and balanced tertiary trisomics. *Barley Genetics Newsletter* 15:79-80

- Raman H, Platz GJ, Chalmers K., Raman R, Read BJ, Barr AR, Moody DB (2003) Mapping of genetic regions associated with net form of net blotch resistance in barley. *Aust J Agric Res* 54:1359–1367
- Ramsay L, Macaulay M, degli Ivanissevich S, McLean K, Cardle L, Fuller J, Edwards KJ, Tu-
vesson S, Morgante M, Massari A, Maestri E, Marmioli N, Sjakste T, Ganal M, Powell
W, Waugh R (2000) A simple sequence repeat – based linkage map of barley. *Genetics*
156:1997 – 2005
- Reiter RS, Coors JG, Sussman MR, Gabelman WH (1991) Genetic analysis of tolerance to
low-phosphorus stress in maize using restriction fragment length polymorphisms.
Theor Appl Genet 82:561-568
- Richardson KL, Vales MI, Kling JG, Mundt CC, Hyes PM (2006) Pyramiding and dissecting
disease resistance QTL to barley stripe rust. *Theor Appl Genet* 113:485-495. doi:
10.1007/s00122-006-0314-2
- Richter, K., J. Schondelmaier and C. Jung, 1998: Mapping of quantitative trait loci affect-
ing *Drechslera teres* resistance in barley with molecular markers. *Theor. Appl. Genet.*
97, 1225-1234
- Riedel C, Habekuß A, Schliephake E, Niks R, Broer I, Ordon F (2011) Pyramiding of *Ryd2*
und *Ryd3* conferring tolerance to a German isolate of *Barley yellow dwarf virus-PAV*
(BYDV-PAV-ASL-1) leads to quantitative resistance against this isolate. *Theor Appl*
Genet 123:69-76. doi:10.1007/s00122-011-1567-y
- Roane CW und Starling TM (1989) Inheritance of reaction to *Puccinia hordei* in barley (III.
Genes in the cultivar Cebuda Capa and Franger). *Phytopathology* 60:788-790
- Robinson J und Jalli M (1997) Quantitative resistance to *Pyrenophora teres* in six nordic
spring barley accessions. *Euphytica* 94: 201-208. doi:10.1023/A:1002996722383
- Rostoks N, Borevitz JO, Hedley PE, Russell J, Mudie S, Morris J, Cardle L, Marshall DF,
Waugh R (2005) Single-feature polymorphism discovery in the barley transcriptome.
Genome Biol 6:R54. doi:10.1186/gb-2005-6-6-r54
- Rouse MN (2013) First Detection of *Puccinia hordei* Virulence to Barley Leaf Rust Re-
sistance Gene *Rph3* and Combination with Virulence to *Rph7* in North America. *Plant*
Disease 97:838-838. doi:10.1094/PDIS-08-12-0785-PDN

- Rousseau C, Belin E, Bove E, Rousseau D, Fabre F, Berruyer R, Guillaumes J, Manceau C, Jacques MA, Boureau T (2013) High throughput quantitative Phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. *Plant Meth* 9:17. doi:10.1186/1746-4811-9-17
- Russell J, Dawson IK, Flavell AJ, Steffenson B, Weltzien E, Booth A, Ceccarelli S, Grando S, Waugh R (2011) Analysis of >1000 single nucleotide polymorphisms in geographically matched samples of landrace and wild barley indicates secondary contact and chromosome-level differences in diversity around domestication genes. *New Phytologist* 191:564-578. doi:10.1111/j.1469-8137.2011.03704.x
- Sandhu KS, Forrest KL, Kong S, Bansal UK, Singh D, Hayden MJ, Park RF (2012) Inheritance and molecular mapping of a gene conferring seedling resistance against *Puccinia hordei* in the barley cultivar Ricardo. *Theor Appl Genet* 125:1408-1411. doi:10.1007/s00122-012-1921-8
- Schaller CW (1955) Inheritance of resistance to net blotch of barley. *Phytopathology* 45:174-176
- Schweitzer P and Stein N (2011) Large-scale data integration reveals colocalization of gene functional groups with Meta-QTL for multiple disease resistance in barley *Mol Plant Microbe interactions* 24:1492-1501. doi:10.1094/MPMI-05-11-0107
- Shtaya MJY, Sillera JC, Rubiales D (2006) Identification of a new pathotypes of *Puccinia hordei* with virulence for the resistance gene *Rph7*. *European J Plant Pathology* 116:103-106. doi: 10.1007/s10658-006-9043-2
- Sierotzki H, Frey R, Wullschleger J, Palermo S, Karlin S, Godwin J, Gisi U (2007) Cytochrome *b* gene sequence and structure of *Pyrenophora teres* and *P. tritici – repentis* and implications for Qol resistance. *Pest Manag Sci* 63:225-233. doi: 10.1002/ps.1330
- Silvar C, Perovic D, Kopahnke D, Casas AM, Igartua E, Ordon F (2012) Contribution of Serbian and Spanish landraces to disease resistance in barley. In: PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL CONFERENCE NEWENVIRO New approaches for assessment and improvement of environmental status in Balkan region: interactions between organisms and environment, Novi Sad, Serbia; 10/2013

- Silvar C, Kopahnke D, Flath K, Serfling A, Perovic D, Casas AM, Igartua E, Ordon F (2013) Resistance to powdery mildew in one Spanish barley landrace hardly resembles other previously identified wild barley resistances. *Eur J Plant Pathol* 136:459-468. doi: 10.1007/s10658-013-0178-7
- Simkin MB und Wheeler BEJ (1974) Effects of dual infections of *Puccinia hordei* and *Erysiphe graminis* on barley, Cv Zephyr. *Annals of applied biology* 78:237-250. doi:10.1111/j.1744-7348.1974.tb01503.x
- Song KM, Suzuki JY, Slocum MK, Williams PH, Osborn TC (1991) A linkage map of *Brassica rapa* (syn. *campestris*) based on restriction fragment length polymorphism loci. *Theor Appl Genet* 82:296-304
- Sorensen D und Gianola D (2002) Likelihood, Bayesian and MCMC Methods in quantitative genetics. Springer-Verlag Inc., New York
- Spaner D, Shugar LP, Choo TM, Falak I, Briggs KG, Legge WG, Falk DE, Ullrich SE, Tinker NA, Steffenson BJ, Mather DE (1998) Mapping of disease resistance loci in barley on the basis of visual assessment of naturally occurring symptoms. *Crop Sci* 38:843-850
- Steffenson BJ, Jin Y, Griffey CA (1993) Pathotypes of *Puccinia hordei* with virulence for the barley leaf rust resistance gene *Rph7* in the United States. *Plant Dis* 77:867-869
- Steffenson BJ, Hayes PM, Kleinhofs A (1996) Genetics of seedling and adult plant resistance to net blotch (*Pyrenophora teres f. teres*) and spot blotch (*Cochliobolus sativus*) in barley. *Theor Appl Genet* 92:552-558.
- Sun Y und Neate S (2007) Genetics and molecular mapping of *Rph13*, a gene conferring resistance to leaf rust in barley. *Phytopath* 97:S112
- Takahashi R (1955) The origin and evolution of cultivated barley. In: Demerec M (ed) *Advances in genetics* 7. Academic Press, New York, 227-266.
- Takahashi R und Yamamoto J (1949) Studies on the classification and geographic distribution of barley varieties. VIII. *Nogaku Kenkyu* 38:81-90.
- 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 Pathol* 12, 141-148
- Thoday JM (1961) Location of polygenes. *Nature* 191:368. doi:10.1038/191368a0

- Thomas WTB, Hayes PM, Dahleen LS (2011) Application of molecular genetics and transformation to barley improvement. In: Barley: Production, Improvement, and Uses. Blackwell Publishing Ltd.
- Thudi M, Li Y, Jackson SA, May GD, Varshney RK (2012) Current state-of-art of sequencing technologies for plant genomics research. *Brief Funct Genomics* 11:3-11. doi:10.1093/bfpg/elr045
- Tóth B, Csósz M, Kopahnke D, Varga J (2008) First report on *Pyrenophora teres* causing lesions of wheat leaves in Hungary. *Plant Pathology* 57:385. doi: 10.1111/j.1365-3059.2007.01746.x
- Tragoonrung S, Kanazin V, Hayes PM, Blake TK (1992) Sequence-tagged-site-facilitated PCR for barley genome mapping. *Theor Appl Genet* 84:1002-1008
- Tsuchiya T and Haus TE (1973) Allelism testing in barley. 1. Analysis of 10 mapped genes. *J Heredity* 64:282-284.
- Van Caeseele L und Grumbles J (1979) Ultrastructure of the interaction between *Pyrenophora teres* and a susceptible barley host. *Can J Botany* 57:40-47.
- van den Berg CGJ und Rossnagel BG (1990) Effects of temperature and leaf wetness period on conidium germination and infection of barley by *Pyrenophora teres*. *Can J Plant Pathol* 12: 263–266
- van den Berg CGJ und Rossnagel BG (1991) Epidemiology of spot-type net blotch on spring barley in Saskatchewan. *Pythopathol* 81:1446-1452
- van der Plank JE (1968) Disease resistance in plants. In: Disease resistance in plants. New York & London, Academic Press: 206pp.
- Van Niekerk BD, Pretorius ZA, Boshoff WHP (2001) Occurrence and pathogenicity of *Puccinia hordei* and barley in South Africa. *Plant Disease* 85:713-717.
- van Ooijen JW (1992) Accuracy of mapping quantitative trait loci in autogamous species. *Theor Appl Genet* 84:803-811
- 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. doi: 10.1007/s00122-007-0503-7
- Vaz Patto, MC und Niks RE (2001) Leaf wax layer may prevent appressorium differentiation but does not influence of the leaf rust fungus *Puccinia hordei* on *Hordeum chilense* leaves. *Europ J Plant Pathol* 107:795-803. doi:10.1023/A:1012410330287

- Von Bothmer R, Sato K, Komatsuda T, Yasuda S, Fischbeck G (2003) The domestication of cultivated barley. In: R. von Bothmer, Th. van Hintum, H. Knüpffer und K. Sato (eds), Diversity in barley (*Hordeum vulgare*), pp. 9-27. Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands.
- Von Korff MH, Wang H, Leon J, Pillen K (2004) Development of candidate introgression lines using an exotic barley accessions (*Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum*) as donor. Theor Appl Genet 109:1736-1745. doi:10.1007/s00122-004-1818-2
- Von Schmalenbach I, Körber N, Pillen K (2008) Selecting a set of wild barley introgression lines and verification of QTL effects for resistance to powdery mildew and leaf rust. Theor Appl Genet 117:1093-1106. doi:10.1007/s00122-008-0847-7
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res 23: 4407–4414
- Walther U (1984) Untersuchungen zur Genetik der Resistenz ausgewählter Gersten gegenüber *Puccinia hordei* Otth unter besonderer Berücksichtigung der Rassenentwicklung von 1974-1983 im Gebiet der DDR. Dissertation, AdL, 232 S.
- Weber JL und May PE (1989) Abundant Class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain-reaction
- Weerasena JS, Steffenson BJ, Falk AB (2004) Conversion of an amplified fragment length polymorphism marker into a co-dominant marker in the mapping of the *Rph15* gene conferring resistance to barley leaf rust. *Puccinia hordei* Otth.. Theor Appl Genet 108:712-719. doi:10.1007/s00122-003-1470-2
- Weiergang I, Jorgensen HJL, Moller IM, Friis P, Smedegaard-Petersen V (2002) Correlation between sensitivity of barley to Pyrenophora teres toxins and susceptibility to the fungus. Physio molec Plant Pathol 60:121-129. doi:10.1006/pmpp.2002.0384
- Wendler N, Mascher M, Nöh Ch, Himmelbach A, Scholz U, Ruge-Wehling B, Stein N (2014) Unlocking the secondary gene-pool of barley with next-generation sequencing. Plant Biotechnol J 12:1122-1131. doi:10.1111/pbi.12219
- Wenzl P, Carling J, Kudrna D, Jaccoud D, Huttner E, Kleinhofs A, Kilian A (2004) Diversity Arrays Technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. Proc Natl Acad Sci USA 101:9915-9920. doi:1073/pnas.0401076101

- Wenzel P, Li H, Carling J, Zhou M, Raman H, Paul E, Hearnden P, Maier C, Xia L, Caig V, Ovesná J, Cakir M, Poulsen D, Wang J, Raman R, Smith KP, Muehlbauer GJ, Chalmers KJ, Kleinhofs A, Huttner E, Kilian A (2006) A high-density consensus map of barley linking DArT markers to SSR, RFLP and STS loci and agricultural traits. *BMC Genomics* 7:206-228. doi: 10.1186/1471-2164-7-206
- Wenzel P, Raman H, Wang J, Zhou M, Huttner E, Kilian A (2007) A DArT platform for quantitative bulked segregant analysis. *BMC Genomics* 8:196-206. doi: 10.1186/1471-2164-8-196
- Werner K, Friedt W, Laubach E, Waugh R, Ordon F (2003) Dissection of resistance to soil-borne yellow-mosaic-inducing viruses of barley (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) in a complex breeders' cross by means of SSRs and simultaneous mapping of BaYMV/BaYMV-2 resistance of var. 'Chikurin Ibaraki 1'. *Theor Appl Genet* 106:1425-1432. doi: 10.1007/s00122-002-1188-6
- Werner K, Friedt W, Ordon F (2005) Strategies for pyramiding resistance genes against the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2). *Mol Breed* 16:45-55. doi:10.1007/s11032-005-3445-2
- Woldeab G, Fininsa C, Singh H, Yuen J (2006) Virulence spectrum of *Puccinia hordei* in barley production systems in Ethiopia. *Plant Pathology* 55:351-357. doi:10.1111/j.1365-3059.2006.01357.x
- Xu Y (2010); Marker-assisted Selection: Practice. In: Book Molecular Breeding 336-380.
- Xue G, Burnett PA, Helm J (1994) Severity of, and resistance of barley varieties to, scald and net blotch in central Alberta. *Can Plant Disease Survey* 74:13-17
- Yang P, Habekuss A, Ordon F, Stein N (2014) Analysis of bymovirus resistance genes on proximal barley chromosome 4HL provides the basis for precision breeding for BaMMV/BaYMV resistance. *Theor Appl Genet* 127:1625-1634. doi: 10.1007/s00122-014-2324-9
- Yun SJ, Gyenis L, Hayes PM, Matus I, Smith KP, Steffenson BJ, Muehlbauer GJ (2005) Quantitative trait loci for multiple disease resistance in wild barley. *Crop Sci.* 45, 2563-2572. doi: 10.2135/cropsci2005.0236

5. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Charakterisierung und Lokalisation von Resistenzen gegen *Pyrenophora teres* f. *teres* in den Gerstenlinien "HHOR3073" und "HHOR9484" und gegen *Puccinia hordei* (Otth) in der aus dem ehemaligen Jugoslawien stammenden Landrasse "MBR1012". Die Netzfleckenkrankheit ist in den vergangenen Jahren im Gerstenanbau verstärkt aufgetreten und der Zwergrosterreger gehört zu den bedeutendsten Krankheiten der Gerste weltweit, so dass die Verbesserung der Resistenz gegen diese Pathogene heute ein wichtiges Zuchtziel in der Gerstenzüchtung darstellt.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte zunächst eine effektive Versuchsanlage zur sicheren Erfassung der Netzfleckenresistenz unter Feldbedingungen entwickelt werden (Summer-Hill-Trials). Basierend auf dreijährigen und zweiortigen Versuchen mit DH-Linien der Kreuzung Uschi x HHOR3073 und (Post x Viresa) x HHOR9484 ergab sich unter Nutzung dieser Versuchsanlage eine zufriedenstellende Heritabilität der Netzfleckenresistenz ($h^2=0,80$ und $h^2=0,62$) und eine kontinuierliche Variation in der Reaktion auf eine Netzfleckeninfektion. Die DH-Linien wurden zusätzlich im Blattsegmenttest (BST) mit differenzierenden Monokonidiallinien charakterisiert.

Basierend auf genetischen Karten mit einer Länge von 705,7 cM (Uschi x HHOR3073) und 1035,8 cM (P x V) x HHOR9484 und entsprechenden phänotypischen Daten konnten in der Population Uschi x HHOR3073 vier Quantitative trait loci (QTL) für die Resistenz unter Freilandbedingungen auf den Chromosomen 2H, 3H und 5H lokalisiert werden. Mit den verschiedenen Isolaten wurden desweiteren im Blattsegmenttest jeweils zwei QTL auf den Chromosomen 3H und 7H und ein Monogen auf Chromosom 7H kartiert. Für die Resistenz unter Freilandbedingungen konnten in der Population (Post x Viresa) x HHOR9484 drei QTL auf dem Chromosomen 5H und 1 QTL auf Chromosom 7H lokalisiert werden und im Blattsegmenttest ein QTL auf Chromosom 3H und zwei QTL auf den Chromosomen 4H und 5H.

Untersuchungen zur Zwergrostresistenz an der DH-Population MBR1012 x Scarlett mit dem Isolat I-80 und ergaben eine Segregation von 48 resistenten : 43 anfälligen Linien ($\chi^2_{1:1} = 0,29$), d.h. eine Anpassung an das bei monogener Vererbung erwartete Spaltungsverhältnis von 1R:1S. Unter Anwendung von simple sequence repeats (SSR) und single nucleotide polymorphism (SNP) Markern konnte die aus MBR1012 stammende Resistenz in der telomeren Region des Chromosoms 1HS kartiert werden.

Der nächste flankierende Marker wurde 0,8 cM distal (GBS546, GBMS187) und 6,0 cM proximal (GMS21) der Resistenz kartiert.

Im Rahmen der Arbeit konnten somit Marker für Resistenzgene und QTL gegen *P. teres* und *P. hordei* identifiziert werden, welche geeignet sind die genetische Basis für diese Resistenzen im Sortenmaterial zu erweitern.

6. Abstract

The project aimed at the characterization and mapping of resistances against *Puccinia hordei* (Oth) and *Pyrenophora teres f. teres* in barley accessions MBR1012 and HHOR3073 and HHOR9484, respectively. Net blotch has become an important disease in the last decades and the leaf rust is one of the most important diseases affecting barley globally. Improving resistance against these pathogens is of prime importance in barley breeding, therefore. As a prerequisite for efficient screening for resistance against *P. teres* a so-called "summer hill trial" was established. Based on this design of trials and results obtained in 3 years at two locations with the DH-population Uschi x HHOR3073 and (Post x Viresa) x HHOR9484 heritability of net blotch resistance was estimated at $h^2=0.80$ and $h^2=0.62$, respectively and a continuous variation to the reaction of net blotch infection was observed. In addition respective DH-lines were analysed in detached leaf assays using differentiating single conidial lines (SCL). Based on genetic maps comprising 705.7 cM (Uschi x HHOR3073) and 1,035.8 cM ((Post x Viresa) x HHOR9484) and corresponding phenotyping data, on four quantitative trait locus (QTL) on chromosomes 2H, 3H and 5H were identified in the population Uschi x HHOR3073. Furthermore, in the detached leaf test two QTL on chromosomes 3H and 7H, respectively and one major gene on chromosome 7H were mapped. In the population (Post x Viresa) x HHOR9484 three QTL on chromosome 5H and one QTL on chromosome 7H were identified and in the detached leaf test one QTL on chromosome 3H and two QTL on chromosomes 4H and 5H were mapped.

For resistance to the leaf rust isolate I-80 in the DH-population MBR1012 x Scarlett a segregation of 48 resistant : 43 susceptible plants ($\chi^2_{1:1} = 0.29$) was observed indicating a monogenic inheritance of resistance.

Using simple sequence repeats (SSR) and single nucleotide polymorphism (SNP) markers, the resistance gene in MBR1012 was mapped to the telomeric region of chromosome 1HS. The closest flanking markers for Rph_{MBR1012} are located 0.8 cM distal (GBS546, GBMS187) and 6.0 cM proximal (GMS21).

In the frame of these studies markers for major resistance genes and QTL against *P. teres* and *P. hordei* were identified suited to broaden the genetic base of resistance to these pathogens in barley breeding

7. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: In Sämlingen detektierte Resistenz-QTL nach Infektion mit *P. teres*

Tab. 2: In adulten Pflanzen detektierte Resistenz-QTL nach Infektion mit *P. teres*

Tab. 3: Resistenzgene der Gerste gegen den Zwergrost

Tab. 4: Vergleich des Resistenzverhaltens der in der Beschreibenden Sortenliste aufgeführten Wintergerstensorten von 2002 bis 2014 für die Pathogene Netzflecken, *Rhynchosporium*, Zwergrost und Gelbmosaikvirus.

8. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Symptome von *Pyrenophora teres* f. *teres* an einer anfälligen Gerstenpflanze

Abb. 2: Der Lebenszyklus von *Pyrenophora teres* f. *teres* verändert nach Liu et al. (2011)

Abb. 3: Symptome von *Puccinia hordei* (Otth) an einer anfälligen Gerstenpflanze

Abb. 4: Der Lebenszyklus von *Puccinia hordei* (Otth) (verändert nach Hiratsuka und Sato, 1982)

Abb. 5: Vergleich der in der DH-Population Uschi x HHOR3073 lokalisierten QTL gegen den Netzfleckererreger *P. teres* f. *teres* mit den in der Literatur beschriebenen Resistenzen. In blauer Schrift dargestellt sind die QTL die mit Hilfe des "summer-hill"-Versuchs an adult Pflanzen detektiert wurden, in grüner Schrift die Resistenz-Loci die im Blattsegmenttest an Sämlingspflanzen und in roter Schrift die QTL wirksam gegen Netzflecken, die in der Literatur beschrieben sind und in der Nähe eines in dieser Arbeit detektierten QTL lokalisiert ist. In orangener Schrift ist ein QTL angegeben, das gegen multiple Erreger wirksam ist.

Abb. 6: Vergleich der in der DH-Population (PxV) x HHOR9484 lokalisierten QTL gegen den Netzfleckererreger *P. teres* f. *teres* mit den in der Literatur beschriebenen Resistenzen. In blauer Schrift dargestellt sind die QTL die an Hand des "summer-hill"-Versuchs an adult Pflanzen detektiert wurden, in grüner Schrift die QTL die im Blattsegmenttest an Sämlingspflanzen detektiert wurden und in roter Schrift die in der Literatur beschriebenen QTL, welche in der Nähe eines der in dieser Arbeit detektierten QTL lokalisiert ist.

9. Lebenslauf

Janine König (geb. Günther)

geboren am 01.10.1979 in Berlin

08/1986 bis 06/1992

Hannah-Höch Grundschule in Berlin

08/1992 bis 06/1996

Max-Eyth Realschule in Berlin

08/1996 bis 04/1999

Thomas Mann - Oberschule mit gymnasialer Oberstufe in Berlin

10/1999 bis 04/2000

Studium der Chemie an der Carl von Ossietzky Universität in Oldenburg.

10/2000 bis 03/2009

Studium der Biologie an der Freien Universität Berlin mit den Schwerpunkten Pflanzenphysiologie, Ökologie und Humanbiologie. Beendet mit dem Abschluss Diplom Biologin
Von Oktober 2008 bis März 2009 Ausarbeitung der Diplomarbeit mit dem Titel „Kartierung der Zwergrost- und Netzfleckenresistenz der Gerste MBR1012“ in Zusammenarbeit mit dem Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz des JKI Quedlinburg und der Freien Universität Berlin.

03/2009 bis 07/2011

Doktorandin im Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz des JKI Quedlinburg zu dem Thema „Kartierung und züchterische Nutzung neuer Resistenzquellen gegen die Netzfleckenkrankheit (*Pyrenophora teres f. teres*) der Gerste“ mit der Unterstützung der Freien Universität Berlin.

07/2011 bis 08/2012

Elternzeit

Seit 03/2013 bis voraussichtlich Ende 01/2016

Befristete Anstellung in Vollzeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin im Institut für die Sicherheit biotechnologischer Verfahren bei Pflanzen des JKI Quedlinburg in dem Drittmitelprojekt „Schaffung von Grundlagen für die Verbesserung der komplexen Krankheitsresistenz von Kartoffeln (ECOPOT-RESI)“

10. Veröffentlichungsliste

Journalveröffentlichungen:

König J, Kopahnke D, Steffenson BJ, Przulj N, Romeis T, Roeder MS, Ordon F, Perovic D (2012) Genetic mapping of a leaf rust resistance gene in former Yugoslavian barley landrace MBR1012. *Mol Breed* 30:1253-1264. doi:10.1007/s11032-012-9712-0

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 and mapping of QTL for resistance. *Mol. Breed.* 32:641-650. doi: 10.1007/s11032-013-9897-x

König J, Perovic D, Kopahnke D, Ordon F (2014) Mapping seedling resistance to net form of net blotch (*Pyrenophora teres f. teres*) in barley using detached leaf assay. *Plant Breed* 133:356-365. doi:10.1111/pdr.12147

Vortragsveröffentlichungen:

König J, Kopahnke D, Ordon F (2009) Kartierung und züchterische Nutzung neuer Resistenzquellen gegen die Netzfleckenkrankheit (*Pyrenophora teres f. teres*) der Gerste. GFP Sommertagung 2009

König J, Perovic D, Kopahnke D, Przulj N, Romeis T, Ordon F (2009) Kartierung der Zwergrostresistenz der Gerste MBR1012. 2. Nachwuchswissenschaftler Forum; 25-27

König J, Kopahnke D, Perovic D, Ordon F (2010) Kartierung und züchterische Nutzung neuer Resistenzquellen gegen die Netzfleckenkrankheit (*Pyrenophora teres f. teres*) der Gerste. Innovationstage 2010, Forschungs- und Entwicklungsprojekte der BLE: 25-26

König J, Kopahnke D, Perovic D, Ordon F (2010) Kartierung und züchterische Nutzung neuer Resistenzquellen gegen die Netzfleckenkrankheit (*Pyrenophora teres f. teres*) der Gerste. GFP Jahrestagung 2010

König J (2013) Kartierung und züchterische Nutzung neuer Resistenzquellen gegen die Netzfleckenkrankheit (*Pyrenophora teres f. teres*) der Gerste. 16. Kurt von Rümker-Vorträge, 31-39

König J, Kopahnke D, Perovic D, Ordon F (2014) Kartierung und züchterische Nutzung neuer Resistenzquellen gegen die Netzfleckenkrankheit (*Pyrenophora teres f. teres*) der Gerste. 59. Pflanzenschutztagung: 387-388

Posterveröffentlichungen:

König J, Kopahnke D, Perovic D, Ordon F (2010) Mapping and exploitation of new sources of resistance to the net form of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) in barley. Konferenz: Genomics based breeding, Giessen 2010.

Danksagung

Am Ende dieser Arbeit möchte ich mich bei allen Beteiligten, die auf unterschiedlichste Art und Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Prof. Dr. Frank Ordon, für das in mich gesetzte Vertrauen zur Bearbeitung dieses Projekts am Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz des Julius Kühn – Instituts und seine hervorragende Betreuung. Frau Prof. Dr. Tina Romeis danke ich, das sie sich bereit erklärt hat meine Promotion an der Freien Universität Berlin zu unterstützen.

Bei Dr. Doris Kopahnke und der ganzen Arbeitsgruppe bedanke ich mich für die Unterstützung zur Bewältigung der vielfältigen Aufgaben und für die wertvollen Ratschläge im Umgang mit pilzlichen Schaderregern. Besonders dankbar bin ich für die Unterstützung von Dr. Dragan Perovic, da er mich schon zu meiner Diplomarbeit betreut hat und mir auch heute noch mit Rat und Tat zur Seite steht. Zusätzlich bedanken möchte ich mich auch bei Dr. Edgar Schliephake für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung und die Einführung in die Welt von SAS. Allen Kollegen am Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz (JKI), besonders Doreen Günzke, Marlies Weilepp, Dr. Tina Lüders und Uta Schirmack, möchte ich für die angenehme Zusammenarbeit, die wertvollen Tipps und für die Zerstreuung in den Pausen danken.

Für die Finanzierung sei dem BMELV (28-1-43.031-07) und der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e. V. (GFP), sowie den beteiligten Züchtungsunternehmen W. von Borries-Eckendorf GmbH & Co. KG, Deutsche Saatveredelung AG und der Saaten-Union Biotec GmbH gedankt.

Weiterhin danke ich meinen neuen Kollegen Dr. Jörg Schubert und Dr. Marion Nachtigall für die Ermunterung diese Arbeit fertig zu stellen.

Nicht zuletzt, möchte ich mich ganz besonders bei meiner Familie für ihre fortwährende Unterstützung, ihr Verständnis und ihr Interesse an meiner Arbeit bedanken.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich: Die vorgelegte Dissertation habe ich selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Freien Universität Berlin zur guten wissenschaftlichen Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Janine König

