

Abschlussbericht Teilprojekt 6

# Schutz der Gerste vor Pilzkrankheiten bei Trockenheit

## Projektverbund

BayKlimaFit 2 – Starke Pflanzen im Klimawandel

## Finanziert durch

Bayerisches Staatsministerium für  
Umwelt und Verbraucherschutz  
Rosenkavalierplatz 2  
81925 München

## Projektnehmer

Technische Universität München  
Lehrstuhl für Phytopathologie  
Prof. Dr. Ralph Hückelhoven  
Emil-Ramann-Str. 2  
85354 Freising  
Tel.: +49 8161 713682  
Fax: +49 8161 714538  
E-Mail: [hueckelhoven@tum.de](mailto:hueckelhoven@tum.de)  
Web: <https://www1.ls.tum.de/pp/startseite/>

## Berichtszeitraum:

1. Juni 2021 bis 31. Mai 2024



finanziert durch  
Bayerisches Staatsministerium für  
Umwelt und Verbraucherschutz



# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>2</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>4</b>
<b>1 Kurzzusammenfassung</b> .....	<b>5</b>
<b>2 Einführung</b> .....	<b>5</b>
<b>3 Zielstellung</b> .....	<b>6</b>
3.1 AP 1 Globale Genexpressionsnetzwerkanalyse und physiologische Reaktion der Gerste auf Trocken- und Fusariumstress .....	6
3.2 AP 2 Resistenzmarkervalidierung in Gerste .....	7
3.3 AP 3 Biological-induzierte Resistenz .....	7
<b>4 Ergebnisse und Diskussion</b> .....	<b>8</b>
4.1 Trocken- und Fusarium-Kombinationsstressexperimente.....	8
4.1.1 Material und Methoden .....	8
4.1.2 Ergebnisse zur physiologische Stressantwort von Gerste auf kombinierten Trocken- und Fusariumstress.....	9
4.1.3 Ergebnisse zur globalen Genexpressionsantwort von Gerste auf Kombinationsstress.....	10
4.1.4 Diskussion der Ergebnisse aus den Kombinationsstressexperimenten	13
4.1.5 Stellungnahme zum Projekterfolg und –Ziele (AP 1) .....	14
4.2 Expressionsmarkeranalyse und Markervalidierung .....	14
4.2.1 Ergebnisse .....	14
4.2.2 Stellungnahme zum Projekterfolg und –Ziele (AP 2) .....	15
4.3 Biological-induzierte Resistenz von Gerste .....	16
4.3.1 Material und Methoden .....	16
4.3.2 Chitosaninduzierte Resistenz gegenüber Ährenfusariosen .....	16
4.3.3 Abwehrgenexpression nach Chitosanbehandlung und Ähreninfektion	20
4.3.4 Stellungnahme zum Projekterfolg und –Ziele (AP 3) .....	21
4.4 Aktualisierter Zeitplan.....	21
4.5 Darstellung des voraussichtlichen Nutzens und Verwertbarkeit der Ergebnisse	22
4.6 Einordnung der Projektergebnisse mit Bezug zum Klimawandel .....	24
<b>5 Veröffentlichungen im Rahmen des Projekts</b> .....	<b>24</b>
<b>6 Vernetzungen</b> .....	<b>26</b>
<b>7 Bestehende und entstandene Industriebeteiligung/-en.</b> .....	<b>27</b>
<b>8 Zusammenfassung</b> .....	<b>27</b>

<b>9</b>	<b>Ausblick.....</b>	<b>29</b>
	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>30</b>
	<b>Anhang .....</b>	<b>32</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AUDPC	Area under disease progress curve
cDNA	komplementäre ( <i>copy</i> ) Desoxyribonukleinsäure
D	trockengestresst
DEG	Differentiell exprimierte Gene
DFc	trockengestresst, <i>Fusarium culmorum</i> infiziert
DM	trockengestresst, scheininokuliert
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dpi	Tage nach der Inokulation
<i>F.</i>	<i>Fusarium</i>
F	Fahnenblatt
<i>Fc</i>	<i>Fusarium culmorum</i>
FC	fold change
F-1	Erste Blatttage unter dem Fahnenblatt
PR	pathogenesis-related
qPCR	quantitative Polymerase-Kettenreaktion
RT-qPCR	Reverse Transkription gekoppelt mit quantitativer Polymerase-Kettenreaktion
SOTA	Self Organizing Tree Algorithm
SPAD	Soil Plant Analysis Development
spp.	Spezies
TUM	Technische Universität München
TP	Teilprojekt
W	bewässert (ungestresste Kontrolle)
WFc	bewässert, <i>Fusarium culmorum</i> infiziert
WGCNA	Weighted gene correlation network analysis
WM	bewässert, scheininokuliert

## 1 Kurzzusammenfassung

Ziel des Teilprojektes 6 ist es, mit Hilfe molekularer und epidemiologischer Methoden Gerstensorten auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber pilzlichen Schaderregern unter Trockenheit zu überprüfen und das Wissen über die regulatorische Antwort der Gerste auf komplexe Stresssituationen zu erweitern. Hierfür wurden gegenüber Ährenfusariosen quantitativ verschieden anfällige Gerstensorten mit *Fusarium*-pilzen infiziert und gleichzeitigem Trockenstress ausgesetzt oder weiter bewässert. Die Erfassung des Krankheitsbefalls zeigte eine teilweise gesteigerte Anfälligkeit der Ähren unter Trockenheit. Zudem wurde eine globale Genexpressionsstudie durchgeführt, um spezifische regulatorische und physiologische Antworten auf die einzelnen Stressarten und deren Kombination zu erfassen. Die Daten werden derzeit tiefer ausgewertet und sollen mit weiteren physiologischen Stressparametern korreliert werden. Für die Analyse steht eine bereits im Rahmen des Projekts entwickelte Auswertungs-pipeline zur Verfügung, welche auf Basis bestehender Genexpressionsdaten erfolgreich validiert werden konnte. In einem weiteren Teilprojekt wurde die Wirkung von Biologicals auf Gerstengenotypen untersucht und für eine Anwendung unter variablen Umweltbedingungen im Gewächshaus und Laborexperimenten optimiert. Hierzu wurden verschiedene natürliche Substanzen getestet, wobei nur das Chitinderivat Chitosan eine reproduzierbare Wirkung gegen Ährenfusariosen in verschiedenen Gerstengenotypen zeigte. Die Ergebnisse deuten auf ein mögliches Potenzial von Chitosan als Biological für Pflanzenstärkungsanwendungen innerhalb einer integrierten Gerstenproduktion hin. Die Daten schlagen weiter vor, dass die chitosan-induzierbare Resistenz von Gerste ein bisher in der Pflanzenzüchtung noch ungenutztes Potenzial hat.

## 2 Einführung

Im Zuge des Klimawandels steigen die Jahresdurchschnitts- und Sommertemperaturen in Bayern und es sind zunehmend Wetterextreme wie Frühsommertrockenheiten zu beobachten. Klimawandelbedingte erhöhte Temperatur und Trockenheit bedrohen die Gersten- und Malzproduktion weltweit und fördern bodenbürtige Krankheiten [1, 2] die u.a. von *Fusarium* Species verursacht werden. Ährenfusariosen bedrohen die Menge und Qualität der Gerstenproduktion in Bayern und weltweit. Durch den Klimawandel häufiger auftretender Trockenstress kann dabei ggf. die Anfälligkeit der Gerste gegen die Erkrankung verstärken. Die Sortenzüchtung als wichtige Voraussetzung für eine integrierte Pflanzenproduktion muss dementsprechend nicht nur eine erhöhte Toleranz gegenüber Stressfaktoren wie Hitze, Kälte und Trockenheit erreichen, sondern auch neue, wirksame Resistenzen gegenüber dem sich wandelnden Krankheitsdruck finden. In diesem Zusammenhang ist die komplexe Stressantwort der Gerste derzeit noch nicht ausreichend verstanden, sodass die Erweiterung der Datengrundlage zu spezifischen Pflanze-Umwelt-Interaktionen neue und wichtige Erkenntnisse für die

Entwicklung neuer Werkzeuge für die Züchtung und Produktion klimaangepasster und gesunder Gersten darstellt. Darüber hinaus steht die Gerste modellhaft für weitere Getreidearten, sodass neue Erkenntnisse möglicherweise auf andere Kulturen übertragen werden können.

Die quantitative Resistenz der Gerste gegen Ährenfusariosen ist unvollständig und stark wetter-/umweltabhängig [3, 4]. Gleichzeitig existieren zurzeit nur sehr eingeschränkte und wenig geeignete chemische Kontrollmaßnahmen, um Ährenfusariosen in der Gerste gezielt zu bekämpfen. Als umweltschonender Weg könnte die Nutzung von immunstimulatorischen Biologicals als Werkzeug des biologischen Pflanzenschutzes gegen Ährenfusariosen dienen. Ihr Potenzial ist unter kontrollierten Bedingungen vielversprechend. Jedoch fallen die beobachteten positiven Wirkungen unter wechselhaften Klima- bzw. Wetterbedingungen im Feld meist geringer aus, wobei noch nicht ausreichend verstanden ist, inwieweit die Immunantwort auf natürliche aus der Natur abgeleitete Substanzen (Biologicals) vom individuellen Pflanzengenotypen und insbesondere von der Umweltinteraktion abhängt. Um diese Lücke zu schließen, fehlen derzeit noch in der Gerste zuverlässig wirkende Biologicals, Methoden zur Erfassung der Immunantwort auf Biologicals allgemein und zur Quantifizierung der genotypabhängigen Antwort im Zusammenhang mit der induzierbaren Resistenz im Speziellen unter wechselnden Umweltbedingungen. Die Weiterentwicklung und Validierung von geeigneten Methoden zur Erfassung der Immunantwort ermöglicht eine genauere Untersuchung, inwieweit natürliche Substanzen wie Biologicals unter extremen Klima-/Wetterbedingungen die Resistenz der Gerste gegen Schadpilze stabilisieren können.

### **3 Zielstellung**

Ziel des Projektes ist es, die komplexe Stressantwort der Gerste besser zu verstehen und Werkzeuge zu entwickeln, welche die nachhaltige Produktion von gesunder Gerste unter einem veränderlichen Klima und variablen Umweltbedingungen unterstützen. Die Gerste steht hierbei modellhaft für weitere Getreidearten, sodass Erkenntnisse und die entwickelten Methoden möglicherweise auf andere Getreidekulturen übertragen werden können. Die folgenden Abschnitte gehen auf die Ziele der einzelnen Arbeitspakete näher ein.

#### **3.1 AP 1 Globale Genexpressionsnetzwerksanalyse und physiologische Reaktion der Gerste auf Trocken- und Fusariumstress**

Arbeitspaket 1 soll die durch Trockenheit veränderte und genotypabhängige Anfälligkeit gegen Ährenfusariosen beschreiben und somit zu einem besseren Verständnis der Umweltabhängigkeit der Krankheitsresistenz von Gerste beitragen. Als Grundlage dazu dienen Exaktversuche unter kontrollierten Wachstums- und Stressbedingungen im Gewächshaus zur Erfassung der Infektion, der physiologischen Stressantworten sowie die Messung der globalen Genexpressionsantwort auf alleinigen Trocken- bzw. Fusariumstress, sowie kombiniertem Trocken- und Fusariumstress. Hierzu wurde zunächst die in BayKlimaFit 1 beobachtete erhöhte

Anfälligkeit durch Trockenstressapplikation zur Blüte/Infektion bestätigt [5]. Dieses Phänomen sollte durch Erfassung der globalen Genexpression mit Hilfe von 3'RNA-Sequenzierung genauer untersucht werden. Hierfür wurde eine bioinformatische Analysenpipeline etabliert, welche mittels Weighted Gene Co-regulation Network Analysis (WGCNA) [6, 7] koregulierte, differenziell exprimierte Gene (DEG) in einzelne spezifische Kluster (Module) einordnet und miteinander verknüpft. Die gleichzeitige Erfassung zahlreicher Parameter der pflanzlichen Stressphysiologie wird darüber hinaus genutzt, um in Genklustern koregulierte DEG statistisch abgesichert mit physiologischen Daten zu korrelieren. Zur Validierung sollte die etablierte Auswertungsweise dann zunächst auf existierende Daten angewendet werden [8]. In den bestehenden und neuen Datensätzen sollten so möglicherweise kausale Zusammenhänge zwischen der Genexpressionsantwort und der Stressphysiologie aufgezeigt und ggf. genotypische Spezifitäten identifiziert werden.

Dazu soll die Stressantwort vorselektierter Gerstensorten auf Fusarium-, Klima-/Trockenstress und deren Kombination erfasst und über physiologische Parameter und Genexpressionsmuster im Detail beschrieben werden. Die Auswertung der Daten soll Stoffwechselwege und Einzelgene (Marker) identifizieren, die umweltstabil mit Resistenz oder Anfälligkeit der Gerste gegen Ährenfusariosen assoziiert sind. Identifizierte Markergene werden auf ihre Eignung überprüft, in einem aktuellen Gerstengenotypensortiment die Resistenz gegen Ährenfusariosen zu reflektieren.

### **3.2 AP 2 Resistenzmarkervalidierung in Gerste**

Die globalen Genexpressionsdaten aus AP 1 und bereits erhobene bzw. veröffentlichte Daten [8] sollen genutzt werden um mit Pathongenantworten assoziierte Einzelgene zu identifizieren und mit Hilfe von in AP1 generierten Probenmaterial weitere Resistenzmarker zu validieren. Im Speziellen soll die Auswertung der Genexpressionsdaten aus AP 1 Stoffwechselwege und Einzelgene (Marker) identifizieren, die umweltstabil mit Resistenz oder Anfälligkeit der Gerste gegen Ährenfusariosen assoziiert und nach Möglichkeit durch Trockenstress nicht stark beeinflusst sind. Identifizierte Markergene werden auf ihre Eignung überprüft, in einem aktuellen Gerstengenotypensortiment die Resistenz gegen Ährenfusariosen zu reflektieren. Sie sind als Resistenzmarker von Bedeutung, da ihre Expressionsstärke die integrierte Fusariumantwort widerspiegelt. Es soll zudem gezeigt werden, dass sich Expressionsdaten von einzelnen getesteten Genotypen zuverlässig auf ein größeres Sortiment übertragen lassen.

### **3.3 AP 3 Biological-induzierte Resistenz**

Unsere bisherigen Arbeiten zeigen eine mögliche Abhängigkeit der durch Biologicals induzierten Resistenz von einzelnen Gerstengenotypen. Im Arbeitspaket 3 sollten natürliche organische Substanzen (Biologicals) auf ihr Potenzial zur Resistenzinduktion in Gerste getestet und ihre Anwendung optimiert werden, um ein aktuelles Gerstengenotypensortiment auf ihre Sensitivität in Bezug auf optimierte durch Biologicals induzierte Resistenz gegen Ähreninfektion durch *F. culmorum* zu untersuchen. Hierbei sollen der Zeitpunkt der Applikation und Aufwandmenge, sowie Parameter zur Erfassung der Stärke der induzierten Resistenz optimiert werden.

Eine möglicherweise durch Umweltstress geschwächte Immunantwort könnte dann ggf. die zuvor beobachtete trockenstressbedingte Anfälligkeit der Gerste erklären [5]. Als Ziel sollen Genotypen identifiziert werden, die besonders stark auf Biologicals reagieren und auch unter widrigen Klima- und Umweltbedingungen durch Biologicals im Feld vor Fusariuminfektionen besser geschützt werden können. Immunantworten auf Biologicals könnten zudem als physiologischer Marker in der Pflanzenzüchtung etabliert und züchterisch weiter genutzt werden. Die Ergebnisse dienen als Vorarbeiten für die Übertragung der Anwendung der durch Biologicals induzierten Resistenz auf Bedingungen mit variablen Umweltbedingungen im Feld.

## 4 Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Trocken- und Fusarium-Kombinationsstressexperimente

#### 4.1.1 Material und Methoden

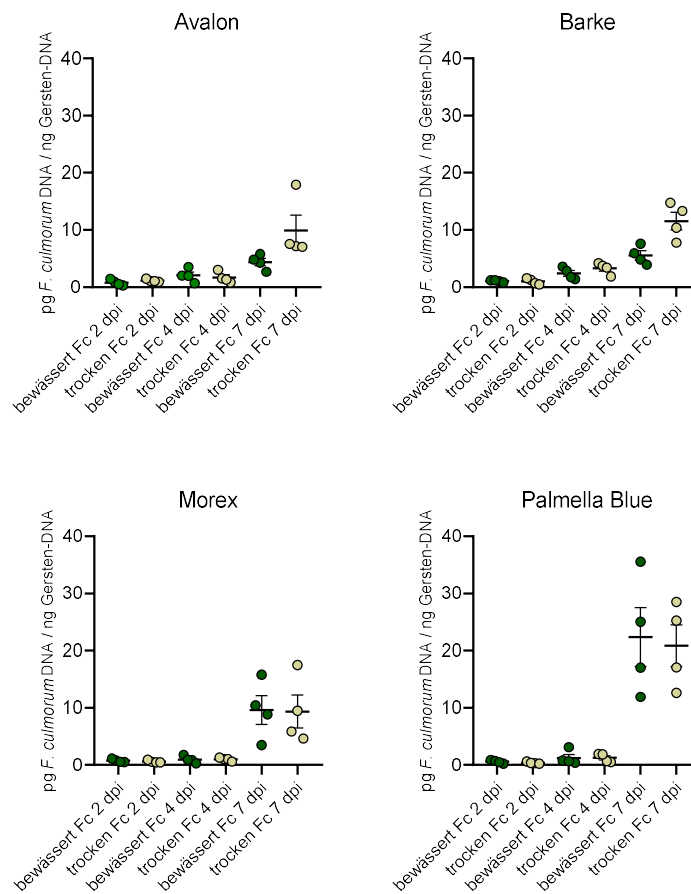
Eine detaillierte Beschreibung zur Durchführung der Gewächshausexperimente, Trockenstressapplikation und der Infektion von Gerstenähren kann aus [8] entnommen werden. Lediglich der Zeitpunkt der Trockenstressapplikation wurde durch Bewässerungsstopp ab der Blüte der Gersten gleichzeitig mit der Infektion der Gerstenähren begonnen. Die Versuche wurden zweimal unabhängig wiederholt durchgeführt und im Vergleich zu bisherigen Versuchen der Umfang an Pflanzen (biol. Replikate), gewonnenes Probenmaterial und der erhobenen Daten zur pflanzlichen Stressphysiologie im zweiten Durchgang erweitert. Insgesamt wurden die Pflanzen nach der Infektion und Beginn des Trockenstresses zu drei Zeitpunkten für die folgenden RNA und DNA-Extraktionen sowie Phytohormonmessungen (durch AG Prof. Dr. C. Dawid, TUM Professur für Funktionelle Phytometabolomik) beprobt und parallel zu jedem Termin physiologische Daten an den Pflanzen erhoben. Dies umfasste die Bonitur der sichtbar infizierten Körner an den Ähren, Ernte von Ähren zur Messung des gasförmigen Stress- und Reifehormons Ethylen, Messung des Chlorophyllgehalts der oberen Blättertaggen mittels SPAD-Meter, die Messung der stomatären Leitfähigkeit am Fahnenblatt als Maß des Gasaustausches bzw. Schließung der Spaltöffnungen sowie die Messung des Topfgewichts zur Überwachung des verfügbaren Wassers nach dem Trockenstellen. Im Anschluss an diese Phase wurden die Pflanzen zur Abreife gebracht und alle Ähren geerntet (Rückstellproben), um später die Stärke der Infektion auch im reifen Korn über die verschiedenen Stressszenarien mittels qPCR zu erfassen. Ein Teil der Ährenproben von bewässerten und trockengestressten Pflanzen wurde zur Analyse von Stärkecharakteristika an die Arbeitsgruppe Prof. Dr. M. Gastl (TP3; TUM Lehrstuhl f. Brau- und Getränketechnologie) abgegeben.

Die neu etablierte Pipeline für die Analyse der globalen RNA-Sequenzierungsdaten umfasst folgende Schritte: Mapping der 3'RNA-Sequenzierdaten gegen ein Referenzgenom von Gerste (Morex V3) [9] und *Fusarium culmorum* (UK99 strain) [10] mit Hilfe der *nf-core/rnaseq* pipeline (<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1400710>); Analyse der differenziell exprimierten Gene (DEG) basierend auf dem R-tool „*edgeR*“ [11]; einen self-organizing tree Algorithmus (SOTA) zum Gruppieren der DEG mit Hilfe des „*Multiple Expression Viewer*“ [12]; Annotation

interessanter Gene mit Gene Ontology (GO) terms basierend auf dem R-Paket „*topGO*“ [13], Netzwerkanalyse von koexprimierten Gene und Korrelationsanalyse mit physiologischen Daten und gemessenen Phytohormonen basierend auf dem R-Paket „*WGCNA*“ [6, 14]. Die erfolgreiche Anwendung und Validierung der Pipeline auf existierende Daten aus Stresskombinationsexperimenten in Gerste kann in Hoheneder & Steidele et al. (2023) [8] im Journal of Experimental Botany nachvollzogen werden.

### **4.1.2 Ergebnisse zur physiologische Stressantwort von Gerste auf kombinierten Trocken- und Fusariumstress**

Die Quantifizierung der pilzlichen DNA-Gehalte sowie die Bonitur der Ährensymptome zeigte genotypabhängig eine Erhöhung der Infektionsstärke durch Trockenstress im Vergleich zu den bewässerten Pflanzen, wobei dies sich erst deutlich nach 4 dpi zeigte (Abb. 1, A1, A2). Gleichzeitig reagierten alle Genotypen auf den zunehmenden Trockenstress durch Schließen der Spaltöffnungen (Abb. A3) und damit einer verminderten Transpiration (Stomatäre Leitfähigkeit) sowie etwas verzögert nach vier Tagen durch eine zunehmende Reduktion des Chlorophyll-Gehaltes in den oberen Blattetagen (Abb. A4). Die Daten zeigen somit eine starke physiologische Stressantwort auf den Trockenstress bzw. beschleunigte Reife und bestätigen die Vorarbeiten (vgl. [5]), welche eine erhöhte Anfälligkeit der Ähre nach Infektion und gleichzeitig beginnenden Trockenstress in der Gerste zeigen konnten. Der Effekt zeigt sich in quantitativ resistenteren Gerstengenotypen, während bereits unter Bewässerung hoch anfällige Genotypen weniger betroffen sind (Abb. 1).



**Abbildung 1:** *Fusarium culmorum* DNA Gehalte in der Gerstenähre nach Trockenstressapplikation und künstlicher Inokulation. Vier Gerstenkultivare wurden zur offenen Blüte mit einer Sporensuspension von *Fc* inokuliert und gleichzeitig durch Bewässerungsstopp zunehmender Trockenheit ausgesetzt. 2, 4, 7 Tage post Inokulation (dpi) wurden Proben für die DNA Extraktion genommen, um den Inokulationserfolg und die Anfälligkeit der Pflanzen zu bestimmen. Die Graphen zeigen die Mittelwerte von vier biologischen Replikaten und den zugehörigen Standardfehler des Mittelwerts.

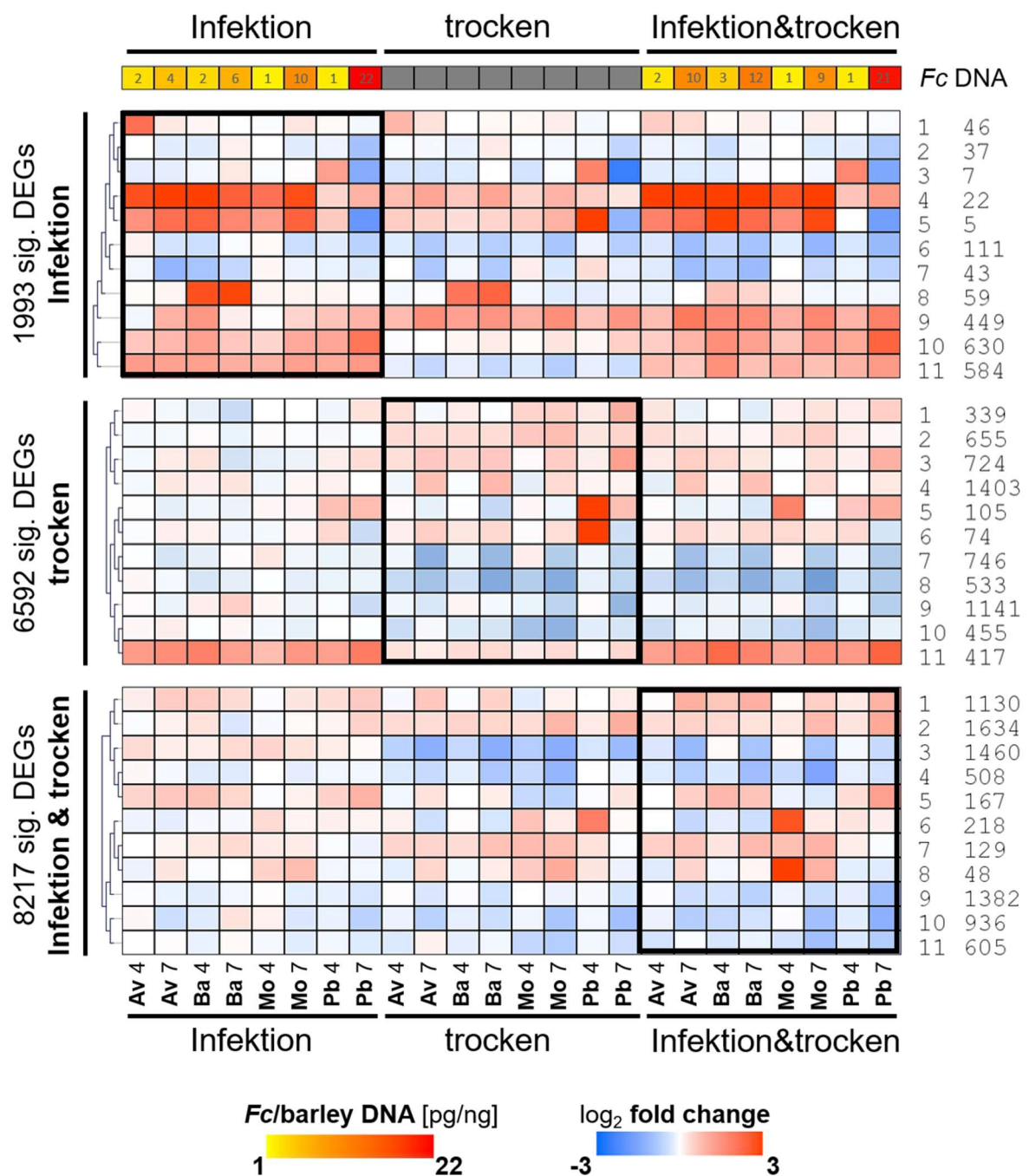
#### 4.1.3 Ergebnisse zur globalen Genexpressionsantwort von Gerste auf Kombinationsstress

Nach 3`RNA Sequenzierung von 5-6 Millionen RNAs pro Probe wurden die Transkripte den entsprechenden Gerstengenomen zugeordnet und quantitativ verglichen. Um einen ersten Überblick über die Genexpressionsmuster zu erhalten, wurde eine SOTA Analyse durchgeführt, die die DEG gemäß ihrem Verhalten in den Genotypen und Stressantworten in jeweils 11 Koexpressionskluster eingruppiert (Abb. 2). Abbildung 2 enthält außerdem einen Farbkode für die Infektionsstärke in den gleichen Proben. Die SOTA wurde durchgeführt für insgesamt nach Infektion 1993 DEG (oberer Block in Abb. 2), 6592 nach Trockenstress DEG (mittlerer Block)

und 8217 nach kombiniertem Trocken- plus Infektionsstress DEG (unterer Block). Für die infektionsassoziierten Koexpressionskluster mit den meisten Genen (oberer Block Zeile 9-11) zeigt sich ein schwach genotypabhängiges Muster. Die Gene sind allgemein pathogenresponsiv und tendenziell in den hochanfälligen Gersten zu 7dpi und der resistenteren Barke zu 4 dpi stärker exprimiert. Die gleichen Gene zeigen unter Trockenstress plus Infektion ein ähnliches Expressionsmuster, das eine tendenziell höhere Expression bei trockenstressbedingt stärkerem Infektionserfolg widerspiegelt.

Die meisten Genkluster mit trockenstressresponsiven DEG (Mittlerer Block, Zeilen 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9) zeigen mit zunehmendem Trockenstress am siebten Tag nach Bewässerungsstopp eine stärkere Regulation. Die meisten Kluster behalten das Genexpressionsmuster bei, wenn zusätzlich mit *Fc* infiziert wurde, d.h. die Trockenstressantwort ist wenig durch die Infektion beeinflusst. Nur Cluster 11 ist stärker bei kombiniertem Stress reguliert, was sich durch einen additiven Effekt aus Infektion und Trockenstressantwort ableiten lässt.

Die Kombination aus Trockenstress und Infektion bewirkt ebenfalls, dass die meisten Gene mit zunehmender Infektion und zunehmender Trockenheit am Tag 7 stärker reguliert sind als am Tag 4 (Unterer Block, Zeilen 1-5, 7, 9-11). Nur Cluster 6 und 8 zeigen ein Kombinationsstress-spezifisches Muster, das sich nicht durch additive Effekte der alleinigen Pathogen- oder Trockenstressantwort ableiten lässt. Dieser Effekt beschränkt sich auf die Gerste Morex. Interessant ist auch Cluster 3 mit 1460 DEG, das unter Infektion alleine schwache Hochregulation zeigt, jedoch Herunterregulation unter Trockenheit und Kombinationsstress. Ggf. kann diese trockenstressdominierte Herunterregulation zur erhöhten Anfälligkeit unter Trockenstress beitragen.



**Abbildung 2:** Self-organizing-tree algorithm Analyse von den globalen Transkriptomdaten von Gerste unter Einzel- und Kombinationsstress. Vier Gerstenkultivare (Avalon, Av; Barke, Ba; Morex, Mo; Palmella Blue, Pb) wurden zur offenen Blüte mit einer Sporensuspension von *Fc* inokuliert und gleichzeitig durch Bewässerungsstopp zunehmender Trockenheit ausgesetzt oder weiter bewässert. 4 und 7 Tage post Inokulation (dpi) wurden Ährenproben für die RNA Extraktion und anschließende 3'RNA-Sequenzierung genommen, um die globale genregulatorische Antwort auf den applizierten Stress zu bestimmen. Die Clusteranalyse umfasste alle differenziell exprimierte Gene (DEG, *differentially expressed genes*, DEGs), die bei mindestens einer Sorte in einer Stressbehandlung identifiziert wurden, und

nutzte die log<sub>2</sub>-Fold-Changes der Expressionsmuster über alle Sorten und Stressbehandlungen, um Gene zu gruppieren, die sich gemäß SOTA ähnlich verhielten. Dabei gingen in die Analyse ein: nach Infektion 1993 DEG; 6592 nach Trockenstress DEG und 8217 nach kombiniertem Trocken- plus Infektionsstress DEG. Außerdem ist die Infektionsstärke über die pilzliche *Fc* DNA Menge (siehe hierzu auch Abb. 1) in einer Farbskala dargestellt. Die Menge an DEG in den dargestellten Koexpressionsklustern findet sich jeweils rechts von den Zeilen (n=5 bis n=1634 DEG).

#### 4.1.4 Diskussion der Ergebnisse aus den Kombinationsstressexperimenten

Die Symptombonitur der infizierten Ähren zeigte eine Erhöhung der Infektionsstärke und einen durch zunehmenden Trockenstress veränderten Verlauf der Krankheit nach frühestens zwei bis vier Tagen nach der Inokulation im Vergleich zu den bewässerten Pflanzen (siehe Abb. 1, A1, A2). Somit konnten (Vor)-Versuche zur *Fusarium*infektion zur Blüte und gleichzeitig beginnendem Trockenstress (Hoheneder, unpublizierte Daten und [5]) bestätigt werden. Dies steht in deutlichem Kontrast zur Verminderung der Ährenanfälligkeit durch Trockenstress vor der Blüte bzw. Infektion [8]. Es kann also keine generalisierte Aussage in Bezug auf den Effekt von Trockenstress auf die *Fusarium*anfälligkeit der Gerste getroffen werden. Vielmehr ist der Zeitpunkt des Trockenstresseintretens entscheidend für seinen Einfluss auf die Widerstandsfähigkeit der Gerste gegen Ährenfusariosen.

Die einzelnen Genotypen zeigten eine unterschiedliche Infektionsstärke und Progression von Symptomen und der pilzlichen DNA-Gehalte. Zahlreiche Symptome waren bei den Sorten Avalon und Barke bereits ab dem zweiten Tag nach der Inokulation zu beobachten und verblieben im weiteren Verlauf auf diesem Niveau. Zum selben Zeitpunkt war die Symptomatik bei Morex und Palmella Blue weniger stark ausgeprägt und es zeigten sich noch keine Unterschiede durch Trockenstress, welche sich anschließend zu den späteren Zeitpunkten stärker zeigten. Ab dem vierten bzw. bis zum siebten dpi nahm in diesen Sorten die Symptome deutlich zu und zwar stärker unter Trockenheit. Dies zeigen auch die berechneten relativen AUDPC-Werte, welche den integrierten Verlauf der Krankheitsentwicklung darstellen (Abb. A2). Unter Trockenheit zeigten alle Genotypen tendenziell mehr sichtbare Symptome und Avalon und Barke auch höhere Pilz DNA-Gehalte (Abbildung 1, A1 und A2). Es sei hier angemerkt, dass die Genotypen Avalon und Barke aufgrund einer langsameren Entwicklung eine Woche später als Morex und Palmella Blue blühten. Folglich wurde die Infektion und Trockenstressapplikation entsprechend zeitlich versetzt durchgeführt und die beiden Gruppen können trotz gleichen Versuchsablaufs nur bedingt direkt verglichen werden. Unabhängig davon überstieg bei allen vier Genotypen der mittlere Anteil an symptomatischen Körnern unter Trockenstress stets die Werte unter Bewässerung. Insgesamt führten die Stärke der Infektion und die quantitative Resistenz gegenüber *Fusarium culmorum* im Wechselspiel miteinander zu einer inhomogenen Symptomatik, was unter Trockenheit zum Teil weiter verstärkt wurde (Abb. A1, A2). Um den Einfluss der Trockenheit auf die pilzlichen DNA-Gehalte in reifen Ernteproben zu prüfen, werden noch ergänzend Rückstellproben der abgereiften Gerstenkörner für eine Quantifizierung der pilzlichen DNA-Gehalte untersucht.

Die globalen Genexpressionsanalysen sind noch nicht vollständig abgeschlossen aber bereits jetzt zeigt sich, dass die Gerste keine kombinationsstressspezifische Genexpressionsantwort zeigt. Die Antwort auf kombiniert biotischen und abiotischen Stress setzt sich größtenteils modular aus additiven Genexpressionsmustern der Einzelstressantworten zusammen (Abb. 1 und [8]). Trotzdem könnte die Addition der regulatorischen Effekte bei z.T. gegenläufiger Regulation unter Infektion bzw. Trockenstress eine abgeschwächte Pathogenantwort erklären, was möglicherweise die Infektion mit *Fc* begünstigt. Eine noch ausstehende Untersuchung der Stresshormonkonzentrationen in der AG. Prof. C. Dawid wird dazu auf regulatorischer Ebene weiter Aufschluss geben.

### 4.1.5 Stellungnahme zum Projekterfolg und –Ziele (AP 1)

Das Kombinationsstressexperiment konnte erfolgreich durchgeführt werden, wodurch umfangreiches Probenmaterial sowie Transkriptom- und physiologische Daten zu Gerste unter Fusarium- und Trockenstress gewonnen werden konnte. Die Daten zeigen eine stark veränderte globale Pathogenantwort unter Trockenstress. Die gewonnenen Erkenntnisse unterstützen die gezielte Untersuchung und mögliche züchterische Anpassung von Gerstengenotypen an den Klimawandel. Hierzu konnte ein vielseitiges Protokoll (bioinformatische Analysen-Pipeline) zur raschen Auswertung der komplexen Versuchsfragen und von großen Transkriptomdatenmengen etabliert und in einer Publikation ([8]) validiert werden. Das Protokoll steht für die weiteren Auswertungen und Publikationen, sowie für folgende und verwandte Projekte zur Verfügung. Die kontrastierenden Effekte des Zeitpunkts der Trockenstressapplikation vor bzw. mit der Infektion schlagen eine vergleichende Analyse der Transkriptomdaten aus BayKlimaFit 1 [8] und den entsprechend aus diesem Projekt generierten Transkriptomdaten vor. Derzeit werden die Daten noch umfassend ausgewertet und eine Publikation vorbereitet. Die Auswertungen unserer Transkriptomdaten speziell in Hinblick auf die Fragestellungen für TP 3 (AG Gastl, TUM Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie) wurden von uns unterstützt und eine erste gemeinsame Publikation zur Stärkesynthese von Gerste unter Trockenstress vorbereitet. Damit sind die Projektziele bereits größtenteils erreicht oder werden in naher Zukunft zum publikationsreifen Abschluss gebracht.

## 4.2 Expressionsmarkeranalyse und Markervalidierung

### 4.2.1 Ergebnisse

Auf Basis der Expressionsdaten aus BayKlimaFit 1 (TP10) [8] wurden geeignete Gene mit einer starken infektionsassoziierten Expression identifiziert und validiert. Mit Hilfe der vorhandenen Sequenzdaten und den Programmen Snap-Gene und dem Online-Tool Primer3Plus (<https://www.primer3plus.com/index.html>) wurden passende Primerpaare für eine RT-qPCR der Kandidatengene erstellt. Diese Primer wurden auf Rückstellproben von cDNA von bewässert/trockengestresster und infizierter Gersten aus BayKlimaFit 1 (TP10) mittels RT-qPCR getestet und validiert. Einige dieser Primer wurden und werden derzeit noch an weiteren Rückstellproben aus einem Gewächshausexperiment mit verschiedenen an den Ähren mit *F. culmorum* infizierten bzw. nicht infizierten Gerstengenotypen aus AP3 durch RT-qPCR getestet.

Parallel wird durch Quantifizierung der pilzlichen DNA die Krankheitsresistenz der Genotypen eingestuft, um Markergenexpression und die pilzliche Kolonisierung der Ähre miteinander zu korrelieren (siehe auch Abb. 5 in Abschnitt 4.3). Tabelle 1 enthält eine aktualisierte Liste validierter und verlässlich mit fusarium- oder trockenstressassoziierter Antwort in Gerstenähren. Insbesondere eine u.a. von [15] und [16] beschriebene UDP Glycosyltransferase 13248 (HORVU.MOREX.r.2.5HG0384710), mit Funktion zur Detoxifizierung des von *F. graminearum* und *F. culmorum* produzierten Trichothecen B Mykotoxins Deoxynivalenol, zeigt sehr stark und zuverlässig die erfolgreiche Infektion von Gerstenähren an ([8]; siehe auch Abb. 5).

**Tabelle 1:** Liste validierter *Fusarium*- oder Trockenstressresponsiver Marker-Gene

Gen Identifier (Morex v2 Genom)	Gen-Name	Stressantwort
HORVU.MOREX.r.2.5HG0435530	Glycosyltransferase	Pathogenantwort
HORVU.MOREX.r.2.6HG0498680	Cysteine synthase	Pathogenantwort
HORVU.MOREX.r.2.7HG0547640	NAC domain-containing protein	Pathogenantwort
HORVU.MOREX.r.2.7HG0598720	Tryptophan decarboxylase	Pathogenantwort
HORVU.MOREX.r.2.1HG0016070	Laccase	Pathogenantwort
HORVU.MOREX.r.2.7HG0616250	WRKY transcription factor	Pathogenantwort
HORVU.MOREX.r.2.UnG0626650	Thaumatococcus-like protein (PR5)	Pathogenantwort
HORVU.MOREX.r.2.1HG0009500	Chymotrypsin inhibitor	Pathogenantwort
HORVU.MOREX.r.2.1HG0043200.1	Chitinase II (PR3)	Pathogenantwort
HORVU.MOREX.r.2.5HG0384710	UDP Glycosyltransferase 13248	Pathogenantwort/Fusarium-Deoxynivalenol-Detoxifizierung
HORVU.MOREX.r.2.1HG0068690	Homeobox associated leucine zipper protein	Trockenstressantwort
HORVU.MOREX.r.2.1HG0049090	Late embryogenesis abundant protein	Trockenstressantwort

#### 4.2.2 Stellungnahme zum Projekterfolg und –Ziele (AP 2)

Es wurden zuverlässige Genexpressionsmarker für Fusarium- und Trockenstress in der Gerstenähre identifiziert und in unabhängigen Proben validiert. Die fusariumresponsiven Marker sind in ihrer Expressionsstärke mit dem Infektionserfolg des Pilzes assoziiert. Es konnten bisher keine generell mit quantitativer Fusariumresistenz assoziierten Gene identifiziert werden. Die neu generierten Transkriptomdaten werden noch dahingehend ausgewertet, ob solche Gene zu finden sind. Einige der genutzten Markergene wurden zudem für die Erfassung der

induzierbaren Immunantwort in AP 3 genutzt, um auf regulatorischer Ebene die genotypspezifischen Antworten von mit Biologicals behandelten Pflanzen mit unbehandelten Kontrollen zu vergleichen. Die Nutzung der validierten Marker hat den Fortschritt und den Erkenntnisgewinn in AP 3 erfolgreich unterstützt (siehe Abschnitt 4.3.3). Einige der Marker sind in [8] als in Gerste allgemein fusarium- oder trockenstressassoziiert publiziert.

## 4.3 Biological-induzierte Resistenz von Gerste

### 4.3.1 Material und Methoden

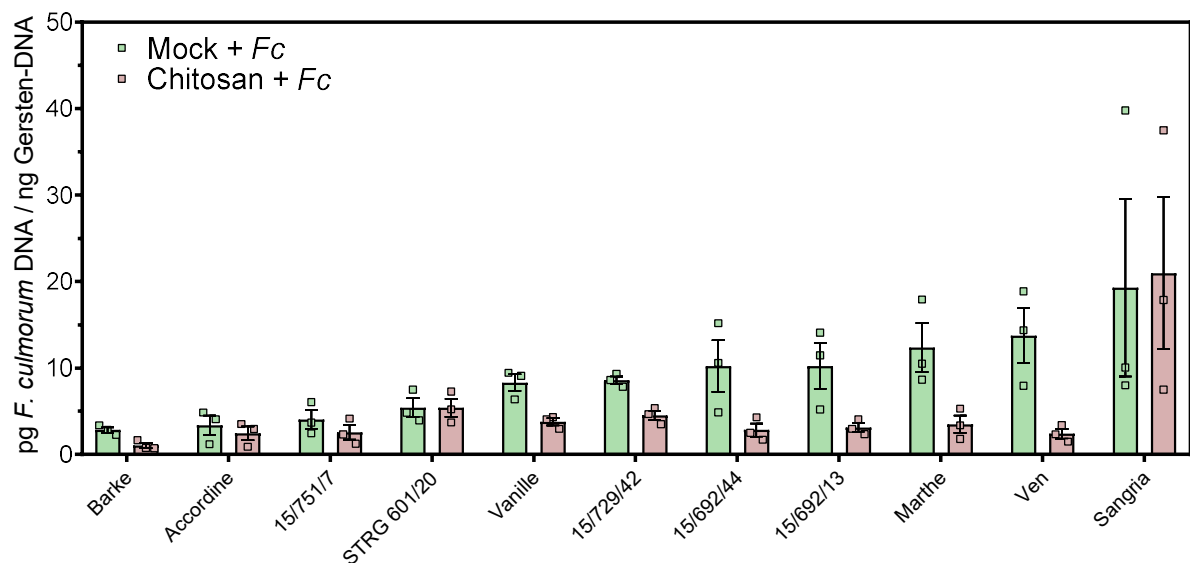
In Laborexperimenten zur Reaktion der Gerste auf Biologicals wurden verschiedene natürliche organische Substanzen (Laminarin, Chitin, ein eigenes aus *F. culmorum* gewonnener Peptidelizitor (siehe [17]), Chitosan) zu verschiedenen Zeitpunkten und mit variablen Dosen auf ihre Eignung zur Induktion von Immunantworten an juvenilen Gersten im Labor sowie später an Ganzpflanzen im Gewächshaus getestet. An juvenilen mit Biologicals vorbehandelten bzw. anscheinbehandelten Pflanzen als Kontrollen wurden verschiedene Labor-Assays etabliert, um ihre Eignung für die Erfassung von induzierbarer Resistenz im Allgemeinen und zum Vergleich der Reaktionen zwischen verschiedenen Gerstengenotypen im Speziellen zu erfassen und zu optimieren. Hierbei wurde die Genexpression von abwehrassoziierten und potentiell für induzierbare Immunantworten geeigneten Markergenen mittels RT-qPCR, das Stresshormon Ethylen als Maß für die Immunantwort von Blattsegmenten auf verschiedene Elizitoren mittels Gaschromatographie und die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies als schnelle Immunreaktion auf Elizitoren mittels eines Chemilumineszenzassays gemessen. In *Detached Leaf Assays* wurden Blattsegmente mit Biologicals vorbehandelte und mit Pathogenen (*Fusarium culmorum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Blumeria hordei*) infiziert und die Symptomstärke mit der auf anscheinbehandelten Kontrollpflanzen verglichen. Anschließend wurde das am zuverlässigsten resistenzinduzierende Biological, Chitosan, ein durch Deacetylierung aus Chitin gewonnenes Derivat, für Gewächshausexperimente genutzt, um die induzierte Resistenz von Gerste auf eine Anwendung an Ganzpflanzen mit Gerstenmaterial von den am Projekt beteiligten Züchterhäusern zu übertragen. Hierzu wurden insgesamt 39 Sommergerstengenotypen im Gewächshaus in drei Töpfen pro Versuchsvariante unter Gewächshausbedingungen angebaut. Zwei Tage vor der offenen Blüte wurden die Pflanzen mit Chitosan (Dosis: 500 mg/L besprüht und die Ähren mit einer *F. culmorum*-Sporenlösung oder zum Schein (Mock) inokuliert. Die Ähren wurden anschließend zwei Tage mit transparenten Tüten bedeckt, um eine optimale Infektion bei hoher Luftfeuchtigkeit zu gewährleisten. Nach 5, 14 und 18 Tagen post Inokulation (dpi) wurden Ährenproben für Genexpressionsanalysen bzw. Quantifizierung der pilzlichen DNA-Gehalte durchgeführt. Zum Zeitpunkt 14 und 18 dpi wurden zudem die beprobten Ähren auf sichtbare Symptome bonitiert (Methodik zur Ähreninfektion analog zu AP 1; siehe hierzu Abschnitt 4.1.1 und [8]).

### 4.3.2 Chitosaninduzierte Resistenz gegenüber Ährenfusariosen

Im Arbeitspaket 3 sollten Biologicals auf ihr Potenzial zur Resistenzinduktion in Gerste getestet und ihre Anwendung optimiert werden, um ein aktuelles Gerstengenotypensortiment auf ihre

Sensitivität in Bezug auf optimierte induzierte Resistenz gegen Ähreninfektion durch *F. culmorum* zu untersuchen. Dies gibt Aufschluss über die genetische Diversität der genotypspezifischen durch Biologicals induzierte Resistenz und dient als Vorarbeit für die Übertragung der Anwendung auf Feldbedingungen.

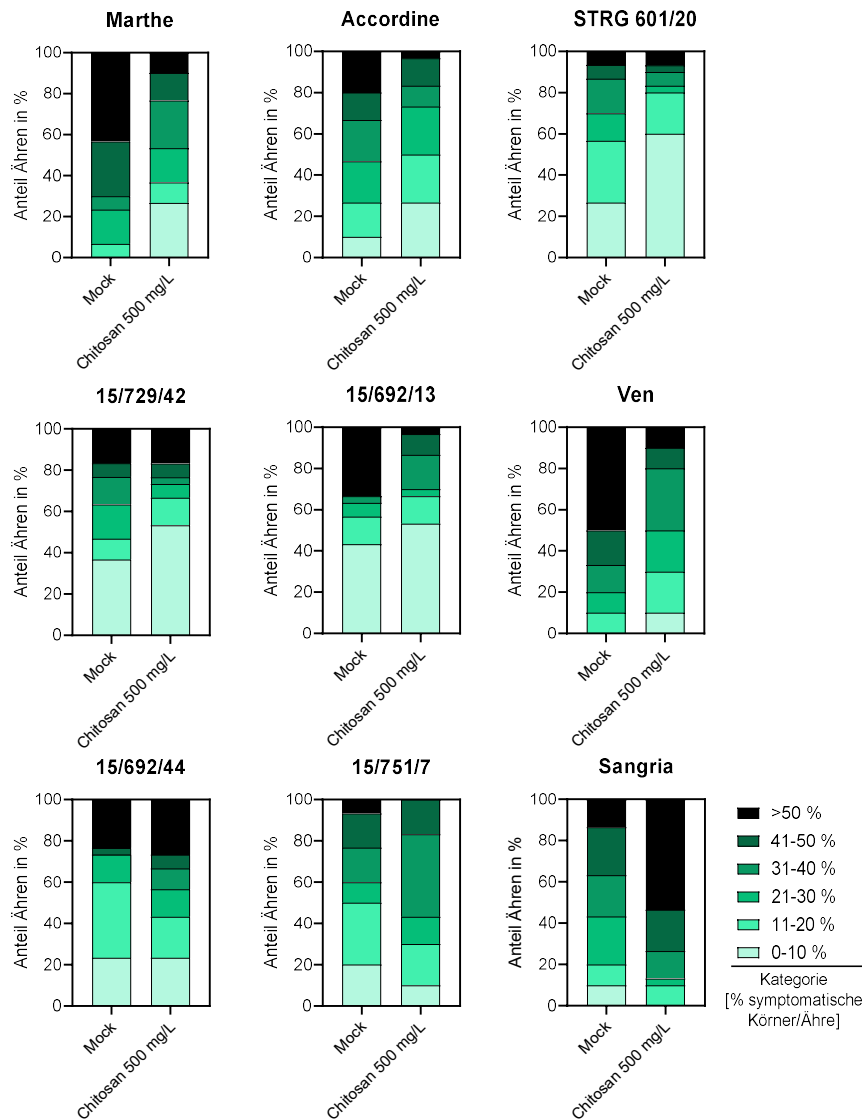
In vielfältigen Vorversuchen hatte die Chitosanbehandlung im Vergleich zur Laminarin-, Chitin- und Fusariumelizitorbehandlung eine stärkere und zuverlässigere Wirkung erzielt. Die Quantifizierung der pilzlichen DNA Gehalte (Abb. 3, 4, A5) und die Bonitur der Ährensymptome (Abb. 4) zeigen eine genotypabhängige quantitative Resistenz der 39 Gerstengenotypen sowohl zu einem frühen (5 dpi; Abb. 3) als auch zu späteren Zeitpunkten (18 dpi; Abb. 4). Dies lässt Rückschlüsse auf eine quantitative Ährenresistenz einiger Gerstengenotypen im weiteren Verlauf nach der Infektion zu. Es konnten zudem einige Genotypen bzw. Sorten als hoch fusariumresistent identifiziert oder im Vergleich mit bisherigen eigenen Vorarbeiten [4, 8] bestätigt werden (Abb. A5; z.B. Genotypen 15/729/19, 15/729/73, 15/729/50, 15/729/145, Barke). Darüber hinaus zeigen die Daten, dass eine vorherige Behandlung mit Chitosan den Befall der Ähre bei einer überwiegenden Anzahl von Genotypen teilweise deutlich reduzieren konnte. Die beobachteten Effekte zeigten sich sowohl nach 5 dpi (Abb. 3), als auch nach 14 dpi (Abb. A5) bzw. 18 dpi (Abb. 5) in einer reduzierten Symptomatik und geringeren pilzlichen DNA-Gehalten. Lediglich wenige Genotypen zeigten eine erhöhte oder gleichbleibende Infektionsstärke (z.B. Kultivar Sangria) nach vorheriger Behandlung mit Chitosan (Abb. 4, 5, A5).



**Abbildung 3:** Pilz-DNA Gehalte in infizierten Gerstenähren nach vorheriger Kontroll- (Mock) bzw. Chitosanbehandlung von ausgewählten Gerstengenotypen. Die Daten zeigen die Stärke der pilzlichen Kolonisierung der Ähre als pilzliche DNA-Gehalte im Verhältnis zur Gersten-DNA 5 dpi. Pro Versuchsvariante und Genotyp wurden je drei Proben bestehend aus zwei Ähren aus drei verschiedenen Töpfen für die anschließende DNA-Extraktion genommen. Die DNA-Gehalte wurden mittels qPCR in technischen Duplikaten

bestimmt. Die Abbildung zeigt den Mittelwert aus drei biologische Replikaten bestehend aus je zwei Ähren und den Standardfehler des Mittelwerts von 11 ausgewählten Genotypen.

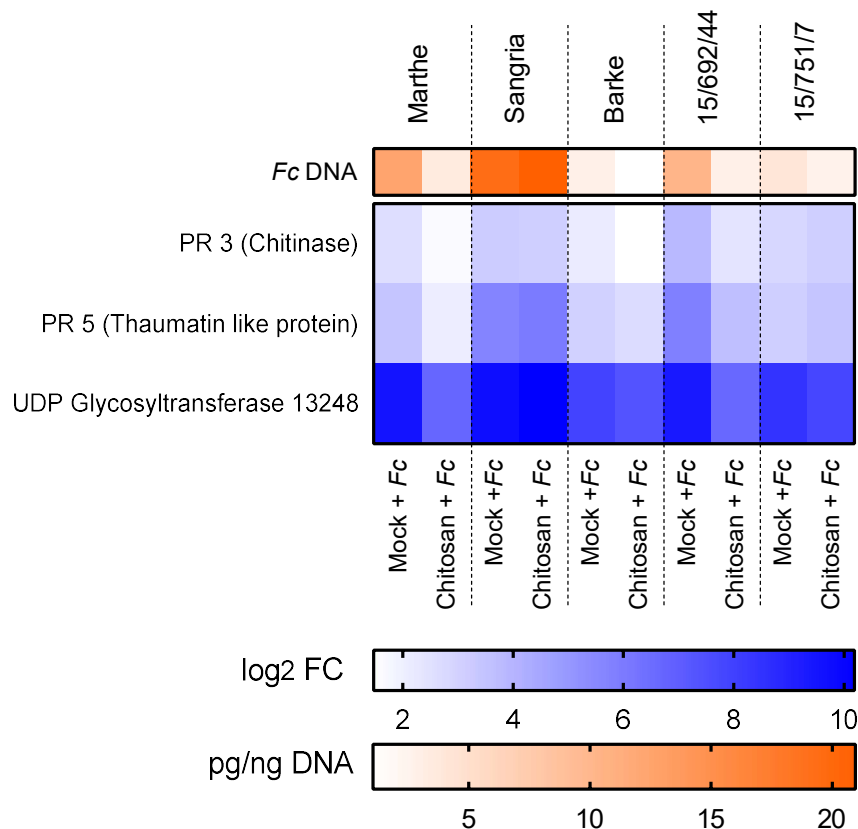
Die Bonitur der Ähren auf sichtbare Symptome nach Fusariuminfektion und vorheriger Kontroll- bzw. Chitosanbehandlung zeigte neben einer allgemeinen Verringerung des Ährenbefalls bei einigen Genotypen auch eine Verschiebung hin zu einem höheren Anteil von weniger stark symptomatischen Ähren (Abb. 4). Insgesamt erhöhte sich der Anteil der nahezu symptomfreien Ähren (>10 % symptomatische Körner/Ähre) und verringerte sich der Anteil stark befallener Ähren (>50 % symptomatische Körner/Ähre) bei einigen Genotypen (Abb. 4; z.B. Marthe, Ven, 15/692/13, STRG 601/20). Am Genotyp Sangria zeigte sich jedoch eine Verstärkung der Symptomatik nach vorheriger Chitosanbehandlung, was möglicherweise durch eine überschießende aber wenig effiziente Immunreaktion nach Erkennung des Elizitors Chitosan verursacht wurde. Die Ergebnisse schlagen allgemein eine stark genotypabhängige Reaktion der untersuchten Gerstengenotypen vor. Ggf. könnte die Erfassung der induzierten Immunantwort, welche von den einzelnen Genotypen in eine verbesserte Krankheitsresistenz umgesetzt wird, als mögliches Selektionskriterium in der Resistenzzüchtung genutzt werden. So wäre es denkbar, Sorten zu züchten, die im integrierten Pflanzenschutz besonders gut auf Biologicals ansprechen und ggf. weniger chemischen Pflanzenschutz benötigen.



**Abbildung 4:** Anteil symptomatischer Körner pro Ähre von infizierten Gerstenähren nach vorheriger Kontroll- (Mock) bzw. Chitosanbehandlung (Genotypenauswahl). Die Daten zeigen den prozentualen Anteil von Ähren mit einer spezifischen Symptomhäufigkeit (siehe Kategorien vom Anteil symptomatischer Körner von allen Körnern pro Ähre nach 18 dpi). Pro Versuchsvariante und Genotyp wurden je 30 Ähren aus drei Töpfen bonitiert und in sechs Stufen von prozentual aufsteigend stark befallenen Ähren klassifiziert. Die Abbildung zeigt den Mittelwert aus 30 bonitierten Ähren von 9 ausgewählten Genotypen.

### 4.3.3 Abwehrgenexpression nach Chitosanbehandlung und Ähreninfektion

Abbildung 5 zeigt die Menge der pilzlichen *Fc* DNA sowie die Expression von drei aus AP 2 validierten und mit der *Fusarium*- (PR3, PR5) bzw. Deoxynivalenolantwort (UDP Glycosyltransferase 13248) assoziierten Genen in *Fc*-infizierten Ähren nach vorheriger Schein- bzw. Chitosanbehandlung. Die Expression der abwehrassozierten Gene wurde auf Proben der entsprechend scheinbehandelten und nichtinfizierten Kontrollpflanzen referenziert. Die Daten zeigen eine deutliche Assoziation der Genexpression mit der Menge pilzlicher DNA, wobei eine geringere Infektionsstärke mit einer niedrigeren Expression der einzelnen Gene einhergeht. Es wurden vier der fünf getesteten Genotypen weniger stark befallen, wenn sie zuvor mit Chitosan behandelt wurden. Die Sorte Sangria zeigt eine nahezu gleich starke Infektion mit oder ohne Chitosanbehandlung und entsprechend keine differenzielle Genexpression zwischen den Proben. Anhand der drei getesteten Gene kann somit kein Rückschluss auf eine chitosanvermittelte erhöhte Abwehr der einzelnen Genotypen geschlossen werden. Hier drängen sich weitere globalere Untersuchungen der Chitosanantwort auf.



**Abbildung 5:** Pilz-DNA Gehalte und Genexpression von pathogen-/abwehrassozierten Genen in infizierten Ähren nach vorheriger Kontroll- (Mock) bzw. Chitosanbehandlung von ausgewählten Gerstengenotypen. Ährenproben wurden 5 Tage nach Infektion für DNA- und RNA-Extraktion genommen. Die pilzliche *Fc* DNA (in pg) wurde im Verhältnis zur Gersten-DNA (in ng) mittels qPCR quantifiziert. Die RNA wurde mittels reverser Transkriptase in cDNA umgeschrieben und anschließend die Expression der Zielgene und

eines Referenzgens (Ubiquitin) mittels RT-qPCR in technischen Duplikaten ermittelt. Die relative Expression der Zielgene wurde durch die delta-delta Ct Methode [18] berechnet und dabei gegen mit der Expression des Referenzgens bzw. der Zielgene in den unbehandelten und nichtinfizierten Kontrollähren referenziert und anschließend log<sub>2</sub> transformiert. Die Daten sind Mittelwerte von je drei biologischen Replikaten bestehend aus je zwei Ähren und zeigen die logarithmierte zur Kontrolle relative Expression (fold change) zur Basis 2.

### 4.3.4 Stellungnahme zum Projekterfolg und –ziele (AP 3)

Unter verschiedenen Biologicals sowie deren Kombinationen konnte Chitosan als der in Gerste wahrscheinlich am zuverlässigsten effektive Wirkstoff für eine induzierte Resistenz gegen Ährenfusariosen identifiziert werden. Die bisher durch Chitosan erzielte Reduktion von Ährenfusariosen an Gerste ist ein erster vielversprechender Schritt für eine verbesserte biologische Pflanzenschutzstrategie. Nach weiteren Validierungen und Optimierung der Anwendung wird die Methodik wie geplant im Feld erstmals unter Praxisbedingungen getestet werden. Hierfür wurde Sortenmaterial der assoziierten Züchter mit Hilfe verschiedener Laborsays und zuletzt unter Gewächshausbedingungen an Ganzpflanzen in ihrer genotypspezifischen Immunantwort auf Chitosan in Kombination mit einer Ähreninfektion mit *Fusarium* spp. charakterisiert. Eine Auswahl von zehn verschiedenartig auf Chitosanbehandlung reagierenden und unterschiedlich quantitativ fusariumresistenten Genotypen soll im Sommer 2024 unter Feldbedingungen getestet werden. Um die Wirkung der induzierbaren Resistenz auch unter anderen Umweltbedingungen zu validieren, wurden am 19.03.2024 an einem Standort in Schleswig-Holstein (in Kooperation mit M.Sc. S. Einspanier/Prof. Dr. R. Stam; Christian-Albrechts-Universität zu Kiel) und am 20.03.2024 am Standort Roggenstein bei München (TUM Feldversuchsgut) je eine Feldanlage ausgesät (10 Genotypen, 4 Wiederholungen pro Variante mit Chitosanbehandlungen und Ausbringen von *Fusarium culmorum*-Inokulum in den Bestand; Versuchsvarianten: a) nicht infizierte Kontrolle, b) rein infizierte Kontrolle, c) chitosanbehandelte, nicht infizierte Pflanzen, d) chitosanbehandelt und infizierte Pflanzen). Die beiden Standorte repräsentieren klimatische unterschiedliche Feldbedingungen für den Gerstenanbau in Deutschland. Die Projektziele sind damit im Wesentlichen erreicht oder werden im Laufe des Jahres mit lehrstuhlinternen Mitteln zum voraussichtlich erfolgreichen Abschluss gebracht. Ein möglicher Einfluss von Trockenstress auf die durch Biologicals induzierte Resistenz in Gerste konnte noch nicht abschließend untersucht werden.

## 4.4 Aktualisierter Zeitplan

Tabelle 2 gibt eine Übersicht über den aktuellen Zeitplan (Stand März 2024) für die einzelnen Arbeitspakete und Projektziele.

**Tabelle 2:** Aktualisierter Zeitplan des Projekts. Grau hinterlegte Zellen zeigen noch in Bearbeitung befindliche Aufgaben an. Grün hinterlegte Zellen zeigen die nach dem Zeitplan bis 29.02.2024 abgearbeiteten oder vorzeitig erledigten Aufgaben an. x = Ziel (geplant), o = Stand (aktuell)

AP1	Physiologische Reaktion der Gerste auf Trocken- und Fusariumstress	Jahr 1 (6/21 - 5/22)				Jahr 2 (6/22 - 5/23)				Jahr 3 (6/23 - 5/24)				
A1	Beschreibung der Trockenheit induzierten und genotypabhängigen Anfälligkeit gegen Ährenfusariosen													
A2	Erfassung der physiologischen Stressantwort													
A3	Globale Genexpressionsmessung													
A4	Datenanalyse & unabhängige Bestätigung													
A5	Publikation													
Z1	Tieferes Verständnis der umweltbedingten Fusariumresistenz													
AP2	Expressionsmarkeranalyse	Jahr 1				Jahr 2				Jahr 3				
A1	Suche nach Kandidatengen & unabh. Bestätigung													
A2	Testung von Kandidatengen am Gerstengenotypensortiment													
Z1	Identifikation geeigneter Expressionsmarker													
Z2	Validierung einzelner Marker													
AP3	Biological induzierte Resistenz	Jahr 1				Jahr 2				Jahr 3				
A1	Optimierung der Applikation von Biologicals an Pflanzenteilen													
A2	Versuche an ganzen und gestressten Pflanzen und am Gerstengenotypensortiment													
A3	Validierung des Potenzials der Biologicals im Feld und Probenanalyse													
A4	Publikation													
Z1	Optimierte Applikationsmethode für Biologicals													
Z2	Validierung des Potenzials der Biologicals im biologischen Pflanzenschutz													

#### 4.5 Darstellung des voraussichtlichen Nutzens und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Das Verständnis der umweltbedingten Krankheitsresistenz ist ein wichtiger Baustein zur Anpassung von Kulturpflanzen an die klimawandelbedingten Veränderungen der Umwelt und

Wachstumsbedingungen. Die gewonnenen Ergebnisse können in die Züchtung einfließen und dienen zur Weiterentwicklung umweltstabiler Stressresistenzmarker und zeigen beispielhaft physiologische Stressantworten der Gerste als mögliche Selektionskriterien für die Testung von Kandidatengenotypen unter kombiniertem Stress. Die gewonnenen Daten liefern zudem Erkenntnisse zur Abschätzung des zukünftigen Infektionsgeschehens von *Fusarium* spp. in Gerste unter variablen Umwelten und ungünstigen Wachstumsbedingungen. Sie können damit in Modellierungsversuche zur Vorhersage und Epidemiologie von Ährenfusariosen unter variablen Umweltbedingungen einfließen. Die Daten werden wissenschaftlich verwertet, um in einer *peer-reviewed* Publikation, die vom Zeitpunkt der Stressapplikation abhängige erhöhte bzw. erniedrigte Fusariumresistenz zu beschreiben und mit assoziierten koregulierten Genklustern zu assoziieren. Die entwickelte Methodik und Datengrundlage kann weiter genutzt werden, um genregulatorische Faktoren (Transkriptionsfaktoren) zu identifizieren, die als Steuerungselemente der spezifischen Stressantworten der Gerste dienen könnten.

Die Entwicklung und Validierung verlässlicher und unter Infektion bzw. Trockenstress stark regulierter Anfälligkeits- oder Resistenzmarkergene stellt ein wertvolles Werkzeug für die Resistenzforschung und -züchtung dar und kann helfen, die fusariumspezifische Antwort der Gerste besser zu verstehen und Genotypen diesbezüglich zu vergleichen. Die Expression der UDP Glycosyltransferase 13248 (HORVU.MOREX.r.2.5HG0384710) ist nach Infektion verlässlich und besonders stark in Gerste reguliert. Eine Messung der Expression dieses Gens kann zudem genutzt werden, um die Reaktion eines Gerstengenotypen auf das Pilztoxin Deoxynivalenol abzuschätzen. Die Expression der Markergene ist hauptsächlich mit dem Infektionserfolg assoziiert. Ihre Expression kann also indirekt zur Selektion von wenig anfälligen Sorten genutzt werden. Die gefundenen Trockenstressmarker und umweltstabilen Infektionsmarker sind für die Grundlagenforschung als einfach zu messende, zuverlässige Zeiger der pflanzlichen Stressreaktion von Bedeutung.

Die durch Chitosanbehandlung erzielte Reduktion von Ährenfusariosen an verschiedenen Gerstengenotypen ist ein erster Schritt in Richtung einer neuen biologischen Pflanzenschutzstrategie und stellt eine potentielle Erweiterung von Pflanzenschutzmaßnahmen unter Praxisbedingungen dar. Die beobachtete verminderte Befallsstärke durch Chitosanbehandlung zeigt ein hohes Potenzial für die Nutzbarmachung der induzierbaren Immunantworten für eine erhöhte Resistenz der Gerste auf. Die Genotypabhängigkeit dieses Potenzials birgt die Möglichkeit einer züchterischen Anpassung für eine optimale Biologicalwirkung. Dieser Befund hat wissenschaftlich einen hohen Neuheitsgrad, so dass die Daten nach unabhängiger Bestätigung *peer-reviewed* publiziert werden sollen. Eine optimierte Anwendung könnte somit unter Praxisbedingungen bestehende integrierte Pflanzenschutz- und Stärkungsmaßnahmen umweltfreundlich ergänzen bzw. unterstützen und somit helfen, mögliche pilzliche Kontaminationen in der Gerste und der weiteren Verarbeitungs- und Wertschöpfungskette z.B. in der Brauwirtschaft minimieren. Gleichzeitig besteht das Potenzial, chemische Pflanzenschutzmittel einzusparen.

## 4.6 Einordnung der Projektergebnisse mit Bezug zum Klimawandel

Klimawandelbedingte Extremwetterlagen führen zunehmend zu physiologischen Stresssituation von Kulturpflanzen unter Anbaubedingungen. Die hier erzielten Ergebnisse bestätigen, dass Trockenstress, neben seiner direkt schädigenden Wirkung, auch die Widerstandsfähigkeit der Gersten gegen Krankheitserreger abschwächen kann. Um die damit einhergehende Verletzbarkeit der Gerstenproduktionssysteme abzumildern, sind Maßnahmen zu Klimafolgenanpassung notwendig. Diese könnten im pflanzenzüchterischen Sektor und in einer Anpassung von Pflanzenschutzstrategien liegen. Die hier erzielten Ergebnisse liefern Grundlagen zu Entwicklung solcher Anpassungsstrategien. Das tiefere Verständnis der genotypabhängigen Reaktion der Gerste auf Einzel- und Kombinationsstressbedingungen kann genutzt werden, um das züchterische Potenzial in diesem Sektor aufzudecken und physiologische Marker zu entwickeln, die dieses Potenzial messbar machen. Die Daten liefern damit Modellgenotypen, die der Grundlagenforschung und Entwicklung von Sorten dienen können, die ihre Widerstandsfähigkeit sowohl in einfachen als auch in komplexen Stressbedingungen aufrechterhalten können.

Um in Zukunft ggf. stärker gestresste Pflanzen nachhaltig gegen Krankheiten schützen zu können, sind umweltfreundliche Alternativen zum chemischen Pflanzenschutz notwendig. Die hier beschriebene Effektivität und Genotypabhängigkeit der chitosaninduzierten Fusariumresistenz der Gerste bildet eine neue Grundlage für eine biologische Pflanzenschutzmaßnahme, die im organischen oder integrierten Pflanzenbau einsetzbar wäre. Das Potenzial dieser Maßnahme ist weiter zu validieren und ggf. züchterisch zu optimieren. Ebenso ist die Umweltstabilität der chitosaninduzierten Resistenz noch im Detail zu untersuchen. Die Ergebnisse sind also noch vorläufig aber sehr vielversprechend im Hinblick auf die Entwicklung eines neuen Bausteins des umweltfreundlichen Pflanzenschutzes, der notwendig sein wird, um Kulturpflanzen auch unter zunehmend widrigen Umweltbedingungen nachhaltig gegen Krankheiten schützen zu können.

## 5 Veröffentlichungen im Rahmen des Projekts

Hör, S., Beer, T., Hoheneder, F., Becker, T. & Gastl, M. (2024). Influence of drought stress and growth temperature during kernel development on physical and chemical starch characteristics of malting barley. *Cereal Chemistry*, <https://doi.org/10.1002/cche.10793>.

Hoheneder, F., Steidele, C. E., Messerer, M., Mayer, K., Köhler, N., Wurmser, C., Heß, M., Gigl, M., Dawid, C., Stam, R. & Hückelhoven, R. (2023). Barley shows reduced Fusarium head blight under drought and modular expression of differentially expressed genes under combined stress. *Journal of Experimental Botany*, 74(21), 6820-6835. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad348>.

Steidele, C. E. (2024). Network inference reveals barley transcription factors and targets in Fusarium head blight. Vortrag auf der 43. Jahrestagung des Arbeitskreises Wirt-Parasit-Beziehungen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft in Bonn, 7.3.2024.

Steidele, C. E. (2024). Network inference reveals barley transcription factors and targets in Fusarium head blight. Vortrag auf der "37<sup>th</sup> Conference Molecular Biology of Plants" of the Section Plant Physiology and Molecular Biology of the DBG in Hennef, 5.3.2024.

Steidele, C. E. (2023). Barley shows reduced Fusarium head blight under drought and modular expression of differential expressed genes under combined stress. Vortrag auf dem "12th International congress of plant pathology" in Lyon, 24.8.2023.

Hoheneder, F. (2023). Gerste zeigt spezifische Stressantworten und eine veränderte Resistenz gegenüber Ährenfusariosen unter Trockenstress. Vortrag bei der 63. Deutschen Pflanzenschutztagung, Georg-August-Universität Göttingen. 26.09.2023. Julius-Kühn-Archiv 475, 241-242.

Hückelhoven, R. (2023). Barley Fusarium Head Blight in times of global warming. Vortrag im Nutzpflanzenseminar der Christian Albrechts-Universität zu Kiel. 10.1.2023.

Steidele, C. E. (2022). Differential transcription networks in barley under single and combined stress. Vortrag zum wissenschaftlichen Seminar am Institut für Phytopathologie, Christian Albrechts-Universität zu Kiel. 30.5.2022.

Hoheneder, F. (2022). Der Einfluss der Umwelt - speziell Trockenstress - auf die Krankheitsresistenz von Braugerste. Vortrag beim 19. Rohstoffseminar Weihenstephan, Freising. 04.04.2022.

Einspanier, S. (2021). Potentiale einer Glukan induzierten Pathogenabwehr gegenüber pilzlichen Schaderregern der Gerste. Vortrag bei der 62. Deutschen Pflanzenschutztagung, Online-Veranstaltung. 21.09.2021. Julius-Kühn-Archiv, 467, 289-290.

Hoheneder, F. (2021). Der Einfluss von Trockenstress auf die Resistenz von Gerste gegenüber Ährenfusariosen. Vortrag bei der 62. Deutschen Pflanzenschutztagung, Online-Veranstaltung. 21.09.2021. Julius-Kühn-Archiv, 467, 115-116.

Hoheneder, F. (2021). Impact of the environment and drought stress on the interaction between *Fusarium culmorum* and diverse barley genotypes. Poster beim 15<sup>th</sup> European Fusarium Seminar. Online-Konferenz. 31.05.-01.06.2021.

## 6 Vernetzungen

Im zweiten Projektjahr wurde in den Kombinationsstressexperimenten unter kontrollierten Bedingungen Probenmaterial gesammelt, welches zur Analyse der Stresshormonregulation an die Professur für Funktionelle Phytometabolomik der TUM (Prof. Dr. C. Dawid) gegeben wurde. Weiteres Probenmaterial wurde an die AG Prof. M. Gastl für das TP 3 (Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, TUM) zur Analyse der Stärkecharakteristika unter Trockenheit übergeben. Darüber hinaus werden derzeit die aus AP1 gewonnenen globalen Transkriptomdaten für eine weiterführende Analyse der Regulation der Stärkesynthesegene in Zusammenarbeit mit AG Gastl für das TP 3 (Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, TUM) für die Proben der bewässerten und trockengestressten Gersten ausgewertet und mit in TP 3 erhobenen Stärkeparametern verrechnet. Eine gemeinsame Publikation der Ergebnisse ist geplant. Aufbauend auf dieser Zusammenarbeit wurde ein gemeinsamer Forschungsantrag zur Stärkesynthese und Krankheitsresistenz von Gerste unter Trocken- und Hitzestress mit dem Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie (TUM) an die AiF eingereicht.

Da in den Versuchen aus AP1 ausreichend Probenmaterial gesammelt werden konnte, werden diese entsprechend zu den Transkriptomstudien auch für Proteom- und Metabolomstudien im Rahmen der Bearbeitung eines Teilprojekts des Elite Netzwerk Bayern „The Proteoms that feed the world“ (<https://www1.ls.tum.de/proteomics/the-proteomes-that-feed-the-world/>) genutzt. Hier wird mindestens eine projektübergreifende gemeinsame Publikation zur Wirkung von Deoxynivalenol entstehen.

Die Gerstenanbauten unter kontrollierten Trockenstressbedingungen im Gewächshaus für TP 3 (TUM LS Brau- und Getränketechnologie) wurde in der Durchführung und bei der Erfassung von Klimadaten (Temperatur und Luftfeuchtigkeit als Kontrollparameter) unterstützt. Eine daraus entstandene Publikation ist derzeit in Revision.

Der Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung (TUM) wurde zur Verbesserung der in TP 10 durchgeführten Infektionsversuche an Mais im Gewächshaus mit Know-how unterstützt. Im Gegenzug wurde ein Porometer zur Messung der stomatären Leitfähigkeit als Maß für die Reduktion des Wasserverbrauchs bzw. des Gasaustausches der Pflanze unter Stress zur Verfügung gestellt und Know-how ausgetauscht.

Am 22. März 2023 fand am Helmholtz-Zentrum München ein Treffen mit der AG Dr. M. Spanagl (TP 11) statt, um sich über die jeweiligen Teilprojekte, Projektfortschritt, wissenschaftliche Ressourcen und weiterführende Kooperationen auszutauschen. Ein gemeinsamer Forschungsantrag zur innovativen Züchtung von Fusariumresistenz in der Gerste ist beim BMBF/FZ-Jülich eingereicht.

Die im Projekt beteiligten Züchterhäuser Saatzucht Josef Breun GmbH & Co. KG und Saatzucht Ackermann GmbH & Co. KG wurden mit der Bereitstellung von Agarplatten, bewachsen mit *Fusarium culmorum*-Isolaten, für die Produktion von Pilz-Inokulum für eigene Infektionsversuche mit Sommergerste im Freiland unterstützt. Die Bereitstellung von Inokulum wird in 2024 fortgesetzt.

## 7 Bestehende und entstandene Industriebeteiligung/-en.

Züchtungsmaterial (Linien) und aktuelle Sorten wurde von den mit dem Projekt assoziierten bayerischen Gerstenzüchtern selektiert und zur Verfügung gestellt und in unseren Untersuchungen insbesondere in Experimenten mit Biologicals charakterisiert. Die gewonnenen Daten und Ergebnisse werden den Züchtern zur Verfügung gestellt.

In einem Spin-off Projekt aus BayKlimaFit 1 wurde im Projektzeitraum von BayKlimaFit 2 von einem privaten Züchterhaus biologisches Material für eine Masterarbeit an der TUM zur Verfügung gestellt, in der die genetische Grundlage von umweltstabiler quantitativer Resistenz gegen *Ramularia* Blattflecken in Gerste untersucht wird.

## 8 Zusammenfassung

Ziel des Teilprojektes 6 ist es, mit Hilfe molekularer und epidemiologischer Methoden Gerstensorten auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber pilzlichen Schaderregern unter widrigen Umweltbedingungen, insbesondere Trockenheit, zu überprüfen und die spezifischen Stressantworten von einzelnen Gerstengenotypen zu vergleichen. Hierzu soll die globale Genexpression mit der spezifischen Stressphysiologie korreliert werden, um die umweltbedingte Krankheitsresistenz der Gerste besser zu verstehen. Darüber hinaus soll das Potenzial von natürlichen bzw. aus der Natur abgeleiteten Substanzen, sog. Biologicals, zur Induktion der basalen Krankheitsresistenz in der Gerste abgeschätzt und in Hinblick auf eine praxisbezogene Anwendung unter variablen Umweltbedingungen optimiert werden.

Im ersten Teil des Projekts wurde eine durch Trockenheit induzierte und genotypabhängige Anfälligkeit der Gerste gegen Ährenfusariosen beschrieben und physiologisch analysiert. Die Daten dienen einem besseren Verständnis komplexer Stressantworten von Kulturpflanzen und dazu, in Zukunft die umweltbedingte Krankheitsresistenz durch Resistenzzüchtung zu verbessern. Hierzu wurden physiologische Parameter, wie der Chlorophyllgehalt der ertragsrelevanten Blätter, die stomatäre Leitfähigkeit, stressassoziierte Phytohormone, sichtbare Symptome und Pilz-DNA-Gehalte nach Ähreninfektion und die globale Genexpressionsantwort auf alleinigen Trocken- bzw. Fusariumstress, sowie auf kombinierten Stress in Gerste unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus untersucht. Die Erkenntnisse schlagen vor, dass die Gerste auf kombinierten Stress sortenabhängig reagiert und sich die Stressantwort dabei modular aus den Antworten gegenüber den jeweiligen Einzelstressoren zusammensetzt, also keine für Kombinationsstress spezifische Antwort ausgelöst wird. Verschiedene Genotypen nutzen somit ähnliche genregulatorische Antworten auf komplexen Stress, können dies jedoch unterschiedlich effektiv in Pathogenantwort und Trockenstresstoleranz umsetzen. Hierbei könnten genotypspezifisch unterschiedlich stark exprimierte regulatorische Proteine (Transkriptionsfaktoren) entscheidend die Reaktionen beeinflussen. Somit ist das tiefe Verständnis der regulatorischen Stressantwort, als auch die Steuerung der beteiligten Gene in komplexen Stresssituationen ein wichtiger Baustein für die weiterführende Grundlagenforschung zur Anpassung

von Kulturpflanzen an klimawandelbedingt widrige Umweltbedingungen. Genotypabhängige Reaktionen der Gerste auf verschiedene Stressfaktoren verdeutlichen das züchterische Potenzial von Gerste zur Anpassung an den Klimawandel und an komplexe abiotisch/biotische Stresssituationen. Weiter zeigen die Ergebnisse, dass die Abfolge der einwirkenden Stressfaktoren sich stark auf die Krankheitsresistenz der Gerste auswirken. Im Speziellen zeigen die gewonnenen Erkenntnisse, dass beim Zeitpunkt des beginnenden Trockenstresses wenige Tage darüber entscheiden, ob die Gerste durch Trockenheit weniger oder mehr anfällig für Ährenfusariosen wird. Die Daten zeigen beispielhaft die komplexe Verletzbarkeit der Pflanzenproduktion unter zunehmend extremen Umweltbedingungen.

Aufbauend auf den genregulatorischen und physiologischen Untersuchungen zur Stressregulation von Gerste unter Trocken- und Fusariumstress wurden geeignete Stressmarkergene identifiziert und ihre Funktion in Rückstellproben aus BayKlimaFit 1 bestätigt. Die bisher gefundenen Stressmarkergene zeigen dabei generell eine mit einer erfolgreichen Infektion assoziierten Antwort, welche Rückschlüsse auf die Stärke der Pathogenantwort und somit Resistenz eines einzelnen Genotyps zulässt. Die gefundenen Stressmarkergene wurden bereits an einigen Gerstengenotypen aus aktuellen Braugersten, Zuchtstämmen und aus BayKlimaFit 1 weiterentwickeltem Zuchtmaterial der am Projekt beteiligten Züchter validiert und zeigen verlässlich die Antwort auf Pathogen- bzw. Trockenstress an. Die Expressionsmarker könnten zukünftig die Resistenzzüchtung gegenüber Trockenstress und Ährenfusariosen als Werkzeug zur gezielten Selektion von resistenten und robusten Gersten unterstützen, wodurch die Anpassung der Gerstenproduktion an den Klimawandel unterstützt und züchterisch weiterentwickelt werden kann.

Zur Unterstützung der basalen sortenabhängigen Feldresistenz von Gerste gegenüber Ährenfusariosen könnten umweltschonende Biologicals eine wichtige und unterstützende Rolle für den integrierten Pflanzenschutz spielen, da sie ergänzend zu bestehenden integrierten Pflanzenschutzmaßnahmen gezielt eingesetzt werden könnten und darüber hinaus auch für den Einsatz in ökologischen Anbausystemen geeignet sind. In diesem Kontext wurde u.a. das Chitinderivat Chitosan als Biological getestet und als in zahlreichen Gerstensorten besonders gut resistenzinduzierende Substanz validiert. Es wurde gezeigt, dass Chitosan die natürliche Resistenz der Gerste induzieren und Ähreninfektionen unter kontrollierten Bedingungen reproduzierbar und teilweise deutlich reduzieren kann. Eine praxisbezogene Anwendung im Feld könnte somit den Schutz der Gerste insbesondere unter klimawandelbedingt, schwierigeren Umweltbedingungen und variablem Pathogendruck unterstützen und verbessern. Die chitosaninduzierte Resistenz ist nach den bisherigen Ergebnissen genotypabhängig, was zukünftig als Merkmal für die züchterische Selektion besonders gut mit Biologicals induzierbarer Gerstenstämme genutzt werden kann. Die im Projekt etablierten Assays zur Bestimmung der Induzierbarkeit der Pathogenantwort durch Biologicals können helfen, geeignetes genetisches Material mit einer besonders effektiven Resistenzinduzierbarkeit zu identifizieren. Letzteres ermöglicht ein neues Anwendungsgebiet des züchterisch-orientierten Pflanzenschutzes, welches die natürlichen und genotypspezifischen Resistenzmechanismen im Kombination mit passenden immunstimulatorischen Biologicals nutzen kann, um die Gesundheit der Pflanze unter Stress zu erhalten.

## 9 Ausblick

Im weiteren Projektzeitraum und im Anschluss an dieses Projekt werden die gewonnenen Ergebnisse und Daten weiter ausgewertet und in Publikationen zeitnah veröffentlicht. Insbesondere die weiterführenden Analysen zu den Transkriptomdaten aus dem aktuellen Kombinationsexperiment werden derzeit fortgesetzt. Zudem sollen die Transkriptomdaten aus den beiden Stresskombinationsexperimenten aus BayKlimaFit 1 und diesem Projekt verglichen werden, um ein tiefes Verständnis der durch Trockenheit stark modulierten Krankheitsresistenz der Gerste zu ermöglichen. Die Erkenntnisse stellen eine Grundlage für die verbesserte züchterische Anpassung von Gerste bzw. Nutzpflanzen im Allgemeinen an zukünftige Herausforderungen durch den Klimawandel dar. Die geschaffene Methodik und Datengrundlage sind geeignet ein tieferes Verständnis der Regulation der komplexen Stressantwort der Gerste zu erlangen und zum Beispiel Transkriptionsfaktoren als entscheidende Schnittstellen in der Stressregulation zu identifizieren. Diese könnten dann gezielter über molekulare Züchtungswerkzeuge adressiert werden, um ihre Funktion zu verstehen und züchterisch nutzbar zu machen.

Darüber hinaus wird in der Anbauperiode 2024 das Potenzial der Chitosananwendung in einem Sortiment von 10 ausgewählten Gerstengenotypen mit unterschiedlich quantitativer Fusariumresistenz unter Feldbedingungen validiert. Die Nutzung von verlässlich regulierten Resistenzmarkergenen könnten die Entwicklung einer anwendungsorientierten integrierten Pflanzenschutzstrategie in Gerste unterstützen, indem sie die genotypabhängige basale oder durch Biologicals induzierte Resistenz der Gerste anzeigen. Dies legt einen Grundstein für einen umweltschonenden Pflanzenschutz durch vereinfachte Selektion und die Stimulation der pflanzeigenen Immunantwort und Krankheitsresistenz. Die genotypspezifische Reaktion auf Biologicals beinhaltet darüber hinaus ein hohes Potenzial für die züchterische Bearbeitung dieses Merkmals und zur allgemeinen Verbesserung und Stabilisierung der Krankheitsresistenz unter klimawandelbedingten ungünstigen Umweltbedingungen. Durch Biologicals induzierte Resistenz verliert häufig unter Freilandbedingungen ihre Effizienz, die sie in kontrollierten Umwelten zeigt. Um das Anwendungspotenzial von Chitosan zu validieren, ist zu untersuchen, ob das auch für die chitosaninduzierte Resistenz der Fall ist, welche Umweltfaktoren dabei ggf. entscheidend sind und ob der Gerstengenotyp dabei eine Rolle spielt.

## Literaturverzeichnis

- [1] Xie, W., Xiong, W., Pan, J., Ali, T., Cui, Q., Guan, D., Meng, J., Mueller, N. D., Lin, E., & Davis, S. J. (2018). Decreases in global beer supply due to extreme drought and heat. *Nature Plants*, 4(11), 964-973.
- [2] Delgado-Baquerizo, M., Guerra, C. A., Cano-Díaz, C., Egidi, E., Wang, J. T., Eisenhauer, N., Singh, B. K. & Maestre, F. T. (2020). The proportion of soil-borne pathogens increases with warming at the global scale. *Nature Climate Change*, 10(6), 550-554.
- [3] Linkmeyer, A., Götz, M., Hu, L., Asam, S., Rychlik, M., Hausladen, H., Hess, M. and Hückelhoven, R. (2013): Assessment and Introduction of Quantitative Resistance to Fusarium Head Blight in Elite Spring Barley. *Phytopathology*, 103, 1252-1259.
- [4] Hoheneder, F., Biehl, E. M., Hofer, K., Petermeier, J., Groth, J., Herz, M., Rychlik, M., Heß, M., & Hückelhoven, R. (2022). Host Genotype and Weather Effects on Fusarium Head Blight Severity and Mycotoxin Load in Spring Barley. *Toxins*, 14(2), 125.
- [5] Hückelhoven R. (2019). Krankheitsresistenz von klimaangepassten Gerstensorten. Abschlussbericht Teilprojekt 10. BayKlimaFit. Online verfügbar unter: [https://www.bayklimafit.de/fileadmin/abschlussveranstaltung/TP10\\_Abschlussbericht\\_BayKlimaFit\\_Hueckelhoven.pdf](https://www.bayklimafit.de/fileadmin/abschlussveranstaltung/TP10_Abschlussbericht_BayKlimaFit_Hueckelhoven.pdf). Zuletzt abgerufen am 25.03.2024.
- [6] Langfelder, P., & Horvath, S. (2008). WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics*, 9(1), 1-13.
- [7] Langfelder, P; Horvath, S (2012): Fast R Functions for Robust Correlations and Hierarchical Clustering. *Journal of Statistical Software* 46(11).
- [8] Hoheneder, F., Steidele, C. E., Messerer, M., Mayer, K., Köhler, N., Wurmser, C., Heß, M., Gigl, M., Dawid, C., Stam, R. & Hückelhoven, R. (2023). Barley shows reduced Fusarium head blight under drought and modular expression of differentially expressed genes under combined stress. *Journal of Experimental Botany*, 74(21), 6820-6835. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad348>.
- [9] Mascher, M., Wicker, T., Jenkins, J., Plott, C., Lux, T., Koh, C. S., Ens, J., Gundlach, H., Boston, L. B., Tulpová, Z., Holden, S., Hernández-Pinzón, I., Scholz, U., Mayer, K. F. X., Spannagl, M., Pozniak, C. J., Sharpe, A. G., Šimková, H., Moscou, M. J., Grimwood, J., Schmutz, J. & Stein, N. (2021). Long-read sequence assembly: a technical evaluation in barley. *The Plant Cell*, 33(6), 1888–1906. <https://doi.org/10.1093/plcell/koab077>.

- [10] Urban, M., King, R., Andongabo, A., Maheswari, U., Pedro, H., Kersey, P., & Hammond-Kosack, K. (2016). First draft genome sequence of a UK strain (UK99) of *Fusarium culmorum*. *Genome Announcements*, 4(5), 10-1128.
- [11] Robinson, M. D., McCarthy, D. J., & Smyth, G. K. (2010). edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*, 26(1), 139-140.
- [12] Howe, E A; Sinha, R; Schlauch, D; Quackenbush, J (2011): RNA-Seq analysis in MeV. *Bioinformatics* 27(22), 3209–3210. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr490.
- [13] Alexa, A; Rahnenfuehrer, J (2022): topGO. enrichment analysis for gene ontology. Version R package version 2.50.0.
- [14] Ewels, P. A., Peltzer, A., Fillinger, S., Patel, H., Alneberg, J., Wilm, A., Garcia, M. U., Di Tommaso, P. & Nahnsen, S. (2020). The nf-core framework for community-curated bioinformatics pipelines. *Nature Biotechnology*, 38(3), 276-278.
- [15] Schweiger, W., Boddu, J., Shin, S., Poppenberger, B., Berthiller, F., Lemmens, M., Muehlbauer, G., J. & Adam, G. (2010). Validation of a candidate deoxynivalenol-inactivating UDP-glucosyltransferase from barley by heterologous expression in yeast. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23(7), 977-986.
- [16] Bethke, G., Huang, Y., Hensel, G., Heinen, S., Liu, C., Wyant, S. R., Xin, L., Quin, B. M., McCormick S., Morrell, P. L., Dong, Y., Kumlehn, J., Salvi, S., Berthiller, F. & Muehlbauer, G. J. (2023). UDP-glucosyltransferase HvUGT13248 confers type II resistance to *Fusarium graminearum* in barley. *Plant Physiology*, 193(4), 2691-2710.
- [17] Coleman, A. D., Maroschek, J., Raasch, L., Takken, F. L., Ranf, S., & Hüchelhoven, R. (2021). The Arabidopsis leucine-rich repeat receptor-like kinase MIK2 is a crucial component of early immune responses to a fungal-derived Elicitor. *New Phytologist*, 229(6), 3453-3466.
- [18] Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup> ΔΔCT method. *Methods*, 25(4), 402-408.