

DISS. ETH NO. 29917

**EXPLOITING GENETIC VARIATION IN BARLEY TO ELUCIDATE FACTORS DETERMINING
STARCH GRANULE MORPHOLOGY IN THE CEREAL ENDOSPERM**

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

Mercedes Thieme

M. Sc. Friedrich-Schiller-Universität Jena

born on 26.07.1989

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Samuel C. Zeeman,

Prof. Dr. Wilhelm Gruissem,

Prof. Dr. Robbie Waugh,

Dr. Ilka Braumann

2024

SUMMARY

Plants polymerize simple sugars into starch that is stored as water-insoluble, semi-crystalline starch granules. It is present in the form of transitory starch located in the chloroplasts of leaves as a product of photosynthesis and as storage starch accumulated in the amyloplasts of seeds and tubers, including our staple crop plants. While transitory starch granules show similar morphologies across organisms, storage starch granules display a wide variety of morphologies, depending on the biological origin, cellular location, and environmental influences. This storage starch is central to human nutrition, as it is the most important source of carbohydrates in the human diet and for feeding our livestock. A major source of starch originates from cereal grains. These store starch in a specialized storage tissue, i.e. the endosperm, which is used to fuel seedling growth after germination. Despite having a similar chemical composition, starch granules differ markedly in shape, size, and distribution among cereal species.

Barley (*Hordeum vulgare* L.) is one of the most important cereal crops, ranking fourth in world production, and is mainly used for animal feed and as a raw material for beer production. The starch granules found in barley grains have a bimodal size distribution: larger A-granules (\varnothing 8–25 μm) have a lenticular shape, while smaller B-granules (\varnothing 1–8 μm) are near-spherical. The latter contributes 80–90% to the total starch granule number and only 10–15% to the total starch weight. A-granule count is typically below 10% and contributes due to its volume with 85–90% to the total starch amount. The two types of barley starch granules are characterized by different physicochemical properties, which influence industrial applications.

In this thesis, I sought to explore the genetic factors underlying the bimodal distribution of starch granules in barley. In the first part, I successfully established two high-throughput screening methods to monitor starch granule size distribution, which is applicable to various tissues and species. Those methods enabled me to analyze mutants of some of the known starch synthesis genes in the model barley, investigating their impact on granule morphology and starch properties, and their tissue specificity. And lastly, I investigated the genetic factors underlying the starch granule size distribution in an elite barley population.

ZUSAMMENFASSUNG

Pflanzen polymerisieren Zucker zu Stärke, die als wasserunlösliche, halbkristalline Stärkekörner gespeichert wird. Sie liegt in Form von transitorischer Stärke vor, die sich in den Chloroplasten der Blätter als Produkt der Photosynthese befindet, und als Speicherstärke, die in den Amyloplasten von Samen und Knollen gespeichert wird. Während die transitorische Stärke in allen Organismen eine ähnliche Morphologie aufweist, zeigt die Speicherstärke je nach biologischem Ursprung, zellulärer Lokalisation und Umwelteinflüssen eine große morphologische Vielfalt. Diese Speicherstärke ist von zentraler Bedeutung für die menschliche Ernährung, da sie die wichtigste Kohlenhydratquelle sowohl in der menschlichen Ernährung als auch in der Nutztierernährung darstellt. Eine wichtige Quelle für Stärke sind Getreidekörner und Knollen von Nutzpflanzen. Diese speichern die Stärke in einem speziellen Speichergewebe, dem Endosperm, aus dem nach der Keimung Kohlenhydrate für das Wachstum der Keimlinge mobilisiert wird. Trotz ähnlicher chemischer Zusammensetzung unterscheiden sich die Stärkekörner in Form, Größe und Verteilung zwischen den verschiedenen Kulturpflanzen.

Eine der wichtigsten Getreidearten ist die Gerste (*Hordeum vulgare* L.), die weltweit an vierter Stelle der Produktion steht und hauptsächlich als Futtermittel und als Rohstoff für die Bierherstellung verwendet wird. Die Stärkekörner in Gerstenkörnern weisen eine bimodale Größenverteilung auf: Die größeren A-Körner (\varnothing 8–25 μm) haben eine linsenförmige Form, während die kleineren B-Körner (\varnothing 1–8 μm) nahezu kugelförmig sind. Letztere tragen zu 80–90% zur Gesamtanzahl der Stärkekörner und nur zu 10–15% zum Gesamtgewicht der Stärke bei. Die Anzahl der A-Körner liegt typischerweise unter 10% und trägt aufgrund ihres Volumens mit 85–90% zur Gesamtstärkemenge bei. Die beiden Typen von Gerstenstärkekörnern zeichnen sich durch unterschiedliche physikalisch-chemische Eigenschaften aus, die sich auf die industriellen Anwendungen auswirken.

In dieser Arbeit habe ich die bimodale Stärke der Gerste als Modell verwendet, um Unterschiede in der Morphologie der Stärkekörner und die ihnen zugrunde liegenden genetischen Faktoren zu untersuchen. Im ersten Teil habe ich erfolgreich zwei Hochdurchsatz-Screening-Methoden zur Beschreibung der Größenverteilung von Stärkekörnern etabliert, die für verschiedene Gewebe und Arten geeignet sind. Diese Methoden ermöglichten es mir, die genetischen Faktoren zu untersuchen, die der Größenverteilung der Stärkekörner in einer Elitegerstenpopulation zugrunde liegen. Und schließlich beschrieb ich einige der bekannten Stärkesynthesene in der Modellgerste und ihre Gewebespezifität.