

Diss. ETH ex. B

Diss. ETH Nr. 12204

**GENETISCHE KARTIERUNG QUANTITATIVER
MERKMALE BEIM APFEL**



CatE

Abhandlung zur Erlangung des Titels

Doktorin der Naturwissenschaften

der

Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich

vorgelegt von

Nicole Seglias Hodel

Dipl. Natw. ETH Zürich
geboren am 15. Mai 1966
von Domat/Ems (GR) und Basel (BS)

Angenommen auf Antrag von:

Prof. Dr. M. Wolfe, Referent
Prof. Dr. K. Apel, Korreferent
Dr. C. Gessler, Korreferent

1997

GENETISCHE KARTIERUNG QUANTITATIVER MERKMALE BEIM APFEL

ZUSAMMENFASSUNG

In der hier vorgelegten Arbeit sollten genetische Marker für quantitative, agronomisch wichtige Eigenschaften von *Malus x domestica* (Borkh.) bestimmt und ihre Anwendbarkeit für markerunterstützte Züchtung aufgezeigt werden.

Die Züchtung neuer Apfelsorten ist infolge der langen Juvenilphase, der grossen Heterozygotie und vieler erst spät sichtbarer Eigenschaften ein langsamer Prozess. Wichtige Zuchtziele sind dauerhafte Resistenz gegen Mehltau, verursacht durch *Podosphaera leucotricha* (Ell. & Ev.) Salm., und Schorf, verursacht durch *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., sowie kompakter Baumwuchs.

Die Segregation der Eigenschaften Mehlauresistenz, Schorffresistenz und Pflanzenhöhe wurde in 424 Nachkommen der Kreuzung Iduna x A679-2 analysiert. A679-2 ist Träger des postulierten Mehlauresistenzgens P12 von *M. zumi* und der Schorffresistenz Vf von *M. floribunda* 821. Iduna ist anfällig für beide Krankheiten. Mit 189 Nachkommen wurden genetische Karten von 'Iduna' und A679-2 unter Verwendung von RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)-Marker und Mikrosatelliten hergestellt.

Mit den kontinuierlich segregierenden, nicht normalverteilten Eigenschaften Mehlauresistenz und Schorffresistenz wurden QTL (Quantitative Trait Loci)-Analysen mit dem nichtparametrischen Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Für die QTL-Analyse der Pflanzenhöhe wurde die 'interval mapping'-Methode verwendet. QTL sind Genorte mit nachgewiesenem Einfluss auf die genetisch bedingte Varianz der Merkmalsausprägung.

Die Herkunft der gefundenen Mehlauresistenz-QTL wurde im Stammbaum von A679-2 verfolgt. Ihre Wirkung wurde in den Kreuzungen SA15-4 x A679-2 (Vf; P12,Vf) und Florina x NovaEasygro (Vf;Vf) überprüft.

Die genetische Karte von A679-2 enthielt 142 RAPD-Marker und 9 Mikrosatelliten in 17 Kopplungsgruppen und erstreckte sich über 689,5 cM. Das entspricht etwa drei Viertel der geschätzten Apfelgenomgrösse. Die Karte von Iduna bestand aus 82 RAPD-Markern und 8 Mikrosatelliten in 19 Kopplungsgruppen und erstreckte sich über 548,2 cM. Insgesamt wurden mittels Mikrosatelliten sechs Homologien in Kopplungsgruppen von Iduna und A679-2 identifiziert.

Die Stärke des Mehltaubefalls in der Kreuzung Iduna x A679-2 reichte von 'keine sichtbaren Symptome' bis zu einer vollständigen Bedeckung der Blätter und Triebe. Die Resistenz von Individuen veränderte sich zwischen dem ersten und zweiten Jahr massiv. Zwischen dem zweiten und dritten Jahr war die Veränderung nicht substantiell.

In A679-2 wurden zwei Haupt-QTL gefunden, die eine additive Wirkung hatten. Einer stammte von *M. zumi* 3752 und wurde als QTL-P12 bezeichnet, der andere QTL geht auf *M. floribunda* 821 zurück. Er lag sehr nahe oder in derselben genetischen Region wie das Schorffresistenzgen Vf und wurde als P1f bezeichnet. In der Kreuzung SA15-4 x A679-2 konnte die Wirkung des QTL-P12, in der Kreuzung Florina x NovaEasygro die Wirkung des QTL-P1f auf die Mehlauresistenz bestätigt werden.

Für die Marker unterstützte Züchtung wäre deshalb die QTL-Kombination P12 und/oder P1f für Mehlauresistenz zu empfehlen.

Vier 'putative' QTL wurden gefunden, einer in A679-2 und drei in Iduna. Sämlinge mit den QTL-Pl2 oder QTL-Plf in Kombination mit einem 'putativen' QTL hatten eine erhöhte Resistenz.

Zwei QTL mit Einfluss auf die Schorfresistenz Vf wurden in A679-2 und drei QTL in Iduna gefunden. Diese QTL sind vermutlich Vf-modifizierende, die Resistenz verbessernde Gene. Je drei weitere QTL in jedem Elternteil wiesen auf Vf-unabhängige Resistenzgene hin.

Zwei Marker wurden mit der Pflanzenhöhe assoziiert, die 6,6% (C9.950) und 41,7% (AD3.450) der totalen Variabilität erklärten. AD3.450 war 8 cM vom Schorfresistenzgen Vf entfernt und könnte ein Marker für das rezessive Allel 'n' für Zwergwuchs sein. Im Gegensatz dazu waren in der Kreuzung Florina x NovaEasygro Träger der Marker für das Vf-Gen signifikant grösser als Sämlinge ohne die Marker; das rezessive Allel 'n' war also in mindestens einem Elternteil abwesend.

GENETIC MAPPING OF QUANTITATIVE CHARACTERS OF APPLE

SUMMARY

The aim of the work presented here was to find genetic markers for quantitative, agronomically important characters of *Malus x domestica* (Borkh.) and to evaluate their usefulness for marker assisted breeding.

Breeding of new apple varieties is a slow process due to the long juvenile phase, the high heterozygosity and the late expression of many characters. Important breeding aims are durable resistance against powdery mildew, caused by *Podosphaera leucotricha* (Ell. & Ev.) Salm., scab, caused by *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., and compact growth habit.

The segregation of the characters mildew resistance, scab resistance and plant height was analysed in 424 progenies of the cross Iduna x A679-2. A679-2 carries the postulated mildew resistance gene Pl2 from *M. zumi* and the scab resistance gene Vf from *M. floribunda* 821. Iduna is susceptible to both diseases. A genetic linkage map for Iduna and A679-2 was constructed with 189 progenies using RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)-markers and microsatellites.

Mildew resistance and scab resistance were not normally distributed among the progeny. Therefore, quantitative trait loci (QTL)-analysis was performed using the nonparametric Kruskal-Wallis test. For the QTL-analysis of the plant height the interval mapping method was used. QTL are loci with provable influence on the genetically caused variance of character expression.

The origin of the detected mildew resistance QTL was followed in the pedigree of A679-2. Their effects were tested in the crosses SA15-4 x A679-2 (Vf; Vf,Pl2) and Florina x NovaEasygro (Vf; Vf)

A linkage map of A679-2 was constructed consisting of 142 RAPD markers and 9 microsatellites arranged in 16 linkage groups. It covers 689.5 cM, which is about three-quarters of the estimated apple genome size. The map of Iduna consists of 82 RAPD markers and 8 microsatellites on 19 linkage groups and spans 548.2 cM.

With the microsatellites, homology between six linkage groups of Iduna and A679-2 was established.

Mildew severity on the progeny of the cross Iduna x A679-2 varied from 'no visible symptoms' to complete coverage of leaves and shoots. The resistance of individuals changed dramatically between the first and the second year, whereas changes between the second and third year were not substantial.

In A679-2 two main QTL with an additive effect were detected, one of which originated from *M. zumi* 3752 and was named QTL-Pl2. The other originated from *M. floribunda* 821. It was very close to or possibly in the same genomic region as the scab resistance gene (Vf) and was named QTL-Plf.

With the crosses with SA15-4 x A679-2 and Florina x NovaEasygro, the respective effects QTL-Pl2 and QTL-Plf on mildew resistance could be confirmed.

Thus, the combination of the QTL-Pl2 and/or QTL-Plf is recommended for marker assisted breeding.

One additional putative QTL for mildew resistance was detected in A679-2 and three in Iduna. Progeny carrying the QTL-Pl2 or QTL-Plf in combination with one of these putative QTL were more resistant.

Two and three QTL affecting the Vf resistance to scab were identified respectively in A679-2 and Iduna. They are thought to be Vf modifying genes, which are improving the resistance. An additional three markers in each parent suggest the presence of Vf-independent resistance genes.

Two markers associated with plant height were identified. C9.950 explained 6.6% and AD3.450 41.7% of the total variability. AD3.450 is located at a distance of 8 cM from the scab resistance gene Vf. It could be a marker for the recessive allele 'n' for dwarf habit. In contrast progeny carrying markers for the Vf-gene in the cross Florina x NovaEasygro were significantly taller than progeny without the marker. Hence, the recessive allele 'n' must have been absent in at least one of the parent.