



Doctoral Thesis

## **Transgenic and classically bred apple genotypes Multitrophic investigation of plant-insect-pathogen interactions**

**Author(s):**

Vogler, Ute Katharina

**Publication Date:**

2009

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005903797> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 18386

**Transgenic and classically bred apple genotypes: multitrophic  
investigation of plant-insect-pathogen interactions**

A dissertation submitted to  
ETH ZURICH

for the degree of  
Doctor of Sciences

presented by  
UTE KATHARINA VOGLER

Dipl. Ing. agr., Technische Universität München  
born 26 January 1980  
Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. S. Dorn, examiner  
Dr. A.S. Rott, co-examiner

2009

## 1 Summary

Biotechnological methods are used to transform plant genotypes with desired genes without limitation to species compatibility known from classical breeding. Such transgenic plants implicate possible unknown side effects, and prior to releasing transgenic plants into the environment, risk assessments have to evaluate in appropriate comparisons whether transgenic plants are as safe as classically bred plants. Possible unknown side effects of the four apple genotypes (*Malus x domestica*), the apple scab susceptible cultivar 'Gala', the apple scab susceptible transgenic genotype 'Gala-trans0', the apple scab resistant transgenic genotype 'Gala-transVf' and the apple scab resistant cultivar 'Florina', were assessed in a multitrophic system. Multitrophic investigations focused on interactions of these apple genotypes with the fungal pathogen *Venturia inaequalis* (Ascomycotina: Pleosporales) causing apple scab, the apple leafminer *Phyllonorycter blancardella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its parasitoid *Pholetesor circumscriptus* (Hymenoptera: Braconidae).

Plant-derived volatile compounds mediate long-range trophic interactions, and therefore, headspace volatiles of healthy, pathogen inoculated, leafminer infested, or simultaneously pathogen and leafminer infected plants of the four apple genotypes were collected and analysed by thermal desorption coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Quantitative differences in headspace volatile emissions between 'Gala-transVf' and the two cultivars 'Gala' and 'Florina' could be detected within healthy and leafminer infested plants, but these differences were in the range of variability of the two cultivars.

Plant-derived non-volatile contact chemicals mediate short-range trophic interactions, and therefore apple leaves of healthy, pathogen inoculated, leafminer infested, or concurrently pathogen and leafminer infected plants of the four apple genotypes were extracted and analysed by GC-MS to quantify leaf content of the triterpene squalene (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>). Parasitoids were exposed to leaf extracts or to solvent control and were observed to complement the results of

chemical analyses with information about parasitoids' behaviour. Squalene content in leafminer infested leaf extracts differed between the transgenic apple scab resistant genotype and the apple scab resistant cultivar. Corresponding differences were found in bioassays on extracts from leafminer infested leaves.

Performance of the leafminer *P. blancardella* and its parasitoid *P. circumscriptus* was tested on the four apple genotypes in the absence or presence of *V. inaequalis*. Egg-to-adult development time of *P. blancardella* was similar on the four apple genotypes, but fewer adult moths emerged from 'Florina' than from 'Gala' with or without pathogen inoculation. Egg-to-adult development time of *P. circumscriptus*, number of emerged adult wasps and parasitism success were not significantly affected by the apple genotype neither with nor without pathogen inoculation.

With this fine-tuned multitrophic apple system subtle differences between the two cultivars 'Gala' and 'Florina' could be detected, whereas the transgenic genotypes 'Gala-transV<sup>P</sup>' and 'Gala-trans0' were in the range of the variability of the two cultivars, indicating no adverse side effects on multitrophic interactions. In conclusion, the results of these multitrophic investigations reveal that the tested transgenic apple genotypes are as safe as the classically bred apple cultivars.

## 2 Zusammenfassung

Methoden der Biotechnologie werden angewendet, um Pflanzengenotypen gezielt mit bestimmten Genen zu transformieren, was im Gegensatz zur klassischen Pflanzenzüchtung ohne Einschränkungen der Spezieskompatibilität möglich ist. Transgene Pflanzen können unbekannte Nebeneffekte besitzen, und bevor diese Pflanzen in die Umwelt freigesetzt werden, müssen entsprechende Risikoanalysen durchgeführt werden. Bedingung für eine Freisetzung ist, dass in geeigneten Vergleichsversuchen mit transgenen und klassisch gezüchteten Pflanzen keine unerwünschten Effekte festgestellt werden. In einem multitrophischen System wurden vier Apfelgenotypen (*Malus x domestica*), die Apfelschorf anfällige Sorte ‚Gala‘, der Apfelschorf anfällige transgene Genotyp ‚Gala-trans0‘, der Apfelschorf resistente transgene Genotyp ‚Gala-transVf‘ und die Apfelschorf resistente Sorte ‚Florina‘ miteinander verglichen, um allfällige unbekannte Nebeneffekte feststellen zu können. Der Schwerpunkt der Untersuchungen lag auf dem multitrophischen Zusammenspiel jedes Apfelgenotyps mit dem pilzlichen Erreger des Apfelschorfes *Venturia inaequalis* (Ascomycotina: Pleosporales), der Apfelblattminiermotte *Phyllonorycter blancardella* (Lepidoptera: Gracillariidae) und ihrem Parasitoiden *Pholetesor circumscriptus* (Hymenoptera: Braconidae).

Weiträumige trophische Interaktionen werden mit Hilfe pflanzlicher Duftstoffe vermittelt. Daher wurden Duftstoffe von gesunden, Pathogen inokulierten, Blattminierer infizierten, sowie gleichzeitig mit Pathogen inokulierten und Blattminierer infizierten Pflanzen der vier Apfelgenotypen gesammelt und anschliessend mit thermischer Desorption verbunden mit Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) analysiert. Unterschiede in der Menge abgegebener Duftstoffe wurden bei gesunden und Blattminierer infizierten Pflanzen des Genotyps ‚Gala-transVf‘ und den beiden Kultursorten ‚Gala‘ und ‚Florina‘ gefunden, allerdings lagen die Unterschiede innerhalb der Variabilität der beiden genannten Sorten.

Trophische Interaktionen mit kurzer Reichweite werden mit Hilfe nicht flüchtiger Kontaktstoffe vermittelt, und daher wurden Apfelblätter von gesunden, Pathogen

inokulierten, Blattminierer infizierten oder gleichzeitig mit Pathogen inokulierten und Blattminierer infizierten Pflanzen extrahiert und anschließend mit GC-MS analysiert, um den Gehalt des verhaltenswirksamen Triterpens Squalen ( $C_{30}H_{50}$ ) festzustellen. Um die Ergebnisse der chemischen Analysen mit verhaltensrelevanten Informationen zu ergänzen, wurden Parasitoiden den Blattextrakten oder der Lösungsmittelkontrolle ausgesetzt und beobachtet. Unterschiede im Squalengehalt konnten in Blattminierer befallenen Blättern der beiden Apfelschorf resistenten Apfelgenotypen gefunden werden. Allerdings haben die Verhaltensbeobachtungen der Parasitoiden Unterschiede zwischen dem transgenen Apfelschorf resistenten Genotyp und der Apfelschorf resistenten Kultursorte ergeben, jedoch nicht zwischen dem Apfelschorf resistenten transgenen Genotyp und seiner isogenen Apfelschorf anfälligen Kultursorte.

Das Entwicklungsverhalten des Blattminierers *P. blancardella* und seines Parasitoiden *P. circumscriptus* wurde mit und ohne Apfelschorfinokulation auf den vier Apfelgenotypen beobachtet. Die Entwicklungszeit vom Ei bis zum Adulten bei *P. blancardella* war auf den vier Apfelgenotypen ähnlich. Allerdings schlüpfen bei ‚Gala‘ mehr Adulte als bei ‚Florina‘, und zwar unabhängig davon, ob die Pflanzen mit dem Pathogen inokuliert waren oder nicht. Die Entwicklungszeit vom Ei bis zum Adulten beim Parasitoiden *P. circumscriptus*, die Anzahl der geschlüpften Adulten und der Parasitierungserfolg wurden nicht deutlich durch den Apfelgenotypen oder durch die Pathogeninokulation beeinflusst.

Mit diesem feinabgestimmten multitrophischen Apfelsystem konnten Unterschiede zwischen den beiden Sorten ‚Gala‘ und ‚Florina‘ bestimmt werden, wohingegen mögliche Nebeneffekte der transgenen Genotypen ‚Gala-transVf‘ und ‚Gala-trans0‘ innerhalb der Variabilität der beiden Kultursorten lagen. Zusammenfassend lässt sich damit zu den Ergebnissen dieser multitrophischen Untersuchungen festhalten, dass die getesteten transgenen Apfelgenotypen ähnlich unbedenklich sind wie entsprechende klassisch gezüchtete Sorten.