

The genetic basis of resistance to fire blight in apples (*Malus* sp.)

Doctoral Thesis

Author(s):

Khan, Muhammad Awais

Publication date:

2007

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005486166>

Rights / license:

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

DISS. ETH NO. 17451

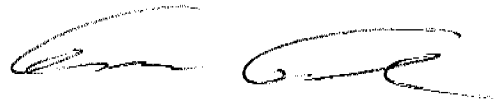
**THE GENETIC BASIS OF RESISTANCE TO FIRE BLIGHT IN
APPLES (*MALUS SP.*)**

A dissertation submitted to the
Swiss Federal Institute of Technology, Zürich
for the degree of
Doctor of Sciences

Presented by
Muhammad Awais Khan
M.Sc. agr. Georg-August-Univ. Göttingen

Born July 9th, 1977
Citizen of Pakistan (Azad Jammu Kashmir)

Accepted on the recommendation of
Prof. Cesare Gessler, examiner
Prof. Peter Stamp, co-examiner
Dr. Andrea Patocchi, co-examiner



2007

Summary

Fire blight caused by *Erwinia amylovora* is one of the most damaging bacterial diseases of apples. Its damage is growing continuously, since no existing control measure has proven sufficiently effective. The situation becomes more alarming because of the monopoly of a few cultivars in apple growing regions throughout the world; most of them fire blight susceptible. However, quantitative resistance has been reported against fire blight in both wild and cultivated apples, which provides another option for its control.

The aim of this research was to study the genetic basis of fire blight resistance in *Malus* through quantitative trait loci (QTLs) analysis. We used 'Fiesta' × 'Discovery' and 'Florina' × 'Nova Easygro' progeny plants to identify QTLs associated with fire blight resistance and evaluated the suitability of the identified QTLs for marker-assisted selection (MAS). A saturated genetic map based on RAPD, AFLP and SSR markers was already available for 'Fiesta' and 'Discovery'. Two raw genetic maps for 'Florina' and 'Nova Easygro' were constructed using published SSRs. Fire blight resistance/susceptibility of progeny plants was evaluated in quarantine facility at Agroscope Changins-Wädenswil by injecting the shoots with *E. amylovora* strains Ea 610 and CFBP 1430. QTL mapping identified one QTL (FBF7) on linkage group (LG) 7 of cultivar 'Fiesta' (F7), which explained approximately 38 % of the phenotypic variation in F × D progeny plants. The RAPD markers flanking FBF7 QTL were transformed to sequence characterized amplified regions (SCAR) markers, and the stability of this QTL was confirmed in a different genetic background ('Milwa' × '1217'). FBF7 QTL was traced back in the pedigree of 'Fiesta' to 'Cox's Orange Pippin'. Cultivars carrying this QTL were significantly ($p = 0.044$) less susceptible to fire blight. The consistent explained phenotypic variation (30-50 %), stability across different genetic backgrounds and development of reproducible markers bracketing FBF7 QTL, makes this QTL suitable to use in MAS.

A fire blight QTL on 'Florina' LG 10 and four putative QTL regions significantly ($p < 0.05$) associated to fire blight resistance were identified on each 'Florina' and 'Nova Easygro'. The fire blight QTL detected on LG 10 of 'Florina' had medium effect (16 %). Genotyping the plants of the pedigree of 'Florina' with SSR markers flanking the QTL showed that the SSR alleles in coupling with this QTL were inherited from 'Jonathan'. The progeny plants of FLO × NEG amplifying the SSR alleles in coupling with this QTL had significantly ($p = 0.0002$) less mean lesion length (%) compared to progeny plants not amplifying the alleles. No

QTL could be detected in 'Nova Easygro' even if it is highly resistant. This could be due to intervals between the markers greater than 20 cM and SSRs missing on telomeric regions of linkage groups. Another reason could be the presence of one or more QTLs with alleles of similar effect in 'Nova Easygro'. Adding markers on 'Florina' and 'Nova Easygro' maps, and making a cross between a progeny of FLO × NEG with a susceptible cultivar could allow identification of additional fire blight resistance QTLs and better demonstrate the effect of the identified QTL. Confirming the stable effect of the putative QTL regions and 'Florina' LG 10 QTL in different genetic backgrounds will reveal the suitability and potential of these QTLs for MAS.

Zusammenfassung

Feuerbrand verursacht durch *Erwinia amylovora* ist eine der zerstörerischsten bakteriellen Krankheiten im Apfelanbau. Die Schäden, die durch Feuerbrand verursacht werden steigen kontinuierlich an, da noch keine existierende Methode zur Kontrolle von *Erwinia amylovora* eine genügende Wirkung gezeigt hat. Die Situation hat sich verschärft, da in den wichtigsten Anbaugebieten der Welt nur noch wenige Apfelsorten kultiviert werden. Die meisten dieser Sorten sind Feuerbrand anfällig. Sowohl in wilden wie auch in einigen kultivierten Apfelsorten wurde quantitative Resistenz gegen Feuerbrand festgestellt, die neben herkömmlichen Methoden eine weitere Kontrollmöglichkeit darstellt.

Das Ziel dieser Studie war es, die genetische Grundlage der Feuerbrandresistenz in *Malus* anhand von Quantitative Trait Loci (QTL) Analysen zu erforschen. Wir verwendeten Nachkommen der Apfelsorten 'Fiesta' × 'Discovery' und 'Florina' × 'Nova Easygro', um QTL's zu identifizieren, die mit Feuerbrandresistenz assoziiert sind. Die identifizierten QTL's wurden evaluiert, ob sie sich für Marker unterstützte Selektion (MAS) eignen könnten. Eine genetische Karte basierend auf RAPD, AFLP and SSR Marker war für 'Fiesta' × 'Discovery' bereits vorhanden. Publierte SSR Daten wurden verwendet, um zwei grobe genetische Karten für 'Florina' and 'Nova Easygro' zu konstruieren. Die Resistenz oder Anfälligkeit von Nachkommenspflanzen wurde in den Quarantänegewächshäusern der Agroscope in Changins-Wädenswil durch Injektion des Sprosses mit *E. amylovora* strain Ea 610 und CFBP 1430 evaluiert. Anhand von QTL Analysen wurde ein QTL (FBF7) auf Linkage Group (LG) 7 von 'Fiesta' (F7) identifiziert, welcher ungefähr 38 % der phenotypischen Variation in den Nachkommen von F × D erklärt. Die RAPD Marker, die den QTL FBF7 flankieren wurden zu SCAR Markern transformiert und die Stabilität dieses QTL wurde in einem unterschiedlichen genetischen Hintergrund ('Milwa' × '1217') bestätigt. QTL FBF7 wurde im Stammbaum von 'Fiesta' bis 'Cox's Orange Pippin' zurückverfolgt. Sorten, die diesen QTL enthalten waren signifikant ($p = 0.044$) weniger anfällig auf Feuerbrand. Die grosse erklärte phenotypische Variation (30-50 %), die Stabilität in verschiedenen genetischen Hintergründen und die Verfügbarkeit von Markern auf beiden Seiten des QTL FBF7, machten diesen QTL zu einem guten Kandidaten für MAS.

Ein QTL auf 'Florina' LG 10 und vier mögliche QTL Regionen, die signifikant ($p < 0.05$) mit der Resistenz gegen Feuerbrand assoziiert sind, wurden in Nachkommenspflanzen von 'Florina' ×

‘Nova Easygro’ (FLO × NEG) identifiziert. Der Feuerbrand QTL, der auf LG 10 von ‘Florina’ gefunden wurde, erklärte 16% der phenotypischen Variation. Eine Genotypisierung der Pflanzen des Stammbaums von ‘Florina’ mit SSR Markern, die den QTL flankieren zeigten, dass die SSR Allele in Verbindung mit diesem QTL von ‘Jonathan’ stammen. Die Nachkommenspflanzen von FLO × NEG, welche die SSR Allele in Verbindung mit diesem QTL amplifizierten hatten eine signifikant ($p = 0.0002$) kürzere durchschnittliche Wundenlänge (%) verglichen mit den Nachkommenspflanzen, die die Allele nicht amplifizierten. In ‘Nova Easygro’ konnte kein QTL entdeckt werden, obwohl sie sehr resistent ist. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Intervalle zwischen den Markern grösser als 20 cM sind, und dass SSRs auf den Extremitäten der Linkage Groups fehlen. Eine andere mögliche Erklärung könnte sein, dass die Allele eines oder mehrerer QTLs einen ähnlichen Effekt in Nova Easygro’ haben.

Durch das Hinzufügen von Markern zur Karte von ‘Florina’ and ‘Nova Easygro’, und durch eine Kreuzung von einem Nachkommen von FLO × NEG und einer anfälligen Sorte könnten weitere Feuerbrandresistenz QTLs gefunden werden. Dies würde auch den Effekt des identifizierten QTLs besser demonstrieren. Die Bestätigung der Stabilität der möglichen QTL Regionen und des ‘Florina’ LG 10 QTL in verschiedenen genetischen Hintergründen werden letztendlich zeigen, ob sich diese QTLs für MAS eignen.