ETH zürich

ETH Library

Angular Leaf Spot and Ascochyta Disease Resistance in Common Bean - Characterization and Application for Breeding

Doctoral Thesis

Author(s):
Nay, Michelle Maria

Publication date:
2019

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-b-000374600

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. 25973

ANGULAR LEAF SPOT AND ASCOCHYTA DISEASE RESISTANCE IN COMMON BEAN

Characterization and Application for Breeding

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZÜRICH
(Dr. sc. ETH Zürich)

presented by

MICHELLE MARIA NAY
MSc Biology (Distinction), ETH ZÜRICH, SWITZERLAND

born on 18.09.1990

citizen of
Trun GR, Switzerland

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Bruno Studer, examiner
Dr. Bodo Raatz, co-examiner
Dr. Marcial A. Pastor-Corrales, co-examiner
Prof. Dr. Bruce A. McDonald, co-examiner

2019

Summary

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the most important grain legume for human consumption and an important food security crop. Its affordable and nutrient-dense grains provide protein and micronutrients such as iron and zinc for millions of people in Latin America and Eastern Africa, where consumption can reach up to 66 kg annually [1]. In these regions, common beans are often cultivated by smallholder farmers as a subsistence crop under sub-optimal conditions. Consequently, on farm yields throughout the tropics are only a fraction (around 17 to 23%) of the yield that has been achieved under experimental conditions [2]. Globally, one of the most limiting factors to crop productivity are plant diseases, which account for the loss of 20 to 30% of global crop production, with highest losses occurring in already food insecure regions in the tropics [3] where common beans often are staple foods.

The common bean crop is heavily affected by plant diseases, with angular leaf spot (ALS), caused by *Pseudocercospora griseola* being one of the most devastating fungal diseases, responsible for yield losses of up to 80% [4]. Another fungal disease, Ascochyta caused by *Boeremia diversispora*, has been locally important in the tropical highlands but is emerging in many new locations throughout the tropics and temperate zones. Currently available common bean cultivars are often ineffective in resisting these two diseases and the only possibility for farmers to combat them is the application of pesticides. However, pesticides are expensive and rarely available for smallholder farmers. A more sustainable and feasible solution for disease control is offered by resistance breeding, which is facilitated by a detailed knowledge of the genetic control of inherent disease resistance.

This thesis presents a meticulous investigation into the genetic control of disease resistance to the fungal common bean diseases ALS and Ascochyta. Breeding for the two diseases has been ongoing for many years [2, 5], but has been challenged by the high diversity of the causal agent in the case of ALS, and the lack of resistance in the common bean gene pool in the case of Ascochyta. The goal of this research is to identify the genetic determinants of resistance against different pathotypes of *P. griseola* and to verify Ascochyta resistance transferred from the sister species *Phaseolus dumosos* to common bean. In addition, we aimed to establish tools for the implementation of these findings within molecular plant breeding programs.

In **chapter 1**, the importance of common bean as a food crop, the effect of plant pathogens on food security and the detailed mechanisms of how plant disease resistance is functioning are described. **Chapter 2** reviews previous investigations of the ALS disease in common bean. Since the first ALS studies were conducted, genomic tools have evolved substantially allowing new insights. Through the availability of a reference genome sequence in common bean, genetic marker positions can be compared and candidate genes within marker intervals can be identified. This chapter updates previous studies and provides the base for future ALS studies.

Chapter 3 describes the pathotype-specific ALS response of common bean. A diversity panel, containing the best available resistant common bean varieties, was assembled and tested against a diverse collection of ALS pathotypes from two continents. In Colombia, the panel was tested at two field locations and in the greenhouse with four pathogen isolates. To compare the resistance effective against pathogen populations between Africa and South America, the same panel was tested in Uganda in a field and in a greenhouse trial. Genome-wide association studies (GWAS) allowed the identification of two resistance loci effective against specific pathotypes: The resistance locus on chromosome 8 was effective in all trials in Uganda and Colombia, while the resistance locus on chromosome 4 was effective against one particular pathogen strain in Colombia. The locus on chromosome 8 was further dissected by clustering haplotypes according to their genotypic information and analyzing the haplotype-specific effect on ALS resistance. Of the eleven haplotypes at the locus, one haplotype conferred broad-spectrum resistance and six further haplotypes conferred strain-specific resistance. Molecular markers co-segregating with resistance loci or haplotypes will facilitate breeding for pathotype-specific ALS resistance in Colombia and Uganda.

Chapter 4 describes an applied breeding project, where we aimed at pyramiding five ALS resistance loci into a common bean line exhibiting good agronomic characteristics. Four resistant common bean lines and two elite bean lines were crossed in a sophisticated scheme and subjected to frequent genotypic and phenotypic selections. In an advanced generation, we have found seven genotypes that were homozygous for all five resistance loci and 84 genotypes that contained all five resistance loci, but at least one of them in a heterozygous state. In future experiments, their progenies will be tested for ALS resistance against a broad variety of pathotypes and selected for good grain- and agronomic characteristics. Common bean lines combining multiple resistance loci are expected to show superior resistance and may offer durable disease resistance.

Chapter 5 describes an investigation into the Ascochyta resistance of interspecific lines available at CIAT. These putative Ascochyta-resistant interspecific lines were crossed to elite common bean breeding lines and their progenies tested for Ascochyta resistance in greenhouse and field trials. While the tests in the greenhouse showed good segregation for resistance, the partially inbred lines did not show the expected resistance under field conditions. In spite of this, some lines with repeated low disease scores were found in field evaluations, which will be of use for future breeding activities.

In **chapter 6**, the future of common bean as a food security crop is discussed and an outlook on the importance of common bean and plant diseases is given. Furthermore, the approaches taken in this thesis are critically reviewed, possible future investigations are suggested and the implications of our findings for common bean breeding are discussed.

Diseases will continue to be an important constraint of common bean production in the tropics, given the favorable conditions for tropical pathogens in the future. Global warming will increase their range, globalization will facilitate their spread and the increasing prevalence of monocultures will increase their population sizes. To face the projected increased threat by bean pathogens, it is crucial for common bean breeders to have an overview of the available sources of resistance and their effectiveness in different geographic locations as presented for ALS in this thesis. Additionally, within the frame of this thesis, we worked towards the establishment of ALS and Ascochyta resistant germplasm with acceptable grain- and agronomic characteristics that will be introduced to the breeding pipeline to facilitate the transfer of resistance to elite breeding varieties.

In conclusion, this thesis contributes valuable tools and germplasm to the common bean breeding community to facilitate incorporation of disease resistance in their breeding programs. The resulting disease resistant cultivars will reduce the yield gap on smallholder as well as industrial farmers' fields and therefore contribute to local and global food security.

1. Broughton, W. J., Hernández, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.); model food legumes. *Plant and Soil*, *252*(1), 55–128.
2. Beebe, S. E. (2012). Common bean breeding in the tropics. In J. Janick (Ed.), *Plant Breeding Reviews volume 36* (pp. 357–426). Hoboken NJ, USA: Wiley-Blackwell.
3. Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology and Evolution*.
4. Schwartz, H. F., Correa, F., Pineda, P., Otoya, M. M., & Katherman, M. J. (1981). Dry bean yield losses caused by Ascochyta, angular, and white leaf spots in Colombia. *Plant Disease*, *65*(6), 494–496.
5. Beebe, S. E., & Pastor-Corrales, M. A. (1991). Breeding for disease resistance. In A. van Schoonhoven & O. Voysest (Eds.), *Common Beans: Research for Crop Improvement (pp.561-617)*. Wallingford, UK: Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI).

Zusammenfassung

Die Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris* L.), nachfolgend Bohne genannt, ist die wichtigste Hülsenfrucht für den menschlichen Verzehr und leistet einen wichtigen Beitrag zur Ernährungssicherheit. Die kostengünstigen und nährstoffreichen Bohnen sind ein wichtiger Lieferant von Protein und Mikronährstoffen wie Eisen und Zink für Millionen von Menschen in Lateinamerika und Ostafrika. In diesen Regionen kann der Pro-Kopf-Verbrauch bis zu 66 kg pro Jahr betragen [1]. Bohnen werden von Kleinbauern oft als Subsistenzkultur unter suboptimalen Bedingungen angebaut. Deshalb wird im Feld nur ein Bruchteil der Erträge erreicht (etwa 17 bis 23%), die unter experimentellen Bedingungen erzielt werden [2]. Einer der grössten ertragslimitierenden Faktoren sind Pflanzenkrankheiten, welche etwa 20 bis 30 % der weltweiten Produktionsverluste ausmachen [3]. Deutlich höher sind die Verluste in Regionen, in welchen die Ernährungssicherheit kritisch ist [3] und in welchen Bohnen oftmals ein Grundnahrungsmittel sind.

Eine der verheerendsten Pilzkrankheiten in Bohnen, welche zu Ertragsausfällen von bis zu 80% führen kann, ist Angular Leaf Spot (ALS), verursacht durch *Pseudocercospora griseola* [4]. Eine weitere Pilzerkrankung, Ascochyta verursacht durch *Boeremia diversispora*, war ursprünglich im tropischen Hochland verbreitet. Neuerdings tritt Ascochyta aber an vielen neuen Orten in den Tropen und gemäßigten Zonen auf. Die derzeit verfügbaren Bohnensorten sind anfällig gegen diese beiden Krankheiten, was zu erheblichen Ernteausfällen führen kann. Die einzige Möglichkeit für Landwirte, die Bohnenpathogene zu bekämpfen, ist die Anwendung von Pestiziden. Pestizide sind jedoch teuer und für Kleinbauern selten verfügbar. Eine nachhaltigere und praktikablere Lösung zur Krankheitsbekämpfung bietet die Resistenzzüchtung, die durch detaillierte Kenntnisse der genetischen Determinanten der inhärenten Krankheitsresistenz ermöglicht wird.

Diese Arbeit stellt eine umfangreiche Untersuchung der genetischen Kontrolle der Krankheitsresistenz gegen die Bohnenpilzkrankheiten ALS und Ascochyta dar. Die Resistenzzüchtung gegen die beiden Krankheiten läuft seit vielen Jahren [2, 5], wurde aber durch die hohe Pathogendiversität bei ALS und dem Mangel an Resistenzen im Bohnengenpool bei Ascochyta erschwert. Das Ziel dieser Arbeit ist es, die genetischen Determinanten der Resistenz gegen verschiedene Pathotypen von *P. griseola* zu identifizieren und die Ascochyta-Resistenz zu überprüfen, die von der Schwesterart *Phaseolus dumososos* auf die Bohne übertragen wurde. Ein weiteres Ziel der Arbeit ist es, Instrumente für die Umsetzung dieser Erkenntnisse in molekularen Pflanzenzüchtungsprogrammen zu etablieren.

In **Kapitel 1** werden die Bedeutung der Bohne als Nahrungspflanze, der Einfluss von Pflanzenpathogenen auf die Ernährungssicherheit und die detaillierten Mechanismen der die Resistenz gegen Pflanzenkrankheiten beschrieben.

Kapitel 2 gibt einen Überblick über frühere Untersuchungen der ALS-Krankheit in Bohnen. Seit den ersten ALS-Studien haben sich die genomischen Technologien erheblich weiterentwickelt und neue Erkenntnisse ermöglicht. Durch die Verfügbarkeit einer Referenzgenomsequenz der Bohne können zum Beispiel Markerpositionen verglichen und Kandidatengene innerhalb von Markerintervallen identifiziert werden. Dieses Kapitel aktualisiert frühere Studien und kann deshalb als Grundlage für zukünftige ALS-Studien dienen.

Kapitel 3 beschreibt die pathotypspezifische ALS-Reaktion der Bohne. Ein Diversitätspanel bestehend aus den besten resistenten Bohnen, die verfügbar waren, wurde zusammengestellt und gegen eine Vielzahl von Pathotypen aus zwei Kontinenten getestet. In Kolumbien wurde das Panel an zwei Feldstandorten und im Gewächshaus mit vier Pathotypen getestet. Um die Resistenz gegen Pathogenpopulationen auf einem weiteren Kontinent zu vergleichen, wurde das gleiche Panel in Uganda in einem Feld- und einem Gewächshausversuch getestet. Genomweite Assoziations-studien (GWAS) ermöglichten die Identifizierung von zwei Resistenzloki, die gegen bestimmte Pathotypen wirksam sind: Der Resistenzlokus auf Chromosom 8 war in allen Experimenten wirksam, während der Resistenzlokus auf Chromosom 4 gegen einen bestimmten Pathotyp wirksam war. Der Lokus auf Chromosom 8 wurde weiter seziert, indem Haplotypen entsprechend ihrer genotypischen Informationen zusammengefasst wurden und der haplotypspezifische Effekt auf die ALS-Resistenz analysiert wurde. Von den elf Haplotypen am Lokus verlieh ein Haplotyp Breitspektrum-Resistenz und sechs weitere Haplotypen eine pathotyp-spezifische Resistenz. Die gefundenen molekularen Marker, die mit Resistenzloki oder Haplotypen ko-segregieren, werden die Züchtung für pathotypspezifische ALS-Resistenzen in Kolumbien und Uganda erleichtern.

Kapitel 4 beschreibt ein angewandtes Züchtungsprojekt, bei dem versucht wurde fünf ALS-Resistenzloki in einer Bohnenlinie zu vereinen, die gute agronomische Eigenschaften und einen gewünschten Samentyp aufweist. Vier resistente Bohnenlinien und zwei Elite-Bohnenlinien wurden in einem ausgeklügelten Schema gekreuzt und häufigen genotypischen und phänotypischen Selektionen unterzogen. In einer fortgeschrittenen Generation haben wir sieben Genotypen gefunden, die für alle fünf Resistenzorte homozygot waren, und 84 Genotypen, die alle fünf Resistenloki enthielten, aber mindestens einer von ihnen in einem heterozygoten Zustand. In zukünftigen Experimenten werden ihre Nachkommen auf ALS-Resistenz gegen eine Vielzahl von Pathotypen getestet und Individuen selektiert die gute agronomische Eigenschaften aufweisen. Es wird erwartet, dass Bohnenlinien, die mehrere Resistenzloki kombinieren, eine überlegene und dauerhafte Resistenz gegen Krankheiten bieten können.

In **Kapitel 5** wurde die Ascochyta-Resistenz von den vermeintlich Ascochyta-resistenten, interspezifischen Linien untersucht, die am CIAT verfügbar waren. Die inter-spezifischen Linien wurden mit Elite-Bohnenzuchtlinien gekreuzt und ihre Nachkommen in Gewächshaus- und Feldversuchen auf Ascochyta-Resistenz getestet. Während die durch Kreuzung und anschliessende Inzucht entstandenen Linien im Gewächshaus eine gute Segregation der Resistenz zeigten, konnten wir die erwartete Resistenz unter Feld-bedingungen nicht nachweisen. Jedoch wurden einige Linien mit wiederholt niedrigen Ascochytabefall gefunden, welche für zukünftige Züchtungsaktivitäten von Nutzen sein werden.

In **Kapitel 6** werden die in dieser Arbeit verwendeten Ansätze kritisch hinterfragt, mögliche zukünftige Untersuchungen vorgeschlagen und die Auswirkungen unserer Erkenntnisse auf die Bohnenzüchtung diskutiert. Abschliessend wird kurz die Zukunft der Bohne als Nahrungsmittel diskutiert und ein Ausblick auf die Bedeutung von Bohnen und Pflanzenkrankheiten gegeben.

Bohnenkrankheiten werden angesichts der günstigen Bedingungen für tropische Pflanzenpathogene in Zukunft weiterhin eine wichtige Einschränkung der Bohnenproduktion in den Tropen sein. Die globale Erwärmung wird das Habitat von tropischen Pflanzenpathogenen vergrössern, die Globalisierung ihre Verbreitung fördern und die zunehmende Prävalenz von Monokulturen ihre Populationszahlen erhöhen. Um der prognostizierten erhöhten Bedrohung durch Pflanzenpathogene zu begegnen, ist es für die Bohnenzüchter von entscheidender Bedeutung, einen Überblick über die verfügbaren Resistenzquellen und deren Wirksamkeit an verschiedenen geografischen Standorten zu haben, wie sie für ALS in dieser Arbeit vorgestellt werden. Im Rahmen dieser Arbeit haben wir zudem an der Etablierung von ALS und Ascochyta resistenten Bohnenlinien mit akzeptablen agronomischen Charakteristiken gearbeitet, welche die Übertragung von Krankheitsresistenzen auf Elite-Zuchtsorten erleichtern.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass diese Arbeit wertvolle Werkzeuge und Zuchtmaterial für die Bohnenzuchtgemeinschaft beiträgt, um die Aufnahme von Krankheitsresistenzen in ihr Zuchtprogramm zu erleichtern. Die daraus resultierenden krankheitsresistenten Sorten werden die Ertragslücke auf den Feldern von Klein- und Grossbauern verringern und somit zur lokalen und globalen Ernährungssicherheit beitragen.

1. Broughton, W. J., Hernández, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.); model food legumes. *Plant and Soil*, *252*(1), 55–128.
2. Beebe, S. E. (2012). Common bean breeding in the tropics. In J. Janick (Ed.), *Plant Breeding Reviews volume 36* (pp. 357–426). Hoboken NJ, USA: Wiley-Blackwell.
3. Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology and Evolution*.
4. Schwartz, H. F., Correa, F., Pineda, P., Otoya, M. M., & Katherman, M. J. (1981). Dry bean yield losses caused by Ascochyta, angular, and white leaf spots in Colombia. *Plant Disease*, *65*(6), 494–496.
5. Beebe, S. E., & Pastor-Corrales, M. A. (1991). Breeding for disease resistance. In A. van Schoonhoven & O. Voysest (Eds.), *Common Beans: Research for Crop Improvement (pp.561-617).* Wallingford, UK: Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI).