

Sélection de variétés de fruits tolérantes au feu bactérien

Markus KELLERHALS, Isabelle BAUMGARTNER, Lucie LEUMANN, Luzia LUSSI, Andrea PATOCCHI, Pierre-Marie LE ROUX, Simon EGGER, Danilo CHRISTEN, Reto LEUMANN, Agroscope Changins-Wädenswil ACW
Markus KOBELT, Lubera AG, Buchs SG
Michael WEBER, VariCom GmbH, Wädenswil
Johannes FAHRENTTRAPP, Giovanni BROGGINI, Cesare GESSLER, EPFZ, Institut de biologie intégrative
Renseignements: Markus Kellerhals, e-mail: markus.kellerhals@acw.admin.ch, tél. +41 44 783 62 42, www.agroscope.ch



Verger pilote du projet ZUEFOS, où sont testés le comportement agronomique et les qualités commerciales des variétés et sélections tolérantes au feu bactérien.

Introduction

Le feu bactérien, causé par la bactérie *Erwinia amylovora*, est une des maladies les plus destructrices en arboriculture. Les variétés commerciales actuelles y sont toutes sensibles. Cependant, il existe des sources de résistance et de tolérance chez le pommier et le poirier.

L'incidence sévère du feu bactérien en Suisse orientale en 2007 et des interpellations parlementaires ont décidé l'Office fédéral de l'agriculture à financer différents travaux de recherche en arboriculture, dont le projet ZUEFOS, un acronyme pour 'Sélection de variétés de fruits tolérantes au feu bactérien'. Celui-ci s'est déroulé de 2008 à 2011 avec pour objectif de promouvoir le

développement et l'utilisation pratique de variétés tolérantes au feu bactérien. La sélection de variétés peu sensibles fournissant des fruits de bonne qualité et une bonne production est une façon durable de lutter contre la maladie.

ZUEFOS est un exemple de projet ciblé et de collaboration entre plusieurs partenaires: ACW, EPF Zurich, Lubera, Fruture et VariCom, faisant le lien entre la recherche et la pratique. En Suisse et à l'étranger, le projet était en lien étroit avec d'autres travaux liés au contrôle du feu bactérien. Il s'est déroulé dans le cadre du programme de recherche 'ProfiCrops', plus précisément dans le projet intégré 'feu bactérien'.

L'utilisation de géniteurs (plantes ornementales ou sauvages, variétés) peu sensibles au feu bactérien constitue la base de la sélection de nouvelles variétés tolérantes à la maladie. Au départ du projet, différentes sources de résistance, identifiées par des groupes de recherche internationaux, ont été retenues. Elles peuvent être classées en deux catégories:

- Les variétés tolérantes au feu bactérien, comme 'Rewena', 'Resi', 'Enterprise', 'Florina', 'Free Redstar', etc.
- Les pommiers sauvages, comme '*Malus x robusta* 5 (MR5)' ou 'Evereste'.

Le défi consistait à trouver la méthode la plus efficace, en l'occurrence la plus rapide et la meilleur marché, pour intégrer ces résistances dans le programme d'amélioration et créer des variétés de pommes commerciales de bonne qualité gustative.

Matériel et méthodes

Le projet comprenait quatre modules fortement reliés entre eux:

- Module 1: amélioration.
- Module 2: marqueurs et sélection assistée par marqueurs.
- Module 3: accélération du cycle des générations.
- Module 4: variétés.

Croisements et sélection

Le module 1 du projet était consacré à la sélection classique phénotypique (= basée sur l'observation des caractères visibles). L'aspect résistance aux maladies est déjà intégré dans le programme de sélection d'ACW depuis 1984. Dans le projet ZUEFOS, ACW et l'entreprise privée 'Lubera' ont travaillé en synergie pour produire des croisements privés et d'autres en commun avec des parents présentant des niveaux de tolérance connus envers le pathogène.

Résumé La sélection de variétés de pommes et de poires de haute qualité tolérantes au feu bactérien a fait des progrès considérables. Agroscope Changins-Wädenswil ACW, l'EPF de Zurich, Lubera et Fruture et VariCom collaborent au projet ZUEFOS (Sélection de variétés de fruits tolérantes au feu bactérien). Chez ACW, 160 génotypes ont été testés en serre pour la sensibilité de leurs pousses au feu bactérien. Certaines sélections et variétés tolérantes ont été utilisées pour de nouveaux croisements. Au total, 20000 semis ont ainsi été obtenus. Les pommes sauvages *Malus x robusta* 5 et 'Evereste' utilisées comme source de résistances, mais à fruits chétifs, ont été croisées avec des variétés de bonne qualité gustative. Deux méthodes ont été développées avec succès pour accélérer le cycle des générations. Les premières variétés tolérantes au feu bactérien et de bonne qualité gustative sont en phase d'évaluation dans des vergers pilotes pour observer leur comportement en production et dans le commerce.

Tests en serre

L'inoculation artificielle du pathogène à de jeunes pousses de pommier ou poirier en serre est lourde à mettre en œuvre et a représenté un élément important du projet. Depuis 2010, ACW dispose à Wädenswil d'une serre sécurisée moderne permettant ces tests. Douze plantes par génotype ont été greffées sur porte-greffe 'M.9' et les pousses cultivées à une longueur de 20 à 25 cm. Le nombre des pousses a été réduit ensuite à une par plante. L'inoculation des pousses a été réalisée à l'aide d'une seringue au point de végétation, avec une suspension de la souche Suisse FAW 610 de *E. amylovora* à une concentration de 10⁹ cfu/ml. La longueur de la lésion nécrotique a été mesurée en centimètres 7, 14 et 21 jours après l'infection. La sensibilité des génotypes a été estimée par le pourcentage de tiges nécrosées, en divisant la longueur de la lésion par la longueur totale des pousses.

Tests d'inoculation de fleurs en serre et au champ

En plein champ, les fleurs sont les principaux points d'infection par les bactéries. Les premières inoculations de fleurs en serre ont été réalisées dans le cadre du projet ZUEFOS en 2011: des arbres en pots greffés sur le porte-greffe 'M.9' ont été sur-greffés avec des rameaux portant des boutons floraux. Des arbres de la variété 'Enterprise' âgés de trois ans ont été utilisés comme témoin. Les corymbes floraux ont été réduits à trois fleurs et pollinisés à la main avec du pollen d'une variété compatible pour éviter une chute des fleurs. Le lendemain, les fleurs ont été vaporisées avec une solution de *E. amylovora* de la souche FAW 610 à 10^8 cfu/ml en solution PBS (200–250 μ m, soit 10^7 cfu/ml par fleur). Les symptômes ont été évalués 4, 7, 14 et 28 jours après l'infection selon l'échelle suivante (par souci de clarté, les huit classes de l'échelle ont été groupées par deux):

- classe 1–2: pas de symptômes ou symptômes diffus;
- classe 3–4: symptômes sur fleurs et pédoncules;
- classe 5–6: infection des bourses;
- classe 7–8: nécroses du bois.

Les tests en plein champ d'essais sécurisés demandent une assez longue préparation pour disposer de végétaux avec suffisamment de fleurs. Actuellement, ces essais sont réalisés dans le projet ZUEFOS II, commencé en 2012. Pour cela, une collaboration a été établie avec le Dr Christian Scheer, du Centre de compétence du lac de Constance (KOB), à Bavendorf (D) car, jusqu'à présent, de tels essais ne sont pas autorisés en Suisse. Des fleurs issues d'arbres de trois ans et greffées sur M9 en pots (ACW 14995: 14, ACW 14959: 12, ACW 15097 14 et Gala 4) ont été vaporisées avec un mélange de souches de feu bactérien (10^8 cfu/ml). Les symptômes ont été estimés selon l'échelle décrite ci-dessus pour les tests sur fleurs en serre.

Cartographie moléculaire

De nouveaux marqueurs SSR (*Simple Sequence Repeats*) ont été cartographiés dans les premiers 1,5cM du groupe de liaison (GL) 3 en utilisant 2137 plantes au total, dans le but de préciser la carte établie par Peil *et al.* 2007. Ces plantes étaient soit directement issues de croisements MR5 x Idared, soit de croisements entre des plantes F1 et des variétés commerciales (La Flamboyante, ACW 11303). Les descendants présentant des recombinaisons entre des SSR flanquantes et le locus de résistance au feu bactérien précédemment identifié par Peil *et al.* (2007) ont été phénotypés après inoculation avec la souche Ea222 avec des ciseaux. Des résultats binarisés du pourcentage de lésion sur les pousses ont été cartographiés en utilisant le logiciel

JoinMap 3.0 (Van Oijen and Voorrips, 2001) pour situer plus exactement le locus de résistance au feu bactérien. Ce locus a ensuite été identifié dans un BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*) portant de l'ADN de MR5. Le BAC était séquencé et la séquence analysée *in silico* pour identifier les gènes de résistance potentiels. La fonctionnalité d'un gène de résistance potentiel sera étudiée hors du projet ZUEFOS à l'EPFZ par transfert du gène dans une plante sensible au feu bactérien en effectuant un test pour vérifier si la plante est devenue résistante.

Cycle accéléré des générations

Dans ce projet, deux techniques, décrites par Baumgartner *et al.* 2011 (méthode 'Fast Track') et Le Roux *et al.* 2012 (méthode 'Early Flowering'), ont été appliquées pour introgresser des résistances au feu bactérien de pommiers sauvages en réduisant le cycle des générations.

Résultats et discussion

Croisements et sélection

Au total, plus de 20000 pépins sont issus des croisements effectués par ACW et Lubera, dans le but spécifique de combiner la tolérance au feu bactérien et la qualité du fruit. Entre-temps, ces descendances ont déjà été triées en fonction de leur sensibilité à la tavelure et à l'oïdium, ainsi que de caractères de juvénilité tels que des petites feuilles ou des épines. Six cents plantes sélectionnées ont maintenant accédé à la phase d'évaluation des fruits. Six cents autres seront plantées dans les deux années à venir.

Tests en serre

Les infections artificielles des pousses ont manifesté une forte variabilité dans la longueur des lésions macroscopiques de feu bactérien d'un génotype à l'autre. Malgré la forte variabilité au sein des dix répétitions d'un même génotype, la reproductibilité des résultats d'une année à l'autre peut être considérée comme bonne. La variété 'Enterprise' (témoin tolérant) a toujours montré des symptômes réduits tandis que le témoin sensible 'Gala' a toujours montré des symptômes sévères. Ces essais ont permis d'identifier différentes sélections présentant une bonne tolérance des pousses au feu bactérien. Grâce au test phénotypique de la sensibilité des pousses sur des sélections prometteuses, des parents potentiels et des descendances, les données sur la tolérance ou la sensibilité de ce matériel se sont considérablement renforcées au cours des quatre années du projet.

Le matériel végétal de Lubera a été testé pour la sensibilité des tiges à l'Institut 'Julius Kühn' (JKI) de Quedlinburg (D) par le Dr Klaus Richter. Les parents 'Resi' et 'Julia', notamment, ont prouvé qu'ils transmettent une bonne tolérance au feu bactérien à leur descendance. Plusieurs descendants se sont avérés assez tolérants vis-à-vis du feu bactérien. La plupart des variétés de pommes à chair rouge sélectionnées pour la commercialisation se sont montrées moins sensibles au feu bactérien que la variété 'Weirouge'. Une sélection à chair rouge présentant une bonne tolérance au feu bactérien pourrait ainsi être utilisée comme parent ou comme variété pour la production de jus de pommes et la transformation, en particulier en culture extensive.

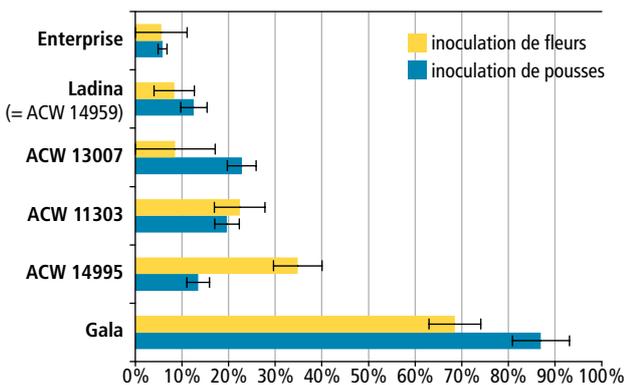


Figure 1 | Résultats des infections de fleurs et de pousses de sélections avancées par rapport aux variétés témoins 'Enterprise' et 'Gala'. En jaune, pourcentage de pédoncules et pousses nécrosés quatre semaines après l'inoculation artificielle des fleurs (2011). En bleu, pourcentage de la longueur de la nécrose par rapport à la longueur totale de la pousse trois semaines après l'inoculation artificielle des pousses.

Inoculation de fleurs en serre et au champ

Les résultats des inoculations artificielles de fleurs ont démontré des niveaux de sensibilité comparables aux inoculations sur pousses (fig.1). Cependant, il n'est pas toujours possible de tirer des conclusions sur le comportement au verger à partir de résultats obtenus en serre. L'utilisation de différentes méthodes d'évaluation de la sensibilité au feu bactérien, comme les marqueurs moléculaires, l'inoculation artificielle des pousses et des fleurs en serre, l'infection d'essais sécurisés en plein champ et l'analyse des tissus visuellement sains, permet de mieux appréhender la situation complexe dans les vergers.

Les tests en plein champ effectués en Allemagne en 2012 montrent que les sélections d'Agroscope examinées présentent moins de symptômes que Gala (témoin sensible). Par exemple, vingt-neuf jours après inoculation, ACW 14995 montre des nécroses du bois sur 1,5 % des corymbes seulement contre 60 % pour Gala (fig. 2).

Résistant, tolérant ou robuste?

Tout au long du projet, les différents partenaires se sont interrogés sur comment définir les variétés ou sélections présentant peu de symptômes du feu bactérien: faut-il les qualifier de robustes, tolérantes, résistantes? Il est difficile de trouver une distinction claire et un terme correct. Les spécialistes se sont mis d'accord sur le fait que, dans le cas des sources de résistance issues de pommiers sauvages tels que *Malus x robusta* 5 (MR5), on peut effectivement parler de résistance. D'autre part, beaucoup de variétés et de nouvelles sélections offrent seulement une résistance partielle, c'est-à-dire qu'elles ne montrent des symptômes d'infection qu'en cas de pression sévère du pathogène. Dans ce cas, le terme utilisé est «tolérance» (en allemand *robust*).

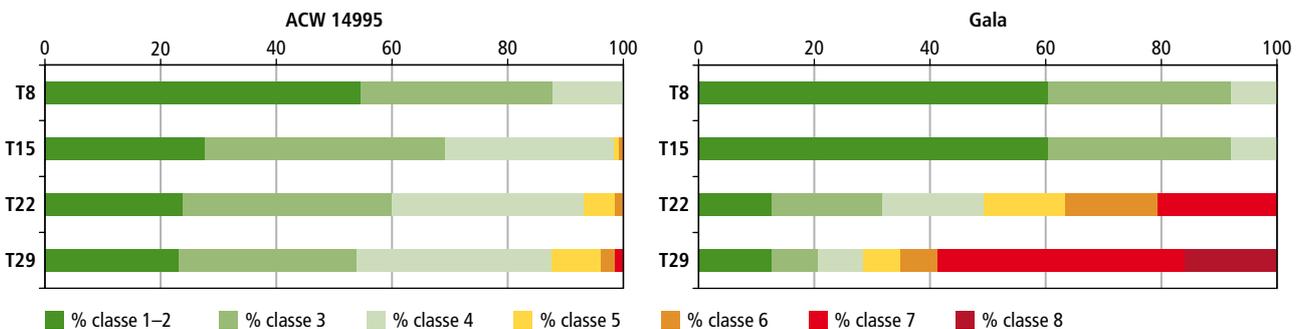


Figure 2 | Comparaison du comportement de 'ACW 14995' et 'Gala' dans les tests d'inoculation artificielle de fleurs en verger expérimental. T8, T15, T22, T29 = jours après l'inoculation. Classes d'infection: 1-2: pas de symptômes ou des symptômes pas clairs; 3-4: symptômes sur fleurs et pédoncules; 5-6: infection des bourses; 7-8: nécroses dans le bois.

Cartographie moléculaire

Au cours du projet, des régions génomiques (loci) de résistance déjà connues sur le génome du pommier ont été cartographiées avec plus de précision et d'autres loci ont été cartographiés pour la première fois. Des progrès considérables ont été réalisés dans le module 2 à l'EPF de Zurich et à ACW à partir de travaux préalablement menés à l'étranger:

- cartographie fine de la résistance de MR5 (Fahrentropp *et al.* 2011; fig. 3);
- développement de marqueurs moléculaires proches des loci de résistance et utilisables en sélection variétale;
- cartographie des facteurs de résistance des variétés 'Florina' et 'Rewena' (Le Roux *et al.* 2010; Le Roux 2011).

La cartographie fine de la résistance de MR5 a permis d'identifier une zone restreinte (BAC) qui a été séquencée et analysée. La comparaison avec des séquences à fonctions connues déposées dans des banques de données a permis de trouver des ORF (*Open Reading Frames*) avec un rôle potentiel de gène de résistance. D'autres analyses, par exemple celle de l'expression, ont permis l'identification d'un unique gène candidat responsable de la résistance de MR5. Ce gène a été transféré dans une pomme sensible au feu bactérien.

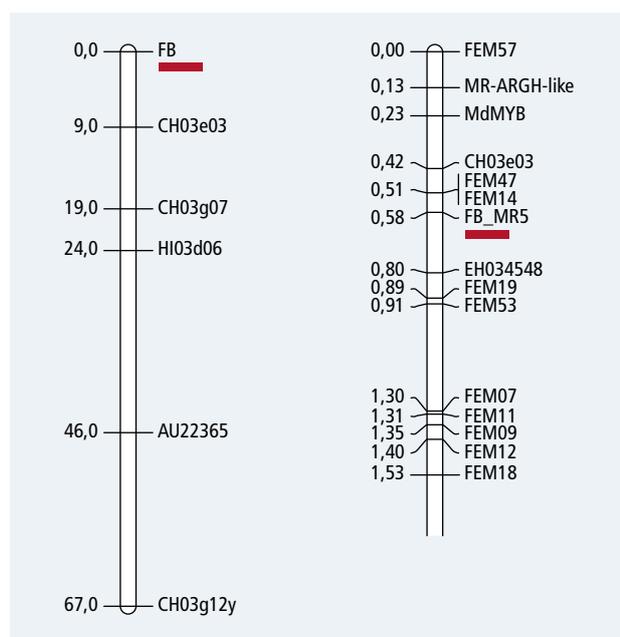


Figure 3 | Carte génétique du groupe de liaison (GL) 3 de *Malus x robusta* 5. *A gauche*: carte établie par Peil *et al.* (2007) ayant servi de point de départ aux recherches du projet ZUEFOS. *A droite*: cartographie fine de l'extrémité du GL3 avec trois marqueurs supplémentaires. FB = locus de résistance feu bactérien (rouge).

Sa fonction sera prochainement évaluée. En outre, ce travail a permis le développement de marqueurs moléculaires utilisables pour la sélection assistée qui permettent de distinguer les individus portant la résistance sans passer par des tests phénotypiques.

Accélérer le cycle des générations

Dans le module 3, les deux méthodes testées pour accélérer l'exploitation des résistances de pommiers sauvages ont donné les résultats suivants:

- Méthode de floraison précoce 'Early Flowering': un gène issu du bouleau a été utilisé pour induire la floraison du pommier. Cette méthode originellement développée à l'Institut Julius Kühn (JKI) de Dresde (Allemagne) a été testée à ACW pour introduire la résistance de pommiers sauvages le plus vite possible dans un fond génétique de variété commerciale de qualité. Cette technique permet d'obtenir la 3^e génération en quatre ans (BC'2, soit la F3) (Le Roux *et al.* 2012). Pour arriver au même stade sans cela, il aurait fallu quinze ans.
- Méthode de floraison précoce 'Fast Track': elle utilise des conditions de croissance optimales en serre et la simulation du froid de l'hiver en chambres froides, sans faire intervenir le génie génétique. Par ce biais, la deuxième génération (F2) de descendants portant la résistance issue de 'Evereste' a été obtenue en quatre ans. Un produit commercialisable devrait être disponible dans dix ans environ, ce qui représente un gain de dix ans par rapport à la méthode classique.

Essais pilotes pour la pratique

Le module 4 visait à sensibiliser la pratique arboricole au projet et aux progrès dans la sélection de variétés tolérantes au feu bactérien. Des résultats préliminaires indiquaient déjà au début du projet que certaines sélections et variétés de pommes et de poires étaient assez tolérantes au feu bactérien. Plusieurs ont été choisies pour des plantations pilotes. Le but de ces vergers est de tester les performances agronomiques des arbres et la qualité des fruits. Les sites suivants ont été choisis: Wädenswil (ZH), Güttingen (TG), Conthey (VS) et Morges (VD). Le matériel végétal disponible étant limité, il a fallu procéder par étapes. Six variétés et sélections de pommier, incluant un témoin, ont été plantées. Selon les vergers, 15 à 50 arbres par variété ont été plantés afin de tirer des conclusions valables pour la pratique.

A Wädenswil et à Conthey, trois sélections de poiriers du programme ACW et deux variétés comprenant un témoin ont été plantées.

En collaboration avec la Sàrl VariCom, la sélection de pommier 'ACW 14959', qui a montré un taux de tolérance très intéressant dans les tests de feu bactérien, a été sélectionnée pour développer un concept de test pré-commercial. Cette nouvelle variété a été soumise à la demande de protection variétale sous le nom de 'Ladina' (fig. 4). Elle sera mise à l'épreuve dans des vergers expérimentaux et soumise à des tests d'entreposage et d'analyse sensorielle. Dans ce contexte, la collaboration constructive qui s'est instaurée avec plusieurs stations cantonales d'arboriculture des cantons les plus touchés par le feu bactérien et avec la Fruit-Union Suisse est un aspect positif.



Figure 4 | La variété 'Ladina'.

Remerciements

Nos remerciements vont à tous ceux qui ont financé et soutenu le projet ZUEFOS, et avant tout à l'Office fédéral de l'agriculture et à la Fruit-Union Suisse. Nous remercions Rolf Blapp (ACW) pour la production des arbres d'essais et le D^r Klaus Richter pour les tests de feu bactérien à l'Institut Julius Kühn de Quedlinburg (Allemagne). Nous remercions Pascal Mayor et Patrick Stadler ainsi que leurs équipes pour l'entretien des essais pilotes à Morges (VD) et Güttingen (TG).

Conclusions

- En quatre ans, le projet ZUEFOS a considérablement augmenté nos connaissances sur la tolérance et la résistance au feu bactérien des variétés et des sélections de pommiers et poiriers.
- Plus de 20 000 semis ont été réalisés par les sélectionneurs pour développer des variétés commerciales tolérantes au feu bactérien.
- La résistance élevée au feu bactérien issue de pommiers sauvages a été intégrée dans le programme de sélection ACW via des méthodes modernes accélérant la floraison des plantes. De plus, la résistance de *Malus robusta* 5 a été cartographiée avec précision.
- Des vergers pilotes avec des sélections et des variétés de pommes et de poires moins sensibles au feu bactérien que les variétés commerciales actuelles permettront de fructueuses observations.
- La sélection variétale demeure un long processus, mais le projet ZUEFOS a permis de poser des bases solides pour des développements ultérieurs.
- Pour l'entreprise privée d'amélioration d'espèces fruitières Lubera, le projet ZUEFOS s'est avéré un franc succès: sa participation lui a permis d'établir des contacts étroits avec la recherche et aussi d'intégrer l'aspect «résistance au feu bactérien» à son programme d'amélioration.
- L'ensemble des travaux conduits dans ZUEFOS ouvre des perspectives pour l'arboriculture en verger à basse et haute-tige, à court, moyen et long terme.
- Le projet ZUEFOS II (2012–13) permet de prolonger les travaux commencés au profit de la filière fruitière, de la population en général, en Suisse et au-delà. ■

Bibliographie

- Baumgartner I. O., Leumann L. R., Frey J. E., Joos M., Voegelé R. T. & Kellerhals M., 2012. Breeding apples to withstand infection pressure by fire blight and other diseases. Proceedings of the Ecofruit, 15th International Conference on Organic Fruit-Growing, 20–22.2.2012, University Hohenheim, Stuttgart, 14–21.
- Baumgartner I. O., Patocchi A., Franck L. R., Kellerhals M. & Broggini G. A. L., 2011. Fire Blight Resistance from 'Evereste' and *Malus sieversii* Used in Breeding for New High Quality Apple Cultivars: Strategies and Results. *Acta Hort.* 896, 391–397. >

Summary

Breeding fire blight resistant apple varieties

Considerable progress has been achieved in breeding apple and pear varieties resistant to fire blight. Within the project ZUEFOS (breeding fire blight resistant fruit varieties) the following partners were collaborating: ACW, ETH Zürich, Lubera and Fruture as well as VariCom. 160 varieties and new selections were tested by ACW for their shoot susceptibility. Resistant selections and varieties were considered for new crosses. About 20 000 seedlings resulted from these crosses. Moreover, the resistant but small-fruited wild apples *Malus x robusta* 5 and 'Evereste' were crossed with high quality cultivars. Two different methods were applied to speed up the generation time. Selected fire blight tolerant varieties and selections are tested for their productivity and market value in four pilot orchards throughout Switzerland.

Key words: *Erwinia amylovora*, *Malus x domestica*, *Malus x robusta* 5, resistance, breeding.

Zusammenfassung

Züchtung feuerbrandrobuster Obstsorten

In der Züchtung feuerbrandrobuster Obstsorten wurden bedeutende Fortschritte erzielt. Beim Projekt ZUEFOS (Züchtung feuerbrandrobuster Obstsorten) haben ACW, ETH Zürich, Lubera und Fruture sowie VariCom mitgearbeitet. An ACW wurden 160 Sorten und Neuzüchtungen auf die Triebanfälligkeit geprüft. Robuste Sorten und Züchtungen wurden für weitere Kreuzungen verwendet. Total konnten rund 20 000 Sämlinge aus Kreuzungen gewonnen werden. Die robusten aber kleinfrüchtigen Wildäpfel *Malus x robusta* 5 und 'Evereste' wurden mit qualitativ guten Sorten gekreuzt. Dabei werden zwei Verfahren zur Generationsbeschleunigung eingesetzt. Erste feuerbrandrobuste Sorten werden in Pilotanlagen auf Anbaueignung und Marktwert geprüft.

Riassunto

Selezione di varietà di frutta resistenti al fuoco batterico

Nella selezione di varietà di frutta resistenti al fuoco batterico si sono raggiunti importanti progressi. Al progetto ZUEFOS (selezione di varietà di frutta resistenti al fuoco batterico) hanno collaborato ACW, ETH Zurigo, Lubera e Fruture, come pure VariCom. Presso ACW si è verificata la sensibilità del getto di 160 varietà e nuove selezioni. Varietà e selezioni robuste sono state impiegate per ulteriori incroci. Ne sono state ricavate complessivamente 20 000 piantine derivanti da incroci. Le mele selvatiche robuste, ma a frutto piccolo, *Malus x robusta* 5 e 'Evereste' sono state incrociate con varietà di buona qualità, applicando due metodi di accelerazione del ciclo generazionale. In impianti pilota si stanno testando le prime varietà resistenti al fuoco batterico per determinare l'idoneità alla coltivazione e il valore di mercato.

- Fahrentrapp J., Broggin G. A. L., Gessler C., Peil A., Malnoy M., Kellerhals M. & Richter K., 2011. Fine Mapping of Fire Blight Resistance Locus in *Malus x robusta* 5 on Linkage Group 3. *Acta Hort.* **896**, 243–244.
- Le Roux P.-M. F., Khan M. A., Broggin G. A. L., Duffy B., Gessler C. & Patocchi A., 2010. Quantitative trait loci mapping of fire blight resistance in the apple cultivars 'Florina' and 'Nova Easygro'. *Genome* **53**, 710–722.
- Le Roux P.-M. F., 2011. Molecular breeding for fire blight resistance in apple (*Malus* spp.). ETHZ Dissertation N° 20055.

- Le Roux P.-M. F., Flachowsky H., Hanke M.-V., Gessler C. & Patocchi A., 2012. Use of a transgenic early flowering approach in apple (*Malus x domestica* Borkh.) to introgress fire blight resistance from 'Evereste'. *Molecular Breeding*, sous presse.
- Van Ooijen J. W. & Voorrips R. E., 2001. «JoinMap 3.0, Software for the Calculation of Genetic Linkage Maps.» Plant Research International, Wageningen, the Netherlands.