

# Sélection de variétés de pommes tolérantes au feu bactérien

Markus Kellerhals<sup>1</sup>, Simone Schütz<sup>1</sup>, Isabelle O. Baumgartner<sup>1</sup>, Julia Schaad<sup>1</sup>, Thomas Kost<sup>2</sup>, Giovanni Brogginì<sup>1</sup> et Andrea Patocchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Agroscope, Institut des sciences en production végétale IPV, 8820 Wädenswil, Suisse

<sup>2</sup>EPF Zurich, USYS, Plant Pathology Group (IBZ), 8092 Zurich, Suisse

Renseignements: Markus Kellerhals, e-mail: markus.kellerhals@agroscope.admin.ch



Semis de pommiers issus de croisements avec la pomme sauvage, résistante au feu bactérien. La culture s'effectue sous serre avec la méthode *Fast Track*.

## Introduction

Agroscope - en collaboration avec des partenaires scientifiques ainsi que des partenaires centrés sur la production - est active dans la sélection de variétés de fruits à pépin tolérantes au feu bactérien. Le but premier des projets des six dernières années - financés principalement par l'Office fédéral de l'agriculture - était de sélectionner efficacement des variétés de pommes et de poires à forte valeur commerciale et tolérantes au feu bactérien. Une particularité de ces projets était de faire le lien entre la recherche fondamentale et son application pratique. En plus d'Agroscope, les partenaires suivants se sont impliqués: EPF Zurich (groupe du Prof. Cesare Gessler), Lubera SA et Fruture Sàrl (sélectionneurs privés), ainsi que VariCom Sàrl, qui introduit les variétés d'Agroscope sur le marché.

Il y a six ans, peu de variétés tolérantes au feu bactérien étaient disponibles sur le marché, et la plupart d'entre elles n'avaient pas ou peu de valeur commerciale.

Actuellement, on trouve des variétés tolérantes très prometteuses et des variétés résistantes sont en développement. Jusqu'à présent, l'accent a essentiellement été mis sur les pommes.

Les projets comportaient les points suivants:

- Test de la sensibilité des pousses de variétés parentales potentielles et de numéros de sélection, suite à l'inoculation artificielle des pousses sous serre
- Inoculation artificielle des fleurs sous serre et en plein champ
- Cartographie des loci de résistance dans le génome
- Introduction de la résistance au feu bactérien de pommes sauvages à des sélections avancées au moyen de l'accélération des générations
- Test de la fonctionnalité d'un gène candidat de résistance au feu bactérien
- Mise en place d'un verger pilote avec des variétés / sélections de pommes et poires prometteuses et tolérantes au feu bactérien
- Identification de nouvelles sélections appropriées pour la culture haute-tige

Un des défis de la sélection des pommes est le cycle des générations. La phase juvénile dure de quatre à cinq ans, de la germination jusqu'à la première fleur du descendant. En ce qui concerne le développement de variétés résistantes au feu bactérien à partir de pommes sauvages, la juvénilité est particulièrement importante. En effet, les variétés actuelles de pommes sont certes plus ou moins tolérantes, mais aucune variété résistante n'est connue à ce jour. De fortes résistances sont présentes dans les pommes sauvages, mais elles contiennent aussi plusieurs propriétés indésirables, telles qu'un faible calibre ou une moindre qualité de fruit. Afin de se débarrasser des propriétés génétiques indésirables de la pomme sauvage et d'obtenir un cultivar approprié, quatre à cinq pseudo-rétrocroisements avec des cultivars sont nécessaires. Avec une durée de quatre à cinq ans par génération, cela implique un travail de sélection de 20 à 25 ans pour un cultivar comportant une résistance de la

pomme sauvage. C'est pourquoi, en plus du procédé génétique d'induction florale *Early Flowering* (Patochi, 2014) – non décrit dans le présent article – la méthode *Fast Track* a été couplée à la sélection conventionnelle. *Fast Track* comprend plusieurs techniques de réduction du cycle des générations (van Nocker et Gardiner, 2014). En contrôlant et optimisant les conditions de croissance, la méthode *Fast Track* d'Agroscope permet d'induire rapidement la floraison des semis issus de croisements avec la pomme sauvage. Les résistances au feu bactérien issues des pommiers sauvages «*Malus x robusta 5*» (locus de résistance *FB\_MR5*) et «Evereste» (locus de résistance *Fb\_E*) ont été retenues. «*Malus x robusta 5*» (MR5), originaire de l'Asie de l'Est, est une pomme sauvage connue pour sa résistance au feu bactérien. Cette résistance a été qualifiée de très efficace. Cependant, on sait depuis longtemps que certaines souches de la bactérie du feu bactérien (*Erwinia amylovora*) peuvent contourner cette résistance (Norelli et al. 1986). Une seule mutation du gène *AvrRpt2EA* du pathogène suffit à contourner la résistance au feu bactérien *FB\_MR5* (Vogt et al. 2013). De telles mutations apparaissent de façon spontanée et il est possible que des souches mutantes virulentes soient déjà présentes en Suisse, ou émergeront facilement. Afin d'utiliser la résistance au feu bactérien *FB\_MR5* de manière efficace et durable pour la sélection des variétés, il est indispensable de la combiner (pyramider) avec d'autres résistances au feu bactérien. Pour le croisement MR5 x «Idared», Peil et al. (2007) ont publié l'identification et la cartographie d'un *Quantitative Trait Locus* (QTL) pour la résistance au feu bactérien de MR5. Cette résistance a été localisée à l'extrémité du groupe de liaison 3 (*linkage group*) de la pomme. Lors de travaux ultérieurs, l'emplacement de la résistance a pu être précisé, isolé et séquencé par une méthode de *Next-Generation-Sequencing*. L'analyse *in silico* des séquences obtenues a permis d'identifier le gène potentiel de la résistance au feu bactérien MR5. Il fait partie de la famille des gènes de résistance NBS-LRR et est dénommé *FB\_MR5*. *FB\_MR5* contient une structure *Coiled-coil*, un *Nucleotide-Binding-Site* ainsi qu'au moins 23 éléments semblables aux *Leucine-Rich-Repeats* (LRR) (Fahrentrapp et al. 2013). Ces structures sont caractéristiques des gènes de résistance des plantes aux maladies bactériennes.

## Matériel et méthodes

### Test des pousses sous serre

De 2009 à 2014, 215 numéros de sélection et variétés d'Agroscope ont été testés quant à la sensibilité des pousses. A cet effet, plus de 2500 extrémités de pousses ont été inoculées avec *E. amylovora* et évaluées. Pour le

**Résumé** ■ Dans le cadre de projets financés par l'Office fédéral de l'agriculture, la résistance des pousses au feu bactérien de 215 sélections et variétés de pommes d'Agroscope a été testée sous serre. Par la suite, la sensibilité des fleurs de certaines variétés a été testée dans des vergers sécurisés. Les projets ont permis de localiser précisément le gène de résistance de la pomme sauvage «*Malus x robusta 5*». Son efficacité a ensuite été éprouvée en implantant le gène de résistance à la variété «Gala», sensible au feu bactérien. La méthode *Fast Track* permet d'accélérer le développement des variétés commerciales résistantes au feu bactérien.

test des pousses, des greffons provenant des sélections ont été greffés sur les porte-greffes M9vf T337. Sous serre, douze plants par individu ont été cultivés en pot (35,5 cm de haut, 7 cm de diamètre). L'infection a été effectuée sous serre de quarantaine sur des pousses d'une longueur de 15–40 cm. *E. amylovora* a été injectée directement à l'extrémité des pousses (souche suisse, FAW610 Rif, conc. = 10<sup>9</sup> cfu/ml) (Rezzonico et Duffy 2007). La longueur de la pousse saine jusqu'à la lésion visible (fig. 1) ainsi que la longueur totale de la pousse ont été mesurées tous les sept jours pendant trois semaines. «Gala» (sensible) et «Enterprise» (tolérante) ont servi de référence.

Le pourcentage de la longueur de la lésion par rapport à la longueur totale de la pousse a permis de déterminer la sensibilité de la pousse. Afin de comparer sur plusieurs années, le pourcentage de la longueur de la lésion a été calculé en se référant à «Gala». Pour la plupart des génotypes testés, la présence des QTLs de tolérance au feu bactérien du chromosome 7 (*FBF7*) de «Fiesta» a été analysée moléculairement à l'aide des deux marqueurs flanquants SCAR AE10–375 et GE-8019 (Khan et al. 2007). Afin que les résultats soient reproductibles, l'inoculum et la méthode ont été appliqués de façon similaire année après année.

### Inoculation directe des fleurs en plein champ

Au printemps 2013 et 2014, des essais d'infection des fleurs avec des sélections intéressantes d'Agroscope ont pu être menés en plein champ sur la parcelle sécurisée du domaine d'essai fruits à noyau du Breitenhof (BL). La parcelle d'essai est entièrement recouverte d'un filet afin d'empêcher le vol des insectes et le transit d'autres vecteurs. Les scientifiques pénètrent et quittent la parcelle par une ouverture qui se referme. Le matériel qui



**Figure 1** | Extrémité de pousse d'«ACW 21143» avec lésion suite à l'inoculation artificielle par *E. amylovora*.

en ressort est soigneusement décontaminé afin d'éviter la dissémination du feu bactérien. Les plants en pot de deux à trois ans des sélections et variétés concernées sont utilisés pour les essais. Ils ont préalablement été greffés sur «M9» avec «Golden» comme intermédiaire. «Gala Galaxy» (sensible) et «Enterprise» (tolérante) ont servi de témoin. Les seize répétitions par génotype ont été réparties aléatoirement par groupe de quatre. Un système d'irrigation par goutte-à-goutte a été mis en place.

Une ruche a permis la pollinisation des fleurs. Elle a été retirée juste avant l'inoculation. Pour les inoculations du 7 mai 2013 et du 14 avril 2014, environ 125 bouquets floraux par génotype ont été choisis - au stade pleine floraison (BBCH65). Après marquage, ils ont été inoculés en vaporisant manuellement une solution d'*E. amylovora* (souche suisse, FAW610, conc.  $3,0-3,5 \times 10^8$  cfu/ml). Enfin, les bouquets floraux ont été emballés dans un sachet plastique pendant quatre jours afin de les protéger des intempéries et de favoriser les conditions d'infection. L'importance des symptômes sur les bouquets floraux inoculés a été évaluée après 7 (seulement en 2013), 14, 21 et 28 jours.

### Accélération des générations Fast Track

Au printemps 2008, les premiers croisements d'«Evereste» et de la descendance F1 de MR5 («Idared» x MR5) ont été effectués avec la sélection d'Agroscope «ACW 11303». Les pépins issus des croisements ont été prélevés, stratifiés et semés. Les semis ont été cultivés sous serre avec des températures régulées (15–25 °C). Afin de réduire l'allongement des entre-noeuds, les plants ont été traités une fois par mois avec le régulateur de croissance Prohexadione-Ca. En automne, période de ralentissement de croissance, la dormance a été provoquée par un traitement avec le régulateur de maturité et de croissance Ethephon, appliqué trois fois. La simulation de la période hivernale a été effectuée durant sept à neuf semaines en chambre froide à 3–5°C.

### Test de fonctionnalité du FB\_MR5

La variété «Gala», sensible au feu bactérien a été transformé à l'EPF Zurich avec FB\_MR5 (Broggini et al. 2014). Deux vecteurs ont été utilisés afin de régler FB\_MR5:

- 1) le promoteur constitutif CaMV35S et le terminateur OCS
- 2) les propres séquences du promoteur et terminateur du gène FB\_MR5.

La transformation des pommes a été réalisée par *Agrobacterium tumefaciens* selon Szankowski et al. (2009) et Vanblaere et al. (2011). Après la régénération *in vitro*, les pousses modifiées génétiquement ont été greffées sur des semis de «Golden Delicious» et puis cultivées. Par la suite, les différentes lignées ont été greffées sur M9vf T337 et sous serre de quarantaine d'Agroscope, inoculées avec deux souches d'*E. amylovora* (Ea222, Ea1189) en suivant le protocole de Peil et al. (2007).

## Résultats et discussion

### Tests des pousses sous serre

La figure 2 présente une vue générale des 215 sélection et variétés d'Agroscope, de trois pommiers sauvages («*Malus fusca*», «*Malus baccata*», «MR5») et de trois variétés tolérantes connues («Florina», «Rewena» et «Free Redstar»). Les différents stades de la sensibilité des pousses (échelle de la sensibilité des pousses vs «Gala») sont visibles. Indépendamment de l'origine génétique et trois semaines après l'inoculation, les résultats - en se référant à «Gala» - recouvrent toute la palette de sensibilité. Ils vont de «très peu sensible» avec moins de 3,5 % («0802\_168» croisement de: «ACW 11303» («ACW 6104» x «Rewena») x «DA02.2.7» («Idared» x MR5)) jusqu'à «très sensible» avec plus de 170 % («ACW 14886» croisement de: «Topaz» x «Fuji»). Lors des croisements, le choix de parents connus pour leur tolérance ou leur résistance n'implique pas forcément une descendance tolérante au

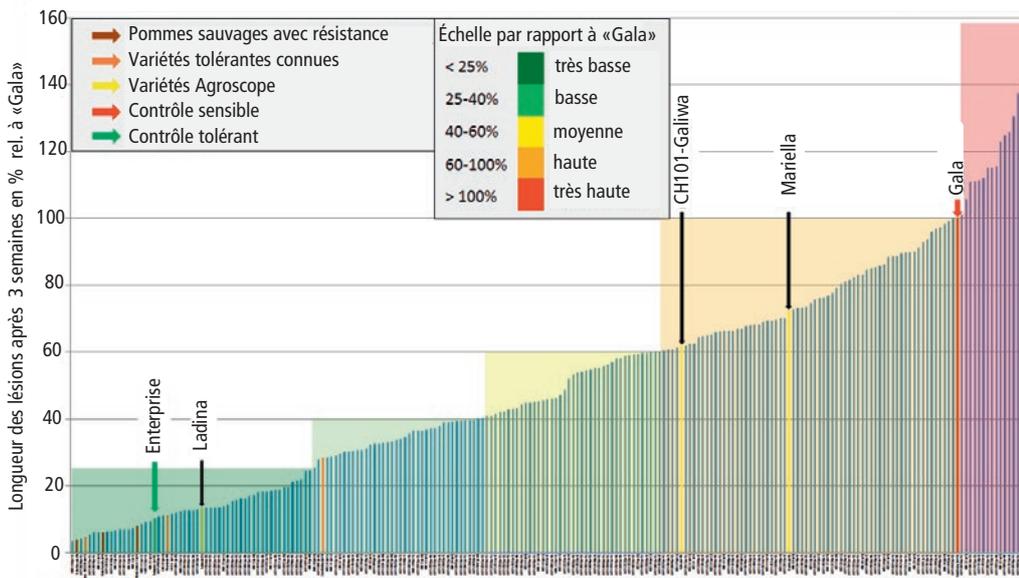


Figure 2 | Longueur moyenne de lésion des individus et variétés testés de 2009 à 2014, trois semaines après l'inoculation des pousses sous serre, en comparaison avec la longueur de lésion de «Gala».

feu bactérien. Les croisements avec des génotypes sans résistance ou tolérance connue peuvent donner tant des génotypes tolérants que très sensibles. Toutefois, en sélectionnant les parents, les variétés moins sensibles sont clairement favorisées. Sur les 215 génotypes testés, 50 d'entre eux - y compris la variété «Ladina» - présentaient une très faible sensibilité des pousses (<25 % versus «Gala»; fig. 3). On y trouve sept descendants de la première ou deuxième génération de MR5, onze descendants d'«Evereste» et vingt-huit descendants issus de

croisements avec des variétés parentales connues pour leur tolérance au feu bactérien («Florina», «Enterprise», «Resi», «Reka», «Regia» et «Goldrush»).

#### Inoculation directe des fleurs en plein champ

L'évaluation de l'infection comprend neuf classes qui vont de «pas de symptômes ou symptômes peu clairs» à «nécroses du bois plus ou moins importantes», en passant par des «infections du bouquet floral et des jeunes pousses» (voir fig. 4).

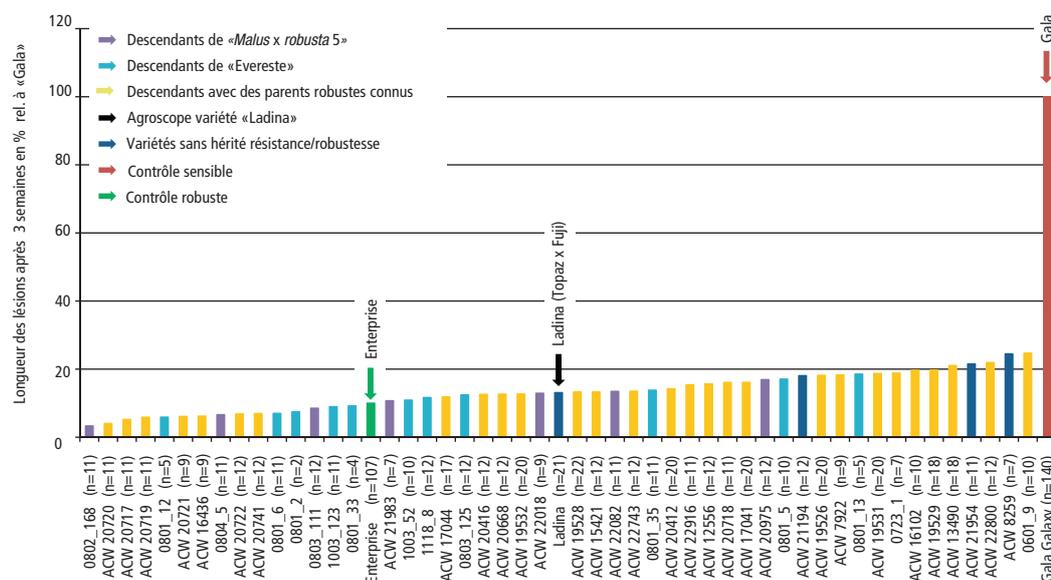
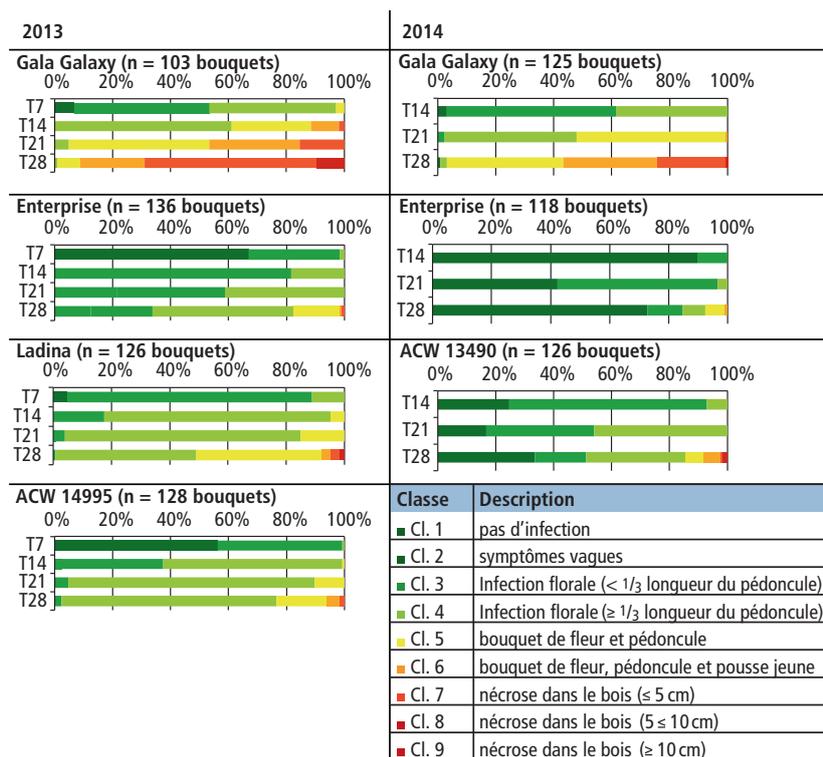


Figure 3 | Longueur moyenne de lésion des 50 individus et variétés de la fig. 2 testés de 2009 à 2014, déterminés «très faible sensibilité» (<25 % de sensibilité des pousses versus «Gala»; n = nombre de pousses inoculées et évaluées), trois semaines après l'inoculation des pousses sous serre, en pourcent par rapport à «Gala».



**Figure 4** | Résultats sélectionnés de l'inoculation artificielle des fleurs en 2013 et 2014 sur la parcelle sécurisée au Breitenhof. La figure présente le pourcentage des bouquets floraux selon les classes d'évaluation, 7 (seulement en 2013), 14, 21 et 28 jours après inoculation.

En 2013 et 2014, huit génotypes ont été testés en plein champ sur la parcelle recouverte d'un filet. Les résultats des individus considérés comme les plus tolérants sont représentés à la figure 4. En les comparant aux deux variétés de référence, on constate que les résultats sont reproductibles d'une année à l'autre.

La sélection «Ladina» d'Agroscope nommée en 2012 ainsi que «ACW 14995» (fig. 5, à gauche) issus du même croisement («Topaz» x «Fuji») présentaient une sensibilité nettement inférieure à celle de «Gala Galaxy». Au printemps 2013 et 28 jours après l'inoculation, «Gala Galaxy» présentait des nécroses sur bois sur 69 % des

bouquets inoculés (fig. 5, à droite). En revanche, «Ladina» n'obtenait que 5 % et «ACW 14995» un petit 2%. 28 jours après l'inoculation, «ACW 13490» («Resi» x «Ariwa») - testé au printemps 2014 - présentait des nécroses sur bois sur seulement 2,5 % des bouquets floraux évalués. Par contre, «Gala Galaxy» subissait des dégâts dix fois plus élevés.

#### Accélération des générations *Fast Track*

Agroscope a développé et adapté *Fast Track* en fonction de ses propres besoins. Les différents paramètres des conditions de croissance tels que la durée de la dor-



**Figure 5** | Symptômes 28 jours après l'infection artificielle des fleurs de la sélection «ACW 14995» (à gauche) et de «Gala Galaxy» (à droite).

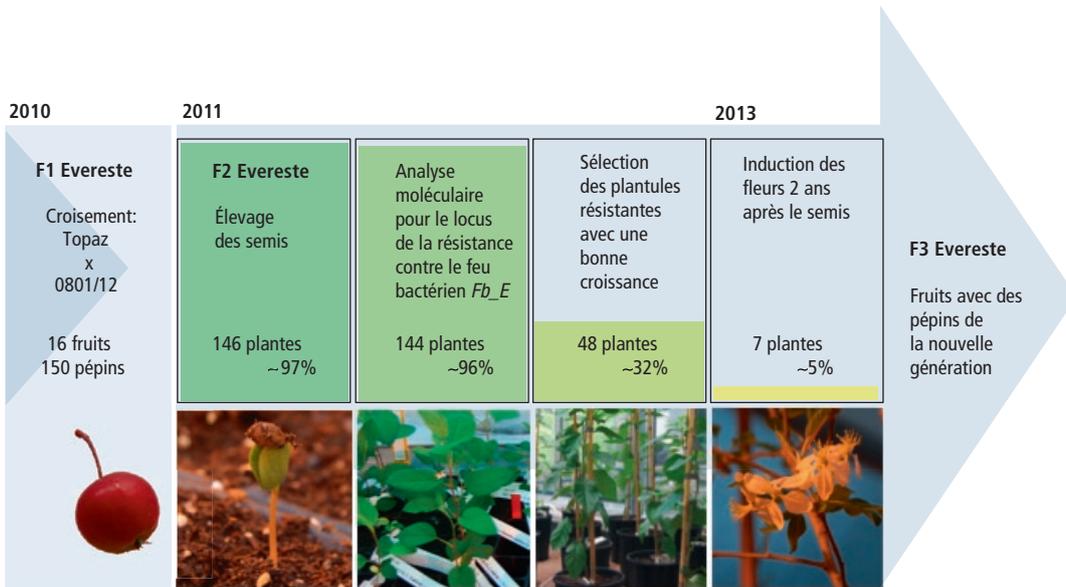


Figure 6 | Processus de sélection du système *Fast Track* avec pour exemple le croisement «Topaz» x «0801/12» (F1 «Evereste»).

mance hivernale ainsi que les traitements avec les régulateurs de croissance ont été évalués dans les essais puis optimisés (Baumgartner *et al.* 2011).

Depuis 2008, 59 combinaisons de croisement ont été effectuées entre un parent d'une souche de pommier sauvage résistant au feu bactérien et une variété ayant les qualités d'une pomme de table (fig. 7). Ainsi, plus de 6600 fleurs ont été fécondées et 4100 semences obtenues. Suite à un tri sélectif des semis (fig. 6), 268 descen-

dants d'une souche d'«Evereste», 289 descendants de MR5 ainsi qu'un descendant de «*Malus fusca* (MAL0045)» ont été choisis pour l'accélération des générations et à nouveau sélectionnés. Plus de 100 plants de la troisième génération présentant la résistance souhaitée sont actuellement cultivés sous serre.

La figure 6 présente, au moyen d'un croisement, le processus de sélection *Fast Track*. Au cours du processus, le nombre de plants est réduit selon différents para-

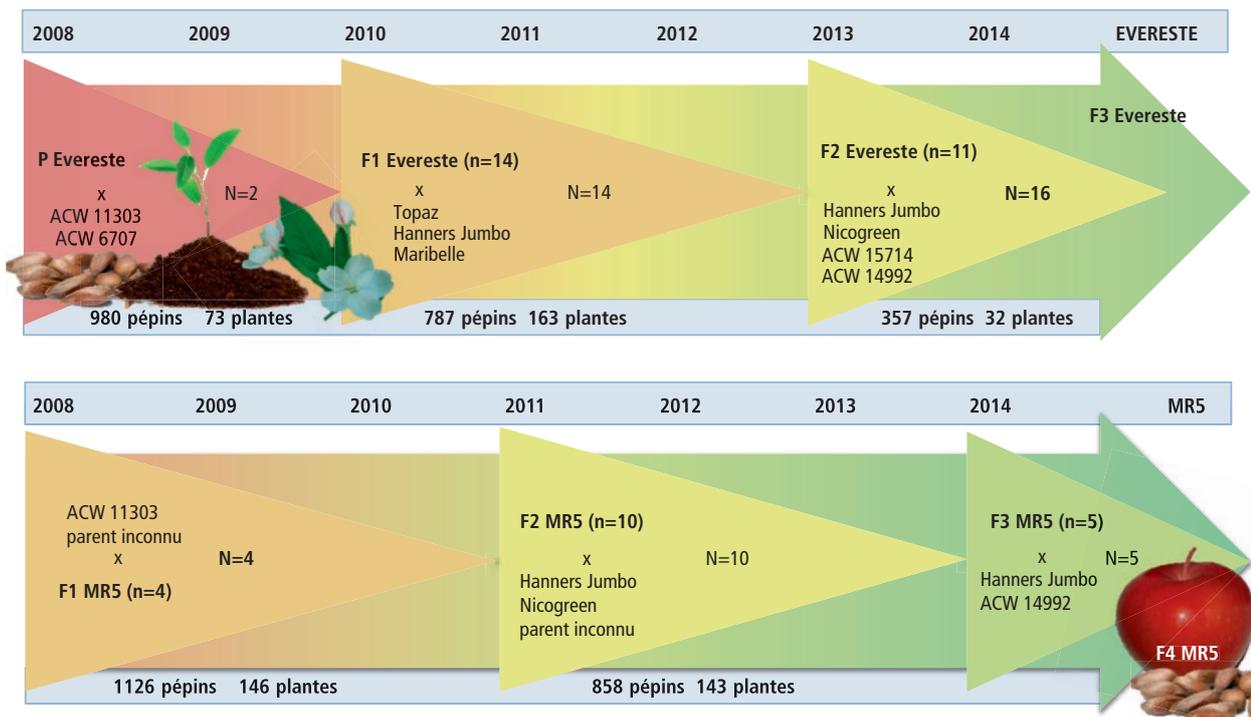


Figure 7 | Présentation des croisements, des semences et des plants sélectionnés avec *Fast Track* sur plusieurs générations issues d'«Evereste» (en haut) et d'une F1 de MR5 (en bas); (n = nombre de plants F1, F2, F3; N = nombre de combinaisons parentales).



**Figure 8** | Pousse de la variété «Gala» (à gauche), de «*Malus x robusta* 5» et de 2 lignées «Gala» GM (T36C1 et T40C1) avec le gène *FB\_MR5*, 39 jours après inoculation avec la souche *E. amylovora* Ea222\_JK1. Dans la lignée T40C1, *FB\_MR5* est réglé par le promoteur CaMV35S; dans la lignée T36C1, *FB\_MR5* est réglé par son propre promoteur. Seule «Gala» présente des symptômes de feu bactérien typiques.

mètres de sélection. Un croisement de 2010 entre «Topaz» et la génération F1 d'«Evereste» («0801/12» = «ACW 11303» x «Evereste») est mis en évidence. Comme pour la sélection conventionnelle, la méthode *Fast Track* utilise des marqueurs moléculaires afin de procéder à la sélection précoce des descendants résistants au feu bactérien. En cas de croisement entre une variété/sélection de qualité et un parent d'une source de pommier sauvage résistant au feu bactérien, la résistance au feu bactérien (*Fb\_E* resp. *FB\_MR5*) est transmise à la moitié de la descendance. Le croisement mentionné plus haut a permis à un pépin sur trois de produire un plant suffisamment résistant, d'une vitalité et d'une croissance adéquate, afin d'être soumis au *Fast Track*. Après la troisième dormance artificielle – deux ans après le semis – 15 % des plants ont obtenu des fleurs en janvier 2013.

Actuellement, la méthode *Fast Track* a permis d'arriver jusqu'à la troisième génération (F3) d'«Evereste» et MR5 (fig. 7). Cette génération présente ainsi en 6,5 ans plus de la moitié des cinq rétrocroisements nécessaires à la réduction des caractères indésirables du pommier sauvage. En juillet 2014, des fruits portant les semences de F4 et MR5 ont déjà pu être récoltés. D'ici 2020, la génération F5 des deux origines de pommier sauvage devrait comporter moins de 5 % du génome du pommier sauvage. Ainsi, elle devrait présenter des fruits du calibre et de la qualité souhaitée, avec en même temps la résistance au feu bactérien (*Fb\_E* resp. *FB\_MR5*). Pour

une application à long terme, les résistances au feu bactérien et/ou d'autres QTLs de tolérance au feu bactérien doivent être combinés.

La transposabilité et la flexibilité sont les avantages principaux de l'accélération des générations par *Fast Track*: les plants peuvent être intégrés du système en plein champ ou le pollen peut être récolté en plein champ puis intégré au système *Fast Track*. Contrairement aux systèmes intensifs pratiqués en Nouvelle-Zélande avec la régulation de la lumière et de la concentration en CO<sub>2</sub> (Austin *et al.* 2006), la méthode *Fast Track* à Wädenswil se base sur des méthodes préservant les ressources. Par rapport à la sélection classique, le cycle des générations a pu être réduit à deux voire trois ans.

#### Test de fonctionnalité de *FB\_MR5*

La fonctionnalité du gène de résistance au feu bactérien *FB\_MR5* a été testée en introduisant le gène – au moyen d'*A. tumefaciens* – dans la variété «Gala» sensible au feu bactérien. La résistance a ensuite été éprouvée avec l'inoculation par *E. amylovora* des lignées régénérées. Cinq lignées différentes ont été engendrées, deux avec *FB\_MR5* sous l'action du promoteur 35S, et trois lignées avec *FB\_MR5* sous l'action de propres séquences régulatrices. Les plants avec *FB\_MR5* présentaient nettement moins de symptômes du feu bactérien que les plants témoins «Gala». La maladie s'est continuellement répandue dans les plants témoins «Gala» non modifiés. Les plants sont morts après 3–4 semaines (fig. 8; Broggin *et al.* 2014). À l'Institut Julius Kühn (JKI) de Dresde, deux lignées supplémentaires ont été inoculées avec la souche virulente de MR5 *E. amylovora* ZYRKD3–1. Elles se sont montrées sensibles. Ainsi, la preuve de la première identification mondiale d'un gène de résistance au feu bactérien a été donnée. Le clonage de *FB\_MR5* a permis de percevoir le mécanisme d'une résistance au feu bactérien. Ainsi, de précieux marqueurs moléculaires ont été obtenus. Ils pourront être utilisés dans la sélection classique de nouvelles variétés tolérantes au feu bactérien.

Les variétés de fruits à pépins tolérantes et résistantes au feu bactérien permettent aux producteurs de produire des pommes d'une façon durable. En raison de la durée de vie des vergers et des mécanismes du marché, la reconversion vers les variétés tolérantes au feu bactérien pourrait prendre du temps ■

#### Remerciements

Les auteurs remercient Cesare Gessler de l'EPF Zurich, Henryk Flachowsky, Andreas Peil, Thomas Wöhner et Magda Viola Hanke du Julius Kühn-Institut à Dresde (D) pour leur collaboration à l'identification du *FB\_MR5* et la sélection *Fast Track*, ainsi que Rolf Blapp, Thomas Schwizer et Jürgen Krauss d'Agroscope, pour le soutien technique. Nous remercions l'Office fédéral de l'agriculture (OFAG) pour le soutien financier du projet ZUEFOS et ZUEFOS II.

## Riassunto

### Selezione di varietà di melo resistenti al fuoco batterico

Nell'ambito di differenti progetti finanziati dall'ufficio federale dell'agricoltura, la suscettibilità al fuoco batterico di 215 varietà o selezioni di melo è stata quantificata in serra di quarantena tramite inoculazioni artificiali dei tralci. Per alcune varietà è stato pure possibile quantificare la suscettibilità al fuoco batterico in seguito ad infezioni artificiali dei fiori di melo all'aperto in una parcella specificatamente adibita a questo scopo. Inoltre è stato possibile identificare il gene di resistenza al fuoco batterico del melo selvatico *Malus x robusta 5* e la sua funzione è stata confermata introducendo questo gene nella varietà suscettibile «Gala». Infine l'approccio del *Fast Track* è stato utilizzato al fine di accelerare lo sviluppo di varietà di melo resistenti al fuoco batterico con potenziale commerciale.

## Summary

### Breeding fire blight resistant apple varieties

215 apple selections and cultivars were screened in a glasshouse shoot infection test for their susceptibility to fire blight in the frame of projects that were financed by the Swiss Federal Office for Agriculture. Selected varieties were also examined for their flower susceptibility towards fire blight in an open air protected orchard. Moreover, a fire blight resistance gene originating from the wild apple «*Malus x robusta 5*» was precisely localized in the genome and the efficiency was tested by introduction of the gene into the susceptible cultivar «Gala». A *Fast Track* approach was used to speed up breeding of fire blight resistant apple cultivars with market potential.

**Key words:** Fire blight (*Erwinia amylovora*), apple breeding, shoot test, *Fast Track*, *FB\_MR5*.

## Bibliographie

- Austin P., Norling C., Volz R., Bus V. & Gardiner S., 2006. Using controlled environments to accelerate flowering of *Malus seedlings*. 3rd International Rosaceae Genomics Conference, 19-22 March 2006, War Memorial Conference Centre, Napier. 113 p. (Abstracts.)
- Baumgartner I.O., Patocchi A., Franck L., Kellerhals M. & Broggin 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. (ISHS)* **896**, 391–397.
- Broggin G. A. L., Wöhner T., Fahrtrapp J., Kost T. D., Flachowsky H., Peil A., Hanke M.-V., Richter K., Patocchi A. & Gessler C., 2014. Engineering fire blight resistance into the apple cultivar «Gala» using the *FB\_MR5* CC-NBS-LRR resistance gene of *Malus x robusta 5*. *Plant Biotechnol. J.* **12**, 728–733. doi: 10.1111/pbi.12177
- Fahrtrapp J., Broggin G. A. L., Kellerhals M., Peil A., Richter K., Zini E. & Gessler C., 2013. A candidate gene for fire blight resistance in *Malus x robusta 5* is coding for a CC–NBS–LRR. *Tree Gen. Genom.* **9**, 237–251.
- Khan M.A., Durel C.-E., Duffy B., Drouet D., Kellerhals M., Gessler C. & Patocchi A., 2007. Development of molecular markers linked to the «Fiesta» linkage group 7 major QTL for fire blight resistance and their application for marker-assisted selection. *Genome* **50** (6), 568–577. doi:10.1139/G07-033. PMID: 17632578.
- Norelli J.L., Aldwinckle H.S. & Beer S.V., 1986. Differential susceptibility of *Malus* spp. cultivars Robusta 5, Novole, and Ottawa 523 to *Erwinia amylovora*. *Plant Dis.* **70**, 1017–1019.
- Patocchi A., 2014. Blühverfrühung: Eine Methode die Züchtung zu beschleunigen.
- 6. Fachtagung zur Grünen Gentechnik «Gentechnikfreie Schweiz – (k)ein Szenario für die Zukunft». p. 35-38 ISBN:978-3-033-4476-0.
- Peil A., Garcia-Libreros T., Richter K., Trognitz F.C., Trognitz B., Hanke M.-V. & Flachowsky H., 2007. Strong evidence for a fire blight resistance gene of *Malus robusta* located on linkage group 3. *Plant Breed.* **126**, 470–475.
- Rezzonico F. & Duffy B., 2007. The role of luxS in the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* is limited to metabolism and does not involve quorum sensing. *Mol Plant-Microbe Interact.* **20**, 1284–1297.
- Szankowski I., Waidmann S., Degenhardt J., Patocchi A., Paris R., Silfverberg-Dilworth, E., Broggin G. & Gessler C., 2009. Highly scab resistant transgenic apple lines achieved by introgression of HcrVf2 controlled by different native promoter lengths. *Tree Gene. & Geno.* **5**, 349–358.
- Vanblaere T., Szankowski I., Schaart J., Schouten H., Flachowsky H., Broggin G.A.L. & Gessler C., 2011. The development of a cisgenic apple. *J. Biotechnol.* **157**, 304–311.
- Van Nocker S., Gardiner S., 2014. Breeding better cultivars, faster: applications of new technologies for the rapid deployment of superior horticultural tree crops. *Horticulture Research*. Volume 1: 14022.
- Vogt I., Wöhner T., Richter K., Flachowsky H., Sundin G.W., Wensing A., Savory E.A., Geider K., Day B., Hanke M. V. & Peil A., 2013. Gene-for-gene relationship in the host–pathogen system *Malus x robusta 5*-*Erwinia amylovora*. *New Phytol.* **197**, 1262–1273.