



ДНК-диагностика гена *RPV3*, определяющего устойчивость винограда к возбудителю милдью

Е.Т. Ильницкая¹✉, М.В. Макаркина¹, С.В. Токмаков¹, Л.Г. Наумова²

¹ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко, Новочеркасск, Россия

Милдью – одно из наиболее распространенных грибных заболеваний виноградной лозы, вызываемое *Plasmopara viticola*. Эффективным способом контроля распространения патогена является возделывание устойчивых сортов. Сорта *Vitis vinifera*, считаясь основой высококачественного виноградарства, практически не обладают генетической устойчивостью к *P. viticola*. Поиск доноров устойчивости – важный этап в селекции. Один из крупных локусов устойчивости к милдью, ген *Rpv3*, впервые был определен в генотипе сложного межвидового гибрида винограда Бианка. Позже было установлено, что этот ген имеет семь гаплотипов устойчивости, наследуемых от североамериканских видов винограда, идентифицировать аллельное состояние гена можно с помощью ДНК-маркеров UDV305 и UDV737. В одной диплоидной форме могут быть объединены только два гаплотипа. С целью определения гена *Rpv3* в генофонде винограда с использованием указанных маркеров нами проведено изучение 35 генотипов различного происхождения, большинство из которых – межвидовые сорта. Три сорта, аллельное состояние гена *Rpv3* в которых известно, были включены в исследование в качестве референсных генотипов: Дунавски лазур, Ноа, Сейв Виллард 12-375. Работа проведена методом полимеразной цепной реакции с разделением продуктов амплификации методом капиллярного электрофореза при использовании автоматического генетического анализатора ABI Prism 3130. В исследуемой выборке сортов винограда, согласно данным проведенного ДНК-маркерного анализа, ген *Rpv3* определен впервые в 16 генотипах межвидового происхождения, в том числе в ДНК 12 сортов идентифицирован гаплотип *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹, в трех – *Rpv3*³²¹⁻³¹², в одном сорте выявлен гаплотип *Rpv3*^{null-271}. В большинстве идентифицированных нами генотипов, несущих *Rpv3*, донором гена является Сейв Виллард 12-375. Сорта винограда, в которых были идентифицированы гаплотипы *Rpv3*, определяющие устойчивость, характеризуются высоким или повышенным уровнем устойчивости к милдью. Полученные данные могут быть полезны в селекции устойчивых сортов винограда при подборе пар для гибридизации.

Ключевые слова: виноград; устойчивость к милдью; ген *Rpv3*; гаплотип; ДНК-маркеры; межвидовые гибриды.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Ильницкая Е.Т., Макаркина М.В., Токмаков С.В., Наумова Л.Г. ДНК-диагностика гена *RPV3*, определяющего устойчивость винограда к возбудителю милдью. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(6):703-707. DOI 10.18699/VJ18.413

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Ilnitskaya E.T., Makarkina M.V., Tokmakov S.V., Naumova L.G. DNA-marker based identification of the *RPV3* gene determining downy mildew resistance in grapevines. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(6):703-707. DOI 10.18699/VJ18.413

УДК 582.782.2:632.4.01

Поступила в редакцию 12.02.2018

Принята к публикации 24.06.2018

© АВТОРЫ, 2018

✉ e-mail: ilnitskaya79@mail.ru

DNA-marker based identification of the *RPV3* gene determining downy mildew resistance in grapevines

E.T. Ilnitskaya¹✉, M.V. Makarkina¹, S.V. Tokmakov¹, L.G. Naumova²

¹ North-Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking, Krasnodar, Russia

² All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko, Novochechassk, Russia

Downy mildew is one of the most common fungal diseases of the vine, caused by *Plasmopara viticola*. An effective way to control the spread of the pathogen is to cultivate resistant varieties. Cultivars of *Vitis vinifera*, being the basis of high-quality viticulture, practically do not possess genetic resistance to *P. viticola*, so screening for resistance donors is an important stage in breeding. One of the major resistance loci to downy mildew, the *Rpv3* gene, was identified in the genotype of a complex interspecific hybrid of grapes Bianca. Later, it was found that this gene had seven haplotypes of resistance inherited from North American grape species, and that it was possible to identify the allelic status of the gene using DNA-markers UDV305, UDV737. However, only two haplotypes can be combined in one diploid form. To determine the *Rpv3* gene in the grape gene pool we, using these markers, studied 35 different genotypes of grapevines, most of which are interspecies cultivars. Three varieties with known allelic status of the *Rpv3* gene (Dunavski Lazur, Noah, Sayve Villard 12-375) were included in the study as reference genotypes. The genotypes were studied through polymerase chain reaction with separation of amplification products by capillary electrophoresis in automatic genetic analyzer ABI Prism 3130. In the studied grape cultivars DNA marker analysis identified the *Rpv3* gene in sixteen genotypes of interspecific origin, including haplotype *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹ found in twelve varieties, *Rpv3*³²¹⁻³¹² – in three, and haplotype *Rpv3*^{null-271} – in one variety. Sayve Villard 12-375 turned out to be the donor of resistance gene in the most of the genotypes carrying *Rpv3* in this study. The obtained data can be useful in selection of mildew resistant grape varieties and screening for hybridization pairs.

Key words: grapevine; resistance to downy mildew; gene *Rpv3*; haplotype; DNA-markers; interspecific hybrids.

Милдью – одно из самых распространенных и вредоносных грибных заболеваний винограда, вызывается биотрофным оомицетом *Plasmopara viticola* Berl. et de Toni. Патоген имеет узкую специализацию – поражает только виноград: развивается на всех зеленых органах виноградной лозы – листьях, побегах, соцветиях, ягодах, усиках. При благоприятных для развития милдью условиях (теплый температурный режим и повышенная влажность) гибель урожая на разных сортах может составлять от 50 до 100 % (Талаш, 2010).

Один из наиболее эффективных методов контроля заболеваний – возделывание устойчивых сортов, что позволяет сократить количество пестицидных обработок, тем самым улучшить экологию ампелоценоза и пищевую безопасность конечной продукции, повысить рентабельность производства.

Процесс создания новых форм базируется на использовании генетического разнообразия культуры, а успех селекционных работ во многом определяется уровнем познания накопленного генофонда. Идентификация генотипов – доноров устойчивости – актуальная задача селекции. Сорта *Vitis vinifera*, будучи основой высококачественного виноградарства, практически не обладают генетической устойчивостью к *Plasmopara viticola*. Генотипы, устойчивые к милдью, принадлежат к видам винограда Северной Америки и Азии (*V. aestivalis*, *V. berlandieri*, *V. cinerea*, *V. riparia*, *V. rupestris* и др.), а также *Muscadinia rotundifolia* (Alleweldt et al., 1988; Wan et al., 2007).

В настоящее время молекулярно-генетические методы широко применяют для идентификации и картирования генов ценных признаков, анализа генетического разнообразия генофонда и ДНК-маркерного отбора в селекционных программах различных культур.

При использовании методов молекулярной генетики удалось определить порядка 20 локусов устойчивости к милдью в геноме винограда (<http://www.vivc.de>). Многие из них картированы, им присвоены имена, идентифицированы сцепленные ДНК-маркеры, в том числе пригодные для ДНК-маркерной селекции (Eibach et al., 2007; Di Gaspero et al., 2012; Schwander et al., 2012; Venuti et al., 2013; Zini et al., 2014; Ochssner et al., 2016).

Один из крупных локусов устойчивости, *Rpv3*, впервые был определен и локализован на 18-й хромосоме в генотипе сложного межвидового гибрида винограда Бианка, несущего в себе генплазму *V. vinifera*, *V. labrusca*, *V. rupestris*, *V. berlandieri*, *V. lincecumii* (Bellin et al., 2009). Позже при масштабном исследовании устойчивых североамериканских сортов и форм, обладающих геном *Rpv3*, было определено наличие семи консервативных гаплотипов этого гена, определяющих устойчивость к милдью (Di Gaspero et al., 2012). Идентифицированные гаплотипы отсутствовали у сортов *V. vinifera*. Авторы пришли к выводу, что ген *Rpv3* может быть найден в селекционных формах, имеющих в родословной несколько североамериканских видов. Ценные гаплотипы локализуются в одном локусе, по этой причине в традиционной селекции возможно комбинировать только два гаплотипа в одной диплоидной форме. В результате проведенных исследований были определены тесно сцепленные фланкирующие микросателлитные маркеры, позволяющие идентифицировать

гаплотипы *Rpv3* гена: UDV305, UDV737 (Di Gaspero et al., 2012). Так, устойчивые гаплотипы гена *Rpv3* соответствуют следующим аллельным состояниям локусов UDV305, UDV737: *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹ (наследуется от *V. rupestris*), *Rpv3*^{null-297} (*V. rupestris* или *V. lincecumii*), *Rpv3*³²¹⁻³¹² (*V. labrusca* или *V. riparia*), *Rpv3*^{null-271} (*V. labrusca* или *V. riparia*), *Rpv3*³⁶¹⁻²⁹⁹ (*V. rupestris*), *Rpv3*²⁹⁹⁻³¹⁴ (*V. rupestris*), *Rpv3*^{null-287} (*V. rupestris* или *V. labrusca*). Более 200 сортов винограда проанализировано в исследованиях G. Di Gaspero с коллегами, определены генотипы, несущие устойчивые гаплотипы. Полученные данные могут быть использованы при подборе пар для гибридизации в селекции устойчивых сортов.

Цель настоящего исследования – идентификация аллельного состояния гена *Rpv3* в сортах винограда методом ДНК-маркерного анализа и сопоставление полученных данных с родословной генотипов.

Материалы и методы

Работа проведена на 35 сортах винограда, сохраняемых в генофонде Анапской ампелографической коллекции (г. Анапа) и в коллекции Всероссийского научно-исследовательского института виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко (г. Новочеркасск). Большинство сортов, включенных в исследование, – межвидовые гибриды, в том числе и отечественной селекции, среди родительских форм которых есть североамериканские виды винограда, и, согласно анализу родословной, они могут нести устойчивые гаплотипы гена *Rpv3*. В генплазме изучаемых сортов – потенциальных носителей исследуемого гена – присутствуют *V. riparia*, *V. labrusca*, *V. aestivalis*, *V. rupestris*, *V. berlandieri* и *V. lincecumii*. Было изучено также несколько генотипов, которые не должны обладать геном *Rpv3*, – сорта *V. vinifera* и их гибриды с амурским виноградом.

ДНК выделяли из молодых листьев типичных растений изучаемых сортов с применением методики на основе ЦТАБ (цетилтриметиламмоний бромид) (Rogers, Bendich, 1985). Изучение генотипов проведено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). В исследовании использовали ДНК-маркеры, рекомендованные для идентификации аллельного состояния гена *Rpv3* (Di Gaspero et al., 2012). ПЦР проводили в конечном объеме 25 мкл, согласно стандартному протоколу с применением реактивов производства ООО «Синтол» (Москва, Россия). Амплификацию ДНК осуществляли прибором Eppendorf Mastercycler gradient (Германия) по следующей программе для каждого ДНК-маркера: 5 мин при 95 °C – начальная денатурация, далее 35 циклов: 10 с денатурация при 95 °C, 30 с отжиг праймеров при 55 °C, 30 с синтез при 72 °C; последний цикл синтеза – 3 мин при 72 °C. Разделение продуктов реакции методом капиллярного электрофореза и оценка размера амплифицированных фрагментов проведены с помощью автоматического генетического анализатора ABI Prism 3130 и специального программного обеспечения GeneMapper и PeakScanner. В качестве контроля для уточнения размеров амплифицированных фрагментов в работу включали ДНК сортов Дунавски лазур, Сейв Виллар 12-375 и Ноа, размеры аллелей которых по изучаемым локусам известны (Di Gaspero et al., 2012).

Молекулярно-генетические исследования выполнены на оборудовании ЦКП «Геномные и постгеномные технологии» Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования определено аллельное состояние гена устойчивости к милдью *Rpv3* в генотипах 35 сортов вино-

града (таблица). Гаплотипы гена, определяющие устойчивость, идентифицированы в 19 сортах: Дунавски лазур, Ноа, Сейв Виллар 12-375, Декабрьский, Дунавска гымза, Оригинал, Талисман, Кутузовский, Кодрянка, Русбол, Сторгозия, R65, Кишмиш 342, Среброструй, VIII₂-2-48, Армалага, Полюкс, Подарок Магарача, Мелоди (рисунок).

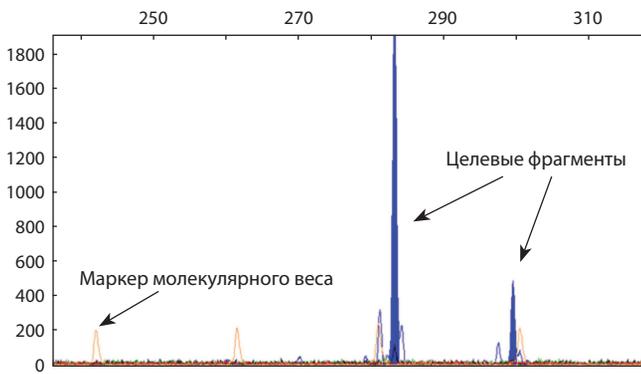
Гаплотип *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹ чаще других встречается в исследованной выборке сортов: он обнаружен в 14 генотипах

Результаты анализа генотипов винограда различного происхождения по микросателлитным локусам UDV305 и UDV737, сцепленным с *Rpv3* геном устойчивости к милдью*

Сорт (форма)	Происхождение	UDV305 UDV737			
		Размер аллелей, п. н.			
Дунавски лазур	Ркацители × СВ 12-375	299	326	279	295
Ноа	<i>Vitis riparia</i> × <i>Vitis labrusca</i>	321	0	271	312
Сейв Виллар 12-375	Зейбель 6468 × Зейбель 6905	299	361	279	299
Декабрьский	Корна нягра × СВ 12-375	299		279	285
Дунавска гымза	(Мавруд × Пино нуар) × СВ 12-375	299		279	293
Оригинал	Дамасская роза × СВ 20-365	299	322	279	
Талисман	Фрумоаса албэ × Восторг	299	326	279	295
Кутузовский	Молдавский × СВ 20-365	299		279	285
Кодрянка	Молдова × Маршалский	299		279	285
Русбол	СВ 12-375 × Сверххранний бессемянный	299		279	
Сторгозия	(Мавруд × Пино нуар) × СВ 12-375	299		279	295
R65	Зала дендь × (Глория × Королева виноградников) × Мускат зимний	299		279	289
Кишмиш 342	СВ12-375 × Перлет	299	342	279	
Среброструй	Ркацители × СВ12-375	299	326	279	295
VIII ₂ -2-48	Молдова × {Победа × [Катта-Курган × (Кишмиш розовый × Кишмиш белый)]}	299		279	
Армалага	(Армлонг × Малага)	321	334	271	312
Полюкс	Оберлен 595 (<i>V. riparia</i> × Гаме черный) × Фостер Уайт сидлис	229	321	312	
Подарок Магарача	Ркацители × Магарач 2-57-72	321		297	312
Мелоди	Сейваль блан × Женева вайт 5 (Пино блан × Онтарио)	0		271	
Веста	(Августа × <i>V. amurensis</i>) × (Кентавр магарачский × Левокумский)	231	285	293	297
В 7-2	<i>Vitis vinifera</i> × <i>Vitis labrusca</i>	0		295	312
Дойна	Корна нягра × (Каберне Совиньон × СВ 23-657)	290		279	285
Яловенский столовый	Ичкимар × СВ 20-366	299		281	295
Агадаи	Аборигенный дагестанский сорт <i>Vitis vinifera</i>	326		289	295
Альфа	<i>Vitis vinifera</i> × <i>Vitis riparia</i>	296		285	303
Антарис	Саперави × Цимлянский черный	326		301	295
Гранатовый	Саперави × Каберне-Совиньон	254		283	285
Голубок	Северный × (Вишневый + Одесский ранний + 1-17-54)	322		285	295
Дмитрий	Варусет × Гранатовый	254		285	295
Достойный	Филлоксероустойчивый Джемте × Мускат гамбургский	320		293	295
Красностоп АЗОС	Филлоксероустойчивый Джемте × Красностоп анапский	320		293	295
Муромец	Северный × Победа	342		285	
Поморийски бисер	Мискет червен × СВ 12-375	300		293	301
Цветочный	Северный × смесь пыльцы мускатных сортов	322	333	285	
Фиолетовый ранний	Северный × Мускат гамбургский	300		293	301

Примечание. СВ – Сейв Виллар.

* Данные по идентифицированным аллелям приведены в соответствии с оформлением результатов исследования (Di Gaspero et al., 2012).



Визуализация результата фрагментного анализа продуктов ПЦР с маркером UDV737 сорта Сторгозия.

(см. таблицу), в том числе в 12 сортах *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹ идентифицирован впервые.

Гаплотип *Rpv3*³²¹⁻³¹² впервые определен в трех сортах: Армалага, Полюкс, Подарок Магарача. ДНК-маркерный анализ выявил гаплотип *Rpv3*^{null-271} только в одном сорте (Мелоди). *Rpv3*³²¹⁻³¹² и *Rpv3*^{null-271} несет также сорт Ноа, использованный в работе в качестве одного из референсных генотипов.

Гаплотип *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹, идентифицированный нами в сортах Декабрьский, Дунавска гымза, Оригинал, Талисман, Кутузовский, Кодрянка, Русбол, Сторгозия, R65, Кишмиш 342, Среброструй, VIII₂-2-48, наследуется из генплазмы *V. rupestris*, согласно опубликованным данным. В анализируемой выборке сортов шесть генотипов из двенадцати, в которых был обнаружен *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹, унаследовали аллель устойчивости напрямую от родительской формы Сейв Виллар 12-375: сорта Декабрьский, Дунавска гымза, Русбол, Сторгозия, Кишмиш 342, Среброструй. Гибриды Сейв Виллара – сложные межвидовые гибриды, активно используются в селекции винограда как доноры устойчивости. Сейв Виллар 12-375 – один из наиболее известных гибридов этой серии, несет в себе генплазму *V. vinifera*, *V. labrusca*, *V. rupestris*, *V. berlandieri* и *V. lincecumii*. В сорте Кодрянка и форме VIII₂-2-48 гаплотип *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹ унаследован от родительского сорта Молдова (Гузаль кара × Сейв Виллар 12-375), т. е. донором гена является также Сейв Виллар 12-375. Согласно родословной форме R65 (Зала дендь (Сейв Виллар 12-375 × Жемчуг Саба) × (Глория × Королева виноградников) × Мускат зимний), аллель устойчивости унаследован от Сейв Виллар 12-375. Однако в сорте Поморийски бисер, одним из родителей которого считается Сейв Виллар 12-375, гаплотип гена *Rpv3*, влияющий на устойчивость к милдью, не обнаружен.

В генотипе сорта Талисман аллель, определяющий устойчивость, унаследован от сорта Фрумоаса албэ, один из родителей которого – Сейв Виллар 20-473. В сортах Оригинал и Кутузовский донор гена устойчивости – Сейв Виллар 20-365.

Считается, что гаплотип устойчивости *Rpv3*^{null-271} происходит изначально из *V. labrusca* или *V. riparia*. Указанный гаплотип определен нами в сорте американской селекции Мелоди. Изначально, анализируя родословную сорта (Сейваль блан × Женева вайт 5 (Пино блан × Онта-

рио)) для включения его в работу как потенциального источника гена, мы предполагали, что донором устойчивости в генотипе Мелоди может быть Сейваль блан (синоним Сейв Виллар 5-276), в генетической формуле которого присутствуют *V. rupestris* и *V. aestivalis*. Однако, если исходить из того, что *Rpv3*^{null-271} наследуется от *V. labrusca* или *V. riparia*, то указанный аллель устойчивости в сорте Мелоди унаследован от Онтарио (25 % *V. vinifera* + 75 % *V. labrusca*).

Гаплотип *Rpv3*³²¹⁻³¹² был определен в сортах Армалага, Полюкс, Подарок Магарача. Источники этого устойчивого гаплотипа, по литературным данным, – *V. labrusca* или *V. riparia*. В сорте Армалага *Rpv3*³²¹⁻³¹² унаследован от *V. labrusca*, в сорте Полюкс – от *V. riparia*, согласно происхождению сортов. Родословная сорта Подарок Магарача достоверно не определена. Одной из родительских форм, от которой предположительно и унаследована устойчивость, является Магарач 2-57-72 (Мцване × Сочинский черный). Сорт Сочинский черный утерян; первоначально он был найден П.Я. Голодригой в окрестностях г. Сочи, и его точное генетическое происхождение неизвестно, но по передаваемой им потомству высокой устойчивости к грибным патогенам считается, что это межвидовой гибрид. По полученным нами данным можно предположить, что в родословной этого сорта были *V. labrusca* или *V. riparia*.

Заключение

Проведен анализ 35 генотипов винограда различного происхождения по исследованию наличия в них гена устойчивости к милдью *Rpv3* с использованием ДНК-маркеров UDV305, UDV737. В 19 сортах, согласно данным ДНК-анализа, обнаружен ген *Rpv3*, в том числе в ДНК трех сортов, информация о наличии гена у которых была опубликована ранее. Указанные маркеры позволяют идентифицировать определенный гаплотип устойчивости *Rpv3* гена. Так, в 12 генотипах винограда межвидового происхождения впервые определен гаплотип *Rpv3*²⁹⁹⁻²⁷⁹, в трех – *Rpv3*³²¹⁻³¹², в одном сорте выявлен гаплотип *Rpv3*^{null-271}. Данные о наличии гена устойчивости к милдью *Rpv3* в сортах винограда Декабрьский, Дунавска гымза, Оригинал, Талисман, Кутузовский, Кодрянка, Русбол, Сторгозия, R65, Кишмиш 342, Среброструй, VIII₂-2-48, Армалага, Полюкс, Подарок Магарача, Мелоди получены впервые. Все генотипы, в которых были идентифицированы устойчивые гаплотипы *Rpv3*, характеризуются высоким или повышенным уровнем устойчивости к милдью, по многолетним наблюдениям (Петров, Талаш, 2010; Трошин, Радчевский, 2010).

Результаты исследования будут полезны в селекции винограда при подборе исходных форм с целью создания сортов с устойчивостью к милдью. По результатам ДНК-анализа можно предположить, что в родительских формах сорта Подарок Магарача, родословная которого не совсем ясна, могли быть межвидовые формы, несущие генплазму *V. labrusca* или *V. riparia*.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Администрации Краснодарского края (грант № 16-44-230314 p_a).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

- Петров В.С., Талаш А.И. Устойчивость сортов винограда к вредным организмам. Краснодар, 2010. [Petrov V.S., Talash A.I. Pest Resistance in Grape Varieties. Krasnodar, 2010. (in Russian)]
- Талаш А.И. Категории вредоносности вредителей и болезней на виноградниках. Плодоводство и виноградарство Юга России. 2010;4(3):24-29. [Talash A.I. Grades of pest harmfulness in vineyards. Plodovodstvo i Vinogradarstvo Yuga Rossii = Fruit Growing and Viticulture of South Russia. 2010;4(3):24-29. (in Russian)]
- Трошин Л.П., Радчевский П.П. Виноград: иллюстрированный каталог. Районированные, перспективные, тиражные сорта. Ростов н/Д., 2010. [Troshin L.P., Radchevskiy P.P. Grapevine: Illustrated Catalog. Released, Promising, and Mass-Production Varieties. Rostov n/D., 2010. (in Russian)]
- Alleweldt G., Possingham J.V. Progress in grapevine breeding. Theor. Appl. Genet. 1988;75:669-673.
- Bellin D., Peressotti E., Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Adam-Blondon A.F., Cipriani G., Di Gaspero G. Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine "Bianca" is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. Theor. Appl. Genet. 2009;120(1):163-176. DOI 10.1007/s00122-009-1167-2.
- Di Gaspero G., Copetti D., Coleman C., Castellarin S.D., Eibach R., Kozma P., Lacombe T., Gambetta G., Zvyagin A., Cindrić P., Kovács L., Morgante M., Testolin R. Selective sweep at the *Rpv3* locus during grapevine breeding for downy mildew resistance. Theor. Appl. Genet. 2012;124:227-286. DOI 10.1007/s00122-011-1703-8.
- Eibach R., Zyprian E., Welter L., Töpfer R. The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. Vitis. 2007;46:120-124.
- International Variety Catalogue VIVC. Julius Kuhn-Institut. <http://www.vivc.de>.
- Ochssner I., Hausmann L., Töpfer R. *Rpv14*, a new genetic source for *Plasmopara viticola* resistance conferred by *Vitis cinerea*. Vitis: J. Grapevine Res. 2016;55(2):79-81. DOI 10.5073/vitis.2016.55.79-81.
- Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. Plant Mol. Biol. 1985;19(1):69-76.
- Schwander F., Eibach R., Fechter I., Hausmann L., Zyprian E., Töpfer R. *Rpv10*: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. Theor. Appl. Genet. 2012;124(1):163-176. DOI 10.1007/s00122-011-1695-4.
- Venuti S., Copetti D., Foria S., Falginella L., Hoffmann S., Bellin D., Di Gaspero G. Historical introgression of the downy mildew resistance gene *Rpv12* from the Asian species *Vitis amurensis* into grapevine varieties. PLoS ONE. 2013;8(4):1-7. DOI 10.1371/journal.pone.0061228.
- Wan Y., Schwaninger H., He P., Wang Y. Comparison of resistance to powdery mildew and downy mildew in Chinese wild grapes. Vitis. 2007;46:132-136.
- Zini E., Raffener M., Di Gaspero G., Eibach R., Grando M.S., Letschka T. Applying a defined set of molecular markers to improve selection of resistant grapevine accessions. Acta Horticulturae. 2014; 1082:73-78. DOI 10.17660/ActaHortic.2015.1082.9.