УДК 575.11: 634.8

DOI: 10.30679/2219-5335-2019-1-55-36-44

АПРОБАЦИЯ ДНК-МАРКЕРОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ГЕНОМ *RPV12* УСТОЙЧИВОСТИ ВИНОГРАДА К МИЛДЬЮ [1]

Ильницкая Елена Тарасовна
канд. биол. наук
зав. лабораторией сортоизучения
и селекции винограда

Макаркина Марина Викторовна
аспирант
лаборатория сортоизучения
и селекции винограда

Токмаков Сергей Вячеславович
канд. биол. наук
научный сотрудник
лаборатории генетики
и микробиологии

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», Краснодар, Россия

Наумова Людмила Георгиевна
канд. с.-х. наук
вед. научный сотрудник
лаборатории ампелографии

Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный Ростовский аграрный научный центр», Новочеркасск, Россия

Милдью – одно из наиболее распространенных и вредоносных заболеваний виноградной лозы, вызывается биотрофным оомицетом *Plasmopara viticola*. Заболевание наносит существенный ущерб урожаю винограда,

UDC 575.11: 634.8

DOI: 10.30679/2219-5335-2019-1-55-36-44

APPROBATION OF DNA-MARKERS LINKED TO GRAPEVINE *RPV12* GENE OF RESISTANCE TO DOWNY MILDEW

Ilnitskaya Elena Tarasovna
Cand. Biol. Sci.
Head of Laboratory of Cultivar's study
and Breeding of Grapes

Makarkina Marina Victorovna
Post-graduate student
of Laboratory of Cultivar's Study
and Breeding of Grapes

Tokmakov Sergey Vyacheslavovich
Cand. Biol. Sci.
Research Associate
of Laboratory of Genetics
and Microbiology

Federal State Scientific Budget Institution «North-Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking», Krasnodar, Russia

Naumova Lyudmila Georgievna
Cand. Agr. Sci.
Leading Research Associate
of Ampelographic Laboratory

All-Russian Research Institute named after Ya.I. Potapenko for Viticulture and Winemaking – branch of Federal State Budget Scientific Institution «Federal Rostov Agricultural Research Center», Novocherkassk, Russia

Downy mildew is one of the most common and harmful diseases of the grapevine, caused by the biotrophic oomycete *Plasmopara viticola*. The disease causes significant damage to the grape harvest and gets

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

[1] This work was financial supported by the Russian Fund for Basic Research and the Administration of the Krasnodar Region (grant No. 16-44-230314 p_a).

ухудшает его качество. Одним из наиболее эффективных методов контроля заболевания является выращивание устойчивых сортов винограда. У сортов винограда *Vitis vinifera* (основа современного высококачественного сортимента) практически не наблюдается генетической устойчивости к данному заболеванию. Генотипы, обладающие устойчивостью к милдью, относятся к сортам винограда Северной Америки и Азии, а также *Muscadinia rotundifolia.* Поиск доноров устойчивости и вовлечение их в процесс создания новых высокоустойчивых генотипов – важная задача современной селекции и генетики. На сегодняшний день удалось определить более 20 локусов устойчивости к милдью в геноме винограда. Ген *Rpv12* был выявлен S.Venuti и др. методом QTL-анализа. Был также определен набор ДНК-маркеров, сонаследуемых с геном *Rpv12* и рекомендуемых для ДНК-маркерной селекции. Донором данного гена устойчивости является дикий амурский виноград. Нами проведено исследование методом ПЦР генотипов винограда – потенциальных носителей гена, согласно их родословной, с помощью ДНК-маркеров (UDV343, UDV360), сцепленных с геном устойчивости к милдью *Rpv12*. Разделение продуктов реакции выполнено методом капиллярного электрофореза с использованием автоматического генетического анализатора ABI Prism 3130. Для апробации ДНК-маркеров в работу включили ДНК сортов Кунлеань, Заря Севера, в которых по литературным данным присутствует ген *Rpv12*, а также сортов – отрицательных контролей (Каберне Совиньон и Шардоне), которые не несут ген устойчивости. Целевые ПЦР-продукты определены в генотипах Кунлеань, Заря Севера, что соответствует литературным данным, а также в генотипах сортов Степняк и Восторг.

Ключевые слова: ДНК-МАРКЕРЫ, ВИНОГРАД, ГЕНЫ УСТОЙЧИВОСТИ К МИЛДЬЮ, *RPV12*

worse its quality. One of the most effective methods to control the disease is the cultivation of resistant grape varieties. The grape varieties *Vitis vinifera* (the basis of the modern high-quality assortment) practically have not the genetic resistance to this disease. Downy mildew resistant genotypes belong to the North American and Asian grape varieties, as well as *Muscadinia rotundifolia*. The search for resistance donors and their inclusion in the process of creating the new highly resistant genotypes is an important task of modern breeding and genetics. Today, more than 20 loci of resistance to downy mildew have been identified in the genome of grapes. *Rpv12* gene was identified by S. Venuti et al. using QTL analysis. A set of DNA markers associated with the *Rpv12* gene was also detected and recommended for DNA-marker breeding. The donor of this resistance gene is wild *Vitis amurensis*. We conducted a PCR study of the grape genotypes – potential gene carriers, according to their pedigree, using DNA markers (UDV343, UDV360) linked to the downy mildew resistance gene *Rpv12*. The separation of the reaction products was made by capillary electrophoresis using an automatic ABI Prism 3130 genetic analyzer. For DNA-markers testing, DNA of the Kunleany and Zarya Severa varieties was included in the work. According to the literature, the *Rpv12* gene is presented in these varieties. Also, the varieties that do not carry the resistance gene (Cabernet Sauvignon and Chardonnay) were included in the work as negative controls. Targeted PCR products are identified in the Kunleany and Zarya Severa genotypes, that corresponds to the literature data, as well as in the genotypes Stepnyak and Vostorg.

Key words: DNA-MARKERS, GRAPEVINE, DOWNY MILDEW RESISTANCE GENES, *RPV12*

Введение. Милдью – одно из наиболее распространенных и вредоносных заболеваний виноградной лозы, вызывается биотрофным оомицетом *Plasmopara viticola* Berl. et de Toni. В условиях Краснодарского края милдью в среднем за 10 лет развивается в виде эпифитотии 3-5 раз. Эпифитотийному развитию милдью способствуют частые дожди, туманы, росы и поливы [1]. Заболевание наносит существенный ущерб урожаю винограда, ухудшает его качество. В случае сильного поражения виноградных растений милдью наблюдается снижение урожайности и в следующем году, вследствие общего ослабления растений, снижается зимостойкость кустов.

Одним из наиболее эффективных методов борьбы с заболеванием является выращивание устойчивых сортов винограда, что позволяет сократить количество пестицидных обработок, улучшить в целом экологию ампелоценоза, повысить рентабельность производства. Создание новых устойчивых сортов основано на поиске доноров, уточнении механизмов устойчивости, оптимизации селекционного процесса. Современные методы генетики и молекулярной биологии значительно расширяют возможности проводимых исследований в данном направлении.

На сегодняшний день удалось определить более 20 локусов устойчивости к милдью в геноме винограда [2-15]. У сортов *Vitis vinifera* (основа современного высококачественного сортимента) практически не наблюдается генетической устойчивости к данному заболеванию. Генотипы, обладающие устойчивостью к милдью, относятся к сортам винограда Северной Америки и Азии (*V. aestivalis, V. berlandieri, V. cinerea, V. riparia, V. rupestris* и др.), а также *Muscadinia rotundifolia* [16, 17].

Считается, что устойчивость к патогену развивалась одновременно с патогеном, который является эндемиком Северной Америки. Предполагают, что у вида *V. amurensis* устойчивость к *P. viticola* могла развиться, эволюционировав от устойчивости к *P. cissii* и *P. amurensis*, которые являются эндемиками Азии [18].

Амурский виноград (*V. amurensis*) произрастает естественным образом в прохладном климате Северо-Восточной Азии. Устойчивость к патогену *P. viticola* характерна диким экотипам, распространённым в китайской Манчжурии, а также собранным советскими ботаниками в Сибири, которые были использованы для интрогрессии устойчивости в культурный виноград (*V. vinifera*) путём гибридизации [19, 20].

Исследованиями S. Venuti и другим методом QTL-анализа был выявлен доминантный ген *Rpv12* на 14 хромосоме, происходящий из *V. amurensis*, который определял 79 % фенотипической дисперсии устойчивости к милдью и наследовался независимо от других генов устойчивости [13]. Анализ родословных изучаемых сортов винограда в этом исследовании показал, что донорами данного гена являются сорта – гибриды первого поколения с диким амурским виноградом Заря Севера и Мичуринец. S. Venuti и др. был выявлен набор ДНК-маркеров, сонаследуемых с геном *Rpv12* и рекомендуемых для ДНК-маркерной селекции.

Исследованиями этого же коллектива был показан аддитивный эффект генов *Rpv12* и *Rpv3* (наследуется от северо-американских видов винограда). Таким образом, пирамидирование данных генов устойчивости в одном генотипе позволяет увеличить естественную резистентность растений винограда к поражению милдью. Позже *Rpv 12* был найден в сорте Кунлеань ((*V. vinifera* x *V. amurensis*) x Карабурну) [21].

Поиск доноров устойчивости и вовлечение их в процесс создания новых высокоустойчивых генотипов – важная задача современной селекции и генетики растений, в том числе и культуры винограда.

Цель проводимой работы – апробация ДНК-маркеров, сцепленных с геном *Rpv12,* для выделения доноров данного гена в отечественном генофонде винограда и дальнейшей селекции комплексно устойчивых сортов с применением технологии ДНК-маркерного отбора.

Объекты и методы исследований. Для апробации ДНК-маркеров в работу включили ДНК сортов – контролей (Кунлеань, Заря Севера), в которых по литературным данным присутствует ген *Rpv12*, а также сортов, которые потенциально могут нести ген устойчивости, согласно их родословной. В качестве отрицательных контролей использовали ДНК сортов Каберне Совиньон и Шардоне, которые не несут ген устойчивости.

Образцы ДНК выделяли методом с применением ЦТАБ-буфера из молодых листьев апикальной части побегов растений, произрастающих на Российской ампелографической коллекции (г. Анапа) и на ампелографической коллекции Всероссийского НИИ виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко (г. Новочеркасск). ПЦР осуществляли согласно стандартной процедуре, с выполнением предварительной оптимизации ряда параметров, таких как температура отжига праймеров, длительность циклов отжига праймеров и элонгации ампликона, общее количество циклов, концентрация в реакционной смеси дезоксинуклеотидтрифосфатов. ПЦР проводили в конечном объеме 25 мкл с использованием реактивов производства ООО «СибЭнзим» (Россия, Новосибирск). Нуклеотидную последовательность праймерных пар взяли из литературных источников [13].

Праймерные олигонуклеотиды использовали с флуоресцентной меткой R6g (UDV343) и Rox (UDV360) производства ООО «Синтол» (Россия, Москва). Работу выполняли с использованием автоматического генетического анализатора ABI Prism 3130. Анализ ПЦР-продуктов методом фрагментного анализа на автоматическом генетическом анализаторе позволяет получать высокоточные данные, которые соответствуют требованиям, предъявляемым в мире к подобным работам. Молекулярно-генетические исследования выполнены на оборудовании ЦКП «Геномные и постгеномные технологии» Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия.

Обсуждение результатов. Результаты, полученные нами при апробации ДНК-маркеров, представлены в таблице.

Результаты ПЦР-анализа с ДНК-маркерами UDV343 и UDV360

Сорт	Размеры ПЦР-продуктов, пары нуклеотидов			
	UDV343		UDV360	
Кунлеань	**164,33**	195,76	**213,22**	216,04
Заря Севера	**164,45**	200,93	206,94	**213,12**
Лоза горянки	216,54	220,66	198,4	206,88
Краса Севера	199,74		192,21	217,53
Буйтур	193,84		184,76	215,3
Памяти Домбковской	199,68	216,48	198,4	206,85
Восторг	**164,49**	216,58	206,87	**213,22**
Степняк	**164,34**	195,71	192,19	**213,22**
Шардоне	195,7	216,5	206,81	209,07
Каберне Совиньон	195,66		192,17	204,72

По полученным данным видно, что в генотипах сортов Кунлеань и Заря Севера по локусу UDV343 обнаружен ПЦР-продукт размером в 164 пары нуклеотидов; по локусу UDV360 – в 213 пары нуклеотидов. Данные значения в нашем анализе можно считать коррелирующими с геном устойчивости. В ДНК сортов Шардоне и Каберне Совиньон ПЦР-продукты указанных размеров отсутствуют. Среди шести сортов, которые могут потенциально нести ген *Rpv12*, согласно сведениям об их родословных. В двух генотипах (Восторг, Степняк) обнаружены ПЦР-продукты, соответствующие по размеру ПЦР-продуктам с ДНК сортов – положительных контролей (см. табл.).

Сорт Восторг имеет следующее происхождение: (Заря Севера х Долорес) х Русский ранний (Шасла северная х Мичуринец). Таким образом, ген устойчивости мог быть унаследован как от сорта Заря Севера, так и от сорта Мичуринец, по опубликованным данным эти генотипы несут *Rpv12* [9].

Сорт Степняк ((Гетш х *V. amurensis*) х Сибирьковый) мог унаследовать ген непосредственно от дикого амурского винограда. По данным многолетних полевых наблюдений, сорта Восторг и Степняк характеризуются повышенной устойчивостью к милдью в сравнении с сортами вида *V. vinifera.*

Заключение. Проведена апробация ДНК-маркеров UDV343 и UDV360, сцепленных с геном *Rpv12* и рекомендованных для проведения ДНК-маркерного отбора в селекции винограда. Получены целевые фрагменты. По данным проведённого ПЦР-анализа с указанными ДНК-маркерами, сорта винограда Восторг и Степняк несут ген устойчивости к милдью *Rpv12*.

Литература

1. Талаш А.И. Защита винограда от болезней и вредителей. – Краснодар: ФГБНУ СКЗНИИСиВ, 2015. – 299 с.

2. Vitis International Variety Catalogue VIVC. Data on breeding and genetics – latest versions: Table of Loci for Traits in Grapevine Relevant for Breeding and Genetics / Julius Kuhn-Institut. – UPL: http://www.vivc.de/docs/dataonbreeding/20181001_Table%20of%20Loci%20for%20Traits%20in%20Grapevine.pdf (дата обращения 2018-11-21.).

3. Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Coste P., Dumas V., Haetty S., Butterlin G., Greif C. Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia* // Acta Horticulturae – 2003. – Vol. 603. P. 451–456.

4. Wiedemann-Merdinoglu S., Prado E., Schneider C., Coste P., On-Imus C., Dumas V., Merdinoglu D. Resistance to downy mildew derived from *Muscadinia rotunfifolia*: genetic analysis and use of molecular markers for breeding // Proceedings of 5th International Workshop on Grapevine Downy Mildew and Powdery Mildew, 18–23 June, San Michele all Adige – 2006. P. 28.

5. Welter L. J., Göktürk-Baydar N., Akkurt M., Maul E., Eibach R., Töpfer R., Zyprian E. M. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L) // Molecular Breeding– 2007. – Vol. 20, No. 4. P. 359–374.

6. Di Gaspero G., Copetti D., Coleman C., Castellarin S. D., Eibach R., Kozma P., Lacombe T., Gambetta G., Zvyagin A., Cindric P., Kovacs L., Morgante M., Testolin R. Selective sweep at the *Rpv3* locus during grapevine breeding for downy mildew resistance // Theoretical and Applied Genetics – 2012. – Vol. 124. P. 227–286.

7. Marguerit E., Boury C., Manicki A., Donnart M., Butterlin G., Némorin A., Decroocq S. Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine // Theoretical and Applied Genetics – 2009. – Vol. 118, No. 7. P. 1261–1278.

8. 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 // Theoretical and Applied Genetics – 2009. – Vol. 120, No. 1. P. 163–176.

9. Blasi P., Blanc S., Wiedemann-Merdinoglu S., Prado E., Rühl E. H., Mestre P., Merdinoglu D. Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of *Rpv8*, a locus conferring resistance to grapevine downy mildew // Theoretical and applied genetics – 2011. – Vol. 123, No. 1. – P. 43–53.

10. Moreira F. M., Madini A., Marino R., Zulini L., Stefanini M., Velasco R., Grando M. S. Genetic linkage maps of two interspecific grape crosses (*Vitis spp*.) used to localize quantitative trait loci for downy mildew resistance // Tree Genetics and Genomes – 2011. – Vol. 7, No. 1. P. 153–167.

11. 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 // Theoretical and Applied Genetics – 2012. – Vol. 124, No. 1. P. 163–176.

12. Fischer B. M., Salakhutdinov I., Akkurt M., Eibach R., Edwards K. J., Töpfer R., Zyprian E. M. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine // Theoretical and Applied Genetics – 2004. – Vol. 108, No. 3. P. 501–515.

13. Venuti S., Copetti D., Foria S., Falginella L., Hoffmann S., Bellin D., Di Gaspero D. Historical introgression of the downy mildew resistance gene *Rpv12* from the Asian species *Vitis amurensis* in to grapevine varieties // PloS One – 2013. – Vol. 8, No. 4. P. 1–7.

14. Ochßner I., Hausmann L., Töpfer R. *Rpv14*, a new genetic source for *Plasmopara viticola* resistance conferred by *Vitis cinerea* // Vitis-Journal of Grapevine Research – 2016. – Vol. 55, No. 2. P. 79–81.

15. Divilov K., Barba P., Cadle-Davidson L., Reisch B. I. Single and multiple phenotype QTL analyses of downy mildew resistance in interspecific grapevines // Theoretical and Applied Genetics – 2018. – Vol. 131, No. 5. P. 1133–1143.

16. Wan Y., Schwaninger H., He P., Wang Y. Comparison of resistance to powdery mildew and downy mildew in Chinese wild grapes // Vitis-Journal of Grapevine Research – 2007. – Vol. 46. P. 132–136.

17. Alleweldt G., Possingham J. V. Progress in grapevine breeding // Theoretical and Applied Genetics – 1988. – Vol. 75. P. 669–673.

18. Riaz S., Tenscher A.C., Ramming D.W., Walker M.A. Using a limited mapping strategy to identify major QTLs for resistance to grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) and their use in marker-assisted breeding // Theoretical and applied genetics – 2011. – Vol. 122, No. 6. P. 1059–1073.

19. Vavilov and his institute. A history of the world collection of plant genetic resources in Russia / I. G. Loskutov. – Rome, Italy: IPGRI, 1999. – 188 p.

20. Fangmei L., Fengqin Z. Grape breeding in China // Proceedings of the Fifth International Symposium on Grape Breeding. – 1989. – P. 212–215.

21. Zini E., Raffeiner 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 – 2015. – Vol. 1082. P. 73–78.

22. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology – 1985. –Vol. 19, No. 1. P. 69–76.

References

1. Talash A.I. Zashchita vinograda ot boleznej i vreditelej. – Krasnodar: FGBNU SKZNIISiV, 2015. – 299 s.

2. Vitis International Variety Catalogue VIVC. Data on breeding and genetics – latest versions: Table of Loci for Traits in Grapevine Relevant for Breeding and Genetics / Julius Kuhn-Institut. – UPL: http://www.vivc.de/docs/dataonbreeding/20181001_Table%20of%20Loci%20for%20Traits%20in%20 Grapevine.pdf (data obrashcheniya 2018-11-21.).

3. Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Coste P., Dumas V., Haetty S., Butterlin G., Greif C. Genetic analysis of downy mildew re-sistance derived from Muscadinia rotundifolia // Acta Horticulturae – 2003. – Vol. 603. P. 451–456.

4. Wiedemann-Merdinoglu S., Prado E., Schneider C., Coste P., On-Imus C., Dumas V., Merdinoglu D. Resistance to downy mildew derived from Muscadinia rotunfifolia: genetic analysis and use of molecular markers for breeding // Proceedings of 5th International Workshop on Grapevine Downy Mildew and Powdery Mildew, 18–23 June, San Michele all Adige – 2006. P. 28.

5. Welter L. J., Göktürk-Baydar N., Akkurt M., Maul E., Eibach R., Töpfer R., Zyprian E. M. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grape-vine (Vitis vinifera L) // Molecular Breeding– 2007. – Vol. 20, No. 4. P. 359–374.

6. Di Gaspero G., Copetti D., Coleman C., Castellarin S. D., Eibach R., Kozma P., Lacombe T., Gambetta G., Zvyagin A., Cindric P., Kovacs L., Morgante M., Testolin R. Selective sweep at the Rpv3 locus during grape-vine breeding for downy mildew resistance // Theoretical and Applied Genetics – 2012. – Vol. 124. P. 227–286.

7. Marguerit E., Boury C., Manicki A., Donnart M., Butterlin G., Némorin A., Decroocq S. Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine // Theoretical and Applied Genetics – 2009. – Vol. 118, No. 7. P. 1261–1278.

8. 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 // Theoretical and Applied Genetics – 2009. – Vol. 120, No. 1. P. 163–176.

9. Blasi P., Blanc S., Wiedemann-Merdinoglu S., Prado E., Rühl E. H., Mestre P., Merdinoglu D. Construction of a reference linkage map of Vitis amurensis and genetic mapping of *Rpv 8*, a locus conferring resistance to grapevine downy mildew // Theoretical and applied genetics – 2011. – Vol. 123, No. 1. – P. 43–53.

10. Moreira F. M., Madini A., Marino R., Zulini L., Stefanini M., Velasco R., Grando M. S. Genetic linkage maps of two interspecific grape crosses (Vitis spp.) used to localize quantitative trait loci for downy mildew resistance // Tree Genetics and Genomes – 2011. – Vol. 7, No. 1. P. 153–167.

11. 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 // Theoretical and Applied Genetics – 2012. – Vol. 124, No. 1. P. 163–176.

12. Fischer B. M., Salakhutdinov I., Akkurt M., Eibach R., Edwards K. J., Töpfer R., Zyprian E. M. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine // Theoretical and Applied Genetics – 2004. – Vol. 108, No. 3. P. 501–515.

13. Venuti S., Copetti D., Foria S., Falginella L., Hoffmann S., Bellin D., Di Gaspero D. Historical introgression of the downy mildew resistance gene Rpv12 from the Asian species Vitis amurensis in to grapevine varieties // PloS One – 2013. – Vol. 8, No. 4. P. 1–7.

14. Ochßner I., Hausmann L., Töpfer R. Rpv14, a new genetic source for Plasmopara viticola resistance conferred by Vitis cinerea // Vitis-Journal of Grapevine Research – 2016. – Vol. 55, No. 2. P. 79–81.

15. Divilov K., Barba P., Cadle-Davidson L., Reisch B. I. Single and multiple phenotype QTL analyses of downy mildew resistance in interspecific grapevines // Theoretical and Applied Genetics – 2018. – Vol. 131, No. 5. P. 1133–1143.

16. Wan Y., Schwaninger H., He P., Wang Y. Comparison of resistance to powdery mildew and downy mildew in Chinese wild grapes // Vitis-Journal of Grapevine Research – 2007. – Vol. 46. P. 132–136.

17. Alleweldt G., Possingham J. V. Progress in grapevine breeding // Theoretical and Applied Genetics – 1988. – Vol. 75. P. 669–673.

18. Riaz S., Tenscher A.C., Ramming D.W., Walker M.A. Using a limited mapping strategy to identify major QTLs for resistance to grapevine powdery mildew (Erysiphe necator) and their use in marker-assisted breeding // Theoretical and applied genetics – 2011. – Vol. 122, No. 6. P. 1059–1073.

19. Vavilov and his institute. A history of the world collection ofplant genetic resources in Russia / I. G. Loskutov. – Rome, Italy: IPGRI, 1999. – 188 p.

20. Fangmei L., Fengqin Z. Grape breeding in China // Proceedings of the Fifth International Symposium on Grape Breeding. – 1989. – P. 212–215.

21. Zini E., Raffeiner 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 – 2015. – Vol. 1082. P. 73–78.

22. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology – 1985. –Vol. 19, No. 1. P. 69–76.