

Lisztharmat ellenálló és fogékony szőlő genotípusok szelekciója molekuláris markerekkel

Molnár Stella¹ – Galbács Zsuzsanna¹ –
Halász Gábor² – Hoffmann Sarolta³ –
Veres Anikó¹ – Szőke Antal¹ – Galli Zsolt¹ –
Szádeczky-Kardoss Bence¹ – Kozma Pál³ –
Kiss Erzsébet¹ – Heszky László¹

¹Szent István Egyetem

Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Genetika és Biotechnológiai Intézet, Gödöllő

²Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau,
Klosterneuburg, Austria

³FVM Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete, Pécs
molnar.stella@mkk.szie.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

A legfontosabb gombabetegségekkel (lisztharmat és peronoszpóra) szemben rezisztens versenyképes minőségű fajták előállítására a szőlőnemesítés egyik fő célja. A szőlő rezisztencia nemesítésben a XX. században a legjelentősebb sikereket francia kutatók érték el. A szőlőtermesztési területük több mint 30%-án termesztettek rezisztens fajtákat, amelyekben észak-amerikai vad *Vitis* fajokat használtak rezisztenciagén forrásként. A *Muscadinia rotundifolia* immunitás szintű lisztharmat rezisztenciájának felfedezése új lehetőséget nyitott a szőlő rezisztencia nemesítésben. A *Muscadinia rotundifolia* egy domináns lisztharmat rezisztenciagént tartalmaz (Run1), amely *Vitis vinifera* fajjal történő visszakeresztezés során a minőségi fajtákban is rezisztenciát biztosít. Egy (*Muscadinia rotundifolia* × *Vitis vinifera*) BC₄ hibrid 1996-ban magyar-francia fajtacseré keretében került Magyarországra, és akkor vonták be a rezisztencia nemesítési programba. A klasszikus szelekciós módszerek mellett, a különböző típusú molekuláris markerek alkalmazásán alapuló MAS (Markerekre Alapozott Szelekció) bővítte a nemesítési célok elérésének eszköztárát. A rezisztenciáért felelős Run1 lokusszal kapcsolt markerek meghatározása lehetővé teszi a *M. rotundifolia* × *V. vinifera* keresztezésekből származó utódnemzedékekben a rezisztens és fogékony vonalak DNS-szintű elkülönítését. Vizsgálataink során a lisztharmatfertőzésre tesztelt (*M. rotundifolia* × *V. vinifera*) BC₄ × Cardinal (*V. vinifera*) BC₅ nemzedék egyedeit PCR-RFLP (GLP1-12P1P3) és mikroszatellit markerekkel (VMC4f3.1, VMC8g9) elemeztük. Eredményeink a kapcsolt markerekre alapozott szelekció alkalmazhatóságát és megbízhatóságát támasztották alá.

Kulcsszavak: lisztharmat, *Vitis vinifera* L., *Muscadinia rotundifolia*, Run1 gén, PCR-RFLP, mikroszatellit, molekuláris marker

SUMMARY

Incorporation of competitive quality and resistance against the most important fungal diseases (powdery and downy mildew) in a cultivar is one of the most important aims of grapevine breeding. In the 20th century, the most advanced results in grapevine resistance breeding were achieved by French researchers. They used resistant cultivars in more than 30% of their growing areas. In these varieties, North American wild *Vitis* species were the resistance gene sources. The discovery of

immunity-like resistance of *Muscadinia rotundifolia* opened new perspectives in resistance breeding. *M. rotundifolia* harbours a dominant powdery mildew gene, providing resistance in high-quality cultivars after back-crosses with *V. vinifera* varieties. *M. rotundifolia* has been involved in the Hungarian grape breeding programs since 1996, thanks to a French-Hungarian variety exchange. In addition to traditional selection methods, application of MAS (Marker Assisted Selection) based on various types of molecular markers, can provide additional tools for these efforts. Run1 locus, responsible for powdery mildew resistance, was identified in *Muscadinia rotundifolia*. Molecular markers closely linked to this locus are very significant in screening progenies deriving from *M. rotundifolia* and *V. vinifera* crosses, making possible the discrimination between resistant and susceptible genotypes at DNA level. In our analyses BC₅ progeny of (*M. rotundifolia* × *V. vinifera*) BC₄ × Cardinal (*V. vinifera*) tested for powdery symptoms were analysed with PCR-RFLP (GLP1-12P1P3) and microsatellite markers (VMC4f3.1, VMC8g9). Our results proved the applicability of the linked markers and reliability of marker assisted selection.

Keywords: powdery mildew, *Vitis vinifera* L., *Muscadinia rotundifolia*, Run1 gene PCR-RFLP, microsatellite, molecular marker

BEVEZETÉS

A szőlőnemesítés egyik fő célja a legfontosabb gombabetegségekkel, a lisztharmattal (*Uncinula necator*), a peronoszpórával (*Plasmopara viticola*) és a szürke rothadással (*Botrytis cinerea*) szemben rezisztens, kiváló minőségű fajták előállítására. Az európai szőlőtermesztés a termőterületek 2%-át foglalja magában, ugyanakkor a gombaölőszerek 50%-át a szőlőültetvényekben használják. A fungicidok alkalmazása nemcsak az emberi egészséget veszélyezteti, hanem fungicid-rezisztens patogén törzsek kialakulásának is kedvez.

Magyarországon a szőlő rezisztencia nemesítése 1949-ben kezdődött, először peronoszpóra, majd lisztharmat és szürke rothadással szemben rezisztens fajták előállításával. Rezisztenciagén forrásként a franko-amerikai hibridek szolgálták, amelyek létrehozásához észak-amerikai vadszőlő fajokat használtak fel (Kozma, 1999). A mindhárom

gombabetegséggel szemben rezisztens Villard blanc fajta (56% *vinifera*, 3% *labrusca*, 30% *rupestris*, 6% *berlandieri*, 5% *lincecumii*) (Striem, 2000) kiváló minőségű fajtákkal (Csabagyöngye, Ottonel Muskotály, Bouvier) történő keresztezése eredményezte a Zalagyöngye, Bianca, Medina, Nero (Csizmazia és Bereznai, 1968), a Viktória gyöngye, Duna gyöngye és Csillám (Kozma et al., 1986) rezisztens minőségű fajtákat. A rezisztencia és a kiváló minőségű tulajdonságok ötvözése annak ellenére sikerült ezekben a fajtákban, hogy az észak-amerikai *Vitis* fajokból nemcsak a rezisztencia, hanem a borminőséget rontó tulajdonságok is dominánsan, poligénikusan öröklődnek. Igen nehéz keresztezéses nemesítéssel egy genotípusban kombinálni a különböző rezisztenciáért és a jó minőségért felelős géneket. A szőlő stressz rezisztencianemesítésbe keleti vad fajokat is bevontak (Koleda, 1968), a Kunleány fajtát *Vitis vinifera* × *Vitis amurensis* keresztezéssel állították elő (Koleda, 1968). A *Vitis amurensis*, amely oligogénikus gombarezisztenciát hordoz, az 1980-as években vonták be az ún. „polyvitis” keresztezésekbe (Csizmazia et al., 1994) nemzetközi együttműködés keretében (Oroszország, Moldova, Jugoszlávia, Csehország) (Kozma, 1999).

A XX. században a szőlőrezisztencia nemesítésben a legjelentősebb sikereket a francia nemesítők érték el. A szőlőterületük több mint 30%-án használtak rezisztens fajtákat, amelyekben észak-amerikai vad *Vitis* fajokat alkalmaztak rezisztenciagén forrásként. Új utat nyitott a rezisztencianemesítésben a *Muscadina rotundifolia* immunitás szintű lisztharmat rezisztenciájának felfedezése.

A *Muscadina rotundifolia* kiemelkedő szerepet tölt be szőlő rezisztencianemesítésben, mivel nemcsak a legfontosabb gombabetegségekkel, hanem egyes baktériumokkal, filoxérával és fonálférgekkel szemben is immunis, illetve nagyfokú ellenálló képességgel rendelkezik. Mind a lisztharmat (Bouquet, 1986), mind pedig a peronoszpóra (Staudt és Kassemeyer, 1995) elleni nemesítési programokba bevonták (Kozma és Dula, 2003; Merdinoglu et al., 2003).

A *Muscadina rotundifolia* domináns lisztharmat rezisztenciájának és a *Vitis amurensis* oligogénikusan öröklődő peronoszpóra rezisztenciájának felhasználása a rezisztencianemesítési programban jelentősen megnövelte a szőlő keresztezéses nemesítésének hatékonyságát. Az FVM pécsi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete nemesítési programjában a különböző forrásokból származó gomba rezisztenciagének kombinálásában úttörő munkát végzett. 1996-ban magyar-francia fajtacsere keretében került Magyarországra a *Muscadina rotundifolia* × *Vitis vinifera* BC₄ hibrid, amelyet egy 1974-ben indított szőlőnemesítési programban állítottak elő (Bouquet, 1980). A *Muscadina rotundifolia* egy domináns lisztharmat

rezisztenciagént tartalmaz (*Run1* lokusz), amely *Vitis vinifera* fajjal történő visszakeresztezés során a minőségi fajtákban is rezisztenciát biztosít. 1999-2002 között hibridcsaládokat állítottak elő a francia anyag felhasználásával, és a hibrid populációk egyedeit mesterséges és természetes fertőzések alapján tesztelték és értékelték. A lisztharmat ellenállóságot 4, a peronoszpóra ellenállóságot 5 fokozatba sorolták (Kozma, 2002; Kozma és Dula, 2003). Ezeknek a keresztezéseknek nemcsak a sikeres (rezisztens és kiváló minőségű) fajták előállításában van jelentőségük, hanem a genomikai kutatásokhoz nélkülözhetetlen térképezési populációk szerepét is betöltik, molekuláris marker térképek szerkesztését és ismeretlen rezisztenciagén lokuszok azonosítását is lehetővé teszik.

A markerekre alapozott szelekció (MAS) nagymértékben gyorsíthatja a megfelelő forrásokból származó rezisztenciagének beépítését (introgresszióját) az értékes, jó minőségű fajtákba. A rezisztencia-génekkal együtt hasadó (koszegregáló) kapcsolt markerek a vad fajokból származó rezisztenciagéneknek a minőségi fajtákba történő bevitelének gyorsítása mellett, a szőlő genom molekuláris markerekkel való telítése, a *Vitis vinifera* fajtákban is elősegíti kedvező allél-társulások, haplotípusok azonosítását. Különböző marker-rendszerek alkalmazhatóak a fajták genotipizálására, a gazdasági szempontból értékes génekkal kapcsolt DNS-markerek azonosítására. Ezek többsége ma PCR technikán alapul. Előzetes szekvencia ismeret nem igénylő, véletlenszerűen megválasztott primerral (RAPD: random amplified polymorphic DNA) is lehet jellemezni a genotípusokat, ezek azonban általában domináns markerek. Szekvencia-ismeret és fejlesztést igényel a génspecifikus és mikroszatellit primerek alkalmazása. A mikroszatellit 1-5 bázispár méretű ismétlődő DNS szakaszok, egyszerű ismétlődő szekvenciák, amelyeket az angol kifejezés rövidítéseként SSR-nek (SSR: Simple sequence repeat) is neveznek. A tandem ismétlődések száma nemcsak fajonként, hanem fajtánként is eltérő lehet, tehát genetikai polimorfizmus kimutatására, így térképezésre, fajtaazonosításra és megkülönböztetésre alkalmazhatóak (Kiss, 2005). A monoton ismétlődések konzerválódott határszekvenciái a mikroszatellit markerek, amelyek kodomináns mendeli öröklésmentet követnek (Kiss, 2005).

A lisztharmat rezisztenciáért felelős *Run1* lokusz felfedezését kapcsolt markerek keresése és meghatározása követte (Pauquet et al., 2000; Donald et al., 2002; Barker et al., 2005b), ami lehetővé teszi a *M. rotundifolia* × *V. vinifera* keresztezésekben származó utódnemzedékek DNS-szintű vizsgálatát, a rezisztens és fogékony vonalak elkülönítését. Vizsgálataink során lisztharmat fertőzésre tesztelt $\{(M. rotundifolia \times V. vinifera) BC_4\} \times \text{Cardinal}$ (*V. vinifera*) BC₅ nemzedék egyedeit elemeztük PCR-RFLP és mikroszatellit markerekkel.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Növényanyag

A molekuláris elemzésekhez a $\{(Muscadinia rotundifolia \times V. vinifera) BC_4\} \times Cardinal (V. vinifera) BC_5$ nemzedék lisztharmattal fertőzött és tünetmentes egyedeit alkalmaztuk. Első lépésben, a lisztharmat-fertőzési tünetekben eltérő 20-20 növény vizsgálatát végeztük el, ezután a hasadó BC_5 nemzedék 129 egyedét elemeztük a szülőkkkel együtt (rezisztens szülő: [*Muscadinia rotundifolia* \times *V. vinifera*] BC_4 ; fogékony: Cardinal fajta).

DNS izolálás, PCR és mikroszatellit elemzés

A kísérleteink során a felhasznált növények fiatal leveleiből a DNeasy® Plant Mini Kit DNS-izoláló rendszerrel vontuk ki a genomi DNS-t (Qiagen, Biomarker Kft., Gödöllő).

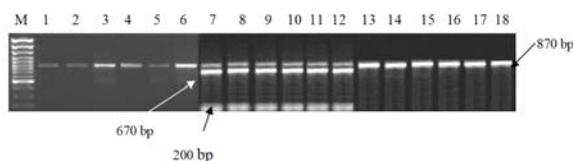
A molekuláris vizsgálatokat Halász et al. (2005a, b) szerint hajtottuk végre. A PCR-RFLP reakciókhoz a GLP1-12P1P3 primereket és *EcoRI* restriktions enzimmel való emésztést alkalmaztunk (Donald et al., 2002), a mikroszatellit elemzésekhez a VMC4f3.1 (Di Gaspero et al., 2000) és a VMC8g9 (Di Gaspero személyes közlés) SSR primereket használtuk.

EREDMÉNYEK

A lisztharmat tünetekben markánsan különböző 20-20 BC_5 növény PCR-RFLP vizsgálatának eredményeit az 1. ábra szemlélteti. A GLP1-12P1P3 primerekkel a fertőzöttségtől, illetve a tünetmentességtől függetlenül – tehát minden mintában – felszaporodott egy 870 bp méretű DNS fragmentum (1. ábra). A lisztharmattal fertőzött és egészséges növények azonban a kapott PCR termék *EcoRI* enzimmel való emésztése után (PCR-RFLP) egyértelműen elkülöníthetőek voltak egymástól: míg a fertőzött levelekből származó fragmentum nem emésztődött, a tünetmentes növényekből kapott termék egy 670 és 200 bp méretű szakaszra hasítódott.

A PCR-RFLP mellett két olyan mikrosatellit primerpárt (VMC4f3.1 és VMC8g9) is bevontunk a vizsgálatokba, amelyek a *Run1* lokusszal kapcsolatos (Barker et al., 2005a). A mikrosatellit analízis arra is lehetőséget ad, hogy az idegen megporzásból származó allélméretetek alapján kizárjuk az elemzésből azokat az egyedeket, amelyek nem felelnek meg a szülői kombinációknak. Az ilyen eltérő allélméretetek, illetve bizonytalan fenotipizálás alapján 21 mintát kihagytunk az adatok értékeléséből. Az 1. táblázatban foglaltuk össze a hasadó nemzedék 129 tagjára és a szülőkre vonatkozó adatokat. A VMC4f3.1 esetében egy 186 bp, a VMC8g9 alkalmazásakor pedig egy 160 bp méretű allél bizonyult lisztharmat rezisztenciával kapcsolt markernek.

1. ábra: A GLP12-P1P3 primerpárral futtatott PCR-RFLP reakció eredménye



M: Molekula tömeg marker (Fermentas 100 bp ladder plus), 1-3: a lisztharmat tünetektől mentes, 4-6: a fertőzött vonalak PCR fragmentumai a GLP1-12P1P3 primer párral; 7-12: tünetmentes (rezisztens) egyedek a PCR termék restriktions emésztése után (*EcoRI*); 13-18: fertőzött (fogékony) egyedek mintázata a PCR termék restriktions emésztése után (*EcoRI*)(1)

Figure 1: Result of PCR-RFLP with the GLP1-12P1P3 primer pairs

M: Molecular weight marker (Fermentas 100 bp ladder plus), PCR fragments of powdery mildew symptomless (1-3) and infected (4-6) lines; restriction (*EcoRI*) pattern of symptomless/resistant (7-12) and infected/sensitive (13-18) individuals(1)

A mesterséges fertőzést követően a tünetmentes és a gombafertőzés tüneteit mutató növények 67:62-es aránya a mendeli 1:1-es fenotípusos hasadásnak felel meg (1. táblázat). A GLP1-12P1P3-as markerrel ugyanezekre a vonalakra 66:63-as hasadási arányt kaptunk. Mindhárom marker esetében azonosítottunk rekombinánsokat, tehát olyan genotípusokat, amelyek rezisztens fenotípusnak bizonyultak, ugyanakkor nem a rezisztens marker jellegzetességével rendelkeztek: a GLP1-12P1P3 PCR fragmentum nem emésztődött *EcoRI* enzimmel, a VMC8g9 160 bp méretű fragmentuma helyett a 167-es volt megtalálható bennük, a VMC4f3.1 esetén pedig a 184-es szenzitív allélt hordozták, vagy fordítva a 167 és 184 bp allélméret jelenléte ellenére lisztharmat fertőzési tüneteket mutattak. A legnagyobb rekombinációs %-ot a VMC4f3.1 esetében kaptuk, a legkisebbet pedig a PCR-RFLP markerrel (1. táblázat).

A rekombinánsok megjelenése azt bizonyítja, hogy az alkalmazott markerek kapcsoltsága nem 100%-os, mégis alkalmasak a markerekre alapozott szelekcióra (MAS), hiszen a markergenotípus alapján 90-99%-ban olyan növényeket válogatunk ki, amelyek tartalmazzák a *Run1* domináns lisztharmat rezisztenciagént. Gyorsaság és hatékonyság szempontjából a VMC8g9 alkalmazása a legkedvezőbb, mert az egyszerű PCR-rel kapott 160-167 bp méretű fragmentumok nagy felbontó képességű agaróz gélen is megkülönböztethetőek, tehát sok minta rutinszerű elemzését is lehetővé teszik. A *Run1* lokusz fizikai és molekuláris markerekkel történő térképezése alapján (Barker et al., 2005a) várható, hogy a rezisztenciagénnel még szorosabb kapcsoltságban lévő SSR vagy génspecifikus primerek szekvenciái is rendelkezésre fognak állni, amelyek még hatékonyabb MAS-t fognak biztosítani.

**A lisztharmat-fertőzési tünetek és a markerekkel kapott eredmények összehasonlítása
Az árnyékolt számok a rezisztenciát jelző allélméreteket jelölik**

Fajta(1)	Fenotípus(2)		Molekuláris markerek(3)					
	Tünetmentes(4)	Fertőzött(5)	GLP1-12P1P3		VMC4f3.1 Allélek(6) [bp]		VMC8g9 Allélek(6) [bp]	
	R	S	R [a PCR fragmentum <i>EcoRI</i> -el emésztődött](7)	S [a PCR fragmentum <i>EcoRI</i> -el nem emésztődött](8)	R 186	S 184	R 160	S 167
Cardinal	-	+	-	+		164:164		179:179
BC ₄	+	-	+	-	184:186		160:167	
BC ₅ növények(9)	67	62	66	63	164:186 61	164:184 68	160:179 66	167:179 63
Rekombináns genotípusok aránya(10)			1/129=0,007		13/129=0,100		5/129=0,038	

Table 1: Comparison of the results of phenotyping for powdery mildew symptoms and genotyping with molecular markers (shaded numbers indicate the „resistant allele” sizes)

Variety(1), Phenotype(2), Molecular markers(3), Symptomless(4), Infected(5), Alleles(6), *EcoRI* cleaved the PCR fragment(7), *EcoRI* did not cleave the PCR fragment(8), BC₅ plants(9), Ratio of recombinant genotypes(10)

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatásokat az Földművelésügyi Minisztérium (FVM 6023/2000) és az OTKA támogatja (K62535, M36630 és M45633).

IRODALOM

- Barker, C. L.-Donald, T.-Adam-Blondon, A. F.-Pauquet, J.-Bouquet, A.-Thomas, M.-Dry, I. (2005a): Map based cloning of the *Run1* powdery mildew resistance gene from grapevine. 11th International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference. John Innes Centre, Norwich, England. 22-27. August 2004. <http://www.crpmb.org/icrpsc11/abstracts/htm>
- Barker, C. L.-Donald, T.-Pauquet, J.-Ratnaparkhe, M. B.-Bouquet, A.-Adam-Blondon, A. F.-Thomas, M.-Dry, I. (2005b): Genetic and physical mapping of the grapevine powdery mildew resistance gene, *Run1*, using a bacterial artificial chromosome library. *Theor. Appl. Genet.*, 111. 370-377.
- Bouquet, A. (1980): *Vitis x Muscadinia* hybridization: a new way in grape breeding for disease resistance in France. *Proc. 3th Int. Symp. In Grape Breeding*, (Davis) 42-61.
- Bouquet, A. (1986): Introduction dans l'espece *Vitis vinifera* L. d'un caractere de resistance a l'oidium (*Uncinula necator* Schw. Burr) issu l'espece *Muscadinia rotundifolia* (Michx) Small. *Vignevine*, 12 (suppl) 141-146.
- Csizmazia J.-Bereznai L. (1968): A szőlő *Plasmopara viticola* és a *Viteus vitifolii* elleni rezisztencia nemesítés eredményei. *Orsz. Szől. Bor. Kut. Évkönyve*, Budapest, 191-200.
- Csizmazia, J.-Romenda, R.-Holló, R.-Misik, S. (1994): Breeding of new resistant, polyvitis trihybrid grape varieties in Eger. *Proc. of VI. Int. Symp. On Grape Breeding*, Jalta, 159-165.
- Di Gaspero, G.-Peterlunger, E.-Testolin, R.-Edwards, K. J.-Cipriani, G. (2000): Conservation of microsatellite loci within the genus *Vitis*. *Theor. Appl. Genet.*, 101. 301-308.
- Donald, T. M.-Pellerone, F.-Adam-Blondon, A. F.-Bouquet, A.-Thomas, M. R.-Dry, I. B. (2002): Identification of resistance gene analogs linked to a powdery mildew resistance locus in grapevines. *Theor. Appl. Genet.*, 104. 610-618.
- Halász G.-Kozma P.-Molnár S.-Veres A.-Hoffmann S.-Galbács Zs.-Kiss E.-Heszky L. (2005a): Szőlőhibridek elemzése rezisztenciagénekhez kapcsolt markerekkel. A fajtaválaszték fejlesztése a kertészetben (Szerk. G. Tóth M.). *Kertgazdaság*, különnkiadás, 127-132.
- Halász, G.-Veres, A.-Kozma, P.-Kiss, E.-Balogh, A.-Galli, Zs.-Szóke, A.-Hoffmann, S.-Heszky, L. (2005b): Microsatellite fingerprinting of grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties of the Carpathian Basin. *Vitis*, 44. 173-180.
- Kiss E. (2005): Molekuláris növénynemesítés. In: *Mezőgazdasági biotechnológia* (Szerk. Heszky L.-Fésüs L.-Hornok L.) Agroinform Kiadó, Budapest, 199.
- Koleda, I. (1968): Ergebnisse von Kreuzungen zwischen *Vitis amurensis* und *Vitis vinifera* in der Züchtung frostwiderstandsfähiger Reben. *Vitis*, 14. 1-5.
- Kozma P.-Sz. Nagy L.-Sesztákné Urbányi M. (1986): Néhány új interspecifikus hibrid szőlő fajtajelöltünk termesztési értéke. *Kertészeti egyetem közleményei*, Budapest 17. 23-29.
- Kozma, P. jr. (1999): Breeding of grape varieties resistant to fungus diseases in Hungary. *Hungarian Agricultural Research* 8. 10-13.
- Kozma, P. jr. (2002): Goals and methods in grape resistance breeding in Hungary. *International Journal of Horticultural Science* 8, 41-46.
- Kozma, P. jr.-Dula, T. (2003): Inheritance of resistance to downy mildew and powdery mildew of hybrid family *Muscadinia rotundifolia* × *V. vinifera* × *V. amurensis* × Franco-American hybrid. *ISHS Acta Horticulturae*, 603. 457-463.
- Merdinoglu, D.-Wiedeman-Merdinoglu, S.-Coste, P.-Dumas, V.-Haetty, S.-Butterlin, G.-Greif, C.-Adam-Blondon, A. F.-Bouquet, A.-Pauquet, J. (2003): *ISHS Acta Horticulturae*, 603. 451-456.

Pauquet, J.-Bouquet, A.-This, P.-Adam-Blondon, A. F. (2000): Establishment of local map of AFLP markers around the powdery mildew resistance gene *Rum1* in grapevine and assessment of their usefulness for marker assisted selection. *Theor. Appl. Genet.*, 103. 1201-1210.

Staudt, G.-Kassemeyer, H. H. (1995): Evaluation of downy mildew resistance in various accessions of wild *Vitis* species. *Vitis*, 34. 225-228.

Striem, M. J. (2000): Grape hybrid varieties and accessions' parentage and their genetic percent of *Vitis* species. <http://students.sivan.co.il/michaels/Grapped3.html>