



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**TERRITORIO E SISTEMI AGRO-FORESTALI**

**CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE  
VITICOLE ED ENOLOGICHE**

**CONTRIBUTO ALLA  
CARATTERIZZAZIONE DI VARIETÀ  
DI VITE RESISTENTI A OIDIO E  
PERONOSPORA**

Relatore

Prof. Serena Varotto

Laureando

Davide D'Amico

Matricola n. 1202016

**ANNO ACCADEMICO 2023-2024**

*Per aspera  
sic itur  
ad astra*

# *Indice*

<b>1.INTRODUZIONE .....</b>	<b>5</b>
1.1 EVOLUZIONE DEL GENERE <i>VITIS</i> .....	5
1.2 NUMEROSITÀ E PRESENZA DI SINONIMIE.....	6
1.3 IDENTIFICAZIONE VARIETALE.....	7
1.4 MARCATORI MOLECOLARI.....	8
1.5 MALATTIE E PATOGENI .....	10
<b>2. MATERIALI E METODI .....</b>	<b>13</b>
2.1 RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI .....	13
2.2 ESTRAZIONE DEL DNA .....	15
2.3 ANALISI DEL DNA AI FINI DELL'IDENTIFICAZIONE VARIETALE ..	19
2.4 PRESENZA DI SINONIMIE .....	26

2.5 IDENTIFICAZIONE VARIETALE.....	29
2.6 GENOTYPING CON MARCATORI ASSOCIATI A LOCI DI RESISTENZA ALL'OIDIO .....	31
2.7 GENOTYPING CON MARCATORI ASSOCIATI A LOCI DI RESISTENZA ALLA PERONOSPORA.....	34
<b>3. RISULTATI .....</b>	<b>35</b>
<b>4. DISCUSSIONE.....</b>	<b>52</b>
<b>5. CONCLUSIONI .....</b>	<b>54</b>
<b>6. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>55</b>

# **1.INTRODUZIONE**

La *Vitis vinifera* è la specie più coltivata al mondo del genere *Vitis*; possiede poca o nessuna resistenza contro i principali patogeni vettori di malattie e l'industria della vite è fortemente dipendente dai prodotti fitosanitari.

Alcune specie del genere *Vitis* portano geni di resistenza a *Erysiphe necator* e *Plasmopara Viticola* e sono state usate per il miglioramento genetico della *V. vinifera*, introgredendo con il breeding classico i caratteri di resistenza. Tuttavia, il retaggio di caratteristiche sgradite ha reso complicato ottenere rapidamente nuove varietà all'altezza della qualità delle uve del genitore 'nobile'. Lo scopo principale di questo lavoro è individuare fonti di resistenza a oidio e peronospora in germoplasma di *Vitis vinifera* di origine caucasica, per poter contribuire ad aumentare la resistenza contro questi patogeni nei vitigni coltivati, senza l'aggravio di caratteristiche indesiderate.

## **1.1 EVOLUZIONE DEL GENERE VITIS**

Il genere *Vitis* comprende tre grandi siti di origine: uno in America settentrionale, uno nell'Asia orientale e l'ultimo, ma non meno importante, in Europa che comprende appunto la vite europea *V. vinifera*.

L'origine di *V. vinifera* non è ben definita anche se si pensa provenga dalla regione caucasica dell'Eurasia (Negroul 1960). Le fonti riguardo la sua presenza risalgono fin dall'antichità, precisamente dal Neolitico.

Con il passare dei secoli e della storia l'uomo è riuscito ad utilizzarla per la coltivazione e l'addomesticamento, portando alla nascita di innumerevoli varietà di uve, ognuna adattata al proprio ambiente.

Oltre alla nascita di nuove varietà, gli scambi di materiali hanno condotto anche alla diffusione di nuove malattie rischiose per la vita della pianta.

Per avere un maggiore controllo sulla filiera, sono nate delle realtà al giorno d'oggi molto importanti in questo ambito e un esempio sono i Vivai Cooperativi Rauscedo.

Questa azienda, con sede a Rauscedo in provincia di Udine, è molto importante nel panorama nazionale italiano, europeo e internazionale in quanto rappresenta sinonimo di qualità, sicurezza, ricerca e innovazione.

La sua importanza si manifesta con una produzione annuale di barbatelle innestate pari a oltre 80 milioni di unità. Composta da 210 soci, conta 3000 ettari coltivati di cui 1200 a vivaio; questa base garantisce così circa 4000 combinazioni di innesto offrendo le soluzioni più idonee per ogni eco-sistema.

L'intersezione di tutti questi elementi e la professionalità degli operatori permettono un prodotto sicuro dal punto di vista morfologico, genetico e sanitario.

## **1.2 NUMEROSITÀ E PRESENZA DI SINONIMIE**

*V. vinifera* conta più di 6000 cultivar (Alleweldt e Dettweiler 1994), di cui meno di 400 di importanza commerciale (Galet 2000), quindi la maggior parte delle risorse genetiche sono contenute nelle collezioni di germoplasma.

Si può intuire come la facilità di propagazione vegetativa abbia portato alla diffusione di molte cultivar in diverse regioni del mondo.

Ad oggi alcune cultivar possiedono fino a 100 sinonimi ed esistono anche numerosi omonimi.

### 1.3 IDENTIFICAZIONE VARIETALE

Risulta chiaro che il chiarimento di omonimie e sinonimie rappresenta un problema cruciale per la gestione del germoplasma e per la classificazione delle diverse varietà.

L'identificazione delle varietà di uva si è basata tradizionalmente sull'ampelografia: questa disciplina studia e classifica le varietà dei vitigni tramite schede che descrivono principalmente le caratteristiche morfologiche e fenologiche della pianta.

La competenza ampelografica, negli ultimi anni, risulta essere drasticamente in calo e ridotta a un numero limitato di specialisti.

Bisogna aggiungere che l'espressione dei caratteri morfologici della pianta è influenzata da fattori ambientali, dalla biologia e dalla storia; inoltre, le piante giovani sono quasi impossibili da identificare perché entro 4 o 5 anni non presentano tratti morfologici tipici delle piante adulte.

Negli ultimi decenni, grazie all'avvento dei marcatori molecolari, in particolare dei marcatori microsatellite o SSR (Simple Sequence Repeats), è stato possibile superare queste difficoltà.

Assieme ai marcatori molecolari, nel 1984 è nato il Catalogo Internazionale della Varietà di Vite presso l'Istituto per la selezione della vite di Geilweilerhof. L'idea di una banca dati sulle risorse genetiche della vite è sostenuta dall'IBPGR e dall'Organizzazione Internazionale della Vite e del Vino (OIV).

Oggi il VIVC rappresenta uno dei più importanti database enciclopedici con circa 23.000 cultivar, linee di riproduzione e specie di *Vitis*, esistenti nei depositi o descritti in bibliografia.

È una fonte di informazioni per allevatori, ricercatori, curatori di depositi di germoplasma e appassionati di vino. Oltre ai dati del passaporto specifico delle

cultivar, sono disponibili dati sui marcatori SSR, una bibliografia completa e fotografie.

Sono disponibili i profili genetici di oltre 6351 cultivar, che mostrano le dimensioni alleliche basate sui nove loci SSR: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79.

L'utilizzo di questi marcatori come set standard è stato preso da fonti bibliografiche, database di marcatori SSR disponibili nel web e dati generati dall'Institute for Grapevine Breeding di Geilweilerhof e trovati all'interno del progetto Boln.

## **1.4 MARCATORI MOLECOLARI**

Nel corso degli anni si è cominciato ad utilizzare metodi di identificazione varietale basati su marcatori del DNA, come RAPD, RFLP, AFLP e marcatori microsatellite. Questi ultimi si sono rivelati più utili degli altri e sono i preferiti grazie alla loro combinazione di polimorfismo, riproducibilità e natura codominante.

Si può quindi affermare che tali marcatori hanno permesso di velocizzare l'identificazione delle varietà di vite, cosa che con l'ampelografia non era materialmente possibile.

Il DNA può essere estratto da qualunque organo della pianta (foglia, legno, radice, raspo, bacca), ma il materiale di partenza più vantaggioso per quantità e qualità del DNA estraibile sono le foglioline dell'apice del germoglio. Bisogna sottolineare che le foglie non sono sempre disponibili durante l'anno, per cui altre parti di pianta possono essere utilizzate per analizzare il DNA, come il legno o la bacca. In questi casi l'estrazione del DNA sarà più complessa in quanto, ad

esempio, nella bacca è molto più difficile ottenere DNA sufficientemente puro, per la maggiore concentrazione di polifenoli e polisaccaridi, che sono inibitori della reazione di amplificazione del DNA.

Per questo sono state sviluppate nuove DNA polimerasi che aumentano la tolleranza agli inibitori di PCR della pianta e permettono di amplificare direttamente il DNA grezzo (Ibanez ed al. 2009). Inoltre, la preparazione di una multiplex PCR ben bilanciata consente l'amplificazione simultanea di più loci SSR per reazione; per questo motivo l'ottimizzazione del sistema rappresenta un requisito fondamentale.

I primer diretti sono stati etichettati con coloranti fluorescenti 6-FAM, VIC, NED e PET.

I profili SSR dei campioni incogniti, o dei quali si vuole verificare la corretta identità, vengono confrontati con i database molecolari di riferimento per poter eseguire l'identificazione varietale. Complessivamente, questo tipo di analisi del DNA, finalizzata all'identificazione varietale, si realizza con qualche ora di lavoro in laboratorio.

La conseguenza è che l'analisi molecolare offre un vantaggio significativo rispetto a costi, fatica e tempo rispetto all'identificazione basata su criteri squisitamente ampelografici. Inoltre, può essere molto utile per lo screening veloce delle raccolte di germoplasma in qualsiasi stagione.

L'interesse per la corretta identificazione delle varietà di vite è condiviso da tutta la filiera produttiva, difatti le cultivar dal nome errato potrebbero comportare un danno notevole per l'industria a tutti i livelli dal produttore iniziale al consumatore finale.

## 1.5 MALATTIE E PATOGENI

Nel corso dei secoli la vite ha dovuto affrontare molte difficoltà, tra cui l'introduzione di parassiti e patogeni dall'America a metà del XIX secolo. Le due principali malattie Peronospora e Oidio, provocarono moltissima devastazione, perché la vite europea, *V. vinifera*, non possedeva alcun tipo di meccanismo di difesa per contrastare questi patogeni; le viti americane, invece, essendo coesistenti, hanno avuto il tempo di co-evolvere con questi patogeni, sviluppando questi meccanismi.

L'Oidio è una delle principali malattie della vite, causato dall'agente eziologico *E. necator*. Colpisce tutti gli organi verdi della pianta, in particolar modo foglie e grappoli. Si manifesta attraverso la comparsa di macchie grigie o bianche che possono poi sviluppare una muffa marroncina.

La Peronospora è una delle malattie più diffuse e pericolose. Permane nel terreno sotto forma di spore e il suo sviluppo è legato alle condizioni meteorologiche, difatti è più comune nei climi umidi.

Può essere identificata sulla foglia sottoforma di "macchie a olio" oppure tramite muffa bianca; infine, sul grappolo provocando arricciamento e avvizzimento dello stesso.

Ad oggi, in viticoltura, i metodi di difesa più utilizzati si basano su trattamenti chimici anticrittogamici che servono a controllare e contrastare la diffusione dell'ascomiceta *Erysiphe necator*, agente causale dell'oidio e dell'oomicete *Plasmopara viticola*, agente causale della peronospora.

Si conta che circa il 46% di questi trattamenti fitosanitari venga destinato all'agricoltura (<http://dataservice.eea.europa.eu>), e rappresenta un problema sotto diversi punti di vista come la sostenibilità ambientale, la salute dell'uomo, il costo dei trattamenti stessi e la possibile comparsa di nuovi ceppi fungini resistenti a questi prodotti.

Per questo motivo, nell'ultimo periodo si stanno ricercando delle soluzioni alternative.

L'indagine sui vitigni autoctoni americani e asiatici, iniziata dopo la diffusione di tali malattie, ha portato all'identificazione di numerose fonti di potenziale resistenza. Inoltre, lo sviluppo e il miglioramento delle analisi genetiche e molecolari ha permesso un notevole passo avanti nella ricerca di nuove forme di resistenza.

In poco tempo sono stati identificati 13 loci di resistenza all'oidio e 35 di resistenza alla peronospora ([www.vivc.de](http://www.vivc.de)). Il numero di geni principali disponibili è sufficiente per la combinazione e per i programmi di incrocio di queste varietà con *V. vinifera*, in modo da poter ampliare il parco genetico dei loci di resistenza.

Per l'oidio i principali loci utilizzati sono *Run1*, *Ren1*, *Ren3*, *Ren4* e *Ren9*; per la peronospora invece sono *Rpv1*, *Rpv3*, *Rpv10* e *Rpv12*. Quasi tutti questi loci sono originati da specie selvatiche americane e asiatiche, ma vi sono alcune eccezioni. In alcuni casi, sono stati trovati geni di resistenza in accessioni di *V. vinifera* dell'Asia centrale, questo grazie all'utilizzo limitato di prodotti fitosanitari e la presenza e il mantenimento di piantine selvatiche di *V. vinifera* subsp. *sylvestris* che hanno permesso alla vite europea di sviluppare fonti di resistenza limitate ma interessanti.

Il primo caso riguarda una varietà denominata "Kishmish vatkana", cultivar di uva da tavola coltivata in Uzbekistan, che riporta resistenza a *E. necator* con il locus *Ren1*; inoltre, un'ulteriore analisi del germoplasma dell'Asia centrale ha portato alla luce che altre varietà di viti provenienti dall'Uzbekistan o paesi limitrofi hanno parentela con "Kishmish vatkana" e portano lo stesso locus di resistenza.

Un altro caso riguarda varietà caucasiche di *V. vinifera* che hanno riportato resistenza a *E. necator* sempre al locus *Ren1*; tra queste troviamo "Shavtsitska"

una tra le più resistenti. Lo studio dei vitigni caucasici ha mostrato che questi mostrano un aplotipo differente da quelli dell'Asia centrale.

Poi, l'esplorazione del germoplasma caucasico ha portato alla luce ulteriori fonti di resistenza alla peronospora come la varietà "Regent" che presenta resistenza a *P. viticola* al locus RPV1.

La resistenza di queste cultivar potrebbe essere così introdotta nelle linee di riproduzione o in limitati incroci generazionali, in modo tale da produrre nuove "cultivar elite" portanti geni di resistenza per rendere la viticoltura più sostenibile.

## **2. MATERIALI E METODI**

### **2.1 RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI**

Nel presente lavoro sono state campionate 207 accessioni di vite, prevalentemente caucasiche, provenienti dalla collezione presente all'interno dei Vivai Cooperativi Rauscedo (Rauscedo, PN).

Per ciascuna accessione sono state campionate delle foglioline giovanissime.

Suddivise poi in sacchetti di plastica, sono state contrassegnate da un'etichetta di identificazione.

Prima dell'arrivo al CREA, Centro di Ricerca per l'Enologia e la Viticoltura, sono state poste in un ambiente rinfrescato per permetterne il mantenimento ottimale.

All'arrivo in sede i campioni sono stati preparati per le successive analisi.

Per ciascuna accessione sono state prelevate tre foglioline della dimensione di una moneta da un euro: una è servita per l'analisi di interesse mentre le altre due sono state conservate come riserva in caso di problemi nelle procedure di laboratorio.

Le foglioline sono state arrotolate e inserite con il picciolo verso il basso in una provetta Eppendorf; tali provette sono state precedentemente numerate in maniera progressiva per il riconoscimento di ciascun campione.

Le provette sono state disposte, con il tappo aperto, in un rack inserito poi all'interno del liofilizzatore (fig. 1). Tale macchinario liofilizza i campioni, cioè, elimina l'acqua dai tessuti per sublimazione, facilitando l'estrazione del DNA.

Dopo un paio di giorni i campioni sono pronti e l'analisi può cominciare: in un primo momento si effettua l'estrazione del DNA, poi si esegue identificazione varietale e infine si determina la presenza di aplotipi associati a loci noti di resistenza all'Oidio e alla Peronospora.



Figura 1 Liofilizzatore acceso e in azione, permette di essiccare i prodotti acquosi portandoli ad una temperatura di  $-55^{\circ}\text{C}$

## 2.2 ESTRAZIONE DEL DNA

Una volta completato il ciclo di liofilizzazione i campioni sono pronti per l'estrazione del DNA (fig. 2). Questo processo avviene tramite un protocollo standardizzato Qiagen che richiede la massima attenzione e soprattutto precisione.

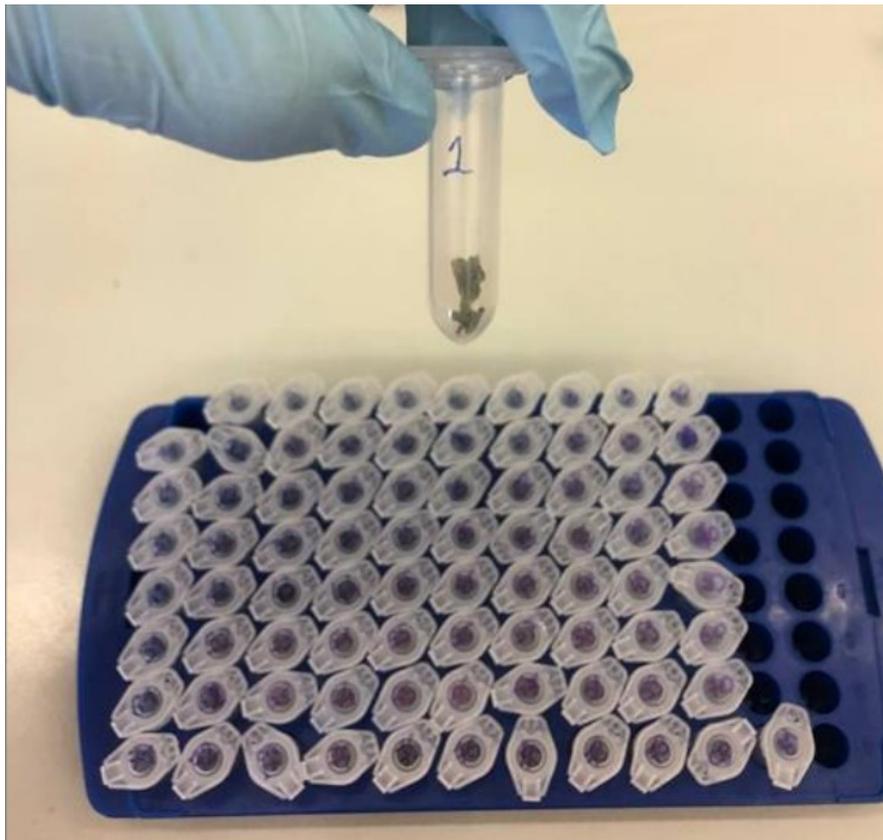


Figura 2 Campioni liofilizzati e pronti per l'analisi del DNA

Sono stati effettuati i seguenti passaggi:

1. Accendere il bagnetto preventivamente in modo da portarlo alla temperatura di 65°C.
2. In ciascuna provetta mettere due biglie di tungsteno da 0,5 mm di diametro che serviranno a disgregare i tessuti vegetali dei campioni, per facilitare l'estrazione del DNA.

3. Posizionare le Eppendorf in maniera bilanciata, all'interno dei due contenitori.
4. Inserirli nel Tissue Lyser, macchinario che permette la disgregazione dei campioni (fig. 3 e 4).



Figura 3 TissueLyser in azione, consente di disgregare i tessuti dei campioni



Figura 4 Campioni dopo la disgregazione del TissueLyser

5. Prendere il kit Qiagen di estrazione del DNA utilizzando le aliquote indicate.
6. Mettere in ogni provetta 400  $\mu$ l di buffer di lisi AP1 pi $\dot{u}$  RnaseA.
7. Incubare per 5 minuti nel bagnetto a 65°C mescolando ogni tanto.
8. Spinnare.
9. Aggiungere 130  $\mu$ l di buffer P3 mescolando bene.
10. Spinnare.
11. Incubare per 10 minuti a -20°C.

12. Centrifugare il lisato per 5 minuti a 20000 xg.
13. Trasferire il surnatante del lisato in una colonnina Qiashredder, di colore viola, posta su un tubino da 2 ml (fig. 5).



Figura 5 Surnatante del lisato

14. Centrifugare per 2 minuti a 20000 xg.
15. Trasferire il filtrato in un tubino nuovo, avendo cura di non toccare il pellet.
16. Buttare la colonnina.
17. Aggiungere 1,5 vol di AW1, un buffer di precipitazione, e mescolare bene.
18. Trasferire 650  $\mu$ l nella DNeasy spin column, di colore bianco, posta su un tubino da 2 ml.
19. Centrifugare per 1 minuto a 6000 xg.
20. Trasferire il restante volume nella stessa colonnina.
21. Centrifugare per 1 minuto a 6000 xg.
22. Mettere la colonnina su un tubino nuovo da 2 ml.
23. Lavare la colonnina con 500  $\mu$ l di AW2.
24. Centrifugare per 1 minuto a 6000 xg.
25. Gettare il liquido.
26. Ripetere il lavaggio con AW2 e la centrifuga ma questa volta impostandola a 20000 xg in modo da allontanare qualsiasi residuo di etanolo.
27. Trasferire la colonnina su una provetta Eppendorf da 1,5 ml.
28. Eluire con soluzione AE, precedentemente scaldata, e incubare per 5 minuti.
29. Centrifugare per 1 minuto a 6000 xg.
30. Ripetere l'eulizione e la centrifuga.
31. Raccogliere 150  $\mu$ l di DNA.

32. Analizzare i campioni di DNA allo spettrofotometro, per quantificare il DNA e determinare la purezza dell'estrazione (fig. 6).

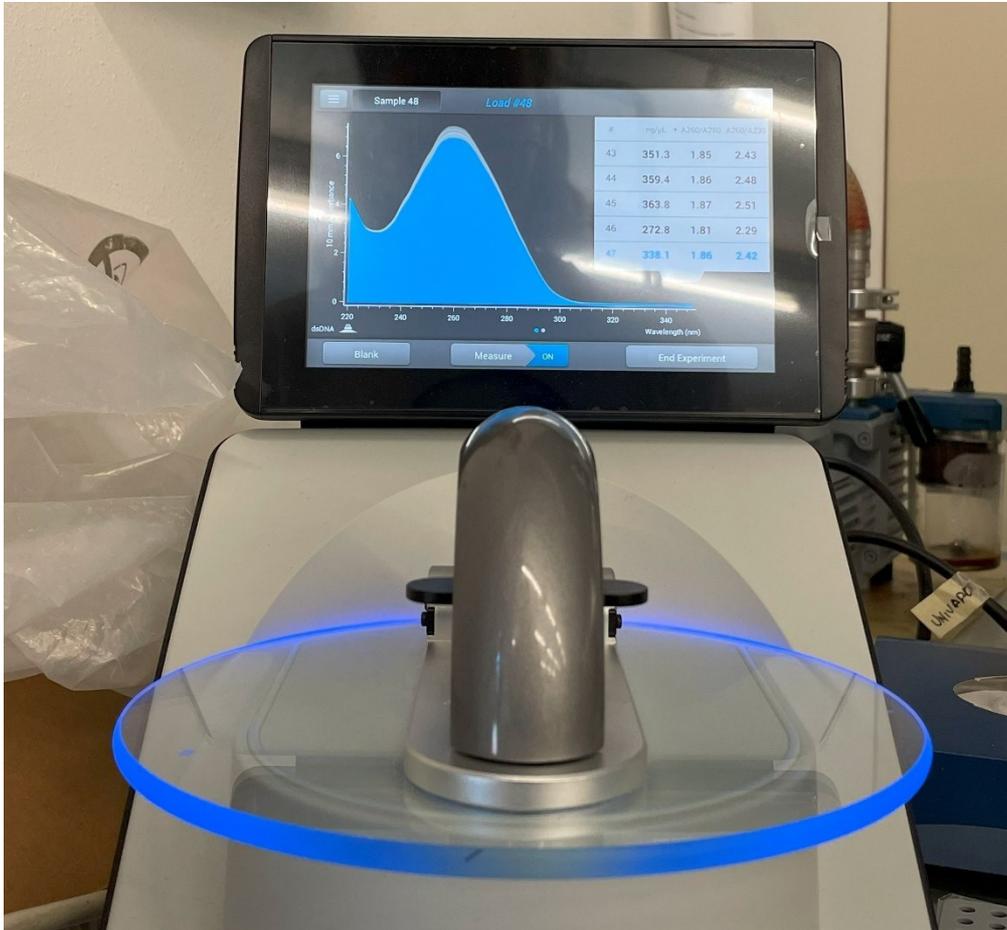


Figura 6 Spettrofotometro: consente di calcolare la concentrazione di DNA in  $\text{ng}/\mu\text{L}$  e le rispettive assorbanze  $A_{260}/_{280}$  (DNA/polifenoli) e  $A_{260}/_{230}$  (DNA/polisaccaridi); affinché un'estrazione sia efficiente, sono attesi valori di concentrazione elevati, sull'ordine di 300-400  $\text{ng}/\mu\text{L}$  e valori per le due assorbanze tra 1.80-2.00

33. Diluire il campione in base alla concentrazione desiderata.

In questo caso la concentrazione di interesse è di 10  $\text{ng}/\mu\text{L}$  in un volume totale di 30  $\mu\text{L}$ .

34. Preparare e numerare le strip di Eppendorf da 0,2 ml e inserire i DNA dei campioni.

35. Portare ad un volume totale di 30  $\mu\text{L}$  aggiungendo la soluzione AE.

## 2.3 ANALISI DEL DNA AI FINI DELL'IDENTIFICAZIONE VARIETALE

Al fine di identificare le accessioni sono stati utilizzati 13 marcatori totali.

Tra questi troviamo i 9 marcatori SSR condivisi a livello internazionale, ovvero: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79; in aggiunta gli ultimi 4 ossia EVA2 (VMCN64B9), ISV2 (VMC6E1), ISV3 (VMC6F1) e ISV4 (VMC6G1), tre dei quali usati nel sito on-line del Registro Nazionale delle varietà di vite (<http://catalogoviti.politicheagricole.it>).

Sono stati effettuati i seguenti passaggi:

1. Preparare una miscela composta da H<sub>2</sub>O, MyTaq DNA polimerasi e primer da utilizzare per la PCR.
2. Prelevare 9,5 µl di miscela per ogni campione, facendo attenzione ad aliquotare la stessa quantità per ogni provetta
3. Prendere la pipetta multicanale impostandola a 0,5 µl per prelevare i campioni; aggiungere questi ultimi nelle Eppendorf che contengono la miscela, facendo attenzione a non invertire l'ordine progressivo.
4. Centrifugare.

Il volume finale della miscela per la PCR di 10 µl è suddiviso in:

- H<sub>2</sub>O 3,8 µl
- MyTaq 5 µl
- Primer di Cocktail Standard 3,8 µl
- DNA 0,5 µl

Queste condizioni sono state utilizzate anche per il successivo set di marcatori denominato cocktail MD 25-32. Anche in questo la mix ha dato risultati affidabili e molto convincenti, per cui abbiamo proseguito con gli stessi volumi.

Infine, l'ultimo marcatore MD5 è stato amplificato da solo perché, da altri studi, inserito assieme ad altri marcatori ha dato problemi nell'amplificazione. È stato individuato sempre un volume finale di 10 µl composto da:

- H<sub>2</sub>O 4,4 µl
- MyTaq 5 µl
- Primer MD5 0,1 µl
- DNA 0,5 µl

5. Posizionare i campioni all'interno del termociclatore (fig. 7) e impostare il programma desiderato; in questo caso:

95°C	94°C	55°C	72°C	72°C	10°C
5 minuti	30 secondi	30 secondi	30 secondi	7 minuti	Temperatura mantenuta costante nel tempo, se si è impossibilitati a continuare con l'analisi
Denaturazione della doppia elica	Ciclo ripetuto 35 volte				



Figura 7 Il processo di Polymerase Chain Reaction consente l'amplificazione di una specifica catena di DNA, milioni di volte, secondo parametri definiti di tempo e di temperatura. L'azione viene eseguita tramite un macchinario che prende il nome di termociclatore, in cui il "blocco" viene riscaldato e raffreddato per eseguire le diverse fasi dell'amplificazione.

6. Dopo che i frammenti sono stati amplificati, procedere con l'elettroforesi al sequenziatore. Se i campioni non vengono caricati immediatamente, vengono posti in un freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  per conservarli al meglio.
7. Prendere una delle piastre all'interno del sequenziatore e togliere il tappetino che copre la piastra.
8. Aliquotare sotto la cappa aspirante (fig.8):
  - 9,5  $\mu\text{l}$  di miscela composta da Liz500 (fig. 9), uno standard di peso molecolare, e Formamide che serve a denaturare le doppie eliche dei campioni
  - 0,5  $\mu\text{l}$  di campione sottoposto precedentemente a PCR



Figura 9 Aliquota della piastra sottocappa



Figura 8 Liz500 standard di peso molecolare

9. Inserire il rack nel termociclatore per effettuare la denaturazione

95°C	4°C
5 minuti	5 minuti
Denaturazione della doppia elica	Mantenere i campioni denaturati



Figura 10 Termociclatore in denaturazione

10. Montare e analizzare la piastra al sequenziatore.
11. Impostare il programma di sequenziamento attivando il pozzetto desiderato e compilando le colonne:
  - Sample type (tipo di campione)
  - Comment (nome del campione)
  - Priority (100)
  - Analysis meyhod (default)
  - Results group (dove conservare i dati raccolti)
  - Instrument protocol (protocollo di analisi in base alla tipologia che si vuole seguire)
  - Size standard (none)
  - Panel (none)
12. Premere OK e se tutto è stato compilato perfettamente, il programma viene accettato in maniera automatica.
13. Selezionare “run scheduled” → “find all” e caricare la piastra con i campioni da analizzare.
14. Selezionare il blocco di appartenenza e dare conferma tramite la freccia verde. Il sequenziatore inizia a lavorare (fig. 11 a, b, c).

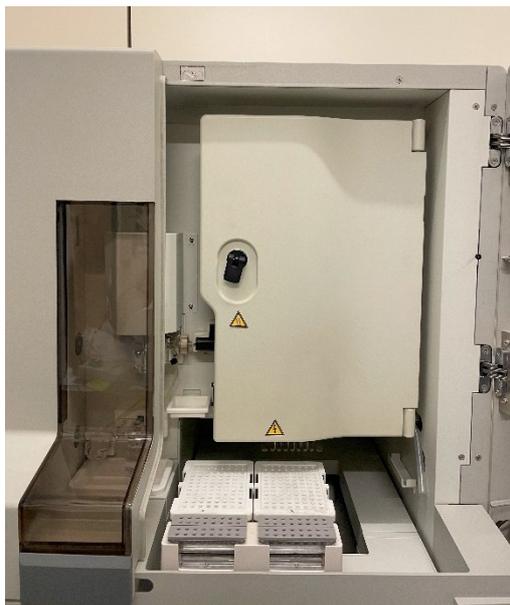




Figura 11 a, b, c Sequenziatore in azione

15. Terminata l'analisi si caricano i risultati delle corse sul software GeneMapper.
16. Dopo aver caricato le corse sul programma bisogna impostare: metodo d'analisi, pannello di riferimento (bin-set home-made con varietà di riferimento) e standard di peso molecolare del Liz500. Si parte con il processamento dei campioni.
17. Controllare che il Liz500 abbia i picchi del grafico assegnati correttamente. Spesso accade che i valori non vengano assegnati in modo esatto, per questo devono essere modificati prendendo come riferimento il terzetto di picchi a 139, 150, 160 che si riconoscono facilmente perché sono molto vicini tra di loro.
18. Procedere con la lettura del profilo genetico dei campioni analizzati (fig. 12).

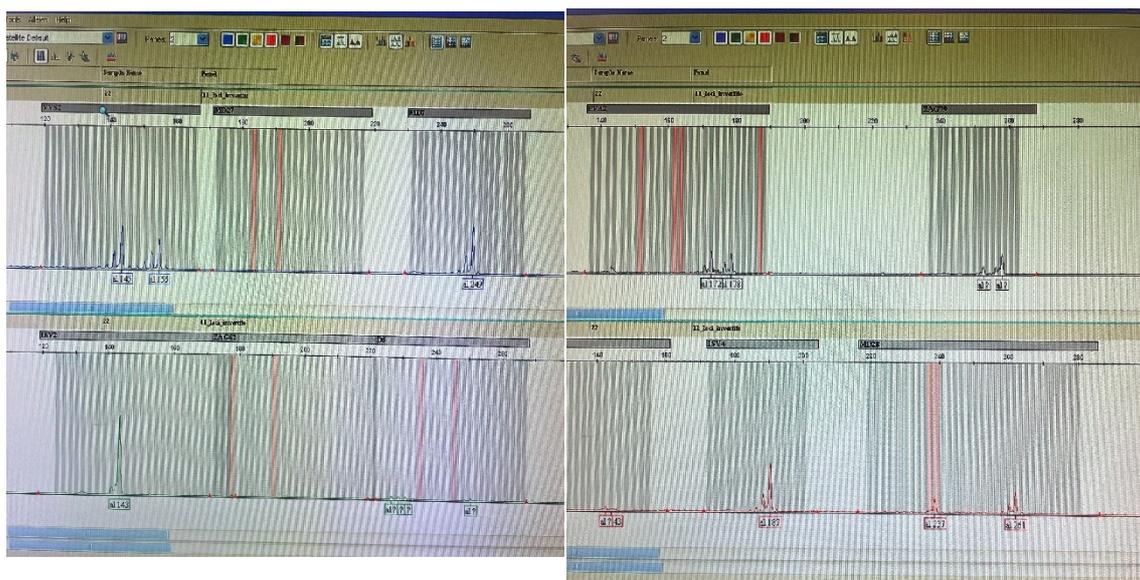


Figura 12 Picchi presenti al momento della lettura sul software GeneMapper

In questo modo si è potuto scrivere il profilo genetico per avere così tutti i dati di ciascun campione, come ben illustra la Tabella 12.

## 2.4 PRESENZA DI SINONIMIE

Dopo aver completato la tabella excel con tutti i dati raccolti (Tabella 12), è stata valutata la presenza di campioni con profili molecolari identici utilizzando il software Cervus (disponibile gratuitamente online, <http://www.fieldgenetics.com>).

Sono state prese in esame due analisi consequenziali:

1. analisi delle frequenze alleliche
2. individuazione dei profili identici all'interno del dataset

### Analisi delle frequenze alleliche

Lo scopo principale dell'analisi delle frequenze alleliche è contare gli alleli di ciascun locus in un file di genotipi per stimare la frequenza nella popolazione. Cervus calcola diverse statistiche che includono il numero di individui tipizzati, il numero di eterozigoti ed omozigoti, il numero di alleli; comprende inoltre test per l'equilibrio di Hardy-Weinberg e la presenza di alleli nulli.

Queste statistiche aiutano a determinare il polimorfismo, cioè il potere informativo dei loci utilizzati nella genotipizzazione.

### Analisi dell'identità

Viene utilizzata per trovare genotipi corrispondenti in un file di genotipi. Questa analisi legge un file di testo di genotipi e confronta ogni riga di dati del genotipo con ogni altra riga del file.

Dapprima, Cervus registra le identità che compaiono più di una volta all'interno del file; in un secondo momento segna separatamente i genotipi che ricorrono più di una singola volta.

Una volta concluso questo processo le accessioni che condividevano lo stesso profilo molecolare sono state evidenziati con opportuni colori.

Le statistiche sui 13 SSR analizzati sono riportate alla Tabella A e alla Tabella B.

Nella Tabella A si è fatto il calcolo sui 207 genotipi totali: sono stati individuati 154 alleli, con una media di 11.8 alleli per locus. I valori medi di eterozigosi osservata (Eoss) e attesa (Eatt) sono stati rispettivamente 0.833 e 0.835.

Nella Tabella B è stato fatto il calcolo sui 26 genotipi unici: sono stati individuati 118 alleli con una media di 9.08 alleli per locus. I valori medi di eterozigosi osservata (Eoss) e attesa (Eatt) sono stati rispettivamente 0.786 e 0.8445.

Tabella A

Locus	k	N	<u>Eoss</u>	<u>Eatt</u>	PIC	NE-I	NE-SIB	HW	F (nullo)
VVS2	13	207	0.865	0.883	0.870	2.6x10 <sup>-2</sup>	3.1x10 <sup>-1</sup>	NS	0.0084
MD7	12	207	0.797	0.840	0.818	4.6x10 <sup>-2</sup>	3.4x10 <sup>-1</sup>	NS	0.0235
ISV2	13	207	0.787	0.833	0.812	4.8x10 <sup>-2</sup>	3.5x10 <sup>-1</sup>	ND	0.0304
EVA2	13	207	0.831	0.871	0.856	3.0x10 <sup>-2</sup>	3.2x10 <sup>-1</sup>	NS	0.0211
VrZAG79	13	207	0.845	0.857	0.841	3.5x10 <sup>-2</sup>	3.3x10 <sup>-1</sup>	NS	0.0038
ISV4	10	207	0.762	0.826	0.802	5.3x10 <sup>-2</sup>	3.5x10 <sup>-1</sup>	NS	0.0423
MD28	18	207	0.880	0.858	0.840	3.6x10 <sup>-2</sup>	3.3x10 <sup>-1</sup>	NS	-0.0152
MD27	10	207	0.691	0.821	0.794	5.8x10 <sup>-2</sup>	3.5x10 <sup>-1</sup>	ND	0.0867
MD25	10	207	0.923	0.824	0.799	5.5x10 <sup>-2</sup>	3.5x10 <sup>-1</sup>	ND	-0.0593
VrZAG62	9	207	0.860	0.852	0.832	4.1x10 <sup>-2</sup>	3.3x10 <sup>-1</sup>	NS	-0.0065
MD5	9	207	0.826	0.808	0.782	6.2x10 <sup>-2</sup>	3.6x10 <sup>-1</sup>	NS	-0.0131
MD32	16	207	0.812	0.848	0.831	3.9x10 <sup>-2</sup>	3.4x10 <sup>-1</sup>	ND	0.0184
ISV3	8	207	0.850	0.732	0.688	1.1x10 <sup>-1</sup>	4.1x10 <sup>-1</sup>	ND	-0.0904
<i>Totale</i>	154								
<i>Valori medi</i>	11.85		0.833	0.835	0.813	4.1x10 <sup>-18</sup>	9.9x10 <sup>-7</sup>		

Tabella B

Locus	k	N	<u>Eoss</u>	<u>Eatt</u>	PIC	NE-I	NE-SIB	HW	F (nullo)
VVS2	10	26	0.846	0.900	0.871	2.6x10 <sup>-2</sup>	3.1x10 <sup>-2</sup>	ND	0.0193
MD7	10	26	0.808	0.877	0.845	3.5x10 <sup>-2</sup>	3.3x10 <sup>-2</sup>	ND	0.0302
ISV2	8	26	0.808	0.801	0.757	7.5x10 <sup>-2</sup>	3.8x10 <sup>-2</sup>	ND	-0.0194
EVA2	10	26	0.923	0.856	0.821	4.4x10 <sup>-2</sup>	3.4x10 <sup>-2</sup>	ND	-0.0556
VrZAG79	10	26	0.962	0.842	0.807	5.0x10 <sup>-2</sup>	3.5x10 <sup>-2</sup>	ND	-0.0807
ISV4	8	26	0.808	0.798	0.753	7.7x10 <sup>-2</sup>	3.8x10 <sup>-2</sup>	ND	-0.0154
MD28	10	26	0.955	0.873	0.837	3.7x10 <sup>-2</sup>	3.3x10 <sup>-2</sup>	ND	-0.0568
MD27	9	26	0.808	0.850	0.813	4.8x10 <sup>-2</sup>	3.4x10 <sup>-2</sup>	ND	0.0146
MD25	9	26	0.923	0.870	0.836	3.9x10 <sup>-2</sup>	3.3x10 <sup>-2</sup>	ND	-0.0390
VrZAG62	8	26	0.808	0.851	0.814	4.8x10 <sup>-2</sup>	3.4x10 <sup>-2</sup>	ND	0.0140
MD5	8	26	0.692	0.814	0.769	6.9x10 <sup>-2</sup>	3.7x10 <sup>-2</sup>	ND	0.0777
MD32	12	26	0.962	0.866	0.832	4.0x10 <sup>-2</sup>	3.3x10 <sup>-2</sup>	ND	-0.0689
ISV3	6	26	0.885	0.782	0.729	9.2x10 <sup>-2</sup>	3.9x10 <sup>-2</sup>	ND	-0.0771
<i>Totale</i>	118								
<i>Valori medi</i>	9.08		0.786	0.8445	0.8064	9.7x10 <sup>-18</sup>	1.1x10 <sup>-6</sup>		

k = numero di alleli; N = numero di genotipi analizzati per calcolare le statistiche; Eoss = eterozigosi osservata; Eatt = eterozigosi attesa; PIC = contenuto informativo poliformico; NE-I e NE-SIB = probabilità combinata di non esclusione tra due individui non imparentati e tra due ipotetici fratelli pieni; HW = equilibrio di Hardy-Weinberg, ND = non fatto; F (null) = probabilità di alleli nulli

## 2.5 IDENTIFICAZIONE VARIETALE

L'identificazione varietale rappresenta un passaggio fondamentale, poiché si stimano quante varietà analizzate sono già presenti nei database di riferimento e quante rappresentano delle novità.

Una volta esaminati tutti i dati che riguardano la presenza di varietà con profilo unico e la presenza di sinonimie e omonimie, si è proceduto con il confronto dei profili SSR ottenuti con i database presenti in circolazione. I due a cui si fa riferimento in questo lavoro sono quello del CREA-VE e quello del VIVC.

Il primo confronto, quindi, è stato realizzato con questo database: sono stati caricati i dati di ogni genotipo unico e tramite una semplice operazione "filtro" è stato effettuato il confronto dell'eventuale presenza o assenza. Se il campione è risultato già presente, si è proceduto a segnare il nome definitivo della varietà, ma se non si è ottenuto alcun risultato si è passati ad ulteriori database presenti in internet.

Uno di questi è quello del VIVC.

I dati microsatellite provenienti dal database European *Vitis* sono stati consultati per confermarne l'identità.

Per effettuare la ricerca all'interno del database VIVC bisogna andare alla sezione 'database search', successivamente individuare 'advanced search' e infine selezionare 'microsatellites by profile'. Per trovare i profili corrispondenti bisogna adattare le misure degli alleli trovati alle 4 varietà di riferimento che sono: Cabernet sauvignon, Chardonnay blanc, Muscat a petits grains blancs e Pinot noir (fig. 13).



## 2.6 GENOTYPING CON MARCATORI ASSOCIATI A LOCI DI RESISTENZA ALL'OIDIO

La fase finale di questo lavoro è la ricerca di aplotipi associati alla presenza di geni di resistenza all'Oidio grazie a opportuni marcatori molecolari microsatelliti SSR associati ai loci *Ren1*, *Ren 3* e *Ren9*.

I due marcatori associati al gene *Ren1* sono:

- SC8-0071-014
- Sc47\_20

Tali marcatori vengono preparati per le PCR corrispondenti, avendo cura di tenere delle condizioni di amplificazione ottimali per arrivare a dei risultati il più possibile precisi e attendibili.

Le condizioni di analisi sono state determinate tramite studi precedenti che hanno permesso di individuare un volume finale di 10 µl composto da 9,5 µl di mix per la PCR e 0,5 µl di DNA diluiti (preso dai campioni di interesse).

La mix è quindi composta da:

- H<sub>2</sub>O 4,21 µl (per campione)
- MyTaq 5 µl (per campione)
- Primer SC8: Forward (F) 0,075 µl e Reverse (R) 0,075 µl (per campione)
- Primer Sc47: Forward (F) 0,07 µl e Reverse (R) 0,07 µl (per campione)

I marcatori associati ai geni *Ren3*-*Ren9* sono:

- GF15-28
- GF15-30

Per i geni Ren3 e Ren9 è stata utilizzata una mix denominata MIXB, contenente:

- H<sub>2</sub>O 3,7 µl
- MyTaq 5 µl
- Primer GF 15-28: Forward (F) 0,1 µl e Reverse (R) 0,1 µl (per campione)
- Primer GF 15-30: Forward (F) 0,14 µl e Reverse (R) 0,14 µl (per campione)

Il passaggio seguente è la preparazione delle strip Eppendorf dove verranno inseriti i campioni con il mix e infine caricati all'interno del termociclatore per effettuare la PCR.

Si assistono alle condizioni utilizzate nelle precedenti analisi

95°C	94°C	55°C	72°C	72°C	10°C
5 minuti	30 secondi	30 secondi	30 secondi	7 minuti	Temperatura mantenuta costante nel tempo, se si è impossibilitati a continuare con l'analisi
Denaturazione della doppia elica	Ciclo ripetuto 35 volte				

Al termine del processo di amplificazione i campioni sono pronti per essere predisposti per l'analisi al sequenziatore.

Utilizzando una nuova piastra, sotto cappa aspirante, si aliquota una miscela di 9,5  $\mu$ l composta da:

- Liz500
- Formamide
- 0,5  $\mu$ l di campione appena amplificato

Il rack viene inserito successivamente all'interno del termociclatore per effettuare la denaturazione, utilizzando le condizioni precedenti:

95°C	4°C
5 minuti	5 minuti
Denaturazione della doppia elica	Mantenere i campioni denaturati

Quando la denaturazione viene completata si può procedere al successivo sequenziamento. Viene impostato il programma e si carica la piastra, contenente i campioni di interesse, al sequenziatore.

Fase finale, ma non meno importante, è la lettura dei risultati grazie al software GeneMapper; in base al picco presente sul grafico, ad ogni campione e a seconda del marcatore molecolare, verrà assegnato un valore (Tabella 14).

## 2.7 GENOTYPING CON MARCATORI ASSOCIATI A LOCI DI RESISTENZA ALLA PERONOSPORA

Un'ulteriore analisi, all'interno di questo lavoro, è stata la presenza di geni di resistenza alla Peronospora. In questo caso i marcatori molecolari microsatelliti SSR sono associati al locus di resistenza *RPV1*.

Anche in questo caso il volume finale è di 10 µl di cui 9,5 di mix per la PCR e 9,5 di DNA del campione.

Per i geni *RPV1* e *Run1* è stata utilizzata una mix denominata MIX A, contenente:

- H<sub>2</sub>O 4,1 µl
- MyTaq 5 µl
- Primer VMC 4F3.1: Forward (F) 0,1 µl e Reverse (R) 0,1 µl (per campione)
- Primer VMC 8g9: Forward (F) 0,1 µl e Reverse (R) 0,1 µl (per campione)

Successivamente, il procedimento è uguale al precedente con la preparazione delle strip Eppendorf e la conseguente amplificazione.

Al termine dell'amplificazione si prepara il rack per la denaturazione e il sequenziamento dei campioni.

Una volta sequenziati, i campioni vengono letti con il software GeneMapper con l'assegnazione dei valori delle lunghezze alleliche leggendo i picchi che compaiono all'interno del grafico e a seconda del marcatore molecolare, verrà assegnato un valore (Tabella 15).

### **3. RISULTATI**

I campioni analizzati, come si può vedere, sono molto numerosi per cui per agevolare le operazioni di laboratorio sono stati divisi in più tranches.

La prima fase del nostro lavoro, come spiegato in precedenza, è la fase di estrazione del DNA. Questo processo è stato fondamentale per poter poi identificare le diverse accessioni.

Sebbene sia stato seguito un protocollo ben preciso, veniva richiesta un'elevata attenzione e precisione; inizialmente questo ha causato qualche intoppo dovuto alla poca esperienza, infatti si può notare che i primi campioni non presentano elevate concentrazioni di DNA (Tabella 1).

Con il passare del tempo e acquisendo manualità nel lavoro, le estrazioni sono diventate di gran lunga migliori sebbene vi sia ancora qualche eccezione (Tabella 4, Tabella 5).

Possiamo comunque dire che per le analisi di nostro interesse il DNA estratto è più che sufficiente.

Successivamente vi è stata l'analisi delle identità grazie all'aiuto del software Cervus. Dalla Tabella 12 si evince chiaramente con le accessioni siano ben variegata. Quelle con profilo molecolare "unico", che non presentano alcun tipo di sinonimi, non sono state evidenziate con alcun colore esempio accessione 1, 35, 38, 41 etc.

Altre accessioni invece presentano lo stesso profilo, infatti sono state evidenziate con colori differenti; sempre nella Tabella 12 si può vedere come accessioni 13, 39, 92, 188 e 202 presentano lo stesso profilo e sono state evidenziate in giallo, poi le accessioni 15, 82, 159 e 200 sono anche queste identiche e sono state evidenziate in azzurro; e si è proseguito allo stesso modo per tutte le altre.

Poi, dal confronto con i database del CREA e del VIVC è emerso che dalle 207 accessioni totali sono stati ottenuti 26 profili genetici unici (Tabella 13), 56 non sono stati identificati, 85 sono stati identificati sul portale del VIVC e 66 su quello del CREA, ben visibile dalla Tabella 13.

Si può quindi affermare che la maggior parte di questi risultano registrati, con lo stesso nome o con nomi simili; bisogna considerare che una parte di accessioni non vi è stata trovata traccia in altri database, motivo per cui rappresentano delle cultivar nuove che arricchiscono questo lavoro e le collezioni internazionali.

L'analisi della presenza di aplotipi e alleli di resistenza ha tenuto conto della sinonimia e del profilo genetico identico, difatti i genotipi uguali nel profilo genetico e nel nome rappresentano un'unica varietà.

Tra le accessioni analizzate, la resistenza all'oidio la si può ritrovare nel campione numero 81 e 175 corrispondente a Kishmish vatkana; questa cultivar dell'Asia centrale riporta il gene di resistenza Ren1 all'aplotipo 147-206. Dai dati in letteratura, un'ulteriore varietà riporta la resistenza all'Oidio ed è Shavtsitska che presenta come coppia allelica 149-208.

L'aplotipo 147-206 è presente in 3 accessioni (tra cui Kishmish vatkana), 2 presentano solo l'allele 147 mentre ben 16 presentano solo l'allele 206.

L'aplotipo 149-208 si trova in 14 accessioni; 5 presentano solo l'allele 149 e 2 presentano solo l'allele 208.

L'aplotipo 342-445 non è presente, ma 2 accessioni possiedono l'allele 445.

Invece per la peronospora l'aplotipo preso di riferimento risulta essere 156 (8g9) – 192 (4f3.1). In questo caso nessuna accessione presenta questo aplotipo, ma 9 campioni portano l'allele 192 come riporta la Tabella 15.

Tabella 1 Estrazione campioni 1-20

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni	Volume di campione da prelevare	Volume di soluzione AE da aggiungere per la diluizione
Campione 1	38.136	1.835	2.031	37,2	8,1	21,9
Campione 1	36.654	1.802	2.175	37,2	8,1	21,9
Campione 1	36.759	1.855	2.256	37,2	8,1	21,9
Campione 2	99.527	1.629	1.434	103,8	2,9	27,1
Campione 2	88.620	1.768	2.022	103,8	2,9	27,1
Campione 2	125.659	1.784	1.364	103,8	2,9	27,1
Campione 2	101.478	1.821	2.091	103,8	2,9	27,1
Campione 3	51.586	1.718	1.338	44,6	6,7	23,3
Campione 3	37.563	1.799	2.391	44,6	6,7	23,3
Campione 4	79.889	1.860	2.047	77,9	3,9	26,1
Campione 4	75.852	1.854	2.037	77,9	3,9	26,1
Campione 5	47.136	2.034	3.039	45,7	6,6	23,4
Campione 5	44.306	1.890	2.776	45,7	6,6	23,4
Campione 6	39.536	1.902	1.783	39,4	7,6	22,4
Campione 6	39.174	1.833	1.761	39,4	7,6	22,4
Campione 7	67.549	1.831	1.817	67,3	4,5	25,5
Campione 7	67.014	1.829	1.906	67,3	4,5	25,5
Campione 8	31.809	1.863	2.189	32,5	9,2	20,8
Campione 8	33.079	1.872	2.241	32,5	9,2	20,8
Campione 9	99.437	1.842	2.453	97,2	3,1	26,9
Campione 9	95.007	1.817	2.460	97,2	3,1	26,9
Campione 10	99.703	1.825	2.103	98,7	3	27
Campione 10	97.617	1.856	2.111	98,7	3	27
Campione 11	64.686	1.831	2.045	64,8	4,6	25,4
Campione 11	64.822	1.854	2.067	64,8	4,6	25,4
Campione 12	24.717	1.762	1.927	25,2	12	28
Campione 12	26.475	1.711	1.662	25,2	12	28
Campione 13	141.511	1.823	1.869	129,6	2,3	27,7
Campione 13	124.169	1.859	1.992	129,6	2,3	27,7
Campione 13	123.549	1.835	1.953	129,6	2,3	27,7
Campione 14	42.614	1.808	2.339	42,2	7,1	22,9
Campione 14	41.778	1.783	2.356	42,2	7,1	22,9
Campione 15	46.775	1.828	2.732	46,2	6,5	23,5
Campione 15	45.573	1.834	2.688	46,2	6,5	23,5
Campione 16	110.532	1.851	2.170	117,6	2,5	27,5
Campione 16	121.585	1.837	2.082	117,6	2,5	27,5
Campione 16	120.686	1.846	1.996	117,6	2,5	27,5
Campione 17	66.361	1.833	2.231	66	4,5	25,5
Campione 17	65.597	1.860	2.235	66	4,5	25,5
Campione 18	12.134	1.831	5.510	12,2	24,6	5,4
Campione 18	12.416	1.913	4.846	12,2	24,6	5,4
Campione 19	92.618	1.859	2.475	93,1	3,2	26,8
Campione 19	93.549	1.905	2.529	93,1	3,2	26,8
Campione 20	85.657	1.881	2.287	88,1	3,4	26,6
Campione 20	90.363	1.891	2.320	88,1	3,4	26,6

Tabella 2: estrazione campioni 21-40

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni campioni (ng/uL)	Volume di campione da prelevare per diluizione	Volume di soluzione AE da aggiungere per la diluizione
Campione 21	92.407	1.865	2.154	93,1	3,2	26,8
Campione 21	93.800	1.876	2.195	93,1	3,2	26,8
Campione 22	99.009	1.867	2.100	98	3,1	26,9
Campione 22	96.886	1.836	2.170	98	3,1	26,9
Campione 23	85.425	1.840	2.041	84,4	3,6	26,4
Campione 23	83.866	1.829	2.160	84,4	3,6	26,4
Campione 24	120.592	1.838	2.186	121,5	2,5	27,5
Campione 24	122.490	1.853	2.209	121,5	2,5	27,5
Campione 25	110.409	1.850	2.226	109,6	2,7	27,3
Campione 25	108.833	1.847	2.294	109,6	2,7	27,3
Campione 26	16.250	1.734	2.758	16,3	18,4	11,6
Campione 26	16.390	1.727	3.016	16,3	18,4	11,6
Campione 27	116.825	1.844	2.459	107,7	2,8	27,2
Campione 27	99.611	1.828	2.482	107,7	2,8	27,2
Campione 27	106.653	1.841	2.523	107,7	2,8	27,2
Campione 28	164.391	1.836	2.004	160,9	1,9	28,1
Campione 28	157.358	1.835	1.979	160,9	1,9	28,1
Campione 29	120.053	1.842	2.282	120,1	2,5	27,5
Campione 29	120.120	1.865	2.257	120,1	2,5	27,5
Campione 30	36.441	1.847	3.112	36,5	8,2	21,8
Campione 30	36.613	1.789	3.122	36,5	8,2	21,8
Campione 31	224.079	1.840	1.922	212,8	1,4	28,6
Campione 31	200.849	1.848	2.085	212,8	1,4	28,6
Campione 31	213.482	1.846	2.079	212,8	1,4	28,6
Campione 32	84.170	1.821	2.206	86	3,5	26,5
Campione 32	87.701	1.824	2.156	86	3,5	26,5
Campione 33	68.294	1.839	1.881	67,4	4,5	25,5
Campione 33	66.510	1.880	2.153	67,4	4,5	25,5
Campione 34	111.755	1.833	1.843	109,6	2,7	27,3
Campione 34	107.392	1.875	2.025	109,6	2,7	27,3
Campione 35	114.053	1.856	1.865	110,2	2,7	27,3
Campione 35	106.296	1.856	2.099	110,2	2,7	27,3
Campione 36	132.833	1.853	2.072	134,9	2,2	27,8
Campione 36	136.950	1.844	1.998	134,9	2,2	27,8
Campione 37	125.358	1.835	1.934	126,6	2,4	27,6
Campione 37	127.808	1.823	1.942	126,6	2,4	27,6
Campione 38	116.747	1.798	1.704	121,3	2,5	27,5
Campione 38	125.771	1.752	1.519	121,3	2,5	27,5
Campione 39	87.099	1.797	1.904	86	3,5	26,5
Campione 39	84.913	1.819	2.017	86	3,5	26,5
Campione 40	106.089	1.801	1.802	107,8	2,8	27,2
Campione 40	109.512	1.802	1.972	107,8	2,8	27,2

Tabella 3: estrazione campioni 41-60

Sample Name	Nucleic Acid(ng/ul)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni campioni (ng/µl)	Volume di campione da prelevare per la diluizione	Volume di soluzione AE da aggiungere per la diluizione
Campione 41	133,702	1,851	2,238	139,8	2,1	27,9
Campione 41	145,898	1,853	2,195	139,8	2,1	27,9
Campione 42	45,479	1,784	2,259	49	6,1	23,9
Campione 42	50,468	1,812	2,148	49	6,1	23,9
Campione 43	112,238	1,815	2,108	116,1	2,6	27,4
Campione 43	120,126	1,822	2,273	116,1	2,6	27,4
Campione 44	119,235	1,827	2,133	118,1	2,5	27,5
Campione 44	117,142	1,829	2,138	118,1	2,5	27,5
Campione 45	127,091	1,823	2,184	123,6	2,4	27,6
Campione 45	120,175	1,822	2,259	123,6	2,4	27,6
Campione 46	148,292	1,812	2,15	141,3	2,1	27,9
Campione 46	134,381	1,825	2,328	141,3	2,1	27,9
Campione 47	154,451	1,804	2,146	151,4	2	28
Campione 47	148,32	1,816	2,046	151,4	2	28
Campione 48	103,585	1,806	2,296	106,3	2,8	27,2
Campione 48	109,123	1,561	1,865	106,3	2,8	27,27
Campione 49	161,837	1,859	2,46	161,2	1,8	28,2
Campione 49	160,681	1,838	2,254	161,2	1,8	28,2
Campione 50	190,092	1,838	2,176	190,3	1,6	28,4
Campione 50	190,528	1,844	2,158	190,3	1,6	28,4
Campione 51	187,589	1,831	2,012	181,6	1,6	28,4
Campione 51	175,653	1,847	2,004	181,6	1,6	28,4
Campione 52	179,675	1,733	1,684	179,4	1,7	28,3
Campione 52	179,237	1,847	1,879	179,4	1,7	28,3
Campione 53	149,882	1,881	2,08	146,4	2	28
Campione 53	143,006	1,842	2,038	146,4	2	28
Campione 54	133,991	1,841	2,071	133,8	2,2	27,8
Campione 54	133,688	1,834	2,073	133,8	2,2	27,8
Campione 55	75,66	1,782	1,529	75,6	4	26
Campione 55	75,589	1,768	1,527	75,6	4	26
Campione 56	157,207	1,857	2,108	159,1	1,9	28,1
Campione 56	161,018	1,838	2,068	159,1	1,9	28,1
Campione 57	228,725	1,773	1,801	215,7	1,4	28,6
Campione 57	202,719	1,837	1,876	215,7	1,4	28,6
Campione 58	166,292	1,807	1,763	163,3	1,8	28,2
Campione 58	160,422	1,816	1,832	163,3	1,8	28,2
Campione 59	167,546	1,811	2,029	173,9	1,7	28,3
Campione 59	180,332	1,66	1,585	173,9	1,7	28,3
Campione 60	93,944	1,784	1,908	96,5	3,1	26,9
Campione 60	99,249	1,785	1,801	96,5	3,1	26,9

Tabella 4: estrazione campioni 61-81

Sample Name	Nucleic Acid(ng/ul)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni campioni (ng/µl)	Volume di campione da prelevare per la diluizione	Volume di soluzione AE da aggiungere per la diluizione
Campione 61	416.715	1.931	2.066	419,2	0,7	29,3
Campione 61	421.637	1.934	2.033	419,2	0,7	29,3
Campione 62	177.266	1.881	2.070	174,6	1,7	28,3
Campione 62	171.912	1.886	2.047	174,6	1,7	28,3
Campione 63	184.999	1.891	2.022	184,8	1,6	28,4
Campione 63	184.619	1.885	2.016	184,8	1,6	28,4
Campione 64	215.723	1.926	2.168	216,0	1,4	28,6
Campione 64	216.272	1.922	2.135	216,0	1,4	28,6
Campione 65	345.653	1.913	1.961	337,5	0,9	29,1
Campione 65	329.240	1.949	2.258	337,5	0,9	29,1
Campione 66	422.386	1.921	2.003	423,8	0,7	29,3
Campione 66	425.062	1.913	1.918	423,8	0,7	29,3
Campione 67	143.953	1.872	2.019	146,2	2,1	27,9
Campione 67	148.355	1.864	1.883	146,2	2,1	27,9
Campione 68	226.627	1.887	2.161	226,3	1,3	28,7
Campione 68	225.889	1.886	2.179	226,3	1,3	28,7
Campione 69	262.186	1.873	1.859	257,6	1,2	28,8
Campione 69	252.913	1.870	1.938	257,6	1,2	28,8
Campione 70	457.062	1.950	2.136	454,4	0,6	29,4
Campione 70	451.630	1.951	2.130	454,4	0,6	29,4
Campione 71	276.860	1.845	2.202	272,8	1,1	28,9
Campione 71	268.709	1.847	2.185	272,8	1,1	28,9
Campione 72	173.124	1.833	1.990	174,1	1,7	28,3
Campione 72	175.064	1.791	1.573	174,1	1,7	28,3
Campione 73	234.305	1.853	2.079	232,2	1,3	28,7
Campione 73	229.977	1.862	2.123	232,2	1,3	28,7
Campione 74	185.262	1.843	1.848	189,2	1,6	28,4
Campione 74	193.058	1.854	1.883	189,2	1,6	28,4
Campione 75	209.992	1.849	1.761	206,2	1,5	28,5
Campione 75	202.342	1.849	1.739	206,2	1,5	28,5
Campione 76	179.627	1.854	1.928	177,2	1,7	28,3
Campione 76	174.660	1.856	2.022	177,2	1,7	28,3
Campione 77	205.074	1.860	2.120	202,3	1,5	28,5
Campione 77	199.407	1.855	2.116	202,3	1,5	28,5
Campione 78	315.706	1.866	1.872	312,1	1,0	29,0
Campione 78	308.491	1.861	1.862	312,1	1,0	29,0
Campione 79	118.916	1.831	1.838	116,7	2,6	27,4
Campione 79	114.513	1.832	2.068	116,7	2,6	27,4
Campione 80	97.310	1.769	1.565	101,3	3,0	27,0
Campione 80	105.282	1.714	1.466	101,3	3,0	27,0
Campione 81	242.729	1.824	1.759	238,5	1,3	28,7
Campione 81	234.336	1.833	1.987	238,5	1,3	28,7

Tabella 5: estrazione campioni 82-97

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni campioni (ng/µl)	Volume di campione da prelevare per la diluizione	Volume di soluzione AE da aggiungere per la diluizione
Campione 82	389.450	1.836	2.073	351,4	0,8	29,2
Campione 82	313.375	1.845	2.180	351,4	0,8	29,2
Campione 83	389.175	1.834	1.864	386,1	0,7	29,3
Campione 83	383.058	1.838	1.905	386,1	0,7	29,3
Campione 84	622.167	1.885	2.030	619	0,5	29,5
Campione 84	615.842	1.874	2.014	619	0,5	29,5
Campione 85	606.336	1.871	2.052	609,4	0,5	29,5
Campione 85	612.597	1.859	2.010	609,4	0,5	29,5
Campione 86	129.182	1.904	2.655	148,6	2	28
Campione 86	167.988	1.828	2.071	148,6	2	28
Campione 87	295.147	1.892	2.329	291,7	1	29
Campione 87	288.300	1.876	2.323	291,7	1	29
Campione 88	231.604	1.849	2.121	240,2	1,2	28,8
Campione 88	248.867	1.839	2.128	240,2	1,2	28,8
Campione 89	268.507	1.862	2.145	262,9	1,1	28,9
Campione 89	257.380	1.856	2.160	262,9	1,1	28,9
Campione 90	311.907	1.882	2.217	310,6	0,9	29,1
Campione 90	309.447	1.874	2.220	310,6	0,9	29,1
Campione 91	292.107	1.868	2.205	287,9	1	29
Campione 91	283.811	1.871	2.264	287,9	1	29
Campione 92	290.348	1.848	2.116	296	1	29
Campione 92	301.737	1.844	2.082	296	1	29
Campione 93	246.415	1.825	2.023	260,4	1,1	28,9
Campione 93	274.413	1.836	2.030	260,4	1,1	28,9
Campione 94	331.081	1.912	2.204	348,1	0,8	29,2
Campione 94	366.153	1.903	2.220	348,1	0,8	29,2
Campione 95	210.948	1.860	2.148	207,2	1,4	28,6
Campione 95	203.491	1.866	2.174	207,2	1,4	28,6
Campione 96	218.397	1.861	2.199	224,9	1,3	28,7
Campione 96	231.419	1.861	2.206	224,9	1,3	28,7
Campione 97	170.244	1.839	2.265	167,7	1,8	28,2
Campione 97	165.183	1.837	2.266	167,7	1,8	28,2

Tabella 6: estrazione campioni 98-113

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni campioni (ng/µl)	Volume di campione da prelevare per la diluizione	Volume di soluzione AE da aggiungere per la diluizione
Campione 98	268.187	2.016	2.270	268,7	1,1	28,9
Campione 98	269.195	2.043	2.378	268,7	1,1	28,9
Campione 99	255.859	1.919	2.188	254,9	1,2	28,8
Campione 99	253.910	1.932	2.210	254,9	1,2	28,8
Campione 100	495.042	2.035	2.186	512,7	0,6	29,4
Campione 100	530.486	2.029	2.211	512,7	0,6	29,4
Campione 101	339.091	2.009	2.254	346,2	0,9	29,1
Campione 101	353.285	2.011	2.256	346,2	0,9	29,1
Campione 102	422.417	2.041	2.244	430,8	0,7	29,3
Campione 102	439.165	2.025	2.231	430,8	0,7	29,3
Campione 103	429.801	1.987	2.071	431,3	0,7	29,3
Campione 103	432.789	2.020	2.310	431,3	0,7	29,3
Campione 104	491.064	2.067	2.311	493,3	0,6	29,4
Campione 104	495.066	2.080	2.323	493,3	0,6	29,4
Campione 105	107.013	1.882	2.405	107,8	2,8	27,2
Campione 105	108.606	1.878	2.330	107,8	2,8	27,2
Campione 106	399.308	2.060	2.287	393,1	0,7	29,3
Campione 106	386.867	2.069	2.327	393,1	0,7	29,3
Campione 107	230.799	1.852	1.966	225,9	1,3	28,7
Campione 107	221.067	1.850	2.133	225,9	1,3	28,7
Campione 108	241.152	1.863	2.289	268,0	1,1	28,9
Campione 108	294.832	1.844	2.026	268,0	1,1	28,9
Campione 109	204.819	1.931	2.148	211,2	1,4	28,6
Campione 109	217.675	1.919	2.054	211,2	1,4	28,6
Campione 110	276.750	1.938	2.058	275,9	1,1	28,9
Campione 110	275.069	1.922	1.998	275,9	1,1	28,9
Campione 111	248.370	1.919	2.341	260,9	1,1	28,9
Campione 111	273.480	1.923	2.321	260,9	1,1	28,9
Campione 112	364.298	1.936	1.998	352,4	0,8	29,2
Campione 112	340.560	1.951	2.226	352,4	0,8	29,2
Campione 113	476.824	1.964	2.247	456,8	0,6	29,4
Campione 113	436.798	1.966	2.260	456,8	0,6	29,4

Tabella 7: estrazione campioni 114-128

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni campioni (ng/µl)	Volume di campione da prelevare per la diluizione	Volume di soluzione AE da aggiungere per la diluizione (µl)
Campione 114	56.696	1.927	1.986	56,8	5,3	24,7
Campione 114	56.963	1.899	2.012	56,8	5,3	24,7
Campione 115	37.046	1.764	1.324	37,9	8	22
Campione 115	38.846	1.738	1.241	37,9	8	22
Campione 116	42.143	1.788	2.773	42,1	7,1	22,9
Campione 116	42.084	1.778	2.695	42,1	7,1	22,9
Campione 117	24.258	1.742	1.269	24,8	12,1	17,9
Campione 117	25.253	1.658	1.206	24,8	12,1	17,9
Campione 118	35.569	1.740	1.324	36,2	8,3	21,7
Campione 118	36.810	1.731	1.269	36,2	8,3	21,7
Campione 119	49.078	1.801	1.540	50,4	5,9	24,1
Campione 119	51.702	1.785	1.593	50,4	5,9	24,1
Campione 120	87.091	1.966	2.183	87,8	3,4	26,6
Campione 120	88.609	1.953	2.192	87,8	3,4	26,6
Campione 121	26.590	1.660	1.004	26,8	11,2	18,8
Campione 121	27.038	1.654	1.019	26,8	11,2	18,8
Campione 122	42.857	1.676	1.193	42,6	7	23
Campione 122	42.261	1.700	1.172	42,6	7	23
Campione 123	22.999	1.565	0.756	23,2	13	17
Campione 123	23.413	1.547	0.719	23,2	13	17
Campione 124	26.281	1.689	3.113	27	11,1	18,9
Campione 124	27.581	1.631	2.755	27	11,1	18,9
Campione 125	82.759	2.133	1.060	83,8	3,6	26,4
Campione 125	84.881	2.173	1.058	83,8	3,6	26,4
Campione 126	39.621	1.764	2.913	40,3	7,4	22,6
Campione 126	41.144	1.758	2.616	40,3	7,4	22,6
Campione 127	17.135	1.390	0.978	17,2	17,4	12,6
Campione 127	17.431	1.446	0.920	17,2	17,4	12,6
Campione 128	36.564	1.660	1.226	37,3	8	22
Campione 128	38.049	1.647	1.148	37,3	8	22

Tabella 8: estrazione campioni 129-144

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni campioni (ng/µl)	Volume di campione da prelevare per la diluizione	Volume soluzione AE da aggiungere per la diluizione
Campione 129	141.451	2.067	1.998	147,7	2,03	28
Campione 129	153.869	2.052	1.864	147,7	2,03	28
Campione 130	122.959	1.959	1.697	119,2	2,5	27,5
Campione 130	115.514	1.973	1.802	119,2	2,5	27,5
Campione 131	292.894	2.080	2.199	297,8	1	29
Campione 131	302.788	2.089	2.222	297,8	1	29
Campione 132	152.889	1.984	1.599	148,6	2	28
Campione 132	144.359	2.044	1.800	148,6	2	28
Campione 133	134.591	2.133	2.159	145,6	2	28
Campione 133	156.685	2.130	2.155	145,6	2	28
Campione 134	50.525	1.796	0.782	51,3	5,8	24,2
Campione 134	52.065	1.751	0.777	51,3	5,8	24,2
Campione 135	44.669	1.936	1.635	44,8	6,7	23,3
Campione 135	44.939	1.942	1.580	44,8	6,7	23,3
Campione 136	32.743	1.852	0.978	33,8	8,9	21,1
Campione 136	34.981	1.855	0.964	33,8	8,9	21,1
Campione 137	52.545	1.879	1.567	52,5	5,7	24,3
Campione 137	52.536	1.893	1.614	52,5	5,7	24,3
Campione 138	33.075	1.979	2.258	34,5	8,7	21,3
Campione 138	35.943	1.913	2.318	34,5	8,7	21,3
Campione 139	56.113	1.878	2.048	57,6	5,2	24,8
Campione 139	59.186	1.879	2.021	57,6	5,2	24,8
Campione 140	47.415	1.933	1.859	48,1	6,2	23,8
Campione 140	48.837	1.894	1.847	48,1	6,2	23,8
Campione 141	119.050	1.950	2.204	119,4	2,5	27,5
Campione 141	119.833	1.950	2.223	119,4	2,5	27,5
Campione 142	66.689	1.894	2.025	67,6	4,4	25,6
Campione 142	68.638	1.884	1.976	67,6	4,4	25,6
Campione 143	31.144	1.880	2.282	31,4	9,5	20,5
Campione 143	31.830	1.862	2.287	31,4	9,5	20,5
Campione 144	77.213	1.863	1.802	78,2	3,8	26,2
Campione 144	79.210	1.848	1.831	78,2	3,8	26,2

Tabella 9: estrazione campioni 145-168

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni campioni (ng/μl)	Volume campione da prelevare per la diluizione	Volume di soluzione AE da aggiungere alla diluizione
Campione 145 82.300	1.826	1.575	74,2		4	26
Campione 145 66.095	1.867	1.304	74,2		4	26
Campione 146 39.780	1.844	1.245	39,6		7,5	22,5
Campione 146 39.423	1.904	1.209	39,6		7,5	22,5
Campione 147 127.921	1.889	2.019	130,7		2,3	27,7
Campione 147 133.539	1.888	2.011	130,7		2,3	27,7
Campione 148 70.352	1.875	1.832	82,7		3,6	26,4
Campione 148 95.048	1.870	1.890	82,7		3,6	26,4
Campione 149 24.277	1.872	1.488	24,7		12,1	17,9
Campione 149 25.086	1.693	1.426	24,7		12,1	17,9
Campione 150 162.847	1.870	1.865	168,3		1,8	28,2
Campione 150 174.260	1.840	1.767	168,3		1,8	28,2
Campione 151 25.022	1.878	1.065	24,3		12,3	17,7
Campione 151 23.631	1.743	1.126	24,3		12,3	17,7
Campione 152 49.227	1.827	1.714	50,9		5,9	24,1
Campione 152 52.575	1.825	1.764	50,9		5,9	24,1
Campione 153 52.404	1.849	1.869	52,4		5,7	24,3
Campione 153 52.969	1.804	1.713	52,4		5,7	2,3
Campione 154 51.486	1.387	0.977	55,4		5,4	24,6
Campione 154 59.402	1.780	1.686	55,4		5,4	24,6
Campione 155 55.225	1.802	1.489	57,8		5,2	24,8
Campione 155 60.525	1.802	1.496	57,8		5,2	24,8
Campione 156 140.868	1.831	1.789	128,8		2,3	27,7
Campione 156 116.805	1.837	1.855	128,8		2,3	27,7
Campione 157 44.646	1.770	1.443	42,1		7,1	22,9
Campione 157 39.599	1.783	1.501	42,1		7,1	22,9
Campione 158 167.005	1.838	1.918	156,9		1,9	28,1
Campione 158 146.779	1.841	1.994	156,9		1,9	28,1
Campione 159 89.419	1.825	1.874	81,8		9,6	26,4
Campione 159 74.219	1.809	1.874	81,8		9,6	26,4
Campione 160 31.324	1.793	1.873	32,5		9,2	20,8
Campione 160 33.683	1.785	1.694	32,5		9,2	20,8
Campione 161 208.139	1.828	1.874	198,2		1,5	28,5
Campione 161 188.417	1.833	1.825	198,2		1,5	28,5
Campione 162 72.858	1.766	1.656	72,3		4,1	25,9
Campione 162 71.015	1.773	1.702	72,3		4,1	25,9
Campione 163 71.553	1.800	2.075	62,9		4,7	25,3
Campione 163 54.271	1.790	2.049	62,9		4,7	25,3
Campione 164 40.189	1.799	2.076	48,2		6,2	23,8
Campione 164 56.178	1.801	2.065	48,2		6,2	23,8
Campione 165 83.838	1.851	1.772	86,2		3,5	26,5
Campione 165 88.648	1.835	1.789	86,2		3,5	26,5
Campione 166 28.326	1.713	1.648	31,9		9,6	20,4
Campione 166 33.524	1.693	1.683	31,9		9,6	20,4
Campione 167 157.113	1.881	2.068	152,7		1,9	28,1
Campione 167 148.354	1.862	1.996	152,7		1,9	28,1
Campione 168 46.758	1.793	1.969	56,1		5,3	24,7
Campione 168 65.476	1.908	2.013	56,1		5,3	24,7

Tabella 10: estrazione campioni 169-184

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni campioni (ng/μl)	Volume di campione da prelevare per la diluizione	Volume di soluzione AE da aggiungere per la diluizione
Campione 169 317.160	1.973	2.126	306,4		2	58
Campione 169 295.573	1.961	2.056	306,4		2	58
Campione 170 570.661	1.923	2.178	574,9		2,1	117,9
Campione 170 579.085	1.918	2.171	574,9		2,1	117,9
Campione 171 686.149	1.889	2.337	660,5		1,8	118,2
Campione 171 634.897	1.889	2.296	660,5		1,8	118,2
Campione 172 533.648	1.918	1.954	565,3		2,1	117,9
Campione 172 597.147	1.936	1.969	565,3		2,1	117,9
Campione 173 255.478	1.872	2.114	257,2		1,5	38,5
Campione 173 258.908	1.879	2.138	257,2		1,5	38,5
Campione 174 505.294	1.867	2.024	519,6		2,3	117,7
Campione 174 534.043	1.873	2.139	519,6		2,3	117,7
Campione 175 811.675	1.955	2.054	822,8		2	158,06
Campione 175 833.917	1.944	2.067	822,8		2	158,06
Campione 176 150.944	1.843	1.964	141,7		2,1	27,9
Campione 176 132.957	1.837	1.868	141,7		2,1	27,9
Campione 177 170.650	1.909	1.967	193,3		1,5	28,5
Campione 177 216.020	1.879	1.964	193,3		1,5	28,5
Campione 178 555.220	1.894	2.093	560,3		2,1	117,9
Campione 178 565.385	1.899	2.122	560,3		2,1	117,9
Campione 179 332.420	1.856	2.029	300,2		2	58
Campione 179 267.959	1.862	1.997	300,2		2	58
Campione 180 991.970	1.893	2.215	899,3		1,7	158,2
Campione 180 806.620	1.885	2.204	899,3		1,7	158,2
Campione 181 279.110	1.824	1.466	265,5		1,5	38,5
Campione 181 251.945	1.824	1.451	265,5		1,5	38,5
Campione 182 410.785	1.881	1.934	384,1		1,6	58,4
Campione 182 357.485	1.867	1.889	384,1		1,6	58,4
Campione 183 190.005	1.827	1.693	198,3		1,5	28,5
Campione 183 206.743	1.824	1.685	198,3		1,5	28,5
Campione 184 269.656	1.842	1.949	261,3		1,5	38,5
Campione 184 252.942	1.851	2.038	261,3		1,5	38,5

Tabella 11: estrazione campioni 185-207

Sample Name	Nucleic Acid(ng/μL)	A260/A280	A260/A230	Medie concentrazioni campioni (ng/μL)	Volume di campione da prelevare per la diluizione	Volume di soluzione AE da aggiungere alla diluizione
Campione 185	177.094	1.845	3.034	176,4	1,7	28,3
Campione 185	175.790	1.849	3.146	176,4	1,7	28,3
Campione 186	148.129	1.856	3.448	148,6	2	28
Campione 186	149.055	1.856	3.449	148,6	2	28
Campione 187	181.931	1.868	3.057	182,6	1,6	28,4
Campione 187	183.387	1.879	3.059	182,6	1,6	28,4
Campione 188	293.740	1.855	2.677	284,2	1,7	48,3
Campione 188	274.729	1.860	2.653	284,2	1,7	48,3
Campione 189	262.864	1.834	2.405	243,8	2	48
Campione 189	224.658	1.853	2.858	243,8	2	48
Campione 190	199.896	1.863	2.754	197	1,5	28,5
Campione 190	194.053	1.896	3.125	197	1,5	28,5
Campione 191	218.794	1.872	2.908	248,5	2	48
Campione 191	278.231	1.876	2.667	248,5	2	48
Campione 192	268.354	1.841	2.253	253,2	2	48
Campione 192	238.143	1.852	2.517	253,2	2	48
Campione 193	291.295	1.864	2.281	299,7	1,7	48,3
Campione 193	308.188	1.863	2.243	299,7	1,7	48,3
Campione 194	254.725	1.835	2.349	254,3	2	48
Campione 194	253.926	1.838	2.466	254,3	2	48
Campione 195	158.758	1.825	2.329	138,1	2,27	27,8
Campione 195	117.450	1.811	2.285	138,1	2,27	27,8
Campione 196	169.471	1.857	2.857	167,6	1,8	28,2
Campione 196	165.735	1.854	2.805	167,6	1,8	28,2
Campione 197	130.276	1.846	3.242	135,5	2,2	27,8
Campione 197	143.762	1.851	3.136	135,5	2,2	27,8
Campione 198	147.464	1.844	3.402	149,1	2	28
Campione 198	150.760	1.847	3.325	149,1	2	28
Campione 199	267.251	1.893	2.716	268,7	1,8	48,2
Campione 199	270.184	1.889	2.703	268,7	1,8	48,2
Campione 200	246.615	1.850	2.677	220,7	2,2	47,8
Campione 200	194.860	1.863	2.959	220,7	2,2	47,8
Campione 201	176.881	1.755	2.287	169,5	1,7	28,3
Campione 201	162.093	1.804	2.569	169,5	1,7	28,3
Campione 202	231.908	1.846	2.585	195,4	1,5	28,5
Campione 202	159.030	1.846	3.103	195,4	1,5	28,5
Campione 203	206.966	1.866	2.951	211,05	2,4	47,6
Campione 203	215.147	1.863	2.844	211,05	2,4	47,6
Campione 204	374.082	1.861	2.504	362,7	1,6	58,4
Campione 204	351.343	1.851	2.430	362,7	1,6	58,4
Campione 205	359.362	1.860	2.480	361,6	1,6	58,4
Campione 205	363.802	1.866	2.511	361,6	1,6	58,4
Campione 206	272.782	1.812	2.294	305,4	1,9	58,1
Campione 206	338.106	1.856	2.424	305,4	1,9	58,1
Campione 207	173.507	1.859	2.929	183,8	1,6	28,4
Campione 207	194.145	1.862	2.834	183,8	1,6	28,4

Tabella 12: 13 marcatori SSR microsatellite

ID	VV32	MD7	BSV3 (VMC6F1)	VA2 (VMCNG4B)	VvZAG79	BSV4 (VMC6G4)	MD28	MD27	MD25	VvZAG62	MD5	MD32	BSV3 (VMC6F1)														
1	155	155	249	249	141	161	190	176	248	260	181	187	236	238	179	194	249	277	201	201	234	234	251	273	179	133	
2	145	155	239	249	143	165	158	176	250	250	193	195	239	249	185	185	243	253	187	203	224	240	273	273	133	139	
3	133	151	239	249	143	165	158	176	250	250	193	195	239	249	185	185	243	253	187	203	224	240	273	273	133	139	
4	133	151	239	249	143	165	158	176	250	250	193	195	239	249	185	185	243	253	187	203	224	240	273	273	133	139	
5	145	155	249	249	143	143	172	178	250	256	187	187	237	261	194	194	245	249	193	199	234	234	251	273	133	139	
6	137	143	243	247	143	147	172	176	246	256	177	191	247	247	179	194	243	259	187	195	228	234	251	259	133	139	
7	143	143	243	247	165	161	176	176	250	250	177	187	239	247	193	194	243	259	189	203	228	238	273	273	139	139	
8	143	155	239	249	143	167	172	176	250	258	187	197	261	281	194	194	245	249	187	193	234	234	251	275	133	139	
9	145	155	249	249	143	143	172	178	250	256	187	187	237	261	194	194	245	249	193	199	234	234	251	273	133	139	
10	145	155	249	249	143	143	172	178	250	256	187	187	237	261	194	194	245	249	193	199	234	234	251	273	133	139	
11	137	143	243	247	143	147	172	176	246	256	177	191	247	247	179	194	243	259	187	195	228	234	251	259	133	139	
12	137	143	243	247	143	147	172	176	246	256	177	191	247	247	179	194	243	259	187	195	228	234	251	259	133	139	
13	143	153	239	247	141	165	154	176	236	260	169	191	239	251	179	189	243	259	195	203	226	234	251	273	133	139	
14	143	153	239	247	141	165	154	176	236	260	169	191	239	251	179	189	243	259	195	203	226	234	251	273	133	139	
15	141	145	239	247	141	169	176	176	236	250	197	181	245	247	189	189	245	259	197	207	228	236	249	255	129	145	
16	135	141	253	259	141	165	158	174	248	258	177	181	237	239	175	181	243	271	195	199	234	234	245	251	139	145	
17	139	149	259	265	149	165	166	176	246	256	188	188	238	262	188	188	246	260	197	209	239	239	249	259	139	145	
18	133	153	235	247	161	161	158	172	236	250	169	191	251	279	179	192	243	253	193	203	236	238	245	273	137	145	
19	141	141	239	243	141	165	172	172	248	250	177	181	237	239	179	179	238	253	224	187	199	232	234	251	253	139	139
20	141	143	239	253	141	165	174	176	242	248	181	187	239	251	179	185	245	271	199	201	234	236	263	273	139	145	
21	153	153	235	235	151	169	162	176	260	260	187	193	239	239	183	189	253	277	193	201	228	234	253	263	137	137	
22	141	143	239	253	151	165	172	176	242	248	181	187	239	251	179	185	245	271	199	201	234	236	251	263	139	145	
23	137	141	249	253	151	169	158	172	248	250	181	187	237	261	179	185	245	271	199	199	234	236	263	273	139	145	
24	137	143	239	247	169	171	174	176	242	248	181	183	236	238 e 261	179	181	243	253	189	201	238	236	249	249	137	145	
25	137	143	239	249	147	147	162	162	236	250	181	183	231	251	189	189	243	253	195	207	228	236	249	255	129	145	
26	137	141	249	253	151	167	158	158	244	250	177	187	261	279	181	185	245	271	199	199	238	240	253	273	133	145	
27	135	151	249	253	143	143	172	178	248	250	177	177	239	247	181	185	253	299	187	201	234	246	249	251	139	145	
28	143	145	239	253	151	165	158	172	242	248	177	181	239	239	179	189	245	259	187	199	240	240	263	273	133	139	
29	143	153	247	247	141	143	150	168	236	250	181	181	237	247	179	185	243	259	189	203	236	240	263	263	139	145	
30	141	155	235	239	151	165	150	166	234	254	181	189	247	247	181	189	253	299	195	199	232	240	249	249	137	145	
31	143	145	247	259	141	151	174	176	236	248	177	187	237	251	179	179	245	259	189	195	234	236	273	273	133	139	
32	141	151	253	253	143	143	150	150	248	256	177	177	236	238 e 245	185	184	253	259	187	187	234	240	257	275	133	139	
33	133	145	239	239	141	143	158	172	242	260	177	197	236	238 e 244	189	192	243	245	187	199	234	240	245	251	133	139	
34	135	141	259	263	147	161	162	166	236	248	181	193	239	251	189	189	243	253	193	195	226	240	249	249	145	145	
35	141	145	233	245	141	143	162	174	236	258	181	181	257	279	181	183	245	271	195	203	236	240	245	249	129	145	
36	133	137	245	247	143	169	150	164	242	250	177	181	247	261	181	185	243	243	187	201	236	234	245	273	139	145	
37	141	143	247	253	141	169	158	172	236	250	181	193	237	247	175	185	259	271	189	199	234	236	251	273	133	139	
38	141	155	239	243	143	143	150	160	248	256	181	187	247	257	194	194	245	249	197	195	224	234	247	273	133	139	
39	143	153	239	247	141	165	154	176	236	260	169	191	239	251	179	189											

46	133	143	247	247	141	143	158	174	238	250	177	187	239	241	179	187	199	203	207	236	242	243	263	273	133	139	
47	133	141	247	253	141	143	174	174	248	256	181	191	239	241	179	181	243	211	189	199	234	240	263	273	133	139	
48	143	143	247	249	161	177	154	176	236	254	169	177	239	251	179	179	251	259	199	203	232	234	273	273	133	139	
49	135	149	239	259	141	141	158	176	236	242	177	177	239	251	179	189	243	245	195	199	234	240	251	273	133	139	
50	141	135	249	249	161	165	150	176	236	256	181	181	239	243	179	189	189	245	241	195	203	232	249	249	139	139	
51	135	145	249	249	161	165	150	176	236	256	181	181	239	243	179	179	245	245	195	199	234	240	245	251	133	139	
52	135	143	247	249	143	167	158	176	236	256	181	191	239	261	185	194	243	259	187	193	236	240	253	259	133	139	
53	135	143	247	249	143	167	158	176	236	256	181	191	239	261	185	194	243	259	187	193	236	240	253	259	133	139	
54	133	143	247	249	143	165	158	176	236	256	169	177	247	285	185	193	243	245	189	195	238	236	247	273	139	139	
55	143	155	235	249	141	141	150	172	242	248	181	187	236	238	261	179	194	275	277	195	201	234	240	245	251	133	139
56	143	155	235	249	141	141	150	172	242	248	181	187	236	238	261	179	194	275	277	195	201	234	240	245	251	133	139
57	143	155	235	249	141	141	150	172	242	248	181	187	236	238	261	179	194	275	277	195	201	234	240	245	251	133	139
58	143	155	235	249	141	141	150	172	242	248	181	187	236	238	261	179	194	275	277	195	201	234	240	245	251	133	139
59	143	155	235	249	141	141	150	172	242	248	181	187	236	238	261	179	194	275	277	195	201	234	240	245	251	133	139
60	143	155	235	249	141	141	150	172	242	248	181	187	236	238	261	179	194	275	277	195	201	234	240	245	251	133	139
61	143	155	235	249	141	141	150	172	242	248	181	187	236	238	261	179	194	275	277	195	201	234	240	245	251	133	139
62	135	151	247	249	151	165	158	158	240	250	187	191	236	238	261	181	185	253	259	193	199	234	236	251	273	133	139
63	135	151	247	249	151	165	158	158	240	250	187	191	236	238	261	181	185	253	259	193	199	234	236	251	273	133	139
64	133	145	239	245	141	143	168	172	242	250	177	195	251	251	189	194	243	245	187	201	238	240	251	255	133	139	
65	137	145	243	243	141	141	158	166	242	250	177	193	243	275	183	183	245	253	193	201	238	236	249	273	139	139	
66	147	145	247	249	141	143	158	176	236	256	181	187	239	241	179	184	249	249	199	203	234	240	245	251	133	139	
67	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
68	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
69	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
70	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
71	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
72	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
73	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
74	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
75	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
76	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
77	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
78	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
79	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
80	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
81	143	153	233	239	143	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
82	141	145	239	247	141	165	176	176	248	250	181	181	239	261	179	185	245	271	189	199	234	236	273	273	133	139	
83	137	141	249	253	151	169	158	172	248	250	181	187	237	261	179	185	245	271	199	203	234	236	263	273	139	145	
84	143	145	239	249	141	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
85	137	141	249	253	151	167	158	158	244	250	177	187	261	279	181	185	245	271	199	203	234	236	263	273	133	145	
86	143	145	239	249	141	143	166	176	248	256	177	183	247	261	194	194	249	259	187	195	234	236	259	275	139	139	
87	133	145	239	239	141	143	168	172	242	260	177	209	236	238	261	189	192	243	245	187	199	240	240	263	273	133	139
88	143	145	239	253	151	165	158	172	242	248	177	181	239	259	179	189	245	259	187	199	240	240	263	273	133	139	
89	141	145	239	253	151	165	158	172	242	248	181	187	239	251	179	185	245	271	199	201	234	236	251	263	139	145	
90	141	153	249	251	141	141	150	172	236	254	169	183	239	239	185	192	243	253	193	199	232	238	253	263	133	145	
91	143	143	247	247	141	143	158	176	236	256	181	187	239	241	179	184	249	249	199	203	234	240	245	251	133	139	
92	143	143	247	247	141	143	158	176	236	256	181	187	239	241	179	184	249	249	199	203	234	240	245	251	133	139	
93	143	143	247	247	141	143	158	176	236	256	181	187	239	241	179	184	249	249	199	203	234	240	245	251	133	139	
94	135	141	247	253	151	165	174	176	236	236	177	181	239	247	179	179	243	271	189	199	234	240	263	273	133	139	
95	135	141	247	253	151	165	174	176	236	236	177	181	239	247	179	179	243	271	189	199	234	240	263	273	133	139	
96	141	143	239	253	141	165	174	176	242	248	181	187	239	251	179	185	245	271	199	201	234	236	263	273	139	145	
97	137	143	239	253	141	165	174	176	242	248	181	187	239	251	179	185	245	271	199	201	234	236	263	273	139	145	
98	135	151	249	253	143	143	172	178	248	250	177	177	239	247	181	185	245	259	187	201	234	240	249	251	139	145	
99	141	145	243	243	143	153	158	166	246	250	195	193	216	247	181	185	245	267	187	187	234	240	263	273	139	145	
100	141	151	243	243	143	153	158	166	246	250	195	193	216	247	181	185	245	267	187	187	234	240	263	273	139	145	
101	143	143	247	247	141	143	158	176	236	256	181	187	239	241	179	184	249	249	199								

181	133	137	245	247	143	169	150	164	242	250	177	191	247	261	181	185	243	243	187	201	226	234	245	273	139	145
182	141	143	247	253	141	169	158	172	246	250	181	193	227	247	175	185	259	271	189	199	234	234	251	273	133	139
183	137	143	239	259	147	147	162	162	236	250	181	183	231	251	189	189	243	253	195	207	238	236	245	255	129	145
184	153	153	251	259	159	165	159	159	250	250	187	197	257	271	199	194	243	255	203	195	238	236	248	269	137	145
185	137	153	249	259	143	165	162	172	250	250	19	243	261	189	189	243	259	207	207	234	236	245	245	251	129	145
186	141	153	243	263	147	161	162	168	250	254	181	181	236	238 e 25	179	183	243	275	195	203	236	236	247	249	137	147
187	137	153	239	247	169	171	174	176	242	248	181	183	236	238 e 26	179	181	243	253	189	201	236	236	249	249	137	145
188	141	153	239	247	141	165	176	176	246	260	169	191	239	251	179	189	243	259	195	201	236	234	251	273	133	139
189	141	143	239	253	151	165	172	176	242	248	181	187	239	251	179	185	245	271	199	201	234	236	251	263	139	145
190	139	141	247	253	143	165	169	174	246	248	181	183	231	251	189	189	243	253	195	207	238	236	249	249	137	145
191	141	151	253	253	143	143	150	150	248	256	177	177	236	238 e 26	185	194	253	259	187	187	234	240	257	275	133	139
192	139	141	249	259	141	165	158	174	248	258	177	181	237	239	175	181	248	271	195	199	234	234	245	251	139	145
193	143	145	239	253	151	165	158	172	242	248	177	181	239	239	179	189	245	259	187	199	240	240	245	273	133	139
194	141	143	239	253	141	165	174	176	242	248	181	187	239	251	179	185	245	271	199	201	234	236	263	273	139	145
195	139	141	247	253	143	165	174	176	246	248	177	181	239	247	181	185	253	259	187	201	234	246	246	263	273	139
196	135	151	249	253	143	143	172	178	248	250	177	181	239	247	181	185	253	259	187	201	234	246	246	263	273	139
197	153	153	235	235	151	169	162	176	260	260	187	193	239	239	183	189	253	277	193	201	238	234	253	263	137	137
198	137	145	239	259	147	147	162	162	236	250	181	183	231	251	189	189	243	253	195	207	238	236	249	249	137	145
199	137	153	239	247	169	171	174	176	242	248	181	183	236	238 e 26	179	181	243	253	189	201	236	236	249	249	137	145
200	141	145	239	247	141	169	176	176	236	250	177	181	239	261	179	185	245	271	189	199	234	236	273	273	133	139
201	143	153	247	247	141	143	150	168	236	250	181	181	237	247	179	185	243	259	189	203	236	240	263	263	139	145
202	143	153	239	247	141	165	154	176	236	260	169	191	239	251	179	189	243	259	195	203	236	234	251	273	133	139
203	137	141	249	253	151	169	158	172	248	250	181	187	237	261	179	185	245	271	199	199	234	236	263	273	139	145
204	143	143	249	253	151	169	158	172	248	250	181	187	237	261	179	185	245	271	199	199	234	236	263	273	139	145
205	137	141	249	253	151	167	158	158	244	250	177	187	261	279	181	185	245	271	199	199	238	240	253	273	133	145
206	133	145	239	239	141	143	158	172	242	260	177	197	236	238 e 24	189	192	243	245	187	199	224	240	245	251	133	139
207	141	141	239	253	141	165	172	172	246	250	177	181	237	259	179	179	253	271	187	199	234	234	251	255	133	139

Tabella 13: identificazione varietale con i 9 SSR condivisi a livello internazionale

ID	Nome accessione	collezione	IDENTITA' by SSR	VIVC variety No.
1	Wild grape (the male flower) N2	VCR	-	-
2	Ag Darbandi	VCR	ALA SHAANI	203
3	Ag Gyavra	VCR	GYAVRA (3.2021)/AG GYUSH UREIYEE (4.2021) [coll. Susegana]	-
4	Ag Gyush ureiyee	VCR	AG GYAVRA (3.2021)/AG GYUSH UREIYEE (4.2021) [coll. Susegana]	-
5	Ala Shany	VCR	ALA SHAANI	203
6	Ary Uzumu	VCR	TAIFI ROZOVIYI (Uzbekistan)	12208
7	Bayanshira B.	VCR	BAYAN SHIREI	1049
8	Dana Burnu	VCR	DANA BURNU (8.2021) [coll. Susegana]	-
9	Gyzyl Uzum	VCR	ALA SHAANI	203
10	Khart-Khart	VCR	ITSAPUK SPITAK	22279
11	Tabrizi B.	VCR	TEBRIZI	6249
12	Chitistvala kakhuri (bobduri)	VCR	MISVANE KAKHURI	8121
13	Seura	VCR	SEURA (2.13) [coll. Susegana]	-
14	Yaghoti white	VCR	NAOSE (Afghanistan)	8343
15	Kharistvala Meskhuri	VCR	KHARISTVALA MESKHURI (15.2021) [coll. Susegana]	-
16	Andreuli tkhelkana	VCR	(16.2021)-(17.13)/AGBIJ JENSKI (82.13)/GORULI MISVANE	-
17	Ojaleshi techkhumis (orbeluri ojaleshi)	VCR	CABERNET FRANC	1927
18	Barisakho turning 01	VCR	BARISAKHO TURNING 01 (18.2021) [coll. Susegana]	-
19	Kvelouri	VCR	KVELOURI (49.13-19.2021) [coll. Susegana]	-
20	Adreula tchelkana	VCR	ADREULA TCHELKANA (176.13-20.2021)	-
21	Chachkriala - 01	VCR	-	-
22	Shavkapito	VCR	SHAVKAPITO (36.13-22.2021)	-
23	Mskhvili Kurdzeni	VCR	MSKHVILI KURDZENI (23.2021)	-
24	Nakhiduri 06	VCR	-	-
25	Skra 01	VCR	-	-
26	Almura Tetri	VCR	A TETRI (163.13) [coll. Susegana]/KARITSVALA TETRI (letteratura)	-
27	Chesm gave	VCR	-	-
28	Isirkvalis tetri	VCR	ISIRKVALIS TETRI (123.13)	-
29	Alexandrouli	VCR	ALEXANDROULI	263
30	Nakhiduri 04	VCR	-	-
31	Dondghlabi Shavi	VCR	DZIRAGOULIS SHAVI (Georgia)	-
32	Chesm gave	VCR	FAHRI (Aradhya, 2003 - Afghanistan/Riaz, 2013)	-
33	Saperavi Khashmis	VCR	SAPERAVI	10708
34	Kvetari 10[2]	VCR	-	-
35	Ninotminda 12	VCR	-	-
36	Sarygilya	VCR	-	-
37	Garabulaghy	VCR	GORULA	4910
38	Khurmaly	VCR	ARMENIA	617
39	Seura	VCR	SEURA (2.13) [coll. Susegana]	-
40	Tedotsminda 25	VCR	-	-
41	Paldo 02	VCR	-	-
42	Tushis tbebi 02	VCR	-	-
43	Larchvall 01	VCR	-	-
44	Mgalobiscvili	VCR	SHAVBARDA	11716
45	Roberto Miravalle	VCR	-	-

46	Dzvelshavi	VCR	JMERULI SCIAVI (41.13)	-
47	Rkatsiteli Tsiteli	VCR	RKATSITELI	10116
48	Borchalo	VCR	IS VASI (3.13-90.13) [coll. Susegana/ARGVETULI SAPERE (G	-
49	Wild form of Ramishvili	VCR	KTSIA 40 (47.13)/KTSIA (Georgia)	-
50	Ninotsminda - 13	VCR	-	-
51	Instituti Grdzelmtevana	VCR	GRDZELMTEVANA INSTITUTIS	24411
52	Gorula (clone)	VCR	MESLHURIMTSVANE	22087
53	Shirkhevi 04	VCR	-	-
54	Rzgi	VCR	AZATENI	820
55	Wild grape of female flower (black berry)	VCR	-	-
56	Wild grape of female flower (dark red berry)	VCR	-	-
57	Kakhet	VCR	KAKHET	5895
58	Sev Krop	VCR	-	-
59	Chilar	VCR	ESKERI	3950
60	Seyrak Areni	VCR	ARENI SEV/MORMOR	576/8002
61	Teraskheni	VCR	ERASKHENI	3924
62	Khatoun Kharji	VCR	ARAKHATI	553
63	Ararati	VCR	MSKHALI	8109
64	Wild form of Ramishvili	VCR	-	-
65	Wild form of Ramishvili	VCR	-	-
66	Absheron Gellnbarmaghy B.	VCR	KHUSAINI BELYI	6203
67	Alykhanly Garagyozy N.	VCR	ERASKHENI	3924
68	Dash Marandi	VCR	MARANDI SHEMAKHINSKII	7364
69	Gyrmyzy Marandi Rg.	VCR	MARANDI SHEMAKHINSKII	7364
70	Gara Shany	VCR	ALA SHAANI	203
71	Gyoybandam	VCR	GARA GYOIBENDAM	21979
72	Gyrmyzy Khuseiny	VCR	ICHKIMAR (Uzbekistan)	5477
73	Huseiny	VCR	ALA SHAANI	203
74	Khyndogny N.	VCR	MATRASSA	7514
75	Madrasa N.	VCR	MATRASSA	7514
76	Mahmudu	VCR	MAKHMUDU	23305
77	Wild grape (the male flower) N1	VCR	-	-
78	Absheron Khatyny	VCR	KHATONY	6169
79	Absheron Kechimemesi	VCR	ABSHERON KECHIMEMESI (AZE007)	-
80	Surmey N.	VCR	ERASKHENI	3924
81	Kishmish vatkana	VCR	KISHMISH VATKANA	6277
82	Kharistvala Meskhuri	VCR	KHARISTVALA MESKHURI (15.2021) [coll. Susegana]	-
83	MSkhvili Kurdzeni	Resistenti	MSKHVILI KURDZENI (23.2021)	-
84	Dondghlabi Shavi	Resistenti	DZIRAGOUJIS SHAVI (Georgia)	-
85	Almura Tetri	Resistenti	A TETRI (163.13) [coll. Susegana/KARITSVALA TETRI (letterat	-
86	Kvelodri	Resistenti	KVELOURI (49.13-19.2021) [coll. Susegana]	-
87	Saperavi Khashmis	Resistenti	SAPERAVI	10708
88	Isirkvalis tetri	Resistenti	ISIRKVALIS TETRI (123.13)	-
89	Shavkapito	Resistenti	SHAVKAPITO (36.13-22.2021)	-
90	Khupishii	Resistenti	CHUPISCIJ (63.13) [coll. Susegana]	-
91	Seura	Resistenti	CABERNET FRANC	1927
92	Ojaleshi techkhumis (orbeluri ojaleshi)	Resistenti	SEURA (2.13) [coll. Susegana]	-
93	Alexandrouli	Resistenti	ALEXANDROULI	263
94	Chitstvala kakhuri (bobduri)	Resistenti	MITSVANE KAKHURI	8121
95	Andreuli tkhelkana	Resistenti	(16.2021)-(177.13)/AGBIJ JENSKI (82.13)/GORULI MITSVANE	-
96	Adreula tchelkana	Resistenti	ADREULA TCHELKANA (176.13-20.2021)	-
97	Skra 01	Resistenti	-	-
98	Chesm gave *	Resistenti	-	-
99	Yaghoi white	Resistenti	NAOSE (Afghanistan)	8343
100	Chesm gave *	Resistenti	FAHRI (Aradhya, 2003 - Afghanistan/Riaz, 2013)	-
101	Sarmis sari 02	Resistenti	-	-
102	Barisakho turning 01	Resistenti	BARISAKHO TURNING 01 (18.2021) [coll. Susegana]	-
103	Nakhiduri 04	Resistenti	-	-
104	Nakhiduri 06	Resistenti	-	-
105	Chachkhriala - 01	Resistenti	-	-
106	Ubakluri	Biodiversita	UBACLURI (129.13) [coll. Susegana]	-
107	Chkhutcheshi	Biodiversita	GORULA	4910
108	Atcharuli tetri	Biodiversita	ACIARULI TETRI (175.13) [coll. Susegana]	-
109	Djvari	Biodiversita	JVARI	3779
110	Sirgula	Biodiversita	-	-
111	Bazalehuri	Biodiversita	BAZALETURI (180.13) [coll. Susegana]	-
112	Tchumuta	Biodiversita	TEUMUTA (7.13) [coll. Susegana]	-
113	Maghlari shavi	Biodiversita	ASYL KARA	731
114	Shavtkhila	Biodiversita	SHAVTKHILA	11723
115	Mgalobiscvili	Biodiversita	SHAVBARDA	11716
116	Didshavi	Biodiversita	DIDSCIAVI (67.13) [coll. Susegana]	-
117	Chkhaveri	Biodiversita	CHUSCIASIAVI (64.13)/CICHAVERI (65.13) [coll. Susegana]	-
118	Tchodi salkhinosi	Biodiversita	-	-
119	Aladasturi	Biodiversita	ALADASTURI (84.13) [coll. Susegana]	-
120	Skhilatubani	Biodiversita	SCHILATUBANI (35.13)/OPOURA (25.13) [coll. Susegana]	-
121	Mugiuretuli	Biodiversita	ALEXANDROULI	263
122	Orona shemokmedis	Biodiversita	TSKOBILA	12704
123	Kashmis saperavi	Biodiversita	SAPERAVI	10708
124	Pashaniki	Biodiversita	-	-
125	Beglaris kurdzeni	Biodiversita	-	-
126	Fakhri	Biodiversita	FAHRI (Aradhya, 2003 - Afghanistan/Riaz, 2013)	-
127	Yaghoi red	Biodiversita	NAOSE (Afghanistan)	8343
128	Sahebi	Biodiversita	-	-
129	Ararati	CONECOV	MSKHALI	8109
130	Mgalobiscvili	CONECOV	SHAVBARDA	11716
131	Dana Burnu	CONECOV	DANA BURNU (8.2021) [coll. Susegana]	-
132	Roberto Miravalle	CONECOV	-	-
133		CONECOV	TEBRIZI	6249
134	Ary Uzumu	CONECOV	TAIFI ROZOVYI (Uzbekistan)	12208
135	Ala Shany	CONECOV	ALA SHAANI	203

136	Wild grape of female flower (black berry)	CONECOVI	-	-
137	Wild grape (the male flower) N1	CONECOVI	-	-
138	Matrassa N	CONECOVI	MATRASSA	7514
139	Khart-Khart	CONECOVI	ITSAPTUK SPITAK	22279
140	Khyndogny N	CONECOVI	MATRASSA	7514
141	Gara Shany	CONECOVI	ALA SHAANI	203
142	Gyzyl Uzum	CONECOVI	ALA SHAANI	203
143	Gyymyzy Marandi Rg	CONECOVI	MARANDI SHEMAKHINSKII	7364
144	Gyoybandam	CONECOVI	GARA GYOIBENDAM	21979
145	Huseiny	CONECOVI	ALA SHAANI	203
146	Wild grape of female flower (dark red berry)	CONECOVI	-	-
147	Mahmudu	CONECOVI	MAKHMUDU	23305
148	Dash Marandi	CONECOVI	MARANDI SHEMAKHINSKII	7364
149	Bayanshira B.	CONECOVI	BAYAN SHIREI	1049
150	Wild grape of female flower	CONECOVI	ABSHERON KECHIMEMESI (AZE007)	-
151	Wild form of Ramishvili	CONECOVI	-	-
152	Wild form of Ramishvili	CONECOVI	KISIA 40 (47.13)/KISIA (Georgia)	-
153	Shirikhevi 04	CONECOVI	-	-
154	Wild form of Ramishvili	CONECOVI	-	-
155	Borchalo	CONECOVI	IAMARIS VASI (3.13-90.13)/ARGVETULI SAPERE (Georgia)	-
156	Institutis Grdzelmtevana	CONECOVI	GRDZELMTEVANA INSTITUTIS	24411
157	Gyushvili	CONECOVI	JMERULI SCAVI (41.13)	-
158	Almura Tetri	CONECOVI	A TETRI (163.13) [coll. Susegana/KARITSVALA TETRI (letterat	-
159	Kharistvala Meskhuri	CONECOVI	KHARISVALA MESKHURI (15.2021) [coll. Susegana]	-
160	Gorula (clone)	CONECOVI	MESKHURI MTSVANE	22087
161	Dondghlabi Shavi	CONECOVI	DZIRAGOULIS SHAVI (Georgia)	-
162	Rkatsiteli Tsteli	CONECOVI	RKATSITELI	10116
163	Kakheta	CONECOVI	KAKHET	5895
164	Sev Kröp	CONECOVI	-	-
165	Chilar	CONECOVI	ESKERI	3960
166	Seyrak Areni	CONECOVI	ARENI SEV/MORMOR	576/8002
167	Yeraskheni	CONECOVI	ERASKHENI	3924
168	Rzi	CONECOVI	AZATENI	820
169	Wild grape (the male flower) N2	CONECOVI	-	-
170	Absheron Khatyny	CONECOVI	KHATONY	6169
171	Ag Darbandi	CONECOVI	ALA SHAANI	203
172	Ag Gyush urelyee	CONECOVI	AG GYAVRA (3.2021)/AG GYUSH UREIYEE (4.2021) [coll. Susegana]	-
173	Ag Gyavra	CONECOVI	AG GYAVRA (3.2021)/AG GYUSH UREIYEE (4.2021) [coll. Susegana]	-
174	Alykhanly Garagyozy N.	CONECOVI	ERASKHENI	3924
175	Kishmish vatkana	CONECOVI	KISHMISH VATKANA	6277
176	Saperavi Khashmis	CONECOVI	SAPERAVI	10708
177	Kvetari 10(2)	CONECOVI	-	-
178	Ninotsminda - 13	CONECOVI	-	-
179	Nakhiduri 04	CONECOVI	-	-
180	Surmevi N.	CONECOVI	ERASKHENI	3924
181	Sarygilya	CONECOVI	-	-
182	Garabulaghy	CONECOVI	GORULA	4910
183	Skra 01	CONECOVI	-	-
184	Tschis tsheri 02	CONECOVI	-	-
185	Larchvili 01	CONECOVI	-	-
186	Tedotsminda 25	CONECOVI	-	-
187	Nakhiduri 06	CONECOVI	-	-
188	Seura	CONECOVI	SEURA (2.13) [coll. Susegana]	-
189	Shavkapito	CONECOVI	SHAVKAPITO (36.13-22.2021)	-
190	Ojaleshi lechkhumis (orbeluri ojaleshi)	CONECOVI	CABERNET FRANC	1927
191	Chesm gave	CONECOVI	FAHRI (Aradhya, 2003 - Afghanistan/Riaz, 2013)	-
192	Andreuli tkhelkana	CONECOVI	(16.2021)-(177.13)/AGBIJ JENSKI (82.13)/GORULI MTSVANE	-
193	Tsirkvalis tetri	CONECOVI	TSIRKVALIS TETRI (123.13)	-
194	Adreula tchelkana	CONECOVI	ADREULA TCHELKANA (176.13-20.2021)	-
195	Chitistvala kakhuri (bobduri)	CONECOVI	MTSVANE KAKHURI	8121
196	Chesm gave	CONECOVI	-	-
197	Chachkhriala - 01	CONECOVI	-	-
198	Skra 01	CONECOVI	-	-
199	Nakhiduri 06	CONECOVI	-	-
200	Kharistvala Meskhuri	CONECOVI	KHARISVALA MESKHURI (15.2021) [coll. Susegana]	-
201	Alexandrouli	CONECOVI	ALEXANDROULI	263
202	Seura	CONECOVI	SEURA (2.13) [coll. Susegana]	-
203	Mskhvili Kurdzeni	CONECOVI	MSKHVILI KURDZENI (23.2021)	-
204	Samebis seri 02	CONECOVI	-	-
205	Almura Tetri	CONECOVI	A TETRI (163.13) [coll. Susegana/KARITSVALA TETRI (letterat	-
206	Saperavi Khashmis	CONECOVI	SAPERAVI	10708
207	Kvelouri	CONECOVI	KVELOURI (49.13-19.2021) [coll. Susegana]	-

Tabella 14: marcatori microsatelliti SSR associati ai geni di resistenza all'oidio Ren1, Ren3 e Ren9

ID	SC8		SC47		GF 15-28		GF 15-30	
1	178	210	201	204	364	373	413	447
2	164	166	201	204	359	363	454	454
3	170	203	201	204	359	359	413	441
4	170	203	201	204	359	359	413	441
5	164	166	201	204	359	363	454	454
6	164	174	204	206	359	365	413	433
7	178	203	201	204	359	373	413	445
8	164	164	204	204	359	359	413	454
9	166	166	201	204	359	363	454	454
10	164	174	204	204	359	363	413	454
11	170	178	204	204	359	369	413	437
12	177	210	197	204	352	359	413	454
13	149	178	201	208	352	373	441	454
14	164	203	201	201	359	365	413	433
15	178	210	197	204	359	373	413	435
16	178	203	201	204	373	379	435	441
17	174	178	204	206	373	373	439	461
18	149	149	208	208	373	381	437	437
19	149	210	197	208	359	379	413	441
20	178	203	201	204	373	379	435	441
21	149	177	204	208	357	373	413	435
22	178	203	201	204	359	373	413	435
23	164	203	201	201	359	359	413	452
24	170	203	201	204	367	373	413	437
25	149	149	204	208	369	369	435	437
26	164	178	201	204	359	369	413	435
27	164	164	204	204	365	380	413	429
28	178	203	201	204	359	379	413	441
29	149	174	206	208	359	379	435	441
30	147	174	201	206	373	373	413	435
31	178	210	197	204	359	373	413	435
32	170	178	204	206	359	379	413	429
33	178	178	204	204	367	367	415	415
34	149	210	201	201	343	369	437	437
35	149	210	197	204	361	373	435	461
36	164	170	204	204	369	376	433	437
37	203	203	201	201	359	379	413	441
38	162	179	201	206	359	366	413	433
39	149	178	201	208	352	373	441	454
40	149	210	201	204	343	350	435	435
41	149	174	201	206	343	373	435	435
42	149	210	201	208	343	373	0	0
43	168	170	204	204	373	373	435	441
44	203	205	201	201	373	373	437	441
45	166	170	201	204	365	365	413	433

46	149	174	206	208	359	359	413	413
47	166	210	197	201	359	361	413	413
48	164	178	204	204	352	352	411	454
49	178	178	204	204	359	373	413	435
50	149	203	201	204	341	343 e 350	0	0
51	177	178	204	204	363	373	435	454
52	164	166	201	204	363	365	413	454
53	168	177	204	206	343	352 e 369	454	454
54	164	178	204	204	359	373	435	435
55	178	205	201	201	373	373	437	447
56	205	210	201	204	373	373	437	447
57	149	203	201	208	359	359	413	435
58	164	179	201	206	359	366	411	413
59	162	164	204	206	359	359	411	415
60	162	162	204	206	359	373	413	435
61	170	174	204	206	362	363	415	454
62	174	174	204	206	359	361	413	429
63	164	164	204	206	359	376	413	415
64	166	174	201	206	367	373	437	454
65	177	203	201	204	341	350	411	411
66	174	179	201	206	359	366	413	433
67	170	174	204	206	362	363	415	454
68	164	166	201	204	359	363	454	454
69	164	166	201	204	359	363	454	454
70	164	166	201	204	359	363	454	454
71	166	178	201	204	359	363	429	454
72	164	170	204	204	366	380	413	429
73	164	166	201	204	359	363	454	454
74	147	178	201	204	363	373	433	435
75	147	178	201	204	363	373	433	435
76	174	178	204	206	359	363	413	454
77	164	178	204	204	373	373	411	435
78	164	170	204	204	376	376	411	413
79	164	164	204	204	359	376	413	413
80	170	174	204	206	362	363	415	454
81	177	164	204	206	359	359	413	413
82	178	210	197	204	359	373	413	435
83	164	203	201	201	359	359	413	452
84	178	210	197	204	359	373	413	435
85	164	178	201	204	359	369	413	435
86	149	210	197	208	359	379	413	441
87	178	178	204	204	367	367	415	415
88	178	203	201	204	359	379	413	441
89	178	203	201	204	359	373	413	435
90	149	174	206	208	367	367	413	435

91	174	178	204	206	373	373	439	461
92	149	178	201	208	352	373	441	454
93	149	174	206	208	359	379	435	441
94	177	210	197	204	352	359	413	454
95	178	203	201	204	373	379	435	441
96	178	203	201	204	373	379	435	441
97	149	149	204	208	369	369	435	437
98	164	164	204	204	365	380	413	429
99	164	203	201	201	359	365	413	433
100	170	178	204	206	359	379	413	429
101	149	166	204	208	373	373	435	437
102	149	149	208	208	373	381	437	437
103	147	174	201	206	373	373	413	435
104	170	203	201	204	367	373	413	437
105	149	177	204	208	357	373	413	435
106	177	203	201	204	352	367	415	454
107	203	203	201	201	359	379	413	441
108	149	174	208	208	359	359	413	413
109	164	178	201	204	359	359	413	413
110	203	210	197	201	359	359	413	413
111	147	205	201	201	359	373	413	437
112	147	174	201	206	359	382	413	435
113	178	210	201	204	376	378	413	461
114	178	203	201	204	359	373	413	435
115	203	205	201	201	373	373	437	441
116	174	178	206	206	352	367	415	454
117	149	203	201	208	359	359	413	435
118	174	205	208	208	367	371	415	437
119	149	174	208	208	359	359	413	413
120	170	174	204	208	367	373	413	435
121	149	174	206	208	359	379	435	441
122	178	203	201	204	359	369	413	435
123	178	203	204	204	367	367	415	415
124	205	210	201	204	359	373	413	435
125	166	210	197	201	359	359	413	413
126	170	178	204	206	359	379	413	429
127	164	203	201	201	359	365	413	433
128	170	178	204	204	359	359	413	413
129	164	164	204	206	389	376	413	415
130	203	205	201	201	373	373	437	441
131	164	164	204	204	359	359	413	454
132	166	170	201	204	365	365	413	433
133	170	178	204	204	359	369	413	437
134	164	174	204	206	359	365	413	433
135	164	166	201	204	359	363	454	454

136	178	205	201	201	373	373	437	447
137	164	178	204	204	373	373	411	435
138	147	178	201	204	363	373	433	435
139	164	174	204	204	359	363	413	454
140	147	178	201	204	363	373	433	435
141	164	166	201	204	359	363	454	454
142	164	166	201	204	359	363	454	454
143	164	166	201	204	359	363	454	454
144	166	178	201	204	359	363	429	454
145	164	166	201	204	359	363	454	454
146	205	210	201	204	373	373	437	447
147	174	178	204	206	359	363	413	454
148	164	166	201	204	359	363	454	454
149	178	203	201	204	359	373	413	445
150	164	164	204	204	359	376	413	413
151	177	203	201	204	341	350	411	411
152	178	178	204	204	359	373	413	435
153	168	177	204	206	343	352 e 369	454	454
154	166	174	201	206	367	373	437	454
155	164	178	204	204	352	352	411	454
156	177	178	204	204	363	373	435	454
157	149	174	206	208	359	359	413	413
158	164	178	201	204	359	369	413	435
159	178	210	197	204	359	373	413	435
160	164	166	201	204	363	365	413	454
161	178	210	197	204	359	373	413	435
162	166	210	197	201	359	361	413	413
163	149	203	201	208	359	359	413	435
164	164	179	201	206	359	366	411	413
165	162	164	204	206	359	359	411	415
166	162	162	204	206	359	373	413	435
167	170	174	204	206	362	363	415	454
168	164	178	204	204	359	373	435	435
169	178	210	201	204	364	373	413	447
170	164	170	204	204	376	376	411	413
171	164	166	201	204	359	363	454	454
172	170	203	201	204	359	359	413	441
173	170	203	201	204	359	359	413	441
174	170	174	204	206	362	363	415	454
175	164	164	204	204	359	359	413	413
176	178	178	204	204	367	367	415	415
177	149	210	201	201	343	369	437	437
178	149	203	201	204	341	343 e 350	0	0
179	147	174	201	206	373	373	413	435
180	170	174	204	206	362	363	415	454

181	164	170	204	204	369	376	433	437
182	203	203	201	201	359	379	413	441
183	149	149	204	208	369	369	435	437
184	149	210	201	208	343	373	0	0
185	168	170	204	204	373	373	435	441
186	149	210	201	204	343	350	435	435
187	170	203	201	204	367	373	413	437
188	149	178	201	208	352	373	441	454
189	178	203	201	204	359	373	413	435
190	174	178	204	206	373	373	439	461
191	170	178	204	206	359	379	413	429
192	178	203	201	204	373	379	435	441
193	178	203	201	204	359	379	413	441
194	178	203	201	204	373	379	435	441
195	177	210	197	204	352	359	413	454
196	164	164	204	204	365	380	413	429
197	149	177	204	208	357	373	413	435
198	149	149	204	208	369	369	435	437
199	170	203	201	204	367	373	413	437
200	178	210	197	204	359	373	413	435
201	149	174	206	208	359	379	435	441
202	149	178	201	208	352	373	441	454
203	164	203	201	201	359	359	413	452
204	149	166	204	208	373	373	435	437
205	164	178	201	204	359	369	413	435
206	178	178	204	204	367	367	415	415
207	149	210	197	208	359	379	413	441

Tabella 15: marcatori microsatellite SSR associati ai geni di resistenza alla peronospora Rpv1

ID	8g9		4F3.1	
1	175	196	170	182
2	172	175	170	176
3	170	172	178	206
4	170	172	178	206
5	172	175	170	176
6	169	175	176	187
7	172	175	178	190
8	170	172	170	192
9	172	175	170	176
10	169	170	178	206
11	175	175	170	206
12	165	175	170	184
13	172	181	182	212
14	170	172	190	192
15	172	175	178	190
16	165	175	184	190
17	172	196	176	182
18	165	165	182	185
19	165	169	176	186
20	169	175	170	186
21	163	165	185	185
22	165	175	170	184
23	163	165	182	184
24	165	165	176	184
25	169	196	182	182
26	165	172	178	192
27	163	170	186	192
28	165	175	170	184
29	163	165	178	186
30	165	169	185	210
31	165	175	184	190
32	163	163	186	186
33	175	175	170	182
34	165	169	182	182
35	165	175	170	181
36	169	175	186	206
37	169	172	178	186
38	163	170	206	208
39	172	181	182	212
40	163	181	182	192
41	165	165	210	212
42	165	181	182	210
43	165	169	176	182
44	175	175	190	190
45	172	175	172	186

46	165	175	170	176
47	169	175	176	186
48	163	169	176	186
49	169	175	170	190
50	163	165	182	188
51	175	175	176	190
52	172	175	176	192
53	163	175	185	212
54	163	172	178	182
55	172	196	170	178
56	169	175	182	182
57	165	175	170	186
58	167	170	174	176
59	163	163	186	192
60	169	172	192	192
61	158	163	170	206
62	170	175	170	192
63	163	172	182	186
64	163	175	176	182
65	163	165	178	214
66	169	170	186	206
67	158	163	170	206
68	169	172	170	178
69	169	172	170	178
70	172	175	170	176
71	172	175	170	178
72	163	169	186	186
73	172	175	170	176
74	163	175	194	206
75	163	175	190	206
76	169	172	178	178
77	165	168	168	216
78	168	169	168	176
79	163	169	172	182
80	158	163	170	206
81	163	170	168	194
82	172	175	178	190
83	163	165	182	184
84	165	175	184	190
85	165	172	178	192
86	165	169	176	186
87	175	175	170	182
88	165	175	170	184
89	165	175	170	184
90	165	169	182	204

91	172	196	176	182
92	172	181	182	212
93	163	165	178	186
94	165	175	170	184
95	165	175	184	190
96	169	175	170	186
97	169	196	182	182
98	163	170	186	192
99	170	172	190	192
100	163	163	186	186
101	169	175	181	190
102	165	165	182	185
103	165	169	185	210
104	165	165	176	184
105	163	165	185	185
106	165	175	170	184
107	169	172	178	186
108	165	175	190	212
109	169	169	170	186
110	165	172	178	184
111	165	175	211	211
112	175	175	182	190
113	169	175	182	190
114	165	175	184	190
115	175	175	190	190
116	165	169	186	212
117	165	165	184	212
118	169	220	176	204
119	163	169	182	182
120	165	175	190	206
121	163	165	178	186
122	165	175	180	184
123	175	175	170	182
124	163	175	210	212
125	172	175	176	178
126	163	163	186	186
127	170	172	190	192
128	163	169	168	186
129	163	172	182	186
130	175	175	190	190
131	170	172	170	192
132	172	175	172	186
133	175	175	170	206
134	169	175	176	187
135	172	175	170	176

136	172	196	170	178
137	165	168	168	216
138	163	175	190	206
139	169	170	178	206
140	163	175	194	206
141	172	175	170	176
142	172	175	170	176
143	169	172	170	178
144	172	175	170	178
145	172	175	170	176
146	169	175	182	182
147	169	172	178	178
148	169	172	170	178
149	172	175	178	190
150	163	169	172	182
151	163	165	178	214
152	169	175	170	190
153	163	175	185	212
154	163	175	176	182
155	163	169	176	186
156	175	175	176	190
157	165	175	170	176
158	165	172	178	192
159	172	175	178	190
160	172	175	176	192
161	165	175	184	190
162	169	175	176	186
163	165	175	170	186
164	167	170	174	176
165	163	163	186	192
166	169	172	192	192
167	158	163	170	206
168	163	172	178	182
169	175	196	170	182
170	168	169	168	176
171	172	175	170	176
172	170	172	178	206
173	170	172	178	206
174	158	163	170	206
175	163	170	168	194
176	175	175	170	182
177	165	169	182	182
178	163	165	182	188
179	165	169	185	210
180	158	163	170	206

181	169	175	186	206
182	169	172	178	186
183	169	196	182	182
184	165	181	182	210
185	165	169	176	182
186	163	181	182	192
187	165	165	176	184
188	172	181	182	212
189	165	175	170	184
190	172	196	176	182
191	163	163	186	186
192	165	175	184	190
193	165	175	170	184
194	169	175	170	186
195	165	175	170	184
196	163	170	186	192
197	163	165	185	185
198	169	196	182	182
199	165	165	176	184
200	172	175	178	190
201	163	165	178	186
202	172	181	182	212
203	163	165	182	184
204	169	175	181	190
205	165	172	178	192
206	175	175	170	182
207	165	169	176	186

## 4. DISCUSSIONE

Il nostro studio è stato intenso e tortuoso ma i risultati hanno ripagato il lavoro e prodotto i risultati attesi.

In primis la caratterizzazione delle varietà di vite Caucasiche dell'Asia centrale ha fatto emergere moltissimi profili genetici identici, a discapito di quelli unici che risultano minimi; difatti delle 207 accessioni totali circa 87% sono identici tra loro a gruppetti e solo 13% sono unici.

Come detto, dal confronto con i database si ritrova un 41% di varietà già presenti sul VIVC, un 32% sul CREA e un restante 27% di varietà non identificate in alcun modo.

Questi risultati devono farci riflettere che, sebbene molte delle cultivar siano già iscritte a registro e identificate, vi è una parte importante che ancora non presenta un nome. Per tale motivo questi studi non terminano con il nostro lavoro ma proseguiranno in altre sedi in modo da poter risalire e individuare le varietà di appartenenza.

Successivamente si è passati all'identificazione dei geni associati alla resistenza prima a oidio e poi alla peronospora. Questo è stato possibile grazie all'aiuto di marcatori molecolari microsatelliti SSR (SC8 e SC47, GF15-28 e GF15-30) associati al gene di resistenza dell'oidio e marcatori (8g9 e 4F3.1) associati al gene di resistenza della peronospora.

Questo perché negli ultimi anni altri studi e lavori stanno affermando che cultivar caucasiche di *V. vinifera* sono resistenti a *E. necator* e *P. viticola* agenti eziologici di queste due malattie.

Si può quindi affermare, dai dati raccolti, che gran parte delle accessioni di questo lavoro hanno un profilo simile alla varietà Shavtsitska mentre meno lo hanno simile a Kishmish vatkana (Tabella 14).

Nel secondo caso possiamo dire che le cultivar analizzate presentano molti più alleli per i primi due marcatori (8g9 e 4F3.1) rispetto agli alleli del gene di resistenza presente in Regent, varietà resistente alla Peronospora (Tabella 15).

Negli ultimi anni il tema della sostenibilità è diventato di fondamentale importanza; difatti la viticoltura rappresenta il settore agricolo dove si fa più uso di prodotti fitosanitari nocivi per l'ambiente e per l'uomo.

Per tale motivo, negli ultimi decenni sono stati avviati dei programmi di incrocio e ibridazione nei principali centri di ricerca italiani ed europei. L'obiettivo di questi studi è quello di creare nuove cultivar resistenti grazie all'incrocio tra le varietà caucasiche e quelle che non posseggono alcun tipo di resistenza.

Nuove attività pianificate per proseguire lo studio: verificare attraverso fenotipizzazione, la presenza di resistenza/tolleranza a oidio e peronospora; analizzare, per esempio con migliaia di marcatori SNP (Single Nucleotide Polymorphism), i genotipi unici e cercare nuovi loci di resistenza a oidio e peronospora attraverso studi di associazione fenotipo/genotipo (GWAS, Genome Wide Association Study).

## 5. CONCLUSIONI

L'obiettivo primario del nostro studio è stata la caratterizzazione di varietà di viti caucasiche appartenenti a *V. vinifera* tramite l'utilizzo dei 13 marcatori microsatelliti SSR.

Questo ha dimostrato che, sebbene le accessioni analizzate siano state davvero tante e sia presente un elevato tasso di polimorfismo, i genotipi unici sono un numero considerevole.

Dal confronto con i principali database, CREA e VIVC, sono state individuate numerose varietà, ma ce ne sono molte altre che non sono ancora iscritte a registro e che rappresentano una nuova scoperta di questo lavoro.

Il secondo obiettivo è stato lo studio della presenza di loci di resistenza tramite utilizzo di marcatori SSR associati al gene di resistenza di oidio e peronospora.

Al locus *Ren1* (oidio) si è visto che pochi genotipi presentano l'aplotipo 147-206 (coppia allelica di resistenza su Kishmish vatkana) ma diversi genotipi presentano solo l'allele 206; invece, è ben presente l'aplotipo 149-206 (coppia allelica di resistenza su Shavtsitska).

Al locus *Ren3*, *Ren9* (oidio) non si è riscontrato quasi nulla.

Infine, al locus *RPV1* (peronospora) diversi genotipi riportano solo un allele.

Sicuramente questo lavoro ha permesso di individuare ulteriore biodiversità all'interno delle specie caucasiche di *V. vinifera* e l'individuazione di loci di resistenza a oidio e peronospora in questi genotipi dovrà subire un riscontro fenotipico.

In conclusione, possiamo quindi dire che le cultivar caucasiche rappresentano una valida e alternativa risorsa per rendere la viticoltura più sostenibile nel tempo senza dover ricorrere necessariamente all'utilizzo di prodotti fitosanitari.

## **6. BIBLIOGRAFIA**

Alleweldt G., and E. Dettweiler. *The Genetic Resources of Vitis: World List of Grapevine Collections, 2nd Edn.* BAZ IRZ, 1994.

Aradhya MK, Dangl GS, Prins BH, Boursiquot JM, Walker AM, Meredith CP, Simon CJ. "Genetic Structure and Differentiation in Cultivated Grape, *Vitis Vinifera* L." *Genet Res (Camb)*, vol. 81, no. 3, 1 June 2003, pp. 179–192, <https://doi.org/10.1017/s0016672303006177>.

Aradhya, Mallikarjuna K, et al. "Genetic Structure and Differentiation in Cultivated Grape, *Vitis Vinifera* L." *Genet Res (Camb)*, vol. 81, no. 3, 1 June 2003, pp. 179–192, <https://doi.org/10.1017/s0016672303006177>.

B. Vosman, et al. "STANDARDIZATION and APPLICATION of MICROSATELLITE MARKERS for VARIETY IDENTIFICATION in TOMATO and WHEAT." *Acta Horticulturae*, vol. 546, no. 546, 1 Feb. 2001, pp. 307–316, <https://doi.org/10.17660/actahortic.2001.546.38>.

Bassam BJ, Anolles GC, Gresshof PM. "Fast and Sensitive Silver Staining of DNA in Polyacrylamide Gels." *Analytical Biochemistry*, vol. 196, no. 1, 1 July 1991, pp. 80–83, [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(91\)90120-i](https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90120-i).

Bassam, Brant J, et al. "Fast and Sensitive Silver Staining of DNA in Polyacrylamide Gels." *Analytical Biochemistry*, vol. 196, no. 1, 1 July 1991, pp. 80–83, [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(91\)90120-i](https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90120-i).

Bellin D., et al. "Resistance to *Plasmopara Viticola* in Grapevine "Bianca" Is Controlled by a Major Dominant Gene Causing Localised Necrosis at the Infection Site." *Theor Appl Genet*, vol. 120, no. 1, 11 Oct. 2009, pp. 163–176, <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1167-2>.

Blanc S., et al. "A Reference Genetic Map of *Muscadinia Rotundifolia* and Identification of Ren5, a New Major Locus for Resistance to Grapevine Powdery

Mildew." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 125, no. 8, 3 Aug. 2012, pp. 1663–1675, <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1942-3>.

Blas, P., et al. "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*, vol. 123, no. 1, 15 Mar. 2011, pp. 43–53, <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1565-0>.

Botta R., et al. "Evaluation of Microsatellite Sequence-Tagged Site Markers for Characterizing *Vitis Vinifera* Cultivars." *Vitis*, vol. 34, no. 2, 14 Aug. 2015, pp. 99–102.

Botta R., Scott NS, Eynard I, Thomas MR. "Evaluation of Microsatellite Sequence-Tagged Site Markers for Characterizing *Vitis Vinifera* Cultivars." *Vitis*, vol. 34, no. 2, 14 Aug. 2015, pp. 99–102.

Bourquin JC, Sonko A, Otten L, Walter B. "Restriction Fragment Length Polymorphism and Molecular Taxonomy in *Vitis Vinifera* L." *Vitis*, vol. 87, no. 4, 1 Dec. 1993, pp. 431–438, <https://doi.org/10.1007/bf00215088>.

Bourquin, J C, et al. "Restriction Fragment Length Polymorphism and Molecular Taxonomy in *Vitis Vinifera* L." *Appl Genet*, vol. 87, no. 4, 1 Dec. 1993, pp. 431–438, <https://doi.org/10.1007/bf00215088>.

Boursiquot JM, This P (1996) Les nouvelles techniques utilisées en ampélographie: informatique et marquage. In: La viticulture à l'aube du IIIème Millénaire. J Int Sci Vigne Vin hors série, pp 13–23

Bowers JE, Boursiquot JM, This P, Chu K, Johansson H, Meredith C. "Historical Genetics: The Parentage of Chardonnay, Gamay, and Other Wine Grapes of Northeastern France." *Science*, vol. 285, no. 5433, 3 Sept. 1999, pp. 1562–1565, <https://doi.org/10.1126/science.285.5433.1562>.

Bowers JE, Dangl GS, Meredith CP. "Development and Characterization of Additional Microsatellite DNA Markers for Grape." *American Journal of Enology*

*and Viticulture*, vol. 50, no. 3, 1 Jan. 1999, pp. 243–246, <https://doi.org/10.5344/ajev.1999.50.3.243>.

Bowers JE, Dangl GS, Vignani R, Meredith CP. "Isolation and Characterization of New Polymorphic Simple Sequence Repeat Loci in Grape (*Vitis Vinifera* L.)." *Genome*, vol. 39, no. 4, 1 Aug. 1996, pp. 628–633, <https://doi.org/10.1139/g96-080>.

Bowers JE, Meredith CP (1996) Genetic similarities among winegrape cultivars revealed by restriction fragment-length polymorphism (RFLP) analysis. *J Am Soc Hortic Sci* 121:620–624.

Bowers, J. "Historical Genetics: The Parentage of Chardonnay, Gamay, and Other Wine Grapes of Northeastern France." *Science*, vol. 285, no. 5433, 3 Sept. 1999, pp. 1562–1565, <https://doi.org/10.1126/science.285.5433.1562>.

Bowers, J. E., and C. P. Meredith. *Genetic Similarities among Winegrape Cultivars Revealed by Restriction Fragment-Length Polymorphism (RFLP) Analysis*. *J Am Soc Hortic Sci*, 1996.

Bowers, J. E., et al. "Isolation and Characterization of New Polymorphic Simple Sequence Repeat Loci in Grape (*Vitis Vinifera* L.)." *Genome*, vol. 39, no. 4, 1 Aug. 1996, pp. 628–633, <https://doi.org/10.1139/g96-080>.

Bowers, J. E., et al. "Isolation and Characterization of New Polymorphic Simple Sequence Repeat Loci in Grape (*Vitis Vinifera* L.)." *Genome*, vol. 39, no. 4, 1 Aug. 1996, pp. 628–633, <https://doi.org/10.1139/g96-080>.

Bowers, John E, et al. "Development and Characterization of Additional Microsatellite DNA Markers for Grape." *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 50, no. 3, 1 Jan. 1999, pp. 243–246, <https://doi.org/10.5344/ajev.1999.50.3.243>.

Bowers, John E, et al. "Development and Characterization of Additional Microsatellite DNA Markers for Grape." *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 50, no. 3, 1 Jan. 1999, pp. 243–246, <https://doi.org/10.5344/ajev.1999.50.3.243>.

Bredemeijer, G., et al. "Construction and Testing of a Microsatellite Database Containing More than 500 Tomato Varieties." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 105, no. 6, Nov. 2002, pp. 1019–1026, <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1038-6>.

Brownstein MJ, Carpten JD, Smith JR. "Modulation of Non-Templated Nucleotide Addition by Taq DNA Polymerase: Primer Modifications That Facilitate Genotyping." *BioTechniques*, vol. 20, no. 6, June 1996, pp. 1004–1010, <https://doi.org/10.2144/96206st01>.

Brownstein, Michael J., et al. "Modulation of Non-Templated Nucleotide Addition by Taq DNA Polymerase: Primer Modifications That Facilitate Genotyping." *BioTechniques*, vol. 20, no. 6, June 1996, pp. 1004–1010, <https://doi.org/10.2144/96206st01>.

Cadle-Davidson, Lance. "Variation within and between *Vitis* Spp. For Foliar Resistance to the Downy Mildew Pathogen *Plasmopara Viticola*." *Plant Disease*, vol. 92, no. 11, Nov. 2008, pp. 1577–1584, <https://doi.org/10.1094/pdis-92-11-1577>.

Cervera MT, Cabezas JA, Sancha JC, Martinez de Toda F, Martinez Zapater JM. "Application of AFLPs to the Characterization of Grapevine *Vitis Vinifera* L. Genetic Resources. A Case Study with Accessions from Rioja (Spain)." *Theor Appl Genet*, vol. 97, no. 1-2, 29 July 1998, pp. 51–59, <https://doi.org/10.1007/s001220050866>.

Cipriani G, Frazza G, Peterlunger E, Testolini R. "Grapevine Fingerprinting Using Microsatellite Repeats." *Vitis*, vol. 33, no. 4, 20 Aug. 2015, pp. 211–215.

Cipriani, G, et al. "Grapevine Fingerprinting Using Microsatellite Repeats." *Vitis*, vol. 33, no. 4, 20 Aug. 2015, pp. 211–215.

Crespan M, Botta R, Milani N. "Molecular Characterization of Twenty Seeded and Seedless Table Grape Cultivars (*Vitis Vinifera* L.)." *Vitis*, vol. 38, no. 3, 30 July 2015, pp. 87–92, <https://doi.org/10.5073/Vitis.1999.38.87-92>.

Crespan M, Cabello F, Giannetto S, Ibàñez J, Kontić JK, Maletic E, Pejić I, Rodríguez I and Antonacci D (2006) Malvasia delle Lipari, Malvasia di Sardegna, Greco di Gerace, Malvasia de Sitges and Malvasia dubrovacka – synonyms of an old and famous grape cultivar. *Vitis* 45: 69–73.

Crespan M, Milani N. “The Muscats: A Molecular Analysis of Synonyms, Homonyms and Genetic Relationships within a Large Family of Grapevine Cultivars.” *Vitis*, vol. 40, no. 1, 1 Jan. 2001, pp. 23–30, <https://doi.org/10.5073/Vitis.2001.40.23-30>.

Crespan M. “The Parentage of Muscat of Hamburg.” *Edagricole*, vol. 42, no. 4, 21 Apr. 2015, pp. 193–197.

Crespan M., and Nicoletta Milani. “The Muscats: A Molecular Analysis of Synonyms, Homonyms and Genetic Relationships within a Large Family of Grapevine Cultivars.” *Vitis*, vol. 40, no. 1, 1 Jan. 2001, pp. 23–30, <https://doi.org/10.5073/Vitis.2001.40.23-30>.

Crespan M., et al. “Identification and Genetic Relationship of the Principal Rootstocks Cultivated in Italy.” *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 60, no. 3, 1 Sept. 2009, pp. 349–356, <https://doi.org/10.5344/ajev.2009.60.3.349>.

Crespan M., et al. “Molecular Characterization of Twenty Seeded and Seedless Table Grape Cultivars (*Vitis Vinifera* L.)” *Vitis*, vol. 38, no. 3, 30 July 2015, pp. 87–92, <https://doi.org/10.5073/Vitis.1999.38.87-92>.

Crist, Raymond E., and Roger Dion. “Histoire de La Vigne et Du Vin En France Des Origines Au XIX E Siecle.” *Geographical Review*, vol. 50, no. 4, Oct. 1960, p. 602, <https://doi.org/10.2307/212318>.

Dangl, G Savage, et al. “Simple Sequence Repeat Analysis of a Clonally Propagated Species: A Tool for Managing a Grape Germplasm Collection.” *Genome*, vol. 44, no. 3, 1 June 2001, pp. 432–438, <https://doi.org/10.1139/g01-026>.

de Andrés, María Teresa, et al. “Molecular Characterization of Grapevine Rootstocks Maintained in Germplasm Collections.” *American Journal of Enology*

*and Viticulture*, vol. 58, no. 1, Mar. 2007, pp. 75–86,  
<https://doi.org/10.5344/ajev.2007.58.1.75>.

Dettweiler E, Jung A, Zyprian E, Topfer R (2000a) Grapevine cultivar Muller-Thurgau and its true to type descent. *Vitis* 39:63–65

Dettweiler E, This P, Eibach R. “The “European Network for Grapevine Genetic Resources Conservation and Characterization.”” *XXVth World Congress on Grape and Wine*, 1 Jan. 2000, pp. 1–10.

Di Gaspero G., et al. “Conservation of Microsatellite Loci within the Genus *Vitis*.” *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 101, no. 1-2, July 2000, pp. 301–308,  
<https://doi.org/10.1007/s001220051483>.

Di Gaspero G., et al. “Linkage Maps of Grapevine Displaying the Chromosomal Locations of 420 Microsatellite Markers and 82 Markers for R-Gene Candidates.” *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 114, no. 7, 23 Mar. 2007, pp. 1249–1263,  
<https://doi.org/10.1007/s00122-007-0516-2>.

Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13–15.

F. Ferreira Monteiro, et al. “FINGERPRINTING of the MAIN *VITIS VINIFERA* VARIETIES GROWN in the NORTHERN REGION of PORTUGAL.” *Acta Horticulturae*, vol. 528, no. 528, 1 May 2000, pp. 121–128,  
<https://doi.org/10.17660/actahortic.2000.528.14>.

Feechan A., Jermakow A.M., Ivancevic A., Godfrey D., Pak H., Panstruga R. and Dry I.B. “Host Cell Entry of Powdery Mildew Is Correlated with Endosomal Transport of Antagonistically Acting VvPEN1 and VvMLO to the Papilla.” *Molecular Plant-Microbe Interactions*, vol. 26, no. 10, 1 Oct. 2013, pp. 1138–1150,  
<https://doi.org/10.1094/mpmi-04-13-0091-r>.

Feechan A., Kocsis M., Riaz S., Zhang W., Gadoury D.M., Walker M.A., Dry I.B., Reisch B. and Cadle Davidson L. “Strategies for RUN1 Deployment Using RUN2 and REN2 to Manage Grapevine Powdery Mildew Informed by Studies of Race

Specificity." *Phytopathology*®, vol. 105, no. 8, Aug. 2015, pp. 1104–1113, <https://doi.org/10.1094/phyto-09-14-0244-r>. Accessed 11 Apr. 2023.

Feechan, Angela, et al. "Genetic Dissection of a TIR-NB-LRR Locus from the Wild North American Grapevine Species *Muscadinia Rotundifolia* identifies Paralogous Genes Conferring Resistance to Major Fungal and Oomycete Pathogens in Cultivated Grapevine." *The Plant Journal*, vol. 76, no. 4, 17 Oct. 2013, pp. 661–674, <https://doi.org/10.1111/tpj.12327>.

Fischer, Benjamin, et al. "Quantitative Trait Locus Analysis of Fungal Disease Resistance Factors on a Molecular Map of Grapevine." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 108, no. 3, 1 Feb. 2004, pp. 501–515, <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1445-3>.

Flavia Maia Moreira, et al. "Genetic Linkage Maps of Two Interspecific Grape Crosses (*Vitis* Spp.) Used to Localize Quantitative Trait Loci for Downy Mildew Resistance." *Tree Genetics & Genomes*, vol. 7, no. 1, 1 Feb. 2011, pp. 153–167, <https://doi.org/10.1007/s11295-010-0322-x>.

Franks, T., et al. "Chimerism in Grapevines: Implications for Cultivar Identity, Ancestry and Genetic Improvement." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 104, no. 2, Feb. 2002, pp. 192–199, <https://doi.org/10.1007/s001220100683>.

Fregoni M. *Viticultura Generale*. REDA, 1985.

G., Alleweldt, and Dettweiler E. *The Genetic Resources of Vitis: World List of Grapevine Collections*. BAZ IRZ, 1994.

Galet P (1991) Précis d'ampélographie pratique. In: Galet P (ed) Imprimerie Déhan, 6<sup>e</sup> edn. Montpellier, p 257.

Galet P (2000) Dictionnaire encyclopédique des cépages. Hachette, p 936.

Ghosh, Soumitra S, et al. "Methods for Precise Sizing, Automated Binning of Alleles, and Reduction of Error Rates in Large-Scale Genotyping Using

Fluorescently Labeled Dinucleotide Markers. FUSION (Finland-U.S. Investigation of NIDDM Genetics) Study Group." *Genome Res*, vol. 7, no. 2, 1 Feb. 1997, pp. 165–178, <https://doi.org/10.1101/gr.7.2.165>.

Grando, M S, et al. "RAPD Markers in Wild and Cultivated *Vitis Vinifera*." *Vitis*, vol. 34, no. 1, 13 Aug. 2015, pp. 37–39.

Haberl, M., and D. Tautz. "Comparative Allele Sizing Can Produce Inaccurate Allele Size Differences for Microsatellites." *Molecular Ecology*, vol. 8, no. 8, Aug. 1999, pp. 1347–1349, <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00692.1.x>.

Hoffmann, Sarolta, et al. "Resistance to Erysiphe Necator in the Grapevine "Kishmish Vatkana" Is Controlled by a Single Locus through Restriction of Hyphal Growth." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 116, no. 3, 7 Dec. 2007, pp. 427–438, <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0680-4>.

HU, GENGXI. "DNA Polymerase-Catalyzed Addition of Nontemplated Extra Nucleotides to the 3' of a DNA Fragment." *DNA and Cell Biology*, vol. 12, no. 8, Oct. 1993, pp. 763–770, <https://doi.org/10.1089/dna.1993.12.763>.

I. Ochssner, et al. "Rpv14, a New Genetic Source for Plasmopara Viticola Resistance Conferred by *Vitis Cinerea*." *Vitis*, vol. 55, no. 2, 2 May 2016, pp. 79–81, <https://doi.org/10.5073/Vitis.2016.55.79-81>.

IPGRI, UPOV, OIV (1997) Descripteurs de la vigne (*Vitis* spp.). Union internationale pour la protection des obtentions végétales. Genève, Suisse/Office international de la Vigne et du Vin, Paris, France/Institut international des ressources phytogénétiques, Rome.

J. Pauquet, et al. "Establishment of a Local Map of AFLP Markers around the Powdery Mildew Resistance Gene Run1 in Grapevine and Assessment of Their Usefulness for Marker Assisted Selection." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 103, no. 8, 1 Dec. 2001, pp. 1201–1210, <https://doi.org/10.1007/s001220100664>.

Johnson, Roy. "The Concept of Durable Resistance." *Phytopathology*, vol. 69, no. 3, 1979, p. 198, <https://doi.org/10.1094/phyto-69-198>.

KALINOWSKI, STEVEN T., et al. "Revising How the Computer Program Cervus Accommodates Genotyping Error Increases Success in Paternity Assignment." *Molecular Ecology*, vol. 16, no. 5, 14 Feb. 2007, pp. 1099–1106, <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2007.03089.x>.

Lambooy WF, Alpha C (1998) The utility of simple sequence repeats (SSRs) for DNA fingerprinting germplasm accessions of grape (*Vitis* L.) species. *J Am Soc Hortic Sci* 123:182– 188.

Leach, Jan E., et al. "PATHOGEN FITNESS PENALTY as a PREDICTOR of DURABILITY of DISEASE RESISTANCE GENES." *Annual Review of Phytopathology*, vol. 39, no. 1, Sept. 2001, pp. 187–224, <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.187>.

Lin, Hong, and M. Andrew Walker. "Identifying Grape Rootstocks with Simple Sequence Repeat (SSR) DNA Markers." *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 49, no. 4, 1 Jan. 1998, pp. 403–407, <https://doi.org/10.5344/ajev.1998.49.4.403>.

Lin, Hong, and M. Andrew Walker. "Identifying Grape Rootstocks with Simple Sequence Repeat (SSR) DNA Markers." *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 49, no. 4, 1 Jan. 1998, pp. 403–407, <https://doi.org/10.5344/ajev.1998.49.4.403>.

Loureiro MD, Martínez MC, Boursiquot JM, This P (1998) Molecular marker analysis of *Vitis vinifera* 'Albariño' and some similar grapevine cultivars. *J Am Soc Hortic Sci* 123:842–848.

Marco Antônio Dalbó, et al. "A Gene Controlling Sex in Grapevines Placed on a Molecular Marker-Based Genetic Map." *Genome*, vol. 43, no. 2, 15 Mar. 2000, pp. 333–340, <https://doi.org/10.1139/g99-136>.

Marguerit E., et al. "Genetic Dissection of Sex Determinism, Inflorescence Morphology and Downy Mildew Resistance in Grapevine." *Theor Appl Genet*, vol. 118, no. 7, 24 Feb. 2009, pp. 1261–1278, <https://doi.org/10.1007/s00122-009-0979-4>.

María Teresa Cervera, et al. "Application of AFLPs to the Characterization of Grapevine *Vitis Vinifera* L. Genetic Resources. A Case Study with Accessions from Rioja (Spain)." *Theor Appl Genet*, vol. 97, no. 1-2, 29 July 1998, pp. 51–59, <https://doi.org/10.1007/s001220050866>.

Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Coste P., Dumas V., Haetty S., Butterlin G. and Greif C. "GENETIC ANALYSIS of DOWNY MILDEW RESISTANCE DERIVED from MUSCADINIA ROTUNDIFOLIA." *Acta Horticulturae*, vol. 603, no. 603, Apr. 2003, pp. 451–456, <https://doi.org/10.17660/actahortic.2003.603.57>.

Merdinoglu, Didier, et al. "Breeding for Durable Resistance to Downy and Powdery Mildew in Grapevine." *OENO One*, vol. 52, no. 3, 2 Aug. 2018, pp. 203–209, <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2018.52.3.2116>. Accessed 31 Oct. 2019.

Mestre, P., et al. "Comparative Analysis of Expressed CRN and RXLR Effectors from Two *Plasmopara* Species Causing Grapevine and Sunflower Downy Mildew." *Plant Pathology*, vol. 65, no. 5, 20 Nov. 2015, pp. 767–781, <https://doi.org/10.1111/ppa.12469>.

Mestre, Pere, et al. "Identification of Effector Genes from the Phytopathogenic Oomycete *Plasmopara Viticola* through the Analysis of Gene Expression in Germinated Zoospores." *Fungal Biology*, vol. 116, no. 7, July 2012, pp. 825–835, <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2012.04.016>.

Meuwissen, T. H. E., et al. "Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps." *Genetics*, vol. 157, no. 4, 1 Apr. 2001, pp. 1819–1829, [academic.oup.com/genetics/article/157/4/1819/6048353?login=true](https://academic.oup.com/genetics/article/157/4/1819/6048353?login=true), <https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819>.

Migliaro D., et al. "Direct Multiplex PCR for Grapevine Genotyping and Varietal Identification." *Plant Genetic Resources*, vol. 11, no. 2, 5 Dec. 2012, pp. 182–185, <https://doi.org/10.1017/s1479262112000433>.

Moroldo M., et al. "A Physical Map of the Heterozygous Grapevine "Cabernet Sauvignon" Allows Mapping Candidate Genes for Disease Resistance." *BMC Plant Biology*, vol. 8, no. 1, 13 June 2008, <https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-66>.

Pap, Daniel, et al. "Identification of Two Novel Powdery Mildew Resistance Loci, Ren6 and Ren7, from the Wild Chinese Grape Species *Vitis Piasezkii*." *BMC Plant Biol*, vol. 16, no. 1, 29 July 2016, <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0855-8>.

Patrice, This, et al. "The "European Network for Grapevine Genetic Resources Conservation and Characterization."" *XXVth World Congress on Grape and Wine*, 1 Jan. 2000, pp. 1–10.

Peressotti E., et al. "Breakdown of Resistance to Grapevine Downy Mildew upon Limited Deployment of a Resistant Variety." *BMC Plant Biology*, vol. 10, no. 1, 2010, p. 147, [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3095292/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3095292/), <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-147>.

Pessina S., et al. "Knockdown of MLO Genes Reduces Susceptibility to Powdery Mildew in Grapevine." *Horticulture Research*, vol. 3, no. 1, 20 Apr. 2016, <https://doi.org/10.1038/hortres.2016.16>.

Possamai, T., et al. "Construction of a High-Density Genetic Map and Detection of a Major QTL of Resistance to Powdery Mildew (*Erysiphe Necator* Sch.) in Caucasian Grapes (*Vitis Vinifera* L.)." *Research Square (Research Square)*, 7 May 2021, <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-439287/v1>.

Possamai, T., et al. *A New Source of Resistance to E. Necator from a Caucasian v. Vinifera L.* 5 July 2021.

Regner F, Steinkellner H, Turetschek E, Stadlhuber A, Glössl J (1996) Genetische Charakterisierung von Rebsorten (*Vitis vinifera*) durch Mikrosatelliten- Analyse. *Mitt Klosterneuburg* 46:52–60.

Riaz, S., et al. "A Microsatellite Marker Based Framework Linkage Map of *Vitis Vinifera* L." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 108, no. 5, 1 Mar. 2004, pp. 864–

872, [link.springer.com/article/10.1007/s00122-003-1488-5](https://link.springer.com/article/10.1007/s00122-003-1488-5),  
<https://doi.org/10.1007/s00122-003-1488-5>.

Riaz, S., et al. "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*, vol. 122, no. 6, 28 Dec. 2010, pp. 1059–1073, <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1511-6>.

Riaz, Summaira, et al. "Genetic Divergence and Chimerism within Ancient Asexually Propagated Winegrape Cultivars." *Journal of the American Society for Horticultural Science*, vol. 127, no. 4, 1 July 2002, pp. 508–514, <https://doi.org/10.21273/jashs.127.4.508>.

Röder, Marion S, et al. "Construction and Analysis of a Microsatellite-Based Database of European Wheat Varieties." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 106, no. 1, 1 Dec. 2002, pp. 67–73, <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1061-7>.

Schneider, Anna, et al. "Genetics and Ampelography Trace the Origin of Muscat Fleur D'oranger." *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 59, no. 2, 1 June 2008, pp. 200–204, <https://doi.org/10.5344/ajev.2008.59.2.200>.

Schwander, Florian, et al. "Rpv10: A New Locus from the Asian *Vitis* Gene Pool for Pyramiding Downy Mildew Resistance Loci in Grapevine." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 124, no. 1, 21 Sept. 2011, pp. 163–176, <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1695-4>.

Sefc KM, Lefort F, Grando MS, Scott K, Steinkellner H, Thomas MR (2001) Microsatellite markers for grapevine: a state of the art. In: Roubelakis-Angelakis KA (ed) Molecular biology and biotechnology of grapevine. Kluwer, Amsterdam, pp 433–463.

Sefc KM, Lopes MS, Lefort F, Botta R, Roubelakis-Angelakis KA, Ibañez J, Pejic I, Wagner HW, Glössl J, Steinkellner H. "Microsatellite Variability in Grapevine Cultivars from Different European Regions and Evaluation of Assignment Testing to Assess the Geographic Origin of Cultivars." *Theoretical and Applied*

*Genetics*, vol. 100, no. 3-4, 1 Feb. 2000, pp. 498–505, <https://doi.org/10.1007/s001220050065>

Sefc, Kristina M, et al. "Identification of Microsatellite Sequences in *Vitis Riparia* and Their Applicability for Genotyping of Different *Vitis* Species." *Genome*, vol. 42, no. 3, 1 June 1999, pp. 367–373, <https://doi.org/10.1139/g98-168>.

Sefc, Kristina M, et al. "Identification of Microsatellite Sequences in *Vitis Riparia* and Their Applicability for Genotyping of Different *Vitis* Species." *Genome*, vol. 42, no. 3, 1 June 1999, pp. 367–373, <https://doi.org/10.1139/g98-168>.

Sefc, Kristina, et al. "Genotyping of Grapevine and Rootstock Cultivars Using Microsatellite Markers." *Vitis*, vol. 37, no. 1, 5 Aug. 2015, pp. 15–20.

Sensi E., et al. "Characterization of Genetic Biodiversity with *Vitis Vinifera* L. Sangiovese and Colorino Genotypes by AFLP and ISTR DNA Marker Technology." *Vitis*, vol. 35, no. 4, 13 Aug. 2015, pp. 183–188.

Smith, Jeffrey C, et al. "Approach to Genotyping Errors Caused by Nontemplated Nucleotide Addition by Taq DNA Polymerase." *Genome Res*, vol. 5, no. 3, 1 Oct. 1995, pp. 312–317, <https://doi.org/10.1101/gr.5.3.312>.

Staudt, G, and H H Kassemeyer. "Evaluation of Downy Mildew Resistance in Various Accessions of Wild *Vitis* Species." *Vitis*, vol. 34, no. 4, 14 Aug. 2015, pp. 225–228.

Striem, M J, et al. "Genomic DNA Fingerprinting of *Vitis Vinifera* by the Use of Multi-Loci Probes." *Vitis*, vol. 29, no. 4, 26 Oct. 2015, pp. 223–227.

Tessier, C, et al. "Optimization of the Choice of Molecular Markers for Varietal Identification in *Vitis Vinifera* L." *Theor Appl Genet*, vol. 98, no. 1, 1 Jan. 1999, pp. 171–177, <https://doi.org/10.1007/s001220051054>.

This, P., et al. *Development of a Standard Set of Microsatellite Reference Alleles for Identification of Grape Cultivars*. 30 Sept. 2004, [dx.doi.org/10.1007/s00122-004-1760-3](https://doi.org/10.1007/s00122-004-1760-3).

This, Patrice, and Erika Dettweiler. "EU-PROJECT GENRES CT96 NO81: EUROPEAN *VITIS* DATABASE and RESULTS REGARDING the USE of a COMMON SET of MICROSATELLITE MARKERS." *Acta Horticulturae*, vol. 603, no. 603, Apr. 2003, pp. 59–66, <https://doi.org/10.17660/actahortic.2003.603.3>.

Thomas, M. R., and N. S. Scott. "Microsatellite Repeats in Grapevine Reveal DNA Polymorphisms When Analysed as Sequence-Tagged Sites (STSs)." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 86, no. 8, Sept. 1993, pp. 985–990, <https://doi.org/10.1007/bf00211051>.

Thomas, M. R., and N. S. Scott. "Microsatellite Repeats in Grapevine Reveal DNA Polymorphisms When Analysed as Sequence-Tagged Sites (STSs)." *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 86, no. 8, Sept. 1993, pp. 985–990, <https://doi.org/10.1007/bf00211051>.

Thomas, Mark G, et al. "DNA Typing of Grapevines: A Universal Methodology and Database for Describing Cultivars and Evaluating Genetic Relatedness." *Plant Mol Biol*, vol. 25, no. 6, 1 Sept. 1994, pp. 939–949, <https://doi.org/10.1007/bf00014668>.

Tixier, M.H, et al. "Detection of Wheat Microsatellites Using a Non-Radioactive Silver-Nitrate Staining Method [*Triticum Aestivum*]." *Genet Breed*, vol. 51, 1 Jan. 1997.

Venuti, S., et al. "Historical Introgression of the Downy Mildew Resistance Gene Rpv12 from the Asian Species *Vitis Amurensis* into Grapevine Varieties." *PLoS ONE*, vol. 8, no. 4, 12 Apr. 2013, p. e61228, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061228>.

Vignani R., et al. "Microsatellite DNA Polymorphism Analysis of Clones of *Vitis Vinifera* "Sangiovese." *Scientia Horticulturae*, vol. 65, no. 2-3, June 1996, pp. 163–169, [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(95\)00865-9](https://doi.org/10.1016/0304-4238(95)00865-9).

Welter, Leocir J., et al. "Genetic Mapping and Localization of Quantitative Trait Loci Affecting Fungal Disease Resistance and Leaf Morphology in Grapevine

(*Vitis Vinifera* L)." *Molecular Breeding*, vol. 20, no. 4, 5 May 2007, pp. 359–374, <https://doi.org/10.1007/s11032-007-9097-7>.

Welter, Leocir J., et al. "Genetic Mapping and Localization of Quantitative Trait Loci Affecting Fungal Disease Resistance and Leaf Morphology in Grapevine (*Vitis Vinifera* L)." *Molecular Breeding*, vol. 20, no. 4, 5 May 2007, pp. 359–374, <https://doi.org/10.1007/s11032-007-9097-7>.

Wood, EJ. "Molecular Cloning. A Laboratory Manual." *Biochemical Education*, vol. 11, no. 2, Apr. 1983, p. 82, [https://doi.org/10.1016/0307-4412\(83\)90068-7](https://doi.org/10.1016/0307-4412(83)90068-7).

Ye, G N, et al. "Analysis of the Relationship between Grapevine Cultivars, Sports and Clones via DNA Fingerprinting." *Vitis*, vol. 37, no. 1, 1 Jan. 1998, pp. 33–38.

Zohary D, Hopf M (2000). The domestication of the plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and Nile Valley, 3rd edn. Oxford University Press, Oxford.

Zyprian E., et al. "Quantitative Trait Loci Affecting Pathogen Resistance and Ripening of Grapevines." *Molecular Genetics and Genomics*, vol. 291, no. 4, 2 Apr. 2016, pp. 1573–1594, <https://doi.org/10.1007/s00438-016-1200-5>.

<https://www.fieldgenetics.com> "Field Genetics - Home."

<https://www.vivc.de> Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute for Grapevine Breeding, Geilweilerhof, Siebeldingen, Erika Maul, Reinhard Töpfer, Alina. "VIVC."

<https://www.qiagen.com/us>.

<https://thermofisher.com> "Thermo Fisher Scientific - UK."

<https://vignetosicuro.it/> "Vigneto Sicuro: Il Sistema Facile per Gestire al Meglio I Tuoi Campi."

<https://www.vivairauscedo.com/>

<https://www.crea.gov.it/home>, *Crea.gov.it*

<http://dataservice.eea.europa.eu> "European Environment Agency"

