

„DNS-AMPELOGRÁFIA”: SZŐLŐFAJTÁK JELLEMZÉSE MIKROSZATELLIT DNS VONALKÓDDAL

GALBÁCS ZSUZSANNA¹, MOLNÁR STELLA¹, HALÁSZ GÁBOR¹, HOFFMANN SAROLTA²,
GALLI ZSOLT¹, SZŐKE ANTAL¹, VERES ANIKÓ¹, HESZKY LÁSZLÓ¹, KOZMA PÁL², KISS
ERZSÉBET¹

¹ Szent István Egyetem
Genetika és Biotechnológiai Intézet
2100 Gödöllő Páter Károly út 1.

² FVM Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete
7634 Pécs Pázmány Péter u. 4.
Kiss.Erzsebet@mkk.szie.hu

ABSTRACT – „DNA ampelography”: description of grapevine varieties with microsatellite-based DNA barcodes

Microsatellite or SSR (Simple Sequence Repeats) fingerprints have become efficient tools for characterizing the grapevine cultivars. They are appropriate not only for genotyping, but for revealing the geographic origin and pedigree of the varieties in case the putative or possible parents still exist and can be involved in the analysis. Homonyms and synonyms can also be identified by means of the SSR patterns. In our present study altogether 101 varieties were analyzed at 6 microsatellite loci: 97 autochthonous in the Carpathian Basin, 1 of Hungarian breeding origin (Csabagyöngye) and 3 international cultivars (Heunisch weiss, Pinot noir, Muscat Ottonel). The allele size data obtained can help in determining the genetic distances between the cultivars; tracing down pedigrees of the varieties; discovering primary and secondary relationships between grapevine cultivars. The data are accessible in the Hungarian Microsatellite/SSR Database (<http://www.mkk.szie.hu/dep/gent/>).

Kulcsszavak: szőlőfajták, DNS ujjlenyomat, mikroszatellit allél, kárpát-medencei fajták, DNS vonalkód, Magyar Szőlő Mikroszatellit Adatbázis

Keywords: grapevine varieties, DNA fingerprint, microsatellite allele, Carpathian Basin, DNA barcode, Hungarian Vitis Microsatellite Database

BEVEZETÉS

A DNS ujjlenyomat kifejezést 1985-ben Jeffrey és munkatársai írták le a humán genom variábilis régióira, amely azóta a növényfajok és fajták DNS szintű jellemzésének is nélkülözhetetlen eszköze. A DNS molekulában található polimorfizmusok kiválóan használhatóak genotipizálásra, e tekintetben a növényi genom mindhárom komponense (sejtmagi, mitokondriális és kloroplasztisz) alkalmas objektum. A háromkomponensű növényi genomon belül a nem-kódoló ismétlődő, a riboszómális RNS-eket és fehérjéket kódoló gének szekvenciái is forrásai a DNS ujjlenyomatoknak a különböző fajokban, így a szőlőben (*Vitis vinifera* L.) is. Ennek alapján többféle PCR (Polymerase Chain Reaction) alapú molekuláris markerrendszert fejlesztettek ki, amelyek közül kiemelkedő jelentőségű a mikroszatellit vagy SSR (Simple sequence repeat) módszer.

A növényi sejtmagi genomra jellemző, hogy fajtól függően, 10-90 %, sőt akár 90 %-ot is meghaladó mértékben, rövid monoton ismétlődő motívumokat tartalmaz. Az ismétlődő egységek lehetnek di, tri, tetra és pentanukleotidok (SSR egység < 6 nt). Míg az emlős genomra az $(AC)_n$ vagy $(AG)_n$, $(CG)_n$, a növényekre $(TA)_n$, $(AG/TC)_n$, $(AC/TG)_n$ motívum jellemző. Ezek az ismétlődések a genomban egyenletesen oszlanak el, helyük a kromoszómákon meghatározható.

Az ismétlődések határszekvenciái nagyfokú konzervativizmust mutatnak, az ezekre a határszekvenciákra tervezett PCR primerekkel az ismétlődő motívumok felszaporíthatóak. Ha a monoton motívum eltérő számban ismétlődik két genotípusban, akkor a PCR termék mérete el fog térni egymástól, ún. hossz-polimorfizmust fog mutatni, tehát az SSR módszer a lehetővé teszi a vonalak elkülönítését, egyedi DNS ujjlenyomatok meghatározását. Azért is alkalmazzák széleskörűen az SSR markereket genotipizálásra, mert kodominánsak, az eredmények reprodukálhatóak, és a diploid fajok egy-egy mikroszatellit lokuszában felszaporodó egy vagy két fragmentum (allél) pontos mérettel jellemezhető. A bp-ban kifejezett számadatok a laboratóriumok közötti információ cserét is egyszerűsítik a gélfotókon rögzített mintázathoz képest.

A genetikai források megőrzése, jellemzése megköveteli, hogy fenntartsuk a régi fajtákat és a maiakkal együtt precízen, objektíven jellemezzük őket. A morfológiai tulajdonságokon kívül a szőlőfajták leírásában a DNS marker-rendszereket is figyelembe kell venni mint kiegészítő „bélyegeket”, „DNS-ampelográfiai” paraméterekkel is célszerű leírni a fajtákat, a génbanki gyűjtemények tételeit. Vizsgálataink célja az volt, hogy a Kárpát-medencében sok évszázadon keresztül termesztett 97, 3 nemzetközi (Heunisch weiss, Muscat Ottonel/Ottonel Muskotály és Pinot noir) és a koraiságáról híres, magyar Csabagyöngye fajták DNS ujjlenyomatát meghatározzuk, és megvizsgáljuk, hogy 6 mikroszatellit lokuszban kapott allélmintázat alapján a fajták megkülönböztethetőek-e.

A 6 mikroszatellit primerrel kapott alléllösszetétel, illetve allélméretük alapján 97 fajtát egyértelműen el lehetett különíteni egymástól. Néhány fajta bogyószín változatának esetében az SSR ujjlenyomat azonosnak bizonyult (KOZMA et al. 2004), HALÁSZ et al. 2005). A 6 SSR lokusz egyedi alléljeiből DNS vonalkódokat szerkesztettünk, amelyek a mikroszatellit mintázatának összehasonlítását tovább egyszerűsítik, a fajták DNS szintű megkülönböztetése egyetlen pillantással lehetséges.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A genomi DNS-t fiatal szőlőlevelekből a DNeasy® Plant Mini kittel (Qiagen) a gyártó leírása szerint és LODHI et al. (1994) módszerével izoláltuk.

A PCR reakciókat és a mikroszatellit allélméretük meghatározását a HALÁSZ (2005) által leírtak szerint hajtottuk végre 6 SSR lokuszban (Scu08vv, Scu10vv VVMD21, VVMD36, ssrVrZag64 és ssrVrZag79) végeztük. A forward primereket Cy-5 fluoreszcens festékkel jelöltük (IDT Inc., BioSciences Kft. Budapest). A PCR termékeket 8%-os denaturáló poliakrilamid gélen (Amersham Biosciences, AP Hungary Kft. Budapest) választottuk el. Az allélméretüket ALFexpress II DNS analizátorral (Amersham Biosciences, AP Hungary Kft. Budapest) határoztuk meg ALFexpress™sizer molekulatömeg standard alkalmazásával.

A mikroszatellit DNS vonalkódokat a Microsoft Office Excel 2003 programmal készítettük.

EREDMÉNYEK

A 101 fajta elemzése 97 esetben egyedi, diszkriminatív mikroszatellit ujjlenyomatot eredményezett (1. táblázat), tehát a fajták egyértelműen jellemezhetőek az SSR allélszerkezet alapján (HALÁSZ et al. 2005). Csak a Bakator (piros-tüdőszínű) a Gohér (piros-fehér-változó) és a Lisztes (piros-fehér) fajták bogyószín változatai adtak azonos allélmintázatot a kiválasztott 6 primerpárral.

1. táblázat Szőlőfajták mikroszatellit allélméretei 6 SSR lokuszban

Sor- szám.	Fajta	Allélméretek (bp) a lokuszokban					
		Scu8yv	Scu10yv	VVMD21	VVMD36	VrZag64	VrZag79
1.	Alanttermő	185-185	202-208	250-259	254-276	161-165	254-260
2.	Aprófehér	185-185	202-208	250-250	264-266	141-145	246-254
3.	Ágasfark	185-192	202-202	244-250	254-264	145-165	252-262
4.	Bajor, kék	185-192	202-208	250-257	252-252	145-165	252-262
5.	Bajor, szürke	185-192	202-208	250-257	254-254	145-165	252-262
6.	Bákarka	185-185	214-214	244-250	264-266	141-145	254-254
8.	Bakator kék	185-185	202-208	250-250	264-264	141-165	252-262
7.	Bakator, piros	185-185	202-208	244-257	266-288	145-165	254-254
9.	Bakator, tündöszínű	185-185	202-208	244-257	266-288	145-165	254-254
10.	Bakszem	185-192	202-208	250-250	252-264	141-165	240-262
11.	Balafánt	185-192	202-208	244-259	276-288	145-165	240-254
12.	Balafánt, fekete	185-192	202-202	250-250	254-276	161-165	252-252
13.	Bálint	185-192	208-214	250-259	264-276	141-145	252-252
14.	Bánáti rizling	185-185	208-211	250-257	254-288	161-161	254-262
15.	Beregi	185-185	208-214	244-250	254-288	139-145	254-262
16.	Betyárszőlő	185-185	202-214	250-257	264-266	139-165	262-262
17.	Bihari	185-185	202-205	250-250	264-264	161-161	250-262
18.	Bogdányi dinka	185-185	214-214	244-250	264-266	139-145	254-262
19.	Bősegszaru	185-185	202-205	244-250	276-296	145-165	248-252
20.	Budai	185-192	202-208	250-250	244-254	141-165	254-254
21.	Cudarszőlő	185-185	208-214	250-250	244-254	145-145	242-254
22.	Cükorszőlő	185-185	202-208	257-257	254-276	141-161	254-262
23.	Csikos muskotály	185-185	208-217	257-257	244-264	143-161	254-258
24.	Csókaszőlő	185-185	202-208	257-257	288-288	161-165	240-254
25.	Csomorika	185-185	208-211	257-257	288-288	141-145	240-262
26.	Czeiger	185-185	202-208	250-250	264-288	139-165	254-254
27.	Demjén	185-185	202-202	244-257	254-288	141-165	254-262
28.	Erdői	185-185	202-214	244-250	264-264	145-165	246-254
29.	Ezerjő	185-185	202-202	244-250	258-276	139-139	240-254
30.	Fodroslevelű	185-192	202-214	250-257	264-266	139-165	262-262
31.	Fürmint	185-192	202-208	250-259	254-276	161-165	240-252
32.	Fürmint, piros	185-192	202-208	250-257	254-276	161-165	240-252
33.	Füger	185-192	208-208	244-244	254-276	145-145	252-252
34.	Fügeszőlő	185-192	208-208	244-244	264-288	145-145	240-252
35.	Fürjmóny	185-192	208-211	250-257	254-264	141-161	250-254
36.	Gérgely	185-185	208-214	244-250	266-276	159-165	240-254
37.	Göhér, fehér	185-192	202-208	244-257	254-288	141-145	252-262
38.	Göhér, piros	185-192	202-208	244-257	254-288	141-145	252-262
39.	Göhér, változó	185-192	202-208	244-257	254-288	145-145	252-262
40.	Görombaszőlő	185-185	208-214	250-259	254-266	139-145	252-252
41.	Hálápi	188-188	208-217	244-267	244-254	141-157	252-258
42.	Hamuszőlő	185-185	208-208	250-250	264-276	139-141	248-254
43.	Hárslevelű	185-185	202-208	244-259	264-276	145-165	240-254
44.	Hösszúnyelű	185-185	208-214	244-257	254-288	141-145	240-254
45.	Izsáki	185-185	208-214	244-250	254-276	139-161	240-246
46.	Járdovány	185-185	208-214	244-250	254-276	141-161	240-254
47.	Juhfark	185-185	208-208	250-257	264-276	141-165	240-252
48.	Kadarka	185-185	208-214	250-250	266-276	145-165	252-252
49.	Kéklőpiros	185-185	202-208	250-257	264-270	159-165	252-262
50.	Kéknyelű	185-185	202-208	244-250	252-264	159-165	252-254
51.	Királyleányka	185-185	208-214	244-250	254-266	161-161	252-252
52.	Királyszőlő	185-185	202-208	250-259	266-288	145-165	254-262

I. táblázat: Szőlőfajták mikroszatellit allélméretei 6 SSR lokuszban (táblázat folytatása)

Sor- szám.	Fajta	Allélméretek (bp) a lokuszokban					
		Scu8vv	Scu10vv	VVMD21	VVMD36	VrZag64	VrZag79
53.	Kolontár	185-192	202-208	244-250	254-264	141-145	252-262
54.	Kovácsi	185-192	208-208	257-257	264-288	161-161	254-254
55.	Kovácskréger	185-185	202-211	250-257	254-264	145-161	252-254
56.	Kozma	185-185	202-208	257-267	254-264	141-145	262-262
57.	Ködös	185-185	208-208	257-259	254-276	145-165	252-252
58.	Köporós	185-185	208-214	257-259	264-266	145-165	254-260
59.	Kövérzőlő	185-185	208-208	250-259	264-266	145-161	240-254
60.	Pécsi dínya	185-185	202-208	244-244	254-288	141-145	252-254
61.	Kövidinya	185-185	208-214	244-250	264-264	139-141	254-262
62.	Ürömi dínya	185-185	214-214	250-250	266-276	145-161	246-254
63.	Vörösdinya	185-185	208-214	244-250	254-264	139-145	254-262
64.	Zöld dínya	185-185	202-208	244-257	264-264	145-145	254-254
65.	Kübeli	185-185	208-214	257-259	264-266	161-165	254-260
66.	Lányszőlő	185-185	208-211	250-257	254-276	161-161	252-254
67.	Lágylevelű	185-185	202-214	250-250	254-254	165-165	252-254
68.	Leányka	185-185	202-208	250-250	266-276	161-165	240-254
69.	Lisztés fehér	185-185	208-208	250-257	276-288	141-161	250-258
70.	Lisztés piros	185-185	208-208	250-257	276-288	141-161	250-258
71.	Mágyarka	185-192	208-208	244-250	264-288	145-165	250-256
72.	Mézésfehér	185-192	208-214	250-257	266-276	141-165	254-262
73.	Mustos	185-185	208-214	244-250	254-276	145-161	246-252
74.	Pettyesszőlő	185-185	202-208	244-244	254-288	145-165	250-250
75.	Pécsi szagos	185-185	208-211	257-267	264-288	161-161	254-258
76.	Piros gránát	185-185	208-214	244-250	254-264	139-145	250-254
77.	Piros tökök	185-185	202-214	244-250	276-288	145-165	252-254
78.	Polyhos	185-185	202-208	244-259	254-288	145-161	252-262
79.	Pozsonyi	185-192	202-214	244-259	264-264	139-145	254-254
80.	Purcsin	185-185	208-214	250-250	254-276	161-165	250-258
81.	Rakszőlő	185-185	208-214	244-244	254-266	139-161	254-254
82.	Róka farkú	185-185	208-214	250-250	264-276	141-165	240-246
83.	Róhadó	185-185	208-208	250-257	264-276	145-161	250-258
84.	Sárfehér	185-192	202-208	244-250	264-264	139-165	252-254
85.	Sárpáros	185-185	202-208	244-244	264-288	145-165	254-260
86.	Somszőlő	185-185	202-214	244-250	252-256	139-153	254-254
87.	Szagos bajnár	185-185	205-208	250-250	264-288	139-161	250-262
88.	Szeredi	185-185	202-202	250-257	254-276	145-161	252-252
89.	Szerémi	185-185	202-208	250-250	276-276	161-165	252-258
90.	Szőke szőlő	185-185	202-208	244-250	272-276	139-145	254-260
91.	Tihanyi	185-185	208-208	257-267	254-264	145-161	252-262
92.	Tótika	185-185	202-208	250-257	254-276	145-165	252-254
93.	Tökszőlő	185-185	208-214	257-257	264-276	161-165	240-262
94.	Tulipiros	185-185	208-208	244-244	254-288	145-161	246-252
95.	Tükörszőlő	185-185	202-214	250-250	254-264	161-165	246-262
96.	Tüskéspúpú	185-185	208-211	257-257	254-288	145-161	254-262
97.	Vékonyhájú	185-185	202-208	250-250	264-276	161-165	246-262
98.	Csábagyöngye	185-185	208-214	244-267	264-296	161-161	258-262
99.	Ottonel muskotály	185-185	208-214	244-267	264-276	139-161	258-262
100.	Heunisch weiss	185-185	208-214	250-250	264-276	161-161	240-246
101.	Pinot noir	185-192	205-217	250-250	254-254	141-165	242-248

Ezek újabb - más genotípusok esetében polimorf - mikroszatellit primerekkel sem bizonyultak megkülönböztethetőnek. Hasonló eredményről számolt be SEFC et al. (2000) is, 100 fajtát 10 SSR primerrel vizsgálva a színváltozatok elkülönítése nem volt lehetséges.

A kárpát-medencei fajták allélméretei a nemzetközi fajtakéval azonos mérettartományba esnek a 6 mikroszatellit lokuszban. Az erre a 4 fajtára rendelkezésre álló irodalmi adatok lehetőséget adtak a más laboratóriumok eredményeivel való összehasonlításra HALÁSZ et al. (2005). A VVMD36 primerrel a Heunisch weiss, Pinot noir és az Ottonel muskotály mintákra meghatározott adataink pontosan megegyeznek a BOWERS et al. (1999), REGNER et al. (2000), valamint CRESAN és MILANI (2001) által közölt értékekkel. A VVMD21, VVMD36, ssvrZAG64 és ssvrZAG79 primerekkel a 4 fajtánál (Csabagyöngye, Heunisch weiss, Ottonel muskotály, Pinot noir) mi a nemzetközi adatoknál (BOWERS et al. 1999, SEFC et al. 1998, LEFORT és ROUBELAKIS-ANGELAKIS 2001) 1-4 bp-ral nagyobb értéket határoztunk meg. Hasonló eltérések más laboratóriumok vizsgálataiban is megfigyelhetők (CRESPAN és MILANI 2001, REGNER et al. 2000), Az eltérést okozhatja az allélméret meghatározására alkalmazott különböző DNS-fragmentum analízis. Azonos módszer esetén is megfigyelhetők azonban különbségek, amire nem egyszerű a magyarázat. THIS et al. (2004) szerint az ilyen méretkülönbségeknek az is lehet az oka, hogy a Taq polimerázok egyes típusai extra nukleotidokat építenek be a DNS molekulába.

Az SSR markerek széleskörű alkalmazásának a nagyfokú polimorfizmus, a megbízható elemezhetőség mellett a fragmentumok méretének számszerűsítése is oka. Az 1. táblázat a 101 fajtára a 6 SSR primerpárral összesen 1212 adatot tartalmaz, amelyek objektíven jellemzik a genotípusokat, valóban alkalmasak is a fajták megkülönböztetésére, de elmélyült tanulmányozást igényelnek, páronkénti összehasonlítással lehet csak meggyőződni arról, hogy az egyes lokuszokban egyeznek vagy eltérnek az allélméretek.



1. ábra "DNS-ampelográfia" — szőlőfajták azonosítására alkalmas DNS-(mikroszatellit) vonalkódok. A vonalkódok a Furmint esetében a 6 primerrel (Scu08vv, Scu10vv, VVMD21, VVMD36, ssvrZag64, ssvrZag79) meghatározott következő allélméreteket jelentik (balról jobbra): 161; 165; 185;192; 202; 208; 240; 250; 252; 254; 259; 276 (bp)

KÖVETKEZTETÉSEK

A mikroszatellit elemzési adatokból létrehoztuk a Magyar Szőlő Mikroszatellit / SSR Adatbázist (Hungarian Vitis Microsatellite / SSR Database), amely pillanatnyilag 103 fajta 6 mikroszatellit primerpárral kapott adatait tartalmazza (KISS et al. 2006), bővítése azonban folyamatos. Az adatbázis létrehozásának az volt a célja, hogy az oktatásban, a kutatásban szőlővel foglalkozó szakemberek, egyetemi hallgatók, érdeklődők felhasználhassák az SSR allélméret adatokat. Az adatbázis a Szent István Egyetem Genetika és Biotechnológiai Intézetének honlapján érhető el: <http://mkk.szie.hu/dep/gent/>.

Hogy egyetlen pillantással is láthassuk, hogy a mikroszatellit markerekkel valóban a genotípusra jellemző egyedi DNS ujjlenyomatot kapunk, az adatokból a fajtákat azonosító vonalkódot szerkesztettünk. Ebből 12 fajtát (Csabagyöngye, Csókaszőlő, Furmint, Heunisch weiss, Királyleányka, Kövérszőlő, Leányka, Lisztes fehér, Lisztes piros, Ottonel muskotály/Muscat ottonel, Pinot noir) mutatunk be az 1. ábrán. A fajták közötti különbség (Furmint – Csabagyöngye - Ottonel muskotály) vagy egyezés (Lisztes piros - Lisztes fehér) a DNS-vonalkód alapján könnyen leolvasható szabad szemmel is vagy kódleolvasóval. Ebben a cikkben csak 12 fajtára mutatjuk be a DNS ujjlenyomatok vonalkódos megjelenítését, de már közel 150 fajtát jellemeztünk 12 lokuszban ezzel a módszerrel. A mikroszatellit allélméreteknél ebben a formában való ábrázolása a fajtavédelemben, azonosításban könnyen áttekinthető és kezelhető megoldást jelent, amely vitás kereskedelmi helyzetekben is gyorsan, megbízhatóan alkalmazható.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A SZIE Genetika és Biotechnológiai Intézetének (Gödöllő) és az FVM Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetének (Pécs) közös szőlő genomikai kutatásait az FVM (36023/2000) és az OTKA (TS040887, T37861, K62535, M36630 és M 45633) támogatja.

IRODALOMJEGYZÉK

- BOWERS, J. E., BOURSIQUOT, J. M., THIS, P., CHU, K., JOHANSEN, H., MEREDITH, C. (1999) Historical Genetics: The parentage of Chardonnay, Gamay and other wine grapes of Northeastern France. *Science* 285: 1562-1565.
- CRESPIAN, M., MILANI, N. (2001): The Muscats: a molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationships within a large family of grapevine cultivars. *Vitis* 40: 23-30.
- HALÁSZ, G., VERES, A., KOZMA, P., KISS, E., BALOGH, A., GALLI, ZS., SZŐKE, A., HOFFMANN, S., HESZKY, L. (2005): Microsatellite fingerprinting of grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties of the Carpathian Basin. *Vitis* 44: 173-180.
- JEFFREY, A.J., WILSON, V., THEIN, S.L. (1985): Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature* 314: 67-73.
- KISS, E., HALÁSZ, G., KOZMA P., HESZKY L. (2006): Magyar szőlő mikroszatellit / SSR adatbázis (Hungarian Vitis Microsatellite / SSR Database). www.mkk.szie.hu/dep/gent. Vitis-SSR.
- KOZMA, P., KISS, E., VERES, A., HALÁSZ, G., BALOGH, A., SZŐKE, A., GALLI, ZS., HESZKY, L. (2004): Microsatellite fingerprinting in old grapevine cultivars of the Carpathian Basin. *Hungarian Agricultural Research*. 13 (2): 14-16.

- LEFORT, F., ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. (2001): Genetic comparison of Greek cultivars of *Vitis vinifera* L. by nuclear microsatellite profiling. *Am. J. Enol. Vitic.* 52: 101-108.
- LODHI, M. A., YE, G. N., WEEDEN, N.F., REISCH, B. J. (1994): A Simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and *Vitis* species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 12: 6-13.
- REGNER, F., WIEDECK, E., STADLBAUER, A. (2000): Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers. *Vitis* 39: 103-107.
- SEFC. K., REGNER, F., GÖSSL, J., STEINKELLNER, H. (1998): Genotyping of grapevine cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 37: 15-20.
- SEFC, K. M., GLÖSSL, J., STEINKELLNER, H., REGNER, F. (2000): Broad range genotyping using microsatellite markers identified in *Vitis riparia*. *ISHS Acta Horticulturæ* 528: 111-120.
- THIS, P., JUNG, A., BOCCACCI, P., BORREGO, J., BOTTA, R., CONSTANTINI, L., CRESPIAN, M., DANGL, G. S., EISENHELD, C., FERREIRA-MONTEIRO, F., GRANDO, S., IBANEZ, J., LACOMBE, T., LAUCOU, V., MAGALHAES, R., MEREDITH, C. P., MILANI, N., PETERLUNGER, E., REGNER, F., ZULINI, L., MAUL, E. (2004): Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1488-1458.