

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

A szőlőnemesítés hatékonyságának növelése a faj genetikai hátterének
vizsgálatával

Györffyné Jahnke Gizella

Budapest, 2006

A doktori iskola

megnevezése: Interdiszciplináris (1. Természettudományok /1.5. Biológiai tudományok/,
4. Agrártudományok /4.1. Növénytermesztési és kertészeti tudományok)
Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Dr. Papp János
egyetemi tanár, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyümölcstermő Növények Tanszék

Témavezető: Dr. Korbuly János
egyetemi docens, CSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar
Genetika és Növénynevelés Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés nyilvános vitára bocsájtható.

.....

Dr. Papp János

Az iskolavezető jóváhagyása

.....

Dr. Korbuly János

A témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanács
2006. október 3 -ki határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló
Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke

Kállay Miklós CSc.

Tagjai

Báló Borbála PhD.

Bényei Ferenc CSc.

Kocsis László CSc.

Stefanovitsné Bányai Éva PhD.

Opponensek

Kozma Pál CSc.

Szegedi Ernő DSc.

Titkár

Stefanovitsné Bányai Éva PhD.

Tartalomjegyzék

1.	Bevezetés	4
2.	Célkitűzés	6
3.	Irodalmi áttekintés	8
3.1.	A szőlő (<i>Vitis vinifera</i> L.) származása és taxonómiája	8
3.1.1.	<i>Vitis vinifera</i> L. (kerti szőlő) kialakulása és elterjedése	9
3.1.2.	A <i>Vitis vinifera</i> fajták csoportosítása	11
3.2.	A genetikai változékonyság növelésének lehetőségei szőlőnél, és a változékonyság felhasználása a nemesítésben	13
3.3.	A genetikai markerek fogalma és jellemzői, alkalmazási köre	14
3.3.1.	A genetikai variabilitás vizsgálata izoenzimekkel	15
3.3.1.1.	Az izoenzim fogalma, jellemzésük	15
3.3.1.2.	Az izoenzim csoportosítása	16
3.3.1.3.	Az izoenzim elválasztása gélelektroforézissel	17
3.3.1.4.	Az izoenzim szétválasztása izoelektromos fókuszálással	17
3.3.1.5.	Az izoenzim vizsgálatok előnyei, hátrányai	18
3.3.1.6.	A vizsgált enzimek jellemzői	19
3.3.1.6.1.	Oxidoreduktázok	19
3.3.1.6.2.	Transzferázok	19
3.3.1.6.3.	Hidrolázok	20
3.3.1.6.4.	Izomerázok	21
3.3.1.7.	A festési módszerek alapjai	21
3.3.1.7.1.	Tetrazólium-rendszer	22
3.3.1.7.2.	Diazónium rendszer	22
3.3.1.7.3.	Redox festési eljárás	22
3.3.1.8.	Izenzim vizsgálatok szőlőnél	23
3.3.2.	A genetikai variabilitás vizsgálata DNS markerekkel	27
3.3.2.1.	Az RFLP technika lényege és alkalmazási területei	28
3.3.2.2.	A polimeráz láncreakció (PCR) elve és lépései	28
3.3.2.3.	PCR-en alapuló markerezési eljárások	29
3.3.2.4.	DNS markerek (RAPD, mikroszatellit stb.) alkalmazási területei, eredményei szőlőnél	32
4.	Anyag és módszer	47
4.1.	A vizsgálatok anyaga	47
4.1.1.	A vizsgálatok során használt növényanyag eredete	47

4.1.2.	A vizsgált fajták csoportosítása, jellemzése	47
4.2.	Izoenzim vizsgálatok módszere.....	47
4.2.1.	Mintavétel, az enzimek izolálása.....	47
4.2.2.	Az izoenzimek elkülönítése gélelektroforézissel	49
4.2.3.	Festési módszerek.....	49
4.3.	A mikroszatellit vizsgálatok módszere.....	50
4.3.1.	A DNS kivonás módszere mikroszatellit vizsgálatokhoz.....	50
4.3.2.	A reakcióelegy összetétele.....	50
4.3.3.	A PCR reakció menete	51
4.4.	A kiértékelések során alkalmazott matematikai statisztikai módszerek.....	52
5.	Eredmények, értékelésük és következtetések.....	53
5.1.	Az izoenzim vizsgálatok eredményei	53
5.2.	Az Izoenzim vizsgálatok eredményeinek értékelése, következtetések	56
5.3.	Mikroszatellit vizsgálatok eredményei	68
5.4.	Mikroszatellit vizsgálatok eredményeinek értékelése, következtetések.....	70
5.5.	Izoenzim és mikroszatellit eredmények összegző értékelése	81
5.6.	Új tudományos eredmények	87
6.	Összefoglalás	88
	Köszönetnyilvánítás	89

Rövidítések jegyzéke

AAT = aszparát aminosztransferáz (ua. mint a GOT)

AcP, APS = savas-foszfátáz

AFLP = **A**mplified **F**ragment **L**ength **P**olymorphism = amplifikált fragmentumhossz polimorfizmus

AP-PCR = **A**rbitrarily **P**rimed **PCR** = **PCR** tetszés szerinti primerrel

bp = bázispár

cDNS = kópia-DNS

CO = catechol oxidáz

DAF = **D**N**A** **A**mplification **F**ingerprinting = DNS amplifikációs újlennyomat

EST = észteráz

GOT = glutaminsav oxálcetsav transzamináz

GPI = glükóz foszfát izomeráz

IEF = **I**soelectric **F**ocusing = izoelektromos fókuszálás

MAS = **M**arker **A**ssisted **S**election = markereken alapuló szelekció

MDH = almasav (malát) dehidrogenáz

NAD = β -Nikotinamid-adenin-dinukleotid

NADP = β -Nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát

PAGE = **P**olyacrylamid **G**el **E**lectrophoresis = poliakrilamid gélelektroforézis

PCR = Polymerase Chain Reaction = polimeráz láncreakció

PER = peroxidáz

PGI = foszfo-glüko-izomeráz

PGM = foszfo-glükomutáz

QTL = Quantitative Trait Loci = mennyiségi tulajdonságok térképezése

RAPD = Randomly Amplified Polymorphic DNA = véletlen amplifikált polimorf DNS

rDNS = riboszómális DNS

RFLP = **R**estriction **F**ragment **L**ength **P**olymorphism = restrikciós fragmentumhossz polimorfizmus

SCAR = **S**equenced **C**haracterised **A**mplified **R**egion = ismert szekvenciájú amplifikált régió

SSCP = **S**ingle **S**trand **C**onformation **P**rofile = egyfonalas konformációs polimorfizmus

SSR = **S**imple **S**equences **R**epeat = egyszerű szekvenciaismétlődés

TEMED = N,N,N',N'-tetrametilén etiléndiamin

T_m = melting temperature = oladási hőmérséklet

Trisz = trisz – (hidroxi-metil) amino-metán

VNTR = **V**ariable **N**umber of **T**andem **R**epeats

1. BEVEZETÉS

A szőlő az emberiség egyik legősibb kultúrnövénye. Rendkívül gazdag fajtaválaszték jött létre az idők folyamán a változatos környezeti feltételek között a gazdasági-kereskedelmi célok kielégítésére. A tudatos szőlőnemesítés az elmúlt 150 évben jelentősen gyarapította a szőlőfajta választékot. A szőlőfajták számát ma mintegy 20 000-re becsülik, amelyek közül 8 000 fajtát termesztenek. Mind a csemegeszőlő, mind a borszőlő termesztésének sikerét alapvetően meghatározza a fajtahasználat.

Egy faj nemesítésének hatékonysága szoros összefüggésben van az adott faj genetikai hátterének, a gazdaságilag fontos tulajdonságok öröklődésének, a rendelkezésre álló nemesítési anyag kombinálódó képességének ismeretével, az alkalmazott szelekciós módszerek hatékonyságával. Különösen fontos ez az évelő, fás szárú növényfajok esetében, melyeknél a nemzedékek között eltelt idő igen hosszú lehet, és a nagy tenyészterület miatt korlátozott a felnevelhető hibridek száma. Ezért a szelekció első lépéseként a szülőpárok kiválasztása fokozott jelentőségű az ilyen kultúrákban.

Általánosan elfogadott a termesztett szőlő monofiletikus származása, de vannak kutatók, akik a polifiletikus származás mellett érvelnek. Szintén általánosan elfogadott az, hogy három földrajzi-ökológiai fajtacsoport van, de van olyan kutató, aki még egy negyedik, egy észak-afrikai fajtacsoportot is feltételez. Negrul, aki ezt a rendszert megalkotta, felhívta arra is a figyelmet, hogy további genetikai kutatásoknak kell alátámasztania rendszerének genetikai megalapozottságát, az egyes fajták besorolásának helyességét, ill. mely fajták származnak a különböző fajtacsoportokba tartozó fajták természetes hibridizációjából.

A szőlőfajták pontos azonosítása ma fontosabb, mint valaha. A pontos fajtaazonosítás nemcsak az új fajták védelme szempontjából fontos, hanem a nemzetközi kereskedelmi szabályozás, a származás-eredetvédelem miatt is.

A fajták azonosítását az ampelográfia a különböző morfológiai tulajdonságok mérésével, leírásával végezte el. Ezeket a tulajdonságokat a környezeti viszonyok módosíthatják. Nem kell külön hangsúlyozni, hogy ennek áttekintése sok ezer fajta esetében nem könnyű feladat.

Az izoenzimek kutatása és alkalmazása újabb lehetőségeket teremtett a szőlőfajták jellemzésére, a termesztett szőlő további genetikai vizsgálatára. A módszertani nehézségek, a kísérletek ismételhetőségének problémái ellenére jelentősen gyarapították a szőlővel kapcsolatos genetikai ismereteinket és értékes módszer a további kutatásokban.

A molekuláris markerek fejlődésével olyan feltáró munka kezdődhetett el a szőlő genetikában mintegy 15-20 évvel ezelőtt, amelyre korábban nem is gondolhattunk. A

molekuláris markerek , ezen belül elsősorban a DNS technológiák fejlődése és alkalmazása révén nyert új ismeretek számos további lehetőséget nyújtanak a szőlő genetikai kutatások területén. A DNS markerek lehetővé teszik az egyes fajták jellemzését, így az azonosításukat, feltárhatjuk az eredetüket, származásukat, felderíthetjük a fajták rokonsági kapcsolatait. Ezáltal lehetőség nyílik arra is, hogy a korábban megalkotott fajta rendszerezéseket, a fajták csoportosításainak helyességét ellenőrizzük, pontosítsuk.

A mikroszatellit markerek a DNS markerek leghatékonyabb típusai közé tartoznak, az eredményeket a környezeti feltételek, a betegségek, a termesztési feltételek, a mintavétel időpontja nem befolyásolják. A létrehozott adatbázis nagymértékben egyszerűsítheti a szőlőfajták azonosítását, a szinonímák, a névtévesztések feltárását.

Nemzetközi együttműködés, a GENRES 081 (European Network for Grapevine Genetic Resources Conservation and Characterisation) keretein belül 1997 és 2002 között indult el Európában a szőlőfajták jellemzése mikroszatellit DNS markerekkel. A kutatási programban 6 mikroszatellit primerpárt határoztak meg és ajánlottak a fajták jellemzésére. Először a Furmint, Merlot, Sultanina, Touriga nacional és a Trebbiano Toscano fajták mikroszatellit profilját határozták meg 11 laboratóriumban. Első lépésként a tagországoknak azt javasolták, hogy a saját őshonos fajtáit, majd az ott előállított új fajtákat jellemezzék az ajánlott primer párokkal. Magyarországon ezt a munkát az FVM SzBKI Pécs a SzIE Genetika és Növénynemesítés Tanszékeivel együttműködve több mint 100 kárpát-medencei fajta és néhány új fajta esetében elvégezte. A most induló, az előző projekt folytatását jelentő európai együttműködés további DNS mikroszatellit markereket tervez bevonni a kísérletekbe és nagy hangsúlyt kíván helyezni a szőlő géncentruma közelében lévő, még nem Európai Unió országok ősi fajtáinak jellemzésére.

A nemesítés hatékonyságát jelentősen növelheti a marker által támogatott szelekció (MAS). Így egészen korai fázisban, a magonc néhány lombszevél állapotában, vagy esetenként már sziklszevél állapotban elvégezhetjük a szelekciót.

Dolgozatomban 48 szőlőfajta jellemzését végzem el két módszerrel, mikroszatellit DNS markerekkel és izoenzim vizsgálatokkal. A fajták között vannak régi magyar illetve európai fajták és keresztezéses nemesítéssel előállított fajták . Ez az európai szőlő genetikai kutatási projekt ajánlásának megfelelő anyagválasztás. Munkámmal bővítem tudományos ismereteinket a szőlőfajták és klónok mikroszatellit és izoenzimokkal történő jellemzésével. A két módszerrel kapott adatok rendszerezésével az egyes fajtacsoportok jellemzőit meghatározhatjuk, illetve az egyes fajtacsoportba tartozó fajtákat pontosabban definiálhatjuk, a természetes hibrid fajtákat pedig elkülöníthetjük.

2. CÉLKITŰZÉS

Izoenzimek változatosságának vizsgálata a szőlőnél több okból is indokolt. A szőlő azon növényfajok közé tartozik, amelyeknél a tulajdonságok genetikai hátterének ismerete meglehetősen hiányos. Nagy jelentősége lehet a taxonómiában, nemesítésben és a fajtavédelemben annak, hogy az izoenzim vizsgálatokkal a fajták, illetve hibridek azonosítására is mód nyílna.

Mikroszatellit vizsgálatokat szőlőnél elsősorban fajták jellemzésére, rokonsági viszonyaik vizsgálatára, „pedigré analízisre”, használtak az utóbbi időben. A külföldi fajták többsége már több SSR lókusz vonatkozásában is jellemzett, a Magyarországon termesztett —elsősorban hungarikum jellegű — fajták ilyen irányú vizsgálata megkezdődött, fontos, úttörő jellegű eredmények születtek a régi Kárpát-medencei szőlőfajták RAPD módszerrel és mikroszatellit analízissel történő jellemzése terén, de egy átfogó több módszert ötvöző részletes analízis még várat magára.

Mindezek alapján indokoltnak láttam, elsősorban néhány Magyarországon termesztett szőlőfajta vizsgálatát molekuláris markerek (izoenzim, SSR) segítségével.

Az izoenzim vizsgálatokon belül célul tűztem ki az irodalmi adatok alapján leginkább polimorf enzimek (catechol-oxidáz, savas foszfatáz, glutaminsav-oxálecetsav transzamináz, peroxidáz, észteráz, glükóz-foszfát izomeráz és foszfoglükomutáz) izoenzimjeinek vizsgálatát, és az ehhez szükséges legmegfelelőbb gélrendszer kidolgozását.

Mikroszatellit vizsgálatokhoz hét, az irodalmi adatok szerint fajtaazonosításra leginkább alkalmas primerpár (VVS2, VVS16, VVMD7, VMC4G6, VMC4H6, VMC4A1 és VrZag79) felhasználásával kívántam néhány *Vitis vinifera* L. fajtát, illetve intraspecifikus hibridet jellemezni. A fajták vizsgálataihoz célul tűztem ki a PCR reakció körülményeinek és a reakcióelegy összetételének optimalizálását.

A kapott eredmények értékelésénél célom volt még a vizsgálatokkal nyert eredmények alkalmasságának vizsgálata taxonómiai célra, vagyis összefüggés keresése az egyes fajták izoenzim-mintázata, és a földrajzi-ökológiai fajtacsoportba (*convarietas*-ba) való tartozása között.

A 'Kéknyelű' fajta neve összeforrt a Badacsonyi borvidék nevével, híre határainkon túl is jól ismert. Az Interneten a Nemzetközi szőlőfajta katalógusban (DETTWEILER et al.) 'Kéknyelű' fajta, mint az olasz 'Picolit' fajta szinonimája szerepel. A két fajta morfológiai hasonlóságára korábbi irodalmi adatok is utalnak (NÉMETH, 1967). Mivel a 'Kéknyelű' neve

önmagában komoly marketingértékkel bír, különösen fontosnak láttam a 'Kéknyelű' és 'Picolit' fajták elkülönítését. Mivel a szőlőfajták összehasonlítása molekuláris markerek segítségével külföldi irodalmi adatok szerint biztonságosan alkalmazható módszer, munkám során célul tűztem ki a 'Kéknyelű' és a 'Picolit' fajták jellemzését az adott molekuláris markerekkel abból a célból, hogy a két fajta különbözőségét igazoljam.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A szőlő (*Vitis vinifera* L.) származása és taxonómiája

A szőlőfélék családja, a *Vitaceae* legközelebbi rokonságban a *Rhamnaceae* (bengefélék) családjával van, s azzal együtt alkotják a *Rhamnales* rendet. A *Vitaceae* családnak 715 faja van és 2 alcsaládra osztható:

Leoideae: 1 nemzetség 65 faja tartozik ebbe az alcsaládba, melyek Ázsia és Afrika trópusi vidékein élnek, nálunk üvegházi dísznövények.

Vitoideae: 10 nemzetség 650 faja alkotja az alcsaládot, melyek közül a *Vitis* nemzetséget tárgyalom részletesebben.

PLANCHON (1887) a *Vitis* nemzetség fajait két fajcsoportba sorolta. Ez a két alnemzetség az *Euvitis* vagy valódi szőlők és a *Muscadinia*, melybe egy fajt a *Vitis rotundifolia*-t sorolta. SMALL (1913), ez utóbbi fajcsoportot a nemzetség ragjára emelte, és a *Vitis* nemzetségnevet megtartotta a korábbi egy nemzetség többi fájának.

BAILEY 1934-ben megjelent művében a *Vitis* nemzetséget két alnemzetségre osztotta. Az *Euvitis* nemzetségbe 28, míg a *Muscadinia* alnemzetségbe 2 fajt sorolt. Hasonló rendszert használ FERNALD (1950) is.

Az *Euvitis* alnemzetség tagjainak kromoszómaszáma $2n=38$. Fajai kivétel nélkül sikeresen keresztezhetők egymással, csíráképes magvakat adnak, s a magvakból termékeny utódok nevelhetők. Fajait a könnyebb áttekinthetőség céljából GALET (1968) 11 fajsorozatba sorolta.

A *Viniferae* fajsorozatba tartozik a számunkra fontos *Vitis vinifera* L. (kerti szőlő) és a *Vitis sylvestris* GMEL. (ligeti szőlő) faj.

Három nagy földrajzi *Vitis* - fajcsoport jött létre:

- az észak-amerikait: 30 faj képviseli
- az európai -nyugat-ázsiai (eurázsiai): 2 faj képviseli
- a kelet-ázsiai: 40 faj képviseli jelenleg.

A *Muscadinia* alnemzetség tagjainak kromoszómaszáma $2n=40$. Három faja ismeretes a *Vitis rotundifolia*, a *Vitis munsoniana* és a *Vitis popenoi*. Termesztését 200 évvel ezelőtt kezdték meg, termésüket bor, szörp-, kocsonya-és lekvárkészítésre használták, gyümölcsét frissen is fogyasztották.

A *Muscadinia* alnemzetség fajai az *Euvitis* fajaival nem olthatók, mivel nem képesek az összeforradásra, de ennek ellenére bujtással kiválóan szaporíthatók.

A két alnemzetség (*Muscadinia* és *Euvitis*) között valóban sok az eltérés (kromoszómáik száma, generatív és vegetatív inkompatibilitás, passzív és aktív immunitás és élesen eltérő környezeti igények). Ez arra enged következtetni, hogy a két alnemzetség ősi képviselői régen elváltak, sőt NEGRUL (1946) szerint kétségbe vonható az a tény is, hogy a *Muscadinia* a *Vitis* nemzetséghez tartozik.

Kísérletek indultak annak kiderítésére, hogy mennyire távoli a kapcsolat a két alnemzetség és fajaik között, illetve képesek-e termékeny utódok létrehozására, vagy olyan távoli a rokonság, hogy életképes hibridutódot nem tudnak létrehozni.

WYLIE (1869, 1871) elsőként hozott létre *vinifera-rotundifolia* hibrideket, a 'Muscat Frontignan' és 'Black Hamburg' fajtákat termékenyített meg *Vitis rotundifolia* pollennel 1859-ben. Több éves kísérletezés után arról számol be, hogy míg a *Vitis rotundifolia*-t nem lehet *Vitis vinifera* pollennel megtermékenyíteni, a reverz keresztezés sikeres.

Euvitis alnemzetségből származó *Vitis vinifera* faj fajtáját (*Cabernet sauvignon*) anyanövényként és *Muscadinia* alnemzetségből származó fajt (*Muscadinia rotundifolia*) apanövényként használva termékeny és értékes hibridutódokat kapott kísérleteiben BOUQUET (1980a). Fordított esetben (*Muscadinia* faj anyaként és *Euvitis* faj apaként) neki sem sikerült termékeny utódot létrehoznia.

BOUQUET által Franciaországban előállított *Muscadinia rotundifolia* x *Vitis vinifera* BC₄ hibrideket használnak KOZMA és munkatársai 1999-ben indított nemesítési programjukban. Céljuk magas fokú domináns lisztharmat rezisztencia kombinálása poligénikus lisztharmat-rezisztenciával, valamint peronoszpóra és klíma ellenálló képességgel (KOZMA és DULA, 2003).

3.1.1. *Vitis vinifera* L. (kerti szőlő) kialakulása és elterjedése

DE CANDOLLE (1894) szerint a szőlő őshazája a legnagyobb valószínűség szerint Oroszországnak a transzkaukázusi része lehetett. Az ott kialakult szőlő faj, vagy fajok magvai azután a természetes tényezők hatására (madarak, szél légáramlatok) még az ember által termesztésbe vonás előtt nagy területen elterjedtek. Később a szőlő az emberi termesztés hatására nagymértékben megváltozott, és egyre nagyobb területeken elterjedt. A vadon termő szőlők ezután a már termesztésbe vont alakok hatására jelentős mértékben átalakultak.

A jégkorszak után felmelegedő Euráziában a fennmaradt ligeti szőlő (*Vitis sylvestris* GMEL.) elterjedt egész Európában, s felhatolt egészen Skandinávia déli részéig is. Termését természetes elterjedési területén a negyedidőszakban megjelenő ember kedvelte, gyűjtögette

és fogyasztotta. Az i. e. II. évezred elejéről, közepéről származó ásatási leletek között találták meg az első *Vitis vinifera* L. típusú magvakat (5 mm-nél hosszabb, fejlett csőrű magvak). Nyugat és dél felé haladva fokozatosan későbbi korokból maradtak fenn *Vitis vinifera* típusú magleletek. Ez azt bizonyítja, hogy a *Vitis sylvestris*-t a Kaukázuson túlról vonták be a termesztésbe egykor az ősi Ázsia népei. Tőlük vették át később a már *Vitis vinifera*-t az ókori nyugat-ázsiai és az Égei-tenger szigetein élő népek, akik továbbterjesztették a Földközi-tenger északi és déli partvidékein (KOZMA, 1991).

TERPÓ (1986) véleménye szerint a *Vitis vinifera* L. faj ugyanakkor nem egységes, hanem több eredeti szőlőfaj származéka, fő alapfajai a *Vitis sylvestris* GMEL. mellett a kétivarú virágú *V. hissarica* és a *V. nuristanica* lehetett. TERPÓ (1988) a *Vitis sylvestris* GMEL. új fajon belüli rendszerét dolgozta ki. Rendszerének lényege, hogy a ligeti szőlőket a levél szőrzet alapján alfajokba, a levél formája alapján, pedig változatokba sorolta. A *Vitis vinifera* faj földrajzi-ökológiai fajtacsoportjait (convarietas) ezekből a típusokból közvetlenül vagy közvetve vezette le.

KOZMA (1967) szerint a természetes evolúció teremtette meg a *Vitis sylvestris* GMEL. fajt és ebből alakult ki a termesztés hatására a *Vitis vinifera* faj. A kultúrevolúció jelentős foka volt a hímnős virágú szőlő (*Vitis vinifera*) megjelenése. A legtöbb *Vitis* faj, köztük a *Vitis sylvestris* GMEL. is funkcionálisan váltivarú, kétlaki. Ez a váltivarúság a törzspejlődés során az idegen megporzáshoz való alkalmazkodás folyamatában, a hímnős virág porzó-, illetve termőleveleinek a redukciója révén jött létre. A *Vitis sylvestris* GMEL. hímnős virágú formája rügymutációval jött létre a funkcionálisan hímvirágú egyedeken. A kultúrában megváltozott anyagcsere-folyamat válthatta ki a növényeken ezt az ősi szőlőfélékre (*Cissites*) atavisztikusan visszaütő jelenséget.

3.1.2. A *Vitis vinifera* fajták csoportosítása

A *Vitis vinifera* fajnak ma már több 10 000 fajtája ismert, s ebből 8 000 fajtát termesztnek is. A fajták nagy része rügymutációval, természetes kereszteződéssel, egy része, pedig mesterséges keresztezéssel jött létre.

A faj és fajta megkülönböztetése, rendszerezése az eltérő tulajdonságok miatt a szőlőtermesztésben is fontos. Szőlőfajták rendszerezésére több próbálkozás történt, a legelterjedtebb rendszerek a szőlőfajták származását veszik alapul.

GÁBOR József (1913) magyar ampelográfus a fajtákat földrajzi elterjedésük szerint rendszerezte. Négy csoportba sorolta a szőlőfajtákat: keleti, déli, északi és nyugati. Ezeket röviden jellemezte, és a csoportokon belül néhány fajtát is felsorolt (BÉNYEI et al., 1999)

A magyar ANDRASOVSKY (1926) a ma termesztett eredeti szőlőfajtákat 5 kultúrfajba (*Vitis alemannica*, *V. antiquorum*, *V. byzantina*, *V. deliciosa* és a *V. mediterranea*), továbbá ezek hibridcsoportjaiba sorolta.

NEGRUL (1946) által közzétett fajtarendszerezésnek a lényege, hogy a szőlőfajták közötti különbségek az eltérő környezeti feltételek hatására jöttek létre, s három nagy földrajzi-változat csoportot, „prolest” alkotnak. A NEGRUL által meghatározott 3 proles a következő: proles *pontica*, proles *occidentalis*, proles *orientalis*. A prolesek még kisebb rendszertani egységekre, *subprolesekre*, fajtacsoportokra (szorto-grupp) és fajtatípusokra (szorto-tip) tagolódnak.

A francia LEVADOUX (1956) a nyugat-eurázsiai vad és termesztett szőlők közti lehetséges filogenetikai kapcsolatot próbálta feltárni irodalmi adatokra és saját vizsgálataira támaszkodva. Véleménye szerint a paleobotanikai és történelmi kutatások megerősítik a botanikai kutatások eredményeit, miszerint az ember a vadszőlők különböző típusait használta, és új formák kiválogatásával a vad típustól természetében egyre inkább eltérő formákat kapott. A különböző helyeken és időben történt folyamatos szelekció különböző kerti szőlő típusok kialakulásához vezetett Nyugat-Európában. Mindezek alapján a szerző a *convar. occidentalis* földrajzi-ökológiai fajtacsoportot további kisebb egységekre (*provarietas*) osztotta fel. Ezek a *Noirin* v. *Burgundi* fajtacsoport (Chardonnay, Gamay, Pinot stb.), a *Carmenet* (Cabernet, Merlot stb.) a *Cot* (Malbec, Merille stb.), a *Folloid* (Folle, Jurankon stb.), a *Guinlan* (Darne, Muscadelle stb.) és a *Semillon* (Semillon stb.).

NÉMETH (1967) magyar kutató, elsősorban NEGRUL (1946) rendszerére támaszkodva az előtte kidolgozott rendszereket módosította, bővítette, tovább fejlesztette. Az általa kidolgozott, számkódokat alkalmazó ampelográfiai módszer 19 szerv 125 tulajdonságának 463 morfológiai bélyege alapján próbálta objektív módon leírni és elkülöníteni a szőlőfajtákat (NÉMETH 1967, 1970, 1975). Ezeket a csoportokat CSEPREGI és ZILAI (1973) szerint az alábbiakban részletezem:

<i>Convarietas pontica</i> (pontuszi, Fekete-tenger melléki változatcsoport)	<i>Convarietas orientalis</i> (keleti változatcsoport)	<i>Convarietas occidentalis</i> (nyugati változatcsoport)
Jellemzői: a levél fonáka és a vitorlalevél erősen gyapjas, a mag kicsi vagy középnagy és a fajták általában fagyérzékenyek.	Jellemzői: a levél fonáka csupasz, legfeljebb az erek serteszőrösök, a vitorlalevél csupasz és fényes, a mag középnagy vagy nagy, csőre hosszú és a nagybogyójú fajták fagyérzékenyek, a többi közepesen tűri a fagyot	Jellemzői: a levél fonáka és a vitorlalevél pókhálós vagy gyapjas, a mag kicsi és a csőre rövid, a fajták fagyűrése viszonylag jó.
<i>Subconvarietas balcanica</i> (erősen szőröslevelű fajták változat-alcsoportja)	<i>Subconvarietas caspica</i> (gömbölyű, középnagy, lédús bogyójú, részben borszőlő-, részben csemegezőlőfajták változatalcsoportja)	<i>Subconvarietas gallica</i> (francia minőségi borszőlőfajták változat-alcsoportja)
<i>Subconvarietas georgica</i> (kevésbé szőröslevelű fajták változat-alcsoportja)	<i>Subconvarietas antasiatica</i> (nagy, gyakran ovális, húsos bogyójú csemegezőlőfajták változatalcsoportja)	<i>Subconvarietas iberica</i> (ibériai borszőlőfajták változat-alcsoportja).

A *Vitis vinifera* földrajzi fajtacsoportjai nem egyszerre, hanem különböző ligeti szőlő változatokból egymás mellett, illetve egymással kereszteződve alakultak ki a következők szerint:

A legkorábban a **pontuszi** (convar. *pontica*) fajtacsoport alakult ki Nyugat- és Kelet-Grúziában valamint Kis-Ázsiában. Kiindulási formája a helyi ligeti szőlő a *Vitis sylvestris* GMEL. var. *balcanica*, *Vitis sylvestris* GMEL. var. *typica* (var. *sylvestris*) lehetett.

A **keleti** (convar. *orientalis*) fajtacsoporton belül a subconvar. *caspica* az ókori elő-ázsiai szőlőtermesztő államokban jött létre a Kaszpi-tóval határos területek ligeti szőlőjéből (*Vitis sylvestris* GMEL. var. *abberans*). A convar. *orientalis* subconvar. *antasiatica* későbbi eredetű.

A **nyugati** (convar. *occidentalis*) fajták kiindulási formái a helyi ligeti szőlők (*Vitis sylvestris*) és pontuszi fajták természetes úton létrejött hibridjei (KOZMA, 1991).

Hasonló nézeteket vall TERPÓ (1986) is, aki szerint a *Vitis vinifera* földrajzi változatcsoportjai az egyes *Vitis sylvestris* GMEL. változatokból levezethetők.

3.2. A genetikai változékonyság növelésének lehetőségei szőlőnél, és a változékonyság felhasználása a nemesítésben

A szőlőnemesítésben a keresztezéseket céltudatosan kell megtervezni és elvégezni az ehhez kiválasztott szőlőfajtákkal. A nemesítőnek ismernie kell a szőlőfajtákat, amelyektől a kívánt tulajdonság átöröklődése várható (HAJDÚ és ÉSIK; 2000).

A szőlő nemesítéséről KOZMA (1951) írt könyvet, melyben részletesen tárgyalja a beltenyésztes és a heterózishatás megnyilvánulásait a szőlőfajták keresztezése, illetve öntermékenyítése során. A változékonyság növelésének legfontosabb lehetőségét a szőlőfajták keresztezésében látta.

NEGRUL (1968) vizsgálta, hogy a különböző változatcsoportokon belüli, és közötti keresztezés hatására hogyan alakul az utódpopulációk változatossága. Megállapította, hogy míg a convarietasokon belüli keresztezés nem vezet számottevő variabilitáshoz, a változatcsoportok közti keresztezéssel, számottevő változatossággal bíró utódpopuláció hozható létre. Eredményei alapján a convar. *pontica* és a convar. *orientalis* közti keresztezéseknél az utódnemzedék főleg köztes jellegű, de a pontuszi fajta kis mértékű dominanciája felismerhető. A hibridek erőteljesebb növekedésűek (mint az *orientalis* fajták általában), de kis méretű lédús bogyóik vannak, melyek borkészítésre alkalmasak. Az *orientalis* és *occidentalis* fajták közti keresztezések utódnemzedékében az *occidentalis* fajta tulajdonságai domináltak. Az *occidentalis* és *pontica* convarietasok közti keresztezéseknél a hibridek köztes tulajdonságokat mutattak. Néhány közülük nagy termőképességűnek, és kiváló minőségű bort adónak bizonyult.

A genetikai változatosság fajok közti keresztezéssel is előállítható. Az így előállított interspecifikus hibrideket elsősorban a rezisztencianemesítésben hasznosítják, mivel a vad fajok

sok esetben olyan rezisztenciatulajdonságokkal rendelkeznek, melyek a kultúrfajból hiányoznak, vagy ott kisebb mértékű a rezisztencia. A szőlőnemesítésben leggyakrabban az un. franko-amerikai hibrideket használták peronoszpóra, lisztharmat illetve szürkerothadás elleni rezisztencia fokozására (KOZMA, 2002).

Fontos forrást jelent a *Vitis amurensis* faj a *Vitis vinifera* L. genetikai változatosságának növelésében. A *Vitis amurensis* a szőlőnemesítés számára több értékes tulajdonsággal: korai érés, lisztharmat-, peronoszpóra-, Botrytis-, és Agrobacterium- ellenállóság mellett nagyfokú fagyűrővel rendelkezik. Ez utóbbi tulajdonsága teszi a magyarországi kontinentális klímaviszonyok között különösen értékes génforrássá (KORBULY, 2002).

3.3. A genetikai markerek fogalma és jellemzői, alkalmazási köre

Konvencionálisan a szőlő fajtákat morfológiai tulajdonságok (levél, termés, rügy és egyéb szervek megjelenési formái) összehasonlításával, azonosítják. E tulajdonságok megjelenését gyakran betegségek, környezeti és fejlődési tényezők befolyásolják. A morfológiai változékonyság és az emberi szubjektivitás az ampelográfiai identifikálásnak határt szab (CIPRIANI et al., 1994).

A nemesítési alapanyagokban meglévő genetikai variációkat a nemesítők genetikai markerek segítségével találják meg, illetve különböztetik meg a környezeti variációktól. A genetikai markerek tulajdonságokat meghatározó allélek, melyek sajátosságait fenotípusos, fehérje- vagy DNS-szinten vizsgáljuk (HAJÓSNÉ NOVÁK, 1999).

A morfológiai jellemzők, és a fajták teljesítőképessége közötti összefüggések meghatározását, valamint a különböző teljesítményű klónok közötti morfológiai különbségek feltárását ismerteti NÉMETH (1952-57, 1968).

A genetikai markerek alapvető tulajdonságai: polimorfak, jó az örökölhetőségük, öröklésmenetük ismert, egyszerűen öröklődnek (ideálisan egyszerű Mendeli, kodomináns öröklésmenetet követnek), különböző fenotípusuk különböző lókusztól kódolt, és ezek a genomban szétszórva találhatók, valamint nem befolyásolják a növény fejlődését (BRETTING és WIDRECHNER, 1995).

Az utóbbi időkben genetikai markereket használtak a genotípus, és a genetikai rokonság objektívebb vizsgálatához (DANGL et al., 2001.; MEREDITH. et al., 1999).

A genetikai markerek egyik legfontosabb szerepe a rendszertani rokonságok meghatározása — a genetikai diverzitási adatok rendszerezésében végzett kritikus csapatmunka. A genetikai markerek segíthetnek, pl. a génbanki tételek korrekt azonosításában is (BRETTING és WIDRECHNER, 1995).

BRETTING és WIDRECHNER (1995) szerint, az hogy milyen genetikai markert használunk, függ a vizsgálni kívánt genom milyenségétől, (vad faj, tájfajta vagy termesztett, szelektált fajta stb.) és a genetikai profiljától (heterozigóta-homozigóta, homogén-heterogén stb.).

A nagy vagy kielégítően nagy genetikai variabilitással rendelkező növényeknél már az izoenzim- és RAPD- módszer (szőlő, kajszi, zeller) is igen eredményes lehet, de klónok, közel rokon fajták közötti különbségtételre az AFLP, az SSR, az ISTR, vagy a SCAR javasolt (BISZTRAY és VELICH in HAJÓSNÉ NOVÁK, 1999).

Az izoenzimek — 10-20 kodomináns, mendeli genetikai markerrel — még mindig a fajtaazonosítás legnagyobb költség-hatékonyságú elemei közé tartoznak (BRETTING és WIDRECHNER, 1995).

3.3.1. A genetikai variabilitás vizsgálata izoenzimekkel

3.3.1.1. Az izoenzim fogalma, jellemzésük

Már az 50-es évek elején több tanulmány jelent meg, amely azt bizonyította, hogy a növényi enzimek több formában léteznek. A legnagyobb vitát az váltotta ki, hogy ezek a formák a tisztítás során keletkezett műtermékek-e. Annak bizonyítására, hogy ezek nem műtermékek JERMYN 1952-ben savval történő kicsapással két frakcióra bontotta az eredeti peroxidáz kivonatát. Míg a csapadék csak az A és B pontokat tartalmazta, a felülúszó C és D pontokat. Mikor a tisztított peroxidáz oldatot vizsgálta két peroxidáz komponenst talált, az egyik az anód a másik a katód felé vándorolt (JERMYN és THOMAS, 1954).

Az első legfontosabb lépés az izoenzim vizsgálatok megindulásához a keményítő gélelektroforézis, SMITHIES (1955) által történő kifejlesztése volt. A második nagy lépést az jelentette, hogy 1957-ben HUNTER és MARKERT bebizonyította, hogy az izoenzimek közvetlenül a keményítő gélben láthatóvá tehetők specifikus hisztokémiai festékek használatával (MCMILLIN in TANKSLEY és ORTON, 1983).

Az izoenzim kifejezést MARKERT és MOLLER (1959) alkotta meg, ezt a szót használták azonos szubsztrát-specifitású enzimek különböző molekulaformáira. Azt is bizonyították, hogy az izoenzimek faj-, szövet- és fejlődési állapot-specifikusak.

A fehérjék a közvetlen genetikai tanulmányok számára - mint a struktúrgének elsődleges termékei - igen vonzóak. A kódoló bázis-szekvencia változásai gyakran, de nem minden esetben- változást idéznek elő a fehérjék elsődleges szerkezetében. Denaturáló körülmények között ezt a változást igen nehéz kimutatni, mivel ekkor a szétválasztás alapja a fehérje mérete (molekulatömege). Natív körülmények között egyetlen aminosav csere is kimutathatóan megváltoztathatja a migrációt. A problémát itt az okozhatja, hogy egy

szövetből készült kivonat sok fehérjét tartalmazhat, amely nem specifikus festés (pl. Coumassie kék) esetén komplex, sok sávból álló mintázatot eredményezhet, ami nehezíti a homológ (allélikus) és nem homológ enzimek felismerését. Ez a probléma megoldható, ha az elektroforézis után enzim-specifikus festést alkalmazunk (SHIELDS et al. in TANKSLEY és ORTON, 1983).

Az izoenzimek vizsgálata, azok funkciójának tanulmányozása a funkcionális genomika kérdéskörébe tartozik. A génexpresszió tanulmányozása RNS és fehérje szinten sok ma még nyitott kérdésre adhat választ (BERNARDI, 2004).

3.3.1.2. Az izoenzimek csoportosítása

Az izoenzimeket három nagyobb csoportba sorolhatjuk: allélikus izoenzimek vagy allozimek, multilókuszos izoenzimek, és másodlagos izoenzimek.

A multiplex formák genetikai háttere háromféle lehet:

1. Hasonló (azonos) működést végző enzimeket kódolhat több különböző gén, illetve lókuszt (multilókuszos izoenzimek).
2. Mutáció eredményeként azonos lókuszt több allélikus formája jöhet létre a genomban (allélikus izoenzimek).
3. Az egyedfejlődés során egy-egy sejtvonalban szomatikus mutáció eredményeként is keletkezhetnek fehérjeszerkezeti változások, amelyek egyedi eltérést eredményeznek, és ivaros úton nem adódnak tovább (másodlagos izoenzimek).

A többlókuszos enzimformák az evolúció során legvalószínűbben génduplikációval alakultak ki. A génduplikáció — gének többszöröződése a genomban — pl. nem egyenlő crossing over útján jöhet létre.

A különböző enzim struktúrgének mutációs gyakorisága eltérő lehet, amelynek következtében egyes gének csak ritkán fordulnak elő eltérő allélikus változatban, míg más izoformájúaknak a populációban több allélja létezik. Ez a különbség az önálló lókuszt bizonyítékként is elfogadható.

A többlókuszos izoformák kialakulására egy másik evolúciós út is elképzelhető. Lehetséges, hogy az eredetileg eltérő enzimek struktúrgénjeinek változásai hasonló katalitikus funkciók kialakulását eredményezték (H. NAGY in HAJÓSNÉ NOVÁK, 1999).

A többféle szubsztráttal is működő enzimek általában nagyobb variabilitást mutatnak (catechol oxidáz, savas foszfatáz, peroxidáz, észteráz), de ezek kifejeződését a környezet jobban befolyásolja. A speciális szubsztrátot igénylő enzimek (glükóz-foszfát izomeráz, foszfoglukomutáz, glutaminsav-oxálecetsav transzamináz, glükóz-6-foszfát dehidrogenáz

stb.) kisebb polimorfizmust mutatnak, de a környezet kevésbé befolyásolja a mintázatot (GILLESPIE és KOJIMA, 1968; GILLESPIE és LANGLEY, 1974).

3.3.1.3. Az izoenzimek elválasztása gélelektroforézissel

Az izoenzimeket gélelektroforézissel, izoelektromos fókuszálással mutatjuk ki. A gélen - megfelelő adott körülmények között - minden izoenzim a rá jellemző mintázatot mutatja, amit zimogrammnak nevezünk.

Az elektroforézis a kromatográfia egyik módja. A fehérjéket szétválasztó erő, a gél két vége közötti feszültségkülönbség. A fehérjék mozgását az elektromos térben tömegük, alakjuk és töltésük befolyásolja (BÁLINT és BÍRÓ in BÍRÓ, 1989).

A szétválasztáshoz használt gél készíthetjük akrilamidból, keményítőből és agarózból.

Az UPOV (International Convention for the Protection of New Varieties of Plants) a fajtaazonosság és/vagy különbözőség vizsgálatát az izoenzimek felhasználásával egységes rendszer szerint keményítő gélen végzi. A keményítő gélnek előnye, hogy nem mérgező, és egy vastag gél kiöntése után, annak több lapra vágásával egyszerre többféle izoenzimet lehet tanulmányozni. Nagyobb feloldóképessége miatt azonban egyre inkább a poliakrilamid gélét használjuk, amelynek porózus szerkezete akrilamid ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) polimerizációjával jön létre a keresztkötést biztosító N,N'-metilén-bisz-akrilamid ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$) jelenlétében. A polimerizáció eredményeként színtelen, átlátszó, rugalmas, szilárd, forralásnak és fagyasztásnak ellenálló gél keletkezik. A gél sűrűségét, viszkozitását és pólusméretét az akrilamid és bisz-akrilamid koncentráció határozza meg (HAJÓSNÉ NOVÁK és STEFANOVITSNÉ BÁNYAI in HAJÓSNÉ NOVÁK, 1999).

3.3.1.4. Az izoenzimek szétválasztása izoelektromos fókuszálással

Az izoenzimek szétválasztásának egy másik módja az izoelektromos fókuszálás.

A fehérjék töltését a savas és bázikus molekulareszek aránya, és ezek disszociálásának mértéke adja. A disszociálás mértékét a molekula környezetének kémhatása határozza meg. Azt a pH értéket, ahol a savas és bázikus molekulareszek azonos módon disszociálnak, vagyis a molekula töltése semleges lesz, a fehérje izoelektromos pontjának (IEP) nevezzük. Az izoelektromos pontnál alacsonyabb pH-jú környezetben a fehérje pozitív, az izoelektromos pont feletti pH esetén, pedig negatív töltésű lesz (HAMES, 1990).

Az izoelektromos fókuszálásnál a fehérjék szétválasztása olyan gélben történik, ahol pH gradienst hozunk létre. A fehérjék a feszültség hatására a gél azon pontjára vándorolnak, ahol töltésük semleges lesz (IEP). Ehhez a módszerhez vékony poliakrilamid, vagy agaróz gélét használnak.

Az izoelektromos fókuszálás előnye a gélelektroforézissel szemben, hogy az izoenzim variánsokat az izoelektromos pontjuk alapján azonosítani tudjuk, amely sokkal pontosabb meghatározást eredményez, mint az Rf érték szerinti azonosítás. Másrészt az izoelektromos fókuszáláshoz sokkal vékonyabb gélt használunk, így az elválasztás gyorsabb.

Az izoelektromos fókuszálás hátrányának tartották, hogy a módszer költséges, nagy gyakorlatot kíván, és a gél festése a széles pH gradiens miatt nehézkes (PATTERSON és PAYNE, 1989). Napjainkban ugyanakkor már kis gyakorlattal is lehet pH gradiens géleket készíteni, illetve vásárolni is lehet ilyeneket. Az újfajta ún. „mobil” gradienst tartalmazó gélek festése sem okoz gondot, mert a pH gradiens a gél átmosásával egyszerűen megszüntethető. Az alkalmazott technika ugyanakkor nagy teljesítményű tápegységet igényel, és költségesebb, mint a natív gél elektroforézis.

3.3.1.5. Az izoenzim vizsgálatok előnyei, hátrányai

Az izoenzim markereknek több előnyük van a morfológiai markerekkel szemben. Örökölhetőségük igen jó, ami azt jelenti, hogy a környezeti feltételek nem, vagy csak igen kis mértékben befolyásolják az izoenzim gének kifejeződését. Leggyakrabban egyszerű, Mendeli-törvények alapján öröklődnek. Öröklődésük legtöbbször kodomináns, kimutatásukat génkölcsonhatások nem zavarják. Kimutatásuk módszere egyszerű, könnyen tanulható (BRETTING és WIDRECHNER, 1995).

Előnye még a módszernek, hogy sok mintát lehet vele gyorsan vizsgálni. A vizsgálatokhoz kis anyagmennyiség is elegendő (néhány gramm az adott növény szövetéből), így nem jár a vizsgálat a teljes növény megsemmisítésével.

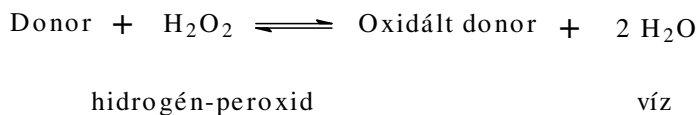
Szintén előny, hogy már fiatal növényeket tesztelhetünk és szelektálhatunk genotípusuk alapján olyan tulajdonságokra, melyek morfológiailag csak később jelennek meg. Ez főleg évelő növények nemesítésénél jelenthet jelentős időbeli és pénzületi megtakarítást. A jelenleg rendelkezésre álló genetikai markerek közül az izoenzim vizsgálatoknak a legjobb a költség-hatékonyságuk (BRETTING és WIDRECHNER, 1995).

Hátránya az izoenzim vizsgálatoknak a DNS markerekkel szemben, hogy szövet, illetve fejlődési állapot specifikusak. Az enzimek gyakran post-transzkripcionális módosításokon esnek át, ami használhatóságukat korlátozza (STAUB et al., 1996).

3.3.1.6. A vizsgált enzimek jellemzői

3.3.1.6.1. Oxidoreduktázok

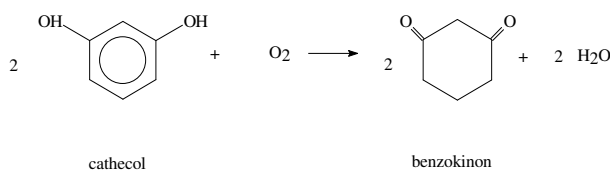
A peroxidáz (PER) által katalizált reakció a következő:



A peroxidáz enzim valamennyi állati és növényi sejtben megtalálható. Az enzim *in vivo* szerepe nem teljesen tisztázott, feltehetően az anyagcsere folyamán keletkező H_2O_2 bontását katalizálja (SZABOLCSI, 1991). Emiatt a peroxidáz enzimnek a hidrogén-peroxid mérgezés elleni védekezésben lehet jelentősége (FARKAS, 1984).

A növényi peroxidázoknak a polifenolok oxidálásával szerepük van a betegséggel szembeni ellenállás kialakulásában. Szerepüket feltételezik a ligninkeletkezés polymerizációs szakaszában is (FARKAS, 1968).

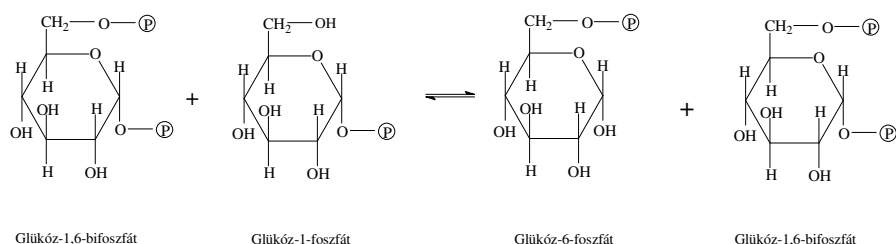
A cathecol-oxidáz (CO) által katalizált reakció:



A cathecol-oxidáz enzim a polifenol-oxidáz enzimhez hasonlóan felelős a növényi anyagok barnulásáért (FOX, 1991).

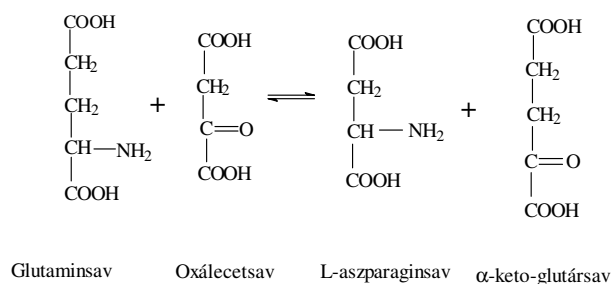
3.3.1.6.2. Transzferázok

A foszfoglukomutáz (PGM) által katalizált reakció:



Az enzim a glikogén bioszintézisben és a galaktóz anyagcserében tölt be fontos szerepet (MATHEWS et al, 2000). Az enzim szőlőben monomer felépítésű, és az izoenzimeket 2 lókuszcsoport kódolja (WALTERS et al., 1989).

A glutaminsav-oxálecetsav-transzamináz (GOT, AAT) enzim által katalizált reakció:



Jelenlétét kimutatták melegvérű állatokban, növényekben, mikroorganizmusokban. 1972-ben több mint ötvenféle aminoszferaszt ismertek, köztük D-aszpráttal működő enzimet is (SZABOLCSI, 1991). Az enzimnek kulcsszerepe van az aminosavak és dikarbonsavak anyagcsereútjának elágazásánál, a négy metabolit egyensúlyának fenntartásában (FASELLA, 1967). A transzaminázoknak szerepet tulajdonítanak a diaminfüggő RNS-bioszintézisben is (ELŐDI, 1980).

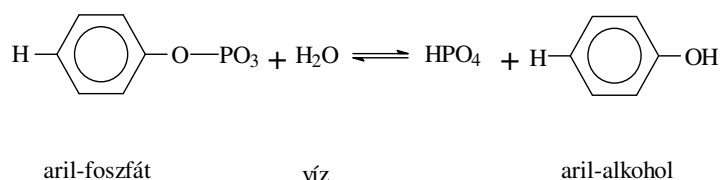
A GOT kétféle formáját különböztetik meg: az un. anionos vagy citoszol GOT-ot (c-GOT) és a kationos vagy mitokondriális enzimet (m-GOT). A kétféle forma primer szerkezet, kinetikai tulajdonságok és immunológiai eltérések alapján genetikailag különböző, tehát ezek valódi izoenzimek. Lényeges különbség közöttük, hogy a szorosan kötött koenzimet eltérő módon kötik: enzimatikusan aktív a Schiff-bázist képző aldimin forma (piridoxál-foszfát, PLP), az amino forma (piridoxamin-foszfát, PMP) pedig enzimatikusan inaktív kötést hoz létre (SZABOLCSI, 1991).

GOMBKÖTŐ és SAJGÓ, (1985) szerint a glutaminsav-oxálecetsav-transzamináz enzimnek az aszparagin aminosav-család bioszintézisében van alapvető jelentősége.

Az enzimnek növényekben 3 vagy 4 izoenzimje van, és az enzim dimer szerkezetű (CRAWFORD, 1990).

3.3.1.6.3. Hidrolázok

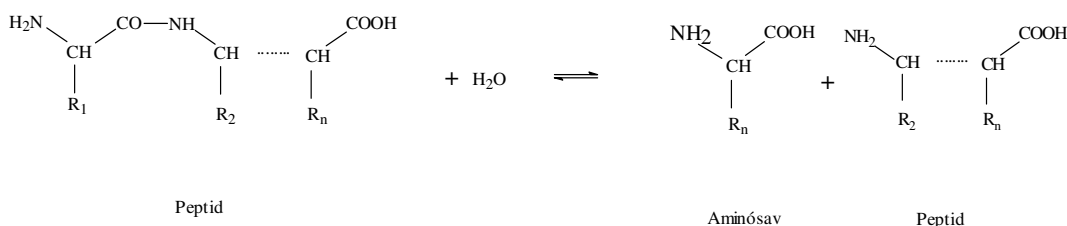
A savas foszfatáz (APS, AcP) által katalizált reakció:



A savas foszfatáz enzim biokémiai szerepe nem tisztázott, jelenleg intenzíven kutatják, valószínűleg a foszfolipid anyagcserében van szerepe. Szerkezete és genetikai háttere a növényekben eltérő.

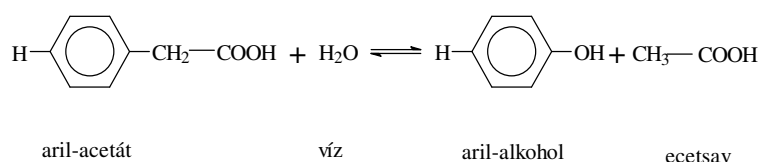
Míg savas foszfatáz enzimet paradicsomban 2 lókuszt kódolja, az APS-2 jelű lókusznak 3 allélja van, az enzim dimer szerkezetű (SIRÁLY, 1994.), a szőlőben az enzim monomer szerkezetű, és két lókuszt kódolja (WALTERS et al., 1989).

A leucin-aminopeptidáz enzim által katalizált reakció:



A leucin-aminopeptidáz enzimnek a fehérjék bontásában van szerepe. A növényi enzimnek általában két izoenzimje van, és monomer szerkezetű (CRAWFORD, 1990). A szőlőben az enzim szintén monomer, és az izoenzimjeit két lókuszt kódolja (WALTERS et al., 1989).

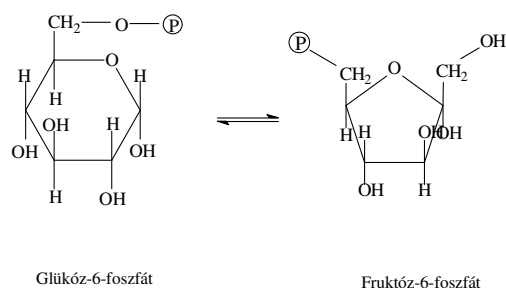
Az észteráz (EST) enzim által katalizált reakció:



Az enzim detoxifikációs reakciókban vesz részt, szőlőben monomer szerkezetű (WALTERS et al., 1989).

3.3.1.6.4. Izomerázok

A glükóz-foszfat-izomeráz által katalizált reakció:



Az enzim fontos szerepet tölt be a glikolízisben, valamint a glükogenezisben. Az első folyamatban a fenti reakció a második lépés, míg a másodikban az utolsó (MATHEWS et al., 2000). A glükóz-foszfat izomeráz enzim szőlőben dimer szerkezetű, és két lókuszt kódolja (WALTERS, 1989).

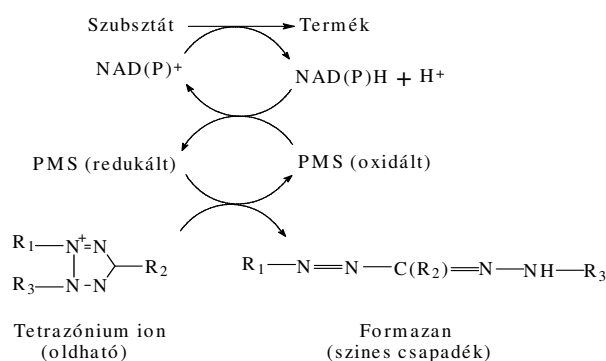
3.3.1.7. A festési módszerek alapjai

Mivel az izoenzimek fehérjék, ezért elektroforézissel elválaszthatók és enzimspecifikus festéssel láthatóvá tehetők.

A festési eljárás alapja az, hogy az aktív enzim, illetve egyik izoenzimje - optimális körülmények között (hőmérséklet, fény, pH) - a szubsztrátját terméké alakítja át. A keletkező termék színes, vagy különböző festési eljárásokkal láthatóvá tesszük (VALLEJOS, 1983).

3.3.1.7.1. Tetrazólium-rendszer

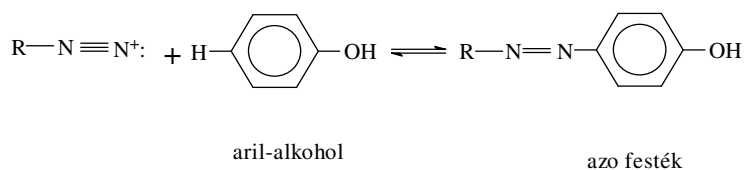
A rendszer a vizsgált enzimek közül a következő enzimek festési eljárása: glükóz-foszfát-izomeráz, foszfoglükomutáz. A festési eljárás alapja a következő reakciósorozat:



A reakciósorozat lejátszódásához biztosítani kell az enzim szubsztrátját, koenzimjét (NAD^+ vagy NADP^+), PMS-t, tetrazólium-iont és az enzim működéséhez szükséges feltételeket.

3.3.1.7.2. Diazónium rendszer

Ezzel a rendszerrel festjük a következő enzimeket: glutaminsav-oxálecetsav-transzamináz, savas foszfatáz, leucin-aminopetidáz, észteráz. Az enzim által katalizált reakció során aril-alkohol keletkezik, amely a diazónium sóval lép reakcióba:



A rendszer működéséhez biztosítani kell az enzim megfelelő szubsztrátját, a diazónium-sót, és az enzim működéséhez optimális feltételeket.

3.3.1.7.3. Redox festési eljárás

Az általam vizsgált enzimek közül a peroxidáz festési módszere. Miközben a hidrogén-peroxid vízzé redukálódik, a TMBZ (3,3',5,5'-tetrametil-benzidin) oxidálódik, amelynek következtében színváltozáson megy keresztül és kicsapódik. A rendszer működéséhez az enzim szubsztrátjait és a szükséges feltételeket biztosítani kell (VALLEJOS, 1993).

3.3.1.8. Izoenzim vizsgálatok szőlőnél

Több mint 60 bor és csemege szőlőfajta érett bogyójának kivonatát vizsgálta WOLFE (1976). A LAP, IO, AcP, CO, ADH, EST, PER enzimek izoenzimjeit keményítő gél elektroforézis segítségével különítette el. Az első négy enzimet a fajták megkülönböztetésére nagyon hasznosnak találta, annak ellenére, hogy az általa vizsgált 63 fajtát ezzel a módszerrel nem tudta identifikálni.

Többek között a catechol-oxidáz rendszert használták SCHWENNESEN és munkatársai (1982) magvatlan szőlőfajták azonosítására. Három fajta ('Perlette', 'Thompson Seedless' és 'Superior Seedless') egy rügymutáns vizsgálatát végezték el. Megállapításaik szerint a 4 minta jól elkülöníthető egymástól, és a catechol-oxidáz a vizsgált 10 enzim közül a legnagyobb változatosságot mutatta.

Huszonhét *Vitis* fajt, illetve fajtát vizsgáltak keményítő gél elektroforézissel SUBDEN és munkatársai (1987). A fás részekből, illetve a gyökérből származó enzimeknél jobb elválást tapasztaltak. Az AAT (=GOT), MDH, PGM és EST enzimrendszereknél azt tapasztalták, hogy a mintázatok eltértek egymástól, ha különböző időben, illetve más-más szövetből vették a mintát. A PER, IDH, ADH, enzimeknél problémák voltak a megismételhetőséggel, míg a LAP enzim mintázata jól reprodukálható volt, de nehéz volt a hasonló elektroforetikus mobilitással rendelkező sávok elkülönítése. A GPI, PEP és AcP enzimek izoenzim-mintázata reprodukálhatónak bizonyult, és jelentős változatosságot mutatott, ezért ezeket az enzimeket használták azonosításra. A szerzők az általuk bemutatott rendszert a gyakorlatban szőlőfajták azonosítására alkalmasnak ítélték.

Német kutatók vizsgálták a peroxidáz enzim izoenzimjeit izoelektromos fókuszálással. A 6-11 pH tartományban, a hánckivonatokban 8 sávot találtak, melyek segítségével 71 *Vitis* fajt illetve fajtát tudtak azonosítani (BACHMANN és BLAICH, 1988).

A 'Cayuga White' x 'Aurore' keresztezés utódpopulációját vizsgálta WEEDEN (1988) 11 alozim segítségével. Megállapították, hogy a hasadási arányok a legtöbb esetben az egyszerű Mendeli egy génes öröklésmenetnek megfelelőek. Három többlókuszus kapcsoltsági csoportot sikerült azonosítaniuk (ACP-1—PGM-c; ACP-2—AAT-c; GPI-c—LAP-1).

Nyolc *Vitis vinifera* L. cv. Garnacha klónt vizsgáltak ROYO és munkatársai (1989). Céljuk az volt, hogy a savas foszfatáz és a peroxidáz enzimek izoenzimjeinek segítségével különbséget tegyenek a klónok között, illetve jellemezzék azokat. 1987-ben a szőlő érésétől kezdődően analizálták a nyolc klónt izoelektromos fókuszálással. 1988-ban a teljes vegetációs ciklus alatt végeztek vizsgálatokat. Megállapították, hogy a 8 klón AcP izoenzim mintázatában nincs különbség, a peroxidáz enzim azonban jelentős változékonyságot mutat. A klónok jellemzésénél azokat a peroxidáz sávokat vették figyelembe, melyek a teljes

vegetációs ciklus alatt mindig jelen voltak egy adott klón mintáiban. Ily módon jellemezve a klónokat megállapították, hogy azok peroxidáz izoenzim-mintázat alapján elkülöníthetők.

EIRAS-DIAS és munkatársai (1989) portugál *Vitis vinifera* L. fajtákat vizsgáltak. Megállapításaik szerint az észteráz zimogrammok még a nyugalmi időszak alatt is igen változatosak voltak, ezért ez a rendszer nem használható identifikálásra.

Keményítő gél elektroforézist alkalmaztak WALTERS és munkatársai (1989) *Vitis vinifera* L. fajták, interspecifikus *Vitis* fajták és vadon élő *Vitis riparia* Michx. egyedek vizsgálatára. Művükben javaslatot tesznek olyan egyszerű és olcsó enzim kivonási módszerre, melynek segítségével szőlőből az aktív enzimek gyorsan és hatékonyan kivonhatók. Az általuk kidolgozott 3 keményítő gélrendszer segítségével 40 enzim izoenzim mintázatát vizsgálták, és közülük 14 enzimet javasoltak fajták jellemzésére, identifikálására.

Már 1990-ben megszületett az ötlet, hogy az izoenzimek vizsgálatára nem a levél, hanem a nyugalmi periódus alatt szedett egyéves vessző háncs szöveteit használják. KOZMA és munkatársai (1990) különböző convarietasokból származó fajták és interspecifikus hibridcsaládok észteráz izoenzim mintázatát poliakrilamid gélelektroforézissel és izoelektromos fókuszálással vizsgálták. Megállapították, hogy mind a nyugalmi, mind a vegetációs időszakban a vessző, illetve hajtás hánccszöveiteiből kivont enzimek reprodukálható észteráz izoenzim mintázatot adnak, míg a vegetációban levélből kivont enzimeknél a reprodukálhatóság nem volt igazolható.

Levélből, illetve sziklevélből indukáltak embriógenezist szőlőnél olasz kutatók (MARTINELLI et al., 1993). A kallusztól a növényig vizsgálták az ACP, ADH, EST, G-6PDH, PGM izoenzimeket 2-D elektroforézissel. Az ADH ACP és EST enzimek a fejlődés során különböző mintázatot mutattak. A nem morfogenetikus kallusz teljesen más mintázatot adott, mint az embriógén kallusz, illetve az embrió, ezért a módszer a kétféle kallusz megkülönböztetésére használható

BACHMANN (1994) KOZMA és munkatársaihoz hasonlóan szintén a nyugalmi stádiumban lévő vessző háncs szöveteit használta izoenzim vizsgálataihoz. Feltételezte, hogy mivel a biokémiai folyamatok ebben az időszakban kevésbé intenzívek, így kevésbé tudják befolyásolni a kapott izoenzim mintázatot. Poliakrilamid gél elektroforézist (PAGE) használt élő hánccszövetek izoenzimjeinek felhasználásával szőlőfajták azonosítására 211 *Vitis vinifera* fajtát, 61 interspecifikus hibridet, 41 *Vitis* fajt valamint 7 *Ampelopsis* és 1 *Partenocissus* fajt vizsgált. Izelektromos fókuszálással 39 peroxidáz mintázatot azonosított. Azonosított egy a *Vitis vinifera* fajtákra jellemző „A” típusú peroxidáz izoenzimet. Vizsgálatai szerint ez az enzim minden *vinifera* fajtára jellemző, de az interspecifikus fajták körülbelül felénél is megtalálható (28-nál a vizsgált 61-ből), a vizsgált *Vitis* fajok közül

viszont csak kettőnél fordul elő. Ez az enzimtípus az interspecifikus fajták közül az „elfogadható borminőséggel” rendelkezők többségére jellemző.

Triploid szőlőnemesítési munkájuk során a magoncok hibrid eredetének kimutatásához SHIRAISHI és munkatársai (1994) a glükóz-foszfát-izomeráz és foszfoglukomutáz izoenzimjeit használták fel. 99 diploid fajtát, és 8 vad fajból 20 diploid növényt, valamint ezek utódpopulációt vizsgálták és a GPI-2-es lókuszban 13, a PGM-2-es lókuszban pedig 11 allélt találtak. Az adatok a *Vitis* fajok közti magas fokú genetikai eltérést mutattak. Ezután a keresztezésekhez használt 6 diploid és 4 tetraploid fajta GPI-2-es és PGM-2-es genotípusát határozták meg. A 15 diploid x tetraploid keresztezés eredményeként létrejött 98 magonc közül 92-ben triszóm génexpressziót mutattak ki, míg a fennmaradó 6 magonc a mintázatok alapján diploidnak bizonyult.

Vitis vinifera ssp. *sativa* hagyományos fajtákat és ssp. *sylvestris* vad ökotípusokat hasonlítottak össze olasz kutatók (SCIENZA et al., 1994) abból a célból, hogy a két taxon közötti különbséget, illetve rokonságot vizsgálják. Tartalék fehérjék, valamint az AcP, ADH, EST, G-6-PDH, MDH, PGM és POD enzimek izoenzimjeit izoelektromos fókuszálással különítették el. A vizsgált fehérjék közül a tartalék fehérjék, valamint az AcP EST és G-6-PDH enzimek izoenzim-mintázata bizonyult taxonómiai szempontból felhasználhatónak. Eredményeik szerint a két taxon között a rokonság igen nagy mértékű, illetve az Olaszországban termesztett szőlőfajtáknak a ssp. *sylvestristől* való közvetlen vagy közvetett származása is feltételezhető. A szerzők morfológiai, ökológiai és biokémiai adatokra alapozott hipotézise szerint a két vizsgált taxon egymástól elkülönül, és köztük az idő folyamán olyan sok kölcsönhatás játszódhatott le, hogy eredetük pontos helyének meghatározása ma már nem lehetséges.

ZAPATA és munkatársai (1996) vizsgálták, hogy a 'Monastrell' nevű szőlőfajta különböző szövetekből létrehozott *in vitro* kultúrák peroxidáz izoenzim mintázata, és szubsztrát specifikitása eltér-e egymástól. Megállapították, hogy a peroxidáz izoenzim-mintázat minőségileg nem tér el a különböző szövetekből létrehozott sejt kultúrákban, de a neutrális peroxidáz izoenzimek aktivitásbeli különbségeket mutatnak.

ROS BARCELÓ és munkatársai 1996-ban a peroxidáz enzim izoenzimjeinek expresszióját tanulmányozták peronoszpóra rezisztens (*Vitis vinifera* x *Vitis rupestris*) x *Vitis riparia* hibridben, és a fogékony *Vitis vinifera* szülőben. Eredményeik azt mutatták, hogy míg a rezisztens (*Vitis vinifera* x *Vitis rupestris*) x *Vitis riparia* hibridben mind a levélben mind a háncsban expresszáldott a B₃-mal jelölt (PI=8,9) peroxidáz izoenzim, a fogékony *Vitis vinifera* szülőből az teljesen hiányzott. Annak megállapítására, hogy ez a peroxidáz izoforma a peronoszpóra rezisztencia molekuláris markereként használható-e, a fogékony szülőből

előállított sejtkultúrát az Onozuka R-10 celluláz elicitorral kezelték. Ez a *Trichoderma viridae* nevű talajlakó gomba enzime közismerten a szőlő betegség ellenállósági reakcióinak specifikus elicitora. A kezelés a szőlő betegség ellenállósági mechanizmusával párhuzamosan a B₃ peroxidáz izoenzim megjelenését idézte elő. A kísérletek alapján tehát a B₃-as peroxidáz a szőlő peronoszpóra rezisztencia markereként felhasználható.

A mintavétel körülményeinek és az izoenzim vizsgálat ismételhetőségének és megbízhatóságának összefüggéseit vizsgálták spanyol kutatók 1997-ben (ROYO et al., 1997.). Megállapították, hogy a nyugalmi időszakban a háncsból kivont enzimek esetén általában nincs eltérés a különböző időpontokban vett minták között, illetve a környezet kevésbé befolyásolja a mintázatot.

Az 'Albariño' nevű fajta genetikai homogenitását vizsgálták VIDAL és munkatársai (1998) izoenzim és RAPD markerekkel. Tíz enzimrendszer és 42 RAPD primer segítségével 73 izoenzimet és 308 RAPD sávot tudtak kimutatni, a vizsgált minták mindegyik markerre azonosak voltak. Vizsgálataik bizonyították a Galíciában termesztett 'Albariño' fajta genetikai homogenitását, a tételek közti kis mértékű morfológiai eltérést nagy valószínűséggel a környezeti tényezők okozták.

CRESPAN és munkatársai (1999) a GPI és PGM izoenzimeket, valamint 8 SSR markert használtak 20 magnélküli szőlőfajta megkülönböztetésére. A vizsgált fajtákat a két enzimrendszer segítségével 9 csoportba tudták sorolni, míg SSR vizsgálatokkal 2 fajta ('Sugraone', 'Sugrafive') kivételével az összes vizsgált fajtát el tudták egymástól különíteni. Mikroszatellit vizsgálatokkal igazolták az 'Italia' fajta származását.

Magyar kutatók néhány szőlőfajta esetében a peroxidáz és észteráz enzimek izoenzimjeit vizsgálták izoelektromos fókuszálással, különböző időben vett minták alapján. Megállapításuk szerint a vegetációs időben a virágzás utáni minták a legalkalmasabbak a fajták megkülönböztetésére, de a nyugalmi időszakban a hánccs enzimeit is alkalmasnak találták fajtaazonosításra (STEFANOVITS-BÁNYAI et al., 1999; STEFANOVITS-BÁNYAI et al, 2002).

A foszoglükomutáz és a glükóz-foszfát-izomeráz enzim és 25 SSR lókuszt segítségével jellemzett CRESPAN és MILANI (2001) muskotályos fajtákat. A 64 vizsgált tételtől 20 csoportot tudtak létrehozni, a maradék 44 szinonimának tekinthető. Vizsgálataik alapján megállapították, hogy a 'Moscato bianco', illetve a 'Muscat of Alexandria' fajták a vizsgált muskotályos fajták ősei lehetnek. A fajták biotípusai között még a mikroszatellit markerek segítségével sem tudtak különbséget tenni.

SÀNCHEZ-ESCRIBANO és munkatársai (1998) 43 csemegeszőlő fajtát vizsgált 6 enzim (PER, CO, GOT SOD, EST, AcP) segítségével. Az utóbbi 2 enzimet nem találták

megfelelőnek. A többi 4 enzim zimogrammjainak kombinációjával 31 fajtát tudtak elkülöníteni a többi vizsgált fajtától, míg a többi 12 fajtát 5 csoportba sorolták.

KALCHGRUBER és munkatársai (1994) kutatásaik során poliakrilamid gél-elektroforézist és izoelektromos fókuszálást használtak. A 'Chardonnay' és a 'Weißer Burgunder' (Pinot blanc) fajták példáján keresztül vizsgálták a savas foszfatáz, amiláz, fenol-oxidáz, és szuperoxid-dizmutáz enzimek izoenzim-mintázatát, és azok alkalmazását szőlőfajták megkülönböztetésére. Vizsgálataik alapján a két fajtát egymástól el tudták különíteni.

Az észteráz enzim és fehérjék esetén, a 2,5-10 pH-jú tartományban végeztek izoelektromos fókuszálást osztrák kutatók (PAAR et al., 1999) 13 fehér borszőlőfajta vizsgálatára. Az észteráz enzim esetén az általuk kapott mintázatok között minőségi eltérést nem találtak. A Coomassi Brilliant blue-val festett fehérjemintázatok a 'Zöld veltelíni', 'Rotgipfler' és az 'Olasz rizling' esetén annyira eltértek a többi fajta mintázatától, hogy segítségükkel az említett fajták könnyen identifikálhatók. A 'Tramini' fajta klónjai között az alkalmazott módszerekkel nem tudtak különbséget tenni.

Izoenzim, RAPD és mikroszatellit markereket használt HAJÓS-NOVÁK és HAJDÚ (2003) magyar borszőlő fajták és szüleik jellemzésére. Megállapításaik szerint az izoenzim markerek közül a catechol-oxidáz enzimrendszer a legmegfelelőbb identifikációs célokra.

A *Tydeus caudatus* alternatív táplálékait vizsgáló olasz kutatók (DUSO et al, 2005) megfigyelték, hogy ez az atka faj, sokkal gyakoribb a szőlő peronoszpórával fertőzött levelein. Ebből arra következtettek, hogy a szőlő-peronoszpóra alternatív táplálékkul szolgálhat a *Tydeus caudatus* részére. Az atkában a peronoszpóra kimutatására izoelektromos fókuszálást használtak. Több enzim közül a glükóz-foszfat-izomerázt választották. A peronoszpórával fertőzött levelekről gyűjtött *Tydeus caudatus* nőstényekből készített mintákban, nagy arányban találták meg a peronoszpórára jellemző GPI allélokot. Hasonló eredményt kaptak a *Paraseiulus talbii* nevű ragadozó atkafaj nőstényeinek vizsgálatakor, de itt a peronoszpórára jellemző allélokot sokkal kisebb arányban tudták kimutatni.

3.3.2. A genetikai variabilitás vizsgálata DNS markerekkel

TANKSLEY és ORTON (1983) molekuláris markereknek nevezte el azokat a biokémiai markereket, amelyek fehérje és/vagy DNS szinten azonosítják a polimorfizmust. A fehérjék (enzimek) elektroforetikus vizsgálata során az aminosav szekvenciában meglévő változatosságnak csak egy része detektálható (HILLIS és MORTIS, 1990).

A különböző DNS polimorfizmusok a legnagyobb mértékben öröklődő genetikai markerek közé tartoznak, és növények esetében három különböző helyen vizsgálhatók — a sejtmagban, a kloroplasztisban és a mitokondriumban (WOLFE et al. 1987).

A DNS markerek alkalmazását a „Southern blot” technika (SOUTHERN, 1975) és az ezen alapuló RFLP (Restriction Fragment Length Polimorphism = restrikciós fragmentumhossz polimorfizmus) módszer, majd a polimeráz láncreakció (PCR) kifejlesztése tette lehetővé.

3.3.2.1. Az RFLP technika lényege és alkalmazási területei

Restrikciós enzimek a bakteriális sejtekben, mint gazda-modifikációs gátló rendszer működnek, alapvető eszközei a DNS klónozásnak, de használhatók a genotípusok közti különbségek feltárására. Ebben az esetben a feltárt variációkat restrikciós fragmentumhossz polimorfizmusnak (RFLP) nevezzük, mert különböző hosszú DNS fragmensekként jelennek meg, amikor elektroforetikusan gélen elválasztjuk azokat. A nagyfelbontású RFLP térképek lehetővé teszik, hogy QTL-eket (quantitative trait loci) azonosítsunk, és markerrel végzett szelekciót alkalmazzunk a nemesítésben (NEALE és WILLIAMS, 1991).

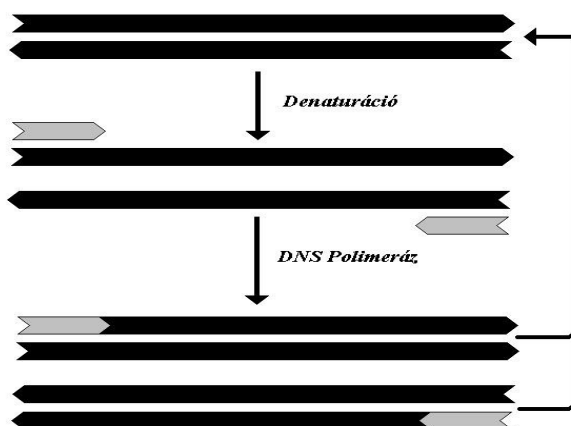
A restrikciós enzimek hasítóhelyei tehát molekuláris markerként felhasználhatók gének vagy genomok jellemzésére. Ha ugyanis egy DNS fragmens egy másiktól legalább egy restrikciós hasító helyben különbözik, akkor ez lehetőséget ad a különbség kimutatására. A restrikciós enzim hasításával nyert genom fragmentumokat gélen elválasztjuk és Southern-blottoljuk, vagyis a kapott DNS fragmentumokat denaturáljuk, depurináljuk, majd a gélről nitrocellulóz vagy nejlon membránra vesszük át. Ezután a kapcsolt marker (DNS fragmentum) az azt specifikusan felismerő hibridizációs próba alkalmazásával mutatható ki. A kimutatott fragmentum, vagy fragmentumok nagysága, illetve megléte a kapcsolt allél jelenlétére utal. Mivel a módszerrel a különböző allélek egyidejűleg kimutathatók, a marker kodomináns (BISZTRAY in VELICH 2001).

3.3.2.2. A polimeráz láncreakció (PCR) elve és lépései

A PCR-t (Polymerase Chain Reaction) MULLIS fejlesztette ki 1985-ben. Lényege egy olyan láncreakció, melynek során a templát DNS egy célszekvenciáját sokszorozhatjuk (amplifikálhatjuk) enzimatis úton. A reakcióhoz a célszerkezetből megfelelő minőségben és mennyiségben DNS-t kell kivonni. A láncreakció egy erre a célra kifejlesztett PCR-készülékben (thermocycler) megy végbe lánckezdő oligonukleotidok (primerek) jelenlétében, hőstabil DNS polimeráz enzim (Taq polimeráz) segítségével (MULLIS és FALOONA, 1987). A PCR reakció a következő lépésekből áll:

- **Denaturáció** (Denaturation), melynek során a szaporítandó kettős DNS szálát 95 °C körüli hőmérsékleten, két egyszálú fonállá denaturáljuk.
- **Primer kapcsolódás** (Annealing), melynek során a hőmérséklet 37 °C körülire (annealing temperature) csökkentésével, a 8-20 nukleotidból álló szintetikus oligonukleotid molekulák (primerek) kapcsolódnak a célszekvenciákhoz.
- **A komplementer szál szintézise** (extension) 72-75 °C-on, hőstabil DNS polimeráz (Taq polimeráz) segítségével, a primerek 3' végeinek meghosszabbításával (elongation) történik.

Ezzel az első ciklus befejeződik. A képződött, primert is tartalmazó kétszálú DNS molekula denaturációjával kezdődik el a PCR reakció következő ciklusa (HAJÓSNÉ NOVÁK, 1999).



1. ábra: A polimeráz láncreakció sémája (LANDEGREN 1993. nyomán)

3.3.2.3. PCR-en alapuló markerezési eljárások

PCR reakció az alapja a molekuláris markerezési eljárások egész sorának. Itt csak a leggyakrabban használt eljárásokat szeretném felsorolni:

- **Véletlen primerek használatán alapuló módszerek** (MAAP): Ide tartozik a RAPD és a rokon módszerek (AP-PCR, DAF, RAPD-DGGE). Közös jellemzőjük, hogy véletlen primereket használunk, a felszaporított kromoszómális DNS-fragmentumokat gélen választjuk el, láthatóvá tesszük, lefényképezzük, majd a kapott mintázatokat kiértékeljük. A különbség az alkalmazott primerek hosszában, az amplifikáció körülményeiben, az elválasztás módjában és a felszaporított DNS-fragmentumok láthatóvá tételében van.

WILLIAMS és munkatársai (1990) írták le elsőként a RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) módszert. Ez a DNS polimorfizmus kimutatására alkalmas módszer véletlen DNS szegmensek tetszőleges primerek segítségével történő amplifikációján alapul.

Ez a változatosság az egyik szülőből amplifikálható DNS szegmensek formájában egyszerűen detektálható, mendeli öröklődésű, és genetikai térképek létrehozására felhasználható.

A RAPD technika legfontosabb előnyei, hogy nem ismert genom analízisére is felhasználható, akkor is alkalmazható bizonyos problémák megoldására, ha csak kis mennyiségű DNS áll rendelkezésre, hatékony és viszonylag olcsó (HADRYS et al., 1992).

RAPD vizsgálatok során a különböző tényezők hatásait vizsgálták BÜSCHER és munkatársai (1993). Megállapításaik szerint a primer koncentrációjának csökkentése növeli a hosszabb termékek arányát, amit a szerzők azzal magyaráznak, hogy a kis koncentráció miatt a primerek nem tudnak minden megfelelő helyre bekötődni. A templát DNS koncentrációjának csökkentése ugyanakkor a rövidebb termékek keletkezésének kedvez. A szerzők vizsgálatai szerint a használt DNS polimeráz is befolyásolhatja az eredményt, bizonyos Taq polimerázok használatával több kisebb terméket kapunk, míg más polimerázzal a hosszabb amplifikációs termékek keletkeznek nagyobb arányban. A használt PCR készülék típusa is befolyásolja a kapott eredményt, különösen olyan készülékek esetén ahol a blokk fémből készült, illetve a hő továbbítására folyadékot használnak. Ezeknél a készülékeknél nem a reakció, inkább a blokk hőmérséklete szabályozott. A szerzők szerint kisebb problémát jelent a RAPD vizsgálatok során az ún. „ghost band” megjelenése a templát DNS nélküli kontroll reakciókban, ugyanis a templátot is tartalmazó reakciócsövekben ennek a terméknek a keletkezése gátolva van, akkor is ha amplifikációs termék nem keletkezik.

• Tervezett primerek használatán alapuló módszerek

A SCAR (Sequence characterized amplified region) marker szintén a polimeráz láncreakción alapuló markerek közé tartozik. A SCAR-ok egyszerű genetikailag definiált lókuszokat reprezentálnak, és a genomiális DNS, specifikus oligonukleotid primerek segítségével PCR-es amplifikációval azonosíthatók. Kifejlesztésük RAPD markerekből történik olyan módon, hogy az amplifikált RAPD termékeket klónozzák és szekvenálják. A szekvenciák alapján oligonukleotid primerpárokat terveznek, és ezeket használják a SCAR vizsgálatok során a PCR reakcióhoz (PARAN és MICHELMORE, 1993).

Miniszatellitek a DNS egyszerű tandem ismétlődő régiói, melyek az emberi genomban elszórtan találhatók, és a tandem ismétlődések számában térnek el egymástól. Az ismétlődő elemek általában 10-15 bp központi részből állnak, amelyek valószínűleg rekombinációs jelként funkcionálnak e nagy változatosságú régiók létrehozásában (JEFFERS et al., 1985).

A mikroszatellitek egyszerű szekvencia tandem ismétlődései, melyek a legtöbb eukarióta genomban véletlenszerűen fordulnak elő. Mivel általában 100 bp- nál rövidebbek, és egyedi szekvenciák határolják őket, polimeráz láncreakció segítségével *in vitro* amplifikálhatók. A mikroszatellitek polimorfizmusa az ismétlődések számából ered. Ez a

változatosság elég stabil ahhoz, hogy a marker genetikai analízisekben felhasználható legyen. A mikroszatellitek nagy felbontású genetikai térképek készítéséhez ideális markerek (HEARNE et al., 1992). A növényekben AT dinukleotid ismétlődések a leggyakoribbak, az állatoknál gyakran előforduló AC/TG ismétlődések igen ritkán fordulnak elő. Szójával végzett kísérleti eredmények megerősítették, hogy a mikroszatellitek nagy változatossággal bírnak, szomatikusan stabilak, kodominánsak, és a Mendeli szabályok szerint öröklődnek. Ezek a tulajdonságok genetikai kapcsoltságok kutatására, fizikai térképezésre, populációs vizsgálatok elvégzésére és fajtaazonosításra ideális markerekké teszik a mikroszatellitek (MORGANTE és OLIVIERI, 1993).

Harmincöt új mikroszatellit markert fejlesztettek ki ARROYO GARCÍA és MARTÍNEZ-ZAPATER (2004) az AGROGENE nevű nemzetközi konzorcium keretein belül. A lókuszokat 41 spanyol szőlőfajtában szaporították fel. A vizsgált markerek közül 11 volt informatív és polimorf. Ezekben a lókuszokban 4-12 allélt azonosítottak, a heterozigóták lókuszonkénti aránya 0,6-0,8 között változott. A többi marker közül 12 monomorf volt, egy polimorf volt ugyan, de a fajták több mint 2 allélt amplifikáltak, a maradék 22 lókuszban pedig amplifikációs problémákkal szembesültek a szerzők. A 11 jól használható mikroszatellit lókuszhoz a primerpárok szekvenciáit is közlik a szerzők.

Mikroszatellit régiók „cross-species” amplifikációjáról elsőként számolnak be AGRAWAL és munkatársai (2006). Kontrolált keresztezésekben (Regent x Lemberger; Gf.Ga-47-42 (Bacchus x Seyval blanc) x Villard blanc; V3125 (Schiava grossa x Riesling) x Börner) és 5 véletlenül kiválasztott utódot vizsgáltak. Az *Arabidopsis thaliana*-ból származó mikroszatellit primerekkel amplifikációs terméket nem kaptak. Három, szójából és rizsből származó mikroszatellit primerpárral informatív, multilókuszos mintázatot kaptak, amelyeket domináns típusú, egyedi markerként lehet értékelni.

ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) vizsgálatok előnye a mikroszatellit vizsgálatokhoz viszonyítva, hogy nem igényli a határoló szekvenciák ismeretét. A primerek tervezésének alapja az ismétlődő szekvencia. Két, az ismétlődő szekvenciákat tartalmazó primer felhasználásával, az adott két SSR lókusz közötti DNS szakasz felszaporítható, ezáltal egy multilókuszos marker rendszer alakítható ki, amely széleskörűen használható többek között ujjlenyomat készítésére, elterjedés vizsgálatra, genom térképezésre (GODWIN et al., 1997).

Az SSCP (single strand conformation polymorphism) analízist általában SNP (single nucleotide polymorphism) kimutatására használják. A módszert elsőként ORITA és munkatársai (1989) írták le. A módszer lényege, hogy a PCR reakcióval felszaporított DNS fragmenseket ún. SSCP gélen, állandó hőmérsékleten választják el, majd általában

autóradiográfiával teszik láthatóvá azokat. Ezen a nagyfelbontású poliakrilamid gélen az egymástól egyetlen nukleotidban eltérő fragmensek is megkülönböztethetők (HAYASAH, 1992; SUNNCKS et al., 2000).

3.3.2.4. DNS markerek (RAPD, mikroszatellit stb.) alkalmazási területei, eredményei szőlőnél

A DNS markerek közül szőlőnél leggyakrabban az AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism = amplifikált fragmentumhossz polimorfizmus), RFLP, RAPD és SSR (mikroszatellit) módszert alkalmazták.

A DNS markerek felhasználásának határait meghatározó megállapításokat tettek BENJAK és munkatársai (2006). Vizsgálataik szerint az alkalmazott DNS kivonási módszer befolyásolhatja az AFLP vizsgálatok eredményeit. Kutatásaikat arra alapozták, hogy az AFLP vizsgálatok során a DNS emésztést és a PCR-rel történő amplifikációt a templát DNS-t tartalmazó oldatban található egyéb, kémiai komponensek befolyásolhatják. Vizsgálataikban 62 Pinot noir, 6 Pinot blanc és 4 Szürkebarát klón AFLP profilját vizsgálták, három különböző DNS kivonási technika esetén. Bár a 3 DNS kivonási módszer segítségével megközelítőleg azonos mennyiségű és minőségű DNS-t sikerült nyerniük, az AFLP profilok sokszor mégis különbözőnek bizonyultak. A kapott AFLP eredmények alapján 3 dendrogrammot szerkesztettek a három kivonási technika segítségével. A dendrogrammok jelentős mértékben eltértek egymástól, így pl. a 2-21 Gm jelű Pinot blanc klón és a D42 valamint a H1 jelű Szürkebarát klón a 3. kivonási technika dendrogramján közel állt egymáshoz, addig a másik két dendrogrammon ezek a klónok egymástól igen távol helyezkedtek el. A szerzők eredményeik alapján azt javasolják, hogy főként AFLP, de más DNS vizsgálatoknál is, különösen akkor, ha azok közeli rokon fajták, illetve klónok vizsgálatára irányulnak standardizálni kell a mintavétel és DNS kivonás körülményeit, hogy az a kapott eredményeket ne befolyásolhassa.

A szőlő genetikai kutatásokban ma a leggyakrabban alkalmazott DNS markerek a mikroszatellit (SSR) markerek. A szőlőben ez idáig több száz mikroszatellit lókuszt sikerült azonosítani, és jellemezni változékonyságuk alapján (THOMAS és SCOTT, 1993; THOMAS és SCOTT, 1994; SCOTT et al., 2000). A nagyszámú mikroszatellit marker lehetővé tette, hogy a módszert széles körben alkalmazzák. A különböző technikákat gyakran alkalmazták a különböző szőlő fajták, illetve fajták rokonságának, származásának tisztázására.

Olasz kutatók (DI GASPERO et al. 2000.) *Vitis vinifera*-ból izolált 11 mikroszatellit markert vizsgáltak annak eldöntésére, hogy 15 különböző *Vitis* fajban, illetve a *Parthenocissus quinquefolia*-ban megtalálhatók-e ezek a lókuszek, és mennyire hasonlítanak

egymáshoz. Megállapították, hogy a vizsgált lókuszek 91 %-a (10 lókuszt) pontosan amplifikálódott a *Vitis* nemzetség mind a 15 fajában, ami alapján arra a következtetésre jutottak, hogy az egy fajból izolált mikroszatellit markert rokon fajok vizsgálatára is fel lehet használni. Ez a szőlő esetében – ahol különböző fajokat és fajhibrideket használnak alanyként, illetve a különböző nemesítési programokban – nagyon nagy jelentőséggel bírhat.

BOURQUIN és munkatársai (1993) 46 szőlőfajtát vizsgáltak RFLP módszerrel. 111 informatív, illetve egyedi fragmentumot találtak. Az RFLP mintázatokat két szempontból értékelték, egyrészt a kapott mintázatokat hasonlították össze, másrészt a ritka fragmentumok eloszlását vizsgálták. Megállapításaik szerint a kapott eredmények alátámasztják az ökológiai-földrajzi csoportok (convarietasok) létjogosultságát.

GRANDO és munkatársai (1995) termesztett és vad szőlőket hasonlítottak össze RAPD analízissel. Az általuk vizsgált 19 *Vitis vinifera* L. fajta két csoportra különült RAPD profiljuk alapján, az egyik csoportba convar. *occidentalis* a másikba a convar. *pontica* fajták tartoztak. Meglepő eredmény, hogy a pontuszi fajták nagyobb hasonlóságot mutattak a *Vitis sylvestris* GMEL. faj egyedeivel, mint az *occidentalis* fajtákkal.

PCR-RFLP vizsgálatot végeztek BOURQUIN és munkatársai (1995) 17 *Vitis* 3 Ampelopsis és 2 Partenocissus faj jellemzésére. Négy, a Chardonnay fajtából származó primer segítségével a 22 alanyt el tudták különíteni, de a 3309 C alany 9 vizsgált klónja között nem tudtak különbséget tenni. A szerzők a módszert alkalmasnak tartják taxonómiai célra.

Tizenöt *Vitis vinifera* fajtát és 5 *Vitis sylvestris* GMEL. populációt vizsgáltak spanyol kutatók (CARREÑO et al., 2001). Tizenkét mikroszatellit lókuszt vizsgálatával próbáltak genetikai rokonságot találni a vizsgált termesztett fajták és a vadon élő ligeti szőlő populációk között. Eredményeik alapján a vizsgált 15 fajta egyike sem származhat közvetlenül a vizsgált populációkból, de a spanyol fajták helyi ligeti szőlőből való származását nem lehet kizárni, a kérdés tisztázására további vizsgálatok szükségesek.

Mikroszatelliteket határoló régiók variabilitását vizsgálták olasz kutatók (DI GASPERO et al., 2001). Megállapították, hogy a vizsgált *Vitis vinifera*-ból izolált mikroszatellitek általában jól amplifikálhatók rokon fajokban is (94%-a a 176 genotípus x lókuszt kombinációban sikeres volt a cross-species amplifikáció). A határoló régiók szekvenciájában előforduló mutációk a szerzők szerint jól használhatók taxonómiai célokra is. Az adott módszerrel vizsgálták az amerikai, európai és ázsiai *Vitis* fajokat, de nem sikerült összefüggést találniuk a faj földrajzi elterjedése és genotípus között, ezért a *Vitis* fajok taxonómiájának átgondolását javasolják.

Szőlőből, kiviből, olajfából és őszibarackból izoláltak és szekvenáltak mikroszatelliteket CIPRIANI és munkatársai (2001). Mind a négy fajban nagy variabilitást

tapasztaltak, így például szőlőben lókuszonként 9-17 allélt találtak. Vizsgálták a mikroszatellitek fajok közti amplifikációját, szőlőnél 14 *Vitis* fajban, amelyekben a vizsgált mikroszatellit régiók 91 %-át sikeresen szaporították fel. A közeli nemzetségek egyes fajaiban is sikeresen tudták felszaporítani az adott SSR régiókat, így pl. a *Vitis* nemzetséghez közel álló *Parthenocissus* nemzetségben.

ERGÜL és munkatársai (2002) 17 török szőlőfajtát vizsgáltak 22 RAPD markerrel. A 22 primerrel 179 sávot tudtak amplifikálni, 200-1800 bp. hosszúságban. A BC 340, 374; F 20, OPA2., 18; P 123, 166 és 394-es primerekkel kapták a polimorf sávok több mint 70%-át. Klaszter analízissel két nagyobb, illetve 4 kisebb csoportot tudtak elkülöníteni. Megállapításaik szerint a fajták genetikai rokonsága és származásuk alapvetően összefügg.

Kilenc mikroszatellit markert használtak SEFC és munkatársai (2000) európai szőlőfajták földrajzi eredetének meghatározására, illetve a különböző földrajzi eredetű fajták jellemzésére. Eredményeik alapján megállapították, hogy a 7 vizsgált régió (Görögország, Horvátország, Észak-Olaszország, Ausztria, Németország, Franciaország, Spanyolország és Portugália) szőlőfajtáik genetikai bázisa jelentősen eltér egymástól. A bogyók színe alapján képzett csoportok ugyanakkor genetikailag nem válnak el egymástól. A szerzők szerint ez azt mutatja, hogy a különböző bogyójú szőlőfajták egyszerre mentek át a fajtafejlődésen. A különböző földrajzi területek fajtáinak genetikai elkülönülése azt mutatja, hogy ezek a fajták adaptálódtak az adott környezethez. Ennek alapján a nem ismert eredetű fajtáknál mikroszatellit markertulajdonságaik alapján lehetséges a földrajzi eredet meghatározása.

Tunéziai szőlőfajtákat vizsgáltak ZOGHLAMI és munkatársai (2001) 11 RAPD marker felhasználásával. A korábbi vizsgálataikkal (izoenzim) nem elkülöníthető 33 fajtát vontak vizsgálat alá. Első lépésként 5 fajtát választottak ki, és ezeken 43 primert teszteltek, melyek közül 11 bizonyult stabilnak és polimorfnak, ezért a további vizsgálataikhoz ezeket használták. A 11 primerrel összesen 81, 400-1980 bp hosszúságú fragmenseket kaptak, melyek közül 54 polimorfnak bizonyult, míg a fennmaradó 27 allél mindegyik vizsgált fajtában jelen volt. Összesen 75 féle mintázatot kaptak, az OPP-210 jelű primerrel kaptak a legtöbbféle mintázatot (13 sáv, 21 különböző mintázat). 17 kis gyakoriságú, fajtaspecifikus fragment detektáltak. A kapott eredmények alapján hasonlósági mátrixot és UPGMA dendrogrammot szerkesztettek. Vizsgálataik eredményeképpen az izoenzim vizsgálatokkal nem azonosítható fajták közül további 18 azonosítását tudták elvégezni. Megállapították, hogy a vizsgált RAPD markerekkel kapott eredmények nincsenek korrelációban a fajták eredetével és morfológiai tulajdonságaikkal.

Tizenkét termesztett (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) és 12 vad (*Vitis vinifera* L. ssp. *silvestris*) szőlő DNS-ét vizsgálták olasz kutatók (GRASSI et al., 2002) nyolc zárva-termőkre

jellemző kloroplaszt SSR lókuszt felhasználásával (ccmp 2-6, 8-10). A nyolc lókuszt közül kettőt találtak polimorfnak (ccmp 3, ccmp 10). A ccmp3-as lókusztban két allélt (106 és 107 bp), míg a ccmp 10-es lókusztban három allélt (114, 115 és 116 bp) detektáltak. A két lókuszt 5 allélja alapján az egyedeket 5 haplotípusba sorolták. A vad és a termesztett szőlő között ezzel a módszerrel nem találtak különbséget.

MANEN és munkatársai (2003) régészeti szőlő magvakat vizsgáltak mikroszatellit analízissel, előzetesen 7 primerrel. A V1-gyel jelölt kaszásdűlői (Aquincum) szőlőmagvak mind a hét mikroszatellit markerrel pozitív amplifikációs reakciót adtak. Az előzetes tanulmány eredményei alapján az archeológiai szőlőmag-leletek tanulmányozása SSR analízissel lehetséges. A kapott adatok, és a mai szőlőfajták adatainak összehasonlítása által a modern fajták kialakulására kaphatunk választ.

Tizenkét kárpát-medencei szőlőfajtát vizsgáltak KOCSIS és munkatársai (2005) RAPD markerekkel. Céljuk a vizsgált fajtakörben a genetikai diverzitás és rokonság felmérése volt. Vizsgálataikban 28 primert használtak, amely 120 polimorf fragmentumot adott. A kapott RAPD eredményeket összevetették NÉMETH (1967) taxonómiai besorolásával, illetve a fajták feltételezett földrajzi eredetével. Megállapították, hogy a vizsgált fajták RAPD profilja nem mutat összefüggést egyik vizsgált tényezővel sem, de a fajták a kapott eredmények alapján egymástól elkülöníthetők.

ISSR-PCR módszert használtak DHANORKAR és munkatársai (2005) Indiában termesztett szőlőfajták genetikai rokonságának megállapítására. A 43 vizsgált fajta 13 primerrel 139 reprodukálható fragmenset adott, melyek közül 96 mutatott változatosságot. A kapott adatokat hasonlósági mátrixba rendezték, és UPGMA dendrogrammot szerkesztettek a hasonlósági index (Dice koefficiens) alapján. A dendrogrammon külön csoportot képeztek a *Vitis vinifera* L. (I.) fajták, és a *Vitis labrusca* (II.) eredetű interspecifikus fajták. A 'James' nevű, *Vitis rotundifolia* eredetű fajta a II. csoportba került. A 'Lake Emerald' és a 'Muscat' nevű fajták egymástól, és az előbb említett két csoporttól is teljesen elkülönültek. A *Vitis vinifera* L. fajták csoportján belül (I.) két csoportot tudtak elkülöníteni a bogyóhéj színe alapján. A szerzők további marker rendszerek (pl. SSR, AFLP) vizsgálatát javasolják a fajták rokonsági viszonyainak feltárása érdekében.

Francia kutatók a *Vitis vinifera* L. ssp. *silvestris* (ligeti szőlő) állomány franciaországi felmérését tűzték ki célul. 2001 és 2002 során 135 helyen 517 vadszőlő egyedet felvételeztek, melyek közül morfológiai bélyegek alapján 330 tartozott a ligeti szőlő fajhoz. A 330 egyedből véletlenszerűen kiválasztottak 154-et, melyek négy régióból származtak. A kiválasztott egyedeket morfológiai és mikroszatellit vizsgálatnak vetették alá. A morfológiai vizsgálat eredményei nem mutattak összefüggést a földrajzi eredettel, de a 13 SSR markerrel végzett

vizsgálatok azt mutatták, hogy a *Corse* régióból származó egyedek határozottan elkülönülnek a másik három régió egyedeitől. Francia és más országokból származó szőlőfajták mikroszatellit adataival összevetve a kapott eredményeiket megállapították, hogy a ligeti szőlő (*Vitis vinifera* L. ssp. *silvestris*) és a termesztett szőlő (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) egymástól határozottan elkülönül, a francia ligeti szőlők ugyanakkor nagyobb hasonlóságot mutatnak a francia szőlőfajtákkal, mint más országból származó termesztett fajtákkal (LACOMBE et al., 2003).

Hat olasz és négy spanyol ligeti szőlő (*Vitis vinifera* ssp. *silvestris*) populációt vizsgált IMAZIO és munkatársai (2003) magi és kloroplasztisz SSR markerek felhasználásával. A szerzők a kapott eredmények alapján megállapították, hogy az olasz populációk között igen magas fokú a hasonlóság, ami jelentős génáramlás („gene flow”) meglétére utal. Ezek az adatok arra engednek következtetni, hogy az olasz területeken a legutóbbi jégkorszak alatt megmaradt vadszőlők jelentős szerepet tölthettek be a faj fennmaradásában. Ugyanakkor a spanyol populációk nagy értékű genetikai távolságai arra utalnak, hogy ezek a populációk jelentős géneróziótól szenvednek. A Szardínia szigetén található vadszőlő populáció mind a spanyol, mind az olasz populációkkal rokonságot mutat, ami arra utalhat, hogy a sziget mintegy összekötő kapocsként szolgált Spanyolország és Olaszország területei között a legutóbbi jégkorszak utáni rekolonizációs folyamatokban.

A fajták pontos azonosítása nemcsak a szőlőiskolák, szőlészek és borászok számára fontos, de a nemzetközi kereskedelmi szabályozás és a bormegjelölésekre vonatkozó törvények is megkövetelik, hogy a fajtamegjelöléssel forgalomba hozott borok helyesen legyenek azonosítva.

A mikroszatellit allélok közül az 1998-ban létrejött VMC (*Vitis* Microsatellite Consortium) résztvevőinek ajánlásai alapján 6 lókuszt választottak ki, melyek segítségével a szőlőfajták többsége azonosítható (THIS és DETTWEILER 2003). A „The European *Vitis* Database” fejlesztésével párhuzamosan a mikroszatellit adatok értékelésének olyan módszerét dolgozták ki, melynek segítségével a különböző laboratóriumokban kapott eredmények könnyen összehasonlíthatók. A módszer lényege, hogy hat, fajtaazonosításra hatékonyan alkalmazható SSR lókuszt (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZag62, VrZag79) esetében az allélokat kódokkal látták el. 10-16 jól ismert, ún. referencia fajtát jelöltek ki, melyek a 6 mikroszatellit lókuszt 13-23 allélját reprezentálják. A módszert részletesen ismertetik THIS és munkatársai 2004-ben megjelent cikkükben. A megoldás lényege az, hogy ha egy új fajta vizsgálatakor azzal együtt több referencia fajtát is vizsgálunk, és az új fajtára kapott fragmenshosszokat a referenciafajták fragmenshosszaihoz viszonyítjuk, akkor

kivédhető a különböző laboratóriumokban, más-más módszerekkel végzett SSR vizsgálatok közötti, a módszerből adódó különbség.

Horvát, görög és török szőlőfajták közötti genetikai rokonságot vizsgáltak 8 RAPD és 8 mikroszatellit marker segítségével BENJAK és munkatársai (2005). A Hvar szigetről (Horvátország) hat, a görög Paros szigetről öt, és Anatolia régióból (Törökország) 9 fajtát analizáltak. A fajtákat egymástól el tudták különíteni, ami azt mutatja, hogy nem voltak köztük szinonimák. Megvizsgálták, hogy van-e összefüggés egy fajta genetikai profilja, és földrajzi eredete között. Megállapították, hogy a török fajták genetikailag határozottan elkülönülnek a vizsgált görög és horvát fajtáktól.

GOTO-YAMAMOTO és munkatársai (2006) kilenc új mikroszatellit markert jellemeztek. Ezek és nyolc korábban közzétett marker segítségével hét convar. *occidentalis* és kilenc convar. *orientalis* fajtát, valamint két *Vitis labrusca* fajtát és a *V. riparia* és *V. rotundifolia* fajok egy-egy egyedét vizsgálták. A kapott adatokat statisztikailag kiértékeltek, és a közös allélok száma alapján rokonsági dendrogrammot szerkesztettek. A dendrogrammon jól láthatólag elkülönültek egymástól a *Vitis vinifera* convar. *occidentalis* és *orientalis* fajták, valamint a vizsgált *Vitis* fajok. A *Muscadinia* alnemzetséghez tartozó *Vitis rotundifolia* faj a vizsgált fajok közül a *Vitis riparia*-hoz áll a legközelebb, az alkalmazott mikroszatellit markerekkel kapott eredmények alapján.

CIPRIANI és munkatársai (1994) 16 fajta és 42 klón vizsgálatát végezték el mikroszatellit analízissel. Megállapították, hogy a módszer általában alkalmas szőlőfajták elkülönítésére, kivéve az olyan fajtákat melyek szomatikus mutációval keletkeztek, és a bogyó színében térnek csak el egymástól, mint például a Pinot csoport, vagy igen közeli rokonságban állnak egymással, mint az általuk vizsgált 'Refosco di Faedis' és a 'Refoscone'. Eredményeik alapján a módszert klónok azonosítására alkalmatlannak ítélték.

Két PCR alapú DNS technológiát az AFLP-t és az ISTR-t hasonlították össze SENSI és munkatársai (1996) 19 *Vitis vinifera* L. fajta vizsgálatával. Nyolc AFLP és 5 ISTR primer kombinációkban 264 illetve 249 polimorf markert kaptak. A tételek hasonlóságának megállapítására klaszteranalízist végeztek. Az AFLP vizsgálat adatai szerint a 'Sangiovese' fajához tartozó tételek külön csoportot alkottak. A másik csoporton belül, ahová a színes bogyójú fajtákat lehetett besorolni nagyobb mértékű volt a változatosság. A szerzők véleménye szerint mindkét módszer igen hatásos eszköz lehet a genetikai diverzitás felmérésében *Vitis vinifera* L. ökotípusok, és esetenként klónok között.

Tizenhat szőlőfajtát, illetve klónjaikat vizsgáltak RAPD analízissel YE és munkatársai (1998). Ötvenhárom primer segítségével 464 sávot kaptak, melyek 29%-a mindegyik vizsgált genotípusban megtalálható volt. Klaszter analízis segítségével a vizsgált fajtákat két csoportra

tudták osztani (*Vitis vinifera* L. fajták és *V. x labruscana* Bailey fajták). A 'Pinot noir' és 'Chardonnay' fajták klónjai között nem találtak különbséget, és a 'Pinot noir', 'Pinot Meunier', 'Pinot gris' és 'Gamay Beaujolais' fajták szintén azonos mintázatokat adtak. Az 'Auxerrois' és 'Melon' fajták egyedi, jól elkülöníthető mintázattal rendelkeztek. A 'Niagara' fajta feltehetően mutációval kialakult fajtaváltozatai 97%-ban hasonló RAPD profilt mutattak. A 'Chardonnay' és a 'Pinot noir' fajták 84%-ban azonos sávokat adtak. Későbbi vizsgálatok alapján (BOWERS et al., 1999) tudjuk, hogy a két fajtánál a RAPD mintázat nagy mértékű egyezése nem véletlen, a 'Pinot noir' fajta ugyanis nagy valószínűséggel a 'Chardonnay' fajta egyik szülőfajtája.

Apulia tartományból származó 14 muskotályos szőlőfajta közti genetikai rokonságot vizsgáltak FANIZZA és munkatársai (2000) kétszáz, egyenként 10 nukleotid hosszú primer segítségével. A hasonlóságot 484 polimorf RAPD sáv segítségével határozták meg. A kétszáz primer közül 42-vel nem kaptak amplifikációs terméket, vagy monomorf volt a mintázat. A többi 153 primer 263 monomorf és 484 polimorf sávot kaptak. Vizsgálataikkal az összes vizsgált fajtát meg tudták egymástól különböztetni, a 'Moscato Nero' és 'Moscato Amburgo' fajták, valamint a 'Moscato Canelli' és a 'Moscato Reale' fajták nagy hasonlóságot mutattak (hasonlósági index értékek: 0,93, illetve 0,87). A szerzők kiemelik, hogy nemcsak nemesítési szempontból, de a helyi tradíciók miatt is fontos Apulia tartományban a muskotályos fajták diverzitását megőrizni.

Görög *Vitis vinifera* L. fajtákat vizsgáltak LEFORT és ROUBELAKIS-ANGELAKIS (2001). Az általuk vizsgált 50 fajtát 11 mikroszatellit lókuszt felhasználásával jellemezték. Vizsgálataik szerint 6 fajta azonosítása a vizsgált 11 markerrel nem lehetséges, mert azok páronként azonos mikroszatellit profilt mutatnak. Ezeknél a fajtáknál 6 további lókuszt vizsgálatával próbálták azokat egymástól elkülöníteni. Próbálkozásuk azonban csak 2 fajta esetén volt eredményes, de ebben az esetben is a fajták csak 2 lókusztban tértek el egymástól.

Egy olasz fajta, a 'Trebbiano' és morfológiailag hasonló fajták vizsgálatára használták a mikroszatellit és az AFLP módszert LABRA és munkatársai (2001). A 24 vizsgált fajta közül kettő, a 'Trebbiano di Soave' és a 'Verdicchio' mind a 8 vizsgált SSR marker esetén 100%-ban, míg a 'Trebbiano di Lugana' nevű fajta az előző két fajtával 93%-ban egyező SSR profilt mutatott. Az AFLP vizsgálatok is hasonló eredményt mutattak, itt a 'Trebbiano di Soave' és a 'Verdicchio' fajták 99%-ban, míg a 'Trebbiano di Soave' és a 'Trebbiano di Lugana' az AFLP allélok 97%-ában egyeztek meg. A többi vizsgált fajta e három fajtától legalább 15%-ban eltért, a fajták között a közölt eredmények alapján nagy a genetikai különbség.

SSR, ISSR, AFLP és RAPD markereket használtak REGNER és munkatársai (2001) több mint 1200 szőlő (*vinifera* fajták, szőlő alanyok és *Vitis* fajok) genotipizálására. A kapott

adatok alapján azonosító rendszert állítottak fel. A legpolimorfabb markerek közül 6 segítségével az összes vizsgált szőlőfajtát meg tudták különböztetni. Fajtaazonosításra jelenleg 10 SSR lókuszt használnak a mindennapi gyakorlatban. Több mint 300 fajtát 40 SSR markerrel vizsgáltak az Ausztriában termesztett szőlőfajták genetikai rokonságának megállapítása végett. A 'Tramini' és a 'Heunisch' fajtákat kulcsfontosságú fajtáknak ítélték meg, mert azok vizsgálataik alapján számos más fajta kialakulásában részt vettek. RAPD és SSR markerek segítségével a szerzők klónok meghatározására alkalmas rendszert is kidolgoztak. A klónok további megkülönböztetésére az SSR markerek null alléljainak segítségével nyílt mód – mivel a null allélek nagyon ritkák nagyszámú marker vizsgálatát kellett elvégezni a 'Rajnai rizling' fajta 10 klónjának megkülönböztetésére.

Mikroszatellit analízist és nem-radioaktív AFLP tesztet használtak VIGNANI és munkatársai (2002) a 'Sangivese' nevű *Vitis vinifera* L. fajta 25 tételének vizsgálatára. Három tétel esetén a vizsgált 8 SSR lókuszból négyenél eltérést találtak az alapfajtához képest. Új innovatív, nem-radioaktív AFLP vizsgálatok megerősítették a mikroszatellit módszerrel kapott eredményeket. A szerzők kiemelik az általuk végzett vizsgálatok genetikai rokonságok feltárására, és klón valamint fajtaszelekciós programokban való jó alkalmazhatóságát.

Tizenhét szőlőfajtát, illetve azok klónjait hasonlították össze 10 mikroszatellit marker segítségével olasz kutatók (VANTINI et al., 2003). A vizsgált fajták mindegyikét azonosítani tudták, és néhány fajta egy-egy klónját is sikerült identifikálni. Genetikai távolságot számoltak és dendrogrammot szerkesztettek a kapott adatokból, melynek segítségével a vizsgált fajták közti genetikai rokonságot szemléltették.

IBAÑEZ és VAN EEUWIJK (2003) 45 magnélküli szőlőfajtát választottak referenciának, és vizsgálták, hogy különböző mikroszatellit markerekkel megvalósítható-e a szőlőfajták védelme. Összesen 9 STMS markert (VVS1, VVS2, VVS5, VVS29, VVMD5, VVMD7, VrZAG 47, VrZAG 62, VrZAG79) hasonlítottak össze. Megállapították, hogy a három leginformatívabb SSR marker (VVS2, VVS5, VVMD7) segítségével el lehet a vizsgált 45 fajtát különíteni. Rávilágítanak, hogy további (nem magvatlan) fajták és több, egymással nem kapcsolt lókuszt vizsgálataival a szőlőfajták azonosítása lehetővé válhat.

RAPD módszert használták BISZTRAY és munkatársai (2003) szőlő fajok és fajták jellemzésére. A 96 tesztelt RAPD markerből 40 bizonyult felhasználhatónak, segítségükkel a vizsgált 6 *Vitis vinifera* fajtát és 9 interspecifikus hibridet azonosítani tudták. A vizsgált 7 Szürkebarát klónt szintén sikerült a 40 RAPD marker segítségével elkülöníteniük.

ZULINI és munkatársai (2003) AFLP és SSR módszert alkalmazták a funkcionálisan nővirágú, olasz 'Picolit' fajta genetikai vizsgálatára. Megállapították, hogy a fajta

szomatikusan igen stabilnak mondható, mivel számos igen idős tőke (100 év körüliek) is azonos SSR, illetve AFLP mintázatot adott.

Észak-Portugália szőlőfajtáinak jellemzésére PINTO-CARNINE és munkatársai (2003) RAPD és mikroszatellit markereket használtak. Tizenkét fajta vizsgálatát végezték el, melyek közül nyolc egyedi mintázatot mutatott.

Ugyancsak RAPD és mikroszatellit módszert használt POLLEFEYS és BOUSQUET (2003) Észak-Amerikában termesztett franco-amerikai szőlő hibridek genetikai változékonyságának felmérésére. Megállapították, hogy a vizsgált hibridek egy csoportjánál az észak-amerikai *Vitis labrusca* és *Vitis riparia* genomja dominál, egy másik csoportnál, pedig az európai *Vitis vinifera* genomjával mutatnak nagyobb rokonságot a hibridek.

Portugál kutatók vizsgálták a 'Cruzado de Rabo de Ovelha' nevű fajta származását 12 mikroszatellit DNS segítségével, és megállapították, hogy a vizsgált fajta azonos a 'Castelo Branco' nevű fajtával. Megállapították továbbá, hogy a fajta szülei a 'Fernão Pires' és a 'Diagalves' fajták' (MAGALHAES et al., 2003).

Spanyol kutatók (IBAÑEZ J. et al. 2003) 111 fajtát vizsgáltak 13 mikroszatellit lókuszfelhasználásával abból a célból, hogy egy komplett adatbázist hozzanak létre a fontos spanyol szőlőfajták morfológiai, izoenzim és mikroszatellit adataiból. A vizsgált 111 fajta esetén 96 genotípust tudtak azonosítani. Véleményük szerint 7 fajtát az azonos mikroszatellit profil ellenére is különbözőnek kell tekinteni, mert azok bár egyértelműen rokonságban állnak egymással, lényeges karakterekben viszont határozottan eltérnek.

Hatvankettő iráni és amerikai szőlőfajtát vizsgáltak 9 SSR markerrel FATAHI és munkatársai (2003). A lókuszonként allélszám 4 és 16 között, a heterozigóták aránya 0,47 és 0,86 között változott. A hasonlósági index alapján szerkesztett dendrogrammon három klasztert tudtak elkülöníteni, az egyikbe a csemege, a másikba a borszőlő fajták, míg a harmadikba az alanyfajták kerültek.

Negyvenhét, az Oltrepó Pavese (Pavia, Olaszország) régióból származó szőlőfajtát vizsgáltak olasz kutatók (ROSSONI et al., 2003) AFLP és kloroplaszt mikroszatellit markerek segítségével. A kapott eredmények alapján rokonsági dendrogrammot szerkesztettek, melyből egyértelműen megállapítható, hogy a vizsgált fajták mindegyike azonosítható az adott markerek segítségével, és a fajták között viszonylag nagy a genetikai távolság.

MONTANER és munkatársai (2004) a 'Parraleta' nevű autochton spanyol fajtát vizsgálták, 6 mikroszatellit markerrel. A 12 vizsgált 'Parraleta' fajtájú növény egyformának bizonyult, és különbözött a két vizsgált 'Garciano' klóntól.

Bolgár szőlőfajták mikroszatellit vizsgálatát végezték HVARLEVA és munkatársai (2004). Ők a Bulgáriában államilag regisztrált 74 fajta vizsgálatát végezték el, 9 mikroszatellit

lókusz felhasználásával. Több szinonim névhasználatot megerősítettek, ugyanakkor a korábban azonosnak vélt 'Mavrud' és 'Greek Mavroudi Arachovis' fajták különbözőségét vizsgálataikkal igazolni tudták.

GONZÁLEZ TECHERA és munkatársai (2004) vizsgálták a 'Tannat' nevű szőlőfajta 9 klónját 89 SSR marker felhasználásával. A 89 marker közül egyedül a VMCNg1d12 mutatott különböző mintázatot, ami alapján a klónokat két csoportba lehetett sorolni. Az aromakomponensek koncentrációja alapján csoportosítva a klónokat ugyanezt a két csoportot kapták. A mikroszatellit lókuszok többségében csak egy allélt tudtak kimutatni, ami azt jelzi, hogy a 'Tannat' fajta nagymértékben homozigóta. 15 mikroszatellit lókuszban a fajta 53%-ban homozigóta mintázatot mutatott, míg a 'Pinot' fajta 6 %-ban, a 'Cabernet franc' és a 'Chardonnay' 20%-ban míg a 'Cabernet sauvignon' 33%-ban volt homozigóta ugyanezekben a lókuszokban.

Magyar kutatók 101, többségében autochton kárpát-medencei szőlőfajtát vizsgáltak 6 mikroszatellit lókusz felhasználásával. Megállapították, hogy a vizsgált 101 fajta közül 91 egyedi mikroszatellit profillal rendelkezik. Hasonlóan CIPRIANI és munkatársai (1994) eredményeihez, a fajták azonosítása csak azoknál a fajtáknál volt eredménytelen, ahol az eltérés a bogyó színében volt (Góhérok, Lisztesek és Bakatorok). Ezeknél a fajtáknál további vizsgálatokat végeztek a VrZag62 és a VVMD5 primerpárok felhasználásával, de az említett fajtákat így sem tudták elkülöníteni egymástól (HALÁSZ et al., 2005).

HVARLEVA és munkatársai (2005) 12 ciprusi *Vitis vinifera* L. fajtát vizsgáltak 11 mikroszatellit marker segítségével. A vizsgált fajták mindegyike egyedi SSR profillal rendelkezett, tehát a fajtákat egymástól el tudták különíteni. Három szinonim névhasználatot igazoltak, vizsgálataik szerint a ciprusi 'Malaga' és a 'Muscat of Alexandria'; a ciprusi 'Lefkas' és a görög 'Verdzami' valamint a ciprusi 'Moscato', a bolgár 'Tamayanka' és az olasz 'Moscato Bianco' ugyanazon fajták szinonim nevei.

A 'Blauer Wildbacher' nevű szőlőfajta néhány típusát vizsgálták RENNER és munkatársai (2005) ampelográfiai, RAPD, mikroszatellit módszerrel, valamint vizsgálták az adott típusok borának aroma-összetételét, antocián tartalmát és organoleptikus értékét. A vizsgált 6 SSR lókuszban a fajta típusai csak kis mértékű eltérést mutattak annak ellenére, hogy a morfológiai leírás és a borok kémiai összetétele tekintetében határozott különbségeket tudtak tenni azok között.

Kilenc, északnyugat- Spanyolországból származó szőlőfajtát vizsgáltak mikroszatellit módszerrel és ampelográfiai leírók segítségével spanyol kutatók (SANTIAGO et al., 2005). A vizsgált fajták közül 8 mint a 'Caño' fajta egy-egy típusa ismert, a kilencedik pedig a 'Tinta Femina' nevű fajta volt. A vizsgált fajtáknál vizsgálták a középső levelek morfológiai

tulajdonságait, és hat mikroszatellit marker segítségével is jellemezték a fajtákat. A vizsgált 6 SSR lókuszban összesen 33 allélt detektáltak. A vizsgált fajták a két módszerrel elkülöníthetők voltak egymástól.

Öt, korábban különbözőnek hitt régi szőlőfajtát, a 'Malvasia delle Lipari'-t, a 'Malvasia di Sardegna'-t, a 'Greco di Gerace'-t (Olaszország), a 'Malvasia de Stiges'-t (Spanyolország) és a 'Malvasia dubrovančka' (Horvátország) vizsgáltak 15 SSR marker segítségével CRESPIAN és munkatársai (2006). A vizsgált fajták mindegyike azonos genotípust mutatott, és a morfológiai bélyegeik (35 ampelográfiai és 25 ampelometriai leíró) szintén azonosak voltak. Vizsgálták a genotípus eredetét, megállapításuk szerint az a feltételezés, hogy a fajta görög eredetű, nem igazolható. Összehasonlították öt ország (Görögország, Horvátország, Olaszország, Spanyolország és Portugália) szőlőfajtáink allélgyakoriságát a vizsgált „Malvasia” genotípussal, de egyik országot sem tudták származási országgént megjelölni.

Tizenhárom 'Pinot noir' klón elkülönítésére használták REGNER és munkatársai (2006) a VRG (*Vitis Riparia* Götzhof) mikroszatellit markereket. Munkájukban a sorozat 19 markerét tesztelték Olasz rizling x Syrius keresztezés 69 utódjában. A genotipizálásra való alkalmasság megállapítására 45 hagyományos fajtát is vizsgáltak. A Pinot noir fajtán belüli variabilitás felmérésére 35, fajtaazonosításra széleskörűen használt VVS, VVMD és VRZAG mikroszatellit markereket is bevontak a vizsgálatba. A VRG markerek vizsgálata során 8 markernél mendeli hasadást tapasztaltak. A VRG 5, 6, 11, 12, 13 és 17 marker többallélos profilt mutatott. A hagyományos fajtákat vizsgálva megállapították, hogy szőlő fajtaazonosításra a VRG 9-es SSR marker használható a legjobban. A Pinot noir fajta klónjainak vizsgálata során megállapították, hogy a 35, fajtaazonosításra általában megfelelő marker fajtán belüli variabilitás felmérésére alkalmatlan, a vizsgált 13 klón mindegyike ugyanazt a mikroszatellit profilt mutatta. A VRG markerek közül 11 segítségével (VRG 1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 11, 13, 15, 16) a vizsgált 13 klont el lehet egymástól különíteni.

1992-ben francia kutatók (BOURQUIN et al., 1992) 16 alanyfajta RFLP vizsgálatát végezték el a Hinf I. nevű restrikciós enzim segítségével. Az SO4 alanyfajta 5, a 41B Mgt fajta 3 klónját nem tudták egymástól elkülöníteni, de a vizsgált 16 alanyfajta elkülönítése sikeres volt. Cikkükben közölnek egy gyors és egyszerű DNS kivonási módszert, melynek segítségével a fás részekből is ki tudtak vonni DNS-t. A levélből, illetve az általuk leírt módszerrel a hancsból kivont DNS-t vizsgálataikban összehasonlították, és megállapították, hogy a kapott mintázatok között nincs különbség.

GUERRA és MEREDITH (1995) RFLP technikát alkalmazott kilenc *Vitis Berlandieri* x *Vitis riparia* alanyfajta összehasonlítására. Az alkalmazott 6 DNS próbából három

kombinációjával a vizsgált fajták közül hetet azonosítani tudtak. A vizsgált fajták között szerepeltek Teleki magoncaiból származó alanyfajták is (SO4, 5C, 5BB, 125AA, Cosmo2, Cosmo10), melyek nagymértékben hasonlítottak egymáshoz ($D=0,85$), közülük kettőt az 5A-t és az 5BB-t nem sikerült egymástól elkülöníteni.

Szőlő alanyfajták (5C, 125AA, 5BB, SO4, BÖRNER) polimorf RAPD-PCR amplifikációs termékeit vizsgálták BAUER és ZYPRIAN (1997). Fajtaspecifikus RAPD markereket klónoztak, és részben szekvenálták azokat. A kapott információk alapján hosszabb, szekvencia-specifikus primerpárokat terveztek, és vizsgálták azokat PCR reakciókban. A Börner fajtára specifikus Börner-1 jelű primerpár segítségével reprodukálható és specifikus 589 bp hosszúságú fragmenset kaptak. Az 5c-1 jelű, az 5C fajta szekvenciájára specifikusan tervezett primerpár segítségével komplex, polimorf mintázatot kaptak a vizsgált 5 fajta esetében. Míg 67 °C-os annealing hőmérséklet esetén az 5C-1 primerpár segítségével a Börner és 125 AA fajtáknál egy 55 bp hosszúságú amplifikációs terméket detektáltak, addig 72 °C-on a Börner, SO4, 5BB és 125 AA fajtáknál egy 584 bp hosszú terméket tudtak kimutatni. A Börner-1 jelű primerpár fajtaspecifitását azzal magyarázták, hogy az adott szekvenciák valószínűleg a *Vitis cinerea* fajból származnak, ugyanis ez a faj a vizsgált fajták közül csak a Börnernek szülője, a másik négynek nem.

A Sangiovese nevű fajta 12 klónját vizsgálták VIGNANI és munkatársai (1996) 7 mikroszatelit lokusz felhasználásával. Vizsgálataik szerint a SG 8T jelű klón eltér a fajta többi klónjától. Szélesebb körű vizsgálatok elvégzését szorgalmazták annak eldöntésére, hogy az említett klón tekinthető-e a Sangiovese fajta klónjának, egyben szőlő esetében a fajta és klón definíciója pontosításának szükségességét is felvetik.

Genetikai markereket (RAPD, SSR, ISSR) használtak REGNER és munkatársai (2000) tíz 'Rajnai rizling' klón azonosítására. A szerzők javaslata szerint a klónok azonosítására bár a RAPD markerek is megfelelőek lehetnek, instabilitásuk miatt azonban használatuk nem megbízható, ezért az SSR és ISSR markerek használatát szorgalmazták. Kiemelik, hogy az adott markerek felhasználása a klónanyagok azonosítására a gyakorlatban is könnyen alkalmazható módszer.

REGNER és KASERER (2002) 12 Tramini klónt vizsgált RAPD és SSR módszerrel. A klónok egy része Stájerországból, Alsó-Ausztriából, a többi Elzászból és Rajna vidékéről, Pfalzból származott. A klónokból kivont DNS-t 45 SSR marker és 180 RAPD primer felhasználásával vizsgálták. A szupervariabilis SSR régiók felhasználásával a vizsgált klónok mindegyikét el tudták különíteni. Klaszteranalízist végeztek és dendrogrammot szerkesztettek a kapott adatok felhasználásával, amiből kitűnik, hogy a kapott eredmények alapján különbséget tudtak tenni a vizsgált klónok között, A fajták a földrajzi eredet alapján viszont nem váltak el élesen egymástól.

Tizenhárom 'Pinot noir' klón elkülönítésére használták REGNER és munkatársai (2006) a VRG (*Vitis Riparia* Götzhof) mikroszatellit markereket. Munkájukban a sorozat 19 markerét tesztelték Olasz rizling x Syrius keresztezés 69 utódjában. A genotipizálásra való alkalmasság megállapítására 45 hagyományos fajtát is vizsgáltak. A Pinot noir fajtán belüli variabilitás felmérésére 35, fajtaazonosításra széleskörűen használt VVS, VVMD és VRZAG mikroszatellit markereket is bevontak a vizsgálatba. A VRG markerek vizsgálata során 8 markernél mendeli hasadást tapasztaltak. A VRG 5, 6, 11, 12, 13 és 17 marker többallélos profilt mutatott. A hagyományos fajtákat vizsgálva megállapították, hogy szőlő fajtaazonosításra a VRG 9-es SSR marker használható a legjobban. A Pinot noir fajta klónjainak vizsgálata során megállapították, hogy a 35, fajtaazonosításra általában megfelelő marker fajtán belüli variabilitás felmérésére alkalmatlan, a vizsgált 13 klón mindegyike ugyanazt a mikroszatellit profilt mutatta. A VRG markerek közül 11 segítségével (VRG 1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 11, 13, 15, 16) a vizsgált 13 klónt el lehet egymástól különíteni.

Szintén SSR markereket alkalmaztak WARREN és ALPHA (1998) a Cornell Egyetem (USA, New York, Geneva) és a davis-i Egyetem (USA, Kalifornia) szőlő fajtagyűjteményeinek kezelésére. A két gyűjtemény összesen mintegy 3600 tételt, több mint 35 fajt foglal magába. A szerzők 110 tételt, 25 taxonból (21 *Vitis* faj és 4 hibrid) jellemeztek 5 mikroszatellit lókuszt segítségével. A lókusztok nagyon változatosak voltak, lókuszonként 16 - 38 allélt találtak. A mikroszatellit markereket a nagy változatosságuk, kodomináns jellegük és konzervatizmusuk miatt a szerzők javasolják nemcsak szőlő génforrások jellemzésére, hanem más vegetatíván szaporított fajok gyűjteményeinek genotipizálására is.

A DNS markerek sikerrel felhasználhatók a szinoním, illetve homoním névhasználat (azonos néven szereplő különböző fajták) meghatározására, tisztázására is.

Harminckilenc szőlő tételt vizsgáltak spanyol kutatók RAPD és mikroszatellit analízissel (ULANOWSKY et al., 2001). 40 RAPD markert és 4 SSR lókuszt vizsgáltak, melyek segítségével azonosítani tudták a 39 fajtát. Néhány szinonim és homonim névhasználatot megerősítettek, így például a 'Maturana' és 'Ribadavia' fajták azonosságát igazolták.

Spanyol kutatók (ULANOWSKY et al., 2002) szőlőfajták jellemzésére, valamint szinonimák és homonimák kimutatására használták a RAPD és az SSR módszert. Szintén feltételezett szinonim névhasználat ellenőrzésére használták SCHNEIDER és munkatársai (2001) a RAPD és a mikroszatellit módszereket.

Harmincegy szőlőfajtát jellemeztek MORENO és munkatársai (1995) 14, tíz nukleotidból álló RAPD primer segítségével. A 14 marker közül öt bizonyult polimorfnak. Több szinonim névhasználatot megerősítettek, így az 'Arién' és a 'Manchega'; a 'Garnacha

negra' és a 'Garnacha'; a 'Garnacha tintorera' és a 'Negral' valamint a 'Tinto fino', a 'Cencibel' és a 'Tempranillo' fajták azonosságát igazolták.

Mivel a szőlőt vegetatíven szaporítják, a fajták genotípusai időben meglehetősen állandónak tekinthetők, nem változnak meg, sokszor évszázadokig sem. Tehát tekinthetjük úgy a fajtákat, hogy azok életüket magoncként kezdték. Az eredeti magonc szülői meghatározhatók annak alapján, hogy az utód genotípusába, mindegyik mikroszatellit lókuszban, mindketten egy allélt adnak.

Ennek alapján erősítették meg néhány fajta pedigréjét először THOMAS és munkatársai, 1994-ben. Néhány évvel később egészen váratlan genetikai rokonságot tártak fel DNS markerek segítségével. Megállapították, hogy a 'Cabernet sauvignon' vörösbor szőlőfajta, másik két jól ismert szőlőfajta, a 'Cabernet franc' és a 'Sauvignon blanc' utódja (BOWERS és MEREDITH, 1997). Más fajták szülőfajtaikat is megtalálni vélik, így pl. a Rizligniszilváni (Muller-Thurgau) és egyéb fajták szüleit (SCEF et al., 1997; LOPES et al., 1999; DETTWEILER et al., 2000).

BOWERS és munkatársai 1999-ben meglepő eredményre jutottak. Több mint 300 fajtát vizsgáltak 32 mikroszatellit marker felhasználásával, és 16 francia eredetű, ismert szőlőfajtról (pl.: Chardonnay', 'Gamay noir', 'Aligoté', 'Melon' stb.) bebizonyították, hogy mindegyik egy szülőpár, a középkorban Franciaországban nagy területen termesztett 'Pinot' és a 'Gouais' kereszteződéséből jöttek létre. Feltevésüket statisztikai elemzésekkel is alátámasztották.

Ötvenkét szőlőfajtát vizsgáltak 32 mikroszatellit marker felhasználásával SEFC és munkatársai (1998). A vizsgált fajtákat a használt SSR markerek segítségével el tudták egymástól különíteni. Kilenc európai szőlőfajta származási viszonyait tisztázták. Vizsgálataik alapján arra a megállapításra jutottak, hogy az 'Österreichischer weiß' nevű szőlőfajta az öse több Ausztriában termesztett fajtának köztük a 'Tramini'-nek és a 'Zöld szilváni'-nak is.

MALETIC és munkatársai (2004) tizenhat mikroszatellit marker segítségével találták meg a 'Plavac mali' nevű horvát fajta szüleit. Vizsgálataik szerint az említett fajta szülei a Kaliforniában termesztett 'Zinfandel', ami azonos az olasz 'Primitivo' fajtával, illetve a 'Dobričić' nevű horvát fajta. Az említett kapcsolatot morfológiai bélyegek alapján is valószínűsítik.

A 'Gouais blanc' nevű fajtának az európai szőlőfajták létrehozásában betöltött szerepéről írtak cikket BOURSIQUOT és munkatársai (2004). Munkájukban 14 mikroszatellit marker segítségével vizsgálták a Gouais fajtát és több európai szőlőfajtát. 78 különböző fajtánál azt tapasztalták, hogy a vizsgált 14 mikroszatellit lókusz mindegyikében legalább az egyik alléljuk megegyezik a Gouais megfelelő alléljával, ami azt jelenti, hogy az említett

fajták valószínűleg szülő-utód viszonyban állnak egymással. A 78 fajta közül 22 fajta (köztük a 'Chardonnay' is) a Pinot fajtákkal is osztozik egy allélon, így ezek a fajták nagy valószínűség szerint az említett két fajta utódjai. A 78 fajta között szerepelnek közép-európai fajták is (pl.: 'Rajnai rizling', 'Furmint').

A 'Primitivo', 'Zinfandel' és 'Crljenak kastelanski' fajtákat vizsgálták olasz kutatók (FANIZZA et al., 2005) AFLP markerekkel. Az 50 használt primer-kombináció összesen 2 928 értékelhető AFLP markert adott, amelyek közül csupán 9 volt polimorf. A vizsgált 'Primitivo' klónok többsége azonos AFLP profilt mutatott, amely a másik két vizsgált fajta profiljával szintén megegyezett. A szerzők értékelése szerint eredményeik megerősítik azt a korábban már ismert tényt, hogy a három fajta azonos, de a genotípus horvát eredetét azonban vitatják, kiemelve, hogy mindeközéig a fajtát nem hasonlították össze más Apuliában (Olaszország) termesztett fajtával, így annak olasz eredetét sem lehet kizárni.

Az említett felhasználási területeken kívül ADAM-BLONDON és munkatársai (2001) SCAR markerek markerrel végzett szelekcióra (MAS) való alkalmasságát vizsgálták magnélküli szőlőfajtáknál. Vizsgálataik szerint az SCP 18 és a SSC8 jelű markerek alkalmasak a magnélküliség kimutatására magnélküli x magnélküli kombinációk utódnemzedékében.

Egy, illetve két fajtából készített must keverékben és borból próbálták a szőlőfajta DNS-ét kimutatni portugál kutatók (BALEIRAS-COUNTO és ERIAS-DIAS, 2006). Öt különböző fajtát használtak vizsgálataikban ('Touriga Franca', 'Fernão Pires', 'Tinta Barroca', 'Tinto Cão' és 'Marselan'). Kidolgoztak egy olyan DNS kivonási technikát melynek segítségével a mustból és a borból is eredményesen kivonható a szőlőfajta DNS-e. Kloroplasztisz és magi mikroszatellit markereket használtak a fajták azonosítására. Automata szekvenáló készülékkel végzett vizsgálataik szerint a két fajta keverékét tartalmazó borból illetve mustból kivont DNS amplifikációs termékeinek mennyisége, és a kapott jel erőssége között összefüggés van.

ADAM-BLONDON és munkatársai (2004) 254 mikroszatellit marker helyét határozták meg a *Vitis vinifera* genomban. Négy térképet hoztak létre, 3 hasadó nemzedék felhasználásával. Eredményeik alapján a *Vitis vinifera* genomjának hossza 2 200 cM-re becsülhető. Eredményeik jól használhatók a szőlő génjeinek részletes térképezésénél, és ezen keresztül felhasználhatók lehetnek markerrel végzett szelekcióhoz.

A DNS markerek széleskörű felhasználhatóságát a szőlő genetikai kutatásokban az utóbbi 10-15 évben megjelent igen nagy számú irodalom bizonyítja, mint azt az irodalmi áttekintés jelen részében megpróbáltam érzékeltetni, bemutatni. A felhasználásban a kezdeti próbálkozások után határozott kutatási irányvonalak rajzolódtak ki, melyek közül dolgozatom témájához elsősorban a fajtaazonosítás, színiním névhasználat vizsgálata, és a szőlő fajok és fajták közti rokonsági viszonyok tisztázása állnak a legközelebb.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A vizsgálatok anyaga

4.1.1. A vizsgálatok során használt növényanyag eredete

A vizsgálatokhoz a növényanyagot az FVM Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete, Badacsony és az FVM Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete, Pécs fajtagyűjteményéből szedtem 2002-2004. évek folyamán. Mivel a vizsgált fajták egy része mindkét helyen megtalálható, ezért ezeknél a fajtáknál két helyről is gyűjtöttem mintákat. Ez lehetőséget adott arra, hogy megállapítsam, függ-e az adott markernél az eredmény a környezeti hatásoktól, illetve milyen mértékű a környezet hatása az adott fajta esetében.

Izoenzim vizsgálataim során a vessző hancs szöveteit használtam, ebből vontam ki az aktív enzimeket. Mikroszatellit vizsgálatokhoz fiatal levélből illetve hancsból vontam ki a DNS-t.

4.1.2. A vizsgált fajták csoportosítása, jellemzése

Mivel az általam vizsgált fajták mindegyike a *Vitis vinifera* L. fajhoz tartozik, azokat NÉMETH (1967) rendszere szerint csoportosítottam (**1. táblázat**).

4.2. Izenzim vizsgálatok módszere

4.2.1. Mintavétel, az enzimek izolálása

A vizsgált fajtákból télen, nyugalmi állapotban, 2003. decemberében, 2004. januárban és márciusban, valamint 2005. márciusában vettem mintát. A mintavétel a kora reggeli órákban történt, az egyéves vessző középső részének 2-3 rügyes darabjait gyűjtöttem be. A pécsi mintákat polietilén tasakban szállítottam, és a mintavételt követő egy héten belül feldolgoztam. A mintákat feldolgozásig hűtőszekrényben + 4 °C-on tároltam.

Izoenzim vizsgálataimhoz a nyugalmi periódus alatt, az egyéves vessző hancs szövetét használtam.

1. táblázat: A vizsgált fajták csoportosítása

<i>Vitis vinifera</i> L. alapfajták		
convarietas pontica	convarietas occidentalis	convarietas orientalis
Arany sárfehér	Bouvier	Chasselas (fehér)
Bakator (tüdőszínű)	Cabernet franc	Juhfark
Budai	Cabernet sauvignon	Kékfrankos
Csomorika	Chardonnay	Kékoportó
Ezerjő	Cirfandli	Kékmedoc
Furmint	Olasz rizling	Leányka
Góhér (fehér)	Pinot blanc	
Hárslevelű	Pinot noir	
Kadarka	Piros tramini	
Kéknyelű	Rajnai rizling	
Királyleányka	Sauvignon	
Kövérzöld	Semillon	
Kövidinka	Szürkebarát	
Picolit	Zöld veltelini	
Pintes	Zöld szilváni	
Pozsonyi fehér		
Sárga muskotály		
Intraspecifikus fajták		
Fajta neve	Származás	Morfológiai bélyegei alapján melyik convarietashoz áll a legközelebb*
Badacsonyi 15.	Ezerjő x Bouvier	<i>pontica-occidentalis</i>
Badacsonyi 43.	Bouvier x Furmint	<i>pontica-occidentalis</i>
Rózsakő	Kéknyelű x Budai	<i>pontica</i>
Vulcanus	Szürkebarát x Budai	<i>pontica-occidentalis</i>
Zefir	Hárslevelű x Leányka	<i>pontica</i>
Zengő	Ezerjő x Bouvier	<i>pontica-occidentalis</i>
Zenit	Ezerjő x Bouvier	<i>pontica</i>
Zéta (Oremus)	Bouvier x Furmint	<i>pontica</i>
Zeus	Ezerjő x Bouvier	<i>pontica</i>

*a fajták besorolása TÓTH és PERNESZ (2002) alapján történt

Az izolálás során az enzimek nagyfokú hőérzékenysége miatt legfeljebb + 4 °C-os lehet a hőmérséklet. Ezt úgy értem el, hogy jéggel hűtöttem a használt dörzsmozsarakat, és a kész mintákat is. A dörzsmozsarakba 1500 mg élő háncs szövetet mértem be, majd 750 mg Polyclar AT-t, és 5,0 ml izoláló oldatot (ARULSEKAR és PARFITT; 1986 alapján) adtam hozzá. A keletkezett pépet eppendorf csövekbe helyeztem, és hűtött centrifugában, 14000/perc fordulatszámon tíz percig centrifugáltam. A centrifugálás után a felülúszót 200 µl –enként eppendorf csövekbe mértem. A kész izolátumokat a vizsgálatokig – 75 °C-on tároltam.

4.2.2. Az izoenzimek elkülönítése gélelektroforézissel

A szőlő oldható izoenzimjeinek elkülönítésére vertikális natív gél-elektroforézist használtam. A vizsgált fajták oldott izoenzimjeinek elkülönítésére 3 részből álló gél-rendszert alkalmaztam. A tömörítő és a két elválasztó gélrész tulajdonságait és összetételét a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: Natív gélelektroforézis esetén az elválasztáshoz használt gél tulajdonságai

	gélpuffer összetétele	gél pH-ja	a gél koncentrációja (akrilamidra vonatkoztatva)	hossza
Tömörítő gél	Trisz-HCl	8,0	4%	25 mm
Elválasztó I. gél	Trisz-HCl	8,8	6%	20 mm
Elválasztó II. gél	Trisz-HCl	8,8	10%	100 mm

A felvitel előtt a mintákhoz 10%-os mennyiségben brómfenol-kék festéket adtam. Ez megkönnyítette a minták felvitelét a gélre, és a futtatás közben jelezte az ionfront helyzetét. A futtatás hűtött körülmények között, +4 °C-on, és gélenként 25 mA állandó áramerősségen történt. Az elektroforézist addig végeztem, amíg az ionfront el nem érte a gél alsó végét. Ez általában 4-5 órát vett igénybe.

4.2.3. Festési módszerek

A gélelektroforézis után a gélben található enzimeket láthatóvá kell tenni. Ez a gélek festésével történik. A festési módszer alapja, hogy az aktív enzim megfelelő pH, hőmérséklet stb. esetén a szubsztrátját terméké alakítja át. Az alkalmazott festékoldatokat az alábbi irodalmak alapján állítottam össze (**3. táblázat**):

3. táblázat: Az alkalmazott festékoldatok összeállításánál felhasznált irodalmak

Enzim	Irodalom
Észteráz	SCANDALIOS (1969)
Glutaminsav-oxálecetsav-transzamináz	CONKLE et al. (1982)
Peroxidáz	VAN DER BERG és WIJSAM (1981)
Leucin-aminopeptidáz	CONKLE et al. (1982):
Savas foszfatáz	SIRÁLY (1994):
Cathecol-oxidáz	SÁNCHEZ-YÉLAMO (1992):

4.3. A mikroszatellit vizsgálatok módszere

4.3.1. A DNS kivonás módszere mikroszatellit vizsgálatokhoz

Mikroszatellit vizsgálatokhoz DNS-t izoláltam fiatal levelekből illetve hancsszövetből. A kivonáshoz a Quiagen cég Plant Mini Kit izoláló kit-jét használtam, a gyártó leírása szerint.

4.3.2. A reakcióelegy összetétele

A PCR reakciókhoz a következő reakcióelegy bizonyult megfelelőnek:

- 10,0 µl templát DNS
- 1,0 µl 10x forward primer
- 1,0 µl 10x reverse primer
- 25,0 µl Quiagen Master Mix (tartalmazza a Taq polimeráz enzimet)
- 13,0 µl Milli Q H₂O

A templát DNS esetén a koncentrációkat 10 ng/µl -re állítottam be oly módon, hogy a kivont DNS mennyiségének meghatározását Labo-Med, Inc. gyártmányú Spectro UV-VIS Auto típusú spectrophotometer segítségével az alábbiak szerint végeztem:

A küvétába bemértem 6 µl-t a DNS mintából, és 3000 µl Milli Q vizet. Ezután a 260 nm-en mért értéket megszoroztam 25-tel, ez adta a minta DNS koncentrációját µg/µl-ben. Ezt követően a mintákat Milli Q vízzel hígítottam oly módon, hogy a DNS koncentrációja a hígított oldatban 10 ng/µl legyen.

4.3.3. A PCR reakció menete

Vizsgálataink során PTC-100 (MJ Research) típusú PCR készüléket használtunk. A mikroszatellit fragmensek felszaporításához használt polimeráz láncreakció (PCR) körülményeit, valamint a használt primerek szekvenciáját a **4. táblázat** tartalmazza. A VMC4H6-os primer esetén a PCR reakció körülményeit nem sikerült optimalizálni, ezért a táblázat ezt a primert nem tartalmazza.

A PCR reakcióval kapott fragmensek hosszát Applied Biosystem 3100 típusú félautomata szekvenáló készülékkel határoztam meg. A szekvenáló készülék fluoreszcensen jelölt primereket ismer fel, és a jel alapján, egy számítógépes kiértékelő program segítségével a fragmenshosszokat 1 bázispár pontossággal lehet meghatározni. A nemzetközi szakirodalommal való összehasonlíthatóságot az szavatolta, hogy a vizsgált fajták között szerepelt több olyan fajta is, melyet külföldön is vizsgáltak (Pinot fajták, Chardonnay, Cabernet sauvignon, Furmint stb.).

4. táblázat: Az alkalmazott primerpárok és PCR program

sor-szám	Primerpár neve		szekvencia	PCR reakció
1.	VVS16	for	5'-TCA AAC TAT TAT TCA AAC CAA AGT AC-3'	45 perc 95 °C-on 1 perc 94 °C-on 1 perc 50 °C-on 1perc 73 °C-on 7 perc 73 °C-on 35x
		rev	5'-TCG ATT TCA ACA AAT TTA GAA ATA-3'	
2.	VVMD7	for	5'-AGA GTT GCG GAG AAC AGG AT-3'	
		rev	5'-CGA ACC TTC ACA CGC TTG AT-3'	
3.	VMC4G6	for	5'-CCT TGA AGA GAT GAG TTT GCT A-3'	
		rev	5'-TAT TTA ACT TTG TGC CTC TGC T-3'	
4.	VMC4A1	for	5'-ATG CGA CCT TAA TAA ATT GGG AA-3'	45 perc 95 °C-on 1 perc 94 °C-on 1 perc 60 °C-on 1perc 73 °C-on 7 perc 73 °C-on 35x
		rev	5'-AAG CTA GGC TTG TAT GAG GGA GA-3'	
5.	VrZag79	for	5'-AGA TTG TGG AGG AGG GAA CAA ACC G-3'	
		rev	3'-TGC CCC CAT TTT CAA ACT CCC TTC C-5'	
6.	VVS2	for	5'-CAG CCC GTA AAT GTA TCC ATC-3'	
		rev	5'-AAA TTC AAA ATT CTA ATT CAA CTG G-3'	

4.4. A kiértékelések során alkalmazott matematikai statisztikai módszerek

Az izoenzim és mikroszatellit vizsgálatok során az alábbi módszereket alkalmaztam:

- a) A fajták közti genetikai távolság becslésére az un. Jaccard indexet használtam.

$$J = \frac{a}{a + b + c}$$

ahol „a” jelenti a mindkét objektumban jelenlévő sávok számát

„b” azoknak a sávoknak a száma, amely az első objektumban jelen vannak, de a másodikból hiányoznak

„c” azoknak a sávoknak a száma, amely a második objektumban jelen vannak, de az elsőből hiányoznak (SCHRETTNÉ MAJOR in HAJÓSNÉ NOVÁK, 1999).

- b) A dendrogramm rajzolásánál a NJ (neighbour-joining) módszert alkalmaztam. A módszer lényege, hogy az adott elemeket (esetünkben fajtákat) oly módon csoportosítja, hogy egy adott fajtát (fajtákat) mindig azzal vonja össze, amely hozzá a legközelebb van.
- c) A fajták összehasonlítására, csoportosítására a diszkriminancia analízist használtam.
- d) Összefüggésvizsgálatot χ^2 próba segítségével végeztem (SVÁB, 1973).

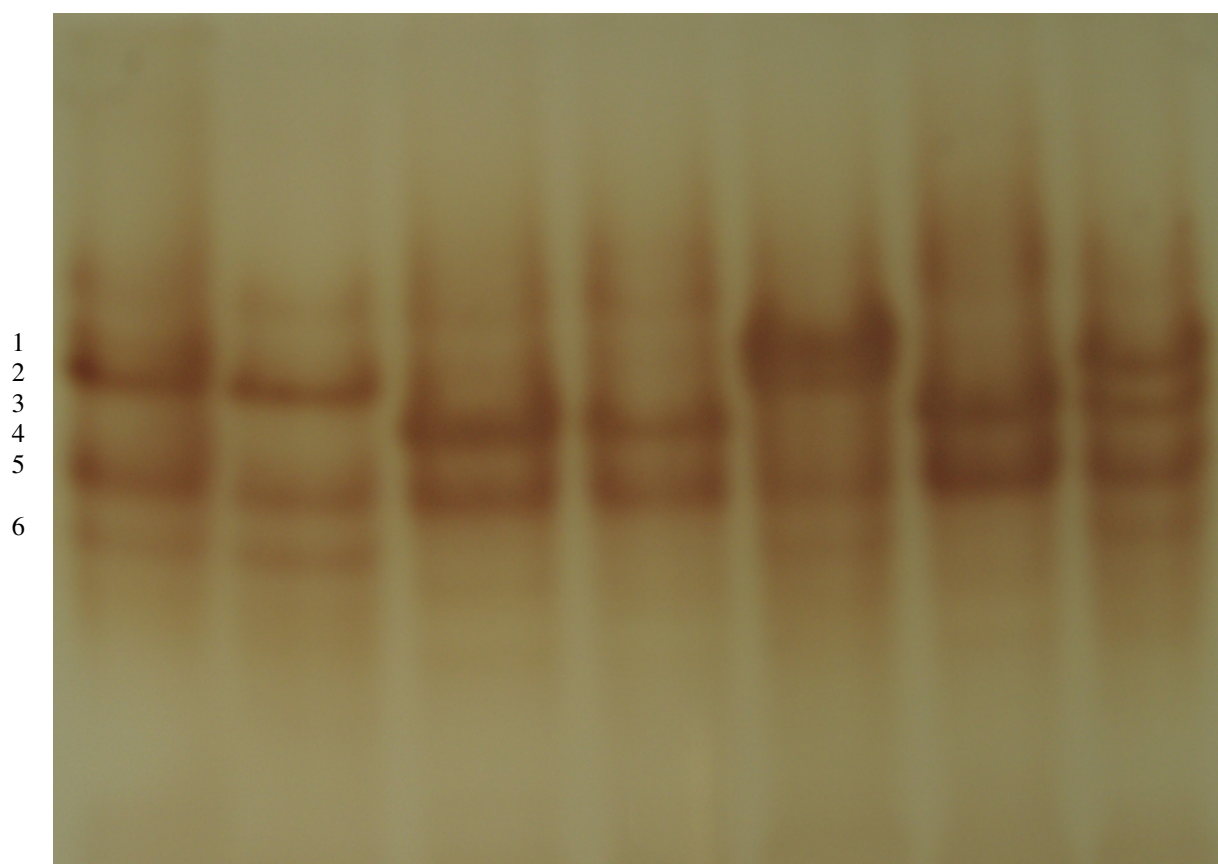
A számolásokat az SPSS 12.0 nevű statisztikai program, illetve az Excel (Microsoft Office 2003) program segítségével végeztem.

5. EREDMÉNYEK, ÉRTÉKELÉSÜK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

5.1. Az izoenzim vizsgálatok eredményei

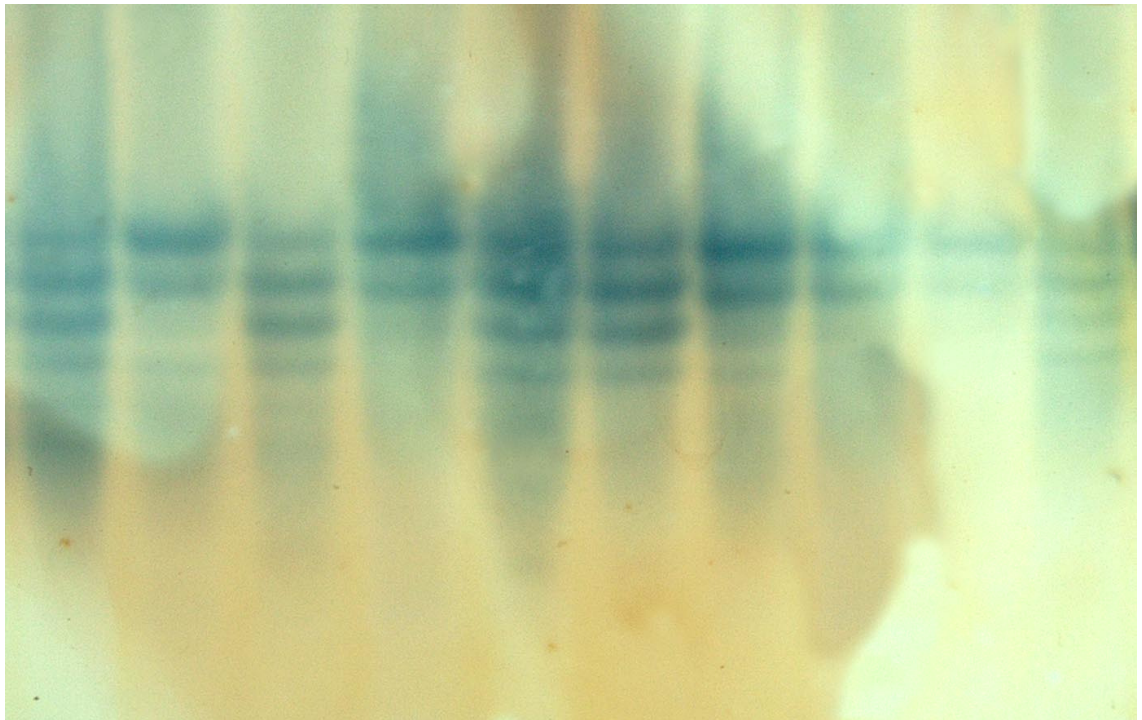
A vizsgált szőlőfajták esetében 8 enzim izoenzim-mintázatát vizsgáltam vertikális poliakrilamid gélelektroforézissel. Négy alkalommal (2003-2004-ben 3-3-szor, 2005-ben egyszer) gyűjtöttem mintákat (lásd Anyag és módszer fejezetet). Vizsgálataimat mintaszedési időszakonként 3 ismétlésben végeztem.

A catechol-oxidáz (**2. ábra**), glutaminsav-oxálecetsav transzamináz (**3. ábra**), a savas foszfatáz (**4. ábra**) és a peroxidáz enzimeknél kapott eredményeket a jobb érthetőség kedvéért táblázatos formában foglaltam össze (**5. táblázat**).



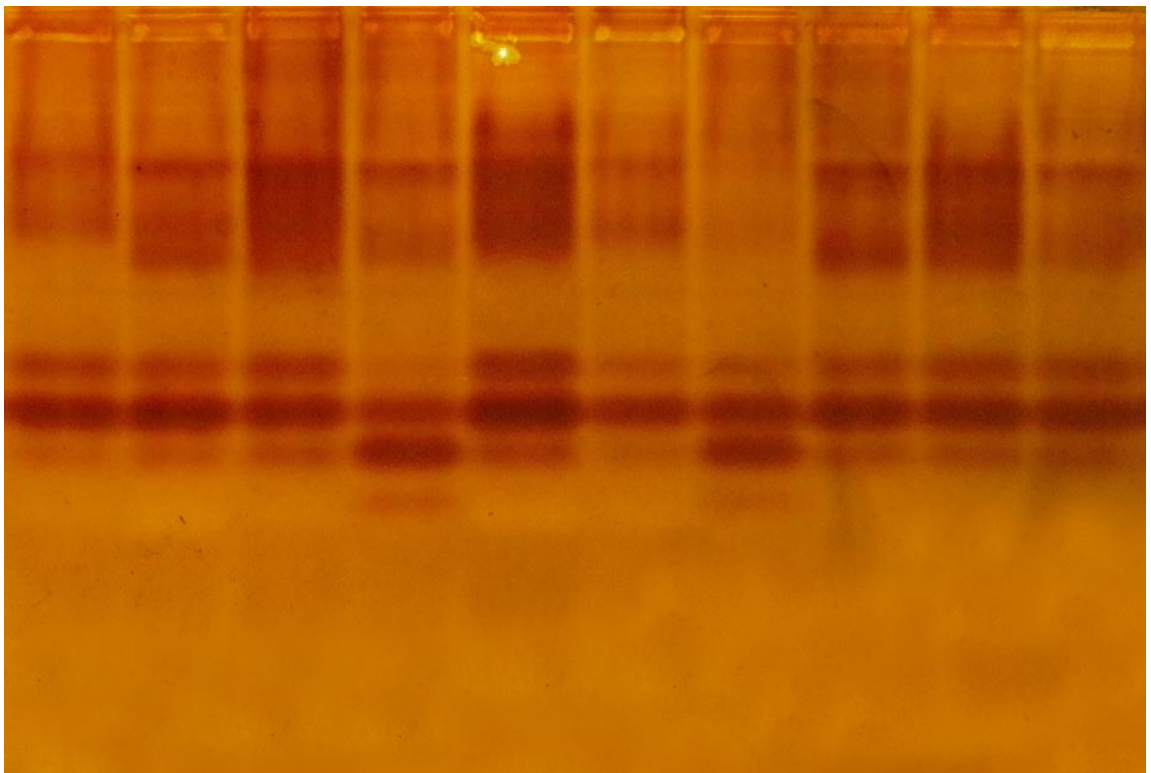
2. ábra: 7 *Vitis vinifera* L. fajta catechol-oxidáz (CO) izoenzim mintázata poliakrilamid gélen
(Fajták balról jobbra: Rajnai rizling Chardonnay, Badacsony-15, Rózsakő, Vulcanus,
Badacsony-43, Pinot noir)

1
2
3
4



3. ábra: 10 *Vitis vinifera* L. fajta glutaminsav-oxálecetsav transzamináz (GOT) izoenzim mintázata poliakrilamid gélen (Fajták balról jobbra: Ezerjó, Furmint, Hárslevelű, Leányka, Kövérszőlő, Kékfrankos, Picolit, Pozsonyi fehér, Rajnai rizling, Chardonnay)

1
2
3
4
5
6
7



4. ábra: 10 *Vitis vinifera* L. fajta savas foszfatáz izoenzim mintázata poliakrilamid gélen (fajták balról jobbra: Zöld veltelíni, Zöld szilváni, Bouvier, Zéta, Chasselas, Juhfark, Pintes, Leányka, Kékmedoc, Kékoportó)

5. táblázat: Natív gélelektroforézissel elválasztott izoenzim-mintázatok cathecol-oxidáz (CO), savas-foszfataáz (AcP), glutaminsav-oxálecetsav transzamináz (GOT) és peroxidáz (PER) enzimek esetében

Fajta	CO						GOT				AcP							PER					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6
Arany sárfehér	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
Badacsony-15	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1
Badacsony-43	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1
Bakator (tüdőszínű)	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bouvier	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Budai	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1
Cabernet franc	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Cabernet sauvignon	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Chardonnay	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
Chasselas	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
Cirfandli	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
Csomorika	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
Ezerjő	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
Fehér góhér	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
Furmint	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
Hárslevelű	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
Juhfark	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Kadarka	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
Kékfrankos	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
Kékmedoc	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Kéknyelű	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Kékoportó	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Királyleányka	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Kövérszőlő	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
Kövidinka	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
Leányka	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Olasz rizling	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1
Ottonel muskotály	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Picolit	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
Pinot blanc	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Pinot noir	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Pintes	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
Pozsonyi fehér	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
Rajnai rizling	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1
Rózsakő	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1
Sárga muskotály	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Sauvignon	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
Semillon	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
Szürkebarát	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Tramini	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
Vulcanus	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1
Zefir	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1
Zengő	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Zenit	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Zéta	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
Zeus	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
Zöld szilváni	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1
Zöld veltelíni	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1

(A sávok (bandek) számozása fentről lefelé történt, a sáv jelenlétét 1-el a hiányát pedig 0-val jelöltem.)

Az észteráz enzim esetében a kapott mintázat annyira komplex volt, hogy számítógépes program segítségével annak kiértékelése csaknem lehetetlen. A kapott izoenzim-mintázatokat nem, illetve csak részben tudtam reprodukálni. Mindezek alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a nehéz kiértékelhetőség, és a vizsgálatok megismételhetőségének bizonytalansága miatt az észteráz enzim vizsgálata során nyert adatokat nem használok fel a fajták közti genetikai távolság megállapításához.

A leucin aminopeptidáz (LAP) enzim esetében mindegyik vizsgált fajtánál azonos mintázatot kaptam, tehát ez esetben a fajták között nem tudtam különbséget találni.

A Glükóz-foszfát-izomeráz (GPI) és foszfoglükomutáz (PGM) enzimek esetén a gélrendszer módosításával sem sikerült értékelhető mintázatot kapni.

5.2. Az Izoenzim vizsgálatok eredményeinek értékelése, következtetések

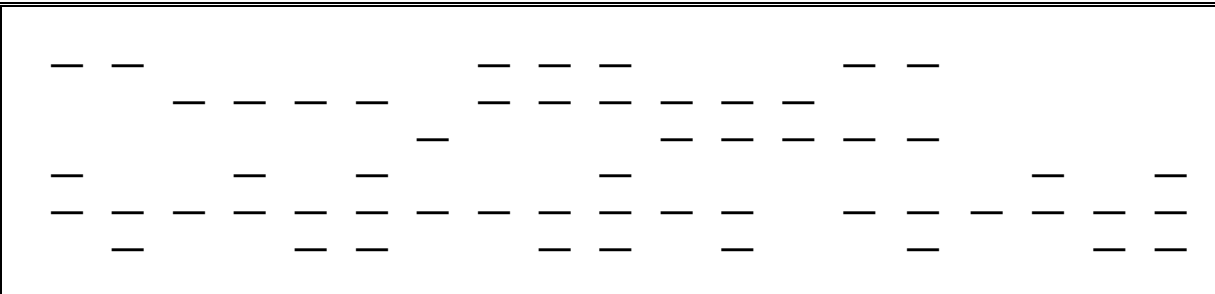
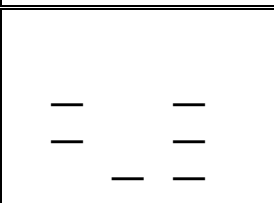
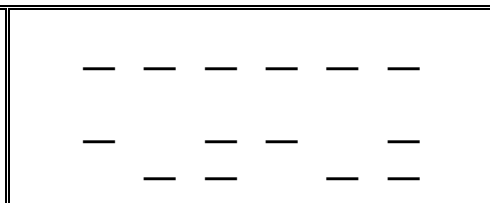
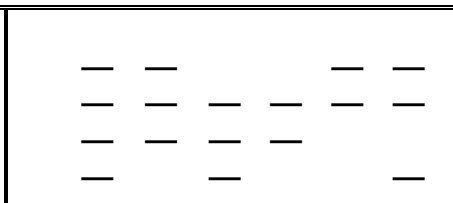
A kapott eredményeket összegezve megállapítható, hogy az irodalmi adatokkal összhangban (ROYO et al; 1997), a fajták izoenzim-mintázata a catechol-oxidáz (CO), savas foszfátáz (AcP), glutaminsav-oxálecetsav-transzamináz, peroxidáz (PER) és leucin-aminopeptidáz (LAP) enzimek esetében – amennyiben a mintavétel a nyugalmi időszakban történik – nem függ a mintavétel idejétől és helyétől.

Az általam vizsgált fajták közül ROYO és munkatársai (1997) két fajtát a Cabernet sauvignon -t és a Chardonnay -t vizsgálták, szintén poliakrilamid-gél elektroforézissel, hasonló gélrendszeren. Az említett cikkben közölt eredményeket összehasonlítva az említett két fajtára az általam kapott eredményekkel megállapítható, hogy mind a négy vizsgált enzim (AcP, CO, GOT, PER) esetén ugyanannyi sávból álló mintázatokat kaptam. Amennyiben a két vizsgált fajta közül az egyiket standardnak tekintjük, akkor a másik fajta mintázata megegyezik az általam kapott mintázattal mind a négy enzim esetén, ezért a kapott eredmények feltehetően azonosak.

A natív gélelektroforézissel kapott izoenzim mintázatok közül a catechol-oxidáz rendszer mutatott a legnagyobb mértékű polimorfizmust. A savas foszfátáz rendszer szintén igen változatosnak bizonyult, míg a peroxidáz és glutamát-oxálacetát transzamináz rendszereknél a kapott mintázatok polimorfizmusa kisebb mértékű volt.

A kapott enzim-mintázatok alapján jellemeztem és csoportosítottam a fajtákat. A mintázat-típusokat enzimenként a **6. táblázatban** foglaltam össze.

6. táblázat: A cathecol-oxidáz (CO) , a glutaminsav-oxálecetsav transzamináz (GOT), a savas foszfatáz (ACP) és a peroxidáz (PER) enzim izoenzim típusai

																		
CO																		
																		
GOT			AcP						PER									

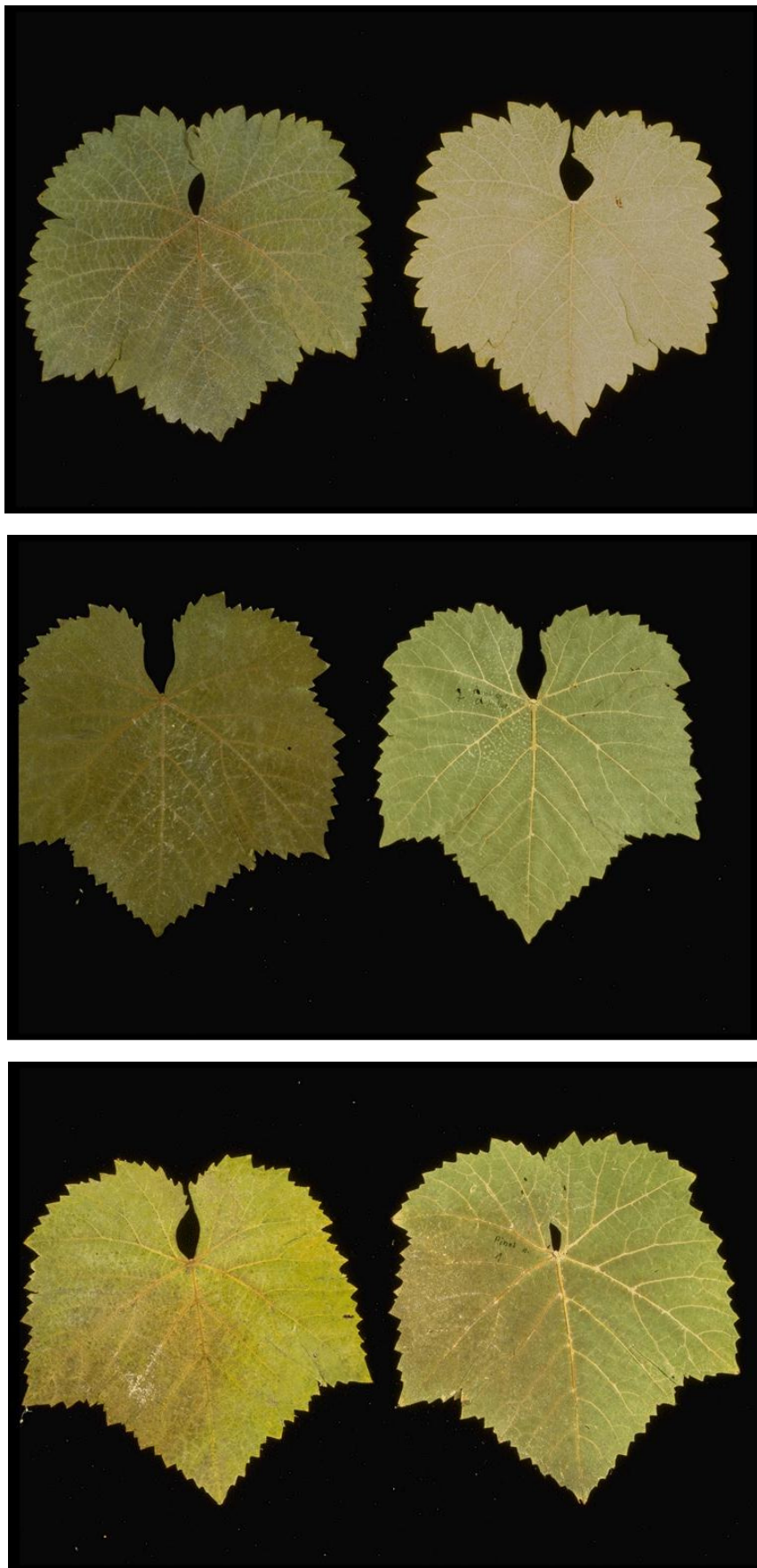
Az izoenzim-mintázat alapján megpróbáltam a fajtákat elkülöníteni. A 6. táblázatban alkalmazott jelöléseket követve sorba állítottam a fajtákat (**7. táblázat**).

A fajták többsége (37 fajta) ily módon azonosítható, a nem azonosítható fajtákat csoportosítottam izoenzimmintázat alapján. Egy csoportba kerültek a mind a 4 enzimre azonos mintázatot mutató fajták. Ezek a következők voltak:

- a 16-os csoport: Pinot blanc, Szürkebarát, Pinot noir, Juhfark (**5. ábra**)
- a 23-as csoport: Sauvignon blanc, Semillon (**6. ábra**)
- a 26-ös csoport: Cabernet franc, Cabernet sauvignon (**7. ábra**)

7. táblázat: A vizsgált fajták csoportosítása izoenzim-mintázataik alapján

Fajta	CO	GOT	ACP	PER	Típus száma
Leányka	A	A	B	D	1
Királyleányka	A	C	A	D	2
Pozsonyi fehér	B	A	F	D	3
Zefir	C	A	A	B	4
Tramini	D	A	A	C	5
Kékoportó	D	A	B	D	6
Fehér góhér	D	A	D	D	7
Arany sárfehér	D	C	F	D	8
Rajnai rizling	E	A	C	E	9
Zeus	E	A	C	D	10
Chardonnay	E	C	A	C	11
Zenit	E	C	A	D	12
Bouvier	F	A	A	D	13
Zöld szilváni	F	A	C	B	14
Cirfandli	F	A	F	B	15
Juhfark	F	C	A	D	16
Pinot blanc	F	C	A	D	16
Pinot noir	F	C	A	D	16
Szürkebarát	F	C	A	D	16
Zöld veltelíni	F	C	A	C	17
Chasselas (fehér)	F	C	C	C	18
Budai	G	A	C	B	19
Furmint	G	A	E	D	20
Kéknyelű	G	C	A	D	21
Ezerjő	H	C	B	C	22
Sauvignon	H	C	C	A	23
Semillon	H	C	C	A	23
Csomorika	H	C	D	B	24
Vulcanus	I	A	A	F	25
Cabernet franc	I	A	C	D	26
Cabernet sauvignon	I	A	C	D	26
Pintes	I	A	D	D	27
Bakator (tüdőszínű)	I	B	D	A	28
Zengő	J	C	C	D	29
Ottonel muskotály	K	A	A	D	30
Kövérszőlő	L	C	F	D	31
Kövidinka	M	C	D	C	32
Sárga muskotály	N	C	C	D	33
Kékfrankos	N	C	C	A	34
Picolit	O	A	E	E	35
Hárslevelű	O	C	D	D	36
Kadarka	O	C	F	D	37
Olasz rizling	Q	A	A	B	38
Rózsakő	Q	A	A	F	39
Badacsony-43	Q	C	A	B	40
Badacsony-15	Q	C	B	B	41
Kékmedoc	R	B	C	D	42
Zéta	S	A	E	D	43



Forrás: DETTWEILER et al.:The [Vitis International Variety Catalogue](#)

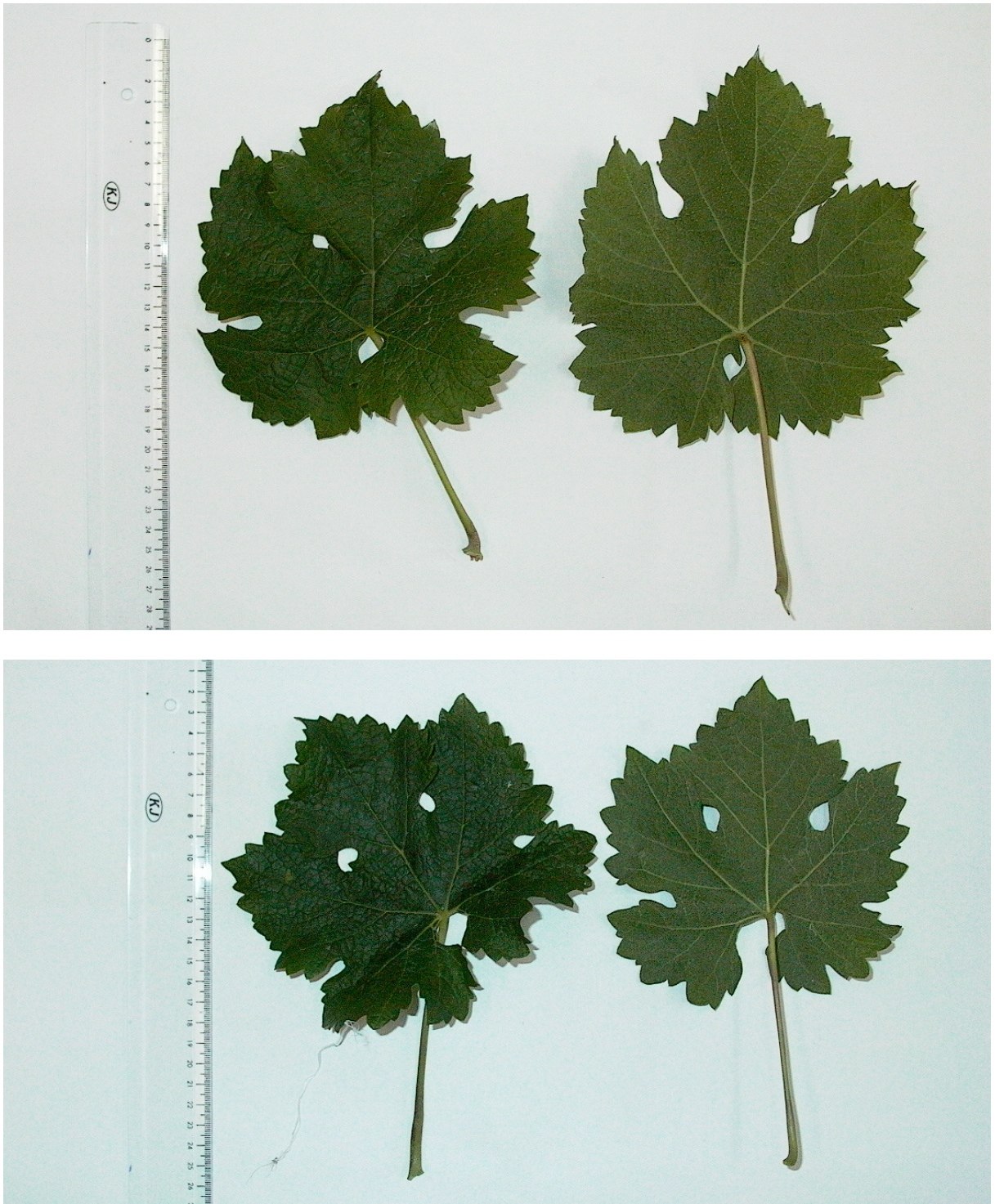
5. ábra: A 16-os csoport 3 fajtájának levele (fentről lefelé: Pinot blanc, Szürkebarát, Pinot noir)

Az eredményekből kitűnik, hogy a fajták többsége (40 a 48-ból) elkülöníthető 4 enzim izoenzim-mintázata alapján. A nem elkülöníthető fajták többségére jellemző, hogy morfológiailag is nagyon hasonlítanak egymásra, és egy részüket (Pinot fajták-16-os csoport) –az eddig közzétett szakirodalom szerint –DNS markerek segítségével nem, vagy csak igen korlátozott mértékben lehet egymástól elkülöníteni (CIPRIANI et al., 1994; HALÁSZ et al., 2005).



Forrás: DETTWEILER et al.: The Vitis International Variety Catalogue

6. ábra: A 23-as csoport fajtáinak levele (fentről lefelé: Sauvignon blanc, Semillon)



7. ábra: A 25. csoport fajtáinak levele (fentről lefelé: Cabernet franc, Cabernet sauvignon)

Annak kiderítésére, hogy a fenotípusosan megjelenő tulajdonságok és az izoenzim vizsgálatok során nyert mintázatok között van-e összefüggés, megvizsgáltam, hogy a fajták származási csoportba való tartozása és az izoenzim tulajdonságaik összefüggenek-e, illetve csupán izoenzim tulajdonságok alapján megállapítható-e, hogy egy fajta melyik convarietasba tartozik.

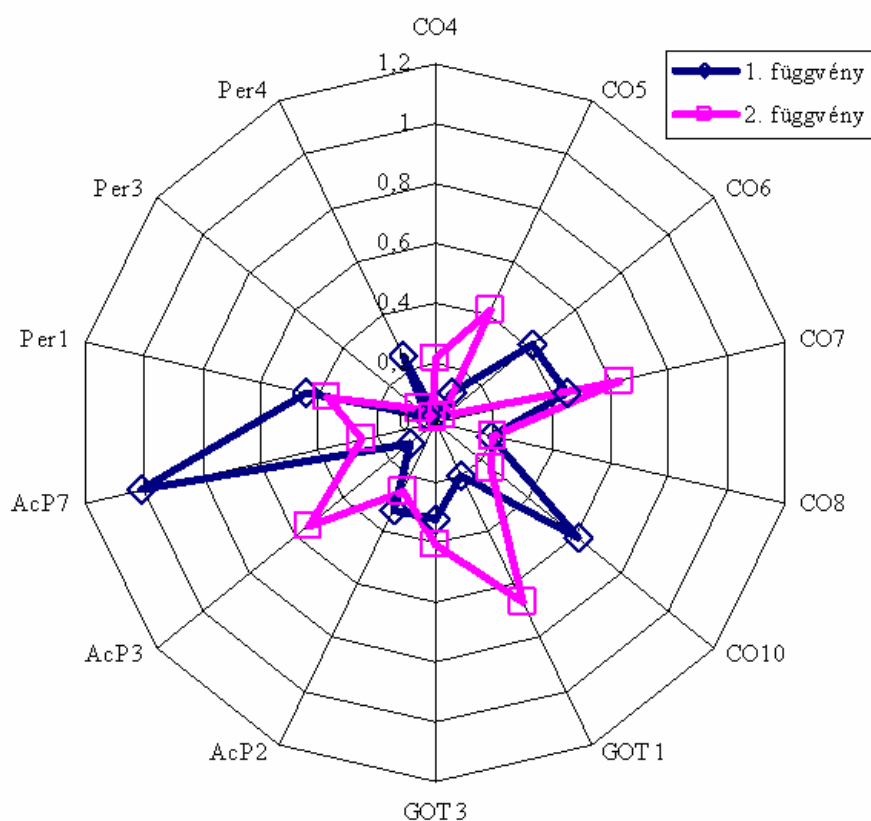
Ennek eldöntésére klaszteranalízist végeztem az SPSS 14.0-a számítógépes statisztikai elemző program segítségével. A bevitt adatoknál a fajtákat a származási rendszer szerint 3 csoportba soroltam (NÉMETH, 1967 szerint):

1. *Vitis vinifera* L. convarietas **occidentalis**
2. *Vitis vinifera* L. convarietas **pontica**
3. *Vitis vinifera* L. convarietas **orientalis**

A programba független változóként vittem be a fajták izoenzim-mintázatát aszerint, hogy egy adott sáv megtalálható-e egy fajta mintázatában vagy sem (lásd **5. táblázat**).

A program két függvény alapján elkülönítette a vizsgált fajtákat. A függvények együtthatóit a következő táblázat tartalmazza:

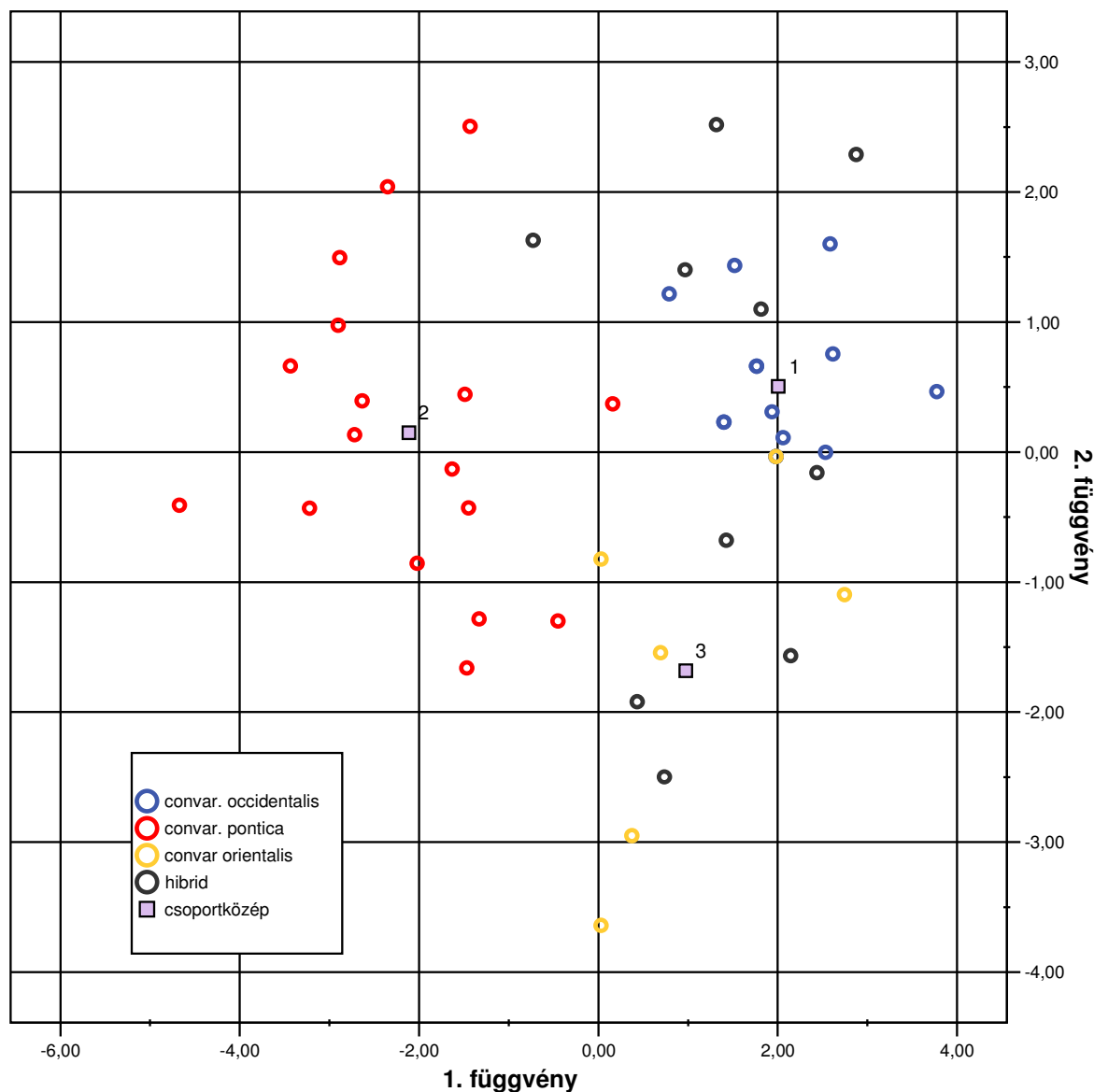
	Függvény			Függvény	
	1	2		1	2
CO4	-0,024	-0,216	GOT3	-0,325	-0,405
CO5	0,117	0,419	AcP2	0,320	0,257
CO6	-0,418	-0,032	AcP3	0,106	-0,544
CO7	0,444	-0,629	AcP7	-1,008	0,254
CO8	-0,190	0,202	Per1	0,438	0,372
CO10	0,613	0,238	Per3	0,040	0,070
GOT1	0,198	0,671	Per4	0,249	0,015



8. ábra: A diszkriminancia függvények együtthatóinak grafikus ábrázolása

Az együtthatókat grafikusan ábrázolva megállapítható, hogy a csoportok elkülönítésében melyik izoenzim-mintázat, milyen mértékben vesz részt (8. ábra).

Az ábráról leolvasható, hogy az 1. függvénynél az AcP7-es változó, vagyis a savas foszfátáz 7-es számú sávja, míg a 2. függvénynél a glutaminsav-oxálcetsav-transzamináz 1. számú sávja szerepel a legnagyobb együtthatóval. Ez azt jelenti, hogy az adott sávok jelenléte, illetve hiánya összefügghet a fajták származásával, és ezen keresztül a megjelenő morfológiai tulajdonságaikkal.



9. ábra: *Vitis vinifera* L. fajták származási csoportjainak elkülönülése izoenzim mintázat alapján

A szőlőfajták elkülönülését a két diszkriminanciafüggvény alapján (9. ábra) mutatom be. Az ábráról jól látható, hogy míg a pontuszi csoportba tartozó fajták jól elkülönülnek a másik két csoporttól, addig az *occidentalis* és *orientalis* convarietasba tartozó fajták nem

válnak el határozottan egymástól. Ennek az lehet az oka, hogy az *orientlis* convarietasból kevés (6) fajtát vizsgáltam. A pontuszi fajták elkülönítésében elsősorban az 1. diszkriminancia függvénynek van szerepe.

Az 1. függvénynél abszolút értékben az AcP7-es változónak a legnagyobb az együtthatója: 1,008. Ha megnézzük, hogy a savas foszfatáz enzimnél a 7. számú sáv milyen fajtáknál fordul elő, akkor azt fedezhetjük fel, hogy az adott sáv szinte kizárólag a pontuszi eredetű fajtáknál található meg, azok több mint 2/3-nak mintázatában szerepel, ugyanakkor a másik két csoport tagjai közül csak a Cirfandli fajtánál található. Annak eldöntésére, hogy az adott izoenzim sáv megjelenése és a pontuszi csoportba tartozás között statisztikailag igazolható-e az összefüggés χ^2 próbát végeztem. A kapott χ^2 érték: 15,28 volt. Az adott esetben érvényes kritikus χ^2 érték: 3,84, mivel ez az érték jóval alacsonyabb, mint a számolt érték, az összefüggés 95%-os valószínűségi szinten igazolható. Az összefüggés szorosságát kifejező mutató a kontingencia koefficiens értéke ebben az esetben: $r = 0,63$.

Ebből azt a következtetést lehet levonni, hogy az adott izoenzim forma a pontuszi fajtákra jellemző.

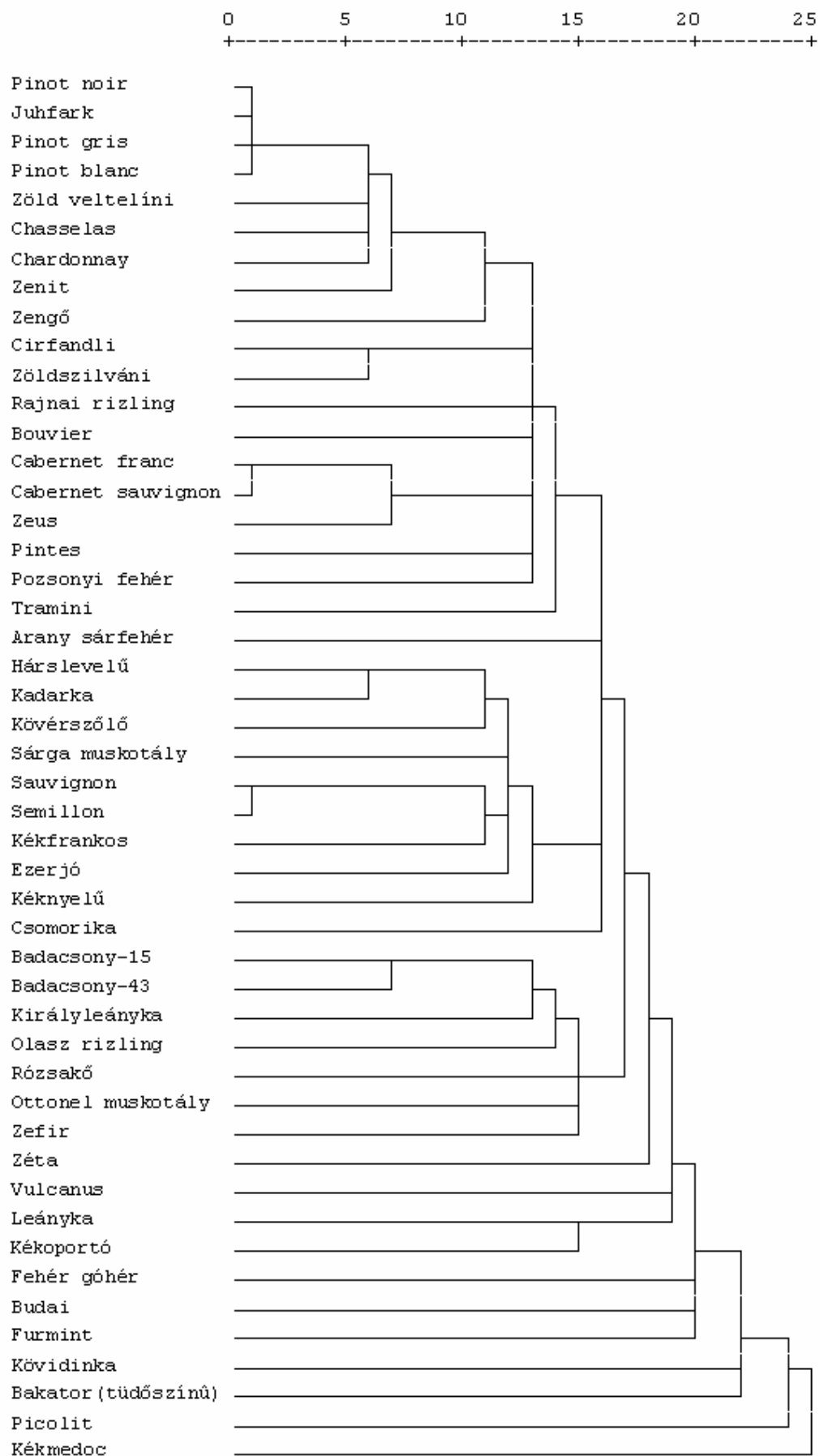
A SPSS nevű számítógépes program segítségével, hasonlósági indexet számoltam, és dendrogrammot szerkesztettem a fajták izoenzim-mintázata alapján. A hasonlósági indexeket a **8. táblázatban** foglaltam össze, míg a kapott dendrogrammot a **10. ábra** mutatja be. Az ábráról megállapítható, hogy mely fajták, illetve csoportok állnak közelebb, illetve távolabb egymástól.

Érdekes eredmény, hogy az olasz a Friuli-borvidék autochton fajtája a 'Picolit' elkülönül a többi vizsgált fajtától. A fajtát azért vontuk be a vizsgált fajták körébe, mert irodalmi adatok szerint a 'Kéknyelű' és 'Picolit' fajtákat azonosnak vélték, vagy különbözőségüket vitatták (NÉMETH, 1967; ZULINI et al., 2003; DETTWEILER et al.). Vizsgálataim alapján a két fajta molekuláris markerekkel határozottan elkülönül egymástól, ezért különbözőségük egyértelműen igazolható.

8. táblázat: A Jaccard index szerint számolt hasonlóságok a fajták között

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1: Cabernet franc	1,000	1,000	0,789	0,667	0,737	0,737	0,737	0,750	0,750	0,722	0,700	0,833	0,824	0,722	0,750	0,737	0,882	0,765	0,667	0,765	0,737	0,765
2: Cabernet sauvignon	1,000	1,000	0,789	0,667	0,737	0,737	0,737	0,750	0,750	0,722	0,700	0,833	0,824	0,722	0,750	0,737	0,882	0,765	0,667	0,765	0,737	0,765
3: Círfandli	0,789	0,789	1,000	0,778	0,750	0,750	0,750	0,682	0,682	0,737	0,714	0,944	0,833	0,833	0,762	0,750	0,789	0,684	0,600	0,778	0,591	0,684
4: Olasz rizling	0,667	0,667	0,778	1,000	0,722	0,722	0,722	0,650	0,650	0,813	0,684	0,824	0,813	0,706	0,650	0,722	0,667	0,750	0,556	0,750	0,632	0,750
5: Pinot blanc	0,737	0,737	0,750	0,722	1,000	1,000	1,000	0,714	0,714	0,778	0,944	0,789	0,882	0,684	0,895	1,000	0,737	0,632	0,722	0,722	0,700	0,722
6: Szürkebarát	0,737	0,737	0,750	0,722	1,000	1,000	1,000	0,714	0,714	0,778	0,944	0,789	0,882	0,684	0,895	1,000	0,737	0,632	0,722	0,722	0,700	0,722
7: Pinot noir	0,737	0,737	0,750	0,722	1,000	1,000	1,000	0,714	0,714	0,778	0,944	0,789	0,882	0,684	0,895	1,000	0,737	0,632	0,722	0,722	0,700	0,722
8: Sauvignon	0,750	0,750	0,682	0,650	0,714	0,714	0,714	1,000	1,000	0,700	0,762	0,714	0,619	0,545	0,810	0,714	0,667	0,650	0,650	0,650	0,800	0,650
9: Semillon	0,750	0,750	0,682	0,650	0,714	0,714	0,714	1,000	1,000	0,700	0,762	0,714	0,619	0,545	0,810	0,714	0,667	0,650	0,650	0,650	0,800	0,650
10: Traminer	0,722	0,722	0,737	0,813	0,778	0,778	0,778	0,700	0,700	1,000	0,833	0,778	0,875	0,667	0,789	0,778	0,722	0,706	0,526	0,813	0,600	0,813
11: Zöld veltelini	0,700	0,700	0,714	0,684	0,944	0,944	0,944	0,762	0,762	0,833	1,000	0,750	0,833	0,650	0,947	0,944	0,700	0,600	0,684	0,684	0,667	0,684
12: Zöld szilváni	0,833	0,833	0,944	0,824	0,789	0,789	0,789	0,714	0,714	0,778	0,750	1,000	0,882	0,778	0,800	0,789	0,737	0,722	0,632	0,824	0,619	0,722
13: Bouvier	0,824	0,824	0,833	0,813	0,882	0,882	0,882	0,619	0,619	0,875	0,833	0,882	1,000	0,765	0,789	0,882	0,824	0,706	0,611	0,813	0,600	0,813
14: Zéta	0,722	0,722	0,833	0,706	0,684	0,684	0,684	0,545	0,545	0,667	0,650	0,778	0,765	1,000	0,700	0,684	0,722	0,813	0,611	0,813	0,600	0,611
15: Chasselas (fehér)	0,750	0,750	0,762	0,650	0,895	0,895	0,895	0,810	0,810	0,789	0,947	0,800	0,789	0,700	1,000	0,895	0,667	0,650	0,737	0,737	0,714	0,650
16: Juhfark	0,737	0,737	0,750	0,722	1,000	1,000	1,000	0,714	0,714	0,778	0,944	0,789	0,882	0,684	0,895	1,000	0,737	0,632	0,722	0,722	0,700	0,722
17: Pintes	0,882	0,882	0,789	0,667	0,737	0,737	0,737	0,667	0,667	0,722	0,700	0,737	0,824	0,722	0,667	0,737	1,000	0,667	0,579	0,667	0,650	0,765
18: Leányka	0,765	0,765	0,684	0,750	0,632	0,632	0,632	0,650	0,650	0,706	0,600	0,722	0,706	0,813	0,650	0,632	0,667	1,000	0,556	0,867	0,722	0,647
19: Kékmedoc	0,667	0,667	0,600	0,556	0,722	0,722	0,722	0,650	0,650	0,526	0,684	0,632	0,611	0,611	0,737	0,722	0,579	0,556	1,000	0,556	0,722	0,556
20: Kékoporto	0,765	0,765	0,778	0,750	0,722	0,722	0,722	0,650	0,650	0,813	0,684	0,824	0,813	0,813	0,737	0,722	0,667	0,867	0,556	1,000	0,632	0,750
21: Sárga muskotály	0,737	0,737	0,591	0,632	0,700	0,700	0,700	0,800	0,800	0,600	0,667	0,619	0,600	0,600	0,714	0,700	0,650	0,722	0,722	0,632	1,000	0,722
22: Ottonel muskotály	0,765	0,765	0,684	0,750	0,722	0,722	0,722	0,650	0,650	0,813	0,684	0,722	0,813	0,611	0,650	0,722	0,765	0,647	0,556	0,750	0,722	1,000
23: Arany sárféher	0,700	0,700	0,800	0,684	0,842	0,842	0,842	0,762	0,762	0,737	0,800	0,750	0,737	0,737	0,850	0,842	0,700	0,684	0,684	0,778	0,750	0,684
24: Bakator (tűdöszinű)	0,619	0,619	0,636	0,524	0,667	0,667	0,667	0,762	0,762	0,571	0,714	0,591	0,571	0,500	0,682	0,667	0,700	0,455	0,684	0,455	0,591	0,524
25: Budai	0,722	0,722	0,737	0,813	0,600	0,600	0,600	0,700	0,700	0,667	0,571	0,778	0,667	0,667	0,619	0,600	0,632	0,706	0,611	0,706	0,778	0,813
26: Csomorika	0,700	0,700	0,714	0,684	0,750	0,750	0,750	0,850	0,850	0,650	0,714	0,667	0,650	0,571	0,682	0,750	0,789	0,600	0,600	0,600	0,750	0,684
27: Ezerjő	0,737	0,737	0,591	0,550	0,700	0,700	0,700	0,895	0,895	0,684	0,750	0,619	0,600	0,600	0,800	0,700	0,650	0,722	0,632	0,722	0,789	0,632
28: Fehér góhér	0,706	0,706	0,722	0,800	0,667	0,667	0,667	0,600	0,600	0,750	0,632	0,667	0,750	0,750	0,600	0,667	0,813	0,688	0,588	0,688	0,667	0,800
29: Furmint	0,667	0,667	0,684	0,647	0,550	0,550	0,550	0,571	0,571	0,611	0,524	0,632	0,611	0,813	0,571	0,550	0,667	0,750	0,556	0,750	0,722	0,750
30: Hárslevelű	0,700	0,700	0,636	0,600	0,750	0,750	0,750	0,682	0,682	0,571	0,714	0,591	0,650	0,650	0,682	0,750	0,789	0,600	0,684	0,524	0,842	0,684
31: Kadarka	0,750	0,750	0,682	0,571	0,714	0,714	0,714	0,727	0,727	0,545	0,682	0,636	0,619	0,700	0,727	0,714	0,750	0,650	0,737	0,571	0,895	0,650
32: Kéknyelű	0,632	0,632	0,571	0,706	0,778	0,778	0,778	0,700	0,700	0,667	0,737	0,600	0,667	0,579	0,700	0,778	0,632	0,611	0,706	0,611	0,882	0,813
33: Kövidinka	0,571	0,571	0,591	0,550	0,700	0,700	0,700	0,714	0,714	0,684	0,750	0,545	0,600	0,524	0,714	0,700	0,650	0,476	0,550	0,550	0,700	0,722
34: Királyleányka	0,684	0,684	0,619	0,765	0,833	0,833	0,833	0,750	0,750	0,722	0,789	0,650	0,722	0,632	0,750	0,833	0,684	0,765	0,667	0,667	0,833	0,667
35: Kövérszőlő	0,750	0,750	0,762	0,571	0,800	0,800	0,800	0,727	0,727	0,619	0,762	0,714	0,700	0,700	0,810	0,800	0,750	0,571	0,737	0,650	0,800	0,737
36: Kékfrankos	0,667	0,667	0,609	0,650	0,636	0,636	0,636	0,900	0,900	0,619	0,682	0,636	0,545	0,545	0,727	0,636	0,591	0,650	0,650	0,571	0,895	0,650
37: Picolit	0,684	0,684	0,700	0,579	0,500	0,500	0,500	0,591	0,591	0,476	0,478	0,650	0,550	0,722	0,522	0,500	0,684	0,667	0,500	0,579	0,650	0,579
38: Pozsonyi fehér	0,882	0,882	0,789	0,667	0,650	0,650	0,650	0,667	0,667	0,632	0,619	0,737	0,722	0,824	0,667	0,650	0,882	0,765	0,667	0,667	0,737	0,667
39: Rajnai rizling	0,824	0,824	0,833	0,706	0,684	0,684	0,684	0,700	0,700	0,667	0,650	0,882	0,765	0,667	0,700	0,684	0,722	0,611	0,611	0,706	0,600	0,706
40: Chardonnay	0,737	0,737	0,667	0,632	0,889	0,889	0,889	0,800	0,800	0,778	0,944	0,700	0,778	0,600	0,895	0,889	0,737	0,550	0,722	0,632	0,700	0,722
41: Zenit	0,778	0,778	0,700	0,667	0,941	0,941	0,941	0,750	0,750	0,722	0,889	0,737	0,824	0,632	0,842	0,941	0,778	0,579	0,765	0,667	0,737	0,765
42: Zengő	0,842	0,842	0,762	0,650	0,895	0,895	0,895	0,810	0,810	0,700	0,850	0,800	0,789	0,700	0,900	0,895	0,750	0,737	0,737	0,737	0,800	0,650
43: Zefir	0,765	0,765	0,778	0,867	0,722	0,722	0,722	0,737	0,737	0,813	0,684	0,824	0,813	0,611	0,650	0,722	0,765	0,647	0,556	0,750	0,632	0,867
44: Zeus	0,938	0,938	0,833	0,706	0,778	0,778	0,778	0,700	0,700	0,765	0,737	0,882	0,875	0,765	0,789	0,778	0,824	0,706	0,706	0,813	0,684	0,813

	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
1: Cabernet franc	0,700	0,619	0,722	0,700	0,737	0,706	0,667	0,700	0,750	0,632	0,571	0,684	0,750	0,667	0,684	0,882	0,824	0,737	0,778	0,842	0,765	0,938
2: Cabernet sauvignon	0,700	0,619	0,722	0,700	0,737	0,706	0,667	0,700	0,750	0,632	0,571	0,684	0,750	0,667	0,684	0,882	0,824	0,737	0,778	0,842	0,765	0,938
3: Cirfandli	0,800	0,636	0,737	0,714	0,591	0,722	0,684	0,636	0,682	0,571	0,591	0,619	0,762	0,609	0,700	0,789	0,833	0,667	0,700	0,762	0,778	0,833
4: Olasz rizling	0,684	0,524	0,813	0,684	0,550	0,800	0,647	0,600	0,571	0,706	0,550	0,765	0,571	0,650	0,579	0,667	0,706	0,632	0,667	0,650	0,867	0,706
5: Pinot blanc	0,842	0,667	0,600	0,750	0,700	0,667	0,550	0,750	0,714	0,778	0,700	0,833	0,800	0,636	0,500	0,650	0,684	0,889	0,941	0,895	0,722	0,778
6: Szürkebarát	0,842	0,667	0,600	0,750	0,700	0,667	0,550	0,750	0,714	0,778	0,700	0,833	0,800	0,636	0,500	0,650	0,684	0,889	0,941	0,895	0,722	0,778
7: Pinot noir	0,842	0,667	0,600	0,750	0,700	0,667	0,550	0,750	0,714	0,778	0,700	0,833	0,800	0,636	0,500	0,650	0,684	0,889	0,941	0,895	0,722	0,778
8: Sauvignon	0,762	0,762	0,700	0,850	0,895	0,600	0,571	0,682	0,727	0,700	0,714	0,750	0,727	0,900	0,591	0,667	0,700	0,800	0,750	0,810	0,737	0,700
9: Semillon	0,762	0,762	0,700	0,850	0,895	0,600	0,571	0,682	0,727	0,700	0,714	0,750	0,727	0,900	0,591	0,667	0,700	0,800	0,750	0,810	0,737	0,700
10: Tramini	0,737	0,571	0,667	0,650	0,684	0,750	0,611	0,571	0,545	0,667	0,684	0,722	0,619	0,619	0,476	0,632	0,667	0,778	0,722	0,700	0,813	0,765
11: Zöld veltelíni	0,800	0,714	0,571	0,714	0,750	0,632	0,524	0,714	0,682	0,737	0,750	0,789	0,762	0,682	0,478	0,619	0,650	0,944	0,889	0,850	0,684	0,737
12: Zöld szilváni	0,750	0,591	0,778	0,667	0,619	0,667	0,632	0,591	0,636	0,600	0,545	0,650	0,714	0,636	0,650	0,737	0,882	0,700	0,737	0,800	0,824	0,882
13: Bouvier	0,737	0,571	0,667	0,650	0,600	0,750	0,611	0,650	0,619	0,667	0,600	0,722	0,700	0,545	0,550	0,722	0,765	0,778	0,824	0,789	0,813	0,875
14: Zéta	0,737	0,500	0,667	0,571	0,600	0,750	0,813	0,650	0,700	0,579	0,524	0,632	0,700	0,545	0,722	0,824	0,667	0,600	0,632	0,700	0,611	0,765
15: Chasselas (fehér)	0,850	0,682	0,619	0,682	0,800	0,600	0,571	0,682	0,727	0,700	0,714	0,750	0,810	0,727	0,522	0,667	0,700	0,895	0,842	0,900	0,650	0,789
16: Juhfark	0,842	0,667	0,600	0,750	0,700	0,667	0,550	0,750	0,714	0,778	0,700	0,833	0,800	0,636	0,500	0,650	0,684	0,889	0,941	0,895	0,722	0,778
17: Pintes	0,700	0,700	0,632	0,789	0,650	0,813	0,667	0,789	0,750	0,632	0,650	0,684	0,750	0,591	0,684	0,882	0,722	0,737	0,778	0,750	0,765	0,824
18: Leányka	0,684	0,455	0,706	0,600	0,722	0,688	0,750	0,600	0,650	0,611	0,476	0,765	0,571	0,650	0,667	0,765	0,611	0,550	0,579	0,737	0,647	0,706
19: Kékmedoc	0,684	0,684	0,611	0,600	0,632	0,588	0,556	0,684	0,737	0,706	0,550	0,667	0,737	0,650	0,500	0,667	0,611	0,722	0,765	0,737	0,556	0,706
20: Kékoporto	0,778	0,455	0,706	0,600	0,722	0,688	0,750	0,524	0,571	0,611	0,550	0,667	0,650	0,571	0,579	0,667	0,706	0,632	0,667	0,737	0,750	0,813
21: Sárga muskotály	0,750	0,591	0,778	0,750	0,789	0,667	0,722	0,842	0,895	0,882	0,700	0,833	0,800	0,895	0,650	0,737	0,600	0,700	0,737	0,800	0,632	0,684
22: Ottónel muskotály	0,684	0,524	0,813	0,684	0,632	0,800	0,750	0,684	0,650	0,813	0,722	0,667	0,737	0,650	0,579	0,667	0,706	0,722	0,765	0,650	0,867	0,813
23: Arany sárfehér	1,000	0,636	0,650	0,800	0,750	0,722	0,684	0,714	0,762	0,737	0,750	0,789	0,850	0,682	0,545	0,700	0,650	0,750	0,789	0,850	0,684	0,737
24: Bakator (tüdőszínű)	0,636	1,000	0,500	0,800	0,667	0,550	0,455	0,714	0,682	0,571	0,667	0,619	0,682	0,682	0,545	0,619	0,571	0,750	0,700	0,682	0,600	0,571
25: Budai	0,650	0,500	1,000	0,650	0,600	0,750	0,813	0,650	0,700	0,765	0,600	0,632	0,700	0,789	0,722	0,722	0,765	0,600	0,632	0,619	0,813	0,765
26: Csomorika	0,800	0,800	0,650	1,000	0,750	0,722	0,600	0,800	0,762	0,737	0,750	0,789	0,762	0,762	0,619	0,700	0,650	0,750	0,789	0,762	0,778	0,650
27: Ezerjó	0,750	0,667	0,600	0,750	1,000	0,579	0,632	0,667	0,714	0,684	0,700	0,737	0,714	0,800	0,571	0,650	0,600	0,789	0,737	0,800	0,632	0,684
28: Fehér góhér	0,722	0,550	0,750	0,722	0,579	1,000	0,800	0,722	0,684	0,750	0,667	0,706	0,684	0,600	0,611	0,813	0,647	0,667	0,706	0,600	0,800	0,750
29: Furmint	0,684	0,455	0,813	0,600	0,632	0,800	1,000	0,684	0,737	0,706	0,632	0,579	0,737	0,650	0,765	0,765	0,611	0,550	0,579	0,571	0,647	0,706
30: Hárslevelű	0,714	0,714	0,650	0,800	0,667	0,722	0,684	1,000	0,947	0,833	0,750	0,789	0,850	0,762	0,700	0,789	0,571	0,750	0,789	0,762	0,600	0,650
31: Kadarka	0,762	0,682	0,700	0,762	0,714	0,684	0,737	0,947	1,000	0,789	0,714	0,750	0,900	0,810	0,750	0,842	0,619	0,714	0,750	0,810	0,571	0,700
32: Kéknyelű	0,737	0,571	0,765	0,737	0,684	0,750	0,706	0,833	0,789	1,000	0,778	0,824	0,789	0,789	0,550	0,632	0,579	0,778	0,824	0,700	0,706	0,667
33: Kövidinka	0,750	0,667	0,600	0,750	0,700	0,667	0,632	0,750	0,714	0,778	1,000	0,650	0,800	0,714	0,500	0,571	0,524	0,789	0,737	0,636	0,632	0,600
34: Királyleányka	0,789	0,619	0,632	0,789	0,737	0,706	0,579	0,789	0,750	0,824	0,650	1,000	0,667	0,750	0,524	0,684	0,550	0,737	0,778	0,842	0,667	0,632
35: Kővérszőlő	0,850	0,682	0,700	0,762	0,714	0,684	0,737	0,850	0,900	0,789	0,800	0,667	1,000	0,727	0,667	0,750	0,700	0,800	0,842	0,810	0,650	0,789
36: Kékfrankos	0,682	0,682	0,789	0,762	0,800	0,600	0,650	0,762	0,810	0,789	0,714	0,750	0,727	1,000	0,667	0,667	0,619	0,714	0,667	0,727	0,650	0,619
37: Picolit	0,545	0,545	0,722	0,619	0,571	0,611	0,765	0,700	0,750	0,550	0,500	0,524	0,667	0,667	1,000	0,778	0,722	0,500	0,524	0,591	0,579	0,632
38: Pozsonyi fehér	0,700	0,619	0,722	0,700	0,650	0,813	0,765	0,789	0,842	0,632	0,571	0,684	0,750	0,667	0,778	1,000	0,722	0,650	0,684	0,750	0,667	0,824
39: Rajnai rizling	0,650	0,571	0,765	0,650	0,600	0,647	0,611	0,571	0,619	0,579	0,524	0,550	0,700	0,619	0,722	0,722	1,000	0,684	0,722	0,700	0,813	0,875
40: Chardonnay	0,750	0,750	0,600	0,750	0,789	0,667	0,550	0,750	0,714	0,778	0,789	0,737	0,800	0,714	0,500	0,650	0,684	1,000	0,941	0,800	0,722	0,778
41: Zenit	0,789	0,700	0,632	0,789	0,737	0,706	0,579	0,789	0,750	0,824	0,737	0,778	0,842	0,667	0,524	0,684	0,722	0,941	1,000	0,842	0,765	0,824
42: Zengő	0,850	0,682	0,619	0,762	0,800	0,600	0,571	0,762	0,810	0,700	0,636	0,842	0,810	0,727	0,591	0,750	0,700	0,800	0,842	1,000	0,650	0,789
43: Zefír	0,684	0,600	0,813	0,778	0,632	0,800	0,647	0,600	0,571	0,706	0,632	0,667	0,650	0,650	0,579	0,667	0,813	0,722	0,765	0,650	1,000	0,813
44: Zeus	0,737	0,571	0,765	0,650	0,684	0,750	0,706	0,650	0,700	0,667	0,600	0,632	0,789	0,619	0,632	0,824	0,875	0,778	0,824	0,789	0,813	1,000



10. ábra: Izoenzim-mintázatok alapján rajzolt dendrogramm

5.3. *Mikroszatellit vizsgálatok eredményei*

Negyvennyolc szőlőfajta vizsgálatát végeztük el mikroszatellit (SSR) analízissel.

A kapott kivonatokban a DNS mennyiségét fotometriai módszerrel határoztuk meg. Méréseink szerint a kivont DNS mennyisége összefügg a mintavétel idejével. A nyugalmi időszakban az élő hancs szövetekből kivont DNS minőségében és mennyiségében is jobbnak bizonyult a vegetációs időszak elején (virágzás előtt), a fiatal levelekből kivont mintákban tapasztalt értékeknél.

A kivonatokban egységesen 10 ng/μl-re állítottuk be a DNS mennyiségét. Erre azért volt szükség, hogy a DNS mennyisége ne befolyásolja a PCR reakció menetét.

A PCR reakciót irodalmi adatokra támaszkodva optimalizáltuk (HAJÓSNÉ NOVÁK, 1999). Az optimalizálási reakcióknál 5 fajta DNS kivonatot használtuk. Első lépésként a reakcióelegyet próbáltuk úgy összeállítani, hogy megfelelő mennyiségű terméket kapjunk. A reakcióelegy optimalizálása során az egyik legfontosabb változó a primer és a templát DNS koncentrációjának az aránya. Mivel mi kész „PCR hot start kittel” dolgoztunk, a reakcióelegy komponenseinek optimalizálásánál csak ennek az arálynak a meghatározását kellett elvégezni. Kiindulásként 0,5 mM-osra állítottuk be mindkét primer koncentrációját, majd 0,1 mM-onként csökkentettem a koncentrációt. Eközben a templát DNS mennyiségét folyamatosan emeltük, míg végül 0,2 mM-os primerkoncentráció mellett megfelelő mennyiségű termék képződött. Ennél a lépésnél a PCR reakció során a primerkapcsolódási hőmérsékletet az irodalmi adatokat figyelembe véve állítottuk be.

A reakcióelegynél azt az arányt használtuk a későbbiekben, amelynél a legtöbb primerrel megfelelő mennyiségű terméket kaptunk. A reakcióelegy optimalizálását követően második lépésként optimalizáltuk a PCR reakció körülményeit. Mivel az első kísérletben három primernél (VVS2, VMC4G6, VMC4A1) az irodalmi adatok szerint beállított PCR reakció esetén nem kaptunk terméket, megpróbálkoztunk a ciklusszám emelésével. Ez két primer esetén (VMC4G6, VMC4A1) eredményt hozott. A VVS2 primer esetén a ciklusszám növelése esetén sem kaptunk terméket, ezért megpróbáltuk meghatározni a megfelelő primerkapcsolódási hőmérsékletet, oly módon, hogy az alábbi képlettel számolt olvadási hőmérséklethez próbáltuk 2 °C-onként közelíteni.

$$T_m(\text{olvadási hőmérséklet}) = 4 \cdot n_{(G+C)} + 2 \cdot n_{(A+T)}$$

Ily módon a VVS2 primer esetén is sikerült optimalizálni a PCR reakciót. A VMC4H6-os primer esetén a PCR reakció fenti módszerrel történő optimalizálása nem járt sikerrel.

Az optimalizált PCR reakciók leírását az anyag és módszer fejezetben ismertettem. Az optimalizált PCR reakciókörülményeket követve 48 fajta (lásd **9. táblázat**) vizsgálatát végeztük el.

A kapott reakciótermékeket 1,5 %-os TAE –agaróz gélen ellenőriztük, majd a pontos fragmenshosszokat automata szekvenáló készülék segítségével határoztuk meg. A kapott eredményeket a **9. táblázatban** foglaltam össze.

9. táblázat: A kapott mikroszatellit (SSR) fragmenshosszok

Fajta neve	VMC4A1		VVS2		VrZag79		VMC4G6		VVMD7		VVS16	
Arany sárfhér	259	261	140	150	232	238	122	126	237	251	291	291
Badacsony-15	265	275	140	148	234	246	122	124	235	241	285	285
Badacsony-43	269	271	134	150	232	232	122	122	237	247	285	285
Bakator (tüdőszínű)	259	261	134	140	244	246	122	130	237	251	285	285
Bouvier	265	267	130	148	234	246	122	122	241	241	285	285
Budai	271	275	140	150	246	246	136	138	247	247	285	291
Cabernet franc	269	271	136	144	242	254	128	132	237	261	283	285
Cabernet sauvignon	267	271	136	148	242	242	122	132	237	237	285	285
Chardonnay	271	275	134	140	238	240	122	126	237	241	285	291
Chasselas	273	275	130	140	246	254	132	138	237	245	285	285
Cirfandli	265	267	130	130	240	246	122	122	241	251	263	285
Csomorika	261	275	130	130	232	254	120	124	237	247	289	291
Ezerjő	265	267	130	140	232	244	120	126	237	237	285	285
Fehér góhér	261	261	130	130	244	254	122	126	237	247	285	289
Furmint	269	271	130	150	232	244	128	138	237	247	285	291
Hárslevelű	267	271	130	142	232	246	122	128	237	245	285	285
Juhfark	263	263	132	142	230	242	120	128	237	245	285	291
Kadarka	259	261	130	140	246	252	130	140	237	247	263	291
Kékfrankos	277	279	140	142	232	246	122	128	237	247	263	289
Kékmedoc	275	275	142	150	244	248	122	132	241	245	285	285
Kéknyelű	273	275	130	148	246	246	120	128	237	241	285	285
Kékoportó	265	267	142	150	242	252	122	128	241	253	263	285
Királyleányka	269	271	128	130	242	244	126	126	245	247	285	291
Kövérzőlő	267	267	130	142	232	246	130	140	237	253	285	291
Kövidinka	259	261	130	132	242	244	128	128	245	253	285	285
Leányka	269	271	130	130	232	246	122	124	247	251	263	285
Olasz rizling	271	279	132	148	244	246	122	122	245	255	285	285
Ottonel muskotály	273	275	130	140	248	252	122	132	237	241	285	285
Picolit	265	267	132	136	234	254	120	120	243	243	285	285
Pinot blanc	267	275	134	148	234	240	122	122	237	241	285	285
Pinot noir	267	275	134	148	234	240	122	122	237	241	285	285
Pintes	265	267	136	150	238	240	122	122	237	255	285	285
Pozsonyi fehér	259	261	132	152	244	246	124	128	247	253	285	289
Rajnai rizling	269	271	140	150	238	240	122	126	247	255	285	291
Rózsakő (B-36)	275	275	148	150	246	246	128	128	237	247	285	285
Sárga muskotály	267	279	130	130	246	250	122	138	231	247	285	285
Sauvignon	267	267	130	148	240	242	122	124	237	255	285	285
Semillon	265	267	130	130	242	246	122	138	237	255	285	285
Szürkebarát	267 265	275 273	134	148	234	240	122	122	237	241	285	285
Tramini	265	267	148	150	238	244	122	122	241	255	285	285
Vulcanus (B-38)	269	271	134	150	232	246	122	138	237	247	285	291
Zefir	267	267	146	148	234	246	122	122	231	241	285	285
Zengő	265	265	130	140	232	246	120	122	237	241	285	285
Zenit	265	267	130	148	232	246	122	126	237	241	285	285
Zéta	267	271	130	130	234	244	122	138	241	247	285	291
Zeus	265	267	130	140	232	246	120	122	237	241	285	285
Zöld szilváni	265	267	150	150	242	244	122	128	241	245	285	291
Zöld veltelíni	269	271	130	150	240	244	122	128	245	255	285	285

5.4. Mikroszatellit vizsgálatok eredményeinek értékelése, következtetések

Mikroszatellit vizsgálati eredményeket összehasonlítva az irodalmi adatokkal megállapítható, hogy a kapott fragmenshosszok ugyanabba a tartományba esnek, mint ahogy azt az irodalmi hivatkozásokban láthatjuk. A *Vitis* Microsatellite Consortium 6 mikroszatellit primer felhasználásával (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZag62, VrZag79) fajtaazonosítási rendszert dolgozott ki. Az ő javaslatuk alapján célszerű nem a pontos fragmenshosszot figyelembe venni, hanem az egyes fajták fragmenshosszait referenciafajtákhoz viszonyítva kell vizsgálni. Erre azért van szükség, mert az eltérő laboratóriumokban, más-más módszerrel meghatározott fragmenshosszok kis mértékben ugyan, de eltérhetnek egymástól. Referencia fajtaként 46 fajtát jelöltek ki (11. ábra). Mindezek alapján lehetőségem nyílt eredményeinket referenciafajtá(k)hoz viszonyítva értékelni.

Alphabetical listing of grapevine varieties respectively grapevine accessions, summary table

VIEWES	local	Variety name	varietal	VVS2:1	VVS2:2	VVMD5:1	VVMD5:2	VVMD7:1	VVMD7:2	VVMD27:1	VVMD27:2	VrZag62:1	VrZag62:2	VrZag79:1	VrZag79:2
Institute code	accession number	accession name	Code												
FRA139	814Mtp1	Admirable de Courtiller B		BA1	CH1	CF1	MU2	CF1	TR1	PI1	MU2	CH1	CF1	TR2	4MA1
FRA139	1818Mtp2	Aghiorgitiko B		CH2	SU1	TR1	CF2	TR1	MU2	CS1	FI1	5C1	SCH2	CF1	CF1
FRA139	1481Mtp2	Alvarelhao N	AL	BA1	SI1	AL1	CF1	CF1	CF1	PI1	CS2	CH1	CF1	TR2	CF2
ITA360	CVT424	Barbera N	BA	BA1	BA2	CF1	CF1	MU2	SU2	PI1	CS2	VE1	5C1	CH1	CF2
FRA139	324Mtp39	Cabernet franc N	CF	CF1	CF2	CF1	CF2	CF1	CF2	CF1	CS2	CF1	CF2	CF1	CF2
ITA362	304	Cabernet Sauvignon N	CS	CF1	SI1	TR1	CF2	CF1	CF1	CS1	CS2	CH1	CF1	CF1	CF1
FRA139	18Mtp8	Carignan noir N		CH2	SU1	CF1	MU1	CF1	CF1	CF1	PI1	MU1	CH1	TR2	CF2
FRA139	9017Mtp3	Castel 216-3		CH1	16C2	MU2	11R2	FE2	99R2	1MG2	16C2	33C2	CH2	MU2	99R2
ITA339	-	Chardonnay B	CH	CH1	CH2	CH1	CH2	CF1	TR1	CF1	CS2	CH1	CH2	CH1	CH2
FRA139	9039Mtp1	Couderc 1616	16C	CF1	16C2	33C2	11R2	CF1	FE2	16C1	16C2	33C2	33C2	MU2	4MA1
FRA139	9043Mtp4	Couderc 3309 N	33C	33C1	33C2	33C1	33C2	33C1	33C2	PI1	16C2	33C1	33C2	MU2	4MA1
FRA139	9219Mtp2	Fercal N	FE	CH2	CH2	MU2	33C2	FE1	FE2	FE1	CS2	FE1	FE2	CH2	4MA1
DEU098	52-09-034	Fumint B		BA1	SI2	CF1	CF2	CF1	MU2	MU1	MU2	CH1	CF2	RO1	SI1
FRA139	9000Mtp537	Goethe 9	GO	CH1	16C2	GO1	33C2	FE2	5C1	GO1	16C2	SCH2	SCH2	4MA2	4MA2
FRA139	1595Mtp1	Hans RG		VE1	BA1	CH1	VE2	MU2	SU2	FE1	CS2	VE1	CF2	TR2	TR2
FRA139	9450Mtp4	Jacquez N	JA	CF1	CH2	MU1	JA2	JA1	CF1	MU1	CS2	MU1	JA2	SI1	SI1
FRA139	9171Mtp1	Kober 5 BB N		16C2	99R2	MU2	1MG2	MU1	5C1	ME2	16C2	5C1	11R2	TR2	CF2
FRA139	853Mtp1	Madeleine Royale B	MAR	SI1	MAR2	MU1	MU2	TR1	ME2	CF1	CS2	CH1	CF1	CH2	CF2
FRA139	9081Mtp3	Malègue 44-53	4MA	CF1	SU1	33C1	33C2	MU1	CF1	4MA1	4MA2	4MA1	4MA2	4MA1	4MA2
FRA139	1216Mtp1	Mancin N	MAN	CF1	MAN2	TR1	CH2	CF1	CF1	CS1	CS2	CH1	CF1	CF1	TR2
FRA139	443Mtp14	Mauzac blanc B	MAU	BA1	SI1	MA1	TR1	CF1	MU2	PI1	ME2	CH1	5C1	TR2	TR2
FRA139	1800Mtp3	Mavrodaphni N		CH2	CH2	CF1	TR1	CF1	CF1	FE1	CS2	MU1	CH1	CH1	CH2
ITA339	-	Merlot noir N	ME	CF1	SI1	CF1	MU2	CF1	ME2	CS2	ME2	CF1	CF1	CF2	CF2
FRA139	9095Mtp1	Millardet et Grasset 101-14 N	1MG	BA1	CH2	1MG1	1MG2	TR1	FE2	1MG1	1MG2	1MG1	33C2	MU2	4MA1
FRA139	9122Mtp3	Millardet et Grasset 420 A	4MG	4MG1	CH1	CH2	33C2	FE1	CF2	4MG1	4MG2	33C2	CH2	MU2	MU2
FRA139	84Mtp2	Mourvèdre N		BA1	SI1	CF1	CF2	MU2	MU2	MU1	CS2	CH1	CF2	TR2	4MA2
FRA139	555Mtp22	Muscat à petits grains blancs B	MU	BA1	BA1	MU1	MU2	MU1	MU2	MU1	MU2	MU1	CH2	TR2	MU2
FRA139	308Mtp2	Muscat of Alexandria B		BA1	99R2	MU1	TR1	MU2	FE2	MU1	MU2	MU1	CF2	CF1	MU2
FRA139	9003Mtp1	Paulsen 1103		CH1	CF2	MU2	MU2	MU1	TR2	5C1	1MG2	CH2	11R2	TR2	99R2
ITA362	1560	Pinot noir N	PI	CH1	SI1	MU1	CH2	CF1	TR1	PI1	CS2	CH1	CF1	PI1	CH2
FRA139	450Mtp1	Portugieser blau N	PO	CH2	SI1	CF1	TR1	TR1	PO2	CF1	MU2	CH1	CF2	SI1	CF2
FRA139	9159Mtp2	Richter 110	11R	CH1	CH2	CH1	11R2	FE1	TR2	CS2	4MA1	CH2	11R2	CH1	CF2
FRA139	9157Mtp3	Richter 99	99R	CH1	99R2	MU2	MU2	FE1	99R2	ME2	1MG2	CH2	5C2	TR2	99R2
FRA139	304Mtp8	Romorantin B	RO	RO1	BA1	CH1	CH2	TR1	MU2	MU1	CS2	CH1	CF2	RO1	CH2
FRA139	1295Mtp1	Rondinella N		CH2	SI1	CF1	TR1	CF1	CF1	MU1	CS2	CH1	CF1	CF1	TR2
FRA139	9001Mtp1	Ruggeri 140		CH1	CH2	VE2	11R2	FE1	TR2	CS2	4MA1	CH2	11R2	CH1	CF2
FRA139	5026Mtp4	Salvador N	SAL	BA1	BA1	CF1	33C1	ME2	FE2	CF1	SAL2	CF1	CF1	CH1	CH2
FRA139	9221Mtp1	Schwarzmann	SCH	CH1	SU1	33C1	1MG2	FE2	5C1	1MG2	SCH2	5C1	SCH2	MU2	4MA1
AUT024	IV-7-12	Silvaner B	SI	SI1	SI2	CF1	TR1	TR1	ME2	CS2	MU2	CH1	CF2	SI1	TR2
DEU363	1014	Sultanina Gigas B	SU	SU1	SI1	CH1	CH1	CF1	SU2	CF1	MU2	CH1	CH1	CF1	CF2
FRA139	9179Mtp3	Teleki 5 C	SC	BA1	CH2	33C1	1MG2	FE1	5C1	5C1	16C2	5C1	5C2	TR2	CF2
DEU098	52-10-006	Touriga nacional N		CH2	SI1	CF1	MU2	CF1	CF1	CF1	CS2	CH1	CF1	CH2	CH2
DEU098	52-03-007	Traminer rot RG	TR	SI1	SI1	TR1	CH2	TR1	TR2	CS2	CS2	CH1	CF1	CH2	TR2
FRA139	284Mtp4	Veltliner rot RG	VE	VE1	BA1	CF2	VE2	FE1	SU2	FE1	MU2	VE1	CH2	TR2	TR2
FRA139	9005Mtp1	Vialla N	VIA	VIA1	BA2	1MG2	1MG2	VIA1	FE2	VIA1	VIA2	SCH2	SCH2	SI1	MU2
FRA139	2103Mtp1	Vital B	VI	SU1	SI1	AL1	CF2	CF1	CF1	CF1	MU2	CH1	CH1	CF1	VI2

11. ábra: A *Vitis* Microsatellite Consortium által meghatározott referenciafajták, és kódolt fragmenshoszaik (forrás: <http://www.genres.de/eccdb/Vitis/>)

Az általunk vizsgált fajták egy részének vizsgálatát más kutatók is elvégezték, így lehetőségem nyílt a kapott eredmények részbeni összehasonlítására. A kapott eredmények összehasonlítását a 10. táblázatban foglaltam össze.

10. táblázat: Mikroszatellit fragmenshosszok összehasonlítása irodalmi adatokkal

Fajta	VVS2										VVMD7						VrZag79							
	(Sefc et. al, 1998)		(The greek <i>Vitis</i> Database)		(Ibanez at al., 2003)		OIV		(saját vizsgálat)		(Sefc et. al, 1998)				(saját vizsgálat)		(Halász G. et al, 2005)		(The greek <i>Vitis</i> Database)		OIV		(saját vizsgálat)	
Bakator, tündöszínű																	+14	+14					+12	+14
Bouvier	+10	+28							+10	+28	+12	+12			+12	+12								
Budai																	+14	+14					+14	+14
Cabernet franc	+16	+24	+16	+24	+16	+24	+16	+24	+16	+24	+8	+32	+8	+32	+8	+32			+10	+22	+10	+22	+10	+22
Cabernet sauvignon	+16	+28	+16	+28	+16	+29	+16	+28	+16	+28	+8	+8	+8	+8	+8	+8			+10	+10	+10	+10	+10	+10
Chardonnay	+14	+20	+10	+12	+14	+20	+14	+20	+14	+20	+8	+12	+8	+12	+8	+12			+10	+18	+6	+8	+6	+8
Cirfandli	+10	+10							+10	+10	+12	+22			+16	+26								
Csomorika																	+0	+22					+0	+22
Ezerjó																	+0	+14					+0	+14
Furmint	+10	+30					+10	+30	+10	+30	+8	+18	+8	+18	+8	+18	+0	+12			+0	+12	+0	+12
Góhér, fehér																	+12	+22					+12	+22
Hárslevelű																	+0	+14					+0	+14
Izsáki (Arany sárfehér)																	+0	+6					+0	+6
Juhfark																	+0	+12					+0	+12
Kadarka																	+12	+12					+12	+18
Kékfrankos	+20	+20							+20	+22	+8	+18			+8	+18								
Kéknyelű																	+12	+14					+14	+14
Kékoportó	+20	+28					+20	+28	+20	+28	+12	+24	+12	+24	+12	+24								
Királyleányka																	+12	+14					+14	+14
Kövérshőlő																	+0	+14					+0	+14
Kövidinka																	+14	+22					+10	+10
Leányka																	+0	+14					+0	+14
Olasz rizling (Welschriesling)	+12	+28							+12	+28	+16	+26			+16	+26								
Ottonel muskotály	+10	+20							+10	+20	+8	+12			+8	+12	+18	+22					+18	+22
Pinot	+14	+28			+14	+29	+14	+28	+14	+28	+8	+12	+8	+12	+8	+12	+2	+8			+2	+8	+2	+8
Pozsonyi fehér																	+14	+14					+12	+14
Rajnai rizling	+20	+28							+20	+28	+18	+26			+18	+26								
Sauvignon blanc	+10	+28	+10	+28					+10	+28	+8	+26			+8	+26			+8	+10			+8	+10
Semillon	+10	+10							+10	+10	+8	+26			+8	+26								
Tramini	+28	+28			+29	+29			+28	+30	+12	+26			+12	+26								
Zöld szilváni	+28	+30					+28	+30	+28	+30	+12	+16	+12	+16	+12	+16					+12	+14	+10	+12
Zöld veltelíni	+10	+28							+10	+28	+16	+26			+16	+26								
n=	122	122	122	122	0	0	124	124	120	120	228	228	231	231	229	229	240	240	236	236	236	236	232	232

Ahogy az a táblázatból kitűnik, ha az általam kapott eredményeknél a Pinot fajtákat referenciafajtaként használjuk, és a kapott eredményeket ehhez viszonyítva értékeljük megállapítható, hogy az általunk kapott fragmenshosszok, csaknem minden esetben azonosnak tekinthetők a más kutatók által kapott eredményekkel. A táblázatban az eltérő eredményeket piros színnel jelöltem.

Az eltérésnek több oka is lehet. A legvalószínűbb ok az eltérő kiindulási alapanyag, feltehető hogy ezekben az esetekben a fajtán belüli variabilitásról lehet szó. Ahol a meghatározott fragmenshosszok között csupán 1-2 bp. a különbség, ott ez adódhat mérési hibából is. A legjobb minőségű agaróz, illetve a széleskörűen használt általában 8%-os poliakrilamid felbontóképessége eredményezhet 2 bp-nyi eltérést a kapott eredmények között. Az általam használt automata készülék pontossága ennél valamivel nagyobb, de 1 bp-nyi eltérés a mért és a valós érték között itt is előfordulhat. Az egyes allélok pontos meghatározása az amplifikációs termékek szekvenálásával lehetséges, ami egy igen költségigényes módszer.

A VMC4A1, VVS16 és VMC4G6-os mikroszatellit primerek esetén az általam kapott fragmenshosszok konkrét összehasonlítására nem volt lehetőségem, mert nem találtam erre vonatkozó irodalmi hivatkozást. Megállapítható viszont, hogy a fragmenshosszok az irodalmi adatok alapján várható fragmenshossz-tartományba belesznek.

Az eredmények alapján elvégeztem az adott lókuszok statisztikai kiértékelését. A kapott eredményeket a **11. táblázat** tartalmazza. A táblázatból megállapítható, hogy a genotípusok száma a VrZag79-es és a VVMD7-es primerek esetén volt a legmagasabb, ezért ezzel a két SSR markerrel lehet a legtöbb fajtát elkülöníteni egymástól.

11. táblázat: SSR lókuszok statisztikai értékelése

SSR marker	Fő allél gyakorisága	Genotípus száma	Allélszám	Heterozigotitás
VMC4A1	0,2500	17	11	0,8333
VVS2	0,3229	24	12	0,8333
VrZag79	0,2604	28	12	0,8958
VMC4G6	0,4479	20	10	0,7083
VVMD7	0,3125	26	12	0,8958
VVS16	0,7500	9	5	0,3958
átlag	0,3906	20	10,3333	0,7604

A *Vitis* Microsatellite Consortium által javasolt SSR markerek mindegyike magas variabilitást mutatott. A VMC4A1-es és a VMC4G6-os primerrel ez idáig csak kevés fajtát vizsgáltak, ugyanakkor megállapítható, hogy ezekkel a primerekkel is magas variabilitás tapasztaltam, ezért használatuk a jövőben javasolható. A VVS16-os primer vizsgálataim szerint

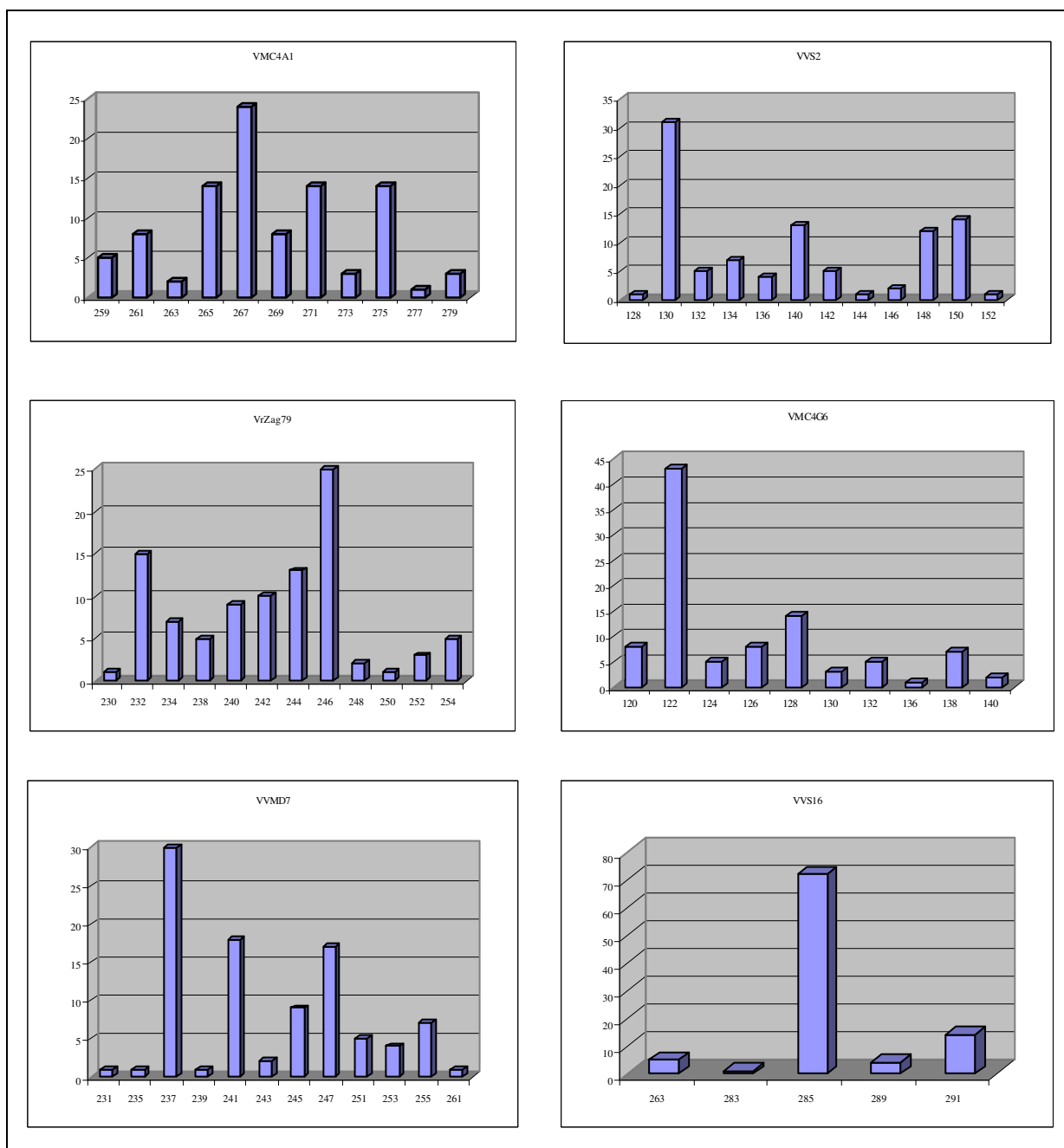
csak csekély mértékű polimorfizmust mutatott, a vizsgált fajták körében mindössze 9 genotípus fordult elő. Az egyes mikroszatellit allélok gyakoriságát külön értékeltem (12. táblázat).

12. táblázat: Mikroszatellit allélok statisztikai értékelése

SSR marker	Allél	Allél száma	Gyakoriság	Szórás-négyzet	SSR marker	Allél	Allél száma	Gyakoriság	Szórás-négyzet
VMC4A1	259	5	0,0521	0,0005	VrZag79	248	2	0,0208	0,0002
VMC4A1	261	8	0,0833	0,0009	VrZag79	250	1	0,0104	0,0001
VMC4A1	263	2	0,0208	0,0004	VrZag79	252	3	0,0313	0,0003
VMC4A1	265	14	0,1458	0,0013	VrZag79	254	5	0,0521	0,0005
VMC4A1	267	24	0,2500	0,0020	VMC4G6	120	8	0,0833	0,0009
VMC4A1	269	8	0,0833	0,0007	VMC4G6	122	43	0,4479	0,0027
VMC4A1	271	14	0,1458	0,0011	VMC4G6	124	5	0,0521	0,0005
VMC4A1	273	3	0,0313	0,0003	VMC4G6	126	8	0,0833	0,0009
VMC4A1	275	14	0,1458	0,0015	VMC4G6	128	14	0,1458	0,0015
VMC4A1	277	1	0,0104	0,0001	VMC4G6	130	3	0,0313	0,0003
VMC4A1	279	3	0,0313	0,0003	VMC4G6	132	5	0,0521	0,0005
VVS2	128	1	0,0104	0,0001	VMC4G6	136	1	0,0104	0,0001
VVS2	130	31	0,3229	0,0027	VMC4G6	138	7	0,0729	0,0006
VVS2	132	5	0,0521	0,0005	VMC4G6	140	2	0,0208	0,0002
VVS2	134	7	0,0729	0,0006	VVMD7	231	1	0,0104	0,0001
VVS2	136	4	0,0417	0,0004	VVMD7	235	1	0,0104	0,0001
VVS2	140	13	0,1354	0,0010	VVMD7	237	30	0,3125	0,0017
VVS2	142	5	0,0521	0,0005	VVMD7	239	1	0,0104	0,0001
VVS2	144	1	0,0104	0,0001	VVMD7	241	18	0,1875	0,0014
VVS2	146	2	0,0208	0,0002	VVMD7	243	2	0,0208	0,0004
VVS2	148	12	0,1250	0,0010	VVMD7	245	9	0,0938	0,0008
VVS2	150	14	0,1458	0,0013	VVMD7	247	17	0,1771	0,0014
VVS2	152	1	0,0104	0,0001	VVMD7	251	5	0,0521	0,0005
VrZag79	230	1	0,0104	0,0001	VVMD7	253	4	0,0417	0,0004
VrZag79	232	15	0,1563	0,0013	VVMD7	255	7	0,0729	0,0006
VrZag79	234	7	0,0729	0,0006	VVMD7	261	1	0,0104	0,0001
VrZag79	238	5	0,0521	0,0005	VVS16	263	5	0,0521	0,0005
VrZag79	240	9	0,0938	0,0008	VVS16	283	1	0,0104	0,0001
VrZag79	242	10	0,1042	0,0011	VVS16	285	72	0,7500	0,0022
VrZag79	244	13	0,1354	0,0010	VVS16	289	4	0,0417	0,0004
VrZag79	246	25	0,2604	0,0020	VVS16	291	14	0,1458	0,0013

A szemléletesség érdekében a kapott fragmenshossz-gyakoriságokat grafikusán is ábrázoltam (12. ábra). Az ábrákból jól látható, hogy minden mikroszatellit lókusznál van egy olyan allél, amely jóval gyakrabban fordul elő, mint a többi. Ez az allél a VMC4A1-e lókusznál a 267, a VVS16-osnál a 285, a VVMD7-nél a 237, 241; a VMC4G6-osnál a 122, a VVS2-esnél a 130, 148 valamint a VrZag79-es lókusznál a 246-os allél. Ennek megállapítása

azért fontos, mert általában a legnagyobb gyakoriságú allél, vagy allélok tekinthetők „vad típusúnak” és a többi allél ezekből mutációval alakulhatott ki.



12. ábra: A mikroszatellit fragmenshossz-gyakoriságok grafikus ábrázolása

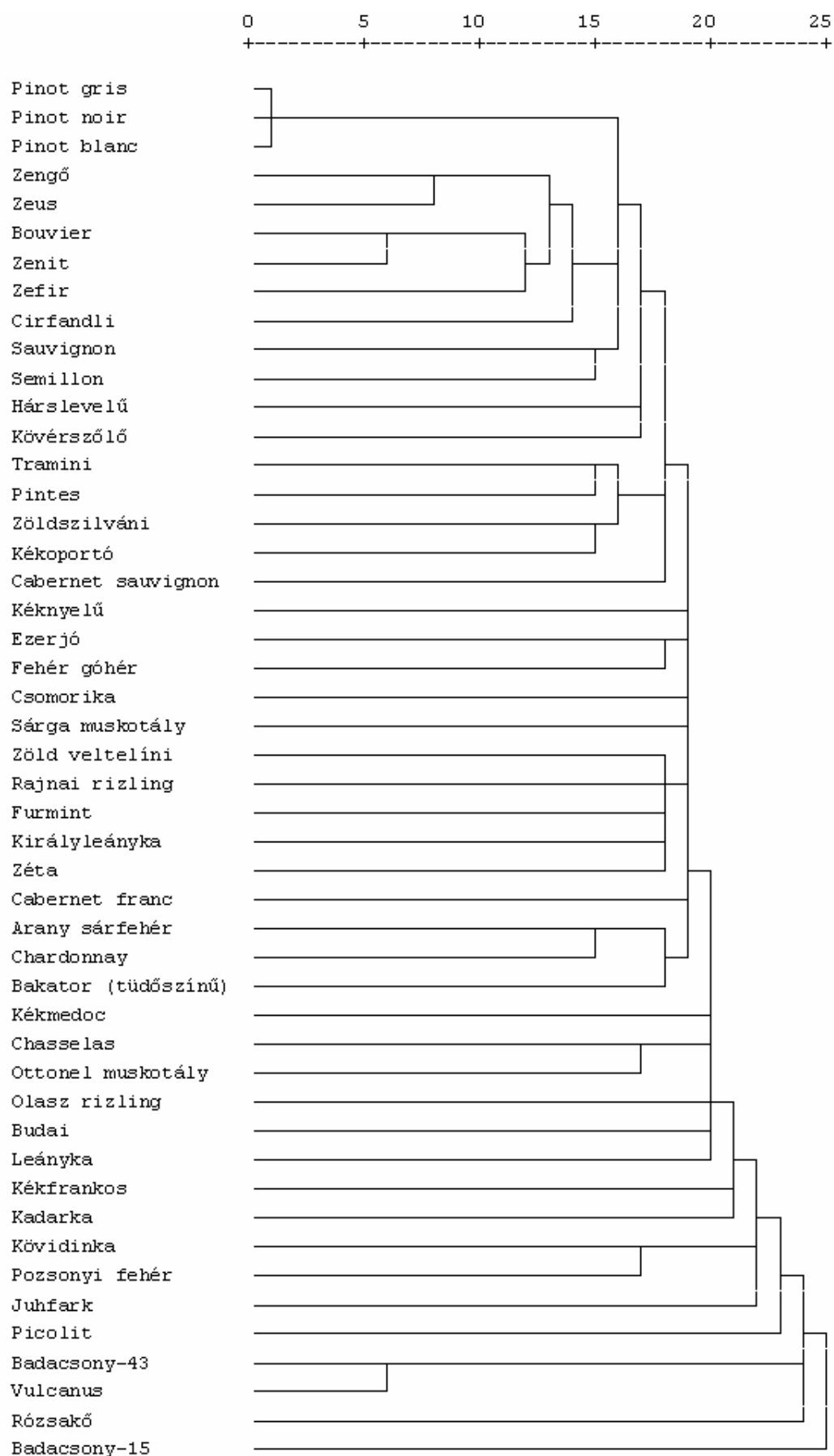
A kapott mikroszatellit eredmények alapján meghatároztam a vizsgált fajták hasonlósági koeficiensét (Jaccard index). A kapott eredményeket a **13. táblázat** tartalmazza. A hasonlósági index alapján rokonsági fát szerkesztettem (**13. ábra**).

13. táblázat: A vizsgált mikroszatellit primerekkel kapott eredmények alapján számított hasonlósági (Jaccard) index értékei

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1 Cabernet franc	1,0000	0,4286	0,0500	0,1053	0,1053	0,1053	0,1053	0,1667	0,1667	0,0500	0,2222	0,1579	0,0526	0,1000	0,2222	0,2222	0,1667	0,1579	0,1053	0,1500	0,0500	0,1579	0,0476	0,1000
2 Cabernet sauvignon	0,4286	1,0000	0,1875	0,2667	0,3571	0,3571	0,3571	0,4615	0,3571	0,2667	0,1765	0,2500	0,2857	0,2500	0,1765	0,1765	0,3571	0,1111	0,1875	0,2353	0,1875	0,2500	0,1111	0,1765
3 Círfandli	0,0500	0,1875	1,0000	0,1765	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333	0,4286	0,3333	0,2353	0,3125	0,5833	0,3125	0,1667	0,0500	0,3333	0,3125	0,1765	0,3750	0,3333	0,2353	0,1053	0,2353
4 Olasz rizling	0,1053	0,2667	0,1765	1,0000	0,1765	0,1765	0,1765	0,2500	0,2500	0,3333	0,4000	0,2353	0,2667	0,2353	0,1667	0,1667	0,1765	0,2353	0,2500	0,1000	0,2500	0,1053	0,0500	0,2353
5 Pinot blanc	0,1053	0,3571	0,3333	0,1765	1,0000	1,0000	1,0000	0,4286	0,2500	0,3333	0,1667	0,2353	0,4615	0,3125	0,1667	0,1053	0,3333	0,0500	0,2500	0,2222	0,1765	0,3125	0,1053	0,2353
6 Pinot gris	0,1053	0,3571	0,3333	0,1765	1,0000	1,0000	1,0000	0,4286	0,2500	0,3333	0,1667	0,2353	0,4615	0,3125	0,1667	0,1053	0,3333	0,0500	0,2500	0,2222	0,1765	0,3125	0,1053	0,2353
7 Pinot noir	0,1053	0,3571	0,3333	0,1765	1,0000	1,0000	1,0000	0,4286	0,2500	0,3333	0,1667	0,2353	0,4615	0,3125	0,1667	0,1053	0,3333	0,0500	0,2500	0,2222	0,1765	0,3125	0,1053	0,2353
8 Sauvignon	0,1667	0,4615	0,3333	0,2500	0,4286	0,4286	0,4286	1,0000	0,5385	0,3333	0,3125	0,2353	0,3571	0,2353	0,1667	0,1667	0,4286	0,1667	0,1111	0,2222	0,2500	0,2353	0,1053	0,1667
9 Semillon	0,1667	0,3571	0,4286	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500	0,5385	1,0000	0,3333	0,2353	0,3125	0,4615	0,3125	0,3125	0,1667	0,4286	0,1667	0,1111	0,2941	0,4286	0,2353	0,1053	0,2353
10 Traminer	0,0500	0,2667	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333	1,0000	0,3125	0,5000	0,4615	0,3125	0,0500	0,0500	0,5385	0,0500	0,3333	0,3750	0,1765	0,1667	0,1667	0,1667
11 Zöld veltelíni	0,2222	0,1765	0,2353	0,4000	0,1667	0,1667	0,1667	0,3125	0,2353	0,3125	1,0000	0,3750	0,1765	0,2941	0,1579	0,1579	0,3125	0,2941	0,3125	0,2105	0,1667	0,1579	0,1000	0,1579
12 Zöld szilváni	0,1579	0,2500	0,3125	0,2353	0,2353	0,2353	0,2353	0,2353	0,3125	0,5000	0,3750	1,0000	0,3333	0,3750	0,1000	0,2941	0,3125	0,1000	0,4000	0,5333	0,1667	0,1579	0,1579	0,1579
13 Bouvier	0,0526	0,2857	0,5833	0,2667	0,4615	0,4615	0,4615	0,3571	0,4615	0,4615	0,1765	0,3333	1,0000	0,4286	0,1765	0,0526	0,2667	0,1765	0,1875	0,3125	0,3571	0,2500	0,0526	0,1765
14 Zéta	0,1000	0,2500	0,3125	0,2353	0,3125	0,3125	0,3125	0,2353	0,3125	0,3125	0,2941	0,3750	0,4286	1,0000	0,1579	0,1000	0,1667	0,1579	0,2353	0,2105	0,4000	0,2222	0,1000	0,1579
15 Chasselas	0,2222	0,1765	0,1667	0,1667	0,1667	0,1667	0,1667	0,1667	0,3125	0,0500	0,1579	0,1000	0,1765	0,1579	1,0000	0,1579	0,1053	0,2222	0,2353	0,0455	0,2353	0,4667	0,1000	0,2222
16 Juhfark	0,2222	0,1765	0,0500	0,1667	0,1053	0,1053	0,1053	0,1667	0,1667	0,0500	0,1579	0,2941	0,0526	0,1000	0,1579	1,0000	0,1053	0,1000	0,1667	0,2105	0,0500	0,1000	0,1000	0,1000
17 Pintes	0,1667	0,3571	0,3333	0,1765	0,3333	0,3333	0,3333	0,4286	0,4286	0,5385	0,3125	0,3125	0,2667	0,1667	0,1053	0,1053	1,0000	0,0500	0,1765	0,2941	0,1765	0,1667	0,2353	0,1667
18 Leányka	0,1579	0,1111	0,3125	0,2353	0,0500	0,0500	0,0500	0,1667	0,1667	0,0500	0,2941	0,1000	0,1765	0,1579	0,2222	0,1000	0,0500	1,0000	0,1053	0,0952	0,1667	0,1000	0,1579	0,1579
19 Kékmedoc	0,1053	0,1875	0,1765	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500	0,1111	0,1111	0,3333	0,3125	0,4000	0,1875	0,2353	0,2353	0,1667	0,1765	0,1053	1,0000	0,2941	0,1111	0,4000	0,1053	0,1667
20 Kékoportó	0,1500	0,2353	0,3750	0,1000	0,2222	0,2222	0,2222	0,2941	0,3750	0,2105	0,5333	0,3125	0,2105	0,0455	0,2105	0,2941	0,0952	0,2941	1,0000	0,1579	0,2105	0,0952	0,0952	0,0952
21 Sárga muskotály	0,0500	0,1875	0,3333	0,2500	0,1765	0,1765	0,1765	0,2500	0,4286	0,1765	0,1667	0,1667	0,3571	0,4000	0,2353	0,0500	0,1765	0,1667	0,1111	0,1579	1,0000	0,1667	0,0500	0,1667
22 Ottonel muskotály	0,1579	0,2500	0,2353	0,1053	0,3125	0,3125	0,3125	0,2353	0,2353	0,1667	0,1579	0,1579	0,2500	0,2222	0,4667	0,1000	0,1667	0,1000	0,4000	0,2105	0,1667	1,0000	0,1579	0,2222
23 Arany sárfehér	0,0476	0,1111	0,1053	0,0500	0,1053	0,1053	0,1053	0,1053	0,1053	0,1667	0,1000	0,1579	0,0526	0,1000	0,1000	0,1000	0,2353	0,1579	0,1053	0,0952	0,0500	0,1579	1,0000	0,3750
24 Bakator (tüdőszínű)	0,1000	0,1765	0,2353	0,2353	0,2353	0,2353	0,2353	0,1667	0,2353	0,1667	0,1579	0,1579	0,1765	0,1579	0,2222	0,1000	0,1667	0,1579	0,1667	0,0952	0,1667	0,2222	0,3750	1,0000
25 Budai	0,1053	0,1176	0,1111	0,1765	0,1111	0,1111	0,1111	0,0526	0,1765	0,1111	0,1667	0,1667	0,1176	0,3125	0,3125	0,1053	0,1111	0,1667	0,1765	0,1000	0,2500	0,1667	0,1667	0,1667
26 Csomorika	0,1053	0,0556	0,0526	0,0000	0,0526	0,0526	0,0526	0,1765	0,1111	0,0000	0,0500	0,0500	0,0556	0,1667	0,1667	0,1667	0,0526	0,1667	0,0000	0,0000	0,1111	0,1053	0,2353	0,1053
27 Ezerjő	0,1111	0,1250	0,1176	0,1176	0,1176	0,1176	0,1176	0,1875	0,1875	0,1176	0,1765	0,1111	0,1250	0,1765	0,2500	0,1765	0,1176	0,2500	0,1176	0,0500	0,1176	0,2500	0,3333	0,3333
28 Fehér góhér	0,1667	0,1875	0,1765	0,1765	0,1765	0,1765	0,1765	0,2500	0,2500	0,1765	0,2353	0,1667	0,1875	0,3125	0,2353	0,1053	0,1765	0,1667	0,1765	0,1000	0,2500	0,2353	0,2353	0,3125
29 Furmint	0,2778	0,1667	0,1000	0,1579	0,1000	0,1000	0,1000	0,1579	0,2222	0,1579	0,4375	0,2778	0,1053	0,4375	0,2105	0,2105	0,1579	0,2778	0,1579	0,1429	0,2222	0,1500	0,2105	0,1500
30 Hárslevelű	0,2222	0,3333	0,3125	0,3125	0,2353	0,2353	0,2353	0,3125	0,4000	0,1667	0,3750	0,2941	0,3333	0,2941	0,2941	0,2941	0,2353	0,3750	0,2353	0,2778	0,3125	0,2222	0,1579	0,2222
31 Kadarka	0,0455	0,0500	0,1579	0,0476	0,0476	0,0476	0,0476	0,1000	0,1579	0,0000	0,0455	0,0455	0,1053	0,1500	0,2105	0,0952	0,0476	0,1500	0,0000	0,0909	0,1579	0,2105	0,2778	0,3529
32 Kéknyelű	0,1667	0,1875	0,2500	0,1765	0,3333	0,3333	0,3333	0,2500	0,2500	0,1765	0,1667	0,1667	0,3571	0,1667	0,4000	0,2353	0,1111	0,1667	0,1765	0,1579	0,1765	0,4000	0,0500	0,1667
33 Kövidinka	0,1667	0,1176	0,1111	0,2500	0,0526	0,0526	0,0526	0,1765	0,1765	0,1111	0,3125	0,3125	0,1176	0,1667	0,1667	0,3125	0,0526	0,1667	0,1765	0,2222	0,1111	0,1053	0,1053	0,2353
34 Királyleányka	0,2222	0,1765	0,1053	0,2353	0,0500	0,0500	0,0500	0,1667	0,1667	0,1053	0,3750	0,2941	0,1111	0,3750	0,1579	0,2222	0,0500	0,3750	0,1667	0,0952	0,1667	0,1000	0,1000	0,1000
35 Kövorszőlő	0,1000	0,1765	0,2353	0,1053	0,1667	0,1667	0,1667	0,2353	0,3125	0,1053	0,1000	0,1579	0,2500	0,2222	0,2222	0,2222	0,1667	0,2222	0,1053	0,2105	0,2353	0,1579	0,1579	0,2222
36 Kékfrankos	0,0952	0,1053	0,1579	0,1579	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1579	0,0476	0,0952	0,0952	0,1053	0,0952	0,1500	0,1500	0,1000	0,1500	0,1000	0,2000	0,2222	0,1500	0,2105	0,2105
37 Picolit	0,1765	0,2000	0,1875	0,1176	0,1875	0,1875	0,1875	0,1176	0,1875	0,1875	0,0526	0,1765	0,2857	0,1765	0,1111	0,1765	0,2667	0,0526	0,0556	0,1667	0,1176	0,0526	0,0000	0,0526
38 Pozsonyi fehér	0,0952	0,0500	0,1000	0,2222	0,0476	0,0476	0,0476	0,1000	0,1000	0,1000	0,1500	0,1500	0,1053	0,1500	0,0952	0,1500	0,0476	0,1500	0,1000	0,1429	0,1579	0,0455	0,0952	0,2778
39 Rajnai rizling	0,1500	0,1667	0,1579	0,2222	0,1579	0,1579	0,1579	0,2222	0,1579	0,2941	0,4375	0,2105	0,1053	0,2778	0,0952	0,0952	0,3750	0,2105	0,1579	0,1429	0,1579	0,1500	0,3529	0,1500
40 Chardonnay	0,0952	0,1667	0,2222	0,1000	0,3750	0,3750	0,3750	0,2222	0,1579	0,2222	0,1500	0,2105	0,1667	0,2105	0,1500	0,1500	0,2941	0,0952	0,1579	0,1429	0,1000	0,2778	0,5333	0,4375
41 Zenit	0,1000	0,3333	0,5000	0,2353	0,5000	0,5000	0,5000	0,5000	0,5000	0,4000	0,1579	0,2941	0,8182	0,3750	0,2222	0,1000	0,3125	0,2222	0,1667	0,2778	0,3125	0,2941	0,1000	0,2222
42 Zengő	0,1053	0,1875	0,4286	0,1765	0,3333	0,3333	0,3333	0,2500	0,4286	0,2500	0,1667	0,2353	0,5833	0,3125	0,3125	0,1667	0,2500	0,1667	0,1765	0,2222	0,2500	0,4000	0,1667	0,3125
43 Zefir	0,0526	0,2857	0,3571	0,2667	0,4615	0,4615	0,4615	0,2667	0,2667	0,3571	0,1111	0,2500	0,6364	0,3333	0,1111	0,0526	0,1875	0,1111	0,1875	0,2353	0,3571	0,1765	0,0526	0,1765
44 Zeus	0,1000	0,2500	0,5000	0,1667</																				

13. táblázat (folytatás): A vizsgált mikroszatellit primerekkel kapott eredmények alapján számított hasonlósági (Jaccard) index értékei

	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
1 Cabernet franc	0,1053	0,1053	0,1111	0,1667	0,2778	0,2222	0,0455	0,1667	0,1667	0,2222	0,1000	0,0952	0,1765	0,0952	0,1500	0,0952	0,1000	0,1053	0,0526	0,1000	0,0476	0,1111	0,1053	0,1000
2 Cabernet sauvignon	0,1176	0,0556	0,1250	0,1875	0,1667	0,3333	0,0500	0,1875	0,1176	0,1765	0,1765	0,1053	0,2000	0,0500	0,1667	0,1667	0,3333	0,1875	0,2857	0,2500	0,1111	0,1250	0,1176	0,1111
3 Círfandli	0,1111	0,0526	0,1176	0,1765	0,1000	0,3125	0,1579	0,2500	0,1111	0,1053	0,2353	0,1579	0,1875	0,1000	0,1579	0,2222	0,5000	0,4286	0,3571	0,5000	0,0500	0,0000	0,1111	0,0000
4 Olasz rizling	0,1765	0,0000	0,1176	0,1765	0,1579	0,3125	0,0476	0,1765	0,2500	0,2353	0,1053	0,1579	0,1176	0,2222	0,2222	0,1000	0,2353	0,1765	0,2667	0,1667	0,0000	0,0556	0,0000	0,0500
5 Pinot blanc	0,1111	0,0526	0,1176	0,1765	0,1000	0,2353	0,0476	0,3333	0,0526	0,0500	0,1667	0,1000	0,1875	0,0476	0,1579	0,3750	0,5000	0,3333	0,4615	0,3125	0,1053	0,0556	0,1111	0,0500
6 Pinot gris	0,1111	0,0526	0,1176	0,1765	0,1000	0,2353	0,0476	0,3333	0,0526	0,0500	0,1667	0,1000	0,1875	0,0476	0,1579	0,3750	0,5000	0,3333	0,4615	0,3125	0,1053	0,0556	0,1111	0,0500
7 Pinot noir	0,1111	0,0526	0,1176	0,1765	0,1000	0,2353	0,0476	0,3333	0,0526	0,0500	0,1667	0,1000	0,1875	0,0476	0,1579	0,3750	0,5000	0,3333	0,4615	0,3125	0,1053	0,0556	0,1111	0,0500
8 Sauvignon	0,0526	0,1765	0,1875	0,2500	0,1579	0,3125	0,1000	0,2500	0,1765	0,1667	0,2353	0,1000	0,1176	0,1000	0,2222	0,2222	0,5000	0,2500	0,2667	0,3125	0,1667	0,0556	0,2500	0,0500
9 Semillon	0,1765	0,1111	0,1875	0,2500	0,2222	0,4000	0,1579	0,2500	0,1765	0,1667	0,3125	0,1579	0,1875	0,1000	0,1579	0,1579	0,5000	0,4286	0,2667	0,5000	0,1053	0,0000	0,1111	0,0000
10 Traminer	0,1111	0,0000	0,1176	0,1765	0,1579	0,1667	0,0000	0,1765	0,1111	0,1053	0,1053	0,0476	0,1875	0,1000	0,2941	0,2222	0,4000	0,2500	0,3571	0,3125	0,1053	0,0000	0,0526	0,0000
11 Zöld veltelíni	0,1667	0,0500	0,1765	0,2353	0,4375	0,3750	0,0455	0,1667	0,3125	0,3750	0,1000	0,0952	0,0526	0,1500	0,4375	0,1500	0,1579	0,1667	0,1111	0,1579	0,0476	0,0526	0,1053	0,0476
12 Zöld szilváni	0,1667	0,0500	0,1111	0,1667	0,2778	0,2941	0,0455	0,1667	0,3125	0,2941	0,1579	0,0952	0,1765	0,1500	0,2105	0,2105	0,2941	0,2353	0,2500	0,2941	0,1000	0,0000	0,1053	0,0000
13 Bouvier	0,1176	0,0556	0,1250	0,1875	0,1053	0,3333	0,1053	0,3571	0,1176	0,1111	0,2500	0,1053	0,2857	0,1053	0,1053	0,1667	0,8182	0,5833	0,6364	0,5385	0,0526	0,0588	0,0556	0,0526
14 Zéta	0,3125	0,1667	0,1765	0,3125	0,4375	0,2941	0,1500	0,1667	0,1667	0,3750	0,2222	0,0952	0,1765	0,1500	0,2778	0,2105	0,3750	0,3125	0,3333	0,2941	0,0476	0,1111	0,0500	0,1000
15 Chasselas	0,3125	0,1667	0,2500	0,2353	0,2105	0,2941	0,2105	0,4000	0,1667	0,1579	0,2222	0,1500	0,1111	0,0952	0,0952	0,1500	0,2222	0,3125	0,1111	0,2941	0,0476	0,0526	0,0000	0,0476
16 Juhfark	0,1053	0,1667	0,1765	0,1053	0,2105	0,2941	0,0952	0,2353	0,3125	0,2222	0,2222	0,1500	0,1765	0,1500	0,0952	0,1500	0,1000	0,1667	0,0526	0,1579	0,1000	0,0000	0,0500	0,0000
17 Pintes	0,1111	0,0526	0,1176	0,1765	0,1579	0,2353	0,0476	0,1111	0,0526	0,0500	0,1667	0,1000	0,2667	0,0476	0,3750	0,2941	0,3125	0,2500	0,1875	0,3125	0,1667	0,0556	0,1111	0,0500
18 Leányka	0,1667	0,1667	0,2500	0,1667	0,2778	0,3750	0,1500	0,1667	0,1667	0,3750	0,2222	0,1500	0,0526	0,1500	0,2105	0,0952	0,2222	0,1667	0,1111	0,2222	0,1000	0,1111	0,1053	0,1000
19 Kékmedoc	0,1765	0,0000	0,1176	0,1765	0,1579	0,2353	0,0000	0,1765	0,1765	0,1667	0,1053	0,1000	0,0556	0,1000	0,1579	0,1579	0,1667	0,1765	0,1875	0,1667	0,1667	0,0000	0,0000	0,0500
20 Kékportó	0,1000	0,0000	0,0500	0,1000	0,1429	0,2778	0,0909	0,1579	0,2222	0,0952	0,2105	0,2000	0,1667	0,1429	0,1429	0,1429	0,2778	0,2222	0,2353	0,2778	0,1500	0,0000	0,1000	0,0000
21 Sárga muskotály	0,2500	0,1111	0,1176	0,2500	0,2222	0,3125	0,1579	0,1765	0,1111	0,1667	0,2353	0,2222	0,1176	0,1579	0,1579	0,1000	0,3125	0,2500	0,3571	0,3125	0,0500	0,0000	0,0526	0,0000
22 Ottonel muskotály	0,1667	0,1053	0,2500	0,2353	0,1500	0,2222	0,2105	0,4000	0,1053	0,1000	0,1579	0,1500	0,0526	0,0455	0,1500	0,2778	0,2941	0,4000	0,1765	0,3750	0,1000	0,0526	0,0000	0,1000
23 Arany sárfelhő	0,1667	0,2353	0,3333	0,2353	0,2105	0,1579	0,2778	0,0500	0,1053	0,1000	0,1579	0,2105	0,0000	0,0952	0,3529	0,5333	0,1000	0,1667	0,0526	0,2222	0,1579	0,0000	0,0000	0,0000
24 Bakator (tüdőszínű)	0,1667	0,1053	0,3333	0,3125	0,1500	0,2222	0,3529	0,1667	0,2353	0,1000	0,2222	0,2105	0,0526	0,2778	0,1500	0,4375	0,2222	0,3125	0,1765	0,2941	0,0476	0,0000	0,0000	0,0000
25 Budai	1,0000	0,1111	0,1176	0,1111	0,3750	0,1667	0,2222	0,1765	0,0526	0,2353	0,1667	0,1579	0,0556	0,1579	0,3750	0,1579	0,1053	0,1765	0,1176	0,1667	0,0500	0,0556	0,0000	0,0500
26 Csomorika	0,1111	1,0000	0,3571	0,4286	0,2941	0,1667	0,2941	0,1765	0,1111	0,1667	0,2353	0,2222	0,1176	0,2222	0,1000	0,1579	0,1667	0,1765	0,0000	0,2353	0,1667	0,1176	0,1111	0,1053
27 Ezerjő	0,1176	0,3571	1,0000	0,4615	0,3125	0,2500	0,2353	0,2667	0,2667	0,2500	0,2500	0,1667	0,1250	0,1667	0,1667	0,3125	0,1765	0,3571	0,0588	0,4286	0,1111	0,0000	0,0000	0,0000
28 Fehér góhér	0,1111	0,4286	0,4615	1,0000	0,2941	0,2353	0,2222	0,1765	0,2500	0,3125	0,1667	0,2222	0,1176	0,2941	0,2222	0,2941	0,2353	0,2500	0,1176	0,2353	0,1667	0,0556	0,0526	0,0500
29 Furmint	0,3750	0,2941	0,3125	0,2941	1,0000	0,3529	0,2000	0,2222	0,2222	0,4375	0,2778	0,2000	0,0500	0,2000	0,3333	0,1429	0,1500	0,1579	0,0500	0,2105	0,0952	0,0500	0,0476	0,0455
30 Hárslevelű	0,1667	0,1667	0,2500	0,2353	0,3529	1,0000	0,1500	0,3125	0,2353	0,2222	0,4667	0,3529	0,1111	0,1500	0,1500	0,1500	0,3750	0,3125	0,2500	0,4667	0,1579	0,0526	0,0500	0,0476
31 Kadarka	0,2222	0,2941	0,2353	0,2222	0,2000	0,1500	1,0000	0,1579	0,1579	0,1500	0,3529	0,2632	0,0000	0,2000	0,1429	0,2632	0,1500	0,2222	0,0500	0,2105	0,0455	0,0000	0,0000	0,0455
32 Kéknyelű	0,1765	0,1765	0,2667	0,1765	0,2222	0,3125	0,1579	1,0000	0,1765	0,1053	0,2353	0,1579	0,1176	0,1579	0,0476	0,1579	0,4000	0,4286	0,2667	0,4000	0,0500	0,0556	0,0000	0,0500
33 Kövidinka	0,0526	0,1111	0,2667	0,2500	0,2222	0,2353	0,1579	0,1765	1,0000	0,3125	0,1667	0,0476	0,1176	0,4667	0,0476	0,1579	0,1053	0,1111	0,0556	0,1053	0,0000	0,0000	0,0526	0,0000
34 Királyleányka	0,2353	0,1667	0,2500	0,3125	0,4375	0,2222	0,1500	0,1053	0,3125	1,0000	0,1579	0,0455	0,0526	0,1500	0,3529	0,1500	0,1000	0,1053	0,0526	0,1000	0,0476	0,0526	0,1053	0,0476
35 Köversonyő	0,1667	0,2353	0,2500	0,1667	0,2778	0,4667	0,3529	0,2353	0,1667	0,1579	1,0000	0,2105	0,1111	0,1500	0,0952	0,1500	0,2941	0,2353	0,1765	0,3750	0,1579	0,0000	0,0500	0,0476
36 Kékfrankos	0,1579	0,2222	0,1667	0,2222	0,2000	0,3529	0,2632	0,1579	0,0476	0,0455	0,2105	1,0000	0,0000	0,2000	0,1429	0,1429	0,1500	0,2222	0,1053	0,2778	0,2105	0,0500	0,0476	0,0455
37 Picolit	0,0556	0,1176	0,1250	0,1176	0,0500	0,1111	0,0000	0,1176	0,1176	0,0526	0,1111	0,0000	1,0000	0,1053	0,0500	0,0500	0,2500	0,2667	0,2000	0,2500	0,1111	0,1250	0,0556	0,1111
38 Pozsonyi fehér	0,1579	0,2222	0,1667	0,2941	0,2000	0,1500	0,2000	0,1579	0,4667	0,1500	0,1500	0,2000	0,1053	1,0000	0,0909	0,1429	0,1500	0,1000	0,1053	0,0952	0,0952	0,1667	0,1579	0,1500
39 Rajnai rizling	0,3750	0,1000	0,1667	0,2222	0,3333	0,1500	0,1429	0,0476	0,0476	0,3529	0,0952	0,1429	0,0500	0,0909	1,0000	0,4118	0,0952	0,1579	0,1053	0,1500	0,0952	0,0500	0,1000	0,0455
40 Chardonnay	0,1579	0,1579	0,3125	0,2941	0,1429	0,1500	0,2632	0,1579	0,1579	0,1500	0,1500	0,1429	0,0500	0,1429	0,4118	1,0000	0,2105	0,2941	0,1667	0,2778	0,0952	0,0000	0,0476	0,0000
41 Zenit	0,1053	0,1667	0,1765	0,2353	0,1500	0,3750	0,1500	0,4000	0,1053	0,1000	0,2941	0,1500	0,2500	0,1500	0,0952	0,2105	1,0000	0,6154	0,5385	0,5714	0,1579	0,1111	0,1053	0,1000
42 Zengő	0,1765	0,1765	0,3571	0,2500	0,1579	0,3125	0,2222	0,4286	0,1111	0,1053	0,2353	0,2222	0,2667	0,1000	0,1579	0,2941	0,6154	1,0000	0,3571	0,7500	0,0500	0,0556	0,0000	0,0500
43 Zefir	0,1176	0,0000	0,0588	0,1176	0,0500	0,2500	0,0500	0,2667	0,0556	0,0526	0,1765	0,1053	0,2000	0,1053	0,1053	0,1667	0,5385	0,3571	1,0000	0,3333	0,0526	0,0588	0,0556	0,0526
44 Zeus	0,1667	0,2353	0,42																					



13. ábra: A vizsgált fajták dendrogrammja mikroszatellit eredmények alapján

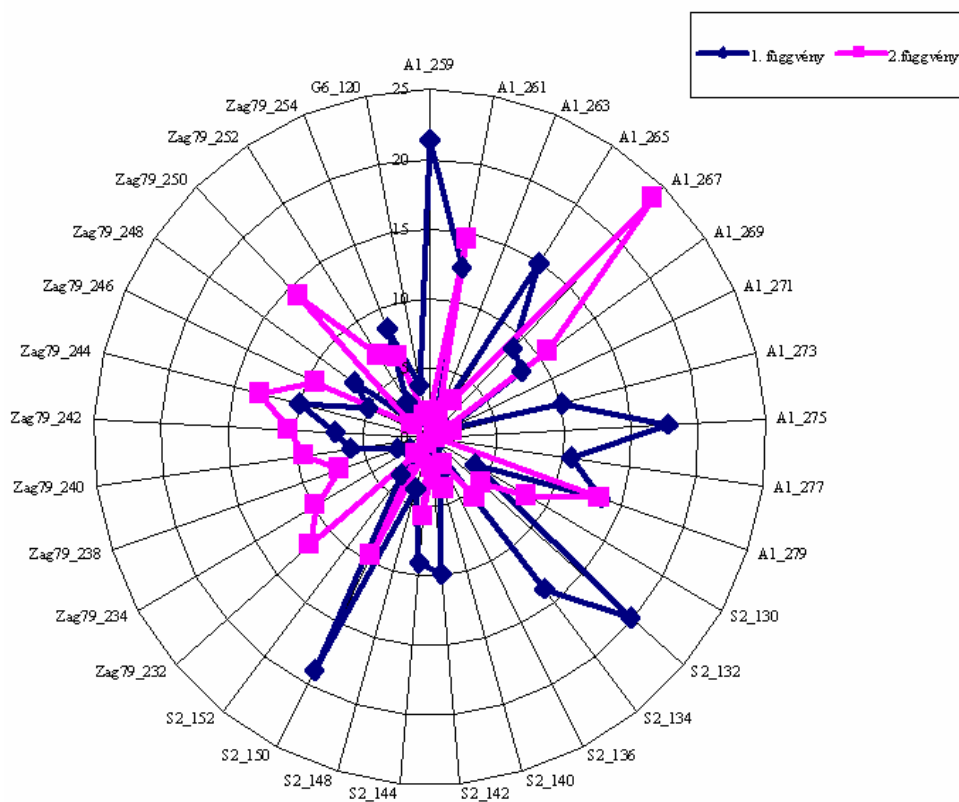
Az eredményekből rajzolt dendrogramm alapján nem fedezhetők fel egyértelmű csoportok a fajták földrajzi-ökológiai fajtacsoportba való tartozása szerint, de az egy csoportba tartozó fajták általában közelebb találhatók egymáshoz, mint más fajtákhoz. Megállapítható, hogy az olasz Picolit fajta a vizsgált fajtáktól, így a Kéknyelűtől is elkülönül.

Annak kiderítésére, hogy a fenotípusosan megjelenő tulajdonságok és az SSR vizsgálatokkal nyert eredmények között van-e összefüggés, megvizsgáltam, hogy a fajták származási csoportba való tartozása és a mikroszatellit alléljaik mutatnak-e összefüggést, illetve csupán SSR tulajdonságok alapján megállapítható-e, hogy egy fajta melyik convarietasba tartozik.

Ennek eldöntésére az izoenzim vizsgálatnál leírtakkal azonos módszerrel klaszteranalízist végeztem az SPSS 14.0-a számítógépes statisztikai elemző program segítségével.

A program két függvény alapján elkülönítette a vizsgált fajtákat. A függvények együtthatóit a következő táblázat tartalmazza:

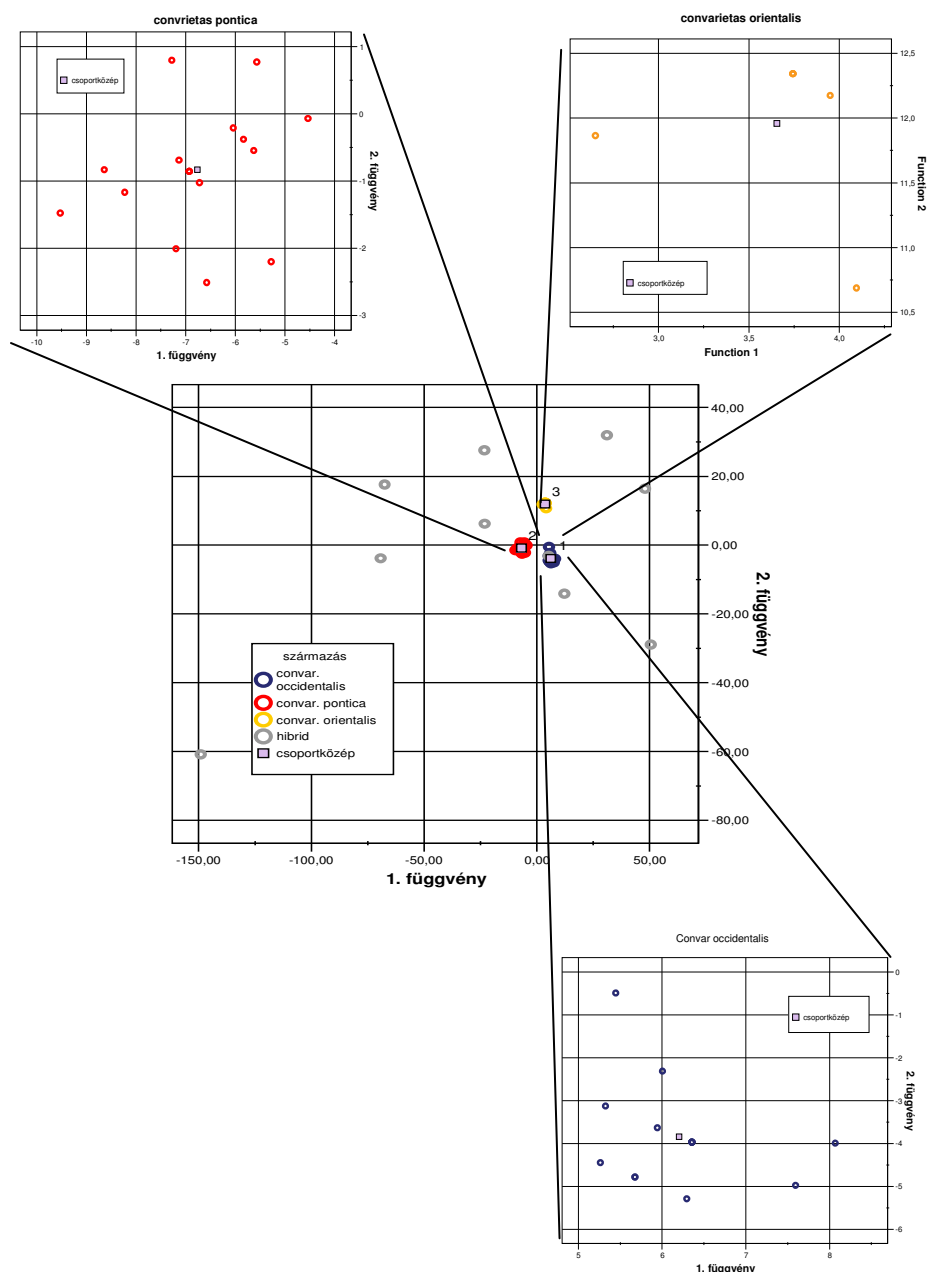
	1. függvény	2. függvény
A1_259	21,4194	1,8288
A1_261	-12,4514	-14,5231
A1_263	1,2478	-1,7843
A1_265	14,9329	3,0953
A1_267	-8,9014	-23,9478
A1_269	8,2938	-10,7519
A1_271	1,3955	0,7284
A1_273	-10,1195	-1,7277
A1_275	17,7180	-0,3332
A1_277	-10,5834	0,5024
A1_279	13,4671	-13,3584
S2_130	-3,8774	-8,3379
S2_132	-19,7683	-5,0178
S2_134	-13,8248	-5,4587
S2_136	0,7726	2,2021
S2_140	2,6691	-3,8485
S2_142	9,8352	2,2024
S2_144	-9,0415	-5,6961
S2_148	3,8154	0,5287
S2_150	-18,8100	-9,5462
S2_152	3,4535	-1,5079
Zag79232	1,7163	11,7595
Zag79_234	1,7417	9,7471
Zag79_238	2,5018	7,0589
Zag79_240	5,9074	9,4623
Zag79_242	6,9902	10,4882
Zag79_244	9,9572	12,9661
Zag79_246	-5,0481	9,3746
Zag79_248	-6,8338	-1,5349
Zag79_250	-1,5089	14,0806
Zag79_252	-3,0239	7,0010
Zag79_254	8,4632	6,2634
G6_120	3,8497	-1,5183



14. ábra: A diszkriminancia függvények együtthatóinak grafikus ábrázolása

Az egyes mikroszatellit allélok és a convarietasba való tartozás közötti konkrét összefüggés vizsgálatára a nagy együtthatók esetén elvégeztem az összefüggésvizsgálatot χ^2 próba segítségével. A legmagasabb χ^2 értékeket a következő esetekben kaptam: VMC4A1-259-es allél és convar. pontica: 2,64, valamint VMC4A1-275-ös allél és convar. orientalis: 3,59. Az adott esetben érvényes kritikus χ^2 érték: 3,84, mindkét esetben magasabb, mint a számolt érték, tehát ezekben az esetekben az összefüggést 95%-os valószínűségi szinten nem lehet kimutatni.

Az egyes convarietasok elkülönülését a két diszkriminanciafüggvény alapján a **15. ábra** tartalmazza. Az egyes részabrákon a három csoport külön látható. Néhány fajtát az ábrán nem lehet egymástól elkülöníteni azért mert azoknak vagy minden mikroszatellit lókuszban azonos a genotípusuk (Pinot fajták), vagy olyan közel esnek egymáshoz, hogy egy pontnak látszanak. Az ábráról jól látható, hogy az egyes csoportok ugyan jól elkülönülnek egymástól, de a csoportok középpontjai közel vannak egymáshoz, míg a csoportba nem sorolt intraspecifikus hibrid fajták igen messze találhatók egymástól. Ennek az a magyarázata, hogy a mikroszatellit lókuszokban olyan nagy a variabilitás, hogy az adatok kombinációjából szinte bármilyen csoportosítás lehetséges. Ugyanakkor az a tény, hogy a csoportok egyértelműen elkülönülnek egymástól arra enged következtetni, hogy a földrajzi-ökológiai fajtacsoportoknak lehet genetikai alapja.



15. ábra: *Vitis vinifera* L. fajták származási csoportjainak elkülönülése mikroszatellit eredmények alapján

A kapott eredmények tanulmányozása során feltűnt, hogy a 'Szürkebarát' fajta a megismételt vizsgálatok során a VMC4A1-es primerrel minden esetben 2 helyett 4 fragmenshosszot adott, két olyan allélt tartalmazott, mint a vele közeli rokonságban álló Pinot blanc (267,275), és két további allélt, melyeknél a fragmenshosszok 2 bp-ral rövidebbek voltak (265,273). Bár az elemzéseknél a Pinot blanc-nal egyező alléleket vettem figyelembe, de a további két allél minden esetben képződött a PCR reakció során, ezt a két fajta összehasonlításánál mindenképpen figyelembe kell venni. Mindezek alapján eredményeimből megállapítható, hogy az általam használt 6 primer segítségével a vizsgált 48 fajta többsége elkülöníthető egymástól.

5.5. Izoenzim és mikroszatellit eredmények összegző értékelése

A kétféle molekuláris markerrel kapott adatok pontosabban mutatják a fajták hasonlóságát, illetve különbözőségét. Ezt figyelembe véve a kapott eredményeket összevontan is értékeltem.

A diszkriminancia analízist a két genetikai markerrel kapott adatok összevonásával is elvégeztem, de mivel a variabilitás a mikroszatellit markerekkel sokkal nagyobb volt, így a program a besorolásnál csak ezeket vette figyelembe. A két markerrel külön-külön végzett diszkriminancia elemzés során a program a convarietasba nem sorolt hibrid fajták besorolását is elvégezte a kapott eredményeket a **14. táblázat** tartalmazza.

14. táblázat: A vizsgált fajták besorolása izoenzim, illetve mikroszatellit eredmények alapján

	izoenzim		mikroszatellit	
	eredeti	számolt	eredeti	számolt
Cabernetfranc	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Cabernetsauvignon	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Cirfandli	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Olaszrizling	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Pinotblanc	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Pinotgris	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Pinotnoir	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Sauvignon	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Semillon	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Tramini	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Zöldveltelíni	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Zöldszilváni	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Bouvier	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Zéta	pontica	pontica	pontica	pontica
Chasselas	orientalis	occidentalis	orientalis	orientalis
Juhfark	orientalis	occidentalis	orientalis	orientalis
Pintes	pontica	pontica	pontica	pontica
Leányka	orientalis	orientalis	orientalis	orientalis
Kékmedoc	orientalis	orientalis	orientalis	orientalis
Kékoportó	orientalis	orientalis	orientalis	orientalis
Sárgamuskotály	pontica	pontica	pontica	pontica
Ottonelmuskotály	hibrid	pontica	hibrid	pontica
Aranysárfehér	pontica	pontica	pontica	pontica
Bakator(tüdőszínű)	pontica	pontica	pontica	pontica
Budai	pontica	occidentalis	pontica	pontica
Csomorika	pontica	pontica	pontica	pontica
Ezerjő	pontica	orientalis	pontica	pontica
Fehérgóhér	pontica	pontica	pontica	pontica
Furmint	pontica	pontica	pontica	pontica
Hárslevelű	pontica	pontica	pontica	pontica
Kadarka	pontica	pontica	pontica	pontica

15. táblázat: A vizsgált fajták besorolása izoenzim, illetve mikroszatellit eredmények alapján (folytatás)

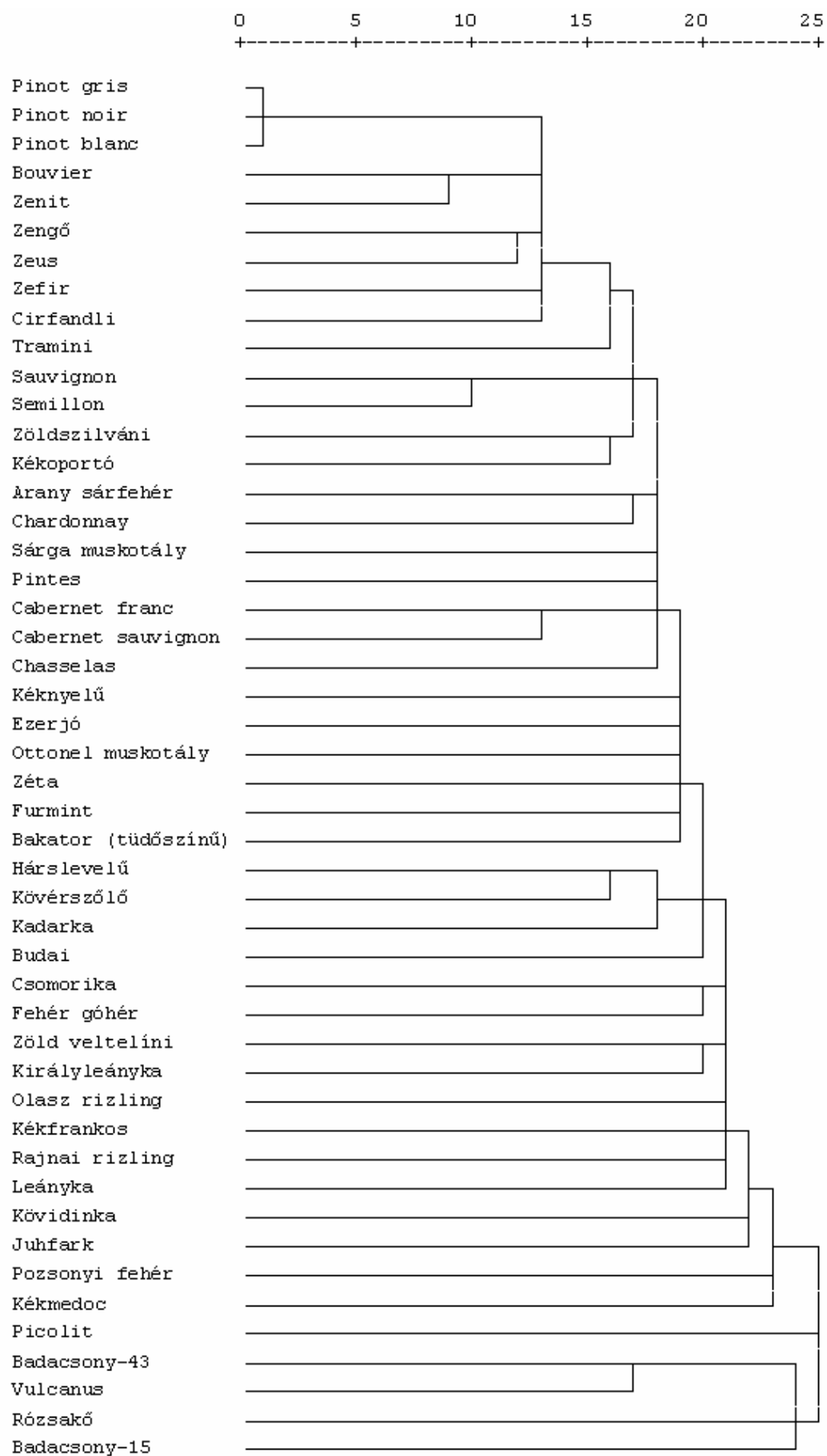
	izoenzim		mikroszatellit	
	eredeti	számolt	eredeti	számolt
Kéknyelű	pontica	pontica	pontica	pontica
Kövidinka	pontica	pontica	pontica	pontica
Királyleányka	hibrid	orientalis	hibrid	orientalis
Kövérszőlő	pontica	pontica	pontica	pontica
Kékfrankos	orientalis	orientalis	orientalis	orientalis
Picolit	pontica	pontica	pontica	pontica
Pozsonyifehér	pontica	pontica	pontica	pontica
Rajnairizling	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Chardonnay	occidentalis	occidentalis	occidentalis	occidentalis
Zenit	hibrid	occidentalis	hibrid	occidentalis
Zengő	hibrid	orientalis	hibrid	orientalis
Zefir	hibrid	occidentalis	hibrid	pontica
Zeus	hibrid	occidentalis	hibrid	occidentalis
Badacsony-15	hibrid	orientalis	hibrid	pontica
Badacsony-43	hibrid	orientalis	hibrid	orientalis
Rózsakő	hibrid	occidentalis	hibrid	occidentalis
Vulcanus	hibrid	occidentalis	hibrid	pontica

Néhány fajtánál az izoenzimes vizsgálatok alapján a diszkriminancia analízis eredménye és az eredeti besorolás nem egyezik (Chasselas, Juhfark, Budai, Ezerjő), a táblázatban ezeket aláhúzással jelöltem. Ezeknél a fajtáknál valószínűleg ez azért fordulhatott elő, mert az adott fajták esetleg nem tiszta fajták, hanem eredetileg hibrid eredetűek, csak a szülőfajták identifikálására nem került még sor.

A hibrid fajták besorolását mindkét marker eredményei alapján elvégeztem. A kétféle marker a legtöbb esetben azonos eredményt adott (hét a tízből), abban az esetben ahol a hibrid fajták szüleit ismerjük, és a kétféle besorolás eltér, ott általában az egyik marker az egyik szülőhöz, míg a másik marker a másik szülőhöz tette közelebb az adott fajtát, kivéve a Badacsony-15 jelű fajtajelölt esetében.

Kiszámoltam a két eredmény összevonásával a hasonlósági (Jaccard) indexeket (**16. táblázat**), és dendrogrammot rajzoltam (**16. ábra**). A kapott eredmények alapján ebben az esetben még szembetűnőbb, hogy a 'Picolit' fajta mennyire eltér a többi vizsgált fajtától. Ez arra enged következtetni, hogy a fajták földrajzi elterjedése, és genetikai hátterük között összefüggés lehet. Különösen igaz lehet ez a feltételezés az autochton fajtákra (tájfajtákra), mint amilyen a Badacsonyi borvidéken a 'Kéknyelű', vagy az olasz Friuli-Venesia Borvidéken a 'Picolit'. A tájfajtáknál azért lehet ez a tulajdonság erőteljesebb, mert azok az adott termőhelyhez adaptálódtak, ezért természetük őket csak egy meghatározott területen.

A diszkriminancia analízis és a klaszteranalízis eredményei alapján egyértelműen megállapítható, hogy a fajták származása (*convarietas*ba való tartozása) és genetikai markerekkel kapott eredményeik összefüggnek egymással, ami megerősíti azt a feltételezést, hogy a *convarietas*ok kialakításának szilárd genetikai alapjai lehetnek.



16. ábra: A vizsgált fajták dendrogrammja izoenzim és mikroszatellit eredmények alapján

16. táblázat: Izoenzim és mikroszatellit eredmények alapján számolt hasonlósági index értékek (Jaccard index alapján)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	Cabernet franc	1,0000	0,7333	0,4103	0,3784	0,4211	0,4211	0,4211	0,4737	0,4737	0,3684	0,4737	0,4865	0,4167	0,3947	0,5000	0,4865	0,5143	0,4444	0,3784	0,4324	0,3846	0,4444	0,3659	0,3659
2	Cabernet sauvignon	0,7333	1,0000	0,5143	0,4848	0,5758	0,5758	0,5758	0,6364	0,5882	0,5152	0,4595	0,5588	0,5806	0,5000	0,4865	0,4722	0,6452	0,4286	0,4412	0,5000	0,4857	0,5152	0,4211	0,4211
3	Cirfandli	0,4103	0,5143	1,0000	0,4857	0,5714	0,5714	0,5714	0,5405	0,5833	0,5588	0,5000	0,6471	0,7333	0,5882	0,4872	0,4000	0,5882	0,5143	0,4054	0,5882	0,4865	0,4722	0,4615	0,4615
4	Olasz rizling	0,3784	0,4848	0,4857	1,0000	0,4571	0,4571	0,4571	0,4571	0,4571	0,4571	0,4722	0,4722	0,5806	0,5588	0,5294	0,5484	0,4706	0,4211	0,4444	0,4286	0,4848	0,4118	0,3889	0,3947
5	Pinot blanc	0,4211	0,5758	0,5714	0,4571	1,0000	1,0000	1,0000	0,6000	0,5135	0,5758	0,5556	0,5278	0,7000	0,5143	0,5405	0,5278	0,5588	0,3333	0,5000	0,4722	0,4595	0,5294	0,4737	0,4737
6	Pinot gris	0,4211	0,5758	0,5714	0,4571	1,0000	1,0000	1,0000	0,6000	0,5135	0,5758	0,5556	0,5278	0,7000	0,5143	0,5405	0,5278	0,5588	0,3333	0,5000	0,4722	0,4595	0,5294	0,4737	0,4737
7	Pinot noir	0,4211	0,5758	0,5714	0,4571	1,0000	1,0000	1,0000	0,6000	0,5135	0,5758	0,5556	0,5278	0,7000	0,5143	0,5405	0,5278	0,5588	0,3333	0,5000	0,4722	0,4595	0,5294	0,4737	0,4737
8	Sauvignon	0,4737	0,6364	0,5405	0,4722	0,6000	0,6000	0,6000	1,0000	0,8125	0,5429	0,5676	0,5000	0,5143	0,4103	0,5128	0,4615	0,5714	0,4211	0,3947	0,4474	0,5556	0,4595	0,4500	0,4872
9	Semillon	0,4737	0,5882	0,5833	0,4722	0,5135	0,5135	0,5135	0,8125	1,0000	0,5429	0,5263	0,5405	0,5588	0,4474	0,5946	0,4615	0,5714	0,4211	0,3947	0,4865	0,6471	0,4595	0,4500	0,5263
10	Tramini	0,3684	0,5152	0,5588	0,5806	0,5758	0,5758	0,5758	0,5429	0,5429	1,0000	0,5882	0,6563	0,6897	0,5000	0,4103	0,3947	0,6452	0,3514	0,4412	0,5938	0,4054	0,4706	0,4595	0,3846
11	Zöld veltelíni	0,4737	0,4595	0,5000	0,5588	0,5556	0,5556	0,5556	0,5676	0,5263	0,5882	1,0000	0,5833	0,5143	0,4865	0,5526	0,5405	0,5278	0,4595	0,5143	0,4474	0,4359	0,4211	0,4500	0,4500
12	Zöld szilváni	0,4865	0,5588	0,6471	0,5294	0,5278	0,5278	0,5278	0,5000	0,5405	0,6563	0,5833	1,0000	0,6250	0,5882	0,4500	0,5556	0,5429	0,3947	0,5294	0,6875	0,4103	0,4324	0,4615	0,3902
13	Bouvier	0,4167	0,5806	0,7333	0,5484	0,7000	0,7000	0,7000	0,5143	0,5588	0,6897	0,5143	0,6250	1,0000	0,6129	0,5000	0,4444	0,5625	0,4412	0,4118	0,5625	0,5000	0,5313	0,3947	0,3947
14	Zéta	0,3947	0,5000	0,5882	0,4706	0,5143	0,5143	0,5143	0,4103	0,4474	0,5000	0,4865	0,5882	0,6129	1,0000	0,4359	0,3846	0,4444	0,4571	0,4286	0,4857	0,5143	0,4167	0,4103	0,3415
15	Chasselas	0,5000	0,4865	0,4872	0,4211	0,5405	0,5405	0,5405	0,5128	0,5946	0,4103	0,5526	0,4500	0,5000	0,4359	1,0000	0,5263	0,4000	0,4474	0,5000	0,3659	0,5000	0,5714	0,4750	0,4750
16	Juhfark	0,4865	0,4722	0,4000	0,4444	0,5278	0,5278	0,5278	0,4615	0,4615	0,3947	0,5405	0,5556	0,4444	0,3846	0,5263	1,0000	0,4211	0,3590	0,4444	0,4595	0,3750	0,3947	0,4615	0,3902
17	Pintes	0,5143	0,6452	0,5882	0,4286	0,5588	0,5588	0,5588	0,5714	0,5714	0,6452	0,5278	0,5429	0,5625	0,4444	0,4000	0,4211	1,0000	0,3421	0,3889	0,4857	0,4324	0,4571	0,4865	0,4474
18	Leányka	0,4444	0,4286	0,5143	0,4848	0,3333	0,3333	0,3333	0,4211	0,4211	0,3514	0,4595	0,3947	0,4412	0,4571	0,4474	0,3590	0,3421	1,0000	0,3243	0,4167	0,4444	0,3514	0,4211	0,3171
19	Kékmedoc	0,3784	0,4412	0,4054	0,4118	0,5000	0,5000	0,5000	0,3947	0,3947	0,4412	0,5143	0,5294	0,4118	0,4286	0,5000	0,4444	0,3889	0,3243	1,0000	0,4286	0,4167	0,4848	0,3947	0,4324
20	Kékoportó	0,4324	0,5000	0,5882	0,3889	0,4722	0,4722	0,4722	0,4474	0,4865	0,5938	0,4474	0,6875	0,5625	0,4857	0,3659	0,4595	0,4857	0,4167	0,4286	1,0000	0,3947	0,4571	0,4103	0,2791
21	Sárga muskotály	0,3846	0,4857	0,4865	0,4571	0,4595	0,4595	0,4595	0,5556	0,6471	0,4054	0,4359	0,4103	0,5000	0,5143	0,5000	0,3750	0,4324	0,4444	0,4167	0,3947	1,0000	0,4444	0,4000	0,4000
22	Ottonel muskotály	0,4444	0,5152	0,4722	0,4000	0,5294	0,5294	0,5294	0,4595	0,4595	0,4706	0,4211	0,4324	0,5313	0,4167	0,5714	0,3947	0,4571	0,3514	0,4848	0,4571	0,4444	1,0000	0,4211	0,3846
23	Arany sárféher	0,3659	0,4211	0,4615	0,3590	0,4737	0,4737	0,4737	0,4500	0,4500	0,4595	0,4500	0,4615	0,3947	0,4103	0,4750	0,4615	0,4865	0,4211	0,3947	0,4103	0,4000	0,4211	1,0000	0,5263
24	Bakator (tüdőszínű)	0,3659	0,4211	0,4615	0,3947	0,4737	0,4737	0,4737	0,4872	0,5263	0,3846	0,4500	0,3902	0,3947	0,3415	0,4750	0,3902	0,4474	0,3171	0,4324	0,2791	0,4000	0,3846	0,5263	1,0000
25	Budai	0,4054	0,4286	0,4324	0,4848	0,3684	0,3684	0,3684	0,3846	0,4595	0,3889	0,3846	0,4722	0,4000	0,5000	0,4865	0,3590	0,3784	0,4286	0,4000	0,3784	0,5294	0,4706	0,4211	0,3500
26	Csomorika	0,4103	0,3947	0,4000	0,3333	0,4103	0,4103	0,4103	0,5405	0,5000	0,3250	0,3902	0,3659	0,3684	0,3846	0,4500	0,4737	0,4211	0,3947	0,3000	0,2857	0,4474	0,3947	0,5405	0,4615
27	Ezerjő	0,4324	0,4571	0,3846	0,3514	0,4324	0,4324	0,4324	0,5714	0,5714	0,4167	0,4865	0,3846	0,3889	0,4054	0,5556	0,4595	0,4054	0,5000	0,3889	0,3684	0,4722	0,4571	0,5714	0,5278
28	Fehér góhér	0,4286	0,4545	0,4571	0,4688	0,4286	0,4286	0,4286	0,4444	0,4444	0,4545	0,4444	0,4167	0,4688	0,5313	0,4324	0,3784	0,4848	0,4118	0,3824	0,3611	0,4706	0,5000	0,4857	0,4444
29	Furmint	0,4722	0,4167	0,3846	0,3889	0,3250	0,3250	0,3250	0,3750	0,4103	0,3784	0,4865	0,4595	0,3514	0,6250	0,4000	0,3846	0,4054	0,5000	0,3514	0,4054	0,4722	0,4167	0,4474	0,3095
30	Hárslevelű	0,4737	0,5429	0,5000	0,4722	0,5135	0,5135	0,5135	0,5263	0,5676	0,3846	0,5676	0,4615	0,5143	0,4865	0,5128	0,5405	0,5278	0,5000	0,4722	0,4103	0,6000	0,4595	0,4500	0,4872
31	Kadarka	0,3810	0,4000	0,4390	0,3095	0,3810	0,3810	0,3810	0,4286	0,4634	0,2727	0,3636	0,3409	0,3750	0,4250	0,4878	0,4048	0,3902	0,4000	0,3415	0,3256	0,4250	0,4359	0,5385	0,5385
32	Kéknyelű	0,4054	0,4286	0,4324	0,4412	0,5758	0,5758	0,5758	0,5000	0,5000	0,4286	0,4595	0,3947	0,5313	0,3784	0,5714	0,5143	0,3784	0,3889	0,4412	0,3784	0,5294	0,6129	0,3846	0,3846
33	Kövidinka	0,3846	0,3684	0,3750	0,4167	0,3846	0,3846	0,3846	0,4737	0,4737	0,4054	0,5556	0,4474	0,3784	0,3590	0,4615	0,5278	0,3590	0,3333	0,3784	0,3947	0,4211	0,4054	0,4359	0,4737
34	Királyleányka	0,4595	0,4444	0,3750	0,5000	0,4211	0,4211	0,4211	0,4737	0,4737	0,4054	0,6000	0,4865	0,4167	0,5143	0,4615	0,5278	0,3590	0,5758	0,4167	0,3590	0,5000	0,3684	0,4359	0,3659
35	Kövérzőlő	0,4250	0,4865	0,5263	0,3500	0,5000	0,5000	0,5000	0,5128	0,5526	0,3750	0,4390	0,4500	0,5000	0,4737	0,5385	0,5263	0,4737	0,4103	0,4211	0,4359	0,5405	0,4474	0,5128	0,4750
36	Kékfrankos	0,3810	0,4000	0,4048	0,4103	0,3810	0,3810	0,3810	0,5000	0,5385	0,3333	0,3953	0,3721	0,3415	0,3256	0,4524	0,4048	0,3571	0,4000	0,3750	0,3902	0,5676	0,4000	0,4634	0,4634
37	Picolit	0,4444	0,4706	0,4722	0,3611	0,3684	0,3684	0,3684	0,3846	0,4211	0,3514	0,2857	0,4324	0,4412	0,4571	0,3415	0,3590	0,5000	0,3514	0,2895	0,3784	0,4054	0,3158	0,2857	0,3171
38	Pozsonyi fehér	0,4474	0,4324	0,4359	0,4444	0,3415	0,3415	0,3415	0,3902	0,3902	0,3590	0,3902	0,4359	0,4054	0,4595	0,3810	0,4000	0,4211	0,4324	0,3684	0,3846	0,4474	0,3250	0,3902	0,4615
39	Rajnai rizling	0,4595	0,4857	0,4865	0,4571	0,4211	0,4211	0,4211	0,4737	0,4359	0,4857	0,5556	0,5278	0,4167	0,4722	0,3902	0,3750	0,5588	0,4054	0,3784	0,3947	0,3846	0,4054	0,5135	0,3659
40	Chardonnay	0,4000	0,4595	0,4615	0,3590	0,6471	0,6471	0,6471	0,5263	0,4872	0,5000	0,5263	0,4615	0,4722	0,4103	0,5128	0,5000	0,5278	0,3171	0,4324	0,3750	0,4000	0,5000	0,6571	0,6111
41	Zenit	0,4211	0,5758	0,6176	0,4571	0,7419	0,7419	0,7419	0,6471	0,6471	0,5758	0,5135	0,5278	0,8214	0,5143	0,5405	0,4865	0,5588	0,4054	0,4571	0,4722	0,5429	0,5294	0,4359	0,4737
42	Zengő	0,4737	0,5429	0,6286	0,4324	0,6471	0,6471	0,6471	0,5676	0,6571	0,5000	0,5263	0,5405	0,7097	0,5278	0,6389	0,5405	0,5278	0,4595	0,4722	0,4865	0,5556	0,5429	0,5263	0,5263
43	Zefir	0,3889	0,5484	0,5938	0,5667	0,6129	0,6129	0,6129	0,5294	0,5294	0,6000	0,4054													

16. táblázat (folytatás): Izoenzim és mikroszatellit eredmények alapján számolt hasonlósági index értékek

	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
1 Cabernet franc	0,4054	0,4103	0,4324	0,4286	0,4722	0,4737	0,3810	0,4054	0,3846	0,4595	0,4250	0,3810	0,4444	0,4474	0,4595	0,4000	0,4211	0,4737	0,3889	0,4722	0,3171	0,3947	0,3421	0,4211
2 Cabernet sauvignon	0,4286	0,3947	0,4571	0,4545	0,4167	0,5429	0,4000	0,4286	0,3684	0,4444	0,4865	0,4000	0,4706	0,4324	0,4857	0,4595	0,5758	0,5429	0,5484	0,5938	0,3684	0,4167	0,3611	0,4444
3 Círfandli	0,4324	0,4000	0,3846	0,4571	0,3846	0,5000	0,4390	0,4324	0,3750	0,3750	0,5263	0,4048	0,4722	0,4359	0,4865	0,4615	0,6176	0,6286	0,5938	0,6875	0,3750	0,3846	0,4054	0,3415
4 Olasz rizling	0,4848	0,3333	0,3514	0,4688	0,3889	0,4722	0,3095	0,4412	0,4167	0,5000	0,3500	0,4103	0,3611	0,4444	0,4571	0,3590	0,4571	0,4324	0,5667	0,4286	0,3784	0,4286	0,3714	0,3077
5 Pinot blanc	0,3684	0,4103	0,4324	0,4286	0,3250	0,5135	0,3810	0,5758	0,3846	0,4211	0,5000	0,3810	0,3684	0,3415	0,4211	0,6471	0,7419	0,6471	0,6129	0,5588	0,4595	0,4324	0,3784	0,3171
6 Pinot gris	0,3684	0,4103	0,4324	0,4286	0,3250	0,5135	0,3810	0,5758	0,3846	0,4211	0,5000	0,3810	0,3684	0,3415	0,4211	0,6471	0,7419	0,6471	0,6129	0,5588	0,4595	0,4324	0,3784	0,3171
7 Pinot noir	0,3684	0,4103	0,4324	0,4286	0,3250	0,5135	0,3810	0,5758	0,3846	0,4211	0,5000	0,3810	0,3684	0,3415	0,4211	0,6471	0,7419	0,6471	0,6129	0,5588	0,4595	0,4324	0,3784	0,3171
8 Sauvignon	0,3846	0,5405	0,5714	0,4444	0,3750	0,5263	0,4286	0,5000	0,4737	0,4737	0,5128	0,5000	0,3846	0,3902	0,4737	0,5263	0,6471	0,5676	0,5294	0,5278	0,4737	0,4474	0,4722	0,4000
9 Semillon	0,4595	0,5000	0,5714	0,4444	0,4103	0,5676	0,4634	0,5000	0,4737	0,4737	0,5526	0,5385	0,4211	0,3902	0,4359	0,4872	0,6471	0,6571	0,5294	0,6176	0,4359	0,4103	0,3947	0,3659
10 Traminer	0,3889	0,3250	0,4167	0,4545	0,3784	0,3846	0,2727	0,4286	0,4054	0,4054	0,3750	0,3333	0,3514	0,3590	0,4857	0,5000	0,5758	0,5000	0,6000	0,5455	0,4054	0,3421	0,4000	0,3000
11 Zöld veltelíni	0,3846	0,3902	0,4865	0,4444	0,4865	0,5676	0,3636	0,4595	0,5556	0,6000	0,4390	0,3953	0,2857	0,3902	0,5556	0,5263	0,5135	0,5263	0,4054	0,4474	0,4000	0,4103	0,3947	0,3333
12 Zöld szilváni	0,4722	0,3659	0,3846	0,4167	0,4595	0,4615	0,3409	0,3947	0,4474	0,4865	0,4500	0,3721	0,4324	0,4359	0,5278	0,4615	0,5278	0,5405	0,5455	0,5882	0,4103	0,3846	0,4054	0,3415
13 Bouvier	0,4000	0,3684	0,3889	0,4688	0,3514	0,5143	0,3750	0,5313	0,3784	0,4167	0,5000	0,3415	0,4412	0,4054	0,4167	0,4722	0,8214	0,7097	0,7407	0,7241	0,3784	0,3889	0,3714	0,3421
14 Zéta	0,5000	0,3846	0,4054	0,5313	0,6250	0,4865	0,4250	0,3784	0,3590	0,5143	0,4737	0,3256	0,4571	0,4595	0,4722	0,4103	0,5143	0,5278	0,4848	0,5294	0,3250	0,4054	0,3158	0,3590
15 Chasselas	0,4865	0,4500	0,5556	0,4324	0,4000	0,5128	0,4878	0,5714	0,4615	0,4615	0,5385	0,4524	0,3415	0,3810	0,3902	0,5128	0,5405	0,6389	0,3947	0,5556	0,3902	0,4359	0,3171	0,3571
16 Juhfark	0,3590	0,4737	0,4595	0,3784	0,3846	0,5405	0,4048	0,5143	0,5278	0,5278	0,5263	0,4048	0,3590	0,4000	0,3750	0,5000	0,4865	0,5405	0,3784	0,4595	0,4474	0,3846	0,3333	0,2791
17 Pintes	0,3784	0,4211	0,4054	0,4848	0,4054	0,5278	0,3902	0,3784	0,3590	0,3590	0,4737	0,3571	0,5000	0,4211	0,5588	0,5278	0,5588	0,5278	0,4848	0,5758	0,3947	0,3333	0,3514	0,3590
18 Leányka	0,4286	0,3947	0,5000	0,4118	0,5000	0,5000	0,4000	0,3889	0,3333	0,5758	0,4103	0,4000	0,3514	0,4324	0,4054	0,3171	0,4054	0,4595	0,3714	0,4571	0,3684	0,4167	0,3611	0,3684
19 Kékmedoc	0,4000	0,3000	0,3889	0,3824	0,3514	0,4722	0,3415	0,4412	0,3784	0,4167	0,4211	0,3750	0,2895	0,3684	0,3784	0,4324	0,4571	0,4722	0,3824	0,4286	0,4167	0,3514	0,2308	0,2750
20 Kékoportó	0,3784	0,2857	0,3684	0,3611	0,4054	0,4103	0,3256	0,3784	0,3947	0,3590	0,4359	0,3902	0,3784	0,3846	0,3947	0,3750	0,4722	0,4865	0,4848	0,5294	0,3947	0,3333	0,3514	0,2927
21 Sárga muskotály	0,5294	0,4474	0,4722	0,4706	0,4722	0,6000	0,5263	0,5294	0,4211	0,5000	0,5405	0,5676	0,4054	0,4474	0,3846	0,4000	0,5429	0,5556	0,5152	0,5143	0,3846	0,3947	0,3077	0,2857
22 Ottonel muskotály	0,4706	0,3947	0,4571	0,5000	0,4167	0,4595	0,4359	0,6129	0,4054	0,3684	0,4474	0,4000	0,3158	0,3250	0,4054	0,5000	0,5294	0,5429	0,5000	0,5938	0,3684	0,3421	0,2895	0,3333
23 Arany sárféher	0,4211	0,5405	0,5714	0,4857	0,4474	0,4500	0,5385	0,3846	0,4359	0,4359	0,5128	0,4634	0,2857	0,3902	0,5135	0,6571	0,4359	0,5263	0,3684	0,4865	0,4737	0,4103	0,2927	0,2727
24 Bakator (tüdőszíni)	0,3500	0,4615	0,5278	0,4444	0,3095	0,4872	0,5385	0,3846	0,4737	0,3659	0,4750	0,4634	0,3171	0,4615	0,3659	0,6111	0,4737	0,5263	0,4054	0,4474	0,3333	0,3095	0,2619	0,3023
25 Budai	1,0000	0,3947	0,3784	0,4118	0,5938	0,4211	0,4737	0,4706	0,3333	0,4444	0,4474	0,4737	0,3889	0,4324	0,5758	0,3846	0,3684	0,4211	0,4545	0,4571	0,3684	0,4167	0,3243	0,3333
26 Csomorika	0,3947	1,0000	0,5882	0,5938	0,4595	0,5000	0,5526	0,4722	0,4474	0,4865	0,5263	0,5128	0,3947	0,4737	0,3750	0,4615	0,4865	0,5000	0,3784	0,4595	0,4865	0,4595	0,3684	0,3750
27 Ezerjó	0,3784	0,5882	1,0000	0,5313	0,4857	0,4865	0,5000	0,5000	0,5143	0,5143	0,5135	0,5000	0,3784	0,4211	0,3947	0,5714	0,4722	0,6176	0,3611	0,5758	0,3947	0,3684	0,2821	0,3590
28 Fehér góhér	0,4118	0,5938	0,5313	1,0000	0,5313	0,4857	0,4595	0,4545	0,4706	0,5152	0,4324	0,4211	0,3714	0,5455	0,4286	0,4857	0,4706	0,4444	0,4375	0,4848	0,4286	0,3611	0,3429	0,2821
29 Furmint	0,5938	0,4595	0,4857	0,5313	1,0000	0,5278	0,4615	0,4571	0,4324	0,5143	0,5135	0,4250	0,3784	0,4595	0,4722	0,3415	0,3590	0,3750	0,3243	0,4444	0,3250	0,3333	0,2821	0,2927
30 Hárslevelű	0,4211	0,5000	0,4865	0,4857	0,5278	1,0000	0,5385	0,5882	0,5135	0,5135	0,6857	0,5789	0,4211	0,4615	0,3659	0,4500	0,6000	0,5676	0,4444	0,5714	0,4359	0,3750	0,2927	0,3023
31 Kadarka	0,4737	0,5526	0,5000	0,4595	0,4615	0,5385	1,0000	0,4737	0,4500	0,4500	0,6486	0,5500	0,3659	0,5128	0,3810	0,5000	0,4500	0,5385	0,3171	0,4615	0,3488	0,3571	0,2500	0,3182
32 Kéknyelű	0,4706	0,4722	0,5000	0,4545	0,4571	0,5882	0,4737	1,0000	0,4857	0,4444	0,5278	0,4737	0,3514	0,3947	0,3000	0,4595	0,6250	0,5882	0,5000	0,5455	0,4054	0,4167	0,2895	0,2683
33 Kövidinka	0,3333	0,4474	0,5143	0,4706	0,4324	0,5135	0,4500	0,4857	1,0000	0,5000	0,5000	0,3810	0,3333	0,5278	0,2857	0,4737	0,4211	0,4000	0,3514	0,3590	0,3171	0,3250	0,3077	0,2558
34 Királyleányka	0,4444	0,4865	0,5143	0,5152	0,5143	0,5135	0,4500	0,4444	0,5000	1,0000	0,4250	0,3810	0,3000	0,4103	0,4595	0,4359	0,4211	0,4737	0,3514	0,3590	0,4211	0,4324	0,3784	0,2857
35 Kővérszőlő	0,4474	0,5263	0,5135	0,4324	0,5135	0,6857	0,6486	0,5278	0,5000	0,4250	1,0000	0,4878	0,4103	0,4500	0,3902	0,4750	0,5833	0,5526	0,4324	0,6000	0,4250	0,3659	0,2857	0,3256
36 Kékfrankos	0,4737	0,5128	0,5000	0,4211	0,4250	0,5789	0,5500	0,4737	0,3810	0,3810	0,4878	1,0000	0,3333	0,4390	0,3810	0,4286	0,4146	0,5000	0,3846	0,4615	0,4872	0,4250	0,3415	0,3488
37 Picolit	0,3889	0,3947	0,3784	0,3714	0,3784	0,4211	0,3659	0,3514	0,3333	0,3000	0,4103	0,3333	1,0000	0,4324	0,3684	0,2857	0,4054	0,4595	0,4118	0,4571	0,3333	0,3784	0,3243	0,4444
38 Pozsonyi fehér	0,4324	0,4737	0,4211	0,5455	0,4595	0,4615	0,5128	0,3947	0,5278	0,4103	0,4500	0,4390	0,4324	1,0000	0,3750	0,3902	0,4103	0,4250	0,3784	0,4211	0,3415	0,4211	0,3684	0,4103
39 Rajnai rizling	0,5758	0,3750	0,3947	0,4286	0,4722	0,3659	0,3810	0,3000	0,2857	0,4595	0,3902	0,3810	0,3684	0,3750	1,0000	0,5556	0,3846	0,4359	0,4286	0,4722	0,3500	0,3590	0,3784	0,3846
40 Chardonnay	0,3846	0,4615	0,5714	0,4857	0,3415	0,4500	0,5000	0,4595	0,4737	0,4359	0,4750	0,4286	0,2857	0,3902	0,5556	1,0000	0,5556	0,5676	0,4444	0,5278	0,4000	0,3415	0,3250	0,3023
41 Zenit	0,3684	0,4865	0,4722	0,4706	0,3590	0,6000	0,4500	0,6250	0,4211	0,4211	0,5833	0,4146	0,4054	0,4103	0,3846	0,5556	1,0000	0,7500	0,6667	0,7097	0,4595	0,4324	0,3421	0,3500
42 Zengő	0,4211	0,5000	0,6176	0,4444	0,3750	0,5676	0,5385	0,5882	0,4000	0,4737	0,5526	0,5000	0,4595	0,4250	0,4359	0,5676	0,7500	1,0000	0,5294	0,7742	0,4000	0,4474	0,2927	0,3659
43 Zefir	0,4545	0,3784	0,3611	0,4375	0,3243	0,4444	0,3171	0,5000	0,3514	0,3514	0,4324	0,3846	0,4118	0,3784	0,4286	0,4444	0,6667	0,5294	1,0000	0,5806	0,3889	0,4000	0,3824	0,3514
44 Zeus	0,4571	0,4595	0,5758	0,																				

5.6. *Új tudományos eredmények*

Eredményeim közül az alábbiak tekinthetők új tudományos eredménynek:

- Izoenzim vizsgálatokkal sikerült olyan savas foszfatáz mintázatot találni, amely a pontuszi származású fajtákra jellemző, a kapcsolatot statisztikai próbával igazoltam.
- Vizsgálataim segítségével kapcsolatot találtam a fajták származása és izoenzim-mintázata , valamint mikroszatellit profilja között.
- Izoenzim és mikroszatellit vizsgálatokkal sikerült a 'Kéknyelű' és a 'Picolit' fajták különbözőségét igazolni.
- Mikroszatellit vizsgálatokkal sikerült a Pinot fajtakörön belül 2 fajtát a 'Pinot blanc' és a 'Szürkebarát' fajtát elkülöníteni.
- Izoenzim vizsgálatokkal Magyarországon köztermesztésben lévő jelentős fajtákat jellemeztem.
- A VMC4A1-es és a VMC4G6-os mikroszatellit markerek segítségével a vizsgált fajtákat elsőként jellemeztem.
- Az általam használt és fejlesztett izoenzim, illetve SSR módszerekkel a fajták többsége azonosítható (46 a 48-ból) ezért a rendszer a gyakorlatban a fajtaazonosság megállapítására használható.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A növénynemesítés sikerét minden faj esetén alapvetően meghatározza a kiindulási alapanyagban meglévő genetikai változatosság. Kezdetben a nemesítők az evolúció során kialakult természetes genetikai variabilitást használták új fajták előállítására. A genetikai variabilitás növelésére több lehetőség is kínálkozik, ezek közül a legrégebben és legszélesebb körben a keresztezést alkalmazták. A keresztezéses nemesítés során az utódpopuláció genetikai sokfélesége annál nagyobb, minél nagyobb a keresztezett szülőpartnerek közötti genetikai távolság.

A kerti szőlő (*Vitis vinifera* L.) esetében jelenleg a tudomány rendelkezésére álló eszközök megengedik, hogy a genetikai háttér nemcsak morfológiai bélyegek segítségével vizsgáljuk, hanem a molekuláris markerek segítségével e tevékenység hatékonysága jelentős mértékben növelhető legyen. Doktori disszertációm célja szőlőfajták genomjának vizsgálata molekuláris markerek (izoenzim, SSR) segítségével.

Céлом volt 48 fajtánál, 8 enzim (CO, GOT, AcP, PER, EST, LAP, GPI, PGM) izoenzimmintát, és 7 primerpár segítségével SSR fragmenshosszokat vizsgálni.

Az említett enzimek közül a GPI és PGM esetén értékelhető mintázatot nem kaptam, a LAP esetén a mintázat a vizsgált fajtáknál azonos volt, EST esetén pedig a megismételhetőség hiánya, és a mintázat összetettsége miatt a kapott eredményeket értékelni nem tudtam.

A CO, GOT, AcP és PER enzimek esetén a szőlő nyugalmi időszakában a vessző háncs részéből nyert enzimkivonatokat vizsgálva megállapítottam, hogy a kapott mintázat megismételhető, a nyugalmi időszakon belül nem függ a mintavétel idejétől. Négy enzim (CO, GOT, AcP, PER) izoenzim-mintázata alapján a vizsgált 48 fajta többsége (40 fajta) az általam használt módszerrel azonosítható.

Összefüggést találtam a fajták származási csoportba (convarietas) való tartozása, és izoenzim-mintázatuk között. Megállapítottam, hogy míg a pontuszi fajták az orientalis és occidentalis csoporttól egyértelműen elkülönülnek, addig ez utóbbi két csoport nem válik el élesen egymástól. Olyan speciális savas foszfátáz izoenzim-mintázatot azonosítottam, amely jellemző a pontuszi fajtákra, ugyanakkor a másik két csoportban csak elvétve fordul elő.

Izoenzim és mikroszatellit vizsgálatokkal sikerült a 'Kéknyelű' és a 'Picolit' fajták különbözőségét igazolni.

Mikroszatellit vizsgálataim alapján az általam használt 6 primerpár segítségével a vizsgált 48 fajta közül 46-ot tudtam azonosítani. A VMC4A1-es primerrel a kapott eredmények alapján különbséget tudtam tenni a Pinot conculta két cultivarja a 'Pinot blanc' és a 'Szürkebarát' között.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Dr. Korbuly János témavezetőmnek, hogy hasznos tanácsaival hozzájárult dolgozatom elkészítéséhez.

Köszönetemet szeretném kifejezni, továbbá a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Kar Genetika és Növénynemesítési Tanszéke munkatársainak valamint az FVM Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete, Badacsony munkatársainak önzetlen segítségükért.

Külön szeretném megköszönni Dr. Májer János igazgató úrnak, hogy lehetővé tette számomra a kísérleteim elvégzését, és támogatta munkámat, biztatást és segítséget nyújtott számomra.

Szeretném továbbá megköszönni Stefanovitsné Dr. Bányai Évának és Schrettné Dr. Major Ágnesnek és Dr. Szegedi Ernő Professzor Úrnak a laboratóriumi vizsgálataimhoz nyújtott hasznos tanácsaikat, valamint az irodalmazás során nyújtott segítségüket.

Külön köszönet illeti Dr. Kozma Pált az FVM pécsi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetének igazgatóját, valamint Bíróné Toma Gizellát és Hofmann Saroltát a mintaszedés, illetve az irodalmazás során nyújtott segítségükért.

Szeretném megköszönni Dr. Ferecgy Antal tanár úrnak, a BCE Kertészettudományi Kar, Matematika és Informatika Tanszék munkatársának, a statisztikai elemzések elkészítésében nyújtott segítségét.

Szeretném megköszönni a Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztériumnak, hogy a dolgozatom témájában benyújtott pályázatok támogatásával hozzájárult a vizsgálataim elvégzéséhez szükséges anyagi háttér megteremtéséhez.

Végül szeretném megköszönni családomnak a türelmet és támogatást, mellyel mindvégig segítették munkámat.

IRODALOMJEGYZÉK

1. ADAM-BLODON A. F., ROUX C., CLAUX D., BUTTERLIN G., MERDINOGLU D., THIS P. (2004): Mapping 245 SSR markers on the *Vitis vinifera* genome: a tool for grape genetics. *Theoretical and Applied Genetics* 109 : 1017-1027.
2. ADAM-BLONDON A. F., LAHOGUE-ESNAULT F., BOUQUET A., BOURSIQUOT J. M., THIS P. (2001): Usefulness of two SCAR markers for marker-assisted selection of seedless grapevine cultivars. *Vitis* 40 : 147-155.
3. AGRAWAL D. C., TÖPFER R., ZYPRIAN E. (2006): Grapevine DNA polymorphisms revealed by microsatellite-derived markers from soybean and rice. *Vitis* 45: 81-84.
4. ANDRASOVSKY J. (1926): Ampelográfiai tanulmányok. *Magyar Királyi Szőlő és Borgazdaság Központi Kísérleti Állomás Évkönyve*, 7.
5. ARROYO-GARCÍA R. , MARTÍNEZ-ZAPATER J. M. (2004): Development and characterization of new microsatellite markers for grape. *Vitis* 43: 175-178.
6. ARULSEKAR S., PARFITT D.E. (1986): Isozyme analysis procedures for stone fruits, almond, grape, walnut, pistachio, and fig. *HortScience*. 21: 928-933.
7. BACHMANN O. (1994): Peroxidase isoenzyme patterns in Vitaceae. *Vitis* 33: 151-153.
- 8.. BACHMANN O., BLAICH R. (1988): Isoelectric focusing of grapevine peroxidases as a tool for ampelography. *Vitis* 27: 147-155.
9. BAILEY G. (1934): The Species of Grapes peculiar to North America. *Gentil Herbarium* 3: 151-244.

10. BALEIRAS-COUTO M. M., EIRAS-DIAS J. E. (2006): Detecton and identification of grape varieties in must and wine using nuclear and chloroplast microsatellite markers. *Analytica Chimica Acta* 563: 283-291.
11. BÁLINT M., BÍRÓ E. (1989): A fehérjekutatás fizikai-kémiai, preparatív és analitikai módszerei. 129-166. p. In: BÍRÓ E. (Szerk.) *Biokémia I.* Budapest: Tankönyv K.
12. BAUER F., ZYPRIAN E. (1997): Identification of grapevine rootstocks cv. Börner and differentiation of 125AA from 5BB and SO4. *Vitis* 36: 185-189.
13. BENJAK A., ERCISLI S., VOKURKA A., MALETIĆ E., PEJIĆ I. (2005): Genetic relationships among grapevine cultivars native to Croatia, Greece and Turkey. *Vitis* 44: 73-77.
14. BENJAK A., KONRADI J., BLAICH R., FORNECK A. (2006): Different DNA extraction methods can cause different AFLP profiles in grapevine (*Vitis vinifera* L.) *Vitis* 45 : 15-21.
15. BÉNYEI F., LŐRICZ A., SZENDRŐDY GY., SZ. NAGY L., ZANATHY G. (1999): Szőlőtermesztés. Budapest: Mezőgazda Kiadó
16. BERNARDI G. (2004): Structural and Evolutionary Genomics. Natural Selection in Genome Evolution. Elsevier, Amsterdam
17. BISZTRAY GY .D., KORBULY J., HALÁSZ J., OLÁH R., RUTHNER SZ., DEÁK T., PEDRYC A. (2003): Characterization of grape varieties and species by RAPD markers. *Acta Horticulturae* 603: 601-604.

18. BISZTRAY GY. (2001): Molekuláris genetikai markerek. 422-425 p. In: VELICH I. (Szerk.): *Növénygenetika* 551 p.
19. BISZTRAY GY., VELICH I. (1999): Molekuláris markerezési eljárások a kertészeti növényeknél. 61-65. p. In: HAJÓSNÉ NOVÁK M. (Szerk.): *Genetikai variabilitás a növénynemesítésben*. Budapest: Mezőgazda Kiadó 142 p.
20. BOUQUET A. (1980): *Vitis* × *Muscadinia* hybridisation: a new way in grape breeding for disease resistance in France. *Proceedings of the Third International Symposium on Grape Breeding. (University of California, Davis)* 42-61.
21. BOURQUIN J. C., OTTEN L., WALTER B. (1995): PCR-RFLP analysis of *Vitis*, *Ampelopsis* and *Pathenocissus* and its application to the identification of rootstocks. *Vitis* 34: 103-108.
22. BOURQUIN J. C., SONKO A., OTTEN L., WALTER B. (1993): Restriction fragment length polymorphism and molecular taxonomy in *Vitis vinifera* L. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 431-438.
23. BOURQUIN J. C., TOURNIER P., OTTEN L., WALTER B. (1992): Identification of sixteen grapevine rootstocks by RFLP and RFLP analysis of nuclear DNA extracted from the wood. *Vitis* 31: 157-162.
24. BOURSQUOT J. M., LACOMBE T., BOWERS J., MEREDITH C. (2004). Le Gouais, un cépage clé du patrimoine viticole européen. (Gouais, a key vine of the European wine heritage) *Bulletin de l'OIV* 875-876: 5-19.

25. BOWERS J. E., MEREDITH C. P. (1997): The parentage of a classic vine grape, Cabernet Sauvignon. *Nature Genetics* 16:84-87.
26. BOWERS J., BOURSIQUOT J. M., THIS P., CHU K., JOHANSSON H., MEREDITH C. (1999): Historical Genetics: The Parentage of Chardonnay, Gamay, and Other Wine Grapes of Northeastern France. *Science* 285: 1562-1565.
27. BRETTING P. K., WIDRECHNER M. P. (1995): Genetic Markers and Horticultural Germplasm Management. *HortScience* 30(7) 1349-1356.
28. BÜSCHER N., ZYPRIAN E., BLAICH R. (1993): Identification of grapevine cultivars by DNA analyses: Pitfalls of random amplified polymorphic DNA techniques using 10mer primers. *Vitis* 32: 187-188.
29. CARREÑO E., LOPEZ M. A., LABRA M., RIVERA D., SANCHÁ J., OCETE R., MARTÍNEZ DE TODA F. (2001): Genetic relationship between some Spanish *Vitis vinifera* L. subsp. *Sativa* cultivars and wild grapevine populations (*Vitis vinifera* L. subsp. *silvestris* (Gmelin) Hegi): a preliminary study. *Plant Genetic Resources* 137: 42-45.
30. CIPRIANI G., FRAZZA G., PETERLUNGER E., TESTOLIN R. (1994): Grapevine fingerprinting using microsatellite repeats. *Vitis* 33 211-215.
31. CIPRIANI G., MARRAZZO M. T., DI GASPERO G., TESTOLIN R. (2001): DNA microsatellites in fruit crops: Isolation, length polymorphism, inheritance, somatic stability and cross-species conservation. *Acta Horticulturae* 465: 145-150.

32. CONKLE M. T., HODGSKISS P. D., NUHNALLY L. B., HUNTER S. C. (1992): Starch Gel Electrophoresis of Conifer Seeds: A Laboratory Manual. Pacific Southwest Forest and Range Experimental Station, California 17. p.
33. CRAWFORD D. J. (1990): Enzyme Electrophoresis: Basic Methods and Interpretation of Banding Patterns. In: CRAWFORD D. J. (Szerk) : *Plant Molecular Systematics Macromolecular Approaches* John Wiley & Sons, Inc.
34. CRESPIAN M., BOTTA R., MILANI N. (1999): Molecular characterisation of twenty seedless table grape cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 38: 87-92.
35. CRESPIAN M., CABELLO F., GIANNETTO S., IBÁÑEZ J., KAROGLAN KONTIĆ J., MALETIC E., PEJIĆ I., RODRÍGUEZ-TORRES I., ANTONACCI D. (2006): Malvasia delle Lipari, Malvasia di Sardegna, Greco di Gerace, Malvasia di Stiges and Malvasia dubrovačka – synonyms of an old and famous grapevine cultivar. *Vitis* 45: 69-73.
36. CRESPIAN M., MILANI N. (2001): The Muscats: A molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationship within a large family of grapevine cultivars. *Vitis* 40: 23-30.
37. CSEPREGI P., ZILAI J. (1973): Szőlőfajtáink. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó
38. DANGL G. S., MENDRUM M. L., PRINS B. H., WALKER M. A., MEREDITH C. P., SIMON C. J. (2001): Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: A tool for managing a grape germplasm collection. *Genome* 44: 432-438.
39. DE CANDOLLE A. (1894): Termesztett növényeink eredete. 201- 204. p. Budapest: Királyi Magyar Természettudományi Társulat 516 p.

40. DETTWEILER E., KRAUSE D. J., HARRER S.: The Vitis International Variety Catalogue: <http://www.genres.de/idb/Vitis/Vitis.htm>
41. DETWEILER E., JUNG A., ZYPRIAN E., TÖPFER R.(2000): Grapevine cultivar Müller-Thurgau and its true to type descent. *Vitis* 93: 63-65.
42. DHANORKAR V. M., TAMHANKAR S. A., PATIL S. G., RAO V. S. (2005): ISSR-PCR for assessment of genetic relationships among grape varieties cultivated in India. *Vitis* 44: 127-131.
43. DI GASPERO G., PETERLUNGER E., TESTOLIN R., CIPRIANI G. (2001): Characterisation of microsatellite flanking sequences in Vitis species. *Acta Horticultrae* 546: 199-204.
44. DI GASPERO G., PETERLUNGER E., TESTOLIN R., EDWARDS K. J., CIPRPANI G. (2000): Conservation of microsatellite loci within the genus *Vitis*. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 301-308.
45. DUSO C., POZZEBON A., CAPUZZO C., MALAGNINI V., OTTO S., BORGO M. (2005): Grape downy mildew spread and mite seasonal abundance in vineyards: effects on Tydeus caudatus and its predators. *Biological Control* 32: 143-154.
46. EIRAS-DIAS J. E. J., SOUSA B., CABRAL F., CARCALHO I. (1989): Isozymatic characterisation of portuguese vine varieties of *Vitis vinifera* L. *Rivista di Viticoltura e di Enologia* 1: 23-26.
47. ELŐDI P (1980): *Biokémia*. Budapest: Akadémiai Kiadó

48. ERGÜL A., MARASALI B., AGAOGLU Y. S. (2002): Molecular discrimination and identification of some Turkish grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) by RAPD markers. *Vitis* 41: 159-160.
49. FANIZZA G., CORONA M. G., RESTA P. (2000): Analysis of genetic relationships among Muscat grapevines in Apulia (South Italy) by RAPD markers. *Vitis* 39: 159-161.
50. FANIZZA G., LAMAJ F., RESTA P., RICCIARDI L., SAVINO V. (2005): Grapevine cvs Primitivo, Zinfandel and Crljenak kastelanski: Molecular analysis by AFLP. *Vitis* 44: 147-148.
51. FARKAS G. (1968): *Növényi anyagcsereélettan*. Budapest: Akadémiai Kiadó
52. FARKAS G. (1984): *Növényi biokémia*. Budapest: Akadémiai Kiadó
53. FASELLA P. (1967): Pyridoxal Phosphate. *Annual Review of Biochemistry* 36: 185-210.
54. FATAHI R., EBADI A., BASSIL N., MEHLENBACHER S. A., ZAMANI Z. (2003): Characterisation of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 42: 185-192.
55. FERNALD M. L. (1950): Gray's Manual of botany. 8th ed. New York: American Book Corporation
56. FOX P. F. (1991.): *Food Enzymology*. London: Elsevier Applied Science,. 696. p.
57. GALET P. (1968): *Precis d'ampelographie pratique*. (Outline of practical ampelography) , Montpellier 2nd ed.

58. GILLESPIE J. H., KOJIMA K. (1968): The degree of polymorphisms in enzymes involved in energy production compared to that in nonspecific enzymes in 2 *Drosophila-ananassae* populations. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 61: 582-585.
59. GILLESPIE J. H., LANGLEY C. H. (1974): A general model to account of enzyme variation of natural populations. *Genetics* 76: 837-846.
60. GODWIN I. D., AITKEN E. A. B., SMITH L. W. (1997): Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. *Electrophoresis* 18: 1524-1528.
61. GOMBKÖTŐ G, SAJGÓ M. (1985): Biokémia. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó
62. GONZÁLEZ TECHERA A., JUBANY S., PONCE LEÓN I., BOIDO E., DELLACASSA E., CARRAU F. M., HINRICHSSEN P., GAGGERO C. (2004): Molecular diversity within clones of cv. Tannat (*Vitis vinifera*). *Vitis* 43: 179-185.
63. GOTO-YAMAMOTO N., MOURI H., AZUMI M., EDWARDS K. J. (2006): Development of Grape Microsatellite Markers and Microsatellite Analysis Including Oriental Cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 105-108.
64. GRANDO M. S., DE MICHELI L., BIASETTO L., SCIENZA A. (1995): RAPD markers in wild and cultivated *Vitis vinifera*. *Vitis* 34: 37-39.
65. GRASSI F., LABRA M., SCIENZA A., IMAZIO S. (2002): Chloroplast SSR markers to assess DNA diversity in wild and cultivated grapevines. *Vitis* 41: 157-158.
66. GUERRA B., MEREDITH C. P. (1995): Comparison of *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* rootstock cultivars by restriction fragment length polymorphism analysis. *Vitis* 34: 109-112.

67. H. NAGY A. (1999): A genetikai variabilitás vizsgálata izoenzimekkel. 25-39 p. In: HAJÓSNÉ NOVÁK M. (Szerk.): *Genetikai variabilitás a növénynevelésben*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 142 p.
68. HADRY S H., BALICK M., SCHIERWATER B. (1992): Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology*, 1: 55-63. p.
69. HAJDÚ E., ÉSIK A-NÉ (2000): Új magyar szőlőfajták. Budapest: Mezőgazda Kiadó 170. p.
70. HAJÓSNÉ NOVÁK M. (1999): A genetikai variabilitás fogalma, genetikai alapjai, növelésének lehetőségei. 13-15. p. In: HAJÓSNÉ NOVÁK M. (Szerk.): *Genetikai variabilitás a növénynevelésben*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 142 p.
71. HAJÓSNÉ NOVÁK M., STEFANOVITSNÉ BÁNYAI É. (1999): Az izoenzimek elválasztása gélelektroforézissel. 99-104 p. In: HAJÓSNÉ NOVÁK M. (Szerk.): *Genetikai variabilitás a növénynevelésben*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 142 p.
72. HAJÓSNÉ NOVÁK M., HAJDÚ E. (2003): Isozyme and DNA fingerprinting characterization of two hungarian wine grape hybrids and their parents. *Acta Horticulturae* 603: 211-216.
73. HALÁSZ G., VERES A., KOZMA P., KISS E., BALOGH A., GALLI ZS., SZŐKE A., HOFMANN S., HESZKY L. (2005): Microsatellite fingerprinting of grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties of the Carpathian Basin. *Vitis* 44: 173-180.
74. HAMES B. D. (1990): One-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. 1.-139. p. In: HAMES B.D., RICKWOOD D. (Szerk.): *Gel electrophoresis of proteins*. ILR press at Oxford University press, Oxford- New York- Tokyo, Sec. Ed.

75. HAYASHI K. (1992): PCR-SSCP: a method for detection of mutations. *Genetic Analysis: techniques and Applications*, 9: 73-79.
76. HEARNE C. M., GHOSH S., TODD J. A. (1992): Microsatellites for linkage analysis of genetic traits. *Trends in Genetics*, 8: 228-294.
77. HILLIS D. M., MORITZ C. (Szerk. 1990): Molecular systematics. Sinauer Assoc., Sunderland, Mass.
78. HUNTER R. L., MARKERT C. L. (1957): Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science* 125: 124-1295.
79. HVARLEVA T., HADJINICOLI A., ATANASSOV I., ATANASSOV A., IOANNOU N. (2005): Genotyping *Vitis vinifera* L. cultivars of Cyprus by microsatellite analysis. *Vitis* 44(2): 93-97.
80. HVARLEVA T., RUSANOV K., LEFORT F., TSVETKOV I., ATANASSOV A., ATANASSOV I. (2004): Genotyping of Bulgarian *Vitis vinifera* L. cultivars by microsatellite analysis. *Vitis* 43: 27-34.
81. IBAÑEZ J., DE ANDRÉS M. T., MOLINO A., BORREGO J. (2003): Genetic Study of Key Spanish Grapevine Varieties Using Microsatellite Analysis. *American Journal of Enology and Viticulture* 54: 22-30.
82. IBAÑEZ J., EEUWIJK F. A. (2003): Microsatellite Profiles as a Basis for Intellectual Property Protection in Grape. *Acta Horticulturae* 603: 41-47.

83. IMAZIO S., GRASSI F. SCIENZA A., SALA F., LABRA M. (2003): *Vitis vinifera* ssp. *Sylvestris*: the State of Health of Wild Italian and Spanish Populations Estimated using Nuclear and Chloroplast SSR Analysis. *Acta Horticulturae* 603: 47-57.
84. JEFFERS A. J., WILSON V., THEIN S. L. (1985): Hypervariable “minisatellite” regions in human DNA. *Nature*, 314: 67-73.
85. JERMYN M. A., THOMAS R. (1954): Multiple components in horse-radish peroxidase. *Biochemical Journal*. 56: 631-639.
86. KALCHGRUBER R., EDER R., BARNA J. (1994): Sortendifferenzierung von *Vitis vinifera* L. mittels elektrophoretischer Trennung von Isoenzymen und Proteinen am Beispiel der Sorten Chardonnay und Weißer Burgunder. *Mitteilungen Klosterneuburg* 44:14-23.
87. KOCSIS M., JÁROMI L., PUTNOKY P., KOZMA P., BORHIDI A. (2005): Genetic diversity among twelve grape cultivars indigenous to the Carpathian Basin revealed by RAPD markers. *Vitis* 44: 87-91.
88. KORBULY J. (2002): A *Vitis amurensis* (Rupr.) értékei a szőlő rezisztencia nemesítés számára *International Journal of Horticultural Science* 8: 53-58.
89. KOZMA P., DULA T. (2003): Peronoszpóra és lisztharmat rezisztencia öröklődése *Muscadinia* x *V. vinifera* x *V. amurensis* x franco-amerikai hibridcsaládokban. *Lippai János-Ormos Imre-Vas Károly Tudományos Ülésszak, Összefoglalók* 514-515.
90. KOZMA P. (1951): A szőlő beltenyésztése és heterózisa. 91-100. p. In: KOZMA P.: *A szőlő nemesítése*. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó 268 p.
91. KOZMA P. (1967): Szőlőtermesztés 1. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 7-53. p.

92. KOZMA P. (1991): A szőlő és termesztése I. Budapest: Akadémiai Kiadó
93. KOZMA P. (2002): A szőlőrezisztencia-nemesítés szempontjai és módszerei Magyarországon. *International Journal of Horticultural Science* 8: 43-48.
94. KOZMA P., H. NAGY A., JUHÁSZ O. (1990): Inheritance of isoenzymes and soluble proteins in grape varieties and F1 hybrids. *Proceedings of the 5th International Symposium on Grape Breeding ; Vitis Special Issue*: 134-141
95. LABRA M., WINFIELD M., GHIANI A., GRASSI F., SALA F., SCIENZA A., FAILLA O. (2001): Genetic studies on Trebbiano and morphologically related varieties by SSR and AFLP markers. *Vitis* 40 : 187-190.
96. LACOMBE T., LAUCOU T., DI VECCHI M., , BORDENAVE L., BOURSE T., SIRET R., DAVID J., BOURSICQUOT J. M., BRONNER A., MERDINOGLU D., THIS P. (2003): Contribution à la caractérisation et à la protection *in situ* des populations de *Vitis vinifera* L. ssp. *silvestris* (Gmelin) Hegi, en France. *Les Actes du BRG* 4: 381-404.
97. LANDEGREN U. (1993): Molecular mechanics of nucleic acid sequence amplification. *Trends in Genetics* 9 :199-204.
98. LEFORT F., ROUBELAKIS-ANGELAKIS K. K. A. (2001): Genetic Comparison of Greek Cultivars of *Vitis vinifera* L. by Nuclear Microsatellite Profiling. *American Journal of Enology and Viticulture* 52: 101-108.
99. LEVADOUX L. (1956): Les populations sauvages et cultivées de *Vitis vinifera* L. *Annual Ampélion Plantes* 1:59-118.

100. LITT M, LUTY J. A. (1989): A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics* 44:397-401.
101. LOPES M. S., SEFC K. M. ERIAS DIAS E., SREINKELLNER H., LAIMER DA CÂMARA MACHADO M., DA CÂMARA A. (1999): The use of microsatellites for germplasm management in Portuguese grapevine collection. *Theoretical and Applied Genetics* 99:733-799.
102. MAGALHAES R., FARIA M. A., SANTOS N. M. M., EIRAS DIAS J. E., MAGALHAES N., MEREDITH C. P., MONTEIRO F. F. (2003): Verifying the identity and nematodes of Cruzado de Rabo de Ovelha with microsatellite markers. *American Journal of Enology and Viticulture* 54: 56-58.
103. MALETIĆ E., PEJIĆ I., KAROGLAN KONTIĆ J., PILJAC J., DANGL G. S., VOKURKA A., LACOMBE T., MIROŠEVIĆ N., MEREDITH C. P. (2004): Zinfandel, Dobričić, and Plavac mali: The Genetic Relationship among Three Cultivars of the Dalmatian Coast of Croatia. *American Journal of Enology and Viticulture* 55: 174-180.
104. MANEN J. F., BOUBY L., DALNOKI O., MARINVAL P., TURGAY M., SCHLUMBAUM A.(2003): Microsatellites from archaeological *Vitis vinifera* seeds allow a tentative assignment of the geographical origin of ancient cultivars. *Journal of Archaeological Science* 30: 721-729.
105. MARKERT C., MOLLER L. F. (1959): Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 45: 753-763.

106. MARTINELLI L., SCIENZA A., VILLA P., DE PONTI P., GIANAZZA E. (1993): Enzyme Markers for Somatic Embryogenesis in Vitis. *Journal of Plant Physiology* 141: 476-481. p.
107. MATHEWS, C. K., VAN HOLDE K. E., AHERN K. G. (2000): Biochemistry.
<http://www.aw-bc.com/mathews/ch01/frames.htm>
108. MCMILLIN D. E. (1983): Plant isozymes: a historical perspective. 3-13. p. In: TANKSLEY S. D., ORTON T. J. (Szerk.): *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.
109. MEREDITH C. P., BOWERS J. E., RAIZ S., HANDLEY V., BANDMAN E. B., DANGL G. S. (1999): The identity and parentage of the variety known in California as Petite Syrah. *American Journal of Enology and Viticulture* 50: 236-242.
110. MONTANER C., MARTÍN J. P., CASANOVA J., MARTÍ C., BADÍA D., CABELLO F., ORTIZ J. M. (2004): Application of microsatellite markers for the characteriation of 'Parraleta': an autochthonous Spanish grapevine cultivar. *Scientia Horticulturae* 101: 343-347.
111. MORENO S., GOGORCENA Y., ORTIZ J. M. (1995): The use of RAPD markers for identification of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) *Scientia Horticulturae* 62: 237-243.
112. MORGANTE M., OLIVIERI A. M. (1993): PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The Plant Journal*, 3: 175-182.
113. MULLIS K. B., FALOONA F. A. (1987): Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. *Methods in Enzymology* 155: 335-350.

114. NEALE D. B., WILLIAMS C. G. (1991): Restriction fragment length polymorphism mapping in conifers and application to forest genetics and tree improvement. *Canadian Journal of Forest Research*, 21: 545-554. p.
115. NEGRUL A. M. (1946): Семейство Vitaceae LINDLEY (Ampelidae KUNTH). 45-432. p. In *Ампелография СССР*, I.
116. NEGRUL A. M. (1968): Questions of origin and breeding of the grape vine on a genetical basis. *Genetika (Genetics)*, 4 (3) 84-97. p.
117. NÉMETH M. (1952-57): A borszőlőfajták összehasonlító értékvizsgálata és klónszelektálása. *Szőlészeti Kutató Intézet Évkönyve* 1. 261-326. p.
118. NÉMETH M. (1967) Ampelográfiai album I. (Termesztett borszőlőfajták 1.) Budapest: Mezőgazdasági Kiadó 234. p.
119. NÉMETH M. (1968): A borszőlőfajtákra vonatkozó megállapítások, azokon észlelt összefüggések. *Országos Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet Évkönyve*, XIII.
120. NÉMETH M. (1970): Ampelográfiai album II. (Termesztett borszőlőfajták 2.) Budapest: Mezőgazdasági Kiadó 273. p.
121. NÉMETH M. (1975): Ampelográfiai album III. (Alany-, direkt termő és csemegeszőlőfajták) 340. p.
122. ORITA M., IWAHANA H., KANAZAWA H., HAYASHI K. (1989): Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphism using the polymerase chain reaction. *Genomics* 5:874-879.

123. PAAR E., DOUBEK S., EDER R. (1999): Differenzierung von Weißweinsorten mittels isoelektrischer Fokussierung. *Mitteilungen Klosterneuburg* 49:176-185.
124. PARAN I., MICHELMORE R. (1992): Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theoretical and Applied Genetics* 85: 985-993.
125. PATTERSON B. A., PAYNE L. A. (1989): Zymograms of plant extracts using isoelectric focusing on ultra thin layers. *Acta Horticulturae* 247:163-169.
126. PINTO-CARNINE O., MARTIN J. P., LEAL F., CASTRO I., GUEDES-PINTO H., ORTIZ J. M. (2003): Characterisation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars from northern Portugal using RAPD and microsatellite markers. *Vitis* 42: 23-25.
127. PLANCHON J. E. (1887): Monographie des Amlélidées vraies. In: A. DE CANDOLLE: *Monographiae Phanerogamarum* 5: 321-368.
128. POLLEFEYS P., BOUSQUET J. (2003): Molecular genetic diversity of the French-American grapevine hybrids cultivated in North America. *Genome* 46: 1037-1048.
129. REGNER F., HACK R., SANTIAGO J., L. (2006): Highly variable *Vitis* microsatellite loci for the identification of Pinot Noir clones. *Vitis* 45: 85- 91.
130. REGNER F., KASERER H. (2002): Investigations into the genetic variability of Traminer clones. *Mitteilungen Klosterneuburg* 52:177-186.
131. REGNER F., STADLBAUER A., EISENHELD C. (2001): Molecular markers for genotyping grapevine and for identifying clones of traditional varieties. *Acta Horticulturae* 546: 331-341.

132. REGNER F., WIEDECK E., STADLBAUER A. (2000): Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers. *Vi tis* 39: 103-107.
133. RENNER W., WOLF T., EDER R., REGNER F. (2005): Ampelographische, analytische und genetische Aspekte der Rebensorte ‚Blauer Wildbacher‘. *Mitteilungen Klosterneuburg* 55: 193.200.
134. ROS BARCELÓ A., ZAPATA J. M., CALDERÓN A. A. (1996): A Basic Peroxidase Isoenzyme, Marker of Resistance Against *Plasmopara viticola* in Grapevines, is Induced by an Elicitor from *Trichoderma viride* in Susceptible Grapevines. *Journal of Phytopathology* 144: 309-313
135. ROSSONI M., LABRA M., IMAZIO S., GRASSI F., SCIENZA A., SALA F. (2003) : Genetic relationship among grapevine cultivars grown in Oltrepó Pavese (Italy). *Vitis* 42(1): 31-34. p.
136. ROYO B., GONZALEZ J., LAQUIDAIN M. J., LARUMBE M. P. (1989): Caracterization mediante analisis isoenzimatico de clones de la *vinifera* “Garnacha” (*Vitis vinifera* L.). *Investigación agraria. Producción y protección vegetales*. 4: 343-354.
137. ROYO J. B., CABELLO F., MIRANDA S., GOGORCENA Y., GONZALEZ J., MORENO S., ITOIZ R., ORTIZ J. M. (1997): The use of isoenzymes in characterisation of grapevines (*Vitis vinifera* L.). Influence of the environment and time of sampling. *Scientia Horticulturae* 69: 145-155.
138. SÁNCHEHEZ-YÉLAMO M.D. (1992): Isoenzyme electrophoretic studies among some species of genus *Eucastrum* and *Hirscheldia incana* (Cruciferae: Brassicaceae) with reference to their chemotaxonomic relationships. *Biochemical Systems Ecology* 20: 631-637. p.

139. SÀNCHEZ-ESCRIBANO E., ORTIZ J. M., CENIS J. L. (1998): Identification of table grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) by the isozymes from the woody stems. *Genetic Resources and Crop Evolution* 45: 173-179.
140. SANTIAGO J. L., BOSO S., MARTÍN J. P., ORTIZ J. M., MARTÍNEZ M. C. (2005): Characterisation and identification of grapevine cultivars (*Vitis vini fera* L.) from northwestern Spain using microsatellite markers and ampelometric methods. *Vitis* 44(2): 67-72.
141. SCANDALIOS J. G. (1969): Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: A review. *Biochemical Genetics* 3:37-79
142. SCHNEIDER A., A. CARRA, A. AKKAK, P. THIS, V. LAUCOU, R. BOTTA (2001): Verifying synonymies between grape cultivars from France and Nordwestern Italy using molecular markers. *Vitis* 40: 197-203
143. SCHRETTNÉ MAJOR Á. (1999): A PCR-technikán alapuló módszerekkel kapott eredmények matematikai kiértékelése 127-137 p. In: HAJÓSNÉ NOVÁK M. (Szerk.): *Genetikai variabilitás a növénynevelésben*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 142 p.
144. SCHWENNESEN J., MIELKE E. A., WOLFE W. H. (1982): Identification if Seedless Table Grape Cultivars and Bud Sport with Berry Isozymes. *HortScience* 17: 366-368.
145. SCIENZA A., VILLA P., TEDESCO G., PARINI L., ETTORT C., MAGENES S., GIANAZZA E. (1994): A chemotaxonomic investigation on *Vitis vinifera* L. II. Comparison among ssp. sativa traditional cultivars and wild biotypes of ssp. silvestris from various Italian regions. *Vitis* 33: 217-224.

146. SCOTT K. D., LEE L. S., DOW T., HENRY R. J. (2000): Isolation and characterisation of new grape microsatellites. *Acta Horticulturae* 528: 199-200.
147. SEFC K. M., LOPES M. S., LEFORT F., BOTTA R., ROUBELAKIS-ANGELAKIS K. A., IBAÑEZ J., PEJIĆ I., WAGNER H. W., GLÖSSL J., STEINKELLNER H. (2000): 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* 100: 498-505.
148. SEFC K. M., STEINKELLNER H., GLÖSSL J., KAMPFER S., REGNER F. (1998): Reconstruction of a grapevine pedigree by microsatellite analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 97:227-231.
149. SEFC K. M., STEINKELLNER H., WAGNER H. W., GLÖSSL J., REGNER F. (1997): Application of microsatellite markers for parentage studies in grapevine. *Vitis* 36: 179-183.
150. SEFC K., REGNER F., GLÖSSL J., STEINKELLNER H. (1998): Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 37 (1): 15-20.
151. SENSI E., VIGNANI R., ROHDE W., BIRICOLTI S. (1996): Characterisation of genetic biodiversity with *Vitis vinifera* L. Sangiovese and Colorino genotypes by AFLP and ISTR DNA marker technology. *Vitis* 35(4): 183-188.
152. SHIELDS C. R., ORTON T. J., STUBER W. (1983): An outline of general resource needs and procedures for the electrophoretic separation of active enzymes from plant tissue. 443-467 p. In: Tanksley S. D., T. J. Orton (Szerk.): *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.

153. SHIRAISHI S, OHMIA WAKAMA C., HIRAMATSU M. (1994): Variation of Glucosephosphate Isomerase and Phosphoglucomutase Isozymes in *Vitis* and Their use in Grape Breeding. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, 38 (3.4), 255-272.
154. SIRÁLY I. (1994): A paradicsom nematode rezisztenciájának vizsgálata izoenzim analízissel. Bp. KÉE diplomamunka.
155. SMALL J. K. (1913): Flora of the southeastern United States. 2nd ed. 1394. p. New York: Small
156. SMITHIES O. (1955): Zone Electrophoresis in Starch Gels.: Group Variations in the Serum Proteins of Normal Human Adults. *Biochemical Journal* 61: 629-641.
157. SOUTHERN E. M. (1975): Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *Journal of Molecular Biology* 98: 503-517.
158. STAUB J. E., SERQUEN F. C., GUPTA M. (1996): Genetic Markers, Map Construction, and Their Application in Plant Breeding. *HortScience* 31: 729-740.
159. STEFANOVITS-BÁNYAI É, LAKATOS ZS., KEREPESI I., BALOGH I. (1999): Esterase and peroxidase isozyme patterns of some *Vitis vinifera* L. species. *Publicationes Universitatis Horticulturae Alimentariae* LIX: 42-46.
- 160 STEFANOVITS-BÁNYAI É., LAKATOS S., HAJÓS-NOVÁK M., HAJDU E., BALOGH I. (2002): Recent developments in biochemical characterisation of *Vitis vinifera* L. varieties in Hungary. *International Journal of Horticultural Science* 8: 57-61.

16. SUBDEN R. E., KRIZUS A., LOUGHEED S. C., CAREY K. (1987): Isozyme Characterisation of *Vitis* Species and Some Cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture* 38:176-181.
162. SUNNUCKS P., WILSON A. C. C., BEHEREGARAY L. B., ZENGER K., FRENCH J., TAYLOR A. C. (2000): SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Molecular Ecology* 9, 1699-1710.
163. SZABOLCSI G. (1991): *Enzimes analízis*. Budapest: Akadémiai Kiadó
164. TANKSLEY S. D., ORTON T. J. (Szerk., 1983): Isozymes in plant genetics and breeding. Elsevier Amsterdam-Oxford-New York
165. TERPÓ A. (1986): A kultúrfajok eredete. 108-109. p. In: TERPÓ A (szerk.): *Növényrendszertan az ökonómbotanika alapjaival I*. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó
166. TERPÓ A. (1988): A pannóniai területek természetes előfordulású szőlő (*Vitis*) populációinak eredete, taxonómiája és gyakorlati jelentősége. Doktori értekezés tézisei. Budapest.
167. THIS P., DETTWEILER E. (2003): EU-Project Genres CT96 No81: European *Vitis* Database and Results Regarding the Use of a Common Set of Microsatellite Markers. *Acta Horticulturae* 603: 59-66.

168. THIS P., JUNG A., BOCCACCI P., BORREGO J., BOTTA R., COSTANTINI L., CRESPIAN M., DANGL G. S., EISENHELD C., FERREIRA-MONTEIRO F., GRANDO S., IBAÑEZ J., LACOMBE T., LAUCOU V., MAGALHÃES 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. *Theoretical and Applied Genetics* 109(7): 1448-1458.
169. THOMAS M. R., CAIN P., SCOTT N. S. (1994): DNA typing of grapevines: An universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Molecular Biology* 25: 939-949.
170. THOMAS M. R., SCOTT N. S. (1993): Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphism when analysed as sequence tagged sites (STSs). *Theoretical and Applied Genetics* 86:895-990.
171. THOMAS M. R., SCOTT N. S. (1994): Sequence tagged site markers for microsatellites: Simplified techniques for rapidly obtaining flanking sequences. *Plant Molecular Biological Reports* 12: 58-61.
172. TÓTH I., PERNESZ GY. (2000): Szőlőfajták szaporítása és leírása. Termőkori morfológiai bélyegek. Budapest: Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet
173. ULANOWSKY S., GOGORCENA Y., MARTÍNEZ DE TODA F., ORTIZ J. M. (2002): Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae* 92: 241-254.

174. ULANOWSKY S., GOGORCENA Y., MARTÍNEZ-DE-TODA F., BORREGO J., IBÁÑEZ J., ORTIZ J. M. (2001): Characterisation of grapevine accessions at germplasm banks with RAPD and microsatellite markers. *Acta Horticulturae* 546: 271-279.
175. VALLEJOS C.E. (1983): Enzyme activity staining. 469-516. p In: TANKSLEY S.D., T.J. ORTON (Szerk.). *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*, Part A. Elsevier Sci Publ. B.V., Amsterdam
176. VANTINI F., GASTALDELLI M., GOVONI C., TOSI E., MALACRINÓ P., BASSI R., CATTIVELLI L., TACCONI G. (2003) : Caratterizzazione genetica di vitigni autoctoni veronesi. *L'informatore Agrario* 32:45-48.
177. VIDAL J. R., MORENO S., MASA A., ORTIZ J. M. (1998): Study of the genetic homogeneity of Albariño (*Vitis vinifera* L.) growing in Galicia (Spain) using isozyme and RAPD markers. *Vitis* 37: 145-146.
178. VIGNANI R., BOWERS J. E., MEREDITH C. P. (1996): Microsatellite DNA polymorphism analysis of clones of *Vitis vinifera* 'Sangiovese'. *Scientia Horticulturae* 65: 163-169.
179. VIGNANI R., SCALI M., MASI E., CRESTI M. (2002) : Genomic variability in *Vitis vinifera* L. « Sangiovese » assessed by microsatellite and non-radioactive AFLP test. *Electronic Journal of Biotechnology* 5(1): 1-11.
180. WALTERS T. W., POSLUSZNY U., KEVAN P. G. (1989): Isozyme analysis of the grape (*Vitis*). I. A practical solution. *Canadian Journal of Botany* 67: 2894-2899.

181. WARREN F. L., ALPHA C. G.(1998): Using Simple Sequence repeats (SSRs) for DANN Fingerprinting Germplasm Accessions of Grape (*Vitis* L.) Species. *Journal of the American society for Horticultural Science* 123(2): 182-188.
182. WEEDEN N. F., REISCH B. I., MARTENS M. H. E. (1988): Genetic Analysis of Isozyme Polimorohism in Grape. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences* 113 (5): 765-769.
183. WILLIAMS J. G. K., KUBELIK A. R., LIVAK K. J., RAFALSKI J. A., TINGEY S. V. (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research*, 18:6531-6535.
184. WOLFE K. H., LI W. H., SHARP P. M. (1987): Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Procidings of the National Academy of Sciences USA* 84: 9054-9058.
185. WOLFE W. H (1976): Identification of grape varieties by isozyme banding patterns. *American Journal of Enology and Viticulture* 27: 68-73.
186. WYLIE A. P. (1869): The gardener's monthly. 10: 153-155.
187. WYLIE A. P. (1871): Hybrirdization of *rotundifolia* grapes. *American Pomological Society Proceedings* 13: 113-116.
188. YE G. N., SOYLEMEZOGLU G., WEEDEN N. F., LAMBOY W. F., POOL R. M., REISCH B. I.(1998): Analysis of the relationship between grapevine cultivars, sports and clones via DNA fingerprinting. *Vitis* 37 : 33-38.

189. ZAPATA J. M., CALDERÓN A. A., ROS BARCELÓ A. (1995): Peroxidase isoenzyme Patterns in Cell Cultures derived from Cotyledon, Stem, Leaf and Fruit from Grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Monastrell). *Annals of Botany* 75: 443-448.
190. ZOGHLAMI N., MLIKI A., GHORBEL A. (2001): Evaluation of genetic diversity among Tunisian grapevines by RAPD markers. *Vitis* 40 : 31-37.
191. ZULINI L., FABRO E., PETERLUNGER E. (2003): Genetic Analysis of the Grapevine Cultivar 'Picolit' Based on Microsatellite and AFLP Markers. *Acta Horticulturae* 603: 467-472.