

Szent István Egyetem

Mezőgazdasági és Környezettudományi Kar

Genetika és Biotechnológia Intézet

## KÁRPÁT-MEDENCEI ŐSHONOS SZŐLŐ BOGYÓSZÍNVARIÁNSOK GENETIKAI ELKÜLÖNÍTÉSE

Készítette: Farkas Eszter

II. évf. Mezőgazdasági biotechnológus hallgató

Témavezetők: Dr. Kiss Erzsébet

Dr. Szőke Antal

Gödöllő

2012

# Tartalomjegyzék

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Bevezetés és célkitűzés .....                                        | 3  |
| 2. Irodalmi áttekintés .....                                            | 5  |
| 2.1 Antocián bioszintézis .....                                         | 5  |
| 2.2 A szőlő bogyóhéj színgenetikája .....                               | 7  |
| 2.2.1 A fehér bogyóhéj kialakulása .....                                | 7  |
| 2.2.2 A szőlőbogyó színével kapcsolatos legfontosabb kutatások.....     | 8  |
| 2.2.3 A VvmybA1 allél polimorfizmusa .....                              | 10 |
| 2.2.4 Myb haplotípusok szőlőben .....                                   | 12 |
| 2.3 Transzpozonok .....                                                 | 14 |
| 2.3.1 Retrotranszpozonok .....                                          | 15 |
| 2.4 Színvariánsok vizsgálata CAPS markerekkel .....                     | 16 |
| 2.5 Mikroszatellit markerek alkalmazása .....                           | 17 |
| 2.5.1 Kárpát- medencei szőlőfajták mikroszatellit elemzése .....        | 18 |
| 3. Anyag és módszer .....                                               | 19 |
| 3.1 Növényanyag .....                                                   | 19 |
| 3.2 Nukleinsav izolálás .....                                           | 20 |
| 3.3 PCR vizsgálatok .....                                               | 20 |
| 3.4 Poliakrilamid gélelektroforézis .....                               | 22 |
| 4. Eredmények .....                                                     | 23 |
| 4.1 További feltételezett kárpát-medencei fajtacsoportok keresése ..... | 23 |
| 4.2 Bogyószínűvariánsok genetikai elkülönítése .....                    | 24 |
| 4.2.1 UFGT gén .....                                                    | 24 |
| 4.2.2 A VvmybA1 allélváltozatainak vizsgálata .....                     | 24 |
| 4.2.2.1 A VvmybA1a (fehér) allél vizsgálata .....                       | 24 |
| 4.2.2.2 VvmybA1b és VvmybA1c (piros) allélok vizsgálata .....           | 25 |
| 4.2.2.3 Vizsgálat a VvmybA(1) primerrel .....                           | 26 |
| 4.2.2.4 Vizsgálat a VvmybA(2) primerrel .....                           | 27 |
| 4.2.2.5 Vizsgálat a VvmybA(3) primerrel .....                           | 27 |

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2.2.6 Vizsgálat a VvmybA(4) primerrel .....                       | 28 |
| 4.2.2.7 Vizsgálat a VvmybA(5) primerrel .....                       | 29 |
| 4.2.3 A Gret1 retrotranszpozon LTR szekvenciájának vizsgálata ..... | 30 |
| 4.2.4 CAPS marker vizsgálatok .....                                 | 30 |
| 4.2.4.1 Vizsgálatok a 20D18CB9 markerrel .....                      | 30 |
| 4.2.4.2 Vizsgálatok a 103K2CB10 markerrel .....                     | 32 |
| 5. Összefoglalás .....                                              | 34 |
| 6. Köszönetnyilvánítás.....                                         | 36 |
| 7. Irodalomjegyzék .....                                            | 37 |
| 8. Mellékletek .....                                                | 43 |
| 8.1 A vizsgálatainkban szereplő szőlőfajták .....                   | 43 |
| 8.2 Kárpát- medencei szőlőfajták mikroszatellit méretei .....       | 45 |

## 1. Bevezetés és célkitűzés

A szőlő kultúrába vétele a Neolitikus korszakban indult meg, Kr.e. 5000 évvel Szíriában és ezt követően terjedt szét a mediterrán vidékekre, az emberi migrációt követve (Goor, 1996). A több ezer éves szőlőkultúra nagyon sok fajta létrejöttét eredményezte. A szőlőfajták száma 10 000 körüli, de ebből a számból a tényleges fajta szám 6000, aminek oka a homoníma és a szinoníma jelensége. A homoníma azt jelenti, hogy két különböző fajtát ugyanazon a területen honosítottak meg és ugyanazt a nevet kapta, tehát két különböző genotípus kapott ugyanolyan nevet. A szinoníma pedig akkor áll fenn, ha egy-egy fajtát új területen honosítottak meg, ennek során új nevet kapott, de ugyanarról a fajtáról van szó (Lencsés és mtsai, 2010).

Németh Márton a szőlőfajtákat fajtacsoportokba, ún. *concultákba* sorolta. Morfológiailag hasonló (vitorla színe, valamint szőrözöttsége), de bogyószínben eltérő fajták tartoznak egy *concultába*. A Kárpát- medencében termesztett fajták között a következő fajtacsoportokat különítette el: *Aramon, Bajor, Bakator, Barátcsuha, Cabernet, Chardonnay, Chasselas, Clairette, Furmint, Gamay, Gohér, Izsáki, Járdovány, Kadarka, Lisztes, Medoc, Muskotály, Oporto, Ortlíbi, Othello, Pinot, Rajnai rizling, Rozaki, Sauvignon, Veltelini I., Veltelini II.* A szőlőbogyó színében nagy variabilitás figyelhető meg, a feketétől a piroson, a rózsaszínen és a szürkén át a fehérig (zöldig). A szín- mutáció a szőlő héjában gyakori esemény, ami könnyen észrevehető és az egyik legfontosabb tulajdonság, amit alkalmaznak a szelekcióban és a szaporításban. Egy fajtacsoporton belül kék, szürke, fekete, piros, rózsaszín, fehér bogyójú fajták találhatók. Ezek rügymutációval alakultak ki a kék alapfajtából. Azonban egy *concultába* kerültek olyan fajták is, melyek nem rügymutáció eredményei, hanem spontán átkeresztződés, vagy tudatos keresztezés következményei. Előfordul, hogy két fajta között semmilyen rokoni kapcsolat nincs (Lőrincz, 2005).

A molekuláris azonosítás először az *RFLP (restriction fragment length polymorphism)* módszerrel valósult meg, a *PCR technika* kifejlesztése után génspecifikus és mikroszatellit primerek alkalmazásával történt. Thomas és Scott 1993-ban írták le az első mikroszatellit szekvenciákat, melyek a szőlőfajták genotipizálására alkalmasak voltak, így napjainkra a *mikroszatellit (SSR= Simple Sequence Repeat)* ujjlenyomatok

a különböző szőlőfajták molekuláris jellemzésének hatékony eszközeivé váltak. Ezeket a markereket nemcsak fajta-azonosításra, hanem szülő-utód kapcsolatok feltárására és a homoníma-szinoníma felderítésére is alkalmazzák (Galbács, 2009).

A szőlőbogyó héjának színe a héjban termelődött antociánok mennyiségétől és minőségétől függ. A fekete és piros héjú fajták antociánt raktároznak, míg a fehér héjú fajtákban nem történik antocián bioszintézis (Mazza és Miniati, 1993). A *Pinot noir*-ból mutációval jött létre a *Pinot gris* melynek jellegzetes szürke bogyószíne van és a *Pinot blanc*, melynek bogyójában nem halmozódott fel antocianin, így az fehér színű. Egy másik példa a *Cabernet sauvignon*: *Cabernet franc* (piros) X *Sauvignon blanc* (fehér) színes bogyójú szőlőfajta, mely heterozigóta a színre nézve. Azonban tőkájén találtak a piros/fekete fürtökön kívül egy jellegzetes bronz- színű fürtöt, amit vegetatívan szaporítottak tovább. Ez a bronz- színű bogyókat tartalmazó tőke több generáción át fennmaradt és a mutánst, mint új fajtát regisztrálták *Malian* néven (Clegget, 2001). 1991-ben *Malian* tőkén megjelent egy fehér/színtelen bogyójú fürt, amit továbbszaporítottak és a mutánst új szőlőfajtaként regisztrálták *Shalstin* néven (Clegget, 2003). Ezek az ún. bogyószínűvariánsok.

A szőlő génforrások megőrzése és termesztésben való felhasználása megköveteli az egyes fajták pontos azonosítását és jellemzését. Jelenleg a fajták leírása morfológiai bélyegek és *mikroszatellit* ujjlenyomatuk alapján történik. Mind az európai, mind a magyarországi termesztett és gyűjteményekben őrzött fajták közül találhatunk olyanokat, amelyek azonos SSR ujjlenyomattal rendelkeznek és csak a bogyók színében különböznek. 1997-ben indult el a GenRes CT 96 No 81 projekt (*European Network for Grapevine Genetic Resources Conservation and Characterisation*) folytatásaként pedig létrejött a GrapeGen06 program, 17 országból 24 partner részvételével az INRA (*National Institute of Agricultural Research of France*) irányítása alatt. A program célja a szőlőfajták széleskörű genetikai vizsgálata és a fajták megőrzése a jövő számára (Kiss, 2010). A programban a magyarországi Szent István Egyetem Genetika és Biotechnológiai Intézete és a Pécsi Tudományegyetem Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete vesz részt. Ennek a projektnek a részeként végeztük kutatásainkat, melynek célja, hogy eddig még el nem különített kárpát- medencei fajtákat különböztessünk meg az antocián bioszintézis szabályozásában szerepet játszó Myb transzkripciós faktorok szekvenciájára tervezett, valamint retrotranszpozon alapú markerekkel.

# Irodalmi áttekintés

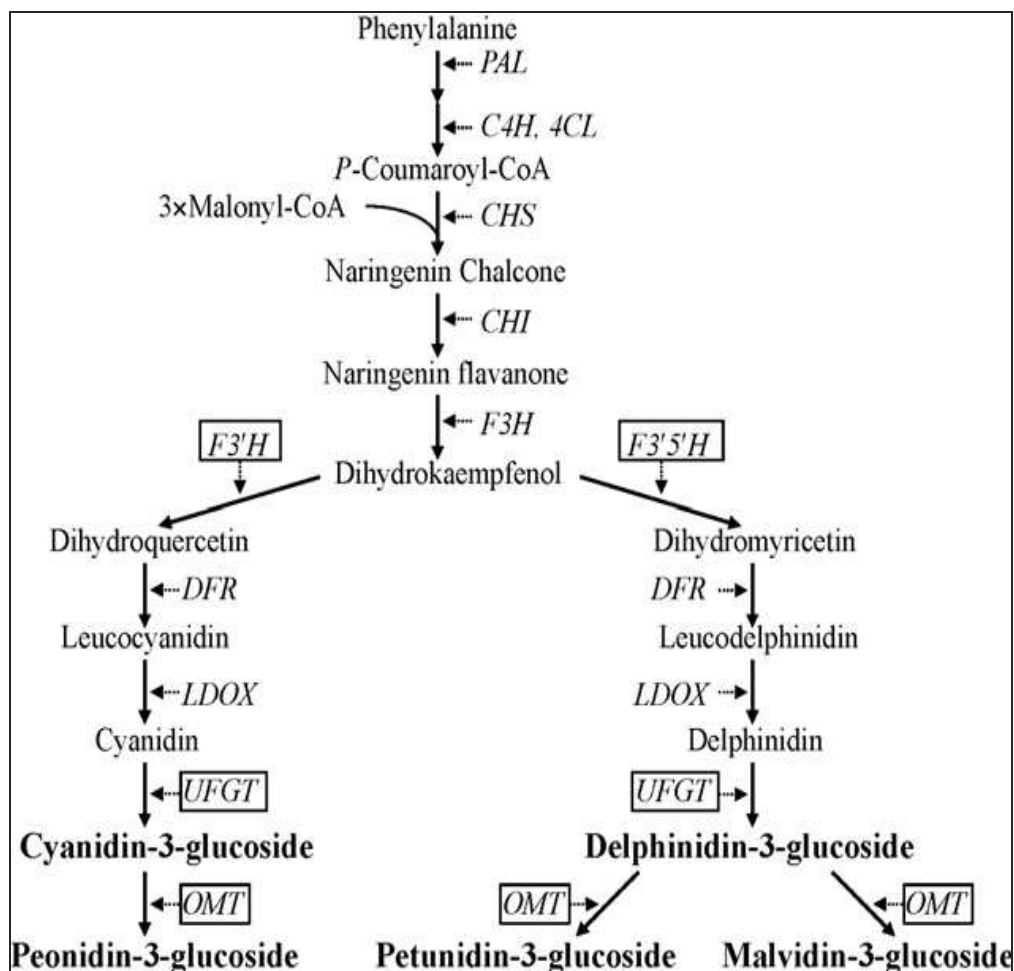
## 2.1 Antocián bioszintézis

Az antociánok a flavonoidok közé tartozó, vízben oldható vegyületek, a legtöbb magasabb rendű növényben megtalálhatók. Míg a flavonoidok a fehér szőlőfajtákban is jelenlévő színyanyagok, melyek a héjban és húspan találhatók, addig az antociánok a terméshej epidermiszében fordulnak elő (Winkler, 1974). Az antociánok jelenléte fontos a kártevők, valamint az UV sugárzás elleni védelemben (Haite és Gould, 2009). Mennyiségük nagyban befolyásolja a szőlőből készült borok minőségét és színyanyag tartalmát (Eperjesi és mtsai, 2000). Az antocián tartalmat a különböző szőlőfajtákban széles körben tanulmányozták. Shinaishi és Watanabe meghatározták az antocián összetételét 59 színes és fehér bogyójú szőlőfajtánál és leírták, hogy a legtöbb piros fajta antocianinja, a *cyanidin* és *peonidin*, míg a fekete fajták elsődleges *delphinidineket* *petunidint* és *malvidint* tartalmaznak.

A bogyó héjában néhány héttel zsendülés előtt kezdődik meg az antociánok bioszintézise, ami a bogyóban és a levélben eltérő mechanizmussal megy végbe. A bogyóban található antociánok a magban felhalmozódó *proantocianidinekből* származnak, míg a levélben található antociánok forrásai az ősszel felhalmozódó cukrok (Eperjesi és mtsai, 2000). Boss és munkatársai 1996- ban bebizonyították, hogy az UDP glükóz: flavonoid 3 O glükoziltranszferáz (UFGT) gén expressziójának meghatározott szerepe van az antocianin bioszintézisben szőlőnél. Az antocián bioszintézis *fenilalaninból* indul ki (**1. ábra**). A kezdeti lépésekben a *chalkon-szintáz* (CHS) és a *chalkon- izomeráz* (CHI) enzimek a meghatározók. A *dihydrokaempfenol* vegyületnél a bioszintetikus út elágazik. Az F3'H és az F3'5'H kifejeződésének szintjeit a *cyanidin* és *delphinidin* mennyisége szabályozza (Jelong és mtsai, 2004 ).

Az antociánok bioszintézisét különböző szabályozó gének irányítják, amelyeket három nagy csoportra oszthatunk, a MYB, bHLH és a WD40 géncsaládok (Koes és mtsai, 1995). Sok növényben, mint pl. kukorica, petúnia, *Arabidopsis*, szőlő esetén az antocianin bioszintetikus és genetikai útja már jól ismert (Holton és Cornish, 1995). Szőlőben a Myb transzkripció faktorok felelősek az antocián bioszintéziséért. A *Vitis labruscana* fajból (*Vitis labrusca* X *Vitis vinifera*) izolált Myb transzkripció faktor pl. a VtMybA1-1, az UDP glükóz: flavonoid 3 O glükoziltranszferáz gén expresszióján keresztül szabályozza az antocián bioszintézist. A VvMybA1 *Vitis vinifera* szőlőfajban,

ami homológ a VtMybA1-1, ugyanazt a funkciót látja el az antocián bioszintézisben (Kobayashi és mtsai, 2004). Ezen Myb transzkripciós faktorok fokozzák minden antocián bioszintézisben részt vevő gén expresszióját (Jeong és mtsai, 2004).



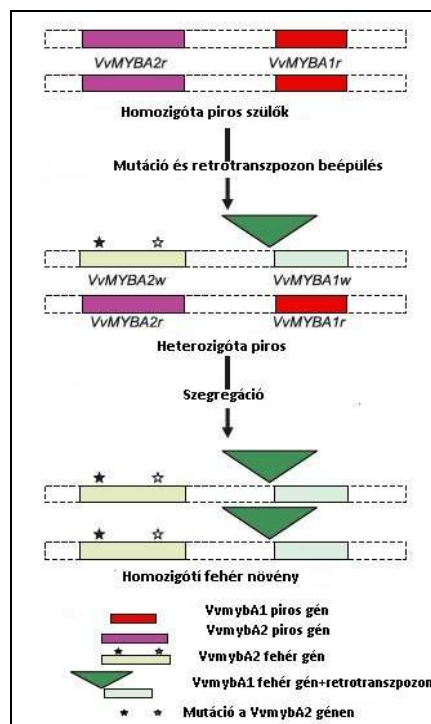
1. ábra Az antocián bioszintézis (Azuma és mtsai, 2009)

## 2.2 A szőlő bogyóhéj szín genetikája

### 2.2.1 A fehér bogyóhéj kialakulása

A fehér bogyójú szőlő az eredeti fekete/piros bogyójú szőlőből alakult ki mutációval és retrotranszpozon beépülésével. Minden vizsgált fehér bogyójú szőlőfajtában ugyanaz a mutáció volt azonosítható és egy közös őst feltételezése a legvalószínűbb magyarázat. A fehér bogyójú fajták kialakulásának első lépése az antocián bioszintézist meghatározó két génben (VvmybA1 és VvmybA2) bekövetkezett mutáció lehetett.

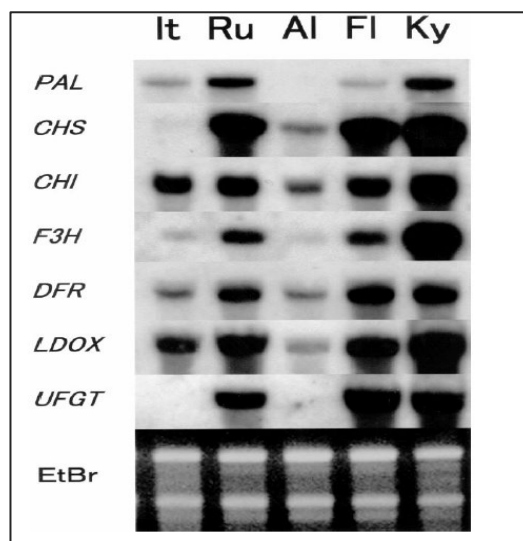
A VvmybA2 génben egy citozin, adenin deléció történt, a VvmybA1 génbe pedig beépült egy retrotranszpozon, amely inaktivációt okozott (2. ábra). Az eredmény az lett, hogy mindkét gén elveszítette az antocián bioszintézisben betöltött szabályozó szerepét. A bogyók mindaddig pirosak maradtak, míg legalább az egyik allél funkcióképes maradt (heterozigóta piros egyedek). Mihelyt a szegregáció következtében megjelentek a mutációt okozó homozigóta fehér allélok, megjelent a fehér bogyószín is (Walker és mtsai, 2007).



2. ábra A fehér bogyóhéj kialakulása (Walker és mtsa, 2007)

### 2.2.2 A szőlőbogyó színével kapcsolatos legfontosabb kutatások

1. 1996-ban bebizonyították, hogy az UFGT gén kritikus az antocián bioszintézis szempontjából, mivel expresszáldott minden színes bogyójú faj héjában. A fehér bogyójú fajokban nem tudtak kimutatni expressziót. Ezzel ellentétben az összes antocián bioszintézisért felelős gén expressziója kimutatható a fehér bogyójú fajok többi szövetében is, azonban jóval alacsonyabb mértékben a színes szőlőfajtáknál. Az UFGT gén expressziója csak a héj szöveiben mutatható ki. (Boss és mtsai, 1996).
2. 2001-ben Kobayashi és munkatársai ismételt vizsgálatokat végeztek az antocián bioszintézisében szereplő gének expressziójával kapcsolatosan *Italia* és *Alexandriai muskotály* fehér színű szőlőfajtákon, valamint *Ruby Okuyama*, *Kyoho* és *Flame muscat* színes bogyójú szőlőfajtákon. Minden struktúrgén, ami az antocián bioszintézisben fontos, expresszáldott a színes héjú fajtákban. A fehér héjú fajtákban az expresszió mértéke jóval alacsonyabb volt, mint pl. a színes *Kyoho* szőlőben. A CHS gén expressziója nem volt detektálható az *Italia* szőlőfajtában, a PAL gén expressziója pedig az *Alexandriai muskotály* fajban nem volt kimutatható, valamint egyik fehér héjú fajtában sem volt UFGT expresszió (**3. ábra**). Ezzel a vizsgálattal újra bizonyítást nyert, hogy az UFGT gén expressziója nélkülözhetetlen az antocián bioszintézisben.



**3. ábra** Az antocián bioszintézisben részt vevő gének vizsgálata Northern blot analízissel  
(Kobayashi és mtsai, 2001)

3. 2002-ben Kobayashi és munkatársai izolálták a bioszintézist szabályozó transzkripciós faktorokat a Myb géneket. Részecske bombázás módszerével érésben lévő *Ruby Okuyama* szőlőből származó Myb cDNS- ket juttattak a fehér színű *Kyoho* szőlőfajta szomatikus embrióiba. Ezekben az embriókban a VvmybA1 faktor hatására antociánt termelő sejteket figyeltek meg az embriókban. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a Myb transzkripciós faktorok szabályozzák az antocián bioszintézist az UFGT gén expresszióján keresztül. Hasonló eredményt értek el Kobayashi és munkatársai, amikor részecske bombázással juttattak színes *Flame muscat* szőlőfajtából VvmybA1 cDNS-t a fehér *Alexandriai muskotály* szomatikus embrióba, amiben így színes, antociántermelő sejteket lehetett megfigyelni.
4. 2004-ben Kobayashi és munkatársai kimutatták a Gret1 retrotranszpozon jelenlétét a fehér bogyójú fajták VvmybA1 alléljában. A transzpozon inszerciójának következményeként az allél elveszíti funkcióját, az UFGT gén expressziója nem történik meg, így a szőlő héjában nincs antocián bioszintézis.
5. 2007-ben This és munkatársai különböző színű fajták genetikai vizsgálata során több polimorfizmust mutattak ki a VvmybA1 gén szekvenciájában, amely a Gret1 retrotranszpozon kivágódásának a következménye is lehetett, valamint feltételezésük szerint az antocián bioszintézisben résztvevő gének mutációja is okozhatja a fehér bogyójú fajták kialakulását.
6. 2008-ban Azuma és munkatársai további Myb faktorokat izoláltak a *Vitis labruscana* fajból, valamint vizsgálták ezek szabályozó szerepét az antocián bioszintézisben. Olyan VvmybA1 haplotípusokat is azonosítottak, amelyek növelik az antociánok mennyiségét a bogyók héjában

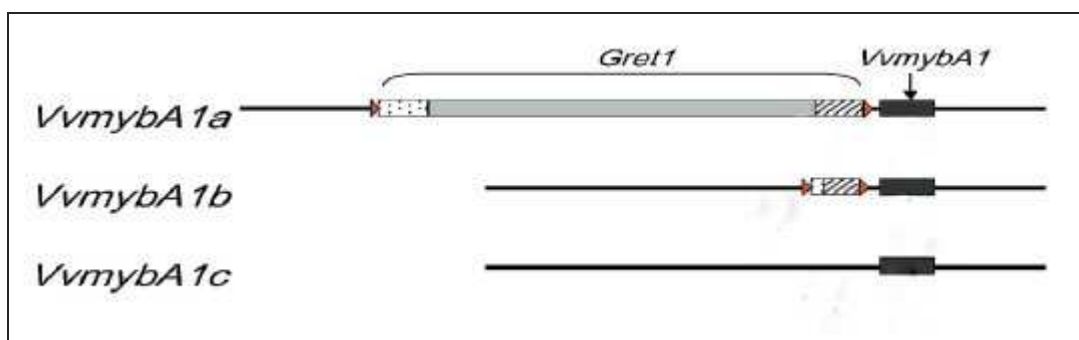
### 2.2.3 A VvmybA1 allél polimorfizmusa

A Gret-1 retroelem jelenléte, illetve hiánya alapján a VvmybA1 génnek három fő allélváltozatát különböztetik meg: a VvmybA1a (Gret-1 inszerció, „fehér allél”) a VvmybA1c (Gret-1 hiányzik, „piros allél”), valamint a VvmybA1b (ami Gret1 3’LTR szekvenciáját tartalmazza, „piros allél”). A fehér fajták homozigóták a VvmybA1a allélra, míg a piros bogyójúak heterozigóták vagy a VvmybA1a allél hiányzik belőlük és csak a VvmybA1b, vagy VvmybA1c allél van jelen.

Azonban további kutatások eredményeként számos más VvmybA1 allél ismertek meg a kutatók, így VvmybA1d, VvmybA1<sup>ROD</sup>, VvmybA1<sup>BEN</sup>, VvmybA1<sup>SUB</sup> allélokat.

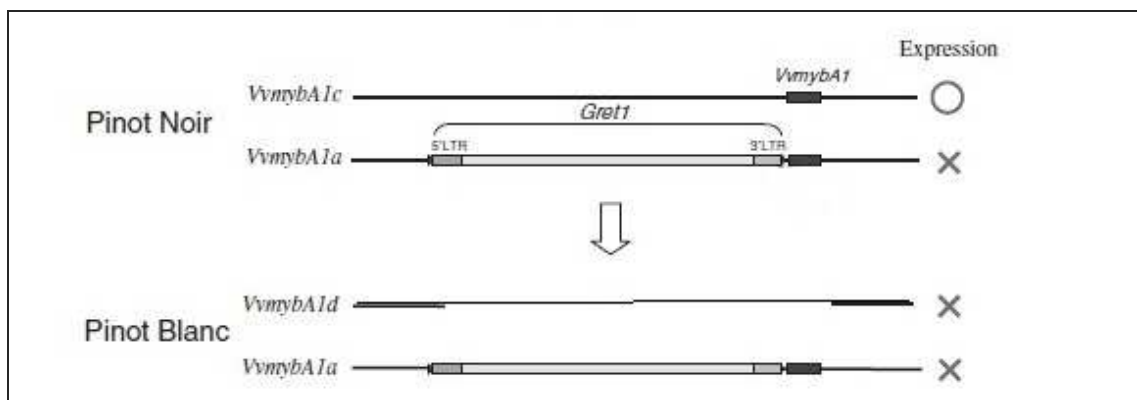
A legvalószínűbb, hogy az eredeti Gret1 retrotranszpozont nem tartalmazó allél a VvmybA1c allél volt, mivel ebből a retrotranszpozon teljesen hiányzik és annak semmilyen szekvencia maradványa nem található meg. Ez az allél így funkcióképes és antocián bioszintézist eredményez a bogyókban (4. ábra).

A VvmybA1c allél mellett a VvmybA1b allél is működőképes, azonban itt található egy transzpozon eredetű szekvencia, mivel a Gret1 kivágódása után a retrotranszpozon 3’ LTR szekvenciája megmaradt, így a VvmybA1b allélmérete nagyobb, mint a VvmybA1c allélé (4. ábra)(Kobayashi és mtsai, 2004).



4. ábra A VvmybA1 allél polimorfizmusa (Kobayashi és mtsai, 2004)

Walker és munkatársai (2006), valamint Yakushi és munkatársai (2006) vizsgálták a bogyószín mutánsokat, többek között a *Pinot noir* és a *Cabernet* fajtákat és azt találták, hogy a VvmybA1 allél teljes deléciojának a következménye egy funkcióképtelen allél, amit Yakushi „null allélnak” nevezett el és a VvmybA1d jelölést kapta. Fény derült arra is, hogy így alakult ki a fehér színű *Pinot blanc* is, a *Pinot noir* rügymutánsa és tartalmazza ezt a „null allélt” (5. ábra).

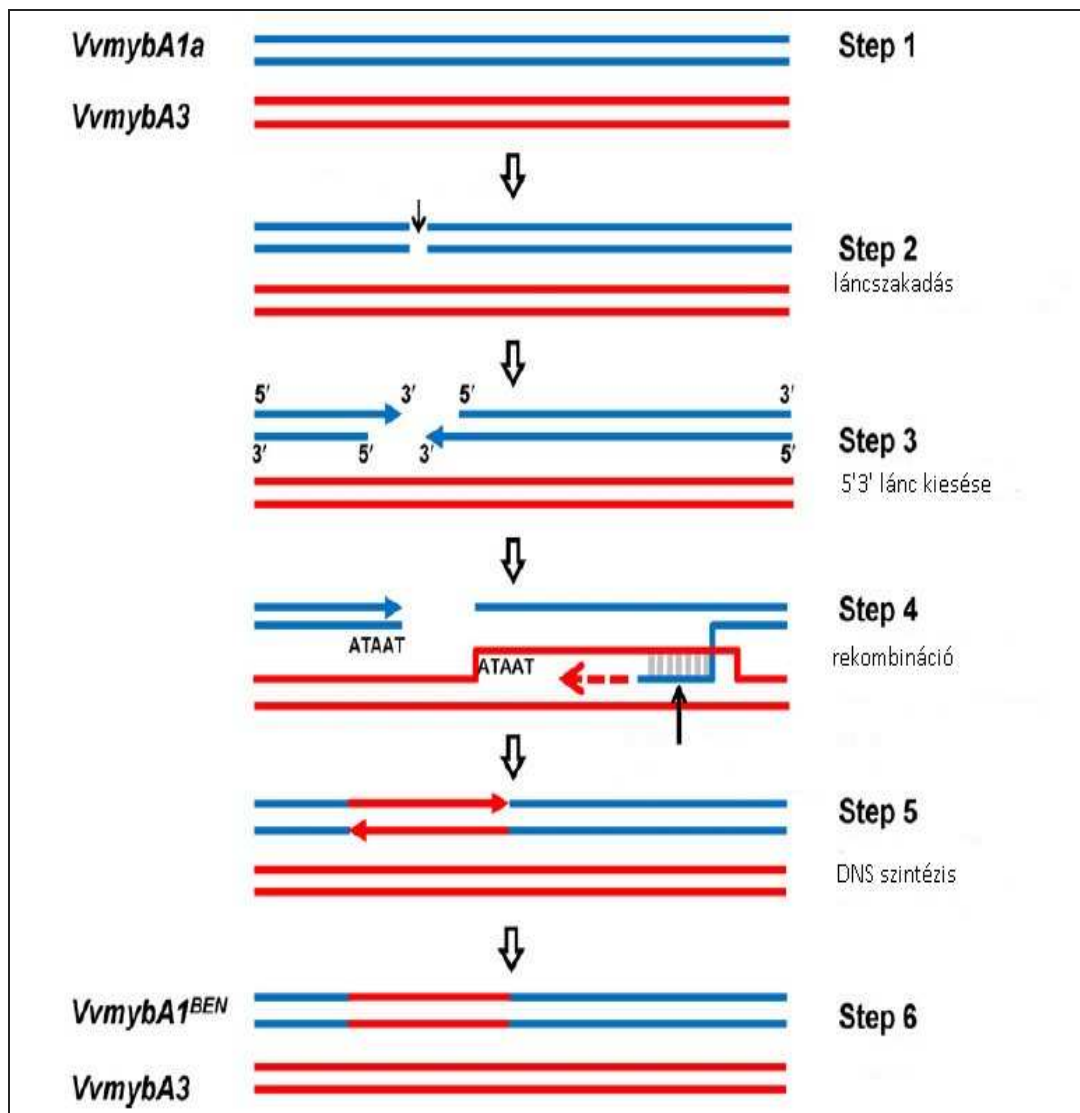


5. ábra A Pinot blanc szőlőfajta kialakulása a Pinot noir- ból (Yakushi és mtsai, 2006)

Lijavetzky és munkatársai 2006-ban *Roditis* szőlőfajtában a *VvmybA1* allél szekvenciájának vizsgálatával megállapította, hogy a gén 3' végeiről 135 kódoló nukleotid deletálódott és az új allélváltozatot *VvmybA1<sup>ROD</sup>*-nak nevezte el.

Azuma és munkatársai 2009-ben a *Ruby Okuyama* és a *Benitaka* szőlőfajták molekuláris vizsgálatakor egy újabb allélra bukkantak rá. A *Benitaka*, a fehér *Italia* szőlőfajta rügymutánsa és jellegzetes rózsaszín bogyószínnel rendelkezik. Míg a fehér *Itália* szőlőfajtában a *VvmybA1a* allél homozigóta formában találták, a *Ruby Okuyamában* megvolt a *VvmybA1a* allél és a *VvmybA1b* allél is, ezáltal piros színű, addig a *Benitaka* szőlőfajtában nem volt kimutatható a *VvmybA1b* allél, csupán a *VvmybA1a* allél. A kérdés az volt, hogy akkor mi okozza a jellegzetes bogyószínt annak ellenére, hogy nem tartalmaz színes allélt. Ekkor találták meg ezt a *VvmybA1a* allélnál nagyobb méretű fragmentumot, amit *VvmybA1<sup>BEN</sup>*-nek nevezték el. Az allél a *VvmybA1a* és a *VvmybA3* allélok homológ rekombinációjával alakulhatott ki (6. ábra), eredményeként erősen különböző antocián összetétel és minőség tapasztalható a *Benitaka* szőlőfajtában.

A *Sultanina* fajtaból izolált *VvmybA1<sup>SUB</sup>* allél tartalmaz egy 44 és egy 111 bp hosszúságú inszerciót upstream irányba a kódoló régiótól (Azuma és mtsai, 2009).



6. ábra A *VvmybA1BEN* allél kialakulása (Azuma és mtsai, 2009)

#### 2.2.4 Myb haplotípusok szőlőben

A haplotípusok a lókuszt genetikailag kapcsolt, együtt öröklődő allélkombinációi. Mivel ezek együtt öröklődnek, nézhetjük őket egyetlen nagy allélnak. A bogyó színét meghatározó lókuszon a két szint szabályozó gén a *VvmybA2* és a *VvmybA1* nagyon közel vannak egymáshoz, ezért kapcsoltan öröklődnek és haplotípusokat alkotnak (Azuma és mtsai, 2008).

A haplotípusok és az antocián tartalom között szoros összefüggés van. Két funkcionáló haplotípussal rendelkező szőlőfajta (pl. HapC/HapE) szignifikánsan magasabb antocián

tartalmat eredményez, mint egy funkcionáló haplotípus esetén (pl. HapA/HapE, HapA/HapC), de természetesen más faktorok is befolyásolhatják a végső antocián tartalmat (Azuma és mtsai, 2011).

A **7. ábrán** látható a HapA, egy nem funkcionáló haplotípus, mivel mind a két génje (VvmybA2w és VvmybA1a) mutálódott, így nincs antocián termelés (Azuma, 2011).

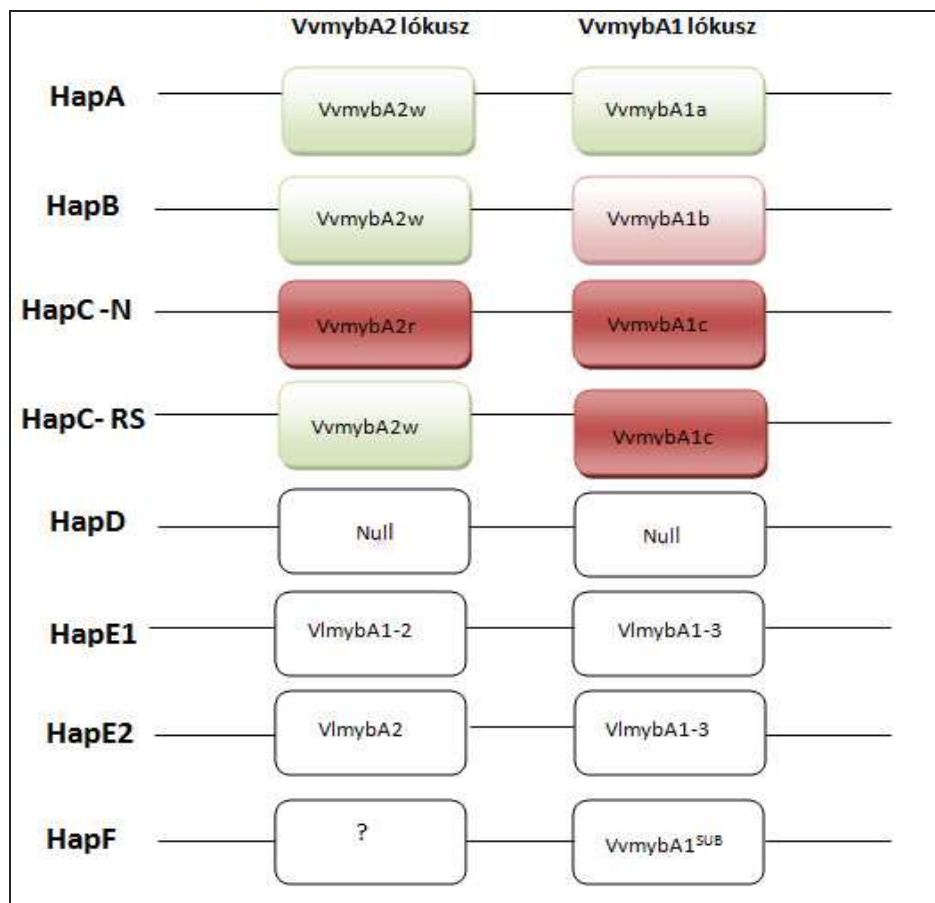
A HapB mutációt szenvedett VvmybA2w gént és működő VvmybA1b gént tartalmaz (Azuma és mtsai, 2008).

A HapC egy teljesen működő haplotípus, mivel mindkét génje az eredeti állapotot tükrözi (VvmybA2r, VvmybA1c). A HapC- t további két alcsoportra oszthatjuk fel (HapC- N és HapC- RS). A HapC- N magába foglalja a VvmybA2r és a VvmybA1c funkcionáló allélokat, míg a HapC- RS tartalmaz egy VvmybA1c funkcionáló allélt és egy VvmybA2w mutációt szenvedett allélt. Feltételezhetően a HapC- N az ősiabb haplotípus (Azuma és mtsai, 2011).

A HapC-ből a VvmybA2r és a VvmybA1c allélok deléciójával alakult ki a HapD, két „null” allélt tartalmaz a VvmybA1 és a VvmybA2 lókuszon (Azuma és mtsai, 2008).

A HapE haplotípust csak a *Vitis labruscana* szőlőfajtában lehetett kimutatni, két alcsoportját különböztetjük meg, a HapE1 és a HapE2 (Azuma és mtsai, 2008).

A HapF- nek nevezték azt a haplotípust, melyben megtalálható a VvmybA1SUB allél, ami egy 44 és egy 111 bp hosszúságú plussz inszertet tartalmaz (Azuma és mtsai, 2008). Az előbb felsorolt haplotípusokat a **7. ábra** szemlélteti.



7. ábra Az eddig leírt haplotípusok

## 2.3 Transzpozonok

A transzpozonokat más néven mozgékony genetikai elemeknek hívjuk, mivel a kromoszóma mentén helyváltoztatásra képesek. Ezeket az elemeket Barbara McClintock fedezte fel az 1940-es évek végén, az indián kukoricán. A bakteriális transzpozonokat az 1960-as évek végén James és Shapiro abnormálisan viselkedő mutációként figyelték meg. Úgy találták, hogy a mutáció következtében a gének extra DNS szakaszokat kapnak, ezek az extra DNS szakaszok tulajdonképpen inszertálódnak a génbe és megváltoztathatják annak működését, *inszerciós szekvenciáknak* (IS elemeknek) hívjuk őket. Ezek a szekvenciák tulajdonképpen csak az inszercióhoz szükséges elemeket tartalmazzák, amelyek csak az áthelyeződéshez és a transzpozícióhoz szükséges enzimeket katalizálják. Az IS elemeknél nagyobbak a transzpozonok és rendszerint más géneket is hordoznak és hosszabb ismétlődő szekvenciákkal rendelkeznek. A transzpozíció kétféle mechanizmussal mehet végbe, *konzervatív transzpozíció*, melyben csak a transzpozon helyzete változik, valamint

beszélhetünk *replikatív transzpozícióról*, amely során DNS replikáció történik, a transzpozon replikálódik és a replikon egy másik helyre épül be (Kiss, 1999).

A transzpozonok két csoportját különböztetjük meg, az egyik csoportba azok a mozgékony elemek tartoznak, amelyek DNS-ként helyeződnek át, a másik csoportban pedig a retrotranszpozonok találhatók, felépítésük hasonlít a retrovírusokhoz, reverz transzkriptáz enzim segítségével kettős szálú DNS-é alakul, majd beépül a genomba. Ennek a dinamikája és mozgékonyasága széles körben változik, de mindre igaz, hogy molekuláris módosítást okoznak a genomban, így fontos szerepet játszanak a mutációk kialakításán keresztül az evolúcióban (Friesen és mtsai, 2001).

### 2.3.1 Retrotranszpozonok

A növényekben a retrotranszpozonok nagy mennyiségben fordulnak elő, a rizs genomjának 20% alkotják, de egyes esetekben akár a genom 90% is kitehetik ilyen retroelemek (Jianxin és mtsai, 2004). A retrotranszpozonok három jól ismert kategóriába csoportosulnak növényeknél a SINE, a LINE valamint az LTR (*long terminal repeat region*) (Friesen és mtsai, 2001). Az LTR elemek legnagyobb mennyiségben a kromoszómák heterokromatikus régióiban fordulnak elő, pl. a terminális heterokromatikus régióban (Wong és Choo, 2004), de sok tanulmány született arra vonatkozólag, hogy ezek az elemek szétszóródva vagy csoportosulva találhatók a genomban, különösen a kódoló régióban (Sandhu és Kulvinder, 2002). Tehát a retroelemek az eukromatikus régiókba is nagy gyakorisággal épülnek be, beleértve a génekhez közeli helyeket is (Vershinin és mtsai, 2002). Például a TOS 17 copia típusú elemeket találtak rizs egy génben gazdag kódoló régiójában több vizsgált populációban is (Miyao és mtsai, 2003).

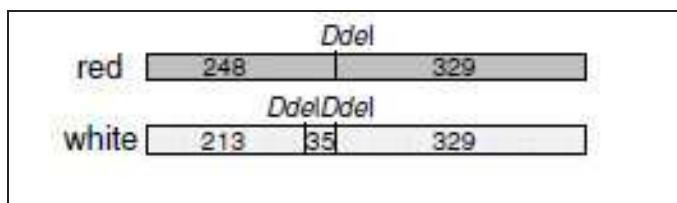
A szőlő közepes méretű genommal rendelkezik (500 MB), diploid kromoszómaszáma  $2n=38$  (Tomkins és mtsai, 2001). Ennek a közepes méretű genomnak a 41% teszik ki retrotranszpozonok. A szőlőből izolált első komplett retrotranszpozon a *Grapevine retrotranszpozon1* (Gret1) volt, melyet 2004 májusában Kobayashi és munkatársai publikáltak. Ez egy *gypsy* típusú retrotranszpozon, ami a szőlőbogyó eredeti kék színének elvesztésében játszik szerepet. Egy másik szőlőből izolált retrotranszpozon a Vine1, ami inszertálódott az Adhr gén negyedik exonjába. Mindkettőt izolálták a

genomi kódoló régióból, ami arra utal, hogy expresszálnak és fontos szerepük van a szőlő tulajdonságainak kialakításában (Verriés és mtsai, 2002).

A harmadik, eddig szőlőben azonosított retrotranszpozon a kópia szerű Tv1 (Pelsy és Merdinoglu, 2002). Ez a mozgó genetikai elem eltérő méretű lehet, eddig kb. 28 kópiát azonosítottak. Fajtán belül konzerváltak, így a vegetatívan szaporított szőlőben fajtaazonosításra is felhasználhatók (Pelsy és mtsai, 2007).

## 2.4 Színvariánsok vizsgálata CAPS markerekkel

A CAPS markert PCR-RFLP- nek is nevezik, mivel a PCR és az RFLP kiegészítése. Gyors és lényeges genetikai különbségek kimutatására alkalmas. Tartalmaz egy specifikus CAPS markerekkel történő polimeráz láncreakciót, majd egy enzimmel történő emésztést. Előnye, hogy míg a random amplifikáció során jelentkező monomorf mintázat sokszor csak azonos méretű, de eltérő szekvenciájú fragmentumokat jelent, addig ennél az eljárásnál van egy restrikciós emésztés, melynek eredményeként polimorf mintázat jelenik meg, ezek a különbségek pedig detektálhatók a DNS fragmentumok hosszának elemzésével (Konieczny és Ausubel, 1994).



8. ábra A 20D18CB9 markernél használt DdeI enzim hasítóhelyek (Walker és mtsai, 2006)

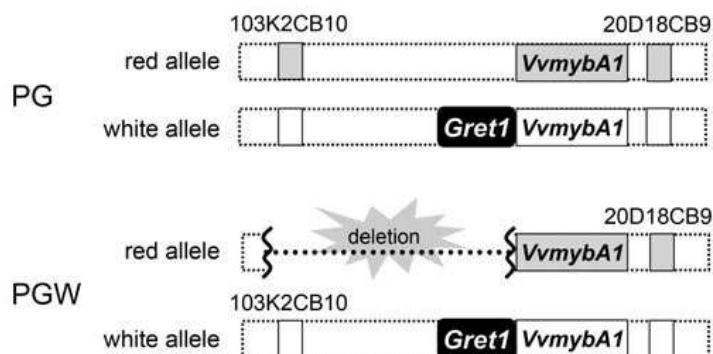
Walker és munkatársai 2006-ban BAC klón eredetű 20D18CB9 markert használva vizsgáltak meg különböző szőlőfajtákat. A *Cabernet Franc* (CB), *Sauvignon Blanc* (SB), *Cabernet Sauvignon* (CS), *Malian* (M), *Shalstin* (S) fajtákat. A PCR terméket DdeI enzimmel hasították és azt követően gélelektroforézissel választották szét a különböző méretű termékeket (8. ábra). A gélfotón fehér SB, S fajtáknál két termék jelenik meg, egy 329 és egy 213 bázispár hosszúságú, addig a piros fajtáknál CF, CS, M három terméket kaptak (329, 248, 213). Keletkezett még egy 35 bázispár méretű fragmentum, amely kicsi mérete miatt nem detektálható.

Furiya és munkatársai 2009-ben vizsgálta a *Pinot gris* (PG) színes szőlőfajtát és annak fehér mutánsát (PGW), többek között CAPS markerek használatával is. A Gret1 retrotranszpozon alapú primerekkel végzett vizsgálat azt mutatja, hogy a transzpozon

beépülésével keletkezett fehér allél megvan mindkét fajtában. Azonban a Pinot gris fehér mutánsában nincsen piros allél.

A 20D18CB9 markerrel végzett vizsgálatban az látható, hogy mindhárom fragmentum megjelent mindkét szőlőfajtában. Ez arra utal, hogy elvileg a PG és a PGW fajtákban is van piros illetve a fehér allél. A szintén BAC klón eredetű 103K2CB10 markerrel végzett vizsgálat azt mutatja, hogy a PGW fajtából hiányzik a piros allél. Referencia fajtaként a *Shiraz* szőlőfajtát használták, amely ezzel a markerrel vizsgálva két fehér allélt adott. A sötét színű *Malbec* fajta a 103K2CB10 markerrel vizsgálva adta a piros allélt. Míg a PG fajtában megjelent a piros allél, addig a PGW fajtában nem, ami tulajdonképpen ellentmond a 20D18CB9 markerrel végzett vizsgálatnak, ahol a PGW fajtában is megjelent a piros allél, holott az fehér színű.

A *Pinot gris* (PG) fehér mutánsában (PGW) a bogyószín elvesztésének okát az **9. ábra** szemlélteti. Mindkét fajtában megtalálható a CAPS markerrel végzett vizsgálatokban a fehér és a piros allél is. Míg a PG fajtában a piros allél működőképes, addig ez a fehér PGW fajtában egy delécio következményeként hiányzik. A fehér allél mindkét fajtában jelen van, ami a *Gret1* retrotranszpozon beékelődésének következménye.



9. ábra A Pinot gris fehér mutánsának elszíntelenedése (Walker és mtsai, 2006)

## 2.5 Mikroszatellit markerek alkalmazása

A mikroszatellitek 1-5 bázispár méretű tandem ismétlődő szekvenciák. Először az emberi genomban elemezték őket, mint nagy információtartalmú, ismétlődő szakaszok (Weber és May 1989, Litt és Luty 1990). A határszekvenciákban nagymértékű a polimorfizmus, ezért használhatók fajták, vonalak, fajok, taxonok azonosítására (Kiss, 2005). Továbbá a tandem ismétlődések száma is eltérő, ezért szintén jól alkalmazható térképezésre és polimorfizmus kimutatására (Kiss, 1999). A növényekben elsősorban (TA), (AG/TC), (AC/TG) ismétlődések fordulnak elő. Jellemző rájuk, hogy kodominánsan

öröklődnek, nagy számban és egyenletesen fordulnak elő a genomban, függetlenek a környezeti hatásoktól és génkölcsonhatások nem befolyásolják (Merdinoglu és mtsai. 2005). A határregióira tervezett primerek segítségével a tandem ismétlődések PCR-rel felszaporíthatók.

### **2.5.1 Kárpát- medencei szőlőfajták mikroszatellit elemzése**

Halász és munkatársai 2005-ben, valamint Galbács és munkatársai 2009-ben a GenRes 081 project keretében Kárpát-medencei őshonos, illetve évszázadok óta termesztett magyar szőlőfajtákat molekulárisan jellemeztek, illetve elkészítették a szőlőfajták SSR ujjlenyomatát, így igazolták a fajták származását. 115 fajta elemzése során, 106 esetben kaptak egyedi mikroszatellit ujjlenyomatot az SSR allélszerkezet alapján. Azonban a *Piros és Sárga muskotály*, *Bakator (piros-tüdőszín)*, a *Gohér (piros- fehér- változó)* és a *Liszes (piros- fehér)* fajták bogyószín változatai azonos allélmintázatot adtak.

A vizsgált fajtákban az allélméreteket pontosan jellemzik a genotípusokat, alkalmasak a fajták elkülönítésére, azonban munkaigényes a tanulmányozások. Ennek megkönnyítésére Galbács és munkatársai 2003-ban kifejlesztettek egy vonalkód rendszert, amely könnyebben értelmezhető, gyorsabb és a fajtákra jellemző ujjlenyomatot vizuálisan mutatja.

A Kárpát-medencei szőlőfajták mikroszatellit méreteit a mellékletben szereplő két táblázat mutatja. A táblázatban színes kerettel vannak jelölve azok a szőlőfajták, melyek SSR allélmintázata megegyezett.

## 2. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 3.1 Növényanyag

A vizsgálatunkban szereplő szőlőfajtákat a Pécsi Egyetem Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetétől, valamint a Pannon Egyetem, badacsonyi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetétől kaptuk. A fajtákat a bogyóhéj színével együtt az **1. táblázatban** soroltuk fel, a szőlőfajtákról a mellékletben képek találhatók. A vizsgált piros kéknyelű szőlőfajta rügymutációval alakult ki a Kéknyelű szőlőfajtából. A két színváltozatot egy szőlőtőkéről gyűjtöttük. A színek rövidítései: N: *noir*-fekete, B: *blanc*-fehér, Rs: *rose*-piros, Rg: *rouge*-rózsaszín, G: *gris*-szürke.

**1. táblázat A vizsgálatainkban szereplő szőlőfajták**

| <b>szőlőfajta</b>     | <b>színe</b> |
|-----------------------|--------------|
| 1. Barbera            | N            |
| 2. Chardonnay         | B            |
| 3. Pinot Noir         | N            |
| 4. Líztes piros       | Rg           |
| 5. Líztes fehér       | B            |
| 6. Bakator piros      | Rg           |
| 7. Bakator tüdő       | Rs           |
| 8. Gohér piros        | Rg           |
| 9. Gohér fehér        | B            |
| 10. Gohér változó     | B            |
| 11. Piros muskotály   | Rg           |
| 12. Fekete muskotály  | N            |
| 13. Sárga muskotály   | B            |
| 14. Csíkos muskotály  | B            |
| 15. Furmint piros     | Rg           |
| 16. Furmint fehér     | B            |
| 17. Furmint változó   | B            |
| 18. Barátcsuha kék    | N            |
| 19. Barátcsuha szürke | G            |
| 20. Kéknyelű          | B            |
| 21. Piros kéknyelű    | N            |

### 3.2 Nukleinsav izolálás

Az nukleinsav izoláláshoz a szőlőfajták fiatal leveleit használtuk fel. A PCR vizsgálatokhoz a DNS-t QIAGEN® DNeasy Plant Mini Kit-tel izoláltunk a gyártó leírása alapján. A DNS minőségét és mennyiségét Nanodrop spektrofotométerrel határoztuk meg 260 (DNS), illetve 280 nm-en (RNS).

### 3.3 PCR vizsgálatok

A PCR-t BioRad iCycler készülékben végeztük el. A 10 µl végtérfogatú reakcióelegy a következőket tartalmazta: 10-20 ng templát DNS, 0,6 mikroliter Taq polimeráz (WestTeam), 1x reakciópuffer, 0,25 mM MgCl<sub>2</sub>, 15 µM dNTP, 0,2-0,2 µM primer. A reakciót az alábbi körülmények között hajtottuk végre: 2 perces 94°C-os előciklus után negyven cikluson keresztül ismételve 10 másodperc 94°C, 30 másodperc 65°C, 1 perc 72°C, majd a ciklusok végén 2 perc utópolimerizáció 72 ° C-on.

A felhasznált primerek szekvencia- sorrendjét a **2. táblázat** szemlélteti.

A CAPS vizsgálatoknál a 2018CB9 primer alkalmazása után a PCR terméket DdeI enzimmal emésztettük (37°C, 120 perc), majd a termékeket gélelektroforézissel választottuk szét. A 103K2CB10 primer esetén a terméket TaqI restrikciós enzimmal emésztettük, (65°C, 120 perc), majd a kapott terméket gélelektroforézissel választottuk el.

2. táblázat A vizsgálat során alkalmazott primerek

| primer neve | forward és reverse primer szekvenciája                                        | PCR termék mérete (bp)                                       | hivatkozás      |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------|
| UFGT        | f 5'-TTCTTGGAGAAGACCAGAGG-3'<br>r 5'- TCCAAACAGGTGGTACAAGC-3'                 | 444                                                          | Giannetto, 2008 |
| VvmybA1a    | f 5'- AAAAAGGGGGGCAATGTAGGGACCC-3'<br>r 5'- GAACCTCCTTTTGAAGTGGTACT- 3'       | 1560<br>(VvmybA1a)                                           | Kobayashi, 2004 |
| VVvmyba1b   | f 5'- GGACGTAAAAAATGGTTGCACGTG -3'<br>r 5'- GAACCTCCTTTTGAAGTGGTACT -3'       | 851<br>(VvmybA1c)<br>1675<br>(VvmybA1b)                      | Kobayashi, 2004 |
| Gret1 LTR   | f 5'-CGTGTTCCTCCAGAGGGAGGGTCCCTAC-3'<br>r 5'-CAACTAATTTATATTCC TCTCTTAACCA-3' | sok fragmentum                                               | Pereira, 2005   |
| VvmybA1(1)  | f 5'-AAGTCACTTCCCACGATCAT -3'<br>r 5'-TTATGGTGCATTACTGGCTT-3'                 | 490<br>(VvmybA1a)                                            | Giannetto, 2008 |
| VvmybA1(2)  | f 5'-ACAGCGCTATCATTGAAACA -3'<br>r 5'-TTATGGTGCATTACTGGCTT-3'                 | 1080<br>(VvmybA1a)                                           | Giannetto, 2008 |
| VvmybA1(3)  | f 5'- TGAATTCCTCTGGACGTAA-3'<br>r 5'-TTATGGTGCATTACTGGCTT-3'                  | 193<br>(VvmybA1c)<br>235<br>(nem várt)<br>1022<br>(vvmybA1b) | Giannetto, 2008 |
| VvmybA1(4)  | f 5'-ATTAATTAGCTGCTGCCACT-3'<br>r 5'- TTATGGTGCATTACTGGCTT-3'                 | 423<br>(VvmybA1c)<br>465<br>(nem várt)<br>1252<br>(VvmybA1b) | Giannetto, 2008 |
| VvmybA1(5)  | f 5'- AATTCCTAAATATCTTATGACA -3'<br>r 5'-AACCTGTTCTATCTCATGACT-3'             | 138<br>(VvmybA1c)<br>967<br>(VvmybA1b)                       | Giannetto, 2008 |
| 20D18CB9    | f 5'-GATGACCAAACCTGCCACTGA- 3'<br>r 5'-ATGACCTTGTCACCAAAAA- 3'                | 577<br>emésztve:<br>329, 248, 213,<br>35                     | Walker, 2007    |
| 103K2CB10   | f 5'-AGTGTCATTCATCCACATTCG-3'<br>r 5'-ACCCTTCAAGAGAAGAGATCAAG-3'              | 735<br>emésztve:<br>424, 209, 83,<br>19                      | Walker, 2007    |

### 3.4 Poliakrilamid gélelektroforézis

A mikroszatellit vizsgálatokhoz ALF- Express II. készüléket használtunk. A PCR-ben a forward primereket CY5 floureszcens festékkel jelöltük. A készülék automatikusan detektálja a floureszcensen jelölt DNS fragmentumokat, a poliakrilamid gélelektroforézis során. A negatív töltésű, jelölt fragmentumok a pozitív pólus, tehát a katód felé vándorolnak. Futás közben egy lézersugár halad át két vékony üveglap között és gerjeszti a floureszcensen jelölt DNS fragmentumokat. A kibocsátott fényt fotodetektorok érzékelik és továbbítják a számítógépnek. Az egyes fragmentumok csúcsok formájában követhetők és a fragmentumok méretei külső és belső méret standardok segítségével számszerűsíthetők. A vizsgálat során használt mikroszatellit primerek neve és szekvenciája a **3. táblázatban** látható.

**3. táblázat A vizsgálat során alkalmazott mikroszatellit primerek**

| Primer neve | Primer szekvenciája 5'-3'    |
|-------------|------------------------------|
| VVMD5-F     | CTAGAGCTACGCCAATCCAA         |
| VVMD5-R     | TATACCAAAAAATCATATTCCTAAA    |
| VVMD7-F     | AGAGTTGCGGAGAACAGGAT         |
| VVMD7-R     | CGAACCTTCACACGCTTGAT         |
| VVMD25-F    | TTCCGTTAAAGCAAAAGAAAAAGG     |
| VVMD25-R    | TTGGATTTGAAATTTATTGAGGGG     |
| VVMD27-F    | GTACCAGATCTGAATACATCCGTAAGT  |
| VVMD27-R    | ACGGGTATAGAGCAAACGGTGT       |
| VVMD28-F    | AACAATTCAATGAAAAGAGAGAGAGAGA |
| VVMD28-R    | TCATCAATTTTCGTATCTCTATTTGCTG |
| VVMD32-F    | TATGATTTTTTTAGGGGGGTGAGG     |
| VVMD32-R    | GGAAAGATGGGATGACTCGC         |
| VVS2-F      | CAGCCCGTAAATGTATCCATC        |
| VVS2-R      | AAATTCAAAATTCTAATTCAACTGG    |
| VrZag62-F   | GGTGAAATGGGCACCGAACACACGC    |
| VrZag62-R   | CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTCAGC    |
| VrZag79-F   | AGATTGTGGAGGAGGGAACAAACCG    |
| VrZag79-R   | TGCCCCCATTTTCAAACCTCCCTCCC   |

### 3. EREDMÉNYEK

#### 3.1 További feltételezett kárpát-medencei fajtacsoportok keresése

Mikroszatellit vizsgálatot végeztünk további, még ismeretlen pedigréjű szőlőfajták lehetséges rokoni kapcsolatainak feltárása, genetikai távolságának meghatározása, valamint újabb bogyószínvariánsok felderítése céljából.

A mikroszatellit primerekkel végzett vizsgálatban a kapott allélméreteket **4. táblázat** szemlélteti. A vizsgált szőlőfajták közül a *Piros kéknyelű* és *Kéknyelű*, valamint a *Barátcsuha kék* és *Barátcsuha szürke* fajtáknál kaptunk minden primerpár esetében azonos allélméretet, amiből arra következtethetünk, hogy ezek a szőlőfajták bogyószínvariánsok.

Rokoni kapcsolatot találtunk a Leányka szőlőfajták esetében, ahol az allélméretek alapján feltételezhető, hogy a *Rózsás leányka* a *Fekete leányka* és a *Leányka* szőlőfajták egyik szülője. A *Kövidinka* és a *Fehér kövidinka*, szülő- utód kapcsolatban vannak, mivel a 9. mikroszatellit lókuszbán rendelkeznek legalább egy közös alléllal.

Nem alkot consültát a *Fehér* és *Piros Szlanka*, a *Kék tihanyi* és a *Tihanyi*. Továbbá a *Fekete mézes* és a *Mézes* szőlőfajták sem alkotnak fajtacsoportot és nem állnak szülő utód kapcsolatban sem, az elnevezést homonímának tekintjük.

**4. Táblázat További szőlőfajták mikroszatellit elemzése**

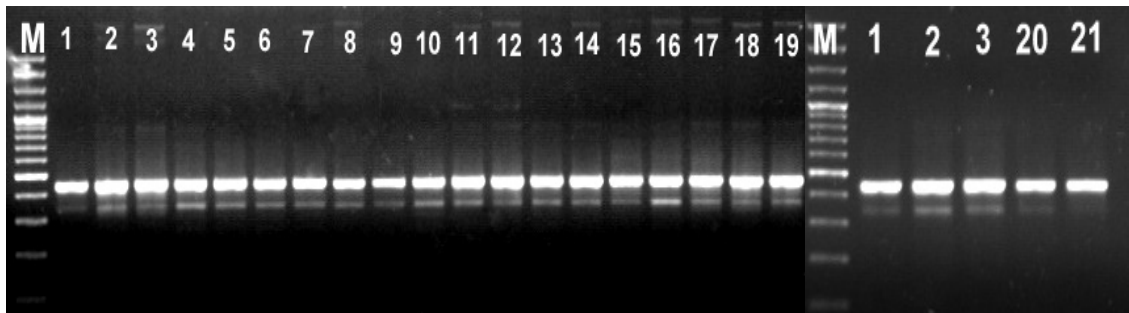
|           | VVMD5   | VVMD7   | VVMD25  | VVMD27  | VVMD28  | VVMD32  | VVS2    | VrZag62 | VrZag79 |
|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| F.mézes   | 234:238 | 252:256 | 252:258 | 182:182 | 246:258 | 249:273 | 134:154 | 190:190 | 248:248 |
| Mézes     | 226:234 | 248:252 | 244:258 | 182:196 | 246:258 | 249:253 | 144:144 | 190:206 | 252:260 |
| F.szlanka | 226:232 | 242:258 | 242:258 | 182:196 | 246:258 | 257:265 | 134:138 | 190:206 | 246:252 |
| P.szlanka | 226:246 | 242:244 | 252:258 | 182:190 | 246:258 | 253:257 | 134:144 | 190:190 | 246:252 |
| F.leányk  | 226:238 | 242:256 | 252:258 | 182:190 | 234:248 | 265:273 | 134:134 | 190:206 | 238:256 |
| R.leányk  | 226:238 | 248:256 | 252:252 | 186:190 | 234:248 | 249:273 | 134:150 | 190:194 | 238:246 |
| Leányka   | 226:238 | 252:256 | 252:258 | 186:196 | 248:260 | 249:253 | 134:134 | 194:194 | 238:252 |
| K.tihany  | 238:246 | 244:252 | 244:258 | 196:196 | 234:278 | 265:273 | 134:134 | 198:206 | 260:260 |
| Tihanyi   | 226:238 | 244:252 | 244:244 | 196:196 | 234:248 | 241:273 | 134:152 | 198:206 | 260:260 |
| K.barát   | 238:238 | 252:256 | 244:258 | 182:190 | 246:258 | 249:273 | 134:152 | 206:206 | 246:260 |
| Sz.barát  | 238:238 | 252:256 | 244:258 | 182:190 | 246:258 | 249:273 | 134:152 | 206:206 | 246:260 |
| Kövid.    | 234:238 | 244:252 | 244:258 | 182:190 | 234:248 | 253:253 | 134:144 | 190:198 | 252:260 |
| F.kövid.  | 226:238 | 244:252 | 244:258 | 190:190 | 234:248 | 253:253 | 144:144 | 190:198 | 244:252 |
| P.kékny.  | 226:226 | 242:250 | 242:252 | 196:200 | 228:248 | 249:265 | 134:150 | 190:198 | 250:250 |
| Kéknyelű  | 226:226 | 242:250 | 242:252 | 196:200 | 228:248 | 249:265 | 134:150 | 190:198 | 250:250 |

## 4.2 Bogyószínvariánsok genetikai elkülönítése

Az antocián bioszintézisben részt vevő gének és szabályozó régiók vizsgálatának eredményeit az irodalmi áttekintés sorrendjében fogjuk ismertetni. Referenciaként 3 fajtát használtuk; a *Barberát* (nincs Gret-1), a *Chardonnayt* (homozigóta Gret-1) és a *Pinot noirt* (heterozigóta Gret-1).

### 4.2.1 UFGT gén

Első lépésben az UFGT gén kódoló régiójára tervezett primerrel végeztük el a PCR-t. Mind a 19 szőlőfajtánál azonos nagyságú (444 bázispár) fragmentum jelent meg (**10. ábra**), ami arra utal, hogy mindegyik fajtánál jelen volt az UFGT gén, de csak a színes bogyójú fajtákban expresszáldott (Boss, 1996).



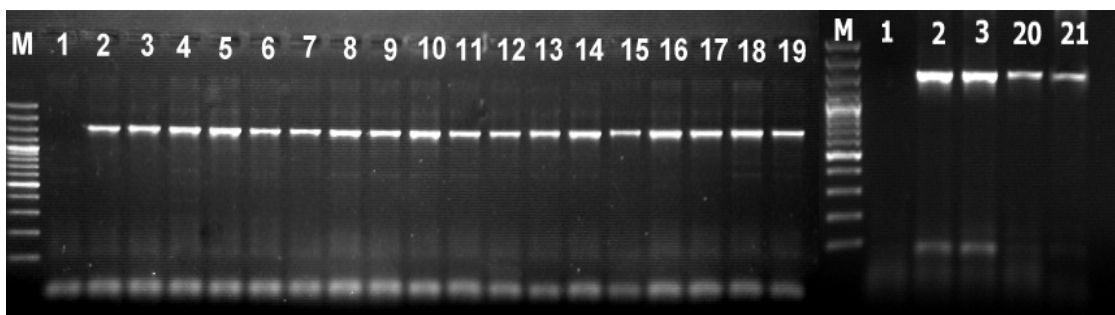
**10. ábra** Az UFGT génre tervezett primerrel végzett gélelektroforézis képe

1.Barbera, 2. Chardonnay, 3. Pinot Noir, 4. Lisztes piros, 5. Lisztes fehér, 6. Bakator piros, 7. Bakator tüdő, 8. Gohér piros, 9. Gohér fehér, 10. Gohér változó, 11. Piros Muskotály, 12. Fekete muskotály, 13. Sárga muskotály, 14. Csíkos muskotály, 15. Furmint piros, 16. Furmint fehér, 17. Furmint változó, 18. Barátcsuha kék, 19. Barátcsuha szürke, 20. Kéknyelű, 21. Piros kéknyelű

### 4.2.2 A VvmybA1 allélváltozatainak vizsgálata

#### 4.2.2.1 A VvmybA1a (fehér) allél vizsgálata

A VvmybA1a (fehér allél) allél tartalmazza a Gret1 retrotranszpozont, így funkcióképtelen. Az allélra tervezett primerrel végeztük el a PCR- t, majd azt követően gélelektroforézissel választottuk el a különböző méretű fragmentumokat. A gélfotón (**11. ábra**) jól látható, hogy mindegyik szőlőfajtában megtalálható a VvmybA1a allél, erre egy 1560 bázispár méretű fragmentum utal. A referenciaként használt *Barbera* szőlőfajtában nem látható a fragmentum, hiszen ez a szőlőfajta homozigóta a piros allélra nézve, nem tartalmazza a Gret1 retrotranszpozont.



**11. ábra A VvmybA1a allél- ra tervezett primerrel végzett gélelektroforézis képe**

1.Barbera, 2. Chardonnay, 3. Pinot Noir, 4. Lisztes piros, 5. Lisztes fehér,  
6. Bakator piros, 7. Bakator tüdő, 8. Gohér piros, 9. Gohér fehér, 10. Gohér változó,  
11. Piros Muskotály, 12. Fekete muskotály, 13. Sárga muskotály, 14. Csíkos muskotály, 15. Furmint piros,  
16. Furmint fehér, 17. Furmint változó, 18. Barátcsuha kék, 19. Barátcsuha szürke, 20. Kéknyelű  
21. Piros kéknyelű

#### 4.2.2.2 A VvmybA1b és VvmybA1c (piros) allélok vizsgálata

Második lépésben a piros allél kódoló régiójára tervezett primerpárral végeztük el a polimeráz láncreakciót. A VvmybA1c allél nem tartalmazza a Gret1 retrotranszpozont, így funkcióképes. A *Barbera*, *Pinot noir*, *Bakator piros* és *tüdőszínű* fajtában, a *Fekete muskotályban*, a *Barátcsuha kékben* és *szürkében* valamint a *Piros kéknyelű* fajtákban egy 851 bázispár méretű fragmentum utalt a piros allél jelenlétére (**12. ábra**), ez a VvmybA1c allél. A *Lisztes piros*, a *Piros muskotály* és a *Furmint piros* fajtákban egy 829 bázispárral hosszabb fragmentumot mutattunk ki, ami összesen 1625 bázispár nagyságú. Ezek a piros színváltozatok a fehér bogyójúakból alakulhattak ki a Gret-1 deléciójával (*Kobayashi és mtsai, 2004*). A kivágódás során a retroelem 3' LTR szakasza megmaradt a VvmybA1 promoter régiójában, azonban ez a gén expresszióját nem gátolta, lehetővé téve az antociánok szintézisét a bogyókban. Érdekes, hogy a *Gohér piros* fajtában nem lehetett kimutatni a VvmybA1b (piros) allélt. Az eredmények alapján, ezzel a primerpárral tehát sikerült elkülöníteni a *Lisztes piros* fajtát a *Lisztes fehértől*, a *Piros muskotályt* a *Fekete muskotálytól* és a *Sárga* illetve *Csíkos muskotálytól*, a *Furmint pirosat* a *Furmint fehér* és *változó* fajtáktól, valamint a *Piros kéknyelűt* a *Kéknyelűtől*.

Nem sikerült megkülönböztetni a *Bakator piros* szőlőfajtát a *Bakator tüdőszínűtől*, a *Gohér pirosat*, a *Gohér fehér*et a *Gohér változótól*, a *Sárga muskotályt* a *Csíkos muskotálytól*, a *Furmint fehér*et a *Furmint változótól*, valamint a *Barátcsuha kék*et a *Barátcsuha szürkétől*.



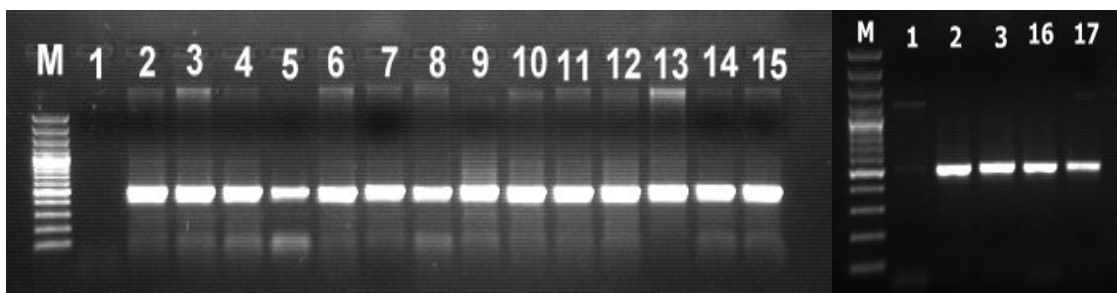
**12. ábra** A piros allélokra tervezett primerrel végzett gélelektroforézis képe

1.Barbera, 2. Pinot Noir, 3. Chardonnay, 4. Lisztes piros, 5. Lisztes fehér, 6. Bakator piros, 7. Bakator tündő, 8. Gohér piros, 9. Gohér fehér, 10. Gohér változó, 11. Piros Muskotály, 12. Fekete muskotály, 13. Sárga muskotály, 14. Csíkos muskotály, 15. Furmint piros, 16. Furmint fehér, 17. Furmint változó, 18. Barátcsuha kék, 19. Barátcsuha szürke, 20. Kéknyelű, 21. Piros kéknyelű

Vizsgálatunk következő lépésében a Gianetto és munkatársai (2008) által leírt, a bogyószínvariánsok elkülönítésére öt különböző szekvenciára tervezett primert használtunk. Csak azokat a fajtákat vizsgáltuk tovább, amelyeket a fentiekben nem tudtunk megkülönböztetni. Az öt különböző primerpárral végzett vizsgálatban nem tudtunk kimutatni különbséget a még el nem különített szőlőfajták között.

#### 4.2.2.3 Vizsgálat a VvmybA (1) primerrel

A gélelektroforézis után egy 490 bázispár méretű fragmentumot kaptam, mely a VvmybA1a allélt mutatja **(13. ábra)**. Ez a fehér allél, mely nem tartalmazza a Gret1 retrotranszpozont. A *Barbera* fajtát kivéve az összes fajtában megtalálható, így a vizsgált piros fajták biztosan heterozigóta pirosak, a fehérek pedig homozigóták a Gret1 retrotranszpozonra nézve, tehát mindkét alléljukon megtalálható a retrotranszpozon.

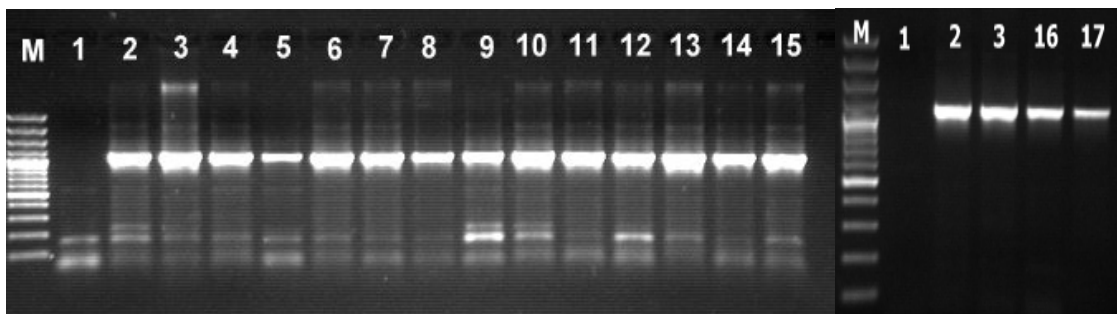


13. ábra A VvmybA(1) primerrel végzett gélelektroforézis képe

1.Barbera, 2. Chardonay, 3. Pinot noir, 4. Bakator piros, 5. Bakator tüdő, 6. Gohér piros, 7. Gohér fehér, 8. Gohér változó, 9. Sárga muskotály, 10. Csíkos muskotály, 11. Furmint piros, 12. Furmint fehér, 13. Furmint változó, 14. Barátcsuha kék, 15. Barátcsuha szürke, 16. Kéknyelű, 17. Piros kéknyelű

#### 4.2.2.4 Vizsgálat a VvmybA(2) primerrel

A VvmybA lókuszt egy másik szekvenciájára tervezett primernél hasonló a helyzet, mint az előző gélfotón látható. Ez a primer egy 1080 bázispár méretű fragmentumot eredményez (14. ábra), mely szintén a VvmybA1a allél jelenlétére utal. A *Barbera* fajtát kivéve minden vizsgált szőlőfajtánál megtalálható.



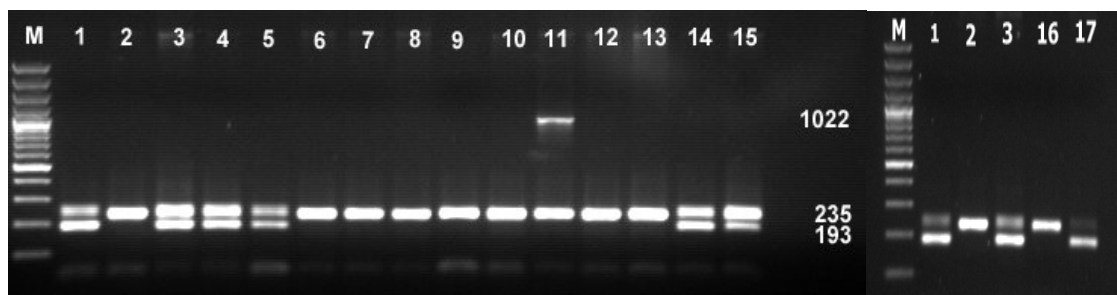
14. ábra A VvmybA(2) primerrel végzett gélelektroforézis képe

1.Barbera, 2. Chardonay, 3. Pinot noir, 4. Bakator piros, 5. Bakator tüdő, 6. Gohér piros, 7. Gohér fehér, 8. Gohér változó, 9. Sárga muskotály, 10. Csíkos muskotály, 11. Furmint piros, 12. Furmint fehér, 13. Furmint változó, 14. Barátcsuha kék, 15. Barátcsuha szürke, 16. Kéknyelű, 17. Piros kéknyelű

#### 4.2.2.5 Vizsgálat a VvmybA(3) primerrel

A VvmybA lókuszt egy harmadik szekvenciájára tervezett primerrel végezve a kísérletet, három fragmentumot kaptunk (15. ábra). Az 1022 bázispár méretű fragmentumot, a VvmybA1b allél jelenlétét mutatja a *Furmint piros* fajtában. Ez a piros allél vizsgálatokor kapott gélkép eredményével megegyezik, ahol szintén a *Furmint piros* fajtában jelent meg ez az allél, a *Lisztes piros* és a *Fekete muskotály* fajtákon

kívül. Itt a *Furmint piros*, ami már elkülönített szőlőfajta, referenciafajtaként szerepel. Ezen az ábrán az *Lisztes piros* és a *Fekete muskotály* nem szerepel, hiszen azokat már sikerült elkülönítenünk. A 235 bázispár méretű fragmentum egy nem várt termék, mely esetlegesen pszeudogén jelenlétére utal. A 193 méretű fragmentum pedig a VvmybA1c allélt mutatja a *Barbera*, a *Pinot Noir*, a két *Bakator*, a *Barátcsuha kék* és *szürke*, valamint a *Piros kéknyelű* fajtákban. Ez az eredmény szintén megegyezik a piros allélra tervezett primerrel végzett vizsgálat eredményével, ahol ugyanezekben a fajtákban sikerült kimutatni a „c” allélt.

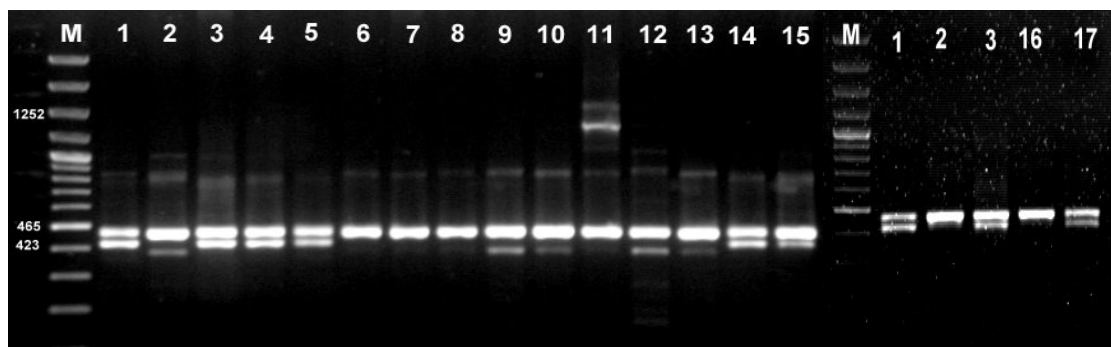


15. ábra A VvmybA(3) primerrel végzett gélelektroforézis képe

1.Barbera, 2. Chardonay, 3. Pinot noir, 4. Bakator piros, 5. Bakator tüdő,  
6. Gohér piros, 7. Gohér fehér, 8. Gohér változó, 9. Sárga muskotály, 10. Csíkos muskotály,  
11. Furmint piros, 12. Furmint fehér, 13. Furmint változó, 14. Barátcsuha kék, 15. Barátcsuha szürke  
16. Kéknyelű, 17. Piros kéknyelű

#### 4.2.2.6 Vizsgálat a VvmybA(4) primerrel

A VvmybA lókuszt egy negyedik szekvenciájára tervezett primer használatával három fragmentumot eredményezett a gélelektroforézis (16. ábra). Az előző vizsgálathoz hasonlóan a nagy méretű fragmentum (1252 bázispár) szintén a VvmybA1b allél jelenlétére utal és ugyancsak a *Furmint piros* fajtában van jelen. Ismét detektáltunk egy 465 bázispár méretű nem várt fragmentumot. Ezen kívül megjelent a „c” allél egy 423 bázispár méretű fragmentumként a *Barbera*, a *Pinot Noir*, a két *Bakator*, a *Barátcsuha kék* és *szürke*, valamint a *Piros kéknyelű* fajtákban. Ebben a vizsgálatban kaptunk még egy nem várt fragmentumot, melynek mérete 280 bázispár körül van. Ez a fragmentum a *Chardonnay*, a *Sárga* és a *Csíkos muskotályban*, valamint a *Furmint fehér* és a *Furmint változóban* jelent meg.

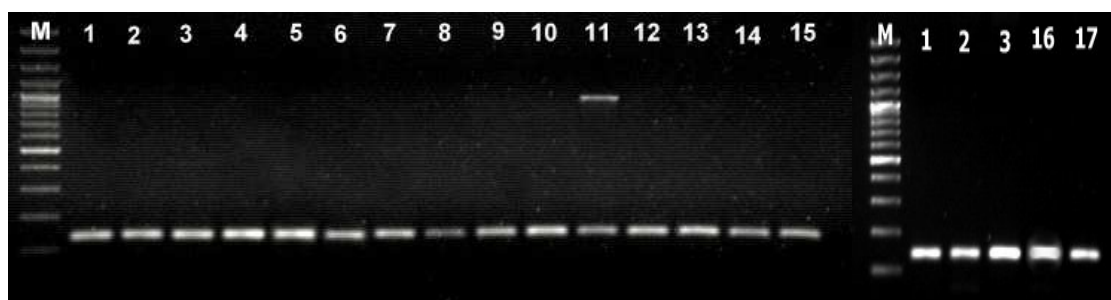


**16. ábra A VvmybA(4) primerrel végzett gélelektorforézis képe**

1.Barbera, 2. Chardonay, 3. Pinot noir, 4. Bakator piros, 5. Bakator tündő,  
6. Gohér piros, 7. Gohér fehér, 8. Gohér változó, 9. Sárga muskotály, 10. Csíkos muskotály,  
11. Furmint piros, 12. Furmint fehér, 13. Furmint változó, 14. Barátcsuha kék, 15. Barátcsuha szürke  
16. Kéknyelű, 17. Piros kéknyelű

#### **4.2.2.7 Vizsgálat a VvmybA(5) primerrel**

A VvmybA lókuszra tervezett ötödik primerpárral végzett vizsgálat eredménye látható az **17. ábrán**. A gélelektroforézis során kaptunk egy 967 bázispár méretű fragmentumot, mely az előző két primerpárhoz hasonlóan a VvmybA1b allélt mutatja, a *Furmint piros* fajtánál jelent meg. Ezen kívül kaptunk egy 138 bázispár méretű fragmentumot, ami a várttal ellentétben mindegyik vizsgált szőlőfajtában megjelent. Giannetto és munkatársai 2008- ban végzett vizsgálatai alapján ez a 138 bázispár méretű fragmentum a VvmybA1c allél jelenlétére utal. Mivel vizsgálatunkban a fragmentum minden szőlőfajtánál megjelent, valószínűsíthető, hogy nem a VvmybA1c allélról van szó.

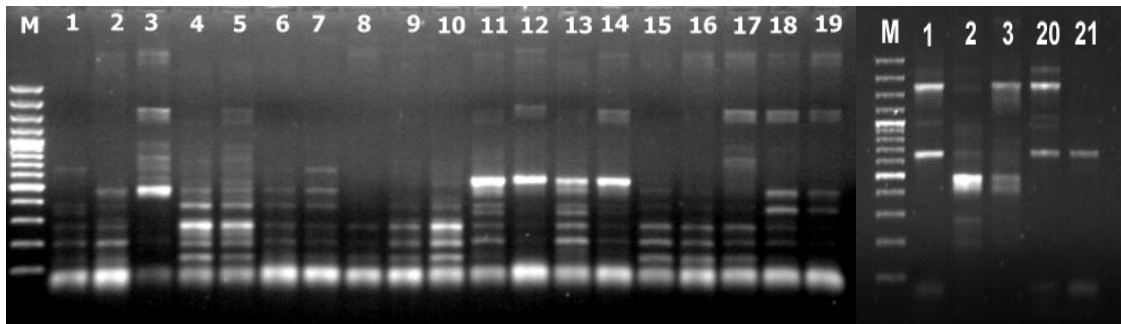


**17. ábra A VvmybA(5) primerrel végzett gélelektroforézis képe**

1.Barbera, 2. Chardonay, 3. Pinot noir, 4. Bakator piros, 5. Bakator tündő,  
6. Gohér piros, 7. Gohér fehér, 8. Gohér változó, 9. Sárga muskotály, 10. Csíkos muskotály,  
11. Furmint piros, 12. Furmint fehér, 13. Furmint változó, 14. Barátcsuha kék, 15. Barátcsuha szürke,  
16. Kéknyelű, 17. Piros kéknyelű

### 4.2.3 A Gret1 retrotranszpozon LTR szekvenciájának vizsgálata

Ez a primerpár az antocián bioszintézist szabályozó génbe beépülő Gret1 retrotranszpozon LTR (*Long Terminal Repeat*) szekvenciájára tervezett primer. A gélelektroforézis során sok fragmentum jelent meg (**18. ábra**). Ez annak a következménye, hogy ilyen hosszan ismétlődő szekvenciák a genomban nagy számban találhatók és a primer kapcsolódott több ilyen szekvenciához is. A még el nem különített fajtákat összehasonlítva nem látható eltérés a kapott fragmentumok mintázatában, így ezzel a kísérlettel nem tudtam elkülöníteni a még hasonlóknak vélt fajtákat.



**18. ábra** A Gret1 retrotranszpozon LTR szekvenciájára tervezett primerrel végzett gélelektroforézis képe

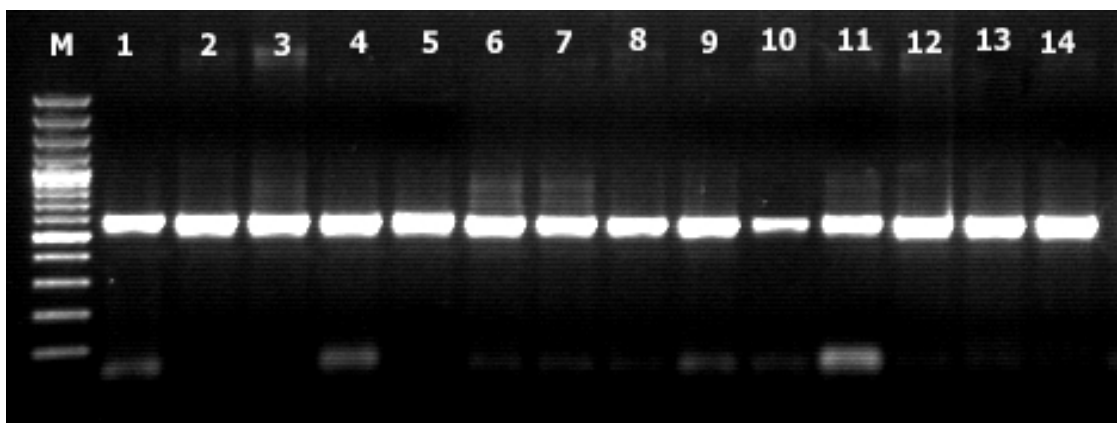
1. Barbera, 2. Pinot Noir, 3. Chardonay, 4. Lisztes piros, 5. Lisztes fehér, 6. Bakator piros, 7. Bakator tündő, 8. Gohér piros, 9. Gohér fehér, 10. Gohér változó, 11. Piros Muskotály, 12. Fekete muskotály, 13. Sárga muskotály, 14. Csíkos muskotály, 15. Furmint piros, 16. Furmint fehér, 17. Furmint változó, 18. Barátcsuha kék, 19. Barátcsuha szürke, 20. Kéknyelű, 21. Piros kéknyelű

### 4.2.4 CAPS marker vizsgálatok

A hagyományos primer használata során előfordulhat, hogy bár ugyanolyan méretű fragmentumot kapunk, de az szekvenciában eltérő. Ilyenkor használhatók a CAPS markerek, melyek tartalmaznak egy restrikciós enzimmal végzett emésztési lépést. A CAPS markereket Walker és munkatársai 2007- ben végzett vizsgálatait alapján alkalmaztuk.

#### 4.2.4.1 Vizsgálatok a 20D18CB9 markerrel

A vizsgálatban a 20D18CB9 primer használata után a még emésztetlen DNS egy 577 bázispár méretű fragmentumot adott (**19. ábra**).

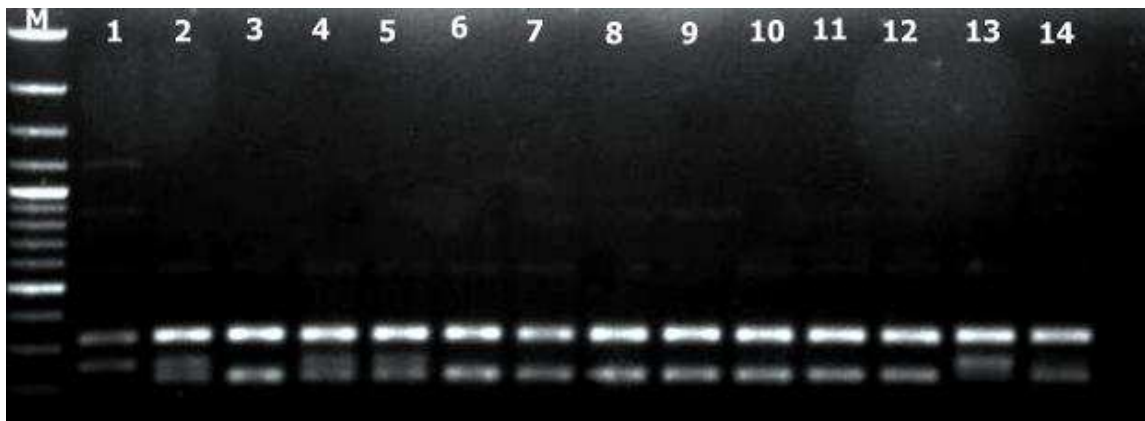


19. ábra A 20D18CB9 primerpárral végzett gélelektroforézis képe emésztés előtt

1.Barbera, 2. Pinot Noir, 3. Chardonay, 4. Bakator piros, 5. Bakator tündő,  
6. Gohér piros, 7. Gohér fehér, 8. Gohér változó, 9. Sárga muskotály, 10. Csíkos muskotály,  
11. Furmint fehér, 12. Furmint változó, 13. Barátcsuha kék, 14. Barátcsuha szürke

A PCR termékek DdeI restrikciós enzimmel történő emésztését követően a referencia fajták közül a *Barberában* egy 329 és egy 248 bázispár méretű fragmentumot, a *Chardonnay* fajtában pedig egy 329 és egy 213 bázispár méretű fragmentumot, míg a Gret1 retrotranszpozon inszercióra heterozigóta *Pinot Noir* szőlőfajtában 329, 248 és 213 bázispár méretű fragmentumokat, kaptunk (20. ábra). A *Bakator piros* és a *Bakator tündőszínű* fajtákban megjelentek a 329, a 248 és a 218 bázispár méretű fragmentumok, azaz heterozigóták. A Gohér fajtákban, a Muskotályokban, valamint a két Furmint fajtában pedig két fragmentum jelent meg, egy 329 és egy 218 bázispár méretű.

A még el nem különített fajták közül a *Barátcsuha kék* és *Barátcsuha szürke* fajtákban találtunk különbséget. A *Barátcsuha kék*, amely az egyik allélon tartalmazza a Gret1 retrotranszpozont úgy „viselkedett, mint a retrotranszpozont nem tartalmazó homozigóta *Barbera*. A *Barátcsuha szürke*, amelynél hasonlóan csak az egyik allélon található retrotranszpozon olyan mintázatot mutat, mint a *Chardonnay*, mely a retrotranszpozont mindkét allélon tartalmazza. Ez alapján egyértelműen elkülöníthető a két szőlőfajta, azonban a molekuláris hátteret ezzel a vizsgálattal nem tudtuk megmagyarázni.

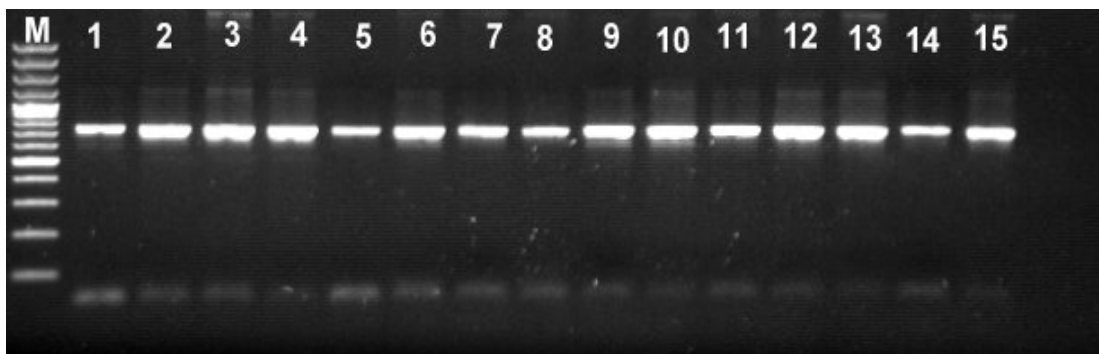


**20. ábra A 20D18CB9 primerpárral végzett gélelektroforézis képe emésztés után**

1.Barbera, 2. Pinot Noir, 3. Chardonay, 4. Bakator piros, 5. Bakator tündő,  
6. Gohér piros, 7. Gohér fehér, 8. Gohér változó, 9. Sárga muskotály, 10. Csíkos muskotály,  
11. Furmint fehér, 12. Furmint változó, 13. Barátcsuha kék, 14. Barátcsuha szürke

#### 4.2.4.2 Vizsgálatok a 103K2CB10 markerrel

Walker 2007-ben publikált cikke alapján polimeráz láncreakciót végeztünk a 103K2CB10 primerpárral. Az azt követő gélelektroforézissel egy 735 bázispár méretű fragmentumot kaptunk (21. ábra).

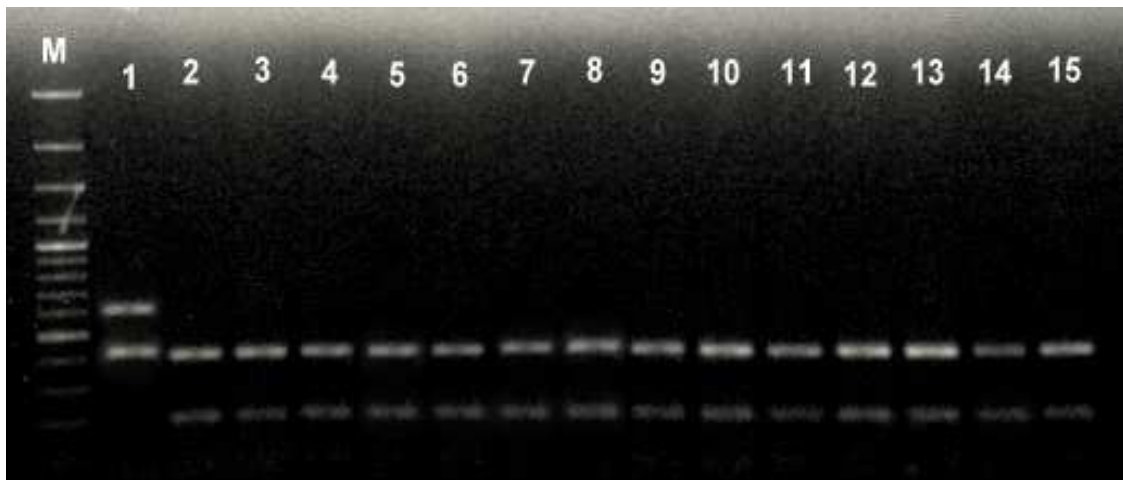


**21. ábra A 103K2CB10 primerpárral végzett gélelektroforézis képe emésztés előtt**

1.Barbera, 2. Chardonay, 3. Pinot noir, 4. Bakator piros, 5. Bakator tündő,  
6. Gohér piros, 7. Gohér fehér, 8. Gohér változó, 9. Sárga muskotály, 10. Csíkos muskotály,  
11. Furmint piros, 12. Furmint fehér, 13. Furmint változó, 14. Barátcsuha kék, 15. Barátcsuha szürke

A termék TaqI emésztését követően minden vizsgált fajtában két fragmentum jelent meg. A Gret1 retrotranszpozont nem tartalmazó *Barberában* egy 610 bázispár, valamint egy 424 bázispár méretű fragmentum jelent meg (21. ábra). A többi fajtában, amelyek a retroelemet legalább az egyik allélon tartalmazzák, egy 424 bázispár méretű és egy 209 bázispár méretű fragmentum látható. Az emésztés során képződött még egy 83 bázispár, valamint egy 19 bázispár méretű fragmentum, melyek kicsi méreteik miatt nem

detektálhatók. Ezzel a markerrel végzett kísérletben nem sikerült különbséget találni a szőlőfajták között.



**22. ábra A 103K2CB10 primerpárral végzett gélelektroforézis képe emésztés után**

1.Barbera, 2. Chardonay, 3. Pinot noir, 4. Bakator piros, 5. Bakator tündő,  
6. Gohér piros, 7. Gohér fehér, 8. Gohér változó, 9. Sárga muskotály, 10. Csíkos muskotály,  
11. Furmint piros, 12. Furmint fehér, 13. Furmint változó, 14. Barátcsuha kék, 15. Barátcsuha szürke

## 4. Összefoglalás

Kutatásunkban célul tűztük ki, hogy mikroszatellit vizsgálatokkal el nem különíthető Kárpát-medencei szőlőbogyó színvariánsokat különböztessünk meg az antocián bioszintézisben szerepet játszó Myb transzkripciós faktorok szekvenciájára tervezett, valamint retrotranszpozon alapú markerekkel.

Mikroszatellit vizsgálattal sikerült újabb bogyószínű színvariáns szőlőfajtákat találni, a *Kéknyelű* és a *Piros kéknyelű* valamint a *Barátcsuha kék* és *Barátcsuha szürke* fajtákat **(4. táblázat)**.

A vizsgálatok során sikerült megkülönböztetnünk a *Lisztes piros* fajtát a *Lisztes fehér* fajtától a piros allélra tervezett primerpár segítségével. A *Lisztes piros* fajtánál megjelent 851 bázispár méretű fragmentum utal a VvmybA1c allél jelenlétére, míg a *Lisztes fehér* fajtánál nem jelent meg a fragmentum, ami arra utal, hogy mindkét allélon tartalmazza a Gret1 retrotranszpozont, tehát homozigóta fehér fajta **(12. ábra)**.

Megkülönböztettük még a *Piros muskotály* a *Fekete muskotály* fajtától. A *Piros muskotály* fajtánál megjelent a *Lisztes piros* fajtához hasonlóan a 851 bázispárral hosszabb méretű fragmentum, mely a VvmybA1c allél jelenlétére utal. Ezzel ellentétben a *Fekete muskotály* fajtánál egy 1625 bázispár méretű fragmentumot találtam, mely a VvmybA1b allél jelenlétére utal **(12. ábra)**. Ez az allél nem tartalmazza ugyan a retrotranszpozont, mivel az kivágódott, azonban az allélban maradt a transzpozon 3' LTR szekvenciája, mely nem okoz funkcióvesztést, azonban ennek tulajdonítható a nagyobb méretű fragmentum megjelenése. A *Piros muskotály* valószínűleg a *Sárga muskotályból* alakult ki a Gret1 transzpozon kivágódásával.

Továbbá elkülönítettük a *Furmint piros* szőlőfajtát a *Furmint fehér* és *változó* fajtától. A *Furmint piros* fajtánál egy 1652 bázispár méretű fragmentum utal a VvmybA1b allél jelenlétére, amely delécíóval alakult ki a VvmybA1c allélból **(12. ábra)**. A *Furmint fehér* fajtát a *Furmint változótól* továbbra sem tudtuk elkülöníteni.

CAPS markerekkel végzett vizsgálatban sikerült elkülönítenünk a *Barátcsuha kék* fajtát a *Barátcsuha szürkétől*. A heterozigóta *Barátcsuha kék* a homozigóta *Barbera-* hoz hasonló mintázatot mutatott, míg a *Barátcsuha szürke* a homozigóta fehér *Chardonnay-* hoz hasonlított **(20. ábra)**. A két fajta egyértelműen elkülöníthető, azonban a molekuláris háttér megfejtéséhez további vizsgálatokat kell végezni.

Végül elkülönítettük a fehér bogyószínű *Kéknyelű* szőlőfajtát a *Piros kéknyelű* szőlőfajtától. Az elkülönítés a piros allélra tervezett primerpárral történt meg. A *Piros kéknyelű* szőlőfajtánál megjelent egy 851 bázispár méretű fragmentum, amely a VvmybA1c allél jelenlétére utal **(12. ábra)**. A fehér színű *Kéknyelű* szőlőfajtánál egyáltalán nem jelent meg színes allél, így az homozigóta a Gret1 retrotranszpozonra nézve, tehát mindkét allélon tartalmazza a retroelemet.

### **Jövőbeni tervek**

A még el nem különített bogyószínűvariánsokat retrotranszpozon alapú markerekkel megkülönböztetni, szükség esetén pedig szekvenálni. Eddig nem sikerült elkülöníteni a *Sárga muskotályt* a *Csíkos muskotálytól*, a *Bakator piros* fajtát a *Bakator tudószínűtől*, a *Gohér piros* fajtát a *Gohér fehértől* és a *Gohér változótól*, valamint a *Furmint fehér* fajtát a *Furmint változótól*.

Célunkban áll további vizsgálatokat végezni a *Gohér piros* fajtán, amely minden esetben fehér bogyójú szőlőfajtának mutatkozik.

Szeretnénk RNS-t izolálni a szőlőbogyók héjából és megvizsgálni elsősorban a két Furmint, valamint a három Gohér fajtát, mert előfordulhat, hogy ezeknél a fajtáknál az expresszió mértékében van eltérés.

## 5. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom konzulensemnek, Dr. Szőke Antalnak, szakmai segítségnyújtásáért, útmutatásáért és bátorításáért.

Dr. Kiss Erzsébet Tanárnőnek, aki lehetőséget adott a kutatás kivitelezésére, valamint a labor összes dolgozójának, akikhez bármikor fordulhattam kérdéseimmel.

Dr. Györffyné Jahnke Gizellának a PEAC Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet Tudományos munkatársának és Kozma Pálnak a pécsi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet tudományos munkatársának a szőlőfajtákról készített képekért.

Köszönet a Szent István Egyetem tanárainak, oktatóinak és gyakorlatvezetőinek, hogy a szükséges alapokra megtanítottak.

## 7. Irodalomjegyzék

- AZUMA A., KOBAYASHI S., MITANI N., (2008): Genomic and genetic analysis of Myb-related genes that regulate anthocyanin biosynthesis in grape berry skin. *Theor Appl Genet* 117:1009–1019
- AZUMA A., UDO Y., SATO A., (2011): Haplotype composition at the color locus is a major genetic determinant of skin color variation in *Vitis X labruscana* grapes, *Theor Appl Genet*
- AZUMA A., KOBAYASHI S., GOTO-YAMATO N., (2009): Color recovery in berries of grape (*Vitis vinifera* L.) ‘Benitaka’, a bud sport of ‘Italia’, is caused by a novel allele at the *VvmybA1* locus. *Plant Sci* 176:470–478
- BENNETZEN J.L., (2000): Transposable element contributions to plant gene and genome evolution. *Plant Mol. Biol.* 42. 251-269.
- BOROVSKY Y., OREN-SHAMIR M., OVADIA R., DE JEONG W., PARAN I (2004): The A locus that controls anthocyanin accumulation in pepper encodes a MYB transcription factor homologous to anthocyanin2 of petunia. *Theor Appl Genet* 109:23–29
- BOSS P.K, DAVIES C., ROBINSON S.P., (1996): Expression of anthocyanin biosynthesis pathway genes in red and white grapes. *Plant Mol Biol* 32:565–569 by deletion of the functional *VvmybA1* allele. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70. cultivars of *Vitis vinifera* but not North American or East Asian *Vitis* species.
- CLEGGETT M.D., (2003) Variety: ‘Shalstin’. *Plant Var J* 16:64–65
- EPERJESI, I., KÁLLAY, M., MAGYAR, I. (Szerk.) (2000): *Borászat. Mezőgazda Kiadó. Budapest.* 547.

- FURIYA T., SUZUKI S., (2009): Molecular Characterization of a Bud Sport of Pinot gris Bearing White Berries, *Am. J. Enol. Vitic.* 60:1 genome evolution. *Plant Mol. Biol.* 42. 251-269.
- FRIESEN N., BRANDES A., (2001): Diversity, Origin, and Distribution of retrotransposons (*gypsy* and *copia*) in Conifers, *Mol Biol Evol* 18 (7): 1176-1188
- GALBÁCS ZS., MOLNÁR S., HALÁSZ G., KOZMA P., KOVÁCS L., VERESS A., GALLI Z., SZŐKE A, HESZKY L., KISS E., (2009): Identification of grapevine cultivars using microsatellite-based DNA barcodes, *Vitis* 48 (1), 17–24
- GIANETTO S., VELASCO R., (2008): A PCR-based diagnostic tool for distinguishing grape skin color mutants, *Plant Science.* 175: 402–409
- GOOR A., (1966): The history of the grapevine in the Holy Land. *Economic Botany* 20: 46–64. grapevine, from black-skinned Pinot noir to white-skinned Pinot blanc, is caused
- HAITER, J-H. B., GOULD K.S., (2009): Anthocyanin function in vegetative organs. In: GOULD, K., DAVIES, K., WINEFIELD, C. (Szerk.): *Anthocyanins. Biosynthesis, Functions, and Applications.* Springer. New York. 325.
- HOCQUIGNY S., PELSY F., DUMAS V., KINDT S., HELOIR, MERDINOGLU M.C., (2004): Diversification within grapevine cultivars goes through chimeric states. *Genome.* 47. 579–589.
- HOLTON T.A., CORNISH E.C., (1995): Genetics and Biochemistry of Anthocyanin Biosynthesis, *Plant Cell*, (7): 1071–1083.

- JIANXIN M.A., KATRIEN M.D., BENNETZEN J.L., (2004): Analyses of LTRretrotransposon structures reveal recent and rapid genomic DNA loss in rice. *Genome Res* 14:860–869
- KISS E. (1999): Növényi molekuláris genetika I. Egyetemi jegyzet. SZIE Genetika és Növénytermesztés Tanszék, Gödöllő, 118 p.
- KISS E. (2005): XI. Molekuláris növénytermesztés. 194-210. p. In: Heszky L., Fésüs L., Hornok L. (Szerk.): Mezőgazdasági Biotechnológia. Agroiinform Kiadó, Budapest.
- KISS, T. (2010): Szőlő bogyószín variánsok genetikai elkülönítésének, diplomadolgozat, Gödöllő
- KOBAYASHI, S., GOTO-YAMATO, N., (2004): Association of VvmybA1 gene expression with anthocyan production in grape (*Vitis vinifera*) Skin- color mutants, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 74(3): 196- 203
- KOBAYASHI, S., ISHIMARU M., DING C.K., YAKUSHI H., GOTO N., (2001): Comparison of UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase (UFGT) gene sequences between white grapes (*Vitis vinifera*) and their sports with red skin, *Plant Science* 160. 543–550
- KOBAYASHI, S., ISHIMARU, M., HIRAOKA, K., HONDA, C., (2002): Myb related genes of the Kyoho grape (*Vitis labrusca*) regulate anthocyanin biosynthesis. *Planta*. 215. 924-933.
- KOES R.E., (1994): The flavonoid biosynthetic pathway in plants: Function and evolution, *BioEssays*, 16:2, 123–132,

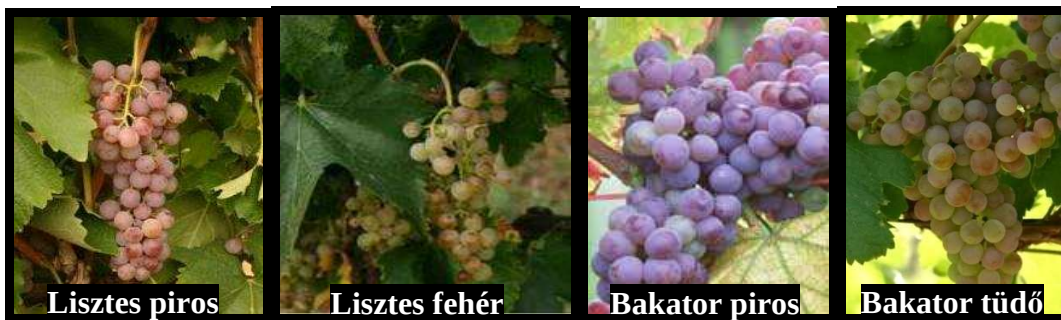
- KONIECZNY A., AUSUBEL F.M., (1994): A procedure for mapping Arabidopsis mutations using co-dominant ecotypespecific PCR-based markers. *Plant Journal*, 4: 403-410.
- LARSON, R.L., COE, E.H., (1977): Gene-dependent flavonoid glucosyltransferase in maize. *Biochem. Genet.* 15. 153-156.
- LENCZSÉS A.K., SZŐKE A., (2010): Mikroszatellit markerek alkalmazása a magyarországi szőlő génforrások megőrzésére, *Kertgazdaság* 42 (1), 58-68
- LIJAVETZKY, D., (2006): Molecular genetics of berry colour variation in table grape *Mol Gen Genomics*, 276:427–435
- LITT M., LUTY J.A., (1990): A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *The American Journal of Human Genetics* 44: 397-401.
- LŐRINCZ A., (2005): 2. Szőlőrendszertan 50-51 p. In: BÉNYEI F., LŐRINCZ A., Borszőlőfajták, csemegeszőlő- fajták és alanyok, Mezőgazda Kiadó, Budapest
- MAZZA G. MINIATI E., (1993): Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains. CRC Press, Boca Raton
- MERDINOGLU D., BUTTERLIN, (2005): Development and characterization of large set of microsatellite markers in grapevine (*Vitis vinifera* L.) suitable for multiplex PCR. *Molecular Breeding*, 15: 349-366.
- MITANI, N., AZUMA, A., FUKAI, E., HIROCHIKA, H., KOBAYASHI, S., (2009): A retrotransposon-inserted VvMybA1a allele has been spread among cultivars of *Vitis vinifera* but not North American or East Asian *Vitis* species. *Vitis*. 48. (1) 55-56.

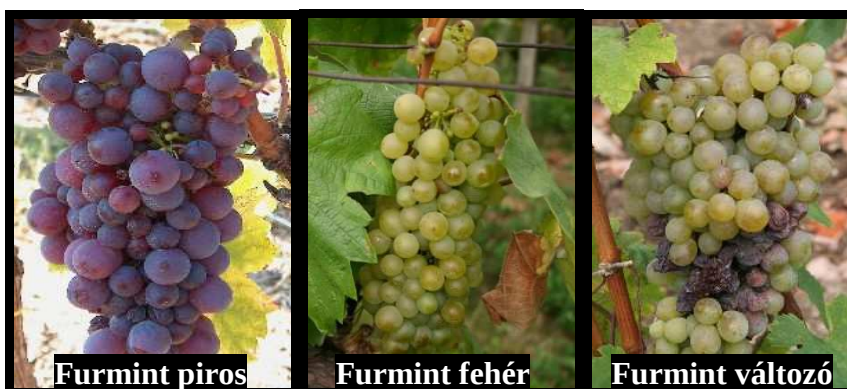
- MIYAO A., TANAKA K., MURATA K., SAWAKI H., TAKEDA S., ABE K., SHINZUKA Y., ONOSATO K., HIROCHIKA H., (2003): Target site specificity of the Tos17 retrotransposon shows a preference for the insertion within genes and against insertion in retrotransposonrich regions of the genome. *Plant Cell* 15:1711–1780
- PELSY F., MERDINOGLU D. (2002): Complete sequence of Tv1, a family of Ty1 copia-like retrotransposons of *Vitis vinifera* L., reconstituted by chromosome walking, *Theor Appl Genet* 105 : 614-621
- PELSY F. (2007): Untranslated leader region polymorphism of Tv1, a retrotransposon family, is a novel marker useful for analyzing genetic diversity and relatedness in the genus *Vitis*, *Theor Appl Genet.* 116(1):15-27
- SANDHU D, KULVINDER SG (2002): Gene containing regions of wheat and other grass genomes. *Plant Physiol* 128:803–811
- THIS, P., LACOMBE T., (2007): Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1*, *Theor Appl Genet*, 114:723–730
- TOMKINS JP, PETERSON DG, YANG TJ, MAIN D, Ablett ER, HENRY RJ, LEE LS, HOLTON TA, WATERS D, WING RA (2001): Grape (*Vitis vinifera* L) BAC library construction, preliminary STS analysis, and identification of clones associated with flavonoid and stilbene biosynthesis. *Am J Enol Vitic* 52:287–291
- VERRIÉS C., BÉS C., THIS P., TESNIÉRE C., (2000): Cloning and characterization of Vine-1, a LTR-retrotransposon-like element in *Vitis vinifera* L, and other *Vitis* species. *Genome* 43:366–376

- VERSHININ A.V., DRUKA A., ALKHIMOVA A.G., KLEINHOF A., HESLOP-HARRISON J.S., (2002): LINE and gypsy-like retrotransposons in *Hordeum* species. *Plant Mol Biol* 49:1–14
- WALKER, A.R., LEE, E., Bogs, J., (2007): White grapes arose through the mutation of two similar and adjacent regulatory genes, *The Plant Journal*, 49, 772–785
- WALKER, A.R., LEE, E., ROBINSON, S.P., (2006): Two new grape cultivars, bud sports of Cabernet Sauvignon bearing pale-coloured berries, are the result of deletion of two regulatory genes of the berry colour locus. *Plant. Mol. Biol.* 62. 623-635.
- WEBER J.L., MAY P.E., (1989): Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chain reaction. *The American Journal of Human Genetics*, 44: 388-396.
- WINKLER, A. J., COOK, J.A., KLIEWER W.M., LIDER, L.A., (1974): *General Viticulture*. University of California Press, London, England. 710.
- WONG L.H., CHOO A.K.H., (2004): Evolutionary dynamics of transposable elements at the centromere. *Trends Genet* 20:611–616
- YAKUSHIJI, H., KOBAYASHI, S., GOTO-YAMAMOTO, N., JEONG, S.T., SUETA, T., MITANI, N., AZUMA, A. (2006): A skin color mutation of grapevine, from black-skinned Pinot noir to white-skinned Pinot blanc, is caused by deletion of the functional *VvmybA1* allele. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70. 1506-1508.

## 8. Melléklet

### 8.1 A vizsgálataimban szereplő szőlőfajták





## 8.2 Kárpát-medencei szőlőfajták mikroszatellit méretei

(Galbács és mtsai, 2009)

| Cultivar          | ScalBr* | ScalBrv* | Allele size (bp) in microsatellite locus |         |         |          |         |         |         |         |         |  |
|-------------------|---------|----------|------------------------------------------|---------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|--|
|                   |         |          | Vizaz47                                  | VZAG62  | VZAG79* | Vizaz112 | VZAD21* | VZAD25  | VZAD28  | VZAD31  | VZAD36* |  |
| Alatremno         | 181.183 | 202.208  | 174.174                                  | 191.207 | 214.266 | 191.197  | 237.243 | 237.247 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Apocribet         | 181.183 | 208.214  | 167.169                                  | 191.207 | 246.254 | 193.197  | 287.287 | 287.287 | 287.287 | 287.287 | 287.287 |  |
| Aszánka           | 181.192 | 202.202  | 161.174                                  | 191.199 | 232.262 | 191.193  | 246.246 | 246.246 | 246.246 | 246.246 | 246.246 |  |
| Bakarka           | 181.183 | 214.214  | 166.167                                  | 191.207 | 234.234 | 193.197  | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 |  |
| Bakator kék       | 181.183 | 202.208  | 159.174                                  | 199.203 | 232.262 | 193.197  | 243.246 | 243.246 | 243.246 | 243.246 | 243.246 |  |
| Bakator piroz     | 181.183 | 202.208  | 159.166                                  | 191.197 | 234.234 | 191.197  | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 |  |
| Bakator fideszárú | 181.183 | 202.208  | 159.166                                  | 191.197 | 234.234 | 191.197  | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 |  |
| Bakator           | 181.192 | 202.208  | 161.166                                  | 191.207 | 240.262 | 193.203  | 287.289 | 287.289 | 287.289 | 287.289 | 287.289 |  |
| Bakator           | 181.192 | 208.211  | 159.161                                  | 191.207 | 234.234 | 191.193  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Beregi            | 181.183 | 208.214  | 161.163                                  | 191.197 | 234.234 | 191.193  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Bereznai          | 181.183 | 202.214  | 159.161                                  | 197.203 | 262.262 | 191.197  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Bihari            | 181.183 | 202.205  | 161.166                                  | 191.203 | 234.234 | 191.191  | 237.246 | 237.246 | 237.246 | 237.246 | 237.246 |  |
| Bogdányi dinka    | 181.183 | 214.214  | 161.166                                  | 191.199 | 234.234 | 191.191  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Bosgarni          | 181.183 | 202.205  | 169.174                                  | 191.207 | 248.252 | 191.203  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Chikorszi         | 181.183 | 202.208  | 159.161                                  | 191.191 | 234.234 | 191.203  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Csan-csui         | 186.186 | 214.217  | 166.174                                  | 191.197 | 284.280 | 191.197  | 237.246 | 237.246 | 237.246 | 237.246 | 237.246 |  |
| Csolászó          | 181.183 | 202.206  | 159.166                                  | 191.207 | 240.262 | 191.197  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Csomorika         | 181.183 | 208.211  | 159.161                                  | 191.207 | 240.262 | 191.197  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Czegei            | 181.183 | 202.208  | 166.174                                  | 191.207 | 234.234 | 191.197  | 237.246 | 237.246 | 237.246 | 237.246 | 237.246 |  |
| Demen             | 181.183 | 202.202  | 159.161                                  | 191.199 | 234.234 | 191.193  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Erdi              | 181.183 | 202.214  | 166.174                                  | 197.207 | 246.254 | 191.197  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Ezerjó            | 181.183 | 202.202  | 159.166                                  | 191.191 | 240.262 | 191.203  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Fodorlevente      | 181.183 | 202.214  | 159.161                                  | 197.203 | 262.262 | 191.197  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Furmint           | 181.192 | 202.208  | 159.174                                  | 191.207 | 240.262 | 191.191  | 243.246 | 243.246 | 243.246 | 243.246 | 243.246 |  |
| Füzeszó           | 181.192 | 208.208  | 159.174                                  | 199.207 | 240.262 | 191.193  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Furmány           | 181.192 | 205.208  | 159.166                                  | 203.207 | 230.234 | 191.197  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Cecelev           | 181.183 | 208.214  | 166.174                                  | 191.207 | 240.262 | 197.203  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Göbri feher       | 181.192 | 202.208  | 161.174                                  | 191.207 | 232.262 | 193.193  | 241.243 | 241.243 | 241.243 | 241.243 | 241.243 |  |
| Göbri piroz       | 181.192 | 202.208  | 161.174                                  | 191.207 | 232.262 | 193.193  | 241.243 | 241.243 | 241.243 | 241.243 | 241.243 |  |
| Göbri változó     | 181.192 | 202.208  | 161.174                                  | 191.207 | 232.262 | 193.193  | 241.243 | 241.243 | 241.243 | 241.243 | 241.243 |  |
| Görömszörző       | 181.183 | 208.214  | 166.174                                  | 191.197 | 232.262 | 191.193  | 241.246 | 241.246 | 241.246 | 241.246 | 241.246 |  |
| Hakapi            | 181.183 | 208.217  | 159.174                                  | 189.199 | 232.262 | 191.193  | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 |  |
| Hannuszó          | 181.183 | 208.208  | 169.171                                  | 191.191 | 248.254 | 191.193  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Irséti            | 181.183 | 208.214  | 159.169                                  | 191.207 | 240.266 | 191.203  | 237.246 | 237.246 | 237.246 | 237.246 | 237.246 |  |
| Jardovány         | 181.183 | 208.214  | 159.166                                  | 199.207 | 240.264 | 197.203  | 246.250 | 246.250 | 246.250 | 246.250 | 246.250 |  |
| Judatnik          | 181.183 | 208.208  | 159.174                                  | 199.207 | 240.262 | 191.193  | 243.246 | 243.246 | 243.246 | 243.246 | 243.246 |  |
| Kadarka           | 181.183 | 208.214  | 166.174                                  | 191.207 | 232.262 | 191.193  | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 |  |
| Kaklo piroz       | 181.183 | 202.206  | 161.161                                  | 197.197 | 232.262 | 191.191  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Kisajkayás        | 181.183 | 208.214  | 174.174                                  | 197.207 | 232.264 | 191.191  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Kisajkayás        | 181.183 | 202.208  | 166.174                                  | 191.207 | 234.234 | 193.197  | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 | 237.241 |  |
| Kolontár          | 181.192 | 202.208  | 159.174                                  | 199.207 | 232.262 | 193.203  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Kovácskeger       | 181.183 | 202.211  | 159.169                                  | 191.191 | 232.264 | 191.191  | 241.246 | 241.246 | 241.246 | 241.246 | 241.246 |  |
| Kozma             | 181.183 | 202.208  | 159.161                                  | 191.199 | 262.262 | 193.193  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Köcske            | 181.183 | 208.208  | 166.174                                  | 197.207 | 232.262 | 191.193  | 241.246 | 241.246 | 241.246 | 241.246 | 241.246 |  |
| Kovácszó          | 181.183 | 208.208  | 159.174                                  | 199.207 | 240.262 | 191.197  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |
| Kovács            | 181.183 | 208.214  | 161.167                                  | 191.197 | 234.234 | 191.197  | 237.246 | 237.246 | 237.246 | 237.246 | 237.246 |  |
| Lányzó            | 181.183 | 208.211  | 159.174                                  | 191.191 | 232.264 | 191.191  | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 | 237.243 |  |

Tab. 2 continued

| Cultivar       | Allele size (bp) in microsatellite locus |         |         |         |         |         |          |         |         |         |         |         |
|----------------|------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|
|                | SauBrv*                                  | Scu10w* | Vizaa47 | VZAG62  | VZAG79* | Vizaa63 | Vizaa112 | VVND21* | VVND25  | VVND28  | VVND31  | VVND36* |
| Lágyleveli     | 185:185                                  | 202:214 | 174:174 | 191:197 | 252:254 | 191:197 | 237:245  | 250:250 | 243:253 | 246:246 | 201:209 | 254:254 |
| Leányka        | 185:185                                  | 202:208 | 165:174 | 195:197 | 240:254 | 191:197 | 232:243  | 250:250 | 253:259 | 248:260 | 201:207 | 266:276 |
| László felér   | 185:185                                  | 208:208 | 159:161 | 207:207 | 240:262 | 193:197 | 241:243  | 250:257 | 243:245 | 234:248 | 207:211 | 276:288 |
| László püös    | 185:185                                  | 208:208 | 159:161 | 207:207 | 240:262 | 193:197 | 241:243  | 250:257 | 243:245 | 234:248 | 207:211 | 276:288 |
| Magyarika      | 185:192                                  | 208:208 | 163:174 | 191:207 | 246:254 | 191:191 | 232:237  | 244:250 | 243:259 | 260:278 | 207:207 | 264:288 |
| Mézes felér    | 185:192                                  | 208:214 | 161:174 | 191:207 | 254:262 | 197:197 | 237:243  | 250:257 | 245:259 | 248:260 | 207:207 | 266:276 |
| Mútos          | 185:185                                  | 208:214 | 161:174 | 207:207 | 246:252 | 191:191 | 232:245  | 244:250 | 245:259 | 248:258 | 207:211 | 254:276 |
| Petrisszói     | 185:185                                  | 202:208 | 169:174 | 199:207 | 250:252 | 191:193 | 237:241  | 244:244 | 253:253 | 236:248 | 209:211 | 254:288 |
| Petrisszói     | 185:185                                  | 202:208 | 163:174 | 191:199 | 252:254 | 191:193 | 237:241  | 244:244 | 245:245 | 236:236 | 209:209 | 254:288 |
| Pécsi dinka    | 185:185                                  | 208:211 | 159:159 | 189:191 | 254:258 | 191:191 | 237:237  | 257:267 | 243:245 | 234:268 | 209:209 | 264:288 |
| Pécsi szagos   | 185:185                                  | 202:205 | 155:169 | 191:197 | 246:250 | 191:203 | 237:237  | 250:250 | 243:253 | 236:244 | 201:207 | 254:272 |
| Püös           | 185:185                                  | 202:205 | 155:169 | 191:197 | 246:250 | 191:203 | 237:237  | 250:250 | 243:253 | 236:244 | 201:207 | 254:272 |
| Püös eránt     | 185:185                                  | 208:214 | 159:169 | 191:199 | 250:254 | 191:191 | 237:241  | 244:250 | 253:259 | 236:268 | 207:221 | 254:264 |
| Püös muskotály | 185:185                                  | 208:217 | 159:174 | 189:199 | 254:258 | 191:191 | 237:237  | 250:267 | 245:253 | 246:268 | 209:213 | 244:264 |
| Püös tokos     | 185:185                                  | 202:217 | 163:163 | 197:207 | 252:254 | 191:191 | 237:245  | 244:259 | 243:245 | 228:268 | 211:211 | 276:288 |
| Polyhos        | 185:185                                  | 202:202 | 163:174 | 191:199 | 252:262 | 191:197 | 232:243  | 244:259 | 243:245 | 234:248 | 209:209 | 254:288 |
| Pozsonyi       | 185:192                                  | 202:214 | 161:174 | 207:207 | 254:254 | 191:197 | 237:245  | 244:259 | 245:259 | 268:278 | 207:211 | 264:264 |
| Pücsin         | 185:185                                  | 208:214 | 159:169 | 191:197 | 250:258 | 191:197 | 237:243  | 250:250 | 253:253 | 236:258 | 201:209 | 254:276 |
| Rakaszói       | 185:185                                  | 208:214 | 159:165 | 199:199 | 254:254 | 191:197 | 237:245  | 244:244 | 243:243 | 236:260 | 209:221 | 254:266 |
| Rakaszói       | 185:185                                  | 208:214 | 159:161 | 203:207 | 240:246 | 191:193 | 237:241  | 250:250 | 243:245 | 246:248 | 207:211 | 264:276 |
| Rózsaszói      | 185:185                                  | 208:208 | 163:169 | 197:199 | 246:254 | 191:197 | 237:237  | 244:250 | 259:259 | 248:268 | 211:221 | 264:264 |
| Sáfrány        | 185:192                                  | 202:208 | 174:174 | 207:207 | 252:254 | 191:193 | 245:245  | 244:250 | 245:259 | 238:278 | 207:207 | 264:264 |
| Sára muskotály | 185:185                                  | 208:217 | 159:174 | 189:199 | 254:258 | 191:191 | 237:237  | 250:267 | 245:253 | 246:268 | 209:213 | 244:264 |
| Sampus         | 185:185                                  | 202:208 | 159:159 | 191:207 | 254:260 | 193:193 | 237:245  | 244:244 | 243:259 | 248:248 | 207:209 | 264:288 |
| Somazói        | 185:185                                  | 202:214 | 161:161 | 199:203 | 252:254 | 193:197 | 232:243  | 244:250 | 243:253 | 244:258 | 193:209 | 252:256 |
| Szagos banár   | 185:185                                  | 205:208 | 161:165 | 191:207 | 250:262 | 197:197 | 237:241  | 250:250 | 243:253 | 234:258 | 207:211 | 264:288 |
| Szelecsárd     | 185:192                                  | 202:208 | 169:174 | 191:207 | 252:254 | 191:191 | 232:245  | 244:250 | 245:253 | 238:278 | 207:209 | 264:264 |
| Szelecsárd     | 185:185                                  | 202:202 | 163:174 | 199:199 | 252:252 | 191:193 | 243:245  | 250:257 | 243:259 | 228:236 | 209:209 | 254:276 |
| Szeréni        | 185:185                                  | 202:208 | 159:174 | 191:207 | 252:258 | 191:197 | 237:243  | 250:250 | 243:253 | 228:258 | 207:209 | 276:276 |
| Szokaszói      | 185:185                                  | 202:208 | 159:174 | 191:191 | 254:260 | 191:197 | 239:239  | 244:250 | 245:259 | 244:244 | 209:213 | 272:276 |
| Tóthka         | 185:185                                  | 202:214 | 165:174 | 199:207 | 252:254 | 191:193 | 237:241  | 250:257 | 245:259 | 228:236 | 207:207 | 254:276 |
| Tókszói        | 185:185                                  | 208:214 | 159:159 | 203:207 | 240:262 | 191:193 | 232:241  | 257:257 | 245:245 | 246:248 | 207:211 | 264:276 |
| Talpus         | 185:185                                  | 208:208 | 163:174 | 191:207 | 252:254 | 191:193 | 237:241  | 244:244 | 243:245 | 234:248 | 207:209 | 254:288 |
| Talpus         | 185:185                                  | 202:214 | 161:161 | 199:207 | 246:262 | 191:193 | 243:245  | 250:250 | 243:243 | 236:246 | 209:211 | 254:264 |
| Úrúti dinka    | 185:185                                  | 214:214 | 159:165 | 191:207 | 246:254 | 193:203 | 237:237  | 250:250 | 243:259 | 258:260 | 207:209 | 266:276 |
| Velencéjü      | 185:185                                  | 202:208 | 161:161 | 191:207 | 246:262 | 191:191 | 243:245  | 250:250 | 243:243 | 228:248 | 209:211 | 264:276 |
| Vörösdinka     | 185:185                                  | 208:214 | 159:161 | 191:199 | 254:262 | 191:193 | 237:245  | 244:250 | 243:245 | 236:236 | 209:221 | 254:264 |
| Zöld dinka     | 185:185                                  | 202:208 | 159:174 | 191:207 | 254:254 | 191:191 | 237:245  | 244:257 | 243:243 | 234:234 | 209:211 | 264:264 |

