

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DA UVA ‘GOETHE’ DE URUSSANGA-SC POR MARCADORES MICROSSATÉLITES¹

MARIANE RUZZA SCHUCK², FLAVIA MAIA MOREIRA³, JOSÉ AFONSO VOLTOLINI⁴, MIGUEL PEDRO GUERRA⁴, MARIA STELLA GRANDO³, APARECIDO LIMA DA SILVA⁴

RESUMO – A variedade Goethe é símbolo da vitivinicultura da região de Urussanga, sul do Estado de Santa Catarina, a qual, atualmente, busca a Indicação Geográfica da Uva e do Vinho Goethe. Para isto, um dos requisitos necessários é a identificação precisa do material genético. Os marcadores microssatélites constituem a ferramenta molecular mais utilizada para a identificação varietal de videira em todo o mundo e têm a capacidade de produzir um perfil genético único para cada material vitícola. O objetivo deste trabalho foi caracterizar duas seleções de uva ‘Goethe’, presentes no município de Urussanga, por meio de marcadores moleculares microssatélites, visando a atender aos requisitos de denominação de origem e indicação de procedência controlada. A extração do DNA genômico foi realizada a partir de folhas jovens e ramos de nove acessos de cada seleção de ‘Goethe Classica’ e ‘Goethe Primo’ provenientes de uma coleção pública e de oito coleções privadas da região de Urussanga. Dez *loci* microssatélites VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62, VrZAG79, VVMD25, VVMD28, VVMD31 e VVMD32 foram genotipados através de eletroforese capilar. As análises realizadas mostraram que as duas variantes da uva ‘Goethe’ apresentaram um perfil molecular idêntico e único, isto é, representam a mesma variedade e sem nenhuma correspondência com variedades descritas anteriormente na literatura e nos bancos de dados consultados. As diferenças fenotípicas observadas provavelmente são devidas a mutações somáticas em regiões funcionais do genoma, fenômeno que dá origem aos clones em videira.

Termos para indexação: *Vitis*, identificação varietal, marcadores microssatélites, variabilidade intravarietal.

MOLECULAR IDENTIFICATION OF THE GRAPEVINE ‘GOETHE’ FROM URUSSANGA (SC) WITH MICROSATELLITE MARKERS

ABSTRACT – ‘Goethe’ grape is a symbol of the viticulture of Urussanga region, south of the state of Santa Catarina, which is currently claiming the geographical indication of the grape and wine Goethe. Microsatellite markers are the biotechnological tool most used for molecular identification of grapevine varieties worldwide. These markers have the potential to generate unique DNA profiles for all the diverse grape genotypes. The aim of this work was to characterize two selections of the grapevine ‘Goethe’ from Urussanga, using microsatellite markers. Genomic DNA was extracted from young leaves and branches of nine accessions of each selection ‘Goethe Clássica’ and ‘Goethe Primo’ maintained at one public and eight private collections of Urussanga. Ten microsatellite *loci* VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62, VrZAG79, VVMD25, VVMD28, VVMD31 and VVMD32 were genotyped by capillary electrophoresis. Results showed that the two variants of ‘Goethe’ have an identical molecular profile which doesn’t match any other DNA profile of grapevines previously described in literature or available in databases. The phenotypic differences observed are probably due to somatic mutations in functional regions of the genome, a phenomenon which leads to the creation of clones in grape.

Index terms: *Vitis*, identification of cultivars, microsatellite markers, intravarietal variability.

¹(Trabalho 160-09). Recebido em: 29-06-2009. Aceito para publicação em: 28-01-2009. Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

²Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia - Produção Vegetal. Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, SCA/ Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários, 1540, Juvevê, Caixa Postal 19061, 80035-050, Curitiba-PR, Brasil – schuck337@gmail.com

³Pesquisadoras da Fondazione Edmund Mach - Istituto Agrario di San Michele all’Adige, via E. Mach 1, 38010 San Michele a/A, TN, Italia – flavia.moreira@iasma.it; stella.grando@iasma.it

⁴Professores e Pesquisadores do Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Departamento de Fitotecnia, CCA/ Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, Caixa Postal 476, 88040-900, Florianópolis-SC, Brasil. - voltolini@cca.ufsc.br, mpguerra@cca.ufsc.br, alsilva@cca.ufsc.br

INTRODUÇÃO

O município de Urussanga, localizado na região sul-catarinense, é o berço de desenvolvimento da uva 'Goethe'. Esta foi trazida pelo advogado Giuseppe Caruso Mac Donald, dos EUA, no início do século XX, ao município de Urussanga, onde se adaptou perfeitamente as condições climáticas locais (MARIOT, 2002). Nesta região, duas variantes de 'Goethe' são tradicionalmente cultivadas pelos produtores: a 'Goethe Clássica' e a 'Goethe Primo', que se diferenciam, principalmente, pela cor da baga e acidez do mosto e do vinho.

A importância desta variedade reside na qualidade do vinho produzido, que exprime o máximo do "terroir" e agrega origem, cultura e "savoir-faire". Neste sentido, os produtores desta região estabeleceram parcerias com o SEBRAE-SC, UFSC e EPAGRI para implementar a denominação de origem e solicitação da Indicação Geográfica.

Um dos requisitos para se obter a denominação de origem e indicação geográfica de procedência controlada é a identificação precisa da variedade envolvida. Esta é uma necessidade concreta do setor, mas nem sempre de simples solução. A difusão por séculos de genótipos de videira em diferentes ambientes e condições culturais faz com que o reconhecimento varietal seja um processo muito complexo. Atualmente, estima-se que a coleção mundial de *Vitis* spp. compreenda cerca de 10.000 variedades, com mais de 25.000 nomes diferentes em uso (ALLEWELDT; DETTWEILER, 2003).

A identificação das variedades de videira tem sido tradicionalmente baseada na ampelografia, que é a análise e a comparação de características morfológicas das folhas, ramos, cachos e bagas (DESCRIPTOR, 2003). Entretanto, a expressão destas características é influenciada por fatores ambientais e pela biologia individual da planta. Além disso, algumas variedades geneticamente próximas são morfológicamente muito similares e difíceis de diferenciar mediante comparação botânica.

O uso de marcadores ao nível de DNA na distinção de variedades oferece muitas vantagens em relação aos estudos baseados na morfologia ou composição dos frutos por não serem influenciados pelo ambiente, estado sanitário ou estágio de desenvolvimento da planta (SEFC et al., 2001).

Os diferentes marcadores hoje disponíveis diferenciam-se pela tecnologia utilizada para revelar a variabilidade do DNA. Os marcadores microssatélites ou SSRs (*Simple Sequence Repeats*), desde a década de 90, são preferencialmente utilizados como descritores moleculares em videira. A utili-

dade destes na identificação e na caracterização de variedades-copa e porta-enxerto, na avaliação da variabilidade genética, em estudos de pedigree e mapeamento genético já foi amplamente demonstrada (BOWERS et al., 1999a; COSTANTINI et al., 2005; DOLIGEZ et al., 2006). Além disso, a genotipagem das plantas de videira com marcadores SSRs permite o estabelecimento de perfis identificativos e o desenvolvimento de bancos de referência para as variedades (DETTWEILLER et al., 1998; LEFORT; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 2000; GRANDO et al., 2002). O acesso aos bancos de dados permite que as informações sejam compartilhadas, contribuindo significativamente com os esforços internacionais para a correta identificação do germoplasma vitícola.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar geneticamente as variedades Goethe Primo e Goethe Clássica presentes no município de Urussanga por meio de marcadores moleculares microssatélites (SSRs), visando a atender a requisitos de denominações de origem e indicações de procedência controladas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas folhas jovens e ramos de nove acessos de cada seleção de 'Goethe Classica' e 'Goethe Primo' provenientes de uma coleção pública (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Santa Catarina - EPAGRI) e de oito coleções privadas (Vinhos Quarezemim, Vinícola Irmãos Felipe, Vinhos Trevisol, Vinícola Mazzuco, Vinícola Mazon, Vitivinícola Urussanga, Marcio Scremin e Moacir Possamai) do município de Urussanga (28°31'04"S 49°19'15"W, a 48 metros de altitude).

A extração de DNA do material vegetal foi realizada de acordo com o método de Doyle e Doyle (1990) com as seguintes modificações: foi macerado material vegetal liofilizado ao invés de material fresco e foi adicionado RNase ao isopropanol durante a fase de precipitação do DNA. A quantificação do DNA extraído foi feita em gel de agarose (0,8%), tendo como padrão o DNA fago λ , nas concentrações de 20; 50; 100 e 200 ng/ μ l, e sucessivamente, as amostras foram diluídas para concentração de 20 ng/ μ l. Esta etapa do projeto foi realizada no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (UFSC).

No sentido de facilitar a comparação com os dados da literatura e com os bancos de dados internacionais, as amostras foram genotipadas com os dez *loci* microssatélites mais difundidos pela comunidade científica internacional: VVS2 (THOMAS e SCOTT, 1993), VVMD27 (BOWERS et al., 1996),

VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD28, VVMD31, VVMD32 (BOWERS et al., 1999b), VrZAG62 e VrZAG79 (SEFC et al., 1999) (Tabela 1).

A reação de amplificação foi preparada segundo Moreira (2006) com um volume final de 12.5µl, contendo 25mM de cada dNTP, 0.5mM de cada primer, 0.5U Taq DNA polimerase (GoldTaq - Applied Biosystems ou BioTaq - Bioline), 1X solução de buffer, 1.5mM MgCl₂ e 20ng de DNA genômico para cada amostra. O programa utilizado para reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foi: (i) desnaturação do DNA e ativação da Taq DNA polimerase a 95°C, por 7 minutos (GoldTaq) ou 3 minutos (BioTaq); (ii) 35 ciclos de amplificação distribuídos em 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 50°C (VVSD2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 and VrZAG79) ou 56°C (VVMD25, VVMD28, VVMD31 and VVMD32), 1 minuto e 30 segundos a 72°C; (iii) extensão final de 7 minutos a 72°C, e (iv) resfriamento a 4°C.

Para a definição do tamanho dos alelos nos *loci* microssatélites, foi utilizada a eletroforese capilar. A separação dos fragmentos microssatélites foi realizada utilizando um sequenciador ABI 3100 e o software GeneScan 3.7 (Applied Biosystems). A disponibilidade de primers marcados com diferentes fluorescências (HEX ou FAM) permitiu carregar em multiplex o produto derivado de diferentes reações PCR (Figura 1). O processamento dos dados produzidos pelo sequenciador foi feito com o programa Genotyper 3.7 (Applied Biosystems). Todas as análises foram realizadas utilizando o DNA da variedade Chardonnay como referência, tanto da qualidade de amplificação como do tamanho dos alelos, permitindo a comparação destes dados com aqueles disponíveis na literatura e nos bancos de dados internacionais. Esta etapa do projeto foi realizada no Laboratório de Genética Molecular da Fundação Edmund Mach - Instituto Agrario di San Michele all'Adige (FEM - IASMA, Itália).

Os perfis moleculares obtidos foram comparados com: (a) banco de dados online (Grape Microsatellite Collection – GMC (Grando et al., 2002); Greek Vitis Database – GVD (Lefort & Roubelakis-Angelakis, 2000; Lefort et al., 2002, Lefort, 2003); Swiss Vitis Microsatellite Database – SVM (Vouillamoz et al., 2009) e The European Vitis Database (This & Dettweiler, 2003); (b) com dados da literatura, e (c) dados dos Estados Unidos, Suíça, Itália, Turquia, Armênia e Geórgia (Vouillamoz, dados não publicados). Os últimos bancos de dados citados (c) contêm atualmente detalhes de microssatélites de mais de 2.000 variedades de uva, correspondendo a aproximadamente 1.500 variedades diferentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dez *loci* microssatélites revelou que as duas seleções da variedade Goethe apresentam perfil molecular idêntico (Tabela 2), ou seja, correspondem à mesma variedade, apesar das evidentes diferenças entre elas, como a coloração da epiderme da baga e a acidez total (mosto e vinho). Neste caso, provavelmente, a variedade Goethe Clássica sofreu uma mutação, dando origem ao clone 'Goethe Primo' (Figura 1). Esta afirmação é sustentada por dados históricos, onde a comparação da 'Goethe Clássica', encontrada em Urussanga, com a uva 'Goethe', encontrada nos bancos de dados ampelográficos (MARIOT, 2002), revela que ambas possuem a coloração das bagas rosáceas, enquanto a 'Goethe Primo' possui a baga de cor branca.

Diversas mutações deste tipo foram encontradas no germoplasma vitícola catarinense, como, por exemplo, a 'Niágara Branca', que difere da 'Niágara Rosada' pela coloração das bagas, a 'Grano d'Oro', que difere da 'Bordô' pelo vigor e produtividade, a 'Isabel Precoce', que se diferencia da 'Isabel' pelo menor ciclo, e a uva 'Itália', com suas diferentes mutações de coloração das bagas, como a 'Rubi', 'Benitaka', 'Red Meire' e 'Brasil' (SCHUCK et al., 2009).

Segundo alguns autores (VIGNANI et al., 1996; FRANKS et al., 2002; RIAZ et al., 2002; WALKER et al., 2006), os clones intravarietais podem diferir fenotipicamente entre si em diversos aspectos, como caracteres morfológicos, aspectos fenológicos, vigor, potencial de produção e qualidade, mesmo que tenham perfis de DNA praticamente idênticos. Isto ocorre porque poucos marcadores de DNA, e especialmente os microssatélites que são localizados principalmente em regiões anônimas do genoma (não codificantes), são capazes de distinguir variantes de uma mesma variedade (SEFC et al., 1998; LOPES et al., 1999; CRESPIAN et al., 2001; MARTÍN et al., 2003; IBÁNÉZ et al., 2009; ZULINI et al., 2005). Essas variantes, referidas comumente como mutações somáticas, geralmente ocorrem em regiões funcionais do genoma chamadas codificantes.

Além disso, variações clonais são difíceis de serem caracterizadas pela análise de alguns *loci* microssatélites, mas a extensão no número de marcadores utilizados na genotipagem aumenta a chance de se encontrar clones mutantes. Isto foi demonstrado por Riaz et al. (2002), que encontraram diferenças dentro de clones de 'Pinot Noir' e 'Chardonnay', genotipando cem *loci* SSRs. Em nosso trabalho,

utilizamos apenas dez *loci* microssatélites, que demonstraram ser um número insuficiente para caracterizar variações clonais. Os marcadores moleculares AFLPs, embora menos repetíveis, podem ser úteis na distinção clonal, como foi demonstrado recentemente (CERVERA et al., 1998; SCOTT et al., 2000; BELLIN et al., 2001; ZULINI et al., 2005).

A comparação do perfil molecular microssatélite obtido para as variedades Goethe Clássica e Goethe Primo com os dados disponíveis na literatura e nos bancos de dados internacionais consultados não revelou nenhuma correspondência varietal para

a uva 'Goethe' cultivada em Urussanga, nem mesmo com outros acessos com o mesmo nome, significando que se trata de um genótipo único, nunca descrito anteriormente.

A identificação e a descrição do perfil molecular único da uva 'Goethe' de Urussanga revelada neste trabalho são aspectos importantes para a viticultura local, visto que hoje esta variedade reivindica a primeira Indicação Geográfica de Santa Catarina. O aprofundamento deste estudo com o auxílio de outros tipos de marcadores moleculares poderá melhor explicar a variabilidade observada na uva 'Goethe', assim como sua expressão nesta região.

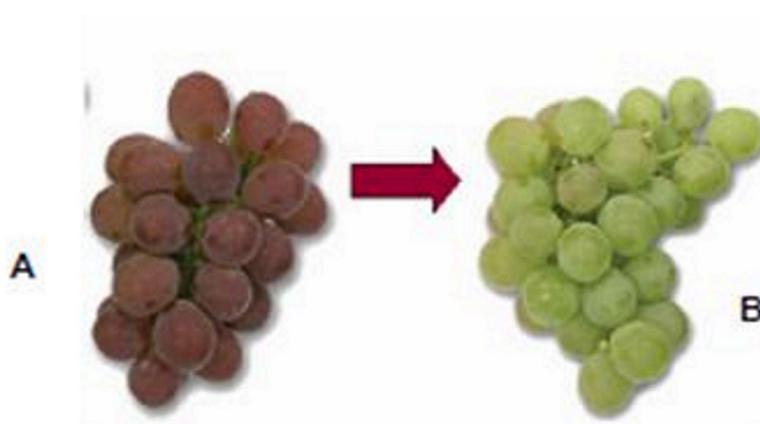


FIGURA 1 - Uva 'Goethe Clássica' (A) e 'Goethe Primo' (B).

TABELA 1 - Relação dos dez *loci* microssatélites analisados para caracterizar acessos de uva 'Goethe', temperatura de anelamento dos primers e tamanho do alelo em pares de bases.

<i>Loci</i>	Referência	Temperatura de Anelamento (°C)	Tamanho do alelo (bp)
VVS2	Thomas & Scott (1993)	50	129-155
VVMD5	Bowers et al. (1999b)	50	226-246
VVMD7	Bowers et al. (1999b)	50	232-263
VVMD25	Bowers et al. (1999b)	56	243-275
VVMD27	Bowers et al. (1996)	50	173-194
VVMD28	Bowers et al. (1999b)	56	221-279
VVMD 31	Bowers et al. (1999b)	56	196-224
VVMD32	Bowers et al. (1999b)	56	239-273
VRZag62	Sefc et al. (1999)	50	185-203
VRZag79	Sefc et al. (1999)	50	236-260

TABELA 2 - Perfil molecular da uva 'Goethe Clássica' e 'Goethe Primo' caracterizadas por dez *loci* microssatélites. Os valores referem-se ao tamanho dos alelos em pares de bases (bp).

<i>Loci</i> microssatélites	Goethe Clássica	Goethe Primo	Chardonnay*
VVS2	120 - 130	120 - 130	132 - 138
VVMD5	230 - 236	230 - 236	232 - 236
VVMD7	235 - 247	235 - 247	239 - 243
VVMD27	181 - 183	181 - 183	185 - 186
VrZAG62	190 - 204	190 - 204	186 - 194
VrZAG79	239 - 247	239 - 247	243 - 245
VVMD25	242 - 254	242 - 254	238 - 254
VVMD28	229 - 235	229 - 235	216 - 227
VVMD31	203 - 209	203 - 209	210 - 214
VVMD32	246 - 252	246 - 252	239 - 271

*variedade usada como referência

CONCLUSÕES

1- As análises moleculares realizadas em todos os acessos de 'Goethe Clássica' e 'Goethe Primo' coletados mostraram que esses correspondem a uma única variedade de videira.

2- As diferenças fenotípicas observadas entre as seleções de uva 'Goethe Clássica' e 'Goethe Primo' não correspondem a diferenças genotípicas nos dez *loci* microssatélites utilizados neste estudo e, provavelmente, se devem a mutações genéticas não detectadas por esses marcadores.

3- A existência de um perfil molecular único confirma a importância e o potencial da uva 'Goethe' para a viticultura catarinense.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao projeto PROGOTHE, pelo apoio financeiro; à CAPES, pela concessão da bolsa de estudos a Mariane Schuck; à UFSC; à EPAGRI; à CIDASC; à Província Autônoma de Trento e à Fundação Edmund Mach - Instituto Agrário di San Michele all'Adige (FEM/IASMA). Um especial agradecimento a José Vouillamoz (Universidade de Neuchâtel, CH), pelo auxílio na análise dos perfis moleculares.

REFERÊNCIAS

- ALLEWELDT, G.; DETTWEILER, E. The genetic resources of *Vitis*: Genetic and Geographic origin of grape cultivars, their prime names and synonyms. **Viticulture**, v.54, p.22-30, 2003.
- DESCRIPTOR list for grapevine varieties and *Vitis* species. Office International de la Vigne et du Vin (OIV). Paris, 2002. Disponível em : <<http://www.cgiar.org/ipgri>>. Acesso em: 15 mar. 2007.
- BELLIN, D.; VELASCO, R.; GRANDO, M.S. In-travarietal DNA polymorphisms in grapevine (*Vitis Vinifera* L.). **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 546, p. 343-349, 2001.
- BOWERS, J.E.; DANGL, G.S.; VIGNANI, R.; MEREDITH, C.P. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). **Genome**, Ottawa, v.39, p.628-633, 1996.
- BOWERS, J.; BOURSQUOT, J.M.; THIS, P.; CHU, K.; JOHANSSON, H.; MEREDITH, C.P. Historical genetics: the parentage of Chardonnay, Gamay and other wine grapes of northeastern France. **Science**, Washington, v. 285, p.1562-1565, 1999a.
- BOWERS, J.E.; DANGL, G.S.; MEREDITH, C.P. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.50, p.243-246, 1999b.

- CERVERA, M. T.; CABEZAS, J. A.; SANCHA, J. C.; MARTINEZ, DE TODA F.; MARTINEZ-ZAPATER, J. M. Application of AFLPs to the characterization of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources. A case study with accessions from Rioja (Spain). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 97, p. 51–59, 1998.
- COSTANTINI, L.; MONACO, A.; VOUILLAMOZ, J.F.; FORLANI, M.; GRANDO, M.S. Genetic relationships among local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy). **Vitis**, Siebeldingen, v. 44, p. 25-34, 2005.
- CRESPAN, M.; MILANI, N. The Muscats: A molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationships within a large family of grapevine cultivars. **Vitis**, Siebeldingen, v.40, n.1, p.23-30, 2001.
- DETTWEILER, E.; KRAUSE, D. J.; HARRER, S. The European *Vitis* Database. 1998. Disponível em: <<http://www.genres.de/eccdb/vitis>>. Acesso em: 15 fev. 2007.
- DOLIGEZ, A.; ADAM-BLONDON, A.F.; CIPRIANI, G.; DI GASPERO, G.; LAUCOU, V.; MERDINOGLU, D.; MEREDITH, C.P.; RIAZ, S.; ROUX, C.; THIS, P. An integrated SSR map of grapevine based on five mapping populations. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 113, p. 369-382, 2006.
- DOYLE J.J.; DOYLE J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Idaho, v.12, p.13-15, 1990.
- FRANKS, T.; BOTTA, R.; THOMAS, M. R. Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 104, p. 192–199, 2002.
- GALET, P. **Précis d'ampélographie pratique: Handbook of practical ampelography**. 6th ed. Montpellier : Dehan, 1991. 257p.
- GRANDO, M.S.; COSTANTINI, L.; MADINI, A.; SEGALA, C.; CORRADINI, S. GMC, una collezione di profili molecolari di vite. **L'Informatore Agrario**, Verona, v.8, p.33-34, 2002.
- IBAÑEZ, J.; DE ANDRES, M.T.; MOLINO, A.; BORREGO, J. Genetic study of the key Spanish varieties using microsatellite analysis. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.827, p. 115-122, 2009.
- LEFORT, F.; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A. The Greek *Vitis* Database, a multimedia webbacked genetic database for germplasm management of *Vitis* resources in Greece. **Journal of Wine Research**, v. 3, n. 11, p. 233-242, 2000.
- LOPES, M. S.; SEFC, K. M.; DIAS, E. D.; STEINKELLNER, H.; LAIMER, DA CAMARA MACHADO, M.; DA CAMARA MACHADO, A. The use of microsatellites for germplasm management in a Portuguese grapevine collection. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 99, n. 3-4, p. 733-739, 1999.
- MARIOT, E.J. **Produtos agroalimentares típicos coloniais: situação e perspectivas de valorização no Município de Urussanga, Santa Catarina, Brasil**. 2002. 107f. Dissertação (Mestrado em Gestão do Desenvolvimento Rural) - Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro, Universidade de Santiago de Compostela, 2002.
- MARTÍN, J.P.; BORREGO, J.; CABELLO, F.; ORTIZ, J.M. Characterization of the Spanish diversity grapevine cultivars using sequence-tagged microsatellite site markers. **Genome**, Ottawa, v. 46, p. 10–18, 2003.
- MOREIRA, F.M. **Identificazione di QTL per la resistenza a *Plasmopara viticola* e *Uncinula necator* in vite**. 2006. 87f. Tesi (Dottorato di ricerca in Biologia Vegetale e Produttività delle Piante Coltivate) - Università degli Studi di Milano, Milano, 2006.
- RIAZ, S.; GARRISON, K. E.; DANGL, G. S.; BOURSQUOT, J. M.; MEREDITH, C. Genetic divergence and chimerism within ancient asexually propagated winegrape cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 127, p. 508– 514, 2002.
- SCHUCK, M.R.; MOREIRA, F.M.; GUERRA, M.P.; VOLTOLINI, J.A.; GRANDO, M.S.; LIMA DA SILVA, A. Molecular characterization of grapevine from Santa Catarina State using microsatellite markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, p. 487-495, 2009.

SCOTT, K.D.; EGGLE, P.; SEATON, G.; ROSETTO, M.; ABLETT, E.M.; LEE L.S. AND HENRY, R.J. Analysis of SSRs derived from grape ESTs. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, p. 723–726, 2000.

SEFC, K.M.; GUGGENBERGER, S.; REGNER, F.; LEXER, C.; GLOSSL, J.; STEINKELLNER, H. Genetic analysis of grape berries and raisins using microsatellite markers. **Vitis**, Siebeldingen, v. 37, n.3, p. 123-125, 1998.

SEFC, K.M.; LEFORT, F.; GRANDO, M.S.; SCOTT, K.; STEINKELLNER, H.; THOMAS, M.R. Microsatellite markers for grapevine: a state of the art. In: ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A. (Ed.). **Molecular biology and biotechnology of grapevine**. Amsterdam: Kluwer, 2001. p.433–463.

VIGNANI, R.; BOWERS, J.E.; MEREDITH, C.P. Microsatellite DNA polymorphism analysis of clones of *Vitis vinifera* “Sangiovese”. **Scientia Horticulturae**, Piracicaba, v. 65, p. 163-169, 1996.

WALKER, A.R.; LEE, E.; ROBINSON, S.P. 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 Molecular Biology**, Dordrecht, v.62, p.623-635, 2006.

ZULINI, L.; FABRO, E.; PETERLUNGER, E. Characterization of the grapevine cultivar ‘Picolit’ by means of morphological descriptors and molecular markers. **Vitis**, Siebeldingen, v. 44, p. 35-38, 2005.