

Isoenzymuntersuchungen bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)

- Anleitungen zur Trennmethodik und Auswertung der Zymogramme -

zusammengestellt von

MONIKA KONNERT

Bayerisches Amt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht (ASP), Teisendorf

unter Mitwirkung von

Martin Fromm, Thomas Wimmer; Susanne Nowak

ASP Teisendorf

Die folgende Zusammenfassung der Labormethoden für biochemisch-genetische Untersuchungen an Douglasie (*Pseudotsuga menziesii*) basiert vorrangig auf den Arbeiten, die am Bayerischen Amt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht in Teisendorf durchgeführt wurden.

Die genetische Interpretation der Zymogramme ist bei KONNERT et al. (2001) veröffentlicht. Dort ist für den überwiegenden Teil der Enzymsysteme auch die Vererbungsanalyse beschrieben. Da Bergahorn tetraploid ist, gestaltet sich die Auswertung der Zymogramme oft schwierig. In der Arbeit von Konnert et al. (2001) sind für einige Genorte auch Problemfälle bei der Auswertung näher erläutert.

KONNERT, M.; RUETZ, W.; FROMM, M. (2001): Genetic variation in *Acer pseudoplatanus* L. I. Inheritance of isozyme variants. *Forest Genetics* 8 (1):25-37.

Da Bergahorn tetraploid ist, gestaltet sich die Auswertung der Zymogramme oft schwierig.

Das vorliegende Handbuch wird von den Verfassern einmal jährlich überprüft und aktualisiert.

Die Erstellung dieses Laborhandbuches wurde durch das BMBF gefördert.

Untersuchte Enzymsysteme (*Enzyme systems investigated*)

Tab. 1: Übersicht über die bei Bergahorn untersuchten Enzymsysteme und deren kontrollierende

Enzym und Nomenklatur	Genort	Struktur	Anzahl Allele	Häufige Allele	Trenn- System
Alkoholdehydrogenase (ADH) E.C.1.1.1.1	ADH-A ADH-B	Dimer	2 3	A ₁ B ₂	Histidin-citrat
Aspartataminotransferase (AAT,GOT) E.C.2.6.1.1	AAT-A AAT-B AAT-C	Dimer	3 3 5	A ₂ B ₂ C ₄	Ashton o.Poulik
Fluoreszierende Esterase (FEST) E.C.3.1.1.1	FEST-B FEST-C	dimer	3 5	B ₁ C ₃ ,C ₄	Ashton
Isocitratdehydrogenase (IDH) E.C.1.1.1.42	IDH-A IDH-B	Dimer	4 1	A ₁ B ₂	Tris-citrat
Leucinaminopeptidase (LAP) E.C.3.4.11.1	LAP-A	Monomer	3	A ₁	Histidin-citrat
Malatdehydrogenase (MDH) E.C.1.1.1.37	MDH-A MDH-B MDH-D	Dimer	2	A ₂	Histidin-citrat
Menadionreduktase (MNR) E.C.1.6.99.2	MNR-A	Tetramer	5	A ₃	Tris-citrat
6-Phosphogluconatdehydrogenase (6-PGDH) E.C.1.1.1.44	6-PDGH-A 6-PGDH-B	Dimer	3 2	A ₂ B ₂	Histidin-citrat Tris-citrat
Phosphoglucose-Isomerase (PGI) E.C.5.3.1.9	PGI-A PGI-B PGI-C	Dimer	1 5 5	A ₂ B ₂ C ₅	Ashton
Phosphoglucomutase (PGM) E.C.2.7.5.1	PGM-A PGM-B PGM-C PGM-D	Monomer	2 4 1 4	A ₁ B ₂ C ₂ D ₂	Tris-citrat Histidin-citrat

Genorte

Enzymextraktion (*Enzyme extraction*)

Proben von Knospengewebe (grünes meristematisches Gewebe) und Proben von Samengewebe werden in einem Tris-HCl-Puffer pH 7,2 homogenisiert. In den Samen ist die Enzymkonzentration hoch. Bei 70 µl Homogenatpuffer wurde deshalb nur 1/3 bis 1/2 eines Samens der Extraktion unterzogen. Anderenfalls waren viele Muster sehr rasch überfärbt.

Zusammensetzung des Homogenatpuffers (*Extraction buffers*) pH 7,2

100 ml Homogenatpuffer Tris/HCl 0,1 M pH 7,2 enthalten:

PVP	(3 %)	3 g
β- Mercaptoethanol	(0,07 mM)	30 µl

Anmerkung: Weitere Zusätze im Homogenatpuffer bringen keine wesentliche Verbesserung der Trennungen.

Trennsysteme, Gelzusammensetzung und Laufbedingungen (*Starch gel separation systems and separation conditions*)

Biomol-Stärke

Trennsystem	Gelpuffer	Gelzusammensetzung	Stromstärke	Laufzeit
*				
Ashton	pH 8,1 300 ml (10 % EP)	33,0 g Stärke, 9,0 g Sacch.	90 mA (U = const.)	5 h
**				
Histidin-Citrat	pH 6,2 250 ml (1:3 H ₂ O bidest.)	26,0 g Stärke 3,0 g Urea	5,0 g Sacch. 180 mg EDTA	100 mA max.300 V
*				
Tris-Citro	pH 7,5 300 ml	34,0 g Stärke	9,0 g Sacch.	120 mA (I = const.)
*				
Poulik	pH 8,7 300 ml	33,0 g Stärke	90 mA (I = const.)	4,5 h

* Glasplatte 27 * 11,5 cm, **Glasplatte 27 * 10 cm

Gerbu-Stärke

Trennsystem	Gelpuffer	Gelzusammensetzung	Stromstärke	Laufzeit
*				
Ashton	pH 8,1 300 ml (10 % EP)	33,0 g Stärke	9,0 g Sacch.	100 mA (U = const.)
**				
Histidin-Citrat	pH 6,2 270 ml (1:3 H ₂ O bidest.)	29,5 g Stärke 3,0 g Urea	5,5 g Sacch. 180 mg EDTA	100 mA max.300 V
*				
Tris-Citro	pH 7,5 300 ml	34,0 g Stärke	2,6 g Sacch.	110 mA (I = const.)
*				
Poulik	pH 8,7 300 ml (GP mit 3 % EP)	33,0 g Stärke	90 mA (I = const.)	4,5 h

* Glasplatte 27 * 11,5 cm, **Glasplatte 27 * 10 cm

Gelschnitte (*gel slabs*)

	unten	mitte	oben
Ashton	- PGI	o FEST	+ GOT
Histidin-Citrat	o LAP ; 6-PGDH	o MDH; ADH	o PGM
Tris-Citro	o PGM	o MNR	o IDH; ADH
Poulik	o PGM	o MNR	+ GOT

Gelschnitte: - = dünn o = mittel + = dick

Zusammensetzung der Trennpuffer (*Gel and electrode buffer composition*)

Ashton pH 8,1		
Elektrodenpuffer pH 8,1*		
Borsäure	190 mmol/l	11,8 g/l
Lithiumhydroxid	~26 mmol/l	~ 1,3 g/l
*190 mM Borsäure mit Lithiumhydroxid ~ 26mM auf pH 8,1 einstellen.		
Gelpuffer pH 8,1**		
Tris	50 mmol/l	6,1 g/l
Citronensäure H ₂ O	8 mmol/l	1,7 g/l
WICHTIG:	** Der zu verwendende Endpuffer besteht zu 90% aus obigem Gelpuffer und 10% des Elektrodenpuffers.	

Trennsystem Histidin-Citrat pH 6,2		
Elektrodenpuffer pH 6,2		
Histidin-Base	10 g / l	50g / 5 l
Citronensäure H₂O	~ 1,9 g / l	~ 9,5 g / 5 l
Gelpuffer pH 6,2		
Histidin-Base	10 g / l	50 g / 5 l
Maleinsäure	~ 1,6 g / l	~ 8 g / 5 l
Gelpuffer 1:3 mit H ₂ O bidest. verdünnen		

Tris-Citro pH 7,5		
Elektrodenpuffer pH 7,5		
Tris	140 mmol/l	18,17 g/l
Citronensäure H ₂ O	41 mmol/l	~ 8,6 g/l
Gelpuffer pH 7,5		
Elektrodenpuffer im Verhältnis 1:6,5 mit H ₂ O dest. mischen		

Poulik pH 8,2		
Elektrodenpuffer pH 8,2		
Borsäure	300 mmol/l	18,5 g/l
Natriumhydroxid	~60 mmol/l	~ 2,4 g/l
Gelpuffer pH 8,7		
Tris	70 mmol/l	8,5 g/l
Citronensäure H ₂ O	35 mmol/l	~ 7,4 g/l
Bemerkungen:	Gel- bzw. E.-Puffer mit NaOH bzw. Citronensäure auf den jeweiligen pH-Wert einstellen	

Visualisierung der Enzyme (*Enzyme vizualisation*)

Puffer für Färbelösungen (*stain buffer recipes*)

Tris-HCl 0,05 mol/l pH=7,0 und 8,5

30,27 g TRIS in 4500 ml dest. H₂O lösen und mit HCl (ca. 10 %) auf gewünschten pH-Wert bringen, danach auf 5000 ml auffüllen.

Tris-HCl 0,2 mol/l pH=8,0

48,44 g TRIS in 1800 ml dest. H₂O lösen und mit HCl (ca. 10 %) auf gewünschten pH-Wert bringen, danach auf 2000 ml auffüllen.

Acetatpuffer 0,2 mol/l pH=5,0

11,49 g Natriumacetat in 900 ml dest. H₂O lösen und mit Essigsäure auf pH 5,0 einstellen, danach auf 1000 ml auffüllen.

Tris-Maleat 0,05 mol/l pH 5,4

12,2 g TRIS in etwa 1200 ml und 11,13 g Maleinsäureanhydrid in etwa 400 ml dest. H₂O lösen; unter pH-Kontrolle beide Lösungen vermischen und auf 2000 ml auffüllen.

Die Pufferlösungen sind bei Raumtemperatur mehrere Wochen verwendbar.

Stammlösungen (*Stock solutions*)

NADP-Lösg.	8 mg/ml	
NAD-Lösg.	10 mg/ml	
MgCl ₂ -Lösg. (10 %)	50 g auf 500 ml	
MTT-Lösg.	6 mg/ml	
PMS-Lösg.	6 mg/ml	
NBT-Lösg.	3 mg/ml	
6-Phosphogluconsäure-tri-Na-Salz-Lösg.	30 mg/ml	(6-P)
DL-Isocitronensäure-tri-Na-Salz-Lösg.	40 mg/ml	(IDH)
Fructose-6-phosphat-di-Na-Salz-Lösg.	20 mg/ml	(PGI)
Glucose-1-phosphat-di-Na-Salz-Lösg.	40 mg/ml	(PGM)
3,9 g Apfelsäure/50 ml TRIS pH 8,0		(MDH)

nach Auflösen mit 2 MOL/l NaOH auf pH 8,0 einstellen

Zusammensetzung der einzelnen Färbelösungen (*Staining mixtures for different enzymes*)

Alkoholdehydrogenase (ADH / E.C. 1.1.1.1)

Tris-HCl 0,05 mol/l pH 8,5	70 ml
NAD-Lösg.	2,5 ml
MTT-Lösg.	2,5 ml
PMS-Lösg.	400 µl
Ethanol	2,5 ml*

* erst zum Schluss vor Beginn der Färbung hinzugeben

Aspartataminotransferase (AAT, GOT / E.C. 2.6.1.1)

Substratlösung:

Tris-HCl 0,2 M pH 8,0	200 ml
L-Asparaginsäure	1,06 g
alpha-Ketoglutarinsäure	0,140 g
-auflösen und auf pH 8,0 mit 2M NaOH einstellen	

Färbung pro Schale:

Substratlösung	70 ml
Fast Blue BB Salt	70 mg
Pyridoxal-5-Phosphate	10 mg

Bemerkungen: Bei zu schwacher Anfärbung der C-Zone die Einwaage von L-Asparaginsäure, alpha-Ketoglutarinsäure, Fast Blue BB Salt und Pyridoxal-5-Phosphate um das anderthalbfache erhöhen. Dickere Gelschicht für die Anfärbung verwenden (am besten oberste Schicht verwenden).

Fluoreszierende Esterase (FEST/E.C.3.1.1.1)

Acetatpuffer 0,2 mol/l pH 5,0	70 ml
Aceton	3 ml
4-Methylumbelliferyl	15 mg

Die Auswertung erfolgt nach 10-minütiger Inkubation bei 40°C unter der UV-Lampe bei 366 nm Wellenlänge.

Isocitratdehydrogenase (IDH/E.C. 1.1.1.42)

Tris-HCl-Puffer 0,05 mol/l pH 8,5	70 ml
DL-Isocitronensäure-tri-Na-Salz-Lösg.	3 ml
MgCl ₂ -Lösg. (10 %)	2 ml
NADP-Lösg.	2 ml
MTT-Lösg.	2 ml
PMS-Lösg.	300 µl

Leucinaminopeptidase (AAP/E.C.3.4.11.1)

Tris-Maleat 0,05 mol/l pH 5,4	75 ml
Leucin-B-naphtylamid-HCl	50 mg
Fast Black K	40 mg

Malatdehydrogenase (MDH/E.C. 1.1.1.37)

Tris-HCl-Puffer 0,05 mol/l pH 8,5	70 ml
L-Apfelsäure-Na-Salz-Lösg.	3 ml
NAD-Lösg.	1,5 ml
MTT-Lösg.	2 ml
PMS-Lösg.	300 µl

Menadionreduktase (MNR/E.C.1.6.99.2)

Tris-HCl-Puffer 0,05 mol/l pH 7,0	70 ml
Menadione Na ₂ (SO ₄)	30 mg
NADH	30 mg
NBT-Lösg.	10 ml

6-Phosphogluconatdehydrogenase (6-PGDH / E.C. 1.1.1.44)

Tris-HCl-Puffer 0,05 mol/l pH 8,5	70 ml
6-Phosphogluconsäure-tri-Na-Salz	2 ml
MgCl ₂ -Lösg. (10 %)	2 ml
NADP-Lösg.	2 ml
MTT-Lösg.	2 ml
PMS-Lösg.	300 µl

Phosphoglucose-Isomerase (PGI / E.C. 5.3.1.9)

Tris-HCl-Puffer 0,05 mol/l pH 8,5	70 ml
Fructose-6-phosphat-Lösg.	2 ml
MgCl ₂ -Lösg. (10 %)	2 ml
NADP-Lösg.	1 ml
MTT-Lösg.	2 ml
PMS-Lösg.	300 µl
Glucose-6-phosphatdehydrogenase	15 µl*

* erst kurz vor Beginn der Färbung hinzugeben

Phosphoglucomutase (PGM / E.C. 2.7.5.1)

Tris-HCl-Puffer 0,05 mol/l pH 8,5	70 ml
D-Glucose-1-phosphat-di-Na-Salz	90 mg
MgCl ₂ -Lösg. (10 %)	2 ml
NADP-Lösg.	2 ml
MTT-Lösg.	2 ml
PMS-Lösg.	300 µl
Glucose-6-phosphatdehydrogenase	15 µl*

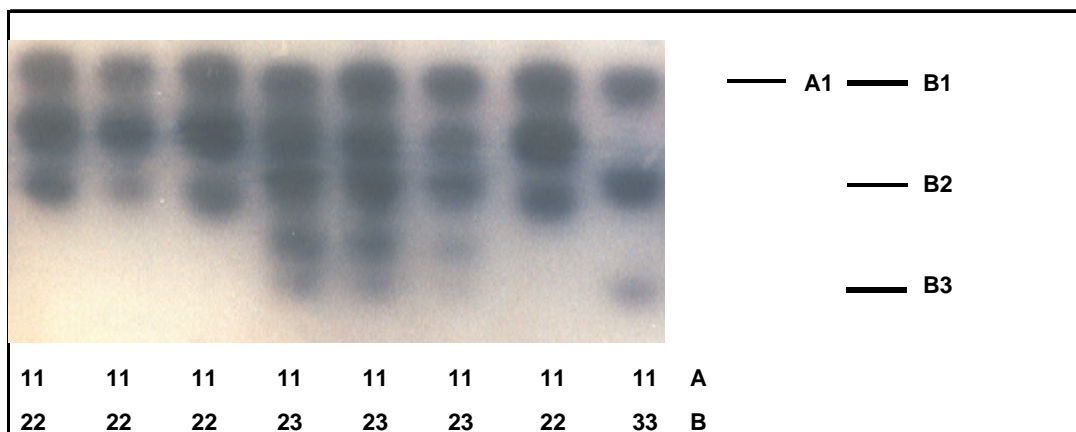
* erst kurz vor Beginn der Färbung hinzugeben

Interpretation der Zymogramme (*Genetic interpretation of banding patterns*)

Alkoholdehydrogenase (ADH) E.C.1.1.1.1

Bei Anfärbung auf ADH erscheinen in einer Zone Muster, die aus ein bis fünf Banden bestehen. Die genetische Analyse zeigte, dass das System von zwei Genorten kontrolliert wird, deren Allele teilweise überlappen. Ein Teil der Banden ist das Ergebnis von Inter- und Intralocushybriden. Der heterozygote Genotyp B12 ist von dem homozygoten B22 nur an der Intensität der langsamer wandernden Bande unterscheidbar.

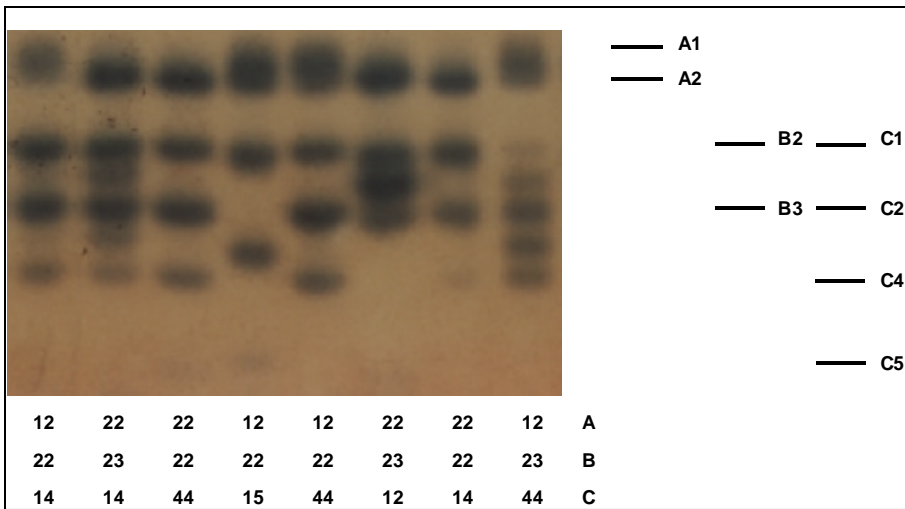
Zymogramm der Alkoholdehydrogenase bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)



Aspartataminotransferase (AAT, GOT) E.C.2.6.1.1

Das System AAT zeigt in zwei Zonen Anfärbung. Die schneller wandernde Zone zeigt Muster mit Einfach- und Dreifachbanden, die aufgrund der genetischen Analyse den homozygoten bzw. heterozygoten Genotypen zugeordnet werden konnten. Schwieriger ist die Interpretation der Muster aus der zweiten Zone. Diese wird von zwei Genorten kontrolliert, deren Allele überlappen. So liegt das Allel B2 auf der gleichen Höhe mit C1 und B3 auf der gleichen Höhe wie C2. Die Interpretation der Muster ist deshalb nicht immer einfach. Es gibt aber klar erkennbare Unterschiede in der Intensität einfach und doppelt besetzter Banden, was bei der Auswertung ein wichtiges Indiz sein kann. Bei dem Vergleich zweier Populationen ist oft schon der Vergleich der Muster ein wichtiger Hinweis auf genetische Unterschiede. Dabei wird empfohlen, Proben der zu vergleichenden Populationen auf demselben Gel aufzutragen.

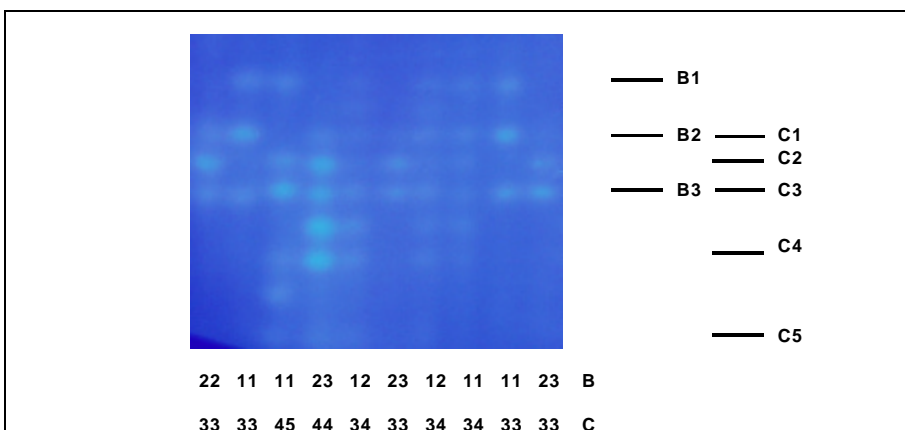
Zymogramm der Aspartataminotransferase bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)



Fluoreszierende Esterase (FEST) E.C.3.1.1.1

Bei Anfärbung auf fluoreszierende Esterase erhält man sehr komplexe Muster. Die Auswertung ist aber recht einfach unter der Annahme, dass dies ein dimeres System ist, welches Hybridbanden bildet. Für dieses System liegen noch keine Daten zur genetischen Analyse vor. Die vorläufige Interpretation geht aus von der Kontrolle durch zwei Genorte, deren Allele sich teilweise überlappen und die Intra- und Interlocushybride bilden. Unter dieser Annahme konnten alle bisher gefundenen Muster einem putativen Genotyp zugeordnet werden. Die beiden Genorte wurden von uns mit FEST-B und FEST-C bezeichnet, da auch in einer noch schneller wandernden Zone eine Färbung auftritt, die möglicherweise einem weiteren Genort zuzuordnen ist, die aber wegen unscharfer Banden nicht ausgewertet werden kann.

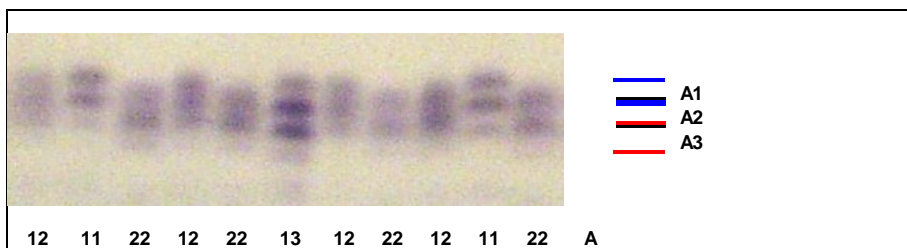
Zymogramm der Fluoreszierenden Esterase bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)



Isocitratdehydrogenase (IDH) E.C.1.1.1.42

Von den zwei Zonen, die nach der Studie von KONNERT et al. (2001) das System IDH kontrollieren, färbt nur die A-Zone sowohl bei Samen, als auch bei Knospen intensiv genug an, um ausgewertet werden zu können. In der A-Zone sind bei homozygoten Genotypen Doppel- oder Dreifachbanden zu beobachten, bei Heterozygoten bis zu fünf Banden. Oft zeigen sich diese aber als breite Zone, in der die fünf Banden nicht klar umrissen sind.

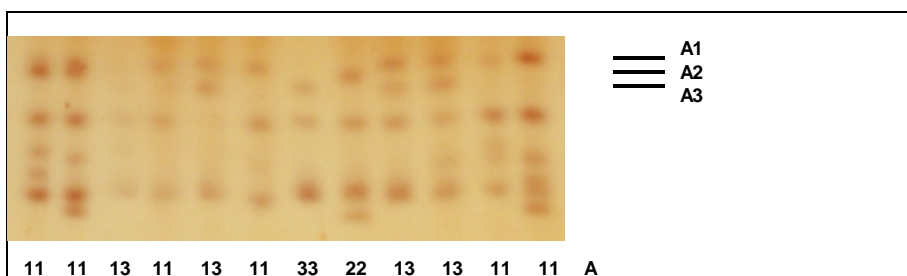
Zymogramm der Isocitratdehydrogenase bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)



Leucinaminopeptidase (LAP) E.C.3.4.11.1

Auf LAP angefärbte Gele zeigen ein komplexes Bandenmuster, bei dem nur die am schnellsten wandernden Banden eindeutig einem Genort zugeordnet werden konnten. Dieser Genort wurde mit LAP-A bezeichnet. An ihm wurden bisher drei Genvarianten nachgewiesen. Heterozygote Genotypen zeigen Doppelbanden, homozygote Einzelbanden (monomeres Enzymsystem).

Zymogramm der Leucinaminopeptidase bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)

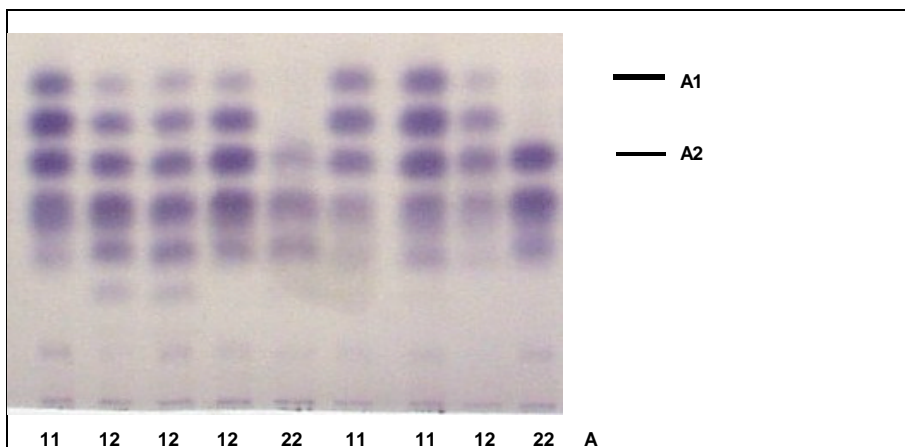


Malatdehydrogenase (MDH) E.C.1.1.1.37

Die sehr komplexen Muster, die erhalten werden, wenn man mit der gängigen Tetrazoliumfärbung auf MDH anfärbt, sind schwierig zu interpretieren. Lediglich für die drei schnellsten Varianten konnten aufgrund der genetischen Analyse bestimmte Genotypen zugewiesen werden und die Kontrolle durch einen Genort postuliert werden.

Bei Anfärbung mit Fast Blue BB, bei der nur die Oxalacetat-decarboxylierende Malatdehydrogenase anfärbt, zeigen sich Muster, die dahingehend interpretiert werden können, dass zwei weitere Genorte dieses Enzym kontrollieren, die Inter- und Intralocushybride bilden. Sie wurden von uns mit MDH-B und MDH-D bezeichnet. Dazwischen liegen die Enzyme eines vierten Genortes, der bei der Tetrazoliumfärbung intensiv anfärbt (mit MDH-C bezeichnet) und dadurch die Auswertung von MDH-B und MDH-D unmöglich macht. Leider war bei und bei Samenmaterial und bei nicht ganz frischem Knospenmaterial die Anfärbung mit Fast Blue BB oft sehr schwach. Deshalb wurde auf diese Anfärbung verzichtet und nach Anfärbung mit der Tetrazoliummethode nur der Genort MDH-A ausgewertet.

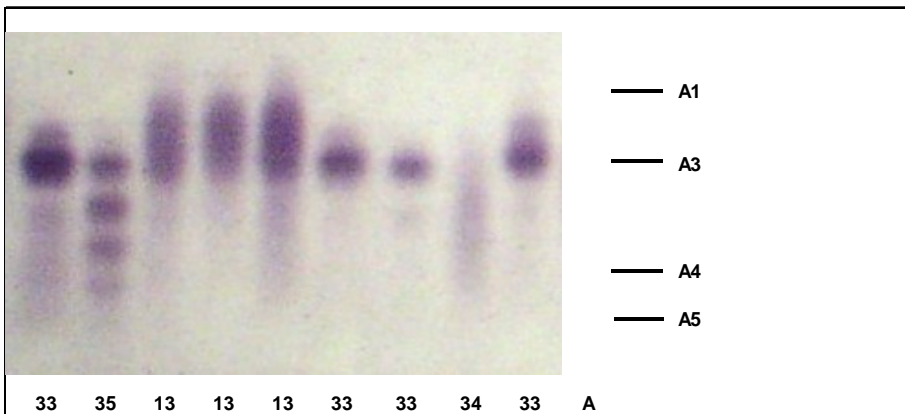
Zymogramm der Malatdehydrogenase bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)



Menadionreduktase (MNR) E.C.1.6.99.2

Bei Anfärbung auf MNR erhält man in einer Zone klare Muster, die aus einem Band (homozygote Genotypen) oder fünf Banden (heterozygote Genotypen) bestehen (tetrameres Enzym). Insgesamt wurden bislang vier Genvarianten gefunden. Die Unterscheidung von A12 und A23 einerseits bzw. A34 und A35 andererseits ist schwierig, wenn sie nicht auf demselben Trenngel vorkommen, oder wenn keine Standards verwendet werden

Zymogramm der Menadionreduktase bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)

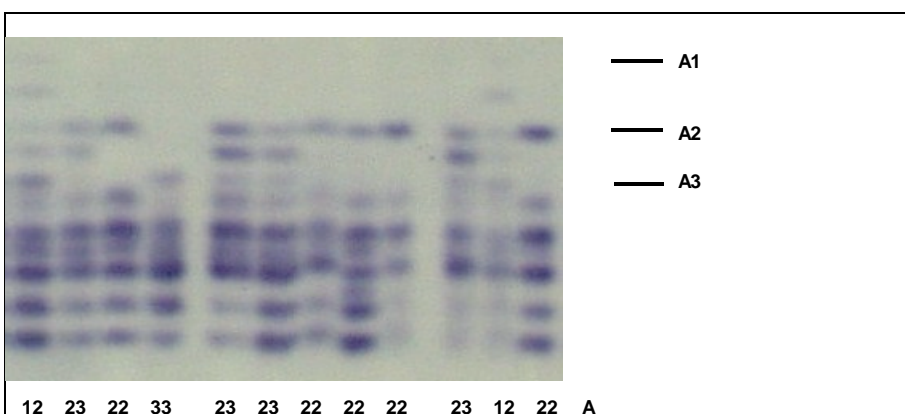


6-Phosphogluconatdehydrogenase (6-PGDH) E.C.1.1.1.44

Die Interpretation der komplexen Muster, die man nach Anfärbung auf 6-PGDH erhält, ist oft schwierig. Durch Auftrennung in Histidin-Citrat erhält man in der A-Zone deutliche Muster, die leicht den einzelnen Genotypen zuzuordnen sind. Berücksichtigt werden muss, dass ein Teil der Banden auf Inter- und Intralocushybride zurückzuführen ist.

Die Auswertung der näher zu Kathode liegenden Zone 6-PGDH-B ist bei der Trennung mit Histidin-Citrat nicht möglich. Bei Auftrennung in Tris-Citrat kann man zwei Allele unterscheiden, wobei B2 in unserem Untersuchungsmaterial weit über 90 % liegt.

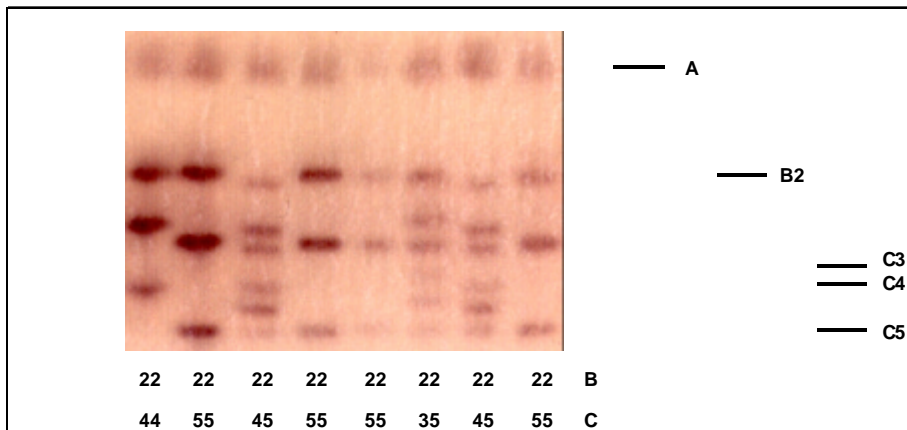
Zymogramm der 6-Phosphogluconatdehydrogenase bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)



Phosphoglucose-Isomerase (PGI) E.C.5.3.1.9

Das System PGI ist bei Bergahorn hochvariabel. Die schneller wandernde A-Zone zeigt keine Variation. Dafür treten in der zweiten Zone eine Vielzahl von Mustern auf. Die genetische Analyse zeigte, dass sich hier die Allele von zwei Genorten in weiten Teilen überlappen, dass sich Inter- und Intralocushybride bilden und dass an jedem Genort mindestens 5 Allele auftreten. Einige der Genotypen sind aber recht selten. Mit Abstand am häufigsten sind die Muster, die den Zwei-Locus Genotypen B22/C55, B22/C44, B22/C33, B22/C35 und B22/C45 entsprechen. Diese sind auch klar voneinander abgrenzbar, weil die Qualität der Trennungen meist sehr gut ist (klar konturierte Banden). Ähnlich wie bei AAT gibt es klar erkennbare Unterschiede in der Intensität einfach und doppelt besetzter Banden, was bei der Auswertung ein wichtiges Indiz sein kann. Gleichzeitig färben die Allele des C-Locus schwächer an, als die des B-Locus. Bei dem Vergleich zweier Populationen ist, ähnlich wie bei AAT, oft schon der Vergleich der Muster ein wichtiger Hinweis auf genetische Unterschiede. Wichtig ist dabei, dass Proben der zu vergleichenden Populationen auf demselben Gel aufgetragen werden.

Zymogramm der Phosphoglucose-Isomerase bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)



Phosphoglucomutase (PGM) E.C.2.7.5.1

Die genetische Analyse zeigte, dass die nach Anfärbung auf PGM erhaltenen Muster bei Bergahorn durch vier Genorte kontrolliert sind. Der Genort PGM-A, dessen Allele am schnellsten wandern, färbt etwas schwächer an und zeigt nur sehr wenig Variation. In einem Fall wurde bislang bei unserem Probenmaterial ein Doppelband gefunden. An dem Genort PGM-B ist die Auswertung nicht immer so einfach, wie es sich in der Abbildung darstellt, da eine weitere Genvariante (B4) auf der Höhe von PGM-C liegt. Deshalb ist die Unterscheidung von B33 und B34, bzw. B22 und B24 nicht möglich. Ebenso liegt D1 auf der Höhe von C2, was zu ähnlichen Schwierigkeiten führt, wie bei der Auswertung des PGM-B-Genortes. Die bisherigen Ergebnisse zeigten, dass B4 und D1 äußerst selten sind, weshalb wir immer von der in der Abbildung angegebenen Interpretation ausgegangen sind. Auch hier kann bei vergleichenden genetischen Untersuchungen ein Mustervergleich und das Auftragen auf dasselbe Gel sehr hilfreich sein.

Zymogramm der Phosphoglucomutase bei Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*)

