

## **Isoenzymuntersuchungen bei Roteiche (*Quercus rubra* L.)**

- **Anleitungen zur Trennmethodik und Auswertung der Zymogramme -**

- **Martin Fromm, Monika Konnert, Thomas Wimmer**

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

Die folgende Arbeitsanleitung zu biochemisch-genetischen Untersuchungen an Roteiche (*Quercus rubra* L.) basiert auf Arbeiten, die im Rahmen eines durch das BMBF geförderten Projektes (FKZ 0339766) am Bayerischen Amt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht in Teisendorf durchgeführt wurden.

Aufgrund unvollständiger Vererbungsanalysen und der geringen Anzahl untersuchter Kollektive haben die Allel- und Genortbezeichnungen bzw. die Angaben über Allelhäufigkeiten nur vorläufigen Charakter. In dem an dem ASP untersuchten Material wurden nur die in der weiteren Beschreibung angegebenen Genvarianten gefunden. Da bei der Untersuchung von weiteren Populationen möglicherweise noch weitere Allele auftreten, wurde die Bezeichnung der Allele so gewählt, dass eine Umbenennung möglichst vermieden werden kann. Deshalb wurde z.B. das am schnellsten wandernde Allel mit A2 und nicht mit A1 bezeichnet usw..

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

## Untersuchte Enzymsysteme (*Enzyme systems investigated*)

Tab. 1: Übersicht auf die bei der Roteiche untersuchten Enzymsysteme und deren kontrollierende Genorte.

<i>Enzym und Nomenklatur</i>	<i>Genort</i>	<i>Struktur</i>	<i>Häufige Allele</i>	<i>Trenn-System</i>
Alaninaminopeptidase (AAP) E.C.3.4.11.1	AAP-B	Monomer	B <sub>3</sub>	H.-C.
Aspartataminotransferase (AAT,GOT) E.C.2.6.1.1	AAT-B AAT-C AAT-D	Dimer	B <sub>2</sub> ,B <sub>4</sub> C <sub>3</sub> D <sub>4</sub>	Ashton
Alkoholdehydrogenase (ADH) E.C.1.1.1.1	ADH-A	Dimer	A <sub>2</sub> ,A <sub>3</sub>	Ashton
Fluoreszierende Esterase (FEST) E.C.3.1.1.1	FEST-B	Dimer	B <sub>2</sub> ,B <sub>5</sub>	Ashton
Formiatdehydrogenase (FDH) E.C.1.2.1.2	FDH-A	Dimer	A <sub>4</sub>	Poulik
Isocitratdehydrogenase (IDH) E.C.1.1.1.42	IDH-A IDH-B	Dimer	A <sub>2</sub> ,A <sub>3</sub> ,A <sub>5</sub> B <sub>3</sub>	Tris-Citrat
Malatdehydrogenase (MDH) E.C.1.1.1.37	MDH-A	Dimer	A <sub>4</sub>	Tris-Citrat
Menadionreduktase (MNR) E.C.1.6.99.2	MNR-A	Tetramer	A <sub>4</sub>	Poulik
6-Phosphogluconatdehydrogenase (6-PGDH) E.C.1.1.1.44	6-PGDH-A 6-PGDH-B	Dimer	A <sub>2</sub> ,A <sub>3</sub> ,A <sub>4</sub> B <sub>4</sub>	Tris-Citrat
Phosphoglucose-Isomerase (PGI) E.C.5.3.1.9	PGI-A PGI-B	Dimer	A <sub>3</sub> B <sub>4</sub> ,B <sub>8</sub>	Ashton
Phosphoglucomutase (PGM) E.C.2.7.5.1	PGM-A PGM-B	Monomer	A <sub>3</sub> B <sub>4</sub>	Histidin-Citrat
Shikimatdehydrogenase (SKDH) E.C.1.1.1.25	SKDH-A	Monomer	A <sub>2</sub> , A <sub>6</sub>	Histidin-Citrat

## Enzymextraktion (*Enzyme extraction*)

Gewebe der Knospen, Keimspitzen der Samen, aber auch älteres Blattmaterial werden in einem Tris-HCl-Puffer homogenisiert. Die Lagerung des Materials erfolgt bei  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Folgender Puffer hat sich für alle Gewebearten bewährt

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

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

PVP	(3 %)	3 g
$\beta$ -Mercaptoethanol	(0,07 mM)	30 $\mu\text{l}$

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

Bei Wurzelgewebe ist die Enzymaktivität für die Auswertung der Genorte 6-PGDH-A, FDH-A, IDH-A und SKDH-A zu schwach. Daher ist dieses Probenmaterial bei Roteiche für die Isoenzymanalyse nur bedingt zu empfehlen.

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

### Biomol-Stärke

Trennsystem	Gelpuffer		Gelzusammensetzung			Spannung	Laufzeit
*							
<b>Ashton</b>	pH 8,1	300 ml (10 % EP)	33,0 g Stärke	9,0 g Sacch.		90 mA	5,5 h
**							
<b>Poulik</b>	pH 8,1	280 ml (3 % EP)	31,0 g Stärke	10,0 g Sacch.		120 mA	5 h
**							
<b>Histidin-Citrat</b>	pH 6,2	300 ml (1:3 dest. H <sub>2</sub> O)	31,0 g Stärke	12,0 g Sacch.		90 mA	5 h
			6,0 g Urea	200 $\mu\text{g}$ EDTA		max. 250 V	
**							
<b>Tris-Citro</b>	pH 7,5	250 ml (1:6,5 dest. H <sub>2</sub> O)	28,5 g Stärke	8,0 g Sacch.		150 mA	5,5 h
*Glasplatte 27x11,5 cm							
**Glasplatte 27x10 cm							

## Gerbu-Stärke

Trennsystem	Gelpuffer		Gelzusammensetzung			Spannung	Laufzeit
*							
<b>Ashton</b>	pH 8,1	300 ml (10 % EP)	30,0 g Stärke	6,0 g Sacch.		130 mA	4 h
**							
<b>Poulik</b>	pH 8,1	280 ml (3 % EP)	28,0 g Stärke	6,0 g Sacch.		110 mA	4 h
**							
<b>Histidin-Citrat</b>	pH 6,2	300 ml (1:3 dest.)	30,0 g Stärke 4,0 g Urea	8,0 g Sacch. 200 mç EDTA		110 mA max. 280 V	4 h
**							
<b>Tris-Citro</b>	pH 7,5	300 ml (1:6,5 dest. H2O)	30,0 g Stärke	8,0 g Sacch.		150 mA	4 h
*Glasplatte 27x11,5 cm							
**Glasplatte 27x10 cm							

## Gelschnitte (*gel slabs*)

	unten	mitte	oben	
<b>Ashton</b>	- PGI	+ AAT	- ADH	o FEST
<b>Poulik</b>	o MNR	+ FDH		
<b>Histidin-Citrat</b>	o AP	- PGM	o SDH	
<b>Tris-Citro</b>	o IDH	o 6-PGDH	o MDH	
Gelschnitte: - = dünn o = mittel + = dick				

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

<b>Ashton pH 8,1</b>		
<b>Elektrodenpuffer pH 8,1*</b>		
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.		
<b>Gelpuffer pH 8,1**</b>		
Tris	50 mmol/l	6,1 g/l
Citronensäure H <sub>2</sub> O	8 mmol/l	1,7 g/l
<b>WICHTIG:</b>	** Der zu verwendende Endpuffer besteht zu 90% aus obigem Gelpuffer und 10% des Elektrodenpuffers.	

<b>Poulik pH 8,2</b>		
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 <sub>2</sub> O	35 mmol/l	~ 7,4 g/l
<b>WICHTIG:</b>	Der zu verwendende Gelpuffer besteht zu 97 % aus dem obigen Gelpuffer und zu 3 % aus Elektrodenpuffer	
<b>Bemerkungen:</b>	Gel- bzw. E.-Puffer mit NaOH bzw. Citronensäure auf den jeweiligen pH-Wert einstellen.	

<b>Histidin-Citrat pH 6,2</b>		
Elektrodenpuffer pH 6,2		
Histidin-Base	10 g / l	50g / 5 l
Citronensäure H <sub>2</sub> O	~ 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 <sub>2</sub> O bidest. verdünnen		

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

## Visualisierung der Enzyme (*Enzyme vizualisation*)

### Puffer für Färbelösungen (*stain buffer recipes*)

#### *Tris-HCl 0,05 mol/l pH = 7,0 oder 8,5*

30,27 g TRIS in 4500 ml dest. H<sub>2</sub>O 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. H<sub>2</sub>O lösen und mit HCl (ca. 10 %) auf gewünschten pH-Wert bringen, danach auf 2000 ml auffüllen.

### ***Acetatpuffer 0,2 mol/l***

11,49 g Natriumacetat in 900 ml dest. H<sub>2</sub>O 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. H<sub>2</sub>O 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 <sub>2</sub> -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-PGDH)
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)
8 g Apfelsäure/50 ml TRIS pH 8,0		(MDH)

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

#### **Alaninaminopeptidase (AAP/E.C.3.4.11.1)**

Tris-Maleat pH 5,4	70 ml
Alanin-B-naphtylamid-HCl	50 mg

Fast Black K 40 mg

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

#### **Substratlösung:**

Tris-HCl (0,2M) 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

### **Alkoholdehydrogenase (ADH/E.C.1.1.1.1)**

Tris-HCl-Puffer (0,05 mol/l pH 8,5)	70 ml
Ethanol abs.*	1,5 ml
NAD-Lösg.	2 ml
NBT-Lösg.	10 ml
PMS-Lösg.	300 µl

\* kurz vor dem Anfärben dazugeben

### **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

### **Formiatdehydrogenase (FDH/E.C.1.2.1.1)**

Tris-HCl-Puffer (0,05 mol/l pH 8,5)	70 ml
Formic acid (Ameisensäure)	2 g
NAD-Lösg.	3 ml
MTT-Lösg.	3 ml



PMS-Lösg.

500 µl

**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 <sub>2</sub> -Lösg. (10 %)	2 ml
NADP-Lösg.	2 ml
MTT-Lösg.	2 ml
PMS-Lösg.	300 µl

**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(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	75 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 <sub>2</sub> -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
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 <sub>2</sub> -Lösg. (10 %)	2 ml
NADP-Lösg.	1 ml
MTT-Lösg.	2 ml
PMS-Lösg.	300 µl
Glucose-6-phosphatdehydrogenase	15 µl*

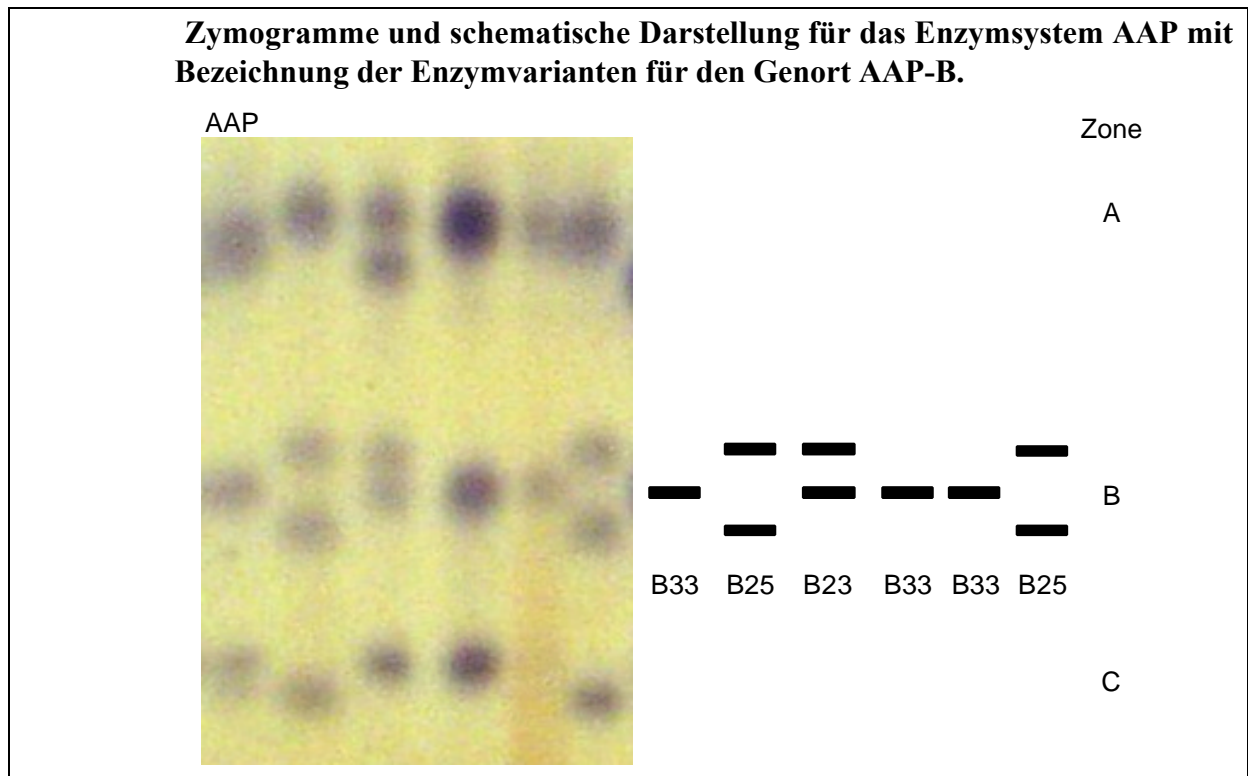
\* erst kurz vor Beginn der Färbung hinzugeben

### **Shikimatdehydrogenase (SKDH/E.C. 1.1.1.25)**

Tris-HCl-Puffer (0,05 mol/l pH 8,5)	70 ml
Shikimisäure	75 mg
MgCl <sub>2</sub> -Lösg. (10 %)	2 ml
NADP-Lösg.	1 ml
MTT-Lösg.	2 ml
PMS-Lösg.	300 µl

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

### Alaninaminopeptidase (AAP) E.C. 3.1.11.1)



Das monomere Enzymsystem AAP zeigt drei Zonen, von denen die Zonen AAP-A und -C, trotz (oder wegen) hoher Variation, nicht konsistent auswertbar waren. Deshalb wurde nur die B-Zone ausgewertet.

Orientierende Angaben über die Häufigkeiten der Varianten:

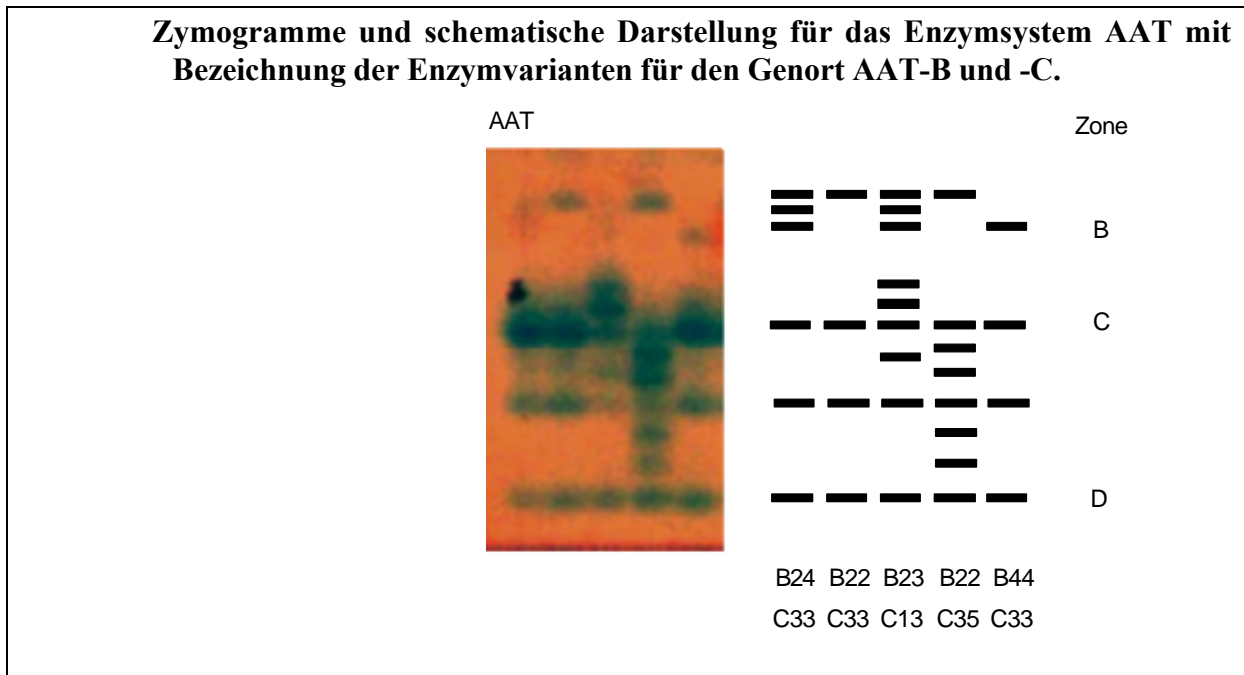
AAP-B2 – 12 %

AAP-B3 – 87 %

AAP-B4 – <1 %

AAP-B5 – <1 %

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



Das System GOT wird bei Roteiche von vier Genorten kontrolliert. Die A-Zone, die in der Abbildung nicht angegeben ist, färbt nur sehr schwach an und wurde deshalb nicht ausgewertet. In der B-Zone waren zwei Allele (B2 und B4) sicher auswertbar. Leider trugen auch die zur Vererbungsanalyse zur Verfügung stehenden Bäume nur diese beiden Allele. Ein schneller wanderndes Allel, AAT-B1, das sehr selten ist, wurde nur im Genotyp 14 nachgewiesen. Ein Genotyp 12 trat in dem Probenmaterial nicht auf. Deshalb muss dieses Allel als noch nicht gesichert gelten. Ebenso ist die Existenz der seltenen Allele B5 und B6 bislang nur Vermutung, da die betreffenden Gele sehr schwach angefärbt waren.

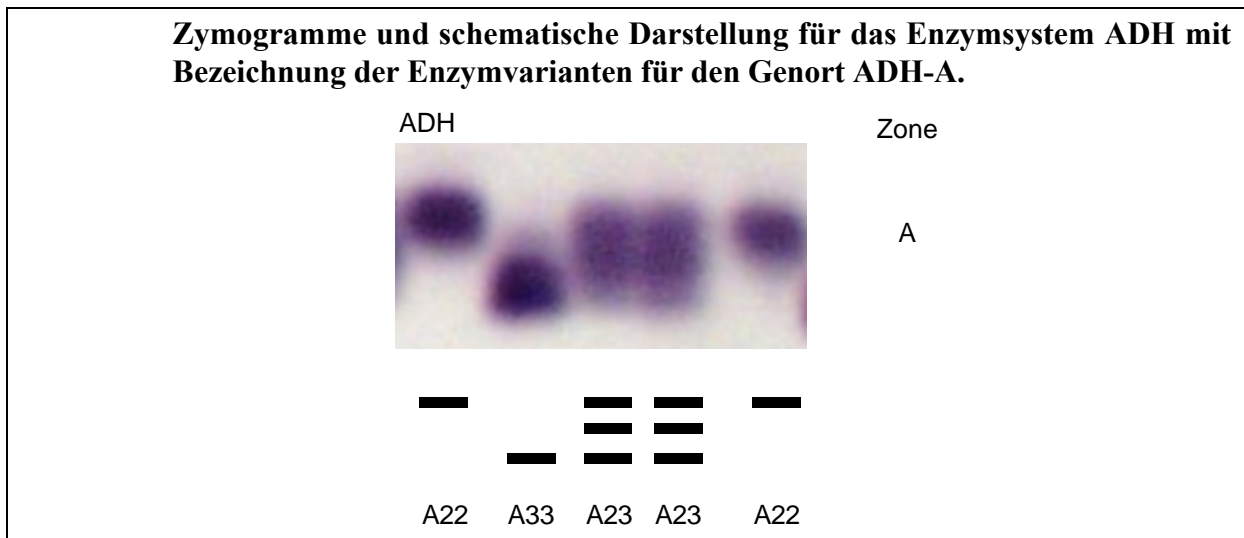
Der Genort C präsentiert sich, wie schon bei anderen Baumarten als Doppelband, möglicherweise als Folge einer Duplikation. Heterozygote zeigen dementsprechend Muster mit bis zu sechs Banden.

Am Genort D wurden drei Varianten nachgewiesen. Heterozygote bilden Dreifachbanden. Der Genort ist aber nicht in jedem Material auswertbar (färbt nicht immer an), weshalb auf seinen Einsatz bei der Identitätsprüfung verzichtet werden soll.

Orientierende Angaben über die Häufigkeiten der Varianten:

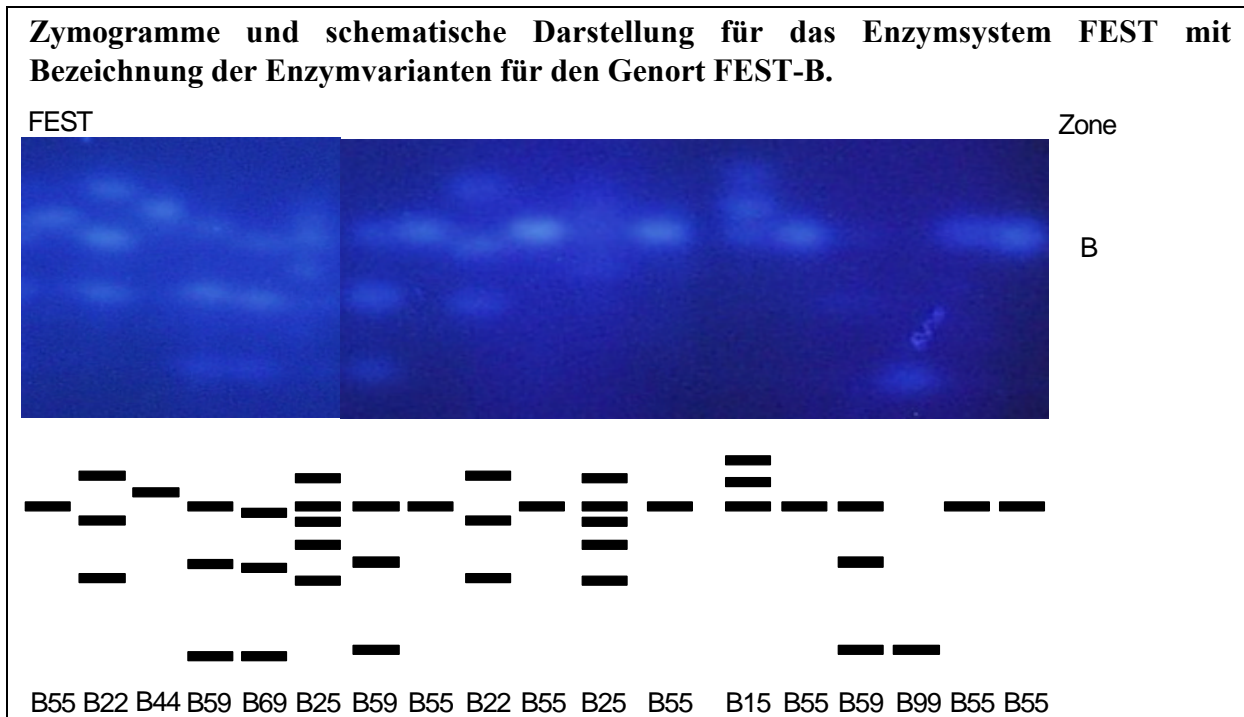
AAT-B2 – 50-75 %	AAT-C1 – <1 %
AAT-B4 – 25-50 %	AAT-C3 – 85-90 %
	AAT-C5 – 10 - 25 %

### Alkoholdehydrogenase (ADH) E.C.1.1.1.1



Das dimere Enzymsystem ADH wird vermutlich von einem Genort kontrolliert, für welchen bislang zwei Allelvarianten mit den vorläufigen Bezeichnungen A2 und A3 beobachtet wurden. Die bisher untersuchten Kollektive zeigten für die Variante A2 Allelhäufigkeiten von ca. 35 %, dementsprechend für die Variante A3 von ca. 65 %.

### Fluoreszierende Esterase (FEST) E.C.3.1.1.1



Die Exprimierung von Dreifachbanden für den homozygoten Genotyp B22 erschwerte die Interpretation der Zymogramme anfangs erheblich. Diese Besonderheit wurde erst durch die Aufspaltung der Allele in den Nachkommenschaften von Einzelbaumabsaaten nachgewiesen. Weitere genetische Analysen sind aber erforderlich. Zumindest die häufigen Varianten B2, B5 und B9 sind sicher zu interpretieren und für populationsgenetische Untersuchungen im Rahmen der Identitätssicherung verwendbar. B5 und B6 sind schwierig auseinander zuhalten. Wenn keine sicheren Standards auf dem Gel mitlaufen, wird empfohlen B5 und B6 nicht getrennt auszuwerten.

Orientierende Angaben über die Häufigkeiten der Varianten:

FEST-B1 – <3 %

FEST-B2 – 20 %

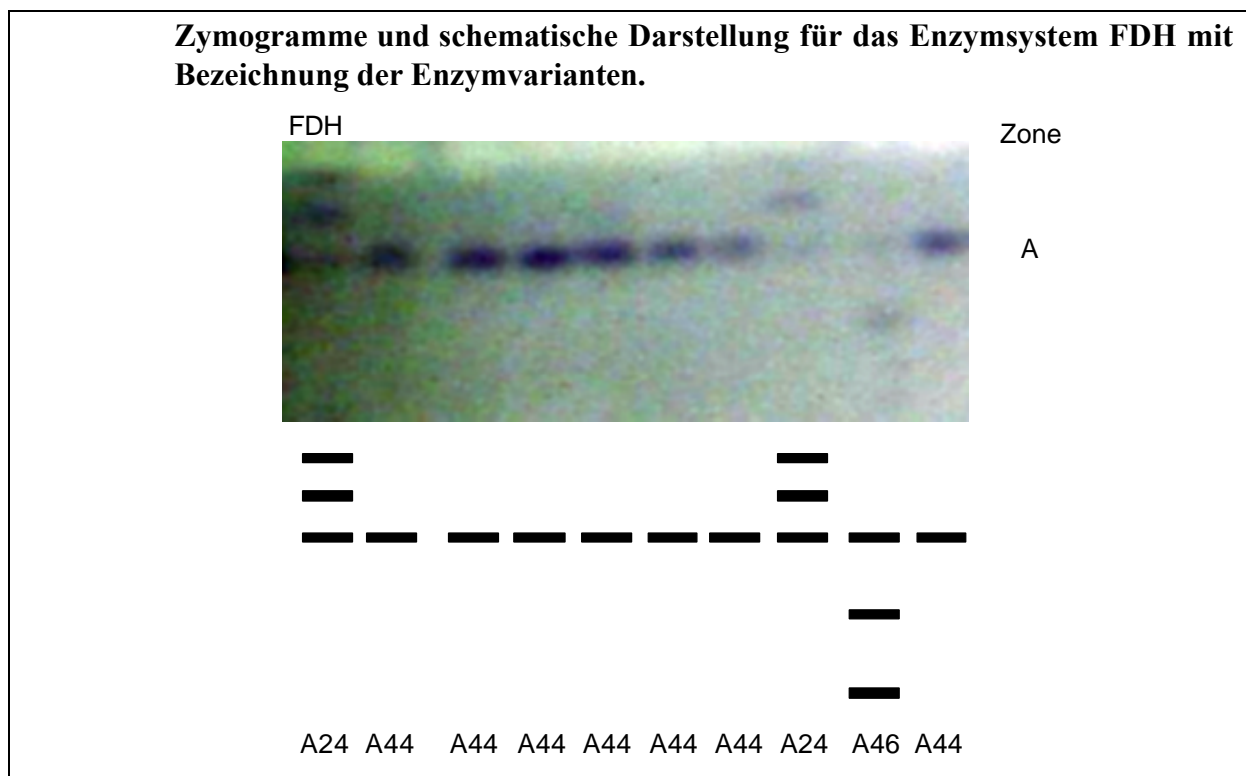
FEST-B4 – <1 %

FEST-B5 – 65-80 %

FEST-B6 – <2 %

FEST-B9 – 0-8 %

### Formiatdehydrogenase (FDH) E.C.1.2.1.1



Eine Anfärbung der Gele auf das dimere Enzymsystem FDH zeigt eine relativ schwache Intensität, dennoch ist eine Zone (mit A bezeichnet) sicher auswertbar. Bislang wurden drei Enzymvarianten gefunden, die vorläufig mit A2, A4 und A6 bezeichnet wurden.

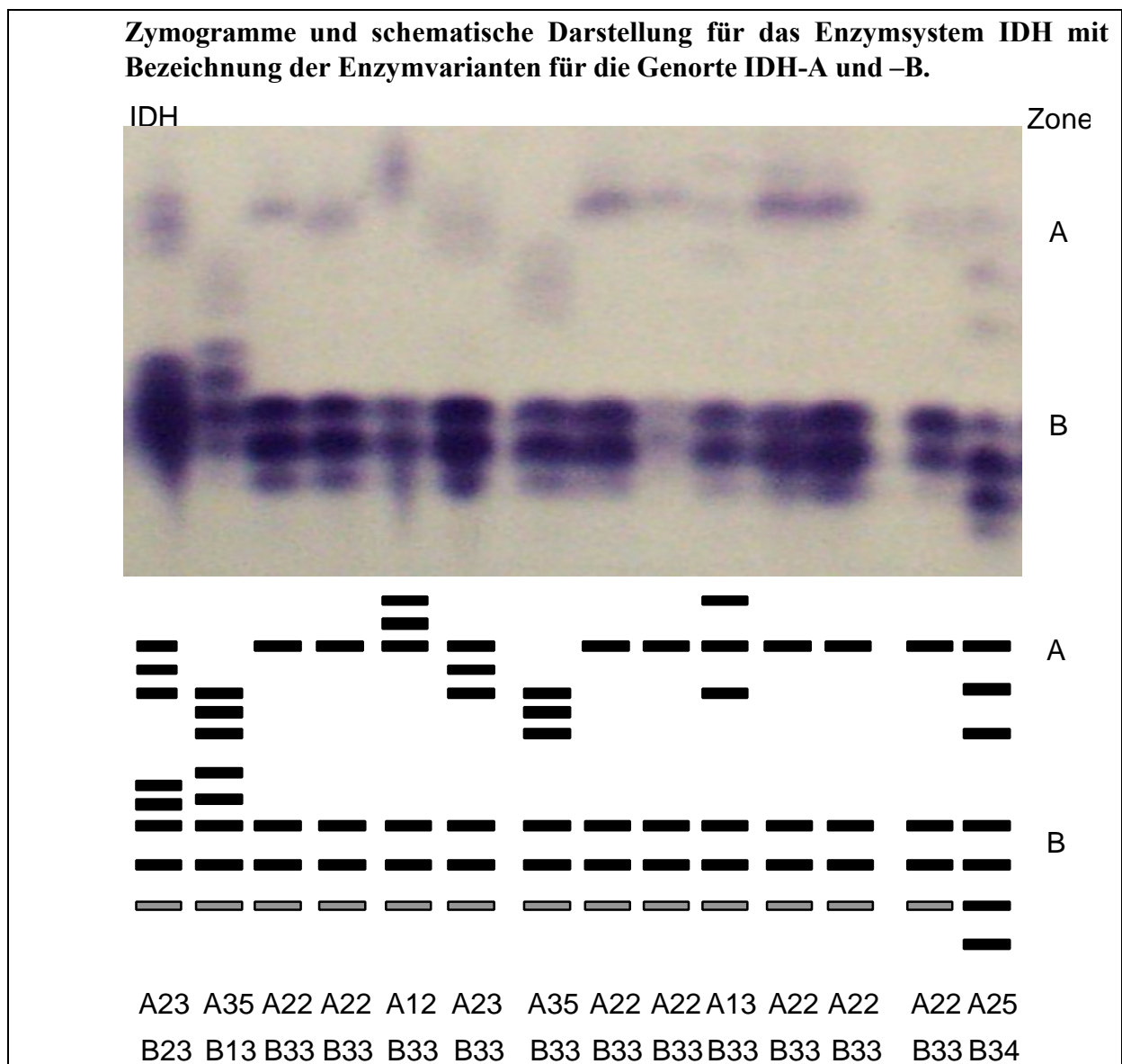
Orientierende Angaben über die Häufigkeiten der Varianten:

FDH-A2 – 3 %

FDH-A4 – 97 %

FDH-A6 – <1 %

### Isocitratdehydrogenase (IDH) E.C. 1.1.1.42





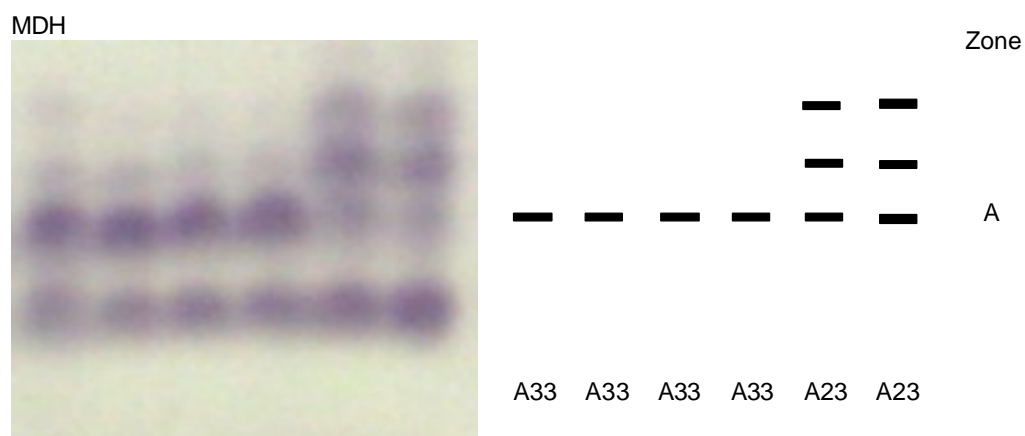
Bei dem dimeren Enzymsystem IDH färben bei der Roteiche zwei Genorte an. Die A-Zone ist nur bei qualitativ hochwertigem Material und optimierter Labormethodik konsistent auswertbar, bietet dafür aber einen hochvariablen Majorpolymorphismus mit 6 Allelen. Dabei ist zu beachten, dass die Position des seltenen Allels A6 (in der Abbildung nicht angegeben) sich mit der von B1 und B2 überlagern, so dass dieses Allel eindeutig nur über die Hybridbande zu identifizieren ist. Ohne Probleme lässt sich jederzeit die Variation in der B-Zone auswerten, in welcher bisher 4 Allele beobachtet werden konnten.

Orientierende Angaben über die Häufigkeiten der Varianten:

IDH-A1 – 3-7 %	IDH-B1 – <1 %
IDH-A2 – 20-50 %	IDH-B2 – 5-7 %
IDH-A3 – 25-35 %	IDH-B3 – 92-95 %
IDH-A4 – <1 %	IDH-B4 – <1 %
IDH-A5 – 20-40 %	
IDH-A6 – <1 %	

### Malatdehydrogenase (MDH) E.C. 1.1.1.37

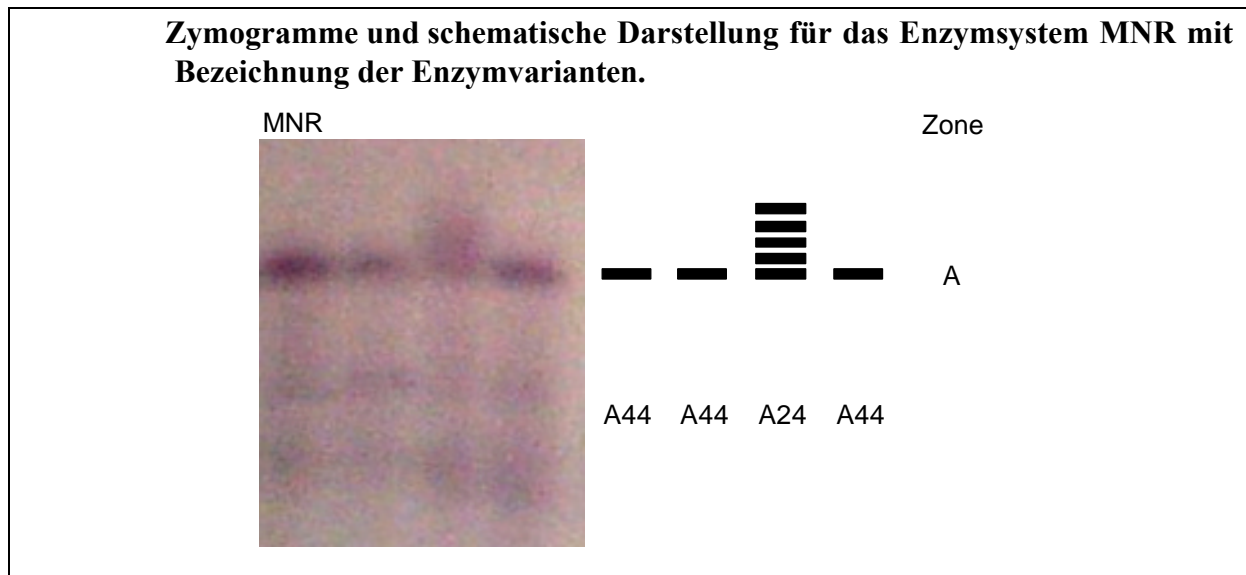
#### Zymogramme und schematische Darstellung für das Enzymsystem MDH mit Bezeichnung der Enzymvarianten



Bei dem dimeren Enzymsystem MDH wird der minorpolymorphe Genort MDH-A mit seinen zwei Allelen ausgewertet. Das Allel MDH-A2 zeigte bei den untersuchten Kollektiven

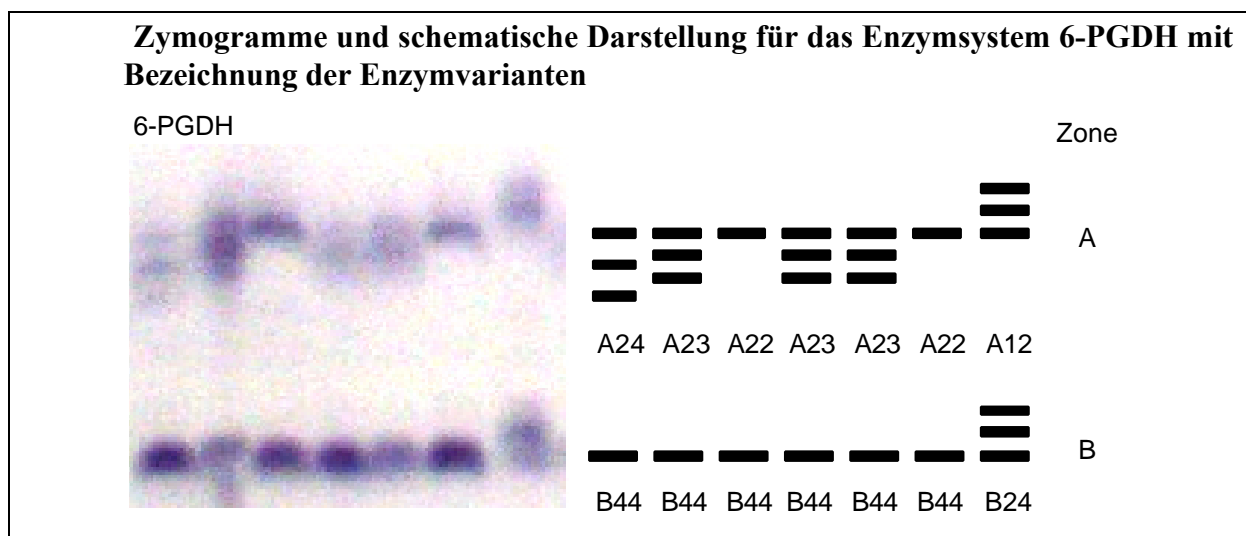
Häufigkeiten von ca. 3 %, das Allel MDH-A3 war dementsprechend mit Häufigkeiten um die 97 % vertreten.

### Menadionreduktase (MNR) E.C.1.6.99.2



Nach Anfärbung auf das tetramere Enzymsystem MNR wird eine Zone mit drei Enzymvarianten sichtbar, wobei die Variante MNR-A2 mit weniger als 1 % selten ist und die Variante A4 mit Anteilen von über 99 % auftritt. Vereinzelt wurde auch die hier nicht abgebildete langsamere Variante, als A6 bezeichnet, gefunden.

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

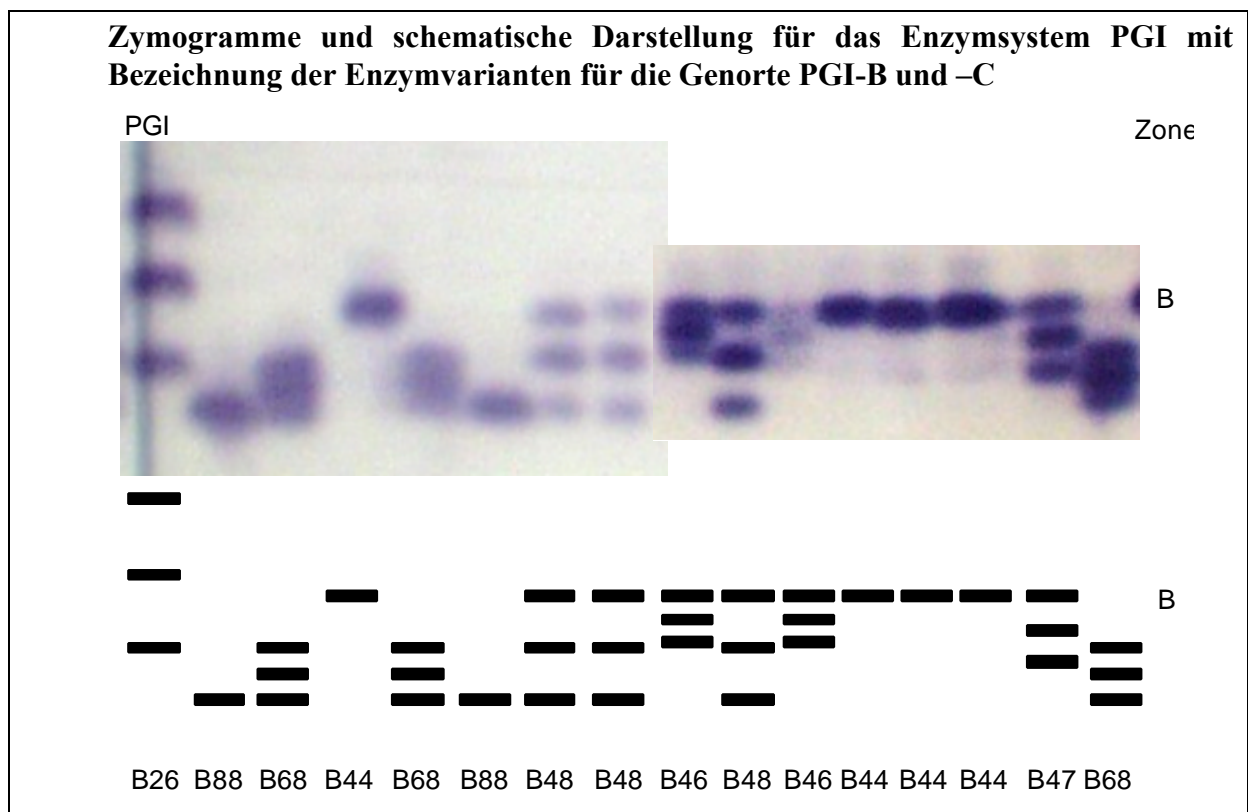


Bei Anfärbung auf das dimere Enzym 6-PGDH zeigen sich bei der Roteiche zwei variable Zonen. Am Genort 6-PGDH-A wurden bislang 4, am Genort 6-PGDH-B 3 Varianten beobachtet. Die vorläufig gewählten Bezeichnungen der Allele sind der Abbildung zu entnehmen. Das als B6 bezeichnete langsamere Allel ist nicht abgebildet, aber eindeutig als solches auf den Zymogrammen identifizierbar.

Orientierende Angaben zu den Häufigkeiten der Allele (Genvarianten):

6-PGDH-A1 – 1 %	6-PGDH-B2 – 1 %
6-PGDH-A2 – 60 %	6-PGDH-B4 – 98 %
6-PGDH-A3 – 19 %	6-PGDH-B5 – 1 %
6-PGDH-A4 – 20 %	

### Phosphogluco-Isomerase (PGI) E.C. 5.3.1.9



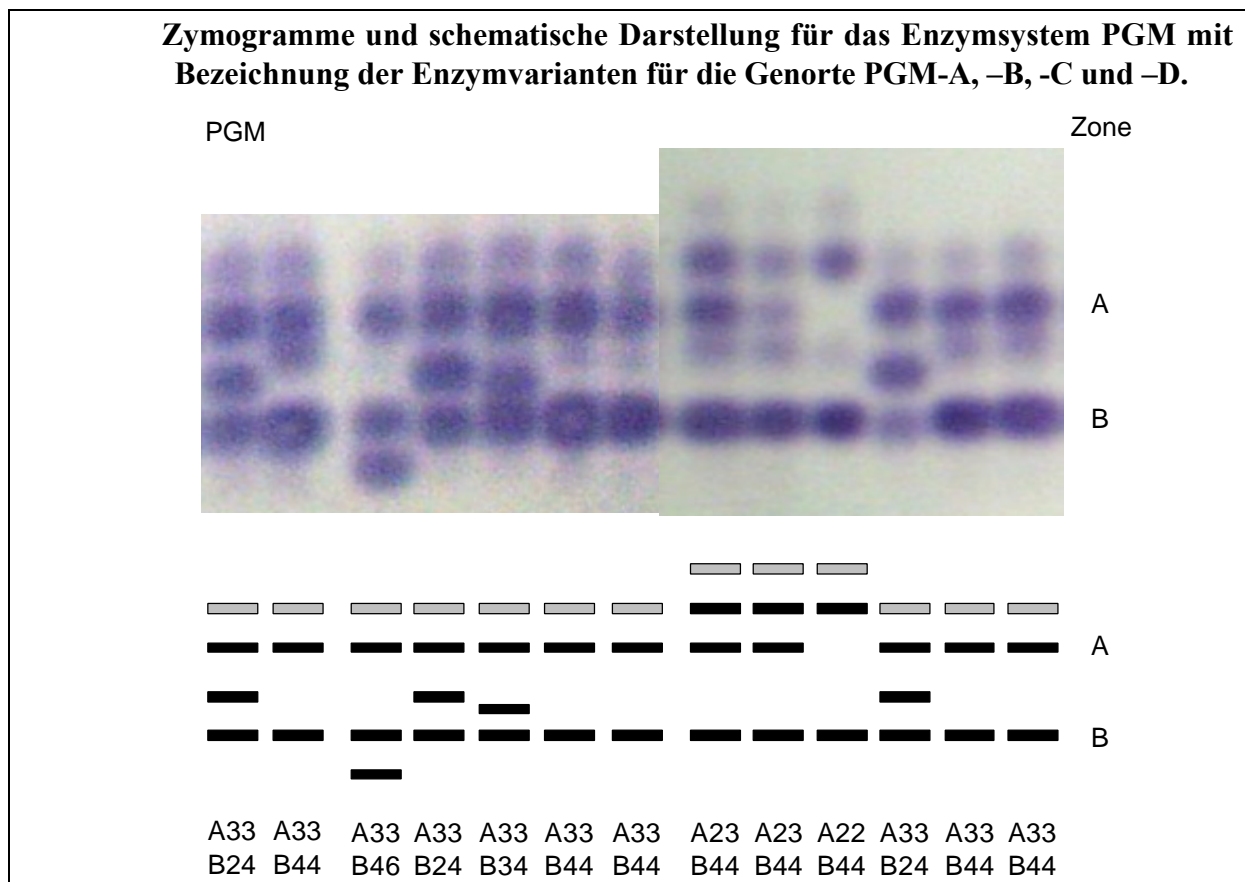
Das dimere Enzym PGI färbt bei Roteiche in zwei Zonen an. In der nicht abgebildeten A-Zone wurden nur zwei Varianten gefunden, wobei das Allel PGI-A2 mit Häufigkeiten von ca. 1 % bis 5 % vorkommt und das Allel A3 entsprechende Anteile von ca. 95 % bis 99 % aufweist.

Für den weitaus komplexeren Genort PGI-B wurden bei der Roteiche bisher 6 Allele nachgewiesen, darunter zwei häufige.

Orientierende Angaben über die Häufigkeiten der Varianten:

PGI-A2 – 1-5 %	PGI-B2 – 2-5 %
PGI-A3 – 95-99 %	PGI-B3 – <1 %
	PGI-B4 – 50-55 %
	PGI-B6 – 4-7 %
	PGI-B7 – <2 %
	PGI-B8 – 40 %

### Phosphoglucomutase (PGM) E.C. 2.7.5.1



Für die Roteiche werden, nach Anfärbung auf das monomere Enzymsystem PGM, zwei Genorte sichtbar. Bei PGM-A wurden zwei, bei PGM-B sechs Varianten gefunden. Die sehr seltenen Varianten B5 und B7 sind in der Abbildung nicht gezeigt.

Orientierende Angaben über die Häufigkeiten der Varianten:

PGM-A2 – <1 %	PGM-B2 – 4 - 8 %
PGM-A3 – >99 %	PGM-B3 – 1 %
	PGM-B4 – 85-90 %
	PGM-B5 – <1 %
	PGM-B6 – 2-5 %
	PGM-B7 – <1 %

### Shikimatdehydrogenase (SKDH) E.C. 1.1.1.25



Beim monomeren Enzymsystem SKDH färbt bei der Roteiche ein Genort mit 4 Allelen an. Wie auch bei anderen Baumarten sind nicht immer, wie in der Abbildung zu sehen, lediglich ein oder zwei Banden (für Homozygote bzw. Heterozygote) zu sehen, sondern es können auch Nebenbanden auftreten, die eine sichere Auswertung erschweren können.

Orientierende Angaben über die Häufigkeiten der Varianten:

SKDH-A2 – 40-55 %
SKDH-A3 – 5-25 %
SKDH-A4 – 6-20 %
SKDH-A6 – 10-35 %