

# Originalarbeiten/Original Papers

## Über die elektrophoretische Differenzierung und Klassifizierung von Proteinen

### IV. Disk-Elektrophorese und isoelektrische Fokussierung in Poly-Acrylamid- Gelen von Proteinen und Enzymen aus verschiedenen Erdbeerarten, -sorten und Artkreuzungsversuchen

Friedrich Drawert, Angelika Görg und Günter Staudt

Institut für Chemisch-technische Analyse und chemische Lebensmitteltechnologie  
der Technischen Universität München (BRD)  
und Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen (BRD)

Eingegangen am 26. März 1974

#### On the Electrophoretical Differentiation and Classification of Proteins

#### IV. Disc Electrophoresis and Isoelectrical Focusing in Polyacrylamid Gels of Proteins and Enzymes from Various Species, Varieties and Hybrid Species of Strawberries

*Summary.* The high resolving power of disc electrophoresis and isoelectrical focusing for proteins enabled well reproducible differentiations exemplified on 16 species of strawberries, one hybrid species which was backcrossed several times and three varieties. The protein pherograms show species- and variety-specificity. The cymograms exhibit an astonishing diversity of isoenzymes in the case of phenolase, peroxidase, esterase and malate dehydrogenase.

*Zusammenfassung.* Das hohe Auflösungsvermögen der Disk-Elektrophorese und der isoelektrischen Fokussierung in Polyacrylamid-Gelen für Proteine erlaubte bei 16 Erdbeerarten, einer Artkreuzung mit mehrfachen Rückkreuzungen und 3 Sorten gut reproduzierbare Proteindifferenzierungen. Die Proteinpherogramme sind art- bzw. sortenspezifisch. Die Zymogramme zeigen bei Phenolase, Peroxidase, Esterase und Malatdehydrogenase eine erstaunliche Vielfalt an Isoenzymen.

#### Einleitung

Wie wir in einem Vergleich zwischen der Disk-Elektrophorese (PAGE) und der isoelektrischen Fokussierung (PAGIEF) in Polyacrylamid-Gelen gezeigt und anhand der beachtlich anwachsenden Literatur diskutiert haben [1], ist besonders die PAGIEF aufgrund ihres hohen Auflösungsvermögens für Proteine (Enzyme) als Basis für eine Klassifizierung geeignet. So konnten wir bestimmte Mikroorganismen aufgrund ihrer Proteinverteilungsmuster differenzieren und zuordnen [2]. Mit Hilfe der dünnschichtisoelektrischen Fokussierung (DIEF) gelang es ebenfalls, eine große Heterogenität der Proteine von Trauben verschiedener Rebsorten aufzuzeigen, so daß Sortenvergleiche möglich wurden [3]; diese Befunde konnten durch Anwendung der PAGE und der PAGIEF bei vergleichbarem Material bestätigt werden [4].

Ziel der vorliegenden Arbeit war, unter Verwendung der PAGE und der PAGIEF die Heterogenität der Proteine von 16 verschiedenen Erdbeerarten und von 3 Erdbeersorten nachzuweisen und damit im Zusammenhang evtl. Art- bzw. Sortenabhängigkeiten festzustellen. Ein Artkreuzungsversuch mit mehrfachen Rückkreuzungen sollte mögliche Dominanzen eines Artkreuzungspartners bzw. Aufspaltungstendenzen im Proteinpherogramm zeigen. Ebenso war es von Interesse, eine gefundene Heterogenität der Proteine von verschiedenen Arten und Sorten auf ihre Reproduzierbarkeit über Ernten zweier Jahrgänge zu überprüfen.

#### Material und Methoden

*Material:* 16 Arten der Gattung *Fragaria*, 3 Sorten der Kulturart *F. ananassa* und Bastarde der Erdbeerarten *F. virginiana* × *F. chiloensis*. Die Erdbeeren waren von vergleichbarem Reifegrad; sofort nach der Ernte tiefgefroren, in Aceton (−30°C) eingebracht und zu Acetontrockenpulver verarbeitet.

*Methoden:* vgl. [1, 4].

#### Ergebnisse und Diskussion

##### 1. Vergleichende Untersuchungen von Erdbeerarten und -sorten

###### a) Proteinpherogramme der PAGE

Die Pherogramme (Abb. 1) zeigen ein recht unterschiedliches Aussehen; die Bandenzahl variiert von 8—18. Im Vergleich zu den Trauben- [4] und Gemüse-

proteinen [5], die neben einigen deutlichen Unterschieden zahlreiche Übereinstimmungen in den  $R_f$ -Werten zeigten, weisen die Erdbeer-Pherogramme größere Unterschiede auf. Hier kommt deutlich zum Ausdruck, daß die PAGE den Verwandtschaftsgrad der Pflanzen reflektieren kann. Bei den Weintrauben wurden ausschließlich Sorten, bei den Erdbeeren hingegen (mit Ausnahme der 3 Ananassa-Sorten) Arten untersucht. Daß Artenunterschiede diskelektrophoretisch wesentlich deutlicher zum Ausdruck kommen, konnte bereits von Hart u. Bhatia [6] bei Tabakpflanzen gezeigt werden. Bei aller Unterschiedlichkeit der Erdbeerpherogramme können jedoch einige Gemeinsamkeiten festgestellt werden:

Alle von uns untersuchten Erdbeeren besitzen eine stark ausgeprägte Hauptbande zwischen dem  $R_f$ -Wert 0,44 und 0,50 (durch Pfeil gekennzeichnet). Diese dürfte wohl mit der von Westphal [7] bei 2 Erdbeersorten gefundenen Hauptbande mit  $R_f = 0,46$  übereinstimmen. Eine weitere signifikante Bande ( $R_f = 0,53$ ) haben *F. Himalaya*, *vesca*, *nipponica*, *yezoensis*, *moupinensis*, *moschata*, *nilgerrensis* und *hayatai* gemeinsam; sie unterscheiden sich jedoch deutlich durch ihre weiteren Haupt- und Nebenbanden. Species *Himalaya* besitzt zusätzlich eine signifikante Doppelbande  $R_f = 0,64$  und  $0,69$ , *vesca* eine Bande bei  $0,76$ , *yezoensis* bei  $0,37$ , *moupinensis* 4 weitere bei  $R_f$   $0,13$ ,  $0,29$ ,  $0,59$ , und  $0,62$ , *moschata* bei  $0,41$ ,  $0,51$ ,  $0,73$  und  $0,77$ . Ähnlicher sind sich von den eben genannten 8 Erdbeerarten *nilgerrensis* und *hayatai*. Von den zusätzlichen 4 Hauptbanden von *hayatai* haben 3 davon gleiche  $R_f$ -Werte

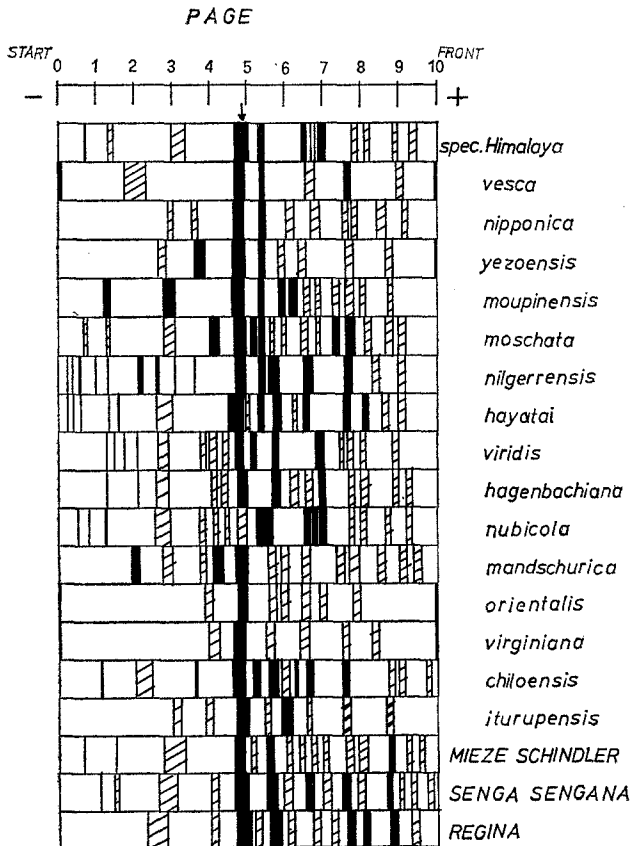


Abb. 1. Disk-Elektrophorese der Proteine aus 16 Erdbeerarten und 3 Erdbeersorten. Skala:  $R_f$ -Werte  $\times 10$ . Pfeil: gemeinsame Hauptbande

(0,53, 0,57, 0,76) mit *nilgerrensis*. Deutliche Übereinstimmung läßt sich auch in den scharfen Proteinlinien zu Beginn des Trenngels ( $R_f = 0,02, 0,04, 0,06$  und  $0,13$ ) erkennen. Beide Arten sind sich morphologisch ähnlich.

Ähnlichkeiten zeigen ebenso *viridis* und *hagenbachiana* durch ihre gemeinsamen Hauptbanden  $R_f = 0,57$  und  $0,69$  sowie 8 Nebenbanden. Sie sind wahrscheinlich durch Bastardisierung (*viridis*  $\times$  *vesca*) entstanden. *F. nubicola* zeigt in den Hauptbanden ein anderes Bild: die allen gemeinsame Bande vom  $R_f = 0,44 - 0,50$  ist nur schwach ausgeprägt; dominierend ist eine breite Bande vom  $R_f = 0,52 - 0,56$  und die Dreiergruppe vom  $R_f 0,65, 0,67$  und  $0,69$ . Indessen ist bemerkenswert, daß *nubicola* in 6 Nebenbanden mit *viridis* übereinstimmt und morphologische Ähnlichkeiten zeigt. *F. mandschurica*, *orientalis* und *virginiana* weisen im Gegensatz zu den übrigen Erdbeeren in der unteren Hälfte des Gels zur Anode hin keine stark anfärbbaren Banden auf. *F. mandschurica*, die mit *F. orientalis* wahrscheinlich nahe verwandt ist, verfügt über 3 Haupt- und 10 Nebenbanden. *F. orientalis* dagegen nur über 1 Haupt- und 6 Nebenbanden. Erstaunlicherweise ist Übereinstimmung nur in 4 Nebenbanden gegeben. *F. virginiana* zeigt wie *orientalis* nur eine Hauptbande und wenige Nebenbanden ab  $R_f = 0,40$ . Diese gemeinsamen Merkmale stimmen aber nicht mit den morphologischen und phylogenetischen Untersuchungen überein. Von den 5 Nebenbanden von *virginiana* haben 4 die gleichen  $R_f$ -Werte wie *iturupensis*. *F. iturupensis* bildet (mit Ausnahme der Banden beim  $R_f = 0,48$  und  $0,60$ ) ebenso wie *orientalis* und *virginiana* nur schwach anfärbbare, unbefriedigende PAGE-Proteinbanden aus. Wesentlich bessere Trennungen sind wieder von *F. chiloensis* und den 3 *Ananassa*-Sorten möglich. Im Vergleich zu *virginiana* zeichnet sich *chiloensis* durch 8 Haupt- und 5 Nebenbanden aus. Die Sorten *Mieze Schindler*, *Senga Sengana* und *Regina* haben die 3 Hauptbanden um den  $R_f = 0,47, 0,56$  und  $0,87$  gemeinsam. Weitere signifikante Banden von *Regina* mit dem  $R_f = 0,76$  und  $0,80$  sind ebenso bei den beiden anderen *Ananassa*-Sorten, jedoch in unterschiedlicher Intensität zu finden. Aufgrund der Abstammung dieser Sorten aus Kreuzungen *virginiana*  $\times$  *chiloensis* sind Gemeinsamkeiten sowohl innerhalb dieser Sorten als auch zu beiden Elternarten zu erklären.

Die untersuchten Erdbeerarten weisen starke Unterschiede im PAGE-Pherogramm auf. Auch die Sortenunterschiede sind beträchtlich, wenngleich hier unter Berücksichtigung von Bandenverschiebungen bzw.-aufspaltungen größere Ähnlichkeiten erkennbar sind.

Die dargestellten Art- und Sortenunterschiede bei Erdbeeren sind grundsätzlich gut reproduzierbar, wie die PAGE-Pherogramme vom Material aus den Jahren 1971 und 1972 zeigen [5].

### b) Zymogramme der PAGE

*Phenolase*. Der mit Dopa durchgeführte Phenolasenachweis ließ 1–7 Isoenzyme erkennen. Dies steht im Gegensatz zu den Befunden von Westphal [7], der keine eindeutige Phenolase-aktivität bei den beiden von ihm untersuchten Erdbeersorten nachweisen konnte, den Versuch allerdings mit Brenzcatechin-Prolin durchführte. Das völlig unterschiedliche Reaktionsverhalten auf die Substrate Dopa bzw. Brenzcatechin-Prolin hatten wir bereits bei den Phenolasen der Maissorten *Goldkost* und *Bravo* beobachtet [5].

Ganz im Gegensatz zu den Traubensorten, die trotz sehr gut erkennbarer Unterschiede in den Proteinpherogrammen recht einheitliche Phenolasebanden zeigten, differieren die Zymogramme der Erdbeerphenolasen erheblich. *F. spec. Himalaya*, *vesca*, *nipponica*, *yezoensis* und *moupinensis* besitzen 3 bzw. 2 aktive Banden, die völlig verschiedene  $R_f$ -Werte haben. *F. moschata* weist zwei Enzymbanden auf, die ebenso bei *nilgerrensis* vertreten sind. *F. nilgerrensis* besitzt jedoch insgesamt 6 Isoenzyme. *F. viridis* und *hagenbachiana* haben die Bande vom  $R_f = 0,25$  gemeinsam.

PHENOLASE (Dopa)

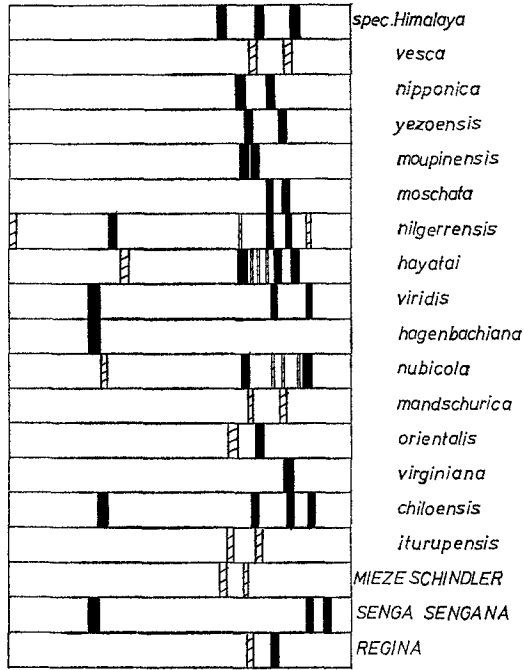


Abb. 2. Phenolase-Zymogramme aus 16 Erdbeerarten und 3 Erdbeersorten. PAGE

PEROXIDASE

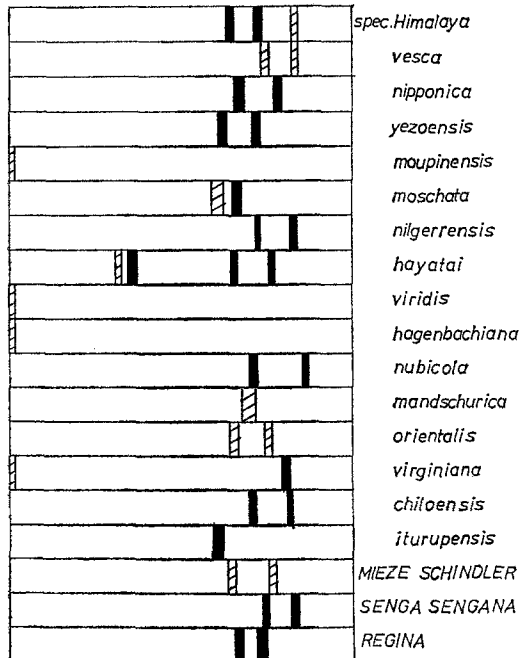


Abb. 3. Peroxidase-Zymogramme aus 16 Erdbeerarten und 3 Erdbeersorten. PAGE

*F. viridis* verfügt über zwei weitere. Eine davon ( $R_f = 0,88$ ) hat wiederum den gleichen  $R_f$ -Wert von *nilgerrensis*, *nubicola*, *chiloensis*, *Senga Sengana*, die jedoch in der übrigen Bandenaufteilung völlig verschieden sind. Selbst die 3 *Ananassa*-Sorten bieten wenig Ähnlichkeit, allenfalls die Bande vom  $R_f = 0,70$  bei *Mieze Schindler* und *Regina*.

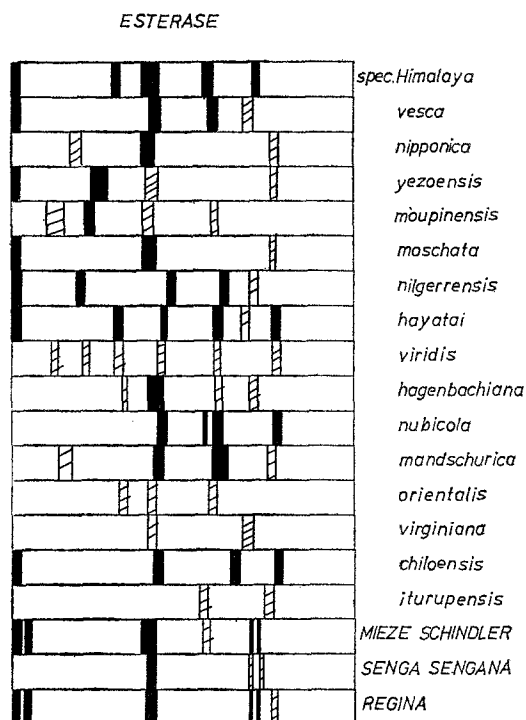


Abb. 4. Esterase-Zymogramme aus 16 Erdbeerarten und 3 Erdbeersorten. PAGE

*Peroxidase.* Der mit o-Tolidin und Wasserstoffperoxid durchgeführte Nachweis ließ 1–4 aktive Enzymbanden erkennen, während Westphal [7], der an Stelle von o-Tolidin p-Phenylendiamin verwandte, keine eindeutige Peroxidase-aktivität beobachten konnte. Daß Peroxidasen sehr unterschiedlich auf verschiedene Substrate reagieren, konnte Schäfer [8] am Beispiel der Peroxidase aus Weintraubenblättern zeigen. Im übrigen ist auf eine gewisse Identität von Banden in den Phenolase- bzw. Peroxidase-Zymogrammen hinzuweisen, was wie schon beschrieben [5], auf überschneidende Substratreaktionen zurückzuführen sein kann.

Die meisten Erdbeerarten weisen 2 Isoenzymbanden auf, die jedoch unterschiedliche  $R_f$ -Werte haben. Besonders bei den *spec. Himalaya*, *vesca*, *nipponica*, *yezoensis*, *nilgerrensis*, *hayatai*, *nubicola*, *mandschurica*, *orientalis*, *virginiana* und *chiloensis* stimmen einige Peroxidasebanden mehr oder weniger in ihren  $R_f$ -Werten mit denen der Phenolase überein.

*Esterase.* Die untersuchten Erdbeeren weisen 2–6 Isoenzymbanden auf. Sie sind fast auf die gesamte Laufstrecke verteilt, sehen sehr unterschiedlich aus, haben jedoch viele  $R_f$ -Werte gemeinsam. Die 3 *Ananassa*-Sorten haben ähnliche Zymogramme und zeigen deutlich Gemeinsamkeiten mit *chiloensis*.

*Malatdehydrogenase.* Die MDH-Zymogramme zeigen ebenso ein recht unterschiedliches Verhalten. Es können 1–6 aktive Banden beobachtet werden. Mit Ausnahme von *orientalis* und *iturupensis*, die zum Sammelgel hin noch über 1 bzw. 2 Banden verfügen, befinden sich die Banden innerhalb der  $R_f$ -Werte 0,35 und 0,68.

Die Zymogramme dürften, wie besonders die Vergleiche mit dem Jahr 1972 (nicht aufgeführt) zeigen, bezüglich der Isoenzymmuster vom Vegetationsverlauf und Reifegrad abhängen, wie auch schon Westphal [7] bei Apfelsorten hinsichtlich des Zeitpunktes der Ernte zeigen konnte.

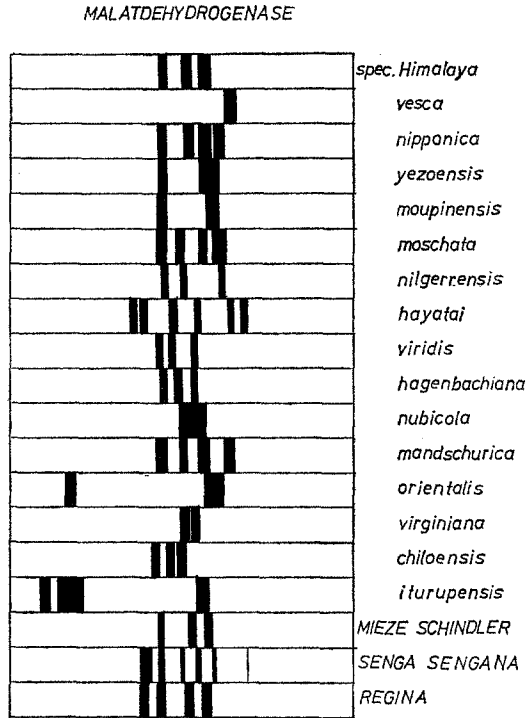


Abb. 5. MDH-Zymogramme aus 16 Erdbeerarten und 3 Erdbeersorten. PAGE

### c) Proteinpherogramme der PAGIEF

Die PAGIEF zeigt im Vergleich zur PAGE ein wesentlich höheres Auflösungsvermögen. Für die vergleichende Untersuchung der Densitogramme der Erdbeerarten und -sorten wurden, wie bereits bei den Weintrauben beschrieben [4], einzelne Peakgruppen mit großen Buchstaben und die Peaks innerhalb einer Gruppe mit Zahlen bezeichnet.

Besonders gute Trennschärfe, Reproduzierbarkeit und sortenabhängige Differenzierung zeigen hier bei den Erdbeeren die Peak-Gruppen C und E. Charakteristisch sind die unterschiedlichen Intensitäten der Banden innerhalb dieser Gruppen. Die Bezeichnung der Banden innerhalb der C- und E-Peak-Gruppen wurden an der Erdbeerart *chiloensis* orientiert. *Chiloensis* zeigt innerhalb der C-Gruppe sehr deutliche Hauptbanden, die mit 1, 2 und 3 bezeichnet wurden. Bei den übrigen Erdbeerdensitogrammen wurden Banden bei Identität mit den gleichen Zahlen versehen, bei geringer Abweichung vom  $R_F$ -Wert mit 1a, 1b usw. bezeichnet. In Abb. 7 und 8 werden exemplarisch 2 Densitogramme mit den zugehörigen Pherogrammen gezeigt. In Tab. 1 sind die im C- und E-Bereich auftretenden, teilweise spezifischen und gut reproduzierbaren Banden als Peakhöhen der Densitogramme tabelliert.

Die 3 *Ananassa*-Sorten weisen die Hauptbanden  $C_1$ ,  $C_3$  und  $E_2$  gemeinsam auf. Bei *Senga Sengana* sind zusätzlich noch  $E_3$  und  $E_4$  signifikante Banden. *F. iturupensis* weist nur  $E_{2a}$ ,  $E_{2b}$  und  $E_4$  als Hauptbanden auf, während im C-Bereich keine dominierenden Banden zu erkennen sind.

## PAGIEF

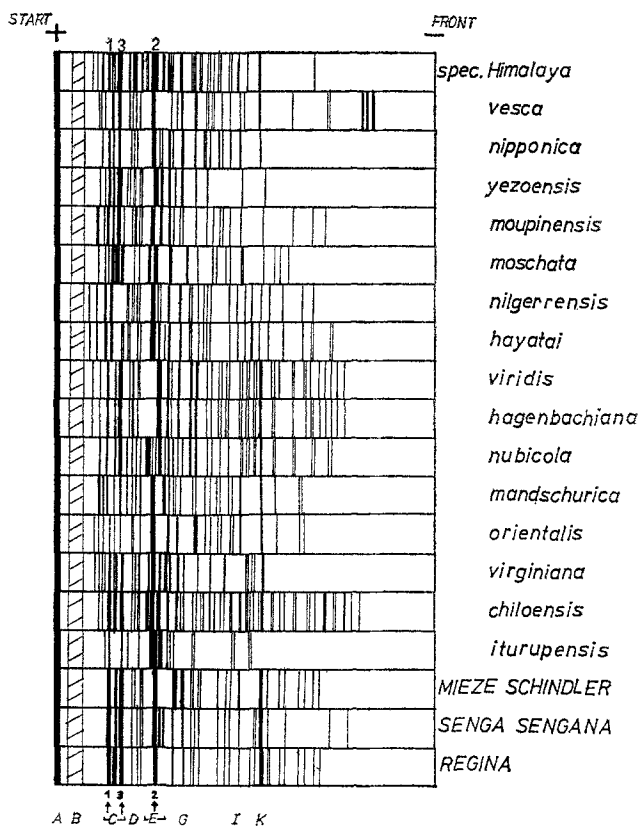


Abb. 6. Isoelektrische Fokussierung in PAA-Gelen von Erdbeerproteinen

Tabelle 1. Peakhöhen der PAGIEF-Proteinbanden

Erdbeer-Arten u. Sorten	B — C	C						E					G — H	
		1	1a	2	2a	3	3a	4	1	2	3	4		5
<i>Spec. Himalaya</i>	13,0	13,7				15,0			14,9		5,0			
<i>nipponica</i>				3,4		13,7			15,0					
<i>vesca</i>				12,4		12,2			15,0		3,2			
<i>yezoensis</i>		10,2		12,3		14,8				14,9	6,5			
<i>moupinensis</i>	13,9		14,1	14,2		14,8			15,0		9,7			
<i>moschata</i>				13,5		14,5/14,5	14,0		11,3		14,4			
<i>nilgerrensis</i>			12,7		13,1					14,3				
<i>hayatai</i>			14,7		13,5				15,0					
<i>viridis</i>		11,5					12,6 14,6					14,9		10,5 10,3
<i>hagenbachiana</i>	7,3	9,4					13,1 15,0					15,0		11,0 6,6
<i>nubicola</i>	13,7		14,4				13,1 11,6	15,0			12,3			6,4 5,2 9,9
<i>mandschurica</i>	11,8	8,3	6,8	8,6		4,9			15,0				14,8	
<i>orientalis</i>			9,2	11,9		9,6			15,0					
<i>virginiana</i>		12,3		13,4		13,0			7,7 14,9			7,2		
<i>chiloensis</i>		14,9		14,6		14,6			14,6 14,8			14,4		
<i>iturupensis</i>		7,0	7,6			5,8	4,6		15,0	15,0	12,7			
<i>Mieze Schindler</i>		12,4		11,5		14,1			15,0					
<i>Senga Sengana</i>		13,9		14,0		14,3			15,0	14,6	13,9			
<i>Regina</i>		11,1		13,7 / 13,7		14,7			15,0				11,5	

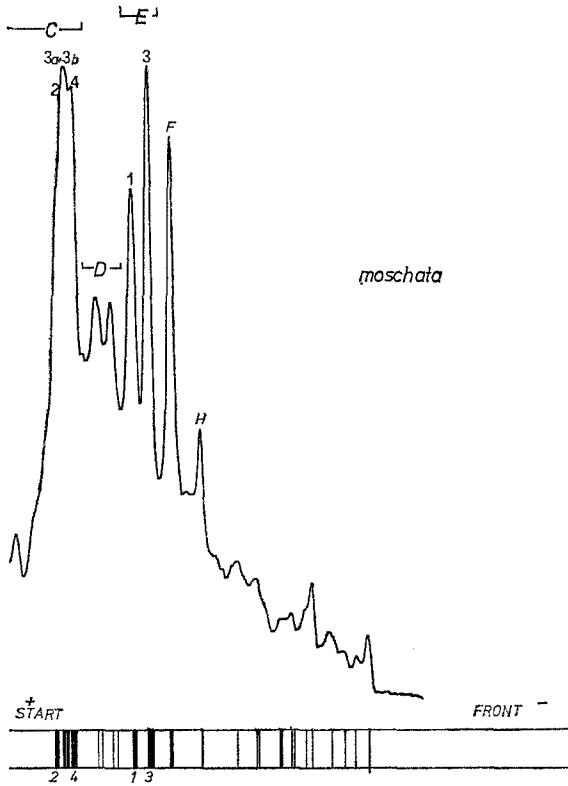


Abb. 7. Densitogramme der isoelektrischen Fokussierung in PAA-Gelen von Proteinen der *Fragaria moschata*.

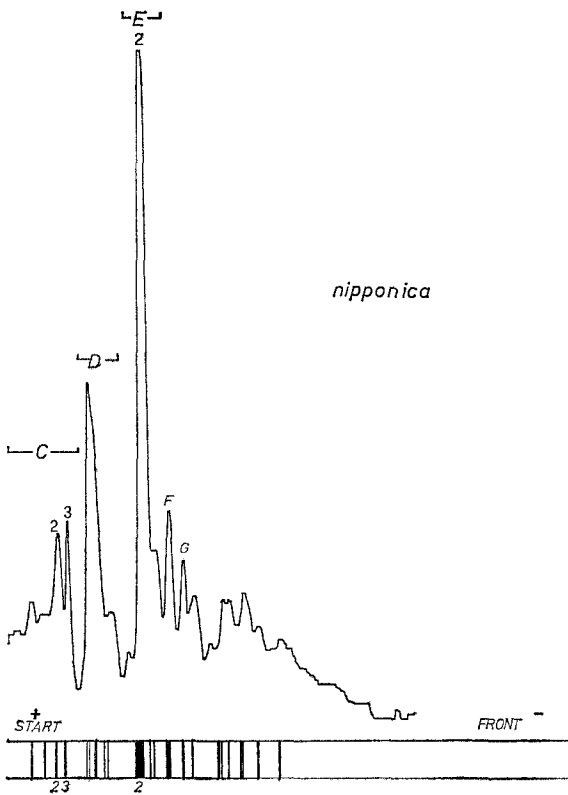


Abb. 8. Densitogramm der isoelektrischen Fokussierung in PAA-Gelen von Proteinen der *Fragaria nipponica*.



*F. hayatai* und *nilgerrensis* haben die Banden  $C_{1a}$ ,  $C_{2a}$  und  $E_2$  gemeinsam; zusätzlich ist bei *hayatai* noch die Bande  $E_4$  stark angefärbt.

*F. viridis* und *hagenbachiana* sind im  $C_1$ ,  $C_{3a}$ ,  $C_4$ ,  $E_4$  und D-Bereich sehr ähnlich mit zusätzlichen Banden kurz nach dem G-Bereich (H-Banden), die bei anderen Erdbeeren nicht auftreten.

*F. nubicola* weist einen ähnlichen C- und H-Bereich bei Verschiedenheit des E-Bereiches auf.

Bei *F. spec. Himalaya* sind die Banden  $C_3$ , D und  $E_2$  dominierend.

Charakteristisch für *moschata* sind mehrere scharfe und dominante C-Banden.

*F. yezoensis* und *moupinensis* haben  $C_3$  und  $E_2$  bzw.  $E_3$  als Hauptbanden.

*Vesca*, *mandschurica* und *orientalis* haben im C-Bereich keine dominierenden Banden, dafür aber neben der gemeinsamen  $E_2$ -Hauptbande weitere Hauptbanden mit stark verschiedenen isoelektrischen Punkten.

Wie bereits bei den Proteinpherogrammen der PAGE angeführt, sind auch die Art- und Sortenunterschiede bei der PAGIEF grundsätzlich gut reproduzierbar. Erdbeeren von Ernten zweier Jahrgänge zeigen nur geringfügige Intensitätsschwankungen einzelner Banden, das Proteilmuster bleibt jedoch in seiner Charakteristik unverändert [5].

## 2. Vergleichende Untersuchungen von Erdbeer-Artkreuzungen

### a) Proteinpherogramme der PAGE

Die Pherogramme der Arten *virginiana* (v) und *chiloensis* (c) (Abb. 9) wurden bereits beim Artenvergleich der Erdbeeren aufgeführt. *F. virginiana* besitzt mit *chiloensis* eine gemeinsame Hauptbande. *Chiloensis* verfügt aber noch über 4 weitere starke und 3 schmalere Hauptbanden. Dieser deutliche und starke Unterschied eines Kreuzungspartners ist gut geeignet, um den Arteinfluß bei mehrfachen Rückkreuzungen zu erkennen. Die Hybriden  $v \times c$  weisen 4 breite und mindestens 2 schmale Hauptbanden auf. Die 4 Hauptbanden mit den  $R_f$ -Werten 0,11, 0,46, 0,55 und 0,62 stimmen mit denen von *chiloensis* überein, während  $R_f$  0,20 und 0,68 weder bei *chiloensis* noch bei *virginiana* zu finden sind. Die Beobachtung, daß bei Hybriden im Vergleich zu ihren Eltern zusätzliche, neue Banden auftreten können, wurde bereits von Desborough u. Peloquin [9] bei Kartoffeln gemacht.

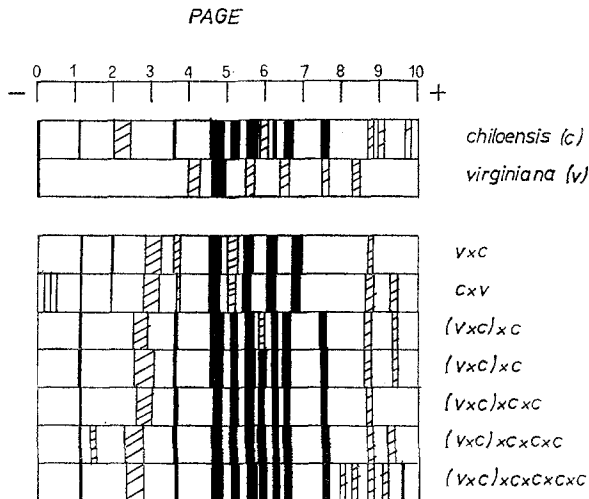


Abb. 9. Disk-Elektrophorese der Proteine aus den Erdbeer-Artkreuzungen *F. chiloensis* (c) und *F. virginiana* (v)

Die Rückkreuzung ( $v \times c$ )  $\times$   $c$  der Hybride mit *chiloensis* liefert ein Proteinphorogramm, das, abgesehen von den Nebenbanden zwischen 0,90 und 0,97 völlig identisch mit *chiloensis* ist. Die bei  $v \times c$  neu aufgetretenen Hauptbanden 0,19 und 0,68 sind verschwunden. Weitere Rückkreuzungen bleiben in den Hauptbanden unverändert, bei ( $v \times c$ )  $\times$   $c \times c \times c \times c \times c$  tritt eine neue Hauptbande  $R_f$  0,95 auf sowie Nebenbanden zwischen 0,8 und 0,9.

#### b) Proteinphorogramme der PAGIEF

Auch hier bringt die PAGIEF gegenüber der PAGE eine wesentlich höhere Auflösung, wobei die Unterschiede zwischen *virginiana* und *chiloensis* teilweise Intensitätsunterschiede sind. In Tab. 2 sind die Werte für die Peakhöhen der Densitogramme vergleichsweise dargestellt.

Tabelle 2. Peakhöhen der PAGIEF-Proteinbanden

Erdbeer-Arten u. Kreuzungen	C			D				
	1	2	3	1	2	3	4	5
<i>chiloensis</i> ( <i>c</i> )	14,9	14,6	14,6	14,6	14,8		14,4	
<i>virginiana</i> ( <i>v</i> )	12,3	13,4	13,0	7,7	14,9		7,2	
$v \times c$	15,0	8,7	5,7	1,7	14,7		0,9	
$c \times v$	15,0	10,4	11,7	5,8	14,6		5,7	
$(v \times c) \times c$	15,0	14,6	14,8	14,6	14,8		14,4	
$(v \times c) \times c \times c$	15,0	12,5	13,4	10,7	14,0		8,6	
$(v \times c) \times c \times c \times c$	15,0	8,3	10,9	4,1	9,9		3,6	
$(v \times c) \times c \times c \times c \times c$	15,0	12,5	11,7	8,6	14,5		7,9	

Die Bande  $E_2$  hat bei *virginiana* und *chiloensis* ungefähr die gleiche Intensität dagegen sind bei *chiloensis* die Banden  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  und vor allem  $E_1$  und  $E_4$  stärker als bei *virginiana* vertreten. Die Hybriden *chiloensis*  $\times$  *virginiana* ( $c \times v$ ) zeigen einen Intensitätsanstieg von  $C_1$ , das dem  $C_1$  von *chiloensis* entspricht,  $E_1$  und  $E_4$  haben jedoch noch die geringe Intensität von *virginiana*. Die Banden  $F_1$  und  $F_2$  von *virginiana* sind bei diesen Hybriden zu einer Bande von F vereinigt. Bei der erstmaligen Rückkreuzung der Hybride  $c \times v$  mit *chiloensis* [ $(c \times v) \times c$ ] haben die C- und E-Banden die Intensität von *chiloensis* erreicht; es ist kein Unterschied mehr zu erkennen.

Bei den weiteren 2-, 3- und 4maligen Rückkreuzungen mit *chiloensis* bleibt die Intensität von  $C_1$  konstant, während die Intensitäten von  $E_1$  und  $E_4$  schwanken und in jedem Falle niedriger als die von *chiloensis* sind.

#### Literatur

1. Drawert, F., Görg, A.: *Chromatographia* 5, 268 (1972)
2. Drawert, F., Görg, A., Bednář, J.: *Z. Naturforsch.* 28 c, 764 (1973)
3. Drawert, F., Müller, W.: *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* 153, 204 (1973)
4. Drawert, F., Görg, A.: *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.*, 154, 328 (1974)
5. Görg, A.: Anwendung der Disk-Elektrophorese und der isoelektrischen Fokussierung in Polyacrylamid-Gelen zur Charakterisierung pflanzlicher Proteine und Enzyme und deren Beeinflussung durch genetische und ökologische Faktoren. Diss. TU München 1973
6. Hart, G. E., Bhatia, C. R.: *Can. J. Genet. Cytol.* 9, 367 (1967)
7. Westphal, N.: Enzymatische und diskelektrophoretische Untersuchungen zur Charakterisierung von Enzymen und Proteinen während Wachstum und Reifung von Früchten. Diss. Universität Karlsruhe 1969
8. Schäfer, H.: *Wein-Wiss.* 25, 277 (1970)
9. Desborough, S., Peloquin, S. J.: *Phytochemistry* 5, 727 (1966)

Professor Dr. F. Drawert und Dr. Angelika Görg  
 Institut für Chemisch-technische Analyse  
 und chemische Lebensmitteltechnologie  
 der TU München  
 D-8050 Freising-Weihenstephan  
 Bundesrepublik Deutschland