



universität
wien

MASTERARBEIT

Titel der Masterarbeit

Protein- und Enzymanalysen anhand von isoelektrischer
Fokussierung zur Sortenidentifizierung von alten Kirscharten

Verfasserin

Barbara Eichwalder, BSc

angestrebter akademischer Grad

Master of Science (MSc)

Wien, 2011

Studienkennzahl lt.

A 066 833

Studienblatt:

Studienrichtung lt.

Masterstudium Ökologie

Studienblatt:

Betreuer:

Ao. Univ-Prof. Dr. Rudolf Maier

Danksagung

Ich danke Herrn Ao. Univ-Prof. Dr. Rudolf Maier für die Erstellung des Themas und die gute Betreuung während der Arbeit. Ganz besonders danke ich ihm für die moralische Unterstützung während meiner Krankheit und für das Einverständnis, die Arbeit nach so langer Unterbrechung abschließen zu dürfen.

Herrn Dr. Alexander Seidel danke ich für die technische Hilfe für das Einscannen der Gele.

Meinen Freundinnen Vera, Renate und Nina, sowie meiner Schwester Elisabeth danke ich für ihre Aufmunterung, und meinem Cousin Stefan und meinen Eltern für ihre Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Material und Methoden.....	2
2.1	Elektrophorese	2
2.1.1	Vergleich zwischen Elektrophorese und anderen Trennmethoden	3
2.1.2	Trennmedien	4
2.1.3	Die wichtigsten elektrophoretischen Methoden	6
2.1.4	Qualitative Auswertung der Protein-Pherogramme	8
2.2	Proteine und ihre Eigenschaften	8
2.2.1	Struktur der Proteine	9
2.2.2	Der native und der denaturierte Zustand der Proteine	9
2.2.3	Ladung der Proteine	10
2.2.4	Molmasse	11
2.2.5	Enzyme	11
2.3	Durchgeführte Untersuchungen	12
2.3.1	Herstellung der Proteinextrakte.....	12
2.3.2	Verwendete Gele	14
2.3.3	Elektrodenlösungen	14
2.3.4	Elektrophorese Lauf-Bedingungen.....	14
2.3.5	Proteinfärbungen	15
2.3.6	Enzymfärbungen	16
2.4	Die Kirsche.....	18
2.4.1	Herkunft der Kirsche	18
2.4.2	Systematik der Kirsche	18
2.4.3	Die Verbreitung der Kirschen	18
2.4.4	Züchtung	19
2.4.5	Die Inhaltsstoffe der Kirsche	23
2.4.6	Standort der untersuchten Kirschen	24
2.4.7	Streuobstbau – Streuobstwiesen	25

2.4.8	Alte Kirscharten - Morphologische Beschreibung	28
3	Ergebnisse	36
3.1	Kassins Frühe und Sulzer Frühkirsche	37
3.2	Große Germersdorfer (K15) und Schneiders Späte Knorpelkirsche (K45a und K45c)	38
3.3	Prinzessinkirsche (K36a und K36b) und späte bunte Knorpelkirsche (K49)	38
3.4	Königliche Amarelle (K24 und K23) und Schattenmorelle (K41)	39
3.5	Die Ostheimer Weichsel (K33), die Eibesthaller Weichsel (K6a) und die Köröser Weichsel (K25)	40
3.6	Die Lokalsorte und eine unbekannte Sorte (K61)	41
3.7	Dunkle Prinzessinkirsche (K38)	42
3.8	Die Vogelkirsche	42
3.9	Die Sorten Schneebergkirsche (K44) und Ähnlich Große Prinzessinkirsche (K56)	43
3.10	Die Sorte Königgrätzer Kirsche (K22) und die Epps Späte (K9)	44
3.11	Die Sorte Josefs Kirsche (K60) und die Sorte Bigarreau Burlat (K1)	45
3.12	Die Sorte Dönissens Gelbe Knorpelkirsche (K4)	45
3.13	Die Sorte Schwarze Knorpelkirsche (K47)	46
3.14	Die Eibesthaller Kirsche (K57)	47
3.15	Die Kritzendorfer Kirsche (K26)	47
3.16	Argentinische Kirsche – handelsübliche, neue Sorte	48
4	Bandenmuster	49
4.1	Verzeichnis der untersuchten Sorten	49
4.2	Proteine in Wasser gelöst	50
4.3	Proteine in Ethanol gelöst	62
4.4	Färbung der Peroxydasen	64
4.5	Färbung der Esterasen	66
5	Diskussion	68
6	Zusammenfassung	78
7	Summary	79
8	Literatur	80

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1- BIGARREAU BURLAT, LOKALSORTE, JOSEFS KIRSCH, VOGELKIRSCH, KÖNIGLICHE AMARELLE	50
ABBILDUNG 2 - BIGARREU BURLAT, KASSINS FRÜHE, SCHNEEBERGMKIRSCH, KÖNIGGRÄTZER KIRSCH, JOSEFS KIRSCH, ÄHNLICH GROßE PRINZESSINKIRSCH, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH, GROßE GERMERSDORFER, SULZER FRÜHKIRSCH, SPÄTE BUNTE KNORPELMKIRSCH.....	51
ABBILDUNG 3 - SULZER FRÜHKIRSCH, KASSINS FRÜHE, SCHWARZE KNORPELMKIRSCH, KÖRÖSER WEICHSEL, EPPS SPÄTE, PRINZESSINKIRSCH, GROßE GERMERSDORFER, EIBESTHALER KIRSCH, SCHNEEBERGMKIRSCH, OSTHEIMER WEICHSEL, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH	52
ABBILDUNG 4 – LOKALSORTE, VOGELKIRSCH, UNBEKANNTE SORTE, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH, KASSINS FRÜHE, EIBESTHALER WEICHSEL, KNORPELMKIRSCH, ÄHNLICH GROßE PRINZESSINKIRSCH, EPPS SPÄTE, SCHNEEBERGMKIRSCH, SULZER FRÜHKIRSCH	53
ABBILDUNG 5 - OSTHEIMER WEICHSEL, DÖNISSENS GELBE KNORPELMKIRSCH, JOSEFS KIRSCH, SPÄTE BUNTE KNORPELMKIRSCH, KÖNIGLICHE AMARELLE, KÖRÖSER WEICHSEL, SCHATTENMORELLE, DUNKLE PRINZESSINKIRSCH, GROßE GERMERSDORFER, SCHWARZE KNORPELMKIRSCH.....	54
ABBILDUNG 6 - EPPS SPÄTE, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH, PRINZESSINKIRSCH, SCHNEEBERGMKIRSCH, SPÄTE BUNTE KNORPELMKIRSCH, BIGARREU BURLAT, SCHWARZE KNORPELMKIRSCH, KÖNIGGRÄTZER KIRSCH, OSTHEIMER WEICHSEL, PRINZESSINKIRSCH, BIGARREU BURLAT, OSTHEIMER WEICHSEL	55
ABBILDUNG 7 - EPPS SPÄTE, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH, KÖNIGGRÄTZER KIRSCH, SCHNEEBERGMKIRSCH, BIGARREU BURLAT, SPÄTE BUNTE KNORPELMKIRSCH, PRINZESSINKIRSCH, OSTHEIMER WEICHSEL	56
ABBILDUNG 8 -EIBESTHALER KIRSCH, KÖNIGLICHE AMARELLE, KÖRÖSER WEICHSEL, EIBESTHALER WEICHSEL, KASSINS FRÜHE, DÖNISSENS GELBE KNORPELMKIRSCH, DUNKLE PRINZESSINKIRSCH, VOGELKIRSCH, UNBEKANNTE SORTE, LOKALSORTE, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH, SCHATTENMORELLE	57
ABBILDUNG 9 -EIBESTHALER WEICHSEL, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH, KASSINS FRÜHE, UNBEKANNTE SORTE, ÄHNLICH GROßE PRINZESSINKIRSCH, VOGELKIRSCH, LOKALSORTE, KÖNIGLICHE AMARELLE, BIGARREU BURLAT, KÖNIGGRÄTZER KIRSCH, OSTHEIMER WEICHSEL.....	58
ABBILDUNG 10 - EPPS SPÄTE, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH, PRINZESSINKIRSCH, GROßE GERMERSDORFER, EIBESTHALER KIRSCH, SCHNEEBERGMKIRSCH, OSTHEIMER WEICHSEL.....	59
ABBILDUNG 11 – ARGENTINISCHE KIRSCHENSORTE.....	60
ABBILDUNG 12 – SCHATTENMORELLE, GROßE GERMERSDORFER, KRITZENDORFER KIRSCH, ARGENTINISCHE KIRSCH, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH, DÖNISSENS GELBE KNORPELMKIRSCH, KASSINS FRÜHE, OSTHEIMER WEICHSEL	61
ABBILDUNG 13 - EIBESTHALER WEICHSEL, ÄHNLICH GROßE PRINZESSINKIRSCH, SULZER FRÜHKIRSCH, KRITZENDORFER KIRSCH. BIGARREU BURLAT, KÖRÖSER WEICHSEL, GROßE GERMERSDORFER, VOGELKIRSCH, DUNKLE PRINZESSINKIRSCH, SCHNEEBERGMKIRSCH, EIBESTHALER KIRSCH, KÖNIGGRÄTZER KIRSCH.....	62
ABBILDUNG 14 - KÖNIGLICHE AMARELLE, LOKALSORTE, KASSINS FRÜHE, SPÄTE BUNTE KNORPELMKIRSCH, DUNKLE PRINZESSINKIRSCH, SCHNEEBERGMKIRSCH, PRINZESSINKIRSCH, EPPS SPÄTE, JOSEFS KIRSCH, SORTE UNBEKANNT, OSTHEIMER WEICHSEL, EIBESTHALER KIRSCH	63
ABBILDUNG 15 – VOGELKIRSCH, KÖRÖSER WEICHSEL, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH, OSTHEIMER WEICHSEL, ÄHNLICH GROßE PRINZESSINKIRSCH, JOSEFS KIRSCH, SULZER FRÜHKIRSCH, PRINZESSINKIRSCH, KÖNIGLICHE AMARELLE, SCHWARZE KNORPELMKIRSCH, BIGARREU BURLAT, SCHNEEBERGMKIRSCH	64
ABBILDUNG 16 - OSTHEIMER WEICHSEL, EPPS SPÄTE, VOGELKIRSCH, ÄHNLICH GROßE PRINZESSINKIRSCH, KASSINS FRÜHE, BIGARREU BURLAT, EIBESTHALER KIRSCH, KÖRÖSER WEICHSEL, PRINZESSINKIRSCH, UNBEKANNTE SORTE, KÖNIGGRÄTZER KIRSCH, KÖNIGLICHE AMARELLE, DUNKLE PRINZESSINKIRSCH, SPÄTE BUNTE KNORPELMKIRSCH, SCHATTENMORELLE, DÖNISSENS GELBE KNORPELMKIRSCH	65
ABBILDUNG 17 - KASSINS FRÜHE, KÖNIGGRÄTZER KIRSCH, SCHNEEBERGMKIRSCH, EIBESTHALER KIRSCH, KÖRÖSER WEICHSEL, VOGELKIRSCH, ÄHNLICH GROßE PRINZESSINKIRSCH, UNBEKANNTE SORTE, EPPS SPÄTE, OSTHEIMER WEICHSEL, PRINZESSINKIRSCH, DUNKLE PRINZESSINKIRSCH, SCHATTENMORELLE, SULZER FRÜHKIRSCH, DÖNISSENS GELBE KNORPELMKIRSCH, KÖNIGLICHE AMARELLE, EIBESTHALER WEICHSEL K6A.....	66
ABBILDUNG 18 – SCHNEEBERG, JOSEFS KIRSCH, KRITZENDORFER KIRSCH, GROßE GERMERSDORFER, LOKALSORTE, SCHNEIDERS SPÄTE KNORPELMKIRSCH, KÖNIGGRÄTZER KIRSCH, KASSINS FRÜHE, KÖNIGLICHE AMARELLE, SCHWARZE KNORPELMKIRSCH, EIBESTHALER WEICHSEL, DÖNISSENS GELBE KNORPELMKIRSCH, DUNKLE PRINZESSINKIRSCH, VOGELKIRSCH, OSTHEIMER WEICHSEL, UNBEKANNTE SORTE, SULZER FRÜHKIRSCH, SCHATTENMORELLE, EIBESTHALER KIRSCH, ÄHNLICH GROßE PRINZESSINKIRSCH.....	67

1 Einleitung

Vom Verein Ökokreis Waldviertel wurde eine Untersuchung von 28 alten in Niederösterreich vorkommenden Kirscharten in Auftrag gegeben. Ziel der Untersuchung war es, diese vielen Sorten mithilfe der isoelektrischen Elektrophorese (IEF) zu bestimmen und voneinander zu unterscheiden. Die Bestimmung der alten Kirscharten ist wichtig für deren Erhalt und damit der Sortenvielfalt. Diese ist gefährdet durch die Zunahme von Kulturen von Industrieobst und dem Wegfall traditioneller Standorte, wie Kirschalleen und Streuobstwiesen. Die Erhaltung der Sortenvielfalt stellt einen hohen Wert an sich dar. Der Erhalt alter Kirscharten ist darüberhinaus wichtig für die Züchtung qualitativ hochwertiger und gegen Krankheiten widerstandsfähiger neuer Sorten.

Untersucht wurden die Proteine und die Enzyme (Esterasen und Peroxidasen) in den Kirschkernen, weil diese mehr Proteine enthalten als das Fruchtfleisch. Außerdem ist die Konzentration und Zusammensetzung der Proteine in den Kernen stabiler, da sich Umwelteinflüsse auf die Kerne im Vergleich zum Fruchtfleisch weniger auswirken.

Schon seit einiger Zeit wird die IEF von Proteinen bei der Sortenbestimmung verwendet, wie z.B. bei der Sortenbestimmung von Soja, Erdnüssen, Getreidearten wie Weizen, Gerste und Mais, Kartoffel, Wein und Tomaten.

Als ein Beispiel dafür: die isoelektrische Fokussierung in Polyacrylamid-Gelen von Proteinen und Enzymen aus Tomaten, Gurken, Zuckermais und Zwiebeln [DRAWERT, 1975].

2 Material und Methoden

2.1 Elektrophorese

Elektrophorese bezeichnet die Wanderung elektrisch geladener Teilchen in einem elektrischen Feld, dabei werden die gelösten Teilchen durch ihre verschiedenen Wechselwirkungen mit dem Trennmedium getrennt.

Die Elektrophorese wird in verschiedensten Bereichen der Forschung und Diagnostik verwendet. Damit können Peptide, Proteine, Nukleinsäuren, Viren, Chromosomen, Zellmembranen, Zellorganellen und Zellen untersucht werden [MICHOV, 1995].

Die elektrophoretische Trennung passiert in einem elektrophoretischen System, das aus einem Trennmedium und einem Stromversorger besteht. Das Trennmedium beinhaltet einen Puffer und einen Träger (Gel). Es wird in eine elektrophoretische Kammer eingelegt, wo die Enden Kontakt mit der Kathode und der Anode des Stromkreises haben. Die Elektroden werden direkt auf das Gel gelegt. Anschließend wird die Probe auf das Gel aufgetragen.

Die Proteine sind Aminosäurereste. Die Aminosäurereste haben basische und saure Gruppen, deswegen verhalten sich die Proteine in einer Lösung amphoter. In sauren Lösungen liegen Polykationen, in alkalischen Lösungen liegen Polyanionen vor.

Bei einem bestimmten pH-Wert wird die Zahl der positiven und negativen Ladungen des Proteins gleich. Dann ist die Gesamtladung null. An diesem pH-Wert hört das Protein-Polyion auf im elektrischen Feld zu wandern, es bleibt stehen. Dieser pH-Wert wird als pI-Wert bezeichnet [MICHOV, 1995].

Die elektrophoretische Geschwindigkeit eines Proteins ist direkt proportional zu der Stärke des elektrischen Feldes und zur Mobilität des Proteins.

Je viskoser das Trennmedium ist, desto langsamer bewegt sich das Protein. Die Viskosität hängt von seiner Struktur und der Temperatur ab.

Der pH-Wert des Puffers bestimmt die Größe der elektrischen Ladung. Die Stärke des Stroms wird durch die Bewegung der Ionen bestimmt.

Die Elektrophorese wird in Puffern durchgeführt, die über eine Pufferkapazität verfügen. Die Puffer-Ionen wandern wie die Proteine während der Elektrophorese.

Mit dem Trennvermögen wird die Fähigkeit bezeichnet, zwei Probenkomponenten voneinander zu trennen. Eine hohe Trennschärfe ist dann gegeben, wenn die Banden sehr dünn sind.

Die Trennschärfe und das Trennvermögen hängen von mehreren Faktoren ab. Dazu gehören die Eigenschaften des Trennmediums, die Eigenschaften der zu untersuchenden Proben und andere Faktoren, wie z.B. die Temperatur. Die optimale Temperatur liegt bei 10-15 Grad, eine höhere Temperatur führt zu einer höheren Diffusion, die der Auflösung schadet.

Das nach einer Färbung entstandene Muster von z.B. Proteinbanden wird als Pherogramm bezeichnet [MICHOV, 1995].

2.1.1 Vergleich zwischen Elektrophorese und anderen Trennmethoden

Kaum eine andere analytische Methode erzielt gleich gute Ergebnisse wie die Elektrophorese, wenn es um die Trennung von Proteingemischen geht.

Eine konkurrierende Methode ist die Dünnschicht-Chromatographie, HPLC, high performance liquid chromatography, und FPLC, fast protein liquid chromatography. Letztere ist für die Proteinanalytik besonders geeignet.

2.1.1.1 Vorteile der Elektrophorese gegenüber der Chromatographie

Bei der Elektrophorese ist es möglich eine größere Zahl von Proben (20 bis 50) in einem einzigen elektrischen Lauf zu trennen, wodurch die Analysezeiten verkürzt werden.

Fokussierende Techniken bei der Elektrophorese ermöglichen eine drastische Erhöhung des Auflösungsvermögens. Chromatographische Methoden sind meist nichtfokussierende Techniken.

Enzymaktivitäten können im Anschluss an elektrophoretische Trennungen hochempfindlich nachgewiesen werden. Um die Proteine sichtbar zu machen, braucht man keine teuren Detektoren wie in der Chromatographie [KLEINERT, 1990].

2.1.2 Trennmedien

Die Elektrophorese von Polyionen kann in flüssigen und in festen Trennmedien stattfinden.

1) Trägerfreie Trennmedien

Darunter versteht man eine Pufferlösung mit einem bestimmten pH-Wert, sodass darin eine Elektrophorese stattfinden kann. Das sind Pufferlösungen, die oft Glycerin, D- Sorbitol, Saccharose, oder andere Chemikalien enthalten [MICHOV, 1995].

Trägerfreie Medien haben keine restriktive Wirkung auf die Wanderung von Ladungsträgern. Das ist von Vorteil, wenn größere Partikel, wie Zellen, Bakterien und Viren getrennt werden sollen. Trägerfreie Medien kommen bei der Kapillarelektrophorese und der Free-Flow Elektrophorese vor [KLEINERT, 1990].

2) Trägerstabilisierte Trennmedien

Durch die trägerstabilisierten Trennmedien, das sind Pufferlösungen, die von räumlichen, meist gelartigen Strukturen durchzogen sind, werden Diffusion und konvektive Bewegungen gemindert. Zur Herstellung solcher Strukturen eignen sich Stoffe wie Papier, Glaspulver, Stärke, Celluloseacetat, Agarose und Polyacrylamid. [Kleinert, 1990].

2.1.2.1 Verschiedene Gele

Es gibt Stärke-, Agarose- und Polyacrylamidgele. Der Vorteil der Polyacrylamidgele gegenüber anderen Gelen ist, dass sich die Porenstruktur einstellen lässt.

1) Agarosegele

Agarose wird aus Agar gewonnen, es ist eine der beiden Hauptkomponenten des Agar, das wiederum aus Meeresalgen gewonnen wird. Agarose ist ein Polysaccharid und unterscheidet sich vom Agar durch ihren geringeren Gehalt an ionisierbaren funktionellen Gruppen. Agarosegele sind mechanisch stabiler als Agargele.

Agarosegele besitzen sehr große Porenweiten (72-78). Daher sind sie auch für die Elektrophorese von größeren Molekülen (Nucleinsäuremoleküle, Viren und Proteinmolekülen mit sehr hohen Molmassen) besonders gut geeignet.

Ein Nachteil ist, dass die Auflösung oft schlechter ist, als mit den Polyacrylamidgelen, der Vorteil hingegen ist der angenehme Umgang mit Agarosegelen. Sie sind ungiftig und chemisch sehr stabil [Kleinert, 1990].

Agarose-Fertiggele Kits werden am häufigsten für die klinische Diagnostik verwendet. Sie werden für spezielle Probleme, wie zur Trennung von Hämoglobinen und von den Isoenzymen, wie der Kreatin-Kinase, der Lactat-Dehydrogenase und der alkalischen Phosphatase benutzt [MICHOV, 1995].

2) Stärkegele

Sie wurden von Smithies 1955 eingeführt. Dabei wurde zum ersten Mal der Siebeffekt beobachtet. Das Stärkegel ist ein enzymfreundliches Trennmedium, weil es ein Naturprodukt ist. Es wird deshalb immer noch für die Zonenelektrophorese von multiplen Enzymen in der Populations- und Humangenetik verwendet. Ansonsten ist das Stärkegel wegen seiner mangelnden Reproduzierbarkeit aufgrund großer Variationen heute nicht mehr in Verwendung [MICHOV, 1995].

3) Polyacrylamidgele

Polyacrylamid ist heute der beste elektrophoretische Träger. Zwei Vorteile sind besonders zu erwähnen.

1. Polyacrylamid hat keine Wechselwirkung mit den zu trennenden Polyionen, da es keine chemischen Ladungen trägt, die Elektroosmose verursachen könnten, weil es chemisch inert ist.
2. Es kann einen Siebeffekt ausüben, wodurch eine zusätzliche Trennung nach Massen möglich gemacht wird.

Das Polyacrylamidgel, erstmals 1959 von Raymond und Weintraub für die Elektrophorese eingesetzt, stellt ein Copolymer zwischen dem Monomer Acrylamid und dem Conomoner N,N'-Methylen-bis-acrylamid (BIS, Bisacrylamid, N,N'-Methylen-bisacrylamid) dar.

Das stark neurotoxische Acrylamid kristallisiert in weißen Kristallen, die in Methanol, Wasser, Glycerin, Aceton, Trichlormethan und anderen Lösungsmitteln löslich sind. In polymerisiertem Zustand ist das Gel nicht giftig, falls keine Reste von Acrylamid enthalten sind.

Der Vernetzer BIS wird am häufigsten verwendet, andere Vernetzer haben mehr Nachteile.

Die Copolymerisation des Acrylamids erfolgt in zwei Etappen: zuerst verbinden sich die Vinylgruppen der Acrylamids in Polymerketten, dann werden sie von BIS vernetzt. So entsteht die räumliche Struktur des Polyacrylamidgels, die an die Struktur eines Schwammes erinnert.

Polyamidgele mit hoher Konzentration sind restriktive Gele. Dabei trennen sich die Ionen abhängig von ihren elektrischen Ladungen und zusätzlich abhängig von ihren Massen. (Hingegen sind Polyamidgele niedriger Konzentration, sowie Agarosegele nichtrestriktiv, d.h. dabei trennen sich die Ionen nur abhängig von ihren Ladungen [MICHOV, 1995].

2.1.2.2 Papier und Dünnschichten

Papier und Dünnschichten aus Silikagel, Aluminiumoxid, Cellulosepulver auf Kunststoff- oder Glasplatten sind heute völlig von Agarose- und Polyacrylamidgelen ersetzt worden. Horizontale Kieselgel-Dünnschichtplatten werden heute noch für die Analyse von hochmolekularen Polysacchariden und Lipopolysacchariden verwendet [MICHOV, 1995].

2.1.3 Die wichtigsten elektrophoretischen Methoden

2.1.3.1 Vertikal und Horizontalelektrophorese

Abhängig von der Gelposition kann man zwischen Vertikal- und Horizontalelektrophorese unterscheiden. Die Horizontalelektrophorese hat zahlreiche Vorteile gegenüber der Vertikalelektrophorese, wie einfachere Handhabung, mögliche Auswahl der Auftragsstelle (wichtig bei der isoelektrischen Fokussierung).

Die wichtigste Charakteristik der verschiedenen elektrophoretischen Methoden sind die verwendeten Puffer. Abhängig davon können alle Verfahren nach einer der folgenden Methoden gegliedert werden: der Zonenelektrophorese, Isotachophorese und der isoelektrischen Fokussierung. Daneben gibt es auch noch Kombinationen zwischen den erwähnten Hauptmethoden.

2.1.3.2 Zonenelektrophorese

Die Zonenelektrophorese wird in nur einem Puffer durchgeführt, was bedeutet, dass das elektrische Feld eine konstante Stärke hat. Kontinuierlich bleibt auch der pH-Wert des Puffers während der Elektrophorese.

Beispiele dafür sind unter anderem die Agarose Zonenelektrophorese, die zur Trennung von Proteinen und Nukleinsäuren eingesetzt wird, oder die Polyacrylamidgel-Zonenelektrophorese, die heute überwiegend zur Bestimmung von Nukleinsäuren verwendet wird.

2.1.3.3 Isostachophorese

Die Isostachophorese erfolgt in einem Puffersystem aus zwei oder mehreren Puffern. Wandernde Ionengrenzen bilden sich zwischen den Puffern, an denen sich die Ionen konzentrieren. Im Gegensatz zur Zonenelektrophorese verteilt sich die Stärke des elektrischen Feldes ungleich (diskontinuierlich) und der pH-Wert verändert sich während des Elektrophoresevorgangs.

2.1.3.4 Kapillar-Elektrophorese

Sie wird auch als high performance capillary electrophoresis bezeichnet. Es ist eine hochauflösende Methode. Innerhalb der Kapillar-Elektrophorese gibt es die Isotachophorese, die Kapillar-Zonenelektrophorese und die Kapillar-Isoelektrische Fokussierung.

2.1.3.5 Isoelektrische Fokussierung

Diese Methode wurde in der vorliegenden Arbeit verwendet.

Die isoelektrische Fokussierung verläuft in einem pH-Gradienten, der künstlich gebildet wird. Die pH-Gradienten können aus mobilen, freien Zwitterionen-Ampholyten oder immobilen Ampholyten bestehen. Dabei werden die geladenen Proteine nach ihren isoelektrischen Punkten getrennt.

Die isoelektrische Fokussierung wird zur Trennung von amphoteren Substanzen mit unterschiedlichen isoelektrischen Punkten, zB von Proteinen bzw. Enzymen, Oligo- und Polypeptiden verwendet. Im Laufe der isoelektrischen Fokussierung verlieren die amphoteren Substanzen ihre effektiven Gesamtladungen im pH-Gradienten, sie werden dadurch langsamer und konzentrieren sich (fokussieren) an ihren isoelektrischen Punkten [MICHOV, 1995].

2.1.4 Qualitative Auswertung der Protein-Pherogramme

Die meisten Proteine sind farblos und müssen daher nach der Elektrophorese gefärbt werden. Die Färbung umfasst drei Schritte: Fixieren, Färben und Entfärben der Gele.

2.1.4.1 Fixieren

Beim Fixieren entsteht eine Proteinfällung durch Denaturierung, oder es entstehen chemische Verbindungen zwischen den einzelnen Proteinmolekülen. Dafür kann eine Mischung aus Essigsäure, Wasser und Alkohol, Trichloressigsäure, Sulphosalycylsäure oder Glutardialdehyd verwendet werden. Für die vorliegende Untersuchung der Kirschen wurde Trichloressigsäure verwendet.

Der Alkohol Ethanol dehydriert die Proteine und die Essigsäure senkt den pH-Wert der Lösung. Dadurch wird die Hydratationshülle der Proteine beschädigt und so befinden sich die meisten Proteine nahe an den pI-Punkten. Als Folge sind sie schlechter löslich und sie präzipitieren.

Fällung durch Trichloressigsäure und Sulfosalycylsäure:

Bei Verwendung von TCA fallen alle Proteine mit relativen Molekülmassen über 5000 aus. Noch stärker wirkt die Mischung aus TCA und Sulfosalycylsäure in Methanol [MICHOV, 1995].

2.1.4.2 Färben

Beim Färben lagern sich bestimmte Farbstoffe an den Proteinen an. Am häufigsten werden die Farbstoffe der Coomassie-Gruppe und Silber verwendet.

Zur Coomassie-Gruppe gehören vor allem Coomassie-Brillantblau R 250 und G 250 und Coomassie-Violett R 200. Es handelt sich dabei um Triphenylmethanfarbstoffe. Diese Farbstoffe wurden zuerst zur Färbung von Wolle und Seide verwendet. Seit den 60er Jahren wurden sie zum Färben von getrennten Proteinbanden bei der Elektrophorese eingesetzt [MICHOV, 1995].

2.2 Proteine und ihre Eigenschaften

Am häufigsten werden Proteine und Nukleinsäuren mit der Elektrophorese untersucht.

Proteine bilden das Gerüst jeder Zelle, jedes Organismus, und katalysieren als Enzyme alle biochemischen Reaktionen. Sie erfüllen lebenswichtige Transportfunktionen, oder regulieren als Hormone biochemische Reaktionen.

Eine typische Reaktion der Aminosäuren ist die Ausbildung von Peptidbindungen. Proteine sind hochmolekulare Verbindungen, die aus sehr vielen durch Peptidbindungen miteinander verknüpften Aminosäuren bestehen. Sie lösen sich in Wasser, in wässrigen Lösungen von Detergenzien, in verdünnten Elektrolytlösungen und in Harnstoff, oder in bestimmten Fällen nur in einem dieser Medien [MICHOV, 1995].

2.2.1 Struktur der Proteine

Die Proteine sind entweder nur aus Aminosäureresten aufgebaut oder es kommen noch andere Bestandteile dazu.

Die Aufeinanderfolge der Aminosäuren in der Polypeptidkette nennt man Primärstruktur.

Bei der Sekundärstruktur formieren sich die langkettigen Proteinmoleküle zu räumlichen Gebilden, sogenannten alpha Helices oder Faltblattstrukturen.

Helix- und Faltblattstrukturen wechseln sich im Proteinmolekül ab und bilden wiederum typische räumliche Anordnungen, die Tertiärstruktur. Man unterscheidet zwischen fibrillären Proteinen mit faserartiger Struktur und globulären Proteinen mit kugelförmiger Struktur. Nur die globulären Proteine haben eine Tertiärstruktur. Die fibrillären Proteine, sie werden auch Skleroproteine genannt, sind wasserunlösliche Proteine mit langen Molekülen, z.B. die Kollagene und Keratine.

Die globulären Proteine, wie die Albumine und Globuline, sind wasserlösliche Proteine mit ovalförmigen Molekülen.

Letztendlich fügen sich diese Gebilde durch zwischenmolekulare Wechselwirkungen zusammen, und werden so zu Untereinheiten eines größeren Moleküls. Unter der Quartärstruktur versteht man die gegenseitige Anordnung der Untereinheiten (mehrerer Proteinmoleküle) zu einem großen Molekül. Ihre räumliche Anordnung wird durch Disulfid-, Wasserstoff- und Ionenbindungen zusammengehalten [MICHOV, 1995].

2.2.2 Der native und der denaturierte Zustand der Proteine

Die biologische Aktivität der Proteine wird sehr von der Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur bestimmt. Unter biologischer Aktivität versteht man u.a. Enzymwirkungen, Antigen-Antikörper-Reaktion, Fähigkeit zum Sauerstofftransport. In dem nativen Zustand ist ein Protein biologisch aktiv.

Durch äußere Einflüsse kann die Struktur der Proteine geändert werden. Dies geht meist mit dem Verlust der biologischen Aktivität einher. Das Protein geht von dem nativen in den denaturierten Zustand über.

Eine Denaturierung kann durch folgende Medieneinflüsse hervorgerufen werden:

- Medien mit niedrigem pH- Wert (Säuredenaturierung)
- Temperaturerhöhung (Hitzedenaturierung)
- Zusatz von Harnstoff in konzentrierter Form
- Wasserentzug durch organische Lösungsmittel
- Strahlung (UV-, Röntgen- und β -Strahlen)

Die Molmasse, die Ladung, und der isoelektrische Punkt bestimmen die elektrophoretische Mobilität der Proteinmoleküle. Die Proteinstruktur der Proteine sowohl im nativen als auch im denaturierten Zustand ist eng mit diesen Parametern verknüpft [MICHOV, 1995].

2.2.3 Ladung der Proteine

Proteine sind Polyelektrolyte (Polyionen). Ihre Moleküle tragen positive und negative Ladungen. Diese kommen von den ionisierbaren funktionellen Gruppen der Aminosäuren, aus denen die Proteinmoleküle aufgebaut sind. Die Nettoladung, das ist die Summe aller Ladungen eines Proteins, hat entscheidenden Einfluss auf dessen elektrophoretische Mobilität.

Die Nettoladung entsteht durch:

- die Zahl der ionisierbaren, funktionellen Gruppen und von deren Dissoziationskonstanten
- die Proteinstruktur. Dabei ist wichtig, ob sich die ionisierbaren Gruppen im Inneren der Struktur befinden oder ob es sich um Oberflächenladungen handelt
- den pH- Wert des Mediums

Die Nettoladung eines Proteins kann positiv oder negativ sein. Mit steigendem pH-Wert des Mediums dissoziieren die funktionellen Gruppen immer stärker. Im basischen, bei pH=10, sind praktisch alle Proteine negativ geladen, im Sauren, bei pH=3, hingegen positiv [MICHOV, 1995].

2.2.4 Molmasse

Die Zahl der Aminosäuren eines Proteins bestimmt dessen Molmasse. Proteine kommen mit sehr verschiedenen Molmassen vor. Es gibt Proteine mit weniger als 10 kD bis hin zu welchen mit mehreren 100 kD. Das entspricht einer Zahl von 100 bis zu mehreren 1000 Aminosäuren im Proteinmolekül. Die großen Molmassendifferenzen einzelner Proteine werden für analytische Zwecke genutzt. Die SDS-Elektrophorese ist eine Methode, bei der Proteine ausschließlich nach Molmassen getrennt werden. Bei anderen Elektrophoresemethoden ist die Molmasse mehr oder weniger wichtig [KLEINERT, 1990].

2.2.5 Enzyme

Enzyme gehören zu einer wichtigen Gruppe von Proteinen. Sie sind biochemische Katalysatoren, die einen besonders komplizierten Aufbau haben. Ein Katalysator ist ein Stoff, der die Geschwindigkeit einer Reaktion erhöht, ohne dabei selbst verbraucht, oder dauerhaft umgewandelt zu werden. Eine lebende Zelle enthält mehr als tausend Enzyme. Diese große Zahl an Enzymen ergibt sich, weil ihre Aktivität sehr spezifisch ist [MORTIMER, 1996].

Viele Enzyme bestehen aus einem Eiweißanteil, dem Apoenzym, und einer festgebundenen prosthetischen Gruppe, deren chemischer Aufbau bei den einzelnen Enzymen sehr verschieden ist. Heute werden die Enzyme nach ihrer Funktion zusammengefasst und entsprechend bezeichnet.

Die Esterasen gehören zu der Gruppe der Hydrolasen und spalten Ester hydrolytisch in einen Alkohol und eine Säure auf (Verseifung).

Peroxidasen sind Enzyme, die die Reduktion von Peroxiden (oft Wasserstoffperoxiden) katalysieren. Die Reaktion bewirkt hauptsächlich die Zerstörung, das ist die Entfernung der giftigen Peroxide. Die Peroxide gehören zur größeren Gruppe der Oxidoreduktasen, die an Reduktions- bzw. Oxidationsprozessen beteiligt sind [NULTSCH, 1996].

2.3 Durchgeführte Untersuchungen

2.3.1 Herstellung der Proteinextrakte

Die Kirschen wurden eingefroren. Es wurden pro Sorte nur ca. 5 Kirschen vom Ökokreis Waldviertel zur Verfügung gestellt.

Vor der Analyse wurde das Fruchtfleisch entfernt und die Kerne mit dem Hammer aufgeschlagen. Die anschließend gewogenen Kerne wurden in einer Reibschale mit Hilfe von geglühtem Quarzsand zerkleinert und mit einer bestimmten Menge Extraktionspuffer (siehe Kapitel 2.3.1.2 Extraktionspuffer) versetzt. Für einen 0,1 g schweren Kern wurde 800 µl Extraktionspuffer verwendet. Diese, durch langes Zerstampfen möglichst homogene Lösung (Brei), wurde in beschriftete Zentrifugenbecher gefüllt und für 90 min bei 4° C in den Kühlschrank gestellt. Während dieser Zeit wurden die Lösungen öfters gut durchmischt.

Die Kerne enthalten viel Fett, das sich negativ auf die Elektrophorese auswirkt, sodass es sehr wichtig ist, eine möglichst reine Lösung zu bekommen, ohne Fett und Partikel.

Daher wurde das Proteinextrakt zweimal je 7 min zentrifugiert. Mit einer Pipette wurde die klare Flüssigkeit, die sich unter der Fettschicht befand, aufgesaugt, in neue Zentrifugenbecher umgefüllt und isoelektrisch untersucht, oder für spätere Untersuchungen tiefgefroren.

Das tiefgefrorene Proteinextrakt wurde nach dem Auftauen nochmals 3min zentrifugiert, bevor es auf das Gel aufgetragen wurde.

2.3.1.1 Analyse des Fruchtfleisches

Zu Beginn der Untersuchungen wurde auch das Fruchtfleisch extrahiert und eine elektrophoretische Analyse damit gemacht. Die Banden waren aber wesentlich schwächer und die Anzahl der Banden geringer. Das erklärt sich dadurch, dass das Fruchtfleisch der Kirschen viel Zucker und Aromastoffe, aber viel weniger Proteine enthält, als die Kerne. Die Kerne sind proteinreicher, vor allem durch Speicherproteine in den Kotelydonen.

2.3.1.2 Extraktionspuffer

Für die Proteinextraktion wurde ein Tris-HCl Puffer mit dem pH-Wert von 8,2 verwendet, dem noch 0,001 mol EDTA zugeführt wurde [GOEBEL, 1996, modifiziert nach JACOBI, 1974].

Zusammensetzung des Protein-Extraktionspuffers	für 250 ml:
0,03 M Tris-hydroxymethyl-aminomethan	0,9086 g
0,005 M Mg- Acetat	0,2681 g
0,05 M KCl	0,932 g
0,005 M Mercapto-Ethanol	100 µl
0,5% TWEEN 20	0,5 ml
0,1% Polyvinylpyrrolidon	0,25 g
0,001 M EDTA	0,073 g

KCl dient zur Erhöhung der Ionenstärke.

Mercapto -Ethanol verhindert die Bildung von Disulfidbrücken.

TWEEN 20 ist ein Detergens.

Polyvinylpyrrolidon ist ein Schutz gegen Oxidationsmittel.

EDTA bildet Chelate mit eventuell vorhandenen freien Schwermetallen.

Der pH- Wert wurde mit HCl auf pH 8,2 eingestellt (WTW digital pH-Meter pH 525 mit Beckmann Futura™ Elektrode).

Die oben aufgeführten Chemikalien wurden bis zu 250 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Später, im Laufe der Arbeit, wurden die Proteine in einem Ethanol-Extraktionspuffer gelöst. Die Chemikalien der Pufferlösung wurden mit Ethanol aufgefüllt (250 ml), weil die Proteine in Wasser und in Ethanol verschieden löslich sind. Die so vorbereitete Proteinlösung wurde direkt der Gelanalyse zugeführt, oder sie wurde für spätere Untersuchungen tiefgefroren.

2.3.2 Verwendete Gele

Es wurden Ampholine PAGplates, 1 mm dicke Polyacrylamidgele mit dem weiten pH-Bereich von 3,5 bis 9,5 verwendet. Die Gele hatten die Größe 110/245 mm, die für die Analyse in der Breite halbiert wurden. Es wurden bis zu 25 Proben auf einem Gel aufgetragen.

2.3.3 Elektrodenlösungen

2.3.3.1 Anoden-Lösung

1 mol/l H_3PO_4

34 ml konz. H_3PO_4 bis zu 500 ml mit Aqua dest. auffüllen.

Aufbewahrung: Die Lösung soll in einer dunklen Flasche bei 20° bis 30° C aufbewahrt werden. Sie ist bis zu 6 Monate haltbar.

2.3.3.2 Kathoden-Lösung

1 mol/l NaOH

4 g NaOH bis zu 100 ml mit Aqua dest. auffüllen.

Aufbewahrung: 1 Woche bei 20° bis 30° C.

2.3.4 Elektrophorese Lauf-Bedingungen

Spannung: 1500 Volt

Stromstärke: 25 ma

Leistung: 30 Watt

Zeitdauer: 1,5 h

2.3.5 Proteinfärbungen

2.3.5.1 Färbung der Gele mit Fixierlösung

Die Gele wurden zuerst mind. 5 min in ein Fixierbad gelegt, dann wurden sie in der Entfärbelösung für 5 min gewaschen. Danach kamen sie 45 min. in die Färbelösung. Entfärbt wurden sie über Nacht. Die Entfärbelösung wurde nach kurzer Zeit mit einer frischen Entfärbelösung gewechselt, um eine bessere Entfärbung zu erzielen.

Fixierlösung:

175 ml Methanol
65 g Trichloressigsäure TCA
17,5 g Sulphosalicylsäure
auf 500 ml mit Aqua dest. auffüllen.

Färbelösung:

1,5 g Coomassie R 250
105 ml Ethanol
30 ml Eisessig
auf 300 ml mit Aqua dest. auffüllen.

Entfärbelösung:

175 ml Ethanol
50 ml Eisessig
auf 500 ml mit Aqua dest. auffüllen.

2.3.5.2 Färbung ohne Fixierlösung:

Zu Beginn der Arbeiten wurde auch die im Folgenden dargestellte Färbemethode ohne Fixierlösung verwendet. Jedoch waren die Ergebnisse nicht zufriedenstellend. Die Banden am Gel mit der Fixierlösung zum Fixieren der Proteine wurden besser.

Färbelösung:

0,33 g Coomassie R
50 ml Methanol
50 ml Aqua dest.
30 ml Eisessig

Entfärbelösung:

50 ml Methanol

50 ml Aqua dest.

30 ml Eisessig

2.3.5.3 Farbstoffe

Es wurden auch der Farbstoff Serva W Tabletten verwendet und Coomassie G. Am besten wurden die Untersuchungen aber mit Coomassie R 250. Dieser Farbstoff wurde dann ausschließlich weiter verwendet.

Es ist wichtig, die Färbelösung durch sehr langes Rühren am Magnetrührer möglichst homogen zu machen. Der Farbstoff soll sich gut auflösen. Anschließend ist es ebenfalls sehr wichtig die Lösung zu filtrieren. Mit diesen Maßnahmen wird verhindert, dass Farbstoff in Form von kleinen Punkten auf dem Gel haftet und so das Bandenmuster stört.

Die Färbelösung wurde nicht öfter als drei Mal verwendet, da sie bei mehrmaligem Gebrauch keine schönen Färbungen der Gele zeigte.

2.3.6 Enzymfärbungen**2.3.6.1 Esterasen**

Nach der Elektrophorese wurde das Gel 30 min in Leitungswasser gewaschen. Dann wurde es 20 bis 30 min. bei 37° im Dunkeln inkubiert.

Färbelösung:

100 ml Tris-HCl Puffer

40 mg α -Naphthylacetat in 1 ml Aceton lösen.

70 mg Fast Blue BB-Salt (Echtblausalz) in 1 ml Tween lösen.

100 mg $MnCl_2$

Nach Entwicklung wurde das Gel wiederum 30 min in Leitungswasser gewaschen.

Konservierung

Methanol: Eisessig: H_2O = 5:1:5

2.3.6.2 Peroxidasen

Das Gel wurde 20 min mit Leitungswasser gewaschen. Dann wurde es 30-40 min im Dunkeln bei Zimmertemperatur inkubiert.

Färbelösung:

a. 45 ml 0.2 M Na-acetat mit 0,005 M $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (= eine große Spatelspitze)
0.2 M Na-acetat = 2,72 g in 100 ml H_2O

b. 5 ml 0,2 % H_2O_2

0,2 % H_2O_2 = 0,67 ml auf 100 ml H_2O_2

c. 10 ml Guajakol-Benzidinlösung

für 50 ml: 150 mg Benzidin

300 mg Guajakol, gelöst in 50 ml 10 % Essigsäure

Die drei Ansätze a, b und c wurden erst kurz vor Gebrauch zusammengemischt.

Nach der Entwicklung im Dunkeln bei Zimmertemperatur wurde das Gel 30 min in Leitungswasser gewaschen.

Für die Konservierung wurde das Gel in folgende Lösung gelegt.

Methanol : Eisessig : H_2O = 5:1:5

Peroxidasen katalysieren die Oxidation von Benzidin zu Diphenochinon-diimin, das zu blau gefärbten Verbindungen führt. Als Wasserstoffakzeptor dient Wasserstoffperoxid. Die Farbreaktion ist außerdem ein Nachweis für eisenhaltige Enzyme.

2.4 Die Kirsche

2.4.1 Herkunft der Kirsche

Die ursprüngliche Heimat der Kirsche ist das westliche Asien und das östliche Europa. Hervorgegangen sind die heutigen Süßkirschen und Sauerkirschen aus der Steinweichsel.

Der griechische Botaniker Theophrastus erwähnte Kirschen um 300 v. Chr. das erste Mal. Die Früchte waren damals sauer und klein, nicht vergleichbar mit den heutigen Kirschen. Wahrscheinlich wurden Kirschkulturen noch wesentlich früher ausgepflanzt.

Der römische Feldherr Lucullus, der als Gourmet bekannt war, brachte ca. 70 v. Chr. von seinen Feldzügen aus der Gegend um das Schwarze Meer die Kirschen nach Rom.

Der römische Name *cerasus* für Kirschen kommt wahrscheinlich von der türkischen Stadt Kerasos [MODL und SPORNBERGER, 2009].

2.4.2 Systematik der Kirsche

Die größte Unterteilung der Kirschen erfolgt in Süßkirschen (*Prunus avium*) und Sauerkirschen (*Prunus cerasus*). Die Süßkirschen wurden zu Beginn des 19. Jahrhunderts in die weich-fleischigen Herzkirschen und die festfleischigeren Knorpelkirschen unterteilt (*var. juliana*, *var. duracina*).

Die Sauerkirschen, deren Bäume einen schwächeren Wuchs und stärker hängende Äste haben, als die der Süßkirschen werden in vier Gruppen unterteilt. Dies sind die Süßweichsel (Bastardkirschen), die Amarellen (oder Strauchweichseln genannt), die Schattenmorellen und die fast nur industriell angebauten Glasweichseln. Gewisse Sorten unter den Sauerkirschen sind selbstfertil, die anderen selbststeril [MODL und SPORNBERGER, 2009].

2.4.3 Die Verbreitung der Kirschen

Rund um das Schwarze und das Kaspische Meer waren die ersten Kirschpflanzungen entstanden, da in diesem Gebiet wegen des ausgeglichenen Klimas die optimalen Bedingungen für die Auspflanzung von Kirschen herrschten.

Im römischen Reich kamen sie von Italien bis nach England.

Die Kirschen wurden nur in der Nähe von Siedlungen angepflanzt, da die Fruchtbeschaffenheit der Kirschen keinen längeren Transport ermöglichte.

Im 19. Jh. beschäftigten sich Mönche in den Klöstern intensiv mit dem Anbau von Kirschen aus Sämlingen, aber zu gezielten Züchtungen kam es erst im letzten Jahrhundert.

Heute gibt es kommerziellen Kirschanbau in 50 Ländern, wobei 80% der Gesamtproduktion auf Europa entfallen. Italien ist der größte Süßkirschenproduzent, gefolgt von Spanien, Frankreich und der Türkei.

Beim Sauerkirschanbau sind Polen, Deutschland und Russland führend.

In den osteuropäischen Ländern sind neue Kirschanlagen in den letzten Jahren entstanden [MODL und SPORNBERGER, 2009].

2.4.4 Züchtung

Heutzutage gibt es auf der Welt mehr als 40.000 Obstsorten. Alte Obstsorten verschwinden, neue kommen dazu. Heutige Hochleistungssorten gehen meist aus einem systematischen Züchtungsprozess hervor, alte Obstsorten entstanden in früheren Zeiten häufig aus Findlingen mit vegetativer Vermehrung und aus Zufallssämlingen. Aber auch damals gab es Auslesekriterien, je nach beabsichtigter Verwendung, wodurch wertvolle Sorten entstanden [FISCHER, 1995].

2.4.4.1 Fruchtqualität

Die Obstzüchtung wird im Allgemeinen auf bestimmte Fruchtmerkmale selektiert.

Dazu gehören die äußere Qualität, wie Form, Größe, Farbe, Wachsbelag, Berostung, Stiel- bzw. Kelchlösbarkeit, und die innere Qualität, wie Aromastoffe, Zucker, Säuren, Pektine, phenolische Substanzen, Saftigkeit, Festigkeit des Fleisches.

Die Beeinflussung von Zeit und Dauer der Genussreife, sowie die Verbesserung der Lagerfähigkeit sind ebenfalls Zuchtziele [FISCHER, 1995].

2.4.4.2 Geschmack

Für einen guten Geschmack ist neben zahlreichen Aromastoffen, die die Würzigkeit der Früchte ausmachen, vor allem auch das Zucker-Säure Verhältnis ausschlaggebend. Man findet in den Nachkommenschaften alle Übergänge von süß bis sauer, wobei das Merkmal süß dominanter ist als das Merkmal sauer, d.h. mehr Nachkommen haben süße Früchte, weniger saure. Jedoch kann man mithilfe der Zucht den Geschmack in die gewünschte Richtung lenken [FISCHER, 1995].

2.4.4.3 Resistenz

Sehr wichtig für die Ertragssicherheit ist die Züchtung von Sorten, die gegenüber bakteriellen, pilzlichen und tierischen Schaderregern widerstandsfähig sind. Dazu kommt noch die Widerstandsfähigkeit gegenüber abiotischen Stressfaktoren, wie Kälte, Hitze, Trockenheit.

In der Resistenzstrategie gegenüber Schädlingen wird angestrebt, dass die Sorte mit dem Schaderreger leben kann, und nicht das vollkommene Vernichten des Schaderregers. Der Schaden soll auf ein wirtschaftlich erträgliches Maß eingeschränkt werden. So wie sich der Schaderreger ständig verändert, soll sich auch die Obstsorte mit verändern können.

Die Resistenz gegenüber Schädlingen soll auf mehreren Erbanlagen beruhen, wodurch die Resistenz dauerhafter wird. Basiert die Resistenz nur auf einer Erbanlage, kann der Schaderreger leicht durch z.B. Mutation die Resistenz der Wirtspflanze durchbrechen.

In der Züchtung ist es wichtig beide genetische Systeme, das der Sorte (Wirtspflanze) und das der Schaderreger, zu beherrschen.

Ein Ziel ist auch die Entwicklung von Sorten mit Mehrfachresistenz. Bei der Kirsche ist das die Resistenz gegenüber den Rindenkrankheiten Valsa (Cytospora, Pilz, Krötenhautkrankheit) und Pseudomonas (Bakterienbrand). In England hat man gegen Pseudomonas resistente Süßkirscharten gezüchtet (Merla, Mermat, Merpet). Sehr zu schaffen macht der Kirsche auch die Kirschfruchtfliege.

Lange Lagerfähigkeit ist ein weiteres erstrebtes Zuchtziel. Die natürliche Vererbung tendiert immer wieder in Richtung Frühreife und kurze Lagerfähigkeit [FISCHER, 1995].

2.4.4.4 Ertrag

Mit der Sortenwahl wird ein bestimmtes Ertragsniveau erreicht, dieses Ertragspotential ist erblich fixiert. Es gibt regelmäßig tragende und alternierende Obstsorten, faule und fleißige, sowie auch überreich tragende Sorten. Regelmäßiger und hoher Ertrag bei optimaler und gleichbleibender Fruchtgröße und -qualität ist ein wichtiger Anspruch in der Zucht.

Dafür müssen einzelne Faktoren, wie Blütenzahl, Blühorte, Fruchtungstendenz, Befruchtungsfähigkeit der Blüten, Blütenfrostverträglichkeit, Fruchtgröße u.a. im Selektionsprozess beachtet werden. Es bestehen viele Wechselwirkungen zwischen diesen Merkmalen, die auch berücksichtigt werden sollen.

Die Kronenmorphologie ist eine wichtige Komponente der Ertragsbildung.

Die morphologischen Merkmale, wie die Anzahl der Seitentriebe, die Anzahl der Kurztriebe (ob viele oder wenige) und die Verzweigungswinkel, lassen sich schon früh gut erkennen und bilden wesentliche Selektionskriterien.

Allgemein kann man nach verschiedenen Nutzungen die Sorten in Intensivsorten, Industriesorten mit schüttelfähigen Kronen, Sorten für den landschaftprägenden Streuobstbau und Sorten für Hobbygärtner und Liebhaber unterscheiden.

Die Intensivsorten für den Erwerbsanbau sollen einen geringen Schnittaufwand und gute Belichtung der Früchte aufweisen. Für den Streuobstanbau sollen die Bäume einen starken Wuchs und eine robuste Krone haben.

Unterlagen beeinflussen die Wuchsstärke, die Verzweigungsdichte, die Ansatzstellen der Blütenknospen und die Astwinkel [FISCHER, 1995].

2.4.4.5 Süßkirsche Züchtung

Es werden Kirschen so gezüchtet, dass sie zu verschiedenen Zeiten reif werden, der Reifezeitraum beträgt 8 Wochen. Die Kirschen sollen groß und trotzdem platzfest, dunkel gefärbt und trocken vom Stiel lösend sein. Die härtere Fruchtfleischkompetenz der Knorpelkirschen wird weicheren Sorten vorgezogen [FISCHER, 1995].

Selbstfertilität ist ein weiteres Zuchtziel. Gleichzeitig ist natürlich die Züchtung für die Resistenz besonders wichtig. Für Industrie- und Brennkirschen wird Schüttelfähigkeit verlangt, das wäre auch ein Ziel für Tafelkirschen, das aber schwer zu erreichen ist.

2.4.4.6 Sauerkirsche Züchtung

Für Sauerkirschen werden neben den süß-sauren Sorten für die häusliche Verwertung vor allem ausgesprochene Industriesorten mit hoher Ertragsleistung, Schüttelfähigkeit und hohem Säuregehalt angestrebt. Es werden Sorten gezüchtet, die keinen intensiven Schnitt benötigen. Wichtig ist auch die Toleranz gegen das Nekrotische Ringfleckenvirus, die Ursache der Stecklenberger Krankheit [FISCHER, 1995].

2.4.4.7 Anbaubedingungen

1) Standort

Kirschen wachsen, wie die meisten Obstsorten, auf luftigen, warmen, lockeren, lehmigen bis sandigen Böden. Sie stellen jedoch an den Standort viel geringere Ansprüche als Pfirsiche oder Marillen. Sehr empfindlich sind sie gegenüber Feuchtigkeit.

Ungünstig sind Gegenden, wo es zur Zeit der Ernte oft regnet und Standorte, wo sich Tau und Nebel lange halten. Denn durch die Feuchtigkeit kommt es zum Platzen der Kirschen und zu einer sich schnell ausbreitenden Fäulnis an den Früchten. Der Standort und auch die vorkommende Witterung beeinflussen die Reifezeit der Früchte, wobei die erste Kirschwoche gewöhnlich zwischen Ende Mai und Anfang Juni liegt.

In Winterruhe vertragen Süß- und Sauerkirschen minus 20° gut. Manche Sauerkirschsorten wachsen noch auf einer Seehöhe von über 1000 m, sie sind sehr robust.

In Jahren mit frühem Blüh- und Vegetationsbeginn kann es in den frühen Morgenstunden zu Spätfrostschäden kommen, dadurch wird ein Teil der Blüten beschädigt. Diese Frostschäden treten vor allem in Tallagen auf, wo die Kaltluft nicht abfließen kann.

Im Herbst hingegen sind die Kirschbäume nicht anfällig gegenüber frühem Frost, der die Triebe schädigen könnte. Durch den frühen Triebabschluss kommt es dabei zu keiner Schädigung mehr.

2) Klima

Kirschen benötigen im Allgemeinen 500 bis 550 mm Niederschlag, wobei es günstig ist, wenn die Verteilung des Niederschlags im Jahr gleichmäßig verläuft. Eine ausreichende Winterfeuchtigkeit ist bei allen Obstsorten von Vorteil. Während der Entwicklung von der Blüte bis zur reifen Frucht vergehen bei den Frühsorten keine zwei Monate. In dieser Zeit ist eine gute, ständige Bodenfeuchte für die Fruchtentwicklung und das Erreichen der optimalen Fruchtgröße besonders notwendig.

Wenn die Kirschen schon langsam gelb werden, und nicht mehr grün sind, kann zu langanhaltender Regen das Platzen der Früchte bewirken und so die Fäulnis fördern.

Sonnige Tage mit Temperaturen von über 15° zur Zeit der Blüte fördern eine rasche Befruchtung und einen guten Fruchtansatz. Hat es vor der Reife etwa 25 bis 30°, und es scheint oft die Sonne und regnet wenig, dann gedeihen die Früchte am besten.

Wind ist vor der Kirschernte ein Vorteil, weil er das raschere Abtrocknen der Früchte fördert. In Tallagen mit Nebelbildung kann der Wind sich auch günstig auswirken. Pilzkrankheiten können sich in windigen Lagen nicht so schnell ausbreiten [MODL und SPORNBERGER, 2009].

2.4.5 Die Inhaltsstoffe der Kirsche

Seit Anfang der 60er Jahre wird von Wissenschaftlern in den USA, Deutschland, Italien, Türkei, Schweiz, Ungarn und in Korea Untersuchungen zu den Inhaltsstoffen der Kirschen und deren Wirkung auf den Menschen durchgeführt.

Die Kirschen bestehen im Wesentlichen aus Wasser, Zucker, Mineralstoffen, Spurenelementen, Vitaminen, Ballaststoffen, Säuren und Alkohol.

Die Zucker in der Sauerkirsche sind vorwiegend Glucose und Fructose. Bei den Säuren kommt vor allem die Apfelsäure vor, jedoch sehr wenig Zitronensäure.

Die Mineralstoffgehalte zwischen den Süß- und Sauerkirschen unterscheiden sich kaum. Sie liegen zwischen 0,37 – 0,7g/100g des essbaren Anteils. Als Vergleich dazu haben die Äpfel nur einen Mineralstoffgehalt um 0,3g/100g.

Kirschen haben einen hohen Gehalt an Vitamin A. Sauerkirschen weisen eine besonders hohe Konzentration an Carotinoiden auf.

Die wertvollsten Inhaltsstoffe der Sauerkirschen für den Menschen sind neben den Mineralstoffen die Phenole, die sekundären Pflanzeninhaltsstoffe.

Die Anthocyane der Sauerkirschen haben eine hohe antioxidative und entzündungshemmende Wirkung. In Laborversuchen blockierten sie die Tumorentwicklung infizierter Mäuse und das Wachstum menschlicher Dickdarmkrebszellen. Außerdem zeigte Cyanidin (ein Glykogen der Anthocyanidine) eine größere entzündungshemmende Wirkung als Aspirin. Die Produktion von einem Medikament mit Cyanidin ist von Interesse. Es könnte eine Alternative für

Menschen mit Geschwüren im Verdauungstrakt oder mit einer Allergie gegen Aspirin sein.

Die Fähigkeit der Flavonoide Sauerstoffradikale abzufangen, ist ihre wichtigste antioxidative Aktivität. Sauerstoffradikale können, wenn sie nicht genug abgebaut werden, eine Vielzahl von Erkrankungen hervorrufen, wie entzündliche Erkrankungen (z.B. Arthrosen), Lungenerkrankungen, Leber- und Krebserkrankungen.

2.4.5.1 Wert alter Sorten für die Gesundheit

Die Sorte, „Ungarische Traubige“, ist wegen dem hohen Glucose und niedrigen Säuregehalt sehr beliebt. Sorten wie „Germera“ und „Schattenmorelle“, letztere wurde auch in vorliegender Arbeit untersucht, weisen jedoch einen viel höheren Gehalt an Vitamin C und Phenolen auf und können so einen wertvollen Beitrag für die Gesundheit leisten. Diese Sorten finden aber hauptsächlich als Nass- und Gefrierkonserven Verwendung, wahrscheinlich wegen dem hohen Säuregehalt. Der Phenol- und Vitamin C-Gehalt der Sorte „Schattenmorelle“ ist besonders hoch und übertrifft damit viele andere Sauerkirschen. Auch der gesundheitsfördernde Aspekt könnte ein Grund sein, diese alte Sorte zu schützen¹.

2.4.6 Standort der untersuchten Kirschen

Die untersuchten Kirschen stammen aus dem Sortengarten des „Ökokreises Waldviertel“ im Museumsdorf Niedersulz im Weinviertel und aus einer sehr nahe am Dorf gelegenen Allee.

Über den Sortengarten des Ökokreises²:

„Der Sortengarten bewahrt wertvolles Kernobst (Apfel, Birne) und Steinobst (Kirsche, Zwetschke, Marille, Pfirsich) in seiner Vielfalt an alten Sorten. Seit 1988 sind wir in Niederösterreich auf der Spur nach verschollenen Raritäten. Unser Schwerpunkt liegt im Waldviertel beim Apfel und im Weinviertel beim Steinobst. Die Sammlung umfasst mittlerweile an die 800 Sorten. Davon sind sehr viele so genannte Lokalsorten, d.h. sie kommen nur in dieser Region vor und tragen keinen pomologischen Namen.“

¹ siehe

http://www.obstbau.org/content/service/wissenswertes/inhaltsstoffe_sauerkirsch_en.php, Stand: Mai 2011

² <http://www.oekokreis.org/sortengarten.html>, Stand Mai 2011

Der Sortengarten betreut

weit über 1000 Erhaltungsbäume, wobei es uns wichtig ist, alle Sorten auf langlebigen Sämlingsunterlagen zu veredeln. Diese Hoch- und Halbstämme werden, im Gegensatz zu den kleinen Buschbäumchen, Jahrzehnte alt und tragen am effektivsten zur Erhaltung bei. Ein Standort unserer Bäume befindet sich für das Weinviertel im Museumsdorf Niedersulz, ein Bauerndorf, in dem diese alten Kulturpflanzen einen würdigen Platz gefunden haben. Im Waldviertel befinden sich die Bäume auf mehreren Standorten, u .a. auf einem Acker der landwirtschaftlichen Fachschule Ottenschlag auf 800 m Seehöhe.

Der Sortengarten bietet

Jungbäumchen mit Sortenraritäten an, die in unserer biologisch geführten Baumschule gezogen werden. Es war von Anfang an ein Konzept unseres Erhaltungsprojektes Bäume zum Verkauf anzubieten, damit die Vielfalt an Sorten wieder in den Gärten und der Flur angesiedelt wird. Jedes Jahr wird ein anderes Sortiment angeboten, um so im Lauf der Jahre die hunderten von Sorten wieder zu verbreiten, wozu Hobbygärtner, Landwirte und Jagdbetriebe beitragen.“

2.4.7 Streuobstbau – Streuobstwiesen

Alte Kirscharten kommen vor allem im Streuobstbau vor.

Unter Streuobstbau im engeren Sinn versteht man hochstämmige Obstbäume (mit einem Kronenansatz in ca. 1,80m Höhe) auf Wiesen. Das sind die klassischen Streuobstwiesen, daneben gibt es viele andere Formen: Obstbäume in Weingärten und auf Ackerflächen, markante Grenzbäume und Einzelbäume, Obstbäume am Straßen- oder Ortsrand, und schließlich Obstalleen. Diese großkronigen Obstbäume werden extensiv gepflegt, d.h. ohne Einsatz von Kunstdüngern und ohne chemische Pflanzenschutzmittel. Typisch für die Streuobstwiesen ist außerdem, dass oft viele verschiedene Obstarten bzw. Obstsorten nebeneinander vorkommen, sowie auch Bäume aller Altersstufen³.

Zu den interessantesten Kulturlandschaften Mitteleuropas zählen Gebiete, die vom Streuobstbau geprägt sind. Dazu gehören neben den Marillenbäumen in der Wachau und den Birnbäumen im Mostviertel, auch die Kirschalleen im Weinviertel, die besonders im Frühling mit den schönen Blüten auffallen.

³ http://www.arge-streuobst.at/?page_id=37 [Stand: Mai 2011]

Streuobstwiesen haben eine große Bedeutung für die Landschaftsgestaltung und den Erosionsschutz und als Erholungsraum⁴.

2.4.7.1 Biodiversität

Die heute noch bestehende Vielfalt an Obstsorten steht in engem Zusammenhang mit dem Streuobstbau. Die große Sortenvielfalt findet sich nur bei dieser traditionellen Kulturform.

Nach Schätzungen gibt es ca. 3000 Obstsorten in den Streuobstgärten Österreichs. Jedoch sind viele dieser Sorten heute in Gefahr verloren zu gehen. Vor 150 Jahren erreichte die Sortenvielfalt ihren Höhepunkt, seither ist eine Reduzierung der Sorten zu bemerken.

„Die Erhaltung von Kulturpflanzen ist eine regionale Verantwortung und braucht regionale Erhaltungsstrategien.“ Die alten Sorten sind akut gefährdet. Gründe dafür sind die Überalterung der Baumbestände, das Auflassen alter Streuobstwiesen und Krankheiten wie der Feuerbrand.

Die alten Obstsorten besitzen wertvolle genetische Eigenschaften, die eine größere Widerstandsfähigkeit gegenüber klimatischen Einflüssen und Resistenzen gegenüber Krankheiten und Schädlingen bewirken. Auch für die Züchtung sind alte Sorten immer mehr von Bedeutung⁵.

2.4.7.2 Einzigartiger Lebensraum

Streuobstbestände sind von Menschen geschaffene Lebensräume, zeigen aber Ähnlichkeiten mit den natürlichen Landschaften der Auen und den Waldrändern, den fließenden Übergängen vom Wald zur freien Fläche.

Streuobstwiesen können aufgrund der vielen verschiedenen ökologischen Biotope eine hohe Artenvielfalt aufweisen. Die Biotope ergeben sich durch die Verbindung von Grünland und Baumbestand, sowie durch die zusätzlich eingegliederten Strukturen von Hecken, Steinhäufen, Böschungen und Wasserläufen. Außerdem können Baumreihen Korridore schaffen, die von einander getrennte Grünflächen verbinden.

⁴ <http://www.oekokreis.org/dokumente/Produktkatalog.pdf> [Stand: Mai 2011]]

⁵ http://www.arge-streuobst.at/?page_id=37 [Stand: Mai 2011]

Durch die extensive Bewirtschaftung kommen viele Pflanzenarten (Kräuter) und dadurch auch viele Tierarten vor. An die 20.000 Insektenarten leben in einem alten Obstbaum mit Totholz, darunter 1000 verschiedene Spinnenarten. Dieses gute Nahrungsangebot und die Nistmöglichkeiten in Höhlen sind Gründe dafür, dass hier viel mehr Brutvogelarten vorkommen als in intensiv genutzten Obstanlagen. Einige Spechtarten wie Wendehals und Grünspecht, aber auch der Wiedehopf suchen ihre Nahrung am Boden unter den Bäumen.

Seltene oder sogar bedrohte Kleinsäugetiere (Siebenschläfer, Spitzmaus, Wiesel, Fledermaus, Iltis, Igel) kommen in Streuobstwiesen ebenso vor wie Bodenbrüter (Baumpieper, Rebhuhn, und Braunkehlchen)⁶.

In Zusammenhang mit den Kirschbäumen ist das seltene Große (Wiener Nachtpfauenaug) zu nennen. Obstbäume sind auch als Futterquelle für Schmetterlingsraupen wichtig und die Raupe des Großen Nachtpfauenauges lebt bevorzugt auf Kirschbäumen.

Seltene oder gefährdete Pflanzen, z.B. einige Orchideenarten kommen in den Wiesen unter den Obstbäumen vor⁷.

2.4.7.3 Gefährdung von Streuobstwiesen

Vor dem 2. Weltkrieg stellte der Streuobstbau mit dem Verkauf von Obst und Obstprodukten eine bäuerliche Einnahmequelle dar. Die Ausbreitung der Intensivobstanlagen, der große Import von Früchten aus dem Ausland führte zu einem Einbruch im Absatz der heimischen Bauern. Die zunehmende Mechanisierung der Landwirtschaft, sowie die Prämien zur Rodung von Obstbäumen in den 60er Jahren führten zu einem deutlichen Rückgang dieser ökologisch wichtigen Kulturlandschaft.

„Streuobstbestände sind vom Menschen geschaffen, ihr Weiterbestand ist nur gesichert, wenn sie bewirtschaftet und gepflegt werden. Sinnvoller Naturschutz kann nicht durch unter Schutz stellen, sondern nur durch Nutzung stattfinden“⁸.

⁶ <http://www.oekokreis.org/dokumente/Produktkatalog.pdf> [Stand: Mai 2011]]

⁷ http://www.arge-streuobst.at/?page_id=37 [Stand: Mai 2011]

⁸ <http://www.oekokreis.org/dokumente/Produktkatalog.pdf> [Stand: Mai 2011]]

2.4.8 Alte Kirscharten - Morphologische Beschreibung

In den Sortenbestimmungsbüchern von DUHAN [1959] und FALCH et al. [1963] sind 9 von den 28 in dieser Arbeit vorkommenden Kirscharten untersucht worden. Ergänzend zu den Sortenbestimmungsbüchern wurde BERNKOPF et al. [1999] herangezogen. Über die restlichen Kirscharten konnte keine Literatur gefunden werden. Da die Kirschen in tiefgefrorenem Zustand vorlagen, war eine genaue morphologische Beschreibung nicht möglich.

In dem Vorwort von DUHAN [1959] wird die Methodik der Sortenbestimmung beschrieben:

„Von 1941 bis 1944 und von 1946 bis jetzt war ich alljährlich bestrebt, von den für den inländischen Erwerbsobstbau wertvollen, bzw. aussichtsreich erscheinenden Sorten aus verschiedenen Anbaugebieten und Betriebsformen, jeweils der Gesamternte nur gepflegter Bäume entsprechende, nach Maßgabe der Möglichkeit aus mindestens 50 Stück bestehende Früchteproben selbst zu ernten oder auszuwählen, an der Hochschule für Bodenkultur unter Versuchsbedingungen zu lagern und hinsichtlich vieler, durch exakte Meßmethoden erfassbarer Eigenschaften zu untersuchen. Den hier veröffentlichten Beschreibungen und Lagerungsergebnissen liegen je Sorte meist etwa 20 solche Früchteproben verschiedener Standorte und Jahrgänge zugrunde.“

2.4.8.1 Prinzessinkirsche

Gemeint ist damit die „Große Prinzessinkirsche“, die Beifügung „Große“ wird oft weggelassen, da keine andere Prinzessinkirsche häufig vorkommt. Der Ökokreis Waldviertel gab jedoch den Auftrag neben der „Großen Prinzessinkirsche“ auch die „Ähnlich Große Prinzessinkirsche“ und die „Dunkle Prinzessinkirsche“ zu untersuchen.

Die französische Bezeichnung „Bigarreau Napoleon“, kommt auch in vielen anderen Ländern vor; ein häufiges Synonym ist ebenso die „Lauermann's Knorpelkirsche“.

Die Sorte ist eine bunte Knorpelkirsche mittlerer Reifezeit. Sehr weit verbreitete, alte Sorte unbekannter Herkunft.

Reifezeit: in der 4. Kirschwoche

Fruchtgröße: mittel bis groß, mittleres 10 Stück Gewicht im Durchschnitt 49 g

„Haut: stark glänzend, glatt. Bei schwach besonnten Früchten tritt stellenweise die gelbe Grundfarbe rein hervor; größtenteils sehr mannigfaltig orange, ziegel- bis leuchtendrot angehaucht, verwaschen gefleckt und stellenweise auch deckfärbig; teilweise tupfig, strichelig oder sprenkelig gezeichnet“ [DUHAN, 1959].

Die Form ist stielbauchig bis gerundet, breit kegelstumpf oder kurz herzförmig.

Naht meist flachliegend, nur selten stärker gerötet. Querprofil fast kreisförmig.

Stiel mittellang, ca. 4 cm, dick.

Das Fruchtfleisch ist hellgelb, auch bei äußerlicher Rötung hat es einen farblosen Saft.

Es ist besonders fest, süß und gleichzeitig angenehm sauer. Die Prinzessinkirsche ist die sauerste aller Süßkirschenarten, mit einem pH-Wert von 3,7 Aroma würzig.

Steine sind groß, dick und rundlich. 10 Stück Gewicht 4 g.

Die Prinzessinkirsche hat eine gute Qualität, die Lager und Transportfähigkeit ist besonders gut.

Baum: starker, hängender Wuchs, kälteresistent

Befruchtung: mittlere Blütezeit, selbststeril

Um 1955 war sie eine Hauptsorte des intensiveren Erwerbsobstbaues. Auch für Konservenobst angebaut [DUHAN, 1959].

2.4.8.2 Große schwarze Knorpelkirsche

Sehr alte, weit verbreitete Population schwarzer Knorpelkirschen französischer Herkunft

Reifezeit: 5. Kirschenwoche

Fruchtgröße: mittel bis groß

Haut: stark glänzend, glatt, einheitlich schwarzrot

Stiel: kurz, 3 cm, dick und grün

Stielgrube: mitteltief bis tief, mittelweit; Rand nahtseitig eingedellt [BERNKOPF, S. et al., 1999]

Fleisch: gleichmäßig schwarzrot, festfleischig

Geschmack: wenig süß und mäßig säuerlich

Steine: klein, rundlich mit einem 10 Stück Gewicht von 3 g

Baum: groß, oft breitkronig, widerstandsfähig

Befruchtung: mittlere Blütezeit, selbststeril (Typ Diemitz)

[DUHAN, 1959]

2.4.8.3 Schneiders späte Knorpelkirsche

Sehr spätreife, bunte bis schwarze Knorpelkirsche ostdeutscher Herkunft.

Fruchtgröße: sehr groß, mit einem 10 Stück Gewicht von 80 g

Reifezeit: in der 5. bis 6. Kirschenwoche

Haut: überwiegend glatt und glänzend, fest und widerstandsfähig, kirsch- bis dunkelrot

Gestalt: stark abgerundet herzförmig

Stiel: sehr lang, 5cm und länger, dünn und grün

Fleisch: meist hellrot mit intensiver heller Äderung, Saft kaum färbend, Fleisch sehr fest

Geschmack: mittelmäßig süß, säuerlich und wenig würzig

Transport und Lagerfähigkeit: außerordentlich gut, wegen des festen Fleisches

Baum: sehr starkwüchsig, Krone hochpyramidal, aufrecht, widerstandsfähig, auch in freien Höhenlagen vorkommend

Befruchtungsverhältnisse: mittlere Blütezeit, selbststeril

[DUHAN, 1959]

2.4.8.4 Köröser Weichsel

Dunkle Strauchweichsel ungarischer Herkunft.

Reifezeit: in der 4. und 5. Kirschenwoche

Fruchtgröße: mittelgroß, 10 Stück Gewicht 42 g

Haut: gleichmäßig dunkel bis schwärzlich rot, glatt und punktiert, glänzend

Fleisch: dunkelrot mit hellerer Äderung, Saft stark färbend

Geschmack: verhältnismäßig süß, süßeste von den Sauerkirschen

Qualität: besser, als die von anderen Sauerkirschen

Transport und Lagerfähigkeit: mittelmäßig

Stein: groß, breit und dick

Baum: mittelstarker Wuchs, ziemlich aufrecht, pyramidale bis kugelförmige Krone, bevorzugt trockene Standorte (pannonisches Klima)

Befruchtungsverhältnisse: mittlere Blütezeit, selbststeril

[DUHAN,1959]

2.4.8.5 Schattenmorelle

(andere Bezeichnungen: große lange Lotkirsche, Griotte du Nord)

Reifezeit: Ende der 6. Kirschwoche und später

Fruchtgröße: klein bis mittelgroß, 10 Stück Gewicht 36 g

Haut: punktiert, mehr oder weniger glatt, kaum glänzend, dunkelrot, braunrot gefärbt

Gestalt: rundlich bis schwach länglichoval, schwach stielbauchig

Fleisch: dunkelrot, Saft stark färbend

Geschmack: sehr sauer und gleichzeitig relativ süß

Steine: groß, zugespitzt langoval (viel Proteine im Kern!)

Qualität: gut geeignet für Herstellung von Saft, Marmelade und Kompott

[DUHAN, 1959]

2.4.8.6 Kassins Frühe

Frühreife, schwarze Herzkirsche, die um 1860 von Wilhelm Ludwig Kassin in Werder an der Havel entdeckt und von dort weiter verbreitet wurde.

Reifezeit: in der 2. Kirschenwoche

Fruchtgröße: mittel bis groß, 10 Stück Gewicht von 50 g

Haut: glatt, glänzend, dünn, im reifen Zustand schwarzrot, hell punktiert

Form: abgestumpft herzförmig, sehr breit

Fleisch: mittelfest, saftig, purpurrot mit färbendem Saft

Geschmack: mäßig süß, leicht säuerlich

Stein: rundlich, leicht oval

Baum: mittelstark bis stark wachsend, die Kronen sind licht, aufstrebend und breitkugelig.

Relativ geringe Frostresistenz des Holzes. Diese Sorte braucht um gut zu gedeihen mehr wärmere und leichtere, sandige Böden mit guter Nährstoff- und Wasserversorgung. Sie ist sehr empfindlich gegenüber nassen, schweren Böden.

Befruchtungsverhältnisse: selbststeril, daher auf Fremdbefruchtung angewiesen. Alle Süßkirschen sind selbststeril.

[FALCH et al., 1963]

2.4.8.7 Kritzendorfer Einsiedekirsche

(wird auch nur Kritzendorfer Kirsche genannt)

Schwarze Herz-Knorpelkirsche mittlerer Reifezeit

Herkunft: Kritzendorf in Niederösterreich, aus dem Gut des Fürst Liechtenstein um 1820. Sie wurde dort in einer Versuchsanlage einer Ackerbauschule vermehrt und verbreitet.

Reifezeit: in der 4. bis 5. Kirschenwoche

Fruchtgröße: groß, Zehnstückgewicht 57g

Haut: stark glänzend, glatt und fein, dunkelschwarzrot

Form: breit abgestumpft herzförmig

Fleisch: gleichmäßig schwarzrot mit dünner heller Äderung, Saft stark färbend

Geschmack: sehr gehaltvoll und süß, gleichzeitig angenehm säuerlich und würzig

Stein: spitzoval, Zehnstückgewicht von 4 g

Baum: starker Wuchs, breitkronig. Bevorzugt tiefgründige und nicht zu trockene Böden, wie sie in den niederösterreichischen Hügellagen vorkommen.

Befruchtungsverhältnisse: selbststeril

[FALCH et al., 1963]

2.4.8.8 Große Germersdorfer

Mittelspäte, bunte Knorpelkirsche

Herkunft: Ein Zufallssämling, der im 19. Jh. in Germersdorf bei Guben aufgefunden wurde und wegen seiner guten Qualität sehr bald innerhalb des deutschsprachigen Raums und darüber hinaus verbreitet wurde.

Reifezeit: in der 4. und 5. Kirschenwoche

Fruchtgröße: groß, im Schnitt beträgt 10 Stückgewicht 68 g.

Haut: glatt, dick und glänzend

Farbe: leuchtend kirschrot mit helleren Punkten und Flecken über die gesamte Kirsche verteilt

Form: herzförmig, wird nach unten hin schmaler, mit einer stumpfen Spitze

Fleisch: mittelrot, eher fest. Saft färbt schwach bis mittelstark.

Geschmack: sehr süß und erfrischend sauer

Stein: länglichoval

Qualität: sehr edle Tafelfrucht mit guter Transport- und Lagerfähigkeit

Baum und Standort: stark aufrechter Wuchs, hochpyramidal. Vorkommen auf leichteren Böden mit genügend Feuchtigkeit und guter Nährstoffversorgung. Auf schweren, zu nassen, kühlen Böden besteht Gummiflussgefahr. Eine windige, leicht zugige Lage verhindert das Aufplatzen der Kirschen aufgrund zu viel Feuchtigkeit und das Auftreten von Schrotschusskrankheit.

Befruchtungsverhältnisse: Blütezeit spät, selbststeril

[FALCH et al., 1963]

2.4.8.9 Ostheimer Weichsel

Mittelfrühe dunkle Weichsel

Herkunft: Sie wurde vermutlich Anfang des 18. Jh. von Spanien nach Deutschland gebracht, und hat sich dort im Gebiet von Ostheim/Rhön stark verbreitet.

Reifezeit: in der 3. bis 4. Kirschenwoche

Fruchtgröße: mittelgroß, 10 Stückgewicht 40g

Haut: zart, dünn, mattglänzend, glatt, im reifen Zustand dunkelbraunrot

Form: leicht flachgedrückt, am Stempelpunkt und am Stiel abgeplattet

Stiel: grün, lang und mittelstark, 42 mm lang

Fleisch: dunkelrot mit heller Äderung, weiches Fleisch, Saft färbend, sehr saftig

Geschmack: mittel süß und ziemlich sauer, mit einem besonders guten Weichselaroma

Stein: klein, die rundliche Form ist an den Enden scharf zugespitzt.

Qualität: gut. Sie ist eine geschätzte und daher um 1960 weit verbreitete Sauerkirsche.

Transport und Lagerfähigkeit: schlecht

Baum: Wuchs schwach bis kräftig. Widerstandsfähig, gedeiht auch auf nährstoffärmeren, seichten Böden, wenn gedüngt wird, und in Höhenlagen. Die Frostwiderstandsfähigkeit des Holzes ist gut, die Blüte ist allerdings gegen Spätfröste empfindlich.

Befruchtungsverhältnisse: mittelfrühe Blütezeit, selbststeril

[FALCH et al., 1963]

Alle Kirschbäume sind Kirschen-Sämlinge, vier Kirscharten haben jedoch eine Unterlage. Dies sind die Sorten Königliche Amarelle (K24), Kritzendorfer Kirsche (K26), Dunkle Prinzessinkirsche (K38). Sie wachsen auf der Unterlage „Tabel Edabriz“, die schwächer im Wuchs ist. Die Königgrätzer Kirsche (K22) hat die Unterlage „Colt“.

3 Ergebnisse

Die Kerne der Kirschen wurden untersucht, da sie mehr Proteine enthalten, als das Fruchtfleisch. Im Kern ist der Gehalt an Proteinen konstant, im Fruchtfleisch kann der Proteingehalt oder Enzymgehalt aufgrund der verschiedenen zeitlichen Verhältnisse, zu denen die Kirschen geerntet worden waren, sowie der unterschiedlichen klimatischen Verhältnisse im Anbaugebiet auch innerhalb einer Sorte sehr schwanken. Daher sind für die Sortenbestimmung die Kerne besser geeignet (siehe Material und Methodik).

Um die am besten geeignete Proteinkonzentration festzustellen, wurden Verdünnungsreihen durchgeführt. Die besten Ergebnisse zeigten 100 mg Proteinextrakt gelöst in 800 µl Extraktionspuffer, d.h. 0,1g Kern auf 800 µl Extraktionspuffer (siehe Material und Methoden).

Sehr gute Ergebnisse ergab die Untersuchung der Proteine in Ethanol gelöst. Dabei lösten sich in Ethanol weniger Proteine als in Wasser, und die einzelnen Banden waren schärfer voneinander abgegrenzt. Da es mit der Untersuchung der Proteine allein nicht möglich war alle Sorten voneinander zu unterscheiden, wurden noch zusätzlich die Enzyme elektrophoretisch untersucht. Die Enzyme sollen aber nur an zweiter Stelle dazu gezogen werden, da sie stärker den Umweltfaktoren unterliegen und daher nicht so konstante Bandenmuster für die jeweilige Sorte liefern, wie die Proteine. Es stand allerdings nur mehr wenig Probenmaterial zur Verfügung, um weitere Untersuchungen der Enzyme durchführen zu können. Auch war zur Zeit der Enzymuntersuchungen das Probenmaterial schon einige Monate alt und lange tiefgefroren.

Im Folgenden werden Gruppen von Kirschen zusammengefasst, deren Protein- und Enzymbanden auffallende Ähnlichkeiten aufweisen, sich aber dennoch voneinander unterscheiden.

Betrachtet wird nur der anodische Teil, da sich die Bandenmuster hier meistens unterscheiden. Auf den kathodischen Teil wird nur rückgegriffen, wenn sich darin Unterschiede ergeben.

3.1 Kassins Frühe und Sulzer Frühkirsche

Reifezeit: Die beiden frühen Kirscharten wurden in der 24. Woche, d.h. in der Zeit vom 14.6. bis zum 20.6. geerntet.

Standort: Die Kassins Frühe (K21) steht auf einem freien, luftigen Standort in einer Allee oberhalb des Museumsdorfes. Die Sulzer Frühkirsche (K58) steht im Museumsdorf, wo es feucht und kühl ist.

Die beiden Sorten Kassins Frühe (K21) und Sulzer Frühkirsche (K58) zeigen ein ähnliches Bandenmuster bei den in Wasser gelösten Proteinen. Ihre Proteinbanden liegen alle im anodischen Bereich in der unteren Gelhälfte in Richtung Anode. Knapp unterhalb der Gelmitte befindet sich ein diffus gefärbter Bereich, gefolgt von einer sehr scharf abgegrenzten Bande. Daran anschließend ist ein stark gefärbter Block zu erkennen, der aus einigen eng aneinander liegenden Banden besteht. Am nächsten zur Anode sind zwei dünne markante Banden sichtbar (siehe Abbildung 2).

Die beiden Kirscharten ähneln sich auch, wenn man die Bandenmuster, der in Ethanol gelösten Proteine betrachtet. Jedoch hat die Kassins Frühe (K21) (siehe Abbildung 14) im oberen Bereich zwei stärker gefärbte, dickere Banden, als die Sulzer Frühkirsche (K58, Abbildung 13).

Färbung der Peroxydasen: Dabei sind bei beiden Sorten Kassins Frühe (K21) und Sulzer Frühkirsche (K58) fast keine Banden sichtbar. Nur eine schwach gefärbte Bande nahe bei der Anode ist bei der Sorte K58 zu sehen (Abbildung 15).

Färbung der Esterasen: Auch dabei sind im Vergleich zu vielen anderen Kirschen wenige Banden zu sehen (Abbildungen 17,18). Die Bandenmuster der beiden Frühkirschen unterscheiden sich auch hinsichtlich der Esterasebanden nicht. Sie haben mehrere Banden im anodischen Bereich, nahe bei der Anode eine stärkere. Zwei Banden treten im kathodischen Bereich auf (Abbildung 18).

3.2 Große Germersdorfer (K15) und Schneiders Späte Knorpelkirsche (K45a und K45c)

Reifezeit: Die Große Germersdorfer (K15) und die Schneiders Späte Knorpelkirsche (K45a) wurden am 21. Juni gepflückt, die Schneiders späte Knorpelkirsche (K45c) am 29. Juni.

Standort: Alle drei Kirscharten standen in der Allee.

Die Große Germersdorfer (K15) und die Schneiders Späte Knorpelkirsche (K45a und K45c) haben ein ähnliches Proteinbandenmuster (Abbildungen 2 und 4). Sie haben im oberen anodischen Bereich diffuse Banden und dann drei scharf abgegrenzte starke Banden, wobei der Abstand zwischen den beiden unteren Banden größer ist. Darauf folgen noch weitere 4 Banden, die jedoch weniger stark gefärbt sind.

Alle Proteinbanden liegen im anodischen Bereich. Die Proteine, die andere Kirscharten im kathodischen Bereich eingewandert haben, fehlen hier.

Peroxidasen:

Es war zu dem Zeitpunkt der Untersuchungen kein brauchbares Probenmaterial mehr vorhanden.

Esterasen:

Mithilfe der Esterasen (siehe Abbildung 18) kann die Sorte Große Germersdorfer (K15) von der Schneiders Späte Knorpelkirsche (K45a und K45c) unterschieden werden. Die Große Germersdorfer (K15) hat bei der Kathode zwei Banden und einen diffusen Bereich in der Mitte des Gels. Die Schneiders Späte Knorpelkirsche (K45a und K45c) hat eine Bande im mittleren Bereich, die der Sorte (K15) vollkommen fehlt. An die Bande anschließend hat sie noch weitere 5 Banden weiter im anodischen Bereich eingewandert.

3.3 Prinzessinkirsche (K36a und K36b) und späte bunte Knorpelkirsche (K49)

Reifezeit: Die Prinzessinkirschen (K36a und K36b) und die späte bunte Knorpelkirsche (K49) wurden am 29. Juni geerntet.

Standort: Kirschenallee

Proteine in Wasser gelöst: Auffallend bei beiden Sorten sind die 4 Banden in der Mitte des Gels, die von allen Banden am nächsten zu der Kathode liegen. Darunter befindet sich ein gut gefärbter Block, daran angrenzend zwei scharfe, schmale und stark gefärbte Banden. Darunter drei sehr dünne Banden, gefolgt von einem stark gefärbten Bereich, bestehend aus drei dicken Banden. Nach einem größeren Abstand sind noch 3 Banden zu sehen. Die letzte folgt nach einem wieder größeren Abstand (Abbildungen 5, 10).

Peroxidasen:

Bei den Peroxidasen können die beiden Sorten gut voneinander unterschieden werden. Eine Probe der Sorte K36b hat nur eine Bande nahe bei der Anode. Die andere Probe der Sorte hingegen hat weiter oben auch drei Banden, die allerdings noch näher bei der Kathode liegen, als die der Sorte K49 (Abbildungen 15, 16).

Esterasen:

Leider konnte mit der späten bunten Knorpelkirsche (K49) keine Untersuchung mehr durchgeführt werden, da kein Material mehr vorhanden war. Die Prinzessinkirsche (K36b) ist in Abbildung 17 dargestellt.

3.4 Königliche Amarelle (K24 und K23) und Schattenmorelle (K41)

Reifezeit: Die Königliche Amarelle (K24) wurde in der 24. Woche gepflückt. Die Schattenmorelle (K41) und die Königliche Amarelle (K23) wurden am 3. Juli gepflückt.

Standort: Die Königliche Amarelle (K24) steht in der Kirschenallee. Die Schattenmorelle (K41) sowie die Königliche Amarelle (K23) stehen im Museumsdorf.

Diese Kirscharten haben bei den in Wasser gelösten Proteinen ein ähnliches Bandenmuster. Nach oben hin zur Kathode befindet sich ein großer, diffus gefärbter Bereich. Daran folgt ein stark gefärbter Bereich mit 5 aneinander anliegenden Banden. Nach einem deutlichen Abstand ist eine weitere starke und scharf abgegrenzte Bande sichtbar. Nach einem weiteren Abstand folgen 4 weitere, gut sichtbare Banden, die am nächsten zur Anode liegen. Bei der Kirscharten Königliche Amarelle (K24, siehe Abbildungen 1,9) ist die zweite Bande (von unten gezählt) stärker ausgebildet als bei der Schattenmorelle (K41), siehe dazu Abbildung 5. Bei der Schattenmorelle (K41) ist die unterste Bande am stärksten ausgebildet. Die Königliche Amarelle (K23) ist auch auf Abbildung 5 zu sehen.

Peroxidasen:

Mit Hilfe der Bandenmuster der Peroxydasen lässt sich die Schattenmorelle (K41)

von der Königlichen Amarelle (K24) unterscheiden. Die Königliche Amarelle (K24, Abbildung 15) hat eine sehr stark gefärbte Bande im anodischen Bereich nahe bei der Anode und eine Bande sehr nahe bei der Kathode.

Die Kirschsorte Schattenmorelle (K41, Abbildung 16) hat jedoch keine Bande bei der Kathode, aber im anodischen Bereich zwei deutlich abgegrenzte Banden und darunter einen diffus gefärbten Bereich.

Esterasen:

Auch dabei kann man die beiden Sorten K24 und K41 voneinander unterscheiden. Die Sorte Schattenmorelle (K41) zeigt besonders viele, sehr starke Banden (Abbildung 17). Jedoch die Sorte Königliche Amarelle (K24) hat eine Bande nahe bei der Kathode und eine Bande etwas unterhalb der Probenauftragsstelle (Abbildung 18). Ein Grund für diese unterschiedlichen Esterase-Muster könnte sein, dass einige Kirschen der Sorte Königliche Amarelle (K24) in keinem guten Zustand waren.

3.5 Die Ostheimer Weichsel (K33), die Eibesthaler Weichsel (K6a) und die Köröser Weichsel (K25)

Reifezeit: Die Ostheimer Weichsel (K33) und die Eibesthaler Weichsel (K6a) wurden am 21.6. geerntet. Die Köröser Weichsel (K25) wurde am 29. Juni gepflückt.

Standort: Die Köröser Weichsel steht im Museumsdorf, wo es feucht und kühl ist. Die Eibesthaler Weichsel (K6a) und die Ostheimer Weichsel (K33) stehen in der Kirschenallee.

Proteine in Wasser gelöst: Die Eibesthaler Weichsel (K6a, siehe Abbildungen 4 und 8) und die Ostheimer Weichsel (K33, Abbildungen 3 und 5) zeigen ein ähnliches Proteinbandenmuster, der in Wasser gelösten Proteine. Sie haben im mittleren Bereich einen großen gefärbten Bereich, daran anschließend eine abgegrenzte Bande. Danach folgt wieder ein großer, stark gefärbter Bereich mit vielen Banden eng aneinander liegend. Darunter ist eine Bande gut sichtbar und nach einem weiteren Abstand folgen 4 Banden.

Proteine in Ethanol gelöst: Bei den in Ethanol gelösten Proteinen der Sorten Eibesthaler und Ostheimer Weichsel sind die beiden untersten Banden am nächsten zur Anode liegend auffallend markant und stark gefärbt. Die Eibesthaler Weichsel (K6a, Abbildung 13) und die Ostheimer Weichsel (K33, Abbildung 14) haben nach oben hin noch weitere 3 gut sichtbare Banden. Das Probenmaterial der Sorte Köröser Weichsel (K25) war wahrscheinlich zu schlecht, es konnte kein Ergebnis erreicht werden, keine Bande war zu sehen.

Peroxidasen:

Die Peroxidase-Bandenmuster der Sorten Ostheimer Weichsel (K33) und Köröser Weichsel (K25) zeigen ein sehr ähnliches, jedoch nicht vollkommen identisches Bandenmuster der Peroxidasen (Abbildung 15). Beide Sorten haben eine Bande, die weit in den kathodischen Bereich eingewandert ist. Unterhalb der Gelmitte hat die Ostheimer Weichsel (K33) eine Bande, die der Köröser Weichsel (K25) fehlt.

Darunter befindet sich bei beiden Sorten eine Bande. Nach einem großen Abstand haben beide Sorten eine schmale Bande gefolgt von einer sehr kräftigen, dicken Bande ganz nahe bei der Anode.

Esterasen:

Bei den Esterasebanden ähneln sich die Muster der Köröser Weichsel (K25) und der Ostheimer Weichsel (K33), wobei die Banden der Ostheimer Weichsel kräftiger ausgebildet sind (Abbildungen 17 und 18). Der Sorte Eibesthaler Weichsel (K6a) fehlt im mittleren Bandenblock die 4. Bande (von oben gezählt). Auch fehlt der Eibesthaler Weichsel die Bande unterhalb der Auftragsstelle, die bei den anderen Weichseln vorkommt (Abbildung 18).

3.6 Die Lokalsorte und eine unbekannte Sorte (K61)

Reifezeit: die Lokalsorte und die unbekannte Sorte (K61) wurden am 29. Juni geerntet.

Standort: die Lokalsorte steht im Museumsdorf und die Sorte (K61) in der Kirschenallee.

Proteine in Wasser gelöst: Die beiden Kirscharten haben unterhalb der Mitte des Gels einen stark gefärbten Bereich, der sich aus vielen Banden zusammensetzt (Abbildungen 4 und 8). Danach folgt ein weniger stark gefärbter Bereich und dann wiederum ein sehr intensiv gefärbter, großer Block. Nach einem sehr kleinen Abstand folgen weitere 5 Banden, die jeweils einen kleinen Abstand voneinander haben.

Proteine in Ethanol gelöst: Hier zeigen beide Sorten nur sehr wenig und schwach konzentrierte Banden (Abbildung 14). Die unbekannte Sorte (K61) hat eine stark gefärbte Bande in Richtung zur Anode und eine deutliche Bande nahe zur Kathode. Die Lokalsorte hat die Bande bei der Anode nur sehr schwach ausgebildet. Die unbekannte Sorte (K61) hat über der einen markanten Bande noch 5 weitere, sehr schwache Banden, die bei der Lokalsorte nicht vorhanden sind.

Esterasen:

Bei den Esterase-Bandenmustern sieht man bei beiden Sorten große Ähnlichkeit. Beide Sorten haben im Bereich der Kathode zwei kräftige Banden. Unterhalb der Auftragsstelle befindet sich eine Bande. Nach einem großen Abstand fällt eine sehr stark gefärbte, dicke Bande auf. Darunter folgen noch 4 weitere Banden. In einem größeren Abstand zueinander stehen noch zwei weitere Banden, die am nächsten zu der Anode liegen. Sorte K61, siehe Abbildung 17, Lokalsorte, siehe Abbildung 18.

Peroxidasen:

Leider konnte mit der Lokalsorte kein Ergebnis mehr erreicht werden, das Probenmaterial war zu schlecht. Das ist wahrscheinlich auch der Grund, dass bei den in Ethanol gelösten Proteinen nur eine Bande sichtbar ist, wohingegen bei der unbekannten Sorte K61 bei einer Probe mehrere Banden sichtbar sind (Abbildung 16).

3.7 Dunkle Prinzessinkirsche (K38)

Reifezeit: 21.Juni

Standort: Kirschenallee

Proteine in Wasser gelöst: Die Kirschen der Sorte Dunkle Prinzessinkirsche (K38) waren zum Teil in keinem guten Zustand, daher waren bei einigen Untersuchungen nur wenig schwache Banden zu sehen.

Die Sorte hat bei der Anode 4 Banden in gleichem Abstand voneinander entfernt und darüber einen stärker gefärbten Block (Abbildungen 5 und 8).

Proteine in Ethanol gelöst: Dabei hat die Dunkle Prinzessinkirsche auffallend viele Banden und ähnelt der Vogelkirsche, jedoch fehlt ihr eine Bande in der Mitte des Gels, die bei der Vogelkirsche stark ausgebildet ist (Abbildungen 13 und 14).

Esterasen:

Bei den Esterasen ist in der Mitte ein diffus gefärbter Block auffallend, daran schließen 2 Banden an (Abbildung 15).

Peroxidasen:

Nur eine Bande in der Nähe der Anode ist sichtbar. Auffallend sind zwei Banden im Bereich der Kathode (Abbildung 16).

3.8 Die Vogelkirsche

Reifezeit: Die Vogelkirsche wurde am 21.6. geerntet.

Standort: Sie steht in dem Museumsdorf, wo es feucht und kühl ist.

Die Vogelkirsche unterscheidet sich gut von den anderen Kirscharten und ist eine Wildform der Süßkirsche.

Proteine in Ethanol gelöst: Hier hat die Vogelkirsche eine besonders charakteristische Bande in der Mitte des Gels, die in den anodischen Bereich am wenigsten weit eingewandert ist (Abbildung 13). Diese Bande fehlt bei allen anderen Kirscharten. Darunter folgen 8 Banden in einem größeren Abstand voneinander, gefolgt von vielen Banden, die nahe beieinander liegen. Sehr markant ist auch die 4. Bande von unten.

Esterasen:

Die Esterasebanden sind nur sehr schwach vorhanden (Abbildungen 17, 18). Im mittleren Bereich sind 3 Banden zu sehen. Nahe bei der Kathode liegen 2 kräftige Banden und nahe bei der Anode sind 2 Banden vorhanden.

Peroxidasen:

Auch dabei unterscheidet sich die Vogelkirsche von den anderen Sorten. Sie hat drei Peroxidase-Banden, wobei die mittlere Bande aus mehreren Banden, die eng aneinander liegen, besteht (Abbildungen 15, 16).

3.9 Die Sorten Schneebergkirsche (K44) und Ähnlich Große Prinzessinkirsche (K56)

Reifezeit: Die Sorte Schneebergkirsche (K44) und die Sorte Ähnlich Große Prinzessinkirsche (K56) wurden beide am 29. Juni gepflückt.

Standort: Beide Kirschbäume stehen in der Kirschenallee.

Proteine in Wasser gelöst: Die beiden Sorten haben ein ähnliches Proteinbandenmuster. In der Mitte des Gels liegen 5 sehr charakteristische Banden (Abbildungen 4,7,2). Nach einem Abstand darunter folgt ein sehr großer Block der von oben nach unten hin immer stärker gefärbt ist. Nach einem kleinen Abstand folgen noch weitere 5 Banden.

Proteine in Ethanol gelöst: Auch hier sieht man große Ähnlichkeit bei den Bandenmustern (Abbildungen 13, 14). Nach der stärksten Bande, die am nächsten zur Anode liegt, folgen zwei weitere markante Banden. Nach einem größeren Abstand sieht man eine Bande gefolgt von drei Banden, die eng beieinander liegen. Sechs weitere Banden sind noch in Richtung Kathode sichtbar.

Esterasen:

Hier sind jedoch Unterschiede zwischen den beiden Sorten zu sehen (Abbildungen 17, 18). Nahe bei der Kathode liegen bei der Sorte Ähnlich Große Prinzessinkirsche (K56) 3 Banden, wohingegen es bei der Sorte Schneebergkirsche (K 44) nur 2 Banden sind. In der Mitte des Gels, ist bei der Schneebergkirsche (K44) eine Bande besonders stark konzentriert, wohingegen bei der ähnlich großen Prinzessinkirsche (K56) 3 Banden in dem Bereich gleich stark ausgebildet sind. Die Konzentration einer Bande kann aber auf unterschiedliche Klimabedingungen, oder auf andere Unterschiede von Bäumen innerhalb einer Sorte zurückzuführen sein und ist nicht eindeutig ein Unterscheidungskriterium zwischen zwei verschiedenen Sorten. Um es in diesem Fall abklären zu können, müssten noch weitere Untersuchungen vorgenommen werden.

Peroxidasen:

Für die Sorte Schneebergkirsche (K44) konnte kein Ergebnis mehr erreicht werden (Abbildung 15). Zu diesem Zeitpunkt war das Material schon über ein halbes Jahr lang tiefgefroren. Man sieht nur ansatzweise die gleichen Banden, wie bei der Sorte Prinzessinkirsche (K56, Abbildung 16).

3.10 Die Sorte Königgrätzer Kirsche (K22) und die Epps Späte (K9)

Reifezeit: Die Sorte Königgrätzer Kirsche (K22) wurde am 21. Juni und die Sorte Epps Späte (K9) wurde am 29. Juni geerntet.

Standort: Beide Kirschbäume stehen in der Kirschenallee.

Proteine in Wasser gelöst: Von beiden Sorten sind die Banden weit im anodischen Bereich eingewandert (Abbildungen 6, 7). Es ist eine breitere Bande vorhanden, nach einem Abstand folgt eine weitere markante Bande und dann noch eine dünne Bande.

Proteine in Ethanol gelöst: Bei der Sorte Epps Späte (K9) konnte leider kein Ergebnis erzielt werden. Die Sorte (K22) ist in Abbildung 13 abgebildet.

Esterasen:

Anhand der Esterasen kann ein Unterschied in den Bandenmustern erkannt werden. Die Sorte Epps Späte (K9) hat eine sehr starke Bande in der Mitte des Gels (Abbildung 17). Die Epps Späte hat außerdem nahe bei der Kathode zwei Banden, wohingegen die Sorte Königgrätzer Kirsche nur eine Bande bei der Kathode hat (Abbildung 18).

Peroxidasen:

Mithilfe der Peroxidasen sind die beiden Sorten nicht eindeutig auseinander zu halten (Abbildung 16). Beide Sorten haben eine kräftige Bande bei der Kathode, wobei die Bande der Epps Späten wesentlich dicker ist, d.h. es liegen mehr Banden aneinander. Nahe der Anode zeigen beide Sorten ein ähnliches Bandenmuster, jedoch ist die Konzentration der Sorte Königgrätzer Kirsche (K22) stärker. Eine Bande oberhalb der untersten Bande ist bei dieser Sorte gut zu sehen, die bei der Sorte Epps Späte (K9) kaum zu sehen ist.

3.11 Die Sorte Josefs Kirsche (K60) und die Sorte Bigarreau Burlat (K1)

Reifezeit: Die Sorte Josefs Kirsche (K60) wurde am 21. Juni geerntet, wohingegen die Sorte Bigarreau Burlat (K1) einige Tage früher, in der 24. Woche gepflückt wurde.

Standort: Beide Sorten stehen im Museumsdorf.

Proteine in Ethanol gelöst: Beide Sorten haben Banden von der Gelmitte in Richtung Anode. Die letzten 5 Banden vor der Anode sind besonders gut ausgeprägt. Sorte (K60) siehe Abbildung 14 und Sorte (K1) siehe Abbildung 13.

Proteine in Wasser gelöst: Dabei zeigen die beiden Sorten ein sehr ähnliches Bandenmuster (Abbildungen 1 und 2). Im mittleren Bereich ist ein sehr intensiver Block, der sich aus vielen Banden zusammensetzt. Darunter folgen weitere 4 Banden, wobei die letzte Bande, am nächsten zur Anode, besonders deutlich sichtbar und scharf abgegrenzt ist.

Esterasen:

Leider war kein Probematerial von der Sorte Bigarreau Burlat (K1) mehr vorhanden. Die Sorte Josefs Kirsche (K60) hat vor allem auffallend viele und dicke Banden in der Nähe der Kathode. In der Mitte des Gels liegt eine weitere auffallende Bande mit einem diffus gefärbten Bereich unterhalb dieser Bande (Abbildung 18).

Peroxidasen:

Hier konnten Untersuchungen mit der Sorte Bigarreau Burlat (K1) durchgeführt werden, jedoch sind ganz schwache Banden zu sehen (Abbildung 16). Bei der Sorte Josefs Kirsche (K60) sind mehr und stärker gefärbte Banden zu sehen (Abbildung 15), als bei der Sorte Bigarreau Burlat (K1).

3.12 Die Sorte Dönissens Gelbe Knorpelkirsche (K4)

Reifezeit: 29. Juni

Standort: Kirschenallee

Proteine in Ethanol gelöst: Die Sorte Dönissens Gelbe Knorpelkirsche (K4) hat eine Bande, die am weitesten in den anodischen Bereich eingewandert ist (Abbildung 12). Darauf folgt ein größerer Abstand. Dann sieht man einen Block mit 6 Banden, wovon die erste Bande am stärksten gefärbt ist. Es gibt noch einige weitere Banden, die im anodischen Bereich am wenigsten weit eingewandert sind. Auffallend sind zwei Banden in der Nähe der Kathode.

Die Proteine der Sorte K4 in Wasser gelöst sind in Abbildung 5 und 8 dargestellt.

Esterasen:

Dabei sind im mittleren Bereich des Gels 4 kräftige Banden zu sehen (Abbildung 17 und 18). Das Bandenmuster der Dönissens Gelben Knorpelkirsche (K4) ähnelt dem der unbekannten Sorte K61, Abbildung 18.

3.13 Die Sorte Schwarze Knorpelkirsche (K47)

Reifezeit: 21. Juni

Standort: Kirschenallee

Proteine in Wasser gelöst: In der Nähe der Anode sind drei Banden, gefolgt von einer stark gefärbten Bande und einem kleinen Block bestehend aus mehreren Banden. Weiter oben in Richtung der Kathode gibt es 4 Banden (Abbildungen 3, 5, 6).

Esterasen:

Bei den Esterasebanden ist besonders die zweite Bande von unten auffallend. Die meisten anderen Sorten haben an dieser Stelle keine Bande. Im mittleren Bereich sind drei Banden zu sehen und bei der Kathode vier weitere Banden (Abbildung 18).

Peroxidasen:

Das Peroxidasemuster der Sorte Schwarze Knorpelkirsche (K47) ähnelt der Sorte Ähnlich Große Prinzessinkirsche (K56). Die Schwarze Knorpelkirsche (K47) hat einige nah beieinanderliegende Banden in einigem Abstand von der Anode und danach noch eine Bande (Abbildung 15).

3.14 Die Eibesthaler Kirsche (K57)

Reifezeit: 21. Juni

Standort: Museumsdorf

Proteine in Wasser gelöst: Die Sorte hat bei der Anode 4 Banden in gleichem Abstand voneinander entfernt und darüber einen stärker gefärbten Block.

Proteine in Ethanol gelöst: Die Eibesthaler Kirsche (K57) unterscheidet sich von anderen Sorten, durch zwei Banden sehr nahe bei der Anode, die den anderen Sorten fehlen. Weiter oben gibt es eine markante Bande, an die eine weitere angrenzt (Abbildung 13).

Esterasen:

Sie hat zwei starke Banden weit im kathodischen Bereich und eine Bande unterhalb der Probenauftragsstelle. Eine sehr kräftige Bande ist in der Mitte des Gels zu sehen (Abbildungen 17, 18).

Peroxidasen:

Man sieht eine schwache Bande in der Nähe der Anode. Die Sorte Eibesthalerkirsche (K57) hat oberhalb noch eine weitere Bande, die bei der Sorte Dunkle Prinzessinkirsche (K38) fehlt (Abbildung 16).

3.15 Die Kritzendorfer Kirsche (K26)

Reifezeit: 21. Juni

Standort: Kirschenallee

Proteine in Wasser gelöst: Sehr nahe bei der Anode befinden sich zwei Banden (Abbildung 12). Weiter oben folgt ein Block mit 6 Banden. Danach ist eine markante Bande sichtbar, gefolgt von einem intensiv gefärbten Block.

Proteine in Ethanol gelöst: Dabei konnte kein Ergebnis erzielt werden. (Abbildung 13).

Esterasen:

Die Esterasen der Kritzendorfer Kirsche (K26) zeigen eine Bande unterhalb der Probenauftragsstelle. Weiter in Richtung Anode folgen noch weitere 4 Banden. Das

Esterasemuster der Kritzendorfer Kirsche ist sehr ähnlich mit dem der Sorte Große Germersdorfer (K15, Abbildung 18).

Peroxidasen:

Zu diesem Zeitpunkt war kein brauchbares Probenmaterial vorhanden.

3.16 Argentinische Kirsche – handelsübliche, neue Sorte

Die zum Vergleich untersuchten argentinischen Kirschen haben deutlich mehr Banden als die alten Sorten. (Abbildung 11). Sie haben vier sehr kräftige Banden unterhalb der Mitte des Gels. Noch näher zur Anode sind drei Banden sichtbar. In der Mitte des Gels unterhalb der Auftragsstelle sind 4 dünne Banden und bei der Kathode noch 2 Banden deutlich sichtbar. Das Bandenmuster der argentinischen Kirschen unterscheidet sich auffallend von denen der untersuchten alten Sorten.

4 Bandenmuster

Wenn ein Probenextrakt einer Sorte mehrere Male aufgetragen wurde, so werden die Bandenmuster mit dem Zusatz a, b, c etc. bezeichnet.

4.1 Verzeichnis der untersuchten Sorten

Ähnlich Große Prinzessinkirsche K56

Argentinische Kirsche

Bigarreau Burlat K1

Dönissens Gelbe Knorpelkirsche K4

Dunkle Prinzessinkirsche K38

Eibesthaler Kirsche K57

Eibesthaler Weichsel K6a

Epps Späte K9

Große Germersdorfer K15

Josefs Kirsche K60

Kassins Frühe K21

Königgrätzer Kirsche K22

Königliche Amarelle K24

Köröser Weichsel K25

Kritzendorfer Kirsche K26

Lokalsorte

Ostheimer Weichsel K33

Prinzessinkirsche K36 a,b

Schattenmorelle K41

Schneebergkirsche K 44

Schneiders Späte Knorpelkirsche K45 a,c

Schwarze Knorpelkirsche K47

Späte bunte Knorpelkirsche K49

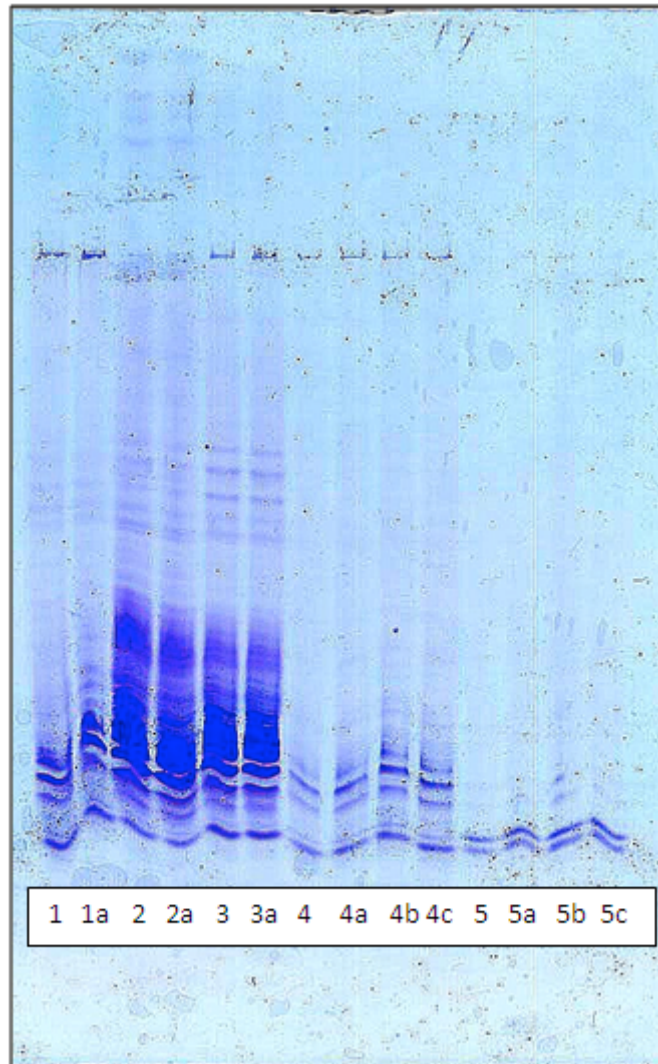
Sulzer Frühkirsche K58

Unbekannte Sorte K61

Vogelkirsche

4.2 Proteine in Wasser gelöst

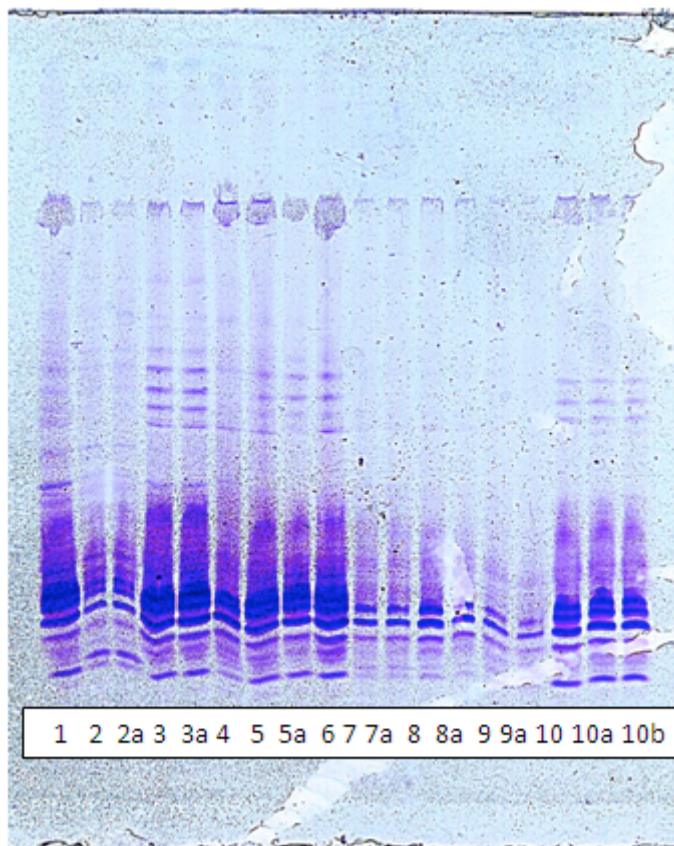
Abbildung 1- Bigarreau Burlat, Lokalsorte, Josefs Kirsche, Vogelkirsche, Königliche Amarelle



Proteine in Wasser gelöst:

- | | | |
|---|---------------------|-----|
| 1 | Bigarreau Burlat | K1 |
| 2 | Lokalsorte | |
| 3 | Josefs Kirsche | K60 |
| 4 | Vogelkirsche | |
| 5 | Königliche Amarelle | K24 |

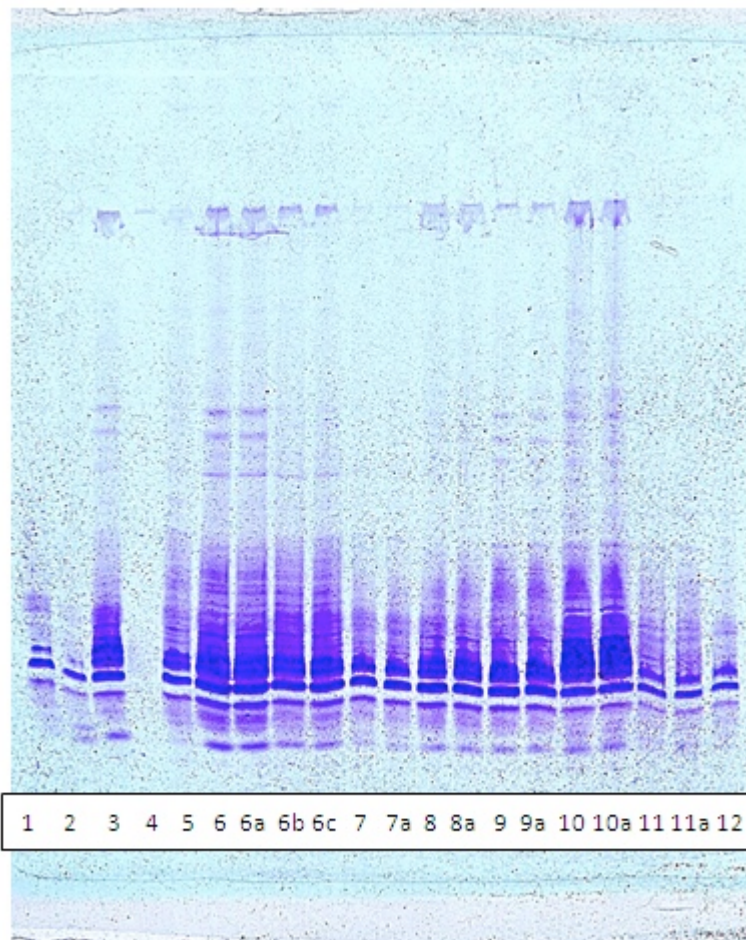
Abbildung 2 - Bigarreau Burlat, Kassins Frühe, Schneebergkirsche, Königgrätzer Kirsche, Josefs Kirsche, Ähnlich Große Prinzessinkirsche, Schneiders Späte Knorpelkirsche, Große Germersdorfer, Sulzer Frühkirsche, Späte bunte Knorpelkirsche



Proteine in Wasser gelöst:

- 1 Bigarreau Burlat K1
- 2 Kassins Frühe K21
- 3 Schneebergkirsche K44
- 4 Königgrätzer Kirsche K22
- 5 Josefs Kirsche K60
- 6 Ähnlich Große Prinzessinkirsche K56
- 7 Schneiders Späte Knorpelkirsche K45c
- 8 Große Germersdorfer K15
- 9 Sulzer Frühkirsche K58
- 10 Späte bunte Knorpelkirsche K49

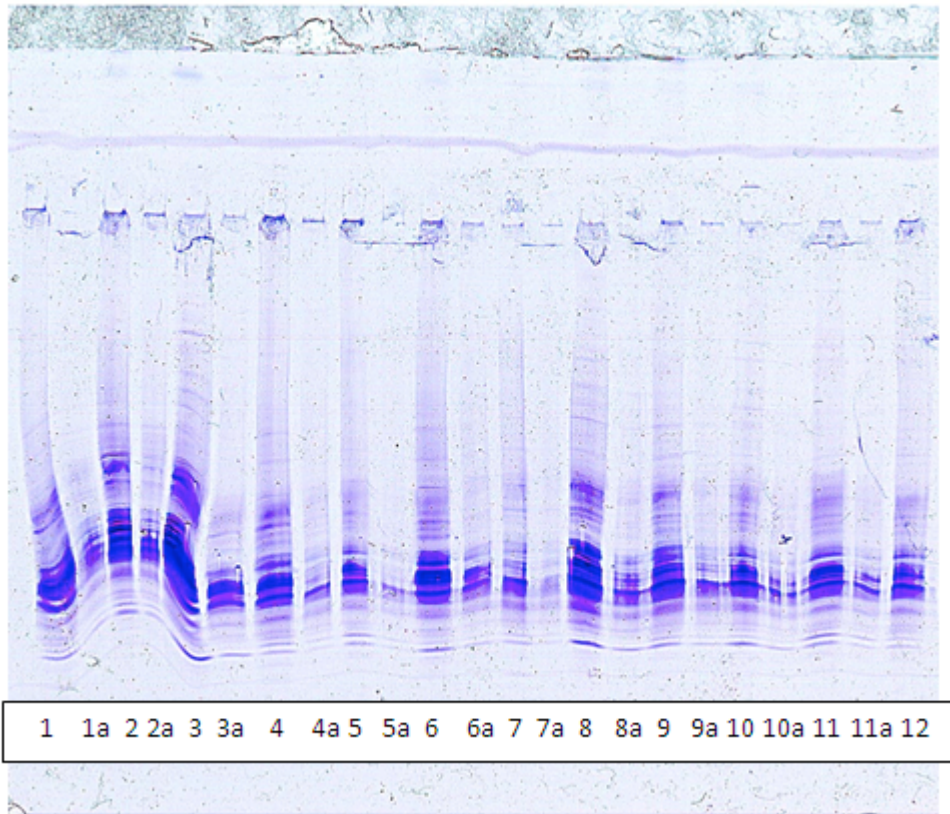
Abbildung 3 - Sulzer Frühkirsche, Kassins Frühe, Schwarze Knorpelkirsche, Köröser Weichsel, Epps Späte, Prinzessinkirsche, Große Germersdorfer, Eibesthaler Kirsche, Schneebergkirsche, Ostheimer Weichsel, Schneiders Späte Knorpelkirsche



Proteine in Wasser gelöst:

- 1 Sulzer Frühkirsche K58
- 2 Kassins Frühe K21
- 3 Schwarze Knorpelkirsche K47
- 4 Köröser Weichsel K25
- 5 Epps Späte K9
- 6 Prinzessinkirsche K36b
- 7 Große Germersdorfer K15
- 8 Eibesthaler Kirsche K57
- 9 Schneebergkirsche K44
- 10 Ostheimer Weichsel K33
- 11 Schneiders Späte
Knorpelkirsche K45c
- 12 Sulzer Frühkirsche K58

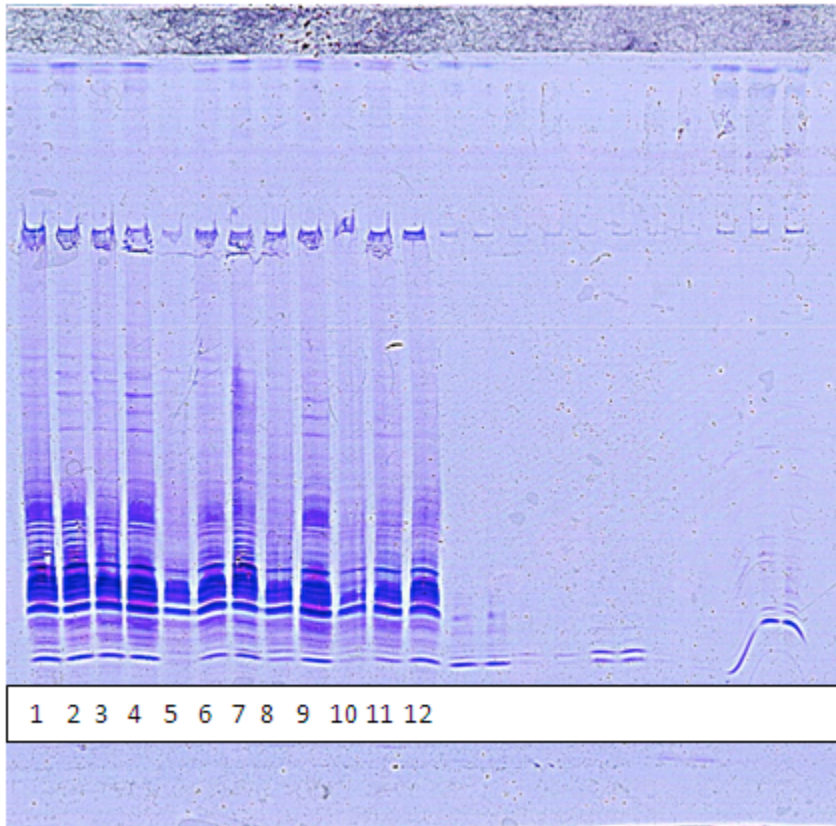
Abbildung 4 – Lokalsorte, Vogelkirsche, Unbekannte Sorte, Schneiders Späte Knorpelkirsche, Kassins Frühe, Eibesthaler Weichsel, Knorpelkirsche, Ähnlich Große Prinzessinkirsche, Epps Späte, Schneebergkirsche, Sulzer Fröhkirsche



Proteine in Wasser gelöst:

- 1 Lokalsorte
- 2 Vogelkirsche
- 3 Unbekannte Sorte (K61)
- 4 Schneiders Späte Knorpelkirsche (K 45c)
- 5 Kassins Frühe (K 21)
- 6 Eibesthaler Weichsel (K 6 A)
- 7 Schneiders Späte Knorpelkirsche (K 45 a)
- 8 Ähnlich Große Prinzessinkirsche (K 56)
- 9 Epps Späte (K 9)
- 10 Schneebergkirsche (K 44)
- 11 Kassins Frühe (K 21)
- 12 Sulzer Fröhkirsche (K 58)

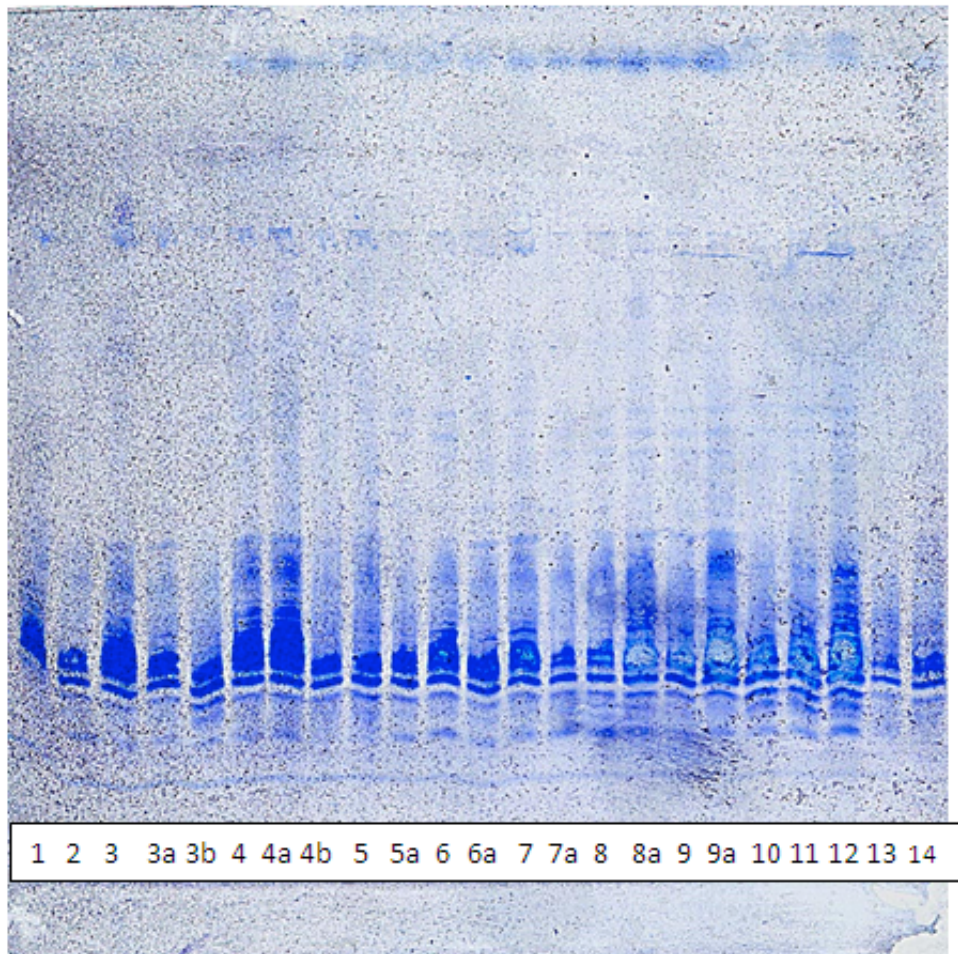
Abbildung 5 - Ostheimer Weichsel, Dönissens gelbe Knorpelkirsche, Josefs Kirsche, Späte bunte Knorpelkirsche, Königliche Amarelle, Köröser Weichsel, Schattenmorelle, Dunkle Prinzessinkirsche, Große Germersdorfer, Schwarze Knorpelkirsche



Proteine in Wasser gelöst:

- 1 Ostheimer Weichsel K33
- 2 Dönissens gelbe Knorpelkirsche K4
- 3 Josefs Kirsche K60
- 4 Späte bunte Knorpelkirsche K49
- 5 Königliche Amarelle K23
- 6 Köröser Weichsel K25
- 7 Schattenmorelle K41
- 8 Dunkle Prinzessinkirsche K38
- 9 Prinzessinkirsche K36b
- 10 Große Germersdorfer K15
- 11 Prinzessinkirsche K36a
- 12 Schwarze Knorpelkirsche K47

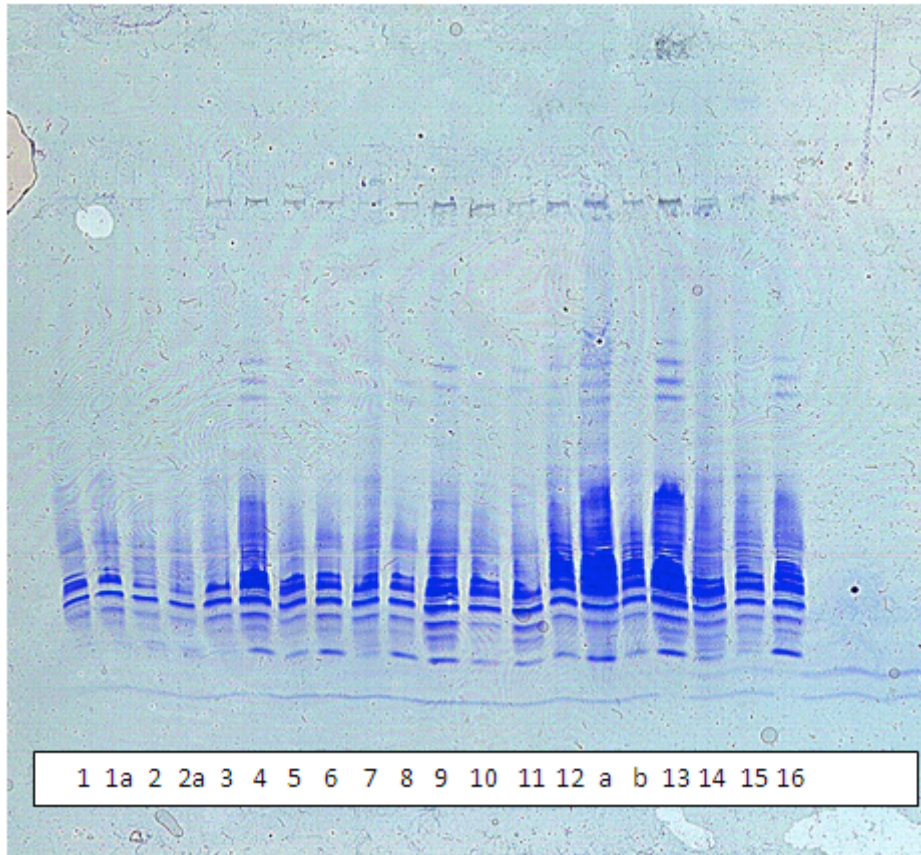
Abbildung 6 - Epps Späte, Schneiders Späte Knorpelkirsche, Prinzessinkirsche, Schneebergkirsche, Späte bunte Knorpelkirsche, Bigarreu Burlat, Schwarze Knorpelkirsche, Königgrätzer Kirsche, Ostheimer Weichsel, Prinzessinkirsche, Bigarreu Burlat, Ostheimer Weichsel



Proteine in Wasser gelöst:

- 1 Epps Späte (K 9)
- 2 Schneiders Späte Knorpelkirsche (K 45c)
- 3 Prinzessinkirsche (K 36b)
- 4 Schneebergkirsche (K 44)
- 5 Späte bunte Knorpelkirsche (K 49)
- 6 Bigarreu Burlat (K 1)
- 7 Schwarze Knorpelkirsche (K 47)
- 8 Königgrätzer Kirsche (K 22)
- 9 Ostheimer Weichsel (K 33)
- 10 Prinzessinkirsche (K 36b)
- 11 Bigarreu Burlat (K 1)
- 12 Ostheimer Weichsel (K 33)
- 13 Späte Bunte Knorpelkirsche (K 49)
- 14 Königgrätzer Kirsche (K 22)

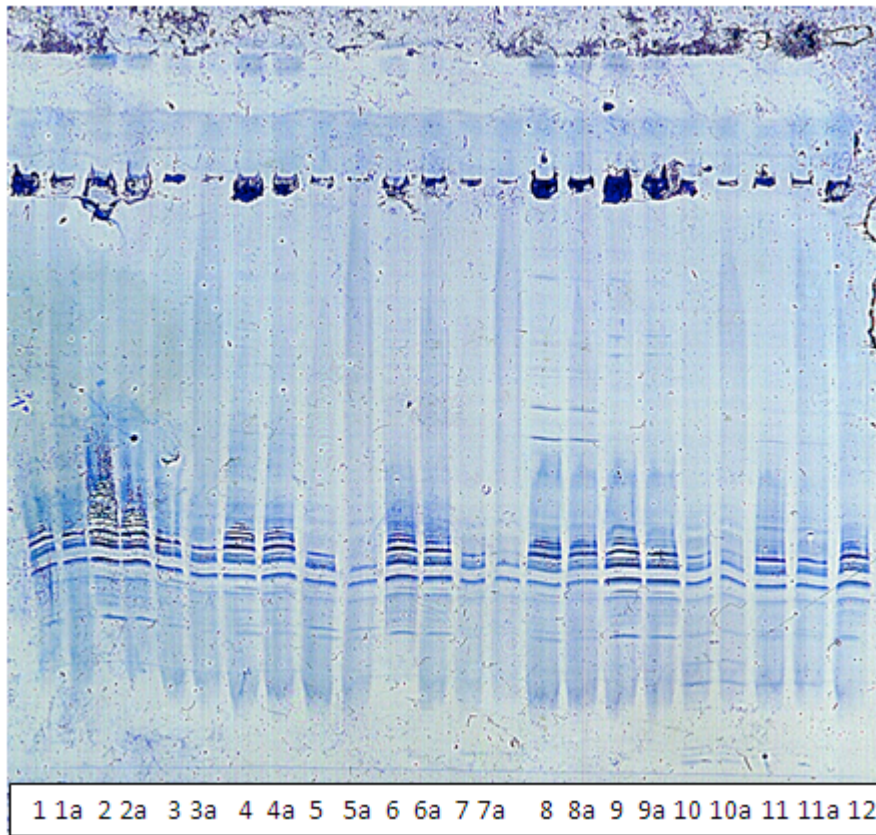
Abbildung 7 - Epps Späte, Schneiders Späte Knorpelkirsche, Königgrätzer Kirsche, Schneebergkirsche, Bigarreu Burlat, Späte Bunte Knorpelkirsche, Prinzessinkirsche, Ostheimer Weichsel



Proteine in Wasser gelöst:

- 1 Epps Späte (K9)
- 2 Schneiders Späte Knorpelkirsche (K45 c)
- 3 Königgrätzer Kirsche (K 22)
- 4 Schneebergkirsche (K 44)
- 5 Bigarreu Burlat (K 1)
- 6 Späte Bunte Knorpelkirsche(K49)
- 7 Schneiders Späte Knorpelkirsche (K 45a)
- 8 Späte Bunte Knorpelkirsche (K 49)
- 9 Prinzessinkirsche(K 36b)
- 10 Bigarreu Burlat (K 1)
- 11 Prinzessinkirsche (K 36b)
- 12 Ostheimer Weichsel (K 33)
- 13 Schneebergkirsche (K 44)
- 14 Königgrätzer Kirsche (K 22)
- 15 Epps Späte(K 9)
- 16 Späte bunte Knorpelkirsche (K 49)

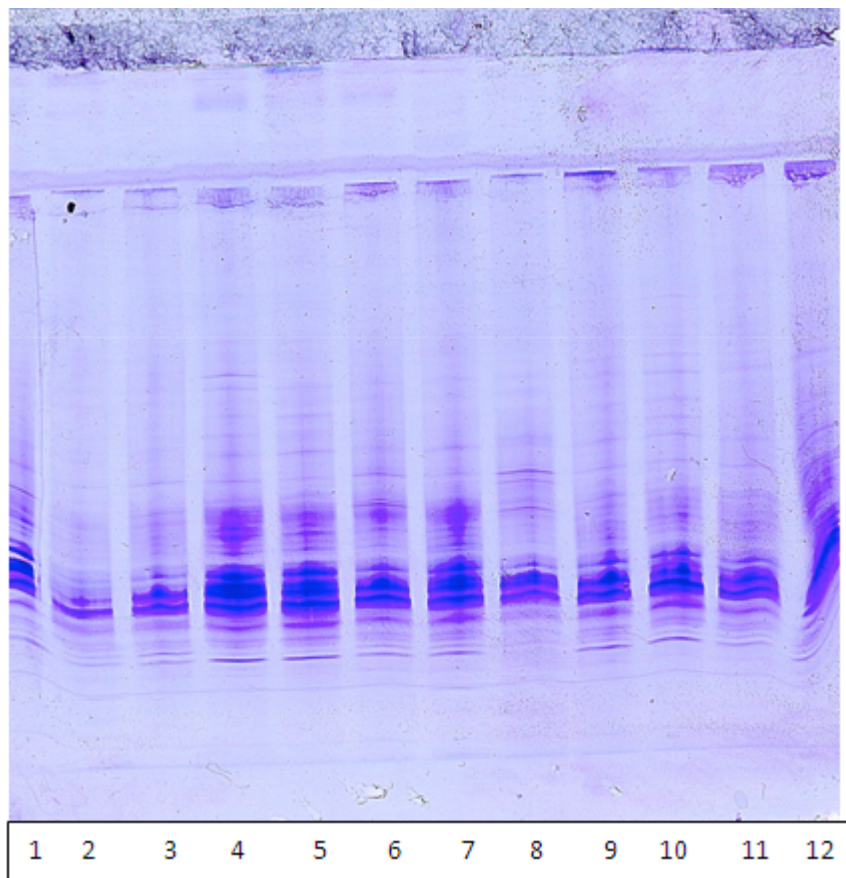
Abbildung 8 -Eibesthaler Kirsche, Königliche Amarelle, Koröser Weichsel, Eibesthaler Weichsel, Kassins Frühe, Dönissens Gelbe Knorpelkirsche, Dunkle Prinzessinkirsche, Vogelkirsche, unbekannte Sorte, Lokalsorte, Schneiders Späte Knorpelkirsche, Schattenmorelle



Proteine in Wasser gelöst, jede Sorte wurde zweimal aufgetragen:

- 1 Eibesthaler Kirsche K 57
- 2 Königliche Amarelle K 23
- 3 Koröser Weichsel K 25
- 4 Eibesthaler Weichsel K 6 A
- 5 Kassins Frühe K 21
- 6 Dönissens Gelbe Knorpelkirsche K 4
- 7 Dunkle Prinzessinkirsche K 38
- 8 Vogelkirsche
- 9 unbekannte Sorte K 61
- 10 Lokalsorte
- 11 Schneiders Späte Knorpelkirsche K 45 c
- 12 Schattenmorelle K 41

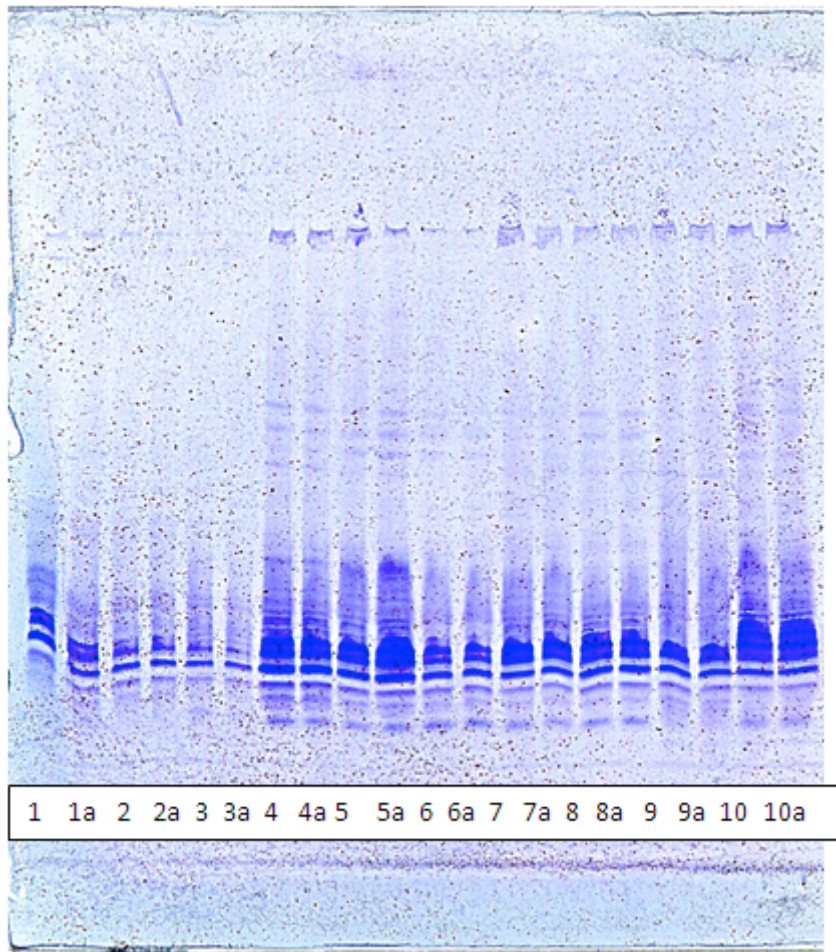
Abbildung 9 -Eibesthaler Weichsel, Schneiders Späte Knorpelkirsche, Kassins Frühe, unbekannte Sorte, Ähnlich Große Prinzessinkirsche, Vogelkirsche, Lokalsorte, Königliche Amarelle, Bigarreu Burlat, Königgrätzer Kirsche, Ostheimer Weichsel



Proteine in Wasser gelöst:

- 1 Eibesthaler Weichsel (K 6 A)
- 2 Schneiders Späte Knorpelkirsche (K 45 c)
- 3 Kassins Frühe (K 21)
- 4 unbekannte Sorte (K 61)
- 5 Ähnlich Große Prinzessinkirsche (K 56)
- 6 Vogelkirsche
- 7 Lokalsorte
- 8 Königliche Amarelle (K 24)
- 9 Bigarreu Burlat (K 1)
- 10 Bigarreu Burlat (K 1)
- 11 Königgrätzer Kirsche (K 22)
- 12 Ostheimer Weichsel (K 33)

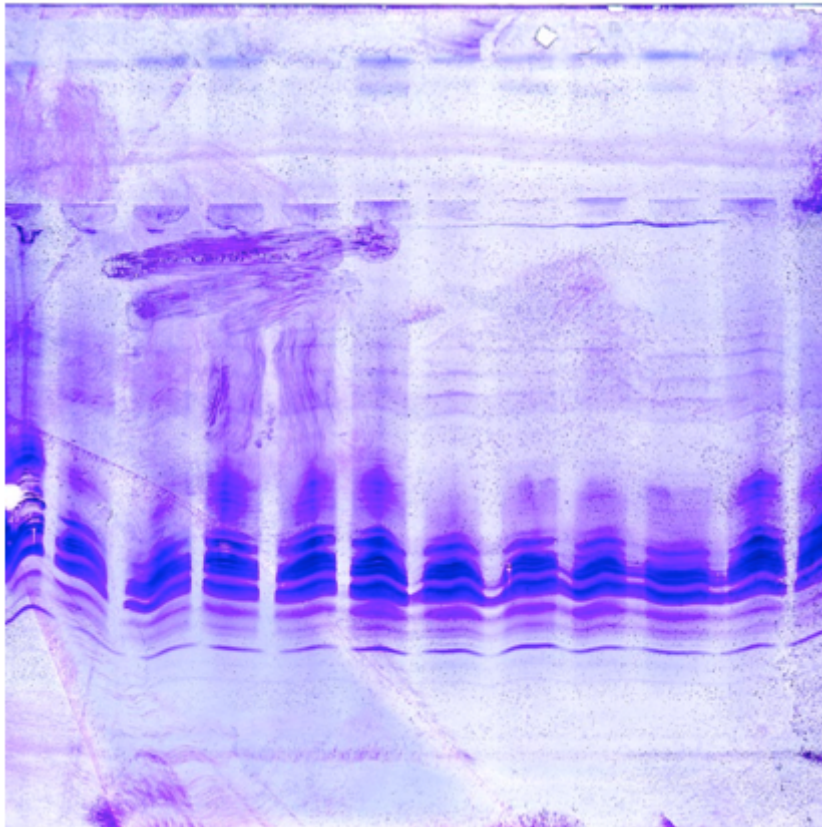
Abbildung 10 - Epps Späte, Schneiders Späte Knorpelkirsche, Prinzessinkirsch, Große Germersdorfer, Eibesthaler Kirsche, Schneebergkirsche, Ostheimer Weichsel



Proteine in Wasser gelöst:

- 1 Epps Späte K9
- 2 Epps Späte K9
- 3 Schneiders Späte Knorpelkirsche K45c
- 4 Prinzessinkirsche K36b
- 5 Prinzessinkirsche K36a
- 6 Große Germersdorfer K15
- 7 Eibesthaler Kirsche K57
- 8 Schneebergkirsche K44
- 9 Ostheimer Weichsel K33
- 10 Schneiders Späte Knorpelkirsche K45c

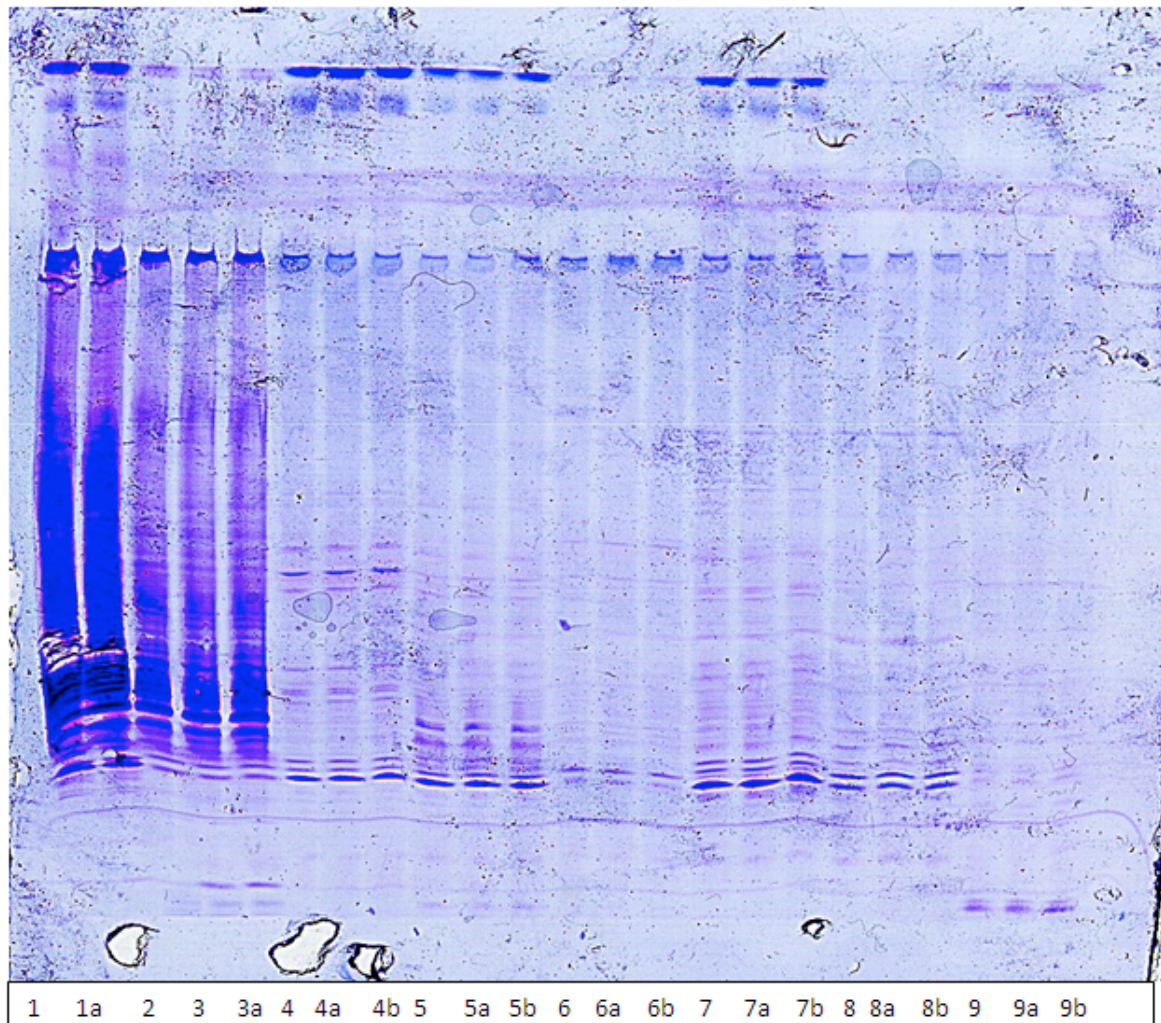
Abbildung 11 – Argentinische Kirschensorte



Proteine in Wasser gelöst:

Argentinische Kirschensorte mehrfach
aufgetragen

Abbildung 12 – Schattenmorelle, Große Germersdorfer, Kritzendorfer Kirsche, Argentinische Kirsche, Schneiders Späte Knorpelkirsche, Dönissens Gelbe Knorpelkirsche, Kassins Frühe, Ostheimer Weichsel

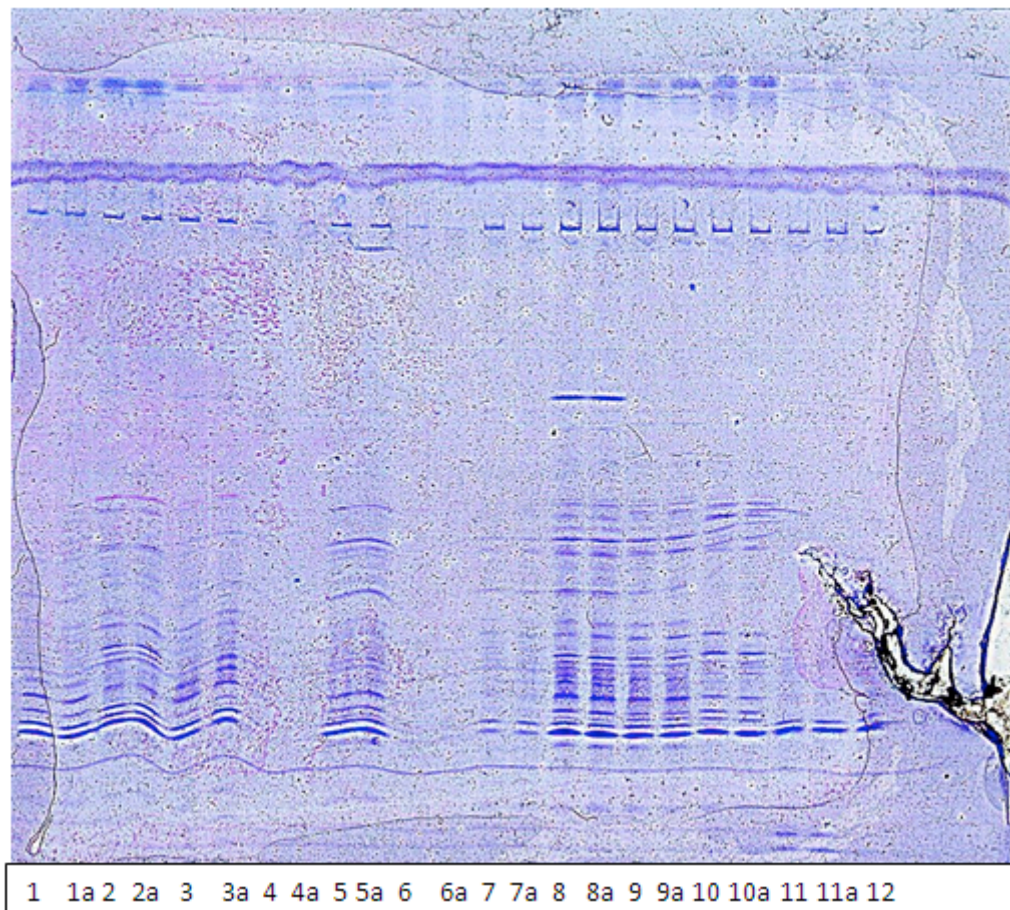


Die Proteine der Proben 1, 2, 3 in Wasser gelöst. Die restlichen Proben sind in Ethanol gelöst:

- 1 Schattenmorelle (K 24)
- 2 Große Germersdorfer (K 15)
- 3 Kritzendorfer Kirsche (K 26)
- 4 Argentinische Kirsche
- 5 Schneiders Späte Knorpelkirsche (K 45a)
- 6 Schneiders späte Knorpelkirsche (K 45c)
- 7 Dönissens Gelbe Knorpelkirsche (K 4)
- 8 Kassins Frühe (K 21)
- 9 Ostheimer Weichsel (K 33)

4.3 Proteine in Ethanol gelöst

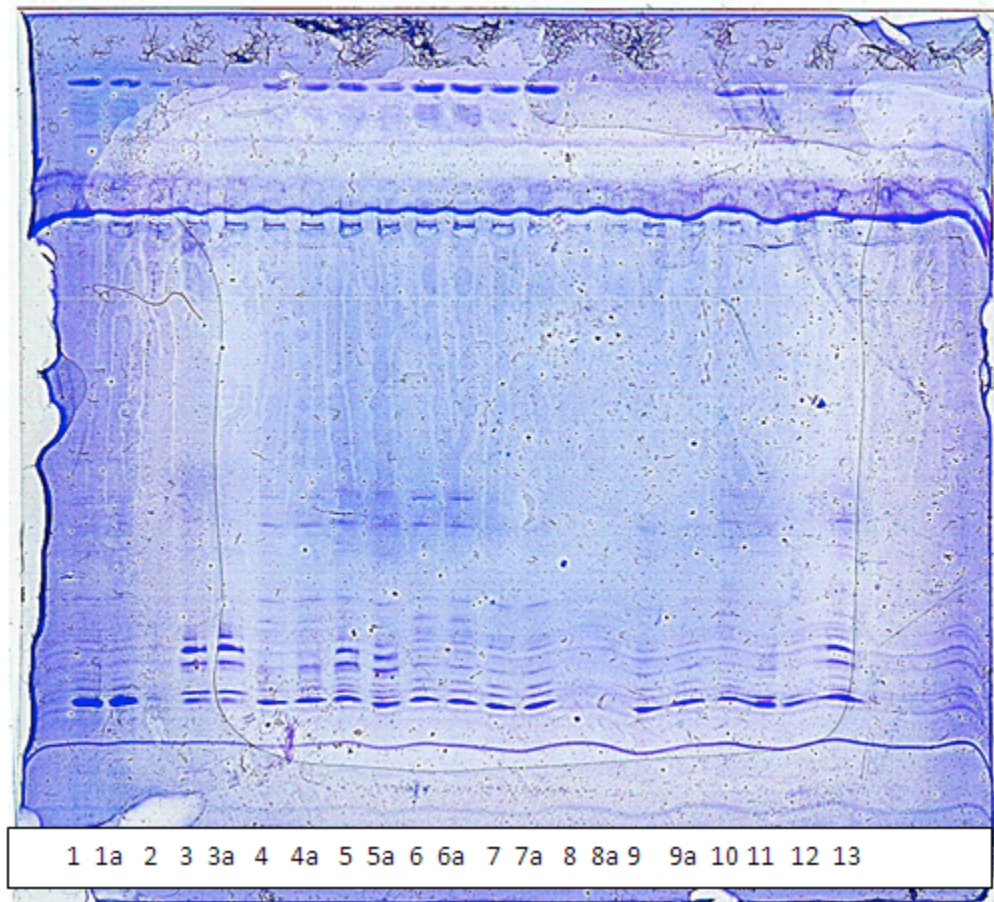
Abbildung 13 - Eibesthaler Weichsel, Ähnlich Große Prinzessinkirsche, Sulzer Fröhkirsche, Kritzendorfer Kirsche, Bigarreau Burlat, Köröser Weichsel, Große Germersdorfer, Vogelkirsche, Dunkle Prinzessinkirsche, Schneebergkirsche, Eibesthaler Kirsche, Königgrätzer Kirsche



Proteine in Ethanol gelöst:

- | | | |
|----|---------------------------------|-------|
| 1 | Eibesthaler Weichsel | K 6 A |
| 2 | Ähnlich Große Prinzessinkirsche | K56 |
| 3 | Sulzer Fröhkirsche | K58 |
| 4 | Kritzendorfer Kirsche | K26 |
| 5 | Bigarreau Burlat | K1 |
| 6 | Köröser Weichsel | K25 |
| 7 | Große Germersdorfer | K15 |
| 8 | Vogelkirsche | |
| 9 | Dunkle Prinzessinkirsche | K38 |
| 10 | Schneebergkirsche | K44 |
| 11 | Eibesthaler Kirsche | K57 |
| 12 | Königgrätzer Kirsche | K22 |

Abbildung 14 - Königliche Amarelle, Lokalsorte, Kassins Frühe, Späte bunte Knorpelkirsche, Dunkle Prinzessinkirsche, Schneebergkirsche, Prinzessinkirsche, Epps Späte, Josefs Kirsche, Sorte unbekannt, Ostheimer Weichsel, Eibesthaler Kirsche

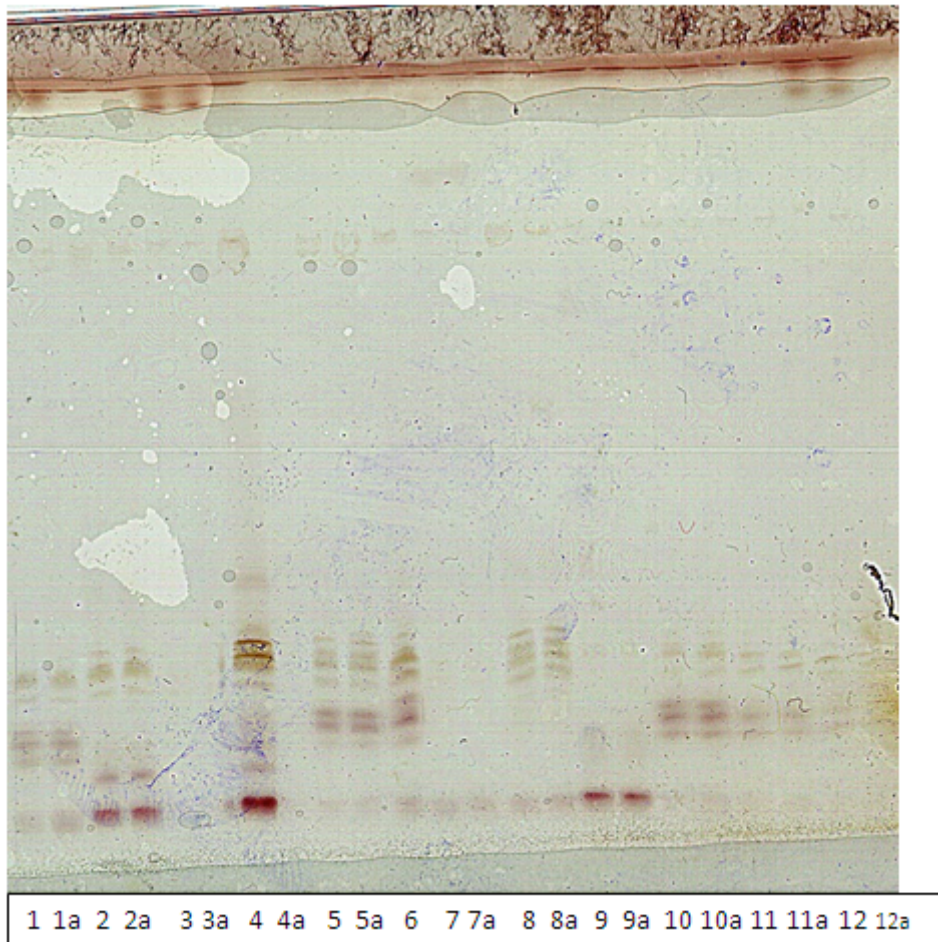


Proteine in Ethanol gelöst:

- 1 Königliche Amarelle (K 24)
- 2 Lokalsorte
- 3 Kassins Frühe (K 21)
- 4 Späte bunte Knorpelkirsche (K 49)
- 5 Dunkle Prinzessinkirsche (K 38)
- 6 Schneebergkirsche (K 44)
- 7 Prinzessinkirsche (K 36b)
- 8 Epps Späte (K 9)
- 9 Josefs Kirsche (K 60)
- 10 Sorte unbekannt (K 61)
- 11 Späte bunte Knorpelkirsche (K 49)
- 12 Ostheimer Weichsel (K 33)
- 13 Eibesthaler Kirsche (K 57)

4.4 Färbung der Peroxydasen

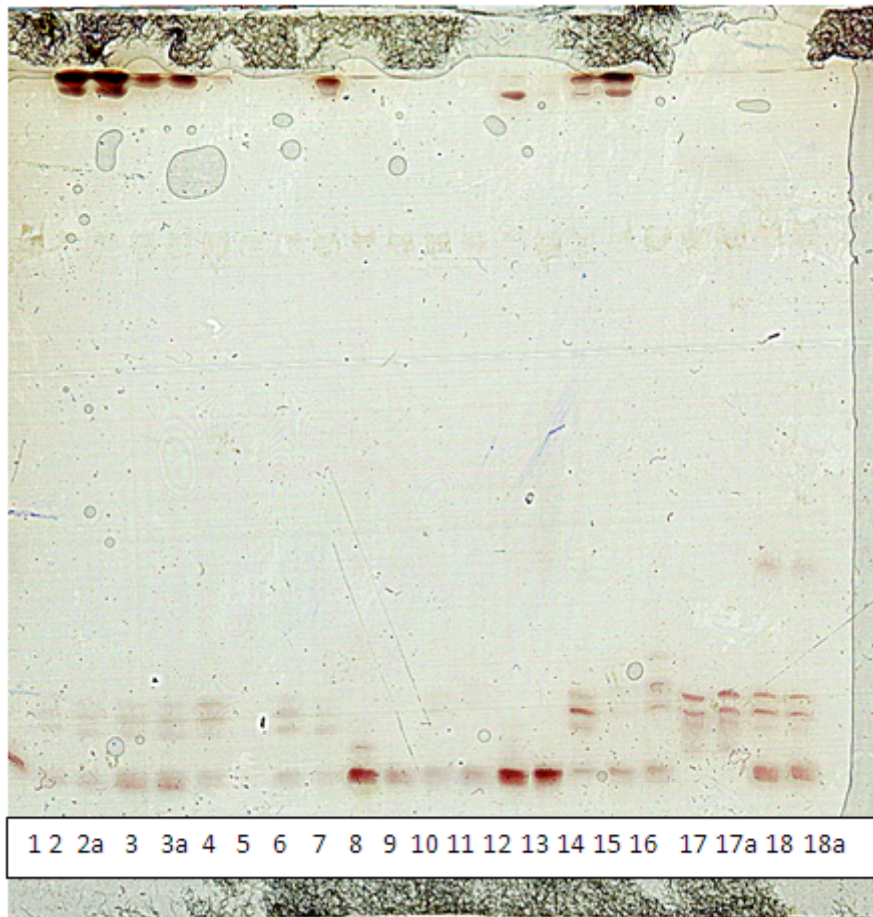
Abbildung 15 – Vogelkirsche, Köröser Weichsel, Schneiders Späte Knorpelkirsche, Ostheimer Weichsel, Ähnlich Große Prinzessinkirsche, Josefs Kirsche, Sulzer Frühlkirsche, Prinzessinkirsche, Königliche Amarelle, Schwarze Knorpelkirsche, Bigarreau Burlat, Schneebergkirsche



Färbung der Peroxydasen

1. Vogelkirsche
2. Köröser Weichsel K 25
3. Schneiders Späte Knorpelkirsche K 45c
4. Ostheimer Weichsel K 33
5. Ähnlich Große Prinzessinkirsche K 36b
6. Josefs Kirsche K 60
7. Sulzer Frühlkirsche K 58
8. Prinzessinkirsche K 36b
9. Königliche Amarelle K 24
10. Schwarze Knorpelkirsche K 47
11. Bigarreau Burlat K 1
12. Schneebergkirsche K 44

Abbildung 16 - Ostheimer Weichsel, Epps Späte, Vogelkirsche, Ähnlich Große Prinzessinkirsche, Kassins Frühe, Bigarreau Burlat, Eibesthaler Kirsche, Köröser Weichsel, Prinzessinkirsche, Unbekannte Sorte, Königgrätzer Kirsche, Königliche Amarelle, Dunkle Prinzessinkirsche, Späte Bunte Knorpelkirsche, Schattenmorelle, Dönissens Gelbe Knorpelkirsche

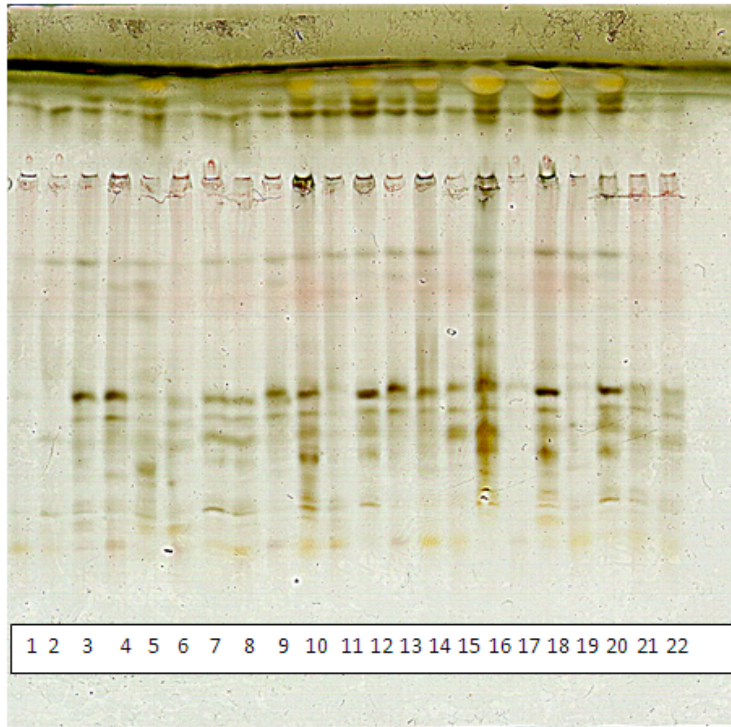


Färbung der Peroxydasen

- 1 Ostheimer Weichsel (K33)
- 2 Epps Späte (K9)
- 3 Vogelkirsche
- 4 Ähnlich Große Prinzessinkirsche (K56)
- 5 Kassins Frühe (K21)
- 6 Bigarreau Burlat (K1)
- 7 Eibesthaler Kirsche (K57)
- 8 Köröser Weichsel (K25)
- 9 Prinzessinkirsche (K36b)
- 10 Unbekannte Sorte (K61)
- 11 Königgrätzer Kirsche (K22)
- 12 Königliche Amarelle (K24)
- 13 Ostheimer Weichsel (K33)
- 14 Königgrätzer Kirsche (K22)
- 15 Dunkle Prinzessinkirsche (K38)
- 16 Späte Bunte Knorpelkirsche (K49)
- 17 Schattenmorelle (K41)
- 18 Dönissens Gelbe Knorpelkirsche (K4)

4.5 Färbung der Esterasen

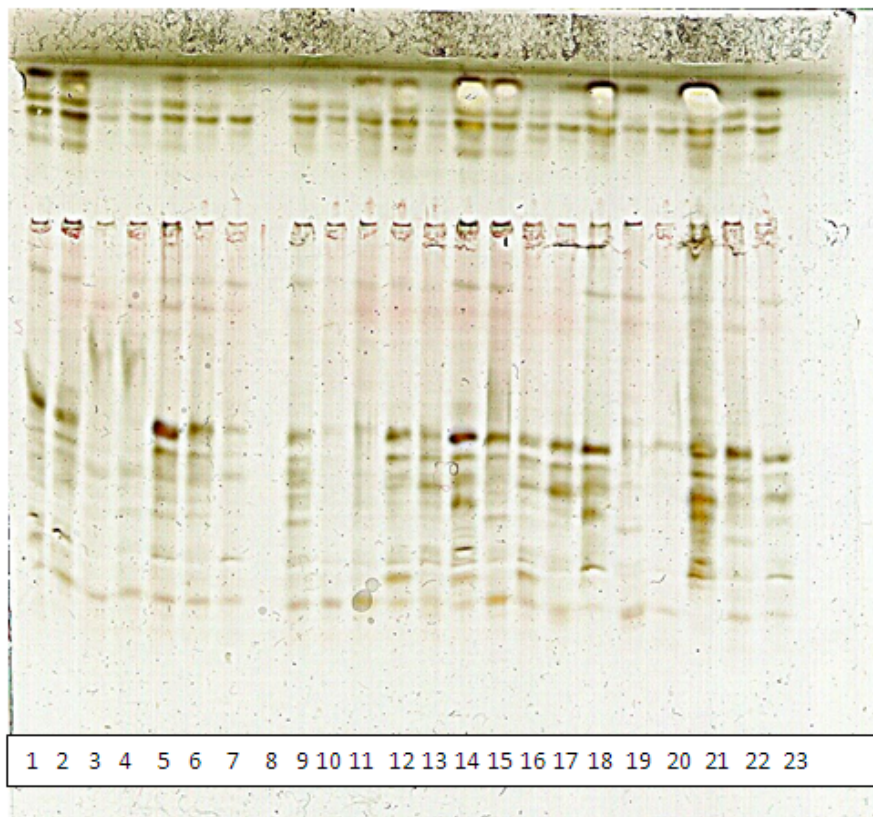
Abbildung 17 - Kassins Frühe, Königgrätzer Kirsche, Schneebergkirsche, Eibesthaler Kirsche, Köröser Weichsel, Vogelkirsche, Ähnlich Große Prinzessinkirsche, Unbekannte Sorte, Epps Späte, Ostheimer Weichsel, Prinzessinkirsche, Dunkle Prinzessinkirsche, Schattenmorelle, Sulzer Frühkirsche, Dönissens Gelbe Knorpelkirsche, Königliche Amarelle, Eibesthaler Weichsel K6A



Färbung der Esterasen

- 1 Kassins Frühe K21
- 2 Königgrätzer Kirsche K22
- 3 Schneebergkirsche K44
- 4 Eibesthaler Kirsche K57
- 5 Köröser Weichsel K25
- 6 Vogelkirsche
- 7 Ähnlich Große Prinzessinkirsche K56
- 8 Unbekannte Sorte (K61)
- 9 Epps Späte K9
- 10 Ostheimer Weichsel K33
- 11 Vogelkirsche
- 12 Prinzessinkirsche K36b
- 13 Schneebergkirsche K44
- 14 Dunkle Prinzessinkirsche K38
- 15 Ostheimer Weichsel K33
- 16 Schattenmorelle K41
- 17 Sulzer Frühkirsche K58
- 18 Dönissens Gelbe Knorpelkirsche K4
- 19 Königliche Amarelle K24
- 20 Unbekannte Sorte (K61)
- 21 Eibesthaler Weichsel K6A
- 22 Eibesthaler Weichsel K6A

Abbildung 18 – Schneeberg, Josefs Kirsche, Kritzendorfer Kirsche, Große Germersdorfer, Lokalsorte, Schneiders Späte Knorpelkirsche, Königgrätzer Kirsche, Kassins Frühe, Königliche Amarelle, Schwarze Knorpelkirsche, Eibesthaler Weichsel, Dönissens Gelbe Knorpelkirsche, Dunkle Prinzessinkirsche, Vogelkirsche, Ostheimer Weichsel, unbekannte Sorte, Sulzer Frühkirsche, Schattenmorelle, Eibesthaler Kirsche, Ähnlich Große Prinzessinkirsche



Esterasen

- 1 Schneebergkirsche K44
- 2 Josefs Kirsche K60
- 3 Kritzendorfer Kirsche K26
- 4 Große Germersdorfer K15
- 5 Lokalsorte
- 6 Schneiders Späte Knorpelkirsche K45a
- 7 Königgrätzer Kirsche K22
- 8 Keine Probe
- 9 Schneiders Späte Knorpelkirsche K45c
- 10 Kassins Frühe K21
- 11 Königliche Amarelle K24
- 12 Schwarze Knorpelkirsche K47
- 13 Eibesthaler Weichsel K6A
- 14 Dönissens Gelbe Knorpelkirsche K4
- 15 Dunkle Prinzessinkirsche K38
- 16 Vogelkirsche
- 17 Ostheimer Weichsel K33
- 18 unbekannte Sorte K61
- 19 Königliche Amarelle K24
- 20 Sulzer Frühkirsche K58
- 21 Schattenmorelle K41
- 22 Eibesthaler Kirsche K57
- 23 Ähnlich Große Prinzessinkirsche K56

5 Diskussion

Ziel der Arbeit war es, mit einer möglichst einfach zu handhabenden Methode eine Sortenidentifizierung von Kirschen über isoelektrophoretische Protein- bzw. Enzymmuster auszuarbeiten.

Die elektrophoretische Proteinanalyse wird grundsätzlich für Sortenunterscheidungen und zur Untersuchung genetisch bedingter Differenzen genutzt [GLATTES, 1982; FROMWALD, 1989; BARNA, 1973; GRAMMANITSCH, 1979]. So wurden von GLATTES [1982] österreichische Weizensorten untersucht, von GRAMMANITSCH [1979] wurden ebenfalls Weizensorten mithilfe der Elektrophorese bestimmt. FROMWALD [1989] untersuchte Knoblauchpopulationen.

MAIER et al. [1997] hält die Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE) von Speicherproteinen und Enzymen für eine geeignete Methode zur Sortenidentifizierung u.a. im Obstbau, wenn die Sortenbestimmung anhand morphologisch-anatomischer Merkmale problematisch ist.

Bei euryöken Wildpflanzen, wie z.B. Peroxidase-Untersuchungen an *Silene vulgaris* zeigen [ASFOUR et al. 1997], besteht häufig eine große Variabilität im Protein/Enzymmuster, was für die Sortenbestimmung durch die PAGE ungünstig ist. Bei Kulturpflanzen wie Getreide, Erdäpfel und Obst ist die Variabilität der Protein/Enzymmuster und auch die phänotypische Varianz viel geringer, sodass bei diesen Kulturpflanzen die PAGE zur Sortenidentifizierung gut anzuwenden ist.

MAIER et al. [1997] räumt allerdings ein, dass zur Erstellung eines Sortenschlüssels in manchen Fällen die PAGE allein nicht ausreichen dürfte. Deshalb werden auch andere Methoden wie DNA-Analyse zur Sortenidentifizierung anzuwenden sein, wobei allerdings der zu beachtende Kosten- und Arbeitsaufwand im Allgemeinen für die PAGE spricht.

Ein weiteres Beispiel in der Literatur ist die Bestimmung der Arten- und Sortenechtheit sowie der Sortenreinheit bei Poa-Arten am Saatgut mittels Elektrophorese der Speicherproteine durch GOERITZ [1993]:

Die Speicherproteine von Spelzfrüchten wurden nach der Molekülgröße mittels der SDS-PAGE aufgetrennt. Bei gleichem SDS-PAGE-Bandenmuster erfolgte eine

weitere Auftrennung durch die isoelektrische Fokussierung (IEF). Bei der Wiesenrispe (*Poa pratensis* L.) konnten mittels der SDS-PAGE von Mehrkornproben 92% der untersuchten Sorten (90 Sorten) jeweils von allen anderen Sorten unterschieden werden. 2 Sorten waren auch mithilfe der IEF nicht voneinander unterscheidbar. Die Proben verschiedener Vermehrungsgenerationen, ebenso wie die Proben verschiedener Herkünfte und Erntejahre zeigten so gut wie alle das jeweils sortentypische Bandenmuster.

Bei der Lägerrispe (*Poa supina* Schrad.) konnten alle 4 untersuchten Sorten voneinander und von der jährigen Rispe (*Poa annua* L.) unterschieden werden. Dabei war die jährige Rispe in Lägerrispenproben ab einem Mischungsanteil von ca. 5% nachweisbar [GOERITZ, 1993].

Weitere elektrophoretische Untersuchungen dienen der Aufdeckung von Proteinen als potentielle Allergene [HERNDL, 2005].

Die Untersuchungsmethoden auf dem Gebiet der Pflanzenproteine haben sich seit FANKEL [1973] wesentlich verfeinert und verbessert, wobei die Elektrophorese die führende Methode auf dem Gebiet der Proteinanalytik darstellt.

Heute wird zunehmend für eine genaue Proteindetektion die zweidimensionale Elektrophorese verwendet. Bei dieser Methode werden die Proteine zuerst isoelektrisch fokussiert und dann nach ihrem Molekulargewicht getrennt [ROGER, 2001].

Die Methode, bei der die Moleküle nach ihrer Molekülgröße getrennt werden, ist die SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese. Durch das Na-Dodecylsulfat (SDS) werden die Proteine in Moleküle gleicher Ladung überführt. Daher sind bei der SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese nur die verschiedenen Molekülgrößen für die Trennung der Proteine ausschlaggebend.

Die zweidimensionale Elektrophorese kombiniert die Methode der isoelektrischen Fokussierung mit der SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese und erreicht damit eine besonders hohe Auflösung.

Die Färbung der Proteine erfolgt bei der zweidimensionalen Elektrophorese mit modernen Fluoreszenzfarbstoffen, oder wie bei der in der vorliegenden Arbeit angewandten isoelektrischen Fokussierung mit Coomassie Brilliant Blau. Bei der

2D-Elektrophorese können die Proteine auch vor der Trennung durch den Einbau von radioaktiven Substanzen markiert, und so sichtbar gemacht werden⁹.

Ein Beispiel dafür ist: *"Comparative 2D electrophoretic maps as a tool to identify lupin seed protein families and to reveal potential allergens"* [HERNDL, 2005].

In der Enzymanalyse wird die native Elektrophorese empfohlen [GRIESSLER, 1995].

Von MENENDEZ et. al [1986] wurden Enzyme der Rinde von Apfelbäumen untersucht. Sie konnten die 33 von ihnen bearbeiteten Cultivare von Apfelunterlagen mithilfe von Esterase, Peroxidase, Saure-Phosphatase und Indol-Essigsäure-Oxidase unterscheiden. In vorliegender Arbeit wurden ebenfalls Esterasen und Peroxidasen zur Unterscheidung der Kirschen herangezogen.

MANGANARIS und ALSTON [1992, 1993] untersuchten verschiedene vegetative Apfelgewebe hinsichtlich der Peroxidaseaktivität. Sie kamen zu der Erkenntnis, dass Peroxidasemuster unabhängig vom Alter der Pflanze und nicht gewebsspezifisch sind.

Auch bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Enzymen wurden gute Ergebnisse erzielt, jedoch wurden hauptsächlich die Proteine untersucht, da diese stabiler und weniger von Umweltfaktoren beeinflusst sind als die Enzyme.

In vorliegender Arbeit wurden die Kerne der Kirschen untersucht, da reiner Kirschsafte eine zu geringe Proteinkonzentration aufweist, um nach elektrophoretischer Behandlung verwertbare Ergebnisse zu liefern. Auch FANKEL [1973] schreibt in seiner Dissertation: „Eine Proteinauftrennung aus dem Presssaft einer Frucht wäre wegen der geringen Proteinkonzentration und der Anwesenheit von störenden Substanzen im Überschuss nicht durchführbar.“ Auch stören die Pektine, die im Fruchtfleisch vorkommen, die Elektrophorese. Die Banden werden durch sie verzerrt und verdreht [FANKEL, 1973].

Die Schwierigkeit bei den vorliegenden Untersuchungen bestand in der geringen Anzahl der vom Ökokreis Waldviertel zur Verfügung gestellten Kirschen (ca. 5 Kirschen pro Sorte). Auch war nicht bekannt, in welchem Zustand, wie reif und ob vielleicht ein wenig angefault, die Kirschen gepflückt wurden.

⁹ siehe <http://www.baltic-analytics.de/index.php?id=45>, Stand September 2011

Bei der Extrakterstellung und Lagerung der Extrakte gibt es einiges zu beachten, damit die Vergleichbarkeit der Bandenmuster möglich ist. Wichtig ist bei der Herstellung der Kernextrakte, dass das Fett auf der Oberfläche abgesaugt wird, da das Fett die Bandenmuster stört [PATEL, 1994].

Die Lagerung der Extrakte kann laut AUTENGRUBER [1995] sowohl im Kühlschrank als auch im Gefrierschrank stattfinden. Es wurde kein signifikanter Unterschied in den Zymogrammen der verschieden gelagerten Extrakte gefunden. MENENDEZ et.al [1986] behauptete, dass die Extrakte bei - 40° nur 6 Monate haltbar bleiben. Bei den vorliegenden Untersuchungen war auch ein Problem, dass die Kernextrakte mehrmals aufgetaut und wieder eingefroren werden mussten. Laut PICHLER [1984] dürfte sich mehrmaliges Einfrieren und Auftauen auf die besonders empfindlichen Enzyme negativ auswirken.

Interessant ist es auch festzustellen, inwieweit sich Enzym- und Proteinmuster aufgrund verschiedener Umwelteinflüsse ändern. Die Veränderungen in den Mustern von Frucht zu Frucht (Schatten- und Sonnenfrucht) oder von Baum zu Baum, dürften laut GOEBELS [1996] nicht zum Tragen kommen.

In der Dissertationsarbeit von FÄHNRIK [2006] wurde die Beeinflussung der Proteinstrukturen durch Umweltfaktoren mithilfe der Elektrophorese bestimmt. Die Untersuchungen wurden an den Nutzpflanzen *Fragaria ananassa* (Erdbeere) und *Ipomoea batatas* (Süßkartoffel) durchgeführt. Die proteinanalytische, elektrophoretische Methode war bei beiden untersuchten Nutzpflanzen eine denaturierende, vertikale SDS-PAGE-Elektrophorese, bei der es zu einer Trennung der Proteine nach Molekulargewicht kam. Die Ergebnisse bei den Erdbeeren zeigten, dass unterschiedliche Behandlungsmethoden (verschiedene Dünger, Kompost, Stallmist) keinerlei signifikante Veränderungen an den Proteinmustern bewirkten [FÄHNRIK, 2006].

Diese zitierten Untersuchungen legen den Schluss nahe, dass auch bei Kirschen Standortunterschiede und Umwelteinflüsse keinen Einfluss auf die Zusammensetzung der Proteine haben. Damit erweist sich die Elektrophorese als geeignetes Mittel der Sortenbestimmung.

Eine weitere Anwendung der Elektrophorese dient dem Nachweis von Kuhmilch in Schaf- und Ziegenmilch und in deren Produkten [RENATE van ECKERT, 1998]. Neben der Elektrophorese auf Cellulose-Acetatfolien ist die isoelektrische

Fokussierung der Caseine die beste und empfindlichste Methode für den Nachweis von Kuhmilch in Schaf- und Ziegenmilchprodukten.

Von RENATE van ECKERT [1998] wurden verschiedene Puffersysteme verwendet und hinsichtlich der Differenzierung der Milch der Tierarten geprüft. Es wurde ein Tris-Glycin-Puffer pH 8,4, ein Malonatpuffer pH 3,1, ein Barbituratpuffer pH 8,2, ein Merbitalpuffer pH 8,2 und ein Tris (62mM)-/Tricin-Puffer (25mM) pH 8,2 und ein Tris (81mM)-/Tricin (24mM)-Puffer pH 8,6 verwendet. Sie erreichte mit dem Tris-/Tricin-Puffer pH 8,2 eine sehr gute Auflösung der Caseinbanden. Bei der vorliegenden Untersuchung der Kirschen wurde ein Tris-HCl Puffer mit dem gleichen pH-Wert von 8,2 verwendet.

Die IEF der Molkenproteine wurde von ECKERT [1998] auf 1mm dicken Fertiggelen der Firma LKB durchgeführt. Dabei wurde Kuh-, Schaf-, und Ziegenmilch sowie Käse aus Schafmilch mit Kuhmilchzusatz untersucht. Als Färbemethoden wurden sowohl die Coomassie-, als auch die Silberfärbung verwendet. Jedoch ergab die Coomassie-Färbung das bessere Ergebnis, da bei der Silberfärbung der Hintergrund zu stark gefärbt wurde. Auch bei der vorliegenden Untersuchung der Kirschproteine wurde die Coomassie-Färbung verwendet.

Für die Probeerstellung der Molkenproteine von ECKERT [1998] wurden die Caseine im Vakuumtrockenschrank bei 40° gefriergetrocknet. Im getrockneten Zustand können die Caseine jahrelang gelagert werden. Bei tiefgekühlten, feuchten (nicht gefriergetrockneten) Caseinen, die schon länger gelagert wurden, nahm die Intensität der Caseinbanden im niedrigeren pH-Bereich ab. Die Proteinlösungen aus den Kirschkernen der vorliegenden Arbeit (siehe Material und Methoden) wurden tiefgefroren.

Von ULLMANN [1998] wurden die Enzyme von „Limax-Amöben“ mithilfe der Isoelektrischen Fokussierung untersucht in: *Epidemiologische Studie über das vorkommen von „Limax-Amöben“ in einem Großkrankenhaus und Charakterisierung und Differenzierung von Acanthamoeba-Spezies mittels Isoelektrischer Fokussierung* [ULLMANN, 1998].

Der von ULLMANN [1998] verwendete Enzym-Aktivitätstest ist eine der Möglichkeiten pathogene von apathogenen Stämmen voneinander zu unterscheiden. Von vierzehn verschiedenen ausgetesteten Isoenzymen ergaben 4 Isoenzyme die besten Ergebnisse, und zwar die Enzyme Saure Phosphatase, Esterase, Isozitat Dehydrogenase und Laktat Dehydrogenase. Das Enzym Esterase wurde auch in der vorliegenden Untersuchung der Kirscharten herangezogen.

Da bekannt ist, in welchem großem Gebiet die Elektrophorese verwendet wird, und es möglich ist u.a. Weizen-, Kartoffel-, Erdnuss-, Soja- und Weinsorten mit der Elektrophorese voneinander zu unterscheiden, liegt der Schluss nahe, dass mithilfe der isoelektrischen Elektrophorese auch Kirscharten voneinander unterschieden werden können. Die vorliegende Arbeit hat diese Annahme bestätigt.

Durch diese praktische, einfach zu handhabende Methode der Sortenidentifizierung wird es in Zukunft möglich sein, die alten, schon lange Zeit in Österreich vorkommenden Kirscharten von neuen, importierten Sorten aus USA, Südamerika, der Türkei, etc. zu unterscheiden. Erst nach Entwicklung einer erfolgreichen Bestimmungsmethode ist es möglich, die alten Sorten längerfristig zu schützen und damit eine auch für den Konsumenten interessante Sortenvielfalt zu erhalten. Da Kirschen kein Hauptnahrungsmittel sind, ist die Erhaltung der genetischen Vielfalt für das Erreichen guter Erträge nicht so wichtig, wie bei Grundnahrungsmitteln.

Es wurden in vorliegender Arbeit die Proteine der Kirschkerne sowohl in Wasser, als auch in Ethanol gelöst. Die Proteine sind in Wasser und in Ethanol verschieden löslich. In Ethanol gelöst zeigten die Proteine Banden, die eine Unterscheidung der verschiedenen Sorten besser ermöglichen.

Eine Herausforderung war, so viele verschiedene Kirscharten (28) zu unterscheiden. Als Versuch einer Optimierung der Ergebnisse wurde die Proteinextrakterstellung variiert. So wurde in einigen Untersuchungen das KCl im Proteinextraktionspuffer weggelassen, jedoch waren die Ergebnisse nicht zufriedenstellend. Das KCl dient der Erhöhung der Ionenstärke, siehe Kapitel „Material und Methoden“.

Gute Ergebnisse ergab die Untersuchung mit den Enzymen Esterase und Peroxidase. Es wurde zuerst die Untersuchung der Proteine, und erst im Anschluss daran die der Enzyme durchgeführt, weshalb das Probenmaterial für die Untersuchung der Enzyme schon älter war. Es wäre interessant festzustellen, ob auch ein anderes Enzym für die Sortenidentifizierung geeignet wäre.

Differenzierung der Kirscharten

Von der wilden Vogelkirsche (*Prunus avium* subsp. *avium*), der Urform der Süßkirsche, wurden die Zuchtformen Knorpelkirsche (*Prunus avium* subsp. *duracina*) und Herzkirsche (*Prunus avium* subsp. *juliana*) abgeleitet.

Die wilde Vogelkirsche wächst in krautreichen Laubmischwaldgesellschaften, wie Eichen-Hainbuchen-, Buchen-, Ahorn-Linden-Steilhang- oder Erlen-Ulmen-Wäldern. Aufgrund ihrer starken Eigenverjüngung kann sie jedoch auch Vogel-Kirschenwälder bilden, die erst spät in Eichen- oder Buchenwälder umgewandelt werden.

Da die Vogelkirsche ein wärmeliebendes Halbschattengewächs ist, wächst sie außerdem an Waldrändern, in Holunder-, Hartriegel-, Schneeball- und Schlehen-Gebüsch.

Die Standortansprüche der beiden Kulturformen, der Knorpel- und der Herzkirsche sind ähnlich¹⁰.

Die Knorpelkirsche (*Prunus avium* subsp. *duracina*) hat sehr große Blätter. Das Fruchtfleisch ist fest, bzw. knorpelig und gelb oder rot. Es wurden mehr Knorpelkirschen, als Herzkirschen vom Ökokreis Waldviertel zur Untersuchung gegeben, darunter verschieden gefärbte Knorpelkirschen und mehrere Prinzessinkirschen, die auch zu der Kulturform der Knorpelkirschen gehören.

Die Herzkirsche oder auch Weichkirsche genannt (*Prunus avium* subsp. *juliana*) hat ein sehr saftiges und weiches Fruchtfleisch, das rot oder schwarzrot gefärbt ist. Die Kassins Frühe (siehe unter Ergebnisse 3.1) ist eine Herzkirsche. Die Kritzendorfer Kirsche (siehe unter Ergebnisse 3.15) ist eine schwarze Herz-Knorpelkirsche.

Die Sauerkirschen, deren Bäume einen schwächeren Wuchs und stärker hängende Äste haben, als die der Süßkirschen, werden in vier Gruppen unterteilt. Dies sind die Süßweichsel (Bastardkirschen), die Amarellen (oder Strauchweichseln genannt), die Schattenmorellen und die fast nur industriell angebauten Glasweichseln. Gewisse Sorten unter den Sauerkirschen sind selbstfertil, die anderen selbststeril [MODL und SPORNBERGER, 2009].

Klar war in den Bandenmustern der isoelektrischen Fokussierung der Unterschied zwischen Süß- und Sauerkirschen zu sehen. Die Sauerkirschen zeigten generell eine höhere Anzahl an Banden (siehe Abbildungen 3, 4). Allerdings zeigten die Sorten Prinzessinkirsche und Ähnlich Große Prinzessinkirsche, sowie die Schneebergkirsche ebenfalls eine große Anzahl an Proteinbanden (Abbildungen 7, 4).

¹⁰ <http://de.wikipedia.org/wiki/Vogel-Kirsche#Verbreitung> Stand Oktober 2011

Bei der Färbung der Peroxydasen fielen die Weichseln und Amarellen durch eine sehr stark gefärbte Bande im anodischen Bereich auf (Abbildungen 15,16).

Die beiden Fröhkirschen, dazu zählen die Kassins Frühe und die Sulzer Fröhkirsche, konnten eindeutig von den später reifenden Süßkirschen unterschieden werden (siehe Abbildung 2). Sie fielen durch eine geringere Anzahl an Banden der in Wasser gelösten Proteine auf. Die beiden „Fröhkirscharten“ wurden in der Zeit um den 14. Juni geerntet, wohingegen die anderen Sorten 1 bis 2 Wochen später geerntet wurden.

Die Vogelkirsche (*Prunus avium* subsp. *avium*), die Wildform der Kirschen, unterscheidet sich durch ihr Bandenmuster deutlich von den anderen Kirscharten (siehe Abbildung 13).

Die Banden der Gele wurden nach der Färbung und Entfärbung mithilfe von Photoshop schärfer gemacht. Obwohl verschiedene Methoden zur Färbung und Entfärbung angewandt wurden, konnte eine gewisse Hintergrundfärbung nie vermieden werden. Ein Grund für die Hintergrundfärbung könnte sein, dass die basischen Immobilierungsgruppen die Comassiefarbstoffe binden [MICHOV, 1995].

Die untersuchten Kirscharten stammen von Alleen und Streuobstwiesen. Die Streuobstwiesen sind besondere Biotope, die sich aus Grünland und Baumbestand zusammensetzen, oft gegliedert durch eingefügte Strukturen von Hecken, Steinhäufen, Böschungen und Wasserläufen. Tiere und Pflanzen finden darin – auch wegen der extensiven Bewirtschaftungen – ein großes Spektrum an unterschiedlichen Lebensräumen. Damit haben die Streuobstwiesen eine große Bedeutung sowohl in Hinblick auf verschiedene Landschaftsformen, als auch auf die Artenvielfalt. So kommt z.B. die Raupe des Nachtpfauenauges vor allem auf Kirschbäumen vor¹¹.

Die biologische Vielfalt (Biodiversität), ist wichtig für den Erhalt der Ökosysteme. Geraten Ökosysteme aus der Balance, sind sie nicht mehr fähig ihre Leistungen zu erbringen.

¹¹ http://www.arge-streuobst.at/?page_id=37, Stand Mai 2011

Hauptursachen des Rückganges der biologischen Vielfalt sind:

1. Intensivierung der landwirtschaftlich genützten Flächen und zu starke Düngung.
2. Flächenverbrauch durch Zersiedelung der Landschaft.
3. Teilung der Lebensräume durch Infrastruktur.

Auch durch die Einwanderung fremder Arten (Neobiota), das Fehlen bestimmter Bestäuber, die Einfuhr genetisch veränderter Nutzpflanzen und durch den Klimawandel werden Ökosysteme unter Druck gesetzt und können zusammenbrechen, bzw. schlechter funktionieren. Gleichzeitig kann es zu einem Artensterben kommen¹².

In Streuobstwiesen gelangt wenig Licht zum Boden und so kann eine dichte Gras- und Krautschicht wachsen. Tiere und Pflanzen finden durch das Vorhandensein von Wiese und Baum ein besonders großes Spektrum an unterschiedlichen Lebensräumen.

Früher gab es in Niederösterreich mehr Streuobstwiesen. Um 1960 wurden viele Landwirtschaften aufgelöst, da sie aufgrund der billigen Transporte nicht mehr mit den großen Agrarbetrieben in klimatisch günstigeren Gegenden konkurrieren konnten. Vorher waren z.B. die kleinen Landwirtschaften im Wienerwald als Nahversorger für Wien wichtig. In den ersten Jahren nach der Auflösung von Streuobstwiesen im Wienerwald wurden aus artenreichen Wiesen artenarme Brachen mit Reitgras, Goldrute und Brennessel. Anschließend wurde die Brache vom Wald erobert, zuerst von Hartriegeln, Rosen und Schlehen. Die Obstbäume wurden von der Waldrebe überwuchert. Eschen und Ahorn folgten, und so verwaldete die ehemalige Streuobstwiese. Streuobstwiesen des Wienerwaldes sollen über das landwirtschaftliche Förderprogramm ÖPUL erhalten werden, der Wienerwald gehört zu Natura 2000, dem europaweiten Schutzgebietnetzwerk¹³.

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Kirschen stammen aus Niedersulz im Weinviertel.

¹² http://www.noegv.at/bilder/d38/Broschuere_Oekosystemleistungen.pdf Stand Juli 2011

¹³ <http://www.arche-noah.at/etomite/index.php?id=117#> Stand Oktober 2011

Anfang des 20. Jh. war die Kirsche auch eine weinbegleitende Pflanze. Damals wurde der Wein nicht in Reben gezogen, sondern wuchs „durcheinander“. Andere weinbegleitende Pflanzen waren u.a. Pfirsich, Quitte, Zwetschgen, Knoblauch, Kren und Walnuss.

Neben dem Verein Ökokreis Waldviertel, von dem die Kirschen zur Verfügung gestellt wurden, gibt es auch den Verein Arche-Noah, der sich ebenfalls um den Schutz alter Kulturpflanzen kümmert¹⁴.

Seit 1988 hat sich der Ökokreis Waldviertel zur Aufgabe gemacht alte Sorten aufzuspüren und zu schützen. Die Sammlung umfasst mittlerweile an die 800 Sorten, darunter hauptsächlich Apfelsorten aus dem Waldviertel und Steinobstsorten aus dem Weinviertel. Ein Standort der betreuten Bäume befindetet sich im Museumsdorf Niedersulz im Weinviertel, von wo auch die untersuchten Kirschen stammen.

¹⁴ <http://www.arche-noah.at/etomite/index.php?id=114#> Stand Oktober 2011

6 Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war es, alte Kirscharten eindeutig zu beschreiben, um sie untereinander und von anderen (neuen) Sorten unterscheiden zu können.

Die Isoelektrophorese der Proteine und Enzyme der Kirschkerne erwies sich dabei als geeignete Methode.

Untersucht wurden die gepufferten Extrakte der Kerne von 28 Kirscharten, die eingefroren waren.

Es wurden Ampholine PAGplates, 1 mm dicke Polyacrylamidgele mit dem weiten pH-Bereich von 3,5 bis 9,5 verwendet. Die Gele hatten die Größe 110/245 mm. Es wurden bis zu 25 Proben auf einem Gel aufgetragen.

Die Proteinbanden wurden mit einer Fixierlösung bestehend aus Methanol, Trichloressigsäure und Sulphosalicylsäure fixiert und mit dem Farbstoff Coomassie R 250 gefärbt.

Da die Bestimmung der Sorten durch die Proteine nicht immer eindeutig war, war es sinnvoll, auch die Enzyme Peroxidasen und Esterasen zu untersuchen.

Es konnten Proteinbanden dargestellt werden, die innerhalb einer Sorte große Übereinstimmung, von Sorte zu Sorte jedoch klare Unterschiede aufweisen.

7 Summary

Purpose of this work was to describe definitely cherry-species in order to distinguish them among each other.

Isoelectrophoresis of proteins of cherripits (cherrystones) were proved as appropriate method. Examined were buffered, frozen extractions of pits of 28 species.

Ampholine PAGplates, polyacrylamide gels of 1mm within pH-range from 3,5 to 9,5 were used. Size of gels was 110/245 mm. Up to 25 samples were put on one gel. The proteinbands were fixed with a solution of methanol, trichloroacetic acid and sulfosalicylic acid and coloured with Coomassie R 250.

In order to get definite results it was sometimes necessary also to examine peroxidases and esterases.

Proteinbands could be shown with great affinity within one sort and clear disparity between different sorts.

8 Literatur

ALLEN R., BUDOWLE B. Gel Electrophoresis of Proteins and Nucleic Acids, Selected techniques, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1994

ARCHE NOAH <http://www.arche-noah.at/etomite/index.php?id=114#>

ARGE-STREUOBST [URL] http://www.arge-streuobst.at/?page_id=37, Stand Mai 2011

AUTENGRUBER C. Elektrophoretische Darstellung von Enzymen in Böden des Wienerraums. Diplomarbeit der Universität Wien, 1995

BALTIC-ANALYTICS <http://www.baltic-analytics.de/index.php?id=45>

BARNA J. Trennung von tierischen und pflanzlichen Proteinen durch Polyacrylamidgel-Elektrophorese. Untersuchungen und praktische Anwendungen. Dissertation an der Universität für Bodenkultur, Wien 1973

BARNA J. Untersuchungen über die Ladungseigenschaften der Weinproteine. Sonderdruck aus den Mitteilungen über Rebe und Wein, Obstbau und Früchteverwertung, 24. Jahrgang, S.1-6, Klosterneuburg 1974

BERNKOPF S., KEPPEL H., NOVAK R. Neue alte Obstsorten. Äpfel, Birnen und Steinobst, Club Niederösterreich, österr. Agrarverlag, 1999

DUHAN K. Die wertvollsten Obstsorten. Steinobst1, Verlag Georg Fromme & Co, Wien, 1959

DRAWERT F. Über die elektrophoretische Differenzierung und Klassifizierung von Proteinen. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und –Forschung, Volume 159, Number 1. 1975, www.springerlink.com/index/HH6U237N7167J26J.pdf

Van ECKERT R. Empfindlicher elektrophoretischer Nachweis von Kuhmilch in Schaf- und Ziegenmilch und in deren Produkten. Dissertation an der Universität Wien, Studienrichtung Chemie, 1998

- FÄHNRIICH B. Untersuchungen an Nutzpflanzen auf der Grundlage der Elektrophorese und der Densitometrie zur Erkennung möglicher Beeinflussung der Proteinstrukturen durch Umweltfaktoren. Dissertation, BOKU, Wien, 2006
- FALCH J., DUHAN K., STRAUSS E. Die wertvollsten Obstsorten. Steinobst 2, Verlag Georg Fromme & Co, Wien, 1963
- FANKEL R. Fruchtproteine und ihre gelelektrophoretische Auftrennung. S. 1-33, 59-67, 73-87, Dissertation an der Universität für Bodenkultur, Wien 1973
- FISCHER M. Farbatlas Obstsorten. Ulmer, Stuttgart, 1995
- FROMWALD I. Morphologische und elektrophoretische Unterscheidungsmerkmale, sowie Leistungen einiger Knoblauchklonpopulationen. Diplomarbeit an der Universität für Bodenkultur, Wien 1989
- GLATTES H. Elektrophoretische Untersuchungen an österreichischen Weizensorten-Möglichkeiten und Grenzen der Sortenbestimmung. Dissertationsarbeit an der Universität für Bodenkultur, Wien 1982
- GOERITZ A. Die Bestimmung der Arten- und Sortenechtheit sowie der Sortenreinheit bei Poa-Arten am Saatgut mittels Elektrophorese der Speicherproteine (*Poa pratensis* L., *Poa supina* Schrad., *Poa annua* L.). Dissertation, Universität Hohenheim, 1993
- GRAMMANITSCH K. Neue Methoden zur elektrophoretischen Sortenunterscheidung von Weizen. Diplomarbeit an der Universität für Bodenkultur, Wien 1979
- GRIESSLER R. Kontinuierliche Synthese von α -Glucose-phosphat, Isolierung von Stärke-Phosphorylase aus *Solanum tuberosum* und reaktionstechnischer Vergleich mit der Maltodextrin- Phosphorylase aus *Corynebacterium callunae*. Diplomarbeit an der Universität für Bodenkultur, S. 14-21, Wien 1995
- HERNDL A. Comparative 2D electrophoretic maps as a tool to identify lupin seed protein families and to reveal potential allergens. Diploma thesis, BOKU, Vienna, March 2005
- JACOBI G. Biochemische Cytologie der Pflanzenzelle. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974

KLEINERT TH. Elektrophoretische Methoden in der Proteinanalytik. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1990

MAIER R., ASFOUR H., RÜCKER W. & BURIAN K. Variabilität elektrophoretischer Peroxidasemuster in Ökotypen von *Silene vulgaris* - die Klonung als methodischer Ansatz für streßphysiologische Untersuchungen. Sitzungsber. Anz. Abt. I 133 Österr. Akad. D. Wissenschaften, 1997

MANGANARIS A. G., ALSTON F. H. Peroxidase isoenzyme genes in the identification of apple cultivars and malus species. Journal of Horticultural Science 68 (5): 773-781, 1993

MENENDEZ R. A., LARSEN F. E., FRITTS R. Protein and isoenzyme electrophoresis and isoelectric focusing for the characterization of apple clones. Scientia Horticulturae 29: 211-220, 1986

MICHOV B. Elektrophorese: Theorie und Praxis. Walter de Gruyter, Berlin, New York 1995

MODL P., SPORNBERGER A. Kirschen für den Hausgarten. AV Buch- Österr. Agrarverl., (Garten kurz und gut), Wien, 2009

MORTIMER CH. E. Chemie – Das Basiswissen der Chemie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1996

NULTSCH W. Allgemeine Botanik. 11. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2001
Obstbau [URL],
http://www.obstbau.org/content/service/wissenswertes/inhaltsstoffe_sauerkirsch_en.php, Stand Mai 2011

ÖKOKREIS WALDVIERTEL [URL] <http://www.oekokreis.org/sortengarten.html> und <http://www.oekokreis.org/dokumente/Produktkatalog.pdf>, Stand Mai 2011

PATEL D. Gel Electrophoresis, Essential Data. Wiley and Sons, 1994

PICHLER E. Gelelektrophoretische Untersuchungen zur Wirkung der Temperatur auf Enzyme in Pflanzen. Dissertation der Universität Wien, 1984

REINER H. Elektrophoretische Untersuchungen zum Glucosinolase-Glucosinolat-System in Brassicaceae (Cruciferen). Diplomarbeit an der Universität für Bodenkultur, Wien 1987

ROGER M. Handbook of plant Ecophysiology Techniques, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 2001

ULLMANN M. Epidemiologische Studie über das Vorkommen von "Limax-Amöben" in einem Großkrankenhaus und Charakterisierung und Differenzierung von *Acanthamoeba*-Spezies mittels Isoelektrischer Fokussierung, Diplomarbeit an der Universität Wien, 1998

WIDHALM F. Beitrag zur Disk-Elektrophorese von Gerstenproteinen. Diplomarbeit, BOKU, Institut für Chemie, Wien, 1970

Lebenslauf

Barbara Eichwalder

geboren am 15. Mai 1978 in Innsbruck

Volks- und Mittelschule in Innsbruck

1995-1996 Austauschschülerin in Island (Akureyri)

1997 Matura am „Oberstufenrealgymnasium für Studierende der Musik“,
Innsbruck, instrumentales Hauptfach Fagott

1997 Beginn des Biologiestudiums/Ökologie

1998 Ausbildung zur „Feldenkrais-Pädagogin“

2002 Beginn der vorliegenden Diplomarbeit

2003 Beginn einer mehrere Jahre andauernden Krankheit unbestimmter
Genese mit Lähmung der Extremitäten und teilweise des Rumpfes

2010 Nach gesundheitlicher Besserung Wiederaufnahme der Diplomarbeit