Messung des relativen DNA-Gehaltes in Pflanzen (*Diphasiastrum spp*.)

**Einleitung**

In Deutschland kommen sechs Arten der Gattung *Diphasiastrum* vor: *D. alpinum D. x zeilleri, D. complanatum, D. x issleri, D. x oellgaardii* und *D. tristachyum.*

Ziel des Versuches war es durch flow-cytometrische Messungen an der Gattung *Diphasiastrum* den relativen DNA-Gehalts festzustellen und so Rückschlüsse auf das Verwandtschaftsverhältnis zu ziehen. Außerdem wurde untersucht ob es einen Unterschied im relativen DNA-Gehalt von Trocken- und Frischmaterial gibt.

**Fragen**

**(1a) Welche Gewebe / Gewebetypen eignen sich besonders für Chromosomenzählungen? Begründen Sie Ihre Auswahl!**

Zur Chromosomenzählungen eignen sich besonders Gewebearten, die eine große Zellteilungsaktivität haben. Diese Orte des Wachstums sind zu Beispiel Meristeme in Wurzelspitze, Blütenknospen oder Pollen.

**(1b) Wann kommt es zur DNA-Kondensation, wie läuft diese ab und welche Strukturen werden gebildet?**

Die Zellen müssen in der Metaphase sein. In vorigen Zellphasen liegen nur Chromatinfäden im Zellkern vor. Chromatinfäden durchlaufen während der Kondensation mehrere Phasen bis Sie zu 8000-mal kürzeren Chromosomen werden.

1. Die erste Phase ist die Organisation eines Nucleosoms. DNA wickelt sich um einen Komplex aus acht Histonen H2A, H2B, H3 und H4. Jedes Protein kommt dabei zweimal in dem Komplex vor.
2. Im zweiten Schritt entsteht einen Perlenschnurartige10 nm-Faser. Zwischen den einzelnen Nucleosomen befindet sich eine Art "nackter" DNA, die ca. 50 bis 70 Basenpaare lang ist.
3. Unter hohe Ionenkonzentration bilden die 10 nm-Fasern wiederum eine Spirale mit einem Durchmesser von 30 nm. Eine Windung dieser Spirale besteht aus sechs Nucleosomen. Diese Struktur wird als 30 nm-Faser oder Solenoid-Struktur bezeichnet.
4. Es gibt allerdings noch andere Strukturen, die sich je nach Salzgehalt und pH-Wert des Milieus bilden können. Bei der "Aufwicklung" der 30 nm-Fasern zur 300 nm-Struktur spielen andere Proteine eine Rolle. Diese Proteine bilden das Grundgerüst des Chromosoms, in das die 30 nm-Fasern "eingehängt" werden.
5. Die 700 nm-Faser wickeln sich schließlich zum eigentlichen Chromosom auf.

**(2a) Informieren Sie sich über das Prinzip der Fluoreszenz! Welche Eigenschaften müssen die eingesetzten Fluoreszenz-Farbstoffe besitzen, damit sie zur Bestimmung von *DNA-Gehalten* bei der Flow Cytometry genutzt werden können?**

Allgemein absorbieren fluoreszierende Moleküle (=“Fluorochrome“) das Licht bei einer bestimmten Wellenlänge und emittieren längerwelliges Licht. Intensität und Farbe des Lichts sind dabei charakteristische Eigenschaften des verwendeten Fluorochroms. Das nur relativer DNA-Gehalt ermittelt werden kann liegt an den Eigenschaft des verwendeten Fluoreszenz-Farbstoffe.

Der hier eingesetzte Fluoreszenz-Farbstoffe DAPI (4',6-**D**i**a**midino-2-**p**henyl**i**ndol) bindet sich in der kleinen Furche von A-T an der DNA um dort einen stark fluoreszierenden Komplex aus zu bilden. Da die einzelnen Arten von *Diphasiastrum* unterschiedlich große Chromosomen besitzen können und somit einen unterschiedlich großen Gehalt an A-T im Genom, sagt der Unterschied in den relativen DNA-Gehalten keine Ploidiestufe voraus.

**(2b) Welche Möglichkeiten fallen Ihnen ein, um flow-cytometrisch gemessene (relative oder/und absolute) DNA-Gehalte mit Ploidiestufen zu korrelieren?**

Zusätzlich zur Durchflusszytometrie muss eine Chromosomenzählung durchgeführt werden. Ein Unterschiedlicher relativer DNA-Gehalt/absoluter DNA-Gehalt könnte durch unterschiedliche Größe der Chromosomen oder GC-, AT-Verhältnis entstehen. Um den Ploidiegrad zu berechnen müsste bei jeder der sechs Arten eine Chromosomenzählung erfolgen.

**Material**

* Pisum sativum L. subsp. sativum convar. sativum var. ponderosum Alef., Sorte Viktoria, Kifejtö Borsó, Sortiments-Nr. PIS 630, Anzucht Botanischer Garten Greifswald.
* Frisch und Trockenproben von: D. alpinum, D. complanatum, D. x issleri, D. x oellgaardii, D. tristachyum, D. x zeilleri
* 500 µl CyStain UV Precise P Partec Staining Buffer
* 250 µl CyStain UV Precise P Sysmex Nuclei Extraction Buffer
* Petrischalen
* scharfe Rasierklingen
* 2 Pipetten 100-1000 µl
* Sartec-Röhrchen und Ständer
* 30 µm Zellfilter
* Flow Cytometer

**Methode**

1. 3 Stunden vor dem Experiment stellten wir den Lysispuffer zum Erwärmen raus.
2. Das Pflanzenmaterial reinigten wir von Dreck, toten oder kranken Zellschichten, ….
3. Wir gaben ein etwa 1 cm langes Stück des Sprosses von einer der sechs *Diphasiastrum*-Arten und ein etwa 0,5 x 0,5 cm großes Stück des Blattes von *Pisum* in eine saubere Petrischale.
4. Wir zogen 250 µl Lysispuffer in eine Pipette auf und gaben einige Tropfen davon auf das Pflanzenmaterial. Anschließend hackten wir dieses mit einer Rasierklinge fein, bis eine grüne homogene Flüssigkeit entstand.
5. Mit dem restlichen Volumen des Lysispuffers und angekippter Petrischale spülten wir die kleinen Pflanzenstückchen nach unten, sodass alles Pflanzenmaterial gut mit Puffer bedeckt war.
6. Im Anschluss setzten wir die Zellfilter auf die Röhrchen setzen und gossen die Zell-Pufferlösung vorsichtig durch den Filter.
7. Zum Filtrat gaben wir (ohne dabei die Pipette nicht einzutauchen) 500 µl Färbepuffer.
8. Wir setzten das jeweilige Röhrchen ins Gerät ein und ließen es unsere Probe nach Vorgabe analysieren: 25 LL, 99 UL, 1 Speed und 395 Gain.
9. Der DNA-Gehalt von Trocken- und Frischmaterial der einzelnen Flachbärlapparten werden auf Normalverteilung nach Shakiro und dann mit Ungepaarten T-Test mit einander verglichen.

**Ergebnisse**

Ein Unterschied des relativen DNA-Gehaltes in Frisch- und Trockenmaterial innerhalb der einzelnen

Arten von *Diphasiastrum* war nicht erkennbar p>0,05 (Tab. 2-6, Abb.1). Eine Ausnahme war *D. complanatum*, wo ein signifikanter Effekt festgestellt werden konnte p<0,05 (Tab. 1). Der relative DNA-Gehalt bei *D. complanatum* war beim Trockenmaterial höher als bei Frischmaterial (MWt=0,4758, MWf=0,5091).

Die sechs Flachbärlapparten unterschieden sich im relativen DNA-Gehalt nur teilweise. *D. alpinum* ist von der Unterart *D. x issleri* im relativen DNA-Gehalt nicht signifikant verschieden (p>0,05, Tab. 18)*.* Genauso wie *D. complanatum* nicht von *D. x zeilleri* (p>0,05)und *D. tristachyum* nicht von *D. x oellgaardii* (p>0,05) im relativen DNA-Gehalt zu unterscheiden war (Tab.8+21). Außerdem hatten die beiden Unteraten *D. x zeilleri* und *D. x oellgaardii* ähnliche relative DNA-Gehalte (p>0,05, Tab. 14)*.* Ebenso waren *D. complanatum* und *D. x oellgaardii* nicht signifikant auseinanderzuhalten (p>0,05, Tab. 10). Die anderen Arten waren eigenständige Arten und unterschieden sich voneinander durch den unterschiedlichen relativen DNA-Gehalt (p<0,05, Tab. 7,9,11-13,15-17,19-20).

Frischmaterial

Trockenmaterial

Abb.1 Relativer DNA-Gehalt von Frisch- und Trockenmaterial von Diphasiastrum

**Diskussion**

Im Vergleich von Trocken- und Frischmaterial im relativen DNA-Gehalt war der Mittelwert des Trockenmaterials bei 4 von insgesamt 6 Arten von *Diphasiastrum* entgegen den Erwartungen größer als der Mittelwert des Feuchtmaterials (Abb.1). Dies wiedersprach den Untersuchungen von Bainard el al (2011).

Eventuell waren Fehlerquellen wie etwa die lange Lagerzeit von Trocken- und Nassmaterial und der damit angestoßene Abbau von DNA dafür verantwortlich. Ein weiterer Grund war eventuell der zu stark gekühlte Lysispuffer, der anfänglich die Messungen erschwerte. Der Lysispuffer war auch der Grund für die großen Standartabweichungen bei *D. alpinum, D. x oellgaardii* und *D. tristachyum* (Abb.1).

Das sich die relativen DNA-Gehalte bei dem Frischmaterial zwischen den Arten *D. alpinum* und *D. x issleri, D. complanatum* und *D. x zeilleri* und *D. tristachyum* und *D. x oellgaardii* nicht signifikant unterschieden legte nah, dass die Unterarten eben mit jenen Elternarten näher verwandt sind. Unterstützt wurde diese Annahme durch die Tatsache, dass alle getesteten Individuen der sechs Arten von *Diphasiastrum* dieselbe Plodiestufe besaßen*.* Der Grund des Unterschiedes im relativen DNA-Gehalt war dementsprechend nicht in verschiedenen Plodiestufen zu suchen. Das die Unterarten nicht signifikant von den Elternarten voneinander zu unterscheiden waren, stand im Gegensatz zu der Koordinatenanalyse der kombinierten AFLP-Profile von zwei Primerkombinationen von den *Diphasiastrum*-Taxa von Schnittler et al bei der die Unterarten verwandtschaftlich genau zwischen den Elternarten lagen. Eine Ausnahme in dieser Studie stellte *D. x issleri* dar,welches verwandtschaftlich sehr eng an *D. alpinum* lag (2018). Diese Ausnahme deckte sich mit dem Ergebnis dieses Versuches.

Da nur der Erhalt des relativen DNA-Gehaltes durch die Verwendung DAPI möglich war, musste der absolute DNA-Gehalt ausgerechnet werden.

Allerdings waren die daraus hervorgehenden Ergebnisse unsauber und inkorrekt, da Pisum ein anders GC-Verhältnis besitzt als die Diphasiastrum-Taxa. Die absoluten DNA-Gehalte stimmten nicht mit anderen Studien überein (Tab.1a). Die absoluten DNA-Gehalte waren deutlich geringer im Vergleich zu Bennert et al. (2011) und Aagaard et al. (2009).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Taxon** | **Dieser Versuch**  **Absoluter DNA-Gehalt** | **Bennert et al. (2011) DNA 2C Werte** | **Aagaard et al. (2009) DNA 2C Werte** |
| D. alpinum | **4,89** | **7,52** | **6,45** |
| D. tristachyum | **3,62** | **5,26** | **4,28** |
| D. complanatum | **4,37** | **5,76** | **4,81** |
| D. x issleri | **5,20** | **6,64** | **5,61** |
| D. x oellgaardii | **4,31** | **6,39** | **5,21** |
| D. x zeilleri | **4,44** | **5,53** | **4,53** |

Tab.1a Absolute DNA-Gehalt von den Diphasiastrum-Taxa

Abschließend ließ sich feststellen, dass sich die jeweilige Unterart hier nicht von einer Elternart unterscheiden ließ. Die Elternarten waren jedoch signifikant verschieden. Rückschlüsse auf die Nähe der Verwandtschaft war jedoch nicht mit Sicherheit aus den relativen DNA-Gehalten zu schließen. Unterschiede zwischen relativen DNA-Gehalt von Trocken- und Frischmaterial innerhalb der Arten waren mit einer Ausnahme nicht zu erkennen.

**Literatur**

Aagaard, S.M.D., Greilhuber, J., Vogel, J.C., Wikström, N. 2009: Reticulate phylogenetic patterns in

diploid European Diphasiastrum (Lycopodiaceae). In: Aagaard SMD. Reticulate evolution in

Diphasiastrum (Lycopodiaceae). PhD thesis, Uppsala University, Sweden.

Bainard, J.D., Husband , B.C., Baldwin, S.J., Fazekas, A.J., Gregory, T.R., Newmaster, S.G, Kron, P. 2011: The effects of rapid desiccation on estimates of plant genome size.- Chromosome Res 19:825–842

Bennert, W.H., Horn, K., Kauth, M., Fuchs, J., Jakobsen, I.S.B., Øllgaard, B., Schnittler, M., Steinberg, M., Viane, R. 2011: Flow cytometry confirms reticulate evolution and reveals triploidy in Central European *Diphasiastrum* taxa (Lycopodiaceae, Lycophyta). - Ann. Bot. 108: 867–87

Schnittler, M., Horn K.,⁠ Kaufmann⁠, H., RimgailėVoicik⁠c, R., Klahr⁠a, A., Bog⁠a, M., Fuchs⁠, J., Bennert⁠e,H.W.2018: Genetic diversity and hybrid formation in Central European club-mosses (Diphasiastrum, Lycopodiaceae)–New insights from cp microsatellites, two nuclear markers and AFLP. - Molecular Phylogenetics and Evolution

**Anhang**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| |  |  |  | | --- | --- | --- | | **Tab.1** Zweistichproben t-Test bei abhängigen Stichproben (Paarvergleichstest) | | | | Unterschied des relativen DNA-Gehaltes in Frisch- und Trockenmaterial von D.complanatum | | | |  | *Frischmaterial* | *Trockenmaterial* | | Mittelwert | 0,4758 | 0,5091 | | Varianz | 0,0017 | 0,0006 | | Beobachtungen | 8 | 8 | | Pearson Korrelation | 0,2132 |  | | Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  | | Freiheitsgrade (df) | 7 |  | | t-Statistik | -2,1528 |  | | P(T<=t) einseitig | 0,0342 |  | | Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,8946 |  | | P(T<=t) zweiseitig | 0,0683 |  | | Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,3646 |  | |  |  |  | | **Tab. 2**  Zweistichproben t-Test bei abhängigen Stichproben (Paarvergleichstest) | | | | Unterschied des relativen DNA-Gehaltes in Frisch- und Trockenmaterial von *D. issleri* | | | |  | *Frischmaterial* | *Trockenmaterial* | | Mittelwert | 0,5813 | 0,5831 | | Varianz | 0,0010 | 0,0002 | | Beobachtungen | 11 | 11 | | Pearson Korrelation | 0,0968 |  | | Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  | | Freiheitsgrade (df) | 10 |  | | t-Statistik | -0,1869 |  | | P(T<=t) einseitig | 0,4277 |  | | Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,8125 |  | | P(T<=t) zweiseitig | 0,8555 |  | | Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,2281 |  | |  |  |  | | **Tab. 3** Zweistichproben t-Test bei abhängigen Stichproben (Paarvergleichstest) | | | | Unterschied des relativen DNA-Gehaltes in Frisch- und Trockenmaterial von D.zeilleri | | | |  | *Frischmaterial* | *Trockenmaterial* | | Mittelwert | 0,4877 | 0,4966 | | Varianz | 0,0006 | 0,0004 | | Beobachtungen | 10 | 10 | | Pearson Korrelation | 0,1056 |  | | Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  | | Freiheitsgrade (df) | 9 |  | | t-Statistik | -0,9536 |  | | P(T<=t) einseitig | 0,1826 |  | | Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,8331 |  | | P(T<=t) zweiseitig | 0,3652 |  | | Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,2622 |  | | **Tab. 4** Zweistichproben t-Test bei abhängigen Stichproben (Paarvergleichstest) | | | | Unterschied des relativen DNA-Gehaltes in Frisch- und Trockenmaterial von D.alpinum | | | |  | *Frischmaterial* | *Trockenmaterial* | | Mittelwert | 0,6208 | 0,5667 | | Varianz | 0,0155 | 0,0086 | | Beobachtungen | 21 | 21 | | Pearson Korrelation | -0,0527 |  | | Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  | | Freiheitsgrade (df) | 20 |  | | t-Statistik | 1,5566 |  | | P(T<=t) einseitig | 0,0676 |  | | Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7247 |  | | P(T<=t) zweiseitig | 0,1353 |  | | Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,0860 |  | |  |  |  | |  |  |  | | **Tab. 5** Zweistichproben t-Test bei abhängigen Stichproben (Paarvergleichstest) | | | | Unterschied des relativen DNA-Gehaltes in Frisch- und Trockenmaterial von D.oellgaardii | | | |  | *Frischmaterial* | *Trockenmaterial* | | Mittelwert | 0,4667 | 0,4182 | | Varianz | 0,0107 | 0,0130 | | Beobachtungen | 6 | 6 | | Pearson Korrelation | 0,7351 |  | | Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  | | Freiheitsgrade (df) | 5 |  | | t-Statistik | 1,4890 |  | | P(T<=t) einseitig | 0,0983 |  | | Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 2,0150 |  | | P(T<=t) zweiseitig | 0,1967 |  | | Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,5706 |  | |  |  |  | |  |  |  | | **Tab. 6** Zweistichproben t-Test bei abhängigen Stichproben (Paarvergleichstest) | | | | Unterschied des relativen DNA-Gehaltes in Frisch- und Trockenmaterial von D.tristachyum | | | |  | *Frischmaterial* | *Trockenmaterial* | | Mittelwert | 0,4024 | 0,4216 | | Varianz | 0,0078 | 0,0036 | | Beobachtungen | 7 | 7 | | Pearson Korrelation | -0,3858 |  | | Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  | | Freiheitsgrade (df) | 6 |  | | t-Statistik | -0,4089 |  | | P(T<=t) einseitig | 0,3484 |  | | Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,9432 |  | | P(T<=t) zweiseitig | 0,6968 |  | | Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,4469 |  | | | | |
| **Tab. 7** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. Complanatum und D.issleri | | |
|  | *DIPcom\_f* | *DIPiss\_f* |
| Mittelwert | 0,4758 | 0,5813 |
| Varianz | 0,0017 | 0,0010 |
| Beobachtungen | 8 | 11 |
| Gepoolte Varianz | 0,0013 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 17 |  |
| t-Statistik | -6,2998 |  |
| P(T<=t) einseitig | 4,00E-06 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7396 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 7,99E-06 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,1098 |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
| **Tab. 8** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. Complanatum und D.zeilleri | | |
|  | *DIPcom\_f* | *DIPzei\_f* |
| Mittelwert | 0,4758 | 0,4877 |
| Varianz | 0,0017 | 0,0006 |
| Beobachtungen | 8 | 10 |
| Gepoolte Varianz | 0,0011 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 16 |  |
| t-Statistik | -0,7619 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,2286 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7459 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,4572 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,1199 |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
| **Tab.9** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. Complanatum und D.alpinum | | |
|  | *DIPcom\_f* | *DIPalp\_f* |
| Mittelwert | 0,4758 | 0,6208 |
| Varianz | 0,0017 | 0,0155 |
| Beobachtungen | 8 | 21 |
| Gepoolte Varianz | 0,0119 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 27 |  |
| t-Statistik | -3,1923 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,0018 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7033 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,0036 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,0518 |  |
| **Tab. 10** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. Complanatum und D.oellgaardii | | |
|  | *DIPcom\_f* | *DIPoel\_f* |
| Mittelwert | 0,4758 | 0,4667 |
| Varianz | 0,0017 | 0,0107 |
| Beobachtungen | 8 | 6 |
| Gepoolte Varianz | 0,0055 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 12 |  |
| t-Statistik | 0,2286 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,4115 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7823 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,8230 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,1788 |  |
|  |  |  |
| **Tab. 11** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. Complanatum und D.tristachyum | | |
|  | *DIPcom\_f* | *DIPtri\_f* |
| Mittelwert | 0,4758 | 0,4024 |
| Varianz | 0,0017 | 0,0078 |
| Beobachtungen | 8 | 7 |
| Gepoolte Varianz | 0,0045 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 13 |  |
| t-Statistik | 2,1082 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,0275 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7709 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,0550 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,1604 |  |
|  |  |  |
| **Tab. 12** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. zeilleri und D.issleri | | |
|  | *DIPiss\_f* | *DIPzei\_f* |
| Mittelwert | 0,5813 | 0,4877 |
| Varianz | 0,0010 | 0,0006 |
| Beobachtungen | 11 | 10 |
| Gepoolte Varianz | 0,0008 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 19 |  |
| t-Statistik | 7,6491 |  |
| P(T<=t) einseitig | 1,621E-07 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7291 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 3,24E-07 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,0930 |  |
| **Tab. 13** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. zeilleri und D.alpinum | | |
|  | *DIPalp\_f* | *DIPzei\_f* |
| Mittelwert | 0,6208 | 0,4877 |
| Varianz | 0,0155 | 0,0006 |
| Beobachtungen | 21 | 10 |
| Gepoolte Varianz | 0,0109 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 29 |  |
| t-Statistik | 3,3227 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,0012 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,6991 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,0024 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,0452 |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
| **Tab. 14** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. zeilleri und D.oellgaardii | | |
|  | *DIPzei\_f* | *DIPoel\_f* |
| Mittelwert | 0,4877 | 0,4667 |
| Varianz | 0,0006 | 0,0107 |
| Beobachtungen | 10 | 6 |
| Gepoolte Varianz | 0,0042 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 14 |  |
| t-Statistik | 0,6278 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,2701 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7613 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,5403 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,1448 |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
| **Tab. 15** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. zeilleri und D.tristachyum | | |
|  | *DIPzei\_f* | *DIPtri\_f* |
| Mittelwert | 0,4877 | 0,4024 |
| Varianz | 0,0006 | 0,0078 |
| Beobachtungen | 10 | 7 |
| Gepoolte Varianz | 0,0034 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 15 |  |
| t-Statistik | 2,9463 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,0050 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7531 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,0100 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,1314 |  |
| **Tab. 16** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. issleri und D.tristachyum | | |
|  | *DIPiss\_f* | *DIPtri\_f* |
| Mittelwert | 0,5813 | 0,4024 |
| Varianz | 0,0010 | 0,0078 |
| Beobachtungen | 11 | 7 |
| Gepoolte Varianz | 0,0035 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 16 |  |
| t-Statistik | 6,2187 |  |
| P(T<=t) einseitig | 6,146E-06 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7459 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 1,229E-05 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,1199 |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
| **Tab. 17** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. issleri und D.oellgaardii | | |
|  | *DIPiss\_f* | *DIPoel\_f* |
| Mittelwert | 0,5813 | 0,4667 |
| Varianz | 0,0010 | 0,0107 |
| Beobachtungen | 11 | 6 |
| Gepoolte Varianz | 0,0042 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 15 |  |
| t-Statistik | 3,4704 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,0017 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7531 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,0034 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,1314 |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
| **Tab. 18** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. issleri und D.alpinum | | |
|  | *DIPiss\_f* | *DIPalp\_f* |
| Mittelwert | 0,5813 | 0,6208 |
| Varianz | 0,0010 | 0,0155 |
| Beobachtungen | 11 | 21 |
| Gepoolte Varianz | 0,0107 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 30 |  |
| t-Statistik | -1,0276 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,1562 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,6973 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,3124 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,0423 |  |
| **Tab. 19** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. ollegaardii und D.alpinum | | |
|  | *DIPoel\_f* | *DIPalp\_f* |
| Mittelwert | 0,4667 | 0,6208 |
| Varianz | 0,0107 | 0,0155 |
| Beobachtungen | 6 | 21 |
| Gepoolte Varianz | 0,0146 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 25 |  |
| t-Statistik | -2,7590 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,0053 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7081 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,0107 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,0595 |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
| **Tab. 20** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. tristachyumund D.alpinum | | |
|  | *DIPtri\_f* | *DIPalp\_f* |
| Mittelwert | 0,4024 | 0,6208 |
| Varianz | 0,0078 | 0,0155 |
| Beobachtungen | 7 | 21 |
| Gepoolte Varianz | 0,0137 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 26 |  |
| t-Statistik | -4,2696 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,0001 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7056 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,0002 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,0555 |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
| **Tab. 21** Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen | | |
| Vergleich relativen DNA-Gehalt des Frischgmaterials von D. tristachyum und D.oellgaardii | | |
|  | *DIPtri\_f* | *DIPoel\_f* |
| Mittelwert | 0,4024 | 0,4667 |
| Varianz | 0,0078 | 0,0107 |
| Beobachtungen | 7 | 6 |
| Gepoolte Varianz | 0,0091 |  |
| Hypothetische Differenz der Mittelwerte | 0 |  |
| Freiheitsgrade (df) | 11 |  |
| t-Statistik | -1,2101 |  |
| P(T<=t) einseitig | 0,1258 |  |
| Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test | 1,7959 |  |
| P(T<=t) zweiseitig | 0,2516 |  |
| Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test | 2,2010 |  |