



universität  
wien

## **DIPLOMARBEIT**

Titel der Diplomarbeit

### **DNA-Ploidie-Bestimmung von Embryonen mittels des FCSS**

Verfasserin  
**Costea Leontina**

angestrebter akademischer Grad

**Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)**

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449  
Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie UniSG  
Betreut von: ao. Univ.-Prof. Dr. Johannes Saukel

## Danksagung

---

Ich möchte mich an dieser Stelle bei all denen bedanken, die mich bei der Anfertigung meiner Diplomarbeit so kräftig unterstützt haben.

Sehr bedanken möchte ich mich bei Dr. Christoph Dobeš für die interessante Themenstellung, die engagierte Betreuung sowie seine Bereitwilligkeit mir jederzeit und umgehend mit fachlichem Rat beizustehen. Sein Wissen und Verständnis waren mir eine unersetzbare Hilfe, seine Motivation für die Arbeit ein Vorbild.

Mein Dank gilt weiters Herrn ao. Univ.-Prof Dr. Johannes Saukel für die Möglichkeit meine Diplomarbeit in der AG Pharmakobotanik zu verfassen sowie das angenehme und hilfsbereite Arbeitsklima.

Ich möchte mich auch bei Dipl.-Ing. FH Katharina Frost für die praktische Hilfe während meiner Laborarbeit bedanken.

Ganz besonders Bedanken möchte ich mich bei meiner Familie, die immer an mich geglaubt hat und grenzenlos ermutigt hat. Ein besonders großer Dank gilt meinen Eltern, die mich nicht nur finanziell, sondern auch moralisch immer unterstützt und mir den Rücken gestärkt haben.

Weiterhin spreche ich großen Dank meinen Studienkolleginnen aus, die teilweise Freundinnen fürs Leben bleiben, und somit mein Wesen großartig bereichert haben.

# Inhaltsverzeichnis

---

Danksagung.....	1
Inhaltsverzeichnis .....	2
Verwendete Abkürzungen und Symbole .....	4
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>5</b>
1.1 Generationswechsel und Fortpflanzung.....	5
1.2 Reproduktionsmodi.....	5
1.3 Bildung und Bau des weiblichen und männlichen Gametophyten.....	5
1.3.1 Entstehung des männlichen Gametophyten.....	5
1.3.2 Entstehung des weiblichen Gametophyt .....	6
1.4 Grundlagen der Samenbildung .....	7
1.4.1 Doppelte Befruchtung.....	7
1.4.2 Apomixis oder Agamospermie.....	8
1.5 Die Gattung <i>Potentilla</i> .....	11
1.5.1 Begrenzung und Definition der Gattung <i>Potentilla</i> .....	11
1.5.2 Morphologie .....	11
1.5.3 Geographische Verbreitung und Anwendung .....	13
1.5.4 Anwendung als Arzneipflanze .....	13
<b>2. Zielsetzung</b> .....	<b>15</b>
<b>3. Material und Methodik</b> .....	<b>15</b>
3.1 Organismisches Modell: <i>Potentilla puberula</i> (Flaum-Fingerkraut).....	15
3.2 Herkunft des Pflanzmaterials.....	16
3.3 FCM und FCSS .....	16

3.3.1 Der Durchfluss-Zytometer .....	17
3.3.2 Durchführung der Probenvorbereitung .....	19
3.4 Methodik zur Auswertung der Ergebnissen .....	23
3.5 Statistische Analysen .....	25
3.6 Bestimmung der Chromosomenzahl.....	27
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>32</b>
4.1 "Genomgröße" der adulten Individuen .....	32
4.2 Vergleich der internen Standards.....	38
4.3 Vergleich der Messmodi linear und logarithmisch.....	40
4.4 Messfehler der Methode.....	41
4.5 Vergleich der Gewebe / Generationen .....	42
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>43</b>
<b>6. Zusammenfassung .....</b>	<b>47</b>
<b>7. Abstract.....</b>	<b>49</b>
<b>8. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>50</b>
<b>9. Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>53</b>
<b>10. Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>55</b>
<b>11. Anhänge .....</b>	<b>56</b>
11.1 Chemikalien und Reagenzien .....	56
11.2 Geographische Herkunft der adulten Individuen und deren Ploidie.....	57
11.3 Durchfluss-zytometrische Messungen adulte <i>Potentilla puberula</i> .....	60
11.4 Durchfluss-zytometrische Messungen Mittelwerte adulte <i>Potentilla puberula</i> ...	71
11.5 Durchfluss-zytometrische Messungen Samen <i>Potentilla puberula</i> .....	76
<b>12. Lebenslauf.....</b>	<b>80</b>

## Verwendete Abkürzungen und Symbole

---

2n	sporophytische Chromosomenzahl
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
d.h.	das heißt
DAPI	4',6'-Diamidin-2-phenylindol
DNA	Desoxyribonukleinsäure
et al.	lateinisch et alii = und andere
Ind	Individuum
log	logarithmisch
min	Minuten
Min	Minimum
mm	Millimeter
Max	Maximum
MW	Mittelwert
N-WH	Anzahl der Wiederholungen
Ptl	<i>Potentilla</i> in Materialnummern
PVP	Polyvinylpyrolidon
STABW	Standardabweichung
vgl.	vergleiche

# 1. Einleitung

---

## 1.1 Generationswechsel und Fortpflanzung

Als Generationswechsel bezeichnet man in der Biologie die Abfolge von Entwicklungsabschnitten eines Organismus. Die Generationen können sich in Gestalt, Ploidie (d.h. der Anzahl an Chromosomensätzen infolge eines Kernphasenwechsels), oder dem Typ der Fortpflanzung (z.B. geschlechtlich versus ungeschlechtlich) unterscheiden (Gerhard Wagenitz – Wörterbuch der Botanik, 2. Auflage).

## 1.2 Reproduktionsmodi

Die Angiospermen (Bedecktsamer) weisen zwei prinzipielle Arten der Fortpflanzung auf: die sexuelle (geschlechtliche) und die asexuelle (ungeschlechtliche). Als Voraussetzung für die geschlechtliche Fortpflanzung gilt die Bildung von weiblichen und männlichen haploiden Keimzellen (Gameten), die nach der Verschmelzung eine Zygote bilden, aus welcher der Embryo hervorgeht. Wenn die Meiose und die Befruchtung der weiblichen Gameten (Eizelle) ausfallen, spricht man von Apomixis oder Agamospermie, welche eine Art der ungeschlechtlichen Fortpflanzung über Samen darstellt. (Rutishauser, 1969)

## 1.3 Bildung und Bau des weiblichen und männlichen Gametophyten

Für ein Verständnis der Fortpflanzungsprozesse sind Kenntnisse des Baus der weiblichen und der männlichen Gametophyt notwendig.

### 1.3.1 Entstehung des männlichen Gametophyten

Bei den Angiospermen entstehen die männlichen Gametophyten aus einer einkernigen Mikrospore, welche das Produkt einer Meiose darstellt. Die Mikrospore enthält einen haploiden Kern welche sich in Folge einer Mitose in einen generativen und einen somatischen

Kern teilt. Aus ersterem entstehen in Folge einer weiteren Mitose die beiden männlichen Gameten (Spermakerne).

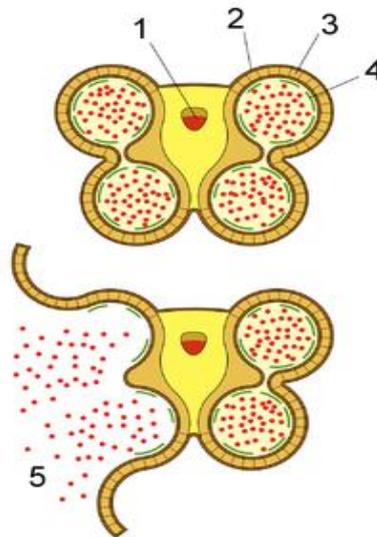


Abb. 1: Entstehungsort des männlichen Gametophyten: die Anthere

Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Staubblatt> ( Abgerufen am 11.08.2013)

Schematische Darstellung einer Anthere:

1. Leitbündel
2. Epidermis
3. Faserschicht
4. Tapetum
5. Pollen

### 1.3.2 Entstehung des weiblichen Gametophyt

Der weibliche Gametophyt (oder Embryosack) entwickelt sich ebenfalls meiotisch aus der Embryosack-Mutterzelle (oder Makrospore). Auf Grund der Unterschiede hinsichtlich der Zytologie der Embryosack-Entwicklung ist es notwendig, eine Typologie zu erstellen. Rutishauser (1969) beschreibt elf Embryosacktypen mit der Bemerkung, dass bei derselben Art oft zwei bis drei verschiedene Embryosacktypen vorkommen können.

Der häufigste Typ ist der *Polygonum*-Typus, oft auch als Normaltypus bezeichnet. Dieser Typus weist acht Kerne auf, die durch drei Zyklen mitotischer Teilungen hervorgegangen sind.

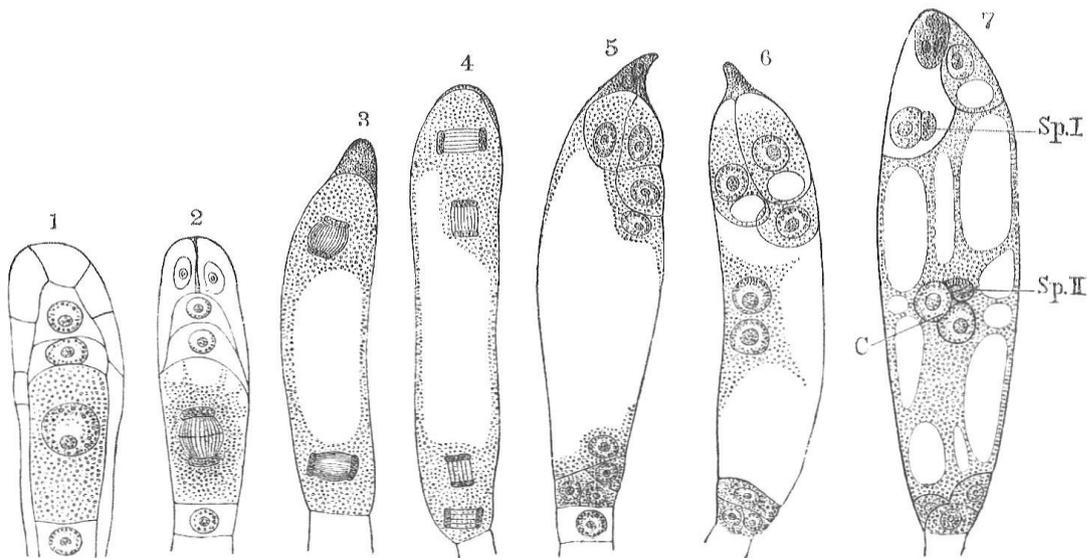


Abb. 2: Entstehung des weiblichen Gametophyten nach dem *Polygonum* (Normal) -Typus

Quelle: <http://www.academic.ru/dic.nsf/meyers/37324/Embryosack> (Abgerufen am 8.09.2013)

1. Embryosackmutterzelle bestehend aus einer Tetrade- drei Megasporen sterben ab
- 2;3. erste mitotische Kernteilung der übrig gebliebenen Megaspore
4. Zweite mitotische Kernteilung
- 5;6. dritte mitotische Kernteilung (achtkerniges Stadium)
7. erwachsener Embryosack bestehend aus 2 Polkernen (c), 2 Synergiden und einer Eizelle (oberer Pol, haploid), 3 Antipoden (unterer Pol)

## 1.4 Grundlage der Samenbildung

### 1.4.1 Doppelte Befruchtung

Die Bestäubung, welche durch Wind, Wasser oder Tiere stattfindet, erfolgt indem die Pollenkörner von der Anthere auf eine Narbe übertragen werden. Dort keimt das Pollenkorn aus und bildet einen Pollenschlauch, der durch den Griffel hindurch zum Fruchtknoten wächst.

Das Wachstum des Pollenschlauches wird unter anderem durch die Synergiden kontrolliert. Danach tritt die Pollenschlauchspitze in die Mikrophyle, durchdringt die Synergiden und die zwei Spermazellen werden freigesetzt. Eine Spermazelle verschmilzt mit der Eizelle zur

Zygote, woraus sich der diploide Embryo entwickelt. Die andere Spermazelle verschmilzt mit den beiden Polkernen, woraus sich das triploide Endosperm bildet. Das Endosperm stellt das Nährgewebe dar und entwickelt sich im Falle einer doppelten Befruchtung (Campbell & Reece 2009).

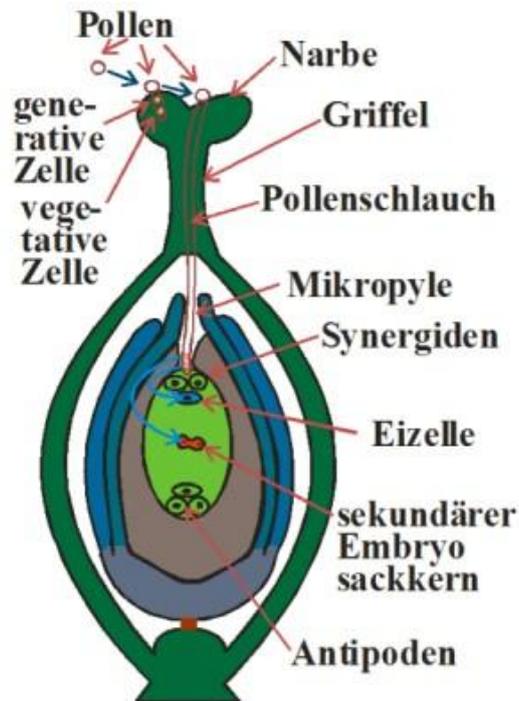


Abb.3: Doppelte Befruchtung

Quelle: <http://www.medizinalpflanzen.de/allgemei/syst-vor/sysvsn046.htm> (Abgerufen am 15.08.2013)

### 1.4.2 Apomixis oder Agamospermie

Die Apomixis (Synonym: Agamospermie) stellt eine asexuelle (ungeschlechtliche) Art der Fortpflanzung dar, wobei der Begriff Apomixis aus dem griechischen stammt (apo und mixis) und bedeutet "vom Vermischen weg".

Im Falle der Apomixis entfällt die weibliche Meiose und die Befruchtung der Eizelle. Dadurch sind Mutterpflanze und Nachkommenschaft genetisch identisch.

Die Gametenverschmelzung und damit die Rekombination von weiblichen und männlichen Chromosomensätzen dienen der Erhöhung der genetischen Variation.

Der Nachteil der Rekombination besteht darin, dass wünschenswerte Merkmalskombinationen wie z.B. Resistenzen gegen bestimmte Schaderreger auf diese Weise verloren gehen können. Somit stellt die Apomixis eine Möglichkeit dar, dass die Nachkommenschaft an die Lebensbedingungen angepasst bleibt (Rutishauser 1948).

Die charakteristischen Komponenten der Apomixis umfassen die weibliche Gametenbildung ohne Meiose (=Apomeiose) und die befruchtungsunabhängige Embryoentwicklung (=Parthenogenese) sowie die Bildung des Endosperms ohne Befruchtung (autonom) oder über Befruchtung - Pseudogamie - was die häufigere Variante ist.

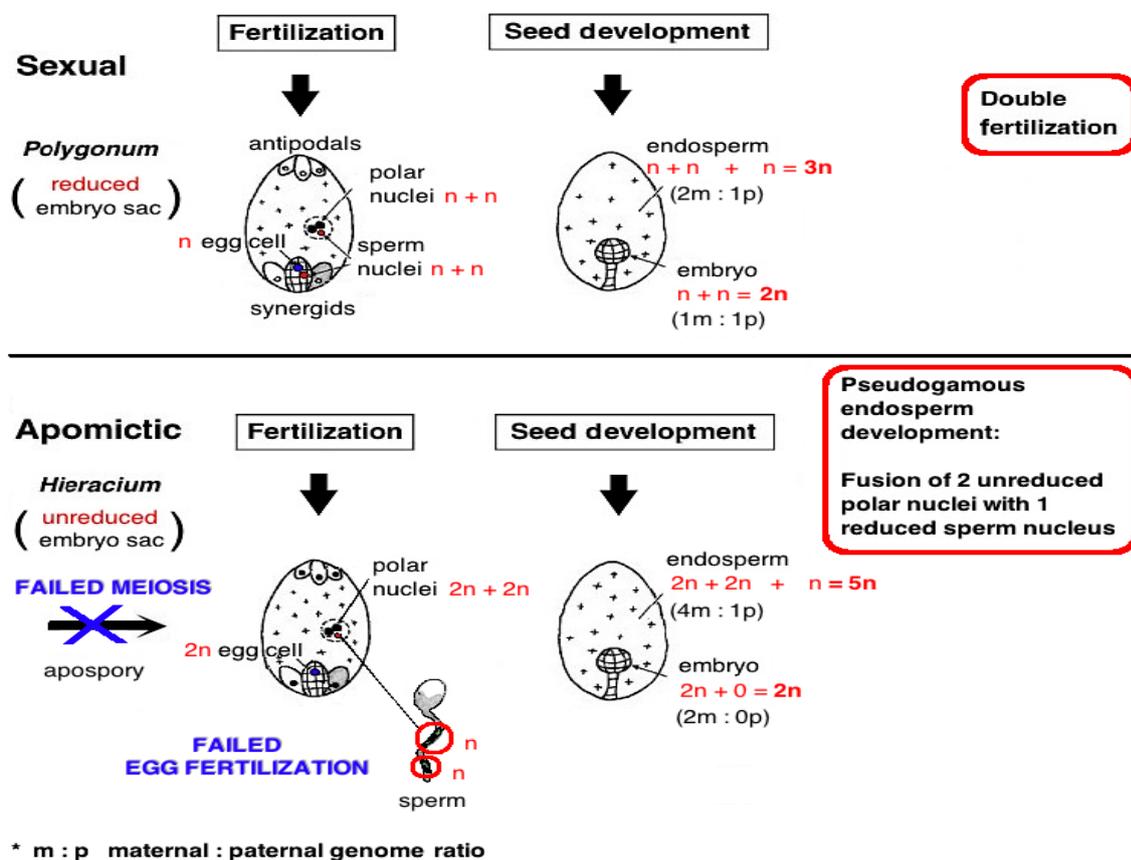


Abb.4: Schematischer Vergleich beider Reproduktionsmodi

Quelle: Diplomarbeit - Yulia Fenko - Die Bedeutung von Polyploidie für die Zytologie der Samenbildung in *Potentilla puberula* Krašan Wien 2013

Die Reproduktionsmodi sind über ein spezifisches Ploidie Verhältnis von Embryo- und Endosperm charakterisiert: Samen mit  $2n$  ( $n=1$  vollständiges Genom) Embryo und  $3n$  Endosperm können als sexuell entwickelten interpretiert werden (2 haploide Polkerne und ein haploider Spermakern bilden das Endosperm),  $2n$  Embryo und  $5n$  Endosperm (Pseudogamie) sind kennzeichnend für die Apomixis (2 unreduzierten Polkerne und ein reduzierter Spermakern bilden das Endosperm). Die Anzahl der Spermakerne und Polkerne ist allerdings nicht immer konstant somit variiert die Chromosomenzahl des Endosperms insbesondere bei pseudogamen Pflanzen. Die weibliche Meiose und der Entwicklungsprozess der Eizelle sind für den Reproduktionsmodus von Bedeutung und aufgrund ihrer Kombination ergeben sich vier hypothetische Varianten der Fortpflanzung (Dobeš et al.2013a).

Tabelle 1: Mögliche Reproduktionsszenarien bei *Potentilla* und ihre Bedeutung für die Ploidie der Nachkommenschaft

Fall	Ploidie der Mutter	♀ Meiose ±	Befruchtung ±	Reproduktionsmodus	Ploidie des Embryos
1.	$2n$	+	+	Sexualität	$2n$
2.	$2n$	-	+	Polyploidisierung	$2n + n$
3.	$2n$	+	-	haploide Parthenogenese	$n$
4.	$2n$	-	-	Apomixis	$2n$

## 1.5 Die Gattung *Potentilla*

### 1.5.1 Begrenzung und Definition der Gattung *Potentilla*

Die Gattung *Potentilla* gehört innerhalb der Ordnung Rosales (Rosales) zur Familie der Rosaceae (Rosengewächse), Unterfamilie der Rosoideae. *Potentilla* (Fingerkräuter) ist damit ein Vertreter der Angiospermen, welche rund 250 000 Arten umfassen und das bekannteste und bestuntersuchte Taxon des Pflanzenreichs darstellen (wikipedia.org)

### 1.5.2 Morphologie

Die Potentillen sind ausdauernde Kräuter, wenige Zentimeter bis ca. 1 m hoch, und umfassen 300 bis 500 Arten.

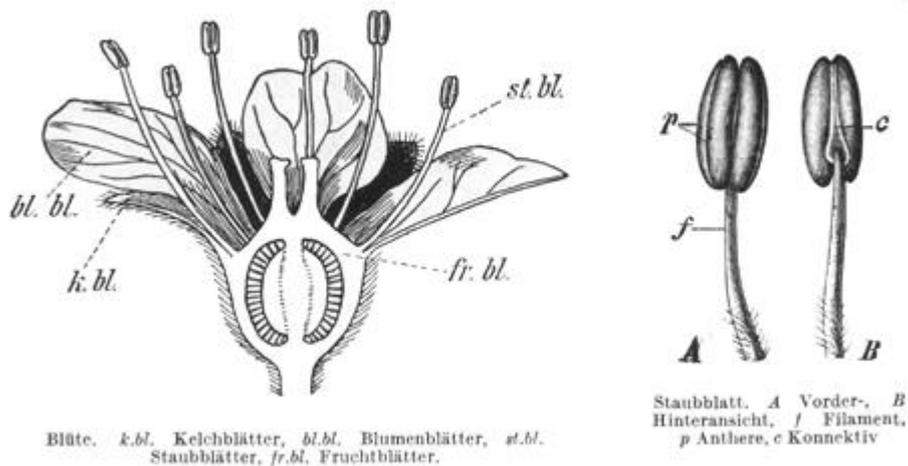


Abb.5: Blütenbau

Quelle: <http://www.forstbotanik.uni-freiburg.de/Lehre/Skripten/Skript-Forstbotanik-I> ( Abgerufen am 07.09.2013)

Die allermeisten Potentillen sind zwittrblütig mit Kelch und Krone. Die fünf Kelchblätter alternieren mit den fünf Nebenkelchblättern. Die fünf freien Kronblätter sind weiß, rot oder gelb in allen Abstufungen von weißlich- und schwefelgelb bis orange-gelb.

Die Größe der ganzen Blüte schwankt von 25-30 mm (*P. umbrosa*; *P. anserina*) bis 4-7 mm bei *P. elegans*. Die Staubblätter (Stamina) stehen auf dem häufig verdickten Rande des schüsselförmigen Kelches ihre Zahl variiert zwischen 4 bis 30 Stück. Am häufig sind 20 Stück zu finden. Die Staubbeutel (Anthere) sind zweifächerig und öffnen sich durch eine Längsspalte nahe am Außenrand nach innen oder sehr selten nach außen. Die Form der Beutel kann zur Charakterisierung einiger Gruppen herangezogen werden und variiert zwischen oval, flach oder halbmondförmig (Wolf. 1908).

Die freien Fruchtblätter (Carpella) kommen in unbestimmter Anzahl vor, dichtgedrängt am obersten Teil der Blütenachse und bilden bei der Reife Schließfrüchtchen (Achenium), dessen Bauchnaht nach innen gegen die Zentralachse der Blüte gewendet ist. Die Schließfrüchtchen zeigen wenig Abwechslung und sind eiförmig oder länglich-eiförmig, seitlich etwas zusammengedrückt, an der Spitze oft nach innen übergebogen, ganz kahl oder behaart (Wolf. 1908).

Der blühende Stengel ist kurz, aufrecht 1- oder 2-blütig (*P. elegans*) bis vielblütig oder lang ausläuferähnlich, hingestreckt unbegrenzt weiterwachsend (*P. repens*; *P. anserina*). Die Blütenstände sind zymös gebaut (Wolf. 1908).

Alle Potentillen besitzen geteilte Blätter mit Nebenblättchen und als übliche Blattformen sind gefiederte und gefingerte Blätter von größerer Wichtigkeit. Die Nebenblättchen (Stipulae) befinden sich am Grunde ihrer Blattstiele und sind in der Regel mehr oder weniger lang angewachsen. Der obere freie Teil des Nebenblättchens wird als Öhrchen bezeichnet und ist ganzrandig, gezähnt oder seltener fiederspaltig. In den meisten Fällen sind die Nebenblättchen der Stengelblätter krautig und grün, aber jene der Grundblätter sind oft häutig und welken frühzeitig ab oder werden braun und dienen der Pflanze als Winterschutz (Wolf. 1908).

Sehr wichtige Merkmale liefert die Behaarung. Tatsache ist, dass es keine kahlen Potentillen gibt. Zwei Hauptarten von Haaren sind zu unterscheiden: einzellige, lange, dickwandige Deckhaare und mehrzellige Drüsenhaare, welche als Endzelle eine Drüse besitzen, die oft ein gelblich-rötliches Sekret enthält (Wolf. 1908).



Abb.6: *Potentilla*-Blüte

Quelle:[http://www.botanicalgarden.ubc.ca/potd/2007/05/potentilla\\_cuneata.php](http://www.botanicalgarden.ubc.ca/potd/2007/05/potentilla_cuneata.php) (Abgerufen am 17.08.2013)

### 1.5.3 Geographische Verbreitung

Die Potentillen haben eine sehr große Verbreitung auf der ganzen nördlichen Halbkugel. Wenige erreichen den Äquator und diese sind entweder identisch mit nördlichen Arten und zum Teil zufällig eingeschleppt.

### 1.5.4 Anwendung als Arzneipflanze

Über die Nutzung der Potentillen für den Menschen ist folgendes zu sagen. Nach den alten Kräuterbüchern des 16. bis 18. Jahrhunderts in welchen Angaben zu den Heilkräften der Pflanzen dargestellt wurden, gibt es kaum eine Krankheit welche nicht durch eine Potentille geheilt würde. Als wirksame Inhaltsstoffe sind im trockenen Kraut 6-10 % Gerbstoffe, sowie Flavonoide, die eine spasmolytische Wirkung aufweisen. Die adstringierende Wirkung der Droge ist auf die enthaltenen Gerbstoffe zurückzuführen. Anwendungsgebiete sind akute Diarrhoe und dysmenorrhische Beschwerden, zu deren Behandlung mehrmals täglich eine Tasse frisch bereiteter Aufuss von 1 bis 2 Teelöffel der getrockneten Pflanze getrunken wird. Außerdem werden *Potentilla*-Zubereitungen im Mund und Rachenraum eingesetzt zur Therapie leichter Schleimhautentzündungen. Wurzelextrakte der *P. anserina* zeigten eine immunmodulierende Wirkung und sind auf Grund des Polysaccharidsanteils als potente Immunstimulanzien zu betrachten (Chen et al. 2010). Triterpenfraktionen einiger Potentillen zeigten eine antiatherosklerotische Wirkung im Tierversuch und werden für weitere in-vivo

Untersuchungen verwendet, um deren Wirkung genauer zu charakterisieren (Chen et al. 2012). Extrakte aus *P. fulgens* zeigten im Tierversuch eine antitumorale Wirkung durch den Flavonoid- und Polyphenolgehalt erklärbar (Radhika et al. 2012). Die Traditionelle Tibetische Medizin kennt Wurzelextrakte von *P. anserina* zur Therapie bestimmter Virusinfektionen. In Amerika werden Pflanzenteile von *P. arguta* und *P. simplex* zur Behandlung von viralen und fungalen Infektionen eingesetzt (Tomczyk et al. 2009).

Eine größere Anzahl an Arten findet jedoch in der Volksmedizin Verwendung. Als Nahrungsmittel dient die dicke Wurzel der *P. anserina* den armen Bewohnern nordischer Gebiete zu Zeit von Hungersnot. Häufig werden die oben genannten Arten auch zum Gerben der Felle und zum Rotfärben der Wollgewebe verwendet. In vivo Untersuchungen haben eine hervorragende antimikrobielle Aktivität gegen *Helicobacter pylori* gezeigt. Somit könnten Extrakte in der Therapie ulzerativer Colitis angewendet werden (Tomczyk et al. 2009). Tierversuche mit standardisierten Extrakten aus *P. discolor* deuteten auf eine hypoglykämische Wirkung hin, welche neue Hoffnung in der Therapie von Diabetes mellitus darstellt (Yang et al. 2009).

Für das Vieh sind die Potentillen nur mäßiges Futter, wichtiges liefern sie den Bienen. Giftige oder schädliche Arten gibt es bei den Potentillen nicht, etwas unangenehm könnten aber *P. anserina* und *P. reptans* als Unkraut werden. Obwohl die Potentillen leicht kultivierbar sind, finden nur wenige Arten als Zierpflanzen Verwendung wie *P. fruticosa* oder *P. atrosanguinea* in Parkanlagen. (Wolf. 1908)



Abb.7 und 8: *Potentilla fruticosa*

Quelle: [http://www.pflanzenschleuder.de/fingerstrauch-potentilla-669\\_39.html](http://www.pflanzenschleuder.de/fingerstrauch-potentilla-669_39.html) (Abgerufen am 17.08.2013) (7)

Quelle: <http://www.baumschule-brillinger.at/potentilla-fruticosa-goldstar-fuenffingerstrauch-gelb> (Abgerufen am 17.08.2013) (8)

## 2. Zielsetzung

---

Meine Diplomarbeit hat folgende Ziele:

1. Etablierung eines Samenstandards für den flow cytometric seed screen (FCSS).
2. Detektion von Genomgrößen-Variationen der Mutterpflanzen innerhalb der einzelnen Ploidieebenen.
3. Vergleich von linearen und logarithmischen Messungen unter Bestimmung von Korrekturfaktoren linear-logarithmisch, um eine Beurteilung über die Genauigkeit der beiden Registriermethoden zu treffen.
4. Vergleich von zwei internen biologischen Standards hinsichtlich der Auswirkung auf die Genomgrößenbestimmung.

## 3. Material und Methodik

---

### 3.1 Organismisches Modell: *Potentilla puberula* (Flaum-Fingerkraut)

Die Modellpflanze, *Potentilla puberula* Krašan (Soják 2010), gehört in die Gruppe der Frühlings-Fingerkräuter (*P. verna* agg. Ehrendorfer 1973). Die Art ist in den europäischen Alpen und Karpaten an offenen trockenen Standorten wie Felsrasen oder flachgründigen, mageren Weiden verbreitet. *Potentilla puberula* zeigt eine zytologische Differenzierung in tetra- bis oktoploide Individuen (Zellkerne mit vier bis acht Chromosomensätzen) (Dobeš 1999): Die Tetraploiden sind vornehmlich sexuell, die Höher-Ploiden fast ausschließlich apomiktisch (Dobeš et al. 2013b).

### 3.2 Herkunft des Pflanzenmaterials

Das Pflanzenmaterial stammt aus Osttirol und wurde im Garten der Universität Wien am Department für Pharmakognosie unter kontrollierten Bedingungen kultiviert. Für die Bestimmung der Genomgrößen wurden von Individuen Blattstiele entnommen. Für die Vermessung der Samen wurden die Früchtchen von je drei frei bestäubten tetra-, penta-, hexa- hepta- und oktoploiden Individuen geerntet.

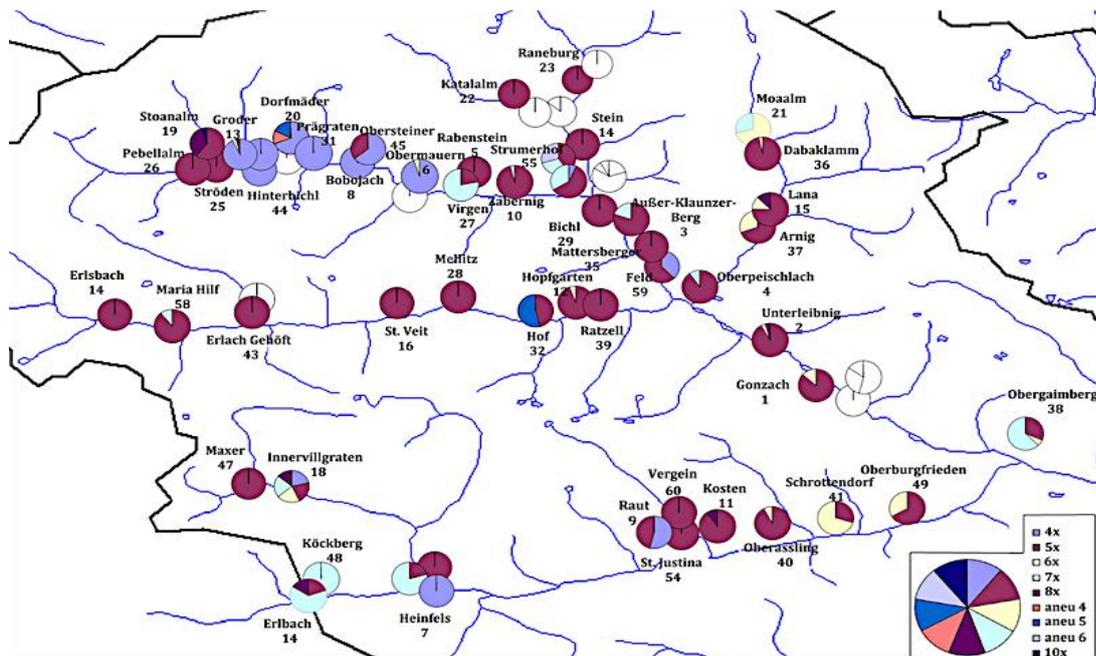


Abb.9: Geographische Verbreitung in Osttirol. Jeder Kreis symbolisiert eine Population, die Sektoren beobachtete Zytotypen und deren relative Häufigkeiten (Christoph Dobeš et al. unpubliziert).

### 3.3. FCM und FCSS

Die Durchfluss-Zytometrie (engl. Flow cytometry: FCM) ist eine analytische Methode zur Bestimmung der optischen Eigenschaften von einzelnen Partikeln in flüssiger Suspension (Suda et al., 2007). Im speziellen eignet sie sich zur Bestimmung des DNA-Gehaltes bzw. der Ploidie von Zellkernen.

Der flow-cytometric seed screen (FCSS) ist innerhalb der Durchfluss-Zytometrie ein spezielles Verfahren zur Ermittlung der Ploidie von Embryo und Endosperm. Anhand dieser Werte können der reproduktive Entstehungsmodus eines Samens (Matzk et al. 2000) sowie die männlichen und weiblichen genomischen Beiträge zum Embryo bzw. Endosperm bestimmt werden (Dobeš et al 2013a).

### 3.3.1 Das Durchfluss-Zytometer

Für die Analyse wurde das Durchfluss-Zytometer CyFlow Space (PARTEC, Münster, Deutschland) benutzt. Das Gerät ist mit einer UV-LED-Lampe (365 nm) als Lichtquelle ausgestattet und erlaubt die Registrierung der Fluoreszenzintensitäten von in diesem Wellenlängenbereich anregbaren Farbstoffen. Mittels der Software FloMax (Quantum Analysis, Münster, Deutschland) und Windows Excel wurden die Daten gespeichert und ausgewertet.



Abb. 10 : Der Durchfluss-Zytometer

Das Prinzip des Durchfluss-Zytometers basiert auf der Registrierung der Fluoreszenz jedes einzelnen Partikels in einer Suspension. Die Probelösung wird in eine Kapillare geleitet, welche sich in einer Fließküvette aus Quarzglas befindet.

Die Zellpartikel richten sich hintereinander in einer laminaren Strömung, und werden somit räumlich separiert. Die mittels Fluoreszenzfarbstoff gefärbten Partikel werden angeregt und die Fluoreszenzsignale von Fotodetektoren registriert. Die Fluoreszenzintensitäten der Partikel werden in Form eines Histogramms gespeichert und visualisiert.

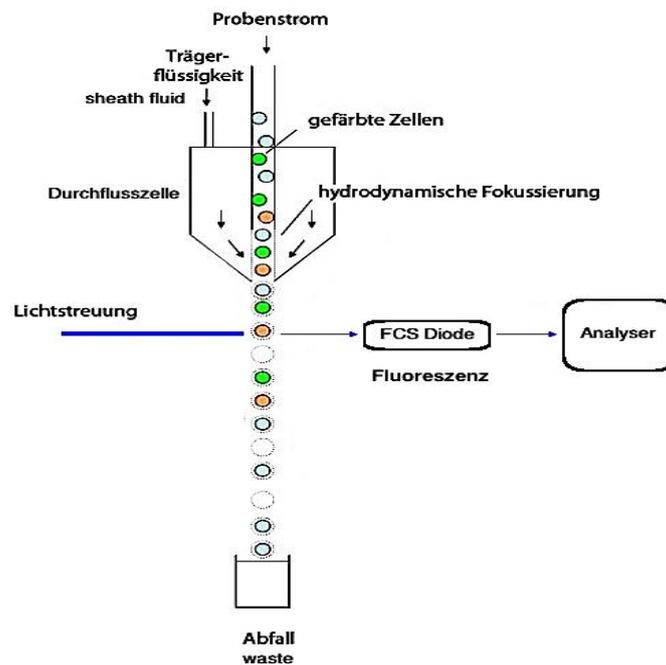


Abb. 11: Schematische Darstellung des Gerätes

Bei der Untersuchung der Proben wurden folgende Parameter verwendet:

Tabelle 2: Parameter des Gerätes

Scale	logarithmic (log3)	Linear
L-L	390	100
Gain	440-500	520-560
Speed (µl/sec)	0,1-1,0	0,1-0,5
Counts	≤ 20 particles/sec	≤ 15 particles /sec.
Total number of particles per measurement	≤ 3 000 particles	≤ 3000 particles
Autostorage of files	enabled	enabled
Type of stored files	fcs	fcs
Version of software	CA3 1.315 9/1998	CA3 1.315 9/1998

### 3.3.2 Durchführung der Probenvorbereitung

#### Samenpräparierung

Die Früchtchen werden mittels einer sauberen Rasierklinge halbiert. Danach werden Frucht- und Samenhülle mittels einer Pinzette sorgfältig entfernt und der Same freigelegt. Man arbeitet unter einer Stereolupe.



Abb. 12: *Potentilla* Samen –heptaploid

### Zellsuspension

Es werden je ein 1x1 mm großes Blattstück von zwei Referenzpflanzen (interner Standard): *Trifolium* und *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin: Doležel et al. 2007) entnommen und mit dem Samen in eine Petrischale übergeführt. Das gesamte Pflanzenmaterial wird mit 0,5 ml eiskalten OTTO I-Puffer versetzt und mit einer frischen Rasierklinge feinst zerhackt. Die Suspension bleibt 30 Minuten auf dem Eis stehen, damit sich die Kerne aus den Zellen besser herauslösen können. Es folgt eine Ultraschallbehandlung für 30 Sekunden, um die Extraktion zu beschleunigen und dann wird anschließend durch ein Gaze mit 20 µm Maschenweite (Partec CellTrics) in ein 3,5 ml Proberöhrchen (Sarstedt) filtriert.



Abb. 13: Früchtchen zerkleinert und mit OTTO I-Puffer versetzt



Abb.14: Filtrierung durch Filter CellTrics®

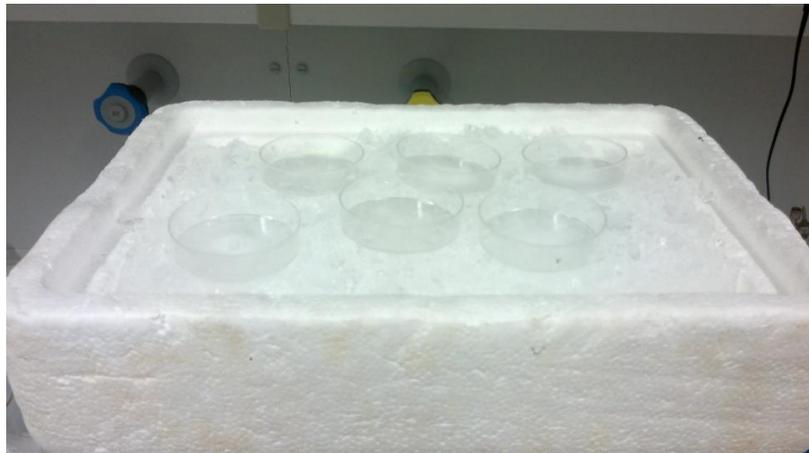


Abb.15: Extraktion in der Kälte



Abb.16: Ultraschallbehandlung der Früchtchen (Sonorex® RK 100)

### **Färbung**

Die Suspension wird zum Schluss mit 1 ml DAPI-Lösung (Konzentration im Färbepuffer 80ng/μl] versetzt und  $\geq 5$  min stehen gelassen damit die DNA-Färbung stattfinden kann.

### **Präparation der Blattstiele**

Im Unterschied zu den Samen wird die Blattstiel-Suspension sofort gefärbt und gemessen (Die Extraktionen in der Kälte und mittels Ultraschall entfallen). Als interner Standard diente *Trifolium repens* (für alle Adulten verwendet, N = 128 und *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin (für jene Adulten für die auch die Samen analysiert wurden, N = 15 = 3 je Zytotyp).

Die DAPI-Konzentration des Färbepuffers betrug für die Messungen mit *Trifolium* 4μg/ml und die Messung erfolgte im linearen Modus, für jene mit *Pisum* 80ng/μl und die Messung erfolgte im logarithmischen Modus (= ident zu den Bedingungen der Samenmessungen).

### 3.4 Methodik zur Auswertung der Ergebnisse

Die Messdaten werden in Form eines Histogramms dargestellt. Die Horizontale x-Achse des Histogramms gibt die Fluoreszenz-Intensität der Partikeln wieder, die y-Achse die Anzahl der registrierten Partikel für die festgelegten Intensitätsklassen. Die Fluoreszenzsignale für Probe und Standard werden damit als Peaks sichtbar. Die FCM-Daten werden ausgewertet indem die Peaks händisch begrenzt werden = "gated".

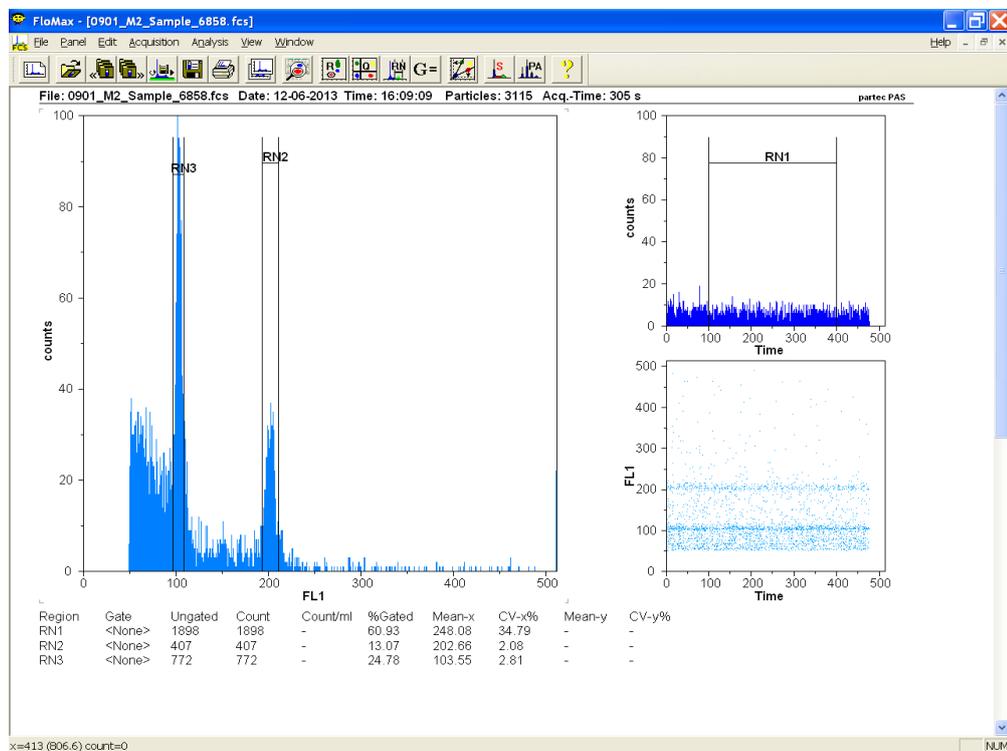


Abb 17: Gating der Peaks -1 Messung Individuum 09-01

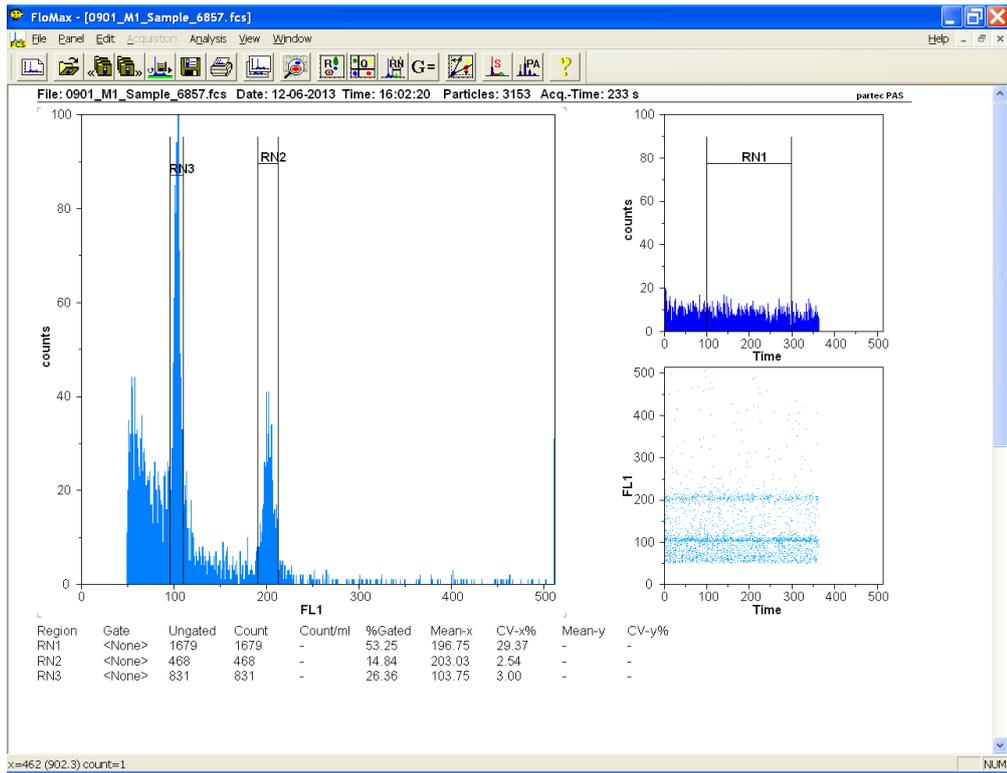


Abb. 18: Gating der Peaks - Individuum 09-01

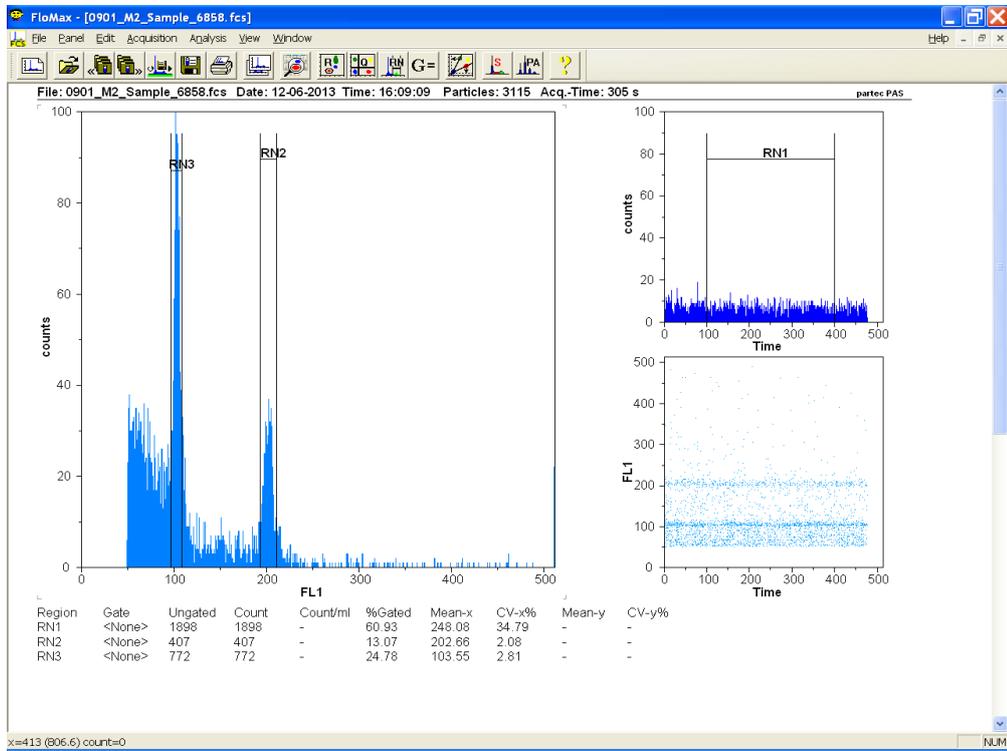


Abb. 19: Gating der Peaks - Individuum 09-01

Die oben angeführten Histogramme des Individuums 09\_01 (5x Ploidieniveau) soll als Beispiel darstellen, wie die Daten ausgewertet wurden und welche Größen eine Rolle spielen. Durch  $\text{mean } x$  wird der Mittelwert der Fluoreszenzintensität aller gegateten Partikel (=counts) eines Peaks repräsentiert. Der Variationskoeffizient eines Peaks (% CV= coefficient of variation) ist ein Maß der Streuung der Partikel um den Mittelwert und charakterisiert damit die Messgüte. Den oben markierten Peaks entsprechen folgende Größen. RN-1 Peak = Bereich der ausgewählten Counts; RN-2 =entspricht dem Standard = *Trifolium repens*: RN-3 Peak = stellt die Probe dar, nämlich Blattstiel *Potentilla*. Daraus wird ein Koeffizient berechnet:  $\text{RN3/RN2} = \text{Proben/Standard-Verhältnis}$ . Es werden drei Messungen je Individuum durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu erhöhen. Die drei Messungen habe ich verwendet um einen Mittelwert zu berechnen.

Im logarithmischen Messmodus wurde weiters das Endosperm-Signal ausgewertet. Damit wurde das Fluoreszenzverhältnis zwischen Endosperm/Embryo (= peak index) berechnet. Ein peak index größer 2 sowie eine gegenüber der Mutter unveränderte Genomgröße des Embryos bedeutet Apomixis (New Phytologist Dobes et al 2013). Für die weiteren Auswertungen wurden nur apomiktisch entstandene Samen berücksichtigt. Dies erlaubt die Annahme identer Genomgrößen von Mutter und deren Embryonen.

### 3.5 Statistische Analysen

Folgende Auswertungen/Statistiken wurden anhand der FCM-/FCSS-Daten der Adulten (Blattmessungen) und deren apomiktisch gebildeter Samen (Embryonen) vorgenommen.

#### •Relative Genomgröße der Individuen

Die Blattstiele der adulten Pflanzen (N=128) wurden mittels FCM mit *Trifolium repens* als interner Standard gemessen. Pro Individuum wurden 3 Messungen durchgeführt und daraus einen Mittelwert berechnet. Es wurde jeweils für jedes Individuum und jedes Ploidieniveau das Minimum und Maximum ermittelt. Die Individuenmittelwerte und Wiederholungsmessungen wurden mittels Streudiagramm miteinander verglichen. Der Vergleich erfolgte der besseren Übersicht halber getrennt nach den Ploidieniveaus.

### •Vergleich der internen Standards

Die Samen wurden simultan mit Hilfe von zwei internen Standards (*Trifolium repens* und *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin) logarithmisch gemessen. Dies erlaubt auf einen Einfluss des Standards zu testen. Dazu wurde das Embryo/Standardverhältnis für die beiden Standards gegeneinander regressiert. Die Regressionsformel erlaubt zu beurteilen, ob sich (i) das Verhältnis in Abhängigkeit von der Ploidie ändert (d.h. ob mit steigender Ploidie die Verhältnisse für *Trifolium* und *Pisum* relativ zueinander steigen/sinken) und (ii) ob die Verhältnisse generell höher/niedriger sind. Um die Verhältnisse der beiden Standards miteinander vergleichen zu können, wurden die Werte jeweils auf die Tetraploiden normiert (durch Division der Verhältnisse durch den Mittelwert für die Tetraploiden).

### •Vergleich der Methode

Dadurch dass die Samen sowohl im linearen Modus als auch im logarithmischen Modus (mit *Trifolium*) gemessen worden sind, kann auf einen Einfluss des Messmodus getestet werden. Dies erfolgte wie für den Vergleich der Standards beschrieben über eine Regressionsformel.

### •Messfehler der Methode

Die Genauigkeit der „Methodik FCSS“ wurde durch Berechnung der Standardabweichung sowie der 5% / 95%-Konfidenzintervalle der Embryo/Standard Fluoreszenzverhältnisse bestimmt. Diese Werte wurden auf Individuenbasis berechnet.

### •Vergleich der „Genomgröße“ adulter Pflanzen und Samen

Für 15 Individuen wurde das Proben/Standardverhältnis für die Embryonen und Blattstiele verglichen. Die Messungen der Blattstiele wurden 6x wiederholt und ein Mittelwert ermittelt. Pro Individuum wurden 4-19 apomiktisch entstandene Samen gemessen. Zum Vergleich der Verhältnisse wurde die prozentuale Abweichung der Mittelwerte von Embryo und Blattstielen für jedes Individuum

berechnet. Da für jedes Ploidieniveau drei Individuen analysiert wurden, konnte weiteres auf einen Effekt der Ploidie getestet werden

Tabelle 3: Übersicht FCM Und FCSS Messungen

Generation	N Proben	N -WH	DAPI_Konzentration	Messmodus	Standard	Rohdaten
Adulte	128	3	40µg/ml	lin	Trifolium	Anhang 1
	15	6	80ng/µl	log	Pisum	Anhang 2
Embryos	4-19	0	80ng/µl	lin & log	Trifolium+Pisum	Anhang 3

N-WH= Anzahl der Wiederholungen

N Proben = Anzahl der Proben

### 3.6 Bestimmung der Chromosomenzahl

Das Material für die Chromosomenzählungen stammt aus der Freiland-Topfkultur aus dem Arzneipflanzengarten des Departements für Pharmakognosie der Universität Wien.

#### **Fixierung des Materials**

Es wurden ca. zehn dünne weiße Wurzelspitzen pro Pflanze entnommen, mit destilliertem Wasser gewaschen, von Erde befreit und in eine 0,002 molare 8-Hydroxychinolin-Lösung übergeführt unter Verwendung von Schnappdeckelgläser. Die zuletzt genannte Lösung stellt ein Mitosegift dar und bewirkt somit dass die Chromosomen in der Äquatorialebene der Metaphase bleiben.

Die Dauer der Behandlung beträgt drei Stunden. Anschließend werden sie für eine Stunde in den Kühlschrank aufbewahrt um zu verhindern, dass die Chromosomen miteinander verkleben. Anschließend werden die Wurzel mit destilliertem Wasser erneut gewaschen und in Carnoy'scher Lösung (Gemisch aus Ethanol und Eisessig im Verhältnis 3:1) fixiert.

Diese Lösung wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen und die fixierten Proben anschließend in die Gefriertruhe bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gebracht. Jedes Schnappdeckelglas enthält außerdem ein Etikett mit Probennummer, Fixierlösung und Präparationsdatum und kann unbefristet gelagert werden.

### **Herstellung der Präparate**

Für die Chromosomenuntersuchungen wurden die Wurzeln in destilliertes Wasser transferiert und gewaschen. Das Wasser wurde mittels einer Pipette entfernt und die Wurzel für 30 Minuten in 5 normaler Salzsäure bei Raumtemperatur hydrolysiert. Die Hydrolyse dient der Mazeration der Zellwände. Anschließend wird mit destilliertem Wasser gewaschen und präpariert mit Hilfe einer Nikon® Stereolupe mit 8- bis 35-facher Vergrößerung.



Abb. 20:Nikon® Stereolupe

Die Wurzelspitzen werden auf einem fettfreien mit 96% Ethanol gereinigten Objektträger mit 2 Tropfen 45% Essigsäure versetzt, die eine Anfärbung der Chromosomen begünstigt. Weiters wird eine Präpariernadel (Insektennadel Größe 000 und 00) benutzt um die Kalyptra und das parenchymatische Gewebe zu entfernen. Das Apikalmeristem wird mit einem Skalpell abgeschnitten und auf einen neuen, gereinigten Objektträger mit einem Tropfen 45% Essigsäure transferiert.

Ein Deckglas wurde vorsichtig auf das Apikalmeristem gelegt und an einer Ecke mittels Filterpapierblock festgehalten. Es wird aufs Deckglas geklopft um die Zellen

aus dem Zellverband herauszulösen und idealerweise das Präparat in einer Zellschicht zu verteilen. Es ist zu vermerken, dass die Zellen nicht beschädigt werden dürfen (zB durch Verschieben des Deckglases).

Weiters wird der Objektträger mittels eines Filterpapierblocks getrocknet und das Quetschpräparat in eine Petrischale gelegt. Die Petrischale wird in einem Dewar-Gefäß transferiert, das mit flüssigem Stickstoff gefüllt ist. Die Stickstoff-Behandlung dauert ca. 5 Minuten und entspricht einer Temperatur von  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Die Zellen frieren augenblicklich und werden somit auf Objektträger fixiert. Nach der Entnahme des Objektträgers wurde das Deckglas mit einer Rasierklinge „abgesprengt“ und somit entfernt.



Abb. 21: Dewar-Gefäß mit flüssigem Stickstoff

Nach dem Lufttrocknen wurde das Präparat mit: Giemsa-Färbelösung (Carl Roth), einer Mischung der Giemsa-Stammlösung und destilliertem Wasser im Verhältnis 1:10 gefärbt. Die Giemsa-Färbelösung wird mit Hilfe einer Pasteurpipette aufgetragen und nach 3 Minuten Einwirkzeit mit destilliertem Wasser gewaschen und mittels Druckluft getrocknet.



Abb. 22: Giemsa-Färbung

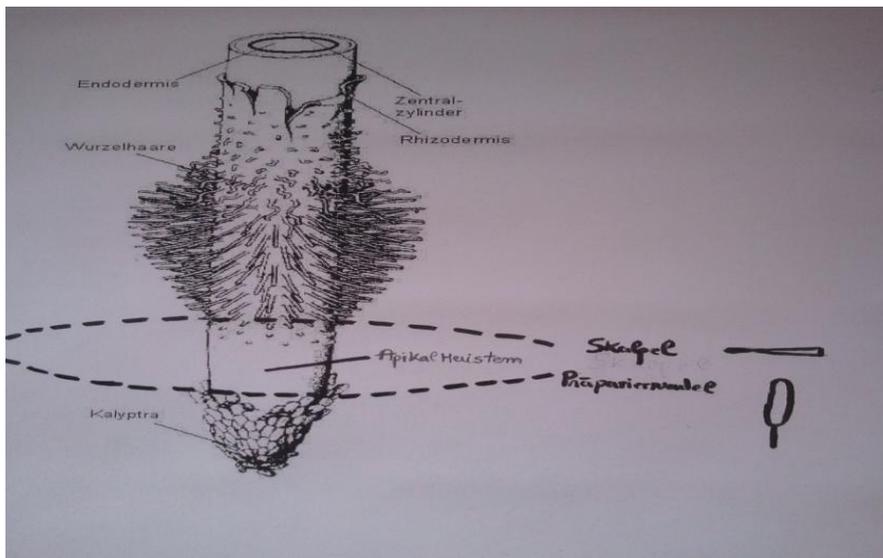


Abb.23 : Wurzelarstellung

Quelle: [http://www.ikt.de/online/f0085/ebene3/kapitel\\_3\\_1\\_1.html](http://www.ikt.de/online/f0085/ebene3/kapitel_3_1_1.html)



Abb.24: Schnappdeckelglas

### **Chromosomenzählung**

Die Chromosomenzählung erfolgt mit dem Lichtmikroskop Nikon® Eclipse E600 (Nikon, Tokyo, Japan) mit Kreuztisch. Über die mikroskopische Beobachtung wurden die Teilungsstadien analysiert und eine schematische Bleistift-Zeichnung erstellt.

Eingesetzt wurden Objektive mit 10-,40-,60-, und 100- facher Vergrößerung und Okulare mit 10-facher Vergrößerung. Anschließend wurden Dauerpräparate angefertigt in dem man auf das Präparat einen Tropfen Euparal (Carl Roth) setzt und mit einem Deckglas verschließt. Die Beobachtungen wurden bei 100-facher Vergrößerung unter Einsatz von Immersionsöl durchgeführt.



Abb.25: Lichtmikroskop Nikon® Eclipse E600

## 4. Ergebnisse

### 4.1 „Genomgröße“ der adulten Individuen

#### DAPI linear

Es wurden insgesamt 412 Messungen für 128 Individuen durchgeführt. Die CV-Werte für Probe und Standard (*Trifolium repens*) schwankten zwischen 1,23-4,08 (MW 2,51 ±0,47 STABW) und 1,21-3,14 (MW 1,95 ±0,31 STABW), die counts zwischen 183-2370 (MW 741,70 ±322,61 STABW) und 168-1498 (MW 767,02 ±288,97 STABW). Die Proben/Standard-Verhältnisse bildeten entsprechend der Ploidie der analysierten Individuen (4x, 5x, 6x, 7x, 8x) fünf distinkte Größenklassen (Abbildung 26 - Histogramm). Die Mittelwerte der einzelnen Individuen bewegten sich zwischen 0,397-0,438; 0,504-0,527; 0,602-0,633; 0,699-0,726 und 0,810-0,869 für die fünf Ploidieniveaus. Die Abweichung der ermittelten Verhältniszahl innerhalb der einzelnen Ploidieniveaus betrug zwischen 3,81 und 10,48% (Tabelle 1). Die Abweichung der Werte zwischen den Wiederholungsmessungen für die einzelnen Individuen betrug zwischen 0,03 und 2,80 % (MW 0,625; ±0,45 STABW).

Tabelle 4: Proben: Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der adulten Individuen berechnet als Individuen-Mittelwerte (MW) aus drei Wiederholungsmessungen.

Ploidie	N Individuen	Proben : Standard Fluoreszenz-Verhältnis (MW)			
		Minimum	Maximum	Median	% Abweichung
4x	19	0,3972	0,4388	0,4145	10,48
5x	56	0,5040	0,5270	0,5150	4,57
6x	19	0,6020	0,6332	0,6235	5,18
7x	19	0,6993	0,7260	0,7146	3,81
8x	15	0,8104	0,8691	0,8298	7,24
	128	0,397225602	0,869168998		

Standard = *Trifolium repens*; DAPI - Fluoreszenz, linearer Messmodus

Minimum/Maximum = kleinster/höchster für das jeweilige Ploidieniveau beobachteter Wert

% Abweichung = ((Maximum/Minimum)-1)\*100

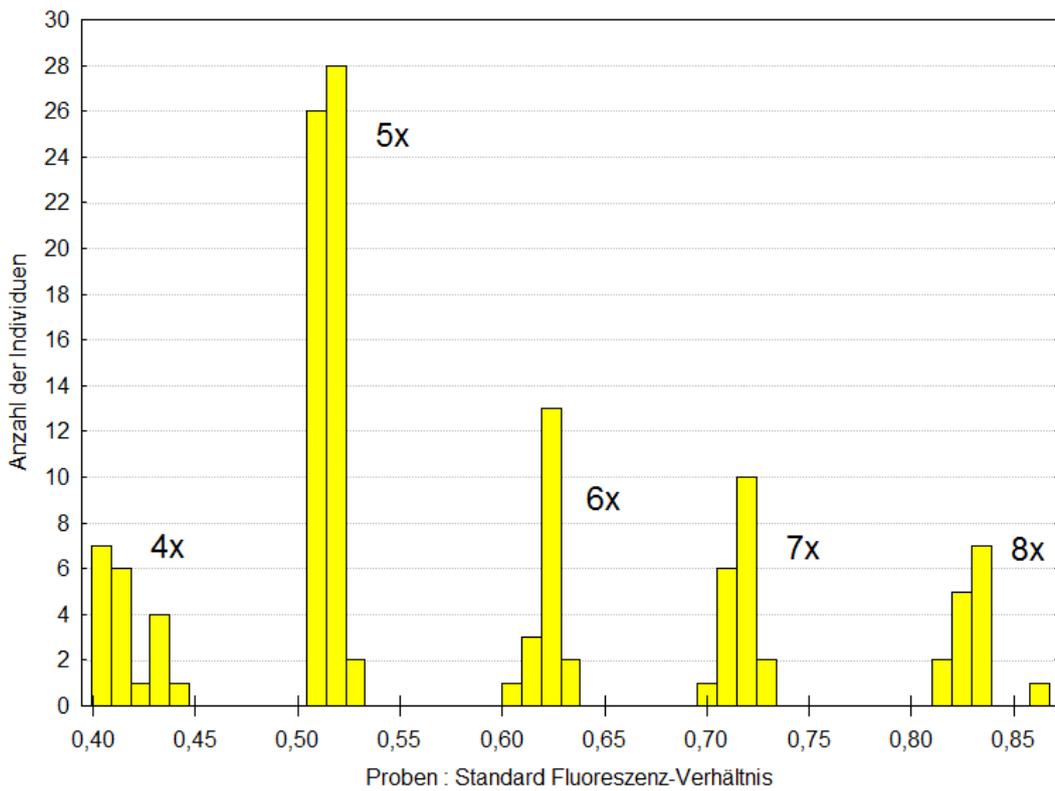


Abb. 26: Häufigkeit der ermittelten Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse (Individuen-Mittelwerte aus drei Wiederholungsmessungen) der Adulten. Die fünf separierten Klassen entsprechen Tetra-, Penta-, Hexa-, Hepta- und Oktoploidie. Insbesondere für die Tetra- sowie Oktoploiden lässt die Verteilung der Werte Unterschiede in der DNA-Ploidie der Individuen innerhalb der Ploidieniveaus erkennen.

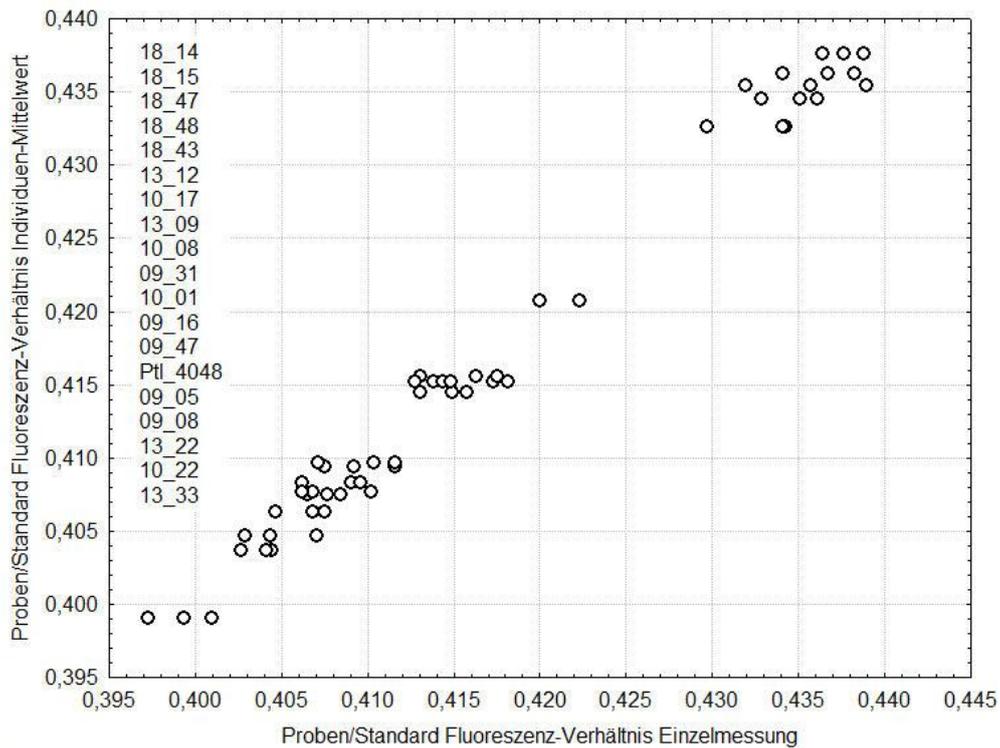


Abb. 27: Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der tetraploiden Individuen. Die x-Achse zeigt die Werte für die Einzelmessungen, auf der y-Achse sind deren Mittelwerte (Individuen-Mittelwerte) aufgetragen. Die Legende gibt die Bezeichnung der Individuen absteigend sortiert nach den Mittelwerten. Als Beispiel nehmen wir das Individuum 18\_14 (Messwerte ganz oben) mit gemessenen Werten zwischen 0,4364 und 0,4388 (maximale Abweichung 0,55%) und einem Mittelwert von 0,4376. Die Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Individuen sind deutlich höher als die Schwankungen zwischen den Wiederholungsmessungen für die einzelnen Individuen.

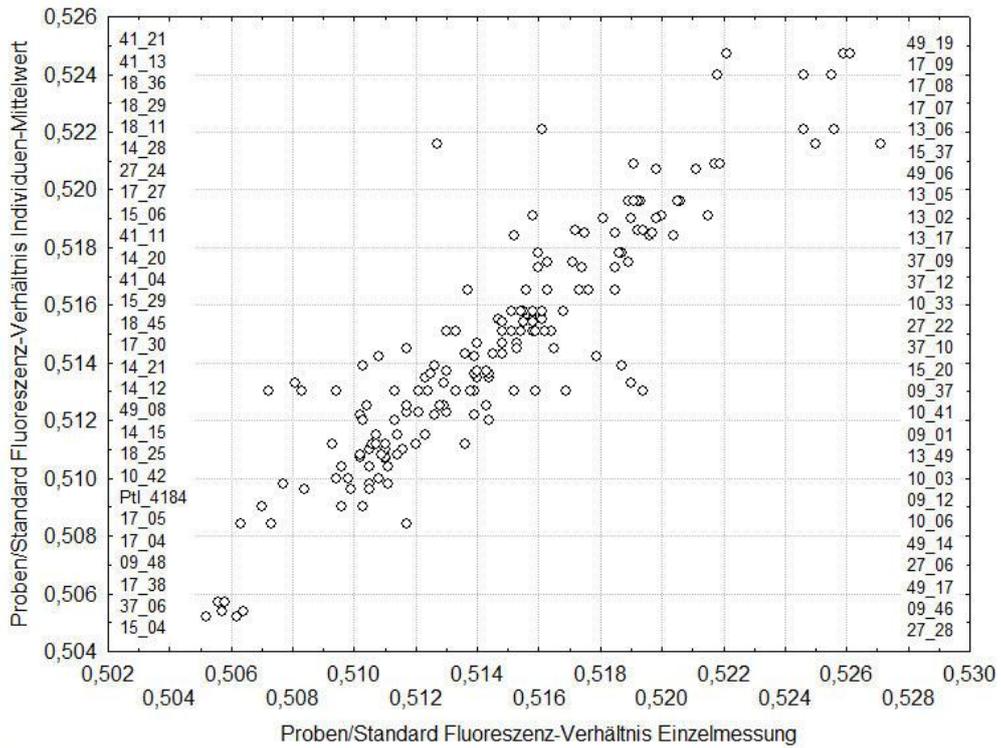


Abb.28: Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der pentaploiden Individuen

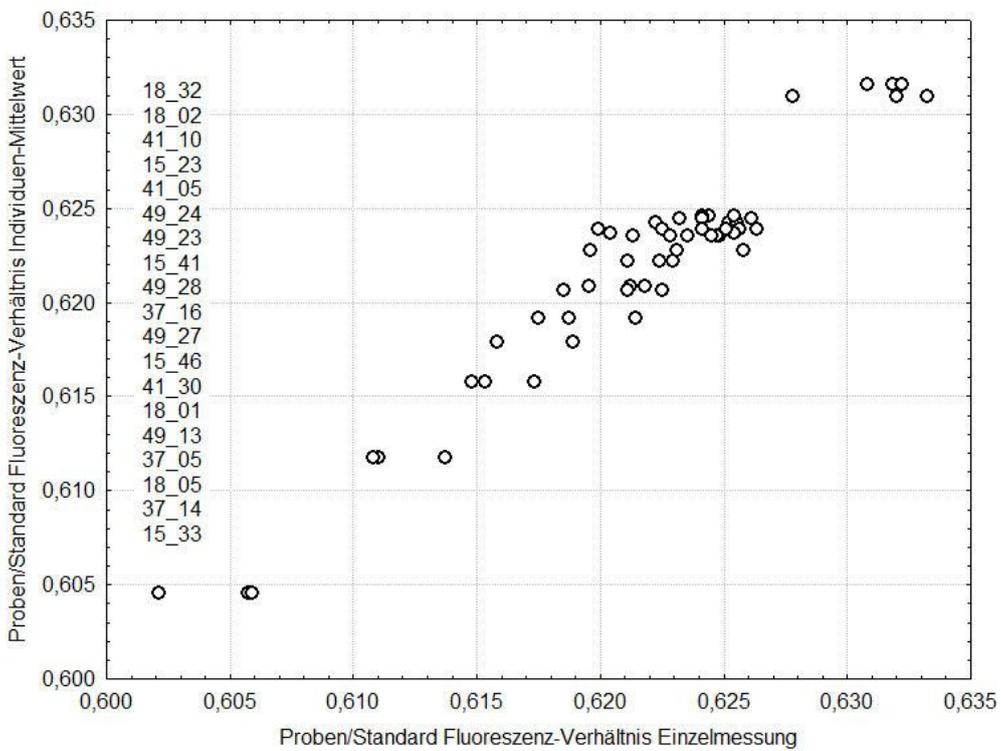


Abb. 29: Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der hexaploiden Individuen

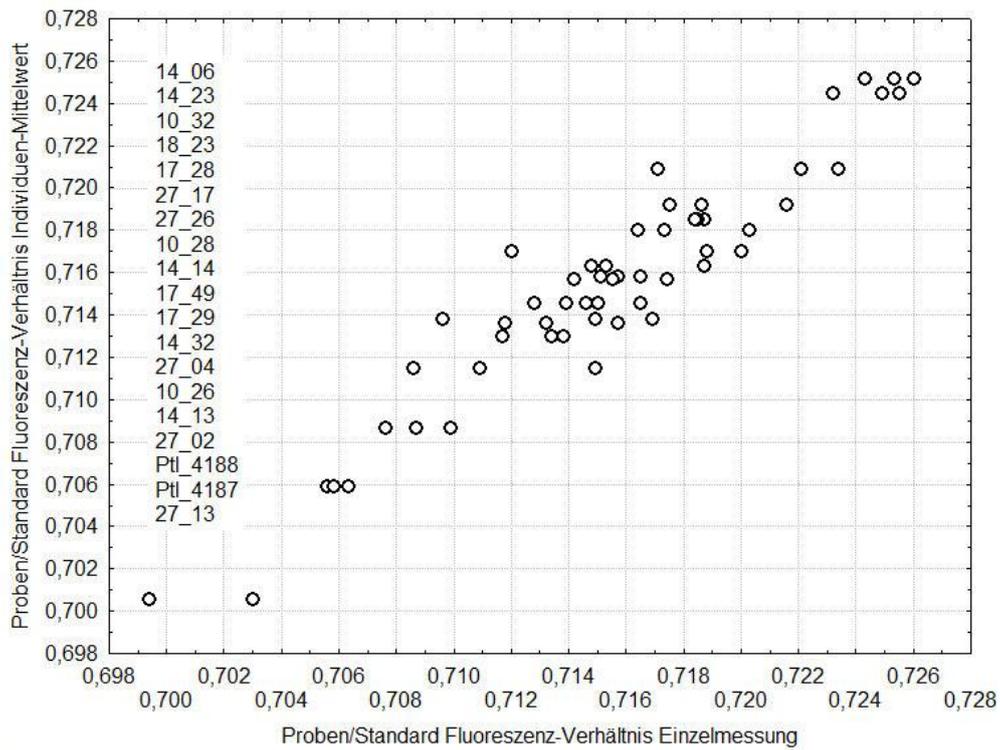


Abb. 30: Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der heptaploiden Individuen

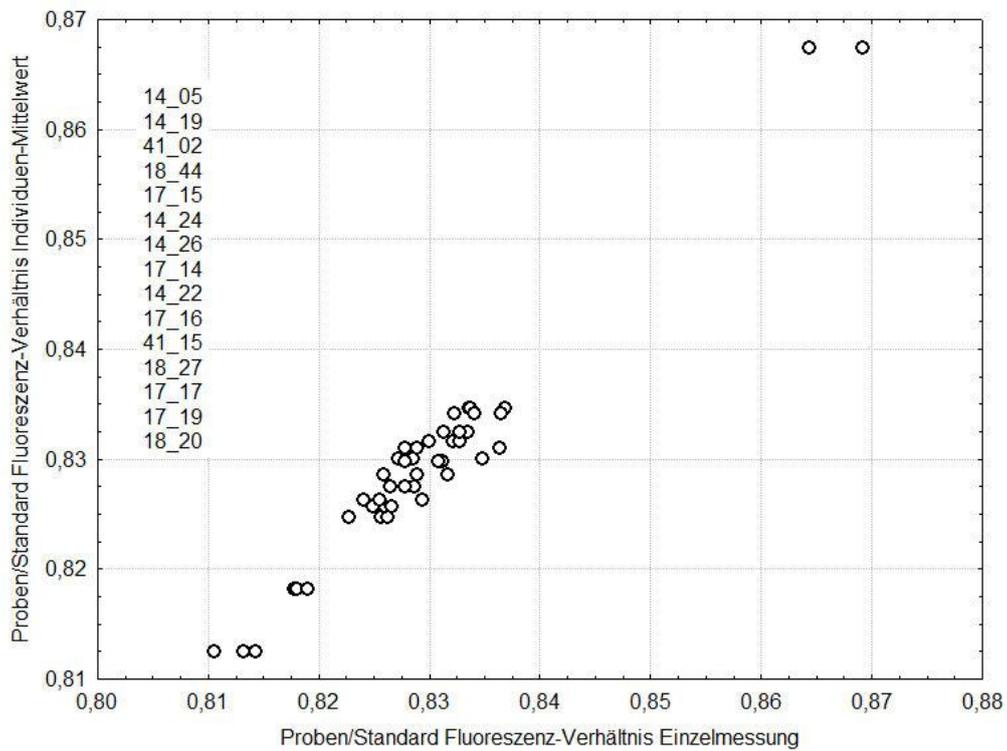


Abb.31: Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der oktoploiden Individuen.

## 4.2 Vergleich der internen Standards

Abbildung 33 vergleicht die „relativen Genomgrößen“ der Embryonen ermittelt mit den beiden internen Standards *Trifolium repens* und *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin. Die Proben: Standard Fluoreszenzverhältnisse der einzelnen Embryonen wurden dazu relativ zum Mittelwert der Proben:Standard Fluoreszenzverhältnisse der Tetraploiden gesetzt. Diese Standardisierung wurde jeweils getrennt für die Messungen mit *Trifolium* und *Pisum* durchgeführt. Die Steigung der Regressionsgeraden nahe 1 sowie das hohe  $r^2$  belegen eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse der beiden Versuchsansätze.

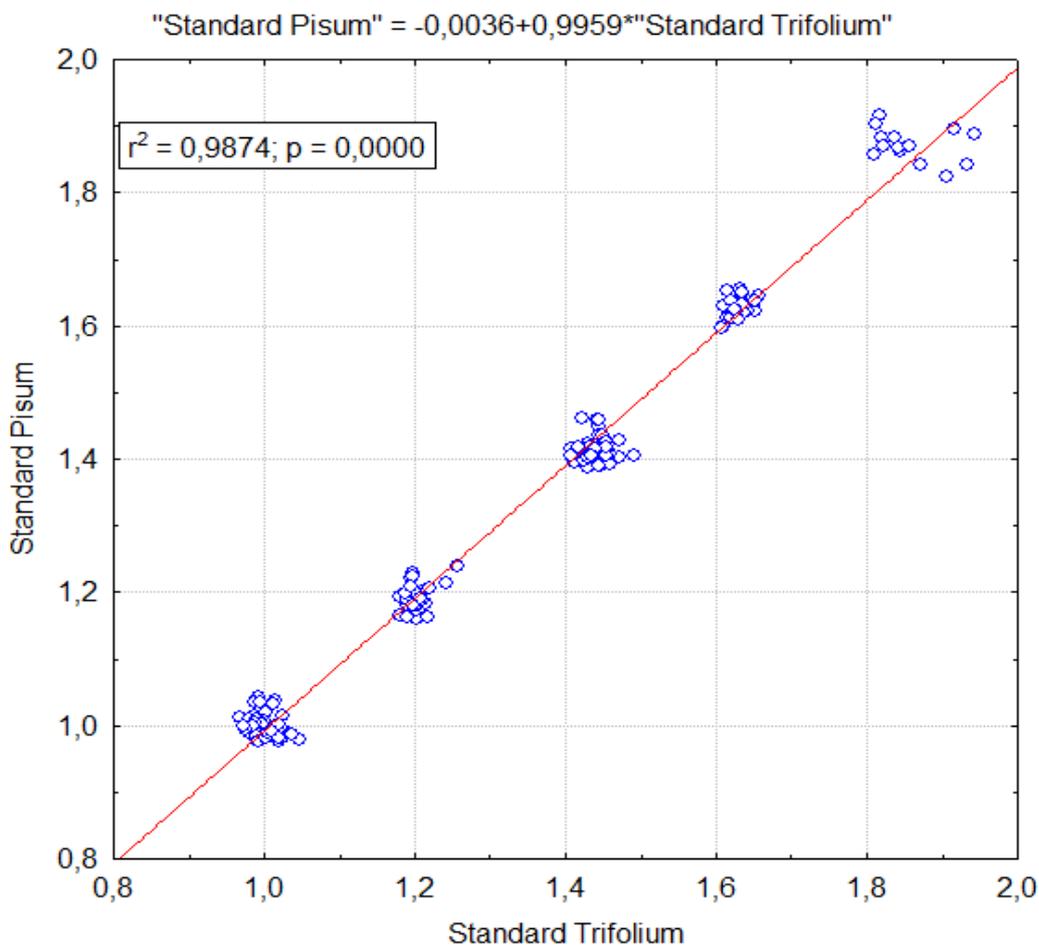


Abb.32: „Relative Genomgrößen“ der Embryonen ermittelt mit den beiden internen Standards

Die internen Standards *Trifolium repens* und *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin (im logarithmischen Messmodus). Die fünf Punktwolken repräsentieren tetra-, penta-, hexa-, hepta- und oktoploide Embryonen.

Zur Beurteilung der Auswirkung des Standards auf den Messfehler der Methode wurden die Variation der Proben: Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der Embryonen für die internen Standards *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin und *Trifolium repens* auf Basis der Mutterpflanzen miteinander verglichen. Ausgedrückt als prozentuale Abweichung der Werte der Einzelmessungen vom jeweiligen Mittelwert der Mütter betrug die Abweichung MW  $0,967 \% \pm 0,723 \%$  STABW und  $0,871 \% \pm 0,807 \%$  für *Pisum* und *Trifolium* (Abb. 35). Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant (t-Test für abhängige Stichproben,  $t = 1,22$ ,  $p = 0,225$ ).

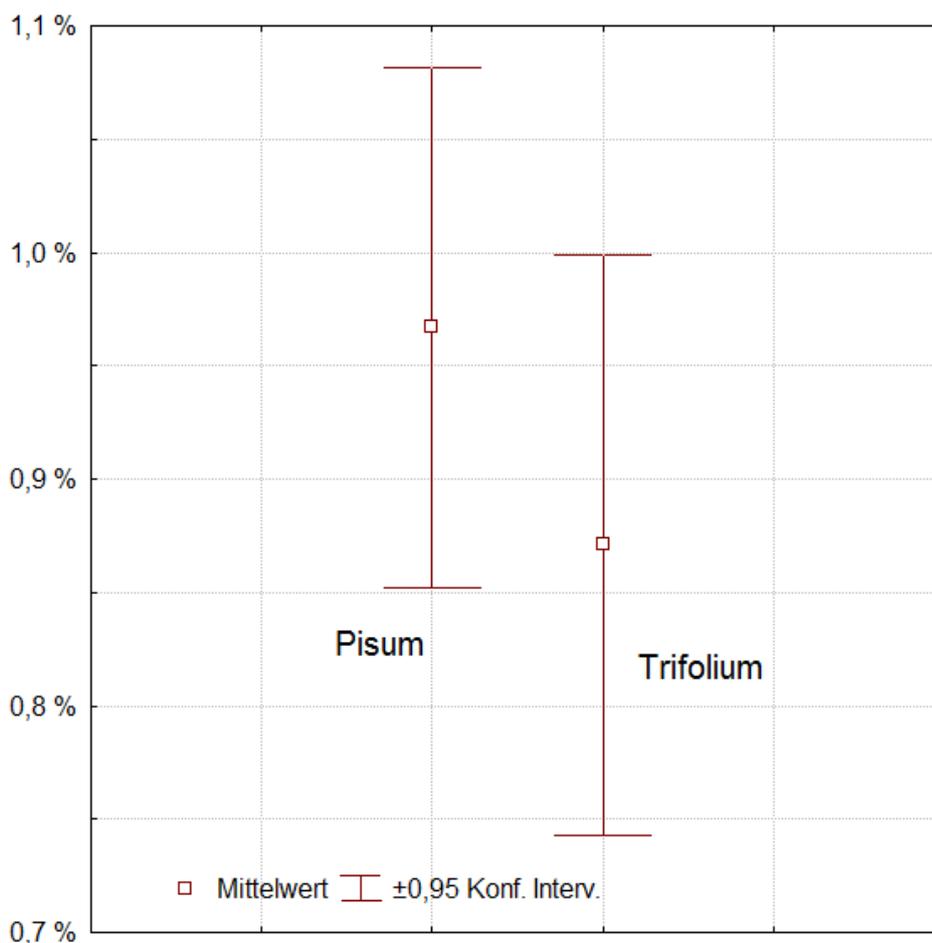


Abb. 33: Vergleich des Messfehlers der Methode unter der Verwendung der internen Standards *Pisum* und *Trifolium* (im logarithmischen Messmodus).

Die Werte sind die prozentualen Abweichungen der Proben: Standard Fluoreszenzverhältnisse der Einzelmessungen von den jeweiligen Individuen-Mittelwerten.

### 4.3 Vergleich der Messmodi linear und logarithmisch

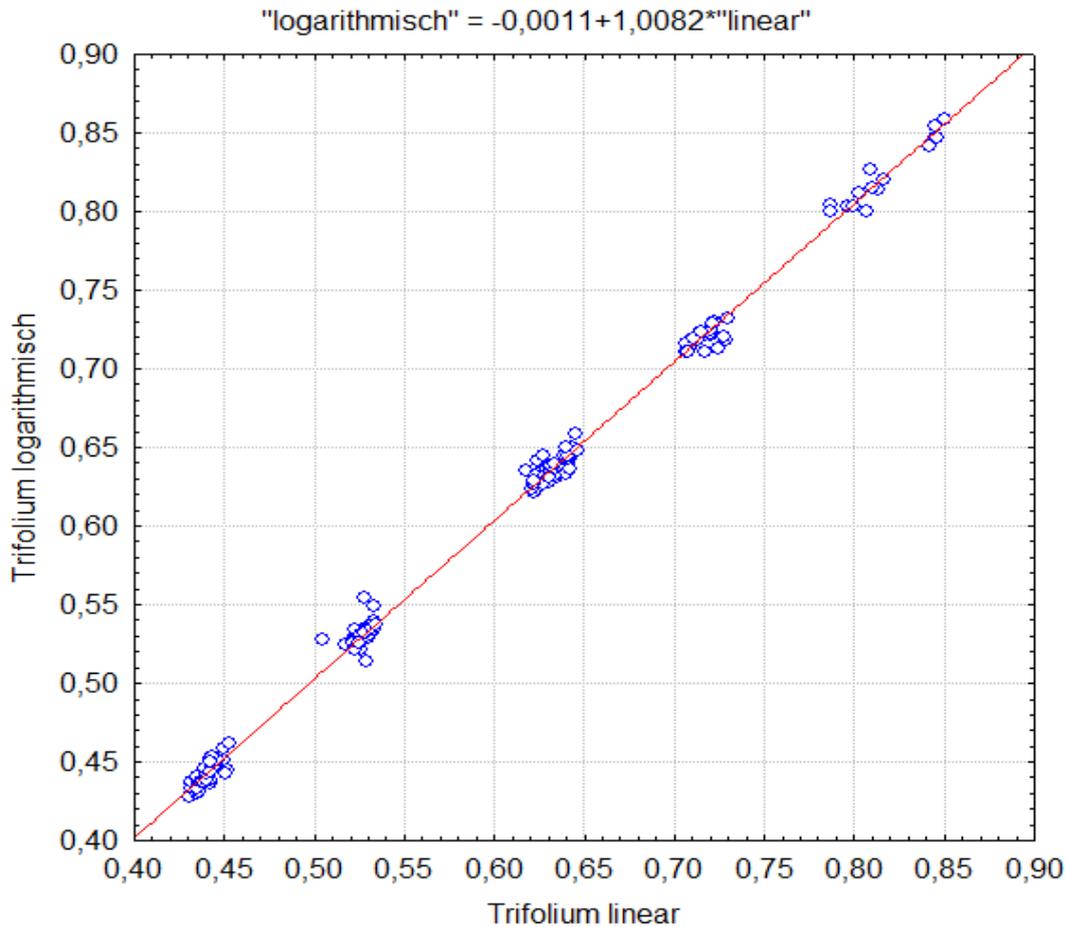


Abb. 34: Proben : Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der Embryonen bei logarithmischer und linearer Messung

Die Embryonen wurden logarithmisch und linear mit dem Standard *Trifolium repens* gemessen (Abbildung 35). Die Graphik zeigt sehr ähnliche Ergebnisse für beide Modi: die Regressionsgerade hat eine Steigung von 1,0082 und schneidet nahe des Nullpunkts.

#### 4.4 Messfehler der Methode

Die Genauigkeit mit der die Proben: Standard Fluoreszenz-Verhältnisse für die Embryonen bestimmt werden konnte, wurde aus der Verteilung der Werte der Einzelmessungen über die 5% / 95%-Konfidenzintervalle bestimmt. Die Analyse erfolgte auf Basis der einzelnen Mutterpflanzen. Die Konfidenzintervalle bewegten sich zwischen 0,97–3,39 % ausgedrückt als prozentuale Abweichung vom Mittelwert der Mutterpflanzen. Im Durchschnitt wich das 5% und 95% -Konfidenzintervall um 1,53 % und 2,50 % von den Individuen-Mittelwerten ab.

Tabelle 5: Beschreibende Statistik Embryonen gemessen logarithmisch mit dem internen Standard *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin

Individuum	Embryo : <i>Pisum</i> Fluoreszenz			5% Perzentil		95% Perzentil	
	MW	N	Stabw.	absolut	Δ % MW	absolut	Δ % MW
09_48	0,176	9	0,002	0,173	1,70	0,181	2,43
10_26	0,242	13	0,002	0,238	1,51	0,245	1,39
14_23	0,244	8	0,002	0,241	0,97	0,246	1,15
15_20	0,175	10	0,002	0,173	1,18	0,179	2,15
15_23	0,213	13	0,004	0,209	1,82	0,218	2,52
17_09	0,179	14	0,003	0,176	2,00	0,185	2,93
18_02	0,209	12	0,002	0,207	0,98	0,211	1,10
18_15	0,152	8	0,002	0,150	1,28	0,155	2,48
18_27	0,281	4	0,004	0,277	1,51	0,285	1,66
18_37	0,241	8	0,002	0,239	0,97	0,246	1,83
18_43	0,149	17	0,003	0,146	2,45	0,155	3,39
18_44	0,276	7	0,005	0,270	2,02	0,282	2,34
18_48	0,147	19	0,002	0,145	1,47	0,151	2,58
37_16	0,210	14	0,002	0,207	1,60	0,214	1,70
41_02	0,278	6	0,003	0,274	1,45	0,283	1,79
Minimum					0,97		1,10
Maximum					2,45		3,39

MW	1,53	2,10
STABW	0,43	0,65

#### 4.5 Vergleich der Gewebe / Generationen

Um einen genaueren Vergleich zwischen den Blattstielmessungen und den Embryomessungen zu erzielen, habe ich die Blattstiele der Individuen, die bei den Samenmessungen verwendet wurden auch logarithmisch (mit *Pisum* als Standard) gemessen. Es wurden 15 adulte Individuen je sechs Mal gemessen (total 90 Blattstiel-Messungen). Die Individuen-Mittelwerte der Blattstiele wurden den Individuen-Mittelwerten der Embryonen gegenüber gestellt. Dazu wurde die prozentuale Abweichung der Embryowerte von den Blattwerten auf Individuenbasis berechnet. (Abb. 36, Tabelle 5).

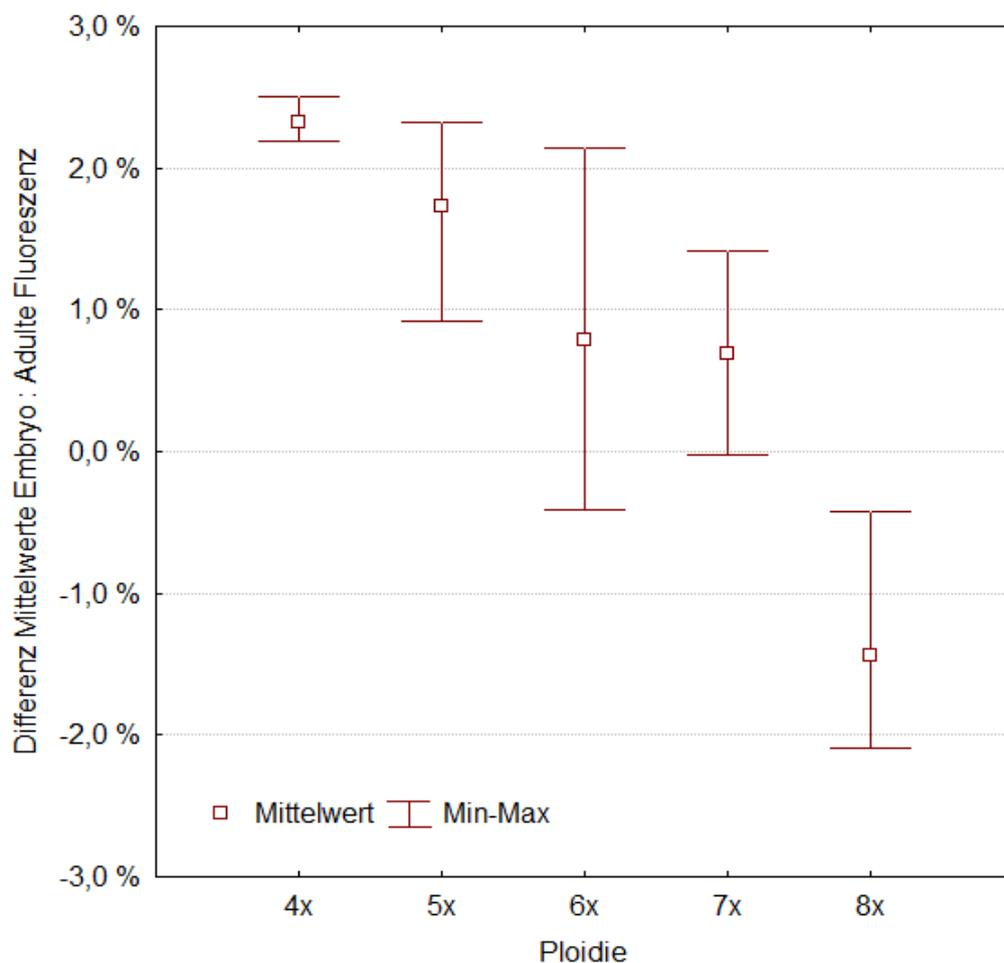


Abb. 35: Vergleich der Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse von Adulten und Embryonen.

Die Ergebnisse sind nach der Ploidie kategorisiert, um einen besseren Überblick gewährleisten zu können. Die Tetraploiden zeigen um durchschnittlich 2-3 % erhöhte Werte für die Embryonen; die Pentaploiden einen Plus von durchschnittlich 1,7%; die Hexa- und die Heptaploiden jeweils ein durchschnittlich Plus von 0,8% und 0,7 %. Bei den Oktoploiden hat sich die Situation gedreht und zeigt eine Erniedrigung der Werte der Embryonen gegenüber Blattstiele um ca. -1,4 %.

Tabelle 6: Vergleich der Proben : Standard Fluoreszenz-Verhältnisse von Embryonen und Adulten (logarithmisch gemessen mit *Pisum* als interner Standard)

Ploidie	N Adulte	$\Delta$ % Embryo relativ zu Adulten			
		MW	STABW.	Minimum	Maximum
4x	3	2,321	0,165	2,188	2,506
5x	3	1,735	0,728	0,923	2,328
6x	3	0,790	1,284	-0,414	2,141
7x	3	0,691	0,717	-0,018	1,416
8x	3	-1,445	0,900	-2,093	-0,418
Alle	15				

N Adulte = Anzahl der Messungen

STABW entspricht die Standardabweichung und MW den Mittelwert

## 5. Diskussion

---

### Ploidievariation der Elternpflanzen

Die fünf Ploidieniveaus der adulten Individuen waren in der FCM erwartungsgemäß deutlich voneinander zu unterscheiden. So ließen sich die 128 gemessenen Individuen fünf weitgehend distinkten Proben/Standard Fluoreszenz Klassen zuordnen, welche Tetra-, Penta-, Hexa-, Hepta-, und Oktoploidie entsprachen (Abb. 26). Interessant und bisher unbekannt waren jedoch signifikante Unterschiede innerhalb der einzelnen Ploidieniveaus, die sich für alle Ploidien zeigten. Die maximalen Unterschiede betragen für die tetra-, penta-, hexa-, hepta- und oktoploiden jeweils 10,48%, 4,57%, 5,18%, 3,81% und 7,24%. Diese als Mittelwerte berechneten Proben/Standard Fluoreszenz Verhältnisse lassen sich nicht über den Messfehler der Methode erklären. So betrug die Abweichung zwischen den Wiederholungsmessungen für die einzelnen Individuen im Schnitt nur 0,89%, 0,65%, 0,54%, 0,49% und 0,49% für die fünf Zytotypen.

Besonders auffällig war, dass die Proben/Standard Fluoreszenz Verhältnisse für die einzelnen Zytotypen zumeist diskontinuierlich verteilt waren, d.h. die Individuen Gruppen ähnlicher Werte bildeten. (Abb. 27-32). Dies könnte über die apomiktische Fortpflanzung erklärt werden. So konnte zum Beispiel für die Gruppe der tetraploiden Individuen mit den höchsten Proben/Standard Fluoreszenz Werten Apomixis nachgewiesen werden, während die übrigen sexuelle Fortpflanzung aufweisen (Dobeš et al. 2013b). Eine solche Erhöhung der Genomgröße der Apomikten gegenüber den Sexuellen konnte beispielsweise bereits für die Gattung *Hypericum* (Matzk 2003) nachgewiesen werden und wurde durch Akkumulation von DNA in den Chromosomen erklärt. Ob dieser Prozess auch die Unterschiede zwischen den Individuen von *P. puberula* erklärt, muss jedoch offen bleiben. Alternativ bzw. zusätzlich könnten diese auch auf eine Veränderung der Chromosomenzahlen zurückgeführt werden.

## **Vergleich der beiden Standards *Pisum sativum* und *Trifolium repens***

Dadurch dass die Samen mittels zwei interner Standards gemessen wurden, die zusammen mit dem zu untersuchenden Material präpariert worden sind - *Trifolium repens* und *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin - konnte ein Vergleich der beiden durchgeführt werden.

Dieser Vergleich wurde im logarithmischen Messmodus anhand der Embryo - Standard Fluoreszenz Verhältnisse durchgeführt. Der Vergleich zielt auf einen Effekt der Messkala ab. *Pisum* ist mit dem Faktor 3.17 deutlich größer in unseren Messungen als *Trifolium*, d.h. die Proben/Standard Fluoreszenz Verhältnisse um diesen Faktor geringer. Der Zusammenhang „Werte ermittelt mit *Pisum*“ =  $-0,0036 + 0,9959 * \text{“Werte ermittelt mit } Trifolium\text{“}$  (Abb. 33) zeigt, dass die Messungen über den gesamten ausgenutzten Bereich annähernd linear/proportional verlaufen. Dies ist eine wichtige methodische Voraussetzung für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse aus verschiedenen Versuchsdesigns, die hier als gegeben bestätigt werden kann.

## **Unterschiede zwischen logarithmischen und linearen Modus**

Die Gegenüberstellung der Messungen für die Embryonen im linearen und logarithmischen Bereich (Standard *Trifolium repens*) zeigte, dass die Messmethode keinen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse hatte (Abb.35), da deren Regression eine Gerade mit der Steigung „annähernd 1“ (1,0082) darstellt und sie annähernd den „Nullpunkt“ (-0,0011) schneidet. Für den Messbereich kann damit ein linearer Zusammenhang der Werte aus beiden Messmodi attestiert werden.

## **Etablierung eines Samenstandards für die FCSS**

Als ein Hauptergebnis meiner Arbeit sind die statistisch signifikant verschiedenen Messwerte (Proben:Standard Fluoreszenz Verhältnisse) für Adulte und deren apomiktisch-entstandenen Embryonen zu nennen (bis zu 2.5 %). Da die Genome der verglichenen Embryonen und Adulten ident sein müssen, ist dieser Unterschied auf Gewebe/Organ-spezifische Effekte zurückzuführen. Für die Bestimmung des DNA-Ploidieniveaus sind die gefunden Unterschiede weitgehend vernachlässigbar, für Analysen, die genauere Messergebnisse verlangen, ist jedoch ein Ersatz der bisher üblichen Adulten als Referenzindividuen

(bekannter Chromosomenzahl) durch apomiktische Samenstandards zu empfehlen, da sich der gefundene Unterschiede in einem Fehler in der Bestimmung der Proben/Standard Fluoreszenz Verhältnisse der Probe niederschlägt.

Da die Probenpräparation und Messung der Embryonen ohne größere Schwierigkeiten durchführbar waren, eignen sich die Samen als interner Standard. Weiters lieferten die Samen (zwischen 10-15 Samen je Individuum gemessen) gut reproduzierbare Ergebnisse, d.h. Abweichungen zwischen den Proben die dem Messfehler des Verfahrens entsprechen (Tabelle 5). Die praktische Etablierung eines Samenstandards für die FCSS erfolgt durch permanente Kultur der apomiktischen Elternpflanze bekannter Chromosomenzahl (bzw. Genomgröße) und Abnahme der Samen. Die Samen können dann für praktische Anwendungen parallel zu den Proben unbekannter Chromosomenzahl/Genomgröße als karyologische Referenz vermessen werden. Konkret ist der Samenstandard mit einem geeigneten internen Standards (zB *Pisum*) mit einigen Wiederholungen zu messen. Die gefundenen Embryo/Standard Fluoreszenz Verhältnisse sind gegen die Ploidie der Embryonen (= Ploidie deren apomiktischen Mütter) zu regressieren. Aus den erhaltenen Regressionen kann dann die Ploidie der Samengewebe (Embryo bzw. Endosperm) der unbekannt Proben berechnet werden. Wie generell üblich in der FCM/FCSS müssen diese „karyologischen Referenzen“ jedoch für jedes zu untersuchende Modell (Art) separat etabliert werden, da eine enge Beziehung zwischen Genomgröße und Chromosomenzahl nur auf Artniveau bzw. nur wenig darüber hinaus anzunehmen ist.

### **Vergleich der „Genomgröße“ - adulte Pflanzen versus Samen**

Wie die Ergebnisse gezeigt haben, gibt es Unterschiede innerhalb der „Genomgröße“ zwischen den adulten Pflanzen und deren Samen. Wie die Messungen gezeigt haben sind die Unterschiede auch abhängig von der Ploidie. So haben wir bei den Tetraploiden einen Unterschied in der „Genomgröße“ von ca. 2.3 % zugunsten der Embryonen im Gegensatz zu den Oktaploiden, für die wir eine Erniedrigung der Werten um 1.4 % beobachtet haben. Den Abfall der Werte konnte ich in meiner Diplomarbeit zwar feststellen, aber nicht begründen. Eventuell ist der Effekt auf die Verwendung von zwei internen Standards in den Samenmessungen zurückzuführen.

Dieses Design ist unüblich und ein Sonderfall meiner Arbeit. So zeigte ein Vergleich der Embryo/Standard versus Blatt/Standard Fluoreszenzverhältnisse aus einer Arbeit, die nur

*Pisum* als Standard verwendete (Yulia Fenko-Wien 2013), keinen Abfall der Werte mit der Ploidie, sondern annähernd konstante Unterschiede zwischen den Blättern und Embryonen.

## 6. Zusammenfassung

---

Die Gattung *Potentilla* gehört zur Familie der Rosaceae und weist 300-500 Arten auf. Die Potentillen weisen eine auffällige zytologische Differenzierung in unterschiedliche Ploidiestufen auf, welche in einigen Arten mit dem Fortpflanzungsmodus korreliert: die Diploidie geht mit der Sexualität als ursprünglicher Fortpflanzungsmodus und die Apomixis, stets mit Polyploidie einher.

Der flow cytometric seed screen (FCSS) hat sich als eine weithin genutzte Methode für die Bestimmung des Fortpflanzungsmodus sowie der Ploidie der Embryonen und des Endosperms etabliert. Die Ziele dieser Arbeit waren (i) die Etablierung eines Samenstandards als chromosomale Referenz für die FCSS, (ii) ein Vergleich des linearen und logarithmischen Messmodus des verwendeten Durchfluss-Zytometers sowie (iii) unterschiedlicher interner biologischer Standards und (iv) Bestimmung der Genomgrößenvariation der Mutterpflanzen innerhalb der Ploidieniveaus. *Potentilla puberula* war die Modellpflanze für meine Untersuchungen. Das von mir analysierte Pflanzenmaterial umfasste tetra-, penta-, hexa-, hepta-, und oktoploide Zytotypen. Die Untersuchungen haben folgende Ergebnisse gezeigt: (i) die Differenzierung der untersuchten Individuen in fünf verschiedenen Ploidien wurde bestätigt. Sowohl (ii) der Vergleich des logarithmischen mit dem linearen Messmodus als auch jener (iii) der internen Standards (*Trifolium repens* und *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin) ergaben keine signifikanten Unterschiede. (iv) Der Vergleich der relativen Genomgröße Embryo versus adulte Pflanze zeigte, dass die Embryonen einen größeren Wert aufweisen, im Durchschnitt bis zu 2,5 %. Die Werte sind Ploidie abhängig. Der Wert der Oktoploiden mit -1.5 % erscheint als Anomalie und bedarf weiterer Untersuchungen.

Weiters haben die Untersuchungen gezeigt dass die Samenmessungen eine hohe Güte aufweisen und als chromosomale Referenz etabliert werden können.

Es fanden sich jedoch signifikante Genomgrößenunterschiede innerhalb der einzelnen Ploidieniveaus.

## 7. Abstract

---

The genus *Potentilla* belongs to the family Rosaceae and comprises 300–500 species. *Potentilla* exhibits a conspicuous cytological differentiation into different ploidy levels which correlates in some species with reproductive mode: Diploidy is linked to sexuality as the initial mode of reproduction and apomixis is associated with polyploidy.

The flow cytometric seed screen (FCSS) has emerged as a widely used method for the determination of the reproductive mode of seed formation and to establish the ploidy of the embryo and the endosperm. The objectives of this work were (i) the establishment of a seed standard as chromosomal reference for the FCSS, a comparison (ii) of the linear and logarithmic measurement mode of the used flow cytometer and (iii) of different internal biological standards, and (iv) to screen for genome size variation of the mother plants within ploidy levels. *Potentilla puberula*, served as model plant. The examined plant material comprises tetra-, penta -, hexa -, hepta- and octoploid cytotypes.

The investigations have shown the following results: (i) the differentiation of the studied individuals into five different ploidy levels was confirmed. The comparison of both (ii) the logarithmic and the linear measurement mode as well as (iii) the internal standards (*Trifolium repens* and *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin) showed no significant differences. (iv) The comparison of the relative genome size of embryos versus that of adult plants showed higher values for the embryos, in average up to 2.5 %. The difference depended on the ploidy level. The value of the octoploid with -1.5 % appears as an anomaly and requires further investigation.

Further investigations have shown that the seeds are methodically suitable for the FCM and can be established as chromosomal reference.

In addition, we observed significant genome size variation within ploidy levels.

## 8. Literaturverzeichnis

---

- Bazyłko, A., J. P. Piwowarski, et al. (2013). "In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from *Potentilla recta* and its main ellagitannin, agrimoniin." *Journal of Ethnopharmacology* 149(1): 222-227.
- Cambell, N.A., Reece J.B. 2009. *Biologie*. 8 Auflage Deutschland, Pearson Studium
- Chen, H., J. Yang, et al. (2012). "Corosolic Acid Ameliorates Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice by Regulating the Nuclear Factor-kappa B Signaling Pathway and Inhibiting Monocyte Chemoattractant Protein-1 Expression." *Circulation Journal* 76(4): 995-1003.
- Chen, J.-R., Z.-Q. Yang, et al. (2010). "Immunomodulatory activity in vitro and in vivo of polysaccharide from *Potentilla anserina*." *Fitoterapia* 81(8): 1117-1124.
- Dorman, H. J. D., A. N. Shikov, et al. (2011). "Antioxidant and Pro-Oxidant Evaluation of a *Potentilla alba* L. Rhizome Extract." *Chemistry & Biodiversity* 8(7): 1344-1356.
- Dobeš Ch 1999. Die Karyogeographie der *Potentilla verna* agg. (Rosaceae) in Österreich - mit ergänzenden Angaben aus Slowenien, Kroatien, der Slowakei und Tschechien. *Annalen des Naturhistorischen Museums Wien* 101 B: 599-629.
- Dobeš Ch, Lückl A, Hülber K, Paule J 2013a. Prospects and limits of flow cytometric seed screen - insights from *Potentilla sensu lato* (Potentilleae, Rosaceae). *New Phytologist* 198: 605-616, DOI: 10.1111/nph.12149.
- Dobeš Ch, Milosevic A, Prohaska D, Scheffknecht S, Sharbel TF, Hülber K 2013b. Reproductive differentiation into sexual and apomictic polyploid races in *Potentilla puberula* (Potentilleae, Rosaceae). *Annals of Botany (London)*: doi:10.1093/aob/mct167
- Doležel J, Greilhuber J, Suda J 2007. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols* 2: 2233-2244.
- Ehrendorfer E 1973. *Liste der Gefäßpflanzen Mitteleuropas*. Stuttgart: Gustav Fischer.
- Faghir, M. B., F. Attar, et al. (2011). "Foliar anatomy of the genus *Potentilla* L. (ROSACEAE) in Iran and its taxonomic implication." *Iranian Journal of Science and Technology Transaction a-Science* 35(A3): 243-256.
- Faghir, M. B., F. Attar, et al. (2010). "LEAF INDUMENTUM TYPES IN POTENTILLA (ROSACEAE) AND RELATED GENERA IN IRAN." *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 79(2): 139-145.
- Gerhard Wagenitz-Wörterbuch der Botanik: Morphologie, Anatomie, Physiologie, Taxonomie, Evolution (Sav Biologie) - 2 Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2003 Berlin
- Greilhuber, J., Tensch, E. M., Loureiro, J. C. M. 2007. Nuclear DNA Content Measurement. An Overview in: Doležel, J., Greilhuber, J., Suda, J. [Hrsg.]. *Flow Cytometry with Plants*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 2007, S.67-101.
- Guerra, M. dos S. 1983. O uso de Giemsa na citogenética vegetal - comparação simples e o bandeamento. *Ci. & Cult.* 35, 190-193.
- Hu, T., X. Wei, et al. (2010). "Protective effect of *Potentilla anserine* polysaccharide (PAP) on hydrogen peroxide induced apoptosis in murine splenic lymphocytes." *Carbohydrate Polymers* 79(2): 356-361.
- Jaitak, V., K. Sharma, et al. (2010). "Antioxidant activity of *Potentilla fulgens*: An alpine plant of western Himalaya." *Journal of Food Composition and Analysis* 23(2): 142-147.
- Jin, Q., J.-X. Nan, et al. (2011). "Antitumor Activity of Leaves from *Potentilla discolor* on Human Hepatocellular Carcinoma Cell Line HepG-2." *Chinese Journal of Natural Medicines* 9(1): 61-64.

- Jung, C.-H., J.-K. Choi, et al. (2012). "A botulinum neurotoxin-like function of *Potentilla chinensis* extract that inhibits neuronal SNARE complex formation, membrane fusion, neuroexocytosis, and muscle contraction." *Pharmaceutical Biology* 50(9): 1157-1167.
- Khan, R., F. Siddiq, et al. (2011). "Pregnane Derivatives from *Potentilla evestita*." *Natural Product Communications* 6(8): 1083-1084.
- Klingenberg, C. P., S. Duttke, et al. (2012). "Developmental plasticity, morphological variation and evolvability: a multilevel analysis of morphometric integration in the shape of compound leaves." *Journal of Evolutionary Biology* 25(1): 115-129.
- Kolodziejek, J. (2010). "Morphometric analysis of Polish members of the *Potentilla* subsect. *Collinae* in Poland." *Biologia* 65(2): 228-236.
- Laloo, D., S. K. Prasad, et al. (2013). "Gastroprotective activity of ethanolic root extract of *Potentilla fulgens* Wall. ex Hook." *Journal of Ethnopharmacology* 146(2): 505-514.
- Liu, D., S. Wang, et al. (2011). "Chemical Composition of n-BuOH Extract of *Potentilla anserina* L. and its Protective effect of EAhy926 Endothelial Cells under Hypoxia." *Latin American*
- Matzk, F., Hammer, K., & Schubert, I. 2003. Coevolution of apomixis and genome size within the genus *Hypericum*. *Sexual Pl.Reprod.* 16, 51-58.
- Matzk F, Meister A, Schubert I 2000. An efficient screen for reproductive pathways using mature seeds of monocots and dicots. *Plant Journal* 21: 97-108.
- Qin, X., Q. Lv, et al. (2012). "Study on protective effect of alcohol extract of *Potentilla Anserinea* against acute myocardial ischemia/reperfusion-induced myocardial apoptosis in rats." *Zhongguo Zhong yao za zhi = Zhongguo zhongyao zazhi = China journal of Chinese materia medica* 37(9): 1279-1284.
- Radhika, M., N. Ghoshal, et al. (2012). "Comparison of effectiveness in antitumor activity between flavonoids and polyphenols of the methanolic extract of roots of *Potentilla fulgens* in breast cancer cells." *Journal of complementary & integrative medicine* 9: 24-Article 24.
- Rutishauser, A., 1948. Pseudogamie und Polymorphie in der Gattung *Potentilla*, *Archiv der Julius Klaus-Stiftung für Vererbungsforschung* 23: 267-424.
- 1969. Embryologie und Fortpflanzungsbiologie der Angiospermen. Eine Einführung, Springer-Verlag, Wien 1969.
- Shikov, A. N., M. A. Lazukina, et al. (2011). "Pharmacological evaluation of *Potentilla alba* L. in mice: adaptogenic and central nervous system effects." *Pharmaceutical Biology* 49(10): 1023-1028.
- Sohretoglu, D. and H. Kirmizibekmez (2011). "Polyphenols from *Potentilla recta*." *Biochemical Systematics and Ecology* 39(2): 132-134.
- Sohretoglu, D. and O. Sterner (2011). "Isoflavonoids, flavonoids and flavans from *Potentilla astracana*." *Biochemical Systematics and Ecology* 39(4-6): 666-668.
- Song, C., L. Huang, et al. (2012). "Anti-hyperglycemic effect of *Potentilla discolor* decoction on obese-diabetic (Ob-db) mice and its chemical composition." *Fitoterapia* 83(8): 1474-1483.
- Soják J 2010. Origin of *Potentilla crantzii*, *P. verna* and *P. puberula* (Rosaceae) with a note on the nomenclature of *P. pusilla*. *Feddes Repertorium* 121: 112-116.
- Tomczyk, M. (2011). "Secondary metabolites from *Potentilla recta* L. and *Drymocallis rupestris* (L.) Sojak (syn. *Potentilla rupestris* L.) (Rosaceae)." *Biochemical Systematics and Ecology* 39(4-6): 893-896.
- Tomczyk, M., A. Wiater, et al. (2011). "In Vitro Anticariogenic Effects of Aerial Parts of *Potentilla recta* and its Phytochemical Profile." *Phytotherapy Research* 25(3): 343-350.

Wang, J., J. Zhang, et al. (2010). "A comparison study on microwave-assisted extraction of *Potentilla anserina* L. polysaccharides with conventional method: Molecule weight and antioxidant activities evaluation." *Carbohydrate Polymers* 80(1): 84-93.

Wei, J., Q. Huang, et al. (2013). "Asiatic Acid from *Potentilla chinensis* Attenuate Ethanol-Induced Hepatic Injury via Suppression of Oxidative Stress and Kupffer Cell Activation." *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 36(12): 1980-1989.

Wolf, Th., 1908. Monographie der Gattung *Potentilla*, *Bibliotheca Botanica*, 16, Heft 71., E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung (E. Nägele), Stuttgart 1908.

Xu, J.-F., X.-P. Zheng, et al. (2010). "Flavonol glycosides and monoterpenoids from *Potentilla anserina*." *Journal of Asian Natural Products Research* 12(6): 529-534.

Yang, J., H. Chen, et al. (2010). "Anti-Diabetic Effect of Standardized Extract of *Potentilla discolor* Bunge and Identification of its Active Components." *Drug Development Research* 71(2): 127-132.

Zhang, L., J. Yang, et al. (2010). "Antidiabetic and antioxidant effects of extracts from *Potentilla discolor* Bunge on diabetic rats induced by high fat diet and streptozotocin." *Journal of Ethnopharmacology* 132(2): 518-524.

## Internetquellen:

<http://de.wikipedia.org/wiki/Staubblatt>

(Abgerufen am 11.08.2013)

<http://www.academic.ru/dic.nsf/meyers/37324/Embryosack>

(Abgerufen am 8.09.2013)

<http://www.medizinalpflanzen.de/allgemei/syst-vor/sysvn046.htm>

(Abgerufen am 15.08.2013)

<http://www.forstbotanik.uni-freiburg.de/Lehre/Skripten/Skript-Forstbotanik-I>

(Abgerufen am 07.09.2013)

[http://www.botanicalgarden.ubc.ca/potd/2007/05/potentilla\\_cuneata.php](http://www.botanicalgarden.ubc.ca/potd/2007/05/potentilla_cuneata.php)

(Abgerufen am 17.08.2013)

[http://www.pflanzenschleuder.de/fingerstrauch-potentilla-669\\_39.html](http://www.pflanzenschleuder.de/fingerstrauch-potentilla-669_39.html)

(Abgerufen am 17.08.2013)

<http://www.baumschule-brillinger.at/potentilla-fruticosa-goldstar-fuenffingerstrauch-gelb>

(Abgerufen am 17.08.2013)

[http://www.ikt.de/online/f0085/ebene3/Kapitel 311](http://www.ikt.de/online/f0085/ebene3/Kapitel_311)

(Abgerufen am 25.08.2013)

## 9. Abbildungsverzeichnis

---

Abbildung 1: Entstehungsort des männlichen Gametophyten: die Anthere .....	6
Abbildung 2: Entstehung des weiblichen Gametophyten nach dem <i>Polygonum</i> (Normal) -Typus .....	7
Abbildung 3: Doppelte Befruchtung .....	8
Abbildung 4: Schematischer Vergleich beider Reproduktionsmodi .....	9
Abbildung 5: Blütenbau .....	11
Abbildung 6: <i>Potentilla</i> -Blüte .....	13
Abbildung 7 und 8 : <i>Potentilla fruticosa</i> .....	14
Abbildung 9: Geographische Verbreitung in Osttirol. Jeder Kreis symbolisiert eine Population, die Sektoren beobachtete Zytotypen und deren relative Häufigkeiten .....	16
Abbildung 10: Der Durchfluss-Zytometer .....	17
Abbildung 11: Schematische Darstellung des Gerätes .....	18
Abbildung 12: <i>Potentilla</i> Samen –heptaploid .....	20
Abbildung 13: Früchtchen zerkleinert und mit OTTO I–Puffer versetzt .....	21
Abbildung 14: Filtrierung durch Filter CellTrics® .....	21
Abbildung 15: Extraktion in der Kälte .....	21
Abbildung 16: Ultraschallbehandlung der Früchtchen (Sonorex® RK 100) .....	22
Abbildung 17: Gating der Peaks - Individuum 09-01 .....	23
Abbildung 18: Gating der Peaks - Individuum 09-01 .....	24
Abbildung 19: Gating der Peaks - Individuum 09-01 .....	24
Abbildung 20: Nikon® Stereolupe .....	28
Abbildung 21: Dewar-Gefäß mit flüssigem Stickstoff .....	29
Abbildung 22: Giemsa-Färbung .....	30
Abbildung 23: Wurzel Darstellung .....	30

Abbildung 24: Schnappdeckelglas .....	31
Abbildung 25: Lichtmikroskop Nikon® Eclipse E600 .....	31
Abbildung 26: Häufigkeit der ermittelten Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse (Individuen- Mittelwerte aus drei Wiederholungsmessungen) der Adulten.....	33
Abbildung 27: Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der tetraploiden Individuen .....	34
Abbildung 28: Proben/Stand. Fluoreszenz-Verhältnisse der der pentaploiden Individuen.....	35
Abbildung 29: Proben/Stand. Fluoreszenz-Verhältnisse der der hexaploiden Individuen.....	35
Abbildung 30: Proben/Stand. Fluoreszenz-Verhältnisse der der heptaploiden Individuen.....	36
Abbildung 31: Proben/Stand. Fluoreszenz-Verhältnisse der der oktoploiden Individuen .....	36
Abbildung 32: Relative Genomgrößen“ der Embryonen ermittelt mit den beiden internen Standards.....	37
Abb. 33: Vergleich des Messfehlers der Methode unter der Verwendung der internen Standards <i>Pisum</i> und <i>Trifolium</i> (im logarithmischen Messmodus) .....	38
Abbildung 34: Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der Embryonen bei logarithmischer und linearer Messung.....	39
Abbildung 35: Vergleich der Proben/Standard Fluoreszenz-Verhältnisse von Adulten und Embryonen.....	41

## 10. Tabellenverzeichnis

---

Tabelle 1: Mögliche Reproduktionsszenarien bei Potentillen und ihre Bedeutung für die Ploidie der Nachkommenschaft .....	10
Tabelle 2: Parameter des Gerätes .....	19
Tabelle 3: Übersicht FCM Und FCSS Messungen .....	27
Tabelle 4: Proben : Standard Fluoreszenz-Verhältnisse der adulten Individuen berechnet als Individuen-Mittelwerte (MW) aus drei Wiederholungsmessungen.....	31
Tabelle 5: Beschreibende Statistik Embryonen gemessen logarithmisch mit dem internen Standard Pisum sativum cv. Kleine Rheinländerin .....	40
Tabelle 6: Vergleich der Proben : Standard Fluoreszenz-Verhältnisse von Embryonen und Adulten (logarithmisch gemessen mit Pisum als interner Standard) .....	42
Tabelle 7: Verwendete Instrumente .....	56

# 11. Anhänge

---

## 11.1 Chemikalien und Reagenzien

### OTTO I-PUFFER

OTTO I-Puffer dient zur Extraktion der Zellkerne aus den mechanisch oder chemisch zerstörten Zellen einer Zellsuspension.

Vorbereitung der 200 ml:

0,1 M Zitronensäure-Monohydrat	4,2 g
0,5% (vol/vol) Tween 20	1,0 ml
bidestilliertes Wasser	auf 200 ml auffüllen

### OTTO II-PUFFER

OTTO II-Puffer wird für die Vorbereitung eines Färbepuffers eingesetzt.

Vorbereitung der 200 ml:

0,4 M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> wasserfrei	11,35 g
bidestilliertes Wasser	auf 200 ml auffüllen

Aufbewahrung bei Raumtemperatur an einem dunklen Ort.

Der Färbepuffer wird folgendermaßen vorbereitet:

Vorbereitung der 100 ml:

### DAPI Stammlösung (100µg/ml)

-wird im Verhältnis 1 ml zu 24 ml mit OTTO II-Puffer vermischt.

Danach wird 1 ml des Gemisches mit 99 ml OTTO II-Puffer aufgefüllt.

Die Proben die aus Blattsielen hergestellt worden sind, wurden mit DAPI-Stammlösung 1 zu 24 ml vermischt.

Für die Durchführung der oben genannten Präparationsschritte sind folgende Instrumente verwendet worden:

Tabelle 7: Verwendete Instrumente

Instrumente		
Eiscontainer		
Kühlbatterie für OTTO Puffer		
Laborgläser		
Latex Handschuhe		
Pinzette		
Schutzbrille		
Petrischalen		5,5 cm Durchmesser
Proberöhrchen aus Kunststoff	Sarstedt®	
Probenständer	Partec®	
Mikroliterpipette	Gilson® Pipetman	
Stereolupe	Nikon® Transformer XN	
Rasierklinge	Astra® Superior Stainless	
Nylon Filter	Partec CellTrics®	

### DAPI-Stammlösung ( 4,5-Diamidino-2-Phenylindol)

Vorbereitung der 100 ml:

DAPI (4,6-Diamidino-2-phenylindol)	10,0 mg
bidestilliertes Wasser	auf 100 ml auffüllen

Aufbewahrung in 1 ml-Plastikröhrchen bei - 20°C im Tiefkühler. DAPI ist ein blauer Fluoreszenz-Farbstoff welche selektiv an die DNA-Basen Adenin und Thymin bindet.

## 11.2 Geografische Herkunft der adulten Individuen und deren Ploidie

Alle Populationen stammen aus Osttirol, Österreich und wurden im Frühjahr bis Frühsommer 2010 gesammelt.

Pop.-Nr.	Population	beobachtete Ploidie				
		4x	5x	6x	7x	8x
09	<i>Raut</i>	9_05	9_01			
		9_08	9_12			
		9_16	9_37			
		9_31	9_46			
		9_47	9_48			
10	<i>Zabernig</i>	10_01	10_03		10_26	
		10_08	10_06		10_28	
		10_17	10_33		10_32	
		10_22	10_41			
			10_42			
13	<i>Groder</i>	13_09	13_02			
		13_12	13_05			
		13_22	13_06			
		13_33	13_17			
		13_49				
14	<i>Erlsbach</i>		14_12		14_06	14_05
			14_15		14_13	14_19
			14_20		14_14	14_22
			14_21		14_23	14_24
			14_28		14_32	14_26

15	<i>Lana</i>		15_04 15_06 15_20 15_29 15_37	15_23 15_33 15_41 15_46		
17 A	<i>Stein</i>		17_27 17_30 17_38		17_28 17_29 17_49	
17 B			17_04 17_05 17_07 17_08 17_09			17_14 17_15 17_16 17_17 17_19
18	<i>Innervillgraten</i>	18_14 18_15 18_43 18_47 18_48	18_11 18_25 18_29 18_36 18_45	18_01 18_02 18_05 18_32	18_23	18_20 18_27 18_44
27	<i>Virgen</i>		27_06 27_22 27_24 27_28		27_02 27_04 27_13 27_17 27_26	
37	<i>Arnig</i>		37_06 37_09 37_10 37_12	37_05 37_14 37_16		
41	<i>Schrottendorf</i>		41_04 41_11 41_13 41_21	41_05 41_10 41_30		41_02 41_15

49	<i>Oberburgfrieden</i>		49_06	49_13		
			49_08	49_23		
			49_14	49_24		
			49_17	49_27		
			49_19	49_28		

### 11.3 Durchfluss-zytometrische Messungen Adulte *Potentilla puberula*

Gemessen mit

1) dem internen Standard *Trifolium repens*, linearer Modus, Färbepuffer Otto II mit 40µg/ml DAPI

2) dem internen Standard *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin, logarithmischer Modus, Färbepuffer Otto II mit 80ng/ml DAPI

Messung durchgeführt mit partec Cyflow Ploidy Analyser.

Angegeben wird Nummer und Ploidie der weiblichen und männlichen Individuen, das Proben: Standard Fluoreszenz-Verhältnis, Individuum, Messwiederholung; Standard, Messmodus, sowie die Counts.

M	Standard	Ind.	Ploidie	Mess-WH	count_standard	mean_standard	cv_standard	count_sample	mean_sample	cv_sample	Sample/standard
lin	Trifolium repens	09_05	4	1	765	203,36	2,28	680	82,66	3,6	0,4065
lin	Trifolium repens	09_05	4	2	672	200,35	2,09	589	81,66	3,75	0,4076
lin	Trifolium repens	09_05	4	3	752	197,02	2,33	598	80,47	4,08	0,4084
lin	Trifolium repens	09_08	4	1	335	197,3	2,28	1593	80,26	3,22	0,4068
lin	Trifolium repens	09_08	4	2	472	191,49	1,97	630	77,47	3,4	0,4046
lin	Trifolium repens	09_08	4	3	310	190,91	1,83	1618	77,8	3,5	0,4075
lin	Trifolium repens	09_16	4	1	415	194,57	1,7	629	79,61	3,27	0,4092
lin	Trifolium repens	09_16	4	2	269	200,35	2,17	1809	82,47	3,41	0,4116
lin	Trifolium repens	09_16	4	3	466	190,78	1,69	633	77,74	3,35	0,4075
lin	Trifolium repens	09_31	4	1	435	209,27	2,07	1105	86,42	3,4	0,4130
lin	Trifolium repens	09_31	4	2	492	204,93	1,69	1279	85,19	3,07	0,4157
lin	Trifolium repens	09_31	4	3	586	201,29	1,65	1361	83,52	3,03	0,4149
lin	Trifolium repens	09_47	4	1	399	216,26	2,33	1294	87,85	3,37	0,4062
lin	Trifolium repens	09_47	4	2	395	209,86	1,62	1322	85,83	3,22	0,4090
lin	Trifolium repens	09_47	4	3	379	206,1	1,73	1318	84,42	3,03	0,4096
lin	Trifolium repens	10_01	4	1	598	208,52	1,59	1464	85,56	3,09	0,4103
lin	Trifolium repens	10_01	4	2	657	205,93	1,72	1723	84,76	3,22	0,4116
lin	Trifolium repens	10_01	4	3	682	197,03	1,69	1303	80,21	3,43	0,4071
lin	Trifolium repens	10_08	4	1	739	208,6	1,69	821	86,32	3,43	0,4138
lin	Trifolium repens	10_08	4	2	746	201,51	1,6	867	84,1	3,11	0,4173
lin	Trifolium repens	10_08	4	3	717	192,23	1,65	727	79,65	3,01	0,4143
lin	Trifolium repens	10_17	4	1	553	203,84	1,68	778	84,86	3,3	0,4163
lin	Trifolium repens	10_17	4	2	502	196,44	1,62	728	82,02	3,22	0,4175
lin	Trifolium repens	10_17	4	3	1365	204,81	1,76	883	84,59	3,54	0,4130

lin	Trifolium repens	10_22	4	1	681	207,86	1,95	915	83,69	3,35	0,4026
lin	Trifolium repens	10_22	4	2	695	206,49	1,73	894	83,51	3,2	0,4044
lin	Trifolium repens	10_22	4	3	238	172,67	2,11	600	69,77	3,67	0,4041
lin	Trifolium repens	13_09	4	1	620	201,99	2,28	396	83,36	3,4	0,4127
lin	Trifolium repens	13_09	4	2	889	187,16	1,71	505	78,26	3,47	0,4181
lin	Trifolium repens	13_09	4	3	818	182,89	1,66	311	75,86	2,66	0,4148
lin	Trifolium repens	13_12	4	1	391	191,67	1,66	531	80,95	2,98	0,4223
lin	Trifolium repens	13_12	4	2	493	182,95	1,75	731	76,84	3,57	0,4200
lin	Trifolium repens	13_12	4	3	557	179,54	2,21	746	75,41	3,37	0,4200
lin	Trifolium repens	13_22	4	1	563	210,75	1,77	1050	85,77	3,02	0,4070
lin	Trifolium repens	13_22	4	2	453	205,99	1,69	743	83,28	2,82	0,4043
lin	Trifolium repens	13_22	4	3	438	202,93	1,38	862	81,76	2,88	0,4029
lin	Trifolium repens	13_33	4	1	411	211,07	2,07	1130	84,27	3,05	0,3993
lin	Trifolium repens	13_33	4	2	255	205,45	2,5	621	81,61	2,5	0,3972
lin	Trifolium repens	13_33	4	3	287	201,12	2,43	877	80,62	3,25	0,4009
lin	Trifolium repens	18_14	4	1	1218	229,96	1,7	472	100,36	2,8	0,4364
lin	Trifolium repens	18_14	4	2	1337	225,39	1,91	392	98,62	2,47	0,4376
lin	Trifolium repens	18_14	4	3	1218	223,19	1,8	436	97,94	2,66	0,4388
lin	Trifolium repens	18_15	4	1	595	228,91	1,46	792	99,36	2,9	0,4341
lin	Trifolium repens	18_15	4	2	630	221,71	1,57	785	96,83	2,76	0,4367
lin	Trifolium repens	18_15	4	3	655	216,84	1,52	868	95,01	2,7	0,4382
lin	Trifolium repens	18_43	4	1	1282	227,81	2,45	429	97,9	3,3	0,4297
lin	Trifolium repens	18_43	4	2	1490	222,42	2,19	524	96,58	2,9	0,4342
lin	Trifolium repens	18_43	4	3	1202	218,75	2,05	470	94,97	3,55	0,4341
lin	Trifolium repens	18_47	4	1	1330	233,26	2,12	498	100,74	3,08	0,4319
lin	Trifolium repens	18_47	4	2	1232	227,73	1,84	446	99,94	2,71	0,4389
lin	Trifolium repens	18_47	4	3	1362	225,51	1,92	554	98,26	2,9	0,4357
lin	Trifolium repens	18_48	4	1	1218	233,6	2,22	561	101,1	3,09	0,4328
lin	Trifolium repens	18_48	4	2	1265	229,71	1,85	526	100,17	2,84	0,4361
lin	Trifolium repens	18_48	4	3	1208	228,05	1,72	524	99,22	2,66	0,4351
lin	Trifolium repens	Ptl_40 48	4	1	1280	237,13	1,88	536	96,46	3	0,4068
lin	Trifolium repens	Ptl_40 48	4	2	1168	230,8	1,78	450	93,74	2,88	0,4062
lin	Trifolium repens	Ptl_40 48	4	3	1157	228,54	1,83	502	93,74	2,72	0,4102
lin	Trifolium repens	09_01	5	1	468	203,03	2,54	831	103,75	3	0,5110
lin	Trifolium repens	09_01	5	2	407	202,66	2,08	772	103,55	2,81	0,5110
lin	Trifolium repens	09_01	5	3	405	203,3	2,46	850	103,73	3,13	0,5102
lin	Trifolium repens	09_12	5	1	635	196,59	2,17	521	99,81	3,33	0,5077
lin	Trifolium repens	09_12	5	2	734	195,82	2,32	430	99,96	2,9	0,5105
lin	Trifolium repens	09_12	5	3	486	199,12	2,58	906	101,77	2,72	0,5111
lin	Trifolium repens	09_37	5	1	692	212,49	2,09	1275	108,48	2,94	0,5105
lin	Trifolium repens	09_37	5	2	656	209,39	1,82	1236	107	2,95	0,5110
lin	Trifolium repens	09_37	5	3	639	206,41	1,68	1411	105,59	2,91	0,5116
lin	Trifolium repens	09_46	5	1	565	215,41	1,66	1660	108,57	2,75	0,5040
lin	Trifolium repens	09_46	5	2	578	211,95	2,06	1538	107,34	2,72	0,5064
lin	Trifolium repens	09_46	5	3	794	208,9	1,79	2370	105,65	2,66	0,5057
lin	Trifolium repens	09_48	5	1	422	214,29	2,44	2068	110,15	3,19	0,5140

lin	Trifolium repens	09_48	5	2	477	209,52	2,16	2149	107,87	2,48	0,5148
lin	Trifolium repens	09_48	5	3	363	207,57	2,24	1624	106,96	2,26	0,5153
lin	Trifolium repens	10_03	5	1	562	212,29	1,78	1428	108,15	2,6	0,5094
lin	Trifolium repens	10_03	5	2	517	210,14	1,71	1465	107,35	2,6	0,5108
lin	Trifolium repens	10_03	5	3	476	206,36	1,62	1283	105,2	2,57	0,5098
lin	Trifolium repens	10_06	5	1	480	212,42	1,76	1182	108,43	2,5	0,5105
lin	Trifolium repens	10_06	5	2	456	208,57	1,75	1244	106,35	2,82	0,5099
lin	Trifolium repens	10_06	5	3	385	204,58	1,85	991	104	3,19	0,5084
lin	Trifolium repens	10_33	5	1	366	208,14	1,9	616	106,59	2,83	0,5121
lin	Trifolium repens	10_33	5	2	639	200,73	2,06	1286	103,41	2,98	0,5152
lin	Trifolium repens	10_33	5	2	355	207,84	1,66	619	105,65	2,54	0,5083
lin	Trifolium repens	10_33	5	3	603	200,02	1,68	1039	102,79	3,02	0,5139
lin	Trifolium repens	10_33	5	3	673	205,08	1,86	1202	104,86	2,78	0,5113
lin	Trifolium repens	10_33	5	4	268	201,63	2,92	432	103,49	2,17	0,5133
lin	Trifolium repens	10_33	5	5	265	202,59	2,76	528	104,71	3,02	0,5169
lin	Trifolium repens	10_33	5	6	340	204,42	3,14	435	106,18	2,56	0,5194
lin	Trifolium repens	10_33	5	7	363	203,28	2,74	520	104,16	2,62	0,5124
lin	Trifolium repens	10_33	5	8	379	199,13	2,84	666	101	2,94	0,5072
lin	Trifolium repens	10_41	5	1	506	206,94	2,01	1127	105,82	2,95	0,5114
lin	Trifolium repens	10_41	5	2	427	198,91	2,1	1112	101,62	3,36	0,5109
lin	Trifolium repens	10_41	5	3	486	194,48	2,66	1081	99,22	3,45	0,5102
lin	Trifolium repens	10_42	5	1	1045	206,07	2,16	809	106,06	2,6	0,5147
lin	Trifolium repens	10_42	5	2	793	199,18	2,2	747	102,8	2,9	0,5161
lin	Trifolium repens	10_42	5	3	873	194,67	2,46	755	100,41	2,84	0,5158
lin	Trifolium repens	13_02	5	1	912	201,12	2,02	814	103,18	2,81	0,5130
lin	Trifolium repens	13_02	5	2	824	195,23	2,21	746	99,98	2,86	0,5121
lin	Trifolium repens	13_02	5	3	865	192,11	2,01	768	98,3	2,69	0,5117
lin	Trifolium repens	13_05	5	1	1046	203,12	2,51	1042	104,16	3,05	0,5128
lin	Trifolium repens	13_05	5	2	719	197,39	2,01	722	101,25	2,71	0,5129
lin	Trifolium repens	13_05	5	3	796	194,25	2,48	793	99,39	2,65	0,5117
lin	Trifolium repens	13_06	5	2	799	190,59	2,42	704	97,75	2,66	0,5129
lin	Trifolium repens	13_06	5	3	803	188,11	2,21	799	95,58	3,02	0,5081
lin	Trifolium repens	13_06	5	3	313	192,3	1,86	663	99,8	3	0,5190
lin	Trifolium repens	13_17	5	1	520	208,64	1,83	959	106,44	2,77	0,5102
lin	Trifolium repens	13_17	5	2	488	201,2	1,6	742	103,39	2,28	0,5139
lin	Trifolium repens	13_17	5	3	437	198,33	1,62	762	101,66	2,79	0,5126
lin	Trifolium repens	13_49	5	1	692	209,03	2,14	931	106,7	2,75	0,5105
lin	Trifolium repens	13_49	5	2	481	203,87	1,93	802	104,19	2,83	0,5111
lin	Trifolium repens	13_49	5	3	587	200,92	2,29	796	102,38	2,76	0,5096
lin	Trifolium repens	14_12	5	1	1015	216,13	2,24	592	111,59	2,13	0,5163
lin	Trifolium repens	14_12	5	2	964	208,13	2,26	638	107,72	2,61	0,5176
lin	Trifolium repens	14_12	5	3	921	204,48	2,12	627	105,44	2,45	0,5156
lin	Trifolium repens	14_15	5	1	753	208,61	1,95	688	107,66	1,85	0,5161
lin	Trifolium repens	14_15	5	2	806	202,91	2,01	917	104,61	2,85	0,5155
lin	Trifolium repens	14_15	5	3	774	199,91	1,97	864	103,12	2,7	0,5158
lin	Trifolium repens	14_20	5	1	1342	206,98	2,14	630	107,46	3,01	0,5192
lin	Trifolium repens	14_20	5	2	1140	193,09	2,26	523	99,87	2,6	0,5172
lin	Trifolium repens	14_20	5	3	1272	198,09	2,2	664	102,88	3,09	0,5194
lin	Trifolium repens	14_21	5	1	759	204,01	2,04	650	105,77	2,67	0,5185

lin	Trifolium repens	14_21	5	2	846	197,88	2,32	715	102,11	2,96	0,5160
lin	Trifolium repens	14_21	5	3	808	194,09	1,96	735	100,42	2,63	0,5174
lin	Trifolium repens	14_28	5	1	864	211,54	1,84	924	110,23	2,54	0,5211
lin	Trifolium repens	14_28	5	2	951	206,66	1,97	1001	107,42	2,76	0,5198
lin	Trifolium repens	14_28	5	3	828	203,36	1,76	837	105,97	2,46	0,5211
lin	Trifolium repens	15_04	5	1	937	210,02	2,22	485	107,27	2,44	0,5108
lin	Trifolium repens	15_04	5	2	1029	200,6	1,98	525	103,89	3,17	0,5179
lin	Trifolium repens	15_04	5	3	926	221,09	1,77	645	113,62	2,32	0,5139
lin	Trifolium repens	15_06	5	1	1307	226,36	2,34	434	116,76	2,8	0,5158
lin	Trifolium repens	15_06	5	2	1184	216,36	2,37	369	112,51	2,56	0,5200
lin	Trifolium repens	15_06	5	3	671	223,45	1,85	1026	116,54	2,75	0,5215
lin	Trifolium repens	15_20	5	1	1047	212,67	2,38	631	108,32	3,05	0,5093
lin	Trifolium repens	15_20	5	2	1034	205,12	1,91	595	104,74	2,55	0,5106
lin	Trifolium repens	15_20	5	3	1182	200,71	2,51	686	103,09	2,81	0,5136
lin	Trifolium repens	15_29	5	1	540	218,34	1,84	1110	112,48	2,76	0,5152
lin	Trifolium repens	15_29	5	2	512	209,33	1,48	1241	108,94	2,86	0,5204
lin	Trifolium repens	15_29	5	3	566	206,53	1,74	1256	107,32	2,52	0,5196
lin	Trifolium repens	15_37	5	1	569	221,44	2,2	912	112,81	2,92	0,5094
lin	Trifolium repens	15_37	5	2	723	212,61	1,99	1258	109,23	2,84	0,5138
lin	Trifolium repens	15_37	5	3	494	209,59	1,81	933	108,13	2,73	0,5159
lin	Trifolium repens	17_04	5	1	1218	224,21	2,41	666	115,03	2,86	0,5130
lin	Trifolium repens	17_04	5	2	1278	214,82	2,19	687	110,94	2,02	0,5164
lin	Trifolium repens	17_04	5	3	1073	212,4	1,99	664	109,55	2,81	0,5158
lin	Trifolium repens	17_05	5	1	709	217,61	1,4	738	112,15	2,04	0,5154
lin	Trifolium repens	17_05	5	2	841	208,31	1,58	839	107,31	2,41	0,5151
lin	Trifolium repens	17_05	5	3	985	205,22	1,79	935	105,65	2,19	0,5148
lin	Trifolium repens	17_07	5	1	555	211,14	1,38	894	108,16	2,42	0,5123
lin	Trifolium repens	17_07	5	2	745	202,76	1,81	956	104,29	2,33	0,5144
lin	Trifolium repens	17_07	5	3	633	199,26	1,49	1067	102,41	2,92	0,5140
lin	Trifolium repens	17_08	5	1	753	215,99	1,96	872	111,11	2,48	0,5144
lin	Trifolium repens	17_08	5	2	668	209,32	1,84	710	107,28	2,02	0,5125
lin	Trifolium repens	17_08	5	3	783	207,34	2,17	809	106,56	2,55	0,5139
lin	Trifolium repens	17_09	5	1	860	216,29	2,52	777	111,23	2,63	0,5143
lin	Trifolium repens	17_09	5	2	778	210,13	2,13	611	107,79	1,92	0,5130
lin	Trifolium repens	17_09	5	3	691	207,14	2,1	703	106,47	2,33	0,5140
lin	Trifolium repens	17_27	5	1	1039	239,9	1,88	722	124,59	2,48	0,5193
lin	Trifolium repens	17_27	5	2	998	231,79	1,72	821	120,66	2,57	0,5206
lin	Trifolium repens	17_27	5	3	945	228,18	1,54	761	118,41	2,54	0,5189
lin	Trifolium repens	17_30	5	1	1305	221,8	1,91	868	114,52	2,43	0,5163
lin	Trifolium repens	17_30	5	2	1162	212,31	2,32	786	110,17	2,74	0,5189
lin	Trifolium repens	17_30	5	3	1071	209,56	2,04	811	108,37	2,67	0,5171
lin	Trifolium repens	17_38	5	1	712	237,51	2,02	1040	121,53	2,89	0,5117
lin	Trifolium repens	17_38	5	2	804	225,36	2,27	977	116,12	2,72	0,5153
lin	Trifolium repens	17_38	5	3	700	222,41	1,89	850	114,87	2,22	0,5165
lin	Trifolium repens	18_11	5	1	1178	237,55	1,78	796	123,31	2,33	0,5191
lin	Trifolium repens	18_11	5	2	897	231,96	1,68	657	121,01	2,21	0,5217
lin	Trifolium repens	18_11	5	3	1000	228,61	1,87	781	119,31	2,76	0,5219
lin	Trifolium repens	18_25	5	1	742	233,47	2,21	761	120,33	2,31	0,5154
lin	Trifolium repens	18_25	5	2	813	230,79	2,03	819	118,88	2,26	0,5151

lin	Trifolium repens	18_25	5	3	744	229,41	2,1	812	118,55	2,27	0,5168
lin	Trifolium repens	18_29	5	1	973	230,77	2,25	297	118,31	2,99	0,5127
lin	Trifolium repens	18_29	5	2	932	222,99	2,25	214	117,53	1,99	0,5271
lin	Trifolium repens	18_29	5	3	1022	221,49	1,92	303	116,29	2,82	0,5250
lin	Trifolium repens	18_36	5	1	1223	231,12	2,33	434	119,29	2,61	0,5161
lin	Trifolium repens	18_36	5	2	1003	225,8	1,92	387	118,68	2,92	0,5256
lin	Trifolium repens	18_36	5	3	1070	223,13	1,89	406	117,05	2,72	0,5246
lin	Trifolium repens	18_45	5	1	974	234,06	2,45	594	120,78	2,53	0,5160
lin	Trifolium repens	18_45	5	2	1024	227,31	2,03	636	117,91	2,53	0,5187
lin	Trifolium repens	18_45	5	3	908	224,79	1,77	649	116,57	2,46	0,5186
lin	Trifolium repens	27_06	5	2	391	228,57	2,59	1079	115,73	2,78	0,5063
lin	Trifolium repens	27_06	5	3	945	217,64	2,06	704	111,36	2,57	0,5117
lin	Trifolium repens	27_06	5	3	350	223,59	2,24	1108	113,43	2,61	0,5073
lin	Trifolium repens	27_22	5	1	632	236,04	2,11	484	121,74	2,71	0,5158
lin	Trifolium repens	27_22	5	2	553	230,13	1,84	493	118,64	2,79	0,5155
lin	Trifolium repens	27_22	5	3	625	224,46	1,8	551	115,56	2,91	0,5148
lin	Trifolium repens	27_24	5	1	743	237,47	2,07	399	123,6	2,57	0,5205
lin	Trifolium repens	27_24	5	2	804	233,03	2,22	429	121	2,9	0,5192
lin	Trifolium repens	27_24	5	3	799	227	2,12	414	117,84	2,57	0,5191
lin	Trifolium repens	27_28	5	1	336	220,52	1,94	782	111,63	2,88	0,5062
lin	Trifolium repens	27_28	5	2	429	216,05	2,25	792	109,15	2,75	0,5052
lin	Trifolium repens	27_28	5	3	317	211,57	1,76	726	106,66	2,49	0,5041
lin	Trifolium repens	37_06	5	1	738	225,64	2,33	579	116,1	2,71	0,5145
lin	Trifolium repens	37_06	5	2	773	221,33	1,97	601	113,95	2,73	0,5148
lin	Trifolium repens	37_06	5	3	820	218,13	1,95	604	112,04	2,5	0,5136
lin	Trifolium repens	37_09	5	1	337	224,35	1,8	750	114,49	2,51	0,5103
lin	Trifolium repens	37_09	5	2	332	218,59	2,08	725	111,77	2,29	0,5113
lin	Trifolium repens	37_09	5	3	504	213,9	2,08	1091	110,03	2,64	0,5144
lin	Trifolium repens	37_10	5	1	638	222,17	2,25	944	113,46	3,07	0,5107
lin	Trifolium repens	37_10	5	2	597	217,59	2,16	829	111,19	2,77	0,5110
lin	Trifolium repens	37_10	5	3	746	215,09	2,3	933	110,13	2,97	0,5120
lin	Trifolium repens	37_12	5	1	1022	224,5	2,19	747	114,81	2,83	0,5114
lin	Trifolium repens	37_12	5	2	989	220,92	2,17	829	112,83	3,02	0,5107
lin	Trifolium repens	37_12	5	3	1186	218,76	2,13	918	112,06	2,83	0,5123
lin	Trifolium repens	41_04	5	1	1383	217,39	2,19	548	112,49	2,7	0,5175
lin	Trifolium repens	41_04	5	2	1310	211,63	1,79	511	109,98	2,37	0,5197
lin	Trifolium repens	41_04	5	3	1026	208,56	1,93	391	108,14	2,4	0,5185
lin	Trifolium repens	41_11	5	1	994	216,31	2,06	582	112,26	2,84	0,5190
lin	Trifolium repens	41_11	5	2	842	212,32	1,75	553	110,37	2,5	0,5198
lin	Trifolium repens	41_11	5	3	981	208,35	1,9	636	107,95	2,86	0,5181
lin	Trifolium repens	41_13	5	1	1184	204,5	2,34	383	106,7	2,31	0,5218
lin	Trifolium repens	41_13	5	2	1098	198,02	2,17	466	104,06	2,77	0,5255
lin	Trifolium repens	41_13	5	3	1370	194,21	2,53	563	101,89	2,79	0,5246
lin	Trifolium repens	41_21	5	1	996	196,29	2,08	380	102,49	2,35	0,5221
lin	Trifolium repens	41_21	5	2	1237	191,67	2,56	410	100,79	2,63	0,5259
lin	Trifolium repens	41_21	5	3	1275	190,32	2,67	518	100,13	3,1	0,5261
lin	Trifolium repens	49_06	5	1	764	232,76	2,01	732	119,71	2,13	0,5143
lin	Trifolium repens	49_06	5	2	434	224,36	1,9	656	114,51	2,54	0,5104
lin	Trifolium repens	49_06	5	3	460	222,93	1,91	729	114,32	2,77	0,5128

lin	Trifolium repens	49_08	5	1	800	220,78	2,23	1588	113,42	3,05	0,5137
lin	Trifolium repens	49_08	5	2	457	210,99	1,87	992	109,14	2,79	0,5173
lin	Trifolium repens	49_08	5	3	516	207,06	2,25	1019	107,36	2,6	0,5185
lin	Trifolium repens	49_14	5	1	480	229,01	2,12	1026	116,11	2,54	0,5070
lin	Trifolium repens	49_14	5	2	467	224,55	2,4	935	114,59	2,43	0,5103
lin	Trifolium repens	49_14	5	3	383	223,74	1,91	886	114,01	2,62	0,5096
lin	Trifolium repens	49_17	5	1	546	222,87	2,16	1183	112,69	2,84	0,5056
lin	Trifolium repens	49_17	5	2	546	221,18	2,04	1079	111,87	2,44	0,5058
lin	Trifolium repens	49_19	5	1	485	229,39	1,7	532	117,06	2,55	0,5103
lin	Trifolium repens	49_19	5	2	720	222,57	2,02	570	114,09	2,34	0,5126
lin	Trifolium repens	49_19	5	3	686	239,83	1,21	565	124,39	2,17	0,5187
lin	Trifolium repens	Ptl_41 84	5	1	1293	244,49	1,89	691	126,2	2,7	0,5162
lin	Trifolium repens	Ptl_41 84	5	2	1151	240,83	1,73	622	123,61	2,63	0,5133
lin	Trifolium repens	Ptl_41 84	5	3	1191	239,55	1,77	611	123,59	2,43	0,5159
lin	Trifolium repens	15_23	6	1	791	217,19	1,97	856	135,14	2,48	0,6222
lin	Trifolium repens	15_23	6	2	826	210,78	1,94	1000	131,79	2,55	0,6252
lin	Trifolium repens	15_23	6	3	735	210,11	2,08	896	131,43	2,65	0,6255
lin	Trifolium repens	15_33	6	1	286	221,89	1,59	1124	133,59	2,75	0,6021
lin	Trifolium repens	15_33	6	2	591	213,15	1,46	2176	129,1	2,28	0,6057
lin	Trifolium repens	15_33	6	3	303	209,26	1,74	1070	126,8	2,33	0,6059
lin	Trifolium repens	15_41	6	1	507	218,64	1,41	696	135,84	2,32	0,6213
lin	Trifolium repens	15_41	6	2	556	211,26	1,66	731	131,99	2,27	0,6248
lin	Trifolium repens	15_41	6	3	611	206,78	1,87	851	129,18	2,57	0,6247
lin	Trifolium repens	15_46	6	1	196	208,2	1,64	956	129,34	2,21	0,6212
lin	Trifolium repens	15_46	6	2	269	202,87	1,47	1447	125,68	2,61	0,6195
lin	Trifolium repens	15_46	6	3	266	199,14	1,75	1145	123,83	1,74	0,6218
lin	Trifolium repens	18_01	6	1	862	233,99	1,96	397	144,5	2,12	0,6175
lin	Trifolium repens	18_01	6	2	867	226,99	1,75	463	140,43	2,14	0,6187
lin	Trifolium repens	18_01	6	3	894	222,54	2	466	138,28	2,28	0,6214
lin	Trifolium repens	18_02	6	1	745	217,09	1,78	771	135,55	2,17	0,6244
lin	Trifolium repens	18_02	6	2	793	210,66	1,94	798	131,74	2,23	0,6254
lin	Trifolium repens	18_02	6	3	733	208,86	1,86	799	130,34	2,44	0,6241
lin	Trifolium repens	18_05	6	1	1214	249,56	1,75	503	153,43	2,23	0,6148
lin	Trifolium repens	18_05	6	2	1081	248,04	1,69	479	152,61	2,15	0,6153
lin	Trifolium repens	18_05	6	3	1266	245,54	1,61	463	151,57	1,72	0,6173
lin	Trifolium repens	18_32	6	1	1191	230,54	2,66	197	145,7	2,05	0,6320
lin	Trifolium repens	18_32	6	2	1126	222,15	2,21	233	139,47	2,06	0,6278
lin	Trifolium repens	18_32	6	3	1158	219,19	2,15	226	138,8	1,84	0,6332
lin	Trifolium repens	37_05	6	1	1135	236,66	2,07	330	149,29	2	0,6308
lin	Trifolium repens	37_05	6	2	1186	228,99	2,33	393	144,67	2,42	0,6318
lin	Trifolium repens	37_05	6	3	1150	223,73	2,15	324	141,45	1,9	0,6322
lin	Trifolium repens	37_14	6	1	1168	221,16	2,29	311	135,72	2,45	0,6137
lin	Trifolium repens	37_14	6	2	1197	217,71	2,3	362	133,02	2,52	0,6110
lin	Trifolium repens	37_14	6	3	846	212,6	2,02	294	129,86	2,72	0,6108
lin	Trifolium repens	37_16	6	1	896	209,87	2,04	678	130,04	2,81	0,6196
lin	Trifolium repens	37_16	6	2	932	203,55	2,23	659	126,84	2,5	0,6231

lin	Trifolium repens	37_16	6	3	1015	198,08	2,47	694	123,95	2,91	0,6258
lin	Trifolium repens	41_05	6	1	1123	223,56	1,67	531	138,59	2,3	0,6199
lin	Trifolium repens	41_05	6	2	1031	221,54	1,79	465	138,74	2,14	0,6263
lin	Trifolium repens	41_05	6	3	1498	218,86	1,89	706	136,92	2,62	0,6256
lin	Trifolium repens	41_10	6	1	926	220,78	1,58	467	137,79	1,99	0,6241
lin	Trifolium repens	41_10	6	2	922	216,88	1,57	465	135,78	1,96	0,6261
lin	Trifolium repens	41_10	6	3	983	213,59	1,96	541	133,11	2,7	0,6232
lin	Trifolium repens	41_30	6	1	919	196,96	2,24	492	122,34	2,24	0,6211
lin	Trifolium repens	41_30	6	2	985	192,84	2,33	574	119,27	2,8	0,6185
lin	Trifolium repens	41_30	6	3	650	191,2	2,03	367	119,03	2,28	0,6225
lin	Trifolium repens	49_13	6	1	791	226,44	1,77	463	139,45	2,6	0,6158
lin	Trifolium repens	49_13	6	2	808	220,73	1,61	444	136,61	2,13	0,6189
lin	Trifolium repens	49_13	6	3	748	219,07	1,75	451	135,58	1,98	0,6189
lin	Trifolium repens	49_23	6	1	1161	245,92	1,66	802	152,57	2,56	0,6204
lin	Trifolium repens	49_23	6	2	1407	238,72	1,48	829	149,29	1,8	0,6254
lin	Trifolium repens	49_23	6	3	954	236,04	1,55	576	147,62	1,92	0,6254
lin	Trifolium repens	49_24	6	1	1047	236,07	1,73	795	146,95	2,13	0,6225
lin	Trifolium repens	49_24	6	2	1046	223,44	1,61	748	139,45	1,96	0,6241
lin	Trifolium repens	49_24	6	3	1171	219,25	1,55	893	137,06	2,08	0,6251
lin	Trifolium repens	49_27	6	1	1111	230,6	1,88	976	143,23	2,31	0,6211
lin	Trifolium repens	49_27	6	2	987	225,9	1,67	770	140,6	2,07	0,6224
lin	Trifolium repens	49_27	6	3	946	225	1,7	756	140,16	2,15	0,6229
lin	Trifolium repens	49_28	6	1	959	233,19	1,61	698	145,22	2,1	0,6228
lin	Trifolium repens	49_28	6	2	1122	228,27	1,79	806	142,32	2,11	0,6235
lin	Trifolium repens	49_28	6	3	1081	226,79	1,72	854	141,62	2,29	0,6245
lin	Trifolium repens	10_26	7	1	500	209,48	2,36	304	149,1	2,36	0,7118
lin	Trifolium repens	10_26	7	2	453	200,5	1,7	341	143,5	2,27	0,7157
lin	Trifolium repens	10_26	7	3	545	202,95	1,88	932	144,75	2,55	0,7132
lin	Trifolium repens	10_28	7	1	514	210,72	1,84	1015	150,62	2,35	0,7148
lin	Trifolium repens	10_28	7	2	738	208,8	1,9	1497	149,36	2,44	0,7153
lin	Trifolium repens	10_28	7	3	677	194,36	1,67	817	139,68	2,19	0,7187
lin	Trifolium repens	10_32	7	1	566	205,84	1,78	441	147,6	1,93	0,7171
lin	Trifolium repens	10_32	7	2	479	202,44	1,79	391	146,19	1,81	0,7221
lin	Trifolium repens	10_32	7	3	571	201,57	2,01	436	145,82	2,39	0,7234
lin	Trifolium repens	14_06	7	1	893	219,4	2,19	558	158,91	1,8	0,7243
lin	Trifolium repens	14_06	7	2	934	208,47	1,89	668	151,2	2,07	0,7253
lin	Trifolium repens	14_06	7	3	956	203,89	1,84	701	148,03	2,06	0,7260
lin	Trifolium repens	14_13	7	1	1069	213,01	1,69	550	152,05	1,79	0,7138
lin	Trifolium repens	14_13	7	2	1085	206,89	1,88	513	147,25	1,87	0,7117
lin	Trifolium repens	14_13	7	3	1098	201,62	1,88	561	143,83	2,08	0,7134
lin	Trifolium repens	14_14	7	1	474	197,76	2,01	515	141,42	1,87	0,7151
lin	Trifolium repens	14_14	7	2	449	193,96	2,04	565	138,98	2,27	0,7165
lin	Trifolium repens	14_14	7	3	457	188,65	1,69	614	135,01	2,16	0,7157
lin	Trifolium repens	14_23	7	1	885	206,42	1,52	301	149,63	2,14	0,7249
lin	Trifolium repens	14_23	7	2	978	201,05	1,58	296	145,4	1,74	0,7232
lin	Trifolium repens	14_23	7	3	1131	197,02	1,93	314	142,94	1,98	0,7255
lin	Trifolium repens	14_32	7	1	1009	202,78	1,76	483	144,98	1,95	0,7150
lin	Trifolium repens	14_32	7	2	992	197,14	1,86	546	140,96	2,07	0,7150
lin	Trifolium repens	14_32	7	3	1105	195,02	1,88	609	139,22	2,22	0,7139

lin	Trifolium repens	17_28	7	1	643	218,17	1,55	542	156,8	2,04	0,7187
lin	Trifolium repens	17_28	7	2	707	212,19	1,47	578	152,46	1,81	0,7185
lin	Trifolium repens	17_28	7	3	715	209,98	1,52	590	150,84	1,8	0,7184
lin	Trifolium repens	17_29	7	1	1104	226,75	1,61	409	161,63	2,53	0,7128
lin	Trifolium repens	17_29	7	2	1112	221,43	1,88	359	158,23	1,87	0,7146
lin	Trifolium repens	17_29	7	3	1046	219,17	1,94	334	157,04	2	0,7165
lin	Trifolium repens	17_49	7	1	773	226,66	1,61	645	161,87	1,86	0,7142
lin	Trifolium repens	17_49	7	2	814	217,47	1,66	747	155,6	1,99	0,7155
lin	Trifolium repens	17_49	7	3	818	214,12	1,57	807	153,61	1,82	0,7174
lin	Trifolium repens	18_23	7	1	781	220,57	1,95	782	158,26	2,07	0,7175
lin	Trifolium repens	18_23	7	2	636	218,18	2,07	571	156,78	2,4	0,7186
lin	Trifolium repens	18_23	7	3	693	216,67	1,81	630	156,35	1,97	0,7216
lin	Trifolium repens	27_02	7	1	578	232,76	2,07	479	164,94	2,17	0,7086
lin	Trifolium repens	27_02	7	2	653	224,64	2,04	489	159,69	2,18	0,7109
lin	Trifolium repens	27_02	7	3	678	219,13	2,36	537	156,65	2,54	0,7149
lin	Trifolium repens	27_04	7	1	404	237,5	2,4	709	168,53	2,14	0,7096
lin	Trifolium repens	27_04	7	2	395	228,28	2,38	718	163,2	2,45	0,7149
lin	Trifolium repens	27_04	7	3	392	221,43	2,13	813	158,75	2,64	0,7169
lin	Trifolium repens	27_13	7	1	563	228,01	1,71	470	159,46	2,16	0,6994
lin	Trifolium repens	27_13	7	2	737	224,74	2,43	487	157,18	2,13	0,6994
lin	Trifolium repens	27_13	7	3	731	218,37	2,14	479	153,51	2,17	0,7030
lin	Trifolium repens	27_17	7	1	309	215,31	1,94	1000	154,45	2,35	0,7173
lin	Trifolium repens	27_17	7	2	319	209,91	1,69	980	151,19	2,04	0,7203
lin	Trifolium repens	27_17	7	3	740	229,32	2,83	275	164,29	1,84	0,7164
lin	Trifolium repens	27_26	7	2	777	214,29	2,28	611	152,58	1,89	0,7120
lin	Trifolium repens	27_26	7	2	370	232,42	1,58	795	167,07	1,86	0,7188
lin	Trifolium repens	27_26	7	2	372	228,62	1,4	889	164,61	2	0,7200
lin	Trifolium repens	Ptl_41 87	7	1	1164	220,26	1,84	733	155,42	1,94	0,7056
lin	Trifolium repens	Ptl_41 87	7	2	725	217,43	1,96	535	153,47	2,3	0,7058
lin	Trifolium repens	Ptl_41 87	7	3	750	216,89	1,88	546	153,18	2,16	0,7063
lin	Trifolium repens	Ptl_41 88	7	1	748	223,03	1,78	499	157,81	2,76	0,7076
lin	Trifolium repens	Ptl_41 88	7	2	764	234,39	1,87	589	166,12	2,01	0,7087
lin	Trifolium repens	Ptl_41 88	7	3	560	229,92	1,59	455	163,23	2,19	0,7099
lin	Trifolium repens	14_05	8	1	637	221,66	1,72	574	192,66	1,78	0,8692
lin	Trifolium repens	14_05	8	2	720	213,1	1,65	587	185,2	1,61	0,8691
lin	Trifolium repens	14_05	8	3	694	208,77	1,73	577	180,45	1,66	0,8643
lin	Trifolium repens	14_19	8	1	966	200,32	1,98	496	166,96	2,09	0,8335
lin	Trifolium repens	14_19	8	2	1023	184,15	2,31	473	153,52	2,12	0,8337
lin	Trifolium repens	14_19	8	3	830	175,47	2,4	505	146,84	2,21	0,8368
lin	Trifolium repens	14_22	8	1	1125	193,95	2	397	161,28	1,86	0,8316
lin	Trifolium repens	14_22	8	2	1102	187,42	2,25	414	155,33	2,36	0,8288
lin	Trifolium repens	14_22	8	3	1048	184,51	2,32	401	152,37	2,4	0,8258
lin	Trifolium repens	14_24	8	1	853	204,1	1,6	334	168,93	1,67	0,8277

lin	Trifolium repens	14_24	8	2	982	196,8	1,71	415	164,59	1,87	0,8363
lin	Trifolium repens	14_24	8	3	920	194,54	1,62	355	161,25	1,66	0,8289
lin	Trifolium repens	14_26	8	1	751	202,9	1,81	504	169,36	2,02	0,8347
lin	Trifolium repens	14_26	8	2	754	197,95	1,98	521	164,01	1,99	0,8285
lin	Trifolium repens	14_26	8	3	786	195,89	1,65	551	162,03	2,06	0,8271
lin	Trifolium repens	17_14	8	1	776	226,62	1,41	746	187,57	1,73	0,8277
lin	Trifolium repens	17_14	8	2	1000	215,65	1,59	921	179,23	1,76	0,8311
lin	Trifolium repens	17_14	8	3	843	213,4	1,59	852	177,3	1,94	0,8308
lin	Trifolium repens	17_15	8	1	605	216,49	1,65	530	179,66	1,75	0,8299
lin	Trifolium repens	17_15	8	2	770	207,62	1,53	636	172,76	1,91	0,8321
lin	Trifolium repens	17_15	8	3	740	206,03	1,53	602	171,56	2,25	0,8327
lin	Trifolium repens	17_16	8	1	490	214,24	1,69	675	177,04	1,98	0,8264
lin	Trifolium repens	17_16	8	2	544	206,94	1,73	787	171,48	2,2	0,8286
lin	Trifolium repens	17_16	8	3	632	204,97	1,61	892	169,68	2,05	0,8278
lin	Trifolium repens	17_17	8	1	451	211,75	1,57	591	174,2	1,78	0,8227
lin	Trifolium repens	17_17	8	2	574	203,95	1,76	713	168,39	1,95	0,8256
lin	Trifolium repens	17_17	8	3	586	203,4	1,77	718	168,04	1,72	0,8262
lin	Trifolium repens	17_19	8	1	474	212,65	1,74	947	173,91	2,22	0,8178
lin	Trifolium repens	17_19	8	2	421	208,07	1,65	924	170,2	2	0,8180
lin	Trifolium repens	17_19	8	3	487	207,65	1,84	938	170,05	1,8	0,8189
lin	Trifolium repens	18_20	8	1	923	238,64	1,57	547	193,41	1,67	0,8105
lin	Trifolium repens	18_20	8	2	967	231,67	1,94	673	188,4	2,12	0,8132
lin	Trifolium repens	18_20	8	3	960	228,32	1,72	704	185,91	1,89	0,8143
lin	Trifolium repens	18_27	8	1	620	231,42	1,71	641	191,12	1,92	0,8259
lin	Trifolium repens	18_27	8	2	797	230,11	1,77	800	190,18	1,76	0,8265
lin	Trifolium repens	18_27	8	3	726	229,63	1,63	739	189,41	1,42	0,8248
lin	Trifolium repens	18_44	8	1	1059	233,49	2,12	421	194,1	1,73	0,8313
lin	Trifolium repens	18_44	8	2	1132	228,7	2,01	538	190,61	2,15	0,8334
lin	Trifolium repens	18_44	8	3	1102	226,36	1,78	475	188,49	1,86	0,8327
lin	Trifolium repens	41_02	8	1	826	224,25	2,14	419	187,02	2,42	0,8340
lin	Trifolium repens	41_02	8	2	862	216,31	1,83	390	180,94	1,96	0,8365
lin	Trifolium repens	41_02	8	3	751	214,41	1,45	352	178,44	1,7	0,8322
lin	Trifolium repens	41_15	8	1	954	203,17	2,67	183	167,72	1,23	0,8255
lin	Trifolium repens	41_15	8	2	1035	195,57	2,45	254	162,18	1,95	0,8293
lin	Trifolium repens	41_15	8	3	358	207,49	2,02	492	170,97	2,68	0,8240
log	Pisum	18_15	4	1	169	605,18	1,84	624	87,12	5,13	0,1440
log	Pisum	18_15	4	1	713	588,94	2,16	442	90,63	4,5	0,1539
log	Pisum	18_15	4	2	174	584,48	2,95	563	85,82	5,42	0,1468
log	Pisum	18_15	4	2	752	616,56	2,73	414	91,97	4,46	0,1492
log	Pisum	18_15	4	3	121	591,10	2,89	702	87,05	5,59	0,1473
log	Pisum	18_15	4	3	801	615,64	2,08	443	91,93	5,17	0,1493
log	Pisum	18_43	4	1	123	606,60	2,45	786	88,19	4,03	0,1454
log	Pisum	18_43	4	1	545	588,63	2,41	449	84,15	5,76	0,1430
log	Pisum	18_43	4	2	212	606,33	2,16	429	87,37	3,48	0,1441
log	Pisum	18_43	4	2	425	593,84	2,44	656	89,87	4,74	0,1513
log	Pisum	18_43	4	3	118	595,97	2,28	721	84,98	4,37	0,1426
log	Pisum	18_43	4	3	616	578,44	1,99	634	85,84	4,09	0,1484
log	Pisum	18_48	4	1	171	627,15	3,45	833	89,28	5,58	0,1424
log	Pisum	18_48	4	1	653	577,89	1,56	688	83,16	4,51	0,1439

log	Pisum	18_48	4	2	260	602,46	2,75	793	86,03	5,47	0,1428
log	Pisum	18_48	4	2	686	579,01	1,62	1005	84,38	4,87	0,1457
log	Pisum	18_48	4	3	209	616,45	2,78	627	90,05	4,85	0,1461
log	Pisum	18_48	4	3	876	593,82	1,78	905	85,45	4,4	0,1439
log	Pisum	09_48	5	1	205	597,80	2,59	1317	101,63	5,45	0,1700
log	Pisum	09_48	5	1	869	597,99	2,22	525	106,71	5,01	0,1784
log	Pisum	09_48	5	2	154	622,21	3,66	1341	109,14	5,61	0,1754
log	Pisum	09_48	5	2	735	594,1	1,75	616	104,78	4,77	0,1764
log	Pisum	09_48	5	3	163	624,85	3,47	1014	109,10	5,46	0,1746
log	Pisum	09_48	5	3	890	585,63	1,96	592	102,03	6,17	0,1742
log	Pisum	15_20	5	1	310	629,07	2,60	692	106,10	4,11	0,1687
log	Pisum	15_20	5	1	454	586,33	1,64	1268	100,1	4,51	0,1707
log	Pisum	15_20	5	2	283	634,56	2,25	970	110,54	5,24	0,1742
log	Pisum	15_20	5	2	413	609,65	1,65	1028	105,12	4,48	0,1724
log	Pisum	15_20	5	3	310	614,91	3,26	948	104,52	5,08	0,1700
log	Pisum	15_20	5	3	599	613,51	1,9	1043	106,6	4,17	0,1738
log	Pisum	17_09	5	1	195	613,16	2,33	952	106,26	4,66	0,1733
log	Pisum	17_09	5	1	882	597,17	2,04	532	106,77	4,84	0,1788
log	Pisum	17_09	5	2	206	622,52	2,61	966	107,82	4,57	0,1732
log	Pisum	17_09	5	2	674	614	2,03	531	108,85	4,85	0,1773
log	Pisum	17_09	5	3	133	623,21	2,14	1095	107,04	4,53	0,1718
log	Pisum	17_09	5	3	952	615,15	2,02	653	109,27	4,36	0,1776
log	Pisum	15_23	6	1	278	608,78	2,14	575	127,16	3,94	0,2089
log	Pisum	15_23	6	1	494	616,82	2,02	722	131,12	4,51	0,2126
log	Pisum	15_23	6	2	405	617,65	2,88	1166	127,90	4,45	0,2071
log	Pisum	15_23	6	2	550	600,75	2,06	777	128,86	4,12	0,2145
log	Pisum	15_23	6	3	237	614,78	2,45	769	128,19	4,23	0,2085
log	Pisum	15_23	6	3	691	598,81	2,23	851	129,06	4,3	0,2155
log	Pisum	18_02	6	1	78	611,61	2,22	982	126,51	4,38	0,2068
log	Pisum	18_02	6	1	533	606,94	1,94	799	130,49	5,32	0,2150
log	Pisum	18_02	6	2	175	624,72	2,28	953	126,87	4,33	0,2031
log	Pisum	18_02	6	2	440	600,44	1,73	1067	127,59	4,28	0,2125
log	Pisum	18_02	6	3	122	601,21	1,95	609	125,80	3,21	0,2092
log	Pisum	18_02	6	3	511	599,55	2,31	748	126,66	4,72	0,2113
log	Pisum	37_16	6	1	296	614,20	2,04	537	126,27	3,58	0,2056
log	Pisum	37_16	6	1	566	603,49	2,05	997	125,44	4,18	0,2079
log	Pisum	37_16	6	2	333	615,38	1,74	747	125,07	3,89	0,2032
log	Pisum	37_16	6	2	353	609,39	1,94	1000	125,4	4,77	0,2058
log	Pisum	37_16	6	3	333	617,61	3,32	1016	127,51	5,28	0,2065
log	Pisum	37_16	6	3	761	607,77	2,41	686	126,02	5,38	0,2073
log	Pisum	10_26	7	1	192	631,42	4,58	1050	151,02	5,05	0,2392
log	Pisum	10_26	7	1	427	617,26	2,21	746	150,45	4,17	0,2437
log	Pisum	10_26	7	2	160	601,89	1,96	864	143,23	3,87	0,2380
log	Pisum	10_26	7	2	249	616,09	2,28	899	150,44	4,41	0,2442
log	Pisum	10_26	7	3	145	591,88	3,52	971	142,63	4,44	0,2410
log	Pisum	10_26	7	3	381	597,74	2,15	884	145,91	4,38	0,2441
log	Pisum	14_23	7	1	229	602,93	2,01	574	142,92	3,43	0,2370
log	Pisum	14_23	7	1	606	580,29	2,58	777	140,55	5	0,2422
log	Pisum	14_23	7	2	195	589,84	2,37	583	139,21	4,27	0,2360

log	Pisum	14_23	7	2	562	615,37	2,1	579	151,52	4,44	0,2462
log	Pisum	14_23	7	3	220	603,36	3,01	585	146,39	4,40	0,2426
log	Pisum	14_23	7	3	755	615,8	1,93	644	152,7	4,27	0,2480
log	Pisum	18_37	7	1	311	610,35	1,73	758	144,30	4,03	0,2364
log	Pisum	18_37	7	1	868	596,34	2,41	418	144,1	4,77	0,2416
log	Pisum	18_37	7	2	383	597,45	2,22	712	139,54	4,42	0,2336
log	Pisum	18_37	7	2	633	596,29	2,67	474	144,44	4,89	0,2422
log	Pisum	18_37	7	3	248	607,00	2,47	815	142,70	4,67	0,2351
log	Pisum	18_37	7	3	834	596,33	2,48	519	142,68	4,78	0,2393
log	Pisum	18_27	8	1	329	608,72	1,59	383	168,39	3,23	0,2766
log	Pisum	18_27	8	1	442	622,9	1,71	922	180,77	4,29	0,2902
log	Pisum	18_27	8	2	305	615,07	1,86	755	172,85	3,28	0,2810
log	Pisum	18_27	8	2	407	622,26	1,59	826	175,99	3,69	0,2828
log	Pisum	18_27	8	3	285	607,57	1,79	694	167,26	3,59	0,2753
log	Pisum	18_27	8	3	382	613,19	1,76	652	175,12	4,12	0,2856
log	Pisum	18_44	8	1	234	618,22	3,47	524	182,53	3,19	0,2953
log	Pisum	18_44	8	1	773	599,83	2,64	667	165,5	4,84	0,2759
log	Pisum	18_44	8	2	226	604,56	2,02	553	165,90	4,19	0,2744
log	Pisum	18_44	8	2	558	610,39	1,79	661	172,74	3,92	0,2830
log	Pisum	18_44	8	3	227	607,73	2,00	381	170,50	2,70	0,2806
log	Pisum	18_44	8	3	800	595,37	1,94	561	167,08	4,05	0,2806
log	Pisum	41_02	8	1	168	599,79	2,08	433	170,45	2,70	0,2842
log	Pisum	41_02	8	1	544	598,06	2,49	891	170,58	4,07	0,2852
log	Pisum	41_02	8	2	337	608,32	2,40	614	176,57	3,13	0,2903
log	Pisum	41_02	8	2	536	607,55	3,21	612	169,09	4,28	0,2783
log	Pisum	41_02	8	3	294	608,51	2,01	555	174,47	2,78	0,2867
log	Pisum	41_02	8	3	647	623,82	2,46	812	172,67	3,98	0,2768

Ind. = Individuum

Mess WH = Messwiederholung

Sample / Standard = Quotient der Probe durch den Standard *Trifolium repens* im linearen bzw. *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin im logarithmischen Modus.

## 11.4 Durchfluss-zytometrische Messungen Mittelwerte Adulte *Potentilla puberula*

Gemessen mit

1) dem internen Standard *Trifolium repens*, linearer Modus, Färbepuffer Otto II mit 40µg/ml DAPI

2) dem internen Standard *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin, logarithmischer Modus, Färbepuffer Otto II mit 80ng/ml DAPI

Messung mit partec Cyflow Ploidy Analyser durchgeführt.

Angegeben wird Nummer und Ploidie der weiblichen und männlichen Individuen, das Proben: Standard Fluoreszenz-Verhältnisse Adulte

1)

<b>Ploidie/Individuum</b>	<b>MW</b>	<b>STABW</b>	<b>N</b>
<b>4x</b>	<b>0,4166</b>	<b>0,0125</b>	<b>57</b>
09_05	0,4075	0,0010	3
09_08	0,4063	0,0015	3
09_16	0,4094	0,0021	3
09_31	0,4145	0,0014	3
09_47	0,4083	0,0018	3
10_01	0,4097	0,0023	3
10_08	0,4152	0,0019	3
10_17	0,4156	0,0023	3
10_22	0,4037	0,0010	3
13_09	0,4152	0,0028	3
13_12	0,4208	0,0013	3
13_22	0,4047	0,0021	3
13_33	0,3991	0,0018	3
18_14	0,4376	0,0012	3
18_15	0,4363	0,0021	3
18_43	0,4327	0,0026	3

18_47	0,4355	0,0035	3
18_48	0,4346	0,0017	3
Ptl_4048	0,4077	0,0022	3
<b>5x</b>	<b>0,5145</b>	<b>0,0047</b>	<b>174</b>
09_01	0,5107	0,0004	3
09_12	0,5098	0,0018	3
09_37	0,5110	0,0005	3
09_46	0,5054	0,0012	3
09_48	0,5147	0,0006	3
10_03	0,5100	0,0007	3
10_06	0,5096	0,0011	3
10_33	0,5130	0,0037	10
10_41	0,5108	0,0006	3
10_42	0,5155	0,0008	3
13_02	0,5123	0,0007	3
13_05	0,5125	0,0007	3
13_06	0,5133	0,0055	3
13_17	0,5122	0,0019	3
13_49	0,5104	0,0008	3
14_12	0,5165	0,0010	3
14_15	0,5158	0,0003	3
14_20	0,5186	0,0012	3
14_21	0,5173	0,0012	3
14_28	0,5207	0,0007	3
15_04	0,5142	0,0036	3
15_06	0,5191	0,0030	3
15_20	0,5112	0,0022	3
15_29	0,5184	0,0028	3
15_37	0,5130	0,0033	3
17_04	0,5151	0,0018	3
17_05	0,5151	0,0003	3
17_07	0,5135	0,0011	3
17_08	0,5136	0,0010	3

17_09	0,5137	0,0007	3
17_27	0,5196	0,0008	3
17_30	0,5175	0,0013	3
17_38	0,5145	0,0025	3
18_11	0,5209	0,0016	3
18_25	0,5158	0,0009	3
18_29	0,5216	0,0078	3
18_36	0,5221	0,0052	3
18_45	0,5178	0,0015	3
27_06	0,5084	0,0028	3
27_22	0,5154	0,0005	3
27_24	0,5196	0,0008	3
27_28	0,5052	0,0010	3
37_06	0,5143	0,0006	3
37_09	0,5120	0,0021	3
37_10	0,5112	0,0007	3
37_12	0,5115	0,0008	3
41_04	0,5185	0,0011	3
41_11	0,5190	0,0009	3
41_13	0,5240	0,0020	3
41_21	0,5247	0,0022	3
49_06	0,5125	0,0020	3
49_08	0,5165	0,0025	3
49_14	0,5090	0,0017	3
49_17	0,5057	0,0001	2
49_19	0,5139	0,0043	3
Ptl_4184	0,5151	0,0016	3
<b>6x</b>	<b>0,6216</b>	<b>0,0062</b>	<b>57</b>
15_23	0,6243	0,0018	3
15_33	0,6046	0,0022	3
15_41	0,6236	0,0020	3
15_46	0,6209	0,0012	3
18_01	0,6192	0,0020	3

18_02	0,6246	0,0007	3
18_05	0,6158	0,0013	3
18_32	0,6310	0,0028	3
37_05	0,6316	0,0007	3
37_14	0,6118	0,0016	3
37_16	0,6228	0,0031	3
41_05	0,6239	0,0035	3
41_10	0,6245	0,0015	3
41_30	0,6207	0,0021	3
49_13	0,6179	0,0018	3
49_23	0,6237	0,0029	3
49_24	0,6239	0,0013	3
49_27	0,6222	0,0009	3
49_28	0,6236	0,0009	3
<b>7x</b>	<b>0,7151</b>	<b>0,0061</b>	<b>57</b>
10_26	0,7136	0,0020	3
10_28	0,7163	0,0021	3
10_32	0,7209	0,0034	3
14_06	0,7252	0,0009	3
14_13	0,7130	0,0011	3
14_14	0,7158	0,0007	3
14_23	0,7245	0,0012	3
14_32	0,7146	0,0006	3
17_28	0,7185	0,0002	3
17_29	0,7146	0,0019	3
17_49	0,7157	0,0016	3
18_23	0,7192	0,0021	3
27_02	0,7115	0,0032	3
27_04	0,7138	0,0038	3
27_13	0,7006	0,0021	3
27_17	0,7180	0,0020	3
27_26	0,7170	0,0043	3
Ptl_4187	0,7059	0,0003	3

Ptl_4188	0,7087	0,0012	3
<b>8x</b>	<b>0,8304</b>	<b>0,0117</b>	<b>45</b>
14_05	0,8675	0,0028	3
14_19	0,8347	0,0019	3
14_22	0,8287	0,0029	3
14_24	0,8310	0,0047	3
14_26	0,8301	0,0040	3
17_14	0,8299	0,0019	3
17_15	0,8316	0,0015	3
17_16	0,8276	0,0012	3
17_17	0,8248	0,0019	3
17_19	0,8182	0,0006	3
18_20	0,8126	0,0020	3
18_27	0,8257	0,0008	3
18_44	0,8325	0,0011	3
41_02	0,8342	0,0021	3
41_15	0,8263	0,0027	3

2)

<b>Ploidie/Individuum</b>	<b>MW</b>	<b>STABW</b>	<b>N</b>
<b>4x</b>	<b>0,1461</b>	<b>0,0033</b>	<b>18</b>
18_15	0,1484	0,0033	6
18_43	0,1458	0,0034	6
18_48	0,1441	0,0015	6
<b>5x</b>	<b>0,1739</b>	<b>0,0030</b>	<b>18</b>
09_48	0,1748	0,0028	6
15_20	0,1716	0,0022	6
17_09	0,1753	0,0029	6
<b>6x</b>	<b>0,2090</b>	<b>0,0038</b>	<b>18</b>
15_23	0,2112	0,0035	6
18_02	0,2097	0,0043	6

37_16	0,2060	0,0016	6
<b>7x</b>	<b>0,2406</b>	<b>0,0040</b>	<b>18</b>
10_26	0,2417	0,0027	6
14_23	0,2420	0,0048	6
18_37	0,2380	0,0036	6
<b>8x</b>	<b>0,2824</b>	<b>0,0058</b>	<b>18</b>
18_27	0,2819	0,0056	6
18_44	0,2816	0,0074	6
41_02	0,2836	0,0051	6

MW=Mittelwert

STABW=Standardabweichung

N=Anzahl-Messungen

## 11.5 Durchfluss-zytometrische Messungen Samen *Potentilla puberula*

Gemessen mit

1) dem internen Standard *Trifolium repens* und *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin, im linearen und logarithmischen Modus, Färbepuffer Otto II mit 80ng/ml DAPI

Die Messungen mit partec Cyflow Ploidy Analyser durchgeführt.

Angegeben wird Nummer und Ploidie der Mütter; Samenanzahl; Modus; Counts jeweils von den beiden Standard Trifolium und Pisum sowie vom Embryo; Verhältnis Probe und Standard.

Ind	Ploidie	Same	Sta	mode	Trifolium			Embryo			em : Tri	Sta	mode	Pisum			Trifolium			Embryo			Endosperm			em:Pis	em:Tri	en:em
					count	mean	cv	count	mean	cv				count	mean	cv	count	mean	cv	count	mean	cv	count	mean	cv			
09 48	5	1	Tri	lin	634	200,60	2,96	680	105,29	2,78	0,5249	Tri&Pis	log	266	626,80	2,82	613	210,70	4,11	555	110,96	3,67	26	341,37	2,91	0,177	0,527	3,077
09 48	5	2	Tri	lin	332	198,96	2,50	401	106,05	3,37	0,533	Tri&Pis	log	215	607,17	1,90	536	199,90	4,76	503	109,74	4,13	46	324,33	3,66	0,181	0,549	2,955
09 48	5	4	Tri	lin	599	197,96	3,15	756	104,65	3,29	0,5286	Tri&Pis	log	112	604,08	1,66	410	197,37	3,85	487	105,25	3,25	29	321,99	1,99	0,174	0,533	3,059
09 48	5	5	Tri	lin	571	197,46	3,08	367	104,32	3,03	0,5283	Tri&Pis	log	188	604,56	1,62	610	199,22	3,66	461	106,22	3,14	34	305,40	4,29	0,176	0,533	2,875
09 48	5	6	Tri	lin	415	198,14	3,01	449	104,21	3,38	0,5259	Tri&Pis	log	354	625,07	1,80	690	208,25	4,66	765	110,13	3,70	27	347,31	2,43	0,176	0,529	3,154
09 48	5	8	Tri	lin	459	200,30	2,99	718	104,65	3,27	0,5225	Tri&Pis	log	259	589,61	2,16	500	197,92	4,35	710	104,46	3,81	30	319,22	3,07	0,177	0,528	3,056
09 48	5	9	Tri	lin	635	197,78	3,42	650	103,20	2,96	0,5218	Tri&Pis	log	193	600,83	1,93	526	201,02	4,46	522	105,72	3,28	21	292,15	2,68	0,176	0,526	2,763
09 48	5	10	Tri	lin	487	199,80	2,83	947	105,16	3,66	0,5263	Tri&Pis	log	159	593,11	2,04	291	202,24	3,32	467	105,36	3,81	26	314,42	3,59	0,178	0,521	2,984
09 48	5	11	Tri	lin	613	199,90	2,77	542	104,50	3,39	0,5228	Tri&Pis	log	376	602,08	2,70	411	200,26	3,20	327	104,43	3,02	31	299,48	3,05	0,173	0,521	2,868
10 26	7	1	Tri	lin	607	199,94	2,60	853	144,33	3,48	0,7219	Tri&Pis	log	347	612,95	1,65	524	203,16	2,84	691	148,15	3,52	44	448,03	3,52	0,242	0,729	3,024
10 26	7	2	Tri	lin	488	201,58	2,44	1083	147,13	3,56	0,7299	Tri&Pis	log	201	608,30	1,55	333	203,73	2,49	796	149,04	4,13	34	442,80	3,46	0,245	0,732	2,971
10 26	7	3	Tri	lin	626	194,47	2,34	1033	140,47	3,19	0,7223	Tri&Pis	log	196	598,60	2,13	633	200,05	2,87	826	146,08	3,55	42	427,47	2,37	0,244	0,730	2,926
10 26	7	4	Tri	lin	781	197,51	2,69	772	143,78	2,87	0,728	Tri&Pis	log	467	584,27	2,25	634	196,02	2,79	922	141,11	3,34	86	428,98	3,68	0,242	0,720	3,040
10 26	7	5	Tri	lin	502	198,76	2,27	1264	143,19	3,06	0,7204	Tri&Pis	log	208	610,17	1,87	407	204,45	2,64	1006	147,71	3,65	52	366,00	4,29	0,242	0,722	2,478
10 26	7	6	Tri	lin	322	202,52	2,16	1139	143,99	2,89	0,711	Tri&Pis	log	240	624,28	3,06	240	208,98	3,43	755	150,30	3,84	49	448,61	2,82	0,241	0,719	2,985
10 26	7	7	Tri	lin	484	203,32	2,27	1237	144,16	3,04	0,709	Tri&Pis	log	218	608,06	2,19	348	204,50	2,72	864	145,94	3,03	48	424,18	2,35	0,240	0,714	2,907
10 26	7	9	Tri	lin	545	199,29	2,39	453	141,68	3,26	0,7109	Tri&Pis	log	416	625,33	3,49	659	212,18	4,05	535	152,53	4,37	71	456,69	4,10	0,244	0,719	2,994
10 26	7	10	Tri	lin	728	200,33	2,29	856	142,84	3,06	0,713	Tri&Pis	log	378	613,86	1,49	599	206,55	2,51	687	148,23	3,48	39	430,95	3,28	0,241	0,718	2,907
10 26	7	11	Tri	lin	356	199,11	2,33	1064	142,78	3,18	0,7171	Tri&Pis	log	173	609,15	2,16	296	206,46	3,26	813	148,87	3,28	41	442,30	2,91	0,244	0,721	2,971
10 26	7	12	Tri	lin	665	203,70	2,07	859	143,90	2,74	0,7064	Tri&Pis	log	307	617,27	2,19	671	206,91	2,88	733	147,16	3,29	59	452,85	2,85	0,238	0,711	3,077
10 26	7	13	Tri	lin	681	200,72	1,86	881	141,95	2,72	0,7072	Tri&Pis	log	384	617,41	1,52	723	206,82	2,46	762	146,94	2,92	44	368,72	3,80	0,238	0,710	2,509
10 26	7	14	Tri	lin	567	200,74	2,20	822	141,87	2,77	0,7067	Tri&Pis	log	252	616,63	2,13	454	206,91	3,09	612	148,08	2,89	32	422,39	3,02	0,240	0,716	2,852
14 23	7	1	Tri	lin	1146	210,76	3,03	537	151,09	2,66	0,7169	Tri&Pis	log	261	603,88	4,96	1306	206,36	4,88	625	146,74	5,24	45	426,59	5,22	0,243	0,711	2,907
14 23	7	3	Tri	lin	551	196,59	2,58	842	141,61	2,65	0,7203	Tri&Pis	log	207	631,70	2,09	560	210,63	2,97	699	152,72	2,64	30	441,64	3,40	0,242	0,725	2,892
14 23	7	4	Tri	lin	502	202,73	2,31	600	145,15	3,11	0,716	Tri&Pis	log	174	618,69	2,70	447	210,09	3,57	491	151,81	4,13	19	433,07	2,88	0,245	0,723	2,853
14 23	7	5	Tri	lin	372	197,60	2,60	522	143,11	2,73	0,7242	Tri&Pis	log	178	618,62	3,68	463	213,52	3,78	823	152,31	4,27	39	423,54	5,05	0,246	0,713	2,781
14 23	7	6	Tri	lin	554	202,55	2,46	930	144,89	2,67	0,7153	Tri&Pis	log	122	616,99	1,59	297	205,70	2,97	364	148,87	3,00	22	417,17	3,42	0,241	0,724	2,802
14 23	7	7	Tri	lin	601	199,42	2,60	888	143,60	2,83	0,7201	Tri&Pis	log	211	604,34	2,64	393	206,49	4,47	692	148,94	3,82	41	419,87	4,43	0,246	0,721	2,819
14 23	7	8	Tri	lin	509	200,45	2,45	918	143,01	2,47	0,7134	Tri&Pis	log	182	631,01	2,74	529	212,46	3,83	818	153,53	3,27	41	424,18	4,05	0,243	0,723	2,763
14 23	7	10	Tri	lin	424	197,08	2,63	606	143,53	2,69	0,7283	Tri&Pis	log	233	647,69	2,23	700	218,00	3,64	1091	156,59	3,01	29	446,27	3,71	0,242	0,718	2,850
15 20	5	1	Tri	lin	619	203,71	2,48	760	108,36	3,54	0,5319	Tri&Pis	log	142	616,88	1,76	538	199,98	3,94	604	107,04	3,81	27	301,85	3,18	0,174	0,535	2,820
15 20	5	2	Tri	lin	740	199,84	2,24	338	105,53	3,58	0,5281	Tri&Pis	log	345	608,70	1,70	780	197,96	3,18	347	105,25	3,56	19	316,45	2,43	0,173	0,532	3,007
15 20	5	3	Tri	lin	556	203,75	2,70	316	108,26	2,84	0,5313	Tri&Pis	log	312	623,06	1,77	369	204,74	3,55	178	108,81	2,90	19	356,51	4,13	0,175	0,531	3,276
15 20	5	4	Tri	lin	481	205,47	2,38	673	108,84	3,35	0,5297	Tri&Pis	log	342	613,21	2,19	434	202,14	3,10	589	108,04	3,40	32	314,56	3,33	0,176	0,534	2,912
15 20	5	5	Tri	lin	392	201,21	3,73	671	107,33	3,56	0,5334	Tri&Pis	log	219	613,06	1,79	233	201,14	4,41	422	107,48	3,91	29	335,33	3,22	0,175	0,534	3,120
15 20	5	6	Tri	lin	705	201,92	3,41	626	107,26	3,34	0,5312	Tri&Pis	log	275	613,33	2,11	608	201,41	4,23	457	108,08	3,29	33	331,99	2,87	0,176	0,537	3,072
15 20	5	7	Tri	lin	623	201,05	2,75	436	105,73	3,15	0,5259	Tri&Pis	log	266	608,90	1,72	637	201,51	3,59	454	107,02	3,75	19	340,31	2,56	0,176	0,531	3,180
15 20	5	8	Tri	lin	509	196,60	3,17	383	104,95	3,66	0,5338	Tri&Pis	log	246	605,49	2,03	420	195,28	4,03	309	104,92	3,42	25	326,64	3,44	0,173	0,537	3,113
15 20	5	9	Tri	lin	473	203,10	2,79	585	107,60	3,61	0,5298	Tri&Pis	log	366	602,17	2,07	501	201,31	3,80	603	107,63	3,89	33	330,88	3,01	0,179	0,535	3,074
15 20	5	10	Tri	lin	684	202,63	2,52	457	106,24	3,50	0,5243	Tri&Pis	log	526	611,48	1,97	707	201,35	2,63	517	105,90	3,78	29	292,26	3,22	0,173	0,526	2,760
15 23	6	1	Tri	lin	541	201,04	2,45	570	126,23	2,69	0,6279	Tri&Pis	log	158	615,23	2,44	333	208,27	3,22	308	132,88	3,36	16	400,27	3,32	0,216	0,638	3,012
15 23	6	2	Tri	lin	512	203,62	2,69	629	128,47	2,73	0,6309	Tri&Pis	log	163	599,30	3,53	321	207,84	3,73	336	130,58	4,33	23	390,44	3,11	0,218	0,628	2,990
15 23	6	3	Tri	lin	429	204,13	2,58	597	129,98	2,91	0,6368	Tri&Pis	log	224	619,69	3,04	361	211,51	3,12	407	134,77	3,44	18	416,40	4,15	0,217	0,637	3,090
15 23	6	4	Tri	lin	547	200,17	2,94	556	124,78	3,09	0,6234	Tri&Pis	log	298	611,76	2,00	474	203,02	3,54	457	128,26	3,49	33	316,31	3,32	0,210	0,632	2,466
15 23	6	5	Tri	lin	318	197,00	2,58	398																				

17 09	5	5	Tri	lin	426	200,37	3,08	1286	101,07	4,12	0,5044	Tri&Pis	log	152	590,39	3,14	280	199,74	3,18	592	105,37	3,42	29	300,29	3,44	0,178	0,528	2,850
17 09	5	6	Tri	lin	511	202,58	2,61	359	105,63	3,06	0,5214	Tri&Pis	log	296	615,20	2,71	910	206,99	3,83	579	108,92	3,57	43	317,48	3,90	0,177	0,526	2,915
17 09	5	7	Tri	lin	379	203,02	3,59	694	106,07	3,83	0,5225	Tri&Pis	log	137	598,47	2,94	471	206,11	3,73	692	108,81	3,45	48	319,12	4,35	0,182	0,528	2,933
17 09	5	8	Tri	lin	156	202,17	2,74	520	107,09	3,58	0,5297	Tri&Pis	log	200	585,01	2,63	274	202,60	3,49	684	107,07	3,59	43	301,90	4,48	0,183	0,528	2,820
17 09	5	9	Tri	lin	226	206,46	3,45	447	109,36	3,39	0,5297	Tri&Pis	log	270	614,26	2,20	268	206,64	3,66	502	109,67	3,64	26	292,94	3,16	0,179	0,531	2,671
17 09	5	10	Tri	lin	552	201,37	2,76	602	107,28	3,94	0,5328	Tri&Pis	log	182	612,43	1,85	444	204,32	3,51	473	110,12	4,15	48	300,59	3,17	0,180	0,539	2,730
17 09	5	11	Tri	lin	856	204,09	2,77	807	105,64	3,07	0,5176	Tri&Pis	log	224	601,88	2,89	708	204,60	3,20	654	107,39	3,27	51	326,46	3,05	0,178	0,525	3,040
17 09	5	12	Tri	lin	816	207,47	3,18	826	108,53	3,22	0,5231	Tri&Pis	log	203	591,46	2,98	481	204,13	3,93	411	107,88	3,61	36	308,03	3,61	0,182	0,528	2,855
17 09	5	13	Tri	lin	415	202,50	2,50	740	106,79	2,92	0,5274	Tri&Pis	log	193	609,27	1,84	280	202,37	3,39	552	108,02	3,06	44	298,67	3,17	0,177	0,534	2,765
17 09	5	14	Tri	lin	466	200,78	2,77	904	104,80	3,27	0,522	Tri&Pis	log	88	606,55	2,44	366	206,62	3,16	609	109,13	3,36	39	311,94	3,09	0,180	0,528	2,858
17 09	5	15	Tri	lin	257	204,05	3,22	799	108,03	3,60	0,5294	Tri&Pis	log	244	598,09	2,08	258	198,65	4,24	579	105,16	3,50	40	288,46	3,37	0,176	0,529	2,743
18 02	6	1	Tri	lin	926	197,63	1,86	670	122,96	2,27	0,6222	Tri&Pis	log	258	604,53	2,03	931	201,28	2,83	765	126,07	2,98	50	356,71	3,93	0,209	0,626	2,829
18 02	6	2	Tri	lin	667	199,54	2,16	902	124,99	2,72	0,6264	Tri&Pis	log	165	592,65	1,69	560	196,75	3,26	634	124,69	3,07	51	368,15	2,93	0,210	0,634	2,953
18 02	6	4	Tri	lin	617	202,64	2,29	612	126,22	2,80	0,6229	Tri&Pis	log	233	618,00	3,18	606	206,55	3,97	441	130,01	3,79	26	386,47	5,20	0,210	0,629	2,973
18 02	6	6	Tri	lin	943	205,41	1,98	729	126,96	2,35	0,6181	Tri&Pis	log	182	595,53	2,04	514	198,02	3,29	615	125,71	3,01	31	371,98	2,58	0,211	0,635	2,959
18 02	6	7	Tri	lin	259	201,50	1,95	430	125,20	2,60	0,6213	Tri&Pis	log	264	592,12	2,63	448	197,35	3,55	476	123,14	3,79	22	359,93	2,42	0,208	0,624	2,923
18 02	6	8	Tri	lin	516	201,43	2,20	662	125,54	3,26	0,6232	Tri&Pis	log	289	628,63	2,33	283	213,15	2,72	388	132,58	3,08	21	395,06	2,95	0,211	0,622	2,980
18 02	6	9	Tri	lin	824	197,21	2,52	370	124,39	2,73	0,6307	Tri&Pis	log	408	588,79	1,58	553	192,81	3,45	507	121,72	3,25	29	368,40	4,06	0,207	0,631	3,027
18 02	6	10	Tri	lin	517	198,97	2,58	502	125,70	2,83	0,6318	Tri&Pis	log	288	591,71	1,87	898	191,81	2,90	351	122,42	2,95	48	348,56	8,48	0,207	0,638	2,847
18 02	6	11	Tri	lin	455	199,73	2,30	409	126,46	2,47	0,6332	Tri&Pis	log	277	595,71	1,86	592	192,95	3,01	553	123,38	3,12	18	363,94	3,26	0,207	0,639	2,950
18 02	6	12	Tri	lin	578	196,84	2,32	326	126,45	3,19	0,6424	Tri&Pis	log	381	589,89	1,82	597	194,41	2,85	468	123,68	3,05	26	366,25	2,59	0,210	0,636	2,961
18 02	6	13	Tri	lin	691	201,47	3,15	505	126,35	3,43	0,6271	Tri&Pis	log	616	601,99	2,17	784	193,75	3,00	519	124,90	3,06	27	366,29	3,92	0,207	0,645	2,933
18 02	6	14	Tri	lin	337	206,19	2,57	528	128,24	2,98	0,622	Tri&Pis	log	449	594,97	2,32	1075	196,91	3,68	762	123,92	3,54	42	367,60	4,23	0,208	0,629	2,966
18 15	4	1	Tri	lin	738	193,60	3,43	735	83,43	4,36	0,4309	Tri&Pis	log	287	558,00	3,94	624	196,72	4,66	533	84,13	4,50	21	267,37	2,31	0,151	0,428	3,178
18 15	4	2	Tri	lin	995	216,42	2,86	1310	93,45	4,42	0,4318	Tri&Pis	log	336	600,88	3,39	819	205,76	4,09	1015	90,01	5,04	51	291,73	3,51	0,150	0,437	3,241
18 15	4	3	Tri	lin	374	216,96	3,47	1459	94,95	4,73	0,4376	Tri&Pis	log	342	601,77	3,35	331	208,50	5,25	1004	91,03	4,51	52	269,74	3,54	0,151	0,437	2,963
18 15	4	4	Tri	lin	634	207,52	3,63	1332	90,54	5,20	0,4363	Tri&Pis	log	366	628,80	2,85	570	215,90	4,65	1009	94,14	4,20	52	311,60	3,28	0,150	0,436	3,310
18 15	4	5	Tri	lin	704	212,69	4,00	1005	93,69	4,66	0,4405	Tri&Pis	log	525	624,86	3,40	717	214,04	4,35	914	94,89	4,88	70	296,42	4,41	0,152	0,443	3,124
18 15	4	6	Tri	lin	532	209,73	5,13	1856	91,66	5,63	0,437	Tri&Pis	log	219	615,09	4,10	345	218,20	5,90	904	95,59	4,81	65	285,33	4,42	0,155	0,438	2,985
18 15	4	7	Tri	lin	555	194,21	4,54	1280	85,63	5,18	0,4409	Tri&Pis	log	206	644,24	4,57	353	221,13	5,35	774	96,82	6,35	27	312,98	4,00	0,150	0,438	3,233
18 15	4	10	Tri	lin	523	186,79	3,02	1086	80,58	4,18	0,4314	Tri&Pis	log	281	550,50	3,88	483	194,62	4,26	795	84,84	4,57	33	252,38	3,14	0,154	0,436	2,975
18 27	8	3	Tri	lin	647	201,37	2,25	753	161,00	2,92	0,7995	Tri&Pis	log	482	639,57	2,83	551	223,32	3,13	707	179,42	4,50	46	439,87	3,62	0,281	0,803	2,452
18 27	8	6	Tri	lin	445	201,76	2,67	680	161,93	3,26	0,8026	Tri&Pis	log	316	604,56	2,00	262	209,00	3,27	442	169,62	3,53	36	416,25	3,40	0,281	0,812	2,454
18 27	8	7	Tri	lin	913	200,10	2,43	466	159,34	3,01	0,7963	Tri&Pis	log	509	605,44	2,56	736	215,20	2,56	491	172,79	3,85	43	428,02	3,21	0,285	0,803	2,477
18 27	8	8	Tri	lin	415	201,96	1,88	930	158,96	3,06	0,7871	Tri&Pis	log	492	623,94	2,67	540	215,71	3,29	573	172,52	3,75	48	423,12	3,50	0,277	0,800	2,453
18 37	7	1	Tri	lin	822	204,47	2,75	863	145,13	2,74	0,7098	Tri&Pis	log	131	618,65	2,32	661	210,98	3,18	683	150,90	2,62	45	439,06	3,25	0,244	0,715	2,910
18 37	7	2	Tri	lin	548	198,51	2,47	878	140,79	3,43	0,7092	Tri&Pis	log	116	634,17	2,10	273	213,82	3,05	394	153,58	2,79	39	452,66	4,38	0,242	0,718	2,947
18 37	7	3	Tri	lin	524	197,46	2,66	850	141,28	2,80	0,7155	Tri&Pis	log	200	614,81	2,66	393	209,45	3,56	390	151,13	3,61	28	451,93	4,48	0,246	0,722	2,990
18 37	7	5	Tri	lin	523	198,54	3,08	696	144,53	3,13	0,728	Tri&Pis	log	173	612,14	2,03	366	203,86	3,07	577	146,79	3,15	29	422,85	4,25	0,240	0,720	2,881
18 37	7	6										Pis	log	409	604,07	2,67	1334	79,89	7,14	493	145,98	3,70	25	421,74	4,21	0,242	1,827	2,889
18 37	7	8										Pis	log	379	607,29	2,39	989	79,16	6,31	392	145,50	3,26	33	429,87	4,26	0,240	1,838	2,954
18 37	7	9										Pis	log	343	603,67	3,13	1142	80,84	5,73	398	144,32	3,97	23	438,91	3,99	0,239	1,785	3,041
18 37	7	10										Pis	log	546	617,92	2,46	1300	81,71	6,43	322	147,82	3,49	25	415,62	4,31	0,239	1,809	2,812
18 43	4	2	Tri	lin	353	187,59	3,69	1050	82,77	4,45	0,4412	Tri&Pis	log	163	596,20	2,18	163	205,63	4,00	751	92,12	3,83	42	322,52	3,81	0,155	0,448	3,501
18 43	4	4	Tri	lin	285	196,69	3,35	771	87,70	3,89	0,4459	Tri&Pis	log	307	592,35	2,07	272	203,71	3,94	657	91,05	3,69	29	273,15	2,67	0,154	0,447	3,000
18 43	4	5	Tri	lin	774	191,73	3,12	1028	84,35	4,36	0,4399	Tri&Pis	log	247	573,50	2,53	549	201,22	3,61	660	88,45	3,97	33	288,35	3,09	0,154	0,440	3,260
18 43	4	6	Tri	lin	470	192,94	2,71	755	83,90	3,75	0,4349	Tri&Pis	log	298	594,14	2,24	537	201,64	4,45	729	88,66	3,96	53	278,51	4,63	0,149	0,440	3,141
18 43	4	7	Tri	lin	575	195,50	3,32	743	85,51	3,37	0,4374	Tri&Pis	log	420	600,16	3,01	668	204,15	4,85									

18 48	4	7	Tri	lin	425	193,86	3,64	687	85,83	4,13	0,4427	Tri&Pis	log	119	614,54	2,13	402	202,63	3,44	574	89,97	3,35	36	265,10	3,85	0,146	0,444	2,947
18 48	4	8	Tri	lin	658	195,87	3,43	740	86,98	3,76	0,4441	Tri&Pis	log	148	605,94	2,13	371	201,17	3,74	360	89,89	3,26	19	262,42	3,22	0,148	0,447	2,919
18 48	4	9	Tri	lin	511	195,56	3,41	831	87,54	3,81	0,4476	Tri&Pis	log	140	619,44	1,89	349	201,77	4,37	429	91,46	3,83	26	274,06	3,63	0,148	0,453	2,997
18 48	4	10	Tri	lin	400	198,40	2,46	653	87,69	3,42	0,442	Tri&Pis	log	204	610,17	2,63	508	196,76	3,71	701	88,62	3,68	53	289,37	2,86	0,145	0,450	3,265
18 48	4	11	Tri	lin	291	199,02	2,87	842	88,17	3,65	0,443	Tri&Pis	log	210	609,40	1,92	241	196,59	4,21	587	89,04	3,62	38	261,27	3,74	0,146	0,453	2,934
18 48	4	12	Tri	lin	305	195,57	3,32	838	88,58	3,52	0,4529	Tri&Pis	log	207	591,96	1,88	289	186,64	4,10	734	86,23	4,18	40	260,11	3,37	0,146	0,462	3,016
18 48	4	13	Tri	lin	304	198,17	2,82	928	87,60	3,44	0,442	Tri&Pis	log	313	624,55	2,22	266	205,28	3,82	813	92,72	3,79	51	278,99	3,14	0,148	0,452	3,009
18 48	4	14	Tri	lin	306	196,22	2,98	476	88,35	3,76	0,4503	Tri&Pis	log	96	610,90	2,18	357	201,80	3,50	563	89,28	3,79	29	255,00	4,30	0,146	0,442	2,856
18 48	4	15	Tri	lin	203	196,25	3,24	524	88,17	3,93	0,4493	Tri&Pis	log	357	618,52	1,89	353	198,46	4,14	534	90,97	3,88	37	274,18	3,64	0,147	0,458	3,014
18 48	4	16	Tri	lin	607	200,05	3,39	913	90,32	4,04	0,4515	Tri&Pis	log	180	592,39	2,27	477	196,28	3,80	459	87,23	3,47	17	256,81	2,48	0,147	0,444	2,944
18 48	4	17	Tri	lin	407	201,06	2,83	819	90,45	4,00	0,4499	Tri&Pis	log	217	597,78	2,04	307	197,78	3,86	486	89,17	3,88	37	272,57	3,11	0,149	0,451	3,057
18 48	4	18	Tri	lin	297	196,23	2,84	928	87,65	3,80	0,4467	Tri&Pis	log	305	619,76	2,02	168	201,13	3,81	441	90,67	3,21	25	266,21	2,50	0,146	0,451	2,936
18 48	4	19	Tri	lin	656	199,33	2,66	685	87,54	3,72	0,4392	Tri&Pis	log	180	597,96	2,01	492	197,97	3,49	406	88,29	4,11	32	265,84	2,95	0,148	0,446	3,011
37 16	6	1	Tri	lin	207	198,05	2,30	602	123,11	2,73	0,6216	Tri&Pis	log	80	601,39	2,21	114	202,51	2,43	258	125,81	3,02	16	379,82	2,36	0,209	0,621	3,019
37 16	6	2	Tri	lin	707	199,17	2,60	886	126,46	3,55	0,6349	Tri&Pis	log	173	602,00	1,74	238	202,15	3,21	239	127,64	3,54	21	317,09	3,66	0,212	0,631	2,484
37 16	6	3	Tri	lin	429	202,48	2,36	492	127,16	2,67	0,628	Tri&Pis	log	211	594,17	2,43	333	198,72	2,91	547	127,17	2,87	27	374,31	2,40	0,214	0,640	2,943
37 16	6	4	Tri	lin	473	200,25	2,07	318	128,21	2,70	0,6402	Tri&Pis	log	231	599,94	2,42	419	200,24	3,70	456	126,79	2,87	36	359,62	3,03	0,211	0,633	2,836
37 16	6	5	Tri	lin	409	202,57	2,41	479	126,38	2,76	0,6239	Tri&Pis	log	139	607,98	1,69	477	198,29	3,13	312	127,31	3,10	35	382,31	3,13	0,209	0,642	3,003
37 16	6	6	Tri	lin	631	206,69	2,30	329	132,73	3,33	0,6422	Tri&Pis	log	332	623,30	2,40	799	206,13	3,18	283	132,40	3,15	23	326,05	3,53	0,212	0,642	2,463
37 16	6	8	Tri	lin	578	204,31	2,09	561	129,37	2,64	0,6332	Tri&Pis	log	197	601,37	2,83	463	199,39	3,08	315	126,09	2,74	19	367,16	3,59	0,210	0,632	2,912
37 16	6	9	Tri	lin	585	200,74	2,69	336	129,57	3,04	0,6455	Tri&Pis	log	289	623,27	1,48	828	198,11	3,22	476	130,58	4,08	35	389,81	2,76	0,210	0,659	2,985
37 16	6	10	Tri	lin	597	200,55	2,22	520	126,06	2,54	0,6286	Tri&Pis	log	197	601,53	2,11	511	198,99	2,72	369	125,73	2,80	16	377,15	2,21	0,209	0,632	3,000
37 16	6	11	Tri	lin	457	199,99	2,53	436	127,62	3,43	0,6381	Tri&Pis	log	219	604,38	1,71	341	198,79	2,79	324	127,75	3,42	44	383,64	3,95	0,211	0,643	3,003
37 16	6	12	Tri	lin	471	202,19	2,08	703	126,76	2,69	0,6269	Tri&Pis	log	180	607,31	2,13	317	204,69	3,21	419	128,19	2,73	27	383,12	4,17	0,211	0,626	2,989
37 16	6	13	Tri	lin	450	203,62	2,20	500	128,42	2,68	0,6307	Tri&Pis	log	181	615,22	1,78	309	199,69	2,95	344	127,41	3,30	19	379,04	1,70	0,207	0,638	2,975
37 16	6	14	Tri	lin	313	200,25	2,70	514	126,07	2,81	0,6296	Tri&Pis	log	292	598,03	2,05	215	198,16	2,93	349	126,09	3,13	32	366,13	2,69	0,211	0,636	2,904
37 16	6	15	Tri	lin	375	198,93	2,57	330	125,52	2,71	0,631	Tri&Pis	log	260	596,51	1,84	294	196,92	3,21	223	124,90	2,73	29	366,40	2,37	0,209	0,634	2,934
41 02	8	1	Tri	lin	1021	198,48	2,21	664	160,73	2,65	0,8098	Tri&Pis	log	493	646,21	2,32	815	220,11	2,88	508	179,39	3,34	40	521,81	3,66	0,278	0,815	2,909
41 02	8	3	Tri	lin	623	201,15	2,99	516	163,54	2,81	0,813	Tri&Pis	log	449	655,26	2,89	798	223,94	3,87	594	182,33	4,30	25	555,20	2,92	0,278	0,814	3,045
41 02	8	4	Tri	lin	845	202,82	2,40	536	165,57	2,70	0,8163	Tri&Pis	log	368	621,11	1,83	916	210,71	2,88	538	172,91	3,73	68	444,19	6,59	0,278	0,821	2,569
41 02	8	6	Tri	lin	445	201,66	2,15	964	158,73	3,34	0,7871	Tri&Pis	log	489	623,87	2,61	534	215,91	3,20	583	173,71	3,70	49	423,75	3,61	0,278	0,805	2,439
41 02	8	8	Tri	lin	487	206,15	2,59	443	166,70	3,11	0,8086	Tri&Pis	log	327	623,94	2,15	557	206,95	3,53	486	171,19	3,45	33	422,70	4,71	0,274	0,827	2,469
41 02	8	9	Tri	lin	1019	204,74	2,36	502	165,14	2,83	0,8066	Tri&Pis	log	341	627,44	4,00	748	222,17	3,37	420	177,81	4,52	26	529,41	2,66	0,283	0,800	2,977

Ind. = Individuum

Tri. = *Trifolium repens*

Sta. = Standard

Pis. = *Pisum sativum* cv. Kleine Rheinländerin

Mode = Messmodus

em: Tri = Embryo / Trifolium = Standard

em: Pis = Embryo/ Pisum = Standard

en: em = Endosperm/ Embryo

## 12. Lebenslauf

---

### **Persönliche Angaben:**

Name: Costea Leontina  
Geburtsdatum: 27.01.1986  
Geburtsort: Alexandria, Rumänien

### **Ausbildung:**

Seit 10/2007- dato Studium der Pharmazie an der Universtät Wien  
09.2003-06.2007 Bundesgymnasium und Bundesrealgymnasium Wien 1210  
09.2001-12.2002 Pedagogische Schule - Alexandria - Rumänien  
1993-2001 Volksschule "Mihai Viteazul" Alexandria Rumänien

### **Berufserfahrung:**

11.2012 - dato Christinen Apotheke, geringfügig beschäftigt

**Sprachkenntnisse:** Deutsch, Englisch, Spanisch, Rumänisch