

Friedrich-Schiller-Universität Jena
Fakultät für Biowissenschaften
Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie
Abteilung Biochemie
Arbeitsgruppe Biosynthese und Funktion flüchtiger
Stoffe in Gehölzpflanzen und Gräsern



Untersuchungen zur Biosynthese von Benzoxazinoiden in ein- und zweikeimblättrigen Pflanzen

Bachelorarbeit

zur Erlangung des Grades eines

Bachelor of Science (B. Sc.)

vorgelegt von

Lena Klein

aus Merzig

Jena, 15.12.2020

Gutachter:

Dr. Tobias Köllner

Prof. Dr. Helmut Pospiech

Inhalt

Inhalt	III
I Tabellenverzeichnis	V
II Abbildungsverzeichnis	VIII
III Abkürzungsverzeichnis	X
1 Einleitung	1
1.1 Pflanzenabwehr allgemein.....	1
1.2 Chemische Pflanzenabwehr	1
1.3 Phytohormone	1
1.4 Benzoxazinoide	2
1.4.1 Allgemein.....	2
1.4.2 Vorkommen	3
1.4.3 Biosynthese.....	3
1.5 Fragestellung.....	6
1.5.1 Verbreitung von Benzoxazinoiden in Dikotyledonen	6
1.5.2 Rekonstruktion der Benzoxazinoid-Biosynthese in <i>Nicotiana benthamiana</i>	7
2 Material und Methoden	8
2.1 Pflanzenmaterial.....	8
2.1.1 Verschiedene Lamiaceen, Acanthaceen, Ranunculaceen, Geraniaceen, Fabaceen und Polygonaceen	8
2.1.2 Tabak (<i>Nicotiana benthamiana</i>).....	10
2.2 Behandlung von <i>L. album</i> und <i>C. regalis</i> mit Jasmonsäure.....	10
2.3 Heterologe Expression von <i>Bx</i> -Genen in <i>N. benthamiana</i>	10
2.3.1 Transformation von <i>Agrobacterium tumefaciens</i> mit <i>Bx</i> -Genen	11
2.3.2 Agroinfiltration von <i>N. benthamiana</i>	11
2.4 Chemische Analyse.....	12
2.4.1 Methanolextraktion	12
2.4.2 Gezielte HPLC-MS/MS-Analyse	13
2.4.3 Computergestützte Analytik der HPLC-MS-Daten	15
2.4.4 Hexanextraktion.....	15
2.4.5 GC-MS Analyse.....	15
2.5 Chemikalien.....	16
3 Ergebnisse	17
3.1 Nachweis von Benzoxazinoiden in verschiedenen Arten von Lamiaceen, Acanthaceen, Ranunculaceen, Geraniaceen, Fabaceen und Polygonaceen.....	17

3.2	Der Effekt des Phytohormons Jasmonsäure auf die Synthese von Benzoxazinoiden in <i>C. regalis</i> und in <i>L. album</i>	19
3.3	Heterologe Expression von Benzoxazinoiden in <i>N. benthamiana</i>	22
4	Diskussion	26
4.1	Evolution der Benzoxazinoide	26
4.2	Einfluss des Phytohormons Jasmonsäure auf die Benzoxazinoid-Biosynthese in <i>L. album</i> und <i>C. regalis</i>	27
4.3	Rekonstruktion des Benzoxazinoid-Biosynthesewegs in <i>N. benthamiana</i>	28
4.4	Die Rolle des Cytochrom P450-Enzyms BX5	29
5	Zusammenfassung	30
6	Literatur	31
7	Anhang	34
7.1	Einwaagen	34
7.1.1	Methanolextraktionen	34
7.1.2	Hexanextraktionen	36
7.2	Peak-Höhen	36
7.2.1	Originalwerte.....	36
7.2.2	Mittelwerte.....	44
7.2.3	Standardfehler der Mittelwerte	47
7.2.4	Mittelwerte nach Blank-Abzug	51
7.3	Quantifizierung Peak-Flächen	54
7.3.1	Originalwerte.....	54
7.3.2	Mittelwerte.....	63
7.3.3	Standardfehler der Mittelwerte	67
7.3.4	Mittelwerte nach Blank-Abzug	70
7.3.5	Diagramme der Peak-Flächen der HPLC-MS Messungen.....	75
7.4	Chromatogramme	79
7.4.1	Screening.....	79
7.4.2	Transformation <i>Nicotiana benthamiana</i>	87
	Danksagung	94
	Selbstständigkeitserklärung	95

I Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Benzoxazinoide untersuchter Pflanzen in der Literatur.	6
Tabelle 2: Liste aller beprobten Pflanzen aus dem Botanischen Garten Jena.	8
Tabelle 3: Liste aller beprobten Pflanzen aus dem Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie Jena.	9
Tabelle 4: Liste beprobter Lamium-Spezies.	9
Tabelle 5: Massenspektrometrie-Einstellungen (HPLC-MS).....	13
Tabelle 6: Elutionsgradient der HPLC-MS-Analyse zur Identifikation von Benzoxazinoiden.....	14
Tabelle 7: Multiple-Reaction-Monitoring-Parameter der HPLC-MS-Analyse zur Identifikation von Benzoxazinoiden.	14
Tabelle 8: Elutionsgradient der HPLC-MS zur Identifikation von (Ox-) Indolen.....	14
Tabelle 9: Multiple-Reaction-Monitoring-Parameter der HPLC-MS zur Identifikation von (Ox-) Indolen.....	15
Tabelle 10: Gaschromatographie-Einstellungen.....	15
Tabelle 11: Massenspektrometrie-Einstellungen (GC-MS).....	16
Tabelle 12: Chemikalien und Hersteller.....	16
Tabelle 13: Vorkommen von Benzoxazinoiden in ausgewählten dikotylen Pflanzenarten.....	17
Tabelle 14: Vorkommen von Benzoxazinoiden in verschiedenen Lamium- Arten.	19
Tabelle 15: Vorkommen von Benzoxazinoiden in mit Jasmonsäure-Lösung behandelten <i>Consolida regalis</i> - und <i>Lamium album</i> -Pflanzen.	20
Tabelle 16: Vorkommen von Benzoxazinoiden und (Ox-) Indolen in mit Bx- Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.	22
Tabelle 17: Einwaagen des Pflanzenpulvers der Proben aus dem Botanischen Garten Jena zur Methanolextraktion.....	34
Tabelle 18: Einwaagen des Pflanzenpulvers der Proben aus dem Max-Planck- Institut für Chemische Ökologie Jena zur Methanolextraktion.	34
Tabelle 19: Einwaage der vom Betreuer zur Verfügung gestellten <i>Aphelandra</i> <i>squarrosa</i> -Positivkontrolle zur Methanolextraktion.	35
Tabelle 20: Einwaagen der Proben der Proben des Jasmonsäure- Induktionsversuches zur Methanolextraktion.....	35
Tabelle 21: Einwaagen der Lamium-Proben zur Methanolextraktion.....	35
Tabelle 22: Einwaagen der transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen zur Methanolextraktion.....	35
Tabelle 23: Einwaagen der transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen zur Hexanextraktion.	36
Tabelle 24: Originalwerte der Peak-Höhen der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der Lamium-Proben, sowie der Proben des Jasmonsäure-Induktionsversuches.	36

Tabelle 25: Originalwerte der Peak-Höhen der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.	41
Tabelle 26: Originalwerte der Peak-Höhen der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.....	43
Tabelle 27: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der <i>Lamium</i> -Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches.....	44
Tabelle 28: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.	46
Tabelle 29: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.....	47
Tabelle 30: Standardfehler der Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der <i>Lamium</i> -Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches.	47
Tabelle 31: Standardfehler der Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.	50
Tabelle 32: Standardfehler der Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.....	50
Tabelle 33: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der <i>Lamium</i> -Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches nach Abzug des Mittelwertes der Blank-Proben (100% Methanol).	51
Tabelle 34: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen nach Abzug der Blank-Proben (100% Methanol).	53
Tabelle 35: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen nach Abzug der Blank-Proben (100% Methanol).....	54
Tabelle 36: Originalwerte der Peak-Flächen der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der <i>Lamium</i> -Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches.....	54
Tabelle 37: Originalwerte der Peak-Flächen der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten <i>N. benthamiana</i> -Pflanzen.....	61
Tabelle 38: Originalwerte der Peak-Flächen der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.....	62
Tabelle 39: Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der <i>Lamium</i> -Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches.....	63
Tabelle 40: Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.	66

Tabelle 41: Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.	66
Tabelle 42: Standardfehler der Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der <i>Lamium</i> -Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches.	67
Tabelle 43: Standardfehler der Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.	69
Tabelle 44: Standardfehler der Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen.	70
Tabelle 45: Peak-Flächen-Mittelwerte der Peak-Flächen der Messung der Benzoxazinoide in den Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der <i>Lamium</i> -Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches nach Abzug des Mittelwertes der Blank-Proben (100% Methanol).....	71
Tabelle 46: Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen nach Abzug des Mittelwertes der Blank-Proben (100% Methanol).....	73
Tabelle 47: Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanzen nach Abzug des Mittelwertes der Blank-Proben (100% Methanol).....	74

II Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Benzoxazinoïd-Biosynthese (modifiziert nach (Frey, Schullehner et al. 2009).....	5
Abbildung 2: Lactam-Biosynthese (modifiziert nach (Frey, Schullehner et al. 2009).....	6
Abbildung 3: Beispiel-Chromatogramme (Screening).	21
Abbildung 4: Beispiel-Chromatogramme (Transformation von <i>Nicotiana benthamiana</i>).....	24
Abbildung 5: Peak-Flächen der Benzoxazinoïde der Proben des Botanischen Garten Jenas, sowie des MPI für Chemische Ökologie Jenas.	75
Abbildung 6: Peak-Flächen der Benzoxazinoïde mit Jasmonsäure-Lösung (JA), bzw. Ethanol-Lösung (Ctr.) behandelter <i>Consolida regalis</i> -Proben.....	75
Abbildung 7: Peak-Flächen der Benzoxazinoïde mit Jasmonsäure-Lösung (JA), bzw. Ethanol-Lösung (Ctr.) behandelter <i>Lamium album</i> -Proben.....	76
Abbildung 8: Peak-Flächen der Benzoxazinoïde der <i>Lamium</i> -Proben.	76
Abbildung 9: Peak-Flächen der Benzoxazinoïde der mit Bx1-2 und der mit Bx1-5+8 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i>	77
Abbildung 10: Peak-Flächen der (Ox-) Indole der mit Bx1-2 und der mit Bx1-5+8 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i>	77
Abbildung 11: Peak-Flächen der (Ox-) Indole der mit Bx1, Bx1-2 und der mit Bx1-5+8 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i>	78
Abbildung 12: Peak-Flächen der Benzoxazinoïde der mit Bx1-8, Bx1-6+8, Bx1-4+6-8, Bx1-5 und der mit Bx1-4 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i>	78
Abbildung 13: Peak-Flächen der Benzoxazinoïde der mit Bx1-5+8, Bx1-2 und der mit Bx1 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i>	79
Abbildung 14: Peak-Flächen der (Ox-) Indole der mit Bx1-5+8, Bx1-2 und der mit Bx1 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i>	79
Abbildung 15: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Aphelandra squarrosa</i> (junges Blatt, Positivkontrolle).	80
Abbildung 16: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Ballota hispanica</i>	80
Abbildung 17: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Ballota nigra</i>	81
Abbildung 18: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Lamium galeobdolon</i>	81
Abbildung 19: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Acanthus hungaricus</i>	82
Abbildung 20: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Aphelandra aurantiaca</i>	82
Abbildung 21: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Crossandra pungens</i>	83
Abbildung 22: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Crossandra flava</i>	83

Abbildung 23: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Delphinium elatum</i>	84
Abbildung 24: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Aphelandra squarrosa</i> (junges Blatt, Positivkontrolle).	84
Abbildung 25: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Ethanol-Lösung behandelte <i>Consolida regalis</i> -Pflanze (Kontrolle).	85
Abbildung 26: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Jasmonsäure-Lösung behandelte <i>Consolida regalis</i> -Pflanze.	85
Abbildung 27: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Aphelandra squarrosa</i> (junges Blatt, Positivkontrolle).	86
Abbildung 28: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Lamium montanum</i>	86
Abbildung 29: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Lamium galeobdolon</i>	87
Abbildung 30: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Aphelandra squarrosa</i> (junges Blatt, Positivkontrolle).	87
Abbildung 31: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-5+8 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanze.	88
Abbildung 32: Chromatogramm einer Oxindol-Positivkontrolle (durch den Betreuer zur Verfügung gestellt).	88
Abbildung 33: Chromatogramm einer Indol-Positivkontrolle (durch den Betreuer zur Verfügung gestellt).	89
Abbildung 34: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-2 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanze.	89
Abbildung 35: Chromatogramm eines Methanolextrakts von <i>Aphelandra squarrosa</i> (junges Blatt, Positivkontrolle).	90
Abbildung 36: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-8 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanze.	90
Abbildung 37: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-6+8 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanze.	91
Abbildung 38: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-4+6-8 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanze.	91
Abbildung 39: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-5 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanze.	92
Abbildung 40: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-4 transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanze.	92
Abbildung 41: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit eGFP transformierten <i>Nicotiana benthamiana</i> -Pflanze (Negativkontrolle).	93

III Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
ABA	Abscisinsäure
CE	Kollisionsenergie
Cps	Counts per seconds
CXP	Kollisions- und Zellausgangspotential
Da	Dalton
DHBOA-Glc	2,7-Dihydroxy-(2H)-1,4-Benzoxazin-3(4H)-on-Glycosat
DIBOA	2,4-Dihydroxy-2H-1,4-Benzoxazin- 3(4H)-on
DIBOA-Glc	2,4-Dihydroxy-2H-1,4-Benzoxazin- 3(4H)-on-Glycosat
DIMBOA	2,4-Dihydroxy-7-Methoxy-2H-1,4-Benzoxazin-3(4H)-on
DIMBOA-Glc	2,4-Dihydroxy-7-Methoxy-2H-1,4-Benzoxazin-3(4H)-on-Glycosat
DP	Declustering-Potential
eGFP	enhanced Grün fluoreszierendes Protein
EP	Eingangspotential
eV	Elektronenvolt
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
h	Stunde
HBOA	2-Hydroxy-1,4-Benzoxazin-3-on
HBOA-Glc	2-Hydroxy-1,4-Benzoxazin-3-on-Glycosat
HMBOA-Glc	2-Hydroxy-7-Methoxy-(2H)-1,4-Benzoxazin-3(4H)-on-Glycosat
HPLC-MS	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie
IGP	Indol-3-Glycerolphosphat
MBOA	6-Methoxy-2-Benzoxazolinon
mg	Milligramm
min	Minute(n)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MRM	Multiple Reaction Monitoring
msec	Millisekunden
nM	Nanomolar
OD	Optische Dichte
Psi	Pound-force per square inch
TRIBOA-Glc	2,4,7-Trihydroxy-1,4-Benzoxazin-3-on-Glycosat

TSA	Tryptophan-Synthase
Ü.N.	Über Nacht
UGT	Uridindiphosphat-Glycosyltransferase
V	Volt
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µM	Mikromolar

1 Einleitung

1.1 Pflanzenabwehr allgemein

Pflanzen besitzen eine Vielzahl natürlicher Feinde. Zu diesen Feinden gehören Pathogene wie Pilze, Bakterien, Viren, sowie Herbivore oder andere Pflanzen. Die Coevolution von Pflanzen und ihren natürlichen Feinden, sowie Prinzipien wie „Survival of the Fittest“ entsteht ein „Wettrüsten“, wobei immer mehr Verteidigungs- bzw. Angriffsmechanismen evolvieren (Dawkins and Krebs 1979).

Pflanzliche Verteidigungsmechanismen kann man in konstitutive, physikalische Barrieren, wie das oberflächliche Abschlussgewebe (Borke, Periderm), und in (induzierte) chemische Abwehrstoffe, wie Gerbstoffe, Alkaloide, Terpene, cyanogene Glykoside, Benzoxazinoide und Senfölglykoside, unterteilen (Schopfer and Brennicke 2010).

1.2 Chemische Pflanzenabwehr

Es gibt eine große Zahl chemischer Abwehrstoffe. Die Vielfalt dieser Strukturen deutet auf vielfältige Zielstrukturen hin. Während einige Stoffe ubiquitär vorkommen, liegen andere nur in bestimmten Arten vor. Aufgrund der hohen Toxizität einiger Abwehrstoffe, werden diese in der Regel in Organellen mit geringer metabolischer Aktivität, wie Vakuole oder Apoplast, gespeichert und nur bei Bedarf freigesetzt.

Einige typische Wirkungsweisen sind Membranschädigungen oder Inhibierung wichtiger Transport- oder Signaltransduktionsprozesse, Metabolismen oder die hormonelle Kontrolle physiologischer Prozesse (Mithöfer and Boland 2012). Das Anlocken von Fraßfeinden (einer anderen Trophiestufe) der angreifenden Herbivoren durch den Ausstoß spezifischer, leicht flüchtiger Lockstoffe ist eine weitere Abwehrstrategie (Schopfer and Brennicke 2010).

1.3 Phytohormone

Pflanzen reagieren auf stresserzeugende Umweltfaktoren mit der Ausschüttung bestimmter Phytohormone (Ameje, Allmann et al. 2018). So bewirkt Abscisinsäure (ABA) physiologisch die Abwehr von Stressfolgen für die Pflanze. Ethylen löst

Abwehrreaktionen wie zum Beispiel die Synthese von Abwehrstoffen gegen pathogene Pilze aus (Schopfer and Brennicke 2010). Untersuchungen zeigten allerdings, dass Ethylen die Produktion von DIMBOA und DIMBOA-Glc, zwei wichtige Abwehrverbindungen in Gräsern, in Pflanzen hemmt (Zhang, Li et al. 2020). Ein weiteres, für die pflanzliche Abwehr wichtiges Phytohormon ist Salicylsäure. Nach einer Infektion durch pathogene Pilze, Bakterien oder Viren steigt ihr Gehalt auf das 10- bis 100-fache. Ein hoher Gehalt an Salicylsäure sorgt als Alarmsignal ebenfalls für die Auslösung verschiedener Abwehrreaktionen. Vorherige Versuche zeigten den positiven Zusammenhang zwischen Salicylsäure und dem Vorhandensein von DIMBOA und MBOA in Mais-Wurzeln (Zhao, Gao et al. 2019). Das Phytohormon Jasmonsäure induziert physiologische Reaktionen bereits in geringen Konzentrationen. Es kann unter anderem die Synthese von Ethylen stimulieren und die Produktion von Proteinaseinhibitoren induzieren. Jasmonsäure ist außerdem fähig, die Akkumulation von Benzoxazinoiden zu induzieren (Oikawa, Ishihara et al. 2002). Systemin ist ein weiteres Phytohormon. Dieses wird in verwundeten Blättern freigesetzt und von dort in unverwundete Blätter weitertransportiert. Eine Verbindung zu Jasmonsäure wird vermutet, allerdings führten Überexpressionsversuche mit Prosystemin zu Proteinaseinhibitorbildung auch ohne vorherige Verwundung (Schopfer and Brennicke 2010).

1.4 Benzoxazinoide

1.4.1 Allgemein

Eine für die pflanzliche Abwehr wichtige Gruppe chemischer Abwehrstoffe bilden die Benzoxazinoide. Bei diesen Sekundärmetaboliten handelt es sich hauptsächlich um zyklische Hydroxamsäuren, die vor allem in monokotylen Süßgräsern (Poaceae), aber auch in einigen dikotylen Spezies vorkommen (De Bruijn, Gruppen et al. 2018).

Benzoxazinoide haben eine Reihe verschiedener Wirkungsformen. So wirken sie durch den Angriff essentieller Strukturen wie Amino-, Nuklein- und Fettsäuren (Hannemann, Lucaciu et al. 2018) allelopathisch, antimikrobiell, antimykotisch, entzündungshemmend und mutagen (Hashimoto and Shudo 1996).

Benzoxazinoide liegen unter Normalbedingungen glycosyliert in der Vakuole vor (Jonczyk, Schmidt et al. 2008), wobei in Plantaginaceae auch galactosylierte Formen nachgewiesen wurden (Wu, Chen et al. 2012). Bei Zellschädigungen werden die

glycosylierten Benzoxazinoide von einer spezifischen Glucosidase zu ihrer toxischen Aglycon-Form hydrolysiert (Oikawa, Ebisui et al. 1999) und ins Cytoplasma freigesetzt (Jonczyk, Schmidt et al. 2008).

Die hauptsächlich vorkommenden Benzoxazinoide sind 2,4-Dihydroxy-7-Methoxy-2H-1,4-Benzoxazin-3(4H)-on (DIMBOA) und 2,4-Dihydroxy-2H-1,4-Benzoxazin-3(4H)-on (DIBOA), bzw. deren Glykoside. DIMBOA ist reaktiver als DIBOA (Hashimoto and Shudo 1996) und könnte daher einen evolutionären Vorteil bieten (Jonczyk, Schmidt et al. 2008).

1.4.2 Vorkommen

In der monokotylen Familie der Poaceae sind Benzoxazinoide bereits sehr gut erforscht. Prominente Beispiele für Benzoxazinoid-besitzende Arten sind Mais (*Zea mays*), Weizen (*Triticum aestivum*), oder Roggen (*Secale cereal*) (Niemeyer 1988).

Benzoxazinoide existieren auch in (Eu-) Dikotyledonen, jedoch sind sie dort vermutlich nicht so weit verbreitet. In den Dikotyledonen kommt DIMBOA kaum vor, das Hauptbenzoxazinoid der meisten Arten ist dort DIBOA (Sicker, Frey et al. 2000). Während Benzoxazinoide in Monokotyledonen hauptsächlich in Keimlingen und jungen Pflanzen vorkommen, wurden sie in Dikotyledonen in allen Pflanzenteilen gefunden (Schullehner, Dick et al. 2008).

Diese Verteilung in entfernte Arten macht es wahrscheinlich, dass Benzoxazinoide auf eine Zeit vor der Differenzierung von Mono- und Dikotyledonen zurückgehen (Sicker, Frey et al. 2000).

In folgenden Familien außerhalb der Poaceae wurden Benzoxazinoide bisher nachgewiesen: Akanthusgewächse (Acanthaceae) (Niemeyer 1988, Bhattarai, Steffensen et al. 2020), Braunwurzgewächse (Scrophulariaceae), Wegerichgewächse (Plantaginaceae), Hahnenfußgewächse (Ranunculaceae), Lippenblütler (Lamiaceae) (Alipieva, Taskova et al. 2003, Bhattarai, Steffensen et al. 2020).

1.4.3 Biosynthese

Die Benzoxazinoid-Biosynthese ist in Mais (*Zea mays*) vollständig aufgeklärt (Abbildung 1).

Ausgangssubstrat ist Indol-3-Glycerolphosphat (IGP). Dieses wird durch die Indol-3-Glycerolphosphat-Lyase BX1 zu Indol umgewandelt. Indol wird dann durch die vier Cytochrom P-450-abhängigen Monooxygenasen BX2-5 schrittweise zu DIBOA oxygeniert. Dabei wandelt BX2 Indol zu Indolin-2-on um. Dieses wird von BX3 zu 3-Hydroxyindolin-2-on umgesetzt, welches dann durch BX4 in 2-Hydroxy-1,4-Benzoxazin-3-on (HBOA) umgewandelt wird. BX5 setzt HBOA schließlich zu DIBOA um (Bailey and Larson 1991, Frey 1997). DIBOA wird von den UDP-Glycosyltransferasen BX8 und BX9 glycosyliert (Von Rad, Hüttl et al. 2002). DIBOA-Glc kann dann von der 2-Oxoglutarat-abhängigen Dioxygenase BX6 zu 2,4,7-Trihydroxy-1,4-Benzoxazin-3-on-Glycosat (TRIBOA-Glc) hydroxyliert werden (Frey, Huber et al. 2003), wobei erst später herausgefunden wurde, dass BX6 substratspezifisch für das DIBOA-Glycosat ist (Jonczyk, Schmidt et al. 2008). TRIBOA-Glc wird schließlich durch die O-Methyltransferase BX7 zu DIMBOA-Glc O-methyliert (Jonczyk, Schmidt et al. 2008). Als Aglucon vorliegendes DIMBOA kann ebenfalls von den UDP-Glycosyltransferasen BX8 und BX9 glycosyliert werden (Von Rad, Hüttl et al. 2002).

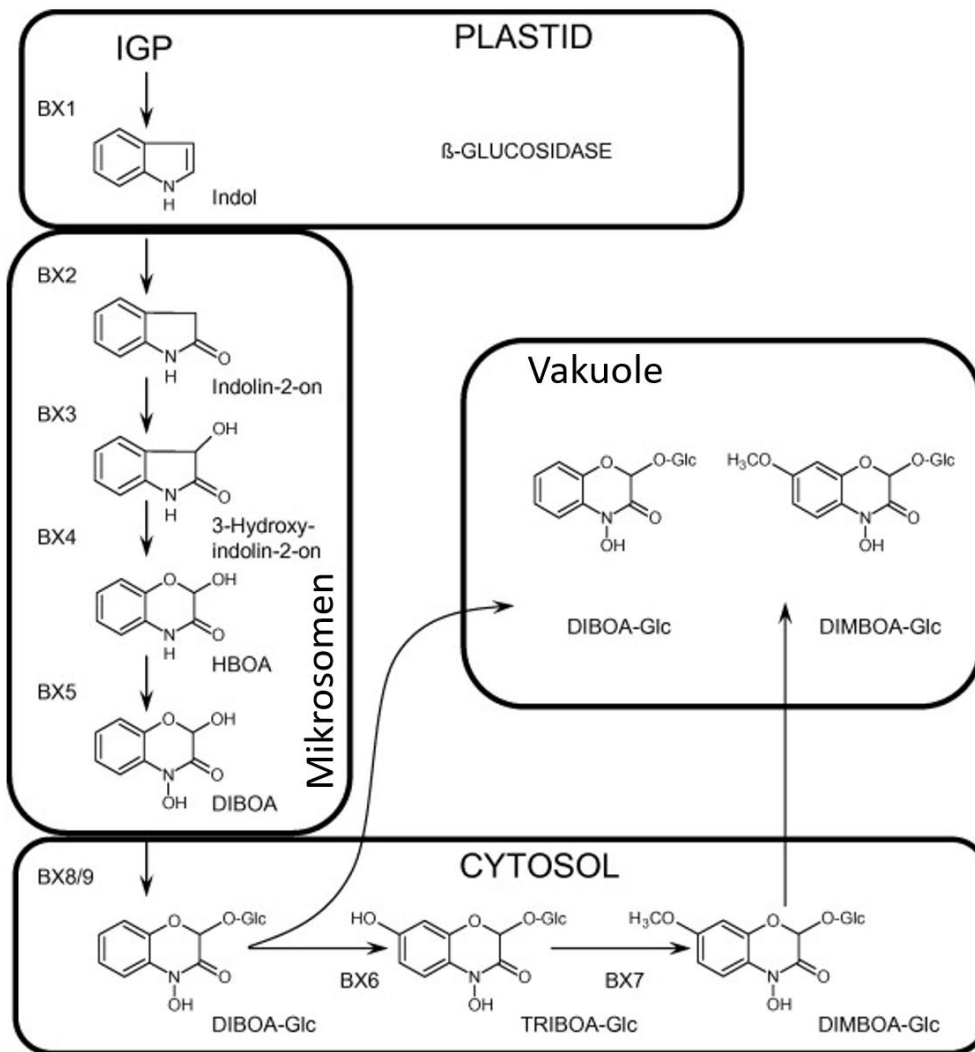


Abbildung 1: Benzoxazinoid-Biosynthese (modifiziert nach Frey, Schullehner et al. 2009). Abgebildet sind Enzyme, (Zwischen-) Produkte und deren Position innerhalb der Zelle sind abgebildet. In vielen Pflanzen ist DIBOA-Glc das Endprodukt. In einigen anderen Pflanzen wird dieses jedoch zu DIMBOA-Glc weiterverarbeitet. Nach dem letzten Syntheseschritt werden die Produkte (DIBOA-Glc/ DIMBOA-Glc) vom Cytosol in die Vakuole transportiert. IGP = Indol-3-Glycerolphosphat.

Eine Untergruppe bilden die Lactame. Sie unterscheiden sich von den Hydroxamsäuren nur in einem Sauerstoffatom. So besitzen Lactame keine Hydroxylgruppe am Stickstoffatom. Die Enzyme ihrer Biosynthese sind noch unbekannt. Es wird vermutet, dass es sich dabei um die gleichen, oder ähnliche Enzyme handelt, wie bei der Biosynthese der Hydroxamsäuren. HBOA wird dabei vermutlich zu HBOA-Glc glycosyliert. Dieses wird zum Zwischenprodukt 2,7-Dihydroxy-(2H)-1,4-Benzoxazin-3(4H)-on-Glycosat (DHBOA-Glc) und schließlich zu 2-Hydroxy-7-Methoxy-(2H)-1,4-Benzoxazin-3(4H)-on-Glycosat (HMBOA-Glc) umgesetzt (De Bruijn, Gruppen et al. 2018 , Abbildung 2).

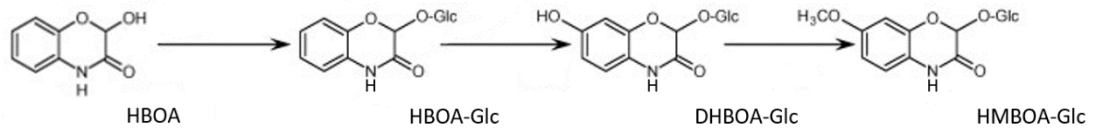


Abbildung 2: Lactam-Biosynthese (modifiziert nach Frey, Schullehner et al. 2009). Abgebildet sind (Zwischen-) Produkte der Lactam-Biosynthese. Die Enzyme wurden noch nicht identifiziert.

In den Dikotyledonen *Lamium galeobdolon*, *Consolida orientalis*, sowie *Aphelandra squarrosa* wurde die Benzoxazinoid-Biosynthese teilweise beschrieben. Aufgrund der Ähnlichkeit von Enzymen und deren Funktionen wird davon ausgegangen, dass die Biosynthese in Dikotyledonen, trotz unabhängiger Entwicklung, in den gleichen Schritten abläuft wie in Monokotyledonen (Frey, Schullehner et al. 2009).

1.5 Fragestellung

1.5.1 Verbreitung von Benzoxazinoiden in Dikotyledonen

Benzoxazinoide sind, wie in 1.4.2 bereits beschrieben, in (Eu-) Dikotyledonen vermutlich nicht so weit verbreitet wie in Monokotyledonen. Da die Verbreitung in (Eu-) Dikotyledonen zudem weniger gut erforscht ist, sollten in dieser Arbeit einige eudikotyle Arten (Tabelle 2, Tabelle 3, Tabelle 4) mit Hilfe von massenspektrometrischen Untersuchungen, auf die Anwesenheit von DIBOA-Glc, DIMBOA-Glc, HBOA-Glc und HMBOA-Glc überprüft werden. Die Existenz von Benzoxazinoiden wurde in einigen der untersuchten Spezies bereits nachgewiesen (Tabelle 1).

Tabelle 1: Benzoxazinoide untersuchter Pflanzen in der Literatur. **Crossandra pungens* Lindau.

Familie	Spezies	Literatur	BXDs
Lippenblüter (Lamiaceae)	Gewöhnliche Goldnessel (<i>Lamium galeobdolon</i>)	(Alipieva, Taskova et al. 2003, Bhattarai, Steffensen et al. 2020)	DHBOA-glc, DIBOA-glc, DIBOA, HBOA-glc
Akanthusgewächse (Acanthaceae)	<i>Aphelandra aurantiaca</i>	(Pratt, Kumar et al. 1995, Bhattarai, Steffensen et al. 2020)	DIBOA, BOA, DIMBOA
	<i>Crossandra pungens</i>	(Bhattarai, Steffensen et al. 2020)* (Pratt, Kumar et al. 1995)	DIBOA, 7-hydroxy-DIBOA (TRIBOA)

1.5.2 Rekonstruktion der Benzoxazinoid-Biosynthese in *Nicotiana benthamiana*

Um die Lactam-Biosynthese, insbesondere den Effekt der Enzyme BX6 und BX7, weiter aufzuklären, wurden die Biosynthese-Gene von Mais (*Zea mays*) in einer früheren Arbeit durch Agroinfiltration in Tabakpflanzen (*Nicotiana benthamiana*) eingebracht und heterolog exprimiert (Himmighofen 2019).

Im Gegensatz zu aufwändigen Knockout- oder *in vitro*-Versuchen kann die Biosynthese so *in planta* untersucht werden (Gelvin 2003). Bei der Agroinfiltration wird *Agrobacterium tumefaciens* zunächst mit Vektoren, die die entsprechenden DNA-Sequenzen enthalten transformiert. In der Natur nutzen Agrobakterien beschädigte Pflanzen um, durch Integration ihrer Gene in die Pflanzenzelle, von den Produkten dieser natürlichen heterologen Expression profitieren zu können (Zupan, Muth et al. 2000). *N. benthamiana* eignet sich generell gut als Modellorganismus (Bally, Jung et al. 2018) und zur Expression der Benzoxazinoid-Biosynthese besonders, da dort keine Benzoxazinole vorkommen und der Versuch so nicht durch endogene Enzyme verfälscht wird.

Durch die Verwendung einer fehlerhaften DNA-Sequenz im oben genannten Versuch war die Benzoxazinoid-Biosynthese in *N. benthamiana* ineffizient. In der Zwischenzeit wurden Plasmide mit der richtigen Sequenz hergestellt und die heterologe Expression sollte nun im Rahmen dieser Arbeit wiederholt werden.

2 Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

2.1.1 Verschiedene Lamiaceen, Acanthaceen, Ranunculaceen, Geraniaceen, Fabaceen und Polygonaceen

Die Pflanzen in Tabelle 2 wurden im Botanischen Garten Jena beprobt.

Tabelle 2: Liste aller beprobten Pflanzen aus dem Botanischen Garten Jena.

Lippenblüter (Lamiaceae)	Schwarznessel (<i>Ballota hispanica</i>)
	Schwarznessel (<i>Ballota nigra</i>)
	Weißer Taubnessel (<i>Lamium album</i>)
	Gewöhnliche Galtnessel (<i>Lamium galeobdolon</i>)
	Riesen-Taubnessel (<i>Lamium orvala</i>)
	Purpurrote Taubnessel (<i>Lamium purpureum</i>)
	Afrikanisches, bzw. Großblättriges Löwenohr (<i>Leonotis leonurus</i>)
	Sibirisches Herzgespann (<i>Leonurus sibiricus</i>)
	Gewöhnlicher Andorn (<i>Marrubium vulgare</i>)
	<i>Phlomis tuberosa</i>
	Ziest (<i>Stachys citrina</i>)
	Ziest (<i>Stachys macrantha</i>)
	Sumpf-Ziest (<i>Stachys palustris</i>)
Akanthusgewächse (Acanthaceae)	<i>Acanthus hungaricus</i>
	<i>Aphelandra aurantiaca</i>
	<i>Barleria prionitis</i>
	<i>Crossandra pungens</i>
	<i>Eranthemum pulchellum</i>
	<i>Gymnostachyum ceylanicum</i>
	<i>Hemigraphis alternata</i>
	<i>Hemigraphis repanda</i>
	<i>Thunbergia erecta</i>
	<i>Thunbergia mysorensis</i>
	<i>Whitfieldia elongata</i>
<i>Crossandra flava</i>	
<i>Justicia scheidweileri</i>	
Hahnenfußgewächse (Ranunculaceae)	Hoher Rittersporn (<i>Delphinium elatum</i>)

Es wurden jeweils Blätter von drei Pflanzen der gleichen Spezies geerntet. Ausnahmen bilden *L. purpureum*, von der nur eine Pflanze mit Blättern und Blüten gemeinsam beprobt wurde, *L. leonurus*, *L. sibiricus*, *S. macrantha* und *H. alternata*, wo je nur zwei Pflanzen beprobt wurden, sowie *P. tuberosa*, *E. pulchellum*, *T. erecta* und *T. mysorensis*, von denen je nur eine Pflanze beprobt wurde. *L. purpureum*, *E.*

pulchellum, sowie *T. mysorensis* haben zum Zeitpunkt der Ernte geblüht. Auffällig waren außerdem die ungewöhnlich gepunkteten Blätter von *B. prionitis*.

Die Pflanzen in Tabelle 3 wurden im und rund um das Gewächshaus des Max-Planck-Instituts für Chemische Ökologie in Jena beprobt.

Tabelle 3: Liste aller beprobten Pflanzen aus dem Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie Jena.

Lamiaceae	<i>L. album</i>
Storchnabelgewächse (Geraniaceae)	Wiesen-Storchnabel (<i>Geranium pratense</i>)
Ranunculaceae	Gewöhnlicher Feld-Rittersporn (<i>Consolida regalis</i>)
Hülsenfrüchtler (Fabaceae)	Weißklee (<i>Trifolium repens</i>)
Knöterichgewächse (Polygonaceae)	Garten-Ampfer, bzw. Echter Mönchsrhabarber (<i>Rumex patientia</i>)

Für *L. album* wurden von zwei Pflanzen jeweils Wurzeln, sowie einige Blüten und Blätter zusammen beprobt. Von *G. pratense*, sowie von *R. patientia* wurden von drei Pflanzen jeweils einige junge und einige ältere Blätter, sowie Wurzeln beprobt. Von *C. regalis* wurden von drei Pflanzen jeweils einige Blüten, Blätter, Wurzeln und Stängel beprobt. Von *T. repens* wurden von allen drei Pflanzen Blätter, von einer Pflanze Blätter und Blüten zusammen, sowie von einer Pflanze zusätzlich Wurzeln, beprobt.

Die Lamium-Spezies in Tabelle 4 wurden bestellt und beprobt.

Tabelle 4: Liste beprobter Lamium-Spezies.

Lamiaceae	<i>L. orvala</i>
	Weißer Riesen-Taubnessel (<i>L. orvala Alba</i>)
	Gefleckte Taubnessel (<i>L. maculatum</i>)
	Berg-Goldnessel (<i>L. montanum</i>)
	<i>L. galeobdolon</i>
	<i>L. album</i>

Es wurden jeweils von drei verschiedenen Pflanzen die ersten vier vollständig ausgebildeten Blätter verwendet. Nur bei *L. maculatum* wurden, aufgrund der geringen Blattgröße, jeweils die ersten sechs vollständig ausgebildeten Blätter verwendet. Von *L. maculatum* und *L. album* wurden jeweils von allen drei beprobten Pflanzen zusätzlich alle Blüten zusammen beprobt. Auffällig waren braune, trockene Stellen an den Blättern der dritten *L. orvala Alba*-Pflanze.

Die Proben wurden jeweils in Alufolie verpackt und in Flüssigstickstoff schockgefroren. Das Material wurde, unter ständiger Kühlung durch Flüssigstickstoff, zu einem feinen Pulver gemörsert und bis zur Weiterverarbeitung bei -80 °C gelagert.

2.1.2 Tabak (*Nicotiana benthamiana*)

Zur Anzucht von Tabaksamen (*Nicotiana benthamiana*) wurden TEKU JP 3050 104 Töpfe (Pöppelmann GmbH & Co. KG, Lohne, Deutschland) mit Erde von Klasmann-Deilmann (Geeste, Deutschland) verwendet. Diese befanden sich auf Plastikschaalen, deren Deckel bis zur Keimblattbildung geschlossen gehalten wurden. Nach der Keimblattbildung wurden die Deckel über drei Tage hinweg schrittweise geöffnet und entfernt. Nach 15-20 Tagen wurden die Keimlinge in 7 cm × 7 cm Töpfe mit Fruhstorfer Nullerde der Hawita GmbH (Vechta, Deutschland) übertragen. Die Fruhstorfer Nullerde wurde zuvor mit 0,9 g/l Superphosphat, 0,5 g/l Multimix 14:16:18 von Yara (Vlaardingen B.V., Niederlande), 0,35 g/l MgSO₄*7H₂O von Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland) sowie 0,05 g/l Micromax von Scotts Deutschland GmbH (Nordhorn, Deutschland) angereichert. Die Pflanzen wurden einmal wöchentlich mit 0,1 % Peters Professional Allrounder von ICL (Nordhorn, Deutschland) gedüngt. Im Gewächshaus wurde die Temperatur am Tag zwischen 23 und 25 °C und bei Nacht zwischen 19 und 23 °C gehalten bei einem Licht-/Dunkelzyklus von 16 h/ 8 h mit einer Lichtintensität von ca. 200 µmol/m².

2.2 Behandlung von *L. album* und *C. regalis* mit Jasmonsäure

Eine Jasmonsäure-Stammlösung (1 mg Jasmonsäure /ml Ethanol) wurde mit Leitungswasser zu einer Konzentration von 200 µM verdünnt (30 µl Jasmonsäure-Stammlösung + 70 ml Leitungswasser). Als Kontroll-Lösung wurden 30 µl Ethanol mit 70 ml Leitungswasser vermischt.

Jeweils ein Spross von *L. album* und *C. regalis* wurden mit einer Schere abgeschnitten und in 15 ml-Falcons mit 8 ml Jasmonsäure-Lösung, bzw. Ethanol-Lösung (Kontrolle) gestellt. Nach 24 h wurden die Proben wie in 2.1.1 beschrieben schockgefroren, gemörsert und gelagert.

2.3 Heterologe Expression von *Bx*-Genen in *N. benthamiana*

2.3.1 Transformation von *Agrobacterium tumefaciens* mit *Bx*-Genen

Auf 100 µl gefrorene Stocks kompetenter *A. tumefaciens* Zellen (von Mitgliedern der Arbeitsgruppe zur Verfügung gestellt) wurde je 1 µg DNA (*Bx2* bzw. *Bx8* enthaltende pCambia2300U-Vektoren) gegeben. Die Zellen wurden anschließend drei Minuten lang bei 37 °C im Wasserbad aufgetaut und eine Minute lang in flüssigem Stickstoff wieder eingefroren. Nach erneutem, dreiminütigem Auftauen bei 37 °C im Wasserbad wurden die Zellen 30 Minuten auf Eis inkubiert. Anschließend wurden die Zellen mit 1 ml LB-Medium versetzt und 2h bei 28 °C im Schüttelschrank inkubiert. Schließlich wurden die Zellen pelletiert und in 100 µl LB-Medium resuspendiert. Die Zellen wurden dann auf LB-Platten mit dem Antibiotikum Kanamycin, gegen welches ein Resistenzgen auf dem transformierten pCambia-Vector liegt, sowie zur besseren Selektion auf LB-Platten mit Kanamycin (50 µg/ml) und zusätzlich den Antibiotika Rifampicin (10 µg/ml) und Gentamycin (50 µg/ml), gegen welche Resistenzgene im GV3101-Stamm vorliegen, ausplattiert. Die Platten wurden 2 Tage bei 28 °C inkubiert. Aus den transformierten Kulturen wurden Glycerolstocks hergestellt und bei -80 °C gelagert. Glycerolstocks von *A. tumefaciens*-Kulturen, welche Vektoren mit *Bx1*, *Bx3*, *Bx4*, *Bx5*, *Bx6*, *Bx7*, *eGFP* sowie dem Pflanzentransformationsvektor pBIN19 tragen, waren noch vorhanden (Masterarbeit „Engineering of the benzoxazinoid pathway in *Nicotiana benthamiana*“ (Himmighofen 2019)). Mit *eGFP* transformierte Pflanzen dienten als Kontrolle. Der Pflanzentransformationsvektor pBIN19 beinhaltet die Sequenz für das Protein p19, welches als Suppressor für post-transkriptionales Gene-Silencing fungiert und somit die Effektivität der heterologen Expression erhöht (Voinnet, Rivas et al. 2003). Die *Bx*-Gene wurden ebenfalls bereits im Rahmen der Masterarbeit (Himmighofen 2019) in pCambia2300U-Vektoren kloniert.

2.3.2 Agroinfiltration von *N. benthamiana*

Je 20 ml YEP-Medium wurden mit Material der mit *Bx*- und *p19* transformierten *A. tumefaciens*-Stocks angeimpft. Diese Vorkultur wurde einen Tag lang bei 28 °C und 220 rpm im Schüttelschrank inkubiert.

Anschließend wurden 50 ml YEP, dem zuvor die Antibiotika Kanamycin (50 µg/ml), Rifampicin (10 µg/ml) und Gentamycin (50 µg/ml) zugefügt wurden, mit 2,5 ml der Vorkultur beimpft. Diese Hauptkultur wurde über Nacht ebenfalls bei 28 °C und 220 rpm im Schüttelschrank inkubiert.

Am nächsten Tag wurde die Hauptkultur in einem 50 ml Falcon pelletiert (6000 rcf, 15 min, 16 °C) und das Pellet in 10 ml Infektionsmedium (10 mM MES, pH 5.7 + 10 mM MgCl₂ + 100 µM Acetosyringon (erst kurz vor Gebrauch hinzugefügt)) resuspendiert. Zur benötigten Menge Infektionsmedium wurde jeweils so viel Kultur-Infektionsmedium-Mischung hinzugefügt, bis die OD₆₀₀ zwischen 0,4 und 0,6 lag. Nach 2-3 h im Schüttelschrank wurden die für jedes Experiment jeweils benötigten Infektionskulturen gemischt. Dabei wurde ein Verhältnis von 1:1 zwischen dem Volumen des Infektionsmediums mit *p19*-Konstrukt und dem Gesamtvolumen der Infektionsmedien mit den jeweiligen *Bx*-Konstrukten, bzw. *eGFP* hergestellt.

Die Menge der hergestellten Medien wurde in jedem Experiment an die *Bx*-Zusammensetzung angepasst.

Um Trockenstress zu verhindern, wurden die 4-5 Wochen alten *N. benthamiana*-Pflanzen am Vorabend der Transformation zusätzlich gegossen.

Zur Agroinfiltration wurden die *N. benthamiana*-Pflanzen kopfüber in ein, sich in einem Vakuum-Exsikkator befindenden, Becherglas, mit der jeweiligen Infektionskultur-Mischung, getaucht. Um dem Herausfallen von Erde vorzubeugen wurden die Töpfe mit Plastikstücken, die einen Schlitz für den Stiel der *N. benthamiana*-Pflanzen besaßen, abgedeckt. Es wurde ein Vakuum für die Dauer von 2 Minuten angelegt. Dabei wurde der Druck auf ein Minimum von 30-40 mbar gesenkt. Anschließend wurden die Pflanzen aus dem Infektionsmedium entfernt und in Dunkelheit stehen gelassen. Nach 2 Tagen wurden die Pflanzen vor ein Fenster gestellt und zusätzlich mit einer Valoya® R300 NS1 Lichtquelle, mit einem Zyklus von 16 h Licht/ 8 h Dunkelheit, beleuchtet. Nach weiteren 2-3 Tagen wurden jeweils die oberen vier Blätter geerntet. Dabei wurden sehr junge Blätter (bei der Transformation noch nicht ausgebildet) ausgelassen. Die geernteten Blätter wurden in Aluminiumfolie eingepackt und in Flüssigstickstoff schockgefroren. Wie in 2.1.1 wurde das Material unter ständiger Kühlung durch Flüssigstickstoff, zu einem feinen Pulver gemörsert und bis zur Weiterverarbeitung bei -80 °C gelagert.

2.4 Chemische Analyse

2.4.1 Methanolextraktion

Ca. 100 mg des Pflanzenpulvers (aus 2.1, 2.2, 2.3.2) wurden jeweils eingewogen (Einwaagen siehe Anhang 7.1.1) und zusammen mit 1 ml Methanol kurz gevortext.

Anschließend wurden die Proben 15 min geschüttelt (Raumtemperatur, ca. 850 rpm) und dann weitere 15 min bei 4 °C und max. rpm zentrifugiert. Mit einer Pipette wurden 500 µl des Überstands in ein Plastik-Probengefäß überführt. Von den Extrakten, der bereits bei -80 °C vorliegenden Proben, wurden 1:10-Verdünnungen in Glas-Probengefäß hergestellt. Die Extrakte wurden bei -20 °C gelagert.

2.4.2 Gezielte HPLC-MS/MS-Analyse

Die massenspektrometrische Analyse der Methanolextrakte erfolgte an einem an ein 1290 Infinity Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-SyStiel (Agilent Technologies) gekoppeltes API5000 LC/MS/MS-System (AB Sciex). Zur Auftrennung wurde eine Zorbax Eclipse XDB-C18 Säule verwendet (50 × 4,6 mm, 1,8 µm; Agilent Technologies) und als Laufmittel haben 0,05 % Ameisensäure (A) und Acetonitril (B) fungiert.

Die Verbindung von HPLC und MS wurde durch Elektrospray-Ionisierung im Negativ-Modus hergestellt.

Das Massenspektrometer wurde mit folgenden Einstellungen (Tabelle 5) verwendet.

Tabelle 5: Massenspektrometrie-Einstellungen (HPLC-MS).

Ionenspray-Spannung:	-4500 V
Turbogas-Temperatur:	650°C
Kollisionsgas:	Medium-Druck
Curtain-Gas:	40 psi
Ionenquellen-Gas:	1: 70 psi 2: 70 psi

Das Verhältnis der Masse-Ladungs-Verhältnisse von Ausgangsion zu Fragment-/Produktion wurde durch Multiple Reaction Monitoring (MRM) erfasst.

Als Positivkontrolle wurde ein Methanolextrakt eines jungen Blattes von *A. squarrosa* verwendet. Das bereits in Pulverform vorliegende Pflanzenmaterial wurde vom Betreuer gestellt.

2.4.2.1 Benzoxazinoide

Die HPLC-Säule wurde mit den in Tabelle 6 aufgelisteten Gradienten eluiert.

Tabelle 6: Elutionsgradient der HPLC-MS-Analyse zur Identifikation von Benzoxazinoiden. Laufmittel sind 0,05 % Ameisensäure (A) und Acetonitril (B).

Zeit (min)	A (%)	B (%)
0.00	90.0	10.0
0.50	90.0	10.0
3.50	45.0	55.0
3.52	0.0	100.0
4.00	0.0	100.0
4.01	90.0	10.0
6.00	90.0	10.0

In Tabelle 7 sind die MRM-Parameter genannt.

Tabelle 7: Multiple-Reaction-Monitoring-Parameter der HPLC-MS-Analyse zur Identifikation von Benzoxazinoiden. Q1-Masse = Masse des Ausgangsions, Q3-Masse = Masse des Fragment-/Produktions, Zeit = Dwell Time, DP = Declustering-Potential, EP = Eingangspotential, CE = Kollisionsenergie, CXP = Kollisions- und Zellausgangspotential)

Analyt	Q1-Masse (Da)	Q3-Masse (Da)	Zeit (msec)	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
DIBOA-Glc	342.000	134.000	5.00	-52.00	-4.00	-24.00	-4.00
DIMBOA-Glc	372.000	164.000	5.00	-52.00	-4.00	-18.00	-5.00
HBOA-Glc	326.300	164.000	5.00	-64.00	-4.00	-20.00	-5.00
HMBOA-Glc	356.000	194.000	5.00	-60.00	-4.00	-22.00	-2.00

2.4.2.2 (Ox-) Indole

Die HPLC-Säule wurde mit den in Tabelle 8 aufgelisteten Gradienten eluiert.

Tabelle 8: Elutionsgradient der HPLC-MS zur Identifikation von (Ox-) Indolen. Laufmittel sind 0,05 % Ameisensäure (A) und Acetonitril (B).

Zeit (min)	A (%)	B (%)
0.00	95.0	5.0
0.50	95.0	5.0
4.00	40.0	60.0
4.01	0.0	100.0
5.00	0.0	100.0
5.10	95.0	5.0
7.00	95.0	5.0

In Tabelle 9 sind die MRM-Parameter genannt.

Tabelle 9: Multiple-Reaction-Monitoring-Parameter der HPLC-MS zur Identifikation von (Ox-) Indolen. Q1-Masse = Masse des Ausgangsions, Q3-Masse = Masse des Fragment-/Produktions, Zeit = Verweilzeit (dwell time), CE = Kollisionsenergie)

Analyt	Q1-Masse (Da)	Q3-Masse (Da)	Zeit (msec)	CE (V)
Indole	118.00	91.000	4.90	30.00
Oxindole	134.000	116.000	3.40	20.00

2.4.3 Computergestützte Analytik der HPLC-MS-Daten

Die Analyse der Chromatogramme, sowie die Quantifizierung der Peak-Flächen erfolgte mit der Software Analyst 1.5.2 (AB Sciex). Die statistische Auswertung und Erstellung der Diagramme (Anhang 7) erfolgten in Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, USA).

2.4.4 Hexanextraktion

Ca. 100 mg des Pflanzenpulvers (2.3.2) wurden jeweils eingewogen (Einwaagen siehe Anhang (6.1)) und mit 1 ml Hexan, welches zuvor mit 10 nM Nonylacetat (interner Standard) versetzt wurde, durchmischt. Ansätze mit Material von mit *eGFP* und mit *Bx1* transformierter *N. benthamiana*-Pflanzen wurden je 1 h sowie über Nacht inkubiert. Anschließend wurden die Hexanphasen abgenommen und in Glas-Reaktionsgefäß mit Glas-Einsatz überführt. Die GC-MS-Analyse zeigte keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Inkubationszeiten, weshalb weitere Proben nur je 1 h inkubiert wurden. Die Extrakte wurden bei -20 °C gelagert.

2.4.5 GC-MS Analyse

Hexanextrakte wurden an einem Hewlett-Packard Gas-Chromatographen (Model 6890) mit gekoppeltem Hewlett-Packard Massenspektrometer (Quadrupol-Massenspektrometer, Model 5973) analysiert.

Die Analyse erfolgte mit folgenden Einstellungen (Tabelle 10) am Gas-Chromatographen.

Tabelle 10: Gaschromatographie-Einstellungen.

Trägergas:	Helium, 1 ml/min
Injektion:	Splitlos, 220°C, 1 µl

Säule:	Chrompack CP-SIL-5 CB-MS, (5%-Phenyl)-Methylpolysiloxan, 25 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm Filmdicke (Varian, Palo Alto, CA, USA)
Temperatur-Programm:	Anfangstemperatur: 40°C (3 min) Temperaturerhöhung: 5°C/min Endtemperatur: 240°C (3 min)

Mit folgenden Einstellungen (Tabelle 11) wurde das Massenspektrometer verwendet.

Tabelle 11: Massenspektrometrie-Einstellungen (GC-MS).

Temperaturen:	Transfer: 230°C Quelle: 230°C Quadrupol: 150°C
Ionisierungspotential:	70 eV
Scan-Bereich:	40-350 Atommasseneinheiten

2.5 Chemikalien

Tabelle 12: Chemikalien und Hersteller.

Methanol	Merck Millipore (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Nonylacetat	Sigma-Aldrich (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Jasmonsäure	Cayman Chemical (Ann Arbor, Michigan, USA)
Ethanol	VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland)
Acetonitril	
Ameisensäure	Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
Hexan	

3 Ergebnisse

3.1 Nachweis von Benzoxazinoiden in verschiedenen Arten von Lamiaceen, Acanthaceen, Ranunculaceen, Geraniaceen, Fabaceen und Polygonaceen

Die HPLC-MS-Analyse von Methanolextrakten verschiedener Lamiaceen, Acanthaceen, Ranunculaceen, Geraniaceen, Fabaceen und Polygonaceen bestätigte das bereits beschriebene Vorkommen von Benzoxazinoiden in *L. galeobdolon*, *A. aurantiaca*, sowie *C. pungens* (Pratt, Kumar et al. 1995, Alipieva, Taskova et al. 2003, Bhattarai, Steffensen et al. 2020). Darüber hinaus konnten Benzoxazinoide ebenfalls in *A. hungaricus* und *C. flava* nachgewiesen werden (Tabelle 13, Abbildung 3). Bei einigen Arten ist das Ergebnis uneindeutig. Diese Arten sollten weiter untersucht werden.

Tabelle 13: Vorkommen von Benzoxazinoiden in ausgewählten dikotylen Pflanzenarten. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Mit „X“ markierte Benzoxazinoide wurden nachgewiesen. Peaks mit einer Höhe von mindestens 10.000 cps wurden als positives Ergebnis gewertet. Mit „X*“ markierte Benzoxazinoide zeigten einen Peak mit einer Höhe zwischen 5.000 und 50.000 cps und befinden sich damit an der Grenze zu einem positiven Ergebnis und müssen weiter untersucht werden. Eine Liste der Peak-Höhen-Werte befindet sich im Anhang (7.2.4, Tabelle 33).

			DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc	Chromatogramm (Anhang 7.4.1)
Proben aus dem Botanischen Garten Jena	Lamiaceae	<i>B. hispanica</i>			X		Abbildung 16
		<i>B. nigra</i>			X		Abbildung 17
		<i>L. album</i>			X	X*	
		<i>L. galeobdolon</i>	X		X*		Abbildung 18
		<i>L. orvala</i>			X*	X*	
		<i>L. purpureum</i>			X*		
		<i>L. leonurus</i>			X*		
		<i>L. sibiricus</i>			X*		
		<i>M. vulgare</i>			X*		
		<i>P. tuberosa</i>			X*	X*	
		<i>S. citrina</i>			X*	X*	
		<i>S. macrantha</i>			X*	X*	
	<i>S. palustris</i>			X*	X*		
	Acanthaceae	<i>A. hungaricus</i>	X	X*	X		Abbildung 19
		<i>A. aurantiaca</i>	X	X	X	X	Abbildung 20
		<i>B. prionitis</i>			X*	X*	Abbildung 3
		<i>C. pungens</i>	X		X		Abbildung 21
		<i>E. pulchellum</i>			X*	X*	
		<i>G. ceylanicum</i>				X*	
		<i>H. alternata</i>					
<i>H. repanda</i>							
<i>T. erecta</i>							

		<i>T. mysorensis</i>					
		<i>W. elongata</i>					
		<i>C. flava</i>	X		X	X*	Abbildung 3, Abbildung 22
		<i>J. scheidweileri</i>			X*		
	Ranunculaceae	<i>D. elatum</i>			X		Abbildung 23
Proben aus dem MPI für Chemische Ökologie Jena	Lamiaceae	<i>L. album</i> (Wurzeln)					
		<i>L. album</i> (Blätter + Blüten)			X*		
	Geraniaceae	<i>G. pratense</i> (junge Blätter)			X*		
		<i>G. pratense</i> (alte Blätter)			X*		
		<i>G. pratense</i> (Wurzeln)					
	Ranunculaceae	<i>C. regalis</i> (Blüten)					
		<i>C. regalis</i> (Blätter)			X*		
		<i>C. regalis</i> (Wurzeln)					
		<i>C. regalis</i> (Stiel)			X*		
	Fabaceae	<i>T. repens</i> (Blätter)			X*		
		<i>T. repens</i> (Blätter + Blütern)			X*		
		<i>T. repens</i> (Wurzeln)					
	Polygonaceae	<i>R. patientia</i> (alte Blätter)			X*		
		<i>R. patientia</i> (Wurzeln)			X*	X*	
		<i>R. patientia</i> (junge Blätter)					

Innerhalb der Lamiaceen konnten Benzoxazinoide bisher nur in einigen wenigen Arten der Gattung *Lamium* identifiziert werden (Alipieva, Taskova et al. 2003, Tabelle 13). Um die Verbreitung von Benzoxazinoiden in dieser Gattung detaillierter zu untersuchen, sollten weitere *Lamium*-Spezies untersucht werden. Auch in diesen Experimenten konnten Benzoxazinoide in *L. galeobdolon* nachgewiesen werden. Zusätzlich wurden Benzoxazinoide in *L. montanum* identifiziert. Das scheinbare Vorhandensein von Benzoxazinoiden in *L. album* ist nicht eindeutig und sollte weiter untersucht werden (Tabelle 14).

Tabelle 14: Vorkommen von Benzoxazinoiden in verschiedenen *Lamium*-Arten. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Mit „X“ markierte Benzoxazinoide wurden nachgewiesen. Peaks mit einer Höhe von mindestens 10.000 cps wurden als positives Ergebnis gewertet. Mit „X*“ markierte Benzoxazinoide zeigten einen Peak mit einer Höhe zwischen 5.000 und 50.000 cps und befinden sich damit an der Grenze zu einem positiven Ergebnis und müssen weiter untersucht werden. Eine Liste der Peak-Höhen-Werte befindet sich im Anhang (Mittelwerte nach Blank-Abzug, Tabelle 33).

		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc	Chromatogramm (Anhang 7.4.1.3)
Lamiaceae	<i>L. orvala</i>			X*	X*	
	<i>L. orvala Alba</i>			X*	X*	
	<i>L. maculatum</i>			X*	X*	
	<i>L. maculatum</i> (Blüte)			X*	X*	
	<i>L. montanum</i>	X	X*	X		Abbildung 28
	<i>L. galeobdolon</i>	X	X*	X	X*	Abbildung 29
	<i>L. album</i>	X*		X*	X*	
	<i>L. album</i> (Blüte)			X*		

3.2 Der Effekt des Phytohormons Jasmonsäure auf die Synthese von Benzoxazinoiden in *C. regalis* und in *L. album*

In *C. regalis* und in *L. album* konnten keine Benzoxazinoide nachgewiesen werden. Da ihre verwandten Arten *C. orientalis* und *L. galeobdolon* jedoch Benzoxazinoide akkumulieren (Pratt, Kumar et al. 1995, Alipieva, Taskova et al. 2003) und im Allgemeinen die Biosynthese von pflanzlichen Naturstoffen oft durch biotische oder abiotische Faktoren induziert werden kann, ist es möglich, dass *C. regalis* und *L. album* in Stresssituationen ebenfalls Benzoxazinoide bilden. Aus diesem Grund wurden beide Arten mit Jasmonsäure behandelt. Es konnten jedoch keine Unterschiede zu den unbehandelten Kontroll-Pflanzen festgestellt werden (Tabelle 15).

Tabelle 15: Vorkommen von Benzoxazinoiden in mit Jasmonsäure-Lösung behandelten *Consolida regalis*- und *Lamium album*-Pflanzen. Als Kontrolle wurden Pflanzen, die mit einer Ethanol-Lösung behandelt wurden, verwendet. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Mit „X“ markierte Benzoxazinoide wurden nachgewiesen. Peaks mit einer Höhe von mindestens 10.000 cps wurden als positives Ergebnis gewertet. Mit „X*“ markierte Benzoxazinoide zeigten einen Peak mit einer Höhe zwischen 5.000 und 50.000 cps und befinden sich damit an der Grenze zu einem positiven Ergebnis und müssen weiter untersucht werden. Eine Liste der Peak-Höhen-Werte befindet sich im Anhang (7.2.4, Tabelle 33). Ctr. = Kontrolle, JA = Jasmonsäure.

		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc	Chromatogramm (Anhang 7.4.1.2)
Ranunculaceae	<i>C. regalis</i> Ctr.			X*		Abbildung 25
	<i>C. regalis</i> JA			X*		Abbildung 26
Lamiaceae	<i>L. album</i> Ctr.					
	<i>L. album</i> JA					

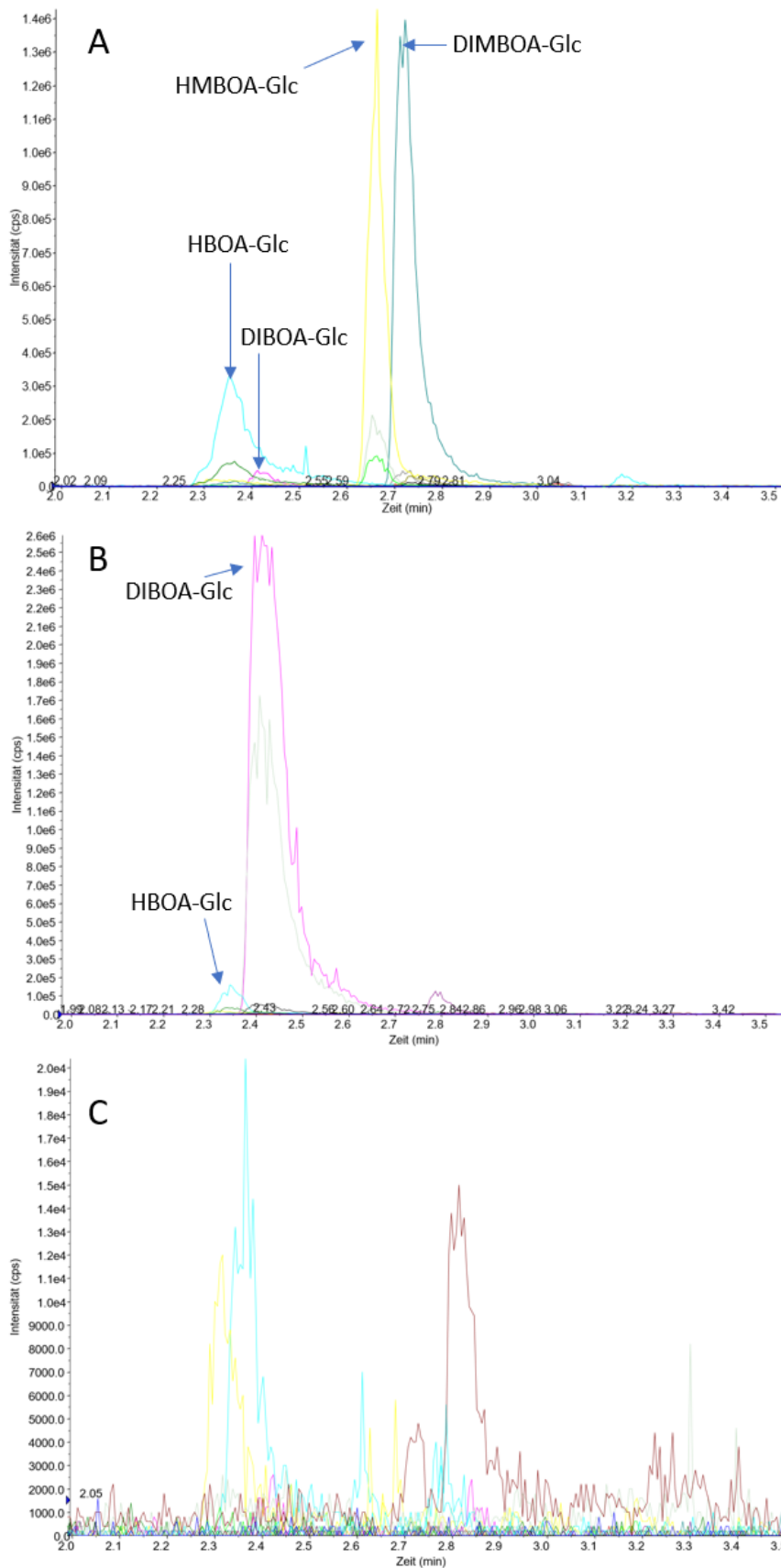


Abbildung 3: Beispiel-Chromatogramme (Screening). Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,43 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,34 min, HMBOA-Glc: 2,64 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten. **A** *Aphelandra squarrosa* (junges Blatt, Positivkontrolle). **B** *Crossandra flava*. **C** *Barleria prionitis*.

3.3 Heterologe Expression von Benzoxazinoiden in *N. benthamiana*

Um Rückschlüsse auf die Benzoxazinoid-Biosynthese in Mais ziehen zu können, wurden *N. benthamiana*-Pflanzen mit *Bx*-Genen in verschiedenen Kombinationen via Agroinfiltration transformiert.

Die Überexpression von *Bx1* und *Bx1-2* resultiert scheinbar in der Bildung von Indol und die Überexpression von *Bx1-2* zusätzlich in der Bildung von Oxindol. Die in der HPLC-MS-Analyse enthaltenen Peaks für beide Stoffe konnten jedoch nicht eindeutig zugeordnet werden, sodass das Vorhandensein von Indol und Oxindol in diesen Pflanzen fraglich ist. In Pflanzen, in denen *Bx1-3* exprimiert wurden, konnten keine Produkte identifiziert werden. In *Bx1-4*- und *Bx1-5*-Pflanzen wurde HBOA-Glc nachgewiesen. Nach der Überexpression von *Bx1-8* konnten DIMBOA-Glc, HBOA-Glc und HMBOA-Glc nachgewiesen werden (Tabelle 16, Abbildung 4). Wie in der Tabelle ersichtlich, ist das Ergebnis für DIMBOA-Glc zwar nicht eindeutig, liegt aber sehr knapp an der Nachweisgrenze (Peak-Höhe: 41.200 cps (siehe Anhang 7.2.4, Tabelle 34), Peak-Höhen ab 50.000 wurden als eindeutig gewertet). HBOA-Glc konnte außerdem in Pflanzen mit *Bx1-4+Bx6-8*-, mit *Bx1-6+Bx8*- (ebenfalls nicht eindeutig), sowie mit *Bx1-5+Bx8*-Überexpression nachgewiesen werden. Pflanzen mit *Bx1-5+Bx8*- bildeten darüber hinaus DIBOA-Glc. Auch dort waren die Peaks jedoch nicht eindeutig.

Tabelle 16: Vorkommen von Benzoxazinoiden und (Ox-) Indolen in mit *Bx*-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Als Negativkontrolle wurden *N. benthamiana*-Pflanzen mit eGFP transformiert. Mit „X“ markierte Benzoxazinoide wurden nachgewiesen. Peaks mit einer Höhe von mindestens 10.000 cps wurden als positives Ergebnis gewertet. Mit „X*“ markierte Benzoxazinoide zeigten einen Peak mit einer Höhe zwischen 5.000 und 50.000 cps und befinden sich damit an der Grenze zu einem positiven Ergebnis und müssen weiter untersucht werden. Eine Liste der Peak-Höhen-Werte befindet sich im Anhang (7.2.4, Tabelle 34 und Tabelle 35).

	DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc	Indol	Oxindol	Chromatogramm (Anhang 7.4.2)
<i>Bx1</i>					X*		
<i>Bx1-2</i>					X*	X*	Abbildung 34
<i>Bx1-3</i>							
<i>Bx1-4</i>			X				Abbildung 40
<i>Bx1-5</i>			X				Abbildung 39
<i>Bx1-8</i>		X*	X	X			Abbildung 4, Abbildung 36
<i>Bx1-4+6-8</i>			X				Abbildung 38

Ergebnisse

<i>Bx1-6+8</i>			X*				Abbildung 37
<i>Bx1-5+8</i>	X*		X				Abbildung 31
<i>eGFP</i>							Abbildung 4, Abbildung 41

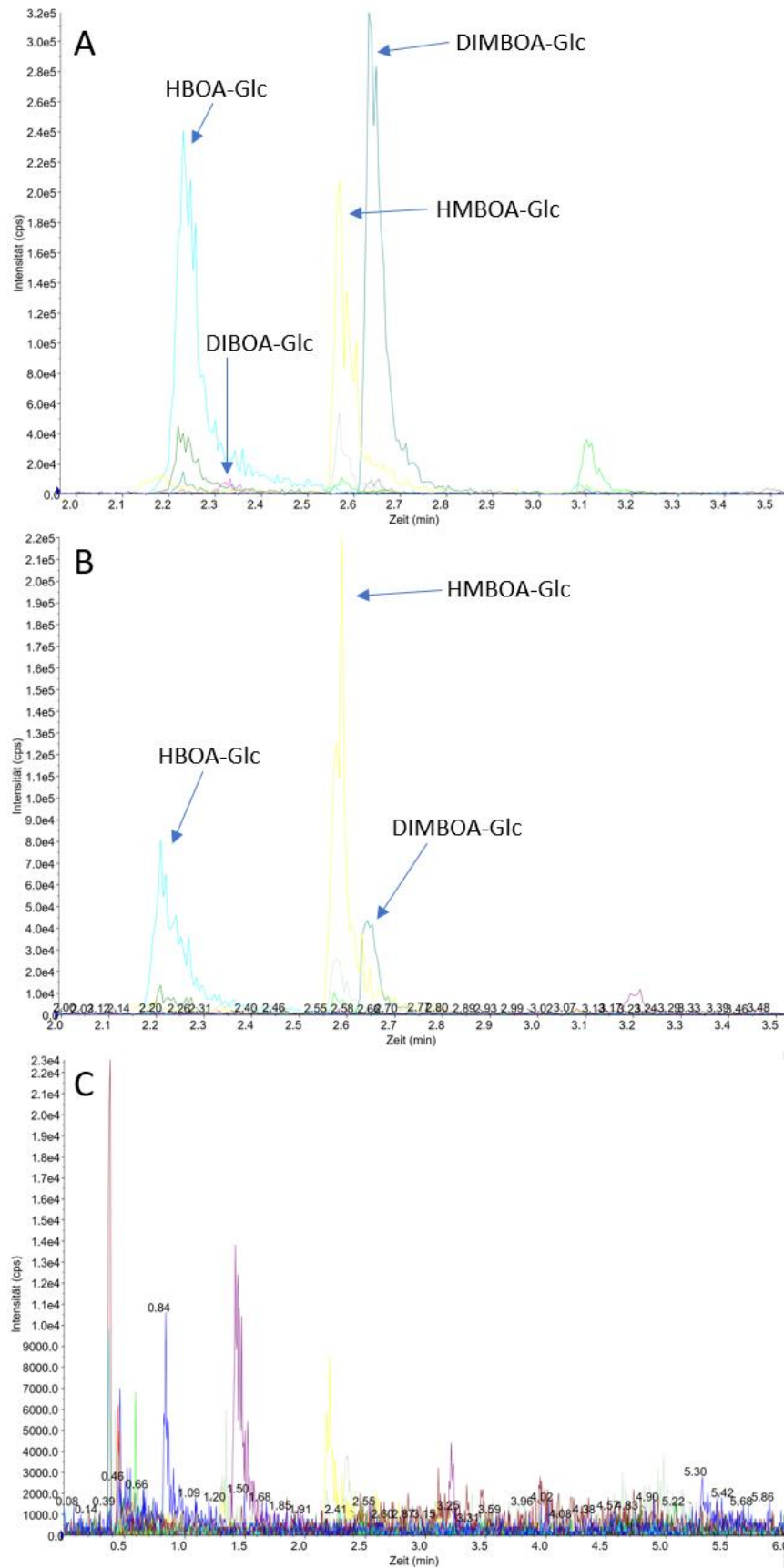


Abbildung 4: Beispiel-Chromatogramme (Transformation von *Nicotiana benthamiana*). Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,33 min, DIMBOA-Glc: 2,63 min, HBOA-Glc: 2,23 min, HMBOA-Glc: 2,57 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten. **A** *Aphelandra squarrosa* (junges Blatt, Positivkontrolle). **B** Bx1-8. **C** eGFP.

Aus pulverisiertem Gewebe der mit *Bx1* und *Bx2* transformierten *N. benthamiana*-Pflanzen wurden zusätzlich Hexanextrakte erstellt. Diese wurden mittels GC-MS analysiert, um eventuell vorhandenes Indol besser identifizieren zu können. Die Chromatogramme zeigten keine Peaks. Somit konnte keine Indol nachgewiesen werden.

4 Diskussion

4.1 Evolution der Benzoxazinoide

Benzoxazinoide kommen hauptsächlich in den monokotylen Süßgräsern (Poaceae) und vereinzelt in dikotylen Familien vor.

Diese Verteilung über verschiedene Klassen hinweg könnte als ein Indiz für die monophyletische Entwicklung der Benzoxazinoid-Biosynthese bereits vor der Trennung von Mono- und Dikotyledonen verstanden werden (Sicker, Frey et al. 2000). Das Vorkommen von Benzoxazinoiden ist allerdings, gerade in Dikotyledonen, sehr sporadisch. So kommen sie nicht in ganzen Familien, sondern nur in einzelnen Gattungen vor. Sogar innerhalb dieser Gattungen, wie zum Beispiel *Lamium*, ist ihre Biosynthese auf wenige Spezies beschränkt. In der Annahme einer monophyletischen Entwicklung wäre der Benzoxazinoid-Biosyntheseweg also im Laufe der Evolution in vielen Spezies wieder verloren gegangen (Dick, Rattei et al. 2012).

Nach dem heutigen Stand der Wissenschaft ist jedoch eine unabhängige Entwicklung des Biosynthesewegs wahrscheinlicher. Dies ist für einige weitere Stoffe bekannt. So deuteten phylogenetische Untersuchungen pflanzlicher Terpensynthasen darauf hin, dass die Limonensynthasen (eine Gruppe der Terpensynthasen) in Gymnospermen und Angiospermen keine monophyletische Herkunft haben und das Enzym mehrfach in verschiedenen Pflanzen evolviert wurde. Die hier beschriebene mehrfache Evolution des gleichen Enzyms kann als „konvergente Evolution“ bezeichnet werden (Cseke, Dudareva et al. 1998). Eine konvergente Evolution ist per Definition eine mehrfach unabhängig voneinander erfolgte Evolution der gleichen biologischen Funktion. Dieses Prinzip ist für zahlreiche weitere Enzyme bekannt (Pichersky and Lewinsohn 2011) und wäre auch für die Evolution der Enzyme der Benzoxazinoid-Biosynthese denkbar.

Innerhalb der Gräser wurde bereits eine monophyletische Herkunft der *Bx*-Gene nachgewiesen (Sue, Ishihara et al. 2000, Nomura, Ishihara et al. 2002, Nikus, Esen et al. 2003, Nomura, Ishihara et al. 2003, Frey, Schullehner et al. 2009, Sue, Nakamura et al. 2011). Das Enzym BX1 stellt dabei eine Ausnahme dar. Es entwickelte sich in den verschiedenen mono- und dikotylen Spezies unabhängig, jedoch aus einer orthologen Tryptophan-Synthase (TSA). So entstand das *Bx1*-Gen aus der Duplikation des *TSA*-Gens (Schullehner, Dick et al. 2008). Die UDP-

Glycosyltransferasen (UGTs), die DIMBOA-Glc zu DIMBOA hydrolysieren, haben sich in Mono- und Dikotyledonen unabhängig voneinander entwickelt. Ihre Gene sind in beiden Klassen homo- allerdings nicht ortholog (Dick, Rattei et al. 2012).

Trotz dieser Indizien, die eine konvergente Evolution andeuten, besteht der Bedarf weiterer Experimente, um die Art der Benzoxazinoid-Evolution eindeutig zu belegen.

4.2 Einfluss des Phytohormons Jasmonsäure auf die Benzoxazinoid-Biosynthese in *L. album* und *C. regalis*

In den Gattungen *Lamium* und *Consolida* konnten Benzoxazinoide in einzelnen Spezies, wie *L. galeobdolon* und *L. montanum*, bzw. *C. orientalis* nachgewiesen werden (Pratt, Kumar et al. 1995, Alipieva, Taskova et al. 2003, Tabelle 13, Tabelle 14). In anderen Spezies der gleichen Gattungen, wie *L. album* und *C. regalis* konnten jedoch keine Benzoxazinoide identifiziert werden. Die nahe Verwandtschaft der verschiedenen Benzoxazinoid-produzierenden und -nichtproduzierenden Spezies einer Gattung führt zu der Vermutung, dass Spezies wie *L. album* und *C. regalis*, die unter Normalbedingungen keine Benzoxazinoide aufweisen, in Stresssituationen ebenfalls solche bilden. Eine solche Stresssituation sollte im Rahmen dieser Arbeit durch die Behandlung mit dem Phytohormon Jasmonsäure imitiert werden. Eine Induktion der Benzoxazinoid-Biosynthese konnte jedoch nicht festgestellt werden. In einem vorherigen Versuch gelang die Induktion der Akkumulation von Benzoxazinoiden mit Jasmonsäure in Poaceae (Oikawa, Ishihara et al. 2002). Physiologische Unterschiede zwischen den Familien könnten ein Grund sein, weshalb die Induktion in *L. album* und *C. regalis* nicht funktioniert hat. Der Versuch könnte mit anderen Phytohormonen, die eine Stressantwort induzieren, wiederholt werden. Ein mögliches Phytohormon dafür ist Salicylsäure. Der positive Zusammenhang zwischen Salicylsäure und dem Vorhandensein von DIMBOA und MBOA in Mais-Wurzeln wurde bereits nachgewiesen (Zhao, Gao et al. 2019). Systemin ist ebenfalls an der pflanzlichen Stressantwort beteiligt (Schopfer and Brennicke 2010) und könnte für das Wiederholen des Experiments verwendet werden. Eine andere Möglichkeit ist jedoch, dass *L. album* und *C. regalis* trotz ihrer engen Verwandtschaft zu Benzoxazinoid-synthetisierenden Spezies, die zur Synthese benötigten Gene nicht besitzen.

4.3 Rekonstruktion des Benzoxazinoid-Biosynthesewegs in *N. benthamiana*

Die Entstehung von DIMBOA-Glc, sowie der Lactame HBOA-Glc und HMBOA-Glc nach der Überexpression von *Bx1-8* zeigte, dass die Rekonstruktion des Biosyntheseweges in *N. benthamiana* funktioniert.

Die Überexpression einzelner Enzyme konnten vermutlich auch die Zwischenprodukte der Biosynthese in *N. benthamiana* nachgewiesen werden. So entstanden vermutlich bei der Expression von *Bx1* Indol und bei der Expression von *Bx1-2* Indol und Oxindole. Die Höhen der entstandenen Peaks beider Stoffe lagen jedoch nur knapp an der Nachweisgrenze, sodass das Vorhandensein von Indol und Oxindolen zwar wahrscheinlich ist, aber nicht eindeutig nachgewiesen werden konnte.

Nach der Überexpression von *Bx1-3* konnte kein (Ox-)Indol nachgewiesen werden. Die Enzyme BX1-3 synthetisieren in Mais 3-Hydroxy-indolin-2-on. Dieses wird in *N. benthamiana* eventuell durch endogene Enzyme weiter metabolisiert und konnte daher nicht im Extrakt identifiziert werden.

Die Überexpression von *Bx1-4* resultierte in HBOA-Glc als Produkt. Diese Enzyme bilden in Mais nur das Aglucon HBOA, so dass davon ausgegangen werden kann, dass *N. benthamiana* eine unspezifische Glucosyltransferaseaktivität besitzt.

Die Überexpression von *Bx1-5+Bx8* führte zur DIBOA-Glc-Synthese. Der Ausschluss von *Bx6* und *Bx7* hat zur Folge, dass DIBOA-Glc nicht zu TRIBOA-Glc und schließlich DIMBOA-Glc weiter umgewandelt wird.

Da die Rekonstruktion des Benzoxazinoid-Biosynthesewegs aus *Zea Mays* in *N. benthamiana* insgesamt gut funktioniert, kann dieses System für weitere Experimente verwendet werden. So könnte die Toxizität der Benzoxazinoide und deren Intermediate für herbivore Insekten durch Bioassays getestet werden. In einem weiteren Experiment könnte man die Pflanzen mit chemisch modifiziertem Indol behandeln, um so, falls die BX-Enzyme dieses weiterverarbeiten können, eventuell chemisch neuartige Benzoxazinoide zu erhalten. Sollte dies gelingen, könnten so entstandene chemisch neuartige Benzoxazinoide ebenfalls mit Hilfe von Bioassays untersucht werden.

4.4 Die Rolle des Cytochrom P450-Enzyms BX5

Bei Ausschluss von BX5 aus dem Biosyntheseweg und Überexpression von BX1-4 und BX6-8 wurde die Biosynthese der Lactame ausgehend von durch BX1-4 synthetisiertes HBOA erwartet. Allerdings entstanden außer HBOA-Glc, als Produkt der Enzyme BX1-4 und der unspezifischen Glucosyltransferaseaktivität, von *N. benthamiana*, keine weiteren Benzoxazinoide. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass HBOA, bzw. HBOA-Glc nicht, wie angenommen, das Substrat für die Lactam-Biosynthese ist. Stattdessen könnte DIMBOA-Glc, welches ja nur bei Vorhandensein von BX5 synthetisiert wird, direkt zu HMBOA-Glc reduziert werden. Die Möglichkeit der Glycoside als Ausgangspunkte für die Lactam-Biosynthese, wurde bereits diskutiert, nachdem in einem Versuch mit zellfreien Extrakten von Maiskeimlingen keine Umwandlung von Aglyconen in Lactame festgestellt werden konnte (Tipton, Ming-Chung et al. 1973). An der Biosynthese von Dhurrin, einem cyanogenen Glycosid, beteiligte Cytochrom P450-vermittelte Enzyme liegen als Komplex in der Membran des endoplasmatischen Retikulums vor. Dort interagieren sie mit dem löslichen UGT85B1 (Laursen, Borch et al. 2016). Eine ähnliche membrangebundene Komplexbildung der Cytochrom P450-vermittelten Enzyme BX2-5 wäre eine andere mögliche Erklärung. Durch das Fehlen von BX5 als Interaktionspartner mit den löslichen BX6-8 könnte so die gestörte Lactam-Biosynthese erklärt werden. Diese Möglichkeit kann mit Hilfe weiterer Untersuchungen, wie Fluoreszenzlebensdauer-Mikroskopie (FLIM) oder FRET (Förster-Resonanzenergietransfer) überprüft werden.

5 Zusammenfassung

Benzoxazinoide sind eine wichtige Klasse pflanzlicher Sekundärmetabolite. Sie spielen einerseits bei der Abwehr von Pathogenen, wie z.B. Bakterien und Pilzen eine Rolle, sind aber auch an der Abwehr von herbivoren Insekten beteiligt und vermitteln Wechselwirkungen mit anderen Pflanzen (Allelopathie). Benzoxazinoide kommen in einigen monokotylen Gräsern (Poaceae) und in wenigen dikotylen Familien vor. Aufgrund ihrer Autotoxizität liegen Benzoxazinoide unter normalen Bedingungen glycosyliert in der Vakuole vor. Bei Zellschäden werden sie zu ihrer toxischen Aglucon-Form hydrolysiert und ins Cytoplasma transportiert.

Das Vorkommen von Benzoxazinoiden in monokotylen Gräsern (Poaceae) und vereinzelt in Familien der Dikotyledonen ist bereits bekannt. In dieser Arbeit gelang es, das bereits nachgewiesene Vorhandensein von Benzoxazinoiden in einigen dikotylen Spezies zu bestätigen. Zudem wurden Benzoxazinoide in *Acanthus hungaricus*, *Crossandra flava* und *Lamium montanum* identifiziert.

Der Versuch, die Benzoxazinoid-Biosynthese in *Lamium album* und *Consolida regalis* mit dem Phytohormon Jasmonsäure zu induzieren, war nicht erfolgreich. In weiterführenden Experimenten sollte daher der Effekt anderer Phytohormone, wie beispielsweise Salicylsäure, auf die Benzoxazinoid-Biosynthese untersucht werden.

Im Rahmen dieser Arbeit gelang die Rekonstruktion des Benzoxazinoid-Biosynthesewegs in *Nicotiana benthamiana*. Dies bildet die Grundlage für weitergehende Experimente zur Untersuchung der Benzoxazinoide. Die Produkte der Rekonstruktion lassen unspezifische Aktivitäten, wie die unspezifische Glycosyltransferaseaktivität, von *N. benthamiana*, vermuten. Diese könnten ebenfalls Gegenstand zukünftiger Experimente sein.

Es zeigte sich, dass das Enzym BX5 für die Lactam-Biosynthese essenziell ist. Die Ursache dafür sollte in zukünftigen Arbeiten erforscht werden.

6 Literatur

Alipieva, K. I., et al. (2003). "Benzoxazinoids and iridoid glucosides from four *Lamium* species." Phytochemistry **64**(8): 1413-1417.

Ameye, M., et al. (2018). "Green leaf volatile production by plants: a meta-analysis." New Phytologist **220**(3): 666-683.

Bailey, B. A. and R. L. Larson (1991). "Maize Microsomal Benzoxazinone N-Monooxygenase." Plant Physiology **95**(3): 792-796.

Bally, J., et al. (2018). "The Rise and Rise of *Nicotiana benthamiana*: A Plant for All Reasons." Annual Review of Phytopathology **56**(1): 405-426.

Bhattarai, B., et al. (2020). "Stepwise mass spectrometry-based approach for confirming the presence of benzoxazinoids in herbs and vegetables." Phytochemical Analysis.

Cseke, L., et al. (1998). "Structure and Evolution of Linalool Synthase." Molecular Biology and Evolution **15**(11): 1491-1498.

Dawkins, R. and J. R. Krebs (1979). "Arms races between and within species." Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences **205**(1161): 489-511.

De Bruijn, W. J. C., et al. (2018). "Structure and biosynthesis of benzoxazinoids: Plant defence metabolites with potential as antimicrobial scaffolds." Phytochemistry **155**: 233-243.

Dick, R., et al. (2012). "Comparative Analysis of Benzoxazinoid Biosynthesis in Monocots and Dicots: Independent Recruitment of Stabilization and Activation Functions." The Plant Cell **24**(3): 915-928.

Frey, M. (1997). "Analysis of a Chemical Plant Defense Mechanism in Grasses." Science **277**(5326): 696-699.

Frey, M., et al. (2003). "A 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase is integrated in DIMBOA-biosynthesis." Phytochemistry **62**(3): 371-376.

Frey, M., et al. (2009). "Benzoxazinoid biosynthesis, a model for evolution of secondary metabolic pathways in plants." Phytochemistry **70**(15-16): 1645-1651.

Gelvin, S. B. (2003). "Agrobacterium-Mediated Plant Transformation: the Biology behind the "Gene-Jockeying" Tool." Microbiology and Molecular Biology Reviews **67**(1): 16-37.

Hannemann, L., et al. (2018). "A promiscuous beta-glucosidase is involved in benzoxazinoid deglycosylation in *Lamium galeobdolon*." Phytochemistry **156**: 224-233.

Hashimoto, Y. and K. Shudo (1996). "Chemistry of biologically active benzoxazinoids." Phytochemistry **43**(3): 551-559.

Himmighofen, P. (2019). Engineering of the benzoxazinoid pathway in *Nicotiana benthamiana* Master Thesis. Jena.

Jonczyk, R., et al. (2008). "Elucidation of the Final Reactions of DIMBOA-Glucoside Biosynthesis in Maize: Characterization of β - and α -." Plant Physiology **146**(3): 1053-1063.

Laursen, T., et al. (2016). "Characterization of a dynamic metabolon producing the defense compound dhurrin in sorghum." Science **354**(6314): 890.

Mithöfer, A. and W. Boland (2012). "Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects." Annual Review of Plant Biology **63**(1): 431-450.

Niemeyer, H. M. (1988). "Hydroxamic acids (4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones), defence chemicals in the gramineae." Phytochemistry **27**(11): 3349-3358.

Nikus, J., et al. (2003). "Cloning of a plastidic rye (*Secale cereale*) β -glucosidase cDNA and its expression in *Escherichia coli*." Physiologia Plantarum **118**(3): 337-345.

Nomura, T., et al. (2002). "Molecular characterization and chromosomal localization of cytochrome P450 genes involved in the biosynthesis of cyclic hydroxamic acids in hexaploid wheat." Molecular Genetics and Genomics **267**(2): 210-217.

Nomura, T., et al. (2003). "Rearrangement of the genes for the biosynthesis of benzoxazinones in the evolution of Triticeae species." Planta **217**(5): 776-782.

Oikawa, A., et al. (1999). "Purification and Characterization of a β -Glucosidase Specific for 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA) Glucoside in Maize." **54**(3-4).

Oikawa, A., et al. (2002). "Induction of HDMBOA-Glc accumulation and DIMBOA-Glc 4-O-methyltransferase by jasmonic acid in poaceous plants." **61**(3): 331-337.

Pichersky, E. and E. Lewinsohn (2011). "Convergent Evolution in Plant Specialized Metabolism." Annual Review of Plant Biology **62**(1): 549-566.

Pratt, K., et al. (1995). "Cyclic hydroxamic acids in dicotyledonous plants." Biochemical Systematics and Ecology **23**(7-8): 781-785.

-
- Schopfer, P. and A. Brennicke (2010). *Pflanzenphysiologie*, Spektrum Akademischer Verlag.
- Schullehner, K., et al. (2008). "Benzoxazinoid biosynthesis in dicot plants." *Phytochemistry* **69**(15): 2668-2677.
- Sicker, D., et al. (2000). Role of natural benzoxazinones in the survival strategy of plants. *International Review of Cytology*, Academic Press. **198**: 319-346.
- Sue, M., et al. (2000). "Purification and characterization of a β -glucosidase from rye (*Secale cereale* L.) seedlings." *Plant Science* **155**(1): 67-74.
- Sue, M., et al. (2011). "Dispersed Benzoxazinone Gene Cluster: Molecular Characterization and Chromosomal Localization of Glucosyltransferase and Glucosidase Genes in Wheat and Rye." *Plant Physiology* **157**(3): 985-997.
- Tipton, C. L., et al. (1973). "Biosynthesis of 1,4-benzoxazin-3-ones in *Zea mays*." *Phytochemistry* **12**(2): 347-352.
- Voinnet, O., et al. (2003). "Retracted: An enhanced transient expression system in plants based on suppression of gene silencing by the p19 protein of tomato bushy stunt virus." *The Plant Journal* **33**(5): 949-956.
- Von Rad, U., et al. (2002). "Two glucosyltransferases are involved in detoxification of benzoxazinoids in maize." *The Plant Journal* **28**(6): 633-642.
- Wu, W.-H., et al. (2012). "Benzoxazinoids from *Scoparia dulcis* (sweet broomweed) with antiproliferative activity against the DU-145 human prostate cancer cell line." **83**: 110-115.
- Zhang, C., et al. (2020). "ZmMPK6 and ethylene signalling negatively regulate the accumulation of anti-insect metabolites DIMBOA and DIMBOA-Glc in maize inbred line A188." *New Phytologist*.
- Zhao, Z., et al. (2019). "A unique aluminum resistance mechanism conferred by aluminum and salicylic-acid-activated root efflux of benzoxazinoids in maize." *Plant and Soil* **437**(1): 273-289.
- Zupan, J., et al. (2000). "The transfer of DNA from *Agrobacterium tumefaciens* into plants: a feast of fundamental insights." *The Plant Journal* **23**(1): 11-28.

7 Anhang

7.1 Einwaagen

7.1.1 Methanolextraktionen

Tabelle 17: Einwaagen des Pflanzenpulvers der Proben aus dem Botanischen Garten Jena zur Methanolextraktion.

	1.	2.	3.
<i>B. hispanica</i>	114 mg	111 mg	119 mg
<i>B. nigra</i>	102 mg	96 mg	107 mg
<i>L. album</i>	100 mg	104 mg	96 mg
<i>L. galeobdolon</i>	115 mg	80 mg	105 mg
<i>L. orvala</i>	110 mg	110 mg	119 mg
<i>L. purpureum</i>	88 mg	/	/
<i>L. leonurus</i>	106 mg	119 mg	/
<i>L. sibiricus</i>	106 mg	112 mg	/
<i>M. vulgare</i>	100 mg	90 mg	102 mg
<i>P. tuberosa</i>	114 mg	/	/
<i>S. citrina</i>	113 mg	109 mg	94 mg
<i>S. macrantha</i>	112 mg	104 mg	/
<i>S. palustris</i>	101 mg	117 mg	103 mg
<i>A. Hungaricus</i>	119 mg	112 mg	117 mg
<i>A. aurantiaca</i>	82 mg	121 mg	118 mg
<i>B. prionitis</i>	114 mg	87 mg	98 mg
<i>C. pungens</i>	89 mg	106 mg	117 mg
<i>E. pulchellum</i>	97 mg	/	/
<i>G. ceylanicum</i>	100 mg	110 mg	114 mg
<i>H. alternata</i>	95 mg	103 mg	/
<i>H. repanda</i>	105 mg	106 mg	111 mg
<i>T. erecta</i>	94 mg	/	/
<i>T. mysorensis</i>	97 mg	/	/
<i>W. elongata</i>	95 mg	85 mg	112 mg
<i>C. flava</i>	100 mg	96 mg	93 mg
<i>J. scheidweileri</i>	119 mg	108 mg	117 mg
<i>D. elatum</i>	115 mg	92 mg	/

Tabelle 18: Einwaagen des Pflanzenpulvers der Proben aus dem Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie Jena zur Methanolextraktion.

		Wurzeln	Blüten + Blätter	/	/
<i>L. album</i>	1	111 mg	95 mg	/	/
	2	118 mg	118 mg	/	/
		Blatt jung	Blatt alt	Wurzeln	/
<i>G. pratense</i>	1	85 mg	103 mg	109 mg	/
	2	115 mg	106 mg	95 mg	/
	3	111 mg	117 mg	91 mg	/
		Blüten	Blätter	Wurzeln	Stängel
<i>C. regalis</i>	1	118 mg	113 mg	113 mg	116 mg

	2	98 mg	87 mg	115 mg	86 mg
	3	108 mg	92 mg	115 mg	91 mg
		Blätter	Blätter + Blüten	Wurzeln	/
<i>T. repens</i>	1	98 mg	/	/	/
	2	/	104 mg	/	/
	3	101 mg	/	96 mg	/
		Blatt jung	Blatt alt	Wurzeln	/
<i>R. patientia</i>	1	105 mg	89 mg	106 mg	/
	2	110 mg	93 mg	115 mg	/
	3	89 mg	110 mg	mg	/

Tabelle 19: Einwaage der vom Betreuer zur Verfügung gestellten *Aphelandra squarrosa*-Positivkontrolle zur Methanolextraktion.

	Blatt jung
<i>A. squarrosa</i>	93 mg

Tabelle 20: Einwaagen der Proben der Proben des Jasmonsäure-Induktionsversuches zur Methanolextraktion.

		1.	2.	3.	4.
<i>L. album</i>	Kontrolle	103 mg	104 mg	83 mg	119 mg
	Jasmonsäure	105 mg	82 mg	105 mg	119 mg
<i>C. regalis</i>	Kontrolle	96 mg	119 mg	105 mg	107 mg
	Jasmonsäure	113 mg	119 mg	104 mg	86 mg

Tabelle 21: Einwaagen der *Lamium*-Proben zur Methanolextraktion.

	1.	2.	3.	Blüten
<i>L. orvala</i>	102 mg	92 mg	108 mg	/
<i>L. orvala Alba</i>	100 mg	96 mg	100 mg	/
<i>L. maculatum</i>	98 mg	90 mg	95 mg	84 mg
<i>L. montanum</i>	96 mg	95 mg	112 mg	/
<i>L. galeobdolon</i>	88 mg	98 mg	88 mg	/
<i>L. album</i>	96 mg	85 mg	g	106 mg

Tabelle 22: Einwaagen der transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen zur Methanolextraktion.

	1.	2.	3.	4.	5.
<i>Bx1</i>	119 mg	107 mg	113 mg	72 mg	91 mg
<i>Bx1+2</i>	89 mg	87 mg	82 mg	88 mg	95 mg
<i>Bx1-3</i>	112 mg	90 mg	107 mg	/	/
<i>Bx1-4</i>	116 mg	102 mg	117 mg	/	/
<i>Bx1-5</i>	118 mg	94 mg	119 mg	/	/
<i>Bx1-8</i>	98 mg	119 mg	94 mg	/	/
<i>Bx1-4+6-8</i>	119 mg	113 mg	97 mg	/	/
<i>Bx1-6+8</i>	106 mg	99 mg	117 mg	/	/
<i>Bx1-5+8</i>	83 mg	98 mg	110 mg	85 mg	103 mg
<i>eGFP</i>	109 mg	90 mg	94 mg	/	/
<i>eGFP</i>	86 mg	98 mg	98 mg	/	/
<i>eGFP</i>	98 mg	116 mg	118 mg	/	/

7.1.2 Hexanextraktionen

Tabelle 23: Einwaagen der transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen zur Hexanextraktion.
Ü.N. = über Nacht.

	1.	2.	3.
eGFP (1 h)	107 mg	/	/
eGFP (ü.N.)	93 mg	/	/
Bx1 (1 h)	123 mg	/	/
Bx1 (ü.N.)	102 mg	/	/
Bx1	86 mg	90 mg	/
Bx1	91 mg	91 mg	/
eGFP	107 mg	117 mg	103 mg
eGFP	113 mg	111 mg	86 mg
eGFP	97 mg	89 mg	96 mg

7.2 Peak-Höhen

7.2.1 Originalwerte

Tabelle 24: Originalwerte der Peak-Höhen der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der *Lamium*-Proben, sowie der Proben des Jasmonsäure-Induktionsversuches. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Peak Höhe (cps)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
Proben des Botanischen Garten Jena + Proben des MPI für Chemische Ökologie Jena	blank	0.00E+00	4.00E+02	6.00E+02	2.00E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	4.00E+02	4.00E+02	4.00E+02	4.08E+02
	blank	2.25E+02	6.25E+02	4.00E+02	8.04E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	4.68E+04	1.40E+06	3.33E+05	1.43E+06
	blank	6.05E+02	1.80E+03	4.25E+02	6.08E+02
	<i>B. hispanica</i> #1	4.25E+02	1.21E+03	4.90E+04	3.40E+03
	<i>B. hispanica</i> #2	7.13E+02	2.00E+03	6.05E+04	8.09E+02
	<i>B. hispanica</i> #3	6.97E+02	2.21E+03	6.39E+04	6.80E+02
	<i>B. nigra</i> #1	1.00E+03	1.49E+03	7.28E+04	2.57E+03
	<i>B. nigra</i> #2	8.00E+02	3.00E+03	4.57E+04	8.95E+02
	<i>B. nigra</i> #3	1.31E+03	1.62E+03	4.55E+04	2.19E+03
	<i>L. album</i> #1	1.82E+03	1.29E+03	1.48E+04	8.46E+03
	<i>L. album</i> #2	6.00E+02	1.89E+03	1.91E+04	9.14E+03
	<i>L. album</i> #3	4.25E+02	1.55E+03	1.99E+04	1.27E+04
	<i>L. galeobdolon</i> Blatt #1	2.60E+06	6.27E+03	4.55E+05	8.92E+03
	<i>L. galeobdolon</i> Blatt #2	2.61E+06	5.45E+03	1.67E+05	1.40E+03
	<i>L. galeobdolon</i> Blatt #3	2.61E+06	3.61E+03	2.22E+05	2.00E+03

<i>L. orvala</i> Blatt #1	2.40E+03	2.02E+03	2.72E+04	1.39E+04
<i>L. orvala</i> Blatt #2	2.42E+03	1.23E+03	1.70E+04	1.14E+04
<i>L. orvala</i> Blatt #3	2.02E+03	1.01E+03	1.40E+04	1.24E+04
<i>L. purpureum</i> Blatt+ Blüte	1.43E+03	2.20E+03	1.54E+04	4.63E+03
<i>L. leonurus</i> Blatt #1	8.00E+03	1.60E+03	5.30E+04	3.40E+03
<i>L. leonurus</i> Blatt #2	1.73E+03	1.00E+03	2.69E+04	6.46E+03
blank	3.02E+03	4.08E+02	4.08E+02	6.00E+02
<i>L. sibiricus</i> Blatt #1	3.21E+03	6.00E+02	2.88E+04	1.72E+03
<i>L. sibiricus</i> Blatt #2	3.81E+03	1.42E+03	4.53E+04	4.40E+03
<i>M. vulgare</i> Blatt #1	2.40E+03	1.25E+03	4.80E+04	8.93E+02
<i>M. vulgare</i> Blatt #2	2.60E+03	1.40E+03	2.56E+04	9.00E+02
<i>M. vulgare</i> Blatt #3	2.60E+03	1.20E+03	4.42E+04	1.90E+03
<i>P. tuberosa</i> Blatt	6.00E+02	2.84E+03	4.48E+04	2.18E+04
<i>S. citrina</i> Blatt #1	2.42E+03	8.05E+02	2.97E+04	1.35E+04
<i>S. citrina</i> Blatt #2	1.00E+03	1.20E+03	7.00E+03	8.19E+03
<i>S. citrina</i> Blatt #3	1.08E+03	1.40E+03	1.87E+04	6.67E+03
<i>S. macrantha</i> Blatt #1	2.01E+03	8.17E+02	3.93E+04	5.70E+03
<i>S. macrantha</i> Blatt #2	1.62E+03	1.41E+03	4.42E+04	8.40E+03
<i>S. palustris</i> Blatt #1	1.41E+03	6.75E+02	1.68E+04	1.32E+04
<i>S. palustris</i> Blatt #2	1.21E+03	1.01E+03	1.24E+04	1.73E+04
<i>S. palustris</i> Blatt #3	2.20E+03	8.00E+02	9.58E+03	1.34E+04
Blank	2.21E+03	2.25E+02	4.50E+02	2.25E+02
<i>A. hungaricus</i> Blatt #1	2.71E+06	6.55E+03	8.36E+05	1.14E+03
<i>A. hungaricus</i> Blatt #2	2.80E+06	3.45E+03	1.22E+06	2.03E+03
<i>A. hungaricus</i> Blatt #3	2.71E+06	7.43E+03	1.26E+06	1.67E+03
<i>A. aurantiaca</i> Blatt #1	2.24E+05	1.32E+05	9.63E+03	6.11E+05
<i>A. aurantiaca</i> Blatt #2	1.94E+06	1.51E+06	7.62E+04	2.58E+06
<i>A. aurantiaca</i> Blatt #3	1.39E+06	7.76E+05	9.36E+04	1.97E+06
<i>B. prionitis</i>	2.67E+03	6.08E+02	2.05E+04	5.81E+03

Blatt #1				
<i>B. prionitis</i> Blatt #2	1.41E+03	2.25E+02	6.84E+03	6.82E+03
<i>B. prionitis</i> Blatt #3	7.48E+02	4.00E+02	1.04E+04	4.63E+03
<i>C. pungens</i> Blatt #1	2.57E+06	8.17E+02	1.63E+05	4.60E+03
<i>C. pungens</i> Blatt #2	2.68E+06	1.25E+03	1.53E+05	3.40E+03
<i>C. pungens</i> Blatt #3	2.65E+06	2.21E+03	1.47E+05	6.99E+03
<i>E. pulchellum</i> Blatt	2.05E+03	6.25E+02	1.66E+04	7.74E+03
<i>G. ceylanicum</i> Blatt #1	1.43E+03	6.00E+02	1.20E+03	3.02E+03
<i>G. ceylanicum</i> Blatt #2	1.80E+03	4.00E+02	2.09E+03	6.65E+03
<i>G. ceylanicum</i> Blatt #3	2.40E+03	2.25E+02	2.43E+03	9.83E+03
blank	4.00E+02	2.25E+02	4.00E+02	4.08E+02
<i>H. alternata</i> Blatt #1	8.08E+02	1.02E+03	1.14E+03	3.21E+03
<i>H. alternata</i> Blatt #2	1.63E+03	4.08E+02	6.00E+02	1.80E+03
<i>H. repanda</i> Blatt #1	1.00E+03	4.00E+02	6.00E+02	2.60E+03
<i>H. repanda</i> Blatt #2	1.00E+03	4.08E+02	1.80E+03	2.46E+03
<i>H. repanda</i> Blatt #3	2.01E+03	4.00E+02	6.00E+02	1.63E+03
<i>T. erecta</i> Blatt	6.05E+02	4.50E+02	5.27E+03	1.12E+03
<i>T. mysorensis</i> Blatt	1.03E+03	8.04E+02	3.23E+03	3.43E+03
<i>W. elongata</i> Blatt #1	1.40E+03	6.00E+02	1.61E+03	3.75E+02
<i>W. elongata</i> Blatt #2	3.00E+03	2.00E+02	2.23E+03	1.38E+03
<i>W. elongata</i> Blatt #3	3.00E+03	4.50E+02	3.23E+03	5.94E+02
<i>C. flava</i> Blatt #1	2.59E+06	8.05E+02	1.64E+05	5.89E+03
<i>C. flava</i> Blatt #2	2.58E+06	1.03E+03	4.60E+04	5.39E+03
<i>C. flava</i> Blatt #3	2.62E+06	6.08E+02	7.88E+04	5.67E+03
<i>J. scheidweileri</i> Blatt #1	1.01E+03	4.00E+02	1.92E+04	1.87E+03
<i>J. scheidweileri</i> Blatt #2	2.45E+03	0.00E+00	3.36E+04	1.46E+03
<i>J. scheidweileri</i> Blatt #3	9.60E+03	6.38E+02	2.40E+04	1.20E+03
<i>D. elatum</i> Blatt #1	1.20E+03	1.40E+03	6.56E+04	4.61E+03

<i>D. elatum</i> Blatt #2	6.25E+02	1.66E+03	7.20E+04	5.95E+03
<i>D. elatum</i> Blatt #3	1.00E+03	4.14E+03	1.30E+05	4.45E+03
blank	8.05E+02	2.00E+02	6.05E+02	4.08E+02
<i>L. album</i> Wurzel #1	1.20E+03	6.00E+02	4.00E+02	4.08E+02
<i>L. album</i> Blatt + Blüte #1	1.41E+03	2.25E+02	2.05E+03	1.87E+03
<i>L. album</i> Wurzel #2	1.01E+03	4.08E+02	2.00E+02	4.08E+02
<i>L. album</i> Blatt + Blüte #2	1.20E+03	1.03E+03	1.11E+04	2.66E+03
<i>G. pratense</i> Blatt jung #1	1.00E+03	1.08E+03	9.34E+03	6.55E+02
<i>G. pratense</i> Blatt alt #1	6.62E+03	1.06E+03	3.17E+04	3.60E+03
<i>G. pratense</i> Wurzel #1	4.00E+02	4.00E+02	1.00E+03	8.17E+02
<i>G. pratense</i> Blatt jung #2	1.62E+03	8.57E+02	2.56E+04	4.92E+03
<i>G. pratense</i> Blatt alt #2	8.08E+02	1.41E+03	4.10E+04	1.39E+03
<i>G. pratense</i> Wurzel #2	3.21E+03	6.00E+02	9.96E+02	1.23E+03
<i>G. pratense</i> Blatt jung #3	6.00E+02	1.00E+03	6.21E+03	2.06E+03
<i>G. pratense</i> Blatt alt #3	8.00E+02	6.08E+02	9.22E+03	3.40E+03
<i>G. pratense</i> Wurzel #3	2.80E+03	2.00E+02	6.08E+02	4.08E+02
blank	4.08E+02	2.00E+02	4.08E+02	6.00E+02
<i>C. regalis</i> Blüte #1	1.01E+03	5.25E+02	4.42E+03	3.40E+03
<i>C. regalis</i> Blatt #1	1.40E+03	6.00E+02	1.88E+04	1.85E+03
<i>C. regalis</i> Wurzel #1	1.27E+03	4.08E+02	4.08E+02	7.61E+02
<i>C. regalis</i> Stiel #1	2.00E+03	1.20E+03	1.64E+04	2.20E+03
<i>C. regalis</i> Blüte #2	1.05E+03	8.17E+02	5.25E+03	9.95E+02
<i>C. regalis</i> Blatt #2	4.08E+02	1.21E+03	9.51E+03	2.52E+03
<i>C. regalis</i> Wurzel #2	8.04E+02	4.08E+02	4.25E+02	3.37E+02
<i>C. regalis</i> Stiel #2	4.08E+02	1.20E+03	1.65E+04	1.82E+03
<i>C. regalis</i> Blüte #3	4.08E+02	6.25E+02	6.16E+03	5.20E+03
<i>C. regalis</i> Blatt #3	1.40E+03	4.08E+02	5.65E+03	8.20E+03
<i>C. regalis</i> Wurzel #3	6.00E+02	6.00E+02	8.00E+02	6.58E+02
<i>C. regalis</i> Stiel #3	2.00E+02	1.00E+03	5.81E+03	4.80E+03

Jasmonsäure-Versuch	<i>T. repens</i> Blatt #1	8.17E+02	1.22E+03	3.72E+04	9.63E+02
	<i>T. repens</i> Blatt + Blüte	4.08E+02	1.03E+03	3.52E+04	2.00E+03
	<i>T. repens</i> Blatt #2	8.00E+02	1.49E+03	2.91E+04	8.00E+02
	<i>T. repens</i> Wurzel	6.05E+02	4.00E+02	6.08E+02	4.08E+02
	blank	1.02E+03	2.00E+02	4.08E+02	2.25E+02
	<i>R. patientia</i> Blatt alt #1	4.00E+02	2.03E+03	2.94E+04	3.86E+03
	<i>R. patientia</i> Wurzels #1	2.00E+02	4.00E+02	4.08E+02	1.03E+03
	<i>R. patientia</i> Blatt jung #1	6.00E+02	1.00E+03	2.64E+03	1.48E+03
	<i>R. patientia</i> Blatt alt #2	6.75E+02	2.41E+03	1.06E+04	5.22E+03
	<i>R. patientia</i> Wurzels #2	4.50E+02	4.66E+03	4.13E+04	1.06E+04
	<i>R. patientia</i> Blatt jung #2	1.02E+03	2.00E+02	1.00E+03	1.80E+03
	<i>R. patientia</i> Blatt alt #3	6.75E+02	1.40E+03	1.08E+04	2.21E+03
	<i>R. patientia</i> Wurzels #3	8.08E+02	3.72E+02	5.44E+04	1.99E+04
	<i>R. patientia</i> Blatt jung #3	1.00E+03	2.25E+02	4.08E+02	9.63E+02
	blank	2.00E+02	0.00E+00	2.00E+02	2.00E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	4.42E+03	2.06E+05	1.15E+05	9.16E+04
	blank	6.05E+02	2.25E+02	1.00E+03	4.00E+02
	<i>C. regalis</i> Ctr. 1	4.50E+02	3.26E+03	3.60E+04	3.26E+03
	<i>C. regalis</i> Ctr. 2	4.08E+02	1.41E+03	9.44E+03	4.22E+03
	<i>C. regalis</i> Ctr. 3	6.08E+02	1.69E+03	2.66E+04	5.20E+03
	<i>C. regalis</i> Ctr. 4	6.05E+02	8.05E+02	1.25E+04	2.80E+03
	<i>C. regalis</i> JA1	2.00E+02	6.25E+02	1.16E+04	4.20E+03
	<i>C. regalis</i> JA2	2.25E+02	4.50E+02	9.20E+03	4.20E+03
	<i>C. regalis</i> JA3	6.25E+02	8.45E+02	3.29E+04	2.69E+03
	<i>C. regalis</i> JA4	8.00E+02	1.05E+03	1.57E+04	2.40E+03
	blank	4.00E+02	4.00E+02	4.00E+02	1.00E+03
	blank	6.00E+02	2.00E+02	2.25E+02	4.08E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	6.63E+03	2.14E+05	1.42E+05	1.25E+05
	blank	4.00E+02	2.00E+02	6.00E+02	4.00E+02
	<i>L. album</i>	6.25E+02	8.05E+02	3.21E+03	5.01E+03

	Ctr. 1				
	<i>L. album</i>				
	Ctr. 2	6.05E+02	4.50E+02	2.23E+03	3.12E+03
	<i>L. album</i>				
	Ctr. 3	4.08E+02	4.50E+02	1.88E+03	1.62E+03
	<i>L. album</i>				
	Ctr. 4	6.05E+02	1.00E+03	3.52E+03	5.78E+03
	<i>L. album</i>				
	JA 1	8.00E+02	6.25E+02	2.00E+03	5.00E+03
	<i>L. album</i>				
JA 2	4.50E+02	4.00E+02	2.22E+03	4.17E+03	
<i>L. album</i>					
JA 3	6.00E+02	1.61E+03	5.00E+03	2.82E+03	
<i>L. album</i>					
JA 4	6.00E+02	1.03E+03	2.51E+03	3.69E+03	
blank	8.05E+02	2.00E+02	2.25E+02	4.50E+02	
Lamium-Proben	blank	8.45E+02	2.25E+02	6.00E+02	6.25E+02
	<i>A. squarrosa</i>				
	Blatt jung	8.58E+03	8.23E+05	2.37E+05	1.53E+05
	blank	6.05E+02	6.50E+02	4.00E+02	6.08E+02
	<i>L. orvala</i> #1	1.23E+03	6.25E+02	2.55E+04	9.15E+03
	<i>L. orvala</i> #2	6.25E+02	1.00E+03	3.91E+04	9.46E+03
	<i>L. orvala</i> #2	8.17E+02	1.67E+03	2.45E+04	6.55E+03
	<i>L. orvala Alba</i> #1	8.17E+02	6.68E+02	1.90E+04	1.02E+04
	<i>L. orvala Alba</i> #2	8.45E+02	8.61E+02	2.72E+04	5.30E+03
	<i>L. orvala Alba</i> #3	1.20E+03	1.03E+03	2.29E+04	9.16E+03
	<i>L. maculatum</i> #1	6.05E+02	5.24E+03	4.94E+04	1.25E+04
	<i>L. maculatum</i> #2	6.00E+02	7.42E+02	4.15E+04	1.35E+04
	<i>L. maculatum</i> #3	8.04E+02	4.00E+02	1.00E+03	1.42E+03
	<i>L. maculatum</i> Blüte	8.25E+02	5.02E+02	1.54E+04	1.01E+04
	blank	1.20E+03	4.00E+02	1.40E+03	1.03E+03
	<i>L. montanum</i> #1	2.78E+06	1.52E+04	3.00E+06	6.06E+03
	<i>L. montanum</i> #2	2.48E+06	2.29E+04	3.17E+06	3.29E+03
	<i>L. montanum</i> #3	3.00E+06	1.75E+04	3.16E+06	7.35E+03
	<i>L. galeobdolon</i> #1	2.88E+06	1.79E+04	3.07E+06	4.00E+03
	<i>L. galeobdolon</i> #2	2.60E+06	7.80E+03	1.55E+06	1.24E+04
	<i>L. galeobdolon</i> #3	3.07E+06	1.61E+03	2.92E+06	3.40E+03
	<i>L. album</i> #1	1.16E+04	3.81E+03	5.99E+04	6.96E+03
	<i>L. album</i> #2	4.89E+03	2.81E+03	4.34E+04	5.20E+03
	<i>L. album</i> #3	6.60E+03	1.00E+03	3.92E+04	6.20E+03
	<i>L. album</i>				
	Blüte	5.47E+03	1.10E+03	1.64E+04	3.55E+03
	blank	4.20E+03	6.00E+02	3.18E+03	8.00E+02

Tabelle 25: Originalwerte der Peak-Höhen der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Analyte Peak Height (cps)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
1	blank	4.60E+03	4.08E+02	1.80E+03	4.08E+02
	<i>Bx1+2</i> #1	1.62E+03	4.50E+02	1.03E+03	4.50E+02

	Bx1+2 #2	6.00E+02	4.08E+02	1.07E+03	4.08E+02
	Bx1-5+8 #2	2.34E+04	2.25E+02	5.71E+04	2.25E+02
	Bx1-5+8 #1	1.45E+04	6.75E+02	7.10E+04	6.75E+02
	eGFP-Ctr. #1	1.01E+03	2.25E+02	1.23E+03	2.25E+02
	eGFP-Ctr. #2	6.08E+02	4.00E+02	1.07E+03	4.00E+02
	eGFP-Ctr. #3	4.60E+03	6.75E+02	2.10E+03	6.75E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	7.10E+03	4.46E+05	2.04E+05	4.46E+05
	Oxindol	8.25E+02	4.00E+02	1.60E+03	4.00E+02
	Indol	2.41E+03	2.25E+02	1.62E+03	2.25E+02
	Blank	1.20E+03	6.00E+02	1.80E+03	6.00E+02
	Blank	2.40E+03	4.08E+02	1.13E+03	4.08E+02
3	Blank	2.21E+03	4.00E+02	2.25E+02	1.03E+03
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.05E+04	3.30E+05	2.43E+05	2.07E+05
	Blank	6.05E+02	6.08E+02	8.04E+02	4.08E+02
	Bx1-8 #1	1.86E+03	4.36E+04	8.10E+04	2.20E+05
	Bx1-8 #2	1.00E+03	6.20E+04	4.14E+04	1.13E+05
	Bx1-8 #3	4.08E+02	1.96E+04	3.18E+04	6.41E+04
	Bx1-6+8 #1	1.23E+03	2.25E+02	3.28E+04	2.33E+03
	Bx1-6+8 #2	4.00E+02	4.00E+02	1.27E+04	1.78E+03
	Bx1-6+8 #3	4.08E+02	4.00E+02	3.50E+04	2.01E+03
	Bx1-4+6-8 #1	6.00E+02	6.05E+02	1.16E+05	2.58E+03
	Bx1-4+6-8 #2	8.00E+02	4.00E+02	1.11E+05	1.55E+03
	Bx1-4+6-8 #3	6.00E+02	8.17E+02	2.94E+05	2.41E+03
	Blank	6.25E+02	8.00E+02	4.08E+02	4.50E+02
	Bx1-5 #1	2.00E+03	4.08E+02	1.02E+05	2.81E+03
	Bx1-5 #2	1.21E+03	6.05E+02	6.96E+04	9.00E+02
	Bx1-5 #3	2.09E+03	4.50E+02	7.64E+04	3.08E+03
	Bx1-4 #1	4.00E+02	4.50E+02	7.44E+05	2.03E+03
	Bx1-4 #2	8.00E+02	1.01E+03	8.71E+05	1.05E+03
	Bx1-4 #3	4.00E+02	1.61E+03	9.87E+05	2.33E+03
	eGFP #1	4.08E+02	4.00E+02	6.00E+02	3.49E+03
	eGFP #2	2.25E+02	4.00E+02	1.00E+03	2.03E+03
	eGFP #3	4.08E+02	2.25E+02	4.00E+02	2.10E+03
	Blank	1.21E+03	2.00E+02	2.25E+02	4.08E+02
4	Blank	1.07E+03	2.00E+02	6.00E+02	2.25E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.20E+04	5.06E+05	3.26E+05	2.57E+05
	Oxindol	8.00E+02	4.08E+02	2.25E+02	8.04E+02
	Indol	1.00E+03	6.05E+02	4.08E+02	8.04E+02
	Blank	1.00E+03	4.00E+02	2.25E+02	2.25E+02
	Bx1-5+8 #1	9.25E+03	4.08E+02	9.86E+04	3.71E+03
	Bx1-5+8 #2	1.05E+03	1.00E+03	2.43E+03	1.59E+03
	Bx1-5+8 #3	9.51E+03	4.50E+02	3.78E+04	3.45E+03
	Bx1-2 #1	4.00E+02	6.00E+02	6.05E+02	2.11E+03
	Bx1-2 #2	4.08E+02	4.00E+02	4.50E+02	1.69E+03

	Bx1-2 #3	4.50E+02	4.00E+02	1.03E+03	2.30E+03
	Bx1 #1	4.08E+02	4.00E+02	8.00E+02	1.81E+03
	Bx1 #2	4.08E+02	6.00E+02	4.08E+02	8.81E+02
	Bx1 #3	4.50E+02	4.00E+02	8.00E+02	2.29E+03
	blank	1.00E+03	4.50E+02	4.08E+02	4.08E+02
	blank	6.25E+02	4.00E+02	8.04E+02	6.00E+02

Tabelle 26: Originalwerte der Peak-Höhen der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Analyte Peak Height (cps)	
		Oxindol	Indol
1	Blank	7.03E+02	5.53E+02
	Bx1+2 #1	4.21E+04	4.94E+02
	Bx1+2 #2	2.53E+04	5.50E+02
	Bx1-5+8 #2	1.01E+03	3.75E+02
	Bx1-5+8 #1	5.71E+02	3.98E+02
	eGFP-Ctr. #1	5.21E+02	3.81E+02
	eGFP-Ctr. #2	6.32E+02	3.02E+02
	eGFP-Ctr. #3	1.32E+03	3.73E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	5.30E+02	2.47E+02
	Oxindol	1.17E+06	2.64E+02
	Indol	6.65E+02	5.70E+05
1+2	blank	7.59E+02	2.66E+02
	Bx1 #2	5.12E+02	4.98E+02
	Bx1 #1	5.62E+02	4.45E+02
	Bx1+2 #1	1.57E+04	2.17E+02
	Bx1+2 #2	9.03E+03	2.40E+02
	Bx1+2+3 #1	5.11E+02	2.57E+02
	Bx1+2+3 #2	0.00E+00	3.29E+02
	Bx1+2+3 #3	4.07E+02	2.43E+02
	eGFP #1	5.79E+02	2.03E+02
	eGFP #2	6.39E+02	2.51E+02
	eGFP #3	3.61E+02	2.60E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	2.52E+02
	Oxindol	6.86E+05	2.04E+02
	Indol	0.00E+00	3.30E+05
4	Blank	2.98E+03	8.85E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	2.26E+03	0.00E+00
	Oxindol	2.46E+03	1.18E+03
	Indol	2.33E+03	9.42E+05
	blank	5.18E+05	0.00E+00
	Bx1-5+8 #1	2.10E+03	0.00E+00

	<i>Bx1-5+8 #2</i>	1.10E+03	3.17E+02
	<i>Bx1-5+8 #3</i>	1.05E+03	8.79E+02
	<i>Bx1-2 #1</i>	8.15E+02	5.77E+02
	<i>Bx1-2 #2</i>	7.02E+02	5.50E+03
	<i>Bx1-2 #3</i>	6.68E+02	1.93E+04
	<i>Bx1 #1</i>	7.35E+02	1.58E+04
	<i>Bx1 #2</i>	6.96E+02	8.00E+02
	<i>Bx1 #3</i>	1.92E+03	5.21E+02
	blank	5.35E+02	0.00E+00
	blank	4.23E+02	6.97E+02

7.2.2 Mittelwerte

Tabelle 27: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der Lamium-Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Peak Höhe (cps)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
Proben des Botanischen Garten Jena + Proben des MPI für Chemische Ökologie Jena	blank	9.66E+02	4.76E+02	4.56E+02	4.53E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	2.36E+04	7.00E+05	1.67E+05	7.15E+05
	<i>B. hispanica</i>	6.12E+02	1.81E+03	5.78E+04	1.63E+03
	<i>B. nigra</i>	1.04E+03	2.04E+03	5.47E+04	1.89E+03
	<i>L. album</i>	9.48E+02	1.58E+03	1.79E+04	1.01E+04
	<i>L. galeobdolon</i>	2.61E+06	5.11E+03	2.81E+05	4.11E+03
	<i>L. orvala</i>	2.28E+03	1.42E+03	1.94E+04	1.26E+04
	<i>L. purpureum</i> Blatt + Blüte	1.43E+03	2.20E+03	1.54E+04	4.63E+03
	<i>L. leonurus</i>	4.87E+03	1.30E+03	4.00E+04	4.93E+03
	<i>L. sibiricus</i>	3.51E+03	1.01E+03	3.71E+04	3.06E+03
	<i>M. vulgare</i>	2.53E+03	1.28E+03	3.93E+04	1.23E+03
	<i>P. tuberosa</i>	6.00E+02	2.84E+03	4.48E+04	2.18E+04
	<i>S. citrina</i>	1.50E+03	1.14E+03	1.85E+04	9.45E+03
	<i>S. macrantha</i>	1.82E+03	1.11E+03	4.18E+04	7.05E+03
	<i>S. palustris</i>	1.61E+03	8.28E+02	1.29E+04	1.46E+04
	<i>A. hungaricus</i>	2.74E+06	5.81E+03	1.11E+06	1.61E+03
	<i>A. aurantiaca</i>	1.18E+06	8.06E+05	5.98E+04	1.72E+06
	<i>B. prionitis</i>	1.61E+03	4.11E+02	1.26E+04	5.75E+03
	<i>C. pungens</i>	2.63E+06	1.43E+03	1.54E+05	5.00E+03
	<i>E. pulchellum</i>	2.05E+03	6.25E+02	1.66E+04	7.74E+03
	<i>G. ceylanicum</i>	1.88E+03	4.08E+02	1.91E+03	6.50E+03
	<i>H. alternata</i>	1.22E+03	7.14E+02	8.70E+02	2.51E+03
	<i>H. repanda</i>	1.34E+03	4.03E+02	1.00E+03	2.23E+03
	<i>T. erecta</i>	6.05E+02	4.50E+02	5.27E+03	1.12E+03
	<i>T. myorenensis</i>	1.03E+03	8.04E+02	3.23E+03	3.43E+03

	<i>W. elongata</i>	2.47E+03	4.17E+02	2.36E+03	7.83E+02
	<i>C. flava</i>	2.60E+06	8.14E+02	9.63E+04	5.65E+03
	<i>J. scheidweileri</i>	4.35E+03	3.46E+02	2.56E+04	1.51E+03
	<i>D. elatum</i>	9.42E+02	2.40E+03	8.92E+04	5.00E+03
	<i>L. album</i> Wurzeln	1.11E+03	5.04E+02	3.00E+02	4.08E+02
	<i>L. album</i> Blatt + Blüte	1.31E+03	6.28E+02	6.58E+03	2.27E+03
	<i>G. pratense</i> Blatt jung	1.07E+03	9.79E+02	1.37E+04	2.55E+03
	<i>G. pratense</i> Blatt alt	2.74E+03	1.03E+03	2.73E+04	2.80E+03
	<i>G. pratense</i> Wurzeln	2.14E+03	4.00E+02	8.68E+02	8.18E+02
	<i>C. regalis</i> Blüte	8.23E+02	6.56E+02	5.28E+03	3.20E+03
	<i>C. regalis</i> Blatt	1.07E+03	7.39E+02	1.13E+04	4.19E+03
	<i>C. regalis</i> Wurzeln	8.91E+02	4.72E+02	5.44E+02	5.85E+02
	<i>C. regalis</i> Stiel	8.69E+02	1.13E+03	1.29E+04	2.94E+03
	<i>T. repens</i> Blatt	8.09E+02	1.36E+03	3.32E+04	8.82E+02
	<i>T. repens</i> Blatt + Blüte	4.08E+02	1.03E+03	3.52E+04	2.00E+03
	<i>T. repens</i> Wurzeln	6.05E+02	4.00E+02	6.08E+02	4.08E+02
	<i>R. patientia</i> Blatt alt	5.83E+02	1.95E+03	1.69E+04	3.76E+03
	<i>R. patientia</i> Wurzeln	4.86E+02	1.81E+03	3.20E+04	1.05E+04
	<i>R. patientia</i> Blatt jung	8.73E+02	4.75E+02	1.35E+03	1.41E+03
Jasmonsäure-Versuch	blank	4.02E+02	2.08E+02	5.33E+02	5.33E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	4.42E+03	2.06E+05	1.15E+05	9.16E+04
	<i>C. regalis</i> Ctr.	5.18E+02	1.79E+03	2.11E+04	3.87E+03
	<i>C. regalis</i> JA	4.63E+02	7.43E+02	1.74E+04	3.37E+03
	blank	6.02E+02	2.00E+02	3.50E+02	419.3333333
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	6630	214000	142000	125000
	<i>L. album</i> Ctr.	560.75	676.25	2710	3882.5
	<i>L. album</i> JA	612.5	916.25	2932.5	3920
Lamium-Proben	blank	1.71E+03	4.69E+02	1.40E+03	7.66E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	8.58E+03	8.23E+05	2.37E+05	1.53E+05
	<i>L. orvala</i>	8.91E+02	1.10E+03	2.97E+04	8.39E+03

	<i>L. orvala</i> <i>Alba</i>	9.54E+02	8.53E+02	2.30E+04	8.22E+03
	<i>L. maculatum</i>	6.70E+02	2.13E+03	3.06E+04	9.14E+03
	<i>L. maculatum</i> Blüte	8.25E+02	5.02E+02	1.54E+04	1.01E+04
	<i>L. montanum</i>	2.75E+06	1.85E+04	3.11E+06	5.57E+03
	<i>L. galeobdolon</i>	2.85E+06	9.10E+03	2.51E+06	6.60E+03
	<i>L. album</i>	7.70E+03	2.54E+03	4.75E+04	6.12E+03
	<i>L. album</i> Blüte	5.47E+03	1.10E+03	1.64E+04	3.55E+03

Tabelle 28: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Analyte Peak Height (cps)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
1	blank	2.73E+03	4.72E+02	1.58E+03	4.72E+02
	<i>Bx1-2</i>	1.11E+03	4.29E+02	1.05E+03	4.29E+02
	<i>Bx1-5+8</i>	1.90E+04	4.50E+02	6.41E+04	4.50E+02
	<i>eGFP</i>	2.07E+03	4.33E+02	1.47E+03	4.33E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	7.10E+03	4.46E+05	2.04E+05	4.46E+05
	Oxindol	8.25E+02	4.00E+02	1.60E+03	4.00E+02
	Indol	2.41E+03	2.25E+02	1.62E+03	2.25E+02
3	blank	1.16E+03	5.02E+02	4.16E+02	5.74E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.05E+04	3.30E+05	2.43E+05	2.07E+05
	<i>Bx1-8</i>	1.09E+03	4.17E+04	5.14E+04	1.32E+05
	<i>Bx1-6+8</i>	6.79E+02	3.42E+02	2.68E+04	2.04E+03
	<i>Bx1-4+6-8</i>	6.67E+02	6.07E+02	1.74E+05	2.18E+03
	<i>Bx1-5</i>	1.77E+03	4.88E+02	8.27E+04	2.26E+03
	<i>Bx1-4+6-8</i>	5.33E+02	1.02E+03	8.67E+05	1.80E+03
<i>eGFP</i>	3.47E+02	3.42E+02	6.67E+02	2.54E+03	
4	blank	9.24E+02	3.63E+02	5.09E+02	3.65E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.20E+04	5.06E+05	3.26E+05	2.57E+05
	Oxindol	8.00E+02	4.08E+02	2.25E+02	8.04E+02
	Indol	1.00E+03	6.05E+02	4.08E+02	8.04E+02
	<i>Bx1-5+8</i>	6.60E+03	6.19E+02	4.63E+04	2.92E+03
	<i>Bx1-2</i>	4.19E+02	4.67E+02	6.95E+02	2.03E+03
	<i>Bx1</i>	4.22E+02	4.67E+02	6.69E+02	1.66E+03

Tabelle 29: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Analyte Peak Height (cps)	
		Oxindol	Indol
1	blank	7.03E+02	5.53E+02
	<i>Bx1-2</i>	3.37E+04	5.22E+02
	<i>Bx1-5+8</i>	7.91E+02	3.87E+02
	<i>eGFP</i>	8.24E+02	3.52E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	5.30E+02	2.47E+02
	Oxindol	1.17E+06	2.64E+02
	Indol	6.65E+02	5.70E+05
1-2	blank	7.59E+02	2.66E+02
	<i>Bx1</i>	8.13E+03	3.31E+02
	<i>Bx1-2</i>	4.77E+03	2.49E+02
	<i>Bx1-3</i>	3.29E+02	2.58E+02
	<i>eGFP</i>	3.33E+02	2.54E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	2.52E+02
	Oxindol	6.86E+05	2.04E+02
Indol	0.00E+00	3.30E+05	
4	blank	1.30E+05	3.96E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	2.26E+03	0.00E+00
	Oxindol	2.46E+03	1.18E+03
	Indol	2.33E+03	9.42E+05
	<i>Bx1-5+8</i>	1.42E+03	3.99E+02
	<i>Bx1-2</i>	7.28E+02	8.46E+03
	<i>Bx1</i>	1.12E+03	5.71E+03

7.2.3 Standardfehler der Mittelwerte

Tabelle 30: Standardfehler der Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der *Lamium*-Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Peak Höhe (cps)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
Proben des Botanischen Garten Jena + Proben des MPI für	blank	3.34E+02	1.72E+02	2.82E+01	7.10E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	2.32E+04	7.00E+05	1.66E+05	7.15E+05
	<i>B. hispanica</i>	9.34E+01	3.04E+02	4.51E+03	8.86E+02
	<i>B. nigra</i>	1.48E+02	4.83E+02	9.07E+03	5.07E+02
	<i>L. album</i>	4.39E+02	1.74E+02	1.58E+03	1.31E+03

Chemische Ökologie Jena	<i>L. galeobdolon</i>	3.33E+03	7.86E+02	8.83E+04	2.41E+03
	<i>L. orvala</i>	1.30E+02	3.07E+02	3.99E+03	7.26E+02
	<i>L. purpureum</i> Blatt + Blüte	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>L. leonurus</i>	3.14E+03	3.00E+02	1.31E+04	1.53E+03
	<i>L. sibiricus</i>	3.00E+02	4.10E+02	8.25E+03	1.34E+03
	<i>M. vulgare</i>	6.67E+01	6.01E+01	6.92E+03	3.35E+02
	<i>P. tuberosa</i>	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>S. citrina</i>	4.61E+02	1.75E+02	6.55E+03	2.07E+03
	<i>S. macrantha</i>	1.95E+02	2.97E+02	2.45E+03	1.35E+03
	<i>S. palustris</i>	3.02E+02	9.77E+01	2.10E+03	1.33E+03
	<i>A. hungaricus</i>	3.00E+04	1.21E+03	1.35E+05	2.58E+02
	<i>A. aurantiaca</i>	5.06E+05	3.98E+05	2.56E+04	5.82E+05
	<i>B. prionitis</i>	5.64E+02	1.11E+02	4.09E+03	6.33E+02
	<i>C. pungens</i>	3.28E+04	4.12E+02	4.67E+03	1.06E+03
	<i>E. pulchellum</i>	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>G. ceylanicum</i>	2.83E+02	1.08E+02	3.67E+02	1.97E+03
	<i>H. alternata</i>	4.11E+02	3.06E+02	2.70E+02	7.05E+02
	<i>H. repanda</i>	3.37E+02	2.67E+00	4.00E+02	3.03E+02
	<i>T. erecta</i>	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>T. myorensis</i>	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>W. elongata</i>	5.33E+02	1.17E+02	4.72E+02	3.05E+02
	<i>C. flava</i>	1.20E+04	1.22E+02	3.52E+04	1.45E+02
	<i>J. scheidweiler i</i>	2.66E+03	1.86E+02	4.23E+03	1.95E+02
	<i>D. elatum</i>	1.69E+02	8.73E+02	2.05E+04	4.76E+02
	<i>L. album</i> Wurzeln	9.50E+01	9.60E+01	1.00E+02	0.00E+00
	<i>L. album</i> Blatt + Blüte	1.05E+02	4.03E+02	4.53E+03	3.95E+02
	<i>G. pratense</i> Blatt jung	2.97E+02	6.52E+01	6.01E+03	1.25E+03
	<i>G. pratense</i> Blatt alt	1.94E+03	2.32E+02	9.43E+03	7.06E+02
	<i>G. pratense</i> Wurzeln	8.76E+02	1.15E+02	1.30E+02	2.37E+02
	<i>C. regalis</i> Blüte	2.08E+02	8.57E+01	5.02E+02	1.22E+03
	<i>C. regalis</i> Blatt	3.31E+02	2.42E+02	3.90E+03	2.01E+03
	<i>C. regalis</i> Wurzeln	1.98E+02	6.40E+01	1.28E+02	1.28E+02
	<i>C. regalis</i> Stiel	5.69E+02	6.67E+01	3.55E+03	9.36E+02

	<i>T. repens</i> Blatt	8.50E+00	1.35E+02	4.05E+03	8.15E+01
	<i>T. repens</i> Blatt + Blüte	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>T. repens</i> Wurzeln	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>R. patientia</i> Blatt alt	9.17E+01	2.95E+02	6.23E+03	8.70E+02
	<i>R. patientia</i> Wurzeln	1.76E+02	1.42E+03	1.63E+04	5.45E+03
	<i>R. patientia</i> Blatt jung	1.37E+02	2.63E+02	6.68E+02	2.44E+02
Jasmonsäure- Versuch	blank	1.17E+02	1.16E+02	2.40E+02	2.40E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>C. regalis</i> Ctr.	5.20E+01	5.23E+02	6.21E+03	5.33E+02
	<i>C. regalis</i> JA	1.49E+02	1.31E+02	5.35E+03	4.81E+02
	blank	1.17E+02	0	125	15.50627113
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0	0	0	0
	<i>L. album</i> Ctr.	5.11E+01	136.555468	390.0213669	938.6193318
	<i>L. album</i> JA	71.80703308	265.4506781	697.0338944	455.6862956
<i>Lamium</i> - Proben	blank	8.38E+02	9.76E+01	6.33E+02	9.82E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>L. orvala</i>	1.78E+02	3.06E+02	4.71E+03	9.23E+02
	<i>L. orvala</i> Alba	1.23E+02	1.05E+02	2.37E+03	1.49E+03
	<i>L. maculatum</i>	6.72E+01	1.56E+03	1.50E+04	3.87E+03
	<i>L. maculatum</i> Blüte	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>L. montanum</i>	1.51E+05	2.28E+03	5.51E+04	1.20E+03
	<i>L. galeobdolon</i>	1.37E+05	4.75E+03	4.84E+05	2.91E+03
	<i>L. album</i>	2.01E+03	8.22E+02	6.32E+03	5.10E+02
	<i>L. album</i> Blüte	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00

Tabelle 31: Standardfehler der Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Analyte Peak Height (cps)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
1	blank	9.96E+02	6.40E+01	2.23E+02	6.40E+01
	<i>Bx1-2</i>	5.10E+02	2.10E+01	2.00E+01	2.10E+01
	<i>Bx1-5+8</i>	4.45E+03	2.25E+02	6.95E+03	2.25E+02
	<i>eGFP</i>	1.27E+03	1.31E+02	3.20E+02	1.31E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	Oxindol	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	Indol	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
3	blank	3.76E+02	1.30E+02	1.36E+02	1.52E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>Bx1-8</i>	4.22E+02	1.23E+04	1.51E+04	4.60E+04
	<i>Bx1-6+8</i>	2.75E+02	5.83E+01	7.10E+03	1.59E+02
	<i>Bx1-4+6-8</i>	6.67E+01	1.20E+02	6.02E+04	3.19E+02
	<i>Bx1-5</i>	2.80E+02	5.99E+01	9.86E+03	6.86E+02
	<i>Bx1-4+6-8</i>	1.33E+02	3.35E+02	7.02E+04	3.86E+02
	<i>eGFP</i>	6.10E+01	5.83E+01	1.76E+02	4.75E+02
4	blank	1.01E+02	5.54E+01	1.25E+02	8.96E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	Oxindol	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	Indol	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>Bx1-5+8</i>	2.78E+03	1.91E+02	2.81E+04	6.68E+02
	<i>Bx1-2</i>	1.55E+01	6.67E+01	1.73E+02	1.80E+02
	<i>Bx1</i>	1.40E+01	6.67E+01	1.31E+02	4.14E+02

Tabelle 32: Standardfehler der Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Analyte Peak Height (cps)	
		Oxindol	Indol
1	blank	0.00E+00	0.00E+00
	<i>Bx1-2</i>	8.40E+03	2.80E+01
	<i>Bx1-5+8</i>	2.20E+02	1.15E+01
	<i>eGFP</i>	2.50E+02	2.51E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00
	Oxindol	0.00E+00	0.00E+00
	Indol	0.00E+00	0.00E+00
2	blank	0.00E+00	0.00E+00
	<i>Bx1</i>	2.50E+01	2.65E+01
	<i>Bx1-2</i>	3.34E+03	1.15E+01

	<i>Bx1-3</i>	1.56E+02	2.66E+01
	<i>eGFP</i>	8.45E+01	1.77E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00
	Oxindol	0.00E+00	0.00E+00
	Indol	0.00E+00	0.00E+00
4	blank	1.29E+05	2.32E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00
	Oxindol	0.00E+00	0.00E+00
	Indol	0.00E+00	0.00E+00
	<i>Bx1-5+8</i>	3.42E+02	2.57E+02
	<i>Bx1-2</i>	4.44E+01	5.60E+03
	<i>Bx1</i>	4.02E+02	5.05E+03

7.2.4 Mittelwerte nach Blank-Abzug

Tabelle 33: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der *Lamium*-Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches nach Abzug des Mittelwertes der Blank-Proben (100% Methanol). Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Peak Höhe (cps)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
Proben des Botanischen Garten Jena + Proben des MPI für Chemische Ökologie Jena	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	2.26E+04	7.00E+05	1.66E+05	7.15E+05
	<i>B. hispanica</i>	-3.54E+02	1.33E+03	5.73E+04	1.18E+03
	<i>B. nigra</i>	7.08E+01	1.56E+03	5.42E+04	1.43E+03
	<i>L. album</i>	-1.76E+01	1.10E+03	1.75E+04	9.65E+03
	<i>L. galeobdolon</i>	2.61E+06	4.63E+03	2.81E+05	3.65E+03
	<i>L. orvala</i>	1.31E+03	9.44E+02	1.89E+04	1.21E+04
	<i>L. purpureum</i> Blatt + Blüte	4.64E+02	1.72E+03	1.49E+04	4.18E+03
	<i>L. leonurus</i>	3.90E+03	8.24E+02	3.95E+04	4.48E+03
	<i>L. sibiricus</i>	2.54E+03	5.34E+02	3.66E+04	2.61E+03
	<i>M. vulgare</i>	1.57E+03	8.07E+02	3.88E+04	7.78E+02
	<i>P. tuberosa</i>	-3.66E+02	2.36E+03	4.43E+04	2.13E+04
	<i>S. citrina</i>	5.34E+02	6.59E+02	1.80E+04	9.00E+03
	<i>S. macrantha</i>	8.49E+02	6.38E+02	4.13E+04	6.60E+03
	<i>S. palustris</i>	6.41E+02	3.52E+02	1.25E+04	1.42E+04
	<i>A. hungaricus</i>	2.74E+06	5.33E+03	1.10E+06	1.16E+03
	<i>A. aurantiaca</i>	1.18E+06	8.06E+05	5.94E+04	1.72E+06
	<i>B. prionitis</i>	6.43E+02	-6.49E+01	1.21E+04	5.30E+03
	<i>C. pungens</i>	2.63E+06	9.50E+02	1.54E+05	4.54E+03
	<i>E. pulchellum</i>	1.08E+03	1.49E+02	1.61E+04	7.29E+03
<i>G. ceylanicum</i>	9.11E+02	-6.76E+01	1.45E+03	6.05E+03	
<i>H. alternata</i>	2.53E+02	2.38E+02	4.14E+02	2.05E+03	

	<i>H. repanda</i>	3.71E+02	-7.32E+01	5.44E+02	1.78E+03
	<i>T. erecta</i>	-3.61E+02	-2.59E+01	4.81E+03	6.67E+02
	<i>T. myorensis</i>	6.41E+01	3.28E+02	2.77E+03	2.98E+03
	<i>W. elongata</i>	1.50E+03	-5.92E+01	1.90E+03	3.30E+02
	<i>C. flava</i>	2.60E+06	3.38E+02	9.58E+04	5.20E+03
	<i>J. scheidweileri</i>	3.39E+03	-1.30E+02	2.51E+04	1.06E+03
	<i>D. elatum</i>	-2.42E+01	1.92E+03	8.87E+04	4.55E+03
	<i>L. album</i> Wurzeln	1.39E+02	2.81E+01	-1.56E+02	-4.51E+01
	<i>L. album</i> Blatt + Blüte	3.39E+02	1.52E+02	6.12E+03	1.81E+03
	<i>G. pratense</i> Blatt jung	1.07E+02	5.03E+02	1.33E+04	2.09E+03
	<i>G. pratense</i> Blatt alt	1.78E+03	5.50E+02	2.69E+04	2.34E+03
	<i>G. pratense</i> Wurzeln	1.17E+03	-7.59E+01	4.12E+02	3.65E+02
	<i>C. regalis</i> Blüte	-1.43E+02	1.80E+02	4.82E+03	2.75E+03
	<i>C. regalis</i> Blatt	1.03E+02	2.63E+02	1.09E+04	3.74E+03
	<i>C. regalis</i> Wurzeln	-7.46E+01	-3.89E+00	8.83E+01	1.32E+02
	<i>C. regalis</i> Stiel	-9.66E+01	6.57E+02	1.24E+04	2.49E+03
	<i>T. repens</i> Blatt	-1.57E+02	8.79E+02	3.27E+04	4.28E+02
	<i>T. repens</i> Blatt + Blüte	-5.58E+02	5.54E+02	3.47E+04	1.55E+03
	<i>T. repens</i> Wurzeln	-3.61E+02	-7.59E+01	1.52E+02	-4.51E+01
	<i>R. patientia</i> Blatt alt	-3.83E+02	1.47E+03	1.65E+04	3.31E+03
	<i>R. patientia</i> Wurzeln	-4.80E+02	1.33E+03	3.16E+04	1.01E+04
	<i>R. patientia</i> Blatt jung	-9.26E+01	-8.89E-01	8.93E+02	9.61E+02
Jasmonsäure-Versuch	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	4.02E+03	2.06E+05	1.14E+05	9.11E+04
	<i>C. regalis</i> Ctr.	1.16E+02	1.58E+03	2.06E+04	3.34E+03
	<i>C. regalis</i> JA	6.08E+01	5.34E+02	1.68E+04	2.84E+03
	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	6.03E+03	2.14E+05	1.42E+05	124580.6667
	<i>L. album</i> Ctr.	-4.09E+01	4.76E+02	2.36E+03	3463.166667
	<i>L. album</i> JA	1.08E+01	7.16E+02	2.58E+03	3500.666667

Lamium-Proben	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	6.87E+03	8.23E+05	2.36E+05	1.52E+05
	<i>L. orvala</i>	-8.22E+02	6.30E+02	2.83E+04	7.62E+03
	<i>L. orvala Alba</i>	-7.59E+02	3.84E+02	2.16E+04	7.45E+03
	<i>L. maculatum</i>	-1.04E+03	1.66E+03	2.92E+04	8.37E+03
	<i>L. maculatum</i> Blüte	-8.88E+02	3.33E+01	1.40E+04	9.33E+03
	<i>L. montanum</i>	2.75E+06	1.81E+04	3.11E+06	4.80E+03
	<i>L. galeobdolon</i>	2.85E+06	8.63E+03	2.51E+06	5.83E+03
	<i>L. album</i>	5.98E+03	2.07E+03	4.61E+04	5.35E+03
	<i>L. album</i> Blüte	3.76E+03	6.31E+02	1.50E+04	2.78E+03

Tabelle 34: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen nach Abzug der Blank-Proben (100% Methanol). Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Analyte Peak Height (cps)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
1	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>Bx1-2</i>	-1.62E+03	-4.30E+01	-5.27E+02	-4.30E+01
	<i>Bx1-5+8</i>	1.62E+04	-2.20E+01	6.25E+04	-2.20E+01
	<i>eGFP</i>	-6.61E+02	-3.87E+01	-1.10E+02	-3.87E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	4.37E+03	4.46E+05	2.02E+05	4.46E+05
	Oxindol	-1.91E+03	-7.20E+01	2.33E+01	-7.20E+01
	Indol	-3.23E+02	-2.47E+02	4.33E+01	-2.47E+02
3	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	9.34E+03	3.29E+05	2.43E+05	2.06E+05
	<i>Bx1-8</i>	-7.32E+01	4.12E+04	5.10E+04	1.32E+05
	<i>Bx1-6+8</i>	-4.83E+02	-1.60E+02	2.64E+04	1.47E+03
	<i>Bx1-4+6-8</i>	-4.96E+02	1.05E+02	1.73E+05	1.61E+03
	<i>Bx1-5</i>	6.04E+02	-1.43E+01	8.23E+04	1.69E+03
	<i>Bx1-4+6-8</i>	-6.29E+02	5.21E+02	8.67E+05	1.23E+03
	<i>eGFP</i>	-8.16E+02	-1.60E+02	2.51E+02	1.97E+03
4	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.11E+04	5.06E+05	3.25E+05	2.57E+05
	Oxindol	-1.24E+02	4.55E+01	-2.84E+02	4.40E+02
	Indol	7.63E+01	2.43E+02	-1.01E+02	4.40E+02
	<i>Bx1-5+8</i>	5.68E+03	2.57E+02	4.58E+04	2.55E+03
	<i>Bx1-2</i>	-5.04E+02	1.04E+02	1.86E+02	1.67E+03
	<i>Bx1</i>	-5.02E+02	1.04E+02	1.60E+02	1.30E+03

Tabelle 35: Peak-Höhen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen nach Abzug der Blank-Proben (100% Methanol). Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Cps = counts per second.

		Analyte Peak Height (cps)	
		Oxindole	Indole
1	blank	0.00E+00	0.00E+00
	<i>Bx1-2</i>	3.30E+04	-3.10E+01
	<i>Bx1-5+8</i>	8.75E+01	-1.67E+02
	<i>eGFP</i>	1.21E+02	-2.01E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	-1.73E+02	-3.06E+02
	Oxindol	1.17E+06	-2.89E+02
	Indol	-3.80E+01	5.69E+05
2	blank	0.00E+00	0.00E+00
	<i>Bx1</i>	-2.22E+02	2.06E+02
	<i>Bx1-2</i>	1.16E+04	-3.75E+01
	<i>Bx1-3</i>	-4.53E+02	1.03E+01
	<i>eGFP</i>	-2.33E+02	-2.80E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	-7.59E+02	-1.40E+01
	Oxindole	6.85E+05	-6.20E+01
Indole	-7.59E+02	3.30E+05	
4	blank	0.00E+00	0.00E+00
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	-1.28E+05	-3.96E+02
	Oxindol	-1.28E+05	7.85E+02
	Indol	-1.28E+05	9.42E+05
	<i>Bx1-5+8</i>	-1.29E+05	3.17E+00
	<i>Bx1-2</i>	-1.30E+05	8.06E+03
	<i>Bx1</i>	-1.29E+05	5.31E+03

7.3 Quantifizierung Peak-Flächen

7.3.1 Originalwerte

Tabelle 36: Originalwerte der Peak-Flächen der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der *Lamium*-Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
Proben des Botanischen Garten Jenas + Proben des MPI für	blank	0.00E+00	1.28E+02	1.93E+02	6.42E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.29E+02	1.28E+02	1.29E+02	3.21E+02
	blank	1.28E+02	3.21E+02	1.28E+02	3.20E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.49E+05	4.72E+06	1.95E+06	3.29E+06

Chemische Ökologie Jena	blank	2.57E+02	2.25E+03	3.85E+02	7.70E+02
	<i>B. hispanica</i> #1	3.21E+02	2.05E+03	1.50E+05	2.11E+02
	<i>B. hispanica</i> #2	4.18E+02	6.23E+03	2.00E+05	2.02E+03
	<i>B. hispanica</i> #3	2.25E+02	3.40E+03	1.85E+05	6.32E+02
	<i>B. nigra</i> #1	3.21E+02	2.57E+03	1.49E+05	3.88E+03
	<i>B. nigra</i> #2	2.57E+02	4.46E+03	1.52E+05	1.06E+03
	<i>B. nigra</i> #3	9.95E+02	4.17E+03	1.07E+05	3.78E+03
	<i>L. album</i> #1	3.79E+03	1.93E+03	4.85E+04	1.83E+04
	<i>L. album</i> #2	5.14E+02	2.25E+03	6.62E+04	1.90E+04
	<i>L. album</i> #3	5.78E+02	4.08E+03	5.88E+04	3.04E+04
	<i>L. galeobdolon</i> Blatt #1	1.81E+07	3.08E+04	9.43E+05	1.98E+03
	<i>L. galeobdolon</i> Blatt #2	1.75E+07	2.54E+04	5.11E+05	1.08E+03
	<i>L. galeobdolon</i> Blatt #3	1.74E+07	1.74E+04	6.67E+05	1.19E+03
	<i>L. orvala</i> Blatt #1	5.65E+03	3.79E+03	2.41E+05	2.95E+04
	<i>L. orvala</i> Blatt #2	3.53E+03	4.17E+03	5.94E+04	2.37E+04
	<i>L. orvala</i> Blatt #3	5.07E+03	2.41E+03	1.52E+05	3.30E+04
	<i>L. purpureum</i> Blatt+ Blüte	3.60E+03	1.60E+03	4.85E+04	2.08E+04
	<i>L. leonurus</i> Blatt #1	2.07E+04	3.08E+03	8.13E+04	6.40E+03
	<i>L. leonurus</i> Blatt #2	3.21E+03	3.47E+03	8.98E+04	4.53E+03
	blank	5.46E+03	1.93E+02	3.21E+02	1.93E+02
	<i>L. sibiricus</i> Blatt #1	5.01E+03	7.71E+02	7.89E+04	6.35E+02
	<i>L. sibiricus</i> Blatt #2	4.94E+03	2.73E+03	1.27E+05	4.94E+03
	<i>M. vulgare</i> Blatt #1	4.56E+03	2.25E+03	1.13E+05	9.77E+02
	<i>M. vulgare</i> Blatt #2	3.08E+03	2.31E+03	7.84E+04	3.99E+02
	<i>M. vulgare</i> Blatt #3	5.14E+03	1.28E+03	1.05E+05	1.59E+03
	<i>P. tuberosa</i> Blatt	1.41E+03	4.05E+03	1.32E+05	1.79E+05
	<i>S. citrina</i> Blatt #1	4.56E+03	1.28E+03	1.09E+05	6.99E+03
	<i>S. citrina</i> Blatt #2	1.22E+03	2.70E+03	1.92E+04	2.53E+03
	<i>S. citrina</i> Blatt #3	2.37E+03	1.16E+03	4.58E+04	2.65E+04

S. <i>macrantha</i> Blatt #1	2.44E+03	5.78E+02	1.19E+05	3.34E+04
S. <i>macrantha</i> Blatt #2	1.67E+03	1.03E+03	1.17E+05	2.24E+04
S. <i>palustris</i> Blatt #1	2.70E+03	3.85E+02	5.42E+04	3.33E+04
S. <i>palustris</i> Blatt #2	1.41E+03	2.83E+03	4.22E+04	5.52E+04
S. <i>palustris</i> Blatt #3	2.50E+03	1.09E+03	3.36E+04	4.40E+04
Blank	1.48E+03	1.28E+02	2.57E+02	1.93E+02
A. <i>hungaricus</i> Blatt #1	2.20E+07	2.39E+04	2.48E+06	1.30E+03
A. <i>hungaricus</i> Blatt #2	2.17E+07	4.24E+03	2.43E+06	2.06E+03
A. <i>hungaricus</i> Blatt #3	2.16E+07	3.13E+04	2.71E+06	1.02E+04
A. <i>aurantiaca</i> Blatt #1	6.49E+05	3.10E+05	4.08E+04	1.72E+06
A. <i>aurantiaca</i> Blatt #2	6.08E+06	5.15E+06	3.07E+05	9.02E+06
A. <i>aurantiaca</i> Blatt #3	3.75E+06	2.11E+06	2.58E+05	6.23E+06
B. <i>prionitis</i> Blatt #1	4.75E+03	7.06E+02	7.01E+04	7.26E+03
B. <i>prionitis</i> Blatt #2	2.18E+03	1.28E+02	2.54E+04	1.19E+04
B. <i>prionitis</i> Blatt #3	1.03E+03	1.28E+02	3.20E+04	1.13E+04
C. <i>pungens</i> Blatt #1	1.15E+07	3.85E+02	4.09E+05	1.31E+04
C. <i>pungens</i> Blatt #2	1.40E+07	1.41E+03	4.79E+05	9.78E+03
C. <i>pungens</i> Blatt #3	1.29E+07	1.41E+03	3.49E+05	1.36E+04
E. <i>pulchellum</i> Blatt	2.63E+03	5.14E+02	4.37E+04	6.96E+02
G. <i>ceylanicum</i> Blatt #1	2.82E+03	1.93E+02	1.54E+03	5.46E+03
G. <i>ceylanicum</i> Blatt #2	1.93E+03	2.57E+02	2.50E+03	1.08E+04

<i>G. ceylanicum</i> Blatt #3	3.47E+03	1.92E+02	7.13E+03	1.83E+04
blank	3.21E+02	1.28E+02	1.29E+02	1.92E+02
<i>H. alternata</i> Blatt #1	1.28E+03	2.05E+03	2.38E+03	9.18E+03
<i>H. alternata</i> Blatt #2	1.22E+03	1.93E+02	3.85E+02	4.17E+03
<i>H. repanda</i> Blatt #1	3.85E+02	1.28E+02	5.78E+02	4.88E+03
<i>H. repanda</i> Blatt #2	8.99E+02	1.93E+02	1.80E+03	5.42E+03
<i>H. repanda</i> Blatt #3	4.88E+03	1.29E+02	9.63E+02	5.97E+03
<i>T. erecta</i> Blatt	2.57E+02	3.21E+02	1.45E+04	4.12E+03
<i>T. mysorensis</i> Blatt	7.71E+02	3.21E+02	9.24E+03	-4.09E+02
<i>W. elongata</i> Blatt #1	2.12E+03	1.92E+02	2.34E+03	4.44E+02
<i>W. elongata</i> Blatt #2	1.09E+03	6.42E+01	3.21E+03	6.30E+02
<i>W. elongata</i> Blatt #3	3.60E+03	2.57E+02	7.38E+03	1.59E+03
<i>C. flava</i> Blatt #1	1.40E+07	1.41E+03	4.74E+05	1.61E+04
<i>C. flava</i> Blatt #2	1.29E+07	1.35E+03	1.51E+05	1.43E+04
<i>C. flava</i> Blatt #3	1.64E+07	5.78E+02	2.00E+05	1.40E+04
<i>J. scheidweileri</i> Blatt #1	1.54E+03	4.43E+03	7.32E+04	1.65E+03
<i>J. scheidweileri</i> Blatt #2	1.67E+03	2.44E+03	6.56E+04	1.41E+03
<i>J. scheidweileri</i> Blatt #3	2.53E+04	7.77E+03	8.67E+04	4.09E+03
<i>D. elatum</i> Blatt #1	1.86E+03	1.83E+03	2.12E+05	1.98E+04
<i>D. elatum</i> Blatt #2	7.71E+02	2.18E+03	2.43E+05	2.90E+04
<i>D. elatum</i> Blatt #3	1.16E+03	1.31E+04	4.98E+05	2.59E+04
blank	8.35E+02	6.42E+01	2.57E+02	1.93E+02
<i>L. album</i> Wurzel #1	4.49E+02	1.93E+02	1.28E+02	1.93E+02
<i>L. album</i> Blatt + Blüte #1	1.41E+03	1.93E+02	3.15E+03	2.69E+03
<i>L. album</i> Wurzel #2	4.49E+02	1.93E+02	6.43E+01	1.93E+02

<i>L. album</i> Blatt + Blüte #2	1.09E+03	7.06E+02	4.13E+04	1.12E+04
<i>G. pratense</i> Blatt jung #1	5.77E+02	1.54E+03	2.87E+04	1.68E+02
<i>G. pratense</i> Blatt alt #1	1.57E+04	1.22E+03	9.62E+04	1.02E+04
<i>G. pratense</i> Wurzel #1	1.29E+02	3.85E+02	7.70E+02	1.03E+03
<i>G. pratense</i> Blatt jung #2	3.15E+03	1.03E+03	3.00E+04	-2.50E+02
<i>G. pratense</i> Blatt alt #2	1.67E+03	3.66E+03	7.27E+04	6.16E+01
<i>G. pratense</i> Wurzel #2	7.58E+03	1.92E+02	1.99E+03	1.99E+03
<i>G. pratense</i> Blatt jung #3	3.21E+02	1.35E+03	1.35E+04	3.47E+03
<i>G. pratense</i> Blatt alt #3	2.57E+02	7.06E+02	2.35E+04	9.44E+03
<i>G. pratense</i> Wurzel #3	5.01E+03	6.42E+01	5.78E+02	1.93E+02
blank	1.93E+02	6.43E+01	2.57E+02	1.93E+02
<i>C. regalis</i> Blüte #1	4.49E+02	3.53E+02	1.28E+04	1.70E+03
<i>C. regalis</i> Blatt #1	1.03E+03	1.16E+03	2.75E+04	8.56E+03
<i>C. regalis</i> Wurzel #1	1.28E+03	3.21E+02	2.57E+02	4.13E+02
<i>C. regalis</i> Stiel #1	4.17E+03	8.35E+02	5.31E+04	1.07E+02
<i>C. regalis</i> Blüte #2	1.61E+03	5.78E+02	1.54E+04	1.17E+03
<i>C. regalis</i> Blatt #2	1.93E+02	1.28E+03	3.06E+04	1.85E+03
<i>C. regalis</i> Wurzel #2	5.14E+02	1.93E+02	3.21E+02	9.10E+01
<i>C. regalis</i> Stiel #2	3.86E+02	2.31E+03	4.83E+04	4.26E+03
<i>C. regalis</i> Blüte #3	1.93E+02	3.21E+02	9.50E+03	-2.41E+03
<i>C. regalis</i> Blatt #3	4.49E+02	1.93E+02	1.37E+04	-3.89E+03
<i>C. regalis</i> Wurzel #3	4.50E+02	1.93E+02	2.57E+02	3.76E+02
<i>C. regalis</i> Stiel #3	6.43E+01	6.42E+02	1.48E+04	-5.42E+03
<i>T. repens</i> Blatt #1	7.70E+02	1.67E+03	8.66E+04	6.74E+02
<i>T. repens</i> Blatt + Blüte	1.93E+02	1.03E+03	9.42E+04	1.04E+03
<i>T. repens</i> Blatt #2	8.35E+02	4.49E+03	5.80E+04	3.89E+02
<i>T. repens</i> Wurzel	5.14E+02	1.28E+02	7.06E+02	1.93E+02

	blank	9.63E+02	6.42E+01	1.92E+02	1.28E+02
	<i>R. patientia</i> Blatt alt #1	1.29E+02	6.33E+03	8.08E+04	1.65E+04
	<i>R. patientia</i> Wurzels #1	6.43E+01	1.28E+02	1.93E+02	8.86E+02
	<i>R. patientia</i> Blatt jung #1	1.93E+02	1.35E+03	9.44E+03	1.24E+03
	<i>R. patientia</i> Blatt alt #2	3.85E+02	4.94E+03	1.59E+04	6.95E+03
	<i>R. patientia</i> Wurzels #2	5.78E+02	1.05E+04	1.26E+05	1.70E+04
	<i>R. patientia</i> Blatt jung #2	8.35E+02	6.42E+01	3.85E+02	7.22E+02
	<i>R. patientia</i> Blatt alt #3	3.85E+02	2.50E+02	3.19E+04	7.35E+03
	<i>R. patientia</i> Wurzels #3	1.09E+03	-2.96E+03	1.33E+05	4.19E+04
	<i>R. patientia</i> Blatt jung #3	5.13E+02	-2.09E+01	1.93E+02	9.90E+02
Jasmonsäure- Versuch	blank	6.43E+01	0.00E+00	6.43E+01	6.43E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.02E+04	5.01E+05	3.78E+05	2.77E+05
	blank	5.78E+02	1.93E+02	3.85E+02	1.28E+02
	<i>C. regalis</i> Ctr. 1	3.21E+02	6.16E+03	1.45E+05	1.03E+04
	<i>C. regalis</i> Ctr. 2	1.92E+02	1.22E+03	2.49E+04	4.44E+03
	<i>C. regalis</i> Ctr. 3	3.85E+02	1.41E+03	7.05E+04	3.43E+03
	<i>C. regalis</i> Ctr. 4	3.21E+02	5.13E+02	2.90E+04	4.10E+03
	<i>C. regalis</i> JA1	6.43E+01	8.99E+02	1.93E+04	6.25E+03
	<i>C. regalis</i> JA2	1.28E+02	6.42E+02	3.22E+04	4.65E+03
	<i>C. regalis</i> JA3	3.21E+02	7.05E+02	6.70E+04	1.68E+03
	<i>C. regalis</i> JA4	2.57E+02	1.67E+03	5.33E+04	5.12E+03
	blank	1.28E+02	1.28E+02	1.28E+02	3.20E+02
	blank	1.93E+02	6.42E+01	1.29E+02	1.93E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.23E+04	4.74E+05	4.40E+05	2.92E+05
	blank	1.28E+02	6.43E+01	1.93E+02	1.29E+02
	<i>L. album</i> Ctr. 1	9.63E+02	6.42E+02	9.05E+03	3.09E+04
	<i>L. album</i> Ctr. 2	7.06E+02	3.21E+02	5.59E+03	1.50E+04
	<i>L. album</i> Ctr. 3	1.93E+02	3.21E+02	2.26E+04	8.60E+03
	<i>L. album</i> Ctr. 4	1.28E+03	7.71E+02	5.13E+04	7.51E+04
	<i>L. album</i>	2.57E+02	3.21E+02	5.33E+03	2.01E+04

	JA 1				
	<i>L. album</i> JA 2	2.57E+02	4.49E+02	4.24E+03	2.29E+04
	<i>L. album</i> JA 3	4.49E+02	9.62E+02	2.09E+04	1.57E+04
	<i>L. album</i> JA 4	3.21E+02	8.35E+02	5.47E+04	3.09E+04
	blank	5.14E+02	6.43E+01	1.28E+02	2.57E+02
Lamium- Proben	blank	6.42E+02	1.93E+02	5.78E+02	3.21E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	2.09E+04	1.22E+06	9.16E+05	5.11E+05
	blank	3.21E+02	7.06E+02	1.29E+02	5.14E+02
	<i>L. orvala</i> #1	1.93E+03	8.35E+02	1.04E+05	3.26E+04
	<i>L. orvala</i> #2	7.06E+02	1.76E+04	1.06E+05	2.67E+04
	<i>L. orvala</i> #2	5.78E+02	3.72E+03	9.41E+04	1.82E+04
	<i>L. orvala</i> Alba #1	3.85E+02	6.23E+03	8.41E+04	3.49E+04
	<i>L. orvala</i> Alba #2	4.49E+02	2.38E+03	1.22E+05	2.64E+04
	<i>L. orvala</i> Alba #3	3.85E+02	1.48E+03	1.01E+05	3.41E+04
	<i>L. maculatum</i> #1	5.13E+02	8.45E+04	2.12E+05	1.14E+05
	<i>L. maculatum</i> #2	3.21E+02	3.56E+04	1.41E+05	6.83E+04
	<i>L. maculatum</i> #3	3.21E+02	1.29E+02	3.21E+02	7.06E+02
	<i>L. maculatum</i> Blüte	6.42E+02	6.29E+03	4.24E+04	1.76E+04
	blank	5.78E+02	1.28E+02	5.13E+02	5.14E+02
	<i>L. montanum</i> #1	1.80E+07	6.53E+04	1.14E+07	2.04E+04
	<i>L. montanum</i> #2	1.77E+07	1.02E+05	1.63E+07	2.54E+04
	<i>L. montanum</i> #3	2.00E+07	2.00E+05	1.83E+07	7.03E+04
	<i>L. galeobdolon</i> #1	2.78E+07	1.29E+05	1.11E+07	8.04E+03
	<i>L. galeobdolon</i> #2	2.02E+07	3.48E+04	3.20E+06	2.29E+04
	<i>L. galeobdolon</i> #3	2.84E+07	7.10E+04	1.05E+07	5.33E+03
	<i>L. album</i> #1	2.65E+04	9.69E+03	2.19E+05	2.77E+04
	<i>L. album</i> #2	1.25E+04	8.41E+03	1.11E+05	9.05E+04

	<i>L. album</i> #3	1.04E+04	8.99E+02	1.24E+05	7.69E+03
	<i>L. album</i> Blüte	8.99E+03	4.82E+03	5.00E+04	4.45E+03
	blank	1.17E+04	3.85E+02	4.75E+03	2.57E+02

Tabelle 37: Originalwerte der Peak-Flächen der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten *N. benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
1	blank	5.78E+03	1.93E+02	2.15E+03	1.93E+02
	Bx1+2 #1	1.67E+03	2.57E+02	1.09E+03	2.57E+02
	Bx1+2 #2	5.78E+02	1.93E+02	7.06E+02	1.93E+02
	Bx1-5+8 #2	5.24E+04	1.28E+02	1.90E+05	1.28E+02
	Bx1-5+8 #1	1.98E+04	3.85E+02	3.20E+05	3.85E+02
	eGFP-Ctr. #1	1.28E+03	1.28E+02	1.35E+03	1.28E+02
	eGFP-Ctr. #2	1.03E+03	1.29E+02	5.78E+02	1.29E+02
	eGFP-Ctr. #3	4.69E+03	3.85E+02	3.63E+03	3.85E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	2.39E+04	1.06E+06	7.78E+05	1.06E+06
	Oxindol	7.70E+02	1.29E+02	5.79E+02	1.29E+02
	Indol	2.83E+03	1.28E+02	9.63E+02	1.28E+02
	Blank	7.06E+02	1.93E+02	1.86E+03	1.93E+02
	Blank	2.06E+03	1.93E+02	6.42E+02	1.93E+02
3	Blank	8.99E+02	1.28E+02	1.93E+02	5.14E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	2.39E+04	8.61E+05	9.39E+05	6.03E+05
	Blank	2.57E+02	8.35E+02	3.21E+02	2.57E+02
	Bx1-8 #1	1.54E+03	1.15E+05	3.08E+05	3.66E+05
	Bx1-8 #2	1.09E+03	8.91E+04	1.56E+05	2.58E+05
	Bx1-8 #3	6.42E+02	4.74E+04	1.60E+05	1.30E+05
	Bx1-6+8 #1	2.05E+03	1.92E+02	1.62E+05	4.78E+03
	Bx1-6+8 #2	1.29E+02	1.28E+02	3.43E+04	2.73E+03
	Bx1-6+8 #3	1.93E+02	1.28E+02	1.08E+05	4.43E+03
	Bx1-4+6-8 #1	1.93E+02	2.57E+02	4.29E+05	3.08E+03
	Bx1-4+6-8 #2	2.57E+02	1.28E+02	6.22E+05	1.96E+03
	Bx1-4+6-8 #3	1.93E+02	6.43E+02	1.16E+06	3.60E+03
	Blank	4.49E+02	2.57E+02	4.50E+02	2.57E+02
	Bx1-5 #1	2.05E+03	1.93E+02	4.26E+05	5.39E+03
	Bx1-5 #2	3.27E+03	3.21E+02	2.33E+05	1.67E+03
	Bx1-5 #3	3.21E+03	2.57E+02	3.14E+05	2.85E+03
	Bx1-4 #1	2.57E+02	5.78E+02	3.33E+06	2.31E+03
	Bx1-4 #2	2.56E+02	8.99E+02	3.35E+06	2.38E+03
	Bx1-4 #3	1.29E+02	6.93E+03	4.27E+06	4.08E+03
	eGFP #1	1.93E+02	1.28E+02	1.28E+03	4.49E+03
	eGFP #2	1.93E+02	1.28E+02	5.78E+02	3.47E+03
eGFP #3	1.92E+02	1.28E+02	1.29E+02	4.04E+03	

	Blank	1.28E+03	6.43E+01	1.93E+02	2.57E+02
4	Blank	7.70E+02	1.28E+02	1.93E+02	1.28E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	2.30E+04	6.81E+05	1.04E+06	6.81E+05
	Oxindol	2.57E+02	3.21E+02	1.28E+02	3.21E+02
	Indol	3.21E+02	3.20E+02	1.93E+02	3.20E+02
	Blank	1.41E+03	1.28E+02	1.29E+02	1.28E+02
	<i>Bx1-5+8</i> #1	2.03E+04	1.05E+04	3.09E+05	1.05E+04
	<i>Bx1-5+8</i> #2	1.22E+03	1.38E+03	8.35E+03	1.38E+03
	<i>Bx1-5+8</i> #3	1.99E+04	3.18E+03	1.64E+05	3.18E+03
	<i>Bx1-2</i> #1	3.85E+02	3.63E+03	5.78E+02	3.63E+03
	<i>Bx1-2</i> #2	3.21E+02	2.25E+03	3.85E+02	2.25E+03
	<i>Bx1-2</i> #3	3.85E+02	4.04E+03	6.42E+02	4.04E+03
	<i>Bx1</i> #1	5.14E+02	1.93E+03	2.57E+02	1.93E+03
	<i>Bx1</i> #2	3.21E+02	9.95E+02	2.57E+02	9.95E+02
	<i>Bx1</i> #3	2.57E+02	3.34E+03	8.99E+02	3.34E+03
	blank	5.78E+02	4.49E+02	1.93E+02	4.49E+02
	blank	5.14E+02	1.93E+02	3.22E+02	1.93E+02

Tabelle 38: Originalwerte der Peak-Flächen der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)	
		Oxindol	Indol
1	Blank	4.28E+02	2.25E+03
	<i>Bx1+2</i> #1	8.57E+04	1.62E+03
	<i>Bx1+2</i> #2	5.19E+04	1.94E+03
	<i>Bx1-5+8</i> #2	6.63E+02	3.08E+03
	<i>Bx1-5+8</i> #1	1.30E+02	1.74E+03
	eGFP-Ctr. #1	1.74E+02	2.03E+03
	eGFP-Ctr. #2	4.27E+02	6.00E+02
	eGFP-Ctr. #3	1.88E+03	4.05E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.18E+02	4.38E+02
	Oxindol	4.32E+06	8.99E+02
Indol	1.48E+02	1.49E+06	
1+2	blank	2.00E+02	1.11E+02
	<i>Bx1</i> #2	1.06E+02	2.21E+03
	<i>Bx1</i> #1	2.49E+02	8.98E+02
	<i>Bx1+2</i> #1	3.72E+04	1.23E+02
	<i>Bx1+2</i> #2	1.97E+04	5.08E+02
	<i>Bx1+2+3</i> #1	1.46E+02	5.13E+02
	<i>Bx1+2+3</i> #2	0.00E+00	1.05E+03
	<i>Bx1+2+3</i> #3	1.17E+02	1.06E+03
	eGFP #1	1.65E+02	3.11E+02
	eGFP #2	2.48E+02	5.99E+02

	eGFP #3	1.04E+02	5.27E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	7.42E+02
	Oxindol	3.04E+06	6.64E+02
	Indol	0.00E+00	8.52E+05
4	blank	4.44E+03	1.83E+02
	blank	6.24E+02	0.00E+00
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.04E+03	3.32E+02
	Oxindol	1.37E+03	3.72E+06
	Indol	1.38E+06	0.00E+00
	blank	9.04E+03	0.00E+00
	<i>Bx1-5+8 #1</i>	4.80E+03	9.98E+01
	<i>Bx1-5+8 #2</i>	2.69E+03	6.55E+02
	<i>Bx1-5+8 #3</i>	3.01E+03	9.38E+01
	<i>Bx1-2 #1</i>	2.83E+03	1.17E+04
	<i>Bx1-2 #2</i>	2.43E+03	4.79E+04
	<i>Bx1-2 #3</i>	2.38E+03	3.91E+04
	<i>Bx1 #1</i>	2.93E+03	1.62E+02
	<i>Bx1 #2</i>	2.54E+03	1.18E+02
	<i>Bx1 #3</i>	2.08E+03	0.00E+00
	blank	1.30E+03	1.13E+02

7.3.2 Mittelwerte

Tabelle 39: Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der *Lamium*-Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
Proben des Botanischen Garten Jenas + Proben des MPI für Chemische Ökologie Jena	blank	1.07E+03	3.71E+02	2.35E+02	249.577777 8
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	7.46E+04	2360064	975064.5	1645160.5
	<i>B. hispanica</i>	3.21E+02	3893.33333 3	178333.333 3	954.333333 3
	<i>B. nigra</i>	524.333333 3	3733.33333 3	136000	2906.66666 7
	<i>L. album</i>	1627.33333 3	2753.33333 3	57833.3333 3	22566.6666 7
	<i>L. galeobdolon</i>	17666666.6 7	24533.3333 3	707000	1416.66666 7
	<i>L. orvala</i>	4750	3456.66666 7	150800	28733.3333 3
	<i>L. purpureum</i> Blatt + Blüte	3600	1600	48500	20800

<i>L. leonurus</i>	11955	3275	85550	5465
<i>L. sibiricus</i>	4975	1750.5	102950	2787.5
<i>M. vulgare</i>	4260	1946.66666 7	98800	988.666666 7
<i>P. tuberosa</i>	1410	4050	132000	179000
<i>S. citrina</i>	2716.66666 7	1713.33333 3	58000	12006.6666 7
<i>S. macrantha</i>	2055	804	118000	27900
<i>S. palustris</i>	2203.33333 3	1435	43333.3333 3	44166.6666 7
<i>A. hungaricus</i>	21766666.6 7	19813.3333 3	2540000	4520
<i>A. aurantiaca</i>	3493000	2523333.33 3	201933.333 3	5656666.66 7
<i>B. prionitis</i>	2653.33333 3	320.666666 7	42500	10153.3333 3
<i>C. pungens</i>	12800000	1068.33333 3	412333.333 3	12160
<i>E. pulchellum</i>	2630	514	43700	696
<i>G. ceylanicum</i>	2740	214	3723.33333 3	11520
<i>H. alternata</i>	1250	1121.5	1382.5	6675
<i>H. repanda</i>	2054.66666 7	150	1113.66666 7	5423.33333 3
<i>T. erecta</i>	257	321	14500	4120
<i>T. myorensis</i>	771	321	9240	-409
<i>W. elongata</i>	2270	171.066666 7	4310	888
<i>C. flava</i>	14433333.3 3	1112.66666 7	275000	14800
<i>J. scheidweiler i</i>	9503.33333 3	4880	75166.6666 7	2383.33333 3
<i>D. elatum</i>	1263.66666 7	5703.33333 3	317666.666 7	24900
<i>L. album</i> Wurzeln	449	193	96.15	193
<i>L. album</i> Blatt + Blüte	1250	449.5	22225	6945
<i>G. pratense</i> Blatt jung	1349.33333 3	1306.66666 7	24066.6666 7	1129.33333 3
<i>G. pratense</i> Blatt alt	5875.66666 7	1862	64133.3333 3	6567.2
<i>G. pratense</i> Wurzeln	4239.66666 7	213.733333 3	1112.66666 7	1071
<i>C. regalis</i> Blüte	750.666666 7	417.333333 3	12566.6666 7	153.333333 3
<i>C. regalis</i> Blatt	557.333333 3	877.666666 7	23933.3333 3	2173.33333 3
<i>C. regalis</i> Wurzeln	748	235.666666 7	278.333333 3	293.333333 3

	<i>C. regalis</i> Stiel	1540.1	1262.33333 3	38733.3333 3	-351
	<i>T. repens</i> Blatt	802.5	3080	72300	531.5
	<i>T. repens</i> Blatt + Blüte	193	1030	94200	1040
	<i>T. repens</i> Wurzeln	514	128	706	193
	<i>R. patientia</i> Blatt alt	299.666666 7	3840	42866.6666 7	10266.6666 7
	<i>R. patientia</i> Wurzeln	577.433333 3	2556	86397.6666 7	19928.6666 7
	<i>R. patientia</i> Blatt jung	513.666666 7	464.433333 3	3339.33333 3	984
Jasmonsäure- Versuch	blank	2.57E+02	1.07E+02	1.92E+02	1.71E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.02E+04	5.01E+05	3.78E+05	2.77E+05
	<i>C. regalis</i> Ctr.	3.05E+02	2.33E+03	6.74E+04	5.57E+03
	<i>C. regalis</i> JA	1.93E+02	9.79E+02	4.30E+04	4.43E+03
	blank	2.78E+02	6.43E+01	1.50E+02	193
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	12300	474000	440000	292000
	<i>L. album</i> Ctr.	785.5	513.75	22135	32400
	<i>L. album</i> JA	321	641.75	21292.5	22400
<i>Lamium</i> - Proben	blank	3.31E+03	3.53E+02	1.49E+03	4.02E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	2.09E+04	1.22E+06	9.16E+05	5.11E+05
	<i>L. orvala</i>	1.07E+03	7.39E+03	1.01E+05	2.58E+04
	<i>L. orvala</i> Alba	4.06E+02	3.36E+03	1.02E+05	3.18E+04
	<i>L. maculatum</i>	3.85E+02	4.01E+04	1.18E+05	6.10E+04
	<i>L. maculatum</i> Blüte	6.42E+02	6.29E+03	4.24E+04	1.76E+04
	<i>L. montanum</i>	1.86E+07	1.22E+05	1.53E+07	3.87E+04
	<i>L. galeobdolon</i>	2.55E+07	7.83E+04	8.27E+06	1.21E+04
	<i>L. album</i>	1.65E+04	6.33E+03	1.51E+05	4.20E+04
	<i>L. album</i> Blüte	8.99E+03	4.82E+03	5.00E+04	4.45E+03

Tabelle 40: Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
1	blank	2.85E+03	1.93E+02	1.55E+03	193
	<i>Bx1-2</i>	1124	225	898	225
	<i>Bx1-5+8</i>	36100	256.5	255000	256.5
	<i>eGFP</i>	2333.333333	214	1852.666667	214
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	7100	446000	204000	446000
	Oxindol	825	400	1600	400
	Indol	2410	225	1620	225
3	blank	7.21E+02	3.21E+02	2.89E+02	321.25
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	10500	330000	243000	207000
	<i>Bx1-8</i>	1090.666667	83833.33333	208000	251333.3333
	<i>Bx1-6+8</i>	790.6666667	149.3333333	101433.3333	3980
	<i>Bx1-4+6-8</i>	214.3333333	342.6666667	737000	2880
	<i>Bx1-5</i>	2843.333333	257	324333.3333	3303.333333
	<i>Bx1-4+6-8</i>	214	2802.333333	3650000	2923.333333
	<i>eGFP</i>	192.6666667	128	662.3333333	4000
4	blank	8.18E+02	2.25E+02	2.09E+02	224.5
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	12000	506000	326000	257000
	Oxindol	800	408	225	804
	Indol	1000	605	408	804
	<i>Bx1-5+8</i>	13806.66667	5020	160450	5020
	<i>Bx1-2</i>	363.6666667	3306.666667	535	3306.666667
	<i>Bx1</i>	364	2088.333333	471	2088.333333

Tabelle 41: Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)	
		Oxindol	Indol
1	blank	4.28E+02	2.25E+03
	<i>Bx1-2</i>	6.88E+04	1.78E+03
	<i>Bx1-5+8</i>	3.97E+02	2.41E+03
	<i>eGFP</i>	8.27E+02	1.01E+03
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	5.30E+02	2.47E+02
	Oxindol	1.17E+06	2.64E+02
	Indol	6.65E+02	5.70E+05
1-2	blank	7.59E+02	2.66E+02
	<i>Bx1</i>	1.78E+02	1.55E+03
	<i>Bx1-2</i>	2.85E+04	3.16E+02

	<i>Bx1-3</i>	8.77E+01	8.74E+02
	eGFP	1.72E+02	4.79E+02
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	2.52E+02
	Oxindol	6.86E+05	2.04E+02
	Indol	0.00E+00	3.30E+05
4	blank	3.85E+03	7.40E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.04E+03	3.32E+02
	Oxindol	1.37E+03	3.72E+06
	Indol	1.38E+06	0.00E+00
	<i>Bx1-5+8</i>	3.50E+03	2.83E+02
	<i>Bx1-2</i>	2.55E+03	3.29E+04
	<i>Bx1</i>	2.52E+03	9.33E+01

7.3.3 Standardfehler der Mittelwerte

Tabelle 42: Standardfehler der Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der *Lamium*-Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
Proben des Botanischen Garten Jena + Proben des MPI für Chemische Ökologie Jena	blank	5.72E+02	2.36E+02	2.83E+01	68.8258708 2
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	7.44E+04	2.36E+06	9.75E+05	1644839.5
	<i>B. hispanica</i>	5.57E+01	1.23E+03	1.48E+04	546.517561
	<i>B. nigra</i>	2.36E+02	5.88E+02	1.45E+04	923.784486 7
	<i>L. album</i>	1.08E+03	6.70E+02	5.13E+03	3921.87596 8
	<i>L. galeobdolon</i>	2.19E+05	3.89E+03	1.26E+05	283.450956
	<i>L. orvala</i>	6.33E+02	5.35E+02	5.24E+04	2711.90789 7
	<i>L. purpureum</i> Blatt + Blüte	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
	<i>L. leonurus</i>	8.75E+03	1.95E+02	4.25E+03	935
	<i>L. sibiricus</i>	3.50E+01	9.80E+02	2.41E+04	2152.5
	<i>M. vulgare</i>	6.13E+02	3.34E+02	1.05E+04	343.861567 8
	<i>P. tuberosa</i>	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
	<i>S. citrina</i>	9.80E+02	4.95E+02	2.66E+04	7360.15021
	<i>S. macrantha</i>	3.85E+02	2.26E+02	1.00E+03	5500
	<i>S. palustris</i>	4.01E+02	7.27E+02	5.97E+03	6322.53465 3
	<i>A. hungaricus</i>	1.20E+05	8.07E+03	8.62E+04	2848.46157 3

<i>A. aurantiaca</i>	1.57E+06	1.41E+06	8.18E+04	2126737.19 8
<i>B. prionitis</i>	1.10E+03	1.93E+02	1.39E+04	1456.99843 7
<i>C. pungens</i>	7.23E+05	3.42E+02	3.76E+04	1198.72154 1
<i>E. pulchellum</i>	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
<i>G. ceylanicum</i>	4.46E+02	2.15E+01	1.73E+03	3724.03007 5
<i>H. alternata</i>	3.00E+01	9.29E+02	9.98E+02	2505
<i>H. repanda</i>	1.42E+03	2.15E+01	3.61E+02	314.660310 7
<i>T. erecta</i>	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
<i>T. myorensis</i>	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
<i>W. elongata</i>	7.28E+02	5.66E+01	1.56E+03	355.083088 9
<i>C. flava</i>	1.03E+06	2.68E+02	1.01E+05	655.743852 4
<i>J. scheidweileri</i>	7.90E+03	1.56E+03	6.17E+03	856.141213 7
<i>D. elatum</i>	3.19E+02	3.70E+03	9.06E+04	2702.46800 8
<i>L. album</i> Wurzeln	0.00E+00	0.00E+00	3.19E+01	0
<i>L. album</i> Blatt + Blüte	1.60E+02	2.57E+02	1.91E+04	4255
<i>G. pratense</i> Blatt jung	9.03E+02	1.49E+02	5.30E+03	1176.53748 1
<i>G. pratense</i> Blatt alt	4.93E+03	9.11E+02	2.14E+04	3260.19035 8
<i>G. pratense</i> Wurzeln	2.19E+03	9.32E+01	4.42E+02	519.154119 7
<i>C. regalis</i> Blüte	4.36E+02	8.09E+01	1.71E+03	1290.76635 3
<i>C. regalis</i> Blatt	2.48E+02	3.44E+02	5.19E+03	3597.63965 8
<i>C. regalis</i> Wurzeln	2.67E+02	4.27E+01	2.13E+01	101.728942 7
<i>C. regalis</i> Stiel	1.32E+03	5.27E+02	1.20E+04	2803.74291 5
<i>T. repens</i> Blatt	3.25E+01	1.41E+03	1.43E+04	142.5
<i>T. repens</i> Blatt + Blüte	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
<i>T. repens</i> Wurzeln	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
<i>R. patientia</i> Blatt alt	8.53E+01	1.84E+03	1.95E+04	3118.80497 1
<i>R. patientia</i> Wurzeln	2.96E+02	4.07E+03	4.31E+04	11929.9324 6
<i>R. patientia</i> Blatt jung	1.85E+02	4.43E+02	3.05E+03	149.563810 2

Jasmonsäure-Versuch	blank	1.62E+02	5.67E+01	9.80E+01	7.68E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>C. regalis</i> Ctr.	4.05E+01	1.29E+03	2.79E+04	1.59E+03
	<i>C. regalis</i> JA	5.86E+01	2.37E+02	1.06E+04	9.75E+02
	blank	119.317969	0.03333333	21.5019379	36.9504172
	blank	2	3	3	3
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0	0	0	0
	<i>L. album</i> Ctr.	229.748594	114.357170	10391.3734	14985.3817
	5	7	3	7	
	<i>L. album</i> JA	45.254834	152.735814	11767.9093	3197.39477
			9	1	3
Lamium-Proben	blank	2.80E+03	1.30E+02	1.09E+03	6.63E+01
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>L. orvala</i>	4.31E+02	5.17E+03	3.68E+03	4.18E+03
	<i>L. orvala</i> Alba	2.13E+01	1.46E+03	1.10E+04	2.71E+03
	<i>L. maculatum</i>	6.40E+01	2.45E+04	6.22E+04	3.29E+04
	<i>L. maculatum</i> Blüte	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>L. montanum</i>	7.22E+05	4.02E+04	2.05E+06	1.59E+04
	<i>L. galeobdolon</i>	2.64E+06	2.74E+04	2.54E+06	5.46E+03
	<i>L. album</i>	5.05E+03	2.74E+03	3.40E+04	2.49E+04
	<i>L. album</i> Blüte	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00

Tabelle 43: Standardfehler der Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
1	blank	1516.889947	0.00E+00	461.9817216	0
	<i>Bx1-2</i>	546	32	192	32
	<i>Bx1-5+8</i>	16300	128.5	65000	128.5
	<i>eGFP</i>	1180.541307	85.50048733	916.184358	85.50048733
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0	0	0	0
	Oxindol	0	0	0	0
	Indol	0	0	0	0
3	blank	229.7543525	175.9346156	61.49305516	64.25
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	0	0	0	0
	<i>Bx1-8</i>	259.2304852	19691.31224	50013.33156	68208.82967
	<i>Bx1-6+8</i>	629.9376512	21.33333333	37009.74346	633.1139971
	<i>Bx1-4+6-8</i>	21.33333333	154.7151504	218715.1877	483.8732616
	<i>Bx1-5</i>	397.0446378	36.95041723	55953.35359	1097.532586
	<i>Bx1-4+6-8</i>	42.50098038	2065.912577	310053.7588	578.6862516

	eGFP	0.333333333	0	334.9300093	295.1270913
4	blank	204.691638	76.38553528	40.49768512	76.38553528
	A. squarrosa Blatt jung	0	0	0	0
	Oxindol	0	0	0	0
	Indol	0	0	0	0
	Bx1-5+8	6294.392566	2788.834882	86808.32813	2788.834882
	Bx1-2	21.33333333	541.4281526	77.24204382	541.4281526
	Bx1	77.24204382	681.5566333	214	681.5566333

Tabelle 44: Standardfehler der Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)	
		Oxindol	Indol
1	blank	0.00E+00	0.00E+00
	Bx1-2	1.69E+04	1.60E+02
	Bx1-5+8	2.67E+02	6.70E+02
	eGFP	5.32E+02	5.12E+02
	A. squarrosa Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00
	Oxindol	0.00E+00	0.00E+00
	Indol	0.00E+00	0.00E+00
1-2	blank	0.00E+00	0.00E+00
	Bx1	7.15E+01	6.56E+02
	Bx1-2	8.75E+03	1.93E+02
	Bx1-3	4.46E+01	1.81E+02
	eGFP	4.17E+01	8.65E+01
	A. squarrosa Blatt jung	0.00E+00	0.00E+00
	Oxindol	0.00E+00	0.00E+00
Indol	0.00E+00	0.00E+00	
4	blank	1.92E+03	4.50E+01
	A. squarrosa Blatt jung	0	0
	Oxindol	0	0
	Indol	0	0
	Bx1-5+8	6.57E+02	1.86E+02
	Bx1-2	1.42E+02	1.09E+04
	Bx1	2.46E+02	4.84E+01

7.3.4 Mittelwerte nach Blank-Abzug

Tabelle 45: Peak-Flächen-Mittelwerte der Peak-Flächen der Messung der Benzoxazinoide in den Proben des Botanischen Garten Jena und des MPI für Chemische Ökologie Jena, der Lamium-Proben, sowie des Jasmonsäure-Induktionsversuches nach Abzug des Mittelwertes der Blank-Proben (100% Methanol). Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
Proben des Botanischen Garten Jena + Proben des MPI für Chemische Ökologie Jena	blank	0	0	0	0
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	73493.7222 2	2359692.81 1	974829.055 6	1644910.92 2
	<i>B. hispanica</i>	- 749.444444 4	3522.14444 4	178097.888 9	704.755555 6
	<i>B. nigra</i>	- 546.444444 4	3362.14444 4	135764.555 6	2657.08888 9
	<i>L. album</i>	556.555555 6	2382.14444 4	57597.8888 9	22317.0888 9
	<i>L. galeobdolon</i>	17665595.8 9	24162.1444 4	706764.555 6	1167.08888 9
	<i>L. orvala</i>	3679.22222 2	3085.47777 8	150564.555 6	28483.7555 6
	<i>L. purpureum</i> Blatt + Blüte	2529.22222 2	1228.81111 1	48264.5555 6	20550.4222 2
	<i>L. leonurus</i>	10884.2222 2	2903.81111 1	85314.5555 6	5215.42222 2
	<i>L. sibiricus</i>	3904.22222 2	1379.31111 1	102714.555 6	2537.92222 2
	<i>M. vulgare</i>	3189.22222 2	1575.47777 8	98564.5555 6	739.088888 9
	<i>P. tuberosa</i>	339.222222 2	3678.81111 1	131764.555 6	178750.422 2
	<i>S. citrina</i>	1645.88888 9	1342.14444 4	57764.5555 6	11757.0888 9
	<i>S. macrantha</i>	984.222222 2	432.811111 1	117764.555 6	27650.4222 2
	<i>S. palustris</i>	1132.55555 6	1063.81111 1	43097.8888 9	43917.0888 9
	<i>A. hungaricus</i>	21765595.8 9	19442.1444 4	2539764.55 6	4270.42222 2
	<i>A. aurantiaca</i>	3491929.22 2	2522962.14 4	201697.888 9	5656417.08 9
	<i>B. prionitis</i>	1582.55555 6	50.5222222 2	42264.5555 6	9903.75555 6
	<i>C. pungens</i>	12798929.2 2	697.144444 4	412097.888 9	11910.4222 2
	<i>E. pulchellum</i>	1559.22222 2	142.811111 1	43464.5555 6	446.422222 2
	<i>G. ceylanicum</i>	1669.22222 2	157.188888 9	3487.88888 9	11270.4222 2
	<i>H. alternata</i>	179.222222 2	750.311111 1	1147.05555 6	6425.42222 2

		983.888888 9	- 221.188888 9	878.222222 2	5173.75555 6
	<i>H. repanda</i>				
		- 813.777777 8	- 50.1888888 9	14264.5555 6	3870.42222 2
	<i>T. erecta</i>				
		- 299.777777 8	- 50.1888888 9	9004.55555 6	- 658.577777 8
	<i>T. myorensis</i>				
		1199.22222 2	- 200.122222 2	4074.55555 6	638.422222 2
	<i>W. elongata</i>				
		14432262.5 6	741.477777 8	274764.555 6	14550.4222 2
	<i>C. flava</i>				
		8432.55555 6	4508.81111 1	74931.2222 2	2133.75555 6
	<i>J. scheidweileri</i>				
		192.888888 9	5332.14444 4	317431.222 2	24650.4222 2
	<i>D. elatum</i>				
		- 621.777777 8	- 178.188888 9	- 139.294444 4	- 56.5777777 8
	<i>L. album</i> Wurzeln				
		179.222222 2	78.3111111 1	21989.5555 6	6695.42222 2
	<i>L. album</i> Blatt + Blüte				
		278.555555 6	935.477777 8	23831.2222 2	879.755555 6
	<i>G. pratense</i> Blatt jung				
		4804.88888 9	1490.81111 1	63897.8888 9	6317.62222 2
	<i>G. pratense</i> Blatt alt				
		3168.88888 9	157.455555 6	877.222222 2	821.422222 2
	<i>G. pratense</i> Wurzeln				
		- 320.111111 1	- 46.1444444 4	- 12331.2222 2	- 96.2444444 4
	<i>C. regalis</i> Blüte				
		- 513.444444 4	- 506.477777 8	- 23697.8888 9	- 1923.75555 6
	<i>C. regalis</i> Blatt				
		- 322.777777 8	- 135.522222 2	- 42.8888888 9	- 43.7555555 6
	<i>C. regalis</i> Wurzeln				
		469.322222 2	891.144444 4	38497.8888 9	600.577777 8
	<i>C. regalis</i> Stiel				
		- 268.277777 8	- 2708.81111 1	- 72064.5555 6	- 281.922222 2
	<i>T. repens</i> Blatt				
		- 877.777777 8	- 658.811111 1	- 93964.5555 6	- 790.422222 2
	<i>T. repens</i> Blatt + Blüte				
		- 556.777777 8	- 243.188888 9	- 470.555555 6	- 56.5777777 8
	<i>T. repens</i> Wurzeln				
		- 771.111111 1	- 3468.81111 1	- 42631.2222 2	- 10017.0888 9
	<i>R. patientia</i> Blatt alt				

	<i>R. patientia</i> Wurzeln	493.344444 4	2184.81111 1	86162.2222 2	19679.0888 9
	<i>R. patientia</i> Blatt jung	557.111111 1	93.2444444 4	3103.88888 9	734.422222 2
Jasmonsäure-Versuch	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	9.94E+03	5.01E+05	3.78E+05	2.77E+05
	<i>C. regalis</i> Ctr.	4.80E+01	2.22E+03	6.72E+04	5.40E+03
	<i>C. regalis</i> JA	-6.42E+01	8.72E+02	4.28E+04	4.25E+03
	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.20E+04	4.74E+05	4.40E+05	291807
	<i>L. album</i> Ctr.	5.07E+02	4.49E+02	2.20E+04	32207
	<i>L. album</i> JA	4.27E+01	5.77E+02	2.11E+04	22207
Lamium-Proben	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.76E+04	1.22E+06	9.15E+05	5.11E+05
	<i>L. orvala</i>	-2.24E+03	7.03E+03	9.99E+04	2.54E+04
	<i>L. orvala Alba</i>	-2.90E+03	3.01E+03	1.01E+05	3.14E+04
	<i>L. maculatum</i>	-2.93E+03	3.97E+04	1.16E+05	6.06E+04
	<i>L. maculatum</i> Blüte	-2.67E+03	5.94E+03	4.09E+04	1.72E+04
	<i>L. montanum</i>	1.86E+07	1.22E+05	1.53E+07	3.83E+04
	<i>L. galeobdolon</i>	2.55E+07	7.79E+04	8.27E+06	1.17E+04
	<i>L. album</i>	1.32E+04	5.98E+03	1.50E+05	4.16E+04
	<i>L. album</i> Blüte	5.68E+03	4.47E+03	4.85E+04	4.05E+03

Tabelle 46: Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Benzoxazinoide in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen nach Abzug des Mittelwertes der Blank-Proben (100% Methanol). Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)			
		DIBOA-Glc	DIMBOA-Glc	HBOA-Glc	HMBOA-Glc
1	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
	<i>Bx1-2</i>	-1.72E+03	3.20E+01	-6.53E+02	32
	<i>Bx1-5+8</i>	3.33E+04	6.35E+01	2.53E+05	63.5
	<i>eGFP</i>	-5.15E+02	2.10E+01	3.02E+02	21
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	4.25E+03	4.46E+05	2.02E+05	445807
	Oxindol	-2.02E+03	2.07E+02	4.93E+01	207
	Indol	-4.39E+02	3.20E+01	6.93E+01	32
3	blank	1.00E+05	0.00E+00	0.00E+00	0
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	9.78E+03	3.30E+05	2.43E+05	206678.75

	<i>Bx1-8</i>	3.69E+02	8.35E+04	2.08E+05	251012.0833
	<i>Bx1-6+8</i>	6.94E+01	-1.72E+02	1.01E+05	3658.75
	<i>Bx1-4+6-8</i>	-5.07E+02	2.16E+01	7.37E+05	2558.75
	<i>Bx1-5</i>	2.12E+03	-6.41E+01	3.24E+05	2982.083333
	<i>Bx1-4+6-8</i>	-5.07E+02	2.48E+03	3.65E+06	2602.083333
	<i>eGFP</i>	-5.29E+02	-1.93E+02	3.73E+02	3678.75
4	blank	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	1.12E+04	5.06E+05	3.26E+05	256775.5
	Oxindol	-1.80E+01	1.84E+02	1.58E+01	579.5
	Indol	1.82E+02	3.81E+02	1.99E+02	579.5
	<i>Bx1-5+8</i>	1.30E+04	4.80E+03	1.60E+05	4795.5
	<i>Bx1-2</i>	-4.54E+02	3.08E+03	3.26E+02	3082.166667
	<i>Bx1</i>	-4.54E+02	1.86E+03	2.62E+02	1863.833333

Tabelle 47: Peak-Flächen-Mittelwerte der Messung der Indole in den mit Bx-Genen transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen nach Abzug des Mittelwertes der Blank-Proben (100% Methanol). Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert.

		Analyte Peak Area (counts)	
		Oxindole	Indole
1	blank	0	0
	<i>Bx1-2</i>	68372	-470
	<i>Bx1-5+8</i>	-31.5	160
	<i>eGFP</i>	399	-1238.333333
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	102	-2003
	Oxindol	1169572	-1986
	Indol	237	567750
2	blank	0	0
	<i>Bx1</i>	-581.5	1288
	<i>Bx1-2</i>	27691	49.5
	<i>Bx1-3</i>	-671.3333333	608.3333333
	<i>eGFP</i>	-586.6666667	213
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	-759	-14
	Oxindole	685241	-62
	Indole	-759	329734
4	blank	0.00E+00	0
	<i>A. squarrosa</i> Blatt jung	-2.81E+03	258
	Oxindol	-2.48E+03	3719926
	Indol	1.38E+06	-74
	<i>Bx1-5+8</i>	-3.51E+02	208.8666667
	<i>Bx1-2</i>	-1.30E+03	32826
	<i>Bx1</i>	-1.33E+03	19.33333333

7.3.5 Diagramme der Peak-Flächen der HPLC-MS Messungen

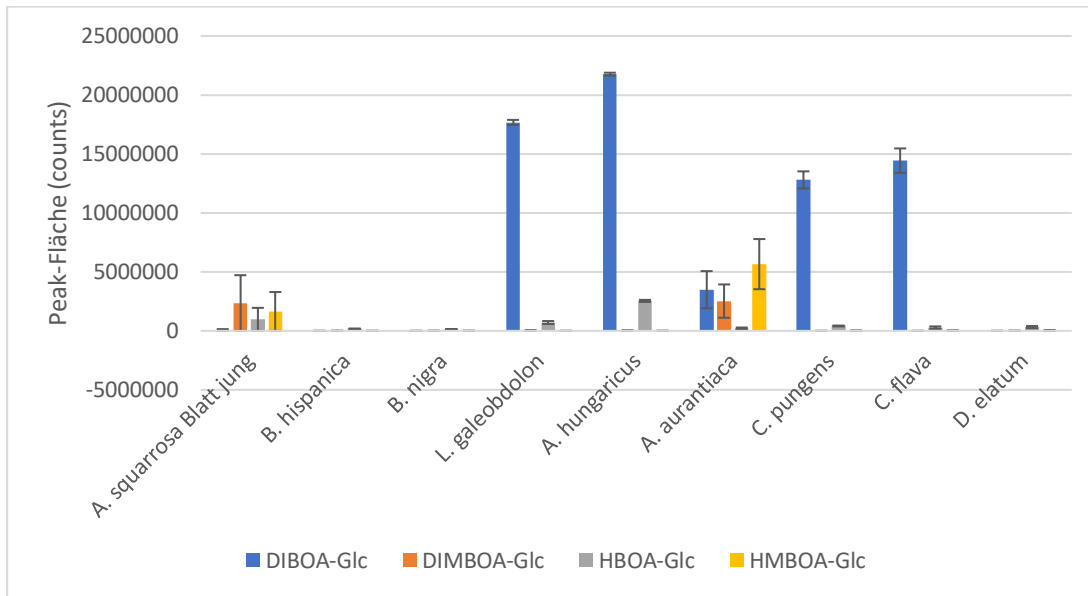


Abbildung 5: Peak-Flächen der Benzoxazinoide der Proben des Botanischen Garten Jenas, sowie des MPI für Chemische Ökologie Jenas. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Abgebildet sind nur Proben mit mindestens einem deutlich vorhandenem Benzoxazinoid (vorhanden: Peak-Höhe > 10.000 cps, deutlich vorhanden: Peak-Höhe > 50.000 cps). Als Standard diente ein Methanolextrakt eines jungen *Aphelandra squarrosa*-Blatts.

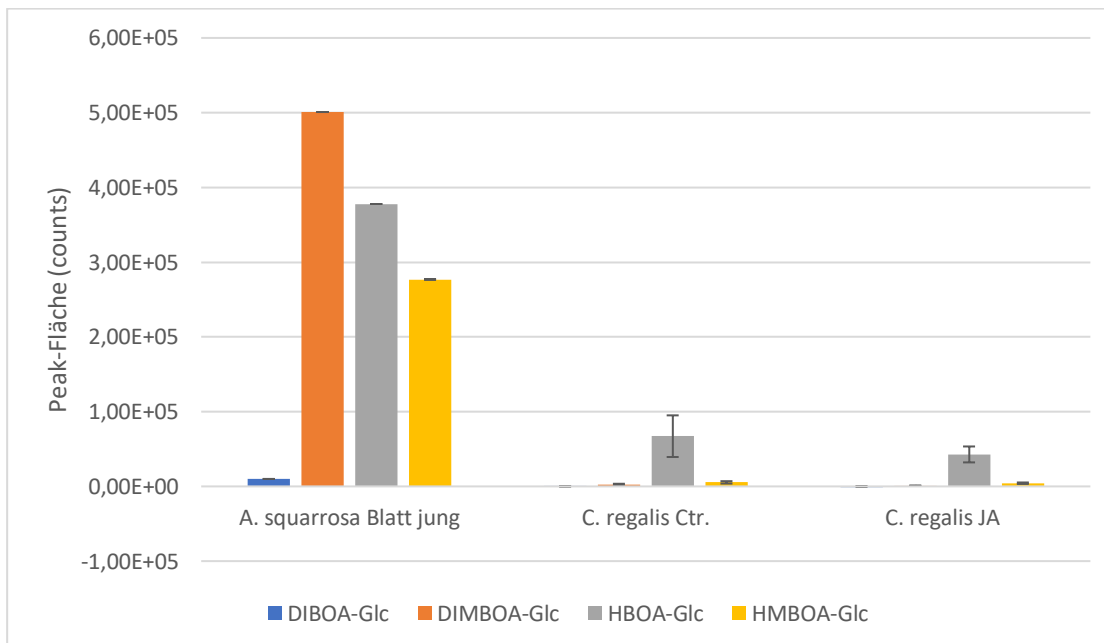


Abbildung 6: Peak-Flächen der Benzoxazinoide mit Jasmonsäure-Lösung (JA), bzw. Ethanol-Lösung (Ctr.) behandelter *Consolida regalis*-Proben. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Als Standard diente ein Methanolextrakt eines jungen *Aphelandra squarrosa*-Blatts.

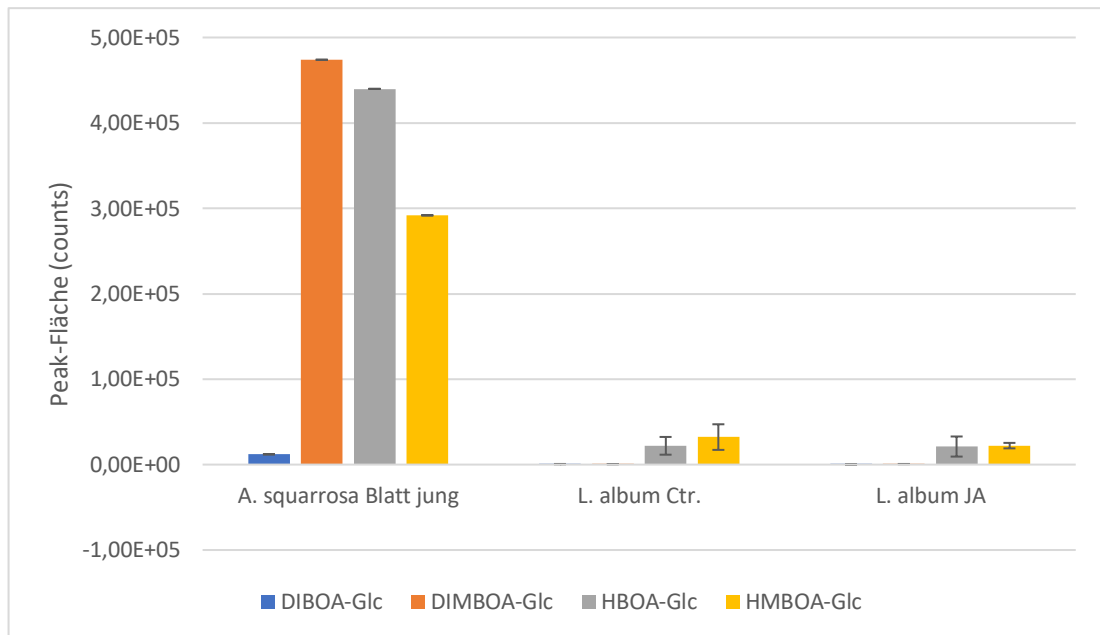


Abbildung 7: Peak-Flächen der Benzoxazinoide mit Jasmonsäure-Lösung (JA), bzw. Ethanol-Lösung (Ctr.) behandelter *Lamium album*-Proben. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Als Standard diente ein Methanolextrakt eines jungen *Aphelandra squarrosa*-Blatts.

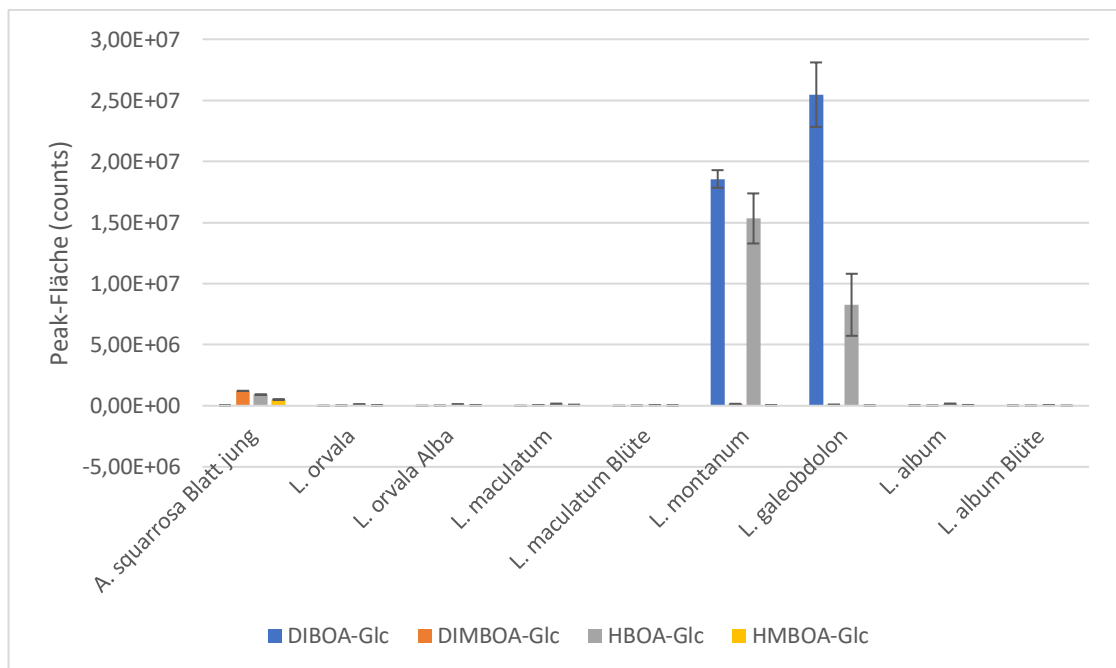


Abbildung 8: Peak-Flächen der Benzoxazinoide der *Lamium*-Proben. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Als Standard diente ein Methanolextrakt eines jungen *Aphelandra squarrosa*-Blatts.

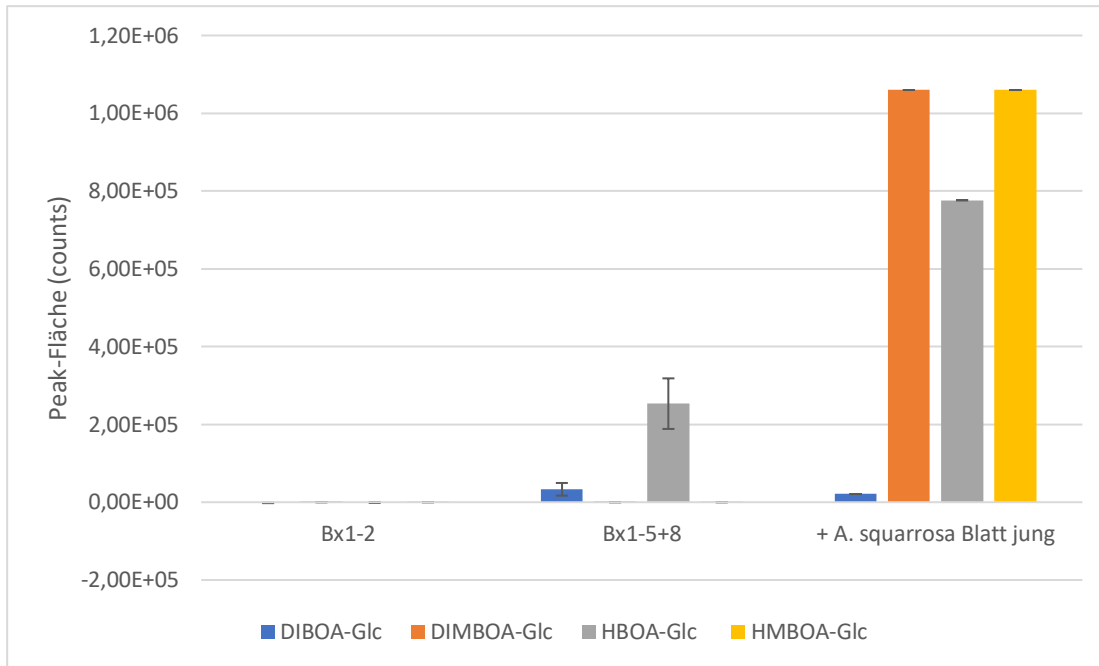


Abbildung 9: Peak-Flächen der Benzoxazinoide der mit Bx1-2 und der mit Bx1-5+8 transformierten *Nicotiana benthamiana*. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Als Standard diente ein Methanolextrakt eines jungen *Aphelandra squarrosa*-Blatts.

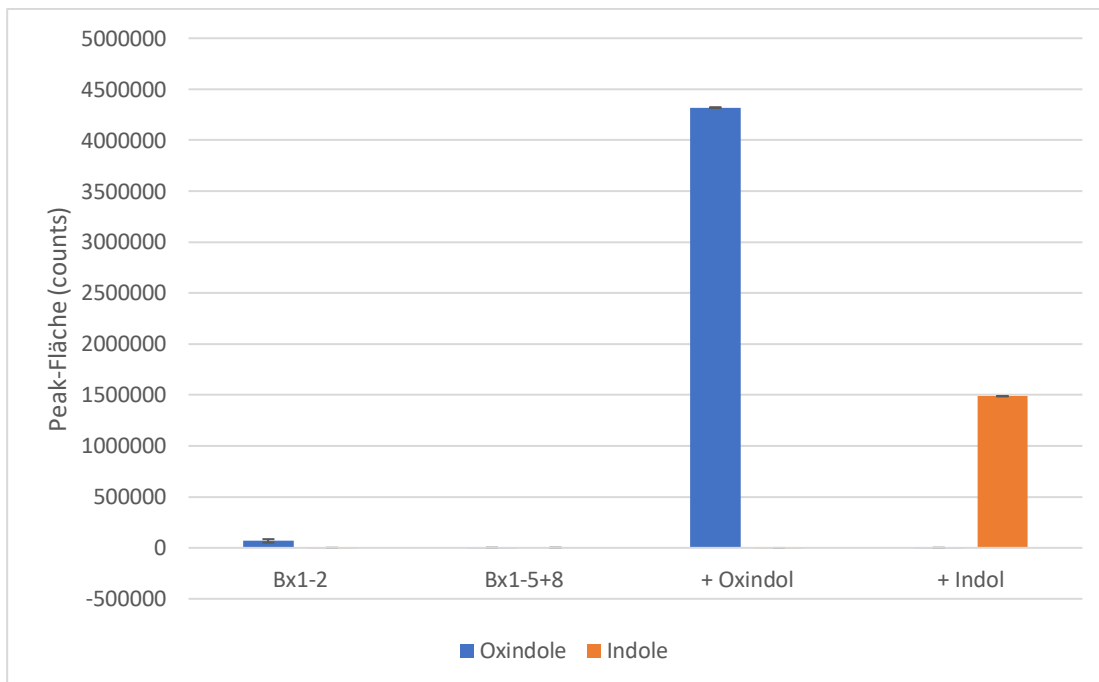


Abbildung 10: Peak-Flächen der (Ox-) Indole der mit Bx1-2 und der mit Bx1-5+8 transformierten *Nicotiana benthamiana*. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Die Positivkontrollen („Oxindol“, „Indol“) wurden durch den Betreuer zur Verfügung gestellt.

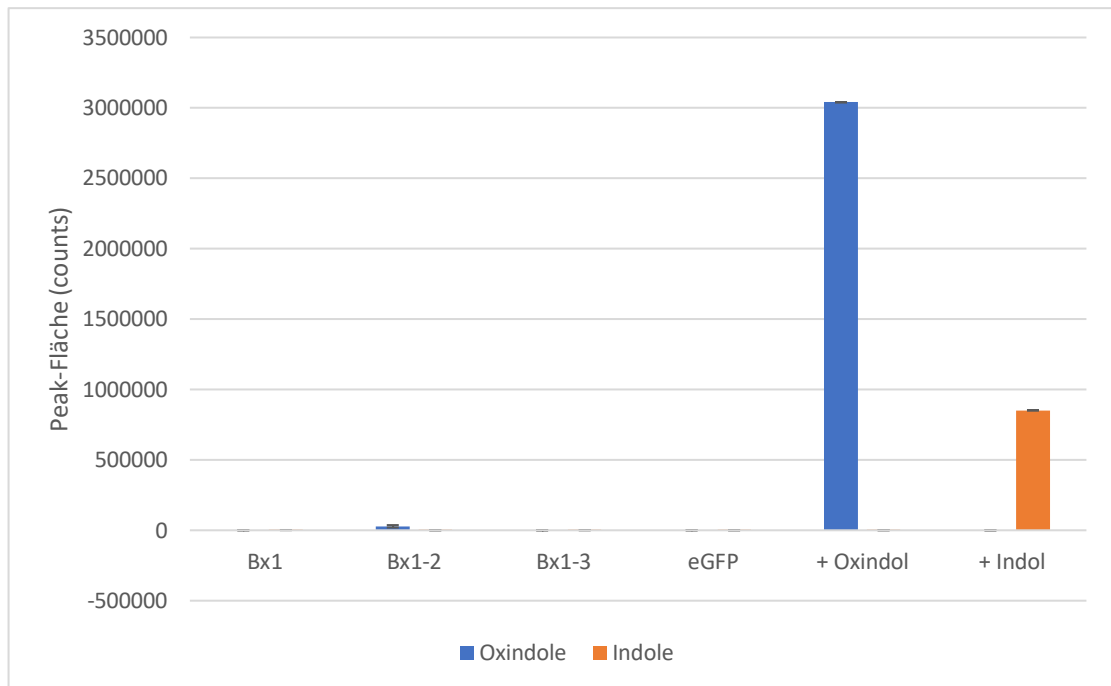


Abbildung 11: Peak-Flächen der (Ox-) Indole der mit Bx1, Bx1-2 und der mit Bx1-5+8 transformierten *Nicotiana benthamiana*. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Die Positivkontrollen („Oxindol“, „Indol“) wurden durch den Betreuer zur Verfügung gestellt.

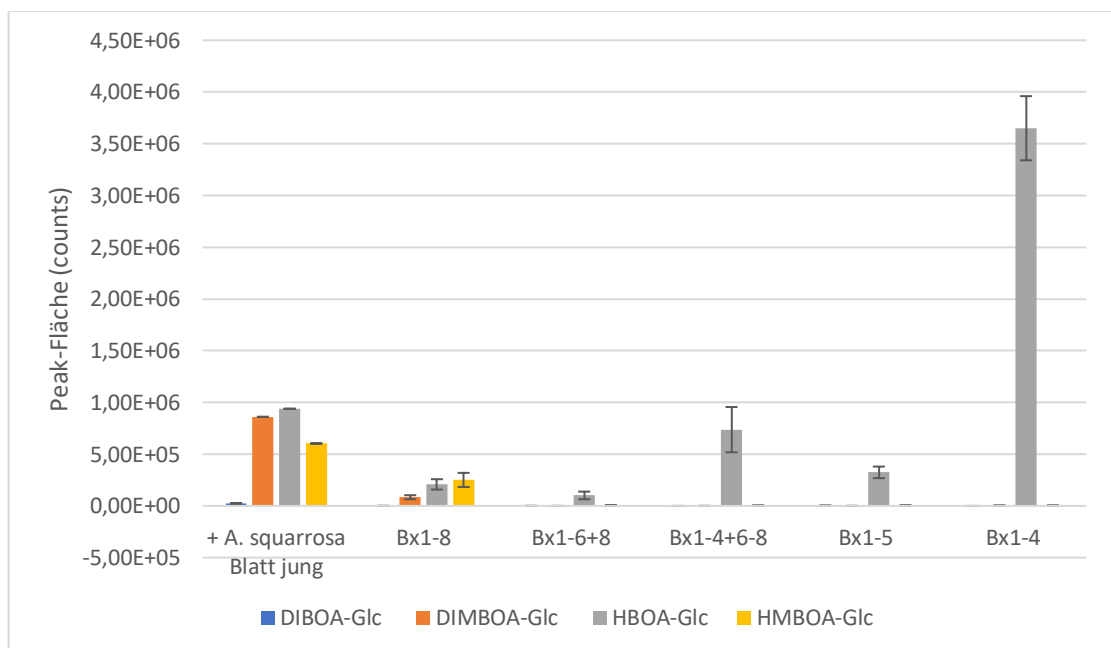


Abbildung 12: Peak-Flächen der Benzoxazinoide der mit Bx1-8, Bx1-6+8, Bx1-4+6-8, Bx1-5 und der mit Bx1-4 transformierten *Nicotiana benthamiana*. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Als Standard diente ein Methanolextrakt eines jungen *Aphelandra squarrosa*-Blatts.

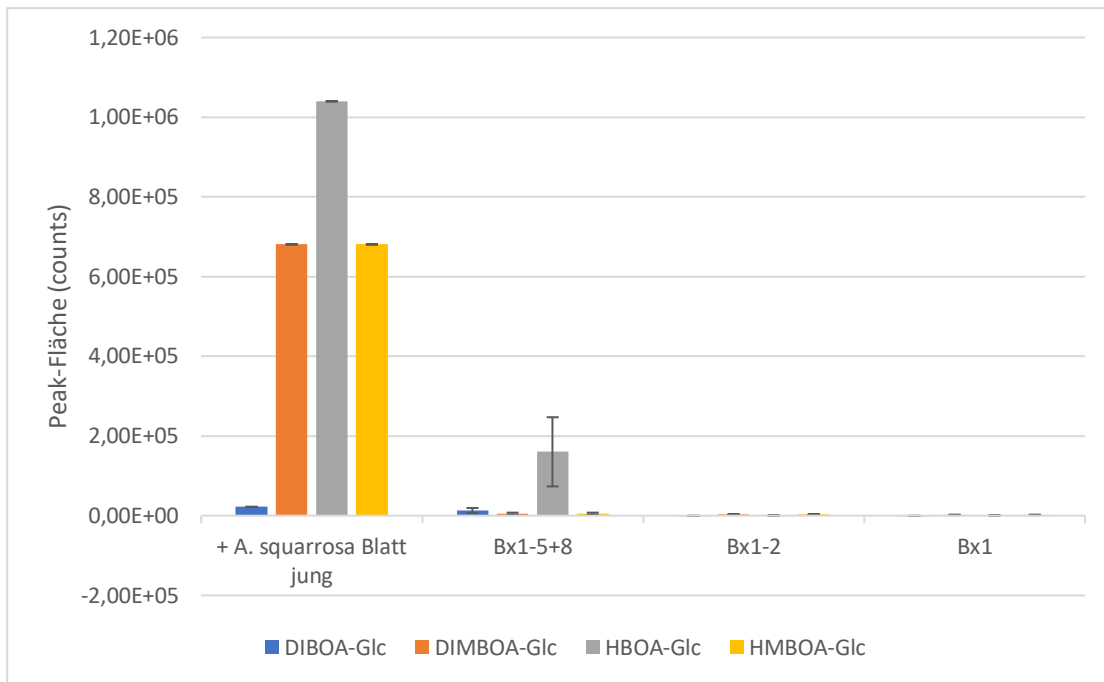


Abbildung 13: Peak-Flächen der Benzoxazinoide der mit Bx1-5+8, Bx1-2 und der mit Bx1 transformierten *Nicotiana benthamiana*. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Als Standard diente ein Methanolextrakt eines jungen *Aphelandra squarrosa*-Blatts.

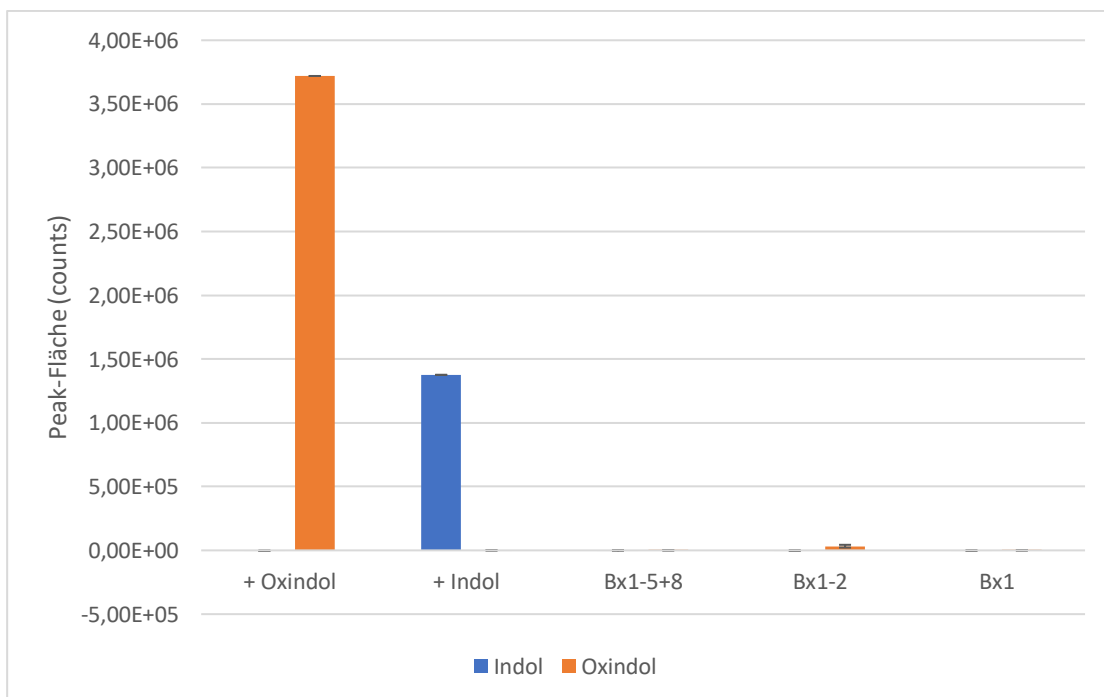


Abbildung 14: Peak-Flächen der (Ox-) Indole der mit Bx1-5+8, Bx1-2 und der mit Bx1 transformierten *Nicotiana benthamiana*. Methanolextrakte wurden mittels HPLC-MS analysiert. Die Positivkontrollen („Oxindol“, „Indol“) wurden durch den Betreuer zur Verfügung gestellt.

7.4 Chromatogramme

7.4.1 Screening

7.4.1.1 Botanischer Garten Jena

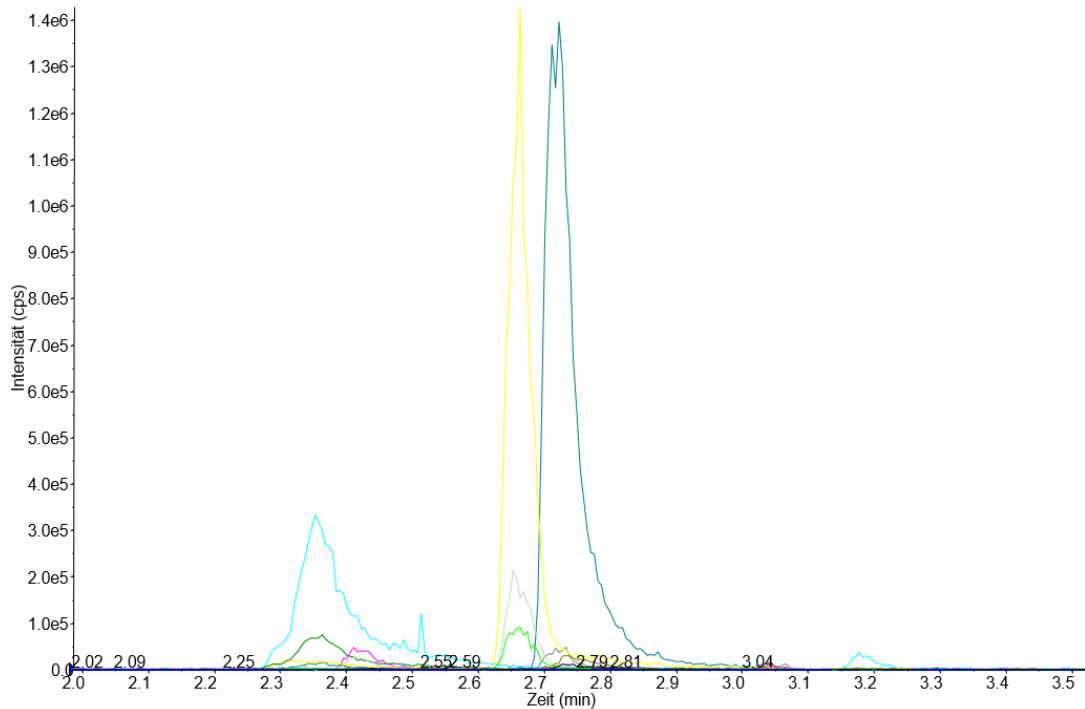


Abbildung 15: Chromatogramm eines Methanolextrakts von *Apelandra squarrosa* (junges Blatt, Positivkontrolle). Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,43 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,34 min, HMBOA-Glc: 2,64 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

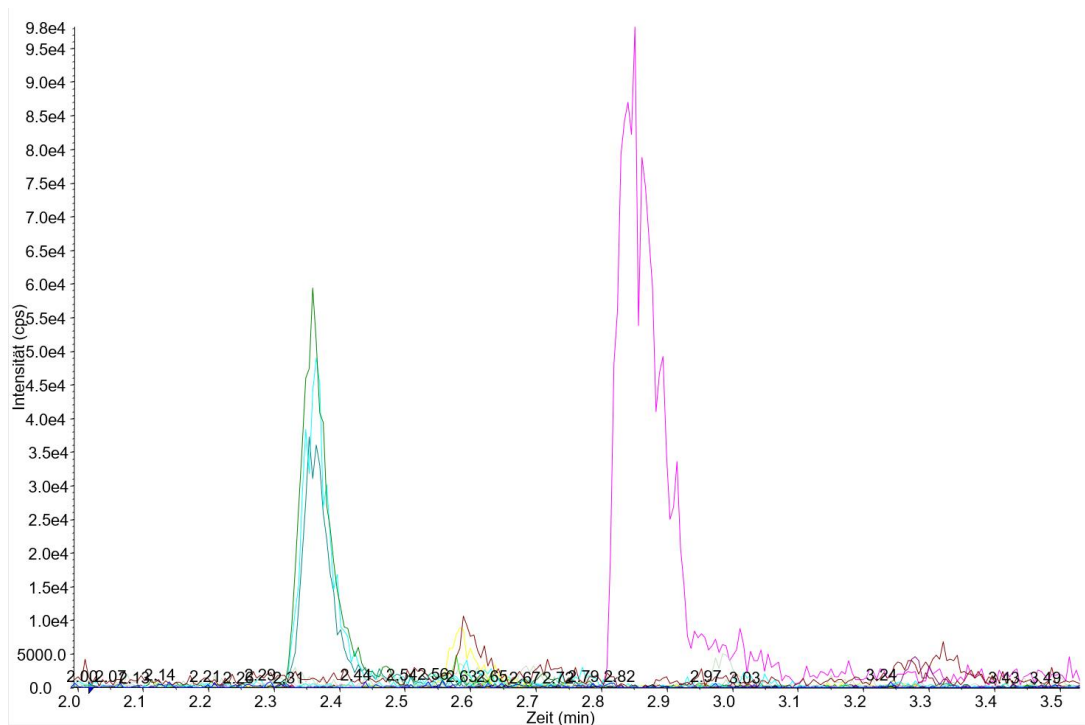


Abbildung 16: Chromatogramm eines Methanolextrakts von *Ballota hispanica*. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,43 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,34 min, HMBOA-Glc: 2,64 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

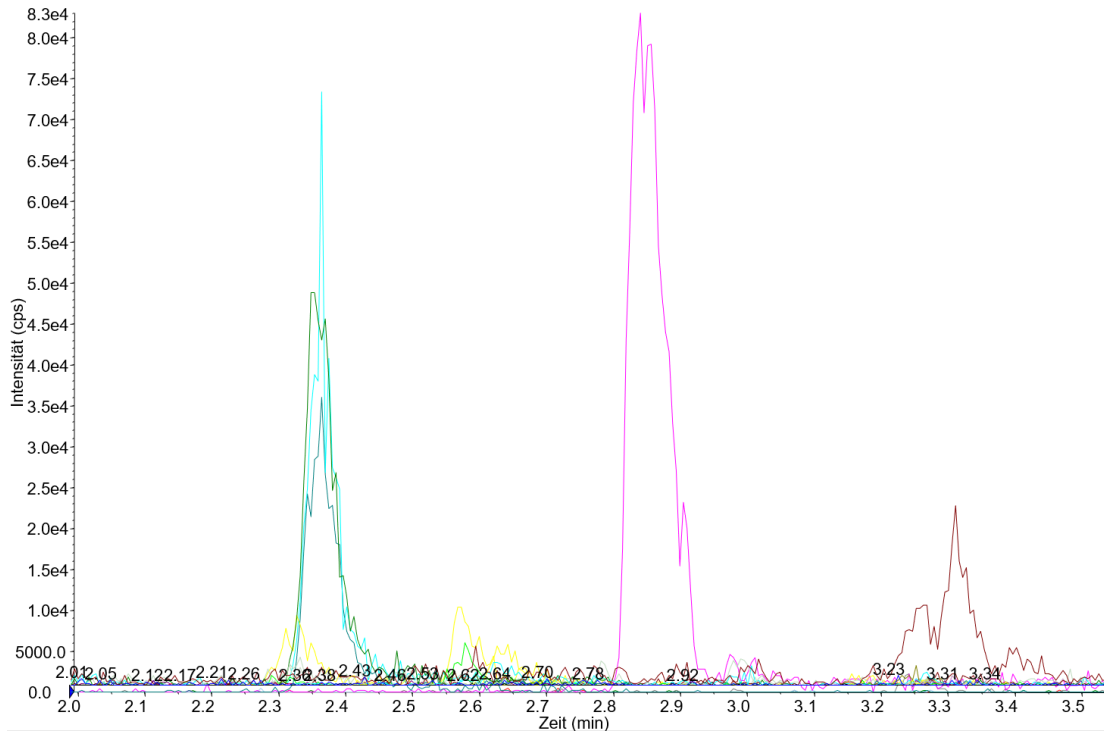


Abbildung 17: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Ballota nigra*. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,43 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,34 min, HMBOA-Glc: 2,64 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

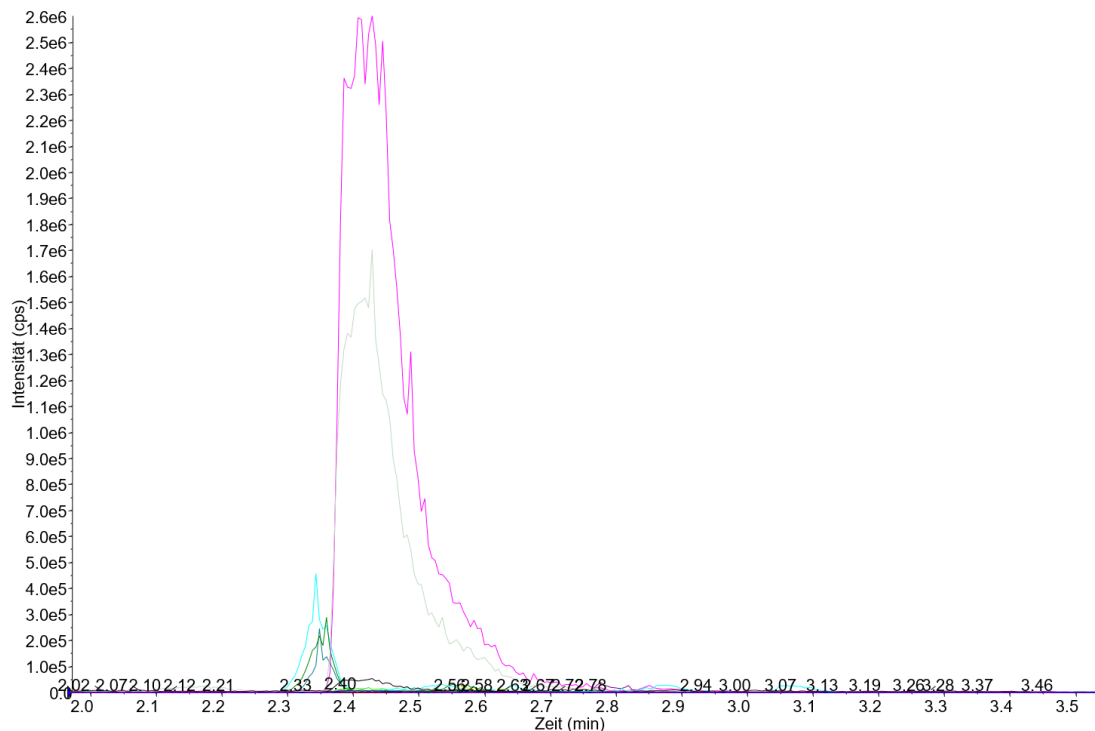


Abbildung 18: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Lamium galeobdolon*. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,43 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,34 min, HMBOA-Glc: 2,64 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

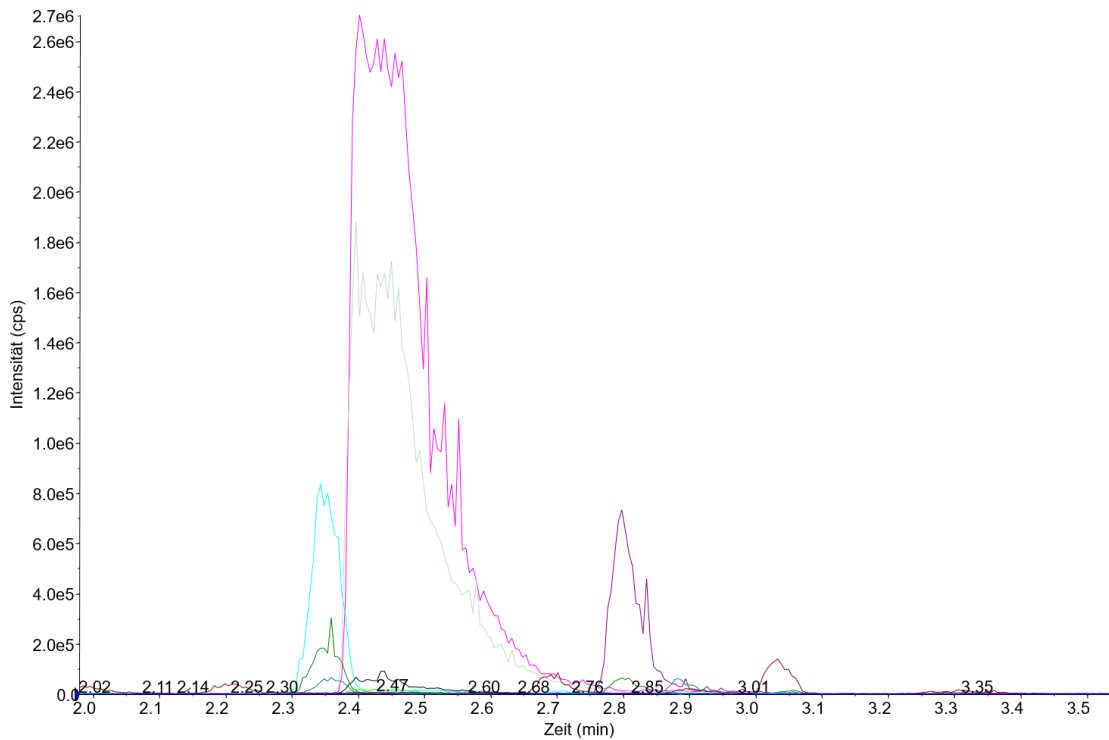


Abbildung 19: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Acanthus hungaricus*. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,43 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,34 min, HMBOA-Glc: 2,64 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

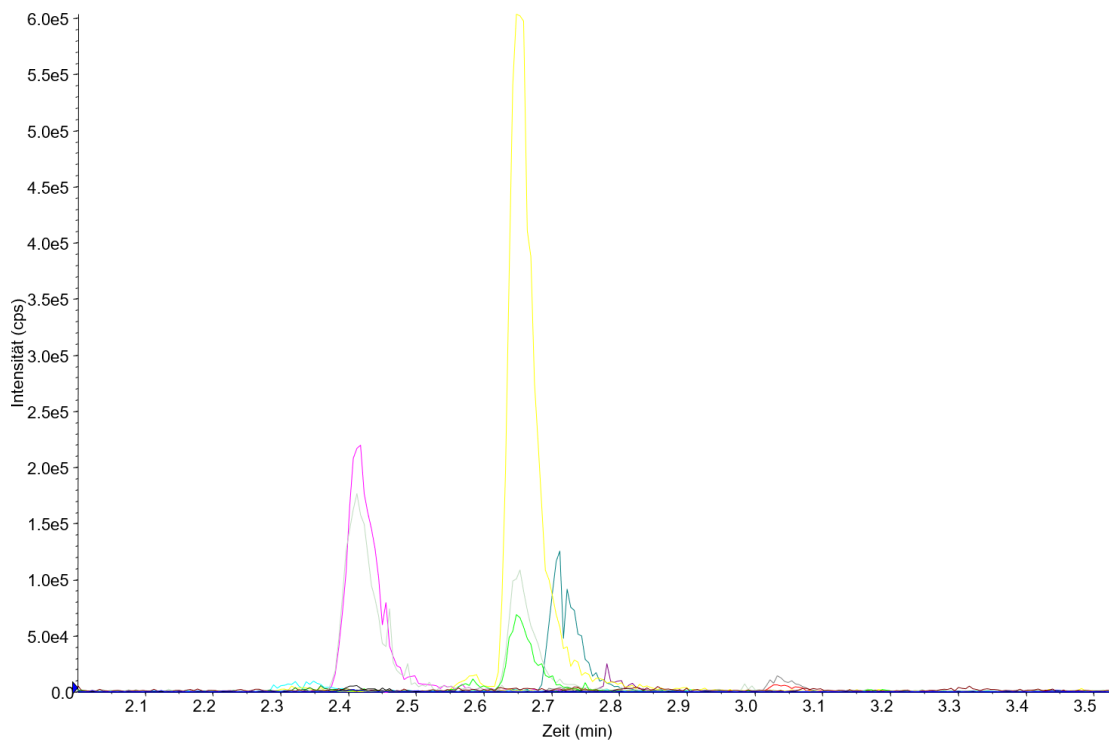


Abbildung 20: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Aphelandra aurantiaca*. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,43 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,34 min, HMBOA-Glc: 2,64 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

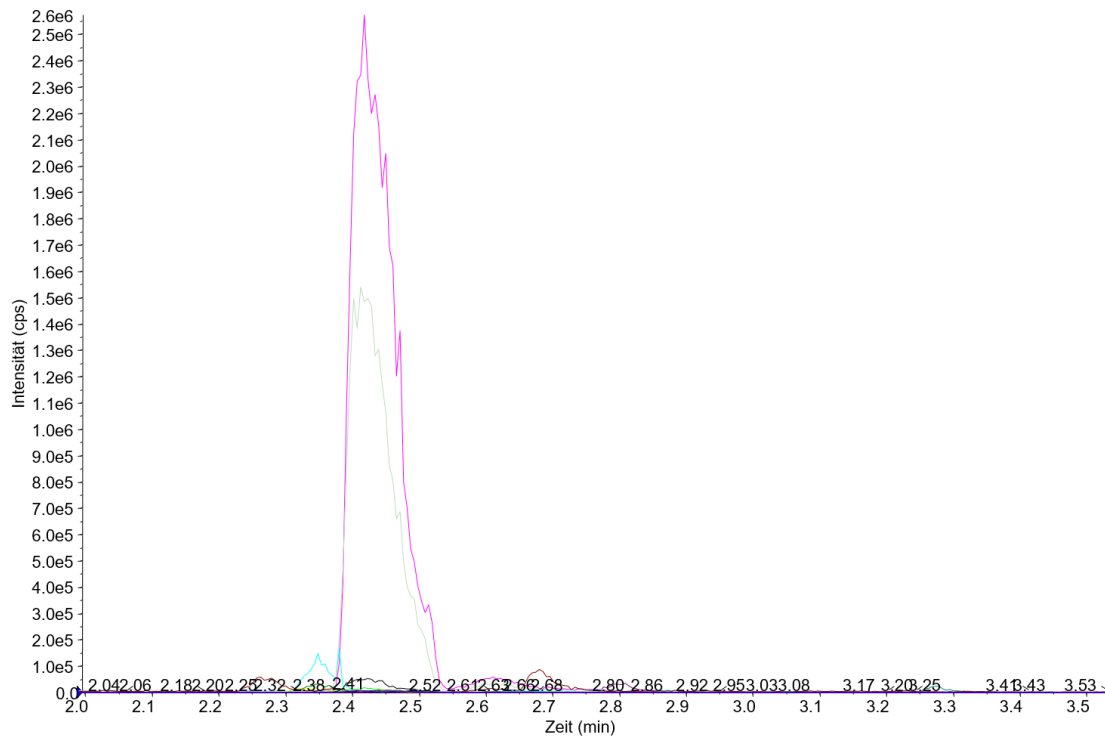


Abbildung 21: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Crossandra pungens*. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,43 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,34 min, HMBOA-Glc: 2,64 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

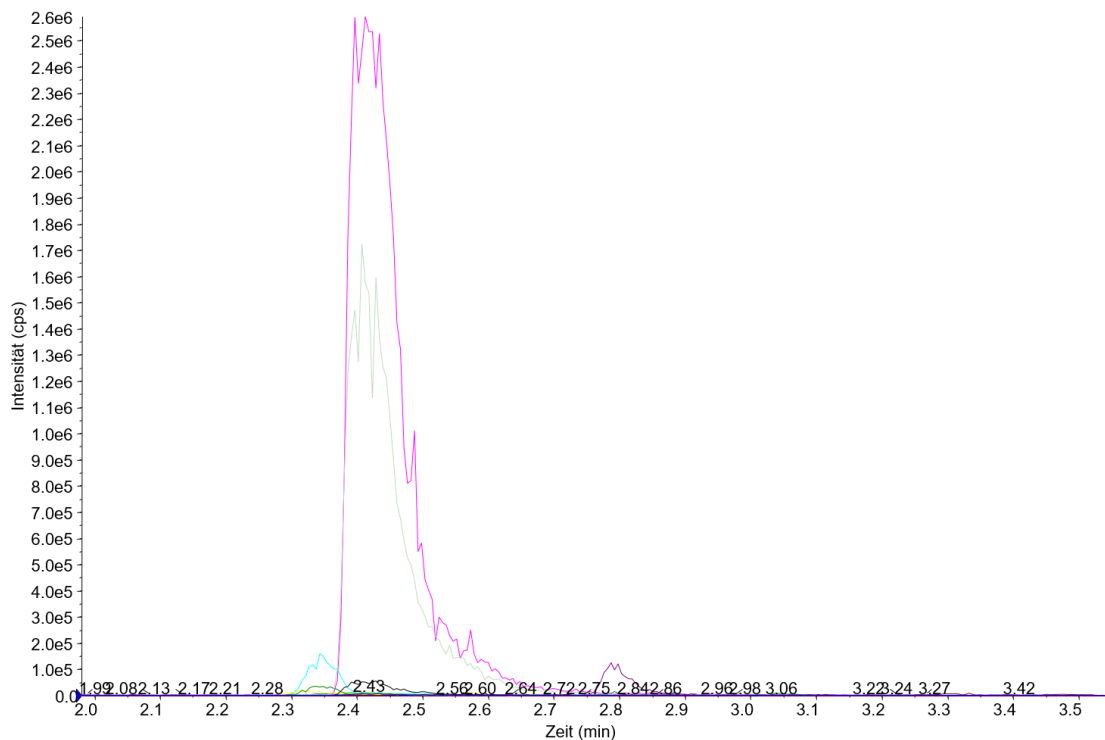


Abbildung 22: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Crossandra flava*. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,43 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,34 min, HMBOA-Glc: 2,64 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

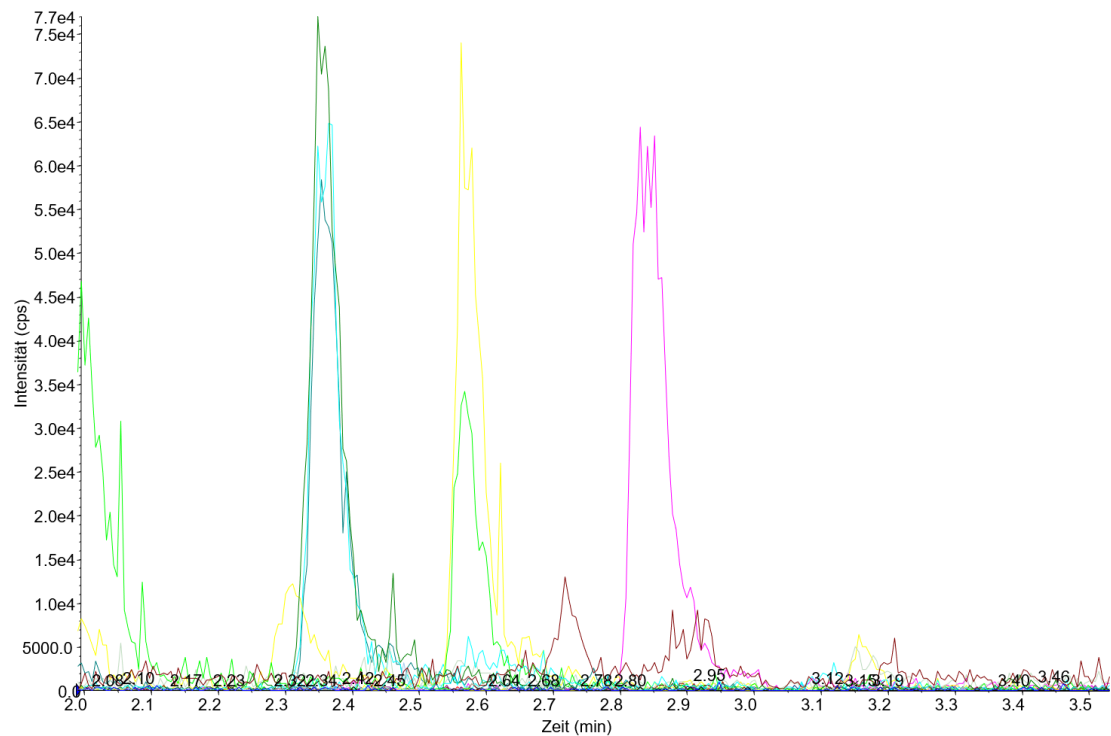


Abbildung 23: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Delphinium elatum*. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,43 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,34 min, HMBOA-Glc: 2,64 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

7.4.1.2 Jasmonsäure-Versuch

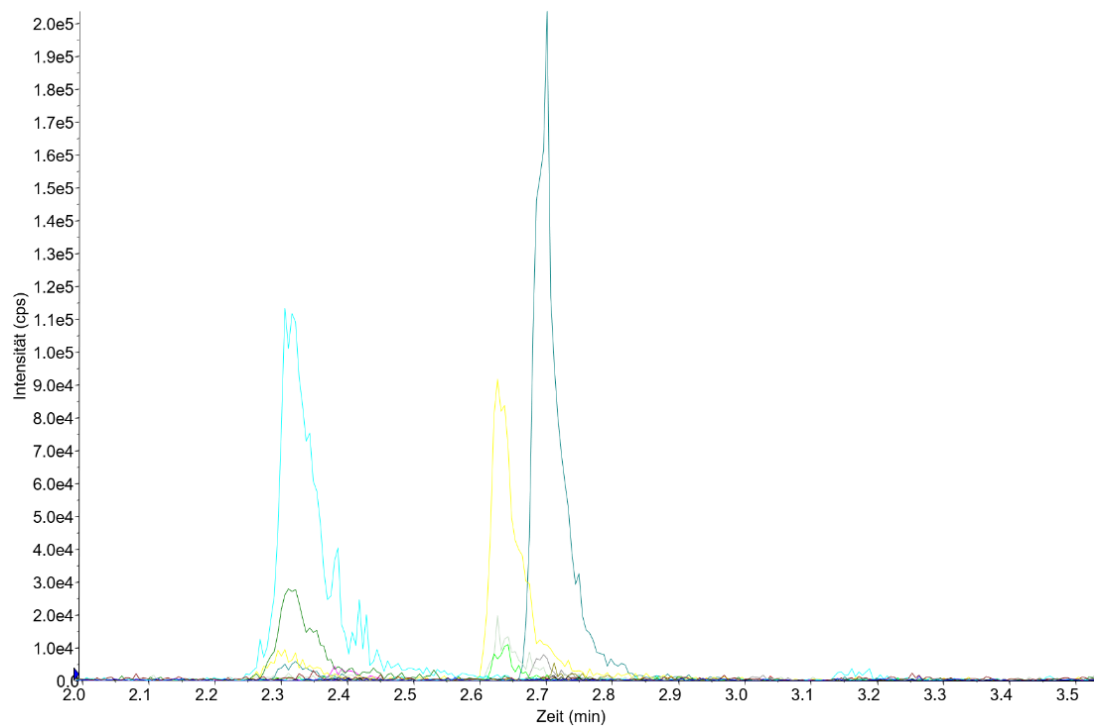


Abbildung 24: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Aphelandra squarrosa* (junges Blatt, Positivkontrolle). Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,38 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,31 min, HMBOA-Glc: 2,63 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

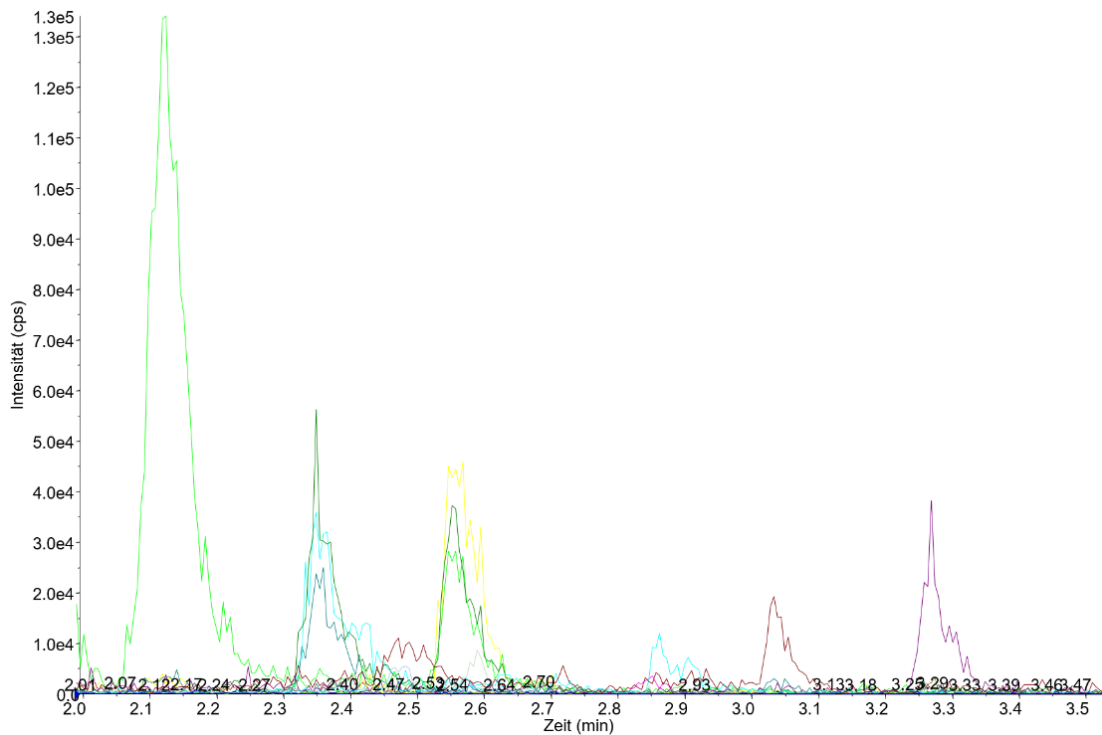


Abbildung 25: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Ethanol-Lösung behandelter *Consolidia regalis*-Pflanze (Kontrolle). Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,38 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,31 min, HMBOA-Glc: 2,63 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

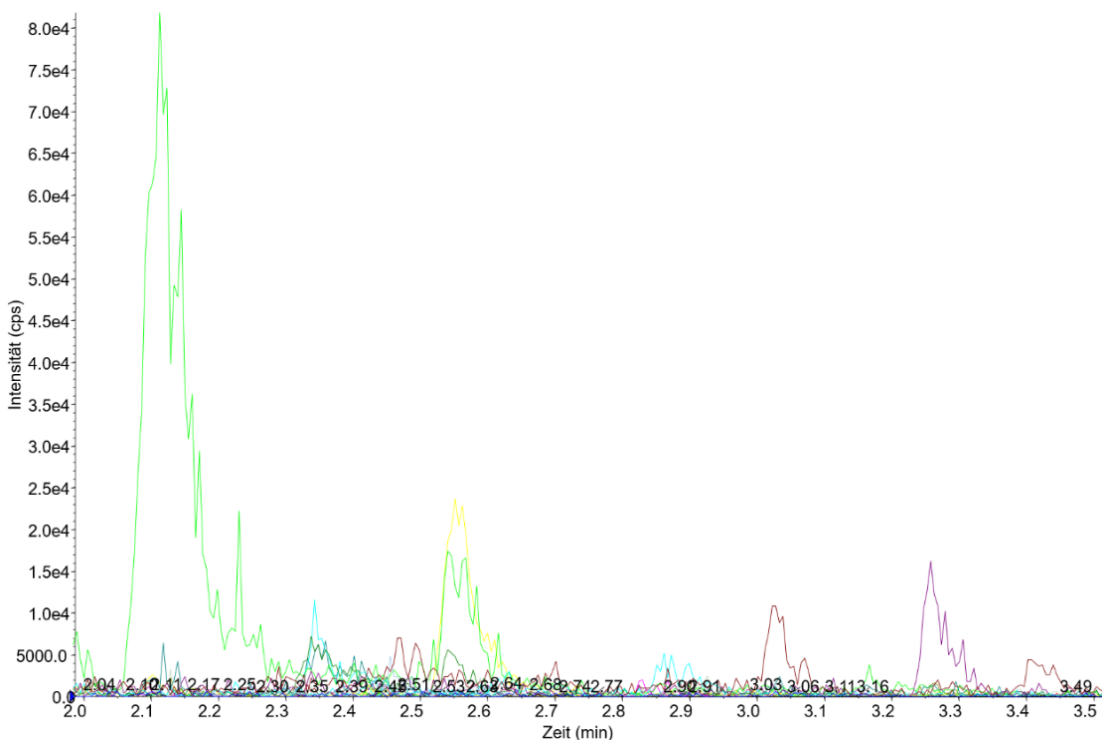


Abbildung 26: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Jasmonsäure-Lösung behandelter *Consolidia regalis*-Pflanze. Die im Extrakt enthaltenen BenzoxazinBoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,38 min, DIMBOA-Glc: 2,70 min, HBOA-Glc: 2,31 min, HMBOA-Glc: 2,63 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

7.4.1.3 *Lamium*

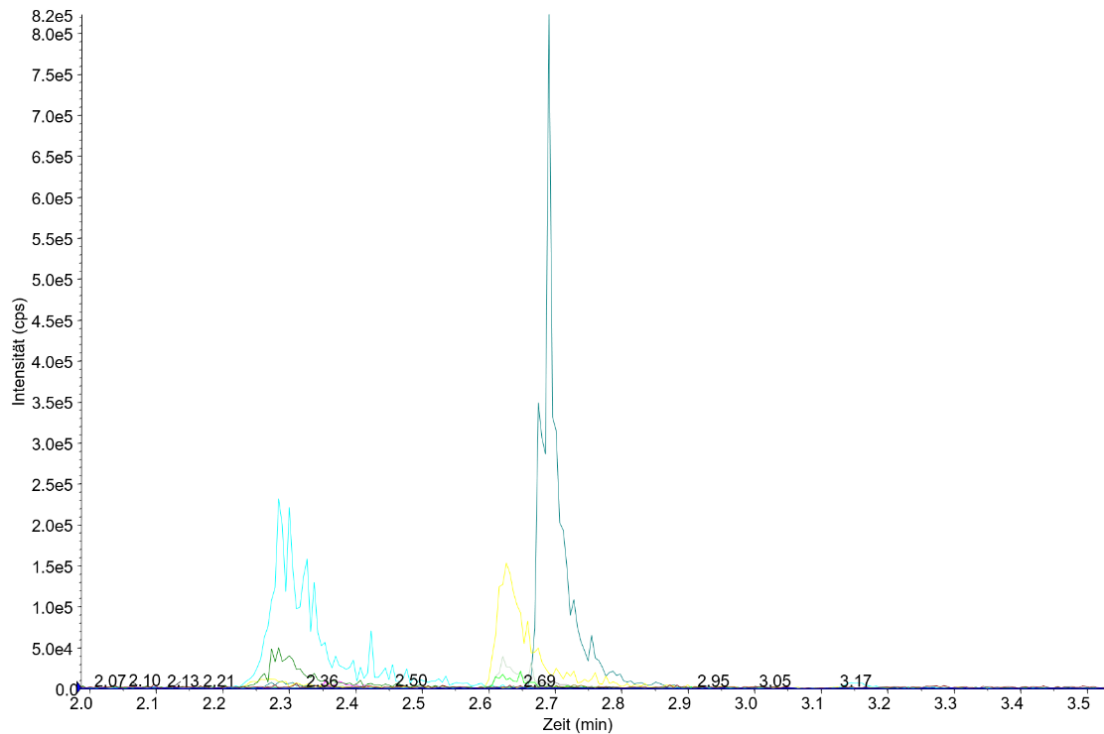


Abbildung 27: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Apelandra squarrosa* (junges Blatt, Positivkontrolle). Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,38 min, DIMBOA-Glc: 2,69 min, HBOA-Glc: 2,29 min, HMBOA-Glc: 2,63 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

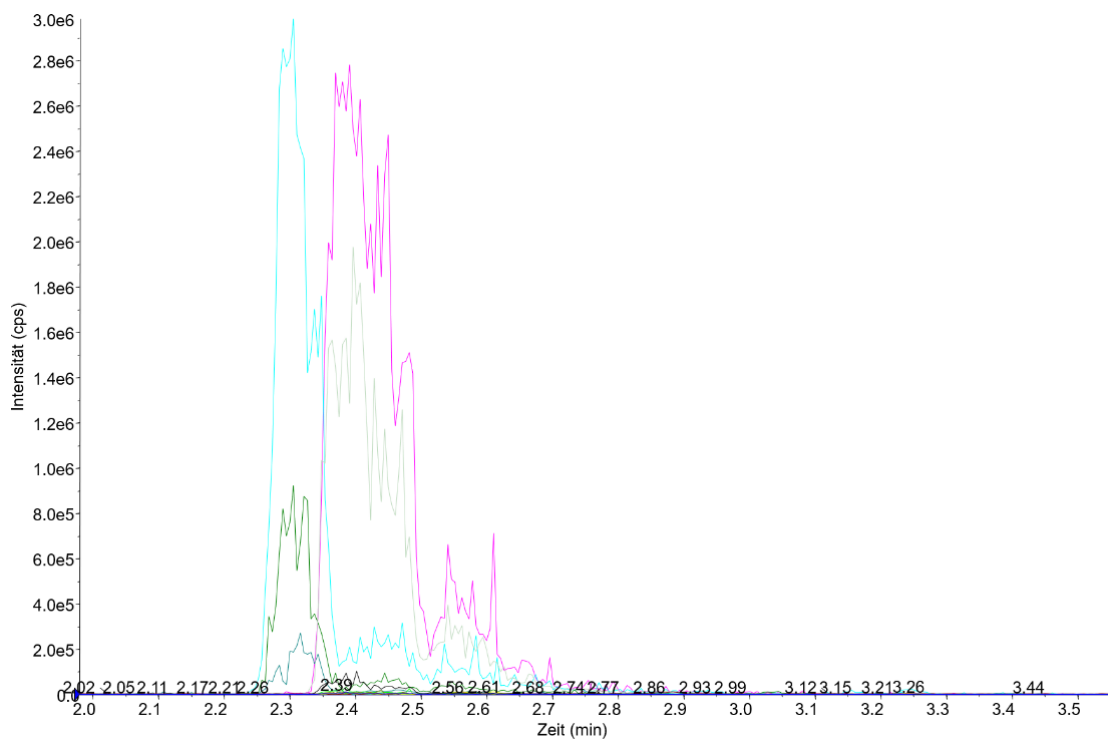


Abbildung 28: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Lamium montanum*. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,38 min, DIMBOA-Glc: 2,69 min, HBOA-Glc: 2,29 min, HMBOA-Glc: 2,63 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

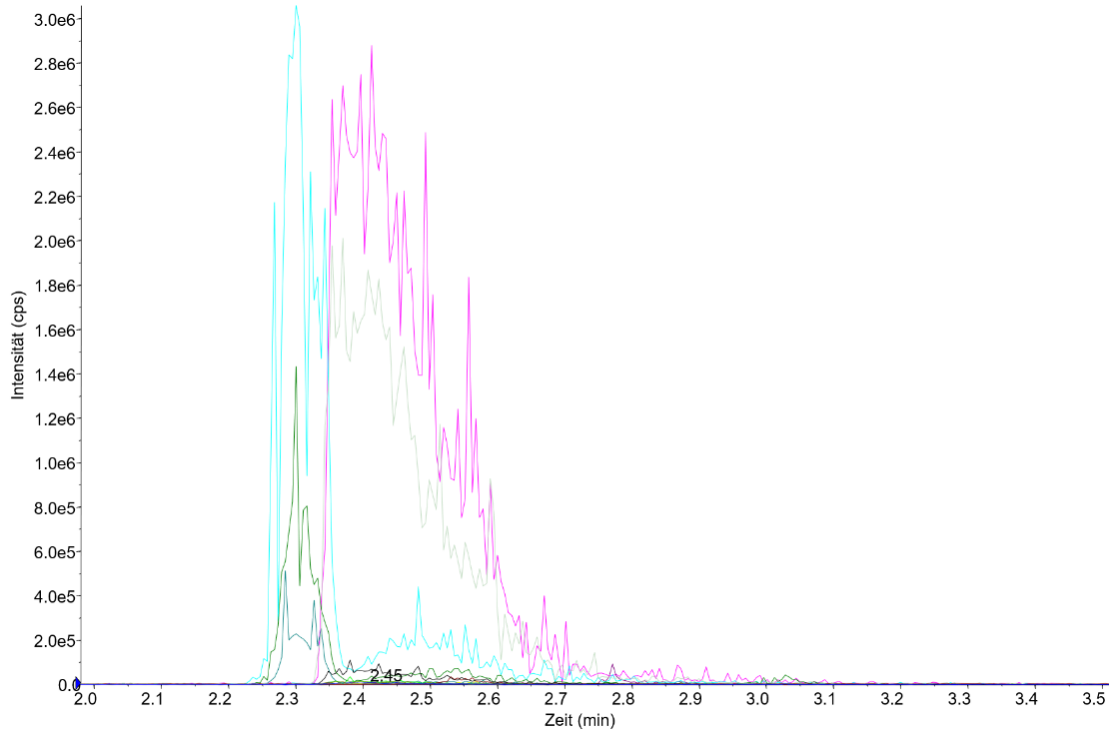


Abbildung 29: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Lamium galeobdolon*. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,38 min, DIMBOA-Glc: 2,69 min, HBOA-Glc: 2,29 min, HMBOA-Glc: 2,63 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

7.4.2 Transformation *Nicotiana benthamiana*

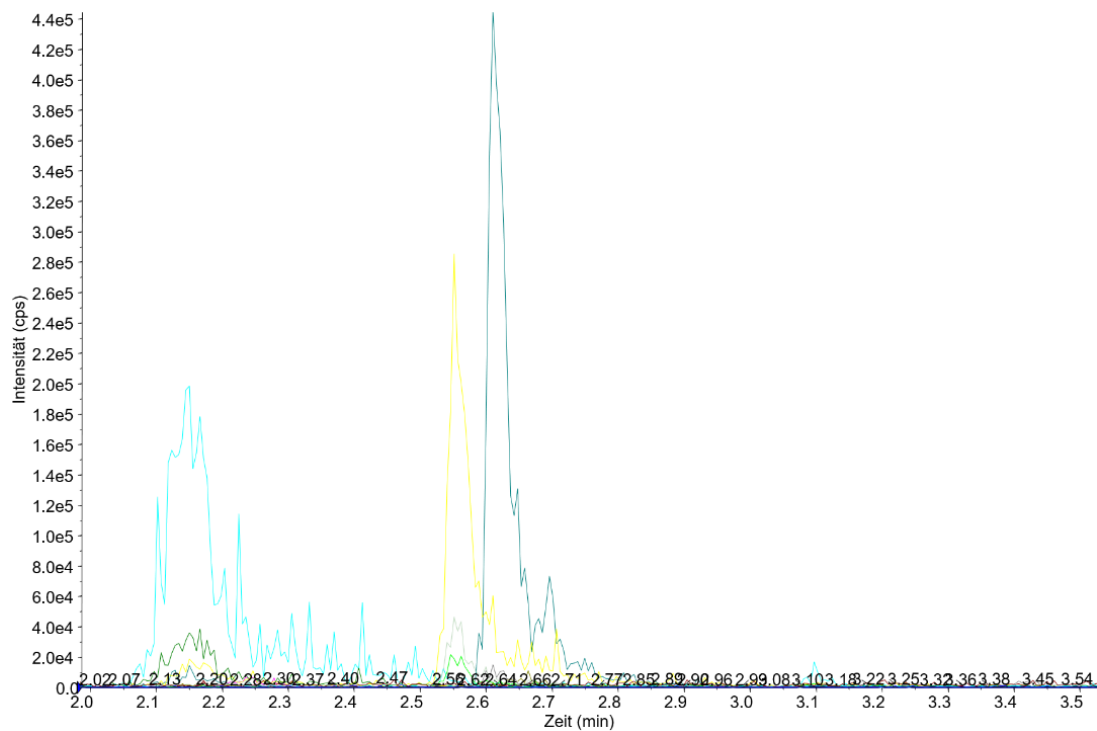


Abbildung 30: Chromatogramm eines Methanolextraks von *Apelandra squarrosa* (junges Blatt, Positivkontrolle). Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,24 min, DIMBOA-Glc: 2,61 min, HBOA-Glc: 2,15 min, HMBOA-Glc: 2,55 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

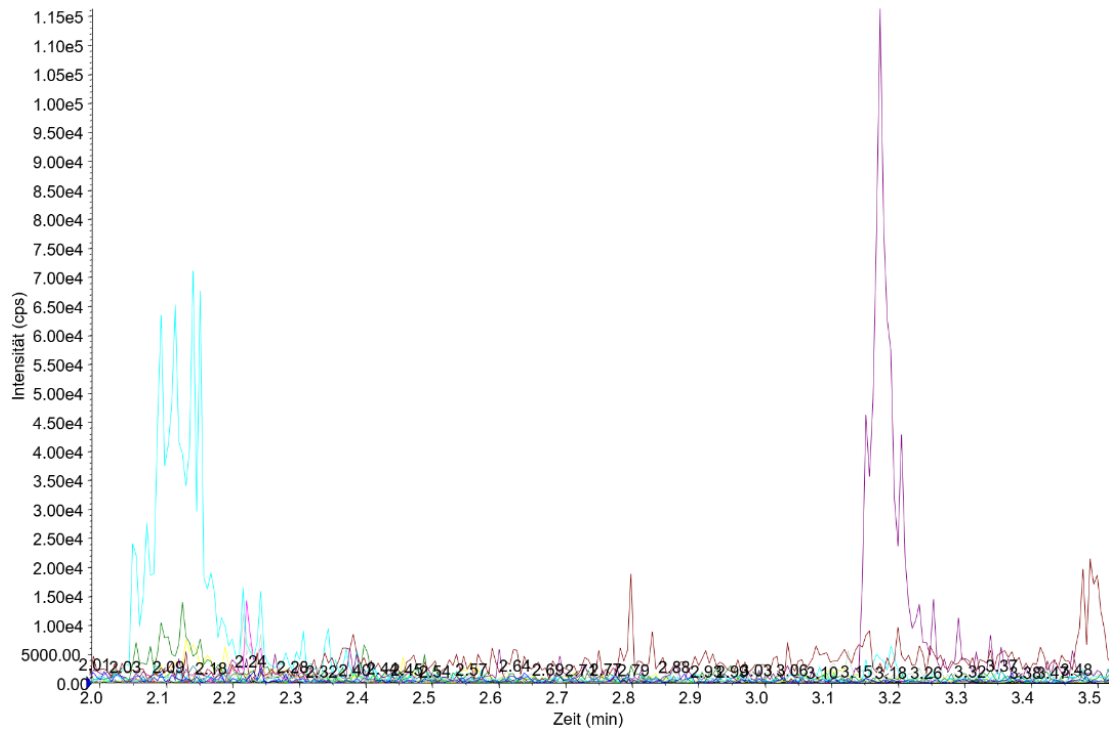


Abbildung 31: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-5+8 transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanze. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,24 min, DIMBOA-Glc: 2,61 min, HBOA-Glc: 2,15 min, HMBOA-Glc: 2,55 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

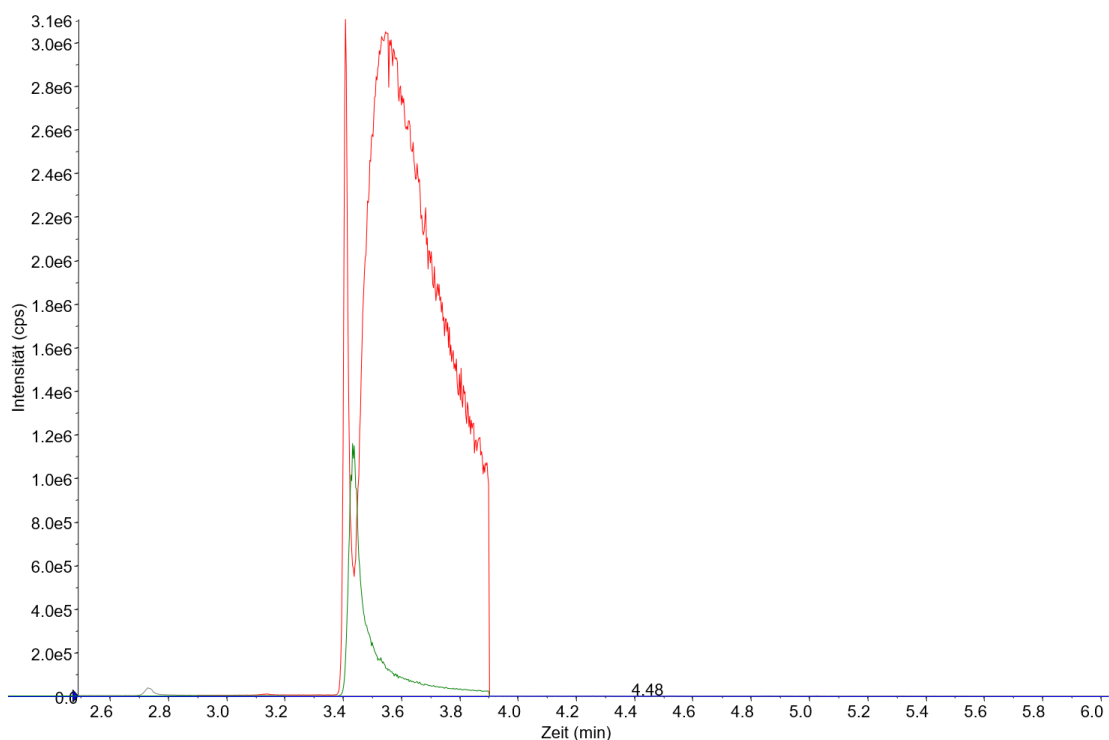


Abbildung 32: Chromatogramm einer Oxindol-Positivkontrolle (durch den Betreuer zur Verfügung gestellt). Das im Extrakt enthaltene Oxindol wurde mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeit: 3,43 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

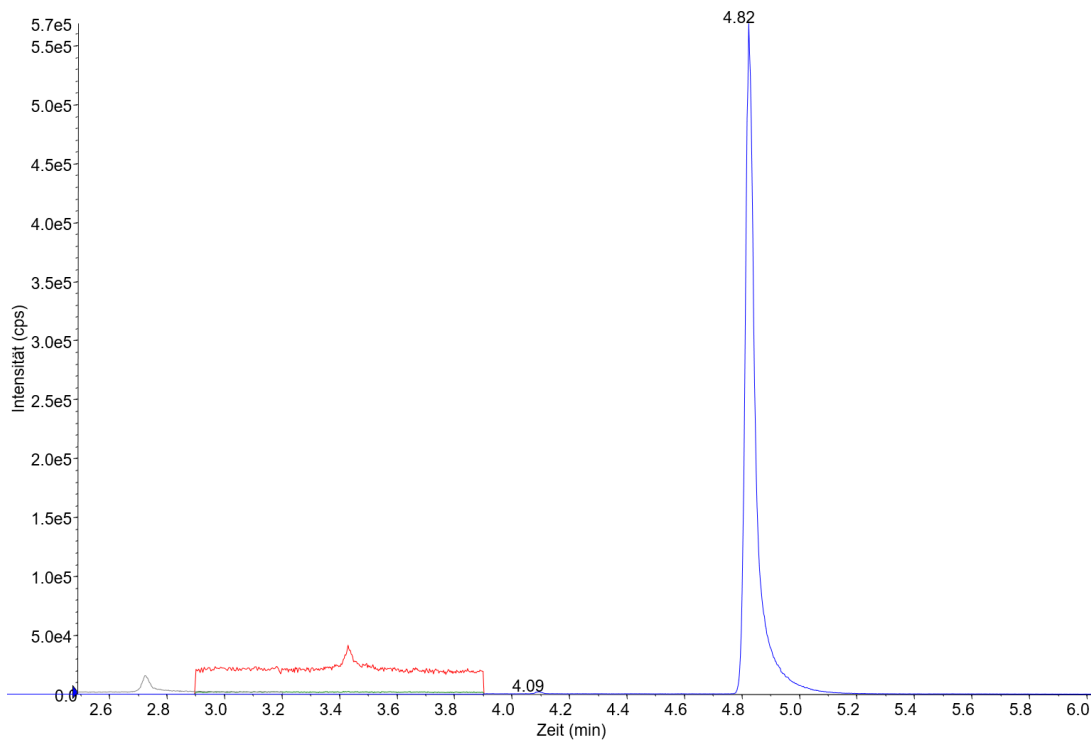


Abbildung 33: Chromatogramm einer Indol-Positivkontrolle (durch den Betreuer zur Verfügung gestellt). Das im Extrakt enthaltene Indol wurde mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeit: 4,82 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

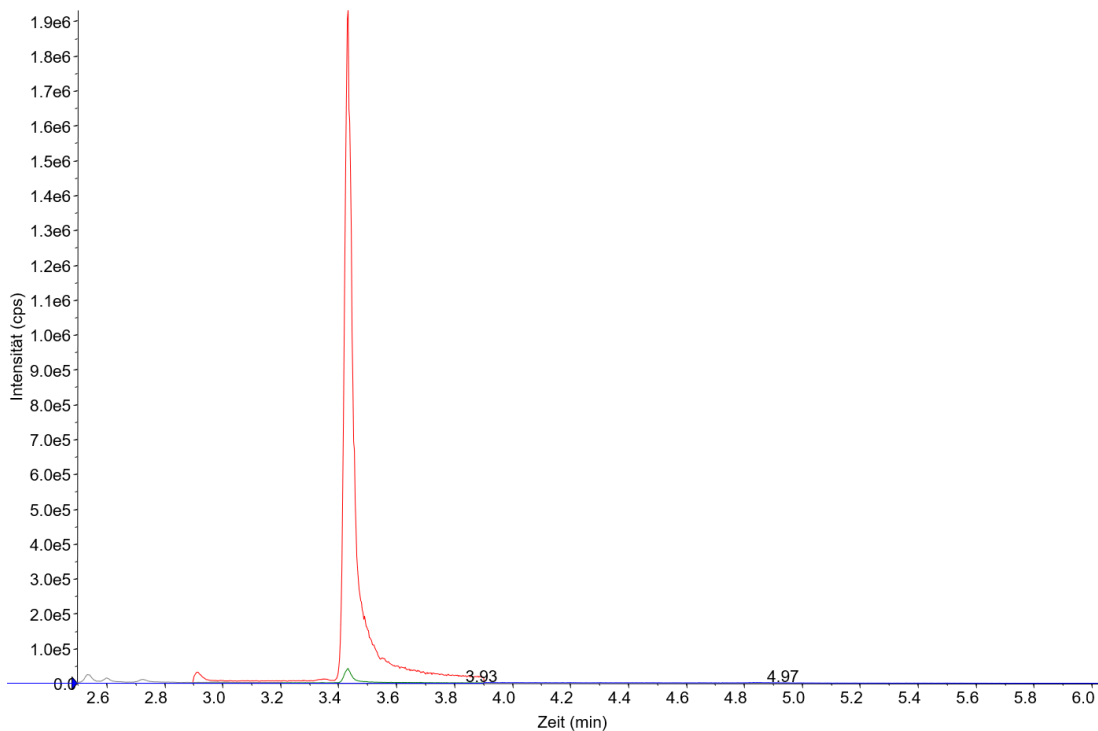


Abbildung 34: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-2 transformierten Nicotiana benthamiana-Pflanze. Das im Extrakt enthaltene (Ox-) Indol wurde mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: Oxindol: 3,43 min, Indol: 4,82 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

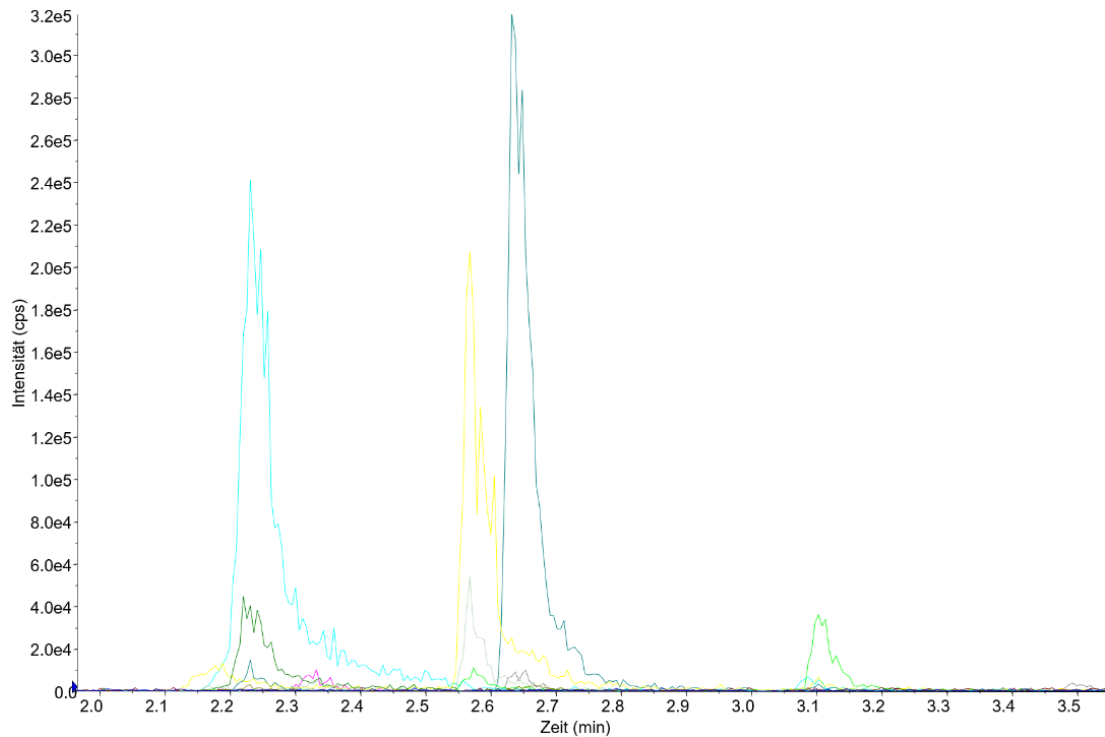


Abbildung 35: Chromatogramm eines Methanolextrakts von *Aphelandra squarrosa* (junges Blatt, Positivkontrolle). Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,33 min, DIMBOA-Glc: 2,63 min, HBOA-Glc: 2,23 min, HMBOA-Glc: 2,57 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

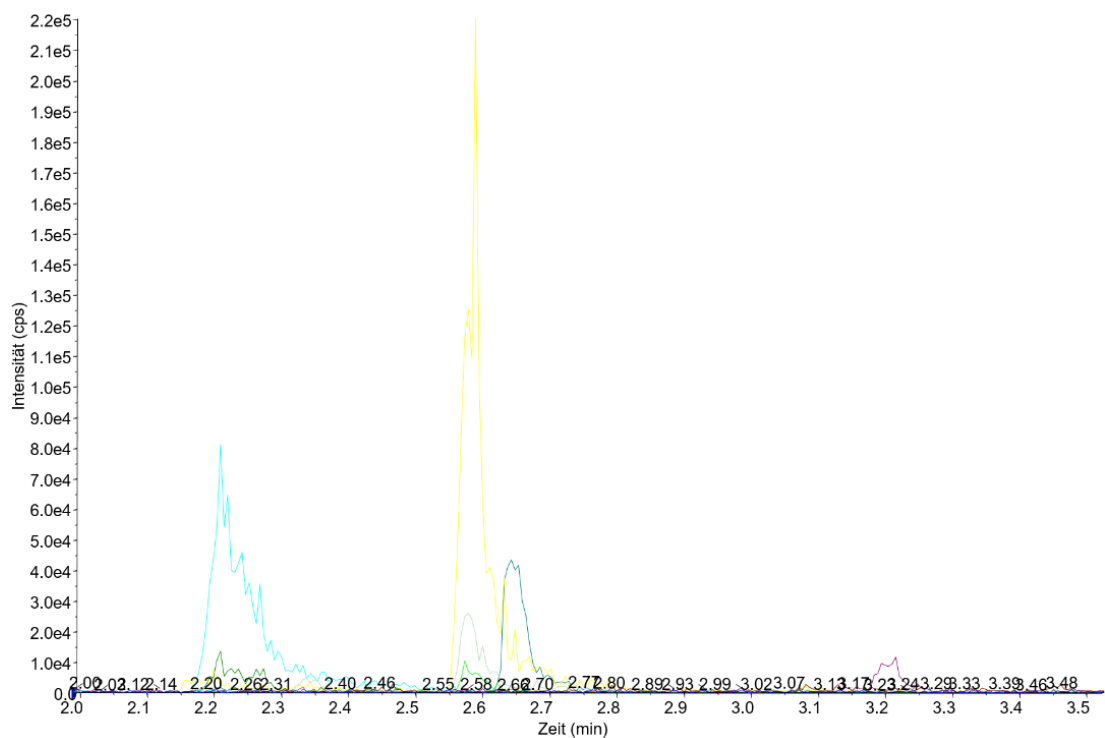


Abbildung 36: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-8 transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanze. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,33 min, DIMBOA-Glc: 2,63 min, HBOA-Glc: 2,23 min, HMBOA-Glc: 2,57 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

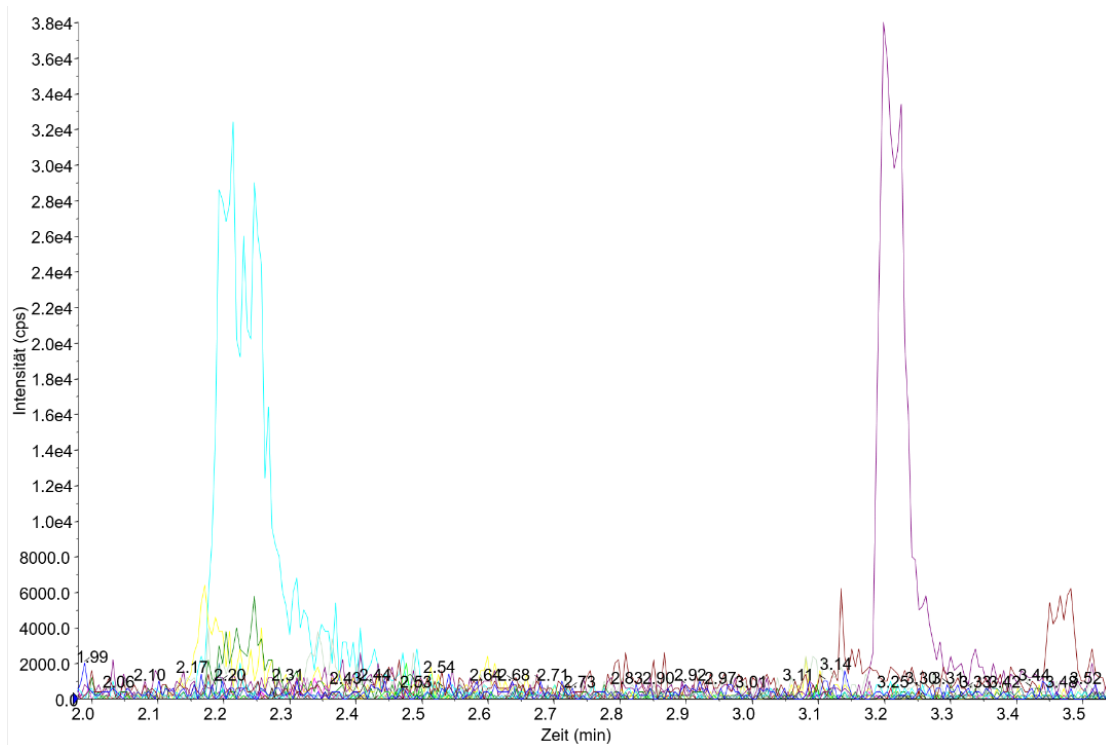


Abbildung 37: Chromatogramm eines Methanolextraks einer mit Bx1-6+8 transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanze. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,33 min, DIMBOA-Glc: 2,63 min, HBOA-Glc: 2,23 min, HMBOA-Glc: 2,57 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

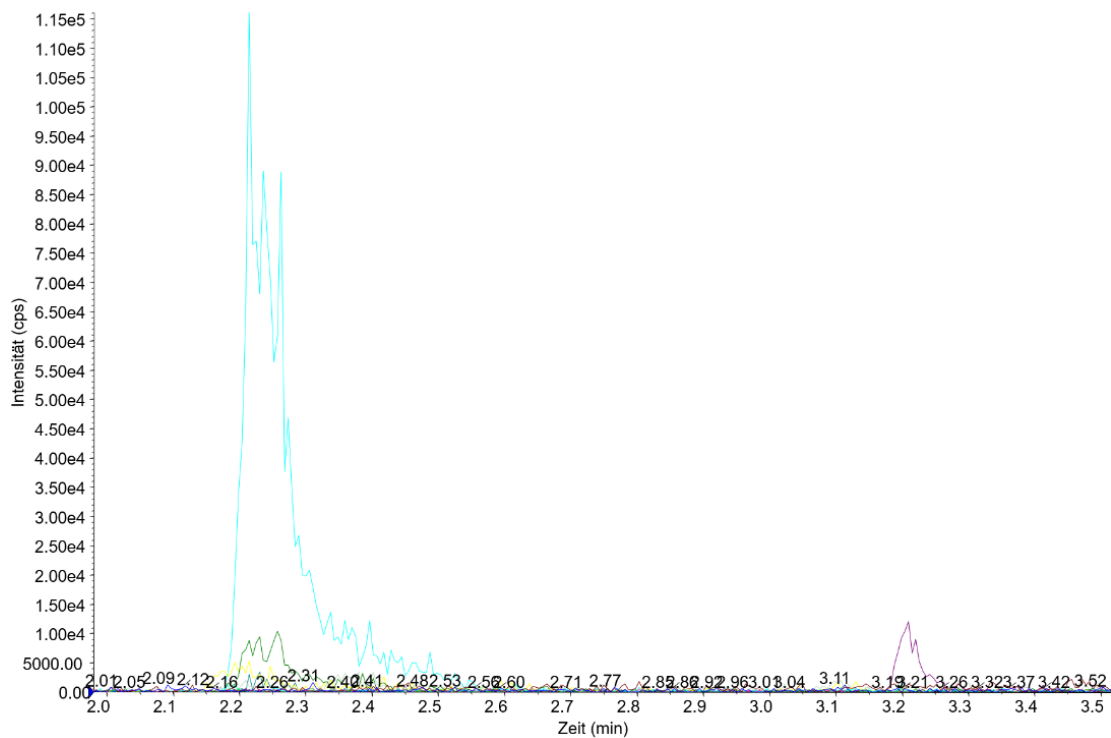


Abbildung 38: Chromatogramm eines Methanolextraks einer mit Bx1-4+6-8 transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanze. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,33 min, DIMBOA-Glc: 2,63 min, HBOA-Glc: 2,23 min, HMBOA-Glc: 2,57 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

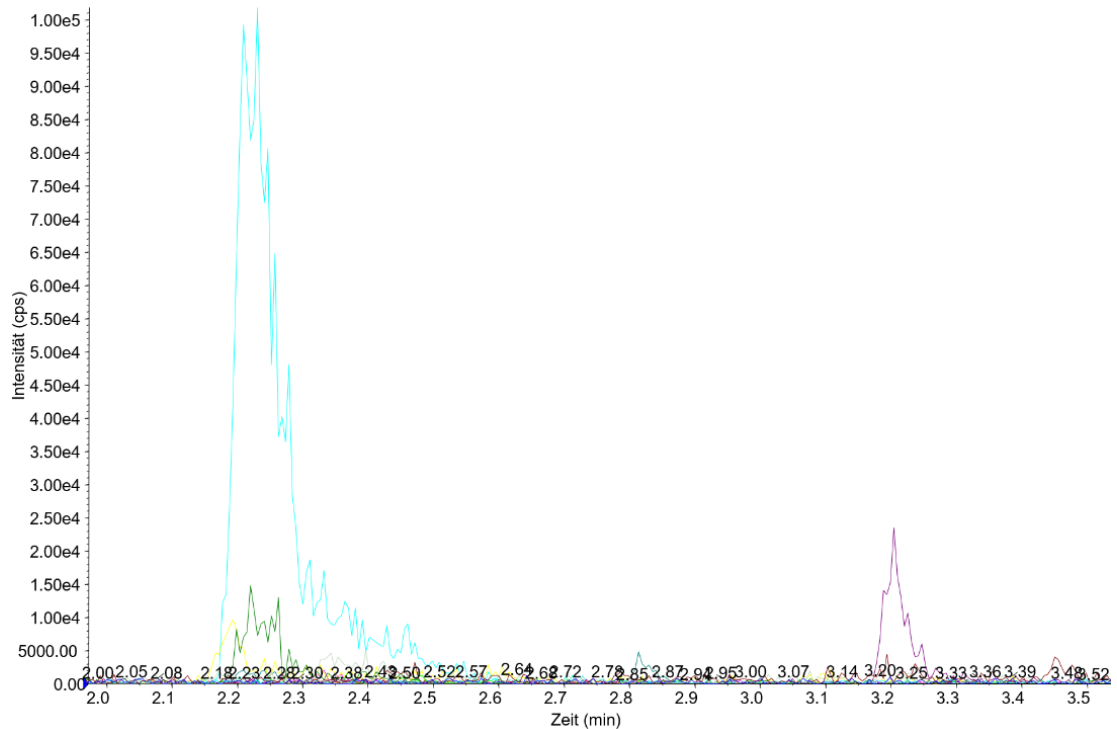


Abbildung 39: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-5 transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanze. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,33 min, DIMBOA-Glc: 2,63 min, HBOA-Glc: 2,23 min, HMBOA-Glc: 2,57 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

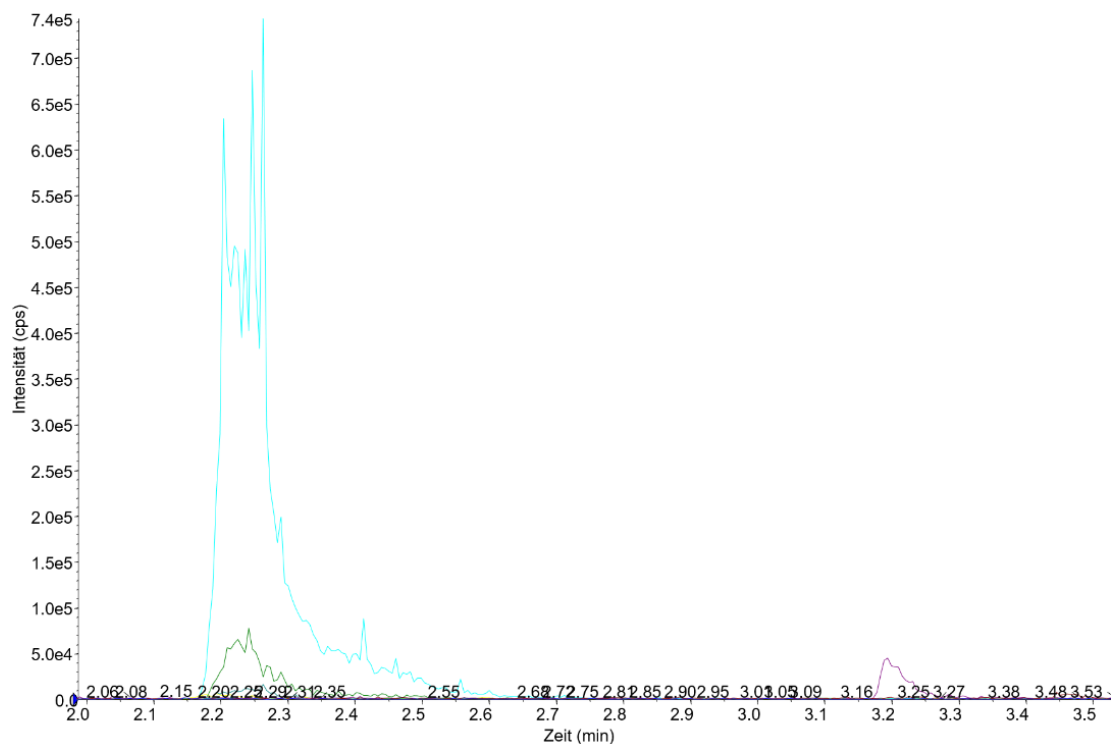


Abbildung 40: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit Bx1-4 transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanze. Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,33 min, DIMBOA-Glc: 2,63 min, HBOA-Glc: 2,23 min, HMBOA-Glc: 2,57 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

Als Negativkontrolle wurden *N. benthamiana*-Pflanzen mit *eGFP* transformiert. Dabei konnten keine Benzoxazinoide nachgewiesen werden.

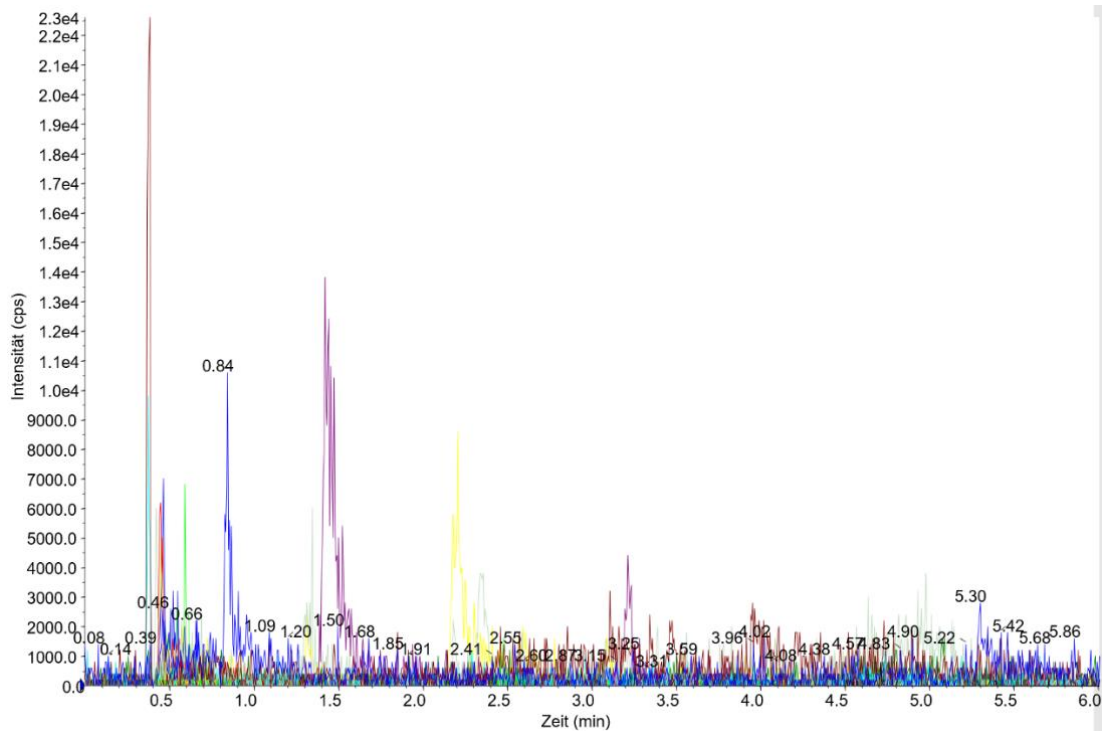


Abbildung 41: Chromatogramm eines Methanolextrakts einer mit *eGFP* transformierten *Nicotiana benthamiana*-Pflanze (Negativkontrolle). Die im Extrakt enthaltenen Benzoxazinoide wurden mittels HPLC-MS identifiziert. Retentionszeiten: DIBOA-Glc: 2,33 min, DIMBOA-Glc: 2,63 min, HBOA-Glc: 2,23 min, HMBOA-Glc: 2,57 min. Cps = counts per seconds, min = Minuten.

Danksagung

Ich möchte mich bei allen bedanken, die mich in irgendeiner Weise in der Zeit der Bachelorarbeit unterstützt haben.

Ein besonderer Dank geht an Dr. Tobias Köllner für das Bereitstellen des Themas, die Einführung in die Welt der Benzoxazinoide und die Betreuung der Arbeit.

Vielen Dank an Katrin Luck und Nathalie Lackus, die mich im Labor unterstützt und in neue Techniken eingeführt haben.

Bedanken möchte ich mich auch bei den anderen Studenten, die die Zeit im Büro immer mit Tee und Gesprächen bereichert haben.

Ich bedanke mich auch bei Prof. Dr. Helmut Pospiech, der sich als Gutachter der Arbeit zur Verfügung gestellt hat .

Schließlich möchte ich mich bei Prof. Dr. Jonathan Gershenzon und dem gesamten MPI für Chemische Ökologie für die Möglichkeit, diese Arbeit in der Abteilung Biochemie anzufertigen, bedanken.

DANKE!

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Jena, 15.12.2020

Lena Klein