



Max Planck Institute
for Chemical Ecology

Justus-Liebig-Universität Gießen

Institut für Lebensmittelchemie und Lebensmittelbiotechnologie

Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie

Abteilung Biochemie

Herbivor-induzierte Verteidigung einheimischer und invasiver
Populationen des Spitzwegerichs (*Plantago lanceolata*)

Herbivore-induced defense of indigenous and invasive
populations of the ribwort plantain (*Plantago lanceolata*)

Masterarbeit

vorgelegt von

Eric Schmöckel

aus Eschwege

06.04.2020-24.09.2020

Betreuerin: Dr. Sybille B. Unsicker
Betreuender Professor: Prof. Dr. Gerd Hamscher

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, die vorgelegte Thesis selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt zu haben, die ich in der Thesis angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Thesis erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der ‚Satzung der Justus-Liebig-Universität zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis‘ niedergelegt sind, eingehalten. Gemäß § 25 Abs. 6 der Allgemeinen Bestimmungen für modularisierte Studiengänge dulde ich eine Überprüfung der Thesis mittels Anti-Plagiatssoftware.

Ort, Datum

Eric Schmöckel

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Gerd Hamscher für die Ermöglichung einer Masterarbeit außerhalb des Institutes für Lebensmittelchemie und Lebensmittelbiotechnologie sowie für die externe Betreuung der Arbeit.

Ganz besonderer Dank gebührt Frau Dr. Sybille Unsicker und Frau Dr. Christiane Roscher für die Ermöglichung meiner Masterarbeit am Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie sowie für die großartige Betreuung und Unterstützung, die gute Organisation sowie die aufgewendete Zeit zur Umsetzung meiner Masterarbeit.

Frau Pamela Medina van Berkum danke ich für die großartige Zusammenarbeit und die vielen hilfreichen Tipps bei der Durchführung des Projektes.

Herrn Dr. Michael Reichelt und Frau Beate Rothe danke ich ganz besonders für die tatkräftige und umfangreiche Unterstützung bei der Durchführung der Analysen sowie für die Beantwortung aller meiner Fragen bei den Untersuchungen.

Darüber hinaus danke ich dem gesamten Department für Biochemie des Max-Planck-Instituts für chemische Ökologie und darunter besonders der Arbeitsgruppe *Chemical Ecology in Poplar* für die herzliche Aufnahme und die Unterstützung.

Ich danke zudem Frau Christiane Roscher, Herrn Jesus Viellas Arina, Herrn Armin Bischhoff, Frau Anna Lampe Bucharová, Herr Meelis Pärtel, Herrn Rob Salguero-Gomez, Herrn Dylan Child, Herrn Miguel Nemesio-Gorriz, Frau Astrid Wingler, Frau Rebecca McCulley, Frau Jennifer Firn, Frau Sally Power, Frau Julia Meis, Frau Almuth Hammerbach, Herrn Justin Luong, Herrn Hugh L.A. Henry und Frau Natalia Carrasco Farias, welche durch das Sammeln von Saaten des Spitzwegerichs aus aller Welt die Grundlage meiner Masterarbeit geschaffen haben.

Herrn Vincensius Surya Oetama und Frau Dr. Sabine Haenniger, danke ich für die Bereitstellung der Insekten.

Ein Dank geht auch an meine Familie und an meine Freunde für die seelische Unterstützung und den Beistand.

Ich danke meinen Eltern, welche mir das Studium ermöglichen und mich auf dem ganzen Weg moralisch sowie finanziell unterstützt haben.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	VII
Tabellenverzeichnis	XII
Zusammenfassung	XV
Abkürzungsverzeichnis	XVII
1 Einleitung	1
1.1 Resistenzmechanismen der Pflanzen gegenüber Herbivorie	1
1.1.1 Phytohormon- <i>Signaling</i> und induzierte Verteidigung.....	3
1.2 Die genetische Variabilität von Pflanzenpopulationen.....	7
1.2.1 Anpassung der Verteidigungsstrategien	8
1.3 Der Modellorganismus <i>Plantago lanceolata</i>	11
1.3.1 Die Chemische Verteidigung von <i>Plantago lanceolata</i>	12
1.3.1.1 Iridoidglykoside.....	12
1.3.1.2 Verbascosid.....	14
1.4 Zielsetzung	15
2 Experimenteller Teil	17
2.1 Materialien.....	17
2.2 Methoden	20
2.2.1 Daten und Aufzucht von <i>Plantago lanceolata</i>	20
2.2.2 Aufzucht und Vorbereitung der generalistischen Herbivoren.....	21
2.2.3 Experimentelles Design	22
2.2.4 Probennahme	23
2.2.5 Probenvorbereitung	24
2.2.5.1 Trocknung und Homogenisierung des Probenmaterials.....	24
2.2.5.2 Extraktion	24
2.3 Analytik.....	25
2.3.1 Untersuchung der morphologischen Merkmale.....	25
2.3.1.1 Berechnung des Wurzel/Spross-Verhältnisses	25
2.3.1.2 Bestimmung der Blattfläche und der Blattflächenverluste	25
2.3.1.3 Berechnung der spezifischen Blattfläche	26

2.3.2	Analytik der Pflanzenstoffe	27
2.3.2.1	Identifizierung der Pflanzenstoffe.....	28
2.3.2.2	Bestimmung der Responsefaktoren.....	28
2.3.2.3	Absolute Quantifizierung der Pflanzenstoffe	29
2.3.2.4	Relative Quantifizierung der Pflanzenstoffe	29
2.3.3	Analytik der Aminosäuren.....	29
2.3.3.1	Identifizierung der Aminosäuren	31
2.3.3.2	Absolute Quantifizierung der Aminosäuren.....	31
2.3.4	Analytik der Zucker	31
2.3.4.1	Identifizierung und Absolute Quantifizierung der Zucker	32
2.3.4.2	Identifizierung von Sorbitol.....	34
2.3.5	Exemplarische Prüfung zweier Populationen in einer Non-Target-Analytik	34
2.4	Statistische Auswertung.....	36
3	Ergebnisse	37
3.1	Morphologische Merkmale.....	37
3.1.1	Blütenbildung von <i>Plantago lanceolata</i>	37
3.1.2	Biomasse.....	38
3.1.3	Wurzel/Spross-Verhältnis, Blattanzahl und Spezifische Blattfläche.....	39
3.2	Herbivorie	40
3.2.1	Blattflächenverluste durch experimentelle Herbivorie.....	40
3.2.2	Bewegungsaktivität von <i>Spodoptera littoralis</i>	41
3.3	Phytohormone	42
3.3.1	Jasmonate.....	42
3.3.2	Abscisinsäure	45
3.4	Iridoidglykoside.....	46
3.4.1	Aucubin	46
3.4.2	Catalpol	46
3.5	Phenole	48
3.5.1	Präkursoren und Intermediate	48
3.5.1.1	Shikimisäure.....	48

3.5.1.2	Aromatische Aminosäuren.....	49
3.5.1.3	<i>p</i> -Cumarsäure.....	49
3.5.1.4	Chlorogensäurederivate	51
3.5.2	Verbascosid.....	54
3.5.3	Flavonoide	56
3.6	γ -Aminobuttersäure und der Präkursor Glutamat.....	58
3.7	Primärmetabolite	60
3.7.1	Freie Aminosäuren	60
3.7.2	Zucker	60
3.7.3	Zuckeralkohole	61
3.8	Exemplarischer Vergleich der Substanzverteilung nach der Raupenherbivorie einer nativen und einer invasiven Population in einer Non-Target-Analyse.....	63
4	Diskussion	66
4.1	Überwog die Investition der invasiven Populationen in Reproduktion, Größe und Wachstum?	67
4.2	Überwog der herbivore Schaden an den Pflanzen der invasiven Populationen?....	71
4.3	Besteht zwischen nativen und invasiven Populationen ein Unterschied in der phytochemischen Reaktion auf einen herbivoren Stressor?	72
4.4	Besitzen invasive Populationen eine verringerte induzierte sowie konstitutive direkte Verteidigung?.....	75
4.5	Sind andere Hypothesen besser geeignet als die <i>Evolution of increased competitive ability</i> -Hypothese?.....	80
4.6	Warum wurde keine übermäßige, grundlegende Verminderung der Verteidigung nach <i>Evolution of increased competitive ability</i> -Hypothese ermittelt?	85
4.6.1	Varianz als Störfaktor	86
4.6.2	Der Spitzwegerich – ein vielseitig beliebtes Kraut.....	88
4.7	Wie ist trotz geringfügig verminderter Verteidigung ein höheres Maß an experimenteller Herbivorie zu erklären?	89
4.8	Werden die Sekundärmetaboliten stärker von anderen Umweltfaktoren unabhängig der <i>Enemy release hypothesis</i> beeinflusst?	90
5	Fazit und Ausblick	92
6	Literaturverzeichnis.....	95

7	Anhang	105
7.1	Analytik der Pflanzenstoffe	105
7.1.1	Qualifizierung.....	105
7.1.1.1	Identifizierung der Phytohormone	107
7.1.1.2	Identifizierung der Iridoidglykoside.....	109
7.1.1.3	Identifizierung der Phenole	110
7.1.2	Quantifizierung	117
7.2	Aminosäureanalytik	117
7.2.1	Qualifizierung.....	117
7.2.1.1	Identifizierung der hydrophoben Aminosäuren.....	118
7.2.1.2	Identifizierung der hydrophilen, neutralen Aminosäuren	123
7.2.1.3	Identifizierung der hydrophilen, sauren Aminosäuren	125
7.2.1.4	Identifizierung der hydrophilen, basischen Aminosäuren	126
7.2.1.5	Nicht-proteinogene Aminosäuren.....	127
7.2.2	Quantifizierung	128
7.2.2.1	Quantifizierung und statistische Auswertung einzelner Aminosäuren	129
7.3	Zuckeranalytik	134
7.3.1	Qualifizierung.....	134
7.3.2	Quantifizierung und statistische Auswertung einzelner Zucker	138
7.4	Proben mit verminderter Probenzahl	140
7.5	Technische Daten zur MS/MS-Auswertung	140

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Resistenzstrategien der Pflanzen zur Bewältigung von Stress durch Herbivorie.....	2
Abb. 2: Auswahl von Strukturen verschiedener Phytohormone.....	4
Abb. 3: <i>Signaling</i> in einer Pflanzenzelle am Beispiel des vereinfachten Jasmonat- <i>Pathways</i> unter Einfluss eines herbivoren Stressors.....	6
Abb. 4: Hypothesen des Verhaltens von Pflanzen in ihrem heimischen Raum und in eingeführten Gebieten.....	10
Abb. 5: Die Verbreitung von <i>Plantago lanceolata</i>	11
Abb. 6: Die Iridoidglykoside Aucubin und Catalpol.....	13
Abb. 7: Reaktion des Aglykons eines Iridoidglykosids mit einem Protein am Beispiel des Aglykons von Aucubin Aucubigenin.....	13
Abb. 8: Strukturformel von Verbascosid.....	14
Abb. 9: Verwendete Exemplare von <i>Spodoptera littoralis</i>	22
Abb. 10: Experimentelles Design der Herbivorenbehandlung.....	23
Abb. 11: Exemplarische Dokumentation der Blätter eines Individuums von <i>Plantago lanceolata</i> vor einem weißen Hintergrund.....	23
Abb. 12: Beispielbestimmung des Blattflächenverlustes.....	26
Abb. 13: Exemplarische Darstellung der Quantifizierung der Zucker in vierfacher Bestimmung mittels linearer Regression am Beispiel des Monosaccharides Glucose.....	33
Abb. 14: Anzahl der blühenden Individuen von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkünfte.....	37
Abb. 15: Biomasse der oberirdischen Pflanzenorgane und der Wurzel von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung.....	38
Abb. 16: Wurzel/Spross-Verhältnis, Blattanzahl und SLA von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung.....	39
Abb. 17: Blattflächen von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung und der prozentuale Blattflächenverlust durch Herbivorie im Vergleich der Herkünfte.....	40
Abb. 18: Anzahl der durch <i>Spodoptera littoralis</i> verursachten Fraßstellen an <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkünfte.....	41

Abb. 19: Konzentrationen der Jasmonate Sulfo-JA, JA, OH-JA, JA-Ile, OH-JA-Ile in den Blättern und den Wurzeln von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkunft und der Behandlung.	43
Abb. 20: Gesamtkonzentration der Jasmonate und Konzentrationen von ABA in den Blättern und den Wurzeln von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkunft und der Behandlung.	45
Abb. 21: Konzentrationen der Iridoidglykoside Aucubin und Catalpol in den Blättern und Wurzel von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkunft und der Behandlung..	47
Abb. 22: Konzentrationen von Shikimisäure, Phenylalanin sowie Tyrosin und relative Mengen von <i>p</i> -Cumarsäure in den Blättern und den Wurzeln von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkunft und der Behandlung.....	50
Abb. 23: Relative Mengen der <i>p</i> CoQA-Derivate in den Blättern von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkunft und der Behandlung.....	52
Abb. 24: Relative Mengen der Chlorogensäurederivate 3-CQA, 4-CQA und 5-CQA in den Blättern von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkunft und der Behandlung.	53
Abb. 25: Konzentrationen von Verbascosid in den Blättern und den Wurzeln von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkunft und der Behandlung.....	55
Abb. 26: Relative Mengen der Flavonoide Luteolin, Luteolosid, Quercitrin, Rutin und Apigenin-7-O-Glucosid in den Blättern von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkunft und der Behandlung.	57
Abb. 27: Konzentrationen von Glutamat und GABA in den Blättern und den Wurzeln von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkunft und der Behandlung.....	59
Abb. 28: Konzentrationen der löslichen Zucker, Sorbitol und der freien Aminosäuren in den Blättern und Wurzel von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich der Herkunft und der Behandlung.	62
Abb. 29: <i>Volcano Plots</i> des exemplarischen Vergleichs des Einflusses der Behandlung auf die Substanzverteilung in der nativen Population aus Tübingen, Deutschland und in der invasiven Population aus Brisbane, Australien in einer Non-Target-Analyse (negativer Ionisierungsmodus).	64
Abb. 30: <i>Volcano Plots</i> des exemplarischen Vergleichs des Einflusses der Behandlung auf die Substanzverteilung in der nativen Population aus Tübingen, Deutschland und in der invasiven Population aus Brisbane, Australien in einer Non-Target-Analyse (positiver Ionisierungsmodus).....	65

Abb. 31: Vereinfachte Darstellung der Synthese und des Abbaus der Jasmonate.	73
Abb. 32: Vereinfachte Darstellung und Zusammenhänge des Shikimisäurewegs und des Phenylpropanoid-Biosynthesewegs sowie der Synthese von Flavonoiden und dem Verbascosidbaustein Hydroxytyrosol.	78
Abb. 33: Exemplarische Identifizierung von JA durch den internen Standard D ₆ -JA in den Proben und vergleichend die exemplarische vorläufige Identifizierung von OH-JA und Sulfo-JA.	107
Abb. 34: Exemplarische Identifizierung von JA-Ile durch den internen Standard D ₆ -JA-Ile in den Proben und vergleichend die exemplarische vorläufige Identifizierung von OH-JA-Ile.	108
Abb. 35: Exemplarische Identifizierung von ABA durch den internen Standard D ₆ -ABA in den Proben.	108
Abb. 36: Exemplarische Identifizierung von Aucubin in den Proben durch einen externen Aucubin-Standard.	109
Abb. 37: Exemplarische Identifizierung von Catalpol in den Proben durch einen externen Catalpol-Standard.	109
Abb. 38: Exemplarische Identifizierung von Shikimisäure in den Proben durch einen externen Shikimisäure-Standard.	110
Abb. 39: Exemplarische Identifizierung von <i>p</i> -Cumarsäure in den Proben durch einen externen <i>p</i> -Cumarsäure-Standard.	110
Abb. 40: Exemplarischer Nachweis von <i>p</i> CoQA-Derivaten in den Proben.	111
Abb. 41: Exemplarische Identifizierung von 3-CQA in den Proben durch einen externen 3-CQA-Standard.	112
Abb. 42: Exemplarische Identifizierung von 4-CQA in den Proben durch einen externen 4-CQA-Standard.	112
Abb. 43: Exemplarische Identifizierung von 5-CQA in den Proben durch einen externen 5-CQA-Standard.	113
Abb. 44: Exemplarische Identifizierung von Verbascosid in den Proben durch einen externen Verbascosid-Standard.	113
Abb. 45: Exemplarische Identifizierung von Luteolin in den Proben durch einen externen Luteolin-Standard.	114
Abb. 46: Exemplarische Identifizierung von Luteolosid in den Proben durch einen externen Luteolosid-Standard.	114

Abb. 47: Exemplarische Identifizierung von Quercitrin in den Proben durch einen externen Quercitrin-Standard.	115
Abb. 48: Exemplarische Identifizierung von Rutin in den Proben durch einen externen Rutin-Standard.	115
Abb. 49: Exemplarische Identifizierung von Apigenin-7-O-Glucosid in den Proben durch einen externen Apigenin-7-O-Glucosid-Standard.....	116
Abb. 50: Exemplarische Identifizierung von Gly durch den internen Standard Gly- ¹³ C ₂ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	118
Abb. 51: Exemplarische Identifizierung von Ala durch den internen Standard Ala- ¹³ C ₃ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	119
Abb. 52: Exemplarische Identifizierung von Val durch den internen Standard Val- ¹³ C ₅ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	119
Abb. 53: Exemplarische Identifizierung von Ile durch den internen Standard Ile- ¹³ C ₆ , ¹⁵ N ₁ sowie von Leu durch den internen Standard Leu- ¹³ C ₆ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	120
Abb. 54: Exemplarische Identifizierung von Phe durch den internen Standard Phe- ¹³ C ₉ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	120
Abb. 55: Exemplarische Identifizierung von Tyr durch den internen Standard Tyr- ¹³ C ₉ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	121
Abb. 56: Exemplarische Identifizierung von Trp in den Proben durch externen Trp-Standard.	121
Abb. 57: Exemplarische Identifizierung von Pro durch den internen Standard Pro- ¹³ C ₅ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	122
Abb. 58: Exemplarische Identifizierung von Met durch den internen Standard Met- ¹³ C ₄ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.....	122
Abb. 59: Exemplarische Identifizierung von Ser durch den internen Standard Ser- ¹³ C ₃ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	123
Abb. 60: Exemplarische Identifizierung von Thr durch den internen Standard Thr- ¹³ C ₄ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	123
Abb. 61: Exemplarische Identifizierung von Asn in den Proben durch einen externen Asn-Standard.....	124
Abb. 62: Exemplarische Identifizierung von Gln durch den internen Standard Gln- ¹³ C ₅ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	124
Abb. 63: Exemplarische Identifizierung von Asp durch den internen Standard Asp- ¹³ C ₄ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	125

Abb. 64: Exemplarische Identifizierung von Glu durch den internen Standard Glu- ¹³ C ₅ , ¹⁵ N ₁ in den Proben.	125
Abb. 65: Exemplarische Identifizierung von His durch den internen Standard His- ¹³ C ₅ , ¹⁵ N ₃ in den Proben.	126
Abb. 66: Exemplarische Identifizierung von Arg durch den internen Standard Arg- ¹³ C ₆ , ¹⁵ N ₄ in den Proben.	126
Abb. 67: Exemplarische Identifizierung von Lys durch den internen Standard Lys- ¹³ C ₆ , ¹⁵ N ₂ in den Proben.	127
Abb. 68: Exemplarische Identifizierung von GABA in den Proben durch einen externen GABA-Standard.	127
Abb. 69: Exemplarische Identifizierung von Fructose und Glucose in den Proben durch einen externen Fructose-Standard und Glucose-Standard.	134
Abb. 70: Exemplarische Identifizierung von Saccharose in den Proben durch einen externen Saccharose-Standard.	135
Abb. 71: Exemplarische Identifizierung von Trisacchariden in den Proben durch einen externen Raffinose-Standard.	135
Abb. 72: Exemplarische Identifizierung von Tetrasacchariden in den Proben durch einen externen Stachyose-Standard.	136
Abb. 73: Exemplarische Identifizierung von Pentasacchariden in den Proben durch einen externen Verbascose-Standard.	136
Abb. 74: Exemplarische Identifizierung des Zuckeralkohols als Sorbitol in den Proben durch einen externen Mannitol-Standard und einen externen Sorbitol-Standard..	137

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Verwendete Chemikalien und Hersteller.	17
Tab. 2: Für die Analysen verwendete Geräte mit Modell- und Herstellerangabe.....	18
Tab. 3: Sonstige verwendete Materialien mit Herstellerangabe.....	19
Tab. 4: Herkunftsland, -ort, Habitat und Koordinaten (angegeben im Dezimalgrad) der ausgewählten Populationen von <i>Plantago lanceolata</i>	20
Tab. 5: Wachstumsbedingungen von <i>Plantago lanceolata</i> im Gewächshaus.....	21
Tab. 6: Konzentrationen der internen Standards im Extraktionsmittel.....	24
Tab. 7: Parameter der HPLC für die Analytik der Pflanzenstoffe.....	27
Tab. 8: Parameter des LC-MS/MS-Systems für die Analytik der Pflanzenstoffe.....	27
Tab. 9: Zusammensetzung des Standardgemisches zur Bestimmung der Responsefaktoren.....	28
Tab. 10: Parameter der HPLC zur Bestimmung der Aminosäuren.....	30
Tab. 11: Parameter des MS/MS-Systems zur Bestimmung der Aminosäuren.....	30
Tab. 12: Parameter der HPLC für die Zuckerbestimmung.....	32
Tab. 13: Parameter des LC-MS/MS-Systems für die Zuckerbestimmung.....	32
Tab. 14: Zucker, Konzentrationen der Zucker im Standardgemisch und darüber identifizierte und quantifizierte Analyten.....	33
Tab. 15: Konzentrationen der Kalibrierreihe aller Einzelzucker im Standardgemisch.....	33
Tab. 16: Parameter der HPLC der exemplarischen Non-Target-Analytik.....	35
Tab. 17: Parameter der LC-TIMS-QTOF MS, negativer Ionisierungsmodus.....	35
Tab. 18: Parameter der LC-TIMS-QTOF MS, positiver Ionisierungsmodus.....	36
Tab. 19: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Biomasse von oberirdischen Pflanzenorganen und Wurzeln mittels ANOVA.....	39
Tab. 20: Ergebnisse der statistischen Auswertung des Wurzel/Spross-Verhältnisses, der Blattanzahl und der SLA mittels ANOVA.....	40
Tab. 21: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Blattfläche mittels ANOVA.....	41
Tab. 22: Ergebnisse der statistischen Auswertung der verschiedenen Formen der Jasmonate mittels ANOVA.. ..	44

Tab. 23: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Gesamtkonzentration der Jasmonate und der Konzentration von ABA in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA.....	46
Tab. 24: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Aucubin- und Catalpolkonzentrationen in den Blättern und den Wurzeln mittels ANOVA.	48
Tab. 25: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Konzentrationen von Shikimisäure, Phenylalanin sowie Tyrosin und der relativen Mengen von <i>p</i> -Cumarsäure in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA.....	51
Tab. 26: Ergebnisse der statistischen Auswertung der relativen Mengen der detektierten <i>p</i> CoQA-Derivate in den Blättern mittels ANOVA.	52
Tab. 27: Ergebnisse der statistischen Auswertung der relativen Mengen der drei identifizierten CQA-Derivate in den Blättern mittels ANOVA.	54
Tab. 28: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Konzentrationen von Verbascosid in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA.	55
Tab. 29: Ergebnisse der statistischen Auswertung der relativen Mengen der Flavonoide Rutin, Apigenin-7- <i>O</i> -Glucosid, Quercitrin, Luteolin und Luteolosid in den Blättern mittels ANOVA.....	58
Tab. 30: Ergebnisse der statistischen Auswertung des Glutamat- und GABA-Gehaltes in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA.	60
Tab. 31: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Konzentrationen der löslichen Zucker, Sorbitol und der freien Aminosäuren in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA.....	63
Tab. 32: Übersicht der Sekundär- und Primärmetaboliten von <i>Plantago lanceolata</i> im Vergleich des Einflusses von Herkunft und Behandlung.	67
Tab. 33: Identifizierung der Pflanzenstoffe.	105
Tab. 34: Verwendete interne Standards und analysierte Responsefaktoren der absolut quantifizierten Substanzen.....	117
Tab. 35: Identifizierung der Aminosäuren.....	117
Tab. 36: Aminosäureanalytik. Zusammensetzung des internen Aminosäurestandards (Algen Aminosäure Mix ¹³ C, ¹⁵ N; Sigma Aldrich, St. Louis, USA; Gesamtkonzentration des Standards = 1 µg/mL), untersuchte Analyten und Responsefaktoren.....	128

Tab. 37: Konzentrationen aller, mit der in 2.3.3 beschriebenen Methode, analysierten Aminosäuren in den Blättern und den Wurzeln von nativen und invasiven Populationen von <i>P. lanceolata</i>	129
Tab. 38: Ergebnisse der statistischen Auswertung aller analysierten Aminosäuren in den Blättern und Wurzeln.	131
Tab. 39: Identifizierung der Zucker.....	134
Tab. 40: Konzentrationen aller, mit der in 2.3.4 beschriebenen Methode, analysierten Zucker in den Blättern und den Wurzeln von nativen und invasiven Populationen von <i>P. lanceolata</i>	138
Tab. 41: Ergebnisse der statistischen Auswertung aller analysierten Zucker in den Blättern und Wurzeln.	139
Tab. 42: Probenzahl und fehlende Proben in allen wurzelbezogenen Parametern aufgrund von Probenverlusten.	140
Tab. 43: Probenzahl und entfernte Ausreißer aufgrund stark abweichender Werte in allen betroffenen Parametern.	140
Tab. 44: Technische Daten zur Bestimmung der Analyten. Declustering Potential (DP), Eintrittspotential (EP), Kollisionsenergie (CE), Zelleintrittspotential (CXP).	140

Zusammenfassung

Die Invasion von nicht-nativen Pflanzen stellt eine weltweite Bedrohung der Biodiversität von Ökosystemen dar. Eine der gängigsten Theorien zum Invasionserfolg von Pflanzen ist die *Enemy release hypothesis*, die die schnelle Etablierung und Ausbreitung aufgrund des Fehlens von Herbivoren erklärt. Auf Grundlage dessen wird angenommen, dass sich Pflanzen nach der *Evolution of increased competitive ability* (EICA) - Hypothese verhalten und in ihrer neuen, nicht-nativen Heimat einen Selektionsvorteil besitzen, wenn sie ihre Ressourcen für die Verteidigung auf Wachstums- und Reproduktionsmechanismen umverteilen. Bisher ist der Stand der Forschung über das Verhalten von invasiven Pflanzenarten und die Anzahl der entsprechenden empirischen Studien gering. Im Experiment wurden die beiden Hypothesen für das kurzlebige, mehrjährige Kraut *Plantago lanceolata* getestet, welches sich von Europa und Westasien aus in der ganzen Welt verbreitet hat. Dazu wurden Pflanzen aus Samen von zehn nativen Populationen sowie zehn invasiven Populationen aus Ostasien, Australien, Neuseeland, Afrika sowie Süd- und Nordamerika unter gleichen Laborbedingungen aufgezogen und generalistischen herbivoren Raupen von *Spodoptera littoralis* für 48 h ausgesetzt. Die morphologischen Merkmale, die direkte phytochemische Verteidigung und die plastische Reaktion nach der Behandlung wurden zwischen nativen und invasiven Populationen verglichen und im Rahmen der EICA-Hypothese betrachtet. Die Untersuchung der Phytochemie erfolgte mittels Target-Analytik über flüssigchromatographische Verfahren mit Tandem-Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS/MS). Die Ergebnisse konnten die EICA-Hypothese weder eindeutig belegen noch widerlegen. Für die Bestätigung der Hypothese sprachen eine signifikant höhere oberirdische Biomasse, ein verringertes Wurzel/Spross-Verhältnis und ein signifikant höherer Biomasseverlust aufgrund der Herbivoriebehandlung bei den invasiven Populationen. Bei diesen Populationen wurde in der phytohormonellen Reaktion eine signifikant verminderte Induktion und ein erhöhter Abbau bioaktiver Jasmonate sowie eine verringerte Induktion der Abscisinsäure ermittelt. Zudem wurde anhand verschiedener Intermediate und Präkursoren auf eine verminderte Induktion des Shikimisäurewegs und des Phenylpropanoid-Biosynthesewegs zur Synthese des Hauptmetaboliten Verbascosids in den invasiven Populationen geschlossen. Gegen die EICA-Hypothese sprach u.a. eine verminderte Investition in Fotosyntheseorgane. Blattanzahl, Blattfläche sowie der Gehalt an Fotosyntheseprodukten unterschieden sich zwischen nativen und invasiven Populationen zwar nicht, jedoch wurde eine signifikant verringerte spezifische Blattfläche beobachtet. Ebenfalls unterschieden sich die konstitutiven Konzentrationen der Hauptabwehrmetabolite Aucubin, Catalpol und Verbascosid zwischen nativen und invasiven Populationen nicht. γ -Aminobuttersäure und diverse Flavonoide wurden erstmalig im Zusammenhang der Herbivorie für *P. lanceolata* identifiziert und zeigten ausschließlich eine Induktion in den invasiven Populationen, was eher auf eine Umverteilung der

Verteidigungsmechanismen anstatt auf eine Verringerung hinwies. Eine exemplarische Non-Target-Analyse mittels massenspektrometrischer Verfahren wies im Vergleich zwischen einer deutschen nativen und einer australischen invasiven Population durch eine differierende Substanzenverteilung in Folge der Herbivoriebehandlung ebenfalls auf eine Umverteilung hin. Unter Berücksichtigung, dass die Proben 20 verschiedene, weltweit verteilte Populationen repräsentierten, waren die ermittelten Unterschiede zwischen nativen und invasiven Populationen unter gleichen Wuchsbedingungen verhältnismäßig gering. Der Invasionserfolg des Spitzwegerichs ist dadurch vermutlich eher durch seine hohe phänotypische Plastizität bezüglich seiner morphologischen und metabolischen Eigenschaften, anstatt durch die EICA-Hypothese zu erklären.

Abkürzungsverzeichnis

4CL.....	Hydroxyzimtsäure-CoA-Ligase
ABA.....	Abscisinsäure
AMF.....	Arbuskuläre Mykorrhizapilze
C4H.....	Zimtsäure-4-Hydroxylase
CoA.....	Coenzym A
COOH-JA-Ile.....	12-Carboxyljasmonyl-Isoleucin
CQA.....	Caffeoyl-Chinasäure
D ₄ -SA.....	Salicylsäure-D ₄
D ₆ -ABA.....	(+)- <i>cis,trans</i> -Abscisinsäure-D ₆
D ₆ -JA.....	D ₆ -(±)-Jasmonsäure
D ₆ -JA-Ile.....	N-[D ₆ -(±)-Jasmonyl-(L)-]isoleucine
DAMP.....	<i>damage associated molecular patterns</i>
DOPA.....	L-3,4-Dihydroxyphenylalanin
DW.....	Trockenmasse
EICA.....	<i>Evolution of increased competitive ability</i>
ET.....	Ethylen
Glu.....	Glutamat
HAMP.....	<i>herbivore associated molecular patterns</i>
HPLC.....	<i>High performance liquid chromatography</i>
JA.....	Jasmonsäure
JA-Ile.....	Jasmonyl-Isoleucin
LC.....	Flüssigkeitschromatographie
MAMP.....	<i>microbe associated molecular patterns</i>
MRM.....	<i>Multiple reaction monitoring</i>
MS.....	Massenspektrometrie
MS/MS.....	Tandem-Massenspektrometrie
NWH.....	<i>Novel Weapon hypothesis</i>
OH-JA.....	12-/11-Hydroxy-Jasmonsäure
OH-JA-Ile.....	Hydroxy-Jasmonyl-Isoleucin
OPDA.....	<i>cis</i> -(+)-12-oxo-Phytodienonsäure
PAL.....	Phenylalanin-Ammonium-Lyase
PAMP.....	<i>pathogen associated molecular patterns</i>
<i>p</i> CoQA.....	<i>p</i> -Cumaroyl-Chinasäure
PRR.....	<i>Pattern recognition receptors</i>
QTOF.....	<i>Quadrupole time of flight</i>

<i>R_i</i>	Responsefaktor
SA.....	Salicylsäure
SDH.....	<i>Shift in defense hypothesis</i>
SE.....	Standardfehler
SLA.....	Spezifische Blattfläche
Sulfo-JA.....	12-/11-Hydroxy-Jasmonsäuresulfat
TIMS.....	<i>Trapped ion mobility spectrometry</i>
WIR	<i>Wound-induced resistance</i>

1 Einleitung

Pflanzen werden in ihrer Umwelt mit zahlreichen Formen von abiotischem und biotischem Stress konfrontiert. Sie sind u.a. Hitze, Kälte, Strahlung und Trockenheit ausgesetzt und müssen gleichzeitig dem Befall von Herbivoren sowie Phytopathogenen stand halten können, um sich in einem Ökosystem zu etablieren und zu behaupten (ben Rejeb *et al.*, 2014; Korkina, 2007). Herbivorie ist unter den biotischen Faktoren einer der größten Bedrohungen für eine Pflanze (Pellissier *et al.*, 2014). Pflanzen haben daher in ihrem jeweiligen Ökosystem eine Vielzahl von komplexen physiologischen, zellulären und molekularen Anpassungen entwickelt, um dieser entgegenzuwirken (ben Rejeb *et al.*, 2014).

1.1 Resistenzmechanismen der Pflanzen gegenüber Herbivorie

Die Resistenz gegenüber Herbivorie beschreibt jedes Pflanzenmerkmal, was die Leistung und die Präferenz des herbivoren Stressors vermindert (Rosenthal & Kotanen, 1994). Diese Resistenzen der Pflanzen beruhen auf Toleranz- oder Vermeidungsstrategien (Abb. 1). Toleranz beschreibt dabei die Fähigkeit einer Pflanze ihre Fitness in Bezug auf Wachstum und Reproduktion nach einer Schadeinwirkung aufrechtzuerhalten und negative Einflüsse zu reduzieren (Rohner & Ward, 1997; Strauss & Agrawal, 1999). Pflanzen erreichen dies z.B. durch hohe relative Wachstumsraten, hohe mobilisierbare Speicherkapazitäten in den Wurzeln oder durch erhöhte Flexibilität in der Fotosyntheserate (Rosenthal & Kotanen, 1994). Vermeidungsstrategien umfassen entweder die „Flucht“ der Pflanze oder die Verteidigung. Die „Flucht“ einer Pflanze beschreibt Adaptionen, bei denen diese saisonale Wachstumsmuster oder ihren Standort verändern, um nicht im selben Raum oder zur selben Zeit mit Fraßfeinden aufzutreten (Strauss & Agrawal, 1999). Die Verteidigung beschreibt wiederum jedes Merkmal, das der Pflanze während der Anwesenheit eines biotischen Stressors einen Fitnessvorteil verleiht (Mithöfer & Boland, 2012; Rohner & Ward, 1997). Pflanzen verteidigen sich gegen Herbivorie mit mechanischen Anpassungen wie Dornen, Stacheln sowie einem erhöhten Lignifizierungsgrad oder in Form der chemischen Verteidigung. Weitere Verteidigungsstrategien sind Veränderungen in der Pflanzenarchitektur oder Reduzierungen der Nährstoffgehalte (Rohner & Ward, 1997).

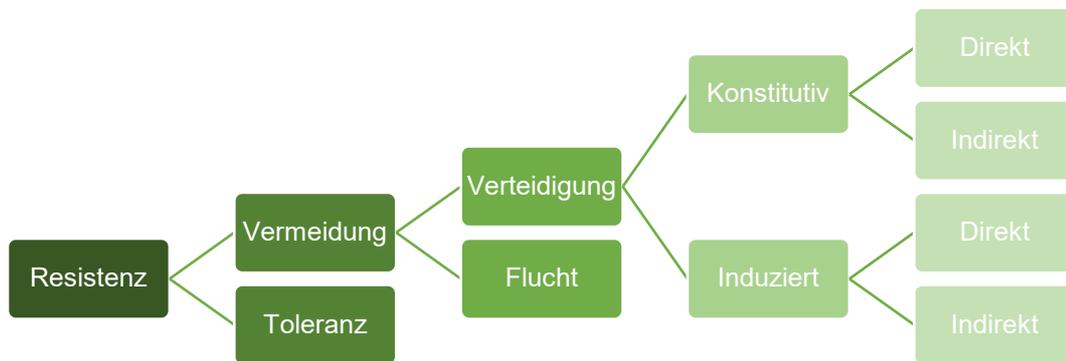


Abb. 1: Resistenzstrategien der Pflanzen zur Bewältigung von Stress durch Herbivorie; modifiziert nach (Rosenthal & Kotanen, 1994).

Pflanzen nutzen im Rahmen ihrer Verteidigung zwei Strategien. Sie besitzen zum einen eine immer präsente konstitutive Form, um sich zu verteidigen. Bei dieser Strategie sind Mechanismen wie z.B. die Anwesenheit einer bestimmten Substanz kontinuierlich vorhanden und bleiben durch einen Stressor unbeeinflusst. Zum anderen existiert eine induzierbare aktive Verteidigung, die auf einen Reiz hin ausgelöst wird (Mithöfer & Boland, 2012). Bei dieser Art der Verteidigung kommt es nach einer Verwundung zu einer massiven Umstrukturierung des Stoffwechsels mit dem Ziel, das betroffene Gewebe abzuschirmen und das Ausmaß weiterer Schäden zu begrenzen (Bernards & Båstrup-Spohr, 2008).

Die konstitutive und die induzierte Verteidigung können direkt oder indirekt erfolgen (Mithöfer & Boland, 2012; Rosenthal & Kotanen, 1994). Die direkte Verteidigung hat unmittelbar einen Einfluss auf den Aggressor, während die indirekte Verteidigung auf Interaktionen mit Organismen höherer Trophieebenen beruht. Diese Organismen stellen Parasitoide oder Prädatoren der Herbivoren dar (Mithöfer & Boland, 2012).

Neben ihren primären Stoffwechselprodukten wie Aminosäuren, Monosacchariden und Nucleotiden, welche essentiell für den Aufbau von Makromolekülen und damit entscheidend für Wachstum und Reproduktion sind, produzieren Pflanzen ein breites Spektrum an Sekundärmetaboliten (Korkina, 2007). Diese sind nicht an primären Stoffwechselvorgängen beteiligt, sondern erfüllen vielfältige andere Funktionen. Sie fungieren u.a. als Schutz vor Strahlung, reaktiven Sauerstoffspezies sowie Herbiziden und bieten z.B. als Lockstoffe für Bestäuber Vorteile in der Reproduktion. Darüber hinaus haben die Substanzen eine große Bedeutung in der Verteidigung gegen Prädatoren, Parasiten und Pathogene sowie gegen andere Pflanzen, die um denselben Standort konkurrieren (Korkina, 2007). Primärmetabolite, darunter vor allem Aminosäuren und Zucker, werden als Präkursoren über vielfältige Biosynthesewege in Sekundärmetabolite umgewandelt. Die drei größten Klassen an

Sekundärmetaboliten in Pflanzen sind Phenylpropanoide, Isoprenoide und Alkaloide (Korkina, 2007).

Die Wirkung von direkten Verteidigungsmetaboliten kann toxisch sein oder die Verdauung erschweren (Dobler *et al.*, 2011). Bei vielen Vögeln und Säugetieren wie beim Menschen sprechen einige dieser Substanzen darüber hinaus die Bitterrezeptoren an, was die Pflanze ungenießbar macht. Obwohl die Geschmacksempfindung bei Insekten nicht mit der beim Menschen zu vergleichen ist, haben die meisten bitteren Substanzen auch eine abschreckende Wirkung auf Insekten (Dobler *et al.*, 2011). Die indirekten Verteidigungsmetabolite werden vor allem durch *volatile organic compounds* (VOCs) repräsentiert, die dem Anlocken von Organismen aus höheren Trophieebenen dienen. VOCs werden im Rahmen der induzierten Abwehr nach einer mechanischen oder herbivoren Schadeinwirkung freigesetzt (Mithöfer & Boland, 2012). Sie können darüber hinaus auch gleichzeitig zur Kommunikation mit benachbarten Pflanzen dienen und diese so vor einem herbivoren Befall warnen. Die VOCs werden hauptsächlich von Terpenoiden, Fettsäurederivaten und wenigen aromatischen Verbindungen repräsentiert. Eine andere Möglichkeit der indirekten Verteidigung besteht z.B. in der Bildung von Wohnraum für Prädatoren durch phänotypische Anpassungen der Pflanze (Mithöfer & Boland, 2012).

1.1.1 Phytohormon-Signaling und induzierte Verteidigung

Pflanzen sind im Rahmen der induzierten Verteidigung gegenüber Herbivorie, Pathogenen und mechanischen Schäden hochempfindlich. Nach Detektion eines Stressors wird eine intrazelluläre Signalkaskade ausgelöst, welche Verteidigungsgene aktiviert und eine physiologische, zelluläre oder biochemische Reaktion induziert. Die Antwort auf einen Reiz kann gezielt am befallenen Kompartiment stattfinden oder sich systemisch in geringeren Intensitäten auf die ganze Pflanze übertragen (Korkina, 2007; Mithöfer & Boland, 2012). Je nach Art des Stressors werden bestimmte Moleküle von den *Pattern recognition receptors* (PRR) an der Gewebeoberfläche detektiert. Diese werden durch die sogenannten *microbe- oder pathogen associated molecular patterns* (MAMP/PAMP), die *herbivore associated molecular patterns* (HAMP) und die *damage associated molecular patterns* (DAMP) repräsentiert (Erb *et al.*, 2012).

Der erste Kontakt zwischen Insekt und Pflanze entsteht bei der Landung und der Bewegung des Herbivoren auf der Oberfläche der Pflanze und wird sehr sensitiv von der Pflanze über Mechanostimulation und freigesetzte DAMPs beim Brechen von Trichomen registriert. Wenn das Insekt nun anfängt an der Pflanze zu fressen, wird die gesamte Integrität des Gewebes gestört. Viele Antworten der Pflanze gegen Herbivore werden alleine durch DAMPs im Rahmen der *Wound-induced resistance* (WIR) der Pflanze ausgelöst (Erb *et al.*, 2012). Diese

DAMPs können z.B. durch Zellwandfragmente wie Oligosaccharide oder Peptidhormone, die beim Zerstören des Zellverbandes freigesetzt werden, repräsentiert werden. Daneben scheinen Pflanzen auch eine Reihe von Verbindungen wahrzunehmen, welche von den Herbivoren selbst während des Fraßes freigesetzt werden. Bei diesen Substanzen wird von HAMPs gesprochen, welche durch Substanzen der oralen Sekretion der Insekten repräsentiert werden. Darunter befinden sich u.a. Fettsäure-Aminosäure-Konjugate, Caeliferine, Peptide verdauter Pflanzenproteine sowie Lipasen (Erb *et al.*, 2012). Da Pflanzen sehr sensitiv sind und verschiedene Insektenpezies differierende HAMPs besitzen, können Pflanzen sehr gezielt reagieren. So können diese z.B. die Art der Herbivorie unterscheiden und registrieren, ob es sich um ein saugendes oder kauendes Insekt handelt. Die Eiablage von Insekten auf einer Pflanze stellt eine weitere Möglichkeit dar, Herbivore zu registrieren (Erb *et al.*, 2012).

Nach Bindung an den PRR wird eine Signalkaskade ausgelöst, an deren Anfang z.B. die enzymatische Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies oder eine Depolarisierung der Zellmembran durch den Einstrom von Ca^{2+} -Ionen und die Aktivierung von Proteinkinasen steht. Anschließend werden entsprechende Signalwege über Phytohormone aktiviert. Die strukturelle Vielfalt von Substanzen, die als Phytohormone agieren können ist sehr groß (Abb. 2) (Nguyen *et al.*, 2016).

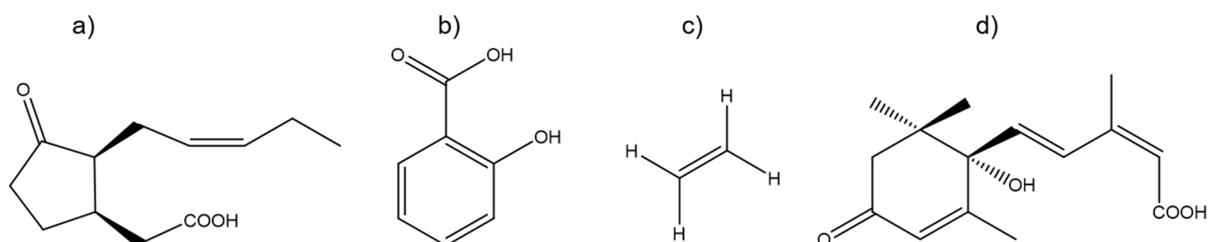


Abb. 2: Auswahl von Strukturen verschiedener Phytohormone. a) Jasmonsäure, b) Salicylsäure, c) Ethylen, d) Abscisinsäure, modifiziert nach Ueda *et al.* (2020) und Nambara & Marion-Poll (2005).

Der Signalweg über Jasmonate (Abb. 3) ist in den meisten Pflanzen der Hauptregulator in der Verteidigung gegen Herbivorie (Erb *et al.*, 2012). Jasmonate gehören zu den Oxylipinen und werden aus dreifachungesättigten C_{18} - und C_{16} -Fettsäuren im Rahmen der enzymatischen Oxygenierung gebildet. Die bekannteste und einfachste Form der Jasmonate ist die Jasmonsäure (JA) (Acosta & Farmer, 2010). Die biologisch aktivste Form ist das Jasmonyl-Isoleucin (JA-Ile), welches nach der Wahrnehmung des herbivoren Stressors synthetisiert wird und zur Transkriptionsaktivierung der entsprechenden Abwehrreaktion führt. Diese Signalkaskade wird aus einem Zusammenspiel von unspezifischen DAMPs der Pflanze selbst und durch spezifischere HAMPs des entsprechenden Insekts ausgelöst. Die Jasmonat-Signalkaskade löst hauptsächlich die allgemeinen Resistenzmechanismen einer Pflanze aus. Um spezifischere Antworten auf einen besonderen Aggressor zu generieren, werden JA-unabhängige Hormonreaktionswege wie zum Beispiel über die in Pflanzen

natürlich vorkommende Salicylsäure (SA) bestritten (Erb *et al.*, 2012; Popova *et al.*, 1997). JA aktiviert Verteidigungsmechanismen bei kauenden Insekten, während die Signalkaskade bei saugenden Insekten über SA erfolgt. Meistens wird jedoch das JA-Signaling durch die WIR mitaktiviert. Um dennoch eine Spezifität der Reaktion zu erreichen, findet ein Phytohormon-Crosstalk statt. Dieser beeinflusst, abhängig von den mitinduzierten Phytohormonen, die JA-induzierte Genexpression. Am besten sind die Interaktionen zwischen SA, Ethylen (ET) und JA untersucht. Während SA ein Antagonist von JA ist, kann ET sowohl synergistisch als auch antagonistisch über Transkriptionsregulatoren wirken (Erb *et al.*, 2012). Ein weiteres Hormon, welches einen sehr engen Crosstalk mit JA eingeht, ist Abscisinsäure (ABA) (Erb *et al.*, 2012). ABA besitzt einen C₁₅-Körper, gehört zu den Terpenoiden und wird aus der enzymatischen Spaltung von C₄₀-Carotinoiden wie Zeaxanthin gebildet (Nambara & Marion-Poll, 2005). Nach einem herbivoren Stressor kann der erhöhte ABA-Spiegel die JA-gesteuerten Abwehrreaktion modulieren, was die Transkription und die JA-Synthese beeinflusst. JA und ABA besitzen zum Teil identische Regulatorproteine, wodurch diese sich synergistisch verstärken können. Eine der Hauptfunktionen von ABA ist die Induktion von Resistenzmechanismen gegen abiotische Stressoren. Darunter ist die Wirkung als Signal auf Trockenstress eine der Hauptfunktionen. Trockenstress und Herbivorie gehen oft miteinander einher, da es zum erhöhten Wasserverlust über das geschädigte Gewebe kommt. Zur Induktion von ABA während eines herbivoren Stressors reicht die mechanische Schädigung allerdings nicht aus, sondern benötigt spezifische HAMPs (Erb *et al.*, 2012).

Auf Grundlage des Crosstalks werden bestimmte Gene aktiviert, die für defensive Proteinstrukturen codieren können. Das können u.a. Enzyme zur Biosynthese bestimmter Sekundärmetaboliten oder Proteinaseinhibitoren, welche die Verwertung von Proteinen im Verdauungstrakt der Insekten erschweren, sein (Erb *et al.*, 2012). Des Weiteren werden Gene aktiviert, die für Enzyme aus der Synthese von Linolsäure bis zum JA-Ile codieren, um die Produktion des Phytohormons zu erhöhen und die Antwort zu verstärken (Acosta & Farmer, 2010).

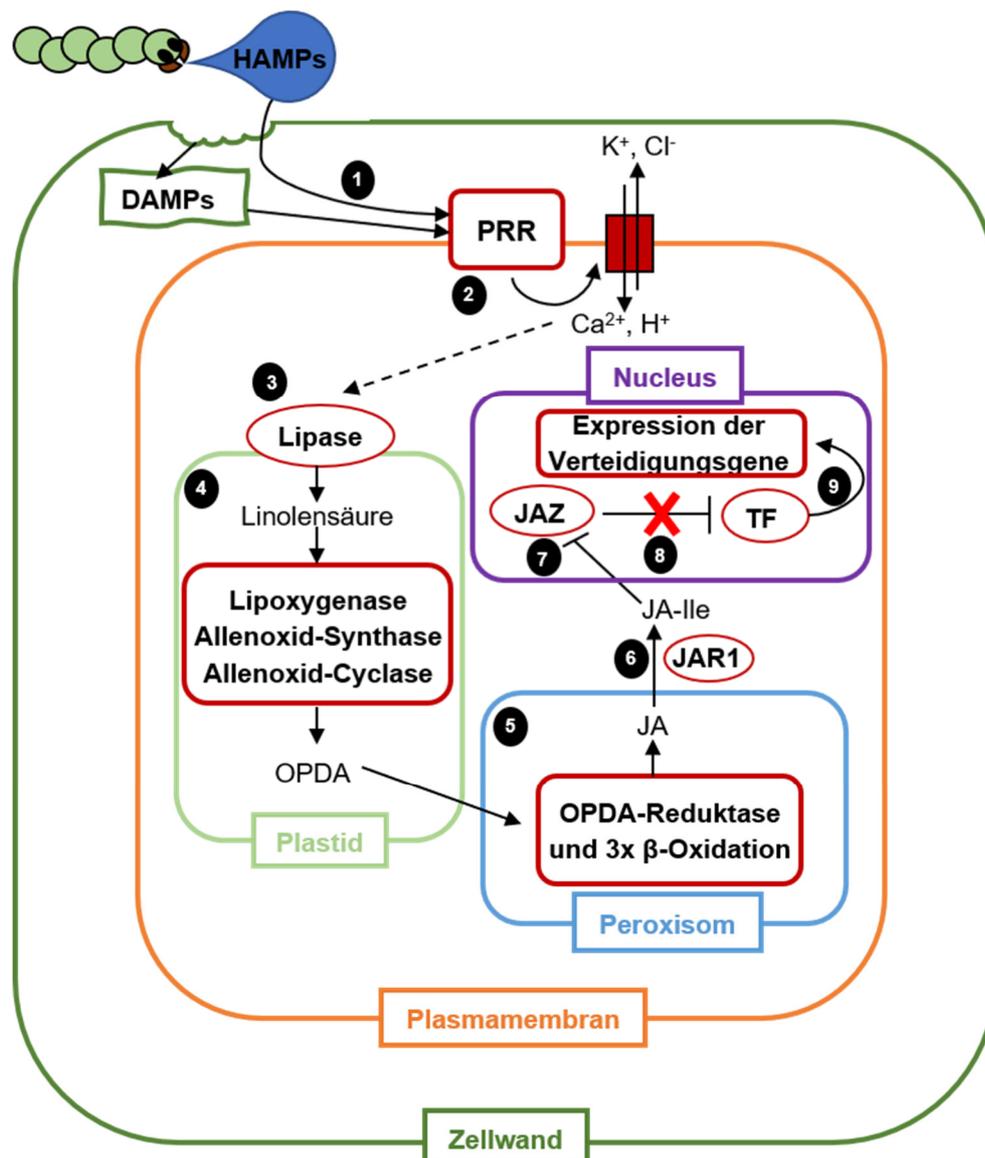


Abb. 3: *Signaling* in einer Pflanzenzelle am Beispiel des vereinfachten Jasmonat-Pathways unter Einfluss eines herbivoren Stressors; modifiziert nach Arimura *et al.* (2011), Acosta & Farmer (2010) und Meena *et al.* (2019). Gestrichelte Linien zeigen mehrere Schritte vereinfacht dargestellt an; rot gekennzeichnete Bereiche zeigen die Beteiligung von Proteinen oder Reaktionen unter Beteiligung von Enzymen an. (1) Bindung der *herbivore associated molecular patterns* (HAMPs) und der *damage associated molecular patterns* (DAMPs) an die *pattern recognition receptors* (PRR), (2) Depolarisierung an der Zellmembran durch Öffnung von Ca^{2+} -Kanälen und Aktivierung von Proteinkinasen (PK), (3) Aktivierung von Lipasen in der Membran der Plastide, (4) enzymatische Synthese des Präkursors 12-oxo-Phytodienonsäure (OPDA) in den Plastiden, (5) Enzymatische Synthese von Jasmonsäure (JA) aus OPDA in den Peroxisomen, (6) Überführung von JA in die biologisch aktive Form Jasmonyl-Isoleucin (JA-Ile) mittels Jasmonsäure-Aminosäure-Synthetase (JAR1) im Cytosol, (7) Aktivierung des Abbaus des Repressors *jasmonate ZIM-domain protein* (JAZ) im Nucleus, (8) Aufhebung der Hemmung von Transkriptionsfaktoren durch JAZ, (9) Aktivierung der Transkription von Verteidigungsgenen durch die aktivierten Transkriptionsfaktoren.

1.2 Die genetische Variabilität von Pflanzenpopulationen

Die genetische Variation von Pflanzenarten ist zwischen verschiedenen Populationen einer Art nicht konstant und kann je nach Umwelteinflüssen stark variieren. Darunter weisen kurzlebige, sich schnell reproduzierende Arten die höchste genetische Variabilität auf (Smith *et al.*, 2020). Diese natürliche genetische Variabilität ist abhängig von verschiedenen Faktoren. Sie resultiert aus einem komplexen Zusammenspiel eines diversifizierenden Effekts der demographischen Variation bezüglich Dichte, Fruchtbarkeit und Wachstumsrate einer Population, welcher aus dem entsprechenden Selektionsdruck am Standort folgt, und aus homogenisierenden Effekten, welche sich aus der Ausbreitung einer Art ergeben. Die Ausbreitung einer Art führt zu einem Genfluss zwischen Populationen, welcher wiederum zur Verringerung von genetischen Unterschieden zwischen Populationen führt. Die Variabilität der demographischen Leistung beeinflusst wiederum die effektive Populationsgröße und damit ebenfalls die genetische Variabilität (Smith *et al.*, 2020).

Der Mensch stellt einen großen Störfaktor der natürlichen genetischen Variabilität dar. Durch menschliche Aktivitäten im Rahmen der Globalisierung wie das interkontinentale Reisen, der Handel sowie der Kultivierung von nicht-heimischen Arten kommt es zur Einführung von Arten über naturgegebene Grenzen wie Ozeane oder Gebirgsketten hinweg, die diese durch natürliche Prozesse nicht selbst überwunden hätten (Hulme, 2009; Smith *et al.*, 2020).

Durch eine Verbreitung über eine weite Entfernung und auch durch wiederholte Einschleppung einer Art kann es zur Befreiung von demographischen Zwängen einer nicht-nativen Art kommen, da der natürliche Kompromiss, d.h. der Abgleich zwischen einer Investition in Kolonisierung oder dem Wettbewerb mit anderen Arten, aufgehoben wird. Die genetische Variabilität kann an einem neuen Standort auf verschiedene Weise beeinflusst werden (Smith *et al.*, 2020). Einerseits kann es aufgrund des Gründereffekts, bei dem die genetische Ausprägung der neuen Population durch einzelne Individuen bestimmt wird, zur Verringerung der genetischen Variabilität führen. Andererseits kann es auch zur Erhöhung der genetischen Variabilität kommen, welche durch Prozesse wie Vermischungen verschiedener Populationen, Hybridisierungen, Mutationen und kryptische Mutationen ausgelöst wird (Smith *et al.*, 2020).

Wenn ökologische Einschränkungen durch adaptive phänotypische Anpassungen oder nicht-adaptive Anpassungen wie dem wiederholten Einführen einer neuen Art überwunden werden, können einheimische Pflanzen mit angepassten Merkmalen in ihrer Populationsgröße stark beeinträchtigt werden (Smith *et al.*, 2020). Die Etablierung von nicht-nativen, invasiven Arten stellt eine der Hauptursachen des Rückgangs der weltweiten Artenvielfalt und daher eine signifikante Bedrohung für die bestehende, natürliche Biodiversität eines Ökosystems dar. Invasive Arten weisen oft Merkmale auf, die sie wettbewerbsfähiger gegenüber Pflanzenarten der ursprünglichen Flora machen und diese dadurch auskonkurrieren. Sie haben meistens

höhere Reproduktions- und Wachstumsraten sowie höhere phänotypische Plastizitäten (Kato-Noguchi *et al.*, 2015).

1.2.1 Anpassung der Verteidigungsstrategien

Herbivore Insekten werden im Allgemeinen je nach ihrer Nahrungsbreite in Generalisten und Spezialisten eingeteilt. Insekten, welche sich nicht auf bestimmte Pflanzenarten mit bestimmten Allelochemikalien spezialisieren und ein breites Nahrungsspektrum aufweisen, werden als Generalisten bezeichnet (Rothwell & Holeski, 2019). Insekten, welche sich ausschließlich von wenigen engverwandten Pflanzen mit spezifischen Allelochemikalien ernähren, werden in der Regel als Spezialisten bezeichnet. Spezialisten sind u.a. in der Lage Allelochemikalien ihrer Wirtspflanze anzureichern, um z.B. selbst die Schmackhaftigkeit für Fraßfeinde zu verlieren oder nutzen diese als Stimulantien zur Eiablage (Inderjit, 2012). Diese Art der Interaktion zwischen Pflanzen und Herbivoren ist ein Ergebnis eines langen Koevolutionsprozesses. Während die Herbivoren einen selektiven Druck auf die Pflanze ausüben, ihre Produktion an Allelochemikalien anzupassen und neue Verteidigungsstrategien zu finden, übt die Wirtspflanze ebenfalls einen selektiven Druck auf die Herbivoren aus, welche daraufhin ihre Toleranz- und Detoxifizierungsmechanismen evolvieren (Rothwell & Holeski, 2019).

Wachsen die Populationen einer Pflanzenart in verschiedenen Ökosystemen der Welt, sind sie unterschiedlichen abiotischen und biotischen Stressoren ausgesetzt. Unterschiedliche Ökosysteme resultieren in unterschiedlichen Pflanzen-Herbivoren-Interaktionen. Zum einen werden Herbivore ebenfalls von ihrer biotischen und abiotischen Umwelt beeinflusst, was eine unmittelbare Auswirkung auf ihre Artenzusammensetzung und den relativen Anteil einer Art in der Herbivorengemeinschaft mit sich führt (Pellissier *et al.*, 2014). Zum anderen kann die abiotische Umwelt die metabolische Aktivität und damit die Resistenzmechanismen einer Pflanze beeinflussen. So kann beispielsweise thermischer Stress zu oxidativem Stress in der Pflanze führen, was oft negativ mit dem Proteinstoffwechsel und der Synthese von Sekundärmetaboliten korreliert ist (Pellissier *et al.*, 2014). Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Variation innerhalb der Bodenmikroorganismengemeinschaften, wie den arbuskulären Mykorrhizapilzen (AMF), da viele dieser Mikroorganismen bekanntermaßen die Resistenzmechanismen der Pflanzen modifizieren und steigern können (Fontana *et al.*, 2009; Pellissier *et al.*, 2014). Die meisten invasiven Pflanzenarten, die ein neues Ökosystem erschließen, sind einem geringeren selektiven Druck als an ihren ursprünglichen Standorten ausgesetzt, da die invasive Art nicht zum Nahrungsspektrum der einheimischen Herbivoren gehört. Die *Enemy release hypothesis* (EHR) besagt daher, dass nicht-heimische Pflanzen in einem neuen Gebiet weitgehend frei von Spezialisten sind, sofern diese nicht ebenfalls eingeführt wurden (Inderjit, 2012). Im nicht heimischen Bereich begegnen Pflanzen dennoch

einer Reihe von neuen Generalisten. Die Hypothese nimmt jedoch an, dass generalistische Herbivoren bekannte native Spezies den invasiven Pflanzen vorziehen (Schaffner *et al.*, 2011). Die Induktion von spezifischen Abwehrmechanismen der Pflanze, wie z.B. die Produktion von Verteidigungssubstanzen durch Stress, verursacht physiologische Kosten. Dies korreliert negativ mit dem Wachstum und der Reproduktion, da den Pflanzen für ihre Entwicklung weniger Ressourcen zur Verfügung stehen. Pflanzen müssen daher je nach Grad der Herbivorie einen Kompromiss zwischen Verteidigung und Wachstum eingehen. Auf Grundlage dessen ergeben sich verschiedene Theorien zur Anpassung der Verteidigungsstrategien einer invasiven Pflanzenart (Abb. 4) (Inderjit, 2012; de Deyn *et al.*, 2009):

1.) Evolution of increased competitive ability – Hypothese

Die *Evolution of increased competitive ability* (EICA) - Hypothese folgt dem Leitsatz „*Grow or defend*“. Sie besagt, dass invasive Pflanzenarten, welche in einem neuen Ökosystem Fuß fassen, bei einem geringen Grad von Herbivorie ihre Ressourcen weniger in Resistenzmechanismen investieren, sondern auf Kapazitäten für Wachstum und Reproduktion umverteilen. Das bietet invasiven Arten oft einen Wettbewerbsvorteil gegenüber nativen Standortkonkurrenten (Callaway & Ridenour, 2004).

2.) Shift in defense hypothesis

Die *Shift in defense hypothesis* (SDH) prognostiziert für invasive Pflanzen hingegen, dass Abwehrchemikalien, die in der Produktion für die Pflanze sehr kostenintensiv sind, gesenkt werden, während die Produktion von weniger energieaufwendigen, toxischen Substanzen erhöht wird. Pflanzen besitzen daher einen Selektionsvorteil in einer Pflanzengemeinschaft, wenn sie geringe Gehalte von kostenintensiven Abwehrchemikalien unter Abwesenheit von Herbivoren vorweisen (Inderjit, 2012).

3.) Novel Weapon hypothesis

Die *Novel Weapon hypothesis* (NWH) sagt für invasive Pflanzenarten eine Produktion von neuartigen Abwehrchemikalien voraus. Diese Theorie stützt sich auf eine Ausprägung von Allelochemikalien der Pflanzen, welche der invasiven Art einen Wettbewerbsvorteil aufgrund der Wachstumshemmung benachbarter Pflanzen der Gemeinschaft bietet. Benachbarte Pflanzen aus dem ursprünglichen Gebiet der invasiven Pflanzenart sind an entsprechende Substanzen angepasst. Diese Ressourcenumverteilung kann einen indirekten Effekt auf die Herbivorengemeinschaft haben (Inderjit, 2012; Schaffner *et al.*, 2011). Entsprechende Verbindungen können nicht nur eine hemmende Wirkung auf andere Pflanzen haben, sondern auch andere Organismen negativ beeinflussen, wodurch entsprechende Pflanzen von Generalisten vermieden werden könnten (Jose *et al.*, 2013; Schaffner *et al.*, 2011).

Bisher bestehen nur wenige empirische Studien, die sich mit der chemischen Ökologie und damit mit einem entscheidenden Verhalten von invasiven Pflanzenarten sowie den Interaktionen mit anderen Organismen im nicht-heimischen Ökosystem beschäftigen. Somit stellen die Hypothesen nur Modelle und keine erwiesenen ökologischen Strategien dar. Dies erfordert dringenden Forschungsbedarf, um Ausbreitungsmechanismen der invasiven Pflanzenarten besser zu verstehen und bestehende Ökosysteme zu schützen.

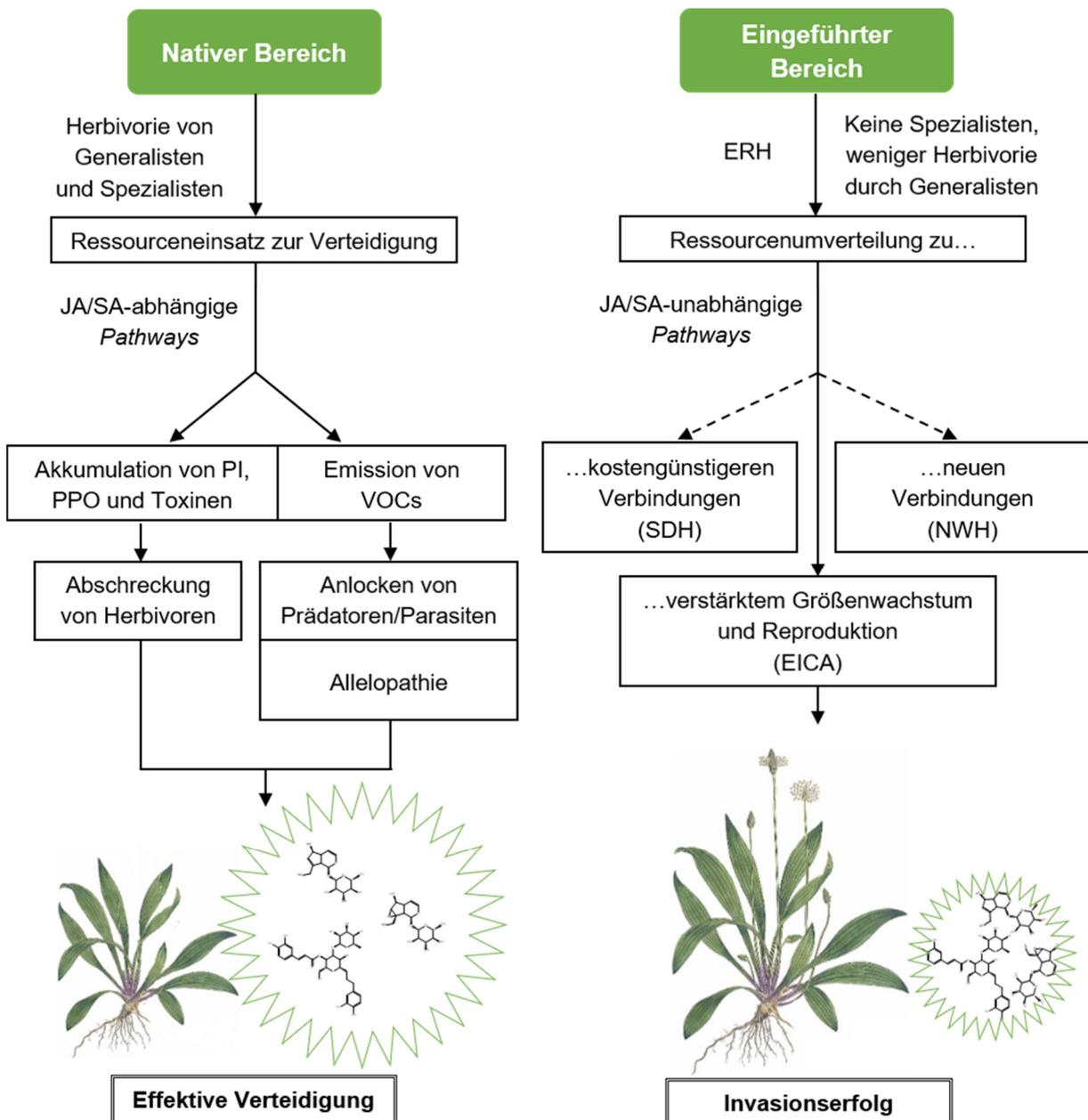


Abb. 4: Hypothesen des Verhaltens von Pflanzen in ihrem heimischen Raum (links) und in eingeführten Gebieten (rechts); modifiziert nach Curtis *et al.* (1777) und Inderjit (2012). Gestrichelte Linien zeigen Nebenhypothesen an. Abkürzungen (JA = Jasmonsäure; EICA = *Evolution of increased competitive ability*; ERH = *Enemy release hypothesis*; NWH = *Novel weapon hypothesis*; PI = Proteinaseinhibitoren; PPO = Polyphenoloxidasen; SA = Salicylsäure; SDH = *Shift in defense hypothesis*; VOCs = *Volatile organic compounds*).

1.3 Der Modellorganismus *Plantago lanceolata*

Plantago lanceolata, auch als Spitzwegerich bekannt, gehört zur Familie der *Plantaginaceae* und ist ein kurzlebiges, mehrjähriges Kraut (Stewart, 1996). Die Pflanze, welche ursprünglich aus Europa sowie Westasien stammt, hat sich als invasive Art inzwischen auf der ganzen Welt verbreitet (Abb. 5). Die Verbreitung und Etablierung von *P. lanceolata* über seine Ursprungsgebiete hinaus war eine Folge menschlicher Aktivitäten, zu denen unbeabsichtigte Fernverbreitung, wiederholte Einführungen, aber auch Kultivierung zählen (Smith *et al.*, 2020).

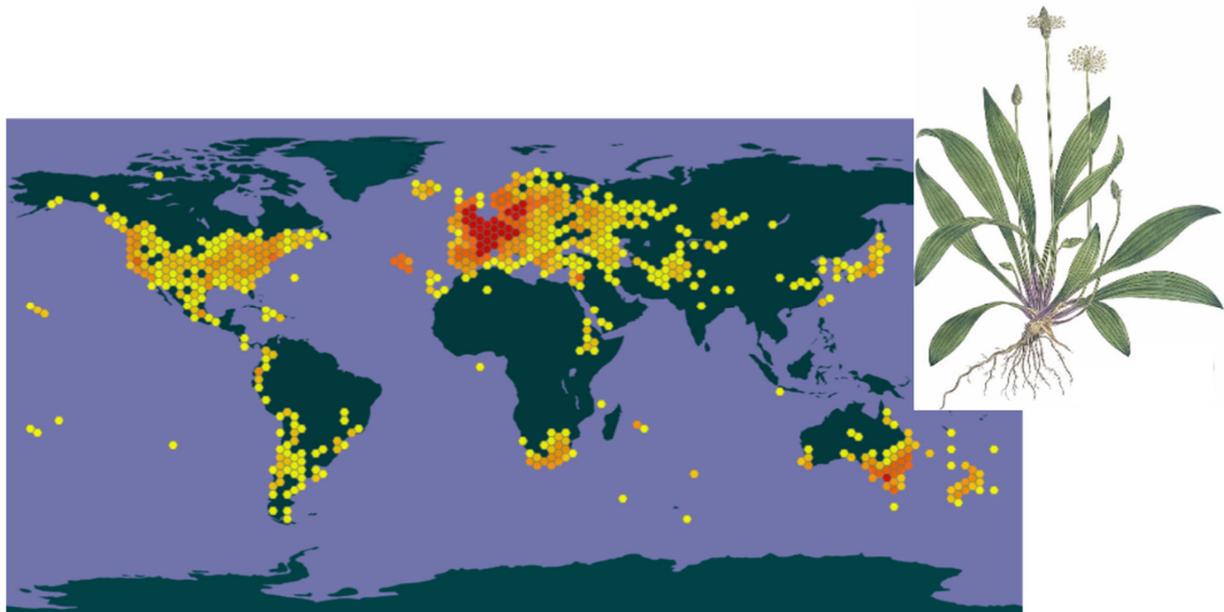


Abb. 5: Die Verbreitung von *Plantago lanceolata* (rechts dargestellt) von rot nach gelb: Abnahme der Stärke der Verbreitung; modifiziert nach GBIF (2019) und Curtis *et al.* (1777).

Plantago lanceolata ist vor allem im Grasland der gemäßigten Zonen, aber auch in subtropischen Gebieten, vorzufinden. Die Art etabliert sich sehr schnell in einem Ökosystem, da sie auf unterschiedlichen Böden wachsen kann und eine hohe Toleranz gegenüber Trockenheit, Hitze, häufigen Pflanzenkrankheiten sowie -schädlingen besitzt (de Deyn *et al.*, 2009; Stewart, 1996). Die Art kann in einem weitem pH-Bereich von 4,2 bis 7,8 sowie auf Böden verschiedenster Textur wachsen. Die Pflanze passt sich an unterschiedliche Anteile organischer Substanz im Boden an und toleriert niedrige Nährstoffgehalte. *Plantago lanceolata* hat daher oft einen Wettbewerbsvorteil gegenüber Gräsern auf wenig fruchtbaren Böden (Stewart, 1996). Eine Strategie des Spitzwegerichs besteht zum Beispiel darin bei niedrigen Stickstoffgehalten in Böden, seine Blattanzahl, die Gesamtbiomasse sowie das Sprosswachstum anzupassen und entsprechend zu reduzieren. Zudem ist er fähig Nährstoffe aus tieferen Bodenschichten durch ein tieferes Wurzelwachstum zu mobilisieren (Stewart, 1996).

1.3.1 Die Chemische Verteidigung von *Plantago lanceolata*

Auf *Plantago lanceolata* sind eine Vielzahl von Schädlingen beschrieben. Zu seinen wichtigsten Blattfressern gehören Gallmücken, Rüsselkäfer wie der Spitzwegerich-Spezialist *Mecinus pascuorum*, und Erdflöhe. Zudem ist ein Spektrum an Nematoden auf dem Spitzwegerich vermerkt. Herbivore wie Schnecken haben wiederum eine geringe Affinität zur Pflanze (Adler *et al.*, 1995; Stewart, 1996).

In den meisten Studien, welche sich mit dem Spitzwegerich im Zusammenhang mit Herbivorie beschäftigen, stehen ausschließlich dessen Hauptmetabolite im Fokus. Im Rahmen seiner direkten chemischen Verteidigung finden sich darunter die Iridoidglykoside Aucubin und Catalpol (Abb. 6) sowie das Phenylpropanoid Verbascosid (Abb. 8) (Adler *et al.*, 1995; de Deyn *et al.*, 2009). Abseits dieser Verbindungen zur Verteidigung gegen Herbivorie ist für *P. lanceolata* wenig beschrieben und bekannt, was weiteren Forschungsbedarf erfordert. In der Literatur findet sich jedoch eine Reihe von weiteren Substanzen, die für den Spitzwegerich nachgewiesen wurden und in anderen Pflanzen eine defensive Wirkung gegen Herbivore aufweisen. Darunter fallen vor allem phenolische Verbindungen. Ferrazzano *et al.* (2015) wiesen z.B. die Flavonoide Apigenin, Luteolin, Luteolosid, Rutin, Quercetin und Kaempferol sowie verschiedene Derivate des Phenylpropanoids Chlorogensäure nach.

1.3.1.1 Iridoidglykoside

Iridoidglykoside sind in *P. lanceolata* in Konzentrationen von 0 bis weit über 12% des Pflanzentrockengewichtes nachzuweisen. Ein Teil dieser Variation ist genetisch festgelegt (Barton, 2013; Dobler *et al.*, 2011). Iridoidglykoside stellen sekundäre Pflanzenverbindungen dar und sind in über 50 weiteren Pflanzenfamilien vertreten. Sie gehören einer großen Gruppe von Terpendervaten an und werden über den Isoprenoid-Biosyntheseweg hergestellt und in den Zellvakuolen gespeichert (de Deyn *et al.*, 2009). Alle Iridoidglykoside haben ein ähnliches Grundgerüst. Sie stellen eine Gruppe von Cyclopentanoidmonoterpen-abgeleiteten Verbindungen dar, welche acht, neun oder zehn Kohlenstoffatome besitzen und an den C₁-Kohlenstoff eines Monosaccharids, meistens β -D-Glucose, gebunden sind. Iridoidglykoside besitzen eine hohe Strukturvielfalt bezüglich ihrer funktionellen Gruppen am Monoterpengrundgerüst. Darunter können verschiedene Zucker, Hydroxy- oder Epoxygruppen zu finden sein (Dobler *et al.*, 2011). Pflanzen enthalten konstante Mengen an Iridoidglykosiden, können jedoch die Produktion der entsprechenden Komponenten durch Induktionsmechanismen als Reaktion auf Herbivorie oder Krankheitserreger erhöhen (de Deyn *et al.*, 2009; Hamida *et al.*, 2002). Auf Generalisten können Iridoidglykoside einen abschreckenden oder toxischen Effekt haben, während Spezialisten diese als Phagostimulantien und Stimulantien zur Eiablage nutzen (Hamida *et al.*, 2002).

Die Wirkung der Substanzen gegen generalistische Herbivore ist sehr vielfältig. Die einfachste ihrer Wirkungen ist eine Abschreckung durch Verringerung der Schmackhaftigkeit der Pflanze (Dobler *et al.*, 2011). Die enzymatische und nicht-enzymatische Hydrolyse im Verdauungssystem der Insekten stellt die Grundlage der toxischen Wirkung dar. Vor allem durch β -Glucosidasen werden die wenig reaktiven Glykoside in ihre hochreaktiven Aglykone metabolisiert. Die enzymatisch gebildeten Aglykone stellen Dialdehyde ähnlich dem Glutaraldehyd dar, welche als alkylierende Agentien an nucleophile Seitenketten über eine Iminausbildung binden können (Hamida *et al.*, 2002). So führen diese Verbindungen zur Denaturierung von Aminosäuren, Proteinen und Nucleinsäuren (Abb. 7). Eine Vermutung ist, dass die Aglykone die Insekten direkt beeinflussen können, indem sie als Enzyminhibitoren fungieren und dadurch u.a. die Prostaglandin- und Leucotriensynthese unterbinden. Eine andere Vermutung ist die Reduktion der Qualität der aufgenommenen Nahrung, da z.B. veränderte Proteine schwerer verdaut werden können. Dies kann zu einer verlangsamten Entwicklung des Insekts führen (Adler *et al.*, 1995, Dobler *et al.*, 2011). Für *P. lanceolata* und viele andere Pflanzenarten ist darüber hinaus ein duales Verteidigungssystem aus pflanzeigenen β -Glucosidasen und den glykosidisch gebundenen Verbindungen beschrieben (ben Rejeb *et al.*, 2014; Pankoke *et al.*, 2013). Aglykone können auf dieser Grundlage auch schon in der Pflanze bei Zerstörung der Pflanzenzelle entstehen. Hierbei werden die in den Vakuolen gespeicherten Glykoside mit den mit der Membran assoziierten Enzymen im Cytoplasma in Kontakt gebracht. Durch das duale Verteidigungssystem besteht innerhalb von *P. lanceolata* auch eine starke Wirkung der Iridoidglykoside gegen Pathogene (Hamida *et al.*, 2002; Pankoke *et al.*, 2013).

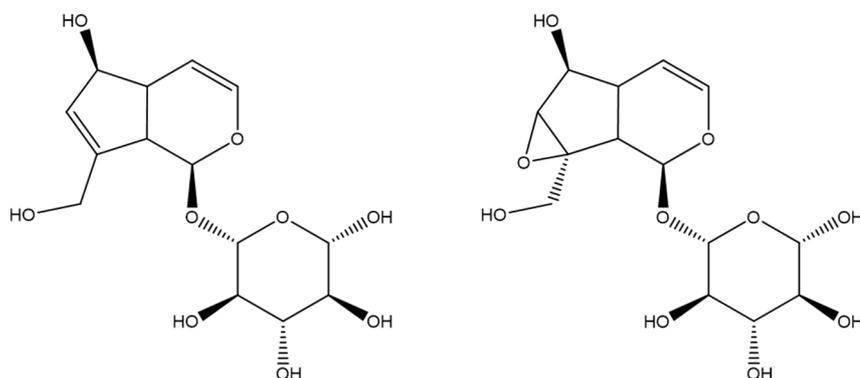


Abb. 6: Die Iridoidglykoside Aucubin (links) und Catalpol (rechts); modifiziert nach (Hamida *et al.*, 2002).

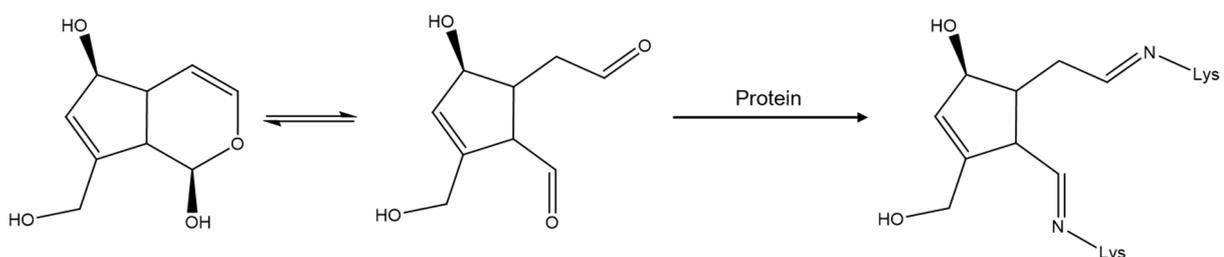


Abb. 7: Reaktion des Aglykons eines Iridoidglykosids mit einem Protein am Beispiel des Aglykons von Aucubin Aucubigenin; modifiziert nach (Hamida *et al.*, 2002).

1.3.1.2 Verbascosid

Verbascosid ist eine Verbindung aus der Klasse der Phenylpropanoide. Das Molekül ist strukturell charakterisiert durch eine Kaffesäureeinheit, welche am C₅-Atom einer β -D-Glucose über einen Ester gebunden ist, und Hydroxytyrosol, welches glykosidisch am C₁-Atom des gleichen Glucosemoleküls gebunden ist. Zusätzlich ist in der Sequenz (1 \rightarrow 3) α -L-Rhamnose an die Glucose gebunden (Funes *et al.*, 2010).

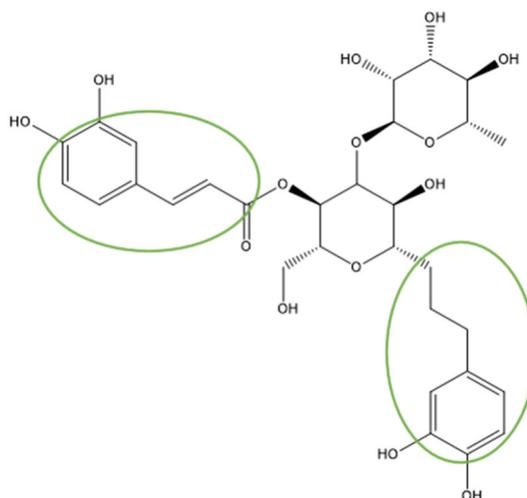


Abb. 8: Strukturformel von Verbascosid; modifiziert nach Funes *et al.* (2010). Grün markiert: Phenylpropanoidgrundgerüste.

Phenylpropanoide sind im Allgemeinen strukturell diverse sekundäre Pflanzenmetaboliten. Sie umfassen Phenylalanin-abgeleitete Verbindungen, welche ein Phenylpropanoidgrundgerüst (Abb. 8) besitzen. Die strukturelle Diversität ist abhängig von der Aktivität verschiedener Enzyme und Enzymkomplexe, die u.a. regiospezifische Kondensationen, Cyclisierungen, Hydroxilierungen, Glykosylierungen, Acetylierungen sowie Methylierungen katalysieren (Korkina, 2007; Noel *et al.*, 2005). In den meisten Spezies erfolgt die Synthese über den Phenylpropanoid-Biosyntheseweg, welcher sich aus drei enzymkatalysierten Reaktionen zusammensetzt, die den Präkursor Phenylalanin zum Coenzym A (CoA)-aktivierten Hydroxyzimtsäureester umsetzen, welches daraufhin verschiedene weitere Synthesewege beschreiten kann. Einige Pflanzen wie Gräser nutzen auch Tyrosin zusätzlich als Präkursor (Bernards & Båstrup-Spohr, 2008; Noel *et al.*, 2005).

Die Expression der Enzyme des Biosyntheseweges wird durch verschiedene entwicklungsorientierte Stimuli wie Keimung, Wachstum und Differenzierung sowie Umwelteinflüsse wie Strahlung, Schäden und Krankheiten ausgelöst. Viele phenolische Pflanzenverbindungen wie Flavonoide, Isoflavonoide, Cumarine und Lignane sind sekundäre Produkte des Phenylpropanoidmetabolismus (Korkina, 2007). Darüber hinaus kann die Synthese der Präkursoren mittels Shikimisäureweg selbst aufgrund der Stimuli gesteigert werden (Bernards & Båstrup-Spohr, 2008; Noel *et al.*, 2005). In der Pflanzenverteidigung gegen Insekten und Pathogene spielen Phenylpropanoide eine große Rolle, da sie Bitterstoffe

sind und antinutritive, antimikrobielle, antivirale und cytotoxische Effekte besitzen können. Zudem sind sie Bausteine für strukturelle Makromoleküle wie Lignin und Tannine und spielen eine wichtige Rolle in verschiedenen Interaktionen der Pflanze mit ihrer umgebenden Umwelt (Reichardt *et al.*, 1988, Korkina, 2007). Sie besitzen u.a. antioxidative Eigenschaften, wodurch sie als Radikalfänger bei oxidativem Stress produziert werden. Darüber hinaus bieten sie Schutz vor Strahlung, da sie UV-A- und UV-B-Strahlung sowie das sichtbare Licht in einem Wellenlängenbereich von 304-385 nm absorbieren können (Korkina, 2007).

1.4 Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, experimentell herauszufinden, ob sich invasive und native Populationen von *P. lanceolata* in ihrer morphologischen und phytochemischen Reaktion auf den Fraß durch generalistische herbivore Raupen von *Spodoptera littoralis* unterscheiden. Dabei sollten Herkünfte von nativen Populationen aus Europa und Westasien sowie von invasiven Populationen aus Ostasien, Australien, Neuseeland, Südafrika sowie Süd- und Nordamerika verglichen werden.

Die zu überprüfende, zentrale Hypothese der Arbeit sagte im Rahmen der EICA-Hypothese und der ERH aus, dass das Wachstum von Populationen des Spitzwegerichs an einem nicht-nativen Standort durch das Fehlen von Fraßfeinden zu mikroevolutionären Veränderungen geführt hat, die in erhöhtem Wachstum, gesteigerter Reproduktion sowie verringerter chemischer Verteidigung und dadurch auch erhöhten Fraßschäden resultieren. Aufgrund dessen waren folgende Fragen zu prüfen.

1. Besteht trotz gleicher Wuchsbedingungen eine höhere Investition der invasiven Populationen in Größe, Wachstum und Reproduktion?
2. Unterscheiden sich das Ausmaß und die Schäden der Raupenherbivorie zwischen nativen und invasiven Pflanzen?
3. Besteht zwischen nativen und invasiven Populationen ein Unterschied in der phytochemischen Reaktion auf einen herbivoren Stressor?
4. Besitzen invasive Populationen eine verringerte, induzierte sowie konstitutive, direkte Verteidigung?

Das Experiment sollte unter definierten und für alle Populationen identischen Laborbedingungen stattfinden, um Unterschiede auf genetischer Ebene zu begründen und Muster ohne äußere Einflüsse abzusichern. Zur Überprüfung der Hypothesen sollten morphologische Messungen wie Biomasse- und Blattflächenbestimmung sowie die Analyse des Ausmaßes an Fraßschäden vorgenommen werden. Der Hauptteil der Arbeit sollte in der Target-Analytik der Phytochemie des Spitzwegerichs über flüssigchromatographische

Verfahren mit Tandem-Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS/MS) bestehen. Dadurch sollten konstitutive und durch Herbivorie induzierte Konzentrationen verschiedener Metabolite zwischen nativen und invasiven Populationen verglichen werden. Der Fokus sollte auf den Phytohormonen der WIR wie verschiedenen Jasmonaten und ABA, den Iridoidglykosiden Aucubin und Catalpol sowie dem Phenylpropanoid Verbascosid liegen. Darüber hinaus sollten im Rahmen der Target-Analytik noch eine Reihe weiterer Pflanzenstoffe, die im Hinblick auf einen herbivoren Stressor noch nicht für *P. lanceolata* beschrieben wurden, betrachtet werden. Darunter fielen u.a. Pflanzenphenole wie Flavonoide und Chlorogensäuren. Das Verhalten verschiedener Primärmetabolite wie Zucker und Aminosäuren sollte unter herbivorem Stress ebenfalls vergleichend zwischen nativen und invasiven Populationen überprüft werden. Abschließend sollte beispielhaft an einer Auswahl von Populationen eine Non-Target-Analyse über massenspektrometrische Verfahren vorgenommen werden, um eine Sicht auf die allgemeine Verteilung von Substanzen in nativen und invasiven Populationen nach einem herbivoren Stressor zu erlangen.

Das Experiment mit der Modellart *Plantago lanceolata* sollte dazu dienen, das Verhalten von invasiven Arten an nicht-heimischen Standorten besser zu verstehen und Gründe zu finden, warum invasive Arten nativen Standortkonkurrenten überlegen sind.

2 Experimenteller Teil

2.1 Materialien

In Tab. 1, Tab. 2 und Tab. 3 sind alle verwendeten Chemikalien, Geräte und Materialien dargestellt.

Tab. 1: Verwendete Chemikalien und Hersteller.

Substanz	Hersteller
Standards/Referenzen	
(-)-Shikimisäure, 98% (HPLC)	Alfa Aesar, Landau, Deutschland
(+)- <i>cis,trans</i> -Abscisinsäure-D ₆	Toronto Research Chemicals, North York, Kanada
3-O-Caffeoyl-Chinasäure, ≥99% (HPLC)	Extrasynthese, Lyon, Frankreich
4-O-Caffeoyl-Chinasäure, >98% (HPLC)	TransMIT, Gießen, Deutschland
5-O-Caffeoyl-Chinasäure, >98% (HPLC)	TransMIT, Gießen, Deutschland
Algen Aminosäure Mix- ¹³ C, ¹⁵ N (98 Atom % ¹³ C; 98% Atom ¹⁵ N)	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Apigenin-7-O-Glucosid, ≥99% (HPLC)	Extrasynthese, Lyon, Frankreich
Aucubin ROTICHROM® HPLC (>97%)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Catalpol Standard, 98% (HPLC)	FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH, Neuss, Deutschland
D-(-)-Mannitol, ≥98%, Ph.Eur., USP, BP, für die Biochemie	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
D-(+)-Glucose, ≥99,5%	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
D-(+)-Raffinose Pentahydrat, ≥98%, für die Biochemie	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
D-(+)-Saccharose, ≥99,5%	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
D ₆ (±)-Jasmonsäure	HPC Standards GmbH, Borsdorf, Deutschland
D-Sorbitol, 99%	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Kaffeensäure, ≥98% (HPLC)	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
L-Asparagin, ≥98% (HPLC)	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
L-Tryptophan, ≥98,5%, Ph.Eur., für die Biochemie	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Luteolin, ≥99% (HPLC)	Extrasynthese, Lyon, Frankreich
Luteolin-7-O-glucosid, ≥98% (HPLC)	Extrasynthese, Lyon, Frankreich
N-[D ₆ (±)-Jasmonyl-(L)-]-isoleucine	HPC Standards GmbH, Borsdorf, Deutschland
<i>p</i> -Cumarsäure, ≥98% (HPLC)	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Quercitrin, ≥97% (HPLC)	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Rutinhydrat, ≥94% (HPLC)	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Salicylsäure-D ₄	Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland

Tab. 1: Verwendete Chemikalien und Hersteller.

Substanz	Hersteller
Standards/Referenzen	
Stachyose Hydrat von <i>Stachys tubrifera</i> , ≥98% (HPLC)	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Verbascose, ≥97% (HPLC)	Honeywell Fluka™, Seelze, Deutschland
Verbascosid Standard, 98% (HPLC)	Toronto Research Chemicals, North York, Kanada
γ-Aminobuttersäure, ≥99% (HPLC)	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Lösemittel/ Laufmittel	
Acetonitril ≥99%, HiPerSolv CHROMANORM®	VWR Chemicals, Radnor, USA
Ameisensäure ≥99%, HiPerSolv CHROMANORM®	VWR Chemicals, Radnor, USA
Methanol, ≥99,9% (HPLC plus)	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Desinfektionsmittel	
Natriumdichloroisocyanurat Dihydrat, 96%	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
TWEEN® 20, ≥40%	Sigma Aldrich, St. Louis, USA

Tab. 2: Für die Analysen verwendete Geräte mit Modell- und Herstellerangabe.

Gerät	Modell	Hersteller
96-Well-Platten	96 PCR Plate non-skirted, standard profile	VWR International, Darmstadt
Gefriertrocknungsanlage	LPHA 1-4 LDplus	Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Deutschland
Trennsäulen	apHera™ NH ₂ Polymer, 15 cm x 4,6 mm, 5 μm	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
	Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18, 4.6 x 50 mm, 1,8 μm	Agilent Technologies, Santa Clara, USA
HPLC	Agilent Technologies 1200 Series	Agilent Technologies, Santa Clara, USA
	Agilent Technologies 1260 Infinity II	Agilent Technologies, Santa Clara, USA
	UltiMate 3000	Thermo Fischer Scientific GmbH, Dreieich, Deutschland
LC-MS/MS-System	Sciex QTRAP® 6500+	Sciex, Framingham, USA
	API 3200	Sciex, Framingham, USA
LC-TIMS-QTOF MS	timsTOF™	Bruker Corporation, Billerica, USA
Injektor	7683 Series Injector	Agilent Technologies, Santa Clara, USA
Inkubator	Heraeus B 6120 Kendro	Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland
Schwingkugelmühle	Skandex SO-10 Shaker	Fluid Management Europe, Sassenheim, Niederlande

Tab. 3: Sonstige verwendete Materialien mit Herstellerangabe.

Material	Hersteller
Düngemittel Ferty 3	Planta Düngemittel GmbH, Regenstauf, Deutschland
Nullerde	Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste, Deutschland
Rundtöpfe (Ø 10 cm)	Pöppelmann GmbH & Co. KG Kunststoff-Werkzeugbau, Lohne, Deutschland
Tonsubstrat	Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste, Deutschland

2.2 Methoden

2.2.1 Daten und Aufzucht von *Plantago lanceolata*

Die Samen von *Plantago lanceolata* wurden von Privatpersonen, Mitgliedern des Plantpopnet-Networks (Koordinatorin: Frau Prof. Yvonne Buckley, Trinity College Dublin, Irland) sowie Mitgliedern des Nutrient-Networks (Department of Ecology, Evolution, & Behavior, University of Minnesota, USA) gesammelt und bereitgestellt. Von *P. lanceolata* wurden 20 Populationen mit jeweils zehn Individuen verwendet (Tab. 4).

Tab. 4: Herkunftsland, -ort, Habitat und Koordinaten (angegeben im Dezimalgrad) der ausgewählten Populationen von *Plantago lanceolata*; N: Native Populationen, I: Invasive Populationen, k.A.: keine Angabe.

Herkunftsland	Herkunftsort	Habitat	Koordinaten		N/I
			Nord	Ost	
Türkei	Istanbul	Ruderalfläche	41.059462	28.810555	N
Spanien	Saragossa	Grasland	41.689520	-0.932392	N
Frankreich	Avignon	Ruderales Grasland	43.925674	4.863604	N
Deutschland	Tübingen	Grasland (gemäht) im Botanischen Garten	48.539300	9.037113	N
Deutschland	Neugrimnitz	Grasland (beweidet)	52.987564	13.827416	N
Estland	Elva	Grasland (beweidet)	58.258000	26.635400	N
UK	Oxford	Wald (Whytham Woods)	51.774620	-1.325140	N
Tadschikistan	Hazorchashma- See	Alpines Grasland (beweidet)	39.103909	67.853177	N
Schweden	Uppsala	Städtisches Habitat (SLU Ultuna Campus)	59.916000	17.662000	N
Irland	Cork-Distillery Fields	Grasland (gemäht)	51.899611	-8.485889	N
USA	Lexington, Kentucky	Grasland	38.129310	-84.500970	I
Australien	Brisbane	Urbanes Grasland (White Hill Reserve)	-27.504870	153.07697	I
Australien	Yarramundi	k.A.	-33.621220	150.67363	I
Neu Seeland	Mt. Aspiring	National Park	-44.472970	168.80680	I
Neu Seeland	Kaikura	Städtisches Habitat	-42.403840	173.68356	I
Südafrika	Pretoria	Städtisches Habitat	-25.781233	28.266951	I
USA	Santa Cruz, California	Urbanes Grasland (Porter Meadow)	36.994710	-122.06777	I
Kanada	Middlesex Centre, Ontario	Ländliches Habitat	43.073864	-81335522	I
Chile	Tenten	Ländliches Habitat (Straßenrandseite)	-42.462920	-73.76033	I
Japan	Kyoto	Städtisches Habitat (Uferböschung)	34.965583	135.740575	I

Die Keimung und die Aufzucht der Pflanzen erfolgten im Gewächshaus. Die Wachstumsbedingungen im Gewächshaus sind in Tab. 5 dargestellt. Vor der Aussaat wurden die Samen mit einer wässrigen Lösung (2% Natriumdichloroisocyanurat Dihydrat, 1% Tween 20) für 3 min desinfiziert und anschließend gründlich gespült.

Die Aussaat erfolgte als Breitsaat in einen Rundtopf ($\varnothing 10$ cm) mit Tonsubstrat. Die Keimung erfolgte zur Erhöhung der Luftfeuchtigkeit unter einer Haube. Nach sieben Tagen wurden die Pflanzen mit einer Höhe von ca. 2 cm schrittweise belüftet. Nach elf Tagen wurden die Pflanzen in Rundtöpfen ($\varnothing 10$ cm) mit einem Substratgemisch aus Nullerde und Sand (50:50) vereinzelt. Die Anordnung der Pflanzen auf dem Gewächshaustisch erfolgte randomisiert und nicht gruppiert, um Kommunikation innerhalb einer Population zu vermeiden. Zur biologischen Schädlingsbekämpfung gegen Trauermückenlarven wurden die Raubmilben *Hypoaspis miles* ausgebracht. Die Bewässerung erfolgte mittels automatischer Tischbewässerung (Einmal pro Tag, 5 min). Nach 35 Tagen erfolgte eine Düngung, welche in die automatische Tischbewässerung integriert wurde (0,025% Ferty 3; einmal pro Tag, 5 min). Die Pflanzen wuchsen bis zum Beginn des Experimentes elf bis zwölf Wochen.

Tab. 5: Wachstumsbedingungen von *Plantago lanceolata* im Gewächshaus.

Tag/Nacht-Temperaturen	20-22 °C/18-20 °C
Luftfeuchtigkeit	30-55%
Lichtstunden	16 h/Tag
Fotosynthetisch aktive Strahlung	180 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

2.2.2 Aufzucht und Vorbereitung der generalistischen Herbivoren

Zur Behandlung von *P. lanceolata* mit Raupenherbivoren wurden die Larven des Generalisten *Spodoptera littoralis* (Afrikanischer Baumwollwurm) verwendet. Die Eier von *Spodoptera littoralis* und artspezifische Nährsubstrate wurden von Herrn Vincensius Surya Oetama und Frau Dr. Sabine Haenniger (Abteilung für Entomologie, Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie, Jena, Deutschland) bereitgestellt. Die Eier von *Spodoptera littoralis* wurden in Petrischalen mit artspezifischen Nährsubstrat bis zum Erreichen des dritten Larvenstadiums bei 28 °C inkubiert. Nach Erreichen des Stadiums wurden die Larven vereinzelt. Die für den Versuch verwendeten Exemplare befanden sich im dritten bis vierten Stadium und wiesen eine Größe von 1 bis 1,5 cm sowie eine Breite von 1 bis 3 mm auf (Abb. 9).



Abb. 9: Verwendete Exemplare von *Spodoptera littoralis* (drittes Larvenstadium).

2.2.3 Experimentelles Design

Die Pflanzen wurden in zwei Blöcken von jeweils 20 Individuen pro Tag elf bis zwölf Wochen nach der Aussaat für das Experiment verwendet. Die Pflanzen jeder Population wurden in eine Kontroll- und in eine Herbivorie-Gruppe eingeteilt, zu der jeweils fünf Individuen einer Population zugeordnet wurden. Pro Tag wurde für beide Gruppen jeweils ein Individuum aus jeder Population verwendet, um zu vermeiden, dass Blockeffekte für Populationseffekte gehalten werden. Die Auswahl der Individuen erfolgte randomisiert.

Das experimentelle Design ist in (Abb. 10) dargestellt. Die Töpfe der Probenpflanzen wurden während des Experimentes über die Untertöpfe bewässert. Die Probenpflanzen der Herbivorie-Gruppe wurden mit jeweils fünf Exemplaren *S. littoralis* versetzt. Um die Flucht der Larven zu vermeiden, wurden zwei Vorkehrungen getroffen. Zum einen standen die Pflanzen mit ihren Untertöpfen in einer Seifenlösung, die keinen Kontakt zu den Pflanzen hatte. Zum anderen wurde die Pflanzen mit einer Netztasche umhüllt, welche am Topf und am oberen Ende eines ca. 50 cm langen Holzstabes, der mittig im Bodensubstrat des Topfes steckte, befestigt. Mittels Gummibändern und Kabelbindern erfolgte die Abdichtung der Netztasche. Um gleiche Lichtbedingungen zu schaffen, wurden die Pflanzen der Kontrollgruppe analog zur Herbivoriegruppe mit der Netztasche umhüllt. Der experimentelle Befall erfolgte je nach Block für 42 bis 48 h.

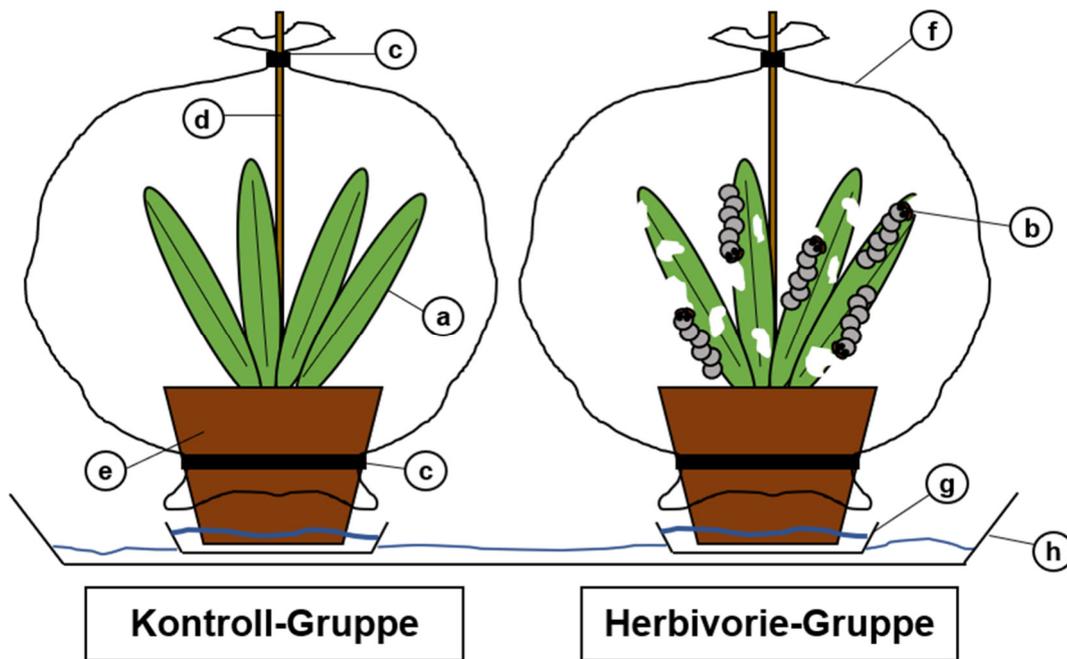


Abb. 10: Experimentelles Design der Herbivorenbehandlung. a = *Plantago lanceolata* in einem Wuchsalter von 11 bis 12 Wochen; b = *Spodoptera littoralis* im dritten bis vierten Larvenstadium; c = Kabelbinder; d = Holzstab; e = Pflanztopf (Ø 10 cm), g = Untertopf mit Gießwasser, h = Becken mit Seifenlösung.

2.2.4 Probennahme

Die Blätter wurden nach dem Experiment oberhalb des Vegetationskegels abgetrennt und frisch ausgewogen. Bei Vorhandensein von Infloreszenzen und Blüten wurden diese ebenfalls von Blättern und Wurzeln getrennt und separat ausgewogen. Anschließend wurden die Blätter auf einer weißen Platte mit einem genormten Flächenstandard von 1 cm² einzeln ausgebreitet und fotografisch dokumentiert (Abb. 11).



Abb. 11: Exemplarische Dokumentation der Blätter eines Individuums von *Plantago lanceolata* vor einem weißen Hintergrund. Schwarzes Quadrat: Größenstandard von 1 x 1 cm; Beispielindividuum: Kontrollpflanze (Invasiv; Brisbane, Australien).

Die oberirdischen Pflanzenorgane wie Blätter und Infloreszenzen wurden bei jedem Individuum voneinander separiert und in leergewogene Reaktionsgefäße überführt. Die Wurzeln, welche noch mit dem Vegetationskegel verbunden waren, wurden unter fließendem Wasser von den Resten des Bodensubstrates befreit. Die gewaschenen Wurzeln wurden ebenfalls in leergewogene Reaktionsgefäße überführt.

Die Probenbestandteile wurden in ihren Gefäßen unter flüssigem Stickstoff tiefgefroren und bis zur Weiterverarbeitung bei -80 °C aufbewahrt.

2.2.5 Probenvorbereitung

2.2.5.1 Trocknung und Homogenisierung des Probenmaterials

Alle Blatt- und Wurzelbestandteile wurden gefriergetrocknet (-35 °C, 0,22 mbar, 48 h) und anschließend ausgewogen. Vor der Homogenisierung wurde der Vegetationskegel von den Wurzeln entfernt. Blätter und Wurzeln wurden separiert voneinander mittels Schwingkugelmühle pulverisiert und homogenisiert.

2.2.5.2 Extraktion

Jeweils 10 mg der pulverisierten und homogenisierten Blatt- und Wurzelproben wurden in die Wells einer *96-Deep-Well*-Platte eingewogen. Die Proben wurden mit jeweils 1 mL eines Lösungsmittelgemisches aus Methanol und internen Standards, welche durch deuterierte Phytohormone repräsentiert wurden, extrahiert (Tab. 6). Die *96-Deep-Well*-Platte wurde verschlossen. Die Extraktion erfolgte mittels Plattenschüttler (30 min, Raumtemperatur, 250 min⁻¹). Abschließend erfolgte die Zentrifugation der *96-Deep-Well*-Platten (5 min, 3200 rpm). Der Überstand wurde in die *Wells* einer neuen *96-Deep-Well*-Platte überführt und bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C aufbewahrt.

Tab. 6: Konzentrationen der internen Standards im Extraktionsmittel.

Interner Standard	Konzentration [ng·mL ⁻¹]
D ₆ -(±)-Jasmonsäure (D ₆ -JA)	40
Salicylsäure-D ₄ (D ₄ -SA)	40
(+)- <i>cis,trans</i> -Abscisinsäure-D ₆ (D ₆ -ABA)	40
N-[D ₆ -(±)-Jasmonyl-(L)-]-isoleucine (D ₆ -JA-Ile)	8

2.3 Analytik

2.3.1 Untersuchung der morphologischen Merkmale

2.3.1.1 Berechnung des Wurzel/Spross-Verhältnisses

Die Berechnung des Wurzel/Spross-Verhältnisses erfolgte nach Formel (1) aus den Trockenmassen (DW) der Pflanzenorgane.

$$\text{Wurzel/Spross-Verhältnis} = \frac{\text{Oberirdische Gesamtbiomasse [g DW]}}{\text{Wurzelbiomasse [g DW]}} \quad (1)$$

2.3.1.2 Bestimmung der Blattfläche und der Blattflächenverluste

Die Bestimmung der Blattflächen, der Blattflächenverluste sowie die Auszählung der Blätter erfolgte mittels *Adobe Photoshop CS5* (Adobe Inc., San José, USA). Zur Bestimmung der gesamten Blattfläche wurden die Umrisse der Blätter im Programm markiert und die Pixel innerhalb der markierten Fläche berechnet. Zur Bestimmung des Blattflächenverlustes wurden oberflächlich beschädigte und totale Blattflächenverluste separat markiert und ebenfalls die Anzahl der Pixel der markierten Bereiche berechnet. Die Flächenbestimmung erfolgte über die Anzahl der Pixel der markierten Elemente im Vergleich zur Anzahl der Pixel des Größenstandards von 1 x 1 cm (Abb. 12).

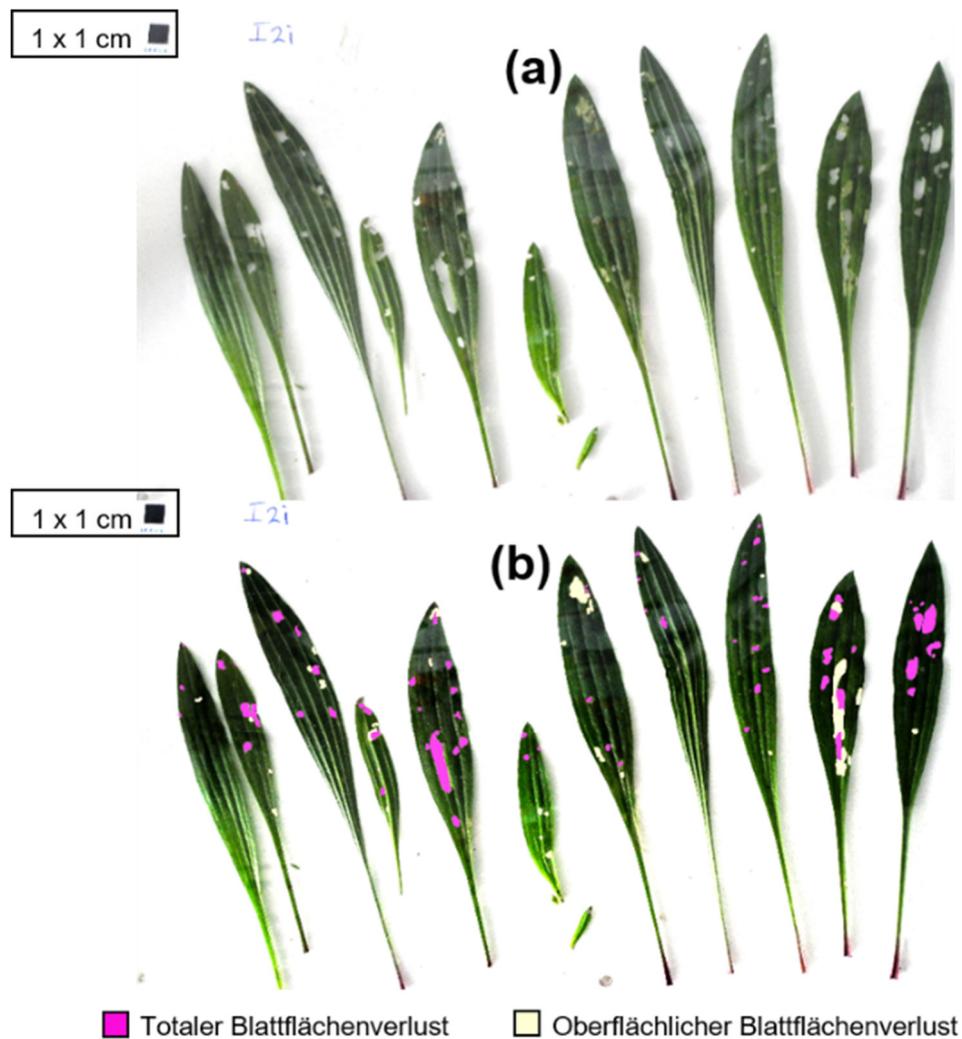


Abb. 12: Beispielbestimmung des Blattflächenverlustes. (a): Unbearbeitetes Foto einer Beispielpopulation (Herbivoriegruppe; Brisbane, Australien), (b): Bearbeitetes und zur Kalkulation verwendetes Foto der Beispielpopulation; violett: Totaler Blattflächenverlust (Das Blatt wurde an der markierten Stelle vollständig von Herbivoren gefressen), beige: Oberflächlicher Blattflächenverlust (Das Blatt wurde an der markierten Stelle nur oberflächlich durch die Herbivoren beschädigt).

2.3.1.3 Berechnung der spezifischen Blattfläche

Die Berechnung der spezifischen Blattfläche (SLA) erfolgte nach Formel (2).

$$SLA \left[\text{cm}^2 \cdot (\text{g DW})^{-1} \right] = \frac{\text{Blattfläche} \left[\text{cm}^2 \right]}{\text{Blattbiomasse} \left[\text{g DW} \right]} \quad (2)$$

2.3.2 Analytik der Pflanzenstoffe

Aus dem Überstand der zentrifugierten Proben wurde ein Aliquot von 200 μL entnommen und in eine neue *96-Deep-Well*-Platte überführt. Die Auftrennung der Komponenten, die Identifizierung und die Quantifizierung erfolgte mittels einer Multimethode über eine *High performance liquid chromatography* mit Tandem-Massenspektrometrie-Kopplung (HPLC-MS/MS) (Tab. 7, Tab. 8, Anhang Tab. 44). Die Auswertung erfolgte über die Software MultiQuant™ (Sciex, Framingham, USA).

Tab. 7: Parameter der HPLC für die Analytik der Pflanzenstoffe.

HPLC	Agilent Technologies 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)			
Trennsäule	Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18, 4.6 x 50 mm, 1,8 μm (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)			
Sampler-Temperatur	15 °C			
Säulenofen Temperatur	20 °C			
Injektionsvolumen	1 μL			
Eluent A	0,05% Ameisensäure			
Eluent B	Acetonitril			
Gradient	Zeit [min]	Fluss [$\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$]	Anteil (A) [%]	Anteil (B) [%]
	0,0	1,1	97	3
	1,0	1,1	97	3
	2,7	1,1	0	100
	3,0	1,1	0	100
	3,1	1,1	97	3
	6,0	1,1	97	3

Tab. 8: Parameter des LC-MS/MS-Systems für die Analytik der Pflanzenstoffe.

LC-MS/MS-System	Sciex QTRAP® 6500+ 8 (Sciex, Framingham, USA)
Scan-Typ	<i>Multiple reaction monitoring</i> (MRM)
Programmiertes MRM	Ja
Polarität	Negativ
Scan Modus	N/A
Ionenquellen	Turboionenspray
MRM Detektionsfenster	60 s
Target-Scan-Time	0,3 s
Curtain Gas	45 psi
Collision gas	medium
Ionenspray-Spannung	-4500 V
Dry temperature	650 °C
Gas 1 (Spray Gas)	60 psi
Gas 2 (Dry Gas)	60 psi

2.3.2.1 Identifizierung der Pflanzenstoffe

Die Identifizierung der Phytohormone Jasmonsäure, Jasmonyl-Isoleucin und Abscisinsäure erfolgte über den Vergleich der spezifischen Massenübergänge Q(1) und Q(3) sowie der Retentionszeiten mit den entsprechenden deuterierten internen Standards.

Die Identifizierung aller anderen Pflanzenstoffe erfolgte über den Vergleich der spezifischen Massenübergänge Q(1) und Q(3) sowie der Retentionszeiten mittels externen Standards, welche nach Tab. 7 und Tab. 8 analysiert wurden.

In Abschnitt 7.1 des Anhangs sind in alle zur Identifizierung der Substanzen verwendeten Standards mit Retentionszeiten und spezifischen Übergängen im Vergleich zu den Analyten sowie sonstige Vorgehensweisen zur Identifizierung spezifischer Analyten dargestellt.

2.3.2.2 Bestimmung der Responsefaktoren

Die internen Standards wurden zur Quantifizierung verschiedener Substanzen verwendet. Zur Ermittlung der Responsefaktoren (R_f) wurde ein Gemisch aus Methanol und den Standards mit jeweils einer identischen Konzentration nach Tab. 9 über ein HPLC-MS/MS System nach den Methoden aus Tab. 7 und Tab. 8 in Dreifachbestimmung gemessen.

Tab. 9: Zusammensetzung des Standardgemisches zur Bestimmung der Responsefaktoren.

Interner Standard	Konzentration [ng·mL ⁻¹]
D ₆ -JA	40
D ₄ -SA	40
D ₆ -ABA	40
Standard des Analyten	40

Die Errechnung der Responsefaktoren erfolgte aus dem Verhältnis der Peakflächen gemäß Formel (3). Der interne Standard mit einem R_f am nächsten zu einem Wert von 1,0, wurde für die Quantifizierung verwendet. Die verwendeten internen Standards und die daraus resultierenden R_f -Werte für die jeweiligen Analyten befinden sich in Tab. 34 im Anhang.

$$R_f = \frac{A_{IS} [\text{counts}]}{A_{Analyt} [\text{counts}]} \quad (3)$$

A_{IS} : Peakfläche des internen Standards [counts]

A_{Analyt} : Peakfläche des Analyten [counts]

2.3.2.3 Absolute Quantifizierung der Pflanzenstoffe

Die Quantifizierung erfolgte über den Vergleich mit internen Standards mittels Formel (4).

$$\beta \text{ [ng} \cdot (\text{mg DW})^{-1}] = \frac{m_{\text{IS}} \text{ [ng]} \cdot R_f \cdot A_{\text{Analyt}} \text{ [counts]}}{A_{\text{IS}} \text{ [counts]} \cdot E \text{ [mg]}} \quad (4)$$

β : Konzentration des Analyten [ng·(mg DW)⁻¹]

m_{IS} : Masse des internen Standards in 1 mL Extrakt [ng]

E : Einwaage der Probe [mg]

2.3.2.4 Relative Quantifizierung der Pflanzenstoffe

Für Substanzen, die nur in Bezug auf ihre Induktion oder Unterschiede in den Mengen untersucht wurden, war eine relative Quantifizierung ausreichend. Bei dieser Art der Quantifizierung wurde die Peakfläche gemäß Formel (5) zum Ausgleich von Injektionsunterschieden sowie Probenverlusten zwischen den Proben auf einen internen Standard korrigiert und auf ihre Einwaage bezogen. Für die Korrektur wurde der interne Standard D₆-JA verwendet.

$$\text{Relative Mengen} = \frac{A_{\text{Analyt}} \text{ [counts]}}{A_{\text{IS}} \text{ [counts]} \cdot E \text{ [mg]}} \quad (5)$$

2.3.3 Analytik der Aminosäuren

Für die Bestimmung der Aminosäuren wurde aus dem Überstand der zentrifugierten Proben ein Aliquot von jeweils 50 µL entnommen, in eine neue 96-Deep-Well-Platte überführt und 1:10 mit dem Aminosäurestandard, welcher eine Konzentration von 1 µg Aminosäurestandard pro 1 mL Reinstwasser besaß, verdünnt. Der interne Standard bestand aus einer Mischung ¹³C, ¹⁵N-markierter Aminosäuren (siehe Anhang Tab. 36). Die Auftrennung der Komponenten, die Identifizierung und die Quantifizierung erfolgte mit einer Multimethode mittels HPLC-MS/MS System (Tab. 10, Tab. 11, Anhang Tab. 44). Die Auswertung erfolgte über die Software MultiQuant™ (Sciex, Framingham, USA).

Tab. 10: Parameter der HPLC zur Bestimmung der Aminosäuren.

HPLC	Agilent Technologies 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)			
Trennsäule	Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18, 4.6 x 50 mm, 1,8 µm (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)			
Sampler-Temperatur	15 °C			
Säulenofen Temperatur	20 °C			
Injektionsvolumen	2 µL			
Eluent A	0,05% Ameisensäure			
Eluent B	Acetonitril			
Gradient	Zeit [min]	Fluss [mL·min ⁻¹]	Anteil (A) [%]	Anteil (B) [%]
	0,00	1,1	95	5
	0,50	1,1	95	5
	6,00	1,1	62,6	37,4
	6,02	1,1	20	80
	7,50	1,1	0	100
	9,50	1,1	0	100
	9,52	1,1	95	5
	12,00	1,1	95	5

Tab. 11: Parameter des MS/MS-Systems zur Bestimmung der Aminosäuren.

LC-MS/MS-System	Sciex QTRAP® 6500+ (Sciex, Framingham, USA)
Scan-Typ	MRM
Programmiertes MRM	Ja
Polarität	Positiv
Scan Modus	N/A
Ionenquellen	Turboionspray
MRM Detektionsfenster	60 s
Target-Scan-time	0,4 s
Curtain Gas	40 psi
Collision gas	medium
Ionenspray-Spannung	5500 V
Dry temperature	650 °C
Gas 1 (Spray Gas)	70 psi
Gas 2 (Dry Gas)	70 psi

2.3.3.1 Identifizierung der Aminosäuren

Die Identifizierung der Aminosäuren erfolgte über den Vergleich der spezifischen Massenübergänge $Q(1)$ und $Q(3)$ sowie über die Retentionszeiten mit den ^{13}C , ^{15}N -markierten Aminosäuren des internen Standardmixes. Die nicht enthaltenen Aminosäuren Asparagin, Tryptophan und γ -Aminobuttersäure wurden mittels externen Standards über die Methoden nach Tab. 10 und Tab. 11 identifiziert.

In Abschnitt 7.2.1 des Anhangs sind in alle zur Identifizierung der Substanzen verwendeten Standards mit Retentionszeiten und spezifischen Übergängen im Vergleich zu den Analyten dargestellt (Tab. 35, Abb. 50 bis Abb. 68).

2.3.3.2 Absolute Quantifizierung der Aminosäuren

Die Quantifizierung erfolgte über den Vergleich mit internen Standards mittels Formel (6). Die nicht enthaltenen Aminosäuren Asparagin, Tryptophan und γ -Aminobuttersäure wurden ebenfalls über die internen Standards quantifiziert. Die entsprechenden internen Standards und die berechneten Responsefaktoren sind im Anhang in Tab. 36 dargestellt.

$$\beta \left[\mu\text{mol} \cdot (\text{g DW})^{-1} \right] = \frac{n_{\text{IS}} \left[\mu\text{mol} \right] \cdot R_f \cdot A_{\text{Analyt}} \left[\text{counts} \right] \cdot F}{A_{\text{IS}} \left[\text{counts} \right] \cdot E \left[\text{g} \right]} \quad (6)$$

β : Konzentration des Analyten $[\mu\text{mol} \cdot (\text{mg DW})^{-1}]$

n_{IS} : Stoffmenge des internen Standards in 1 mL Extrakt $[\mu\text{mol}]$

E : Einwaage der Probe $[\text{mg}]$

F : Verdünnungsfaktor ($F = 10$)

2.3.4 Analytik der Zucker

Die Bestimmung der Zucker erfolgte aus demselben, verdünnten Aliquot wie die Aminosäuren. Die Auftrennung der Komponenten, die Identifizierung und die Quantifizierung erfolgten mit einer Multimethode mittels HPLC-MS/MS System (Tab. 12, Tab. 13, Anhang Tab. 44). Die Auswertung erfolgte über die Software MultiQuantTM (Sciex, Framingham, USA).

Tab. 12: Parameter der HPLC für die Zuckerbestimmung.

HPLC	Agilent Technologies 1200 Series (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)			
Trennsäule	Supelco apHera NH ₂ Polymer, 150 x 4.6 mm, 5 µm (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)			
Sampler-Temperatur	Raumtemperatur			
Säulenofen Temperatur	20 °C			
Injektionsvolumen	5 µL			
Eluent A	Mili-Q Wasser			
Eluent B	Acetonitril			
Gradient	Zeit [min]	Fluss [mL·min ⁻¹]	Anteil (A) [%]	Anteil (B) [%]
	0	1,0	20	80
	0,5	1,0	20	80
	13	1,0	45	55
	14	1,0	20	80
	18	1,0	20	80

Tab. 13: Parameter des LC-MS/MS-Systems für die Zuckerbestimmung.

LC-MS/MS-System	API 3200 (Sciex, Framingham, USA)
Scan-Typ	MRM
Programmiertes MRM	Ja
Polarität	Negativ
Scan Modus	N/A
Ionenquellen	Turboionspray
MRM Detektionsfenster	200 sec
Curtain Gas	20 psi
Collision gas	5 psi
Ionenspray-Spannung	-4500 V
Dry temperature	650 °C
Gas 1 (Spray Gas)	50 psi
Gas 2 (Dry Gas)	60 psi

2.3.4.1 Identifizierung und Absolute Quantifizierung der Zucker

Die Identifizierung und die Quantifizierung der Zucker erfolgten über eine externe Kalibrierung. Als Standard wurde eine Mischung aus verschiedenen Zuckern verwendet. Die Zucker des Standardgemisches sowie die damit identifizierten Analyten sind in Tab. 14 dargestellt. Glucose, Fructose und Saccharose wurden genau über ihre Retentionszeit und die spezifischen Massenübergänge identifiziert. Alle detektierten Oligosaccharide wurden im MRM-Modus anhand der spezifischen Massenübergänge Q(1) und Q(3) den Standardsubstanzen zugeordnet und anhand ihrer Monosaccharideinheiten klassifiziert.

Tab. 14: Zucker, Konzentrationen der Zucker im Standardgemisch und darüber identifizierte und quantifizierte Analyten.

Standards	Konzentration im Gemisch [$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$]	Analyten
Glucose	10	Glucose
Fructose	10	Fructose
Saccharose	10	Saccharose
Raffinose	10	Trisaccharide
Stachyose	10	Tetrasaccharide
Verbascose	10	Pentasaccharide
Mannitol	10	Zuckeralkohole

Die Standardreihen wurden in Vierfachbestimmung gemessen und waren jeweils vor, zwischen und hinter die Proben geschaltet. Der für alle Zucker des Standardgemisches gewählte Kalibrierbereich des externen Standardgemisches ist in Tab. 15 dargestellt. Exemplarisch ist die Auswertung am Beispiel von Glucose in Abb. 13 dargestellt.

Tab. 15: Konzentrationen der Kalibrierreihe aller Einzelzucker im Standardgemisch.

Standard	Konzentration [$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$]
1	0,32
2	0,63
3	1,25
4	2,50
5	5,00
5	10,00

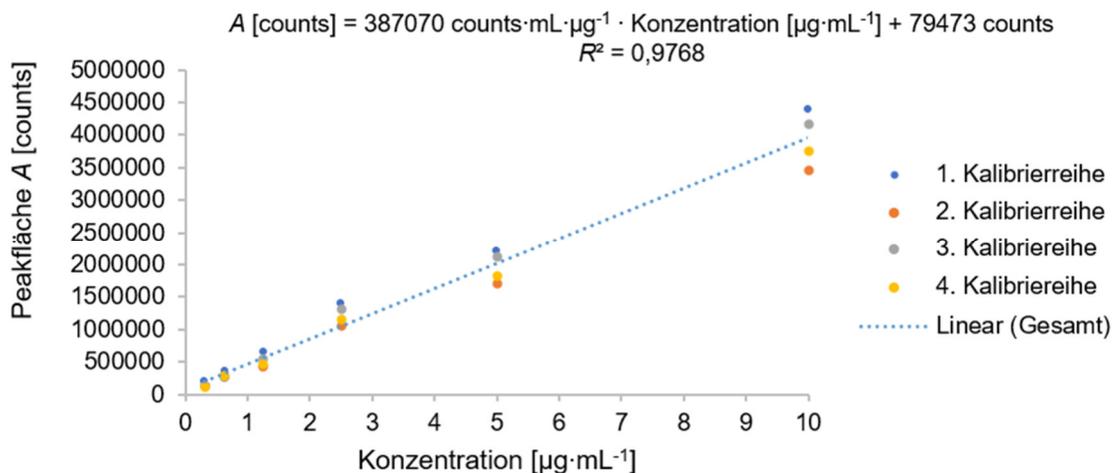


Abb. 13: Exemplarische Darstellung der Quantifizierung der Zucker in vierfacher Bestimmung mittels linearer Regression am Beispiel des Monosaccharides Glucose; Gleichung der Regressionsgeraden: $A [\text{counts}] = 387070 \text{ counts}\cdot\text{mL}\cdot\mu\text{g}^{-1} \cdot \text{Konzentration} [\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}] + 79473 \text{ counts}$; $R^2 = 0,9768$.

Die Konzentration wurde durch Umstellen der Kalibriergeraden berechnet und mittels Formel (7) auf die Einwaage und die Verdünnung bezogen.

$$\beta \text{ [mg} \cdot (\text{g DW})^{-1}] = \frac{\text{Konzentration [mg} \cdot \text{mL}^{-1}] \cdot F \cdot V \text{ [mL]}}{E \text{ [g]}} \quad (7)$$

β : Konzentration des Analyten [mg·(g DW)⁻¹]

E : Einwaage der Probe [mg]

F : Verdünnungsfaktor ($F = 10$)

V : Volumen des Extraktes (1 mL)

2.3.4.2 Identifizierung von Sorbitol

Unter der Kenntnis des Vorkommens von Sorbitol in *Plantaginaceae* wurde zum Vergleich der Retentionszeit der über Mannitol quantifizierten Zuckeralkohole die entsprechende Standardsubstanz mittels den Methoden aus Tab. 12 sowie Tab. 13 gemessen (Briens & Larher, 1983).

2.3.5 Exemplarische Prüfung zweier Populationen in einer Non-Target-Analyse

Die Non-Target-Analyse erfolgte exemplarisch für die Populationen Tübingen (Deutschland) und Brisbane (Australien). Für die Bestimmung wurden aus dem Überstand der extrahierten und zentrifugierten Proben aus Abschnitt 2.2.5.2 ein Aliquot von jeweils 50 μL entnommen und in *Vials* überführt. Die Analyse erfolgte über eine HPLC, die an eine *Trapped ion mobility spectrometry - Quadrupole time of flight mass spectrometry* (TIMS-QTOF MS) gekoppelt war. Die Analyse erfolgte sowohl im negativen als auch im positiven Ionisierungsmodus. Die Parameter der Methode sind in Tab. 16, Tab. 17 sowie Tab. 18 dargestellt.

Tab. 16: Parameter der HPLC der exemplarischen Non-Target-Analytik.

HPLC	UltiMate 3000 (Thermo Fischer Scientific GmbH, Dreieich, Deutschland)			
Trennsäule	Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18, 4.6 x 50 mm, 1,8 µm (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)			
Sampler-Temperatur	15 °C			
Säulenofen-Temperatur	20 °C			
Injektionsvolumen	1 µL			
Eluent A	0,05% Ameisensäure			
Eluent B	Acetonitril			
Gradient	Zeit [min]	Fluss [mL·min ⁻¹]	Anteil (A) [%]	Anteil (B) [%]
	0,0	0,3	95	5
	0,0	0,3	95	5
	0,5	0,3	95	5
	11,0	0,3	40	60
	11,1	0,3	0	100
	12,0	0,3	0	100
	12,1	0,3	95	5
15,0	0,3	95	5	

Tab. 17: Parameter der LC-TIMS-QTOF MS, negativer Ionisierungsmodus.

LC-TIMS-QTOF MS	timsTOF™ (Bruker Corporation, Billerica, USA)
TIMS-Funktion	ausgeschaltet
Scan-Typ	Full-Scan
Scan-Bereich	50-1500 m/z
Polarität	Negativ
Ionenquellen	ESI
Ionenspray-Spannung	3500 V
Dry temperature	280 °C
Gas 1 (Nebulizer Gas)	2,8 bar
Gas 2 (Dry Gas)	8,0 L/min
Ion Energy	-4,0 eV
Collision Energy	-7,0 eV

Tab. 18: Parameter der LC-TIMS-QTOF MS, positiver Ionisierungsmodus.

LC-TIMS-QTOF MS	timsTOF™ (Bruker Corporation, Billerica, USA)
TIMS-Funktion	ausgeschaltet
Scan-Typ	Full Scan
Scan-Bereich	50-1500 m/z
Polarität	Positiv
Ionenquellen	ESI
Ionenspray-Spannung	4500 V
Dry temperature	280 °C
Gas 1 (Nebulizer Gas)	2,8 bar
Gas 2 (Dry Gas)	8,0 L/min
Ion Energy	4,0 eV
Collision Energy	7,0 eV

2.4 Statistische Auswertung

Die Mittelwerte wurden erst aus den Daten der einzelnen Individuen für jede Population gebildet. Alle dargestellten Daten und Abbildungen zeigen das Mittel über die Populationen, gruppiert nach nativen und invasiven Populationen, sowie ihre Standardfehler (SE). Da die Werte auch nach Logarithmieren noch nicht normal verteilt waren, wurden die Werte für die statistische Auswertung einer Rangtransformation unterzogen. Die Mittelwerte wurden statistisch im Rahmen einer zweifaktoriellen ANOVA verglichen, in der die Behandlung (Kontrolle vs. Herbivorie) und die Herkunft (Nativ vs. Invasiv) als feste Faktoren sowie der Zufallsfaktor Population, genestet in der Herkunft, festgelegt wurden. Dadurch diente die zweifaktorielle ANOVA der Untersuchung des Einflusses der Behandlung mittels Raupenherbivorie durch *S. littoralis*, der Herkunft sowie der Interaktion von Herkunft und Herbivoriebehandlung. Die Interaktion (Herkunft x Behandlung) diente der Feststellung, ob sich der Einfluss der Behandlung in Abhängigkeit von der Herkunft unterschied. Bei einem signifikanten Unterschied in der Interaktion wurde der *Least significant difference* (LSD)-Post-hoc-Test angewandt, um Unterschiede zwischen den vier Gruppen (Nativ-Kontrolle, Nativ-Herbivorie, Invasiv-Kontrolle, Invasiv-Herbivorie) zu ermitteln. Für alle durchgeführten statistischen Analysen wurde die Software R (R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.) verwendet. Alle Abbildungen wurden mit SPSS Statistics 25.0 (IBM Corporation, New York, USA) generiert.

3 Ergebnisse

3.1 Morphologische Merkmale

3.1.1 Blütenbildung von *Plantago lanceolata*

Die Herkunft hatte einen signifikanten Effekt auf die Blühphänologie. Ein Anteil von 50% der invasiven Populationen wies bis zum Beginn des Herbivorie-Experimentes Blütenbildung auf. Im Gegensatz dazu zeigten nur 20% der nativen Populationen Blütenbildung (Abb. 14). Die blühenden Populationen stammten alle aus Gebieten mit höheren durchschnittlichen Jahresmitteln der Lufttemperatur. Darunter fielen die nativen Populationen aus Spanien und Tadschikistan sowie die invasiven Populationen aus Südafrika, Brisbane (Australien), Yarramundi (Australien), Santa Cruz (USA), Kaikura (Neuseeland) sowie Mount Aspiring (Neuseeland). Bei den beiden nativen, blühenden Populationen kamen ein bzw. vier der zehn untersuchten Individuen zur Blüte. Bei den invasiven, blühenden Populationen variierte die Zahl zwischen einem und zehn blühenden Individuen.

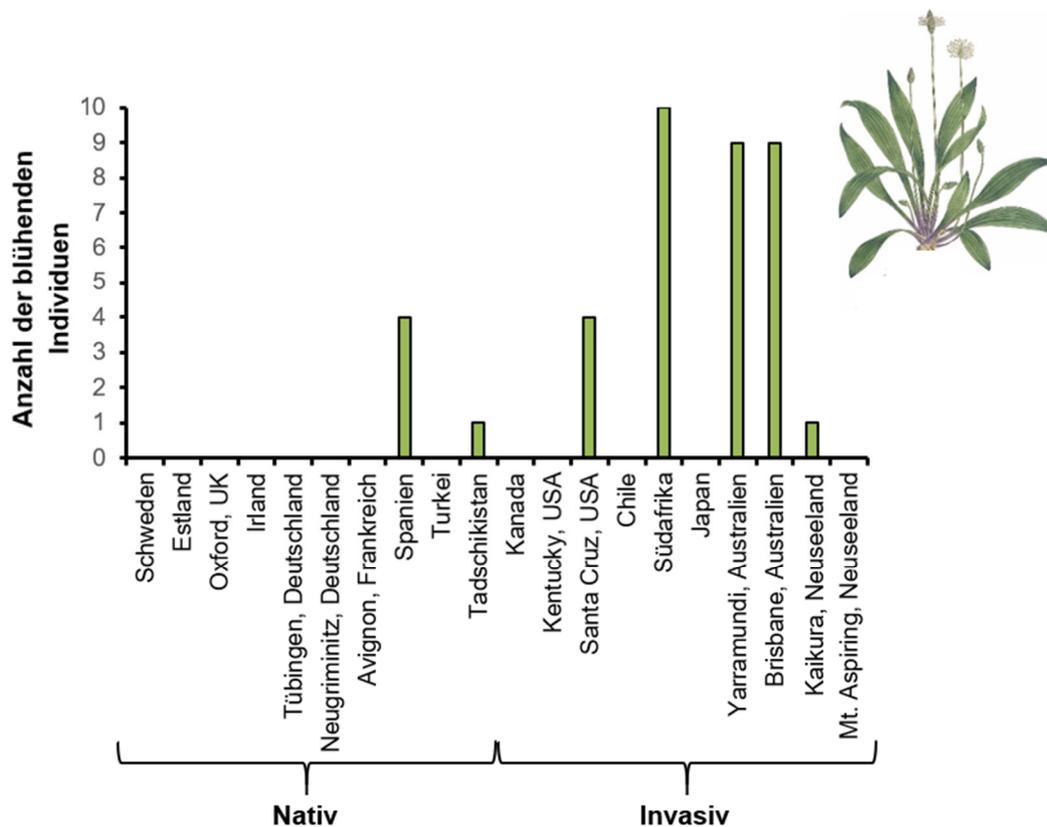


Abb. 14: Anzahl der blühenden Individuen von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte. Gezeigt wird die Zahl an blühenden Pflanzen der zehn untersuchten Individuen je Population, unabhängig von der Behandlung. Skizze von *P. lanceolata* entnommen aus Curtis *et al.* (1777).

3.1.2 Biomasse

Die Biomasse der oberirdischen Pflanzenorgane unterschied sich in Abhängigkeit von der Herkunft (Abb. 15; Tab. 19). Der Unterschied ergab sich aus einer signifikant höheren Biomasse der invasiven Kontrollgruppe (Abb. 15, LSD-Post-hoc-Test, $p = 0,020$). Die Behandlung resultierte in einer signifikanten Abnahme der oberirdischen Biomasse. Der Einfluss der Behandlung unterschied sich marginal nicht signifikant in der Herkunft (Abb. 15; Tab. 19). Eine signifikante Abnahme war ausschließlich in der Biomasse der oberirdischen Pflanzenorgane der invasiven Populationen zu erkennen (Abb. 15, LSD-Post-hoc-Test, $p = 0,004$). Die Behandlung führte in den nativen Populationen zu keinem Unterschied in der Biomasse der oberirdischen Pflanzenorgane (Abb. 15, LSD-Post-hoc-Test, $p = 0,888$). Die Wurzelbiomasse blieb relativ konstant. Herkunft und Behandlung hatten keinen Einfluss auf die Wurzelbiomasse (Abb. 15; Tab. 19).

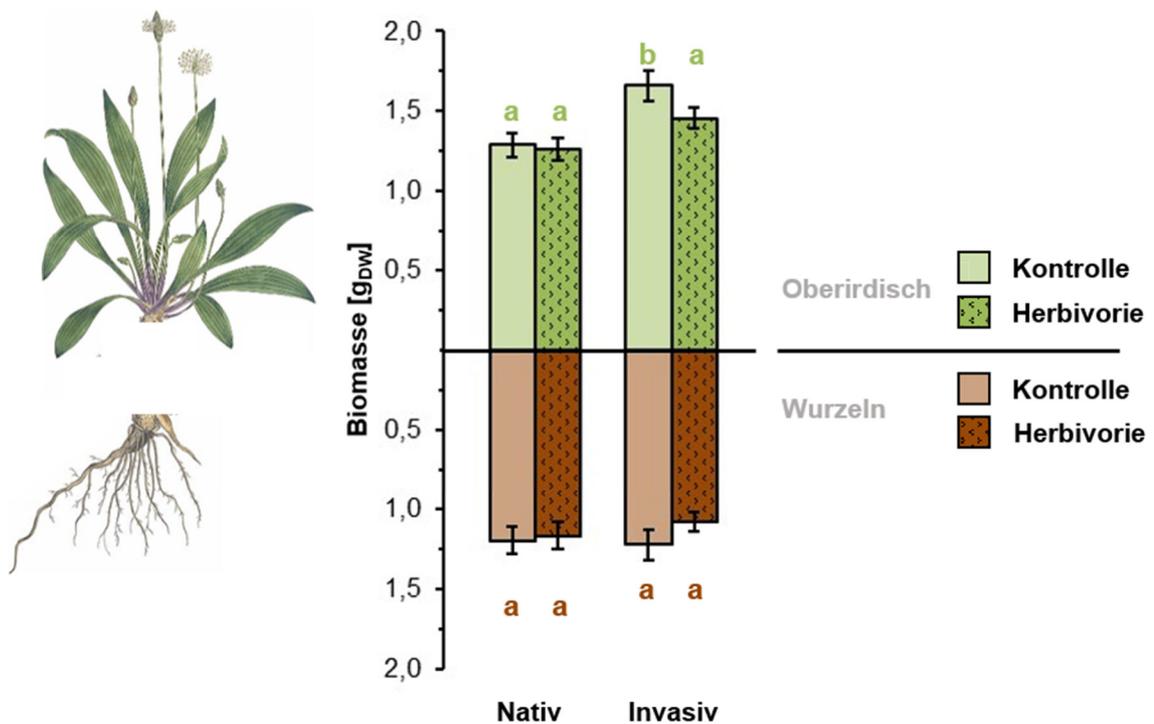


Abb. 15: Biomasse der oberirdischen Pflanzenorgane (oben, grün) und der Wurzel (unten, braun) von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 im Anhang zu finden). a-d: Gruppierung nach LSD-Post-Hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen); Blätter und Wurzeln wurden separat betrachtet. Skizze von *P. lanceolata* entnommen aus Curtis *et al.* (1777).

Tab. 19: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Biomasse von oberirdischen Pflanzenorganen und Wurzeln mittels ANOVA; F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Blätter	Herkunft	7,196	1	17,878	0,015
	Behandlung	8,772	1	173,017	0,003
	Herkunft x Behandlung	3,741	1	173,017	0,055
Wurzeln	Herkunft	0,102	1	17,996	0,753
	Behandlung	0,426	1	173,219	0,515
	Herkunft x Behandlung	0,774	1	173,226	0,380

3.1.3 Wurzel/Spross-Verhältnis, Blattanzahl und Spezifische Blattfläche

Das Verhältnis aus Wurzelbiomasse zur Biomasse der oberirdischen Pflanzenteile zeigte einen marginal nicht signifikanten Unterschied in Abhängigkeit der Herkunft. Dabei war zu erkennen, dass die invasiven Populationen ein geringeres Wurzel/Spross-Verhältnis aufwiesen als die nativen Populationen. Die Behandlung hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Wurzel/Spross-Verhältnis (Abb. 16, Tab. 20).

Weder Herkunft noch Behandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Blattanzahl (Abb. 16, Tab. 20).

Der Quotient aus Blattfläche und Blattbiomasse (= Spezifische Blattfläche, SLA) zeigte einen signifikanten Unterschied bezüglich der Herkunft. Die nativen Populationen besaßen eine höhere SLA als die invasiven Populationen. Die Behandlung führte zu einem marginal nicht signifikanten Anstieg der SLA. Der Einfluss der Behandlung unterschied sich nicht in der Herkunft (Abb. 16, Tab. 20).

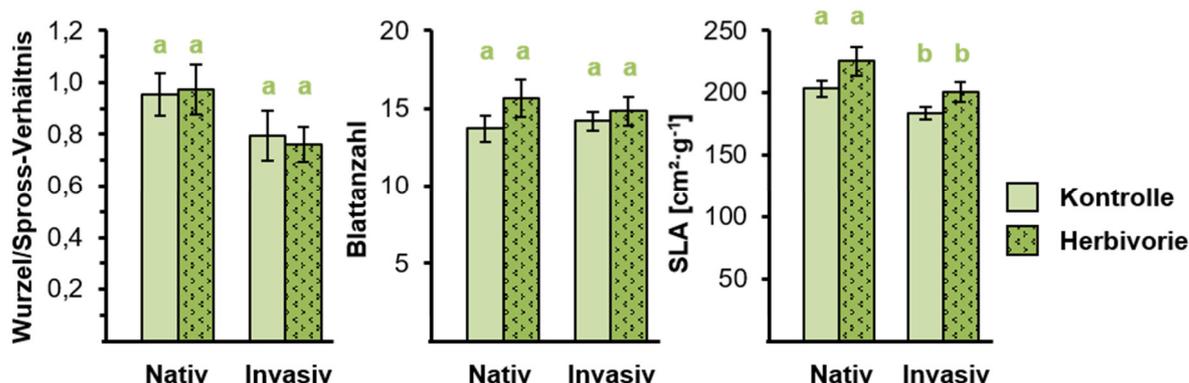


Abb. 16: Wurzel/Spross-Verhältnis (links), Blattanzahl (Mitte) und SLA (rechts) von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43. im Anhang zu finden). a-d: Gruppierung nach LSD-Post-Hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen).

Tab. 20: Ergebnisse der statistischen Auswertung des Wurzel/Spross-Verhältnisses, der Blattanzahl und der SLA mittels ANOVA; F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p Werte = signifikante Unterschiede).

Morphologisches Merkmal	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Wurzel/Spross-Verhältnis	Herkunft	3,415	1	18,000	0,081
	Behandlung	1,436	1	173,079	0,232
	Herkunft x Behandlung	0,007	1	173,079	0,934
Blattanzahl	Herkunft	0,009	1	17,999	0,924
	Behandlung	3,354	1	173,151	0,069
	Herkunft x Behandlung	0,694	1	173,156	0,406
SLA	Herkunft	5,765	1	17,948	0,027
	Behandlung	3,051	1	173,653	0,082
	Herkunft x Behandlung	0,039	1	173,644	0,844

3.2 Herbivorie

3.2.1 Blattflächenverluste durch experimentelle Herbivorie

Die Herkunft und die Behandlung der Pflanzen hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Blattfläche der Pflanzen. Sowohl in invasiven als auch nativen Populationen wurde jedoch ein deutlicher Trend zur Abnahme der Blattflächen nach der Behandlung beobachtet. Der Einfluss der Behandlung unterschied sich in der Herkunft nicht (Abb. 17, Tab. 21).

Bei Betrachtung des prozentualen Schadens resultierte der Trend zur Abnahme der Blattflächen im Durchschnitt in einem Blattflächenverlust von $(4,7 \pm 0,9)\%$ in den nativen Populationen und von $(5,2 \pm 0,9)\%$ in den invasiven Populationen. Die Herkunft hatte keinen signifikanten Einfluss auf die prozentuale Abnahme der Blattflächen (Abb. 17, ANOVA, $p = 0,743$).

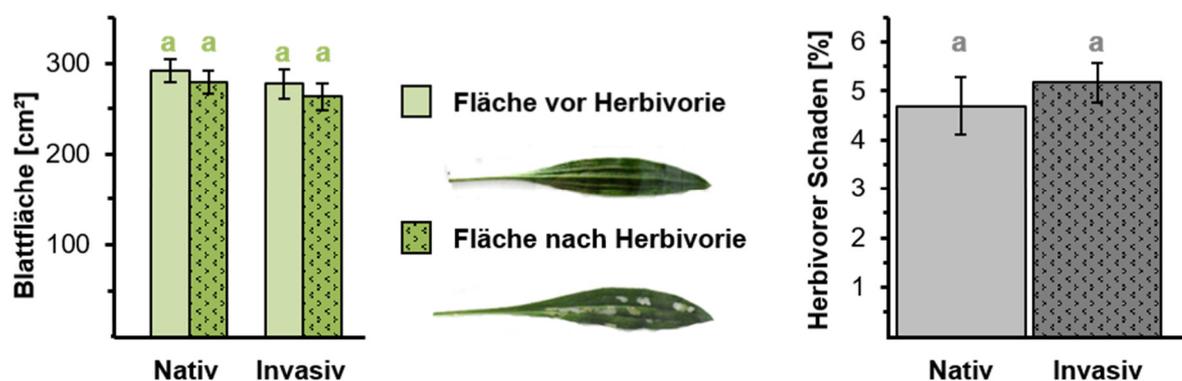


Abb. 17: Blattflächen von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung (links) und der prozentuale Blattflächenverlust durch Herbivorie im Vergleich der Herkünfte (rechts). Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Zur Berechnung der Blattflächen wurden nur die Replikate der Herbivoriegruppe verwendet ($n = 5$). a-d: Gruppierung nach LSD-Post-Hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen).

Tab. 21: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Blattfläche mittels ANOVA; F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Herkunft	0,750	1	18,000	0,398
Behandlung	2,525	1	178,000	0,114
Herkunft x Behandlung	0,000	1	178,000	0,986

3.2.2 Bewegungsaktivität von *Spodoptera littoralis*

Die Bewegungsaktivität wurde über die Anzahl der Fraßstellen bestimmt. Die Herkunft hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Anzahl der Fraßstellen (Abb. 18, ANOVA, $p = 0,318$).

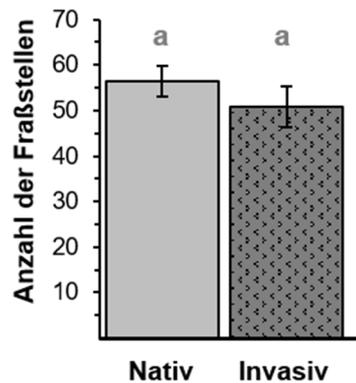


Abb. 18: Anzahl der durch *Spodoptera littoralis* verursachten Fraßstellen an *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Zur Berechnung der Fraßstellen wurden nur die Replikate der Herbivoriegruppe verwendet ($n = 5$). a-d: Gruppierung nach LSD-Post-Hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen).

3.3 Phytohormone

3.3.1 Jasmonate

In den Blättern wurden die Jasmonate JA sowie JA-Ile identifiziert und die Jasmonate Hydroxy-Jasmonsäuresulfat (Sulfo-JA), Hydroxy-Jasmonsäure (OH-JA), sowie 12-Hydroxy-Jasmonyl-Isoleucin (OH-JA-Ile) vorläufig identifiziert (siehe Anhang Abschnitt 7.1.1, Tab. 33, Abb. 33 und Abb. 34). OH-JA und Sulfo-JA fassen beide die in 11- und 12-Position hydroxylierte Form zusammen. Sulfo-JA war in allen untersuchten Geweben der Pflanzen das dominanteste Jasmonat. Die Konzentration von JA-Ile unterschied sich als einziges der Jasmonate signifikant bezüglich der Herkunft (Abb. 19, Tab. 22). Die Konzentrationen waren nach der Behandlung in nativen Populationen signifikant höher als in den invasiven Populationen (Abb. 19, LSD-Post-hoc-Test, $p = 0,007$). Die Herkunft der Pflanzen hatte keinen signifikanten Einfluss auf alle anderen Jasmonate. Nach der Raupenherbivorie kam es zu einem signifikanten Anstieg aller Jasmonate in den Blättern (Abb. 19, Tab. 22). Der Einfluss der Behandlung unterschied sich nur für OH-JA signifikant in der Herkunft (Abb. 19, Tab. 22). OH-JA war in den Kontrollgruppen der nativen Populationen in signifikant höheren konstitutiven Mengen vorhanden (Abb. 19, LSD-Post-hoc-Test, $p < 0,001$). Die invasiven Populationen besaßen marginal nicht signifikant höhere Konzentrationen des Phytohormons in den Herbivoriegruppen (Abb. 19, LSD-Post-hoc-Test, $p = 0,052$). Die Behandlung resultierte somit in einer höheren Induktion von OH-JA in den invasiven Populationen (Abb. 19, Tab. 22).

In den Wurzeln konnten die Jasmonate JA und JA-Ile identifiziert und Sulfo-JA vorläufig identifiziert werden (Abb. 19). Die Herkunft der Pflanzen hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Jasmonatkonzentrationen der Wurzeln (Abb. 19, Tab. 22). Die oberirdische Behandlung mit *S. littoralis* resultierte in einer signifikanten Abnahme von JA-Ile und hatte keinen Einfluss auf die Konzentrationen von Sulfo-JA und JA. Der Einfluss der Behandlung auf JA-Ile zeigte keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Herkunft (Abb. 19, Tab. 22).

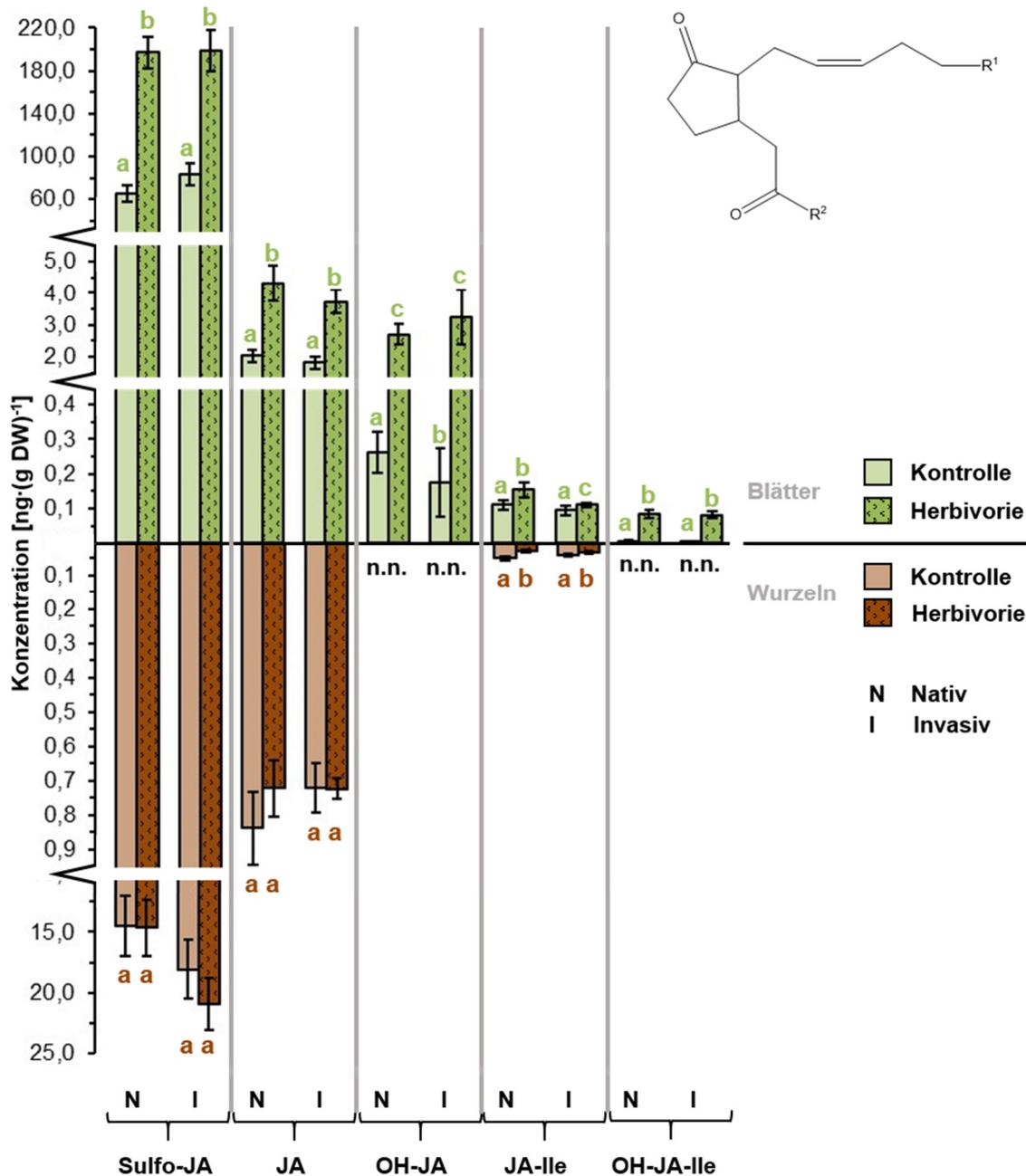


Abb. 19: Konzentrationen der Jasmonate Sulfo-JA (umfasst 11- und 12- Hydroxy-Jasmonsäuresulfat), JA, OH-JA (umfasst 11- und 12-Hydroxyjasmonsäure), JA-Ile, OH-JA-Ile (von links nach rechts) in den Blättern (oben, grün) und den Wurzeln (unten, braun) von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 im Anhang zu finden). Unterbrechung der Ordinate in den Blattkonzentrationen bei $0,45 \text{ ng} \cdot (\text{g DW})^{-1}$ und $5,5 \text{ ng} \cdot (\text{g DW})^{-1}$ sowie in den Wurzelkonzentrationen bei $0,95 \text{ ng} \cdot (\text{g DW})^{-1}$; nach jeder Unterbrechung folgt die Änderung der Skalierung. n.n. = nicht nachweisbar. a-d: Gruppierung nach LSD-Post-hoc-Test für jedes einzelne Jasmonat separat betrachtet (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen); Strukturformel modifiziert nach Miersch *et al.* (2008).

Tab. 22: Ergebnisse der statistischen Auswertung der verschiedenen Formen der Jasmonate mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede)

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Sulfo-JA	Blätter	Herkunft	0,000	1	18,000	0,997
		Behandlung	185,956	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	1,564	1	178,000	0,213
	Wurzeln	Herkunft	1,843	1	17,993	0,191
		Behandlung	1,081	1	173,291	0,300
		Herkunft x Behandlung	1,166	1	173,289	0,282
JA	Blätter	Herkunft	1,210	1	18,000	0,286
		Behandlung	93,139	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0,898	1	178,000	0,345
	Wurzeln	Herkunft	0,533	1	17,975	0,475
		Behandlung	0,017	1	173,477	0,897
		Herkunft x Behandlung	2,487	1	173,473	0,117
OH-JA	Blätter	Herkunft	1,319	1	18,000	0,266
		Behandlung	360,199	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	6,904	1	178,000	0,009
	Wurzeln	Herkunft	-	-	-	-
		Behandlung	-	-	-	-
		Herkunft x Behandlung	-	-	-	-
JA-Ile	Blätter	Herkunft	8,600	1	18,000	0,009
		Behandlung	19,066	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0,246	1	178,000	0,620
	Wurzeln	Herkunft	0,557	1	17,960	0,465
		Behandlung	4,799	1	173,534	0,030
		Herkunft x Behandlung	2,297	1	173,585	0,131
OH-JA-Ile	Blätter	Herkunft	4,386	1	18,000	0,051
		Behandlung	363,525	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	1,909	1	178,000	0,169
	Wurzeln	Herkunft	-	-	-	-
		Behandlung	-	-	-	-
		Herkunft x Behandlung	-	-	-	-

Die Herkunft der Pflanzen hatte keinen Einfluss auf die Gesamtkonzentration der Jasmonate. Die Behandlung führte zu einer signifikanten Induktion der Gesamtkonzentration. Der Einfluss der Behandlung unterschied sich nicht in der Herkunft (Abb. 20, Tab. 23). Jedoch war der Trend ersichtlich, dass invasive Populationen höhere konstitutive Mengen an Jasmonaten besaßen und dass die Antwort auf einen herbivoren Stressor in den nativen Populationen größer war (Abb. 20). Durch den Anteil von über 95% an Sulfo-JA an der Gesamtkonzentration wurde diese maßgeblich durch dieses Jasmonat bestimmt.

Weder Herkunft noch Behandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Gesamtkonzentration der Jasmonate in den Wurzeln (Abb. 20, Tab. 23).

3.3.2 Abscisinsäure

Abscisinsäure (ABA) wurde nur in den Blättern von *P. lanceolata* nachgewiesen und war in den Wurzeln nicht präsent (siehe Anhang Abschnitt 7.1.1, Tab. 33, Abb. 35). Die Herkunft der Pflanzen hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Konzentration des Phytohormons. Nach Raupenherbivorie stiegen die ABA-Konzentrationen signifikant an. Der Einfluss der Behandlung unterschied sich marginal nicht signifikant in der Herkunft. Die Induktion von ABA war in den nativen Populationen tendenziell stärker als in den invasiven Populationen (Abb. 20, Tab. 23).

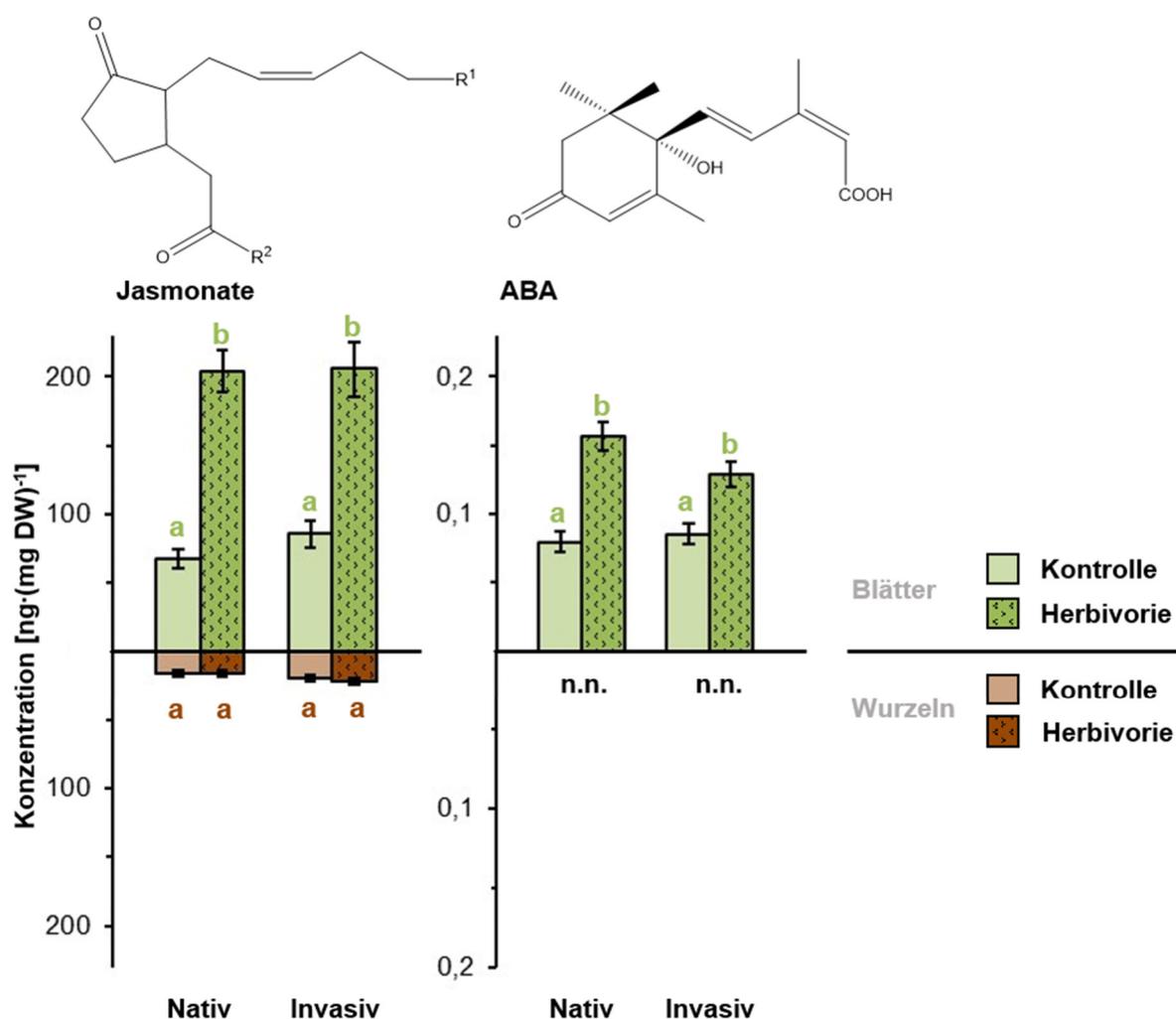


Abb. 20: Gesamtkonzentration der Jasmonate (links) und Konzentrationen von ABA (rechts) in den Blättern (oben, grün) und den Wurzeln (unten, braun) von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkunft und der Behandlung. Die Gesamtkonzentration der Jasmonate umfasst die Summe aller nachgewiesenen Formen. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43. im Anhang zu finden. n.n. = nicht nachweisbar. a-d: Gruppierung nach LSD-Post-Hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen); Strukturen modifiziert nach Miersch *et al.* (2008) und Nambara & Marion-Poll (2005).

Tab. 23: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Gesamtkonzentration der Jasmonate und der Konzentration von ABA in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA; F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Jasmonate (gesamt)	Blätter	Herkunft	0,000	1	18,000	0,992
		Behandlung	193,881	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	1,463	1	178,000	0,228
	Wurzeln	Herkunft	1,872	1	17,993	0,188
		Behandlung	0,921	1	173,292	0,339
		Herkunft x Behandlung	1,139	1	173,286	0,287
ABA	Blätter	Herkunft	0,596	1	18,000	0,450
		Behandlung	88,133	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	2,882	1	178,000	0,091
	Wurzeln	Herkunft	-	-	-	-
		Behandlung	-	-	-	-
		Herkunft x Behandlung	-	-	-	-

3.4 Iridoidglykoside

In den Blättern und Wurzeln wurden die Iridoidglykoside Aucubin und Catalpol nachgewiesen (siehe Anhang Tab. 33, Abb. 36 und Abb. 37).

3.4.1 Aucubin

Weder die Herkunft noch die Behandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Konzentrationen des Aucubins in den Blättern sowie den Wurzeln des Spitzwegerichs (Abb. 21, Tab. 24).

3.4.2 Catalpol

Die Herkunft hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Konzentration von Catalpol in den Blättern. Die Behandlung resultierte in einer marginal nicht signifikanten Abnahme der Catalpolkonzentration. Der Einfluss der Behandlung unterschied sich nicht in der Herkunft (Abb. 21, Tab. 24).

Weder Herkunft noch Behandlung hatten einen Einfluss auf die Catalpolkonzentration der Wurzeln (Abb. 21, Tab. 24).

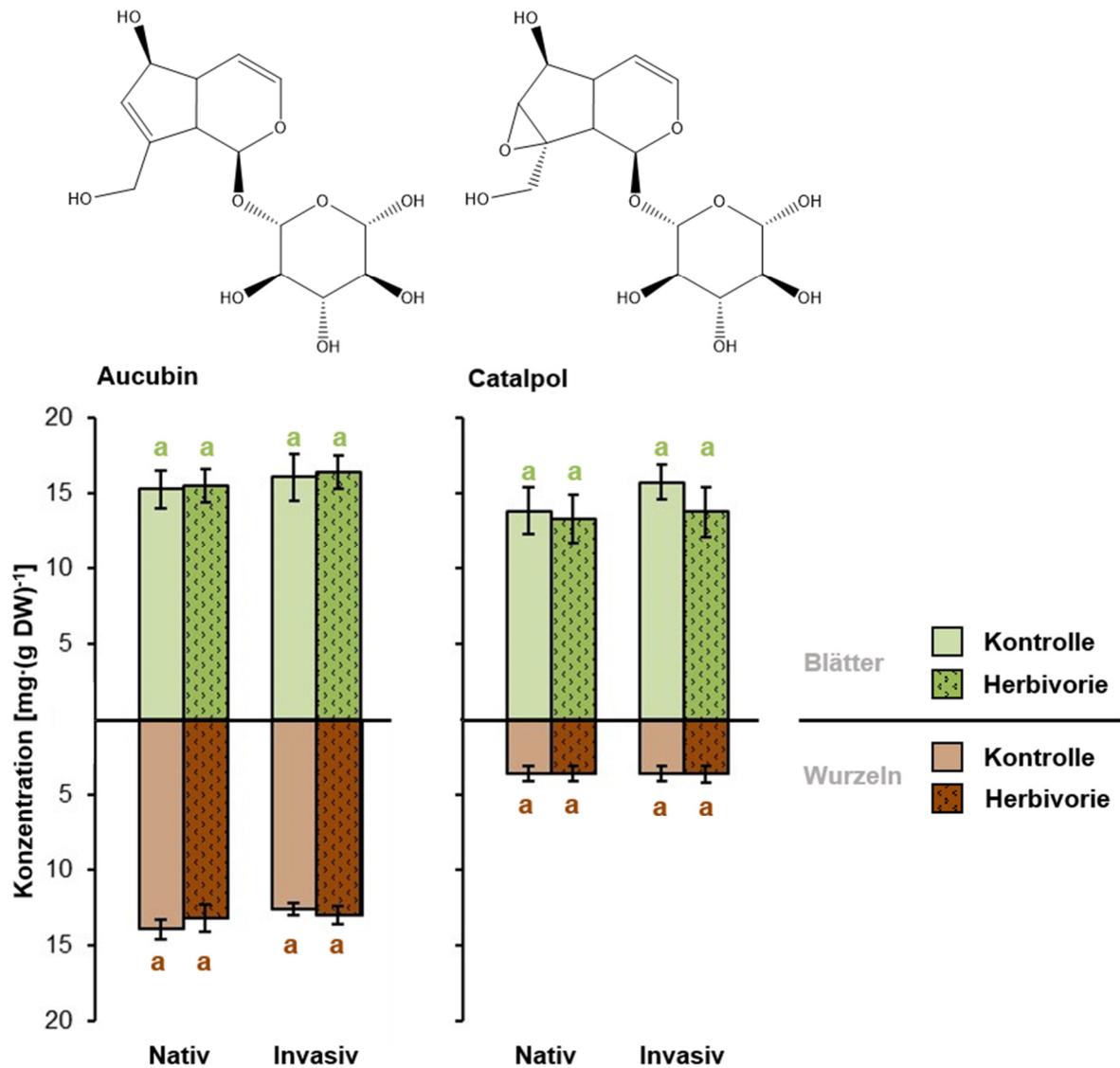


Abb. 21: Konzentrationen der Iridoidglykoside Aucubin (links) und Catalpol (rechts) in den Blättern (oben, grün) und Wurzel (unten, braun) von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 im Anhang zu finden). a-d: Gruppierung nach LSD-Post-hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen); Strukturformeln modifiziert nach Hamida *et al.* (2002).

Tab. 24: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Aucubin- und Catalpolkonzentrationen in den Blättern und den Wurzeln mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Aucubin	Blätter	Herkunft	0,171	1	18,000	0,684
		Behandlung	0,184	1	178,000	0,668
		Herkunft x Behandlung	0,007	1	178,000	0,936
	Wurzeln	Herkunft	0,406	1	17,992	0,532
		Behandlung	0,332	1	173,287	0,565
		Herkunft x Behandlung	1,599	1	173,285	0,208
Catalpol	Blätter	Herkunft	0,334	1	18,000	0,571
		Behandlung	3,575	1	178,000	0,060
		Herkunft x Behandlung	1,361	1	178,000	0,245
	Wurzeln	Herkunft	0,004	1	17,999	0,950
		Behandlung	0,094	1	173,153	0,760
		Herkunft x Behandlung	0,193	1	173,153	0,661

3.5 Phenole

3.5.1 Präkursoren und Intermediate

Nachfolgend werden die Konzentration oder relativen Mengen von Präkursoren und Intermediaten aus dem Shikimisäureweg sowie dem Phenylpropanoid-Biosyntheseweg zur Synthese verschiedener Pflanzenphenole betrachtet. In den Blättern und Wurzeln wurden die Präkursoren Phenylalanin (Phe) und Tyrosin (Tyr) identifiziert (siehe Anhang Tab. 35, Abb. 54 und Abb. 55). Darüber hinaus wurden die Intermediate Shikimisäure und p -Cumarsäure nachgewiesen (siehe Anhang Tab. 33, Abb. 38 und Abb. 39).

3.5.1.1 Shikimisäure

Die Herkunft hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Konzentrationen des Intermediates Shikimisäure. Die Behandlung mit *S. littoralis* führte zu einem signifikanten Anstieg der Shikimisäurekonzentrationen. Der Einfluss der Behandlung zeigte einen signifikanten Unterschied in der Herkunft (Abb. 22, Tab. 25). Die Raupenherbivorie schien lediglich zu einem signifikanten Anstieg in den nativen Populationen zu führen (Abb. 22, LSD-Post-hoc-Test, $p < 0,001$), in den invasiven Populationen dagegen nicht (Abb. 22, LSD-Post-hoc-Test, $p = 0,995$).

Weder die Herkunft noch die Behandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Shikimisäurekonzentrationen der Wurzeln (Abb. 22, Tab. 25).

3.5.1.2 Aromatische Aminosäuren

Weder Herkunft noch Behandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Konzentrationen von Phenylalanin in Blättern und Wurzeln (Abb. 22, Tab. 25).

Die Herkunft und die Behandlung hatten ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf die Tyrosinkonzentration der Blätter. Der Trend zeigte dennoch, dass native Populationen Tyrosin in den Blättern über ihre konstitutiven Konzentrationen hinaus induzieren konnten, während invasive Populationen unter Herbivorie ihre Konzentrationen nicht erhöhten (Abb. 22, Tab. 25).

Die Herkunft beeinflusste die Tyrosinkonzentrationen der Wurzeln ebenfalls nicht. Die Raupenherbivorie führte jedoch zu einem signifikanten Anstieg von Tyrosin in den Wurzeln. Der Einfluss der Behandlung zeigte keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Herkunft (Abb. 22, Tab. 25).

3.5.1.3 *p*-Cumarsäure

Die Herkunft hatte einen signifikanten Einfluss auf die relativen Mengen der *p*-Cumarsäure in den Blättern (Abb. 22, Tab. 25). Der Unterschied war in den konstitutiven Mengen zu finden (Abb. 22, LSD-Post-hoc-Test, $p = 0,050$). Die Mittelwerte der relativen Mengen in den Kontrollgruppen unterschieden sich zwar nicht, jedoch lagen die Mediane in den nativen Populationen wesentlich geringer als bei den Kontrollgruppen der invasiven Populationen. Die Behandlung führte zu einem signifikanten Anstieg. Der Einfluss der Behandlung unterschied sich signifikant in der Herkunft (Abb. 22, Tab. 25), denn der Anstieg wurde nur in den nativen Populationen beobachtet (Abb. 22, LSD-Post-hoc-Test, $p < 0,001$). In den invasiven Populationen wurde hingegen kein signifikanter Anstieg nach der Behandlung ermittelt (Abb. 22, LSD-Post-hoc-Test, $p = 0,654$). Während die nativen Populationen ihre geringen, konstitutiven Mengen erst bei herbivorem Stress erhöhten, wies der Großteil der invasiven Populationen einen konstant erhöhten Pool an *p*-Cumarsäure auf, welcher durch Herbivorie unbeeinflusst blieb (Abb. 22, Tab. 25).

In den Wurzeln waren die relativen Mengen des Intermediates analog zur Shikimisäure deutlich geringer. Weder Herkunft noch Behandlung hatten einen Einfluss auf die Konzentrationen der *p*-Cumarsäure in den Wurzeln (Abb. 22, Tab. 25).

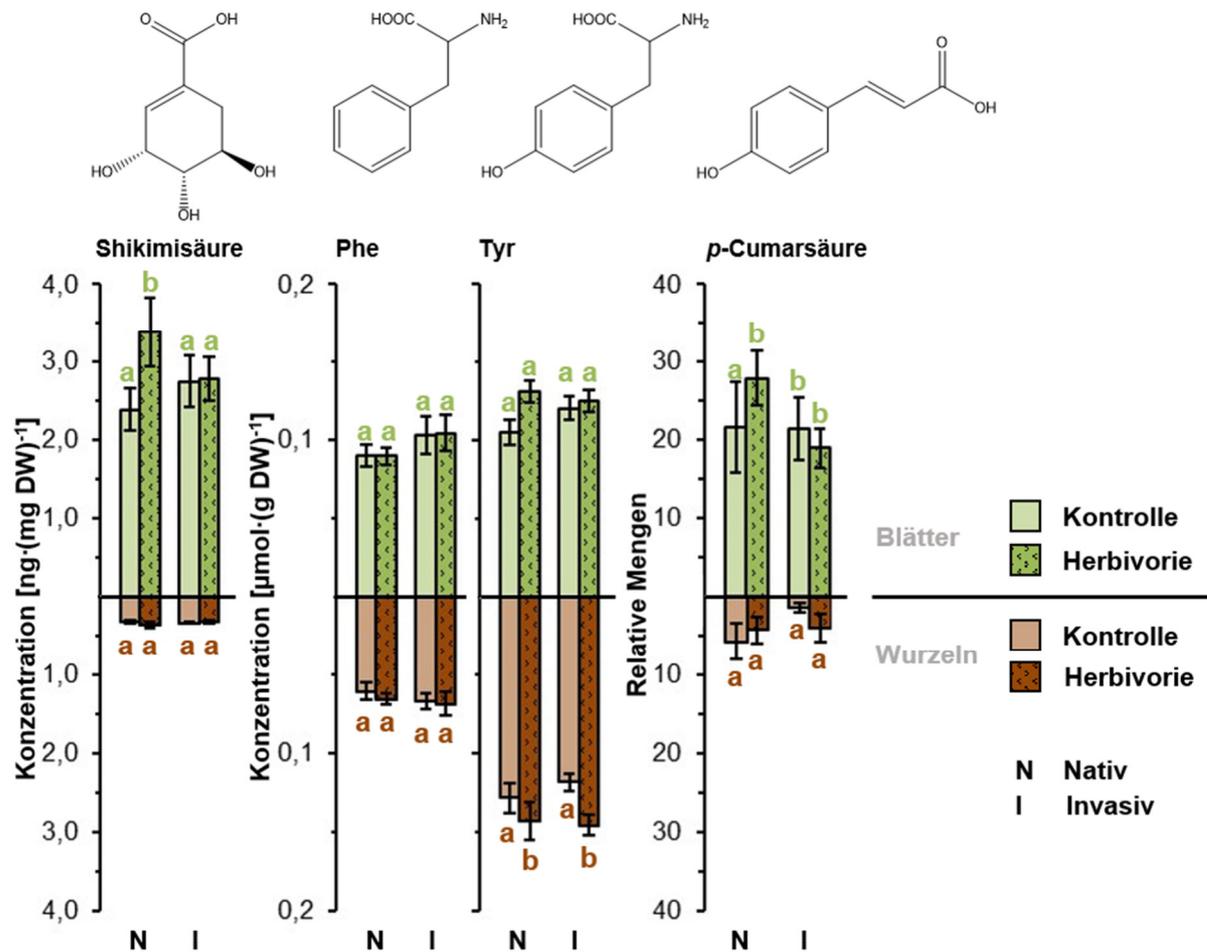


Abb. 22: Konzentrationen von Shikimisäure, Phenylalanin sowie Tyrosin und relative Mengen von *p*-Cumarsäure (von links nach rechts) in den Blättern (oben, grün) und den Wurzeln (unten, braun) von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 im Anhang zu finden). a-d: Gruppierung nach LSD-Post-hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen); Strukturformeln modifiziert nach Liu (2012).

Tab. 25: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Konzentrationen von Shikimisäure, Phenylalanin sowie Tyrosin und der relativen Mengen von *p*-Cumarsäure in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA. *F* = Stichprobenvarianz, *DenDf* = Nennerfreiheitsgrade, *NumDf* = Zählerfreiheitsgrade, *p* = Signifikanzwert (fettgedruckte *p*-Werte = signifikante Unterschiede).

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	<i>F</i>	<i>DenDf</i>	<i>NumDf</i>	<i>p</i>
Shikimi-säure	Blätter	Herkunft	0,020	1	18,000	0,890
		Behandlung	7,233	1	178,000	0,008
		Herkunft x Behandlung	8,083	1	178,000	0,005
	Wurzeln	Herkunft	0,227	1	17,992	0,640
		Behandlung	0,054	1	172,329	0,816
		Herkunft x Behandlung	1,060	1	172,337	0,305
Phe	Blätter	Herkunft	0,056	1	18,000	0,816
		Behandlung	0,605	1	178,000	0,438
		Herkunft x Behandlung	1,502	1	178,000	0,222
	Wurzeln	Herkunft	0,362	1	17,972	0,555
		Behandlung	1,758	1	172,576	0,187
		Herkunft x Behandlung	1,934	1	172,576	0,166
Tyr	Blätter	Herkunft	0,824	1	18,000	0,376
		Behandlung	2,780	1	178,000	0,097
		Herkunft x Behandlung	0,812	1	178,000	0,369
	Wurzeln	Herkunft	0,070	1	17,985	0,795
		Behandlung	10,681	1	172,444	0,001
		Herkunft x Behandlung	2,042	1	172,450	0,155
<i>p</i> -Cumar-säure	Blätter	Herkunft	4,562	1	17,995	0,047
		Behandlung	15,831	1	177,120	<0,001
		Herkunft x Behandlung	4,360	1	177,122	0,038
	Wurzeln	Herkunft	0,119	1	17,991	0,734
		Behandlung	0,003	1	172,286	0,958
		Herkunft x Behandlung	0,269	1	172,283	0,605

3.5.1.4 Chlorogensäurederivate

Die Analyse der Chlorogensäurederivate als weitere Intermediate des Phenylpropanoid-Biosynthesewegs zeigte, dass drei unterschiedliche Derivate der *p*-Cumaroyl-Chinasäure (*p*CoQA) in den Blättern der nativen und invasiven Populationen von *P. lanceolata* präsent waren. Im Rahmen der Analysen konnten die *p*CoQA-Derivate aufgrund fehlender Standards zum Vergleich der Retentionszeiten nicht eindeutig identifiziert werden. Anhand der spezifischen Übergänge nach Clifford *et al.* (2003) ließ sich jedoch auf das Vorhandensein von drei Derivaten in den Proben schließen (siehe Anhang Tab. 33, Abb. 40). Weder Herkunft noch Behandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die relativen Mengen der drei Derivate (Abb. 23, Tab. 26).

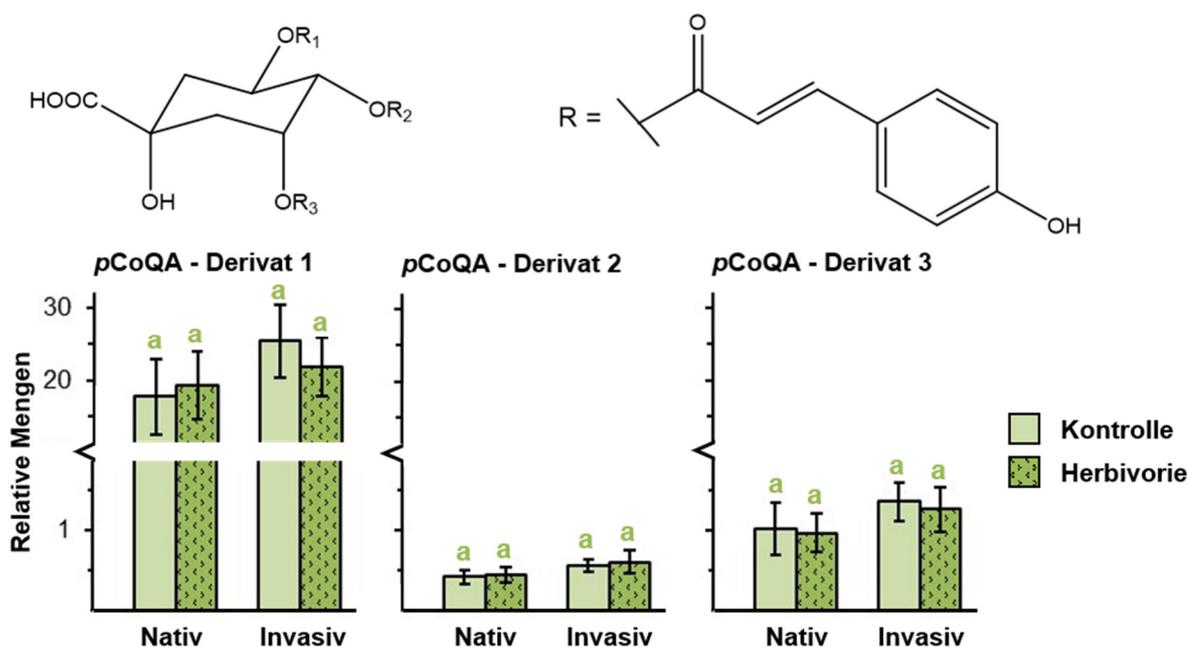


Abb. 23: Relative Mengen der *pCoQA*-Derivate in den Blättern von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 im Anhang zu finden). a-d: Gruppierung nach LSD-Post-hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen). Strukturen: 3-*pCoQA* ($R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = p$ -Cumarsäurerest (R)), 4-*pCoQA* ($R_1 = H$, $R_2 = p$ -Cumarsäurerest (R), $R_3 = H$), 5-*pCoQA* ($R_1 = p$ -Cumarsäurerest (R), $R_2 = H$, $R_3 = H$); Strukturformeln modifiziert nach Clifford *et al.* (2003).

Tab. 26: Ergebnisse der statistischen Auswertung der relativen Mengen der detektierten *pCoQA*-Derivate in den Blättern mittels ANOVA. *F* = Stichprobenvarianz, *DenDf* = Nennerfreiheitsgrade, *NumDf* = Zählerfreiheitsgrade, *p* = Signifikanzwert (fettgedruckte *p*-Werte = signifikante Unterschiede).

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	<i>F</i>	<i>DenDf</i>	<i>NumDf</i>	<i>p</i>
<i>pCoQA</i> - Derivat 1	Blätter	Herkunft	1,240	1	18,000	0,280
		Behandlung	0,495	1	177,029	0,483
		Herkunft x Behandlung	1,389	1	177,030	0,240
<i>pCoQA</i> - Derivat 2	Blätter	Herkunft	0,963	1	18,000	0,339
		Behandlung	0,065	1	177,031	0,799
		Herkunft x Behandlung	0,643	1	177,031	0,424
<i>pCoQA</i> - Derivat 3	Blätter	Herkunft	1,231	1	18,000	0,282
		Behandlung	0,401	1	177,029	0,527
		Herkunft x Behandlung	1,294	1	177,029	0,257

Darüber hinaus zeigte die Analyse der Chlorogensäuren, dass drei Caffeoyl-Chinasäurederivate (CQA) in den Blättern des Spitzwegerichs präsent waren. Die Derivate 3-CQA, 4-CQA und 5-CQA wurden über die Retentionszeiten und die spezifischen Massenübergänge Q(1) und Q(3) identifiziert (siehe Anhang Tab. 33, Abb. 41 bis Abb. 43).

Die Herkunft hatte keinen signifikanten Einfluss auf die CQA-Derivate. Dennoch war ein Trend ersichtlich, dass invasive Populationen höhere durchschnittliche konstitutive Mengen an 3-CQA besaßen. Die Behandlung hatte ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf die CQA-Derivate. Der Einfluss der Behandlung zeigte jedoch einen Effekt auf die relativen Mengen des 5-CQA, der sich in der Herkunft marginal nicht signifikant unterschied. Die nativen Populationen schienen tendenziell ihre relativen Mengen zu erhöhen, während die invasiven Populationen ihre relativen Mengen konstant hielten (Abb. 24, Tab. 27).

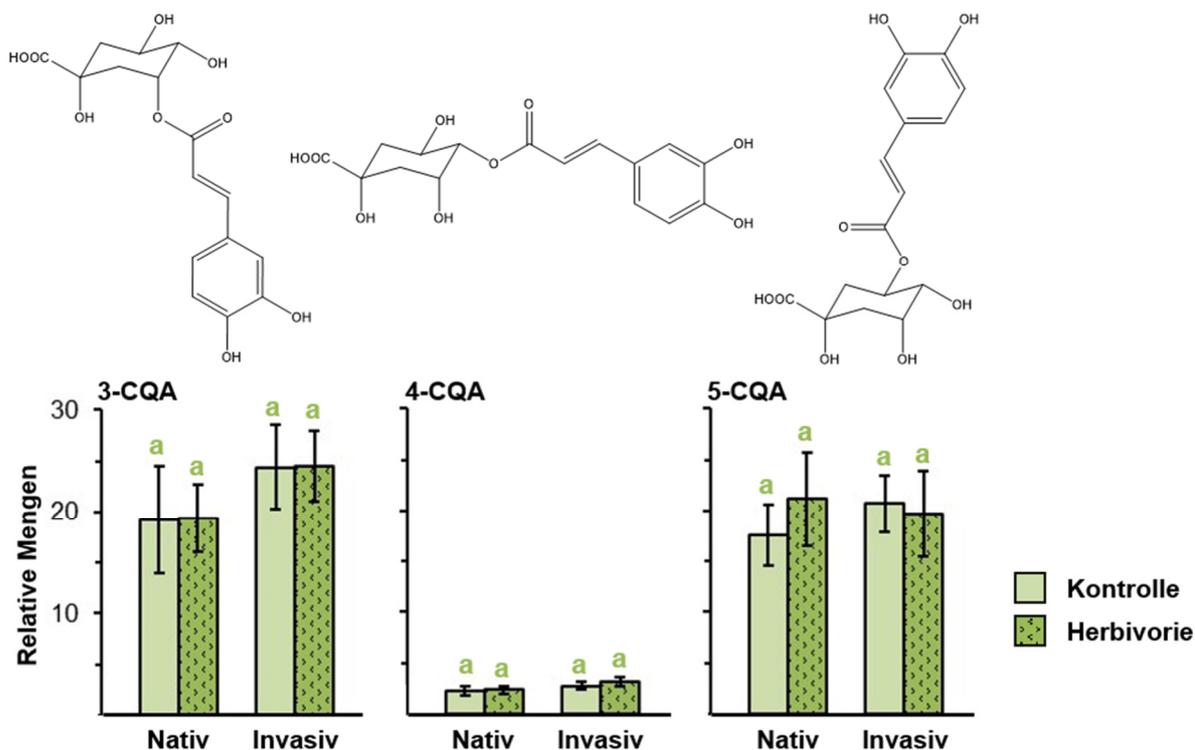


Abb. 24: Relative Mengen der Chlorogensäurederivate 3-CQA (links), 4-CQA (Mitte) und 5-CQA (rechts) in den Blättern von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 im Anhang zu finden). a-d: Gruppierung nach LSD-Post-hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen); Strukturformeln modifiziert nach Clifford *et al.* (2003).

Tab. 27: Ergebnisse der statistischen Auswertung der relativen Mengen der drei identifizierten CQA-Derivate in den Blättern mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
3-CQA	Blätter	Herkunft	1,205	1	18,000	0,287
		Behandlung	0,279	1	177,032	0,598
		Herkunft x Behandlung	0,215	1	177,032	0,643
4-CQA	Blätter	Herkunft	1,614	1	17,935	0,220
		Behandlung	1,405	1	176,966	0,238
		Herkunft x Behandlung	0,000	1	176,966	0,983
5-CQA	Blätter	Herkunft	0,031	1	18,000	0,863
		Behandlung	0,109	1	177,026	0,742
		Herkunft x Behandlung	3,345	1	177,026	0,069

3.5.2 Verbascosid

In den Blättern und Wurzeln wurde Verbascosid identifiziert (siehe Anhang Tab. 33, Abb. 25).

Weder Herkunft noch Behandlung hatten Einfluss auf die Konzentration des Verbascosids in den Blättern. Ein leichter Trend zeichnete sich jedoch in den nativen Populationen ab. Die Behandlung führte zu einem tendenziellen Anstieg der Verbascosidkonzentration, während die Konzentration der invasiven Populationen auf ihrem konstitutiven Level verblieben (Abb. 25, Tab. 28).

In den Wurzeln wurde die Verbascosidkonzentration ebenfalls weder von der Herkunft noch der Behandlung beeinflusst (Abb. 25; Tab. 28).

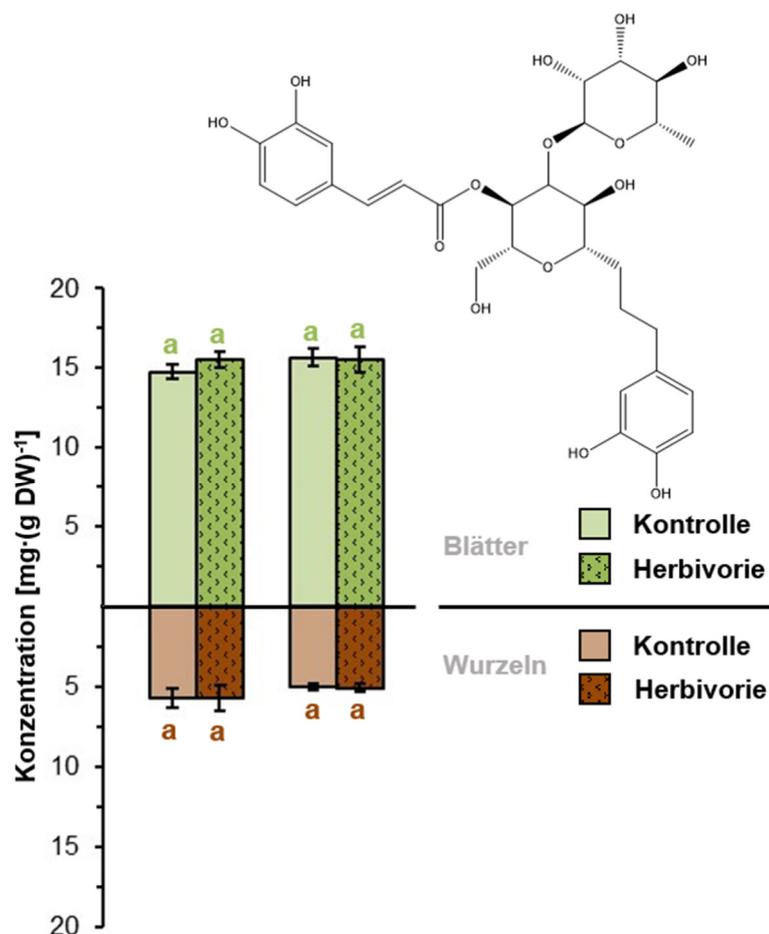


Abb. 25: Konzentrationen von Verbascosid in den Blättern (oben, grün) und den Wurzeln (unten, braun) von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 im Anhang zu finden). a-d: Gruppierung nach LSD-Post-hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen); Strukturformel nach Funes *et al.* (2010).

Tab. 28: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Konzentrationen von Verbascosid in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Verbascosid	Blätter	Herkunft	0,749	1	18,000	0,398
		Behandlung	1,408	1	178,000	0,237
		Herkunft x Behandlung	1,312	1	178,000	0,254
	Wurzeln	Herkunft	0,066	1	17,998	0,800
		Behandlung	0,023	1	172,182	0,880
		Herkunft x Behandlung	0,000	1	172,181	0,997

3.5.3 Flavonoide

In den Blättern der nativen und invasiven Populationen von *P. lanceolata* wurden im Rahmen der Analyse die Flavonoide Rutin, Apigenin-7-O-Glucosid, Quercitrin sowie Luteolosid und das zugehörige Aglykon Luteolin identifiziert (siehe Anhang Tab. 33, Abb. 45 bis Abb. 49).

Weder die Herkunft noch die Behandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die relativen Mengen von Rutin, Apigenin-7-O-Glucosid sowie Quercitrin. Dennoch war für Rutin sowie Apigenin-7-O-Glucosid ein ähnliches Muster zu erkennen. Durch die Raupenherbivorie sanken die Konzentrationen tendenziell in den nativen Populationen und stiegen tendenziell in den invasiven Populationen (Abb. 26, Tab. 29).

Die Herkunft hatte ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf Luteolosid. Die Behandlung führte jedoch zu einem signifikanten Einfluss, welcher sich bezüglich der Herkunft marginal nicht signifikant unterschied. Analog zu Rutin und Apigenin-7-O-Glucosid sanken die relativen Mengen tendenziell in den nativen Populationen und stiegen bei diesem Flavonoid sehr stark in den invasiven Populationen an (Abb. 26, Tab. 29). Nur in den invasiven Populationen führte die Behandlung zu einem signifikanten Unterschied der relativen Mengen von Luteolosid (Abb. 26, LSD-Post-hoc-Test, $p = 0,009$).

Die Herkunft hatte zudem keinen Einfluss auf die relativen Mengen des Aglykons des Luteolosids Luteolin. Bezüglich der Behandlung zeigte sich im Vergleich zu den anderen Flavonoiden eine andere Reaktion. Die Behandlung mit *S. littoralis* führte zu einer signifikanten Induktion der relativen Mengen. Der Einfluss der Behandlung zeigte keinen signifikanten Unterschied in der Herkunft (Abb. 26, Tab. 29).

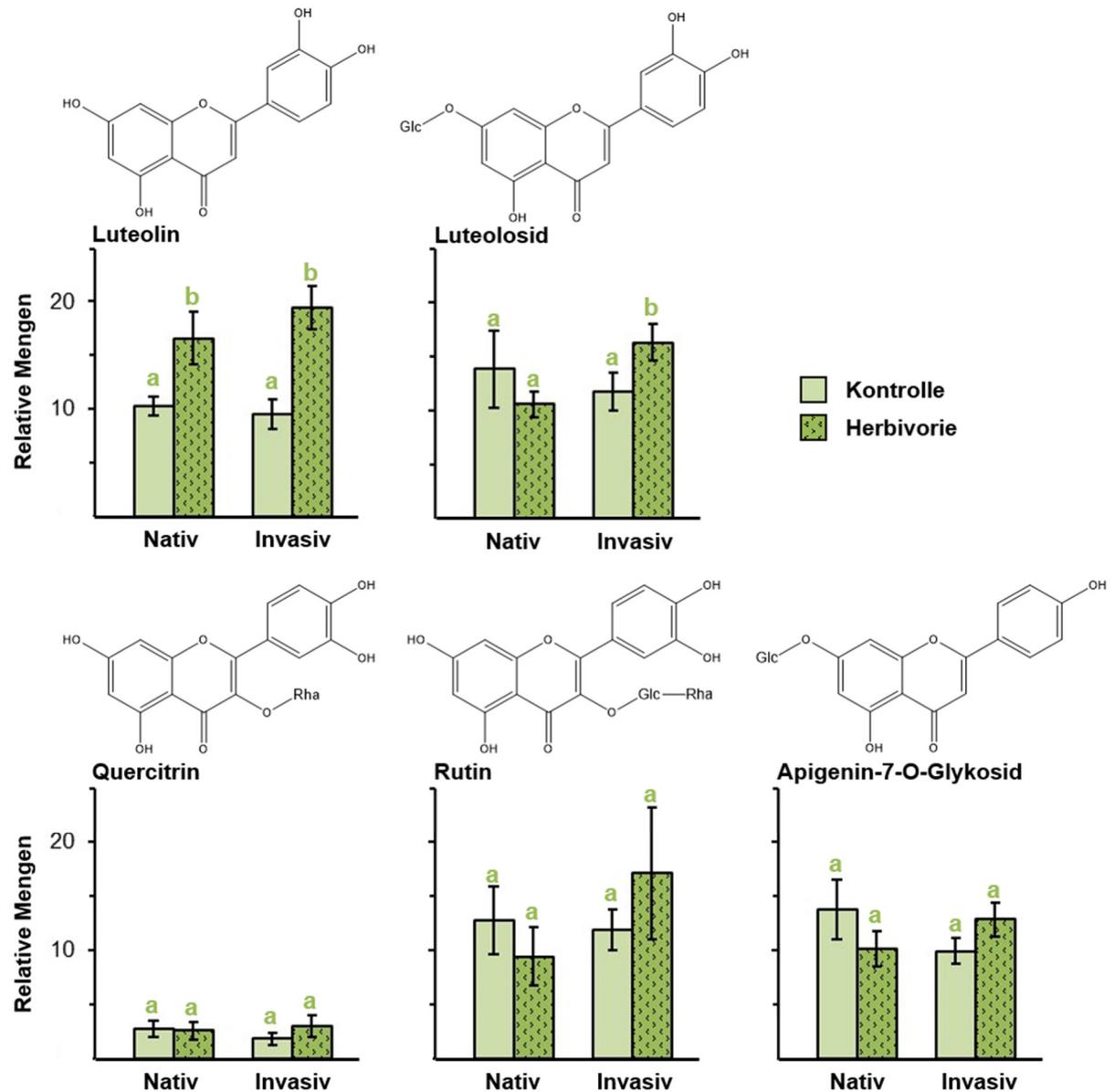


Abb. 26: Relative Mengen der Flavonoide Luteolin, Luteolosid, Quercitrin, Rutin und Apigenin-7-O-Glucosid in den Blättern von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkunft und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 im Anhang zu finden). a-d: Gruppierung nach LSD-Post-hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen). Strukturen: Glc = β -D-Glucose, Rha = Rhamnose; Strukturformeln modifiziert nach Ferrazzano *et al.* (2015).

Tab. 29: Ergebnisse der statistischen Auswertung der relativen Mengen der Flavonoide in den Blättern mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Luteolin	Blätter	Herkunft	0,247	1	17,981	0,625
		Behandlung	30,262	1	170,809	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0,867	1	170,846	0,353
Luteolosid	Blätter	Herkunft	2,378	1	17,991	0,140
		Behandlung	6,646	1	170,621	0,011
		Herkunft x Behandlung	3,263	1	170,559	0,073
Quercitrin	Blätter	Herkunft	1,107	1	17,996	0,307
		Behandlung	0,388	1	170,403	0,534
		Herkunft x Behandlung	0,522	1	170,396	0,471
Rutin	Blätter	Herkunft	1,058	1	18,000	0,317
		Behandlung	0,018	1	178,000	0,893
		Herkunft x Behandlung	0,131	1	178,000	0,718
Apigenin-7-O-Glucosid	Blätter	Herkunft	0,156	1	17,996	0,697
		Behandlung	0,153	1	170,435	0,696
		Herkunft x Behandlung	0,144	1	170,437	0,705

3.6 γ -Aminobuttersäure und der Präkursor Glutamat

γ -Aminobuttersäure (GABA) und sein Präkursor Glutamat (Glu) wurden in den Blättern und Wurzeln von *P. lanceolata* identifiziert (siehe Anhang Tab. 35, Abb. 68 und Abb. 64).

Die Herkunft hatte einen marginal nicht signifikanten Einfluss auf die Glutamatkonzentration der Blätter. Die invasiven Populationen zeigten im Durchschnitt höhere Konzentrationen als die nativen Populationen. Die Behandlung mit *S. littoralis* führte zu einer signifikanten Abnahme. Der Einfluss der Behandlung unterschied sich bezüglich der Herkunft nicht signifikant. Der Trend zeigte jedoch, dass die Abnahme in den invasiven Populationen höher war (Abb. 27, Tab. 30).

Die Herkunft hatte ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf die Glutamatkonzentrationen der Wurzeln. Die Behandlung führte zu einem signifikanten Anstieg der Glutamatkonzentration. Der Einfluss der Behandlung unterschied sich bezüglich der Herkunft nicht signifikant. Der Trend zeigte jedoch analog zu den Blättern einen stärkeren Einfluss auf die invasiven Populationen (Abb. 27, Tab. 30).

Auch die Konzentrationen der nicht-proteinogenen Aminosäure GABA wurden durch die Herkunft nicht beeinflusst. Die Raupenherbivorie führte zu einem signifikanten Anstieg der GABA-Konzentration. Dieser Anstieg unterschied sich marginal nicht signifikant in der Herkunft, denn die GABA-Konzentrationen wurden in den invasiven Populationen leicht erhöht, in den nativen Populationen allerdings nicht (Abb. 27, Tab. 30).

Weder Herkunft noch Behandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die GABA-Konzentration der Wurzeln. Der Trend zeigte jedoch deutlich, dass die Behandlung zu einer Zunahme der GABA-Konzentrationen führte. Dieser Effekt schien auch in den invasiven Populationen größer zu sein (Abb. 27, Tab. 30).

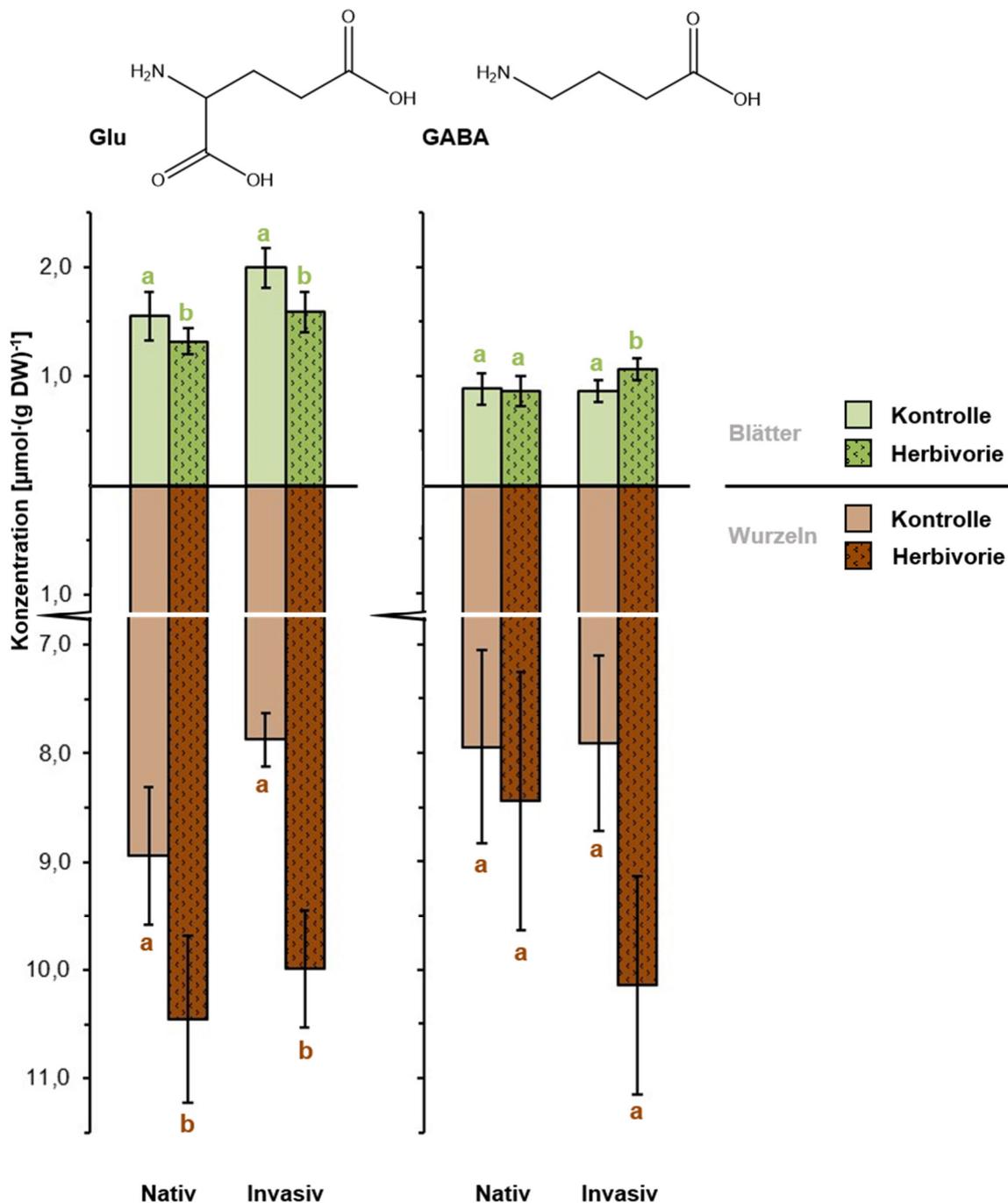


Abb. 27: Konzentrationen von Glutamat (links) und GABA (rechts) in den Blättern (oben, grün) und den Wurzeln (unten, braun) von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 im Anhang zu finden). Unterbrechung der Achse bei $1,2 \mu\text{mol} \cdot (\text{g DW})^{-1}$. a-b: Gruppierung nach LSD-Post-hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen); Strukturformeln modifiziert nach Huang *et al.* (2011).

Tab. 30: Ergebnisse der statistischen Auswertung des Glutamat- und GABA-Gehaltes in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Glu	Blätter	Herkunft	3,778	1	18,000	0,068
		Behandlung	9,506	1	178,000	0,002
		Herkunft x Behandlung	2,254	1	178,000	0,135
	Wurzeln	Herkunft	1,375	1	17,972	0,256
		Behandlung	16,864	1	172,569	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0,571	1	172,568	0,451
GABA	Blätter	Herkunft	1,496	1	18,000	0,237
		Behandlung	4,916	1	178,000	0,028
		Herkunft x Behandlung	3,816	1	178,000	0,052
	Wurzeln	Herkunft	0,102	1	17,947	0,754
		Behandlung	2,522	1	172,797	0,114
		Herkunft x Behandlung	1,330	1	172,810	0,250

3.7 Primärmetabolite

Als Primärmetabolite wurden die freien Aminosäuren, Zucker sowie der Zuckeralkohol Sorbitol untersucht.

3.7.1 Freie Aminosäuren

In den Blättern waren Alanin (26%), Glutamat (20%) und Serin (12%) die dominanten Aminosäuren. Eine genaue Aminosäureverteilung findet sich Tab. 37 im Anhang. Die Herkunft hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Gesamtkonzentration der freien Aminosäuren der Blätter. Die Behandlung führte zu einer signifikanten Abnahme der freien Aminosäuren. Der Einfluss der Behandlung wies keinen Unterschied bezüglich der Herkunft auf (Abb. 28, Tab. 31).

Der Gehalt an freien Aminosäuren in den Wurzeln war im Vergleich zu den Blättern mehr als doppelt so hoch. Die dominanten Aminosäuren waren Glutamat (44 %), Glutamin (15%) und Alanin (14%). Eine genaue Aminosäureverteilung findet sich Tab. 37 im Anhang. Die Herkunft hatte ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf die Konzentrationen in den Wurzeln. Die Raupenherbivorie führte zu einer signifikanten Zunahme der Aminosäurekonzentrationen in den Wurzeln. Die Zunahme unterschied sich bezüglich der Herkunft nicht (Abb. 28, Tab. 31).

3.7.2 Zucker

Als lösliche Zucker wurden Glucose, Fructose, Saccharose, zwei nicht eindeutig identifizierte Trisaccharide, ein nicht eindeutig identifiziertes Tetrasaccharid und nicht eindeutig

identifizierte Pentasaccharide in den nativen und invasiven Populationen nachgewiesen (siehe Anhang Tab. 39 und Abb. 69 bis Abb. 73). Die einzelnen Zucker verhielten sich verhältnismäßig ähnlich und wurden im Folgenden als Gesamtgehalt der löslichen Zucker zusammengefasst.

Die Herkunft hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Zuckerkonzentrationen der Blätter. Die Behandlung führte zu einer signifikanten Abnahme der Zucker. Der Einfluss der Behandlung unterschied sich nicht signifikant bezüglich der Herkunft. Die Zucker sanken jedoch tendenziell stärker in den nativen Populationen (Abb. 28, Tab. 31).

Weder Herkunft noch Behandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Zuckerkonzentrationen der Wurzeln (Abb. 28, Tab. 31).

3.7.3 Zuckeralkohole

In den Blättern und Wurzeln wurde der Zuckeralkohol Sorbitol nachgewiesen (siehe Anhang Tab. 39, Abb. 74)

Die Herkunft hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Sorbitolkonzentration in den Blättern. Die Behandlung führte analog zu den Zuckern zu einer signifikanten Abnahme. Die Abnahme unterschied sich bezüglich der Herkunft ebenfalls nicht signifikant. Sorbitol sank analog zu den Zuckern tendenziell stärker in den nativen Populationen (Abb. 28, Tab. 31).

In den Wurzeln blieben die Gehalte an Sorbitol relativ konstant. Herkunft und Behandlung hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Sorbitolkonzentrationen der Wurzeln (Abb. 28, Tab. 31).

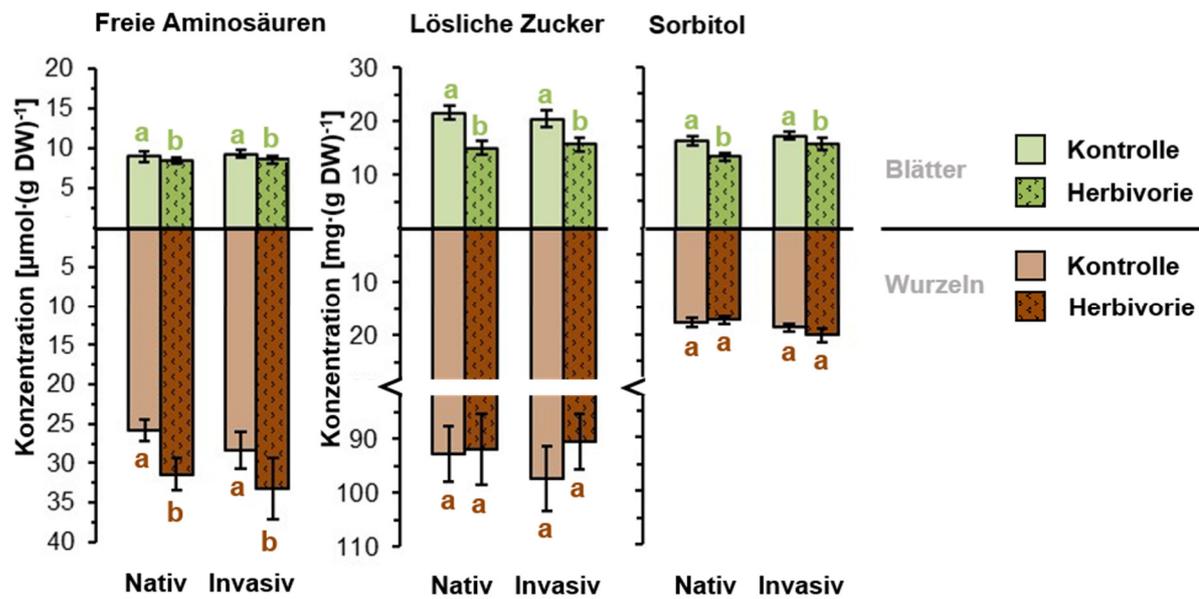


Abb. 28: Konzentrationen der löslichen Zucker (links), Sorbitol (Mitte) und der freien Aminosäuren (rechts) in den Blättern (oben, grün) und Wurzel (unten, braun) von *Plantago lanceolata* im Vergleich der Herkünfte und der Behandlung. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 im Anhang zu finden). Die Konzentration der löslichen Zucker umfasst die Summe der Konzentrationen von Glucose, Fructose, Saccharose, Tri-, Tetra- und Pentasacchariden (Einzelkonzentrationen und die statistische Auswertung finden sich in Tab. 40 und Tab. 41 im Anhang). Die Konzentration der freien Aminosäuren umfasst die Summe der proteinogenen Aminosäuren Alanin (Ala), Serin (Ser), Prolin (Pro), Valin (Val), Threonin (Thr), Isoleucin (Ile), Leucin (Leu), Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Methionin (Met), Histamin (His), Phenylalanin (Phe), Arginin (Arg), Tyrosin (Tyr), Tryptophan (Trp), Asparagin (Asn), Glutamin (Gln), Lysin (Lys), Glycin (Gly) (Einzelkonzentrationen und die statistische Auswertung finden sich in Tab. 37 und Tab. 38 im Anhang).

Tab. 31: Ergebnisse der statistischen Auswertung der Konzentrationen der löslichen Zucker, Sorbitol und der freien Aminosäuren in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Freie Aminosäuren	Blätter	Herkunft	0,461	1	18,000	0,506
		Behandlung	8,944	1	178,000	0,003
		Herkunft x Behandlung	0,526	1	178,000	0,469
	Wurzeln	Herkunft	1,322	1	17,976	0,265
		Behandlung	11,809	1	172,516	0,001
		Herkunft x Behandlung	0,705	1	172,523	0,402
Lösliche Zucker	Blätter	Herkunft	0,360	1	18,000	0,556
		Behandlung	49,605	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0,238	1	178,000	0,626
	Wurzeln	Herkunft	0,016	1	18,000	0,901
		Behandlung	2,099	1	173,115	0,149
		Herkunft x Behandlung	0,276	1	173,113	0,600
Sorbitol	Blätter	Herkunft	2,652	1	18,000	0,121
		Behandlung	26,396	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0,512	1	178,000	0,475
	Wurzeln	Herkunft	2,243	1	17,998	0,152
		Behandlung	0,869	1	173,182	0,353
		Herkunft x Behandlung	3,386	1	173,182	0,067

3.8 Exemplarischer Vergleich der Substanzverteilung nach der Raupenherbivorie einer nativen und einer invasiven Population in einer Non-Target-Analyse

Die Non-Target-Analyse der Blätter der nativen Population (Deutschland, Tübingen) und der invasiven Population (Brisbane, Australien) zeigte sowohl im negativen (Abb. 29) als auch im positiven (Abb. 30) Ionisierungsmodus einen eindeutigen Trend in den *Volcano Plots*. Die Graphiken zeigten unabhängig von der Herkunft einen durch die Behandlung unbeeinflussten Pool an Substanzen, aber auch Substanzen, die sich maßgeblich nach der Raupenherbivorie unterschieden. Im Vergleich der *Volcano Plots* bezüglich der Herkunft war sowohl im positiven als auch im negativen Ionisierungsmodus ein unterschiedliches Muster zu erkennen. In der invasiven Population lag nach einem herbivoren Stressor ein großer Teil von Verbindungen in signifikant reduzierter Konzentration und ein größerer Teil der detektierten Substanzen in signifikant erhöhten Mengen vor. In der nativen Population lagen nur sehr wenige Verbindungen nach einem herbivoren Stressor in signifikant reduzierten Mengen vor, während der Großteil der Substanzen signifikant erhöht war.

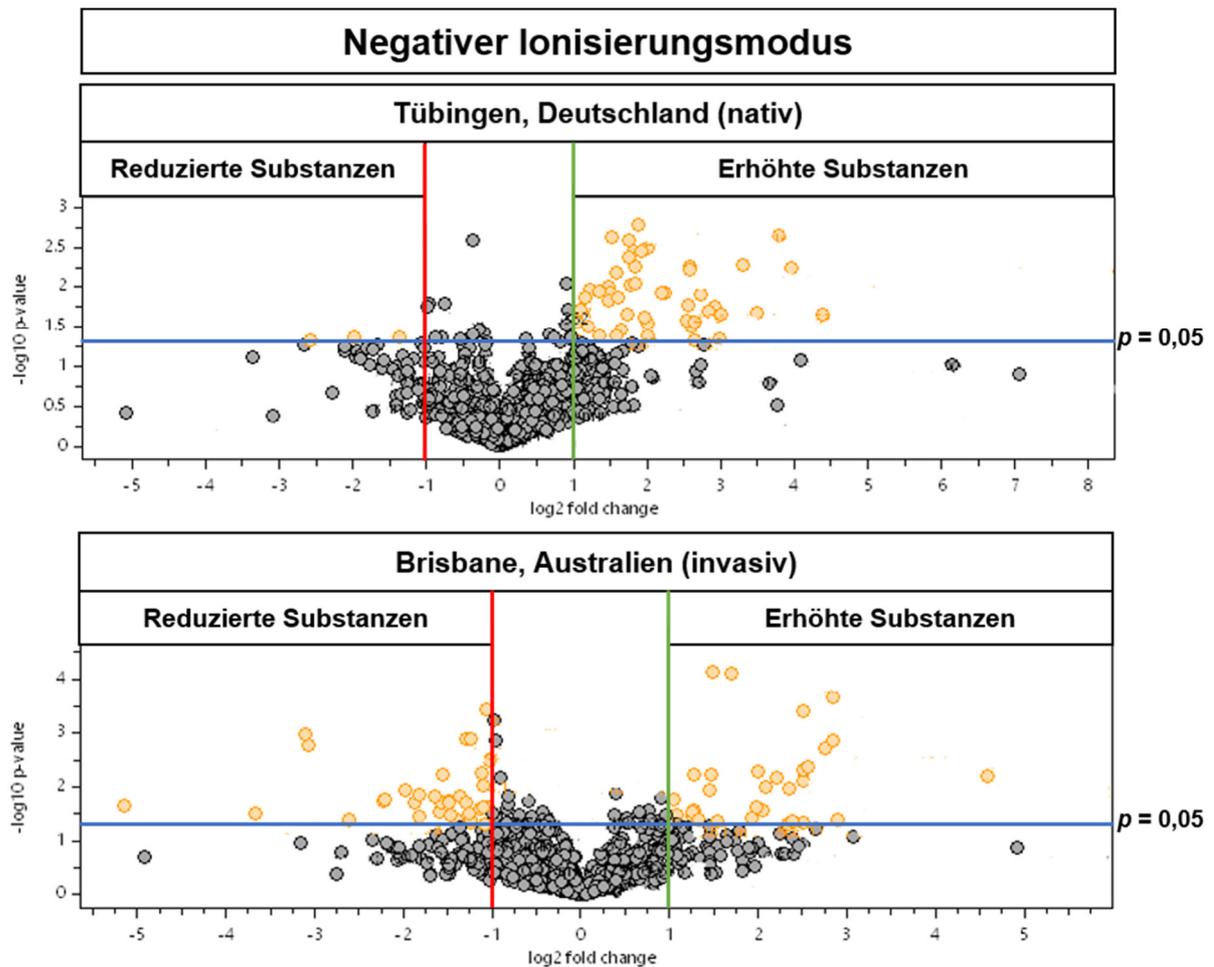


Abb. 29: *Volcano Plots* des exemplarischen Vergleichs des Einflusses der Behandlung auf die Substanzverteilung in der nativen Population aus Tübingen, Deutschland (oben) und in der invasiven Population aus Brisbane, Australien (unten) in einer Non-Target-Analyse (negativer Ionisierungsmodus). Die Abszisse präsentiert den \log_2 des *fold changes* und die Ordinate den negativen dekadischen Logarithmus des p -Wertes. Gezeigt wird jeweils der Vergleich zwischen Kontrollgruppe ($n = 5$) und Herbivoriegruppe ($n = 5$). Die blaue Horizontale zeigt das Signifikanzniveau an ($p = 0,05$, $-\log_{10}(p\text{-Wert}) = 1,3$) Jeder Punkt repräsentiert eine detektierte Verbindung. Orangene Punkte stellen signifikant erhöhte Verbindungen (rechts hinter der grünen Vertikalen) und signifikant reduzierte Verbindungen (links hinter der roten Vertikalen) dar.

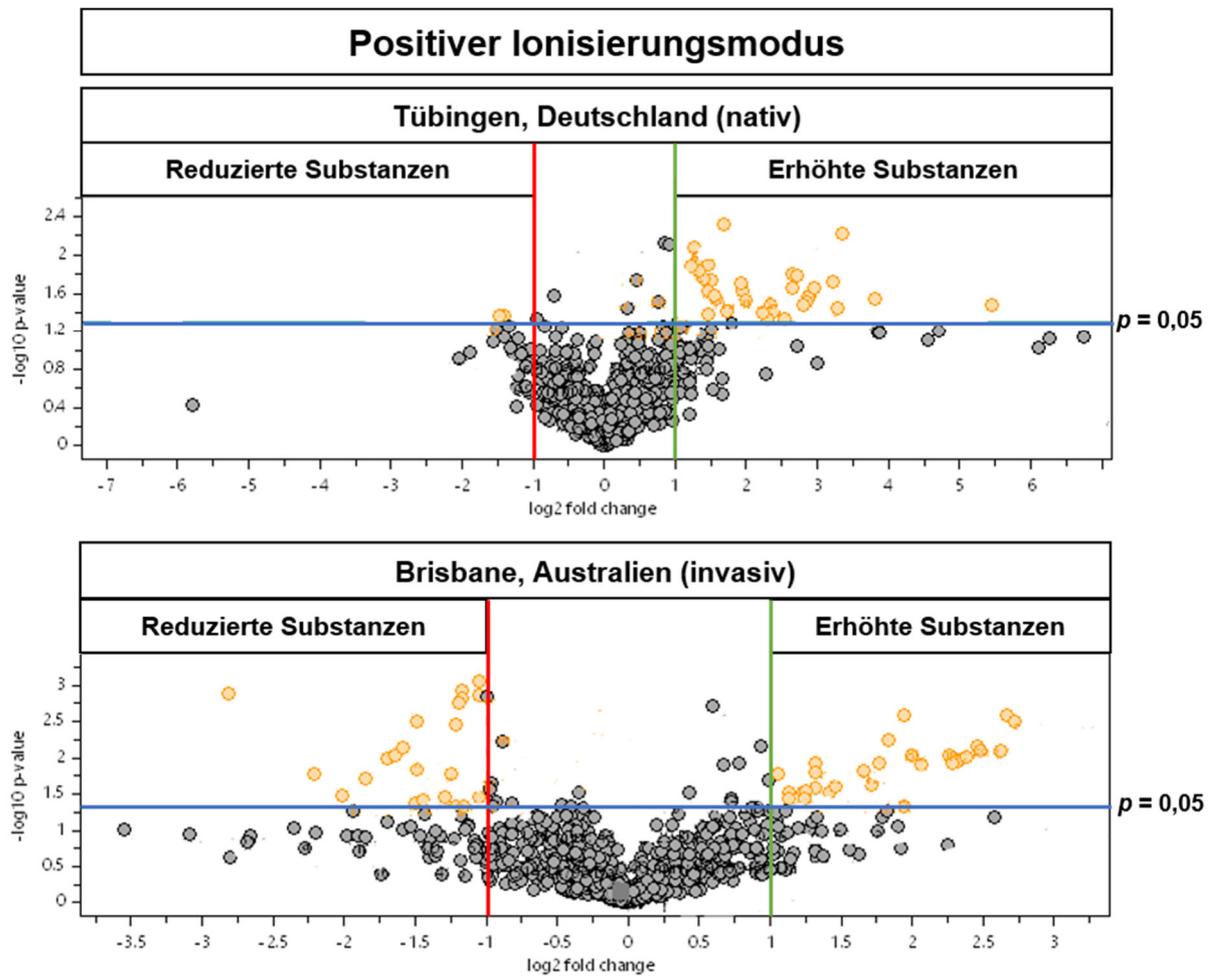


Abb. 30: *Volcano Plots* des exemplarischen Vergleiches des Einflusses der Behandlung auf die Substanzverteilung in der nativen Population aus Tübingen, Deutschland (oben) und in der invasiven Population aus Brisbane, Australien (unten) in einer Non-Target-Analyse (positiver Ionisierungsmodus). Die Abszisse präsentiert den \log_2 des *fold changes* und die Ordinate den negativen dekadischen Logarithmus des p -Wertes. Gezeigt wird jeweils der Vergleich zwischen Kontrollgruppe ($n = 5$) und Herbivoriegruppe ($n = 5$). Die blaue Horizontale zeigt das Signifikanzniveau an ($p = 0,05$, $-\log_{10}(p\text{-Wert}) = 1,3$). Jeder Punkt repräsentiert eine detektierte Verbindung. Orangene Punkte stellen signifikant erhöhte Verbindungen (rechts hinter der grünen Vertikalen) und signifikant reduzierte Verbindungen (links hinter der roten Vertikalen) dar.

4 Diskussion

Die zentrale Frage der Masterarbeit beschäftigte sich mit der evolutionären Anpassung des Spitzwegerichs im nicht-heimischen Verbreitungsgebiet. Die Untersuchung bezog sich auf die Theorien der EICA-Hypothese im Rahmen der *Enemy release hypothesis*. Zu prüfen galt daher, ob das Wachstum an einem nicht-nativen Standort zu mikroevolutionären Veränderungen geführt hat, die in einer Umverteilung der Ressourcen resultierten. Diese Umverteilung sollte sich nach den Hypothesen in einem gesteigerten Größenwachstum, in einer erhöhten Reproduktion sowie in einer Verminderung der Verteidigungsmechanismen zeigen. Bezüglich des Phänotyps waren Blühphänologie, Biomasse und Wurzel/Spross-Verhältnis in den invasiven Populationen geringfügig verändert, während die Blattfläche unverändert blieb. Der Fraßschaden durch generalistische Raupen von *S. littoralis* zeigte einen erhöhten Biomasseverlust in den invasiven Populationen, wohingegen der Blattflächenverlust keinen Unterschied in der Herkunft zeigte. In der chemischen Reaktion zeigten sich nur geringe Unterschiede (Tab. 32). Die Hauptverteidigungsstrategie des Spitzwegerichs über die Iridoidglykoside Aucubin und Catalpol sowie über das Phenylpropanoid Verbascosid wies keine herkunftsbezogenen Unterschiede auf. Geringe Unterschiede bezüglich der Herkunft bestanden in der Induktion der Phytohormone, des Phenylpropanoid-Biosyntheseweges, der Flavonoide sowie von GABA. Ob die Ergebnisse den Rahmen der EICA-Hypothese erfüllten, ist nicht direkt ersichtlich und im Folgenden zu diskutieren sowie anhand der verschiedenen Fragestellungen zu prüfen.

Tab. 32: Übersicht der Sekundär- und Primärmetaboliten von *Plantago lanceolata* im Vergleich des Einflusses von Herkunft und Behandlung. ↑: Zunahme durch Raupenherbivorie, ↓: Abnahme durch Raupenherbivorie, =: durch Raupenherbivorie unbeeinflusste, konstitutive Konzentrationen (doppelte Zeichenvergabe zeigt einen stärkeren Einfluss der Behandlung an), *: Kennzeichnung signifikanter Effekte der Behandlung, schattierte Zellen: signifikante Unterschiede der Interaktion (Herkunft x Behandlung), n.n. : nicht nachweisbar; -: nicht gemessen.

Substanzklassen	Substanz	Blätter		Wurzeln	
		Nativ	Invasiv	Nativ	Invasiv
Phytohormone	ABA	↑↑*	↑*	n.n.	n.n.
	JA	↑*	↑*	=	=
	OH-JA	↑*	↑↑*	n.n.	n.n.
	Sulfo-JA	↑*	↑*	=	=
	JA-Ile	↑↑*	↑*	↓*	↓*
	OH-JA-Ile	↑*	↑*	n.n.	n.n.
Iridoidglykoside	Aucubin	=	=	=	=
	Catalpol	=	=	=	=
Metabolite des Shikimate- und PP-Pathway	Shikimisäure	↑*	=	=	=
	Phenylalanin	=	=	=	=
	Tyrosin	↑	=	↑*	↑*
	<i>p</i> -Cumarsäure	↑*	=	=	=
Phenole	Verbascoside	↑	=	=	=
	3-CQA	=	=	-	-
	4-CQA	=	=	-	-
	5-CQA	↑	=	-	-
	<i>p</i> CoQA Derivat 1	=	=	-	-
	<i>p</i> CoQA Derivat 2	=	=	-	-
	<i>p</i> CoQA Derivat 3	=	=	-	-
	Luteolin	↑*	↑*	-	-
	Luteolosid	↓*	↑*	-	-
	Quercitrin	=	↑	-	-
	Rutin	↓	↑	-	-
Apigenin-7-O-Glykosid	↓	↑	-	-	
GABA-Synthese	Glutamat	↓*	↓*	↑*	↑↑*
	GABA	=	↑*	↑	↑↑
Primärmetaboliten	Zucker	↓↓*	↓*	=	=
	Sorbitol	↓↓*	↓*	=	=
	Freie AS	↓*	↓*	↑*	↑*

4.1 Überwog die Investition der invasiven Populationen in Reproduktion, Größe und Wachstum?

Die EICA-Hypothese geht davon aus, dass invasive Arten ihre Ressourcen aufgrund des sogenannten *Enemy-release* umverteilen und vermehrt in Reproduktion, Entwicklung und Wachstum investieren (Callaway & Ridenour, 2004).

Blüten- und Fruchtbildung sind die entscheidenden Schritte für die Reproduktion einer Pflanze. Dabei müssen die Bestäubung, die Befruchtung und die Fruchtreifung erfolgreich verlaufen (Lacey *et al.*, 2003). Damit eine nicht-native Art bei ihrer Etablierung erfolgreich ist, muss sie bezüglich ihrer Reproduktion einige Merkmale aufweisen, die ihr Selektionsvorteile im nicht-nativen Habitat verschaffen. Pflanzen, die sich ausschließlich entomophil und sexuell fortpflanzen, haben ein geringes Potential sich in neuen Ökosystemen zu etablieren. Dafür müssen einerseits Bestäuber vorhanden sein und andererseits ist eine Ausbreitung durch wenige eingeschleppte Individuen unwahrscheinlich, wenn das Geschlechterverhältnis nicht stimmt. Pflanzen, die dazu fähig sind, sich vegetativ fortzupflanzen, zwittrig oder monoziös sind und darüber hinaus selbstbestäubend oder anemophil sind, besitzen daher selektive Vorteile (Sutherland, 2004). Der Spitzwegerich ist daher eine Pflanzenart mit einem hohen Invasionspotential. Die Pflanze kann sich sowohl vegetativ als auch generativ fortpflanzen und ist gynodioziös, da weibliche und zwittrige Individuen vorhanden sind (Teramura, 1983; van Damme, 1984). Zudem ist sie als hauptsächlich anemophile Pflanze nicht auf Bestäuber angewiesen (Clifford, 1962).

Die invasiven Populationen des Spitzwegerichs unterschieden sich in ihrer Blühphänologie von den nativen Populationen. Ein Anteil von 50% der invasiven Populationen zeigte im Zeitraum von elf bis zwölf Wochen Blütenbildung. Im Gegensatz dazu wiesen nur 20% der nativen Populationen eine Blütenbildung auf. Die Veränderung der Blühphänologie bot jedoch keine Erkenntnis über eine höhere Investition in sexuelle Reproduktionsorgane. Die Ursache für die Unterschiede in der Blütenbildung kann verschiedene andere Gründe haben. Blütenbildung und Fruchtreifung unterliegen verschiedenen selektiven Drücken von abiotischer und biotischer Natur (Barrett *et al.*, 2008; Elzinga *et al.*, 2007). Die verschiedenen Populationen waren über unterschiedlich lange Zeit verschiedenen abiotischen Bedingungen, wie Temperatur und Lichteinwirkung, an den unterschiedlichen weltweiten Standorten ausgesetzt, wodurch der Zeitraum der Blütenbildung stark beeinflusst werden kann. Für *P. lanceolata* als eine hauptsächlich anemophile Pflanze sind klimatische Faktoren besonders entscheidend. Häufig ist die Ausbildung von Infloreszenzen und auch das Ablösen der Pollen positiv mit hohen Temperaturen und einer niedrigen relativen Luftfeuchtigkeit korreliert (Cecich & Sullivan, 1999). Auffällig war daher, dass aus Ländern mit sehr hohen durchschnittlichen Temperaturen, eine erhöhte Blütenbildung beobachtet wurde. So war innerhalb der invasiven Populationen die höchste Blütenbildung in der südafrikanischen und den australischen Populationen ersichtlich. Innerhalb der nativen Populationen war ebenfalls die höchste Blütenbildung in der spanischen Population zu erkennen. Dagegen bestand in der türkischen Population, wo ähnliche Temperaturverhältnisse herrschen, kein Ansatz zur Blütenbildung. Eine Erklärung für den Unterschied könnte über unterschiedliche Genotypen zu erklären sein. Smith *et al.* (2020) zeigten, dass die meisten nicht-nativen Populationen des Spitzwegerichs aus südeuropäischen Ländern wie Spanien stammten. So könnte schon auf

genetischer Ebene ein Trend zur früheren Blütenbildung der invasiven Populationen festgelegt worden sein, welcher sich nach der Etablierung weiter ausgeprägt hat. Andererseits könnte sich das Reproduktionsverhalten aufgrund von Temperaturunterschieden in einer neuen Weise ausgeprägt haben (Cecich & Sullivan, 1999).

Multitrophische Interaktionen könnten ebenfalls eine Erklärung für die Veränderung in der Blühphänologie sein (Elzinga *et al.*, 2007). Trotz der Anemophilie von *P. lanceolata* wurde neben der Windbestäubung in wärmeren Ländern, wie Australien und Italien, auch eine entomophile Bestäubung durch Bienen beschrieben, welches an kälteren Standorten wie England nicht beobachtet werden konnte (Clifford, 1962). Somit besteht die Möglichkeit, dass auch das saisonale Auftreten von bestimmten Bestäubern die Blühphänologie beeinflusst haben könnte. Die invasiven Populationen von *P. lanceolata* könnten daher entweder versuchen, die Insekten als sekundären Weg zu nutzen oder entomophile Bestäubung zu umgehen, um durch diese von Pflanze zu Pflanze übertragbare Pathogene zu meiden (Elzinga *et al.*, 2007). Auf *P. lanceolata* sind zudem einige Herbivore verzeichnet, welche sich von den reifen Samen und Blütenständen ernähren. Dazu zählen u.a. Grashüpfer und Rüsselkäfer wie *Mecinus Pascuorum*. Letzterer ernährt sich monophag von *Plantago lanceolata* und ist auf die Iridoidglykoside der Pflanzen spezialisiert. Sie fressen im adulten Zustand die Stängel und Blätter der Pflanzen. Eiablage und Entwicklung der Larven finden in den Samen statt (Wäschke *et al.*, 2015; Yoshitake *et al.*, 2016). *Mecinus pascuorum* hat sich mittlerweile mit seiner Wirtspflanze von Europa ausgehend weltweit verbreitet (Yoshitake *et al.*, 2016). Somit könnte die Veränderung des Verhaltens in der Blühphänologie der invasiven Populationen eine Fluchtstrategie als zusätzliche Resistenz gegenüber Herbivorie sein, indem diese ihr saisonales Wachstumsmuster ändern, um dem Larvenstadium verschiedener Samenfresser auszuweichen (Albrechtsen, 2000).

Da sich der Spitzwegerich auch vegetativ über axilläre Sprossbildung fortpflanzt, welche an den unterirdischen Rhizomen lokalisiert sind, könnte das verminderte Wurzel/Spross-Verhältnis auch für eine höhere Investition der invasiven Populationen in die generative Vermehrung gegenüber der vegetativen Reproduktion sprechen. Das Potential zur Ausbildung der vegetativen Sprosse unterliegt in *P. lanceolata* ebenfalls einer genetischen Variation zwischen verschiedenen Populationen (Teramura, 1983). Ein Vorteil bei der sexuellen Fortpflanzung über Windbestäubung gegenüber der vegetativen Reproduktion ist die schnellere Ausbreitung und die Erhöhung der genetischen Variabilität in der Population, was einen selektiven Vorteil für die Etablierung im nicht-heimischen Gebiet erbringen kann (Barrett *et al.*, 2008; Smith *et al.*, 2020; Sutherland, 2004). An den Wurzeln der Pflanzen wurden keine Ansätze zur axillären Sprossbildung beobachtet, so dass an dieser Stelle keine Aussage über ein unterschiedliches vegetatives Reproduktionspotential getroffen werden kann. Weder die Veränderung der Blühphänologie noch das tendenziell erniedrigte Wurzel/Spross-Verhältnis der invasiven Populationen ließen demnach auf eine erhöhte

Investition in Reproduktionsorgane nach EICA-Hypothese schließen. Hanley (2012) wies im Vergleich von nordamerikanischen invasiven Populationen und europäischen nativen Populationen des Spitzwegerichs ein höheres Reproduktionspotential durch Parameter wie eine erhöhte Anzahl der Infloreszenzen, verfrühte Blütenbildung und einen höheren prozentualen Anteil an blühenden Individuen in invasiven Populationen nach. Diese Studie zeigte jedoch nicht, ob die Ergebnisse ein weltweites Bild im Rahmen der EICA-Hypothese widerspiegeln oder durch andere abiotische oder biotische Faktoren, die nur für Nordamerika spezifisch sind, beeinflusst wurden.

Das verminderte Wurzel/Spross-Verhältnis ergab sich aus der sich nicht in der Herkunft unterscheidenden Wurzelbiomasse bei gleichzeitig signifikant erhöhter oberirdischer Biomasse der invasiven Populationen. Im Hinblick auf eine höhere Investition der invasiven Populationen in Größe und Wachstum könnte das verminderte Verhältnis aus physiologischer Sicht für eine reduzierte Investition in die Mobilisierung von Nährstoffen sowie Wasser, Speicherkapazitäten und strukturellen Stabilisierungen sprechen. Da sich die Wurzelbiomasse jedoch nicht unterschied, schien kein Unterschied in der Herkunft in diesen Eigenschaften vorzuliegen (Mokany *et al.*, 2006). Darüber hinaus kann die Verminderung für eine gesteigerte Investition in Organe der Fotosynthese oder für eine gesteigerte Investition in generative Reproduktionsorgane sprechen. Eine gesteigerte Fotosynthese könnte die EICA-Hypothese unterstützen, da die invasiven Pflanzen so fähig wären, in einem kürzeren Zeitraum eine höhere Biomasse zu bilden (Mokany *et al.*, 2006). Die gesteigerte Investition in die oberirdische Biomasse schien sich jedoch nur aufgrund der veränderten Blühphänologie zu zeigen. Eine höhere Investition in Fotosyntheseorgane ließ sich ausschließen, da weder ein Unterschied in der totalen Blattanzahl noch in der Blattfläche ermittelt wurde. Zudem ergab sich für die invasiven Populationen aus dem Quotienten von Blattfläche und -biomasse eine signifikant geringere SLA. Dieses Ergebnis lieferte ebenfalls ein gegenläufiges Bild zur Literatur, da die meisten invasiven Pflanzenarten eine höhere SLA zeigten (Zheng *et al.*, 2009). Die SLA ist auch definiert als physische Investition pro Einheit der Lichteinfangfläche und stellt eine Charakterisierungsmöglichkeit für die Ressourcennutzungsstrategie der Pflanze dar. Eine Verminderung der SLA spricht daher für eine geringere Ressourcenbeschaffung und -effizienz bei erhöhter Investition in Blattkonstruktion und Schutzgewebe (Wang *et al.*, 2017). Für invasive Pflanzen wird gerade unter Betrachtung der EICA-Hypothese eine höhere SLA erwartet, da dies für eine höhere Fotosyntheseleistung und damit für ein schnelleres Wachstum sprechen könnte. Diese Eigenschaften schienen für den Etablierungserfolg von *P. lanceolata* keinen selektiven Vorteil gebracht und sich daher eher zurückgebildet zu haben (Wang *et al.*, 2017). Unter Betrachtung des Verhaltens des Spitzwegerichs in Grasländern ist das Ergebnis plausibel, denn die Art ist als Rosettenpflanze besonders Gräsern bezüglich seiner generellen Blattmorphologie im Wettbewerb um Licht stark unterlegen, wodurch ein höheres Investment in

Blattflächenexpansion keinen selektiven Vorteil birgt. Sein selektiver Vorteil in Grasländern besteht u.a. in der hohen Anpassungsfähigkeit seines Phänotyps bezüglich seiner morphologischen Eigenschaften an Nährstoffgehalte im Boden (Stewart, 1996, Miehe-Steier *et al.*, 2015). Sowohl native als auch invasive Populationen wuchsen unter gleichen Bedingungen bezüglich Temperatur, Lichteinwirkung, Bodenzusammensetzung und Bewässerung. Zwischen nativen und invasiven Populationen wurden bis auf die Veränderung der Blühphänologie, woraus sich auch die signifikante Differenz der oberirdischen Biomasse sowie das tendenziell veränderte Wurzel/Spross-Verhältnis ergaben, keine starken Unterschiede ermittelt, die auf eine übermäßige Ressourcenverteilung nach EICA-Hypothese hinwiesen. Dies zeigte, dass verschiedene, weltweit verteilte und sich nach Smith *et al.* (2020) genetisch voneinander unterscheidende Populationen einen ähnlichen Phänotyp unter gleichen Wuchsbedingungen aufweisen. Das Ergebnis unterstrich daher die in der Literatur beschriebene, hohe phänotypische Plastizität und Anpassungsfähigkeit des Spitzwegerichs (Miehe-Steier *et al.*, 2015). Diese Erkenntnis bietet eine Erklärung des Invasionserfolgs unabhängig von den Ausprägungen der EICA-Hypothese (Wang *et al.*, 2017). Der Invasionserfolg von *Plantago virginica*, einem nahen Verwandten des Spitzwegerichs, wurde ebenfalls durch dessen hohe phänotypische Plastizität und die schnelle Anpassungsfähigkeit erklärt (Luo *et al.*, 2019). Die EICA-Hypothese ließ sich im Hinblick auf die untersuchten morphologischen Merkmale dennoch nicht ausschließen. Für aussagekräftigere Ergebnisse zur Morphologie und zum Reproduktionspotential müsste die Untersuchung früher erfolgen, damit sich native und invasive Population noch im selben ontogenetischen Stadium befinden und weitere Untersuchungen vorgenommen werden. Das könnten z.B. Untersuchungen zur Keimungs- und Fotosyntheserate sowie eine Überprüfung des Reproduktionspotentials über die Samenanzahl und Anzahl der Blütenstände sein.

4.2 Überwog der herbivore Schaden an den Pflanzen der invasiven Populationen?

Da für die invasiven Populationen des Spitzwegerichs eine verminderte Verteidigung im Rahmen der ERH und der EICA-Hypothese angenommen werden, wurde hypothetisch vorhergesagt, dass Herbivore auf den invasiven Individuen eine höhere Fitness zeigen und dadurch möglicherweise höhere Fraßschäden verursachen könnten (Inderjit, 2012). Der Verlust der Blattfläche resultiert im Allgemeinen in einer verminderten Fotosyntheseleistung, da Lichteinfangfläche verloren geht. Die Verminderung der wichtigsten Funktion im Pflanzenstoffwechsel resultiert wiederum in der verringerten Produktion von Kohlenhydraten zum Aufbau von Pflanzenbiomasse und zur Gewährleistung von Energie für verschiedene Stoffwechselvorgänge der Pflanze (Baldwin & Schmelz, 1994). Der Blattflächenverlust zeigte sich nur tendenziell und unterschied sich in der Herkunft nicht. Zudem unterschied sich für

Glucose, Fructose und Saccharose der Einfluss der Behandlung nicht in der Herkunft. Für die beiden Monosaccharide wurde eine ähnlich signifikante Abnahme beobachtet, während Saccharose unabhängig von der Herkunft in den Blättern unbeeinflusst von der Behandlung blieb (siehe Anhang, Tab. 40 und Tab. 41). Sorbitol, welches in *Plantaginaceae* als ein Hauptfotosyntheseprodukt gebildet wird, wurde in invasiven Populationen nicht signifikant und tendenziell sogar geringer durch die Behandlung beeinflusst (Pommerrenig *et al.*, 2007). Nach der Blattfläche und den Kohlenhydraten beurteilt, sollte sich die Fotosyntheserate durch die Raupenherbivorie im ähnlichen Ausmaß in nativen und invasiven Populationen verringert haben. Da die Blätter der invasiven Populationen, beurteilt nach der SLA mehr Biomasse pro Flächeneinheit besaßen, resultierte der gleiche Blattflächenverlust in einem höherem Blattbiomasseverlust. Der Verlust der gesamten oberirdischen Biomasse spiegelte dieses Ergebnis wider, da in den invasiven Populationen eine signifikant höhere Abnahme erfolgte. Da die Blätter der invasiven Populationen mehr Biomasse pro Flächeneinheit besaßen, würde sich dadurch eine größere offene Fläche in der Tiefe des Blattgewebes ergeben. Dieser Effekt stört die Integrität des Gewebes. Für die invasiven Populationen könnte dies zusätzlich zu gesteigerten Störungen im Transport von Wasser und Nährstoffen innerhalb des Blattes sowie zu höheren Wasserverlusten über das offene Gewebe führen, wodurch der Metabolismus der invasiven Population ebenfalls stärker negativ beeinflusst werden konnte (Aldea *et al.*, 2005). *Spodoptera littoralis* besaß demnach eine höhere Fraßaktivität an den invasiven Pflanzen, was im Allgemeinen auf eine verminderte Verteidigung hinweisen könnte.

4.3 Besteht zwischen nativen und invasiven Populationen ein Unterschied in der phytochemischen Reaktion auf einen herbivoren Stressor?

Zur Beurteilung, ob der erhöhte Fraßschaden an den invasiven Populationen durch einen Unterschied in der Reaktion auf die Raupenherbivorie zu erklären war, wurden Phytohormone gemessen, die die meisten Verteidigungsmechanismen der Pflanzen aktivieren.

Alle gemessenen Jasmonate lagen in den Blättern nach zwei Tagen Raupenherbivorie in einer erhöhten Konzentration vor. Die Induktion der gesamten Jasmonate unterschied sich nicht in der Herkunft. In der Reaktion der einzelnen Jasmonate in den Blättern existierten, herkunftsbezogene Unterschiede. Dabei ist zu betonen, dass die Unterschiede verhältnismäßig gering ausfielen (Abb. 31).

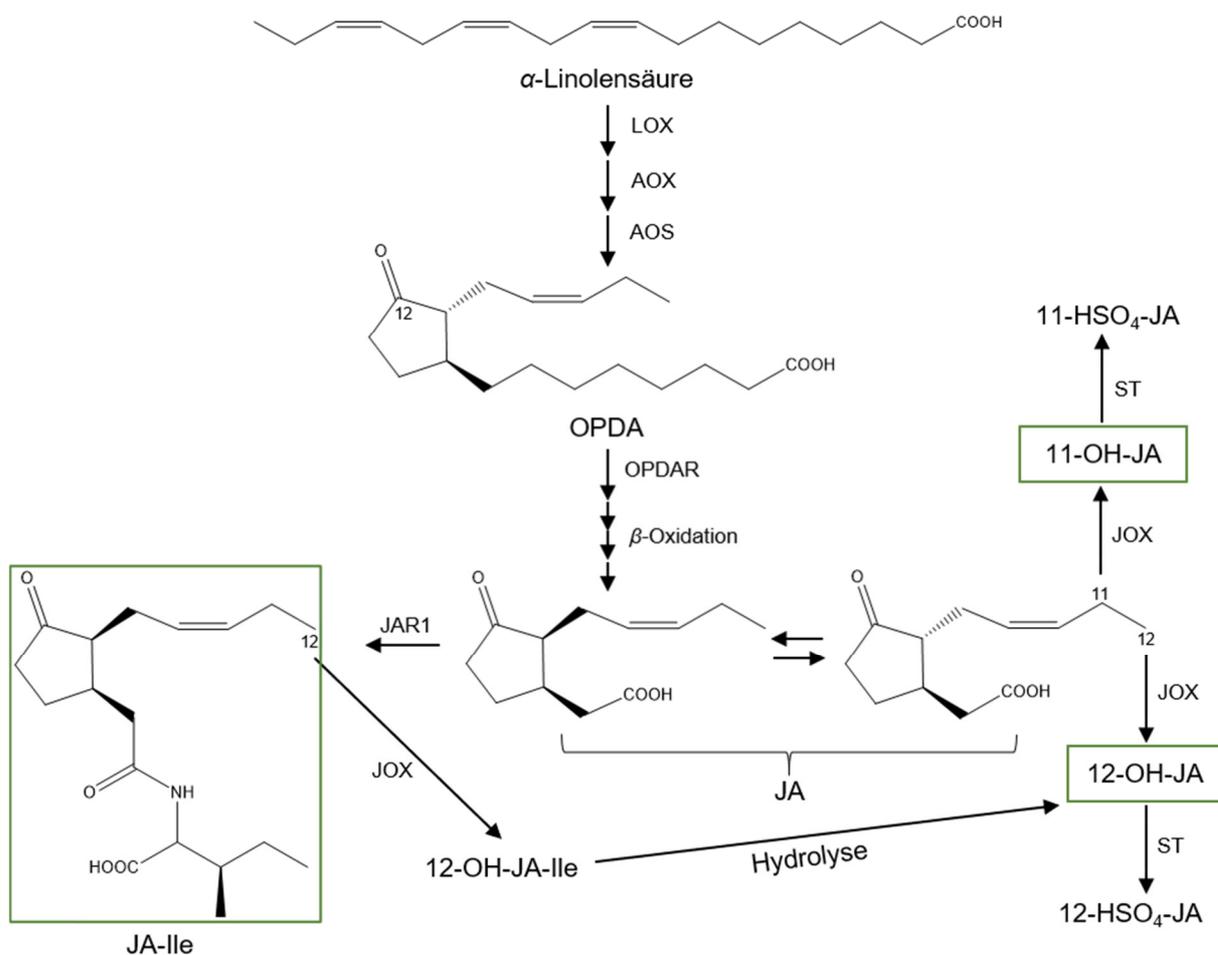


Abb. 31: Vereinfachte Darstellung der Synthese und des Abbaus der Jasmonate; modifiziert nach Miersch *et al.* (2008) und Tang *et al.* (2020); umrandete Verbindungen: Jasmonate mit signifikantem, herkunftsbezogenen Unterschieden in den Blättern; Jasmonate: OPDA (*cis*-(+)-12-oxo-Phytodienonsäure), JA ((+)-7-iso-Jasmonsäure und (-)-Jasmonsäure), 11-OH-JA (11-Hydroxy-Jasmonsäure), 12-OH-JA (12-Hydroxy-Jasmonsäure), 11-HSO₄-JA (11-Hydroxy-Jasmonsäuresulfat), 12-HSO₄-JA (12-Hydroxy-Jasmonsäuresulfat); Enzyme: LOX (Lipoxygenase), AOX (Allenoxid-Cyclase), AOS (Allenoxid-Synthase), OPDAR (OPDA-Reduktase), JOX (Jasmonat-induzierte Oxygenasen), ST (Sulfotransferase), JAR1 (Jasmonsäure-Aminosäure-Synthetase).

Für den Spitzwegerich ist bekannt, dass die Synthese der Jasmonate im Rahmen der *Wound induced defense* durch JA-Ile selbst erhöht wird, da die Genexpression für die Lipoxygenase *Pl LOX2*, welches Linolsäure zur *cis*-(+)-12-oxo-Phytodienonsäure (OPDA) umwandelt, eingeleitet wird (Zhu *et al.*, 2018). In den meisten anderen Pflanzen wird zusätzlich die Genexpression der Allenoxid-Cyclase und Allenoxid-Synthase aus der Synthese von der Linolensäure zum OPDA mitaktiviert (Nguyen *et al.*, 2016). Das Zwischenprodukt OPDA war in keiner der Proben nachweisbar, was auf eine direkte Umsetzung in *P. lanceolata* schließen ließ. Die Herkunft hatte keinen Einfluss auf die Induktion von JA. Da JA selbst ein Zwischenprodukt in der Synthese seiner bioaktiven Form ist, konnte angenommen werden, dass die Induktion von Enzymen auf dem Weg von der Linolensäure bis zum JA von der Herkunft nicht beeinflusst wurde (Miersch *et al.*, 2008).

JA-Ile stellt die bioaktivste Form der Jasmonate dar, welche zur Aktivierung von Transkriptionsfaktoren führt. Diese leiten die Genexpression verschiedener Verteidigungsgene ein (Ueda *et al.*, 2020). Die induzierten Mengen waren in den nativen Populationen signifikant höher als in den invasiven Populationen, was zu einer verstärkten Genexpression und damit zu einer stärkeren Antwort auf die Raupenherbivorie in den nativen Populationen führen könnte. JA-Ile schien zudem von den Wurzeln in die Blätter verlagert zu werden, da die Mengen in den Wurzeln unter Raupenherbivorie signifikant abnahmen. Gegen einen einfachen Abbau des Phytohormons sprach, dass sein Abbauprodukt OH-JA-Ile in den Wurzeln nicht nachweisbar war. In den meisten Pflanzen wird über die JA-Signalkaskade die Expression von Genen aktiviert, die für Verteidigungsmechanismen codieren, welche auch von *P. lanceolata* genutzt werden. Dazu zählen Enzyme zur Synthese der C₅-Terpenoidpräkursoren, Enzyme des Iridoid-Biosynthesewegs sowie Enzyme des Shikimisäurewegs und des Phenylpropanoid-Biosynthesewegs (Pauwels *et al.*, 2009). Im Rahmen des Experimentes wurden für die nativen Populationen Hinweise für eine stärkere Induktion des Shikimisäure- und des Phenylpropanoid-Biosynthesewegs ermittelt. Für eine erhöhte Induktion dieser Biosynthesewege sprachen auch die Konzentrationen des Phytohormons ABA. Die Induktion von ABA war in den nativen Population marginal nicht signifikant höher als in den invasiven Populationen, was darauf schließen könnte, dass Jasmonat-induzierte Verteidigungsmechanismen in den nativen Populationen nicht nur durch eine erhöhte Induktion von JA-Ile sondern auch durch die gesteigerte Synthese von ABA intensiviert wurden. Die genaue Funktionsweise von ABA im Spitzwegerich ist noch nicht bekannt. Für verschiedene Pflanzenarten, wie *Arabidopsis thaliana*, die Tabakpflanze *Nicotiana attenuata* sowie Tomatenpflanzen, weist ABA jedoch eine defensive Wirkung in der Verteidigung gegen Herbivore auf. ABA erhöht die Empfindlichkeit der Pflanzen, indem es als Synergist von JA über die Beeinflussung der gleichen Transkriptionsfaktoren wirkt. Auf der anderen Seite kann es auch als Antagonist von ET, den JA/ET-Crosstalk negativ beeinflussen (Nguyen *et al.*, 2016). Da die Wirkung von ABA oder genaue Phytohormonwege für den Spitzwegerich noch nicht bekannt sind, lässt sich die Wirkung nur im Kontext mit den induzierten Verteidigungsmechanismen betrachten. Dies sprach dafür, dass ABA als Synergist von JA in *P. lanceolata* wirkt und in invasiven Populationen in leicht verminderter Konzentration zu einer geringeren Induktion von Verteidigungsmechanismen geführt haben könnte.

Der schnelle Abbau der Jasmonate ist ebenso entscheidend für die Pflanze wie die Induktion, denn eine übermäßige Anreicherung der bioaktiven Phytohormone ist negativ mit der Entwicklung der Pflanze korreliert. Der Abbau bzw. die Inaktivierung der Jasmonate erfolgt daher im Allgemeinen in Pflanzen über Methylierungen zum Methyl-Jasmonat (MeJA), Decarboxylierungen zum *cis*-Jasmon sowie Hydroxylierungen, Carboxylierungen und Konjugationen an Moleküle wie Zucker oder Sulfatgruppen (Tang *et al.*, 2020; Ueda *et al.*, 2020). Im Rahmen des Experimentes wurden nur die hydroxylierten und

sulfatgebundenen Formen, ohne Kenntnis über die Position der Hydroxygruppe, nachgewiesen. Ein Abbau über eine Carboxylierung konnte für *P. lanceolata* nicht ermittelt werden, da die carboxylierte Form des JA-Ile, das 12-Carboxyjasmonyl-Isoleucin (COOH-JA-Ile), nicht nachweisbar war. Andere Formen wie *cis*-Jasmon oder glykosidierte Jasmonate wurden nicht gemessen. Für OH-JA-Ile als Abbauprodukt von JA-Ile wird für manche Pflanzen ebenfalls eine bioaktive Funktion nachgesagt (Miersch *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2020). Für den Spitzwegerich ist diese Wirkung nicht bekannt. Dieses unterschied in der Herkunft nicht, was auf einen ähnlich schnellen Abbau des bioaktiven JA-Ile schließen ließ. Bei den Abbauprodukten des JA unterschieden sich lediglich die hydroxylierten Formen (OH-JA), während sich Sulfo-JA nicht unterschied. Die invasiven Populationen wiesen eine höhere Induktion von OH-JA auf. Der gesteigerte Abbau der Jasmonate in den invasiven Populationen könnte also für eine schnellere Minderung der Jasmonat-induzierten Antworten gegenüber einem herbivorem Stressor sprechen.

Die Analyse der Phytohormone zeigte, dass innerhalb der Induktion von Verteidigungsmechanismen mikroevolutionäre Unterschiede bestehen könnten. Die geringe Verminderung der Induktion der bioaktiven Phytohormone JA-Ile und ABA, welche im Zusammenhang mit verminderten Verteidigungsmechanismen und den erhöhten Fraßschäden an den Pflanzen der invasiven Populationen stehen könnte, sowie der signifikant gesteigerte Abbau von JA in seine hydroxylierte Form schienen für eine leichte Ressourcenumverteilung zu sprechen (Inderjit, 2012; Tang *et al.*, 2020). Ob diese Effekte jedoch den Rahmen der EICA-Hypothese erfüllen, benötigt weitere Untersuchungen. Für den Spitzwegerich ist nicht bekannt, welche genaue Funktion die einzelnen Hormone erfüllen und ob die nachgewiesenen Abbauprodukte inaktiv sind oder eine andere Funktion erfüllen (Miersch *et al.*, 2008).

4.4 Besitzen invasive Populationen eine verringerte induzierte sowie konstitutive direkte Verteidigung?

Um die Ergebnisse der Fraßschäden und der phytohormonellen Reaktion in einen Zusammenhang zu bringen, wurden die Hauptmetabolite von *P. lanceolata* zur Verteidigung gegen Herbivorie betrachtet. Die Hauptverteidigungsstrategie des Spitzwegerichs gegen Herbivorie beruht auf seinen hohen konstitutiven und durch Phytohormon-induzierbaren Konzentrationen an den Iridoidglykosiden Aucubin und Catalpol sowie an dem Phenylpropanoid Verbascosid. Ihre Wirkungen beruhen auf abschreckenden, antinutritiven und toxischen Effekten für die Herbivoren (Dobler *et al.*, 2011; Reichardt *et al.*, 1988).

Aucubin und Catalpol unterschieden sich sowohl in den Blättern als auch in den Wurzeln bezüglich der Herkunft in ihren konstitutiven Mengen kaum. Zudem wurde sowohl für native

als auch für invasive Populationen keine Induktion beobachtet. Fuchs & Bowers (2004) fanden in ihren Untersuchungen heraus, dass eine Induktion der Iridoidglykoside nur in frühen ontogenetischen Stadien des Spitzwegerichs bis zu einem Alter von sieben Wochen nach der Keimung stattfindet. Sobald sich die Pflanze auf die Reproduktion vorbereitet oder bereits Ansätze zur Blütenbildung besitzt, kommt es zu einer Umverteilung der Ressourcen. In diesen Stadien dienen die Substanzen nur noch der konstitutiven Verteidigung (Fuchs & Bowers, 2004). Die Pflanzen wurden erst in einem Alter von elf bis zwölf Wochen untersucht. An vielen Individuen waren bereits Blütenstände vorhanden und andere befanden sich mit hoher Wahrscheinlichkeit ebenfalls bereits in der Vorbereitung zur Ausbildung ihrer generativen Reproduktionsorgane. Unterschiede in der Induktion ließen sich daher im Rahmen des Experimentes für die Hauptmetabolite nicht überprüfen.

Die konstitutiven Wurzelkonzentrationen des Verbascosids unterschieden sich ebenfalls nicht voneinander. Für Verbascosid deutete sich in den Blättern allerdings eine leichte nicht signifikante Induktion in den nativen Populationen an. In den invasiven Populationen zeigte sich dieser Trend nicht. Aus der Literatur ist eine Induktion des Phenylpropanoids für den Spitzwegerich ebenfalls bekannt (Adler *et al.*, 1995). Die Induktion in den nativen Populationen zeigte sich anhand des Verbascosids nicht eindeutig. Gründe dafür könnten ebenfalls das Alter der Pflanzen oder ein zu kurzer Zeitraum der Herbivorie sein, denn Verbascosid lag genauso wie die Iridoidglykoside in sehr hohen Konzentrationen im $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ -Bereich vor. Da sowohl die nativen als auch die invasiven Populationen innerhalb ihrer Gruppierungen aus unterschiedlichen Ländern mit verschiedenen abiotischen Bedingungen stammten, war eine gewisse Variation in den Konzentrationen zu erwarten. Die Herbivorie hätte daher eventuell länger als 48 h andauern müssen, um einen signifikanten Effekt zu erzielen.

Weitere Hinweise darauf, dass der Phenylpropanoid-Biosyntheseweg in den Blättern der nativen Populationen aktiviert werden konnte, zeigte sich in verschiedenen Präkursoren und Intermediaten auf den Biosynthesewegen zum Verbascosid. Der Phenylpropanoid-Biosyntheseweg kann durch herbivoren Stress induziert werden und benötigt zur Herstellung der Pflanzenphenole die Präkursoren Phenylalanin oder Tyrosin (Abb. 32). Diese beiden aromatischen Aminosäuren werden über den Shikimisäureweg synthetisiert, welcher wiederum auch durch herbivoren Stress induziert werden kann (Bernards & Båstrup-Spohr, 2008; Noel *et al.*, 2005). Erste Hinweise auf die gesteigerte Synthese der Aminosäuren und des glykosidisch gebundenen Metaboliten könnte sich durch die tendenziell, aber nicht signifikant höhere Abnahme der Zucker in den Blättern der nativen Populationen andeuten. Diese stellen Grundsubstanzen der Synthesewege dar (Liu, 2012). Zudem war das Intermediat Shikimisäure signifikant in den nativen Populationen erhöht. Für Phenylalanin zeigte sich unabhängig von der Herkunft keine Induktion. Tyrosin wurde hingegen tendenziell nur in den nativen Populationen induziert. In den Wurzeln zeigte sich eine Induktion von Tyrosin unabhängig von der Herkunft. Je nach Präkursor setzt sich der

Phenylpropanoid-Biosyntheseweg aus drei oder zwei enzymkatalysierten Reaktionen zusammen, die die aromatischen Aminosäuren letztendlich zum CoA-aktivierten Hydroxyzimtsäureester umsetzen (Noel *et al.*, 2005). Mit Phenylalanin entsteht durch dessen Desaminierung über die Phenylalanin-Ammonium-Lyase (PAL) der ubiquitäre Präkursor Zimtsäure. Anschließend erfolgt die Hydroxylierung zur *p*-Cumarsäure (4-Hydroxyzimtsäure) mittels Zimtsäure-4-Hydroxylase (C4H). Mit Tyrosin kann der Schritt über die Zimtsäure übersprungen werden und eine direkte Umsetzung zur *p*-Cumarsäure mittels Tyrosin-Ammonium-Lyase erfolgen (Bernards & Båstrup-Spohr, 2008; Noel *et al.*, 2005). *p*-Cumarsäure wurde ebenfalls ausschließlich nur in den nativen Populationen signifikant erhöht. Zuletzt wird die Carboxylgruppe durch eine Thioesterbindung an CoA via Hydroxyzimtsäure-CoA-Ligase (4CL) zu *p*-Cumaroyl-CoA aktiviert, welches daraufhin verschiedene weitere Synthesewege beschreiten kann. Ein Baustein des Verbascosids ist die Kaffeesäure, welche als Caffeoyle-CoA an das Molekül gefügt wird (Saimaru & Orihara, 2010). Kaffeesäure war in den Proben nicht nachweisbar. Jedoch konnten verschiedene Derivate der Intermediate CQA und *p*CoQA nachgewiesen werden. 5-CQA zeigte einen Trend zur Induktion ebenfalls nur in den nativen Populationen, während sich die relativen Mengen des Derivats in den invasiven Populationen nicht veränderten. Die invasiven Populationen zeigten in den Chlorogensäuren Trends zu erhöhten konstitutiven Mengen in den Blättern. Deutlich zu erkennen war der Trend für 3-CQA. Eine leichte Tendenz war auch für zwei der nicht identifizierten *p*CoQA-Derivate vorhanden. *p*-Cumarsäure besaß ebenfalls signifikant höhere konstitutive Mengen in den Blättern der invasiven Populationen. Die Präkursoren, abgesehen vom Tyrosin in den Wurzeln, zeigten in den invasiven Populationen keine Induktion unter herbivorem Stress.

Die Betrachtung der Induktion von Tyrosin im Rahmen der Verbascosidsynthese spielt neben der Synthese des Aglykons Kaffeesäure auch eine Rolle in der Synthese des zweiten Aglykons des Verbascosids, dem Hydroxytyrosol. Dieses wird in Pflanzen hauptsächlich aus Tyrosin enzymatisch über L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) und Dopamin gebildet (Saimaru & Orihara, 2010).

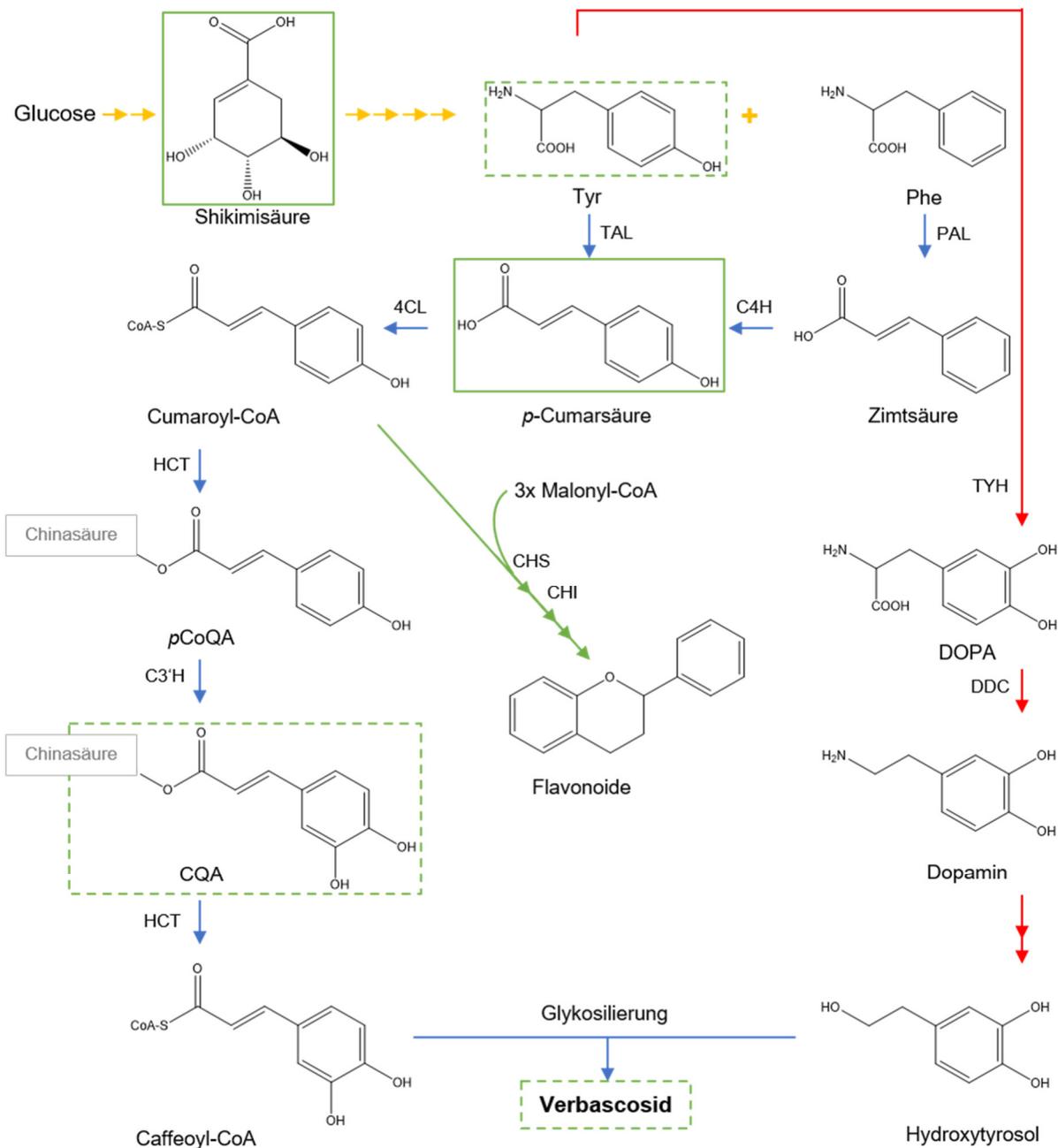


Abb. 32: Vereinfachte Darstellung und Zusammenhänge des Shikimisäurewegs (gelbe Pfeile) und des Phenylpropanoid-Biosynthesewegs (blaue Pfeile) sowie der Synthese von Flavonoiden (grüne Pfeile) und dem Verbascosidbaustein Hydroxytyrosol (rote Pfeile); modifiziert nach Liu (2012), Rigano *et al.* (2016), Saimaru & Orihara (2010) und Soares *et al.* (2014). Durchgezogen umrandete Verbindungen: Substanzen mit einem signifikanten Unterschied in der Interaktion (Herkunft x Behandlung); gestrichelt umrandete Verbindungen: Substanzen mit einem tendenziellen Unterschied in der Interaktion (Herkunft x Behandlung). Enzyme des Phenylpropanoid-Biosynthesewegs: PAL, (Phenylalanin-Ammonium-Lyase), TAL (Tyrosin-Ammonium-Lyase), C4H (Zimtsäure-4-Hydroxylase), 4CL (Hydroxyzimtsäure-CoA-Ligase), Hydroxyzimtsäure-CoA-Chinasäure-Transferase (HCT), *p*-Cumarylester-3-Hydroxylase (C3'H); Enzyme der Flavonoidsynthese: CHS (Chalcon-Synthase), CHI (Chalcon-Isomerase); Enzyme der Hydroxytyrosolsynthese: TYH (Tyrosinhydroxylase), DDC (DOPA (L-3,4-Dihydroxyphenylalanin)-Decarboxylase).

Pflanzen nutzen die induzierte Verteidigung, um u.a. die Bewegungsaktivität der Herbivoren auf der Pflanze zu erhöhen, damit diese besser von Prädatoren erkannt werden. Der

Positionswechsel des Insekts auf der Pflanze erfolgt nach Induktion von Phagodeterrentien wie dem Verbascosid im befreßenen Bereich durch Verminderung der Schmackhaftigkeit an der Fraßstelle. Die höhere Bewegungsaktivität kann sich durch eine höhere Anzahl an befreßenen Stellen zeigen (Agrawal & Karban, 1999). Diese Theorie ließ sich im Experiment nicht bestätigen, da sich die Anzahl der Fraßstellen bezüglich der Herkunft nicht signifikant unterschied. Durch diese morphologische Untersuchung konnte weder auf die Induktion des Verbascosids noch auf einen Effekt auf die Herbivoren geschlossen werden.

Der ökologische Vorteil, den die invasiven Pflanzen aus einer möglichen Reduktion des Induktionsmechanismus ziehen, ist nicht ganz eindeutig. Nach der EICA-Hypothese versuchen invasive Pflanzen ihre Ressourcen in Wachstum und Reproduktion zu investieren (Inderjit, 2012). Der umgekehrte Effekt wäre daher theoretisch plausibler, da die stetige Synthese von Metaboliten sowie das Aufrechterhalten der Konzentrationen energetisch ungünstiger gegenüber der induzierten Verteidigung sein kann. Die konstitutive Verteidigung würde daher Pflanzen im nicht-nativen Lebensraum unter Annahme der EHR keinen selektiven Vorteil bieten (Agrawal *et al.*, 1999). Cipollini *et al.* 2005 wiesen diesen gegenläufigen Trend zum Spitzwegerich im Vergleich der Hauptmetabolite von nativen und invasiven Populationen der krautigen Pflanze *Alliaria petiolata* nach. Für native Populationen dieser Pflanze wurden in der Studie höhere konstitutive Mengen an Glucosinolaten nachgewiesen, während die invasiven Populationen eine erhöhte Induzierbarkeit der Substanzen zeigten. Werden andere Funktionsweisen der induzierten Verteidigung betrachtet, könnte der Rahmen der EHR dennoch eingehalten werden. Pflanzen nutzen die induzierte Verteidigung in ihrem natürlichen Verbreitungsgebiet, um u.a. Spezialisten die Suche nach der Wirtspflanze zu erschweren. Die Pflanze hält so ihre Verteidigungsmetaboliten gegen Generalisten gering, die von Spezialisten z.B. als Phagostimulantien genutzt werden, und erhöht sie erst, wenn ein Aggressor präsent ist. Da die ERH die Abwesenheit von Spezialisten vorhersagt, würde diese Funktion im nicht-nativen Verbreitungsgebiet ihren selektiven Vorteil verlieren (Agrawal & Karban, 1999; Inderjit, 2012). Auch die verminderte Präferenz von Generalisten könnte diese Selektionsdrücke auf den Spitzwegerich vermindert haben. Darüber hinaus werden, wie in Abschnitt 4.3 beschrieben, sowohl Shikimisäureweg als auch Phenylpropanoid-Biosyntheseweg durch die Jasmonate induziert (Pauwels *et al.*, 2009). Die Induktion von Jasmonaten ist für viele verschiedene Pflanzen negativ mit dem Wachstum und der Reproduktion korreliert. In der Literatur sind inhibierende Wirkung u.a. auf das Pflanzenwachstum, die Blattflächenexpansion sowie die Samengröße beschrieben. Auch die Verzögerung der Blütenbildung wurde in einigen Pflanzen beobachtet (Huang *et al.*, 2017). Die Induktion des bioaktiven JA-Ile ist, wie im Abschnitt 4.3 behandelt, in den nativen Populationen höher als in den invasiven Populationen, was den Unterschied in der Aktivierung der Biosynthesewege erklären und ein unterstützendes Indiz bezüglich der EICA-Hypothese sein könnte. Diese Umverteilung könnte u.a. ein Grund sein, warum die invasiven Pflanzen im

gleichen Wuchszeitraum eine höhere Biomasse erzielen konnten und auch im Zusammenhang mit der veränderten Blühphänologie stehen (Huang *et al.*, 2017).

Darüber hinaus erfüllen Phenylpropanoide, wie Verbascosid, noch zahlreiche andere Funktionen, die der Pflanze im nicht-nativen Verbreitungsgebiet einen Selektionsvorteil verschaffen könnten. Unter den invasiven Populationen befanden sich beispielsweise Standorte wie Südafrika, Australien und Kalifornien, in welchen die Populationen einer höheren durchschnittlichen Sonneneinstrahlung ausgesetzt sind. Phenylpropanoide können als Strahlungsschutz dienen und an diesen Standort unabhängig vom herbivoren Einfluss in höheren konstitutiven Mengen vorhanden sein (Korkina, 2007). Verschiedene ökologische Vorteile, die nicht unmittelbar im Zusammenhang mit der ERH oder der EICA-Hypothese stehen müssen, könnten also zu mikroevolutionären Veränderungen geführt haben, die dieses Bild in den invasiven Populationen verursacht haben.

Die Ergebnisse der Hauptmetabolite deuteten im Großen und Ganzen darauf hin, dass den Hauptverteidigungsstrategien des Spitzwegerichs im nicht-nativen Verbreitungsgebiet bezüglich ihrer Konzentrationen keine grundlegende Änderung widerfahren ist. Die Konzentrationen der Hauptmetabolite unterschieden sich weder signifikant in der Herkunft noch in der Behandlung und waren daher nur in vergleichbaren konstitutiven Mengen vorhanden. Der Unterschied in der Induktion des Verbascosids ließ sich nur bei Betrachtung der Intermediate in der Biosynthese der Substanz erahnen und zeigte sich durch die Konzentrationen des Metaboliten oder durch eine erhöhte Anzahl an Fraßstellen nicht selbst.

4.5 Sind andere Hypothesen besser geeignet als die *Evolution of increased competitive ability*-Hypothese?

Die EICA-Hypothese ließ sich weder durch die morphologischen Merkmale noch durch die Verteidigung mittels seiner Hauptmetaboliten eindeutig bestätigen oder widerlegen. Somit sollten andere Hypothesen wie die *Shift in defense hypothesis* oder die *Novel weapon hypothesis* in Betracht gezogen werden. Hinweise waren in den Flavonoiden, der nicht-proteinogenen Aminosäure GABA und in der exemplarischen Non-Target-Analytik zu finden.

Im Rahmen der exemplarischen Non-Target-Analytik, bei der eine einzelne native Population aus Tübingen (Deutschland) mit einer einzelnen invasiven Population aus Brisbane (Australien) verglichen wurden, lag ein deutlicher Unterschied in der Verteilung der Substanzen vor. In den australischen Pflanzen kam es sowohl zu einer starken Verminderung als auch Erhöhung der Substanzen unter Herbivorie, wohingegen die deutschen Pflanzen lediglich eine Erhöhung von Substanzen zeigten. Dies könnte im Rahmen der EICA-Hypothese für eine unspezifische, ungezielte Antwort aufgrund der „verlernten“

Verteidigung in der invasiven Population sprechen. Andererseits könnte dies auch für eine Umverteilung im Rahmen einer anderen, zum jetzigen Forschungsstand nicht definierbaren Art der Verteidigung sprechen. Zum derzeitigen Stand des Experimentes ließ sich keine genaue Aussage treffen. Der Vergleich zeigte nur, dass ein Unterschied in der Reaktion auf herbivoren Stress zwischen den beiden Populationen vorlag. Diese beiden Populationen aus zwei sehr verschiedenen Teilen der Erde wurden als Stichprobe gewählt, um zu prüfen, ob überhaupt ein unterschiedliches Muster in der Reaktion auf herbivoren Stress vorliegen könnte. Ob das Ergebnis des Vergleichs ein allgemeines Muster darstellte, muss in weiterführenden Analysen für alle Populationen geprüft werden. Die beiden Populationen befanden sich zudem in unterschiedlichen ontogenetischen Stadien, denn die invasive Population zeigte Blütenbildung, wohingegen die native Population noch keine Blüten aufwies. Daher ließ sich ebenfalls nicht sicher sagen, ob das unterschiedliche Muster auf den Unterschied in der Herkunft oder auf die unterschiedlichen ontogenetischen Stadien zurückzuführen war.

Betrachtet man darüber hinaus bestimmte Einzelsubstanzen oder Gruppen von Substanzen, wird ersichtlich, dass bestimmte Unterschiede in der Herkunft vorlagen, die nicht für die EICA-Hypothese, sondern für eine andere Art der Umverteilung nach SDH oder NWH sprechen könnten.

Hinweise auf die SDH boten zum Beispiel die Primärmetabolite. Der Einfluss der Behandlung zeigte keinen signifikanten Unterschied in der Herkunft, dennoch bildete sich ein Trend ab, dass die nativen Populationen ihre Ressourcen intensiver nutzten. Die Gesamtzuckerkonzentration sowie der Zuckeralkohol Sorbitol zeigten ein Trend zur stärkeren Abnahme. Im Rahmen der SDH könnte dies dafürsprechen, dass invasive Populationen für Verteidigungsmechanismen weniger Ressourcen und Energie aufwenden müssen. Hierdurch würde ein verringerter Kohlenhydratabbau über Glykolyse, Citratzyklus und oxidative Phosphorylierung stattfinden (Plaxton & Podestá, 2006).

Die in Abschnitt 4.4 diskutierte, sich andeutende Verminderung der Induktion des Phenylpropanoid-Biosynthesewegs in den invasiven Populationen ist zudem nicht unbedingt gleichbedeutend mit einer Reduktion der Verteidigungsstrategien. Vielmehr könnte diese im Rahmen der SDH für eine Ressourcenumverteilung auf weniger energieaufwendig zu produzierende Metabolite schließen (Inderjit, 2012). Ein möglicher Metabolit, der für diese Fragestellung in Betracht gezogen werden könnte, ist die nicht-proteinogene Aminosäure GABA. Bei diesem Metaboliten wurde im Rahmen der Aminosäureanalyse ein marginal nicht signifikanter Unterschied in der Reaktion auf den Fraß von *S. littoralis* in Abhängigkeit der Herkunft ermittelt. GABA wurde in den Blättern der invasiven Populationen induziert, in den Blättern der nativen Populationen dagegen nicht. Analog dazu wurde eine tendenziell höhere Abnahme des Präkursors Glutamat in den Blättern der invasiven Populationen beobachtet. In

den Wurzeln schien unter herbivoren Stress sowohl der Präkursor Glutamat als auch GABA unabhängig von der Herkunft erhöht zu werden. Die Antwort war auch dabei tendenziell in den invasiven Populationen für beide Substanzen höher.

GABA ist bisher für den Spitzwegerich im Zusammenhang mit Herbivorie noch nicht beschrieben worden. Die Substanz ist für einige krautige Pflanzen als effektiver Metabolit gegen Herbivorie bekannt. Die Wirkung wird durch die Funktion der nicht-proteinogenen Aminosäure als inhibierender Neurotransmitter an wichtigen GABA-regulierten Chloridkanälen des peripheren Nervensystems von Invertebraten erklärt. Die Dosen, die dabei von Herbivoren durch den Fraß an Pflanzen aufgenommen werden, sind für eine stärkere inhibierende Wirkung meistens ausreichend und können von Tremoren, Übererregung und Paralyse bis zum Tod des Insekts führen (Bown *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2011). Scholz *et al.* (2017) beobachteten u.a. ein vermindertes Wachstum und eine verringerte Fitness von *S. littoralis* auf Pflanzen, welche höhere GABA-Gehalte aufwiesen. GABA zeigte beispielsweise bei Raupen von *Choristoneura rosaceana* bereits in Diäten mit Gehalten zwischen 2-3 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ stärkere wachstumshemmende Effekte. Unter herbivorem Stress zeigten die invasiven Populationen Gehalte von $(1,1 \pm 0,1) \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$, was bereits ebenfalls deutliche Effekte auf die Herbivoren haben könnte (Bown *et al.*, 2006).

GABA weist sowohl in seiner Induktion als auch in der Synthese Vorteile gegenüber Phenylpropanoiden auf. Diese Mechanismen zur Bereitstellung der nicht-proteinogenen Aminosäure auf einen Stressor hin sind deutlich energieschonender für die Pflanze. Im Rahmen der Induktion von GABA wird keine Signalkaskade über Phytohormone benötigt, welches, wie in 4.4 diskutiert, negativ mit Reproduktion und Wachstum korreliert sein kann (Huang *et al.*, 2017; Scholz *et al.*, 2015). Die Induktion von GABA erfolgt im Rahmen der WIR in Pflanzen entweder durch eine pH-Absenkung des Cytosols bei der Zerstörung von Vakuolen oder über die Depolarisierung der Membran mittels der Ca^{2+} -Ionen gekoppelt mit *Second Messengern* (Huang *et al.*, 2011). Die Synthese erfolgt anschließend im Rahmen des Citratzyklus. Ausgehend vom Intermediat α -Ketoglutarat wird über eine enzymatische Transaminierung L-Glutamat gebildet, welches über Glutamat-Decarboxylasen im Cytosol in GABA umgewandelt wird (Shelp *et al.*, 2009). Diese Art der Synthese stellt gegenüber der Biosynthese der Phenylpropanoide einen sehr einfachen Biosyntheseweg mit einer enorm reduzierten Anzahl an involvierten Reaktionen und Enzymen, die exprimiert werden müssen, dar. Zudem ist der Citratzyklus ein entscheidender Grundmechanismus zur Bereitstellung von Energie, Reduktionsäquivalenten und Präkursoren für vielfältige Funktionen des Organismus, der ohne herbivoren Einfluss stetig abläuft (Zhang & Fernie, 2018). Die Induktionsmechanismen für GABA führen auch nicht zu einer Genexpression, sondern steigern die Aktivität bereits vorhandener Glutamat-Decarboxylasen (GAD) (Huang *et al.*, 2011).

Einsparungen bei der Induktion von Phenylpropanoiden und höhere Investitionen in eine induzierte Verteidigung mittels GABA würde den Pflanzen in ihrem nicht-nativen Verbreitungsgebiet durch Phytohormon-unabhängige Induktionen, nicht benötigte Genexpressionen und eine weniger aufwendige Synthese, Energie und Ressourcen einsparen, was den Rahmen der SDH erfüllen könnte.

Andererseits ist für diesen Metaboliten auch die NWH in Betracht zu ziehen, denn GABA ist ein Molekül mit vielfältigen anderen Funktionen in Pflanzen. Die gesteigerte Induktion in den invasiven Populationen auf den herbivoren Stressor könnte sich auch aus einer anderen, viel benötigten Funktion am nicht-heimischen Standort ergeben haben. GABA spielt eine wichtige Rolle in der Regulierung des C/N-Metabolismus, in dem es als Stickstoffspeicher dient oder Kohlenstoffgerüste zur Verwertung im Citratzyklus liefert. GABA könnte also zunächst im nicht-nativen Verbreitungsgebiet vermehrt an anabolen und katabolen Prozessen beteiligt gewesen sein, welche auch im Rahmen der EICA-Hypothese zum verstärkten Aufbau von Biomasse gedient haben könnten (Bouché & Fromm, 2004). Darüber hinaus wird es bei einer Vielzahl von abiotischen Stressoren, die an den nicht-nativen Standorten von Bedeutung sein könnten, angereichert. Dazu zählen Salz-, Trocken-, Hitze- und Kältestress sowie UV-Strahlung (Shelp *et al.*, 2009). Im Rahmen der Reproduktion kann es an der Regulierung des Wachstums der Pollenschläuche beteiligt sein. Da sich die Hälfte der invasiven Pflanzen im blühenden Zustand befand und nach EICA-Hypothese dahinter ein erhöhtes Reproduktionspotential vermutet wird, könnte auch hier ein Zusammenhang mit der erhöhten GABA-Konzentration bestehen (Huang *et al.*, 2011). GABA wird ebenfalls nach Detektion des wachstumshemmenden VOC (*E*)-2-Hexenal, welches von Pflanzen der Umgebung freigesetzt wird, in der Empfängerpflanze akkumuliert. Die genaue Funktion, die GABA dabei erfüllt, ist noch nicht erforscht. Sie zeigt jedoch, dass GABA an allelopathischen Prozessen beteiligt sein kann. Für GABA werden noch weitere Funktionen als Signalmolekül sowohl innerhalb der Pflanze sowie der Pflanzengemeinschaft als auch mit anderen Organismen vermutet. Diese Rolle in der Kommunikation könnte je nach Ausprägung ebenfalls eine Funktion innerhalb der neuen Organismengemeinschaft mit sich geführt haben (Bouché & Fromm, 2004). GABA könnte sich so im nicht-nativen Verbreitungsgebiet als vorteilhaft erwiesen haben und sich im Verlauf der Interaktion mit den ansässigen Herbivoren auch als Verteidigungsmetabolit für *P. lanceolata* im Rahmen der NWH etabliert haben.

Für die NWH sprach ebenfalls die Substanzklasse der Flavonoide. Die glykosidisch gebundenen Flavonoide folgten unter herbivorem Stress dem gleichen Muster, was sich zwischen nativen und invasiven Populationen unterschied. Während in den nativen Populationen, die Konzentrationen durch den Einfluss von *S. littoralis* tendenziell sanken, stiegen die Gehalte in den invasiven Populationen an. Für Luteolosid zeigte sich dieses Muster als signifikanter Effekt. Pankoke *et al.* (2013) wiesen für die Iridoidglykoside in *P. lanceolata*

ein duales Verteidigungssystem aus β -Glucosidasen nach. β -Glucosidasen können Aglykone, welche über eine β -D-Glucose verknüpft sind von ihrem Glykon durch Hydrolyse trennen. Möglicherweise nutzt *P. lanceolata* sein duales Verteidigungssystem auch für seine Flavonoide. Die enzymatische Spaltung glykosidisch-gebundener Flavonoide und die daraus resultierende Freisetzung der Aglykone unter biotischem Stress ist für andere Pflanzen bekannt (Graham, 1998). Ein Hinweis auf diese Theorie bestand darin, dass alle nachgewiesenen Flavonoide, die an eine β -D-Glucose gebunden sind, in den nativen Populationen sanken. Quercitrin, welches als einziges der gemessenen Flavonoide sein Aglykon über Rhamnose bindet, zeigte hingegen keine Abnahme. Der Trend zur Zunahme in den invasiven Populationen könnte darauf hinweisen, dass die β -Glucosidase-Aktivität in den invasiven Populationen der Synthese der Flavonoide unterlag. Das Aglykon Luteolin wurde unabhängig von der Herkunft erhöht. Bei Betrachtung des Musters könnte dies für eine enzymatische Hydrolyse aus Luteolosid oder auch aus anderen, nicht gemessenen Glykosiden des Luteolins in den nativen Populationen und für eine Flavonoidsynthese in den invasiven Populationen sprechen. Gründe für diesen Unterschied können vielfältig sein. Einerseits kann die Glucosidaseaktivität am Standort durch abiotische Faktoren beeinflusst worden sein. Thermischer Stress resultiert z.B. oft in oxidativem Stress, was den Proteinstoffwechsel und die Genexpression des membran-assoziierten Proteins auf Dauer beeinflusst haben könnte (Pellissier *et al.*, 2014). Zudem wird die Aktivität des Enzyms von abiotischen Faktoren wie dem pH-Wert des Bodens, der Temperatur sowie durch die Verfügbarkeit von Cofaktoren und dem Wassergehalt beeinflusst (Ghadamyari *et al.*, 2010). Da der Spitzwegerich z.B. ursprünglich aus den gemäßigten Breitengraden stammt, ist es wahrscheinlich, dass das Temperaturoptimum der β -Glucosidasen in den meisten getesteten invasiven Standorten durch die höheren durchschnittlichen Temperaturen, nicht gegeben war (Stewart, 1996; de Deyn *et al.*, 2009). Durch geringere Aktivitäten aufgrund suboptimaler Bedingungen könnten die Pflanzen den selektiven Vorteil ihres dualen Verteidigungssystems verloren haben, wodurch sich auch Mutanten mit genetisch festgeschriebener, geringerer Aktivität durchgesetzt haben könnten. Für einen Beweis dieser Hypothese müssten die β -Glucosidase-Aktivitäten der Pflanzenextrakte getestet werden, die genaue Charakterisierung der Enzyme erfolgen sowie die Spezifität der Glucosidasen aus *P. lanceolata* für Flavonoide untersucht werden. Die Induktion der Flavonoide unter herbivorem Stress in den invasiven Populationen kann sich andererseits wieder nach der NWH aus einer anderen Funktion ergeben haben (Inderjit, 2012). Flavonoide besitzen durch ihre hohe strukturelle Diversität viele verschiedene Funktionen, die sich am neuen Standort als vorteilhaft erwiesen haben könnten. Sie erhalten u.a. den Redoxzustand der Zelle durch ihre antioxidativen Eigenschaften aufrecht, und schützen die Pflanze vor abiotischen Stressoren wie Hitze und UV-Strahlung, was in Populationen aus u.a. Australien, Neuseeland und Südafrika besonderes relevant sein könnte (Mierziak *et al.*, 2014). Flavonoide beeinflussen

zudem den Duft, den Geschmack und die Farbe der Pflanze, wodurch sie für verschiedene Insekten eine anziehende oder abschreckende Wirkung haben können. Die abschreckende Wirkung auf Herbivore könnte sich sekundär für *P. lanceolata* am neuen Standort als vorteilhaft erwiesen haben und der Pflanze als Schutz gegen Herbivore dienen (Mierziak *et al.*, 2014). In Fütterungsstudien wurde eine erhöhte Mortalität beobachtet und das Verhalten, die Entwicklung sowie das Wachstum verschiedener Insektenarten negativ beeinflusst. Flavonoide können die Schmackhaftigkeit des Pflanzenmaterials, den nutritiven Wert und die Verdaulichkeit verringern und auch als Toxin wirken. Ihre Wirkung beruht dabei auf cytotoxischen Effekten und der Komplexbildung von Cofaktoren von Enzymen. Zudem wird vermutet, dass sie oxidativen Stress im Gewebe der Insekten fördern (Goławska *et al.*, 2014; Mierziak *et al.*, 2014). Die SDH eignet sich in Betracht auf die Flavonoide weniger, da der Biosyntheseweg der Flavonoide ein Teil des Phenylpropanoid-Biosynthesewegs darstellt (Abb. 32). Die energetischen Kosten für die Pflanze zur induzierten Synthese der Flavonoide sind daher wahrscheinlich vergleichbar mit dem Energieaufwand zur Produktion von anderen Phenylpropanoiden (Goławska *et al.*, 2014; Mierziak *et al.*, 2014). Die invasiven Populationen besaßen, wie in Abschnitt 4.4 behandelt, höhere konstitutive Mengen innerhalb der Präkursoren und Intermediate des Shikimisäurewegs und Phenylpropanoid-Biosynthesewegs, welche nicht induziert wurden. Die Induktion schien daher im Rahmen eines späteren Syntheseschrittes zu erfolgen.

Bei Betrachtung der Substanzverteilung zwischen den Populationen Brisbane und Tübingen sowie im Hinblick auf GABA und die Flavonoide war ersichtlich, dass nicht alle Substanzen in den invasiven Populationen demselben Trend wie in den nativen Populationen folgen. Durch diese Muster wird deutlich, dass auch eine Umverteilung der Ressourcen sowohl auf energieschonendere als auch auf Metaboliten mit ähnlichem Syntheseaufwand anstatt einer allgemeinen Verminderung der Verteidigungsmechanismen nach EICA-Hypothese in Betracht gezogen werden sollte.

4.6 Warum wurde keine übermäßige, grundlegende Verminderung der Verteidigung nach *Evolution of increased competitive ability*-Hypothese ermittelt?

In den Ergebnissen wurden insgesamt nur wenige signifikante Unterschiede in der Verteidigung bezüglich der Herkunft ermittelt. Die Hauptverteidigungsstrategie mittels Iridoidglykosiden unterschied sich nicht. Der Unterschied in der Induktion von Verbascosid ließ sich nur anhand der Induktion verschiedener Intermediate und Präkursoren der Biosynthesewege erahnen und war auch nicht anhand der Fraßaktivität der Insekten ersichtlich. Zudem unterschied sich die Induktion von GABA nur marginal nicht signifikant und

der Unterschied in der Reaktion der meisten Flavonoide zeichnete sich nur als Trend ab. Möglicherweise könnte dies aussagen, dass keine starke Änderung stattgefunden hat oder dass sich die mikroevolutionären Adaptionen erst am Anfang befanden.

4.6.1 Varianz als Störfaktor

Andere Gründe für diese schwachen Effekte könnten auch durch eine größere Variation innerhalb der Populationen zu erklären sein. Besonders in den invasiven Populationen war eine größere Variation zu erwarten. Während die nativen Populationen nur aus Europa sowie West- und Mittelasien stammten, waren die invasiven Populationen auf verschiedenen Kontinenten beheimatet. Durch die verschiedenen biotischen und abiotischen Faktoren in den unterschiedlichen Ökosystemen wird die Herbivorengemeinschaft in Größe und Zusammensetzung beeinflusst. Die invasiven Populationen waren daher wahrscheinlich einem sehr unterschiedlichen Grad an Herbivorie an ihren Standorten ausgesetzt (Pellissier *et al.*, 2014). Nicht nur der Grad der Herbivorie könnte sich unterscheiden haben, sondern auch der Zeitpunkt der Einführung der Pflanzen in die nicht-nativen Verbreitungsgebiete. Die Einwanderungszeitpunkte waren nicht bekannt. So könnten die invasiven Populationen unterschiedlich lange den neuen abiotischen und biotischen Bedingungen ausgesetzt gewesen sein, wodurch sich das Ausmaß an Selektion und mikroevolutionären Veränderungen maßgeblich unterscheiden könnte. Dabei ist auch zu beachten, dass ebenfalls keine Kenntnis über die Wiederholung von Einführungen bestand. Hierdurch könnte die genetische Variabilität und damit die Produktion von Verteidigungsmetaboliten maßgeblich beeinflusst worden sein (Smith *et al.*, 2020). Dieses Phänomen könnte an den nicht-nativen Standorten in einem unterschiedlichen Ausmaß stattgefunden haben. Durch unterschiedliche Selektion, variable Einwanderungszeiträume sowie verschiedene Wiederholungen der Einführung an einem nicht-heimischen Standort könnte der Genfluss beeinflusst worden sein, was höhere Varianzen und dadurch geringe Effekte erklären könnte (Smith *et al.*, 2020).

Zudem resultiert eine erhöhte Varianz aus der gewählten Methode. Im Rahmen des Experimentes konnten aus technischen Gründen nur 40 Individuen pro Tag in zwei verschiedenen Blöcken getestet werden. Dadurch ergaben sich zum einen geringe Unterschiede im Alter der Pflanzen. Zum anderen beeinflussten die zwei unterschiedlichen Tageszeitpunkte, an denen die Pflanzen nach dem Experiment geerntet wurden, die Lichteinwirkung und damit die Fotosynthese sowie den Metabolismus der Pflanzen. Zudem befanden sich die Pflanzen trotz des gleichen Wuchszeitraumes in unterschiedlichen ontogenetischen Stadien, da manche der Pflanzen blühten, andere wiederum nicht. Dadurch findet immer eine gewisse Ressourcenumverteilung in der Pflanze statt, da diese mehr in ihre Reproduktionsorgane investiert (Dai *et al.*, 2018). Ob die geringen Effekte sich aufgrund der

Herkunft oder aufgrund der verschiedenen ontogenetischen Stadien ergaben, ließ sich nicht überprüfen. Um eine höhere Repräsentativität zu gewährleisten, konnten die blühenden Individuen aufgrund der hohen Anzahl aus dem Experiment nicht ausgeschlossen werden. Der Unterschied zwischen den ontogenetischen Stadien wurde daher vernachlässigt. Die Wahl der Populationen im Rahmen des Experimentes beeinflusste das Ergebnis ebenfalls. Die invasiven Populationen wurden aus unterschiedlichen Standorten der Erde gewählt, um ein möglichst breites, von abiotischen Faktoren unbeeinflusstes Bild zur Überprüfung der ERH und der EICA-Hypothese zu bekommen. Die Repräsentativität der gewählten Stichprobe an Populationen war dabei nur bedingt gewährleistet. Die invasiven Populationen der Stichprobe waren geographisch nicht gleichmäßig verteilt. Aus Ländern und Kontinenten wie z.B. Australien und Neuseeland waren mehr als eine Population in der Stichprobe präsent. Aus anderen großen Kontinenten, wie Afrika und Südamerika, war wiederum nur eine Population in der Stichprobe vorhanden. So könnten klimatische und andere ähnliche Bedingungen aus Standorten mit geringer räumlicher Distanz die Ergebnisse beeinflusst und dominiert haben. Zur Gewährleistung einer höheren Repräsentativität der Ergebnisse müssten Populationen mit einer besseren geographischen Verteilung getestet werden. Zudem sollten in gleicher Anzahl mehrere Populationen pro Land geprüft werden. Aufgrund der technischen Voraussetzungen konnten pro Population ebenfalls nur jeweils fünf Individuen für Kontroll- und Herbivoriegruppen gewählt werden, was ebenfalls die Repräsentativität ein wenig verminderte. Die chemischen Analysen der Pflanzenstoffe könnten auch zu einer erhöhten Varianz geführt haben, da die absolute Quantifizierung für alle Substanzen mit den internen, deuterierten Phytohormonstandards vorgenommen wurde. Diese unterschieden sich strukturell teilweise erheblich von den Analyten. Interne Standards und Analyten besaßen daher unterschiedliche chemische Eigenschaften, was in einem unterschiedlichen Einfluss von Probenaufbereitung und Messung resultiert. Dadurch konnten systematische Fehler wie Verluste bei der Probenvorbereitung und zufällige Fehler wie Schwankungen des Gerätes bei einzelnen Proben nur bedingt minimiert werden. Bei der relativen Quantifizierung, bei der keine Responsefaktoren bestimmt wurden, ergaben sich noch höhere Schwankungen in den Werten. Da das Experiment jedoch eine deskriptive Studie darstellte, bei der entscheidend ist, dass alle Proben unter gleichen Bedingungen aufbereitet und gemessen werden, eignet sich eine Quantifizierung über gegebene, interne Standards besser als über externe Kalibrierungen. Die Quantifizierung der Zucker, welche wiederum über eine externe Kalibrierung erfolgte, stellte daher eine höhere Fehlerquelle in Bezug auf die Vergleichbarkeit zwischen den Proben dar. Die Standards besaßen zum einen eine differierende Matrix zu den Proben und zum anderen können Fehler bei der Probenaufbereitung und Schwankungen des Gerätes nicht berücksichtigt werden. Schwankungen der HPLC-MS/MS-Messung im Rahmen der Zuckeranalytik wurden versucht zu minimieren, indem die Kalibrierreihen bei der Messung vor, nach und zwischen die Proben geschaltet waren.

4.6.2 Der Spitzwegerich – ein vielseitig beliebtes Kraut

Ein anderer Grund für die nur geringfügig veränderte Verteidigung im nicht-heimischen Verbreitungsgebiet könnte beim Spitzwegerich selbst zu finden sein. Denn der Spitzwegerich ist eine sich an Umweltbedingungen sehr anpassungsfähige Pflanze, und besitzt neben der in Abschnitt 4.1 diskutierten phänotypischen Plastizität bezüglich seiner Morphologie auch eine hohe metabolische Plastizität. Diese ist unabhängig vom Genotyp und könnte so beispielsweise die geringe Effektgröße der herkunftsbezogenen Unterschiede bezüglich der Gehalte an Iridoidglykosiden und Verbascosid unter gleichen Wuchsbedingungen erklären (Miehe-Steier *et al.*, 2015).

Eingeführte Pflanzen sind zudem nicht frei von Herbivoren. Die phytophage Fauna auf der Pflanze kann dabei so vielfältig wie auf einheimischen Arten sein. *Plantago lanceolata* ist eine Pflanzenart, die schnell von Herbivoren als Nahrungspflanze erkannt wird. Die Pflanze kann dadurch möglicherweise keinen selektiven Vorteil aus der Reduzierung von Verteidigungsmechanismen ziehen (Maron & Vilà, 2001). Hinweise darauf sind in der Literatur zu finden. In Neuseeland ist beispielsweise eine Vielzahl von herbivoren Insekten auf dem Spitzwegerich vermerkt (Stewart, 1996). Zudem sind die Hauptmetabolite des Spitzwegerichs, die Iridoidglykoside, im Pflanzenreich keine seltene Substanzklasse und in über 50 weiteren Pflanzenfamilien vertreten. So existieren viele Herbivore, die sich auf diese Substanzen spezialisiert haben. In Sierra Nevada in Kalifornien wurde u.a. beobachtet, dass der dort heimische Iridoidglykosid-Spezialist *Euphydras editha* den Spitzwegerich in sein Nahrungsspektrum etabliert hat (de Deyn *et al.*, 2009; Dobler *et al.*, 2011; Maron & Vilà, 2001). Zudem haben sich Spezialisten aus nativen Regionen mit ihrer Wirtspflanze weltweit verbreitet (Yoshitake *et al.*, 2016). Aufgrund der Belege aus der Literatur ist ersichtlich, dass die ERH auf den Spitzwegerich nicht oder nur für einen kurzem Zeitraum bedingt zutreffen könnte. Die Pflanze muss entgegen der Hypothese im nicht-nativen Verbreitungsgebiet sowohl neuen Generalisten als auch neuen und eingeführten heimischen Spezialisten entgegenwirken, um sich etablieren zu können. Ein zu kurzer Zeitraum ohne Herbivorie könnte eventuell für eine genetische Veränderung der Verteidigungsstrategien nicht ausreichend sein (Inderjit, 2012; Maron & Vilà, 2001). Nach der *Biotic resistance hypothesis* muss der Spitzwegerich für eine erfolgreiche Invasion für eine gewisse Zeit ohne den Einfluss von Herbivoren an nicht-nativen Standorten gewachsen sein. Die Hypothese geht davon aus, dass eine Invasion erschwert wird, je artenreicher das Ökosystem ist. Die Populationsdichte der Pflanzen muss gemäß der Hypothese für eine Invasion erst einen Schwellenwert ohne herbivoren Druck überschreiten. Ist der Schwellenwert überschritten, lässt sich die Invasion durch biotische Einflüsse nicht mehr verhindern (Maron & Vilà, 2001).

Die größere Variation aufgrund der verschiedenen Gegebenheiten, aber auch die Tatsache, dass *P. lanceolata* im nicht-nativen Raum eine bei Herbivoren beliebte Nahrungsquelle ist, könnte dazu geführt haben, dass sich nur verminderte Effekte zeigten.

4.7 Wie ist trotz geringfügig verminderter Verteidigung ein höheres Maß an experimenteller Herbivorie zu erklären?

Trotz vergleichbarer Konzentrationen der Hauptverteidigungsmetaboliten und höheren Konzentrationen an GABA und Flavonoiden wurde ein höherer Biomasseverlust nach der Behandlung in den invasiven Populationen beobachtet. Das könnte durch die sich andeutende, in Abschnitt 4.4 diskutierte, Induktion von Verbascosid in den nativen Populationen zu erklären sein, was jedoch keine Wirkung auf die Bewegungsaktivität der Herbivoren hatte (Agrawal *et al.*, 1999). Da der Spitzwegerich bezüglich seiner Verteidigung noch nicht vollständig verstanden ist, könnten zudem auch Konzentrationsunterschiede von anderen, noch nicht identifizierten Metaboliten eine Rolle spielen. Die exemplarische Non-Target-Analytik zeigte sowohl im positiven als auch negativen Ionisierungsmodus eine Vielzahl von Substanzen, die unter herbivorem Stress signifikant erhöht wurden und sich in der Herkunft unterscheiden könnten.

Phagostimulantien spielen darüber hinaus beim Fraßverhalten der Insekten eine große Rolle. Diese stellen Substanzen dar, die die Geschmacksnerven der Herbivoren elektrophysiologisch stimulieren und so den Fraß anregen können. Nährstoffe wie Aminosäuren, Zucker, Zuckeralkohole und Vitamine können dabei als Phagostimulantien fungieren (Bernays *et al.*, 2000). Dabei kann für polyphage Insekten keine Vorhersage in den Nährstoffen von *P. lanceolata* getroffen werden, da jedes Insekt auf andere Phagostimulantien reagiert und in jeder Pflanze die Anwesenheit anderer Stoffe wie Phagodeterrentien die elektrophysiologische Stimulation beeinflussen kann (Bernays *et al.*, 2000). Unter der Annahme, dass die invasiven Populationen aufgrund evolutionärer Anpassungen wie erhöhter Fotosyntheseraten, erhöhter Speicherkapazitäten oder differierender Biosynthesewege einen Unterschied in den Konzentrationen an Nährstoffen aufweisen, könnte dies neben der induzierten Verteidigung, eine Erklärung für den höheren Biomasseverlust liefern (Kato-Noguchi *et al.*, 2015). In den Kontrollproben wurden keine signifikanten Unterschiede in einzelnen Aminosäure- oder Zuckergehalten der Blätter in der Herkunft ermittelt, wodurch keine grundsätzliche Verringerung in der Akkumulation von Nährstoffen vorlag. Die Senkung von Nährstoffen unter herbivorem Stress stellt ebenfalls eine mögliche Verteidigungsstrategie der Pflanzen dar (Rohner & Ward, 1997). Pankoke & Müller (2013) wiesen eine starke Abnahme der kohlenstoffbasierten Primärmetabolite in den Blättern von *P. lanceolata* unter herbivorem Stress nach. In den Proben wurde ebenfalls eine tendenzielle Verringerung von Nährstoffen aufgrund der Raupenherbivorie festgestellt. Ob der Effekt für eine gezielte

Nährstoffreduktion, für eine Reduktion aufgrund der verminderten Kohlenstofffixierung in Folge der Blattflächenverluste oder für eine Reduktion aufgrund der Ressourcennutzung zur Synthese von Sekundärmetaboliten sprach, ließ sich im Experiment nicht überprüfen (Pankoke & Müller, 2013; Schwachtje & Baldwin, 2008). Ein Hinweis auf diese Art der Verteidigung könnte in den Aminosäuren zu finden sein, denn Prolin, Alanin, Leucin, Glutamin und Glutamat wurden unter herbivorem Stress in den Blättern signifikant gesenkt und in den Wurzeln signifikant erhöht (siehe Anhang, Tab. 37 und Tab. 38). Andererseits könnte dies entweder für eine Ressourcenumverteilung oder für eine Ressourcenaufstockung in den Wurzeln nach einem Verbrauch in den Blättern sprechen (Pankoke & Müller, 2013). Diese Interaktion der Pflanzenorgane zeigte keinen Unterschied in der Herkunft. Durch den herbivoren Stressor wurden jedoch in den nativen Populationen tendenziell die Zucker- und Sorbitolressourcen der Blätter stärker als in den invasiven Populationen beansprucht. Den Herbivoren standen somit in invasiven Populationen mehr dieser Zucker zur Verfügung. Meisner *et al.* (1972) zeigten, dass u.a. die Kohlenhydrate D-Glucose, D-Fructose, Saccharose und Raffinose eine starke phagostimulierende Wirkung auf *S. littoralis* haben. Eine marginal nicht signifikant stärkere Senkung fand für die nachgewiesenen Pentasaccharide, und eines der Trisaccharide statt. Tendenziell wurde auch das Tetrasaccharid unter herbivorem Stress in den nativen Populationen stärker reduziert (siehe Anhang, Tab. 40 und Tab. 41). Eines dieser Zucker oder auch eine nicht gemessene Substanz könnte für *S. littoralis* also als Phagostimulans gedient haben und zu höherem Fraß angeregt haben. Zum derzeitigen Stand der Analyse ließ sich jedoch hierzu keine Aussage treffen.

4.8 Werden die Sekundärmetaboliten stärker von anderen Umweltfaktoren unabhängig der *Enemy release hypothesis* beeinflusst?

Die Sekundärmetaboliten, die einen geringen Unterschied in den invasiven Populationen aufwiesen, zeigen, wie zum Teil in den Abschnitten 4.4 und 4.5 beschrieben, in ihren allgemeinen Funktionen Wirkungen gegen eine Vielfalt von abiotischen Stressoren. Unter diesen Metaboliten finden sich ABA, Verbascosid, GABA und die Flavonoide (Erb *et al.*, 2012; Mierziak *et al.*, 2014; Noel *et al.*, 2005; Shelp *et al.*, 2009). Zudem wird der Proteinstoffwechsel durch abiotische Stressoren beeinflusst, was anschließend einen Effekt auf die Synthese der Sekundärmetaboliten haben könnte. Diese Anpassungen am nicht-heimischen Standort könnten sich auch unabhängig von der ERH genetisch fixiert haben (Pellissier *et al.*, 2014). Die Daten der Analyse lassen sich für eine solche Korrelation nicht gut verwenden, da die Populationen keinem Umweltgradienten folgten. Die Daten stammten randomisiert von verschiedenen Ländern der Erde und waren, wie in Abschnitt 4.7 diskutiert, geographisch für eine solche Korrelation nicht gut verteilt. Dadurch kann keine genaue Aussage über den Einfluss von z.B. Höhenlage, Temperatur oder Lichteinwirkung getroffen werden. Aus der

Literatur ist bekannt, dass die Synthese der Metabolite beim Spitzwegerich stark von diesen Umwelteinflüssen abhängen kann. Pellissier *et al.* (2014) wiesen u.a. eine Abnahme der Iridoidglykoside für geerntete Pflanzen mit steigendem Höhengradienten und abnehmender Temperatur nach. Die für die Arbeit verwendeten Populationen stammten von Standorten mit unterschiedlicher Entfernung vom Äquator, wodurch die Pflanzen einer unterschiedlichen Anzahl an Lichttagen und variierender Strahlungsintensität ausgesetzt waren. Strahlung kann einen Einfluss auf die Produktion von Sekundärmetaboliten haben, so zeigten Mccloud & Berenbaum (1999) eine erhöhte Verbascosidkonzentration von jungen Pflanzen des Spitzwegerichs unter erhöhter UV-B-Strahlung. Zudem lagen keine Daten über die Pflanzengemeinschaft an den Standorten vor, was ebenfalls einen wichtigen Faktor für den Metabolismus des Spitzwegerichs darstellt. So wiesen Mraja *et al.* (2011) Effekte der Biodiversität auf die Iridoidglykosidgehalte nach. Die Populationen stammten zudem von Standorten mit unterschiedlicher menschlicher Aktivität. Unter den Standorten befanden sich natürliche Graslandschaften, aber auch Weideflächen und städtische Habitate. Der Metabolismus des Spitzwegerichs hängt ebenfalls von menschlichen Einflüssen ab (Stewart, 1996; Wäschke *et al.*, 2015). Biodiversität und Landnutzung haben auf die Etablierung des Spitzwegerichs und damit auch auf seine chemische Zusammensetzung einen großen Effekt. Daten zur Populationsdichte und der erfolgreichen Etablierung der einzelnen Populationen an ihren neuen, nicht-heimischen Standorten lagen ebenfalls nicht vor. Langfristigen Wettbewerbserfolg besitzt der Spitzwegerich nur auf wenig fruchtbaren Böden, mit einer verminderten Dichte von persistenten Gräsern und geringen menschlichen Störungen, wie Beweidungen, Trittsstörungen sowie Herbizid- und Düngemittelanwendungen (Stewart, 1996). Diese Faktoren wurden im Rahmen der Analyse ebenfalls vernachlässigt und könnten Einfluss auf das Ergebnis genommen und auch zur Erhöhung der in Abschnitt 4.6.1 diskutierten Varianz geführt haben.

Die meisten der Studien, die sich mit Umwelteinflüssen auf den Metabolismus von *P. lanceolata* beschäftigen, vergleichen jedoch nur einen Genotyp unter verschiedenen Bedingungen. Da im Experiment verschiedene Populationen unter gleichen Bedingungen ähnliche metabolische Werte zeigten, ließ sich auch auf eine hohe phänotypische Plastizität bezüglich des Metabolismus sowie hohe Anpassungsfähigkeit der Pflanze schließen. Eine Aussage über die mögliche genetische Fixierung metabolischer Veränderungen ist auf Grundlage dessen nicht möglich.

5 Fazit und Ausblick

Die Ergebnisse des Experimentes zeigten nur eine leichte Veränderung in der direkten Verteidigungsstrategie der invasiven Populationen auf, die auf eine beginnende Umverteilung der Ressourcen hindeuten könnte. Einige Resultate wiesen auf die EICA-Hypothese hin, andere wiederum nicht. Analoge Ergebnisse wurden ebenfalls bei der parallel durchgeführten Analyse der indirekten Verteidigung ermittelt, da die meisten VOC-Klassen nicht signifikant durch die Herkunft beeinflusst wurden. Die Daten der VOC-Analyse sind hier nicht gezeigt.

Hinweise auf die EICA-Hypothese fanden sich u.a. in den morphologischen Merkmalen, repräsentiert durch eine signifikant höhere oberirdische Biomasse sowie ein marginal nicht signifikant verringertes Wurzel/Spross-Verhältnis der invasiven Populationen, was beides Hinweise auf eine gesteigerte Investition in Wachstum und Größe sein könnte (Inderjit, 2012; Mokany *et al.*, 2006). Für eine Verringerung der Verteidigungsmechanismen sprach der höhere Biomasseverlust unter Herbivorie, ein verminderter Verbrauch an Kohlenhydraten, eine verringerte Aktivierung der bioaktiven Jasmonate und ABA sowie ein erhöhter Abbau der Phytohormone in den invasiven Populationen, was im Zusammenhang mit der erhöhten Biomasse und einer möglichen verminderten Induktion der Biosynthesewege stehen könnte (Pauwels *et al.*, 2009).

Gegen die EICA-Hypothese sprachen in den phänotypischen Merkmalen die unveränderte Blattfläche und die signifikant niedrigere SLA, was für eine gleichgebliebene bzw. sogar verringerte Investition in Fotosyntheseorgane sprach (Inderjit, 2012; Wang *et al.*, 2017; Zheng *et al.*, 2009). Zudem unterschieden sich die meisten Merkmale nur geringfügig und zeigten keine signifikanten Effekte. Gegen die Hypothesen sprach ebenfalls, dass sich die konstitutiven Konzentrationen der mengenmäßig größten Hauptmetabolite des Spitzwegerichs Aucubin, Catalpol und Verbascosid nicht unterschieden. Zudem wurden als mögliche Metabolite zur Verteidigung diverse Flavonoide und GABA identifiziert, die bisher noch nicht im Zusammenhang der Herbivorie für den Spitzwegerich beschrieben wurden. Diese zeigten im Vergleich von nativen und invasiven Populationen ein Bild, dass eher der NWH oder der SDH zuzuordnen war (Inderjit, 2012).

Reproduktionsmerkmale konnten nicht verglichen werden, da die Pflanzen unterschiedliche ontogenetische Stadien aufwiesen und innerhalb von zwölf Wochen keine Ansätze zur vegetativen Fortpflanzung zeigten. Dadurch konnte jedoch auf eine genetisch veränderte Blühphänologie geschlossen werden.

Die leichte Umverteilung zeigte so insgesamt kein eindeutiges Bild, wodurch sich die EICA-Hypothese weder belegen noch widerlegen ließ. Aussagen ließ sich nur, dass sich wahrscheinlich leichte mikroevolutionäre Veränderungen im Metabolismus des Spitzwegerichs im nicht-heimischen Verbreitungsgebiet ergeben haben, die sich noch am

Anfang befanden oder für einen Etablierungserfolg nicht umfangreich sein mussten. Effekte aufgrund der verschiedenen ontogenetischen Stadien und dem Mangel der geographischen Verteilung der untersuchten Populationen konnten als mögliche Erklärung nicht ausgeschlossen werden. Die geringe Effektgröße der Herkunft im Vergleich der morphologischen Parameter und der Hauptverteidigungsstrategie von weltweit verteilten Populationen, unterstrich die große phänotypische Plastizität bezüglich der Morphologie und des Metabolismus des Spitzwegerichs. Diese Eigenschaften liefern einen guten Erklärungsansatz auf einen Invasionserfolg, welcher nicht durch die EICA-Hypothese erklärt werden muss (Luo *et al.*, 2019; Miede-Steier *et al.*, 2015). Der Spitzwegerich ist in der Verteidigung gegen Herbivore außer in Bezug auf seine Hauptmetaboliten noch wenig erforscht. Dies erfordert weitere Analysen, um allgemeine Resistenzmechanismen der Pflanze genauer beschreiben zu können und um ein größeres Bild im Vergleich zwischen nativen und invasiven Populationen zu erlangen.

Beim Vergleich mit der Literatur ist ersichtlich, dass andere Pflanzen differierende Muster aufzeigen können und mehr oder weniger den Rahmen der EICA-Hypothese erfüllen. Zu bedenken ist, dass Hypothesen lediglich Modelle sind und nicht für jede Pflanze verallgemeinert werden können. Die zukünftigen Analysen sollten dennoch dazu beitragen, eine gezieltere Aussage bezüglich des Invasionsverhaltens zu treffen. Die Non-Target-Analytik könnte einen allgemeinen Überblick über eine Vielzahl von unterschiedlichen Substanzen liefern, die zu einem klareren Bild beitragen könnten. Die untersuchte native und die invasive Population zeigten im Gegensatz zu den anderen Analysen eine starke Veränderung in der Reaktion auf die Raupenherbivorie. Das differierende Bild sollte daher für alle Populationen geprüft werden. Dadurch kann ein allgemeines Muster bestätigt oder widerlegt und Effekte des ontogenetischen Unterschiedes der beiden verglichenen Populationen ausgeschlossen werden. Im Falle eines allgemeinen Musters sollte eine Identifizierung der differierenden Substanzen erfolgen.

Um die EICA-Hypothese im Rahmen der ERH genauer zu untersuchen, sollte geprüft werden, ob die möglichen mikroevolutionären Unterschiede stärker durch abiotische Faktoren verursacht worden sind als durch den *Enemy release*. Daher sollten Konzentration und Induktion von Substanzen wie GABA, Flavonoiden und vor allem den Hauptmetaboliten aus Populationen entlang eines Umweltgradienten verglichen werden. Diese Untersuchungen könnten zur Funktionsaufklärung von GABA und den Flavonoiden im Spitzwegerich beitragen und einen Hinweis liefern, warum diese nur in den invasiven Populationen induziert wurden. Zudem können die Präferenz und die Leistung von verschiedenen herbivoren Insekten Aufschluss über differierende Phagostimulantien, -deterrenzien sowie Toxine liefern. Ein *Choice-Test* zur Überprüfung der Präferenz, bei dem den Insekten alle Populationen gleichzeitig präsentiert werden, sowie die Prüfung der Fitness der Herbivoren nach einem Fraß

an unterschiedlichen Populationen, könnten daher ebenfalls Erkenntnis über Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung liefern.

Jedes Insekt besitzt darüber hinaus spezifische HAMPs, die unterschiedlichste Verteidigungsmechanismen auslösen können (Erb *et al.*, 2012). Raupenherbivorie ist nur eine Form der Pflanzen-Herbivoren-Interaktionen, mit denen der Spitzwegerich umgehen muss. In einem Ökosystem existieren neben den Raupen noch andere kauende Folivore, Saftsauger, Sprossbohrer sowie Wurzel- und Samenfresser, die unterschiedlichste Gewebe des Spitzwegerichs befallen können. Die Anwesenheit von Samenfressern ist für invasive Pflanzen besonders relevant, da diese einen direkten Einfluss auf die Populationsgröße haben können (Maron & Vilà, 2001). Für saugende Insekten ist lange bekannt, dass diese in den meisten Pflanzen einen differierenden Signalweg über Salicylsäure nutzen (Erb *et al.*, 2012). Zudem wurde im Experiment nur ein Generalist geprüft. Spezialisten könnten ebenfalls einen Unterschied in der phytochemischen Reaktion der Pflanze hervorrufen. Folgende Analysen sollten demnach den Vergleich in der phytochemischen Reaktion des Spitzwegerichs auch auf andere Arten der Herbivorie zwischen nativen und invasiven Populationen in Betracht ziehen und neben Wurzeln und Blättern auch andere Gewebe untersuchen. Je nach Häufigkeit und Art der Herbivorie im nicht-nativen Verbreitungsgebiet könnte dies ebenfalls die Verteidigungsmechanismen auf unterschiedliche Weise beeinflusst haben.

Zukünftige Analysen helfen ein besseres Verständnis zu erlangen, warum sich *P. lanceolata* so erfolgreich an nicht-nativen Standorten etablieren konnte. Das Experiment wies eine erste Richtung auf und bereitete die Grundlage für weitere Untersuchungen. Ein genaueres Verständnis über die Invasion von Pflanzen ist ein wichtiger Schritt, um Auswirkungen auf bestehende Ökosysteme vorherzusagen, zukünftige Invasionen zu verhindern und die Biodiversität zu schützen.

6 Literaturverzeichnis

- Acosta IF, Farmer EE (2010) Jasmonates. *The Arabidopsis Book* 8:e0129
- Adler LS, Schmitt J, Bowers MD, Adler LS, Schmitt J, Bowers MD (1995) Genetic variation in defensive chemistry in *Plantago lanceolata* (*Plantaginaceae*) and its effect on the specialist herbivore *Junonia coenia* (*Nymphalidae*). *Oecologia* 101:75-85
- Agrawal AA, & Karban R (1999) Why induced defenses may be favored over constitutive strategies in plants. In: Tollrian R, Harvell CD (Hrsg). *The Ecology and Evolution of Inducible Defenses*, Princeton University Press, Princeton, S. 45-61
- Agrawal AA, Tuzun S, Bent E (1999) Induced Plant Defense: Evolution of Induction and Adaptive Phenotypic Plasticity. In: Agrawal AA, Tuzun S, Bent E (Hrsg). *Inducible plant defenses against pathogens and herbivores: Biochemistry, ecology, and agriculture*, American Phytopathological Society Press, St. Paul, S. 251-268
- Albrechtsen BR (2000) Flowering phenology and seed predation by a tephritid fly: Escape of seeds in time and space. *Écoscience* 7(4):433-438
- Aldea M, Hamilton JG, Resti JP, Zangerl AR, Berenbaum MR, DeLucia EH (2005) Indirect effects of insect herbivory on leaf gas exchange in soybean. *Plant, Cell and Environment* 28:402-411
- Arimura GI, Ozawa R, Maffei ME (2011) Recent Advances in Plant Early Signaling in Response to Herbivory. *International Journal of Molecular Sciences* 12(6):3723-3739
- Baldwin IT, Schmelz EA (1994) Constraints on an induced defense: the role of leaf area. *Oecologia* 97:424-430
- Barrett SCH, Colautti RI, Eckert CG (2008) Plant reproductive systems and evolution during biological invasion. *Molecular Ecology* 17(1):373-383
- Barton KE (2013) Ontogenetic patterns in the mechanisms of tolerance to herbivory in *Plantago*. *Annals of Botany* 112(4):711-720
- ben Rejeb I, Pastor V, Mauch-Mani B (2014) Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: Molecular mechanisms. *Plants* 3(4):458-475.

- Bernards MA., Båstrup-Spohr L (2008) Phenylpropanoid metabolism induced by wounding and insect herbivory. In: Schaller A (Hrsg). Induced Plant Resistance to Herbivory, Springer Netherlands, Niederlande, S. 189-211
- Bernays EA, Chapman RF, Singer MS (2000) Sensitivity to chemically diverse phagostimulants in a single gustatory neuron of a polyphagous caterpillar. *Journal of Comparative Physiology A* 186:13-19
- Bouché N, Fromm H (2004) GABA in plants: just a metabolite? *Trends in Plant Science* 9(3):110-115
- Bown AW, MacGregor KB, Shelp BJ (2006) Gamma-aminobutyrate: defense against invertebrate pests? *Trends in Plant Science* 11(9):424-427
- Briens M, Larher F (1983) Sorbitol Accumulation in *Plantaginaceae*; Further Evidence for a Function in Stress Tolerance. *Z Pflanzenphysiol* 110:447-458
- Callaway RM, Ridenour WM (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Front Ecol Environ* 2(8):436-443
- Cecich RA, Sullivan NH (1999) Influence of weather at time of pollination on acorn production of *Quercus alba* and *Quercus velutina*. *Can J For Res* 29:1817-1823
- Cipollini D, Mbagwu J, Barto K, Hillstrom C, Enright S (2005) Expression of constitutive and inducible chemical defenses in native and invasive populations of *Alliaria petiolata*. *Journal of Chemical Ecology* 31(6):1255-1267
- Clifford HT (1962) Insect Pollination of *Plantago lanceolata* L. *NATURE* 193:196.
- Clifford MN, Johnston KL, Knight S, Kuhnert N (2003) Hierarchical scheme for LC-MSⁿ identification of chlorogenic acids. *J. Agric. Food Chem.* 51(10):2900-2911
- Curtis W, Darton W, Edwards S, Kilburn W, Sowerby J, Sansom F, White B, White B (1777) *Flora Londinensis*, or, Plates and descriptions of such plants as grow wild in the environs of London: With their places of growth, and times of flowering, their several names according to Linnæus and other authors. In: Curtis W (Hrsg). Bd. 2, London

- Dai C, Luo WJ, Gong YB, Liu F, Wang ZX (2018) Resource reallocation patterns within *Sagittaria trifolia* inflorescences following differential pollination. *American Journal of Botany* 105(4):803-811
- de Deyn GB, Biere A, van der Putten WH, Wagenaar R, Klironomos JN (2009) Chemical defense, mycorrhizal colonization and growth responses in *Plantago lanceolata* L. *Oecologia* 160(3):433-442
- Dobler S, Petschenka G, Pankoke H (2011) Coping with toxic plant compounds - The insect's perspective on iridoid glycosides and cardenolides. *Phytochemistry*, 72(13): 1593-1604
- Elzinga JA, Atlan A, Biere A, Gigord L, Weis AE, Bernasconi G (2007) Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Trends in Ecology and Evolution* 22(8):432-439
- Erb M, Meldau S, Howe GA (2012) Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. *Trends Plant Sci.* 17(5):250-259
- Fernández-Milmanda GL, Crocco CD, Reichelt M, Mazza CA, Köllner TG, Zhang T, Cargnel MD, Lichy MZ, Fiorucci AS, Fankhauser C, Koo AJ, Austin AT, Gershenzon J, Ballaré CL (2020) A light-dependent molecular link between competition cues and defence responses in plants. *Nature Plants* 6(3):223-230
- Ferrazzano GF, Cantile T, Roberto L, Ingenito A, Catania MR, Roschetto E, Palumbo G, Zarrelli A, Pollio A (2015) Determination of the in vitro and in vivo antimicrobial activity on salivary *streptococci* and *lactobacilli* and chemical characterisation of the phenolic content of a *Plantago lanceolata* infusion. *BioMed Research International* 2015
- Fontana A, Reichelt M, Hempel S, Gershenzon J, Unsicker SB (2009) The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on direct and indirect defense metabolites of *Plantago lanceolata* L. *J Chem Ecol* 35(7):833-843
- Fuchs A, Bowers MD (2004) Patterns of iridoid glycoside production and induction in *Plantago lanceolata* and the importance of plant age. *Journal of Chemical Ecology* 30(9)
- Funes L, Laporta O, Cerdán-Calero M, Micol V (2010) Effects of verbascoside, a phenylpropanoid glycoside from *lemon verbena*, on phospholipid model membranes. *Chemistry and Physics of Lipids* 163(2):190-199

- GBIF Secretariat (2019). *Plantago lanceolata* L. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2020-04-11.
- Ghadamyari M, Hosseininaveh V, Sharifi M (2010) Partial biochemical characterization of α - and β -glucosidases of lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lep.: Pyralidae). C.R. Biologies 333(3):197-204
- Goławska S, Łukasik I (2012) Antifeedant activity of luteolin and genistein against the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. Journal of Pest Science 85(4):443-450
- Goławska S, Sprawka I, Łukasik I, Goławska A (2014) Are naringenin and quercetin useful chemicals in pest-management strategies? Journal of Pest Science 87(1):173-180
- Graham TL (1998) Flavonoid and flavonol glycoside metabolism in *Arabidopsis*. Plant Physiol. Biochem 36(2):135-144
- Hamida BM, Biere A, van Damme JMM (2002) Two herbivore-deterrent iridoid glycosides reduce the in-vitro growth of a specialist but not of a generalist pathogenic fungus of *Plantago lanceolata* L. Chemoecology 12:195-192
- Hanley ME (2012) Seedling defoliation, plant growth and flowering potential in native- and invasive-range *Plantago lanceolata* populations. Weed Research 52(3):252-259
- Huang H, Liu B, Liu L, Song S (2017) Jasmonate action in plant growth and development. Journal of Experimental Botany 68(6):1349-1359
- Huang T, Jander G, de Vos M (2011) Non-protein amino acids in plant defense against insect herbivores: Representative cases and opportunities for further functional analysis. Phytochemistry 72(13):1531-1537
- Hulme PE (2009) Trade, transport and trouble: managing invasive species pathways in an era of globalization. Journal of Applied Ecology 46(1):10-18
- Inderjit (2012) Exotic Plant Invasion in the Context of Plant Defense against Herbivores. Plant Physiology 158(3):1107-1114

- Jose S, Singh H, Batish D, Kohli RK, Batish D, Singh H, Kaur S, Kohli R (2013) Novel weapon hypothesis for the successful establishment of invasive plants in alien environments. In: Jose S, Singh H, Batish D, Kohli RK, Batish D (Hrsg). *Invasive Plant Ecology*, CRC Press, New York, S. 19-28
- Kato-Noguchi H, Hamada N, Clements DR (2015) Phytotoxicities of the invasive species *Plantago major* and non-invasive species *Plantago asiatica*. *Acta Physiologiae Plantarum* 37(3)
- Korkina LG (2007) Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: From plant defense to human health. *Cellular and Molecular Biology* 53(1):15-25
- Lacey EP, Roach DA, Herr D, Kincaid S, Perrott R (2003) Multigenerational effects of flowering and fruiting phenology on *Plantago lanceolata*. *Ecology* 84(9):2462-2475
- Liu CJ (2012) Deciphering the Enigma of Lignification: Precursor Transport, Oxidation, and the Topochemistry of Lignin Assembly. *Molecular Plant* 5(2):304-317
- Luo X, Xu X, Zheng Y, Guo H, Hu S (2019) The role of phenotypic plasticity and rapid adaptation in determining invasion success of *Plantago virginica*. *Biological Invasions* 21(8):2679-2692
- Maron JL, Vilà M (2001) When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *OIKOS* 95:361-373
- Mccloud ES, Berenbaum M (1999) Effects of enhanced UV-B radiation on a weedy forb (*Plantago lanceolata*) and its interactions with a generalist and specialist herbivore. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 93:233-247
- Meena MK, Prajapati R, Krishna D, Divakaran K, Pandey Y, Reichelt M, Mathew MK, Boland W, Mithöfer A, Vadassery J (2019) The Ca²⁺ channel CNGC19 regulates *Arabidopsis* defense against *Spodoptera* herbivory. *Plant Cell* 31(7):1539-1562
- Meisner J, Ascherl KRS, Flowers HM (1972) The feeding response of the larva of the egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* Boisd., to sugars and related compounds - I. phagostimulatory and deterrent effects. *Comp. Biochem. Physiol* 42:899-914

- Miehe-Steier A, Roscher C, Reichelt M, Gershenzon J, Unsicker SB (2015) Light and nutrient dependent responses in secondary metabolites of *Plantago lanceolata* offspring are due to phenotypic plasticity in experimental grasslands. PLoS ONE 10(9)
- Miersch O, Neumerkel J, Dippe M, Stenzel I, Wasternack C (2008) Hydroxylated jasmonates are commonly occurring metabolites of jasmonic acid and contribute to a partial switch-off in jasmonate signaling. New Phytologist 177(1):114-127
- Mierziak J, Kostyn K, Kulma A (2014). Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment. Molecules 19(10):16240-16265
- Mithöfer A, Boland W (2012) Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects. Annual Review of Plant Biology 63(1):431-450
- Mokany K, Raison RJ, Prokushkin AS (2006). Critical analysis of root: shoot ratios in terrestrial biomes. Global Change Biology 12(1):84-96
- Mraja A, Unsicker SB, Reichelt M, Gershenzon J, Roscher C (2011) Plant community diversity influences allocation to direct chemical defence in *Plantago lanceolata*. PLoS ONE 6(12)
- Nambara E, Marion-Poll A (2005) Abscisic Acid Biosynthesis and Catabolism. Annu. Rev. Plant Biol. 56:165-185
- Nguyen D, Rieu I, Mariani C, van Dam NM (2016) How plants handle multiple stresses: hormonal interactions underlying responses to abiotic stress and insect herbivory. Plant Molecular Biology 91(6):727-740
- Noel JP, Austin MB, Bomati EK (2005) Structure-function relationships in plant phenylpropanoid biosynthesis. Curr Opin Plant Biol 8(3):249-253
- Pankoke H, Buschmann T, Müller C (2013) Role of plant β -glucosidases in the dual defense system of iridoid glycosides and their hydrolyzing enzymes in *Plantago lanceolata* and *Plantago major*. Phytochemistry 94:99-107
- Pankoke H, Müller C (2013) Impact of defoliation on the regrowth capacity and the shoot metabolite profile of *Plantago lanceolata* L. Plant Physiology and Biochemistry 71:325-333

- Pauwels L, Inzé D, Goossens A (2009) Jasmonate-inducible gene: what does it mean? Trends in Plant Science 14(2):87-91
- Pellissier L, Roger A, Bilat J, Rasmann S (2014) High elevation *Plantago lanceolata* plants are less resistant to herbivory than their low elevation conspecifics: Is it just temperature? Ecography 37(10):950-959
- Plaxton WC, Podestá FE (2006). The functional organization and control of plant respiration. Critical Reviews in Plant Sciences 25(2):159-198
- Pommerrenig B, Papini-Terzi FS, Sauer N (2007). Differential regulation of sorbitol and sucrose loading into the phloem of *Plantago major* in response to salt stress. Plant Physiology 144(2):1029-1038
- Popova L, Pancheva T, Uzunova A (1997) Salicylic acid: Properties, biosynthesis and physiological role. Bulg. J. Plant. Physiol. 23(1-2):85-93
- Reichardt PB, Clausen TP, Bryant JP (1988) Phenol Glycosides in Plant Defense Against Herbivores. ACS Symposium Series 380(10):130-142
- Rigano MM, Raiola A, Docimo T, Ruggieri V, Calafiore R, Vitaglione P, Ferracane R, Frusciante L, Barone A (2016) Metabolic and molecular changes of the phenylpropanoid pathway in tomato (*Solanum lycopersicum*) lines carrying different *Solanum pennellii* wild Chromosomal regions. Frontiers in Plant Science 7
- Rohner C, Ward D (1997) Chemical and mechanical defense against herbivory in two sympatric species of desert *Acacia*. Journal of Vegetation Science 8:717-726
- Rosenthal JP, Kotanen PM (1994) Terrestrial plant tolerance to herbivory. TREE 9(4):145-148
- Rothwell EM, Holeski LM (2019) Phytochemical defences and performance of specialist and generalist herbivores: a meta-analysis. Ecological Entomology 2019
- Saimaru H, Orihara Y (2010) Biosynthesis of acteoside in cultured cells of *Olea europaea*. Journal of Natural Medicines, 64(2):139-145

- Schaffner U, Ridenour WM, Wolf VC, Bassett T, Müller C, Müller-Schärer HM, Sutherland S, Lortie CJ, Ragan A, Callaway M (2011) Plant invasions, generalist herbivores, and novel defense weapons. *Ecology* 92(4):829-835
- Scholz SS, Malabarba J, Reichelt M, Heyer M, Ludewig F, Mithöfer A (2017) Evidence for GABA-induced systemic GABA accumulation in *Arabidopsis* upon wounding. *Frontiers in Plant Science* 8
- Scholz SS, Reichelt M, Mekonnen DW, Ludewig F, Mithöfer A (2015) Insect herbivory-elicited GABA accumulation in plants is a wound-induced, direct, systemic, and jasmonate-independent defense response. *Frontiers in Plant Science* 6
- Schwachtje J, Baldwin IT (2008) Why does herbivore attack reconfigure primary Metabolism? *Plant Physiology* 146(3):845-851
- Shelp BJ, Allan WL, Faure D (2009) Role of γ -Aminobutyrate and γ -Hydroxybutyrate in Plant Communication. In: Baluška F (Hrsg.). *Plant-Environment Interactions, Signaling and Communication in Plants*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, S. 73-84
- Smith AL, Hodkinson TR, Vilellas J, Catford JA, Csergo AM, Blomberg SP, Crone EE, Ehrlén J, Garcia MB, Laine AL, Roach DA, Salguero-Gomez R, Wardle GM, Childs DZ, Elderd BD, Finn A, Munné-Bosch S, Baudraz MEA, Bódis J, Buckley YM (2020) Global gene flow releases invasive plants from environmental constraints on genetic diversity. *PNAS Latest Articles* 1-10
- Soares AR, Marchiosi R, de Cássia Siqueira-Soares R, de Lima RB, dos Santos WD, Ferrarese-Filho O (2014). The role of L-DOPA in plants. *Plant Signaling and Behavior* 9:e8275
- Stewart A (1996) Plantain *Plantago lanceolata* - a potential pasture species. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 58:77-86
- Stitz M, Gase K, Baldwin IT, Gaquerel E (2011) Ectopic expression of AtJMT in *Nicotiana attenuata*: Creating a metabolic sink has tissue-specific consequences for the jasmonate metabolic network and silences downstream gene expression. *Plant Physiology* 157(1):341-354

- Strauss SY, Agrawal AA (1999) The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *TREE*, 14(5):179-185
- Sutherland S (2004) What makes a weed a weed: Life history traits of native and exotic plants in the USA. *Oecologia* 141(1):24-39
- Tang J, Yang D, Wu J, Chen S, Wang L (2020) Silencing JA hydroxylases in *Nicotiana attenuata* enhances jasmonic acid-isoleucine-mediated defenses against *Spodoptera litura*. *Plant Diversity* 42(2):111-119
- Teramura AH (1983) Experimental Ecological Genetics in *Plantago*. IX. Differences in Growth and Vegetative Reproduction in *Plantago lanceolata* L. (*Plantaginaceae*) from Adjacent Habitats. *American Journal of Botany* 70(1):53-58
- Ueda M, Kaji T, Kozaki W (2020) Recent Advances in Plant Chemical Biology of Jasmonates. *International Journal of Molecular Sciences* 21(3)
- van Damme JMM (1984) Gynodioecy in *Plantago lanceolata* L. III. Sexual Reproduction and the maintenance of male steriles. *Heredity* 52(1):77-93
- Wang C, yan Liu J, Zhou, J. wei, & Xiao, H. guang. (2017). Differences in leaf functional traits between exotic and native *Compositae* plant species. *Journal of Central South University*, 24(10):2468-2474
- Wäschke N, Hancock C, Hilker M, Obermaier E, Meiners T (2015) Does vegetation complexity affect host plant chemistry, and thus multitrophic interactions, in a human-altered landscape? *Oecologia* 179(1):281-292
- Yoshitake H, Caldara R, Genka M (2016) The First Record of *Mecinus pascuorum* (GYLLENHAL) (*Coleoptera*, *Curculionidae*) from Japan. *Elytra*, Tokyo, New Series 6(2):199-200
- Zhang Y, Fernie AR (2018) On the role of the tricarboxylic acid cycle in plant productivity. *Journal of Integrative Plant Biology* 60(12):1199-1216
- Zheng YL, Feng YL, Liu WX, Liao ZY (2009) Growth, biomass allocation, morphology, and photosynthesis of invasive *Eupatorium adenophorum* and its native congeners grown at four irradiances. *Plant Ecology* 203(2):263-271

Zhu F, Heinen R, van der Sluijs M, Raaijmakers C, Biere A, Bezemer TM (2018) Species-specific plant-soil feedbacks alter herbivore-induced gene expression and defense chemistry in *Plantago lanceolata*. *Oecologia* 188(3):801-811

7 Anhang

7.1 Analytik der Pflanzenstoffe

7.1.1 Qualifizierung

Für die Identifizierung der Phytohormone OPDA, OH-JA, OH-JA-Ile, COOH-JA-Ile und Sulfo-JA waren keine Standards verfügbar. Die Identifizierung erfolgte nach Angaben aus der Literatur. OPDA, OH-JA, OH-JA-Ile sowie COOH-JA-Ile wurden anhand der spezifischen Übergänge Q(1) und Q(3) nach Stitz *et al.* (2011) vorläufig identifiziert. Sulfo-JA wurde anhand der spezifischen Übergänge Q(1) und Q(3) nach Fernández-Milmanda *et al.* (2020) vorläufig identifiziert (Tab. 33).

Die Identifizierung der Iridoidglykoside erfolgte über die im Rahmen der Ionisierung gebildeten Formiat-Addukte.

Zur Identifizierung von *p*CoQA-Derivaten waren ebenfalls keine Standards verfügbar. Die Derivate wurden anhand der spezifischen Übergänge Q(1) und Q(3) nach Clifford *et al.* (2003) nachgewiesen.

Tab. 33: Identifizierung der Pflanzenstoffe. Retentionszeiten sowie spezifische Massenübergänge Q(1) und Q(3) von Standards und Literatur im Vergleich mit den Retentionszeiten und spezifischen Übergängen Q(1) und Q(3) der gemessenen Analyten im MRM-Modus. Angaben der spezifischen Übergänge Q(1) und Q(3) für OPDA, OH-JA, Sulfo-JA, OH-JA-Ile und COOH-JA-Ile nach Stitz *et al.* (2011), für Sulfo-JA nach Fernández-Milmanda *et al.* (2020) und für die *p*CoQA-Derivate nach Clifford *et al.* (2003). $\bar{t}_R(\text{Std})$ = Mittlere Retentionszeit des Standards, $\bar{t}_R(\text{Pr})$ = Mittlere Retentionszeit der Proben; n.n. = nicht nachweisbar, k.A. = keine Angabe aufgrund fehlender Standards.

Standard/ Literatur	$\bar{t}_R(\text{Std})$ [min]	Q(1) [Da]	Q(3) [Da]	Analyt	$\bar{t}_R(\text{Pr})$ [min]	Q(1) [Da]	Q(3) [Da]
Phytohormone							
D ₆ -JA	7,15	215,000	59,000	JA	7,16	209,070	59,000
D ₆ -JA-Ile	7,30	328,186	130,100	JA-Ile	7,32	322,190	130,100
D ₆ -ABA	6,42	269,000	159,200	ABA	6,44	263,000	153,200
D ₄ -SA	5,83	140,934	97,000	SA	n.n.	n.n.	n.n.
OH-JA	k.A.	225,100	59,000	OH-JA	4,43	225,100	59,000
Sulfo-JA	k.A.	305,000	97,000	Sulfo-JA	4,07	305,000	97,000
OH-JA-Ile	k.A.	338,100	130,100	OH-JA-Ile	6,02	338,100	130,100
COOH-JA-Ile	k.A.	352,100	130,100	COOH-JA-Ile	n.n.	n.n.	n.n.
OPDA	k.A.	290,900	165,100	OPDA	n.n.	n.n.	n.n.

Tab. 33: Identifizierung der Pflanzenstoffe. Retentionszeiten sowie spezifische Massenübergänge Q(1) und Q(3) von Standards und Literatur im Vergleich mit den Retentionszeiten und spezifischen Übergängen Q(1) und Q(3) der gemessenen Analyten im MRM-Modus. Angaben der spezifischen Übergänge Q(1) und Q(3) für OPDA, OH-JA, Sulfo-JA, OH-JA-Ile und COOH-JA-Ile nach Stitz *et al.* (2011), für Sulfo-JA nach Fernández-Milmanda *et al.* (2020) und für die *p*CoQA-Derivate nach Clifford *et al.* (2003). $\bar{t}_R(\text{Std})$ = Mittlere Retentionszeit des Standards, $\bar{t}_R(\text{Pr})$ = Mittlere Retentionszeit der Proben; n.n. = nicht nachweisbar, k.A. = keine Angabe aufgrund fehlender Standards.

Standard/ Literatur	$\bar{t}_R(\text{Std})$ [min]	Q(1) [Da]	Q(3) [Da]	Analyt	$\bar{t}_R(\text{Pr})$ [min]	Q(1) [Da]	Q(3) [Da]
Iridoidglykoside							
Aucubin (Formiataddukt)	1,30	391,000	183,000	Aucubin (Formiataddukt)	1,29	391,000	183,000
Catalpol (Formiataddukt)	0,80	407,000	199,000	Catalpol (Formiataddukt)	0,77	407,000	199,000
Phenole							
Shikimisäure	0,50	173,000	93,000	Shikimisäure	0,53	173,000	93,000
<i>p</i> -Cumarsäure	4,70	163,000	118,900	<i>p</i> -Cumarsäure	4,80	163,000	118,900
Kaffeensäure	4,00	179,000	134,900	Kaffeensäure	n.n.	n.n.	n.n.
3-CQA	3,03	353,130	190,880	3-CQA	2,98	353,130	190,880
4-CQA	3,79	353,100	173,000	4-CQA	3,75	353,100	173,000
5-CQA	3,64	353,000	190,900	5-CQA	3,62	353,000	190,900
<i>p</i> CoQA Derivat 1	k.A.	337,000	163,100	<i>p</i> CoQA Derivat 1	3,50	337,000	163,100
<i>p</i> CoQA Derivat 2	k.A.	337,010	163,000	<i>p</i> CoQA Derivat 2	4,23	337,010	163,000
<i>p</i> CoQA Derivat 3	k.A.	337,130	190,880	<i>p</i> CoQA Derivat 3	3,45	337,130	190,880
Verbascosid	5,05	623,000	161,000	Verbascosid	5,00	623,000	161,000
Luteolin	6,82	285,000	133,000	Luteolin	6,78	285,000	133,000
Luteoloin-7-O- Glucosid (Luteolosid)	5,11	447,000	285,000	Luteoloin-7-O- Glucosid (Luteolosid)	5,08	447,000	285,000
Quercitrin	5,52	447,000	301,000	Quercitrin	5,49	447,000	301,000
Rutin	4,90	609,000	300,000	Rutin	4,89	609,000	300,000
Apigenin-7-O- Glucosid	5,57	431,000	268,000	Apigenin-7-O- Glucosid	5,50	431,000	268,000

7.1.1.1 Identifizierung der Phytohormone

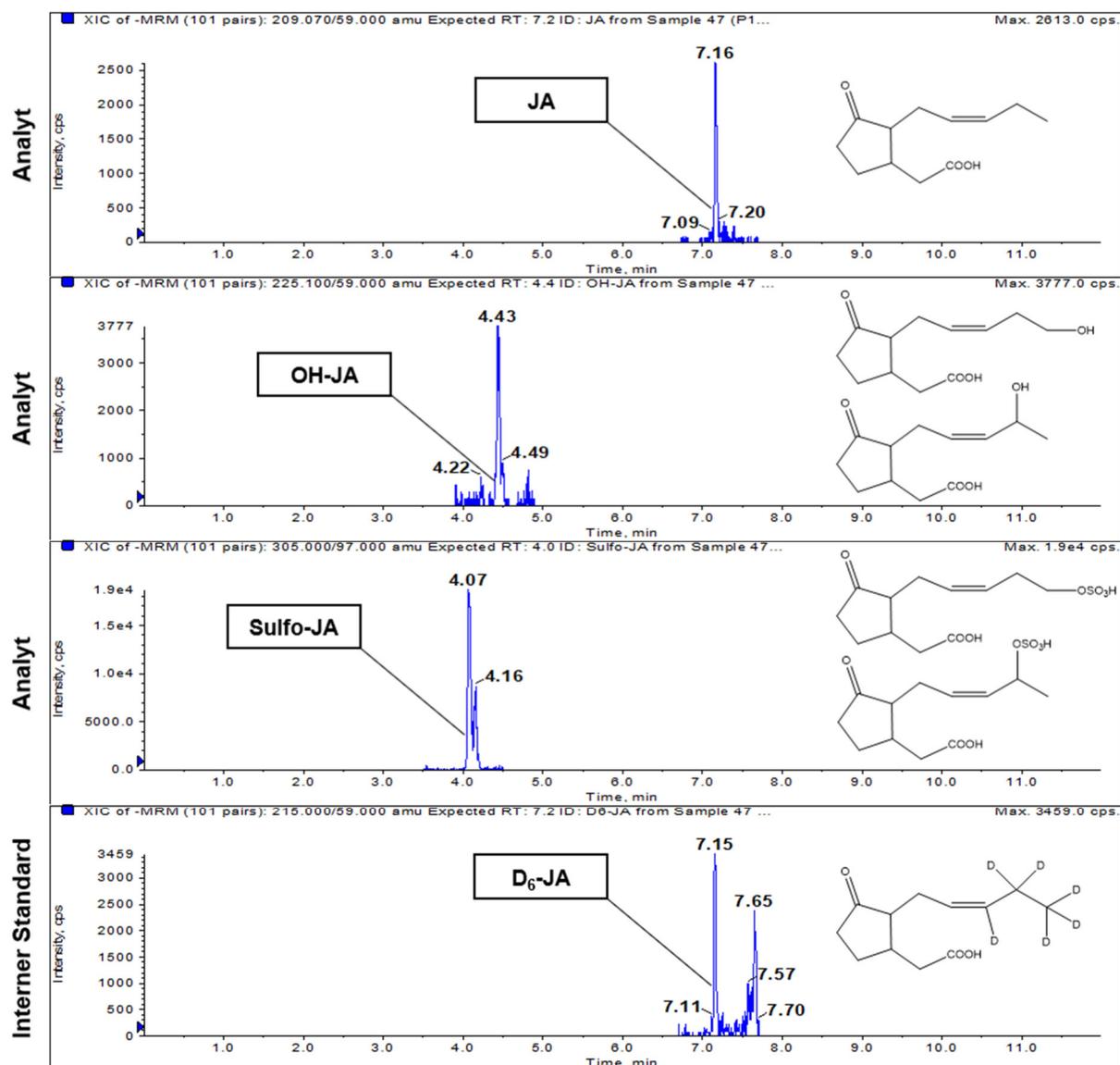


Abb. 33: Exemplarische Identifizierung von JA ($\bar{t}_R = 7,16$ min, $Q(1) = 209,070$ Da, $Q(3) = 59,000$ Da; erstes Chromatogramm) durch den internen Standard D₆-JA ($\bar{t}_R = 7,15$ min, $Q(1) = 215,000$ Da, $Q(3) = 59,000$ Da, viertes Chromatogramm) in den Proben und vergleichend die exemplarische vorläufige Identifizierung von OH-JA ($\bar{t}_R = 4,43$ min, $Q(1) = 225,100$ Da, $Q(3) = 59,000$ Da; zweites Chromatogramm) und Sulfo-JA ($\bar{t}_R = 4,07$ min, $Q(1) = 305,000$ Da, $Q(3) = 97,000$ Da, viertes Chromatogramm); Strukturformeln modifiziert nach Fernández-Milmanda *et al.* (2020) und HPC Standards GmbH, Borsdorf, Deutschland.

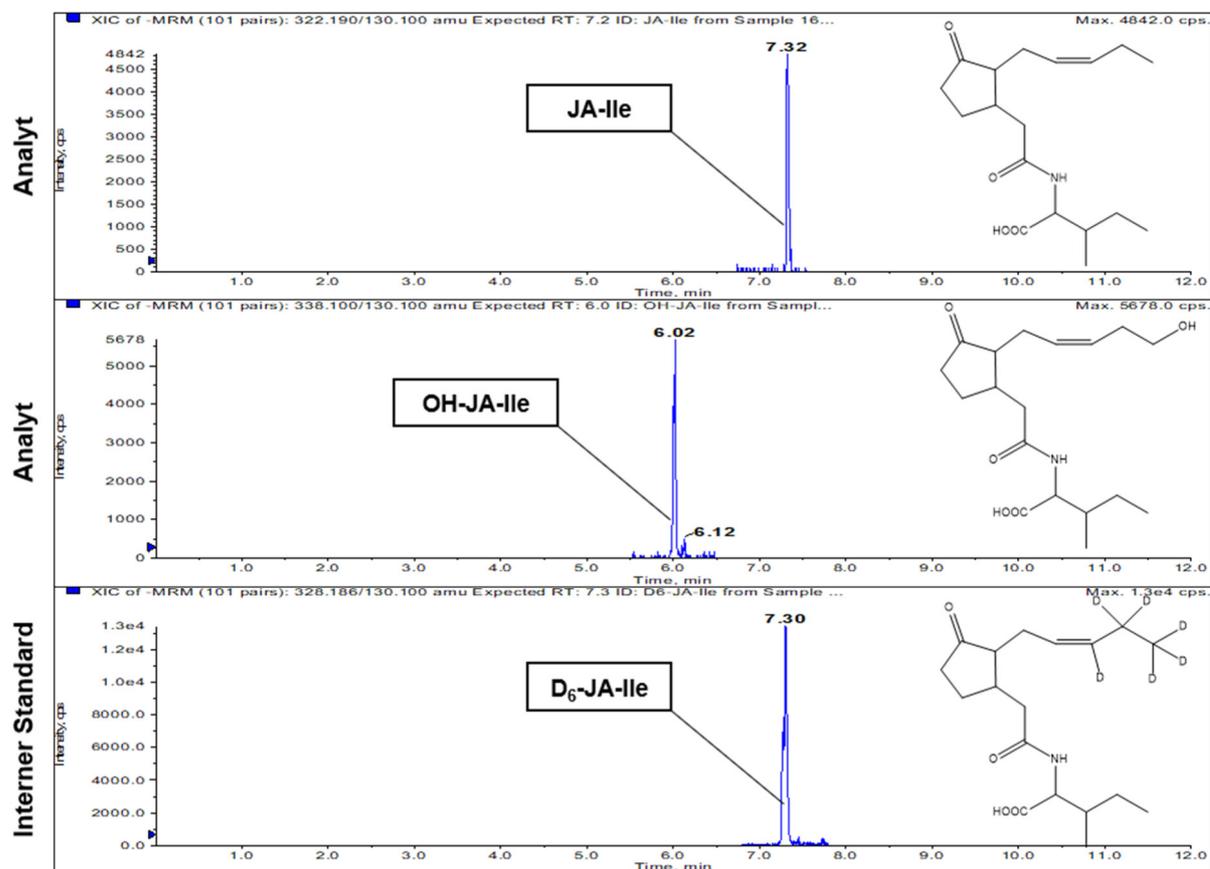


Abb. 34: Exemplarische Identifizierung von JA-Ile ($\bar{t}_R = 7,32$ min, $Q(1) = 322,190$ Da, $Q(3) = 130,100$ Da; erstes Chromatogramm) durch den internen Standard D₆-JA-Ile ($\bar{t}_R = 7,30$ min, $Q(1) = 328,186$ Da, $Q(3) = 130,100$ Da, drittes Chromatogramm) in den Proben und vergleichend die exemplarische vorläufige Identifizierung von OH-JA-Ile ($\bar{t}_R = 6,02$ min, $Q(1) = 338,100$ Da, $Q(3) = 130,100$ Da; zweites Chromatogramm); Strukturformeln modifiziert nach Fernández-Milmanda *et al.* (2020) und HPC Standards GmbH, Borsdorf, Deutschland.

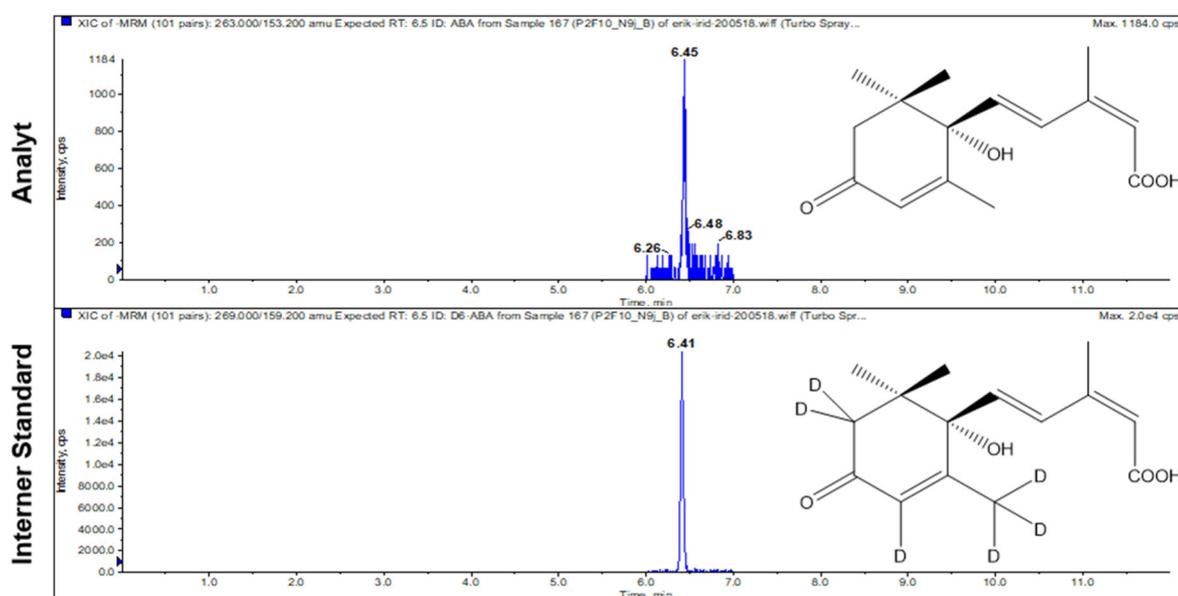


Abb. 35: Exemplarische Identifizierung von ABA ($\bar{t}_R = 6,42$ min, $Q(1) = 263,000$ Da, $Q(3) = 153,200$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard D₆-ABA ($\bar{t}_R = 6,44$ min, $Q(1) = 269,000$ Da, $Q(3) = 159,200$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben; Strukturformeln modifiziert nach Nambara & Marion-Poll (2005) und Toronto Research Chemicals, North York, Kanada.

7.1.1.2 Identifizierung der Iridoidglykoside

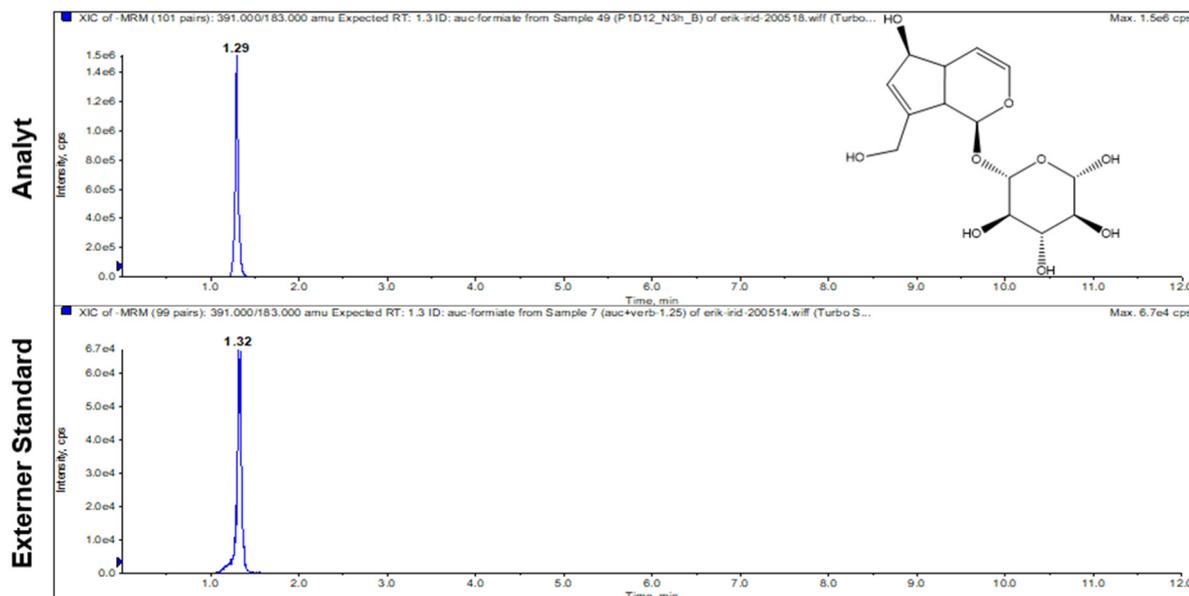


Abb. 36: Exemplarische Identifizierung von Aucubin in den Proben ($\bar{t}_R = 1,30$ min, $Q(1) = 391,000$ Da, $Q(3) = 183,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen Aucubin-Standard ($\bar{t}_R = 1,29$ min, $Q(1) = 391,000$ Da, $Q(3) = 183,000$ Da; unteres Chromatogramm); Angaben der spezifischen Übergänge gehören zum Formiat-Addukt; Strukturformel modifiziert nach Hamida *et al.* (2002).

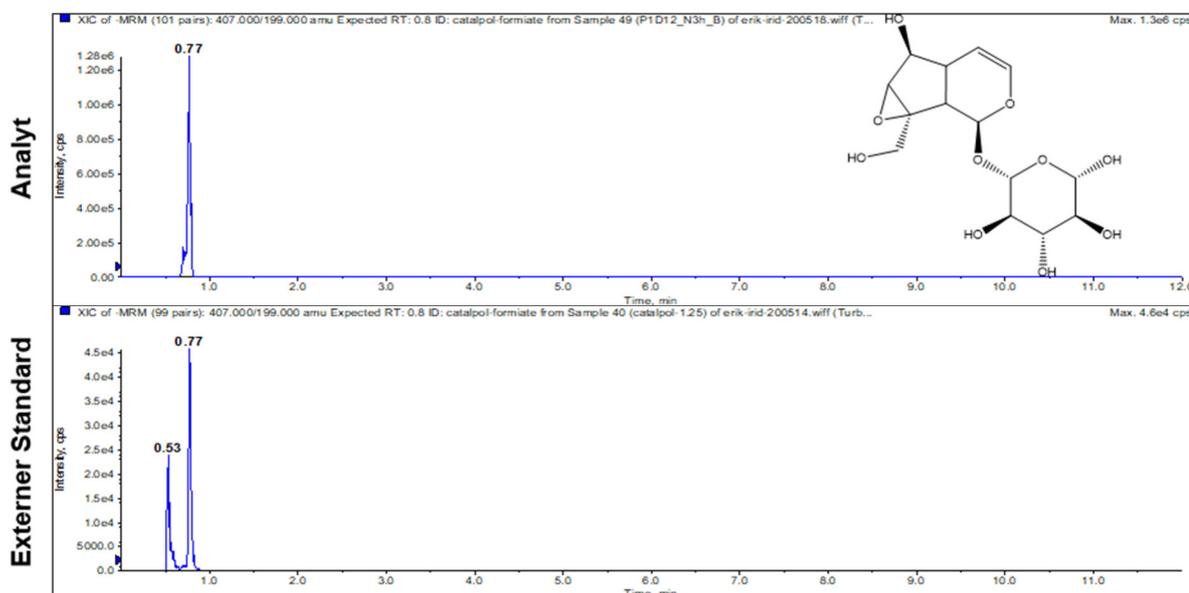


Abb. 37: Exemplarische Identifizierung von Catalpol in den Proben ($\bar{t}_R = 0,77$ min, $Q(1) = 407,000$ Da, $Q(3) = 199,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen Catalpol-Standard ($\bar{t}_R = 0,80$ min, $Q(1) = 407,000$ Da, $Q(3) = 199,000$ Da; unteres Chromatogramm), Angaben der spezifischen Übergänge gehören zum Formiat-Addukt; Strukturformel modifiziert nach Hamida *et al.* (2002).

7.1.1.3 Identifizierung der Phenole

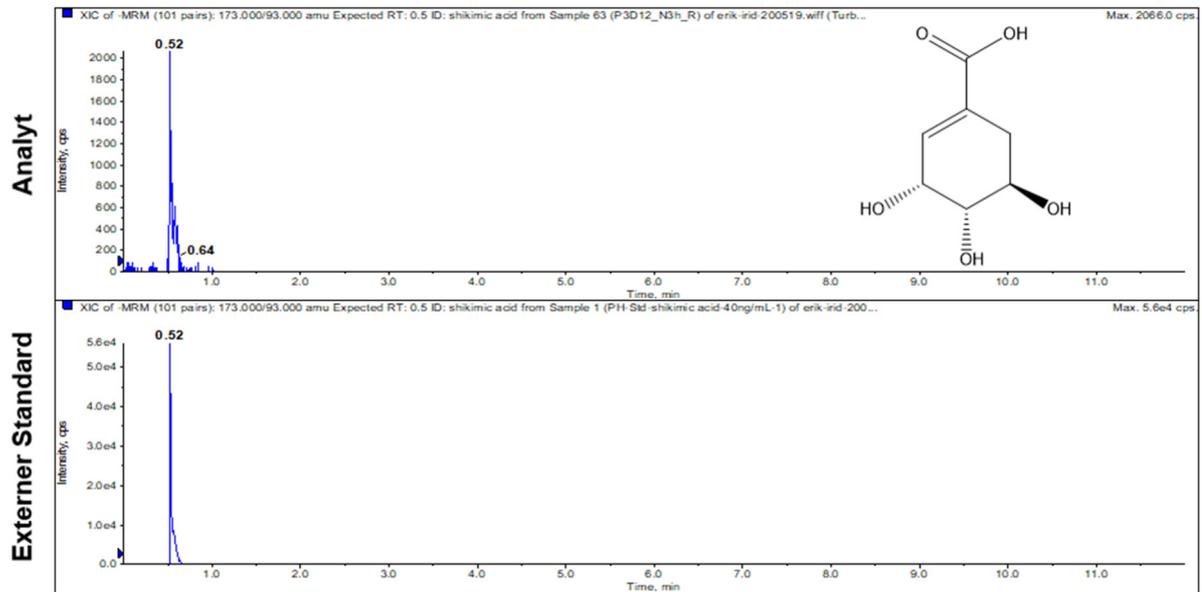


Abb. 38: Exemplarische Identifizierung von Shikimisäure in den Proben ($\bar{t}_R = 0,53$ min, $Q(1) = 173,000$ Da, $Q(3) = 93,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen Shikimisäure-Standard ($\bar{t}_R = 0,50$ min, $Q(1) = 173,000$ Da, $Q(3) = 93,000$ Da; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Liu (2012).

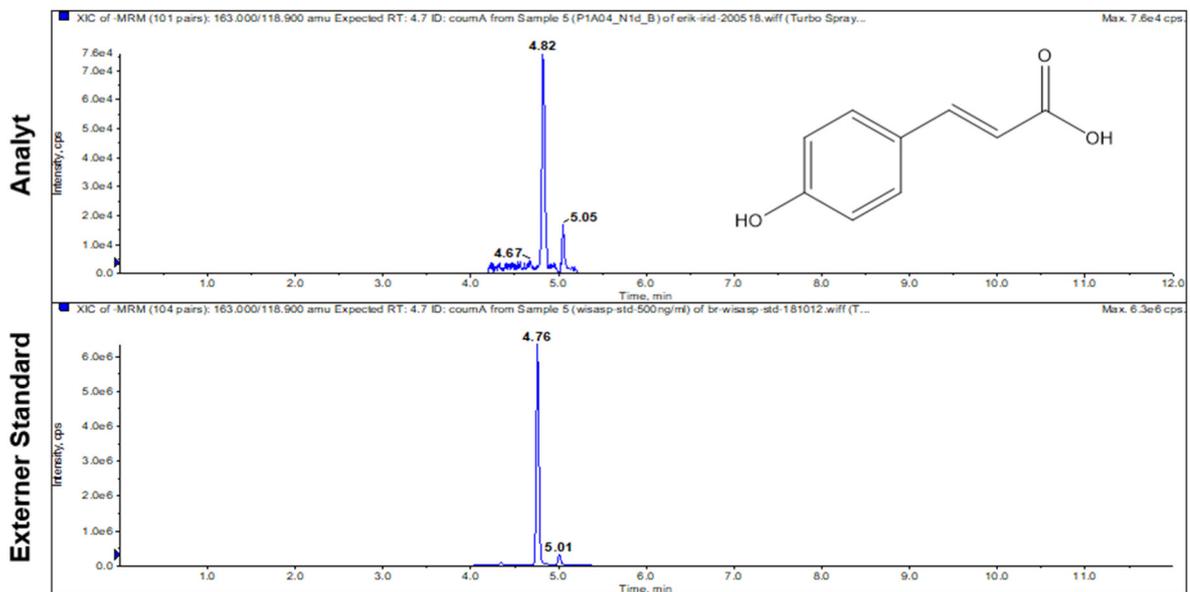


Abb. 39: Exemplarische Identifizierung von *p*-Cumarsäure in den Proben ($\bar{t}_R = 0,53$ min, $Q(1) = 163,000$ Da, $Q(3) = 118,900$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen *p*-Cumarsäure-Standard ($\bar{t}_R = 0,50$ min, $Q(1) = 163,000$ Da, $Q(3) = 118,900$ Da; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Liu (2012).

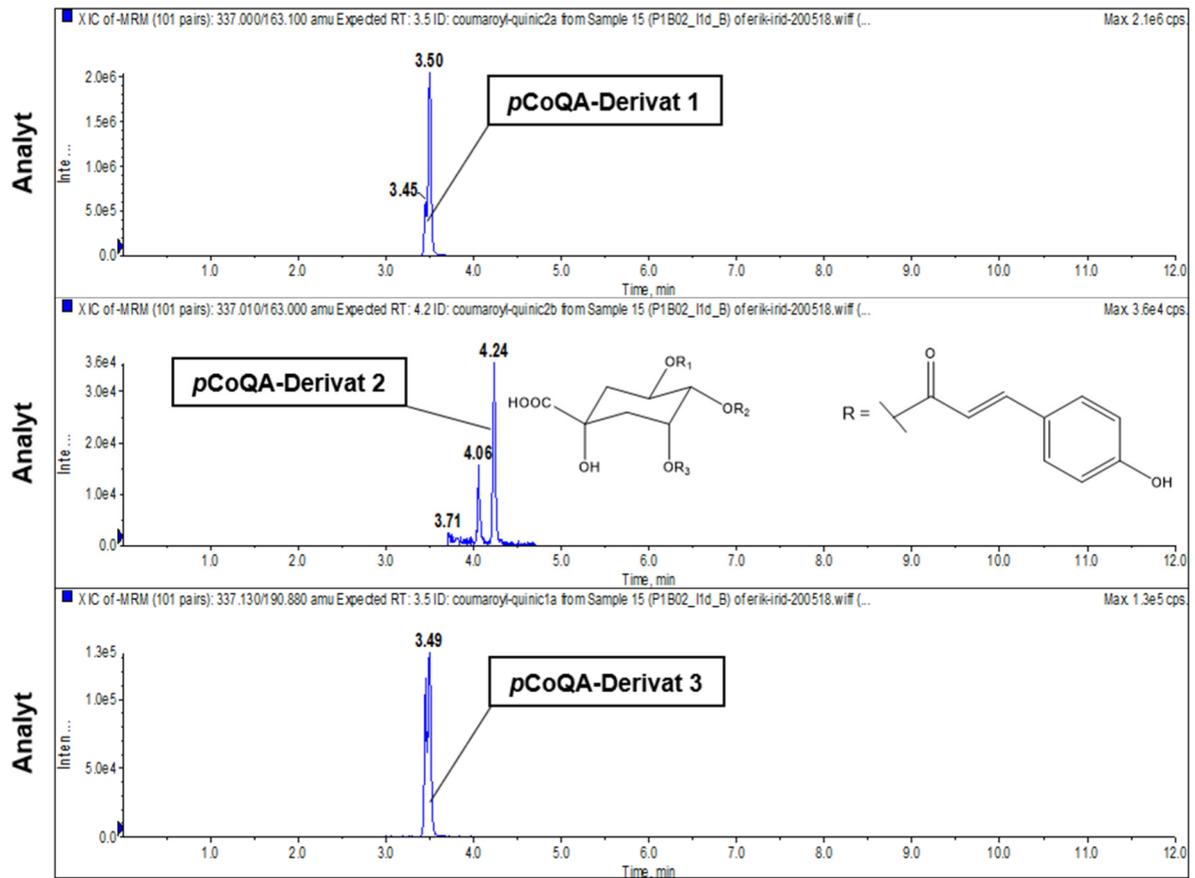


Abb. 40: Exemplarischer Nachweis von *p*CoQA-Derivaten in den Proben, *p*CoQA-Derivat 1 detektiert bei $\bar{t}_R = 3,50$ min und den spezifischen Übergängen $Q(1) = 337,000$ Da und $Q(3) = 163,100$ Da, *p*CoQA-Derivat 2 detektiert bei $\bar{t}_R = 4,23$ min und den spezifischen Übergängen $Q(1) = 337,010$ Da und $Q(3) = 163,000$ Da, *p*CoQA-Derivat 3 detektiert bei $\bar{t}_R = 3,50$ min und den spezifischen Übergängen $Q(1) = 337,130$ Da und $Q(3) = 190,880$ Da. Strukturen: 3-*p*CoQA ($R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = \text{Cumarsäurerest (R)}$), 4-*p*CoQA ($R_1 = H$, $R_2 = \text{Cumarsäurerest (R)}$, $R_3 = H$), 5-*p*CoQA ($R_1 = \text{Cumarsäurerest (R)}$, $R_2 = H$, $R_3 = H$); Strukturformeln modifiziert nach Clifford *et al.* (2003).

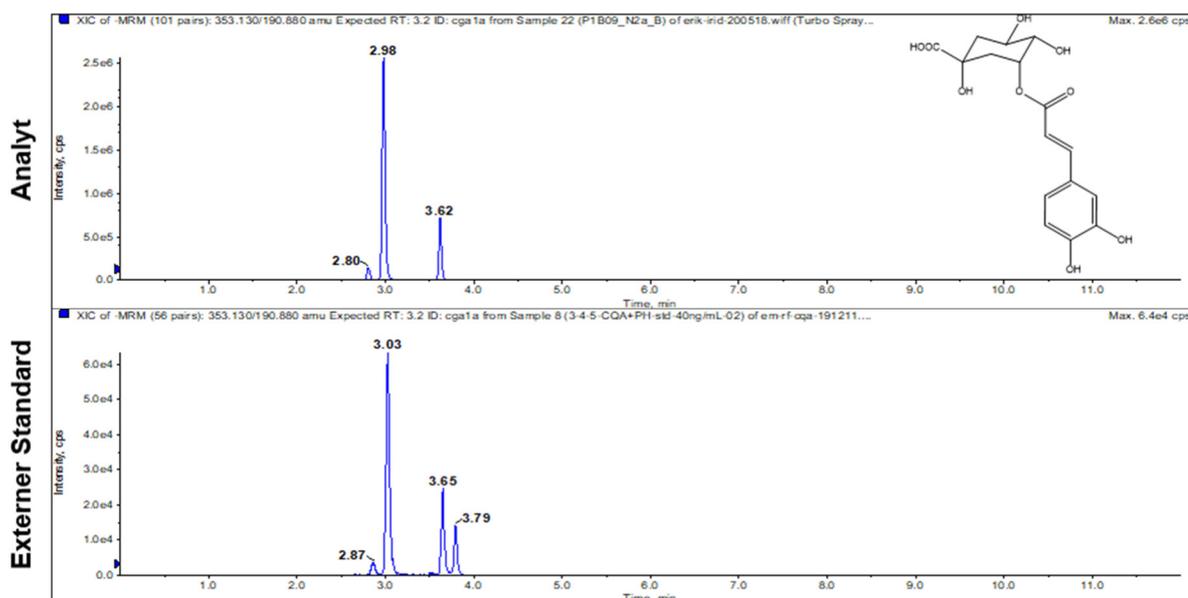


Abb. 41: Exemplarische Identifizierung von 3-CQA in den Proben ($\bar{t}_R = 2,98$ min, $Q(1) = 353,130$ Da, $Q(3) = 190,880$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen 3-CQA-Standard ($\bar{t}_R = 3,03$ min, $Q(1) = 353,130$ Da, $Q(3) = 190,880$ Da; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Clifford *et al.* (2003).

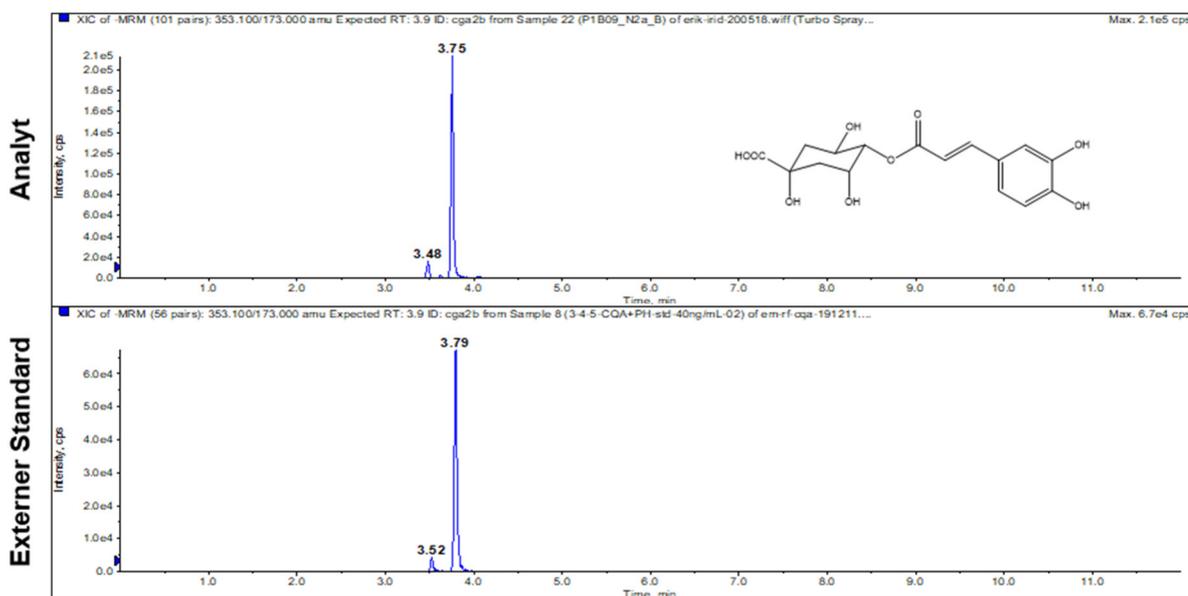


Abb. 42: Exemplarische Identifizierung von 4-CQA in den Proben ($\bar{t}_R = 3,75$ min, $Q(1) = 353,100$ Da, $Q(3) = 173,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen 4-CQA-Standard ($\bar{t}_R = 3,79$ min, $Q(1) = 353,100$ Da, $Q(3) = 173,000$ Da; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Clifford *et al.* (2003).

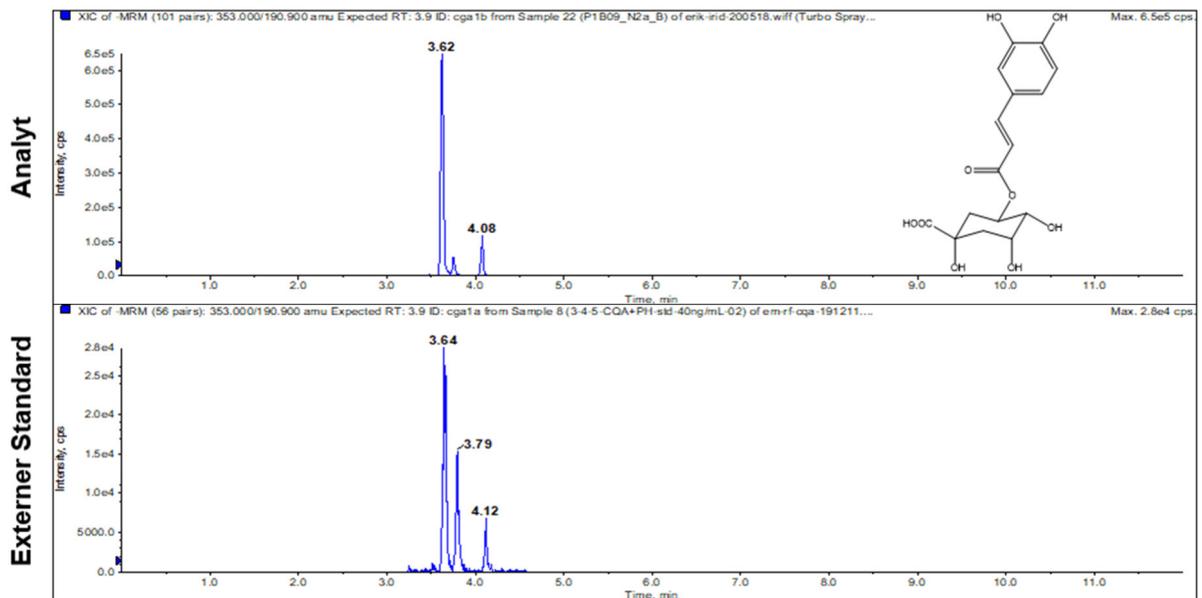


Abb. 43: Exemplarische Identifizierung von 5-CQA in den Proben ($\bar{t}_R = 3,62$ min, $Q(1) = 353,000$ Da, $Q(1) = 190,900$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen 5-CQA-Standard ($\bar{t}_R = 3,64$ min, $Q(1) = 353,000$ Da, $Q(1) = 190,900$ Da; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Clifford *et al.* (2003).

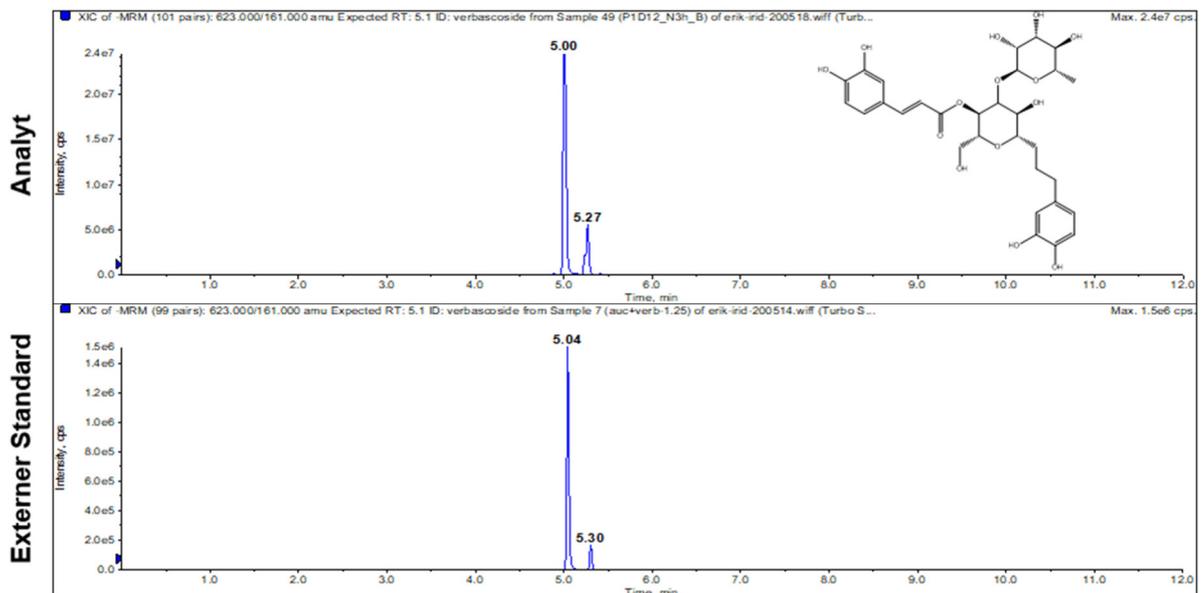


Abb. 44: Exemplarische Identifizierung von Verbascosid in den Proben ($\bar{t}_R = 5,00$ min, $Q(1) = 623,000$ Da, $Q(3) = 161,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen Verbascosid-Standard ($\bar{t}_R = 5,05$ min, $Q(1) = 623,000$ Da, $Q(3) = 161,000$ Da; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Funes *et al.* (2010).

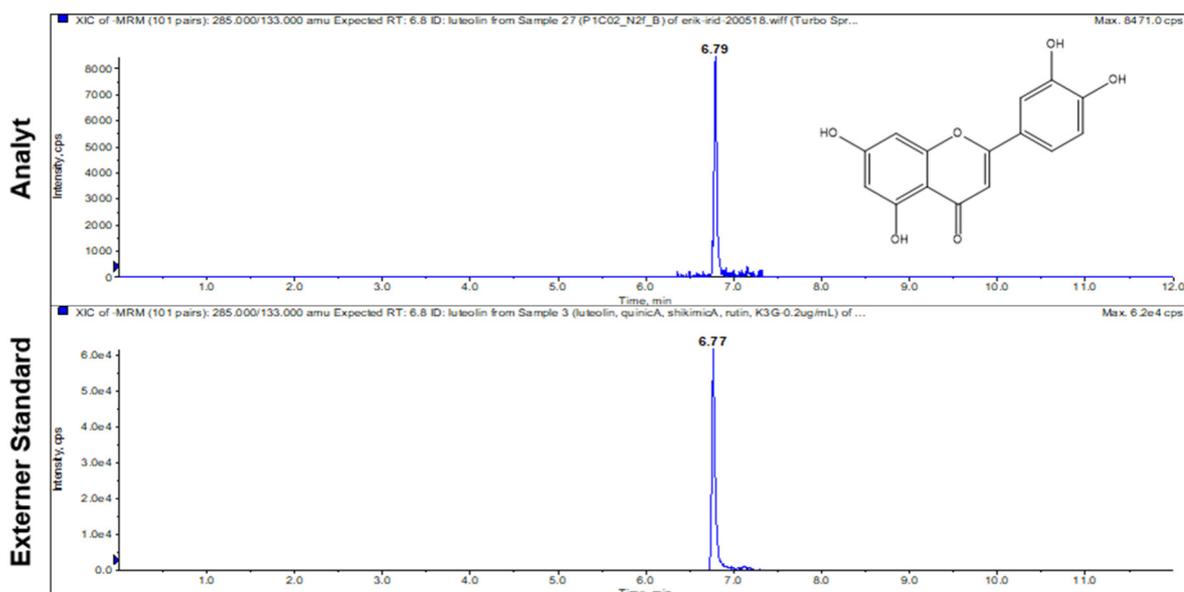


Abb. 45: Exemplarische Identifizierung von Luteolin in den Proben ($\bar{t}_R = 6,78$ min, $Q(1) = 285,000$ Da, $Q(3) = 133,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen Luteolin-Standard ($\bar{t}_R = 6,82$ min, $Q(1) = 285,000$ Da, $Q(3) = 133,000$ Da; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Ferrazzano *et al.* (2015).

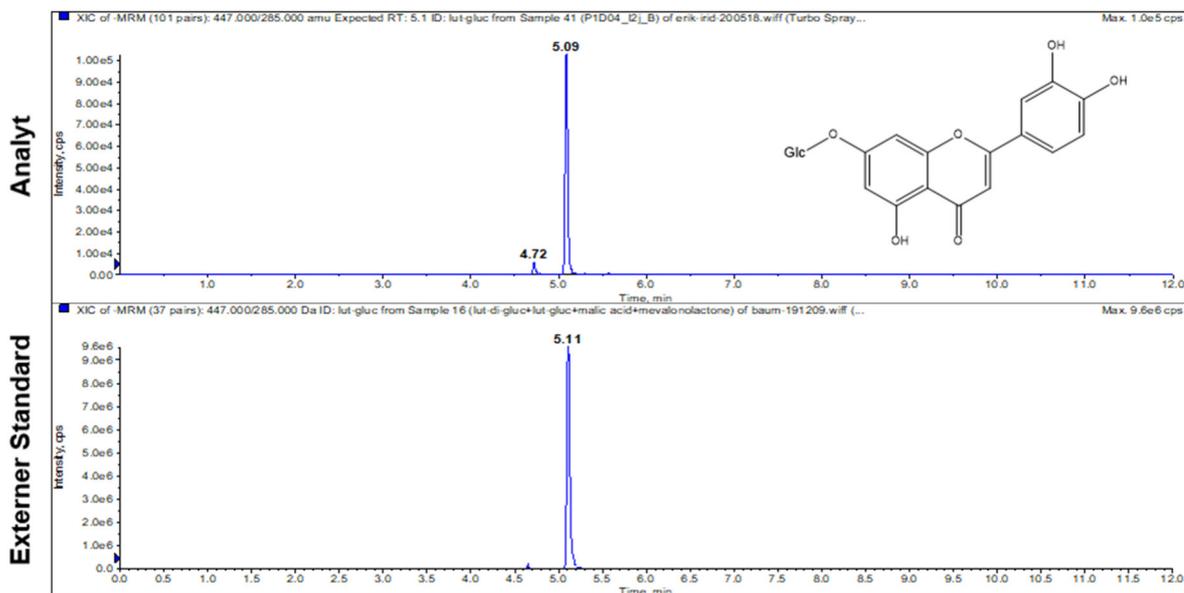


Abb. 46: Exemplarische Identifizierung von Luteolosid in den Proben ($\bar{t}_R = 5,08$ min, $Q(1) = 447,000$ Da, $Q(3) = 285,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen Luteolosid-Standard ($\bar{t}_R = 5,11$ min, $Q(1) = 447,000$ Da, $Q(3) = 285,000$ Da; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Ferrazzano *et al.* (2015).

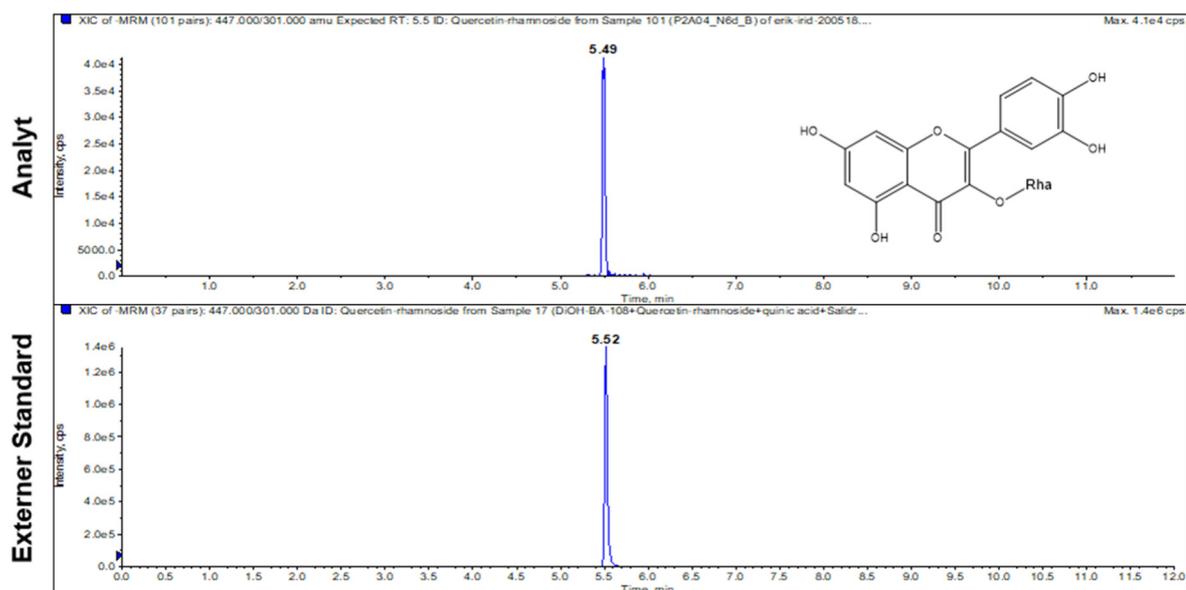


Abb. 47: Exemplarische Identifizierung von Quercitrin in den Proben ($\bar{t}_R = 5,49$ min, $Q(1) = 447,000$ Da, $Q(3) = 301,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen Quercitrin-Standard ($\bar{t}_R = 5,52$ min, $Q(1) = 447,000$ Da, $Q(3) = 301,000$ Da; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Ferrazzano *et al.* (2015).

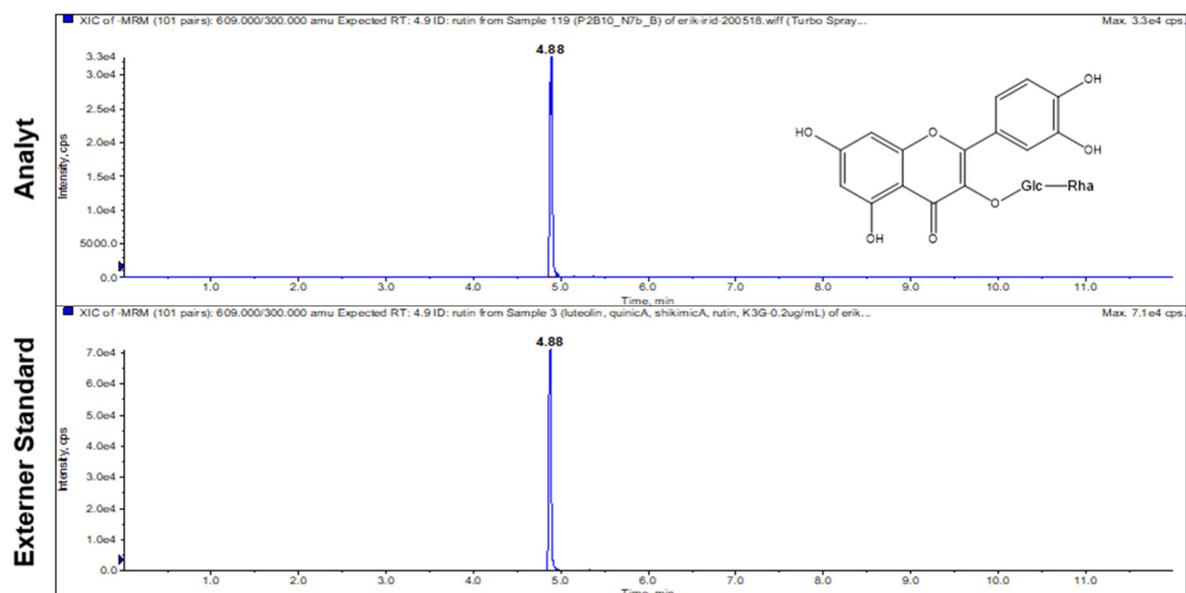


Abb. 48: Exemplarische Identifizierung von Rutin in den Proben ($\bar{t}_R = 4,89$ min, $Q(1) = 609,000$ Da, $Q(3) = 300,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch einen externen Rutin-Standard ($\bar{t}_R = 4,90$ min, $Q(1) = 609,000$ Da, $Q(3) = 300,000$ Da; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Ferrazzano *et al.* (2015).

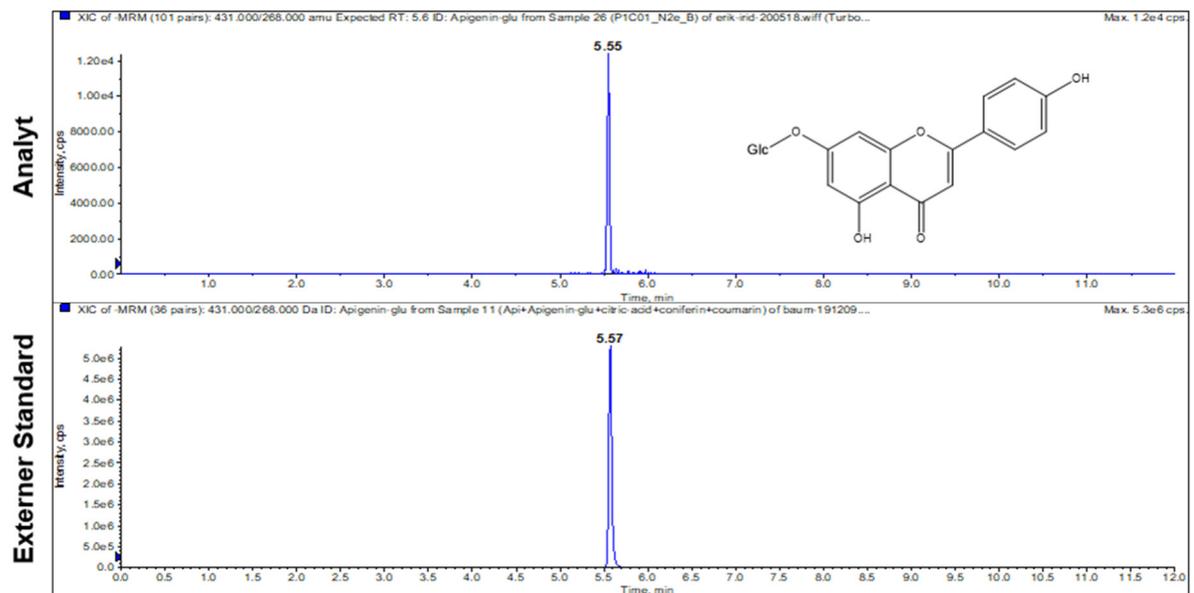


Abb. 49: Exemplarische Identifizierung von Apigenin-7-O-Glucosid in den Proben ($\bar{t}_R = 5,50$ min, $Q(1) = 431,000$ Da, $Q(3) = 268,000$ Da.; oberes Chromatogramm) durch einen externen Apigenin-7-O-Glucosid-Standard ($\bar{t}_R = 5,57$ min, $Q(1) = 431,000$ Da, $Q(3) = 268,000$ Da.; unteres Chromatogramm); Strukturformel modifiziert nach Ferrazzano *et al.* (2015).

7.1.2 Quantifizierung

Tab. 34: Verwendete interne Standards und analysierte Responsefaktoren der absolut quantifizierten Substanzen.

Analyt	Interner Standard	R_f
ABA	D ₆ -ABA	1,00
Aucubin (Formiataddukt)	D ₆ -JA	3,67
Catalpol (Formiataddukt)	D ₆ -JA	2,95
JA	D ₆ -JA	1,00
JA-Ile	D ₆ -JA-Ile	1,00
OH-JA	D ₆ -JA	1,00
Shikimisäure	D ₄ -SA	1,04
Sulfo-JA	D ₆ -JA	6,00
Verbascosid	D ₆ -ABA	2,11

7.2 Aminosäureanalytik

7.2.1 Qualifizierung

Tab. 35: Identifizierung der Aminosäuren. Vergleich der Retentionszeiten sowie der spezifischen Massenübergänge Q(1) und Q(3) von Standards und Proben. $\bar{t}_R(\text{Std})$ = Mittlere Retentionszeit des Standards, $\bar{t}_R(\text{Pr})$ = Mittlere Retentionszeit der Proben; n.n. = nicht nachweisbar.

Standard	$\bar{t}_R(\text{Std})$ [min]	Q(1) [Da]	Q(3) [Da]	Analyt	$\bar{t}_R(\text{Pr})$ [min]	Q(1) [Da]	Q(3) [Da]
Hydrophobe Aminosäuren							
Gly- ¹³ C ₂ , ¹⁵ N ₁	0,45	79,000	79,000	Gly	0,46	76,000	76,000
Ala- ¹³ C ₃ , ¹⁵ N ₁	0,46	94,100	47,100	Ala	0,47	90,100	44,100
Val- ¹³ C ₅ , ¹⁵ N ₁	0,57	124,100	77,200	Val	0,57	118,100	72,200
Ile- ¹³ C ₆ , ¹⁵ N ₁	0,89	139,200	92,100	Ile	0,90	132,200	86,100
Leu- ¹³ C ₆ , ¹⁵ N ₁	0,97	139,200	92,100	Leu	0,97	132,200	86,100
Phe- ¹³ C ₉ , ¹⁵ N ₁	2,06	176,200	129,200	Phe	2,06	166,200	120,200
Tyr- ¹³ C ₉ , ¹⁵ N ₁	1,01	192,100	145,200	Tyr	1,01	182,100	136,200
Trp	2,80	205,200	188,100	Trp	2,83	205,200	188,100
Pro- ¹³ C ₅ , ¹⁵ N ₁	0,50	122,100	75,000	Pro	0,50	116,100	70,000
Met- ¹³ C ₄ , ¹⁵ N ₁	0,70	156,200	109,100	Met	0,71	150,200	104,100
Hydrophile Aminosäuren							
Neutrale Aminosäuren							
Ser- ¹³ C ₃ , ¹⁵ N ₁	0,46	110,000	63,100	Ser	0,46	106,000	60,100
Thr- ¹³ C ₄ , ¹⁵ N ₁	0,47	125,100	78,200	Thr	0,47	120,100	74,200
Asn	0,44	133,100	74,100	Asn	0,46	133,100	74,100
Gln- ¹³ C ₅ , ¹⁵ N ₁	0,47	154,100	136,000	Gln	0,47	147,100	130,000
Saure Aminosäuren							
Asp- ¹³ C ₄ , ¹⁵ N ₁	0,47	139,100	77,100	Asp	0,47	134,100	74,100
Glu- ¹³ C ₅ , ¹⁵ N ₁	0,48	154,100	107,100	Glu	0,47	148,100	102,100

Tab. 35: Identifizierung der Aminosäuren. Vergleich der Retentionszeiten sowie der spezifischen Massenübergänge Q(1) und Q(3) von Standards und Proben. $\bar{t}_R(\text{Std})$ = Mittlere Retentionszeit des Standards, $\bar{t}_R(\text{Pr})$ = Mittlere Retentionszeit der Proben; n.n. = nicht nachweisbar.

Standard	$\bar{t}_R(\text{Std})$ [min]	Q(1) [Da]	Q(3) [Da]	Analyt	$\bar{t}_R(\text{Pr})$ [min]	Q(1) [Da]	Q(3) [Da]
Basische Aminosäuren							
His- $^{13}\text{C}_5, ^{15}\text{N}_3$	0,43	165,200	118,100	His	0,40	156,200	110,100
Arg- $^{13}\text{C}_6, ^{15}\text{N}_4$	0,44	185,100	75,100	Arg	0,44	175,100	70,100
Lys- $^{13}\text{C}_6, ^{15}\text{N}_2$	0,41	155,100	90,100	Lys	0,41	147,100	84,100
Sonstige							
GABA	0,46	106,100	89,000	GABA	0,46	106,100	89,000

7.2.1.1 Identifizierung der hydrophoben Aminosäuren

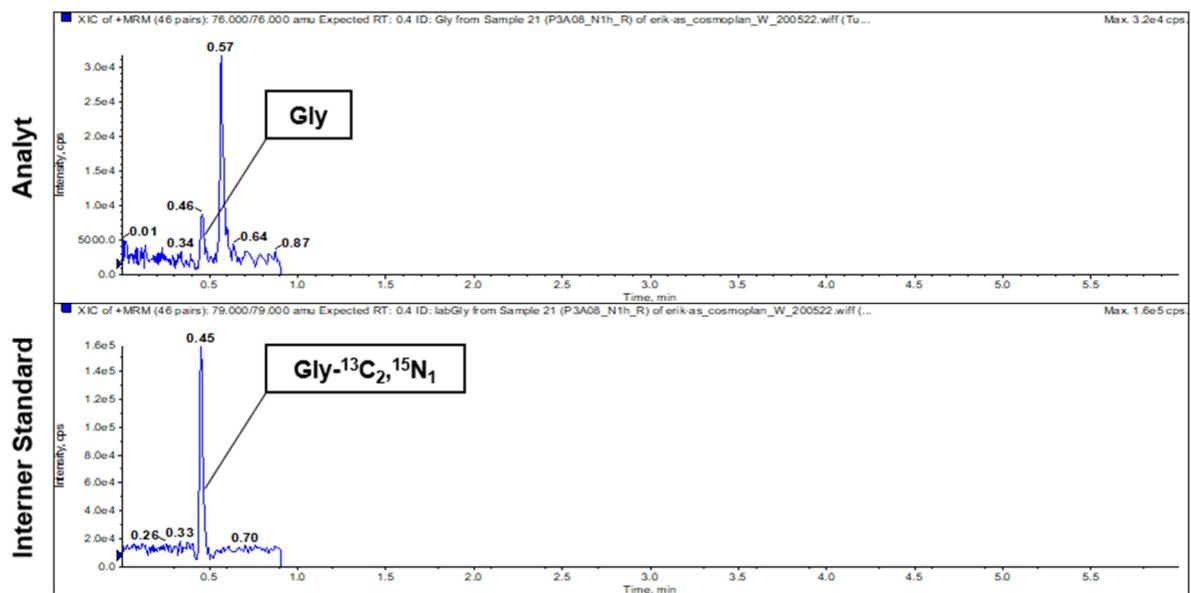


Abb. 50: Exemplarische Identifizierung von Gly ($\bar{t}_R = 0,46$ min, Q(1) = 76,000 Da, Q(3) = 76,000 Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Gly- $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_1$ ($\bar{t}_R = 0,45$ min, Q(1) = 79,000 Da, Q(3) = 79,000 Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

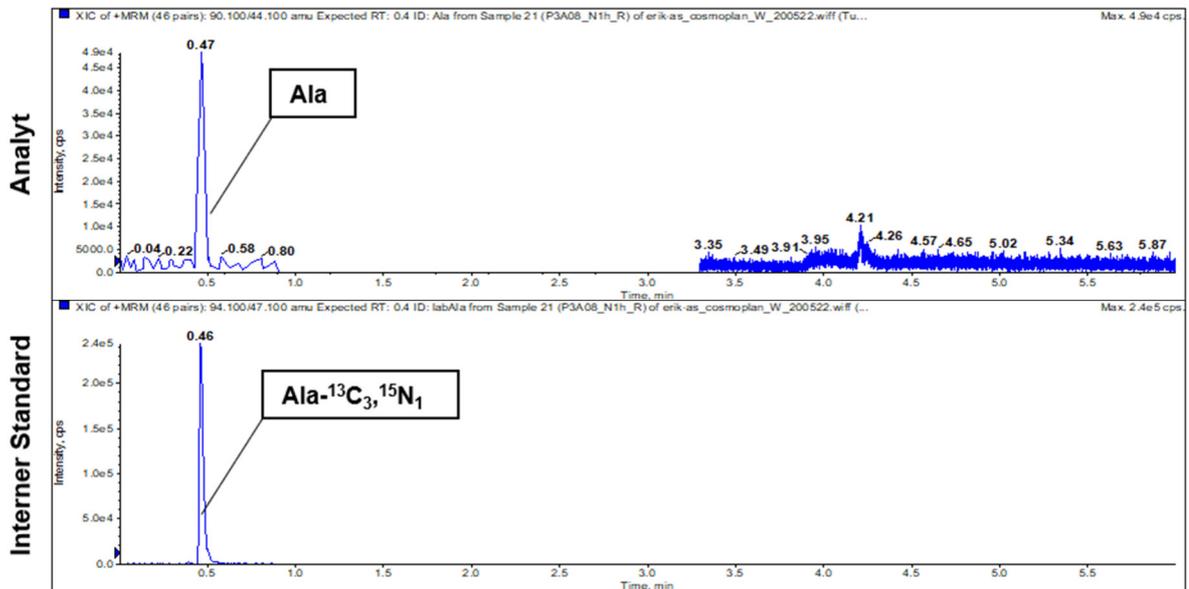


Abb. 51: Exemplarische Identifizierung von Ala ($\bar{t}_R = 0,47$ min, $Q(1) = 90,100$ Da, $Q(3) = 44,100$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Ala-¹³C₃, ¹⁵N₁ ($\bar{t}_R = 0,46$ min, $Q(1) = 94,100$ Da, $Q(3) = 47,000$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

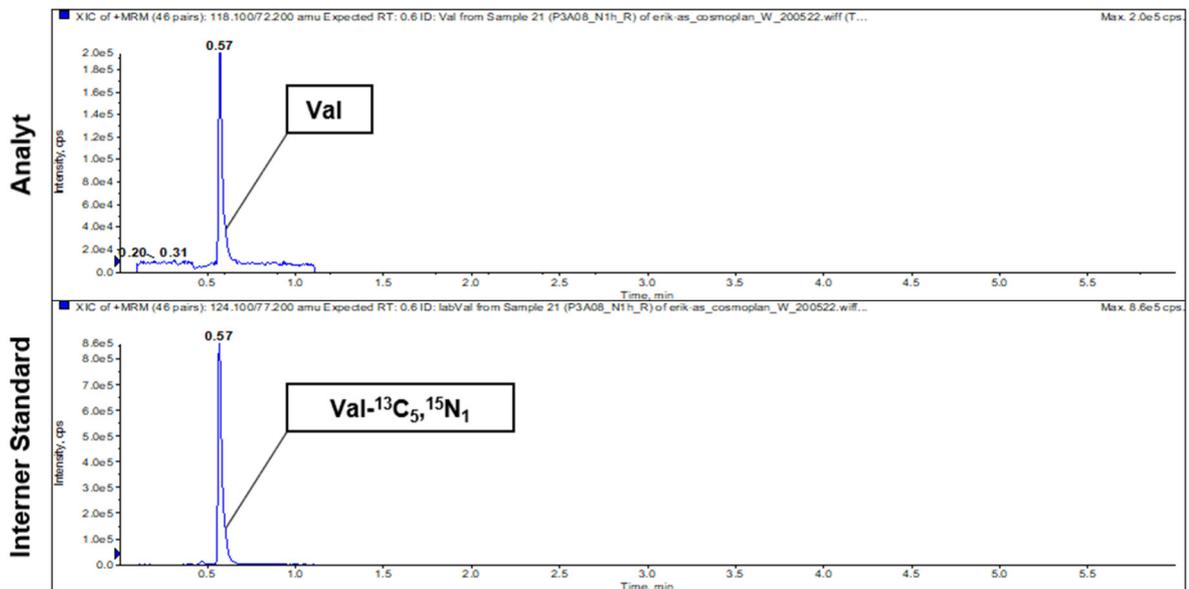


Abb. 52: Exemplarische Identifizierung von Val ($\bar{t}_R = 0,57$ min, $Q(1) = 118,100$ Da, $Q(3) = 72,200$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Val-¹³C₅, ¹⁵N₁ ($\bar{t}_R = 0,57$ min, $Q(1) = 124,100$ Da, $Q(3) = 77,200$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

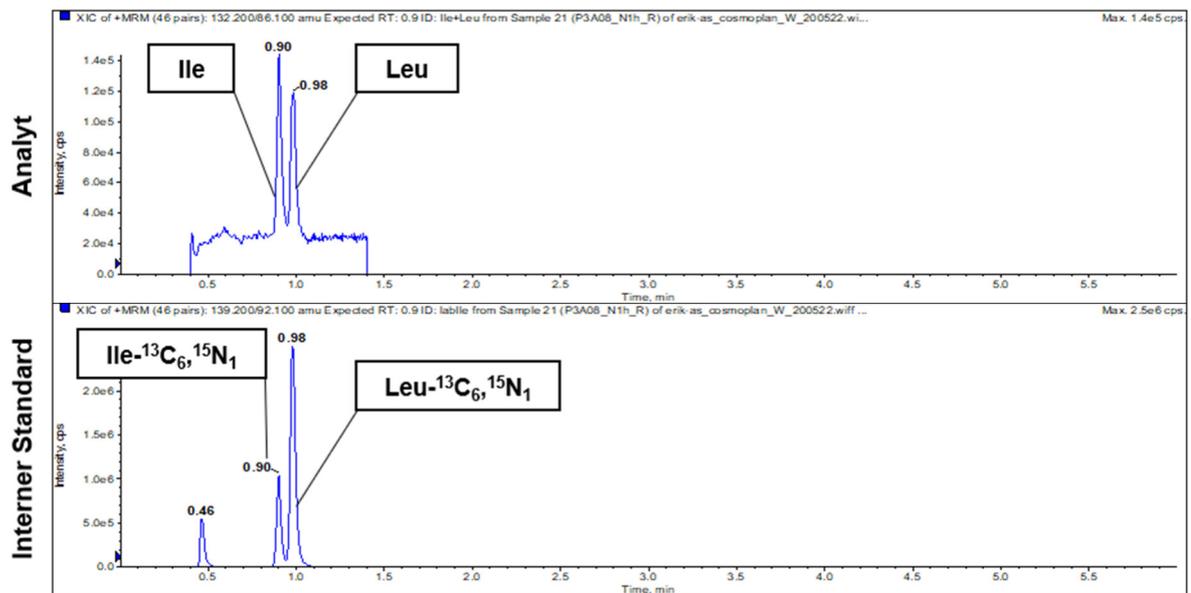


Abb. 53: Exemplarische Identifizierung von Ile ($\bar{t}_R = 0,90$ min, $Q(1) = 132,200$ Da, $Q(3) = 86,100$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Ile-¹³C₆, ¹⁵N₁ ($\bar{t}_R = 0,89$ min, $Q(1) = 139,200$ Da, $Q(3) = 92,100$ Da, unteres Chromatogramm) sowie von Leu ($\bar{t}_R = 0,97$ min, $Q(1) = 132,200$ Da, $Q(3) = 86,100$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Leu-¹³C₆, ¹⁵N₁ ($\bar{t}_R = 0,97$ min, $Q(1) = 139,200$ Da, $Q(3) = 92,100$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

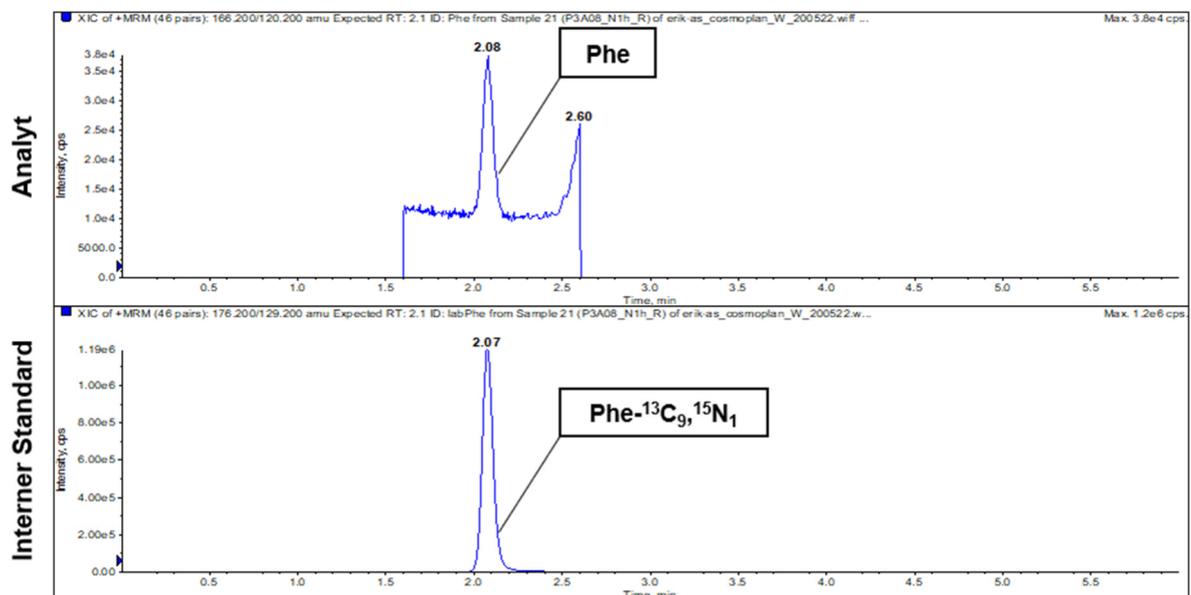


Abb. 54: Exemplarische Identifizierung von Phe ($\bar{t}_R = 2,06$ min, $Q(1) = 166,200$ Da, $Q(3) = 120,200$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Phe-¹³C₉, ¹⁵N₁ ($\bar{t}_R = 2,06$ min, $Q(1) = 176,200$ Da, $Q(3) = 129,200$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

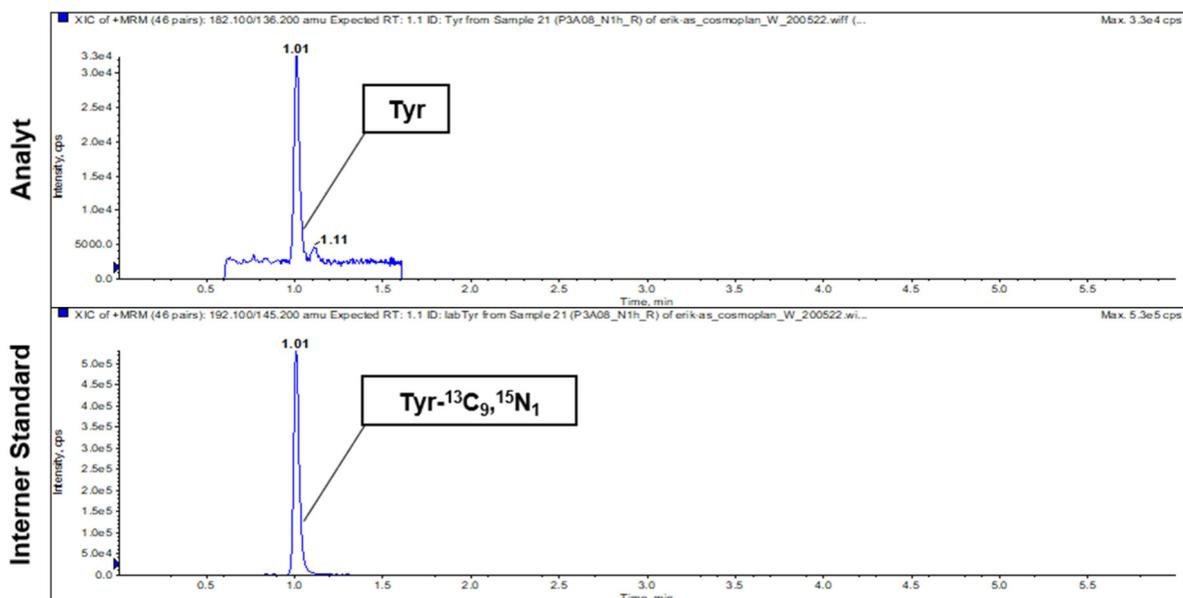


Abb. 55: Exemplarische Identifizierung von Tyr ($\bar{t}_R = 1,01$ min, $Q(1) = 182,100$ Da, $Q(3) = 136,200$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Tyr-¹³C₉, ¹⁵N₁ ($\bar{t}_R = 1,01$ min, $Q(1) = 192,100$ Da, $Q(3) = 145,100$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

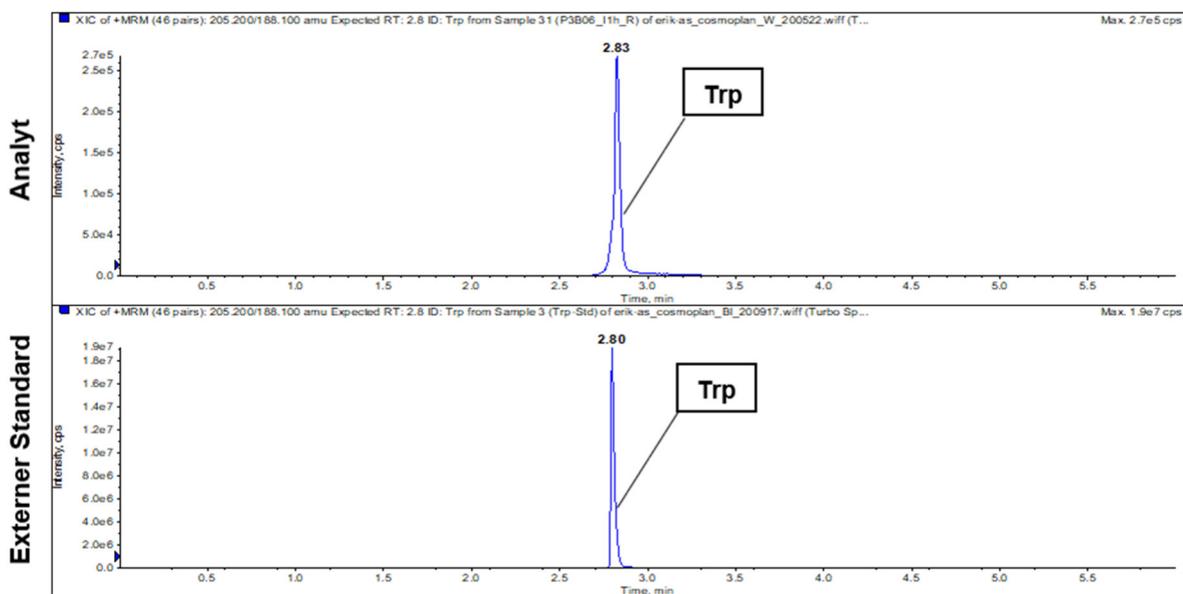


Abb. 56: Exemplarische Identifizierung von Trp ($\bar{t}_R = 2,83$ min, $Q(1) = 205,200$ Da, $Q(3) = 188,100$ Da; oberes Chromatogramm) in den Proben durch externen Trp-Standard ($\bar{t}_R = 2,80$ min, $Q(1) = 205,200$ Da, $Q(3) = 188,100$ Da, unteres Chromatogramm).

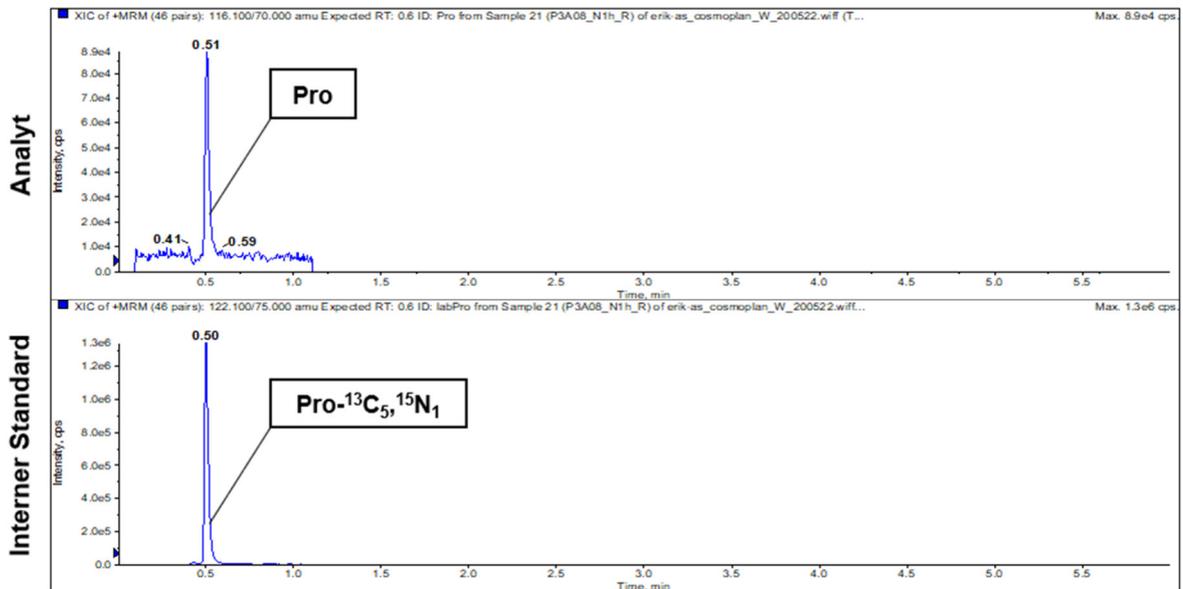


Abb. 57: Exemplarische Identifizierung von Pro ($\bar{t}_R = 0,50$ min, $Q(1) = 116,000$ Da, $Q(3) = 70,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard $\text{Pro-}^{13}\text{C}_5,^{15}\text{N}_1$ ($\bar{t}_R = 0,50$ min, $Q(1) = 122,100$ Da, $Q(3) = 75,000$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

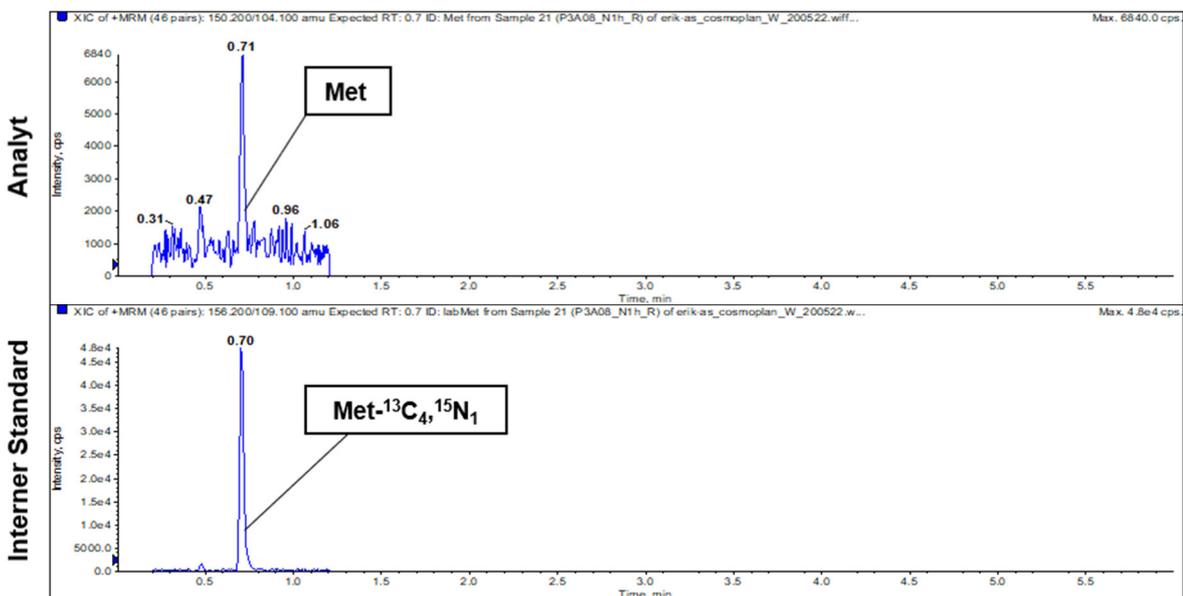


Abb. 58: Exemplarische Identifizierung von Met ($\bar{t}_R = 0,71$ min, $Q(1) = 150,200$ Da, $Q(3) = 104,100$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard $\text{Met-}^{13}\text{C}_4,^{15}\text{N}_1$ ($\bar{t}_R = 0,70$ min, $Q(1) = 156,200$ Da, $Q(3) = 109,100$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

7.2.1.2 Identifizierung der hydrophilen, neutralen Aminosäuren

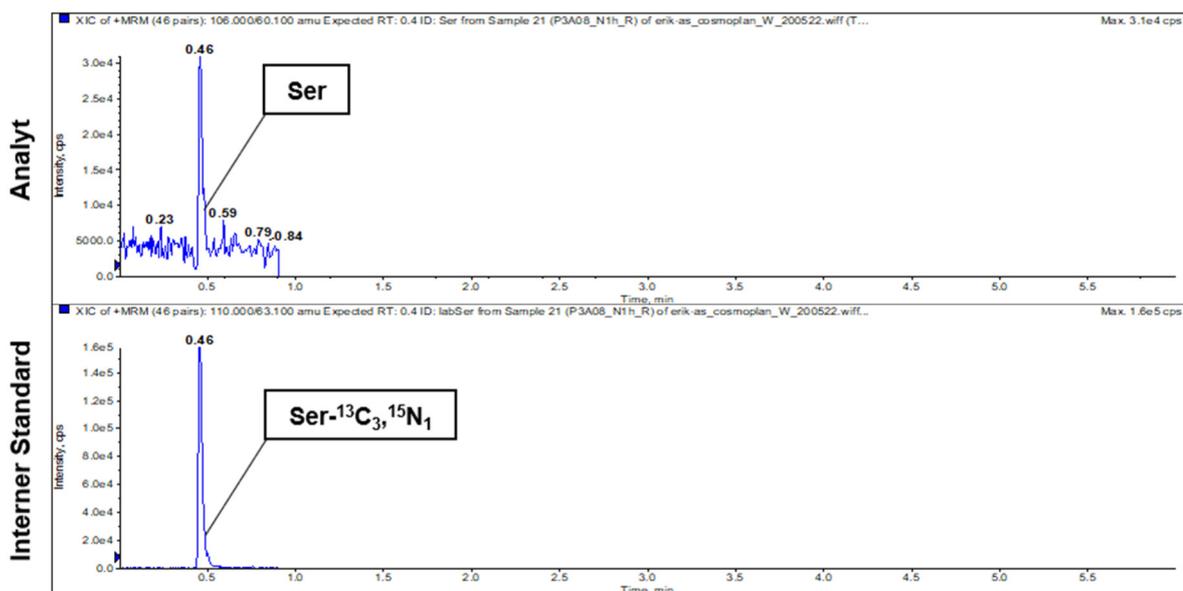


Abb. 59: Exemplarische Identifizierung von Ser ($\bar{t}_R = 0,46$ min, $Q(1) = 106,000$ Da, $Q(3) = 60,100$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Ser-¹³C₃, ¹⁵N₁ ($\bar{t}_R = 0,46$ min, $Q(1) = 110,000$ Da, $Q(3) = 63,100$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

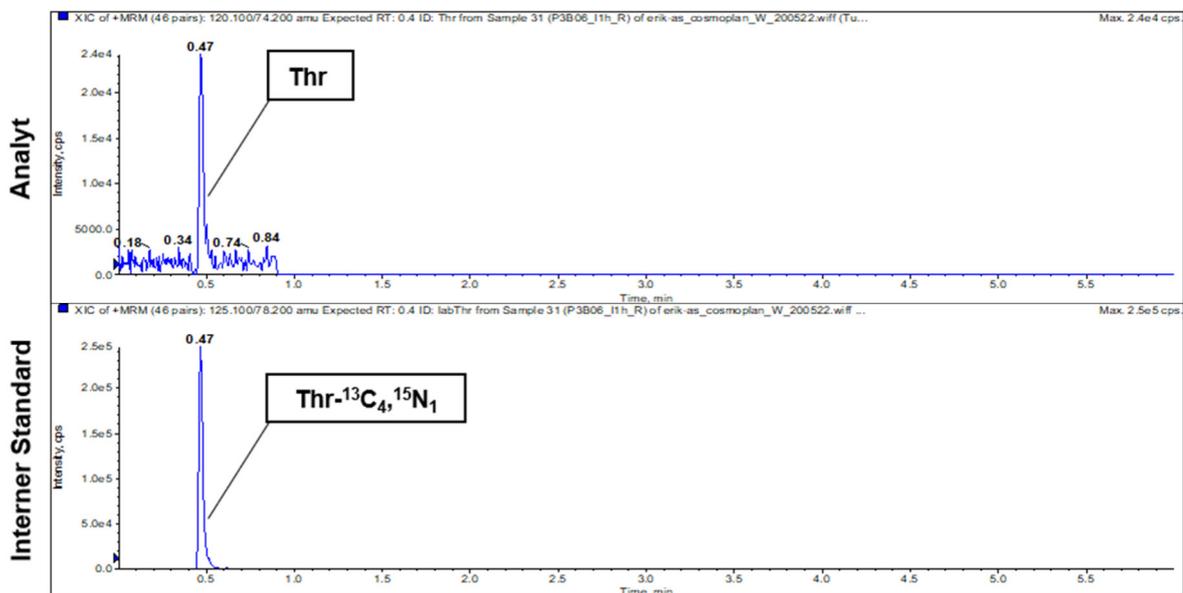


Abb. 60: Exemplarische Identifizierung von Thr ($\bar{t}_R = 0,46$ min, $Q(1) = 120,100$ Da, $Q(3) = 74,200$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Thr-¹³C₄, ¹⁵N₁ ($\bar{t}_R = 0,46$ min, $Q(1) = 125,100$ Da, $Q(3) = 78,200$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

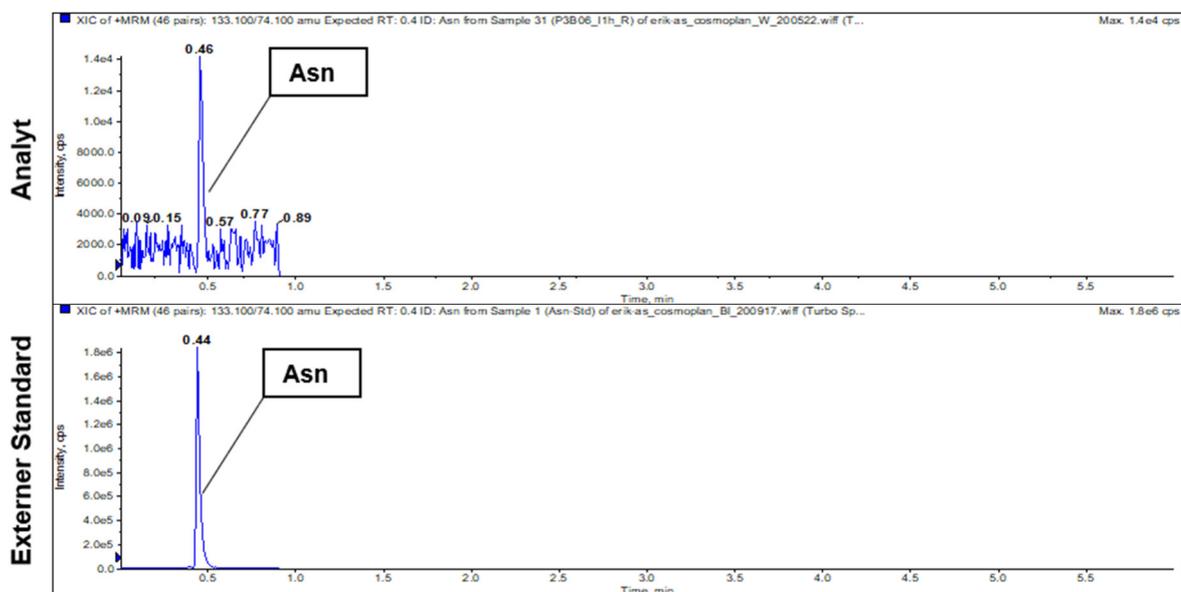


Abb. 61: Exemplarische Identifizierung von Asn ($\bar{t}_R = 0,46$ min, $Q(1) = 133,100$ Da, $Q(3) = 74,100$ Da; oberes Chromatogramm) in den Proben durch einen externen Asn-Standard ($\bar{t}_R = 0,44$ min, $Q(1) = 133,100$ Da, $Q(3) = 74,100$ Da, unteres Chromatogramm).

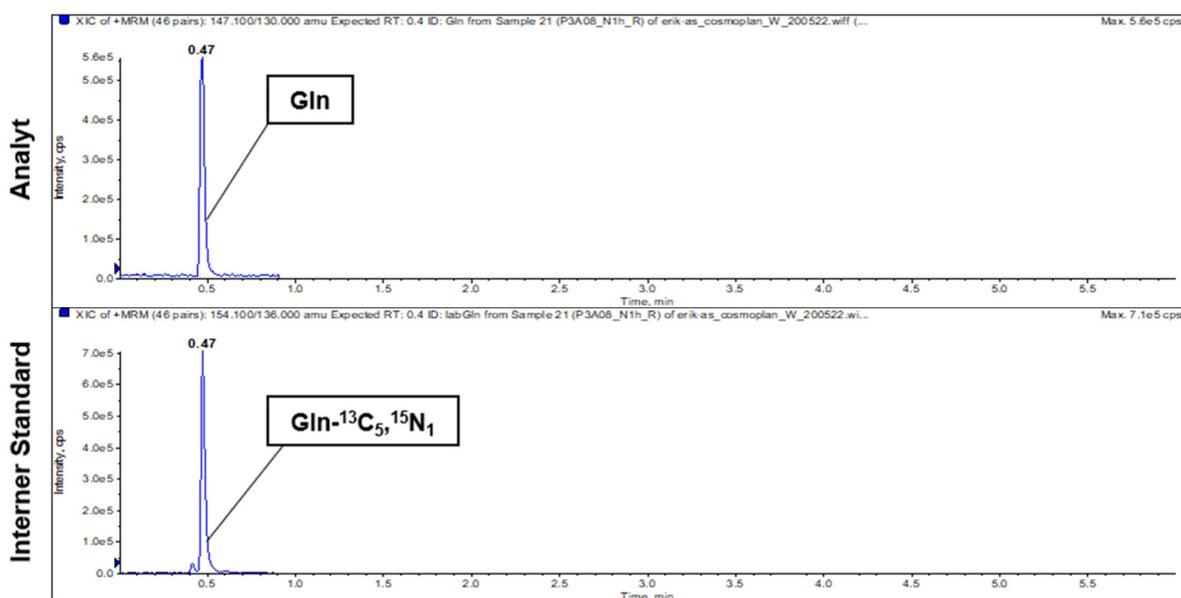


Abb. 62: Exemplarische Identifizierung von Gln ($\bar{t}_R = 0,47$ min, $Q(1) = 147,100$ Da, $Q(3) = 130,000$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Gln-¹³C₅, ¹⁵N₁ ($\bar{t}_R = 0,47$ min, $Q(1) = 154,100$ Da, $Q(3) = 136,000$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

7.2.1.3 Identifizierung der hydrophilen, sauren Aminosäuren

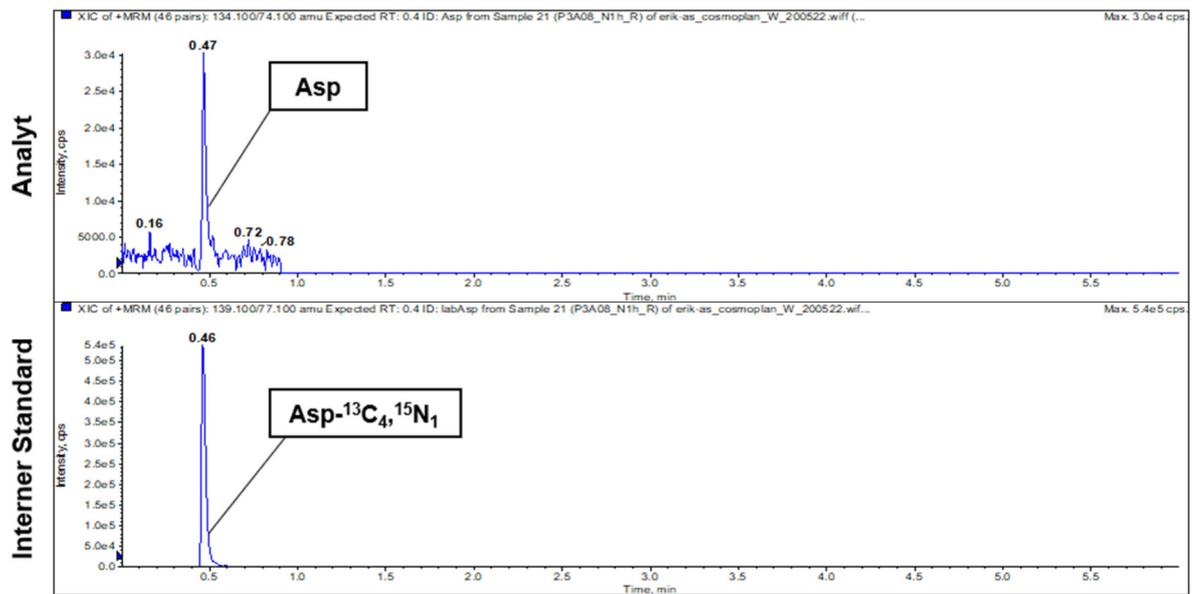


Abb. 63: Exemplarische Identifizierung von Asp ($\bar{t}_R = 0,47$ min, $Q(1) = 134,100$ Da, $Q(3) = 74,100$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Asp- $^{13}\text{C}_4, ^{15}\text{N}_1$ ($\bar{t}_R = 0,47$ min, $Q(1) = 139,100$ Da, $Q(3) = 77,100$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

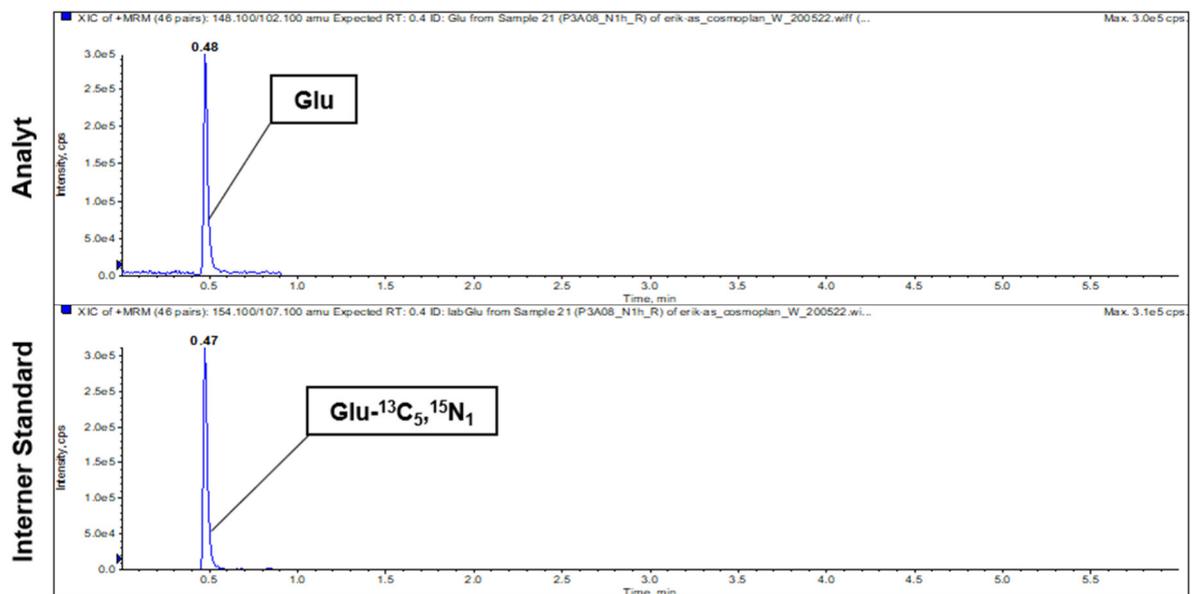


Abb. 64: Exemplarische Identifizierung von Glu ($\bar{t}_R = 0,47$ min, $Q(1) = 148,100$ Da, $Q(3) = 102,100$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Glu- $^{13}\text{C}_5, ^{15}\text{N}_1$ ($\bar{t}_R = 0,48$ min, $Q(1) = 154,100$ Da, $Q(3) = 107,100$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

7.2.1.4 Identifizierung der hydrophilen, basischen Aminosäuren

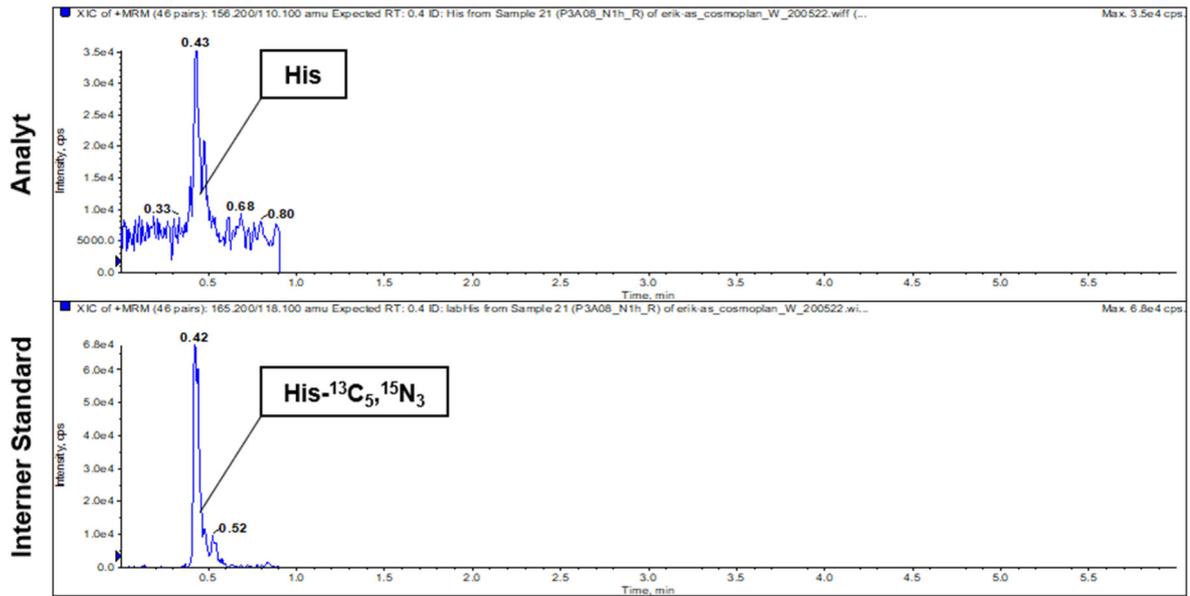


Abb. 65: Exemplarische Identifizierung von His ($\bar{t}_R = 0,40$ min, $Q(1) = 156,200$ Da, $Q(3) = 110,100$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard His- $^{13}\text{C}_5,^{15}\text{N}_3$ ($\bar{t}_R = 0,43$ min, $Q(1) = 165,200$ Da, $Q(3) = 118,100$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

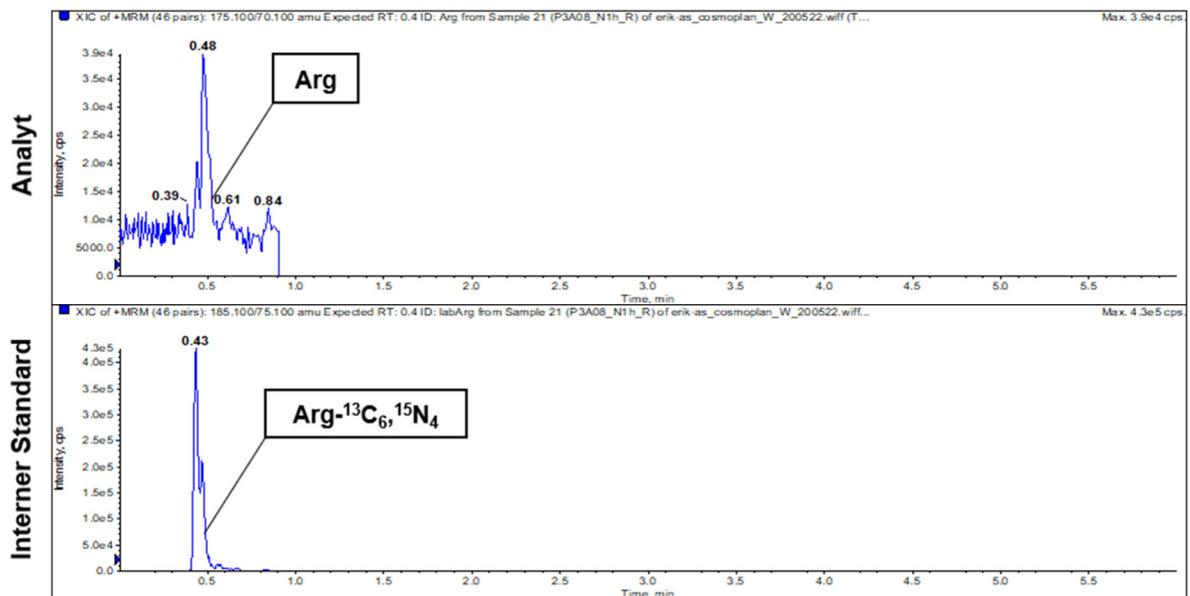


Abb. 66: Exemplarische Identifizierung von Arg ($\bar{t}_R = 0,44$ min, $Q(1) = 175,100$ Da, $Q(3) = 70,100$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Arg- $^{13}\text{C}_6,^{15}\text{N}_4$ ($\bar{t}_R = 0,44$ min, $Q(1) = 185,100$ Da, $Q(3) = 75,100$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

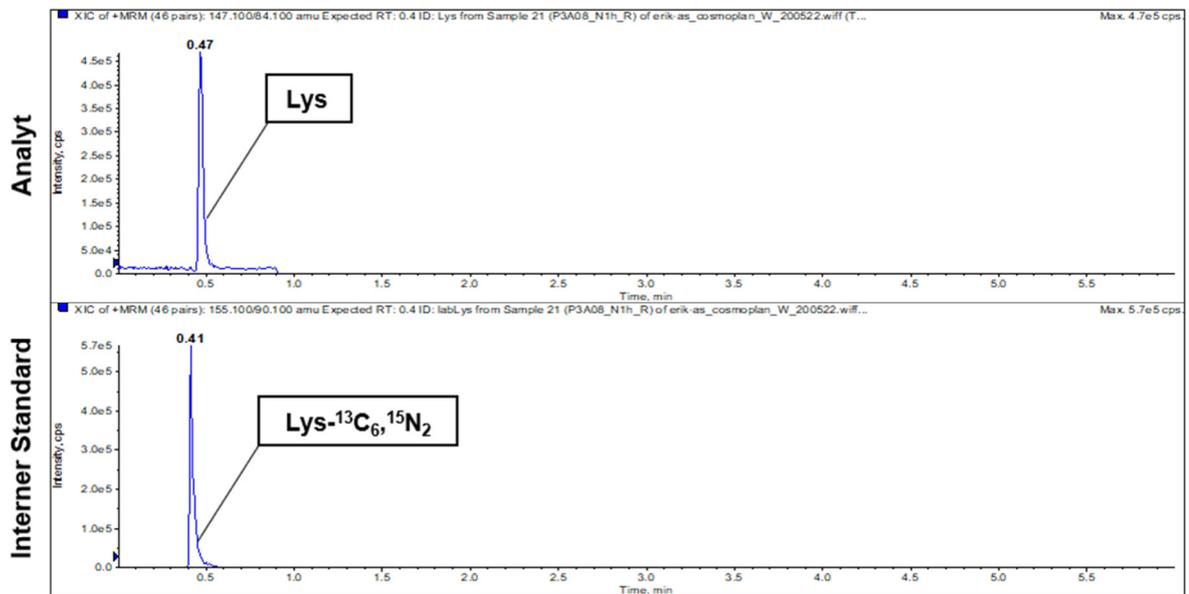


Abb. 67: Exemplarische Identifizierung von Lys ($\bar{t}_R = 0,41$ min, $Q(1) = 147,100$ Da, $Q(3) = 84,100$ Da; oberes Chromatogramm) durch den internen Standard Lys-¹³C₆, ¹⁵N₂ ($\bar{t}_R = 0,41$ min, $Q(1) = 155,100$ Da, $Q(3) = 90,100$ Da, unteres Chromatogramm) in den Proben.

7.2.1.5 Nicht-proteinogene Aminosäuren

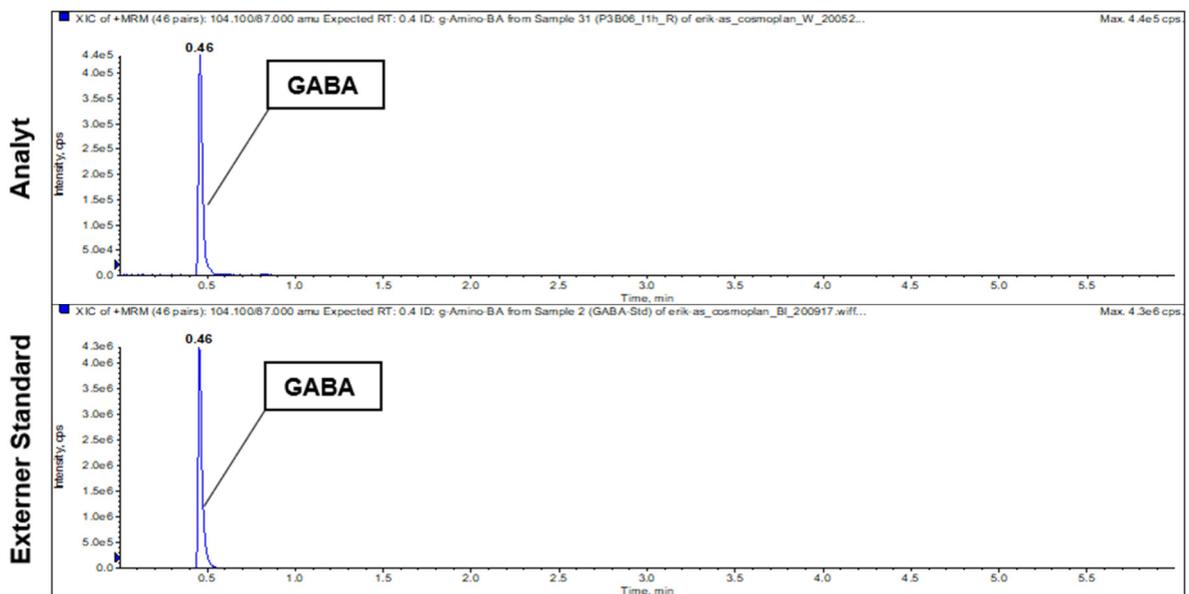


Abb. 68: Exemplarische Identifizierung von GABA ($\bar{t}_R = 0,46$ min, $Q(1) = 104,100$ Da, $Q(3) = 87,100$ Da; oberes Chromatogramm) in den Proben durch einen externen GABA-Standard ($\bar{t}_R = 0,46$ min, $Q(1) = 104,100$ Da, $Q(3) = 87,100$ Da, unteres Chromatogramm).

7.2.2 Quantifizierung

Tab. 36: Aminosäureanalytik. Zusammensetzung des internen Aminosäurestandards (Algen Aminosäure Mix ^{13}C , ^{15}N ; Sigma Aldrich, St. Louis, USA; Gesamtkonzentration des Standards = 1 $\mu\text{g/mL}$), untersuchte Analyten und Responsefaktoren.

^{13}C , ^{15}N -markierte Aminosäuren	c [μM]	Analyten	R_f
Gly- $^{13}\text{C}_2$, $^{15}\text{N}_1$	9,8	Gly	1,00
Ala- $^{13}\text{C}_3$, $^{15}\text{N}_1$	14,7	Ala	1,00
		GABA	1,00
Val- $^{13}\text{C}_5$, $^{15}\text{N}_1$	2,2	Val	1,00
Ile- $^{13}\text{C}_6$, $^{15}\text{N}_1$	2,1	Ile	1,00
Leu- $^{13}\text{C}_6$, $^{15}\text{N}_1$	4,5	Leu	1,00
Phe- $^{13}\text{C}_9$, $^{15}\text{N}_1$	3,1	Phe	1,00
		Trp	0,42
Tyr- $^{13}\text{C}_9$, $^{15}\text{N}_1$	1,7	Tyr	1,00
Pro- $^{13}\text{C}_5$, $^{15}\text{N}_1$	2,4	Pro	1,00
Met- $^{13}\text{C}_4$, $^{15}\text{N}_1$	0,6	Met	1,00
Ser- $^{13}\text{C}_3$, $^{15}\text{N}_1$	4,9	Ser	1,00
Thr- $^{13}\text{C}_4$, $^{15}\text{N}_1$	4,0	Thr	1,00
Gln- $^{13}\text{C}_5$, $^{15}\text{N}_1$	3,3	Gln	1,00
Asp- $^{13}\text{C}_4$, $^{15}\text{N}_1$	13,4	Asp	1,00
		Asn	1,00
Glu- $^{13}\text{C}_5$, $^{15}\text{N}_1$	8,2	Glu	1,00
His- $^{13}\text{C}_5$, $^{15}\text{N}_3$	0,7	His	1,00
Arg- $^{13}\text{C}_6$, $^{15}\text{N}_4$	2,2	Arg	1,00
Lys- $^{13}\text{C}_6$, $^{15}\text{N}_2$	2,5	Lys	1,00

7.2.2.1 Quantifizierung und statistische Auswertung einzelner Aminosäuren

Tab. 37: Konzentrationen aller, mit der in 2.3.3 beschriebenen Methode, analysierten Aminosäuren in den Blättern und den Wurzeln von nativen und invasiven Populationen von *P. lanceolata*. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 zu finden). a-c: Gruppierung nach statistischer Auswertung in Tab. 38 und LSD-Post-Hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen), Blatt- und Wurzelkonzentrationen wurden unabhängig voneinander gruppiert.

AS	Blätter				Wurzel			
	Nativ		Invasiv		Nativ		Invasiv	
	Kontrolle	Herbivorie	Kontrolle	Herbivorie	Kontrolle	Herbivorie	Kontrolle	Herbivorie
Hydrophobe Aminosäuren								
Gly	0,46 \pm 0,02 ^a	0,52 \pm 0,05 ^a	0,46 \pm 0,02 ^a	0,44 \pm 0,01 ^a	0,61 \pm 0,04 ^a	0,58 \pm 0,02 ^a	0,58 \pm 0,02 ^a	0,58 \pm 0,02 ^a
Ala	2,15 \pm 0,09 ^a	1,97 \pm 0,08 ^b	2,03 \pm 0,07 ^a	1,97 \pm 0,08 ^b	2,47 \pm 0,23 ^a	3,47 \pm 0,42 ^b	2,33 \pm 0,23 ^a	2,94 \pm 0,24 ^b
Val	0,36 \pm 0,02 ^a	0,34 \pm 0,01 ^a	0,35 \pm 0,02 ^a	0,32 \pm 0,02 ^a	0,45 \pm 0,02 ^a	0,55 \pm 0,04 ^b	0,43 \pm 0,02 ^a	0,49 \pm 0,03 ^b
Ile	0,33 \pm 0,02 ^a	0,33 \pm 0,02 ^a	0,33 \pm 0,01 ^a	0,31 \pm 0,01 ^a	0,40 \pm 0,02 ^a	0,44 \pm 0,03 ^a	0,38 \pm 0,02 ^a	0,41 \pm 0,02 ^a
Leu	0,21 \pm 0,01 ^a	0,19 \pm 0,01 ^b	0,22 \pm 0,01 ^a	0,20 \pm 0,01 ^b	0,26 \pm 0,02 ^a	0,28 \pm 0,02 ^a	0,24 \pm 0,01 ^a	0,26 \pm 0,01 ^a
Phe	0,09 \pm 0,01 ^a	0,09 \pm 0,01 ^a	0,10 \pm 0,01 ^a	0,10 \pm 0,01 ^a	0,07 \pm 0,00 ^a	0,07 \pm 0,01 ^a	0,06 \pm 0,01 ^a	0,07 \pm 0,00 ^a
Tyr	0,11 \pm 0,01 ^a	0,13 \pm 0,01 ^a	0,12 \pm 0,01 ^a	0,12 \pm 0,01 ^a	0,13 \pm 0,01 ^a	0,15 \pm 0,01 ^b	0,12 \pm 0,01 ^a	0,15 \pm 0,01 ^b
Trp	0,10 \pm 0,00 ^a	0,11 \pm 0,01 ^b	0,10 \pm 0,00 ^a	0,11 \pm 0,01 ^b	0,15 \pm 0,01 ^a	0,14 \pm 0,01 ^a	0,13 \pm 0,01 ^a	0,17 \pm 0,02 ^a
Pro	0,13 \pm 0,01 ^a	0,11 \pm 0,01 ^b	0,14 \pm 0,01 ^a	0,10 \pm 0,00 ^b	0,23 \pm 0,01 ^a	0,25 \pm 0,02 ^b	0,22 \pm 0,02 ^a	0,26 \pm 0,01 ^b
Met	0,07 \pm 0,00 ^a	0,07 \pm 0,00 ^a	0,06 \pm 0,00 ^a	0,07 \pm 0,00 ^a	0,07 \pm 0,00 ^a	0,07 \pm 0,00 ^a	0,06 \pm 0,00 ^b	0,06 \pm 0,00 ^b
Hydrophile, neutrale Aminosäuren								
Ser	0,99 \pm 0,08 ^a	1,02 \pm 0,13 ^b	1,01 \pm 0,06 ^a	0,86 \pm 0,05 ^b	1,05 \pm 0,10 ^a	0,97 \pm 0,08 ^a	0,84 \pm 0,05 ^a	0,90 \pm 0,05 ^a
Thr	0,54 \pm 0,03 ^a	0,51 \pm 0,02 ^a	0,54 \pm 0,02 ^a	0,48 \pm 0,02 ^a	0,51 \pm 0,03 ^a	0,51 \pm 0,03 ^a	0,49 \pm 0,03 ^a	0,46 \pm 0,02 ^a
Asn	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,33 \pm 0,03 ^a	0,83 \pm 0,39 ^b	0,30 \pm 0,05 ^a	0,40 \pm 0,06 ^b
Gln	0,54 \pm 0,06 ^a	0,38 \pm 0,02 ^b	0,50 \pm 0,04 ^a	0,39 \pm 0,02 ^b	3,08 \pm 0,36 ^a	4,20 \pm 0,67 ^b	2,60 \pm 0,35 ^a	3,05 \pm 0,28 ^b

Tab. 37: Konzentrationen aller, mit der in 2.3.3 beschriebenen Methode, analysierten Aminosäuren in den Blättern und den Wurzeln von nativen und invasiven Populationen von *P. lanceolata*. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 zu finden). a-c: Gruppierung nach statistischer Auswertung in Tab. 38 und LSD-Post-Hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen), Blatt- und Wurzelkonzentrationen wurden unabhängig voneinander gruppiert.

AS	Blätter				Wurzel			
	Nativ		Invasiv		Nativ		Invasiv	
	Kontrolle	Herbivorie	Kontrolle	Herbivorie	Kontrolle	Herbivorie	Kontrolle	Herbivorie
Hydrophile, saure Aminosäuren								
Asp	0,18 \pm 0,01 ^a	0,20 \pm 0,03 ^a	0,21 \pm 0,02 ^a	0,17 \pm 0,01 ^a	1,12 \pm 0,06 ^a	1,30 \pm 0,08 ^b	0,89 \pm 0,05 ^c	1,12 \pm 0,07 ^a
Glu	1,55 \pm 0,13 ^a	1,32 \pm 0,09 ^b	2,00 \pm 0,13 ^a	1,59 \pm 0,11 ^b	8,95 \pm 0,46 ^a	10,60 \pm 0,53 ^b	7,89 \pm 0,41 ^a	10,07 \pm 0,48 ^b
Hydrophile, basische Aminosäuren								
His	0,23 \pm 0,01 ^a	0,23 \pm 0,02 ^a	0,20 \pm 0,01 ^a	0,21 \pm 0,01 ^a	0,39 \pm 0,02 ^a	0,42 \pm 0,05 ^a	0,34 \pm 0,02 ^a	0,36 \pm 0,02 ^a
Arg	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,17 \pm 0,01 ^a	0,48 \pm 0,32 ^a	0,12 \pm 0,01 ^a	0,17 \pm 0,03 ^a
Lys	0,03 \pm 0,00 ^a	0,03 \pm 0,00 ^b	0,03 \pm 0,00 ^a	0,02 \pm 0,00 ^b	0,02 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,01 ^b	0,01 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^b
Nicht-proteinogene Aminosäuren								
GABA	0,88 \pm 0,10 ^a	0,86 \pm 0,08 ^a	0,86 \pm 0,07 ^a	1,06 \pm 0,09 ^b	7,94 \pm 0,70 ^a	8,71 \pm 0,99 ^a	7,97 \pm 0,85 ^a	10,28 \pm 1,16 ^a

Tab. 38: Ergebnisse der statistischen Auswertung aller analysierten Aminosäuren in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

AS	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Hydrophobe Aminosäuren						
Gly	Blätter	Herkunft	0,156	1	18,000	0,697
		Behandlung	0,025	1	178,000	0,875
		Herkunft x Behandlung	0,161	1	178,000	0,689
	Wurzeln	Herkunft	<0,001	1	17,976	0,984
		Behandlung	0,294	1	172,551	0,588
		Herkunft x Behandlung	<0,001	1	172,547	0,995
Ala	Blätter	Herkunft	0,059	1	18,000	0,810
		Behandlung	5,372	1	178,000	0,022
		Herkunft x Behandlung	0,231	1	178,000	0,631
	Wurzeln	Herkunft	0,326	1	17,979	0,575
		Behandlung	8,840	1	172,481	0,003
		Herkunft x Behandlung	0,027	1	172,488	0,870
Val	Blätter	Herkunft	0,541	1	18,000	0,472
		Behandlung	1,962	1	178,000	0,163
		Herkunft x Behandlung	0,006	1	178,000	0,939
	Wurzeln	Herkunft	1,341	1	17,982	0,262
		Behandlung	8,018	1	172,472	0,005
		Herkunft x Behandlung	0,006	1	172,475	0,939
Ile	Blätter	Herkunft	0,215	1	18,000	0,648
		Behandlung	0,066	1	178,000	0,797
		Herkunft x Behandlung	0,172	1	178,000	0,678
	Wurzeln	Herkunft	0,516	1	17,985	0,482
		Behandlung	1,758	1	172,436	0,187
		Herkunft x Behandlung	0,015	1	172,446	0,902
Leu	Blätter	Herkunft	0,387	1	18,000	0,542
		Behandlung	5,888	1	178,000	0,016
		Herkunft x Behandlung	0,117	1	178,000	0,733
	Wurzeln	Herkunft	0,114	1	17,992	0,739
		Behandlung	0,691	1	172,330	0,407
		Herkunft x Behandlung	0,255	1	172,335	0,614
Phe	Blätter	Herkunft	0,056	1	18,000	0,816
		Behandlung	0,605	1	178,000	0,438
		Herkunft x Behandlung	1,502	1	178,000	0,222
	Wurzeln	Herkunft	0,362	1	17,972	0,555
		Behandlung	1,758	1	172,576	0,187
		Herkunft x Behandlung	1,934	1	172,576	0,166
Tyr	Blätter	Herkunft	0,824	1	18,000	0,376
		Behandlung	2,780	1	178,000	0,097
		Herkunft x Behandlung	0,812	1	178,000	0,369
	Wurzeln	Herkunft	0,070	1	17,985	0,795
		Behandlung	10,681	1	172,444	0,001
		Herkunft x Behandlung	2,042	1	172,450	0,155

Tab. 38: Ergebnisse der statistischen Auswertung aller analysierten Aminosäuren in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

AS	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Trp	Blätter	Herkunft	0,240	1	18,000	0,630
		Behandlung	17,404	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0,012	1	178,00	0,912
	Wurzeln	Herkunft	0,000	1	18,000	1,000
		Behandlung	0,027	1	172,107	0,870
		Herkunft x Behandlung	1,371	1	172,124	0,243
Pro	Blätter	Herkunft	0,001	1	18,000	0,982
		Behandlung	49,662	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	2,184	1	178,000	0,141
	Wurzeln	Herkunft	0,218	1	17,972	0,646
		Behandlung	5,433	1	172,575	0,021
		Herkunft x Behandlung	1,835	1	172,579	0,177
Met	Blätter	Herkunft	0,078	1	18,000	0,783
		Behandlung	0,743	1	178,000	0,390
		Herkunft x Behandlung	0,855	1	178,000	0,356
	Wurzeln	Herkunft	6,849	1	17,953	0,017
		Behandlung	0,081	1	172,723	0,776
		Herkunft x Behandlung	1,211	1	172,730	0,273
Hydrophile, neutrale Aminosäuren						
Ser	Blätter	Herkunft	0,102	1	18,000	0,753
		Behandlung	4,051	1	178,000	0,046
		Herkunft x Behandlung	1,406	1	178,000	0,237
	Wurzeln	Herkunft	0,852	1	17,984	0,368
		Behandlung	0,256	1	172,432	0,613
		Herkunft x Behandlung	1,488	1	172,444	0,224
Thr	Blätter	Herkunft	0,046	1	18,000	0,833
		Behandlung	2,754	1	178,000	0,099
		Herkunft x Behandlung	0,162	1	178,000	0,688
	Wurzeln	Herkunft	0,663	1	17,985	0,426
		Behandlung	0,324	1	172,429	0,570
		Herkunft x Behandlung	0,067	1	172,429	0,796
Asn	Blätter	Herkunft	-	-	-	-
		Behandlung	-	-	-	-
		Herkunft x Behandlung	-	-	-	-
	Wurzeln	Herkunft	0,792	1	17,984	0,385
		Behandlung	5,161	1	172,335	0,024
		Herkunft x Behandlung	0,003	1	172,382	0,956
Gln	Blätter	Herkunft	0,003	1	18,000	0,957
		Behandlung	10,279	1	178,000	0,002
		Herkunft x Behandlung	0,012	1	178,000	0,914
	Wurzeln	Herkunft	2,506	1	17,974	0,131
		Behandlung	6,505	1	172,539	0,012
		Herkunft x Behandlung	0,000	1	172,570	0,997

Tab. 38: Ergebnisse der statistischen Auswertung aller analysierten Aminosäuren in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

AS	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Hydrophile, saure Aminosäuren						
Asp	Blätter	Herkunft	0,794	1	18,000	0,385
		Behandlung	1,739	1	178,000	0,189
		Herkunft x Behandlung	0,494	1	178,000	0,483
	Wurzeln	Herkunft	5,505	1	17,978	0,031
		Behandlung	8,916	1	172,449	0,003
		Herkunft x Behandlung	0,343	1	172,476	0,559
Glu	Blätter	Herkunft	3,778	1	18,000	0,068
		Behandlung	9,506	1	178,000	0,002
		Herkunft x Behandlung	2,254	1	178,000	0,135
	Wurzeln	Herkunft	1,375	1	17,972	0,256
		Behandlung	16,864	1	172,569	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0,571	1	172,568	0,451
Hydrophile, Basische Aminosäuren						
His	Blätter	Herkunft	2,182	1	18,000	0,157
		Behandlung	0,068	1	178,000	0,794
		Herkunft x Behandlung	0,370	1	178,000	0,544
	Wurzeln	Herkunft	2,202	1	17,954	0,155
		Behandlung	0,004	1	172,682	0,948
		Herkunft x Behandlung	0,965	1	172,662	0,327
Arg	Blätter	Herkunft	-	-	-	-
		Behandlung	-	-	-	-
		Herkunft x Behandlung	-	-	-	-
	Wurzeln	Herkunft	0,433	1	17,995	0,519
		Behandlung	0,446	1	172,212	0,505
		Herkunft x Behandlung	0,351	1	172,232	0,554
Lys	Blätter	Herkunft	0,409	1	18	0,530
		Behandlung	7,964	1	178	0,005
		Herkunft x Behandlung	1,194	1	178	0,276
	Wurzeln	Herkunft	2,352	1	17,955	0,143
		Behandlung	5,095	1	172,768	0,025
		Herkunft x Behandlung	2,240	1	172,776	0,136
Sonstige						
GABA	Blätter	Herkunft	1,496	1	18,000	0,237
		Behandlung	4,916	1	178,000	0,028
		Herkunft x Behandlung	3,816	1	178,000	0,052
	Wurzeln	Herkunft	0,102	1	17,947	0,754
		Behandlung	2,522	1	172,797	0,114
		Herkunft x Behandlung	1,330	1	172,810	0,250

7.3 Zuckanalytik

7.3.1 Qualifizierung

Tab. 39: Identifizierung der Zucker. Vergleich der Retentionszeiten sowie der spezifischen Massenübergänge Q(1) und Q(3) der Standards mit den Zuckern im Standardgemisch. $\bar{t}_R(\text{Std})$ = Mittlere Retentionszeit des Standards, $\bar{t}_R(\text{Pr})$ = Mittlere Retentionszeit der Proben; n.n. = nicht nachweisbar, k.A. = keine Angabe aufgrund fehlender Standards.

Standard	$\bar{t}_R(\text{Std})$ [min]	Q(1) [Da]	Q(3) [Da]	Substanz	$\bar{t}_R(\text{Pr})$ [min]	Q(1) [Da]	Q(3) [Da]
Glucose	7,50	178,800	89,000	Glucose	7,49	178,800	89,000
Fructose	6,30	178,801	89,000	Fructose	6,30	178,801	89,000
Saccharose	8,92	340,900	59,000	Saccharose	8,92	340,900	59,000
Raffinose	11,18	503,100	179,000	Trisaccharid 1	11,17	503,100	179,000
				Trisaccharid 2	12,37	503,100	179,000
Stachyose	13,08	665,200	179,000	Tetrasaccharid	13,07	665,200	179,000
Verbascose	14,52	827,300	59,000	Pentasaccharid	14,51	827,300	59,000
Mannitol	7,15	180,900	89,000	Sorbitol	6,75	180,900	89,000
Sorbitol	6,78	180,900	89,000				

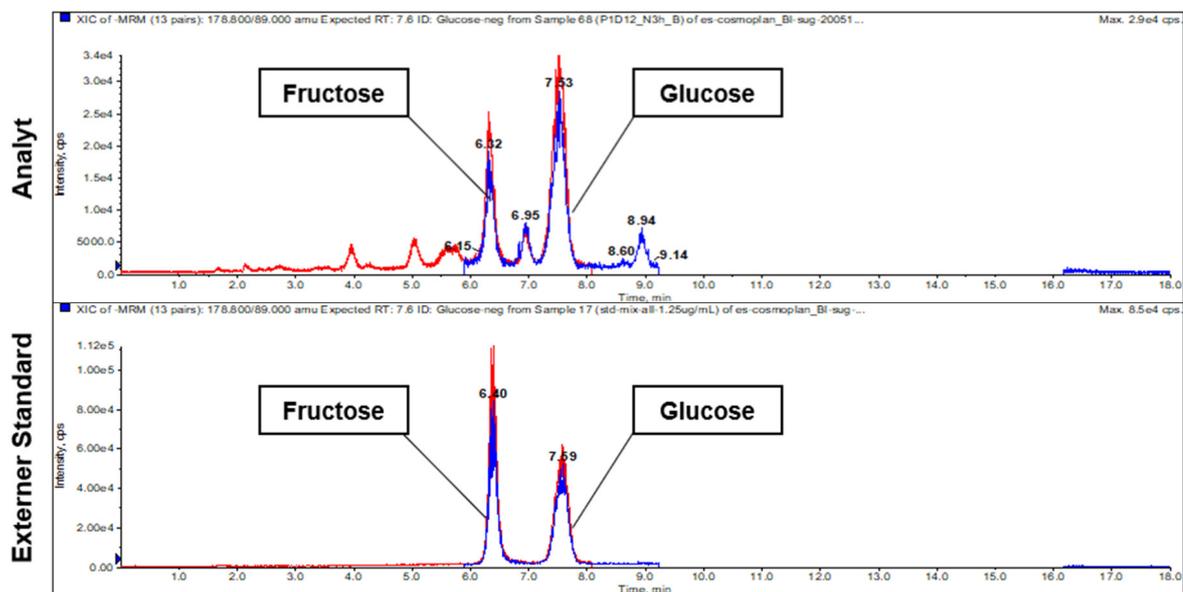


Abb. 69: Exemplarische Identifizierung von Fructose ($\bar{t}_R = 6,30$ min, Q(1) = 178,800 Da, Q(3)= 89,000 Da) und Glucose ($\bar{t}_R = 7,49$ min, Q(1) = 178,800 Da, Q(3)= 89,000 Da) in den Proben (oberes Chromatogramm) durch einen externen Fructose-Standard ($\bar{t}_R = 6,30$ min, Q(1) = 178,800 Da, Q(3)= 89,000 Da) und Glucose-Standard ($\bar{t}_R = 7,50$ min, Q(1) = 178,800 Da, Q(3)= 89,000 Da) (unteres Chromatogramm).

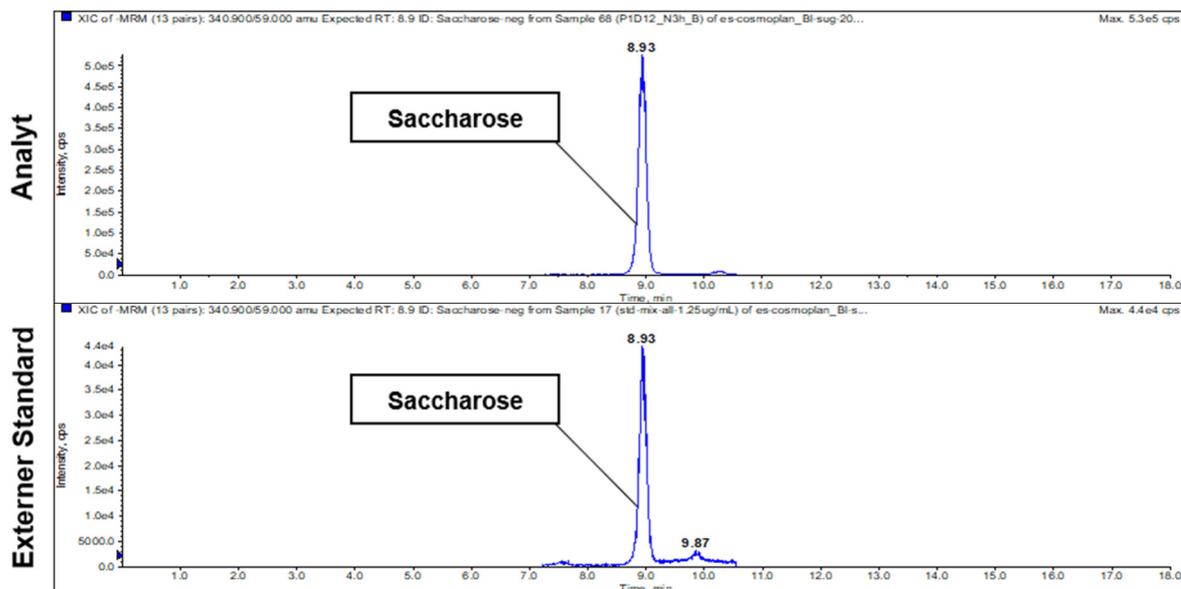


Abb. 70: Exemplarische Identifizierung von Saccharose ($\bar{t}_R = 8,92$ min, $Q(1) = 340,900$ Da, $Q(3) = 59,000$ Da; oberes Chromatogramm) in den Proben durch einen externen Saccharose-Standard ($\bar{t}_R = 8,92$ min, $Q(1) = 340,900$ Da, $Q(3) = 59,000$ Da; unteres Chromatogramm).

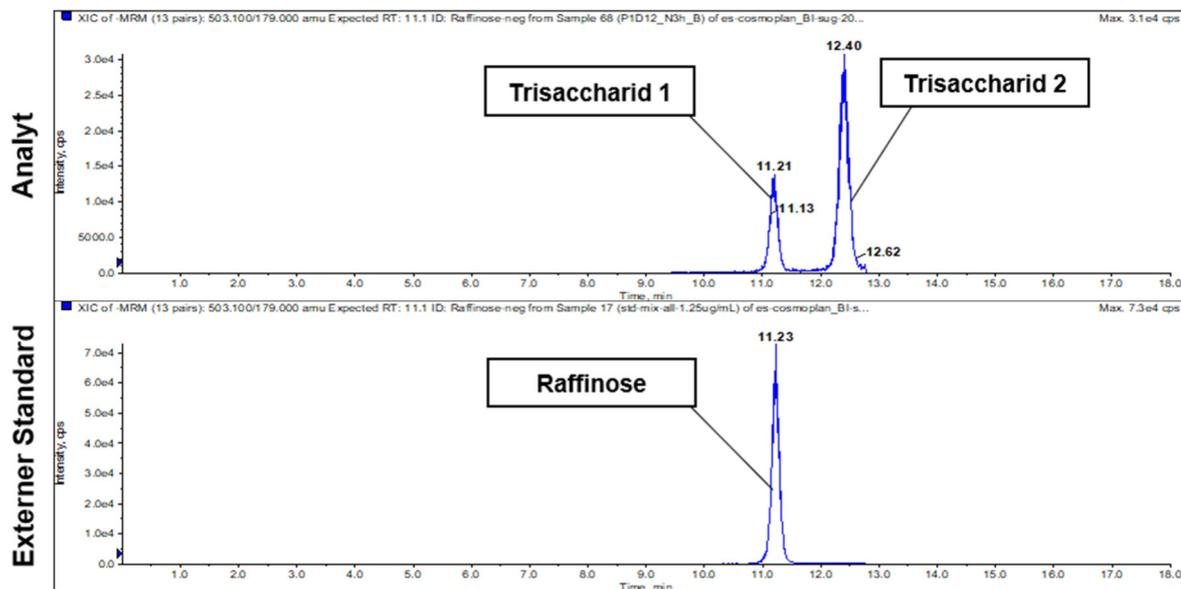


Abb. 71: Exemplarische Identifizierung von Trisacchariden ($\bar{t}_R, \text{Trisaccharid 1} = 11,17$ min, $\bar{t}_R, \text{Trisaccharid 2} = 12,37$ min, $Q(1) = 503,100$ Da, $Q(3) = 179,000$ Da; oberes Chromatogramm) in den Proben durch einen externen Raffinose-Standard ($\bar{t}_R = 11,18$ min, $Q(1) = 503,100$ Da, $Q(3) = 179,000$ Da; unteres Chromatogramm).

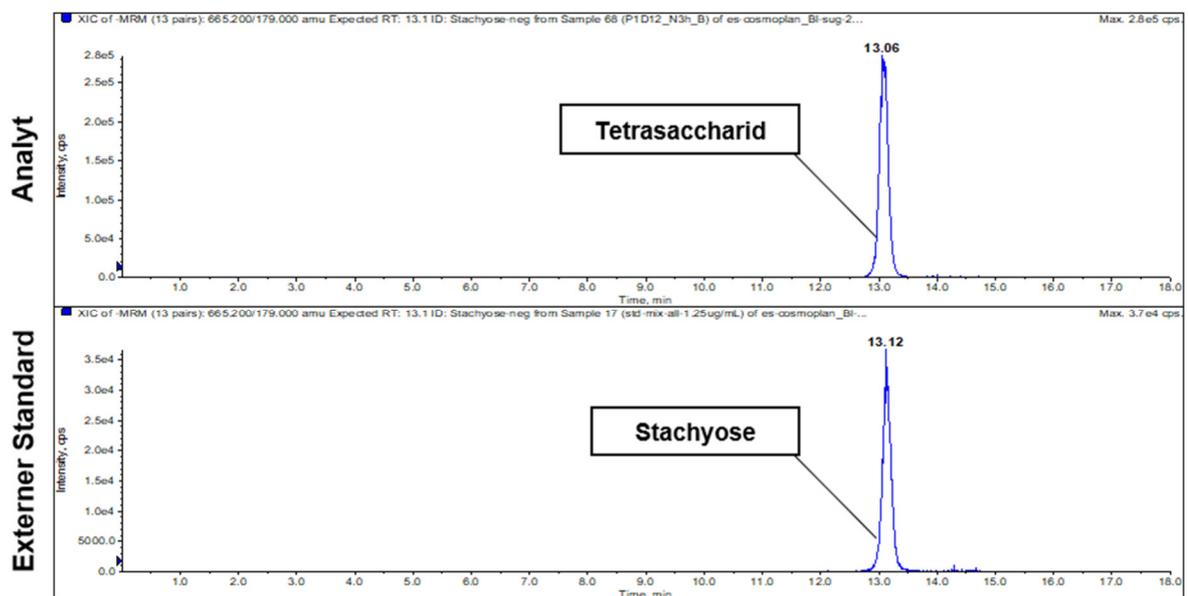


Abb. 72: Exemplarische Identifizierung von Tetrasacchariden ($\bar{t}_R = 13,07$ min, $Q(1) = 665,200$ Da, $Q(3) = 179,000$ Da; oberes Chromatogramm) in den Proben durch einen externen Stachyose-Standard ($\bar{t}_R = 13,08$ min, $Q(1) = 665,200$ Da, $Q(3) = 179,000$ Da; unteres Chromatogramm).

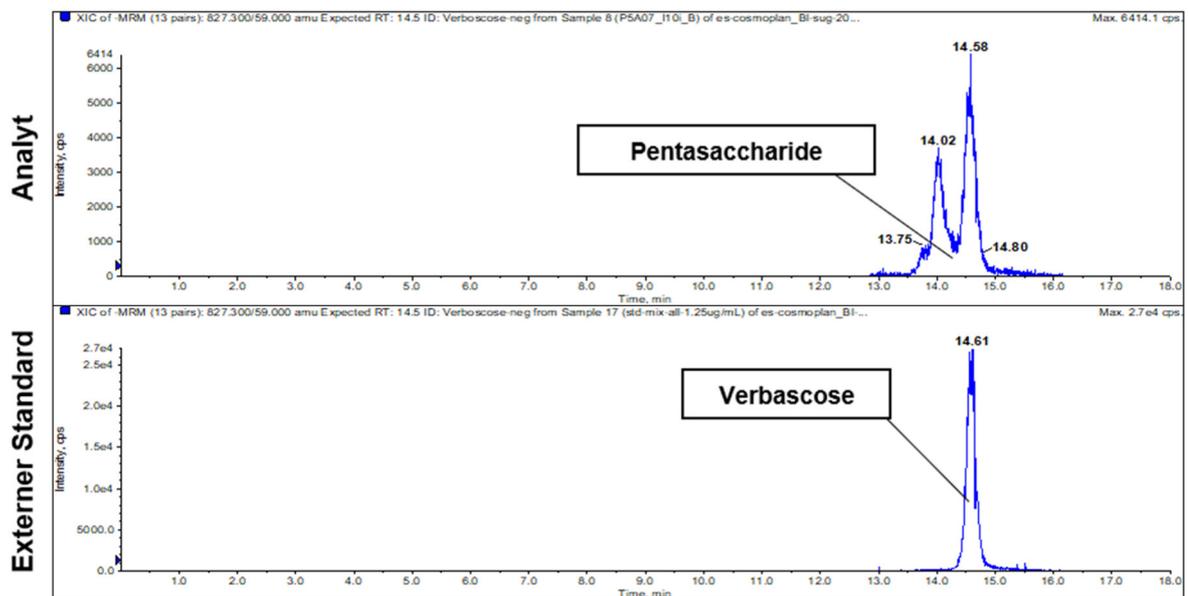


Abb. 73: Exemplarische Identifizierung von Pentasacchariden ($\bar{t}_R = 14,51$ min, $Q(1) = 827,300$ Da, $Q(3) = 59,000$ Da; oberes Chromatogramm) in den Proben durch einen externen Verbascose-Standard ($\bar{t}_R = 14,52$ min, $Q(1) = 827,300$ Da, $Q(3) = 59,000$ Da; unteres Chromatogramm).

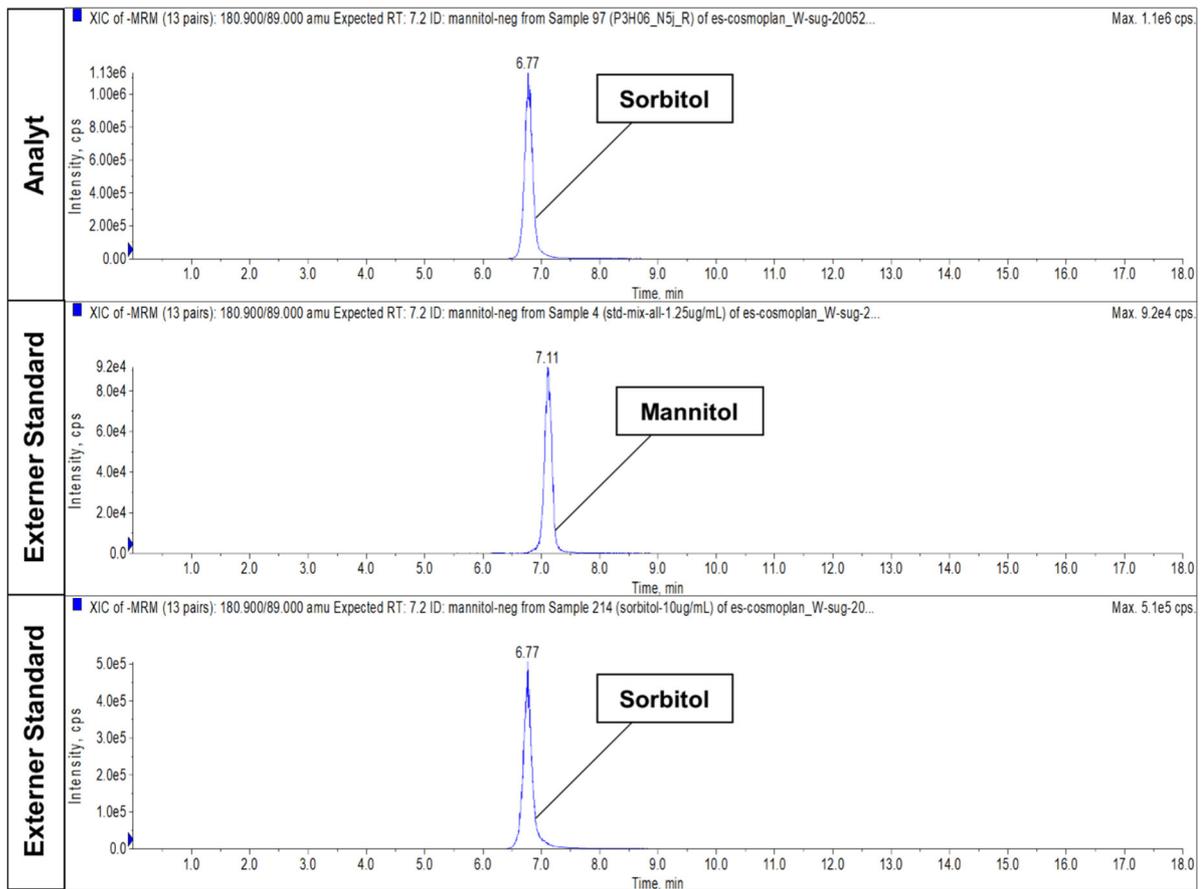


Abb. 74: Exemplarische Identifizierung des Zuckeralkohols als Sorbitol ($\bar{t}_R = 6,75$ min, $Q(1) = 180,900$ Da, $Q(3) = 89,000$ Da; oberes Chromatogramm) in den Proben durch einen externen Mannitol-Standard ($\bar{t}_R = 7,15$ min, $Q(1) = 180,900$ Da, $Q(3) = 89,000$ Da; mittleres Chromatogramm) und einen externen Sorbitol-Standard ($\bar{t}_R = 6,78$ min, $Q(1) = 180,900$ Da, $Q(3) = 89,000$ Da; unteres Chromatogramm).

7.3.2 Quantifizierung und statistische Auswertung einzelner Zucker

Tab. 40: Konzentrationen aller, mit der in 2.3.4 beschriebenen Methode, analysierten Zucker in den Blättern und den Wurzeln von nativen und invasiven Populationen von *P. lanceolata*. Gezeigt werden Mittelwerte (\pm SE) aus zehn nativen und zehn invasiven Populationen. Von jeder Population wurden für Blätter und Wurzeln je fünf Individuen in der Kontrollgruppe und fünf Individuen der Herbivoriegruppe untersucht (Populationen mit reduzierter Probenzahl sind in Tab. 42 und Tab. 43 zu finden). a-c: Gruppierung nach statistischer Auswertung in Tab. 41 und LSD-Post-Hoc-Test (gleiche Buchstaben: keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen; unterschiedliche Buchstaben: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen), Blatt- und Wurzelkonzentrationen wurden unabhängig voneinander gruppiert.

AS	Blätter				Wurzel			
	Nativ		Invasiv		Nativ		Invasiv	
	Kontrolle	Herbivorie	Kontrolle	Herbivorie	Kontrolle	Herbivorie	Kontrolle	Herbivorie
Glucose	3,72 \pm 0,47 ^a	2,27 \pm 0,33 ^b	3,88 \pm 0,47 ^a	1,99 \pm 0,31 ^b	19,43 \pm 0,91 ^a	19,60 \pm 1,00 ^a	18,14 \pm 0,96 ^a	18,96 \pm 0,92 ^a
Fructose	0,85 \pm 0,11 ^a	0,48 \pm 0,09 ^b	0,76 \pm 0,11 ^a	0,38 \pm 0,05 ^b	4,17 \pm 0,27 ^a	3,95 \pm 0,31 ^a	3,78 \pm 0,35 ^a	3,63 \pm 0,25 ^a
Saccharose	6,29 \pm 0,27 ^a	6,39 \pm 0,20 ^a	5,72 \pm 0,27 ^a	5,61 \pm 0,17 ^a	19,17 \pm 0,86 ^a	17,72 \pm 0,73 ^b	20,41 \pm 1,01 ^a	18,06 \pm 0,92 ^b
Trisaccharid 1	0,44 \pm 0,02 ^a	0,26 \pm 0,02 ^b	0,36 \pm 0,02 ^a	0,27 \pm 0,03 ^b	2,88 \pm 0,17 ^a	3,17 \pm 0,23 ^a	3,36 \pm 0,24 ^a	3,10 \pm 0,20 ^a
Trisaccharid 2	0,44 \pm 0,04 ^a	0,35 \pm 0,03 ^a	0,48 \pm 0,04 ^a	0,48 \pm 0,05 ^a	0,20 \pm 0,03 ^a	0,22 \pm 0,03 ^b	0,19 \pm 0,03 ^a	0,26 \pm 0,04 ^b
Tetrasaccharid	10,34 \pm 1,05 ^a	5,64 \pm 0,77 ^b	9,77 \pm 1,05 ^a	7,49 \pm 1,17 ^b	46,43 \pm 2,49 ^a	46,47 \pm 3,33 ^a	50,66 \pm 3,08 ^a	45,76 \pm 2,63 ^a
Pentasaccharid	0,04 \pm 0,01 ^a	0,03 \pm 0,01 ^a	0,03 \pm 0,01 ^a	0,04 \pm 0,01 ^a	0,60 \pm 0,07 ^a	0,78 \pm 0,16 ^a	0,78 \pm 0,11 ^a	0,76 \pm 0,10 ^a

Tab. 41: Ergebnisse der statistischen Auswertung aller analysierten Zucker in den Blättern und Wurzeln mittels ANOVA. F = Stichprobenvarianz, $DenDf$ = Nennerfreiheitsgrade, $NumDf$ = Zählerfreiheitsgrade, p = Signifikanzwert (fettgedruckte p -Werte = signifikante Unterschiede).

Substanz	Gewebe	Einflussvariable	F	$DenDf$	$NumDf$	p
Glucose	Blätter	Herkunft	0.018	1	18,000	0.894
		Behandlung	32.867	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0.455	1	178,000	0.501
	Wurzeln	Herkunft	0.162	1	17.999	0.692
		Behandlung	0.853	1	173.128	0.357
		Herkunft x Behandlung	0.518	1	173.127	0.473
Fructose	Blätter	Herkunft	0.487	1	18,000	0.494
		Behandlung	41.272	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0.809	1	178,000	0.370
	Wurzeln	Herkunft	0.700	1	17.993	0.414
		Behandlung	0.715	1	173.271	0.399
		Herkunft x Behandlung	1.032	1	173.272	0.311
Saccharose	Blätter	Herkunft	4.149	1	18,000	0.057
		Behandlung	0.600	1	178,000	0.440
		Herkunft x Behandlung	0.480	1	178,000	0.489
	Wurzeln	Herkunft	0.187	1	17.997	0.671
		Behandlung	4.263	1	173.209	0.040
		Herkunft x Behandlung	0.029	1	173.203	0.865
Trisaccharid 1	Blätter	Herkunft	1.590	1	18,000	0.223
		Behandlung	78.494	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	3.363	1	178,000	0.068
	Wurzeln	Herkunft	0.125	1	17.998	0.728
		Behandlung	0.001	1	173.165	0.970
		Herkunft x Behandlung	0.634	1	173.167	0.427
Trisaccharid 2	Blätter	Herkunft	1.133	1	18,000	0.301
		Behandlung	2.637	1	178,000	0.106
		Herkunft x Behandlung	0.662	1	178,000	0.417
	Wurzeln	Herkunft	0.008	1	18.000	0.932
		Behandlung	6.321	1	173.035	0.013
		Herkunft x Behandlung	1.568	1	173.037	0.212
Tetrasaccharid	Blätter	Herkunft	0.040	1	18,000	0.843
		Behandlung	35.909	1	178,000	<0,001
		Herkunft x Behandlung	0.607	1	178,000	0.437
	Wurzeln	Herkunft	0.139	1	17.998	0.714
		Behandlung	1.046	1	173.168	0.308
		Herkunft x Behandlung	0.247	1	173.168	0.620
Pentasaccharid	Blätter	Herkunft	0.015	1	18,000	0.903
		Behandlung	3.785	1	178,000	0.053
		Herkunft x Behandlung	3.488	1	178,000	0.063
	Wurzeln	Herkunft	0.219	1	17.999	0.646
		Behandlung	0.211	1	173.145	0.647
		Herkunft x Behandlung	0.173	1	173.142	0.678

7.4 Proben mit verminderter Probenzahl

Tab. 42: Probenzahl und fehlende Proben in allen wurzelbezogenen Parametern aufgrund von Probenverlusten.

Gruppen	Probenzahl <i>n</i>	Fehlende Proben
Nativ, Kontrolle	50	-
Nativ, Herbivorie	47	Neugrimnitz, DEU (1 Probe), Irland (2 Proben)
Invasiv, Kontrolle	49	Mt. Aspiring, NZL (1 Probe)
Invasiv, Herbivorie	49	Mt. Aspiring, NZL (1 Probe)

Tab. 43: Probenzahl und entfernte Ausreißer aufgrund stark abweichender Werte in allen betroffenen Parametern. Die Probenzahl *n* schließt fehlende Proben aus Tab. 42 mit ein.

Parameter	Gewebe	Gruppe mit reduzierter Probenzahl	Entfernte Ausreißer
Phe	Wurzel	Invasiv, Herbivorie (<i>n</i> = 48)	Japan (1 Probe)
Tyr	Wurzel	Invasiv, Herbivorie (<i>n</i> = 48)	Japan (1 Probe)
<i>p</i> -Cumarsäure	Blätter	Nativ, Kontrolle (<i>n</i> = 49)	Irland (1 Probe)
Luteolin	Blätter	Invasiv, Kontrolle (<i>n</i> = 49)	Chile (1 Probe)
Luteolosid	Blätter	Nativ, Kontrolle (<i>n</i> = 47)	Tübingen, DEU (1 Probe), Estland (1 Probe) Irland (1 Probe)
		Nativ, Herbivorie (<i>n</i> = 49)	Neugrimnitz, DEU (1 Probe)
		Invasiv, Herbivorie (<i>n</i> = 48)	Yarramundi, AUS (1 Probe) Kanada (1 Probe)
Quercitrin	Blätter	Nativ, Kontrolle (<i>n</i> = 49)	Estland (1 Probe)
Apigenin-7-O-Glucosid	Blätter	Nativ, Herbivorie (<i>n</i> = 49)	Neugrimnitz, DEU (1 Probe)
GABA	Wurzel	Invasiv, Herbivorie (<i>n</i> = 48)	Japan (1 Probe)
Glutamat	Wurzel	Invasiv, Herbivorie (<i>n</i> = 48)	Japan (1 Probe)
Freie Aminosäuren	Wurzel	Invasiv, Herbivorie (<i>n</i> = 48)	Japan (1 Probe)

7.5 Technische Daten zur MS/MS-Auswertung

Tab. 44: Technische Daten zur Bestimmung der Analyten. Declustering Potential (DP), Eintrittspotential (EP), Kollisionsenergie (CE), Zelleintrittspotential (CXP).

Substanz	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]
D ₄ -SA	-20,0	-8,0	-22,0	0,0
D ₆ -ABA	-20,0	-12,0	-22,0	-2,0
D ₆ -JA	-20,0	-9,0	-24,0	-2,0
D ₆ -JA-Ile	-20,0	-4,5	-30,0	-4,0
Salicylsäure	-20,0	-8,0	-22,0	-2,0
<i>p</i> -Cumarsäure	-20,0	-8,0	-20,0	-5,0
Shikimisäure	-20,0	-8,0	-18,0	-5,0
Kaffeesäure	-20,0	-8,0	-22,0	-5,0
Chinasäure	-20,0	-8,0	-28,0	-5,0

Tab. 44: Technische Daten zur Bestimmung der Analyten. Declustering Potential (DP), Eintrittspotential (EP), Kollisionsenergie (CE), Zelleintrittspotential (CXP).

Substanz	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]
Ferulasäure	-20,0	-8,0	-22,0	-5,0
Jasmonsäure	-20,0	-9,0	-24,0	-2,0
OH-JA	-20,0	-9,0	-24,0	-2,0
ABA	-20,0	-12,0	-22,0	-2,0
Luteolin	-20,0	-8,0	-44,0	-5,0
Sulfo-JA	-20,0	-5,0	-55,0	-2,0
JA-Ile	-20,0	-4,5	-30,0	-4,0
pCoQA Derivat 1	-20,0	-4,0	-22,0	-4,0
pCoQA Derivat 2	-20,0	-4,0	-22,0	-4,0
pCoQA Derivat 3	-20,0	-4,0	-22,0	-4,0
OH-JA-Ile	-20,0	-4,5	-30,0	-4,0
COOH-JA-Ile	-20,0	-4,5	-30,0	-4,0
5-CQA	-20,0	-4,0	-22,0	-4,0
4-CQA	-20,0	-4,0	-22,0	-4,0
3-CQA	-20,0	-4,0	-22,0	-4,0
Apigenin-7-O-Glucosid	-20,0	-8,0	-44,0	-5,0
Luteolin-7-O-Glucosid	-20,0	-8,0	-40,0	-5,0
Quercitrin	-20,0	-8,0	-32,0	-5,0
Rutin	-20,0	-8,0	-50,0	-5,0
Verbascosid	-20,0	-8,0	-46,0	-5,0
OPDA	-20,0	-12,0	-24,0	-2,0
Aucubin	-20,0	-10,0	-14,0	-10,0
Aucubin (Formiataddukt)	-20,0	-10,0	-18,0	-10,0
Catalpol	-20,0	-10,0	-10,0	-10,0
Catalpol (Formiataddukt)	-20,0	-10,0	-18,0	-10,0
¹³ C-Ala	20,0	5,5	17,0	4,0
¹³ C-Gly	20,0	5,0	5,0	4,0
¹³ C-Ser	20,0	4,5	15,0	4,0
¹³ C-Pro	20,0	7,5	19,0	4,0
¹³ C-Val	20,0	4,5	15,0	4,0
¹³ C-Thr	20,0	5,0	13,0	4,0
¹³ C-Ile	20,0	4,5	13,0	4,0
¹³ C-Leu	20,0	4,5	13,0	4,0
¹³ C-Asp	20,0	10,0	19,0	4,0
¹³ C-Glu	20,0	5,5	15,0	4,0
¹³ C-Met	20,0	4,0	13,0	4,0
¹³ C-His	20,0	5,5	17,0	4,0
¹³ C-Phe	20,0	6,0	17,0	4,0
¹³ C-Arg	20,0	6,0	31,0	4,0
¹³ C-Tyr	20,0	7,0	17,0	4,0
¹³ C-Gln	20,0	6,0	13,0	4,0
¹³ C-Lys	20,0	6,0	23,0	4,0
Ala	20,0	5,5	17,0	4,0
Gly	20,0	5,0	5,0	4,0

Tab. 44: Technische Daten zur Bestimmung der Analyten. Declustering Potential (DP), Eintrittspotential (EP), Kollisionsenergie (CE), Zelleintrittspotential (CXP).

Substanz	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]
Ser	20,0	4,5	15,0	4,0
Pro	20,0	7,5	19,0	4,0
Val	20,0	5,0	13,0	4,0
Thr	20,0	4,5	13,0	4,0
Ile	20,0	4,5	13,0	4,0
Leu	20,0	4,5	13,0	4,0
Asp	20,0	5,5	19,0	4,0
Asn	20,0	4,5	21,0	4,0
Glu	20,0	5,5	15,0	4,0
Met	20,0	4,0	13,0	4,0
His	20,0	5,5	17,0	4,0
Phe	20,0	6,0	17,0	4,0
Trp	20,0	4,5	13,0	6,0
Arg	20,0	6,0	31,0	4,0
Tyr	20,0	7,0	17,0	4,0
Gln	20,0	6,0	13,0	4,0
Lys	20,0	6,0	23,0	4,0
GABA	20,0	5,5	17,0	4,0
Glucose	-25,0	-9,5	-12,0	-2,0
Fructose	-25,0	-9,0	-12,0	-2,0
Saccharose	-45,0	-10,0	-46,0	-2,0
Raffinose	-75,0	-10,0	-28,0	-4,0
Stachyose	-80,0	-10,0	-48,0	-4,0
Stachyose	-80,0	-10,0	-36,0	-26,0