

Entwicklung von bioinformatischen  
Visualisierungswerkzeugen für  
Metabolitdaten von  
Nährstoffmangelsituationen bei  
*Arabidopsis thaliana*

Diplomarbeit vorgelegt von

Matthias Voigt

am Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie

und der Universität Potsdam,  
Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät  
Institut für Informatik

Online veröffentlicht auf dem  
Publikationsserver der Universität Potsdam:  
URL <http://opus.kobv.de/ubp/volltexte/2009/3304/>  
URN <urn:nbn:de:kobv:517-opus-33047>  
[<http://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:kobv:517-opus-33047>]

Erstgutachter: Prof. Dr. Joachim Selbig

Zweitgutachter: PD Dr. Holger Hesse

Abgabemonat: März 2009

## Eidesstattliche Erklärung

„Ich versichere, dass ich die vorstehende Arbeit selbstständig angefertigt und mich fremder Hilfe nicht bedient habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß veröffentlichtem oder nicht veröffentlichtem Schrifttum entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.“

Potsdam, \_\_\_\_\_

Ort, Datum

Matthias Voigt

Name

\_\_\_\_\_  
Unterschrift



# Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	VIII
Tabellenverzeichnis .....	XI
<b>1 Einführung .....</b>	<b>1</b>
1.1 <i>Arabidopsis thaliana</i> .....	1
1.2 Die Ernährung der Pflanzen .....	2
1.2.1 Das Mikronährstoffelement Eisen ( <i>Fe</i> ) .....	3
1.2.2 Das Mikronährstoffelement Kalium ( <i>K</i> ) .....	3
1.2.3 Das Mikronährstoffelement Magnesium ( <i>Mg</i> ) .....	3
1.2.4 Das Makronährstoffelement Stickstoff ( <i>N</i> ) .....	4
1.2.5 Das Makronährstoffelement Phosphor ( <i>P</i> ) .....	4
1.2.6 Das Makronährstoffelement Schwefel ( <i>S</i> ) .....	4
1.3 Bioinformatik .....	5
1.3.1 Visualisierungsprogramme .....	5
1.3.2 Visualisierungsmöglichkeiten .....	6
1.3.3 Datenbanken .....	7
1.4 Einführung in die Analytik .....	7
1.4.1 Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) .....	8
1.4.2 Gas Chromatography / Time-Of-Flight Mass Spectrometry (GC/TOF-MS) .....	11
1.4.3 Ion-Chromatographie (IC) .....	13
1.4.4 Inductively-Coupled-Plasma Mass-Spectrometry (ICP-MS) .....	15
1.5 Zielsetzung .....	16
<b>2 Software / Material und Methoden .....</b>	<b>17</b>
2.1 Software / Material .....	17
2.1.1 R 2.8.0 .....	17
2.1.1.1 R-Paket <i>RSQLite</i> 0.6-9 .....	17
2.1.1.2 R-Paket <i>gplots</i> 2.6.0 .....	18
2.1.1.3 R-Paket <i>animation</i> 1.0-1 inkl. <i>ImageMagick</i> 6.4.3 .....	18
2.1.1.4 R-Paket <i>lattice</i> 0.17-14 .....	18
2.1.2 SQLite .....	18
2.1.3 Erzeugung des Datensatzes .....	19
2.1.3.1 Erhebung der Element- und Ion-Daten .....	19
2.1.3.2 Erhebung der mit RP-HPLC ermittelten Metabolitdaten .....	20
2.1.3.3 Erhebung der mit GC/TOF-MS ermittelten Metabolitdaten .....	22
2.1.3.4 Erhebung der Metabolitdaten von Phosphatmangel für den Literaturvergleich .....	25
2.1.3.5 Erhebung der Metabolitdaten von Schwefelmangel für den Literaturvergleich .....	25
2.2 Methoden .....	26
2.2.1 log <sub>2</sub> -Transformation .....	26
2.2.2 Heatmap .....	27

2.2.3	Wireframe.....	28
2.2.4	Principal Component Analysis (PCA).....	29
<b>3</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>31</b>
3.1	Erstellung der SQLite-Datenbank.....	31
3.2	PCA Abstandsdiagramm.....	31
3.3	Visualisierung der Element- und Ionendaten.....	34
3.3.1	Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation Eisen ( <i>Fe</i> ).....	35
3.3.2	Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation Kalium ( <i>K</i> ).....	37
3.3.3	Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation Magnesium ( <i>Mg</i> ).....	37
3.3.4	Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Stickstoff ( <i>N</i> ).....	38
3.3.5	Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Phosphor ( <i>P</i> ).....	40
3.3.6	Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Schwefel ( <i>S</i> ).....	41
3.3.7	PCA-Plots, Abstandsdiagramme und <i>loading</i> -Grafiken der Blätter.....	43
3.4	Visualisierung der Metabolitdaten.....	50
3.4.1	Literaturvergleich.....	50
3.4.1.1	Phosphatmangel.....	50
3.4.1.2	Schwefelmangel.....	51
3.4.2	Mit dem Verfahren GC/TOF-MS gemessene Metabolitdaten.....	52
3.4.2.1	Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Stickstoff ( <i>N</i> ).....	53
3.4.2.2	Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Phosphor ( <i>P</i> ).....	54
3.4.3	Mit dem Verfahren RP-HPLC gemessene Metabolitdaten.....	56
3.4.3.1	Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation Eisen ( <i>Fe</i> ).....	56
3.4.3.2	Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation Kalium ( <i>K</i> ).....	57
3.4.3.3	Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation Magnesium ( <i>Mg</i> ).....	58
3.4.3.4	Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Stickstoff ( <i>N</i> ).....	59
3.4.3.5	Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Phosphor ( <i>P</i> ).....	60
3.4.3.6	Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Schwefel ( <i>S</i> ).....	61
3.4.3.7	PCAs, Abstandsdiagramme und <i>loading</i> -Grafiken der Blätter.....	63
3.4.4	Vergleich der mit den Verfahren GC/TOF-MS- und RP-HPLC gemessenen Metabolitdaten.....	67
3.4.4.1	Heatmaps für die Mikronährstoffmangelsituation Kalium ( <i>K</i> ).....	67
3.4.4.2	Heatmaps für die Makronährstoffmangelsituation Schwefel ( <i>S</i> ).....	68
3.4.4.3	PCAs, Abstandsdiagramme und <i>loading</i> -Grafiken der Blätter.....	69
3.5	Animierte <i>PCA</i> – Eine Erweiterung der <i>PCA</i> .....	73
3.6	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	75
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>78</b>
4.1	Vergleich der Visualisierungsmöglichkeiten Heatmap und Wireframe.....	78
4.2	Die erweiterten Möglichkeiten der Analyse durch die <i>PCA</i> -Erweiterungen Abstandsdiagramm und animierte <i>PCA</i> .....	79
4.3	Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Eisen.....	79
4.4	Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Kalium.....	80

## Inhaltsverzeichnis

---

4.5	Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Magnesium.....	81
4.6	Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Stickstoff.....	81
4.7	Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Phosphor .....	82
4.8	Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Schwefel.....	82
4.9	Vergleich der durch die Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitmesswerte.....	83
4.10	Ausblick.....	84
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>85</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>86</b>
	<b>Die DVD-ROM zur vorliegenden Arbeit .....</b>	<b>90</b>
	<b>Danksagung.....</b>	<b>91</b>
	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>92</b>
<b>7</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>94</b>
7.1	Visualisierung der Element- und Ionendaten.....	94
7.1.1	Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts, nur Elemente] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	94
7.1.2	Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Blätter[links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	94
7.1.3	Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des halben bis siebenten Tages.....	95
7.1.4	Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Wurzeln des halben bis siebenten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken.....	96
7.1.5	Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen).....	100
7.1.6	Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Wurzeln des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik.....	101
7.2	Visualisierung des Literaturvergleiches für Aminosäuren unter Phosphatmangel.....	102
7.2.1	Literaturvergleich für die Aminosäure Arginin (Arg) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B].....	102
7.2.2	Literaturvergleich für die Aminosäure Asparagin (Asn) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B].....	102
7.2.3	Literaturvergleich für die Aminosäure Asparaginsäure (Asp) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B].....	102
7.2.4	Literaturvergleich für die Aminosäure Glutamin (Gln) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B].....	103

7.2.5	Literaturvergleich für die Aminosäure Glutaminsäure (Glu) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	103
7.2.6	Literaturvergleich für die Aminosäure Glycin (Gly) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	103
7.2.7	Literaturvergleich für die Aminosäure Histidin (His) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	104
7.2.8	Literaturvergleich für die Aminosäure Isoleucin unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	104
7.2.9	Literaturvergleich für die Aminosäure Leucin (Leu) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	104
7.2.10	Literaturvergleich für die Aminosäure Lysin (Lys) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	105
7.2.11	Literaturvergleich für die Aminosäure Phenylalanin (Phe) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	105
7.2.12	Literaturvergleich für die Aminosäure Serin (Ser) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	105
7.2.13	Literaturvergleich für die Aminosäure Threonin (Thr) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	106
7.2.14	Literaturvergleich für die Aminosäure Tryptophan unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	106
7.2.15	Literaturvergleich für die Aminosäure Tyrsin (Tyr) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	106
7.2.16	Literaturvergleich für die Aminosäure Valin (Val) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	107
7.3	Visualisierung des Literaturvergleiches für Aminosäuren unter Schwefelmangel .....	107
7.3.1	Literaturvergleich für die Aminosäure Alanin (Ala) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	107
7.3.2	Literaturvergleich für die Aminosäure Arginin (Arg) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	107
7.3.3	Literaturvergleich für die Aminosäure Asparagin (Asn) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	108
7.3.4	Literaturvergleich für die Aminosäure Glutamin (Gln) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	108
7.3.5	Literaturvergleich für die Aminosäure Glutaminsäure (Glu) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	108
7.3.6	Literaturvergleich für die Aminosäure Glycin (Gly) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	109
7.3.7	Literaturvergleich für die Aminosäure Lysin (Lys) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	109
7.3.8	Literaturvergleich für die Aminosäure Methionin (Met) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	109
7.3.9	Literaturvergleich für die Aminosäure Phenylalanin (Phe) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	110

7.3.10	Literaturvergleich für die Aminosäure Prolin (Pro) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	110
7.3.11	Literaturvergleich für die Aminosäure Serin (Ser) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	110
7.3.12	Literaturvergleich für die Aminosäure Threonin (Thr) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	111
7.3.13	Literaturvergleich für die Aminosäure Tryptophan (Trp) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	111
7.3.14	Literaturvergleich für die Aminosäure Valin (Val) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B] .....	111
7.4	Visualisierung der GC/TOF-MS-Metabolitdaten.....	112
7.4.1	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes.....	112
7.4.2	Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	112
7.4.3	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes.....	113
7.4.4	Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	113
7.4.5	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes .....	114
7.4.6	Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	114
7.4.7	Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	115
7.4.8	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes .....	115
7.4.9	Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	116

7.4.10	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des ersten bis sechsten Tages .....	116
7.4.11	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter des ersten bis sechsten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken.....	117
7.4.12	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) .....	123
7.4.13	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik.....	124
7.4.14	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des ersten bis siebenten Tages.....	126
7.4.15	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln des ersten bis siebenten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken.....	127
7.4.16	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) .....	134
7.4.17	Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik .....	135
7.5	Visualisierung der RP-HPLC-Metabolitdaten .....	137
7.5.1	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	137
7.5.2	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	137
7.5.3	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	138
7.5.4	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	138
7.5.5	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....	139
7.5.6	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter des halben bis sechsten Tages in Form von loading-Tabellen.....	140

7.5.7	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen).....	144
7.5.8	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik.....	145
7.5.9	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPIC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des halben bis siebenten Tages.....	147
7.5.10	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln des halben bis siebenten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken.....	148
7.5.11	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen).....	156
7.5.12	Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik.....	157
7.6	Visualisierung des Vergleiches der GC/TOF-MS- und RP-HPLC-Metabolitdaten.....	159
7.6.1	Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps.....	159
7.6.2	Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps.....	159
7.6.3	Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps.....	160
7.6.4	Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps.....	160
7.6.5	Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter des ersten bis sechsten Tages in Form von loading-Tabellen.....	161
7.6.6	Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des ersten bis siebenten Tages.....	165
7.6.7	Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln des ersten bis siebenten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken.....	166

## Abbildungsverzeichnis

<i>Abb. 1: Wurzeln, Spross, Blätter und Blüten einer Arabidopsis thaliana</i> .....	2
<i>Abb. 2: Schematische Darstellung eines Datenbanksystems</i> .....	7
<i>Abb. 3: Verfahren in der HPLC-Säule</i> .....	8
<i>Abb. 4: Schematischer Aufbau einer HPLC</i> .....	10
<i>Abb. 5: Beispiel-Chromatogramm</i> .....	10
<i>Abb. 6: Schematischer Aufbau einer GC/TOF-MS</i> .....	12
<i>Abb. 7: Chromatogramm und Massenspektrum einer GC/TOF-MS</i> .....	13
<i>Abb. 8: Schematische Darstellung eines Ionen-Chromatographie Durchlaufs und darunter die dazugehörige Diagrammskizze mit der Menge an Material, das in einer bestimmten Zeit durch die Röhre gekommen ist</i> .....	14
<i>Abb. 9: Schematische Darstellung des Ablaufs einer ICP-MS</i> .....	15
<i>Abb. 10: Spalten der Tabelle „ele_ion“ mit den Element- und Ionendaten in der SQLite-Datenbank</i> .....	20
<i>Abb. 11: Spalten der Tabelle „HPLC“ mit den Metabolitdaten in der SQLite-Datenbank</i> .....	21
<i>Abb. 12 Spalten der Tabelle „GCTOF“ mit den Metabolitdaten in der SQLite-Datenbank</i> .....	24
<i>Abb. 13: Spalten der Tabelle „Phosphor“ mit den Metabolitdaten in der SQLite-Datenbank</i> .....	25
<i>Abb. 14: Spalten der Tabelle „Schwefel“ mit den Metabolitdaten in der SQLite-Datenbank</i> .....	25
<i>Abb. 15: log<sub>2</sub>-Funktion in einem Koordinatensystem und entsprechender Funktionstabellenausschnitt</i> ..	26
<i>Abb. 16: Beispiel-Heatmap (links oben: Farbskala und dazugehöriges Histogramm; rechts oben: Dendrogramm der Spalten; links unten: Dendrogramm der Zeilen; rechts unten: Heatmap)</i> .....	28
<i>Abb. 17: Beispiel-Wireframe (oben: Farbskala; unten: dreidimensionales Diagramm [Wireframe])</i> .....	29
<i>Abb. 18: Beispiel PCA mit Ranking-Tabelle</i> .....	30
<i>Abb. 19: Struktur der Datenbank „DB_BigEx“</i> .....	31
<i>Abb. 20: Beispiel-Abstandsdiagramm</i> .....	33
<i>Abb. 21: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts, nur Elemente] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes</i> .....	36
<i>Abb. 22: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts, nur Elemente] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes</i> .....	36
<i>Abb. 23: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts, nur Elemente] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes</i> .....	37
<i>Abb. 24: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts, nur Elemente] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des halben bis sechsten bzw. siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes</i>	38
<i>Abb. 25: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes</i> .....	39

<i>Abb. 26: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>39</i>
<i>Abb. 27: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes.....</i>	<i>40</i>
<i>Abb. 28: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>41</i>
<i>Abb. 29: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes.....</i>	<i>42</i>
<i>Abb. 30: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>42</i>
<i>Abb. 31: Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des halben bis sechsten Tages .....</i>	<i>44</i>
<i>Abb. 32: Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) .....</i>	<i>49</i>
<i>Abb. 33: Literaturvergleich für die Aminosäuren Alanin [A, B] und Methionin [C, D] unter Phosphatmangel in Form von Verlaufsdiagrammen [A, C] und Säulendiagrammen [B, D].....</i>	<i>51</i>
<i>Abb. 34: Literaturvergleich für die Aminosäure Asparaginsäure unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B].....</i>	<i>51</i>
<i>Abb. 35: Literaturvergleich für die Aminosäure Isoleucin unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B].....</i>	<i>52</i>
<i>Abb. 36: Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>53</i>
<i>Abb. 37: Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>54</i>
<i>Abb. 38: Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes.....</i>	<i>55</i>
<i>Abb. 39: Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes.....</i>	<i>55</i>

<i>Abb. 40: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>57</i>
<i>Abb. 41: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>58</i>
<i>Abb. 42: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des halben bis sechsten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>59</i>
<i>Abb. 43: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>60</i>
<i>Abb. 44: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>61</i>
<i>Abb. 45: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes .....</i>	<i>62</i>
<i>Abb. 46: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes.....</i>	<i>62</i>
<i>Abb. 47: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des halben bis sechsten Tages.....</i>	<i>64</i>
<i>Abb. 48: Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps .....</i>	<i>68</i>
<i>Abb. 49: Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps .....</i>	<i>69</i>
<i>Abb. 50: Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS [B] und RP-HPLC [A] bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des ersten bis sechsten Tages .....</i>	<i>70</i>
<i>Abb. 51: Ablauf eines animierten PCAs .....</i>	<i>73</i>
<i>Abb. 52: Beispiel-Berechnung der Punktkoordinaten für die Zwischenbilder .....</i>	<i>74</i>

## Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Detektor-Arten.....</i>	<i>9</i>
<i>Tabelle 2: Übersicht der gemessenen Daten der Experimente 1 und 2 von einem Messzeitpunkt.....</i>	<i>19</i>
<i>Tabelle 3: Gemessene Element- und Ion-Daten.....</i>	<i>20</i>
<i>Tabelle 4: Gemessene Metaboliten mit RP-HPLC.....</i>	<i>21</i>
<i>Tabelle 5: Gemessene Metaboliten mit GC/TOF-MS.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabelle 6: Beispiel-Abstandsmatrix.....</i>	<i>32</i>
<i>Tabelle 7: Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Blätter des halben bis sechsten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabelle 8: Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Blätter des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 9: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form von PCA-Plots und loading-Grafiken des halben bis sechsten Tages.....</i>	<i>65</i>
<i>Tabelle 10: Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter des ersten bis sechsten Tages in Form von PCA-Plots und loading-Grafiken.....</i>	<i>71</i>
<i>Tabelle 11: Zusammenfassung der Ergebnisse.....</i>	<i>75</i>



# 1 Einführung

Ein zentraler Ansatz zur Untersuchung von Funktionen und Zusammenhängen zwischen Metaboliten und / oder Genen ist die Analyse von Pflanzen unter veränderten Kulturbedingungen im Vergleich zu entsprechenden Kontrollpflanzen. Das meistgenutzte Studienobjekt für diese komparative Analyse ist die Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*). Durch ihre kurze Generationszeit und das vollständig entschlüsselte Genom, also der Gesamtheit der im jeweiligen Organismus vorkommenden Gene, können mehrere Generationen in einem Jahr angezogen und untersucht werden.

Die Basisdaten der Analysemethoden dieser Arbeit sind einem Experiment mit *Arabidopsis thaliana* entnommen. Der Einsatz der bioinformatischen Werkzeuge soll dabei helfen, die Zusammenhänge der Metaboliten, Elemente und Ionen innerhalb und zwischen verschiedenen Nährstoffmangelsituationen im zeitlichen Verlauf von mehren Tagen zu finden und auszuwerten.

## 1.1 *Arabidopsis thaliana*

Die kleine, einjährige Pflanze *Arabidopsis thaliana* (Abb. 1), auch Ackerschmalwand oder Schotenkresse genannt, entstammt der Familie der Senfgewächse (Brassicaceae oder Cruciferae) (LemnaTec GmbH, 28.11.2008). Ihr Hauptverbreitungsgebiet liegt in Europa und Zentralasien. Man findet sie aber auch in der ganzen Welt bis in Höhenlagen von 4250 m über dem Meeresspiegel. Bevorzugte Standorte sind Flussufer, Straßenränder, steinige Abhänge, Müllplätze und Kulturböden. Die bis zu 30 cm hohe Ackerschmalwand blüht hauptsächlich zwischen April und Mai und wurzelt bis in eine Tiefe von 40 cm.

Für die Landwirtschaft hat die Pflanze zwar keine Bedeutung, sie wird jedoch häufig in der Genetik und Molekularbiologie als Modellpflanze eingesetzt (Nottingham Arabidopsis Stock Centre, 28.11.2008), da sie u. a. folgende Vorteile aufweist: Ihr kleiner Chromosomensatz von fünf Chromosomenpaaren, von denen detaillierte Karten vorhanden sind, das relativ kleine Genom mit 125 komplett sequenzierten Megabasen und der kurze Generationszyklus von der Keimung bis zur Reife des Samens in acht Wochen (Koornneef et al., 2004; LemnaTec GmbH, 28.11.2008).



*Abb. 1: Wurzeln, Spross, Blätter und Blüten einer Arabidopsis thaliana*

### 1.2 Die Ernährung der Pflanzen

Durch Ausnutzung der Sonnenenergie ist es autotrophen Pflanzen (z. B. *Arabidopsis thaliana*) möglich, aus Kohlenstoffdioxid ( $CO_2$ ), Wasser ( $H_2O$ ) und Mineralstoffen alle existentiellen Komponenten zu synthetisieren. Jedoch werden weitere Elemente meist in anorganischer Form benötigt, um eine Vielzahl von organischen Molekülen zu synthetisieren bzw. als Kofaktoren enzymatischer Reaktionen entscheidend zu beeinflussen (Arnon and Stout, 1939). Die Nährstoffe werden dabei nach ihrem Vorkommen innerhalb der Pflanze in Makroelemente (wie Stickstoff [ $N$ ], Phosphor [ $P$ ], Schwefel [ $S$ ]) und Mikroelemente (wie Eisen [ $Fe$ ], Kalium [ $K$ ], Magnesium [ $Mg$ ]) unterteilt. Die Mineralienaufnahme erfolgt im Allgemeinen über das Wurzelsystem, das dem Nährstoffangebot entsprechend angepasst ist. Der Absorption der Mineralstoffe aus dem Boden folgend, wird die Inkorporation in essentielle organische Substanzen wie Aminosäuren oder Nukleinsäuren durchgeführt.

### 1.2.1 Das Mikronährstoffelement Eisen (*Fe*)

Eisen ist ein wichtiger Mineralstoff für das Pflanzenwachstum und deren Entwicklung (Thimm et al., 2001; Baxter et al., 2008). Das Spurenelement, das in der Pflanze als Eisen (II) und Eisen (III) oxidiert vorliegt, ist u. a. für den Elektronentransport in Plastiden und Mitochondrien verantwortlich (Marschner, 1995; Baxter et al., 2008). In vielen Enzymen existieren außerdem Eisen-Schwefelcluster und auch in Nicht-Häm-Eisenenzymen, die z. B. Redoxreaktionen katalysieren, ist Eisen ein essentieller Bestandteil. Des Weiteren ist es für die Protein- und Fotosynthese erforderlich. Eisenmangel zeigt sich bei Blättern durch Chlorose (gelbe Blätter), da eine Entwicklungsstörung der Chloroplasten vorliegt und daher mit reduziertem Pflanzenwachstum zu rechnen ist (ebd.).

### 1.2.2 Das Mikronährstoffelement Kalium (*K*)

Das einwertige Kation Kalium ( $K^+$ ) existiert so häufig wie kein weiteres anorganisches Kation im Zellplasma (Marschner, 1995; Armengaud et al., 2004). Viele Enzyme sind vollständig vom  $K^+$ -Ion abhängig oder werden von ihm angeregt. Ferner werden  $K^+$ -Ionen sowohl für die Proteinbiosynthese als auch für die Photosynthese benötigt (ebd.; Schachtman & Shin, 2007). Die Spaltöffnungsbewegungen der Schließzellen, die Orientierung der Pflanze zu Lichtsignalen, die Kation-Anion-Balance sowie das Wachstum gehören weiterhin zu den wichtigen Aufgaben des Kaliums (Armengaud et al., 2004).

### 1.2.3 Das Mikronährstoffelement Magnesium (*Mg*)

Magnesium ist ein zweiwertiges Kation ( $Mg^{2+}$ ), dessen Funktion in Pflanzen meistens eng verbunden ist mit der Kapazität der Interaktion mit starken nukleophilen Liganden durch Ionenbindung und dem Agieren als Brückenelement. Dabei handelt es sich meist um polare Ionenbindungen. Im Chlorophyllmolekül, wo Magnesium das Zentralion ist, koordiniert es die Stickstoffatome. Das Ion erfüllt wichtige Aufgaben in der Proteinbiosynthese, der RNA-Synthese, der Enzymaktivierung, der Fotosynthese und bei der Kohlenhydratverteilung (Gardner, 2003). Die Aufnahmemenge des Magnesiums kann durch andere Kationen wie Kalium ( $K^+$ ) oder Calcium ( $Ca^{2+}$ ) stark vermindert werden (Marschner, 1995).

### 1.2.4 Das Makronährstoffelement Stickstoff (*N*)

Nitrat ( $NO_3^-$ ) und Ammonium ( $NH_4^+$ ) gehören zu den wichtigsten anorganischen Stickstoffquellen, die von höheren Pflanzen<sup>1</sup> über die Wurzeln aufgenommen werden (Wang et al., 2003.). Der größte Anteil des Ammoniums liegt in organischen Verbindungen vor, während das Nitrat ( $NO_3^-$ ) im Xylem<sup>2</sup> transportiert wird. Die Speicherung erfolgt in Vakuolen, im Spross und in Speicherorganen. Stickstoff (*N*) ist ein zentraler Bestandteil in der DNA sowie verschiedener Metaboliten wie z. B. Aminosäuren (Marschner, 1995). Bei Stickstoffmangel weisen Pflanzen meist einen kümmerlichen Wuchs auf und reagieren mit einer frühzeitigen Blüte (Notblüte) (Schulze et al., 1994).

### 1.2.5 Das Makronährstoffelement Phosphor (*P*)

Anders als bei Nitrat ( $NO_3^-$ ) und Sulfat ( $SO_4^{2-}$ ) liegt Phosphat ( $PO_4^{3-}$ ) in Pflanzen nicht in reduzierter Form vor. Es ist eine essentielle Komponente von Zwischenprodukten im Primärstoffwechsel, und kommt sowohl in Nukleotiden als auch in Energieträgern vor, beispielsweise in Adenosintriphosphat (ATP) (Morcuende, 2007). Nach der Aufnahme, meist als  $H_2PO_4^-$ , können durch Veresterung mit einer Hydroxylgruppe einer Kohlenstoffkette einfache Kohlenstoff-Phosphat-Ester, z. B. Zuckerphosphat, entstehen. Des Weiteren ist durch das Polymerisieren von Phosphaten die Bildung von Adenosintriphosphat (ATP), Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosinmonophosphat (AMP) möglich (Marschner, 1995; Stryer, 2002). Phosphat ist ein integraler Bestandteil von Makromolekülen wie beispielsweise in Nukleinsäure ([DNA], [RNA]), die zentrale Funktionen bei der Speicherung und Übertragung genetischer Informationen erfüllen (Smith et al., 2003). Die energiereiche Pyrophosphatbildung von ATP dient als Speicher chemischer Energie, die durch Hydrolyse freigesetzt wird (Marschner, 1995).

### 1.2.6 Das Makronährstoffelement Schwefel (*S*)

Schwefel kommt mit Abstand am geringsten (0,1 Prozent) im Vergleich zu Kohlenstoff (45 Prozent) und Stickstoff (1,5 Prozent) in Pflanzen vor. Dessen ungeachtet ist Schwefel (*S*) eines der vielseitigsten Elemente im lebenden Organismus (Hell, 1997). Die Aufnahme erfolgt in Form von anorganischen Sulfationen ( $SO_4^{2-}$ ) über die Wurzeln. Diese werden zu Sulfid ( $S^{2-}$ ) reduziert und dieses zur Synthese der Aminosäure Cystein ( $C_3H_7NO_2S$ )

---

<sup>1</sup> Höhere Pflanzen sind aus mehreren Zellen zusammengesetzt.

<sup>2</sup> Komplexes, holziges Leitgewebe, zum Transport von Wasser und anorganischen Salzen in Pflanzen.

verwendet. Von Cystein leiten sich eine Vielzahl verschiedener Verbindungen ab wie z. B. Glutathion (GSH), Methionin (Met) und weitere organische Verbindungen (Marschner, 1995; Buchanan et al., 2000; Nikiforova et al., 2003; Hesse et al., 2004). Ferner findet sich reduzierter Schwefel in Form von Thiolgruppen oder Thioethergruppen wieder. Cystein spielt eine entscheidende Rolle in der Ausbildung sekundärer und tertiärer Strukturen von Proteinen (Hesse et al., 2004). Zu den sichtbaren Reaktionen einer Pflanze auf eine Schwefelmangelsituation gehören beispielsweise ein verzögertes Wachstum (Kataoka et al., 2004), Gelbblättrigkeit junger Blätter (Nikiforova et al., 2004) und ein verstärktes Wurzelwachstum (Kutz et al., 2002; Nikiforova et al., 2004).

### 1.3 Bioinformatik

Die relativ junge Wissenschaft Bioinformatik hat in den späten 1980er und frühen 1990er Jahren Einzug in alle Biowissenschaften gehalten. Die schnelle Entwicklung der Informationstechnologie und der Fortschritt im Bereich des Hard- und Softwaredesigns ermöglichten einen breiten, über die Grenzen der Informatik hinausgehenden Einsatz. Die zuvor genannten Argumente zusammen mit dem Fortschritt in der Biotechnologie (Sequenzierung, Microarrays, Proteomik, Metabolomik, Transkriptomik) und das dazugehörige hohe Datenaufkommen sind der Grund der starken Nutzung bioinformatischer Methoden. Darüberhinaus bietet das Internet eine breite Plattform für die weltweite Verfügbarkeit und Verbreitung von Bioinformatiktools.

#### 1.3.1 Visualisierungsprogramme

Um der zunehmenden Datenmenge gerecht zu werden, reichen simple Darstellungen wie Balken- oder Kreisdiagramme nicht mehr aus. Daher existieren eine Reihe alternativer Möglichkeiten zur Visualisierung biologischer Daten. Zum einen gibt es Programme mit einer benutzerfreundlichen grafischen Oberfläche wie „*Matlab*“ der Firma „*The MathWorks*“<sup>3</sup> oder „*SigmaPlot*“ von „*Systat*“<sup>4</sup>. Beide bieten eine Vielzahl verschiedener statistischer Analysefunktionen, Visualisierungsangebote (beispielsweise vielerlei verschiedene zwei- und dreidimensionale Graphen), Im- und Export für etliche Dateitypen (z. B. Excel) und Kompatibilität mit Windows (*Matlab* sogar noch für Linux, Unix, Mac OS X und Solaris). Zusätzlich erlaubt *Matlab* die Entwicklung eigener Algorithmen und Anwendungen, da es aus einer hochentwickelten Programmiersprache und Entwicklungswerkzeugen besteht (Mathworks, 2004; Systat, 2008).

---

<sup>3</sup> <<http://www.mathworks.de/products/matlab/>>.

<sup>4</sup> <<http://www.sigmaplot.com/products/SigmaPlot/>>.

Ein großer Nachteil der beiden Programme liegt allerdings in der Tatsache, dass sie kostenpflichtig sind. Eine andere Möglichkeit besteht darin, mit Hilfe der Programmiersprachen *C*, *C++* oder *Fortran* eigene Funktionen, Programme und grafische Oberflächen zu programmieren. Dies stellt die zeitaufwendigste Methode dar. Im Gegensatz dazu verbindet die Programmiersprache *R* eine Vielzahl der oben genannten Merkmale. Sie eignet sich zur Entwicklung eigener Algorithmen, bietet aber eine Menge statistischer Analyse- und Visualisierungsfunktionen. Diese können durch ein mehr als üppiges Angebot frei erhältlicher Pakete erweitert werden. Des Weiteren ist *R* kostenlos nutzbar und für so gut wie alle Plattformen (z. B. Windows und Linux) verfügbar (Ihaka & Gentleman, 1996). Aus den oben genannten Gründen wurde für diese Arbeit die Programmiersprache *R* als Visualisierungsprogramm genutzt.

### 1.3.2 Visualisierungsmöglichkeiten

Es steht eine große Auswahl verschiedener Visualisierungstools zur Bearbeitung von Datenmengen zur Verfügung. Im Weiteren werden einige von ihnen vorgestellt. Datensätze mit geringem Umfang bzw. für einen konkreten Bereich werden häufig durch Säulendiagramme oder auch durch Verlaufsdiagramme dargestellt. Säulendiagramme stellen dabei die Größe der Werte proportional zur Höhe der Säulen dar, während Verlaufsdiagramme die Entwicklung von einem oder mehreren Merkmalen für einen bestimmten Zeitraum verfolgen. Eine weitere Methode stellt die *Heatmap* dar. Dabei wird einem Messwertintervall eine Farbe eines Farbverlaufs (z. B. von rot über orange nach gelb) zugewiesen und in einer zweidimensionalen Matrix die Messwerte in Farbblöcken dargestellt. Bei einer *Heatmap* existiert zusätzlich die Möglichkeit, die Spalten und/oder Zeilen jeweils einer Clusteranalyse, die Ähnlichkeiten im Verlauf der Datensätze prüft, zu unterziehen und entsprechend dieser zu sortieren. Dafür wird jeweils ein sogenanntes Dendrogramm<sup>5</sup> ausgegeben. Die *Wireframegrafik* bildet die Daten analog zur *Heatmap* ab. Allerdings werden dort die Messwerte in einer dritten Dimension visualisiert und bilden so ein Netz in einem dreidimensionalen Koordinatensystem. Bei sehr großen Datensätzen findet meist die *PCA*<sup>6</sup> ihren Einsatz. Sie reduziert die Dimensionen der Matrix. Die Resultate lassen sich dann gut in einem zwei- oder dreidimensionalen System veranschaulichen, in dem z. B. die erste und zweite Hauptkomponente gegeneinander abgebildet werden (in einem *PCA-Plot*). Bevorzugt wird dabei die Interpretation der Ähnlichkeiten der Bezugspunkte anhand der jeweiligen Entfernung zueinander gezeigt.

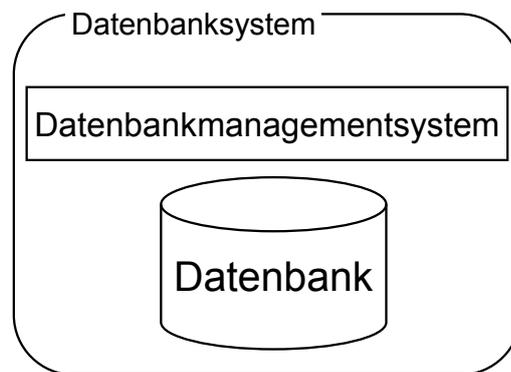
---

<sup>5</sup> Ein hierarchisches Cluster in Baumstruktur. Es stellt die Ähnlichkeit des Datenverlaufes anhand der Länge der Linien, die zusammen verlaufen, dar. Je kürzer diese sind, desto ähnlicher sind sie.

<sup>6</sup> Principal Component Analysis. Siehe Kapitel 2.2.4 Principal Component Analysis (PCA), S. 29.

### 1.3.3 Datenbanken

Um die große Menge an Daten zu organisieren wird immer öfter eine Datenbank eingesetzt, da diese die Suche nach bestimmten Werten gegenüber einfachen Tabellen durch eine höhere Geschwindigkeit erleichtert. Dazu gehört ein Datenbankmanagementsystem, das die Zugriffe auf die Datenbank, wie beispielsweise das „Hinzufügen“, „Löschen“ oder „Verschieben“ von Werten, organisiert (siehe Abb. 2). Dabei gibt es eine große Auswahl an Systemen wie Microsoft *Access*, *mySQL*, *Oracle* oder das in dieser Arbeit verwendete *SQLite*. Alle bieten im Prinzip die Grundanforderungen, die an ein Datenbanksystem gestellt werden (Datenmengen effizient, widerspruchsfrei und dauerhaft zu speichern). Gegenüber anderen Datenbanken hat *SQLite* den Vorteil, dass ein Paket für *R* (*RSQLite*) existiert, welches als Schnittstelle zwischen den beiden Programmen dient. So sind z. B. direkte Abfragen über *R* an eine *SQLite* Datenbank möglich. Des Weiteren zählt es zu den frei nutzbaren und kostenlosen Datenbanksystemen.



*Abb. 2: Schematische Darstellung eines Datenbanksystems*

### 1.4 Einführung in die Analytik

Dieses Kapitel widmet sich der angewandten Methodik hinsichtlich der hier beschriebenen Untersuchungsverfahren. Im Einzelnen werden dabei die Vorgänge vorgestellt, die für die Ermittlung und Analyse der Daten erforderlich waren.

### 1.4.1 Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)

Die analytische Methode der Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, im Englischen „*reversed phase-high performance liquid chromatography*“ (RP-HPLC), ist eine Technik, mit deren Hilfe man Substanzen trennen, über Nachweisdetektoren identifizieren und deren Konzentration messen kann (Engels, 2006). Des Weiteren ist es mit diesem Verfahren möglich, nicht flüchtige Stoffe zu untersuchen und die Ergebnisse auszuwerten. Innerhalb des Verfahrens der RP-HPLC wird die zu analysierende Probe (farbige Kugeln, Abb. 3) von einer durch die Säule fließenden Flüssigkeit, der mobilen Phase, aufgenommen.

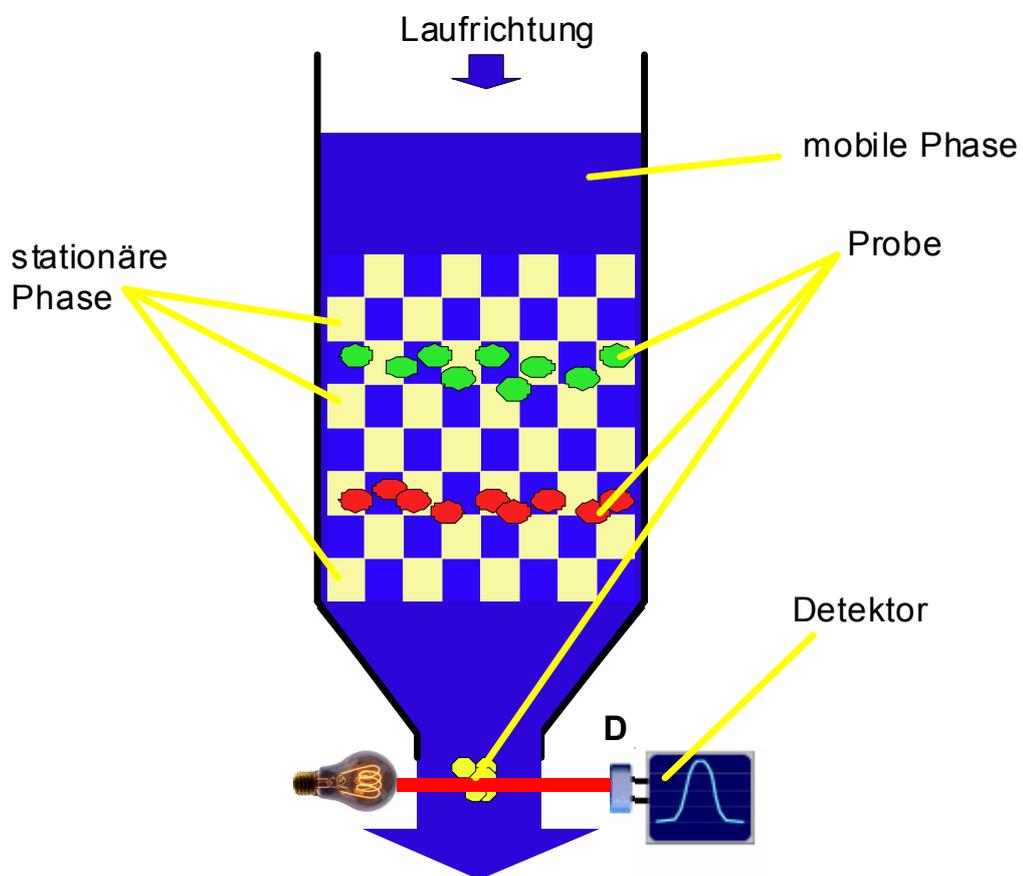


Abb. 3: Verfahren in der HPLC-Säule<sup>7</sup>

<sup>7</sup> Hübl, 12.11.2008.

Dabei wandern die Bestandteile der Probe durch das ungleiche Aufhalten in der stationären Phase (weiß-gelblich) mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten. Mit Hilfe eines Detektors (D) lassen sich dann beim Austreten der Probe aus der Säule die vorhandenen Stoffe nachweisen. Abb. 4 zeigt den schematischen Aufbau einer RP-HPLC. Pumpe 1 befördert die mobile Phase 1, den Eluent 1, über das Mischventil (MV) und das Probeventil (PV) durch die Säule. Um große Geschwindigkeitsunterschiede der Stoffe zu kompensieren, wird mindestens eine weitere Pumpe, hier Pumpe 2, mit einer stärkeren mobilen Phase, die die Stoffe schneller aus der Säule wäscht, über das Mischventil integriert. In der Praxis programmiert man die Pumpen oder das Mischventil entsprechend, dass dem Eluenten 1 immer mehr Eluent 2 beige-mischt wird und bezeichnet dies als Gradiententrennung. Dagegen setzt man die isokratische Trennung mit nur einem Eluenten bei einfacheren Aufgaben ein. Mit Hilfe eines Autosamplers wird in den oberen Kanal des Probenventils die Probe in das Hochdrucksystem hineingebracht und danach schnell das Probenventil nach unten geschoben. Die Säulen einer HPLC sind mit einem Stahlmantel umhüllt und mit einem Stoff (z. B. Silicalgel oder Kiesegel) gefüllt, der die stationäre Phase bildet (Lodder, 12.11.2008). Der Unterschied zwischen HPLC und RP-HPLC liegt in der Oberfläche des Füllmaterials in der Säule. Bei der RP-HPLC ist die Fläche mit langen Kohlenstoffketten überzogen, wodurch sie apolar wird. Als Eluent verwendet man eine polare Flüssigkeit. Dadurch sind die Phasen vertauscht und die Bezeichnung „*Reversed-Phase*“ (Umkehrphase) oder „*Reversed-Phase Säule*“ (Umkehrphasensäule), kurz RP-Säule, wird gebraucht (Fachinformationszentrum [FIZ] Chemie Berlin, 12.11.2008). Der Säule nachgeschaltet befindet sich der Detektor, welcher die austretende mobile Phase analysiert. Es können verschiedene Detektoren in Abhängigkeit der chemischen Eigenschaften der Substanzen eingesetzt werden (Tabelle 1).

**Tabelle 1: Detektor-Arten<sup>8</sup>**

Detektorbezeichnung	Funktion / Messergebnis
UV / Visible-Detektor	gleich einem Photometer, Abschwächung eines Lichtstrahls
Fluoreszenzdetektor	durch Anregungsstrahl ausgelöste Fluoreszenz
Brechungsindex-Detektor	Änderung der Lichtbrechung
Elektrochemische Detektor (ECD)	Änderung des Stromflusses zwischen zwei Polen, verursacht durch die austretenden Stoffe
Dioden-Array-Detektor	mit einem UV-Visible-Detektor detektierende Substanz (bei einer oder mehr bestimmten Wellenlängen)

---

<sup>8</sup> AlphaCrom OHG, 12.11.2008.

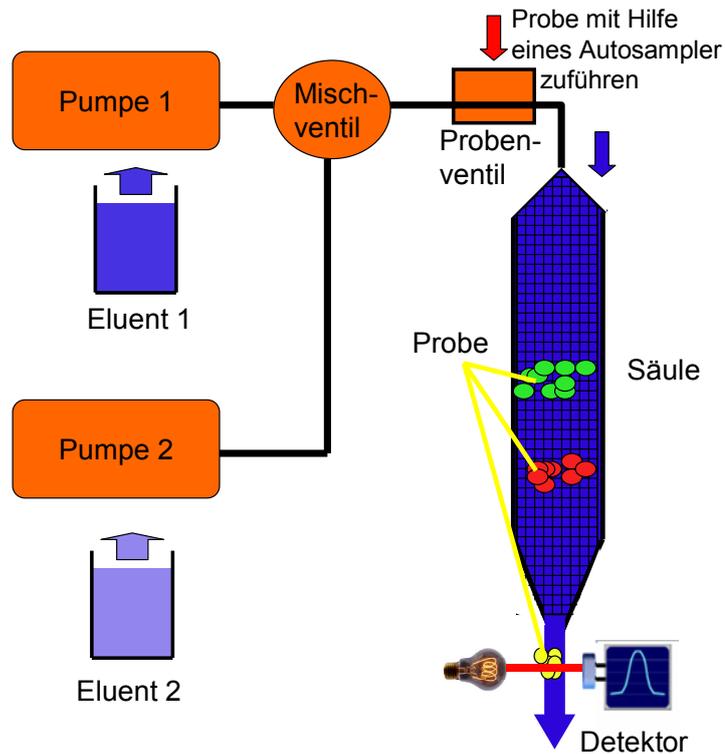


Abb. 4: Schematischer Aufbau einer HPLC<sup>9</sup>

Die aufgezeichneten Messwerte werden graphisch als Chromatogramm dargestellt. Voneinander getrennte Substanzen entsprechen den Erhebungen (Peaks) im Chromatogramm. Ein Beispiel ist in Abb. 5 dargestellt, bei dem aus einem Substanzgemisch drei Einzelstoffe separiert worden sind. Zur Identifizierung dieser Peaks muss eine Kalibrierung mit bekannten Substanzen durchgeführt werden. Diese ist auch zur Quantifizierung notwendig, sodass die Fläche des Peaks proportional zur Menge der Substanz ist.

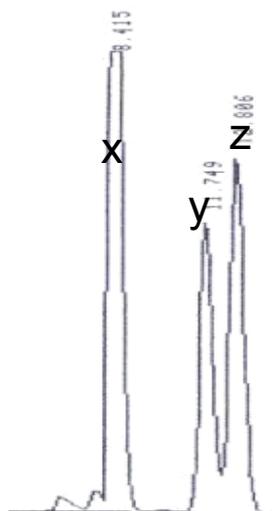


Abb. 5: Beispiel-Chromatogramm<sup>10</sup>

<sup>9</sup> Hübl, 12.11.2008.

<sup>10</sup> Ebd.

### 1.4.2 Gas Chromatography / Time-Of-Flight Mass Spectrometry (GC/TOF-MS)

Die GC/TOF-MS versteht sich als ein chemisch-analytisches Trennverfahren mit massenspektrometrischer Detektion, d. h. eine Gaschromatographie (GC, *Gas Chromatography*) ist mit einem Flugzeitmassenspektrometer (TOF-MS, *Time-Of-Flight Mass Spectrometry*) gekoppelt.

Mit Hilfe eines Autosamplers wird eine kleine Menge der derivatisierten Probe in einer Spritze in den Injektor gegeben (Abb. 6). Danach verdampfen die Bestandteile des Stoffes in dem auf 230° Celsius erhitzten Injektor und nur nichtflüchtige Komponenten verbleiben im Injektor. In Folge dessen vermengt sich das Lösemittel-Probe-Gemisch mit dem zugegebenen Trägergas Helium, das bei der GC die mobile Phase darstellt, während die Innenseite der Glaskapillare die stationäre Phase bildet. Die unterschiedlichen Adsorptions- und Desorptionseigenschaften der Substanzen innerhalb einer Probe nutzt man bei der Chromatographie, in dem eine Substanz, die öfter und fester an der Oberfläche der Innenseite der Kapillare adsorbiert, länger braucht, um mit Hilfe des Trägergases Helium durch die Säule transportiert zu werden. Mittels der verschiedenen Bindungsaffinitäten der Komponenten zur stationären Phase eluieren die einzelnen Bestandteile der Probe unterschiedlich stark. Des Weiteren wird dies durch ein Temperaturprogramm, was eine zusätzliche Siedepunktstrennung bewirkt, unterstützt. Darauf folgt der TOF-MS Bereich. Dabei werden die getrennten Substanzen in eine Vakuumröhre geleitet und mit einem Elektronenstrahl beschossen, woraufhin die Moleküle zerfallen. Es ist für die spätere Quantifizierung wichtig, dass genau ein Ion, ein geladenes Fragment, das ein Teil des ursprünglichen Moleküls ist, beim Zerfallsprozess eines Moleküls entsteht. Durch das kurzzeitige elektromagnetische Sammeln, Pulsen und Stoßen in eine Flugröhre, erhalten die Fragmente unterschiedlicher Masse divergierende Geschwindigkeiten und das Gemisch lässt sich in unterschiedliche Massen auftrennen. Am Endpunkt der Flugröhre zählt ein Detektor die Einschläge an Fragmenten. Anhand des Wissens der Geometrie des Systems kann man den Zeitpunkt der Detektion der Masse und die Häufigkeit im ursprünglichen Massengemisch feststellen. Verschiedene Moleküle erzeugen dabei unterschiedliche Verteilungen an Fragmenten und können so bei der Substanzbestimmung verwendet werden.

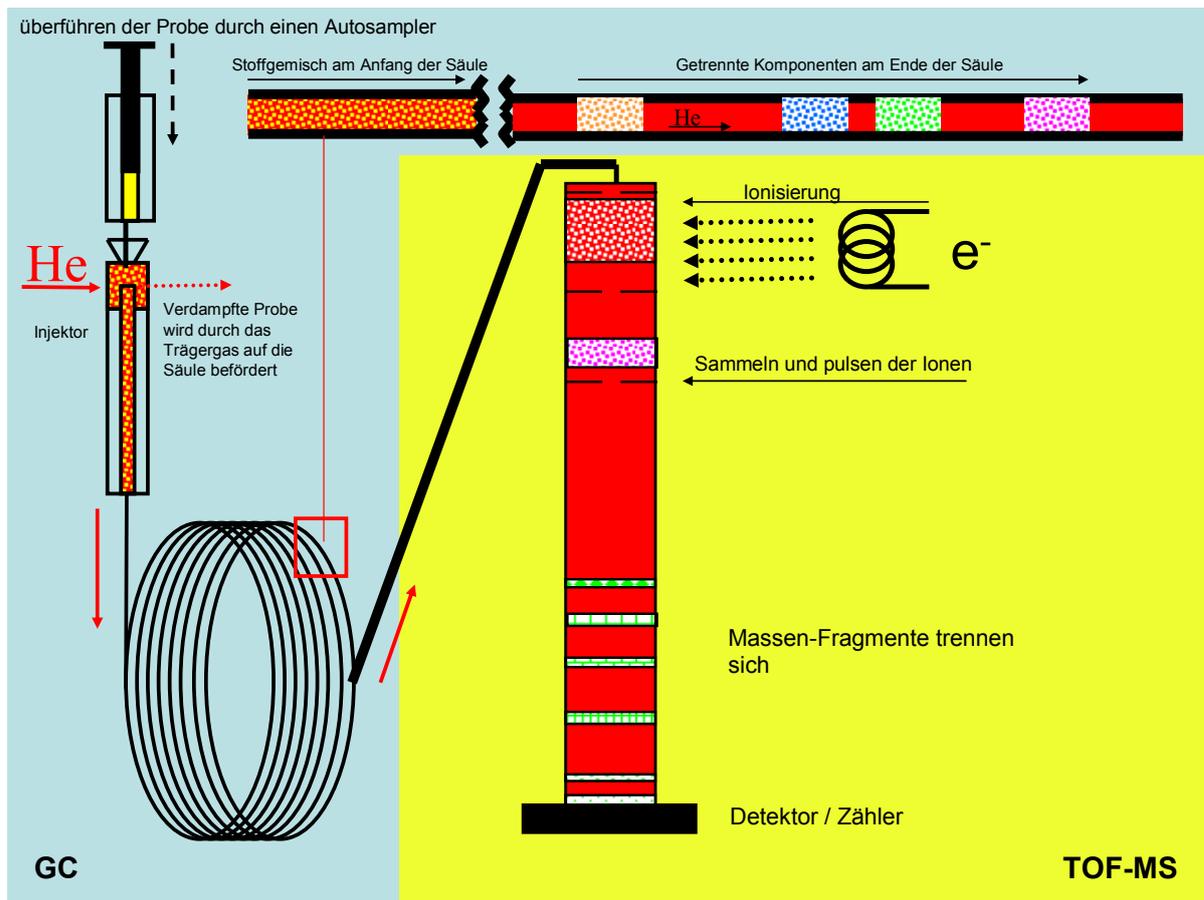
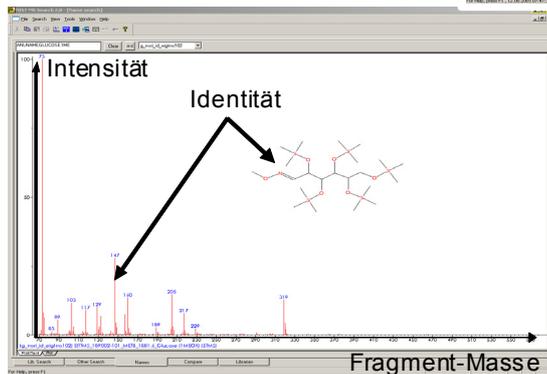
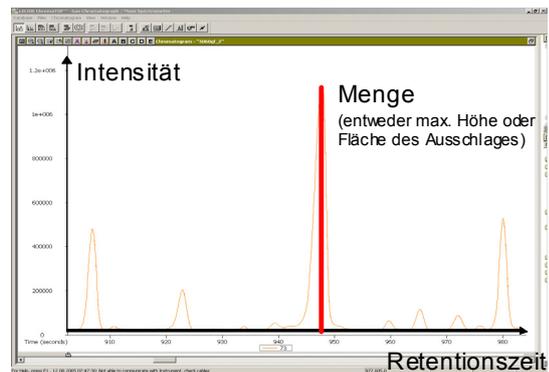


Abb. 6: Schematischer Aufbau einer GC/TOF-MS<sup>11</sup>

Die gemessenen Daten werden in einem dreidimensionalen Diagramm dargestellt bzw. wie in Abb. 7 in zwei zweidimensionalen Diagrammen. Die drei Dimensionen beschreiben Intensität, Retentionszeit und Fragment-Masse. Durch das Chromatogramm erhält man den Intensitätsverlauf eines Fragments in zeitlicher Abfolge. Beim Massenspektrum hingegen wird die Intensität zu einem bestimmten Zeitpunkt detailliert in die einzelnen Fragment-Massen aufgeschlüsselt, wodurch man anhand eines Vergleiches mit bekannten Stoffen einer Datenbank die Identität der einzelnen Elemente feststellen kann (Engels & Lottspeich, 2006).

<sup>11</sup> Hübl, 12.11.2008.

Chromatogramm:  
Zeitlicher Intensitätsverlauf eines  
Fragments (Massenspur)



Massenspektrum:  
Häufigkeitsverteilung von  
entstandenen Bruchstücken  
(Fragmenten)

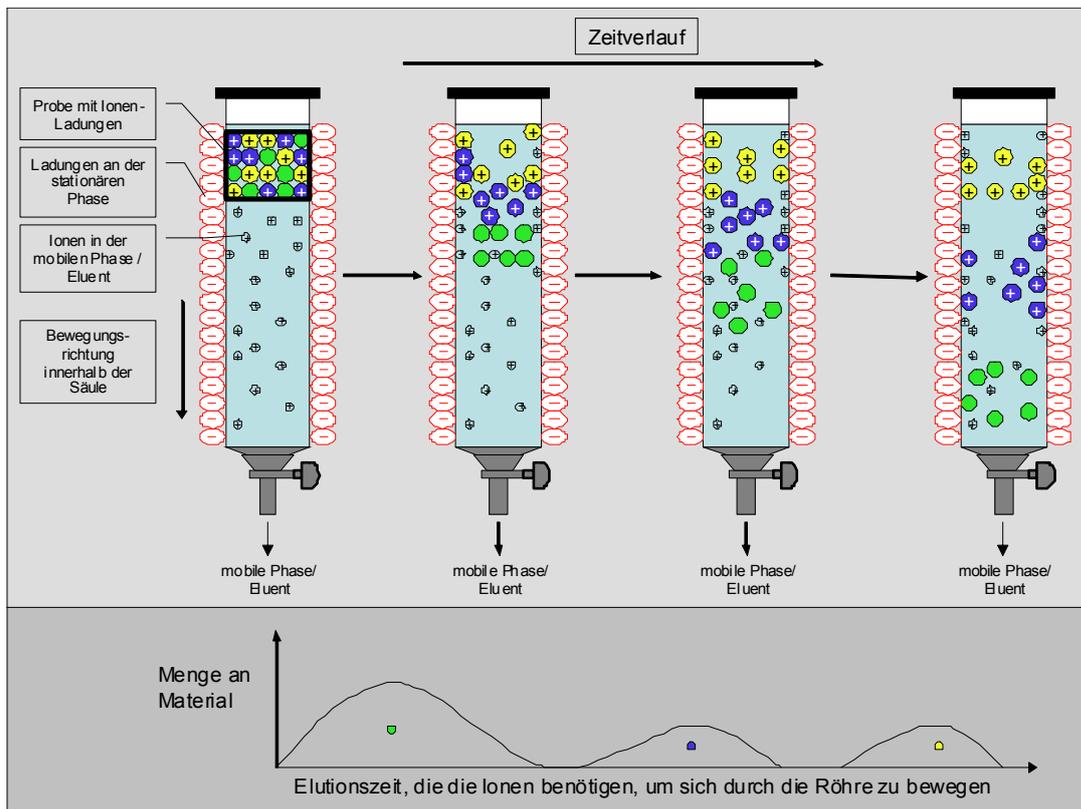
Abb. 7: Chromatogramm und Massenspektrum einer GC/TOF-MS<sup>12</sup>

### 1.4.3 Ion-Chromatographie (IC)

Mit Hilfe der Ion-Chromatographie lassen sich die Massenkonzentrationen von den meisten Anionen, wie z. B. Fluoride, Chloride, Nitrate, Nitrite und Sulfate, bestimmen. Ebenso ist dies für die meisten Kationen, beispielsweise Lithium, Natrium, Ammonium, Kalium, Calcium und Magnesium möglich (Bruckner, 09.12.2008). Ferner ist die Messung organischer Säuren ausführbar. Die IC stellt eine weitere spezielle Form der Flüssigkeitschromatographie für ionische Spezies als Analysemethode dar. Dabei wird die Eigenschaft der Ionen genutzt, dass sie an Adsorbentien je nach Größe und Art unterschiedlich stark binden. Adsorbentien definieren Stoffe, die bestimmte Substanzen aus benachbarten gasförmigen oder flüssigen Phasen an ihrer Grenzfläche selektiv anreichern. Drei Arten von Adsorbentien existieren:

1. Ionenaustauscher niedriger Kapazität (HPIC, *High Performance Ion Chromatography*)
2. total sulfonierte Kationenaustauscher hoher Kapazität (HPICE, *High Performance Ion Chromatography Exclusion*)
3. neutrale Harze, versehen mit einer mobilen Trennphase (MPIC, *Mobile Phase Ion Chromatography*) (Stark, 09.12.2008).

<sup>12</sup> Alexander Erban, MPI Golm, persönliche Mitteilung.



**Abb. 8: Schematische Darstellung eines Ionen-Chromatographie Durchlaufs und darunter die dazugehörige Diagrammskizze mit der Menge an Material, das in einer bestimmten Zeit durch die Röhre gekommen ist.<sup>13</sup>**

Im Analyseverfahren wird die Probelösung mit hohem Druck über die Chromatographiesäule geleitet und je nach Wahl des Austauschers können Anionen, Kationen oder Ionenpaare absorbiert werden (Abb. 8). Dabei sind an der stationären Phase Gruppen mit einer negativen respektive einer positiven Ladung gebunden. Dadurch verweilen, wie in Abb. 8 zu sehen ist, entgegengesetzt geladene Teilchen länger an der stationären Phase, wogegen ungeladene oder gleich geladene Teilchen schneller transportiert werden. Allerdings sind in der mobilen Phase / Eluent ebenfalls Ionen, die mit denen der Probe konkurrieren. Anders ausgedrückt verdrängen sie die Ionen der Probe von den Bindungsstellen der stationären Phase (Hübl, 09.12.2008). Der Ionennachweis erfolgt z. B. anhand eines Vergleiches der Leitfähigkeit und der Lichtabsorbtion im sichtbaren oder ultravioletten Bereich mit bekannten Werten.

<sup>13</sup> Bruckner, 09.12.2008; Hübl, 09.12.2008.

#### 1.4.4 Inductively-Coupled-Plasma Mass-Spectrometry (ICP-MS)

Die *Inductively-Coupled-Plasma Mass-Spectrometry* (ICP-MS), übersetzt als Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma, ist eine analytische Methode, die die Bestimmung einer Vielzahl von Elementen in relativ kurzer Zeit ermöglicht (Stark, 22.01.2009). Es hat sich im Laufe der Zeit zu einem der am häufigsten genutzten Verfahren zur Spurenelementanalytik entwickelt, da es eine relativ hohe Nachweisstärke besitzt. Im Normalfall wird als Erstes die Probe als Flüssigkeit in Tropfenform über ein Zerstäubersystem mit einem Trägergas (Argon) in das System transportiert (Worley & Kvech, 22.01.2009). Damit gelangen die Tröpfchen in den Torch bzw. in die Fackel. Dort wird das Plasma- und Kühlgas hinzugegeben, wodurch die Probe mit Hilfe der Kupfer-Spule und des Hochfrequenzgenerators im Plasma ionisiert wird. Durch den sogenannten Interfacebereich, mit den beiden Blenden „*Sampler*“ und „*Skimmer*“, gelangen die Ionen in das Vakuumsystem des Massenspektrometers. Mittels der Ionenoptik respektive den Ionenlinsen wird der Ionenstrahl fokussiert und folglich trennen sich die Ionen unterschiedlicher Masse im Massenspektrometer (Schmidt & Gebel, 22.01.2009). Nach der Massentrennung werden die einzelnen Ionen detektiert und die Ergebnisse elektronisch ausgewertet (Abb. 9). Dabei treten Einschränkungen auf, die bei den Messungen beachtet werden müssen, wie z. B. Untergrundrauschen oder Interferenzen.

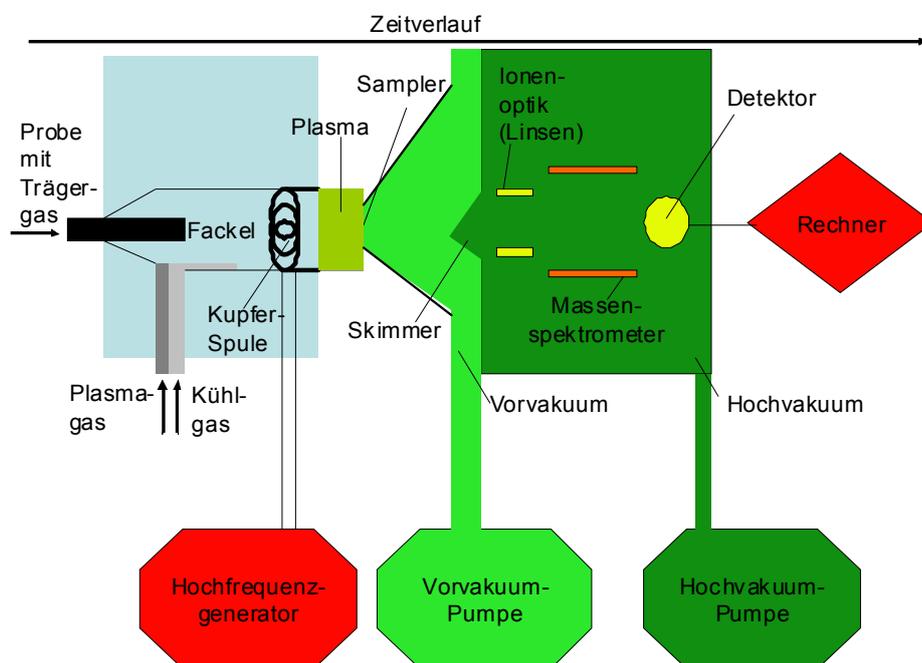


Abb. 9: Schematische Darstellung des Ablaufs einer ICP-MS<sup>14</sup>

<sup>14</sup> Schmidt & Gebel, 22.01.2009.

### 1.5 Zielsetzung

Für diese Arbeit sollen bestehende Datensätze verschiedener Messverfahren archiviert, anhand von bioinformatischen Methoden visualisiert und interpretiert werden. Die Visualisierungen sollen es ermöglichen, Zusammenhänge zwischen Nährstoffmangelsituationen und der Beeinflussung von Stoffwechselwegen zu untersuchen. Falls während dieser Arbeit aus gängigen bioinformatischen Visualisierungsmöglichkeiten erweiterte bzw. neue Möglichkeiten zur Darstellung entstehen würden, würden diese ausführlich erläutert und angewendet werden, um sie verständlicher und nachvollziehbar zu machen. Bei den vorliegenden Datensätzen handelte es sich um Mengenbestimmung für Metabolite, die für unter Nährstoffmangel angezogene *Arabidopsis thaliana* Pflanzen bestimmt wurden. Dazu wurde eine zeitabhängige (zwischen halben und siebenten Tag, sowie einem Zeitpunkt „resupply“ vier Stunden nach Wiederaufnahme des Nährstoffs nach dem vierten Tag) Untersuchung durchgeführt. Die Metabolite setzen sich aus Element- und Ionenanalysen, die durch ICP-MS und IC erhoben wurden und Metabolitkonzentrationen, die mittels GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmt wurden, zusammen. Für eine möglichst effektive Archivierung der Datensätze und somit einen schnellen und präzisen Zugriff darauf zu haben, sollte eine Integration der Daten in eine *SQLite*-Datenbank durchgeführt werden. Zu diesem Datenbanktyp existiert eine Schnittstelle zu dem in dieser Arbeit verwendeten Statistikprogramm *R*. Für dieses Programm stehen verschiedene Erweiterungsmodule zur Verfügung, die zur Visualisierung des Datensatzes in Form von *Heatmaps*, *Wireframes* oder *PCA-Plots* genutzt werden müssten. Ferner sollten die ermittelten Werte mit Literaturdaten verglichen werden.

## 2 Software / Material und Methoden

### 2.1 Software / Material

#### 2.1.1 R 2.8.0

Die Programmiersprache *R* ist ein GNU-Projekt. Demnach kann es nach der GNU *General Public License* (GPL) frei genutzt werden und ist z. B. unter Windows, MacOS und zahlreichen UNIX-Plattformen nutzbar<sup>15</sup>. Die Entwicklung begann 1992 unter Ross Ihaka und Robert Gentleman und hat sich an der Sprache zur Verarbeitung statistischer Daten S und S-Plus<sup>16</sup> orientiert (Ihaka & Gentleman, 1996). *R* ist dabei der Vorreiter in der Erstellung wissenschaftlich fundierter, statistischer Grafiken, z. B. in der Psychologie oder den Sozial-, Wirtschafts- und Naturwissenschaften (Schwartz et al., 04.12.2008). Die Software, und dementsprechend auch dessen Funktionsumfang, lässt sich mit Hilfe einer großen Anzahl von Paketen erweitern. Solche Erweiterungen sind über das zentrale Archiv CRAN (*Comprehensive R Archive Network*<sup>17</sup>) oder anderen Quellen mit speziellen Paketen, z. B. *Bioconductor*<sup>18</sup> für den Bereich der Bioinformatik, zu beziehen. Zusätzlich werden einige grafische Benutzeroberflächen (GUI, *graphical user interface*) angeboten, wie z. B. Statistiklabor<sup>19</sup> für Windows, RKWard<sup>20</sup> für Linux und Unix-Systeme oder JGR (Java GUI for *R*)<sup>21</sup>.

##### 2.1.1.1 R-Paket *RSQLite* 0.6-9

Das Paket (*Package*) *RSQLite* erweitert *R* um einen Datenbankbeschreibungs-Schnittstellentreiber für *SQLite*, womit die *SQLite*-Datenbank-Engine in *R* eingebettet wird und somit eine Schnittstellenkompatibilität mit dem DBI-Package bietet. Dies bildet wiederum eine Datenbankschnittstelle zur Kommunikation zwischen *R* und relationalen Datenbankmanagementsystemen. Erhältlich ist das Paket unter der angegebenen Internet-Adresse <<http://cran.r-project.org/web/packages/RSQLite/index.html>>. Für diese Arbeit wurde die Version 0.7-1 vom Oktober 2008 eingesetzt.

---

<sup>15</sup> Erhältlich ist die Software unter: <<http://cran.r-project.org/>>.

<sup>16</sup> S-Plus ist ein Statistikprogramm, das auf der Programmiersprache S basiert (Meili, 28.02.2009).

<sup>17</sup> <<http://cran.r-project.org/web/packages/>>.

<sup>18</sup> <<http://bioconductor.org/packages/release/Software.html>>.

<sup>19</sup> <<http://www.statistiklabor.de/>>.

<sup>20</sup> <<http://rkwad.sourceforge.net/>>.

<sup>21</sup> <<http://jgr.markushelbig.org/JGR.html>>.

### 2.1.1.2 R-Paket *gplots* 2.6.0

*Gplots* ergänzt *R* um eine Anzahl von neuen grafischen Ausgaben bzw. bereits vorhandenen Grafikoptionen mit erweitertem Funktionsumfang, z. B. die Funktion „heatmap.2“, die wesentlich mehr Optionen für die grafische Darstellung bietet als das bereits integrierte „heatmap“. Für diese Arbeit fand die Version 2.6.0 Verwendung. Diese ist unter folgender Internet-Adresse <<http://cran.r-project.org/web/packages/gplots/index.html>> herunterladbar.

### 2.1.1.3 R-Paket *animation* 1.0-1 inkl. *ImageMagick* 6.4.3

Das Paket *animation* ergänzt *R* um die Möglichkeit Statistiken als Animation darzustellen. Zusätzlich muss das Grafikprogramm *Image Magick* installiert werden, dass unter folgender Adresse <<http://www.imagemagick.org/script/binary-releases.php>> für alle gängigen Plattformen erhältlich ist. Für diese Arbeit fand die Version 1.0-2 des Paketes und die Version 6.4.7-3 von *Image Magick* Verwendung. Das Paket steht unter <<http://cran.r-project.org/web/packages/animation/index.html>> zur Verfügung.

### 2.1.1.4 R-Paket *lattice* 0.17-14

*Lattice* erweitert *R* um neue grafische Ausgabemöglichkeiten, z. B. um die Funktion „wireframe“, die in dieser Arbeit ihren Nutzen zur dreidimensionalen Darstellung von *Heatmaps* fand. Es ist die Version 0.17-17 des Packages verwendet worden und ist unter folgender Adresse <<http://cran.r-project.org/web/packages/lattice/index.html>> zu beziehen.

## 2.1.2 SQLite

Die Entwicklung der hier verwendeten frei nutzbaren Programmbibliothek *SQLite* in der Sprache C begann im Jahr 2000 unter Richard Hipp. Sie beinhaltet ein relationales Datenbanksystem, d. h. es handelt sich um eine Sammlung von Tabellen (Relationen), in denen Datensätze abgespeichert sind. *SQLite* implementiert eine selbstständige, serverlose, direkt nutzbare (es ist keine Installation erforderlich), transaktionelle *SQL*<sup>22</sup> Datenbank *Engine*. Ein Merkmal ist die nicht vorhandene Typsicherheit, d. h. fehlerhafte Eingaben werden akzeptiert und in Zeichenketten umgewandelt. *SQLite* erfreut sich einer großen Beliebtheit und findet schon bei vielen speicherabhängigen Geräten, wie Telefonen, PDAs<sup>23</sup>, MP3-Playern und z. B. beim Mozilla Firefox Browser Version 3 (*Bookmarks*) seinen Einsatz (Hipp, 04.12.2008).

---

<sup>22</sup> Structured Query Language.

<sup>23</sup> Personal Digital Assistant.

### 2.1.3 Erzeugung des Datensatzes

Der verwendete Datensatz entstammt einem Experiment, bei dem Arabidopsispflanzen hydroponisch angezogen und verschiedenen Nährstoffmangelsituationen ausgesetzt wurden. Die Ernte erfolgte getrennt in Blatt- und Wurzelmaterial mit anschließender Analyse durch verschiedene Techniken: GC/TOF-MS (Metaboliten), RP-HPLC (Metaboliten), IC (Ionen) und ICP-MS (Elemente). Mittels dieser Messverfahren wurden für die folgenden Mangelsituationen (Eisen (Fe), Kalium (K), Magnesium (Mg), Stickstoff (N), Phosphor (P), Schwefel (S)) die Metabolit-, Element- und Ionendaten gemessen. Die Erhebung des Datensatzes erfolgte für neun Messzeitpunkte: ½, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 Tage und ein sogenannter *resupply*. Dabei fand eine Wiederaufzuführung des entzogenen Nährstoffes nach dem vierten Tag und eine Beprobung vier Stunden später statt. Aufgrund des Umfangs ist das Experiment in zwei Teilen durchgeführt worden. Zunächst erfolgten die Untersuchungen der Mangelsituationen der Makronährstoffelemente (Stickstoff, Phosphor und Schwefel) und darauffolgend im zweiten Teilexperiment die Mikronährstoffmangelsituationen (Eisen, Kalium und Magnesium). Für jedes dieser Teilexperimente wurden eigene Kontrollwerte (je für Wurzeln und Blätter) bestimmt (Tabelle 2).

**Tabelle 2: Übersicht der gemessenen Daten der Experimente 1 und 2 von einem Messzeitpunkt**

Experiment 1	Experiment 2
Blätter	Blätter
-S	-Fe
-P	-K
-N	-Mg
Kontrollwert_makro_Blätter	Kontrollwert_mikro_Blätter
Wurzeln	Wurzeln
-S	-Fe
-P	-K
-N	-Mg
Kontrollwert_makro_Wurzeln	Kontrollwert_mikro_Wurzeln

#### 2.1.3.1 Erhebung der Element- und Ion-Daten<sup>24</sup>

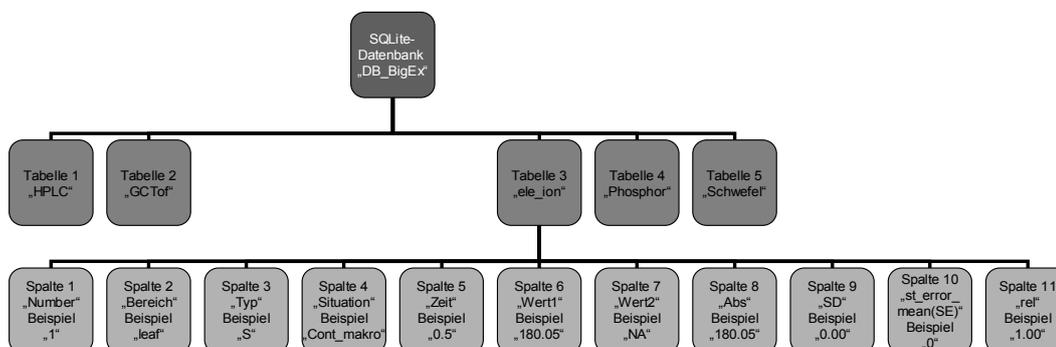
Die Messung geschah für die Elemente Schwefel, Phosphor, Magnesium, Kalium, Eisen, Calcium und Natrium sowie für die Ionen Sulfat, Phosphat und Nitrat. Innerhalb der Mikronährstoffklasse existieren für die in den Wurzeln gemessenen Ionen keine Daten (siehe rote Kästchen in Tabelle 3). Die Bestimmung der Ionendaten für Magnesiummangel (Blätter) konnten

<sup>24</sup> Siehe Kapitel 1.4.3 Ion-Chromatographie (IC), S. 13; Kapitel 1.4.4 Inductively-Coupled-Plasma Mass-Spectrometry (ICP-MS), S. 15.

ebenfalls nicht erfolgen, sondern nur bei fünf von neun Zeitpunkten (blaue Kästchen in Tabelle 3). Bei diesem Datensatz wurden pro Datenpunkt zwei Werte gemessen, aus deren Mittelwert sich der absolute Wert errechnet. Die relativen Werte bilden das Verhältnis von Mangelsituation zur Kontrolle. Abb. 10 stellt eine Übersicht der Tabellenspalten in der *SQLite*-Datenbank dar, worin die Übernahme der gemessenen und berechneten Element- und Ionenwerte statt fand.

**Tabelle 3: Gemessene Element- und Ion-Daten<sup>25</sup>**

Element/Ion (Formelzeichen)	Blätter Makro-Nährstoff Klasse	Blätter Mikro-Nährstoff Klasse	Wurzel Makro-Nährstoff Klasse	Wurzel Mikro-Nährstoff Klasse
Schwefel ( <i>S</i> )				
Phosphat ( <i>P</i> )				
Magnesium ( <i>Mg</i> )				
Kalzium ( <i>Ca</i> )				
Kalium ( <i>K</i> )				
Eisen ( <i>Fe</i> )				
Natrium ( <i>Na</i> )				
Schwefel-Sulfat ( $SO_4^{2-}$ )				
Phosphat ( $PO_4^{3-}$ )				
Nitrat ( $NO_3^-$ )				



**Abb. 10: Spalten der Tabelle „ele\_ion“ mit den Element- und Ionendaten in der SQLite-Datenbank**

### 2.1.3.2 Erhebung der mit RP-HPLC ermittelten Metabolitdaten<sup>26</sup>

Mit der Methode RP-HPLC sind 20 Aminosäuren und Glutathion (GSH) gemessen worden (siehe Tabelle 4). Der absolute Wert ergibt sich aus dem Mittelwert von zwei, respektive drei Messwerten.

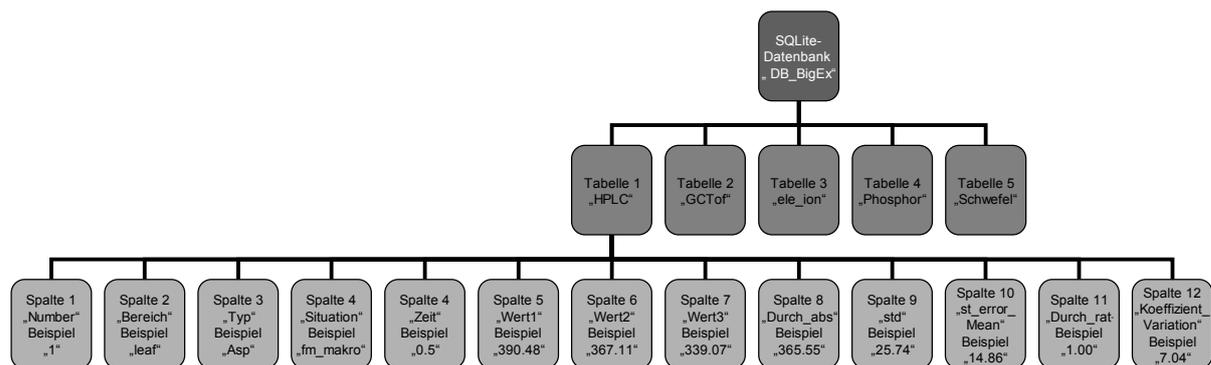
<sup>25</sup> Farbcodierung: grün - Datensatz; blau – Datensatz mit einigen Fehlwerten; rot - Datensatz leer.

<sup>26</sup> Siehe Kapitel 1.4.1 Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC), S. 8.

Tabelle 4: Gemessene Metaboliten mit RP-HPLC

Metabolit	Metabolit (englischer Begriff)	Abkürzung	Metabolit	Metabolit (englischer Begriff)	Abkürzung
Alanin	alanine	Ala	Leucin	leucine	Leu
Arginin	arginine	Arg	Lysin	lysine	Lys
Asparagin	asparagine	Asn	Methionin	methionine	Met
Asparaginsäure	aspartic acid	Asp	Phenylalanin	phenylalanine	Phe
Cystein	cysteine	Cys	Prolin	proline	Pro
Glutamin	glutamine	Gln	Serin	serine	Ser
Glutaminsäure	glutamic acid	Glu	Threonin	threonine	Thr
Glycin	glycine	Gly	Tryptophan	tryptophan	Trp
Glutathion	glutathione	GSH	Tyrosin	tyrosine	Tyr
Histidin	histidine	His	Valin	valine	Val
Isoleucin	isoleucine	Ile			

Für alle Berechnungen fanden drei Messwerte Berücksichtigung von denen der Mittelwert bestimmt worden ist. Allerdings widerfuhr einigen Mittelwerten durch Entfernung eines Wertes eine Korrektur, da diese den Mittelwert und damit die Standardabweichung stark beeinflusst hätte. Vereinzelt war die Bestimmung der Metabolite nicht möglich und dementsprechend gab es ein „NA“ („not available“) in der Messwerttabelle. Davon sind besonders die Messwerte am siebenten Tag in der Klasse Blätter bei Magnesiummangel betroffen. Abb. 11 gibt eine Übersicht über den Datensatz „HPLC“ in der *SQLite*-Datenbank. Die relativen Werte („Durch\_rat“) stellen dabei das Verhältnis von Mangelsituation zu der jeweiligen Kontrolle dar.

Abb. 11: Spalten der Tabelle „HPLC“ mit den Metabolitdaten in der *SQLite*-Datenbank

### 2.1.3.3 Erhebung der mit GC/TOF-MS ermittelten Metabolitdaten<sup>27</sup>

Die Messung anhand dieser Methode ergab Werte für insgesamt 94 Metaboliten (siehe Tabelle 5). Dabei haben sich die absoluten Werte direkt ergeben, d. h. es existiert jeweils nur ein gemessener Wert zu jeder Konstellation. Zusätzlich sind die Metaboliten nach ihrer Stoffwechselfugehörigkeit in Gruppen eingeteilt worden. Häufig kommen in diesem Datensatz Fehlwerte vor - besonders beim siebenten Tag für Blätter unter Magnesiummangel konnten keine Werte gemessen werden. Des Weiteren sind nur in einigen wenigen Fällen die Daten für alle Klassen (Blätter-Makro/Blätter-Mikro/Wurzeln-Makro/Wurzeln-Mikro) vorhanden (*grün* markiert). Diese Datensatzlücken sind in Tabelle 5 *rot* (kein Datensatz) bzw. *blau* (unvollständiger Datensatz) markiert. Die *weißen* Kästchen markieren dabei die vorhandenen Datensätze einer Klasse. Bei Metabolitbezeichnungen, die mit zwei Fragezeichen (??) gekennzeichnet sind, kann nicht mit hundertprozentiger Sicherheit davon ausgegangen werden, dass es sich exakt um diese oder nur sehr ähnliche Verbindungen handelt. Abb. 12 zeigt die Spalten der Tabelle „GCTOF“ in der *SQLite*-Datenbank, worin alle mit dem Verfahren GC/TOF-MS gemessenen Daten abgelegt wurden. Die relativen Daten stellen dort das Verhältnis von Mangelsituation zur jeweiligen Kontrolle dar.

**Tabelle 5: Gemessene Metaboliten mit GC/TOF-MS<sup>28</sup>**

Metabolit	Gruppe (Abkürzung)	Blätter Makro- Nähr- stoff Klasse	Wurzeln Makro- Nähr-stoff Klasse	Blätter Mikro- Nähr- stoff Klasse	Wurzeln Mikro- Nähr-stoff Klasse
?? Asparagine 620	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
?? Cysteine	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
?? Homoserine 4xTMS	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
?? O-acetyl-L-Serine	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
adipic acid 2-amino	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
Ala	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
Asp	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
beta-Alanine (mpimp)	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
Glu	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
Gly	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
Glycin 2TMS	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
Glycin major	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
His	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
Ile	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
Leu	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				
Lys	Aminosäure-Stoffwechsel (aa)				

<sup>27</sup> Siehe Kapitel 1.4.2 Gas Chromatography / Time-Of-Flight Mass Spectrometry (GC/TOF-MS), S. 11.

<sup>28</sup> Farbcodierung: grün – Datensatz für alle Klassen vollständig; weiß – Datensatz nur für diese Klasse vollständig; blau – Datensatz mit einigen Fehlwerten; rot – Datensatz leer.



citramalic acid	Tricarbonsäurezyklus / Krebs-Zyklus (tca)				
Fumaric Acid	Tricarbonsäurezyklus / Krebs-Zyklus (tca)				
glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	Tricarbonsäurezyklus / Krebs-Zyklus (tca)				
Malic Acid	Tricarbonsäurezyklus / Krebs-Zyklus (tca)				
Pyruvic Acid	Tricarbonsäurezyklus / Krebs-Zyklus (tca)				
Succinic Acid	Tricarbonsäurezyklus / Krebs-Zyklus (tca)				
?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	restliche Metaboliten (other)				
adipic acid	restliche Metaboliten (other)				
beta-glucopyranose 1,6-anhydro	restliche Metaboliten (other)				
Dianhydro-D-glucit	restliche Metaboliten (other)				
Erythritol	restliche Metaboliten (other)				
Galactonic acid	restliche Metaboliten (other)				
Glyceric Acid	restliche Metaboliten (other)				
Glycerolphosphate alpha	restliche Metaboliten (other)				
glycopyranoside alpha-methyl	restliche Metaboliten (other)				
Glyoxylic Acid	restliche Metaboliten (other)				
guanidinium	restliche Metaboliten (other)				
hydroxylamine	restliche Metaboliten (other)				
lactobionic acid major	restliche Metaboliten (other)				
Malonic acid major1	restliche Metaboliten (other)				
Malonic acid major2	restliche Metaboliten (other)				
melissic acid	restliche Metaboliten (other)				
palatinitol 1	restliche Metaboliten (other)				
phosphoric acid	restliche Metaboliten (other)				
Pyridine, 3-hydroxy	restliche Metaboliten (other)				
ribonic acid	restliche Metaboliten (other)				
urea major	restliche Metaboliten (other)				
xylose major	restliche Metaboliten (other)				

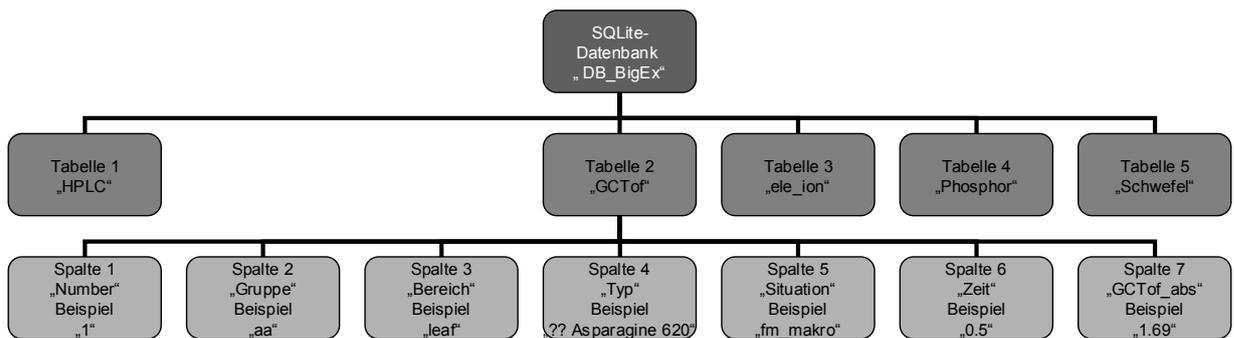


Abb. 12 Spalten der Tabelle „GCTOF“ mit den Metabolitdaten in der SQLite-Datenbank

### 2.1.3.4 Erhebung der Metabolitdaten von Phosphatmangel für den Literaturvergleich

Um einen Literaturvergleich mit 18 Aminosäuren der Publikation von Morcuende et al. (2007) durchführen zu können, wurden Messdaten daraus in die Tabelle „Phosphor“ der Datenbank übernommen worden. Abb. 13 zeigt die Spalten der Tabelle „Phosphor“.

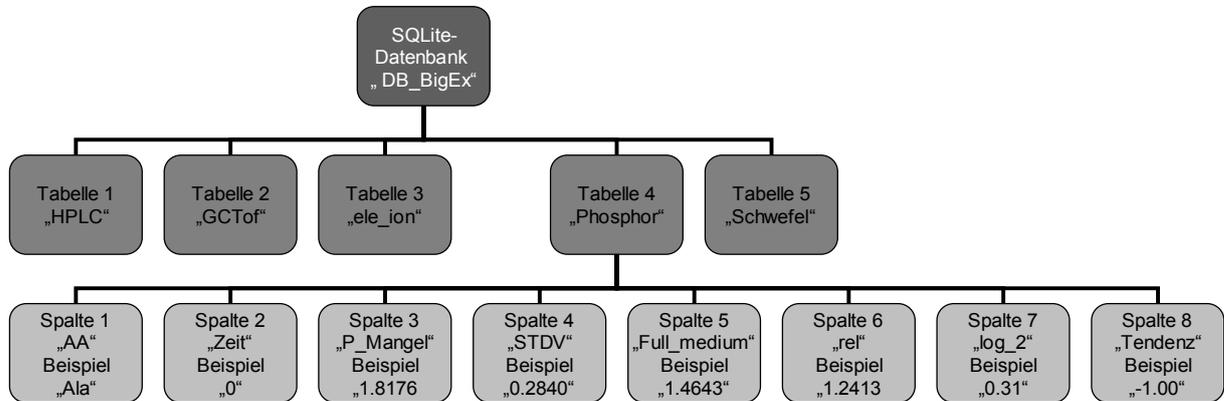


Abb. 13: Spalten der Tabelle „Phosphor“ mit den Metabolitdaten in der SQLite-Datenbank

### 2.1.3.5 Erhebung der Metabolitdaten von Schwefelmangel für den Literaturvergleich

Für den Vergleich der 16 Aminosäuren bei Schwefelmangel sind die Daten der Veröffentlichung von Nikiforova et al. (2005a) in die Datenbank [Tabelle „Schwefel“] integriert worden. Abb. 14 zeigt die entsprechenden Spalten der Tabelle in der Datenbank.

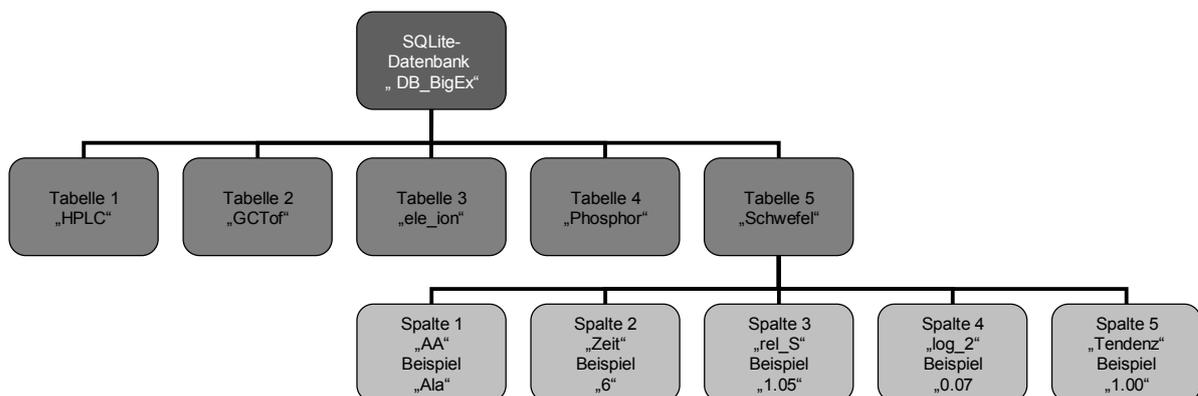
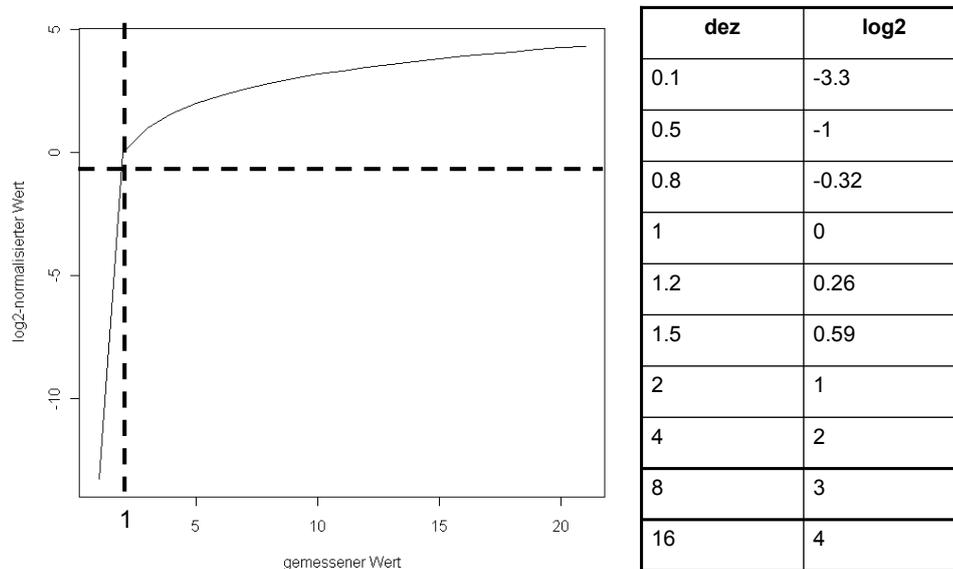


Abb. 14: Spalten der Tabelle „Schwefel“ mit den Metabolitdaten in der SQLite-Datenbank

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 log<sub>2</sub>-Transformation

Die log<sub>2</sub>-Funktion ist eine in der Biologie häufig angewandte Datentransformation. Sie bietet für die Visualisierung den Vorteil Wertebereiche zu komprimieren, d. h. dass exponentiell wachsende Ergebniswerte nach der Transformation besser abgebildet werden können. In Abb. 15, linker Abschnitt, ist diese Funktion in einem Koordinatensystem eingezeichnet. Dabei sind die gemessenen Werte auf der X-Achse und der passende normalisierte Wert auf der Y-Achse abzulesen. Diese Methode lässt sich vor allem gut bei relativen Ergebnissen (Quotienten) anwenden. Wenn das Ergebnis der Relation eins ist, gibt es keine Veränderung zwischen den verglichenen Zahlen und das entspricht log<sub>2</sub>-transformiert der null. Bei Resultaten über bzw. unter eins werden diese Werte größer bzw. kleiner null zugeordnet (siehe Abb. 15, rechte Seite). Daher ist ein besserer Vergleich der Veränderung möglich, wie es auch in dieser Arbeit verwendet worden ist, um die relativen Daten von Kontrolle zur Mangelsituation besser auswerten zu können. Allerdings ist die Funktion nicht für Dezimalwerte kleiner gleich null definiert (Sachs, 2002).



**Abb. 15:** log<sub>2</sub>-Funktion in einem Koordinatensystem und entsprechender Funktionstabellenausschnitt

### 2.2.2 Heatmap

Eine *Heatmap* dient der grafischen Präsentation und Visualisierung von Daten, deren Werte in einem zweidimensionalen Diagramm mit Hilfe von Farben dargestellt werden. Zunächst erfolgt die Erstellung einer zweidimensionalen Datenmatrix aus den vorhandenen Werten. Der nächste Schritt beinhaltet die Zuordnung der Farben zu bestimmten Wertebereichen. Diese sind, wie in Abb. 16 in der linken oberen Ecke zu sehen ist, in der Farbskala ablesbar. Außerdem befindet sich dort die Menge der verwendeten Farben als Histogramm. Anhand dieser Datenmatrix lässt sich zusätzlich eine Clusteranalyse durchführen und zum einen ein hierarchisches Cluster für die Zeilen und zum anderen für die Spalten mit entsprechender Sortierung ausgeben. Bei einer solchen Clusteranalyse ereignet sich als Erstes die Erstellung einer respektive zwei Distanzmatrizen je für die Spalten und für die Zeilen mittels Distanzmaße<sup>29</sup>. Während dieser Prozedur geschieht eine Prüfung auf Ähnlichkeit im Verlauf der Werte der Zeilen bzw. der Spalten miteinander. Je mehr sich die Verläufe annähern, desto kleiner ist die Distanz. Der nächste Schritt ist die Anwendung einer Clusterfunktion<sup>30</sup> auf diese errechnete Matrix. Mit deren Hilfe lässt sich dann im letzten Schritt ein sogenanntes „Dendrogramm“ erstellen, d. h. ein hierarchisches Cluster in Baumstruktur jeweils für die Spalten und die Zeilen. Besonders gut lassen sich mit einer *Heatmap* solche Daten auswerten, die eine Messung über einen Zeitverlauf durchlaufen haben. Um dies am besten zu bewerkstelligen wird das Cluster der Spalten ausgeschaltet, womit die Werte im zeitlichen Verlauf bleiben. Es muss aber erwähnt werden, dass die Darstellung der Daten bei *Heatmaps* unpräziser ist. Die Zuordnung aller Werte aus einem Intervall zu einer Farbe bedeutet, dass die Unterschiede dieser Zahlen dann nicht mehr erkennbar sind. Außerdem ist die Abbildung von Eigenschaften wie der Standardabweichung<sup>31</sup> nicht möglich. Aber ein gewisser Informationsverlust lässt sich generell nicht ausschließen und muss somit in Kauf genommen werden.

---

<sup>29</sup> Beim *gplots*-Paket von R stehen folgende Distanzmaße bei der Funktion *heatmap.2* zur Wahl: „euclidean“, „maximum“, „manhattan“, „canberra“, „binary“ und „minkowski“. Näheres zu den Methoden ist in der Hilfe von R nachzulesen. Für die vorliegende Arbeit ist die Methode „euclidean“ verwendet worden.

<sup>30</sup> Beim *gplots*-Paket von R stehen folgende Clusterfunktion bei der Funktion *heatmap.2* zur Wahl: „ward“, „single“, „complete“, „average“, „mcquitty“, „median“ und „centroid“. Näheres zu den Methoden ist in der Hilfe von R nachzulesen. Für die vorliegende Arbeit ist die Methode „complete“ verwendet worden.

<sup>31</sup> Stellt die Streuung der Werte um den Mittelwert dar.

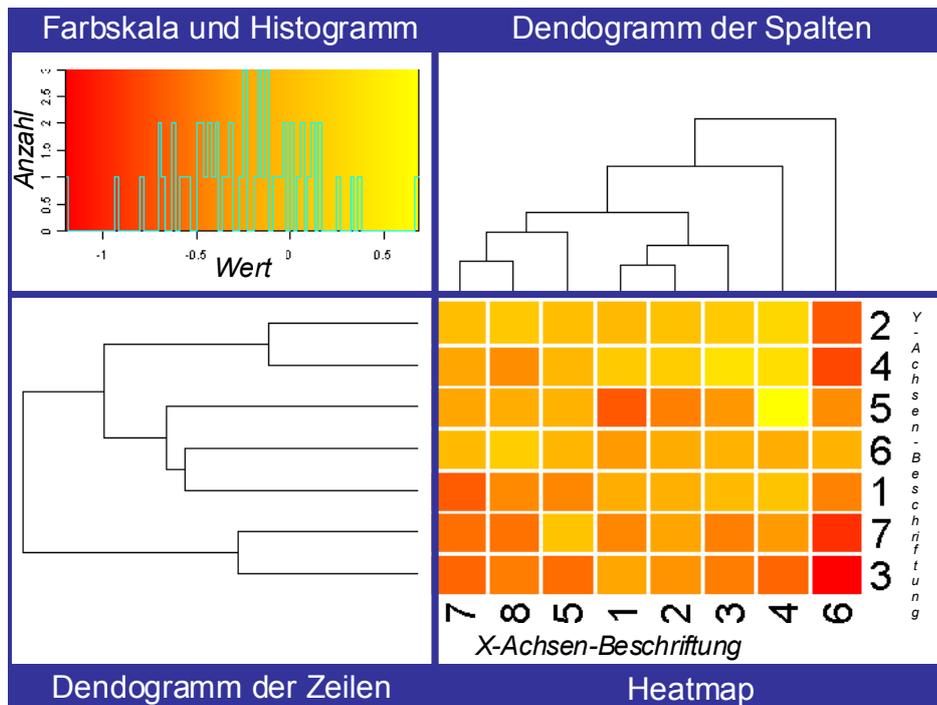


Abb. 16: Beispiel-Heatmap (links oben: Farbskala und dazugehöriges Histogramm; rechts oben: Dendrogramm der Spalten; links unten: Dendrogramm der Zeilen; rechts unten: Heatmap)

### 2.2.3 Wireframe

Der englische Begriff *Wireframe* bedeutet übersetzt soviel wie „Drahtgitter“. Es ist im Prinzip eine dreidimensionale *Heatmap*, wobei die X- und Y-Achse den Achsen einer *Heatmap* entsprechen und die dritte Dimension die auszugebenden Werte darstellt. Daraus entsteht ein Drahtgittermodell<sup>32</sup>, deren Flächen zwischen den Linien entsprechend einer Farbskala und der Werte der vier Eckpunkte eingefärbt wird. Ein Beispiel ist in Abb. 17 dargestellt, in der für die Werte der Z-Achse bei dieser Arbeit die gleiche Distanz- und Clusterfunktion<sup>33</sup> wie bei den *Heatmaps* genutzt wurde. Somit kann die *Wireframe*-Grafik als eine weitere Darstellung der gleichen Werte wie eine *Heatmap* angesehen werden. Hinsichtlich der Farbcodierung ist jedoch zu beachten, dass bei der *Heatmap* ein Wert die Farbe bestimmt und es bei einem *Wireframe* vier Werte sind.

<sup>32</sup> Dreidimensionales geometrisches Modell, das durch seine Kanten repräsentiert wird.

<sup>33</sup> Distanzmethode „euclidean“, Clustermethode „complete“.

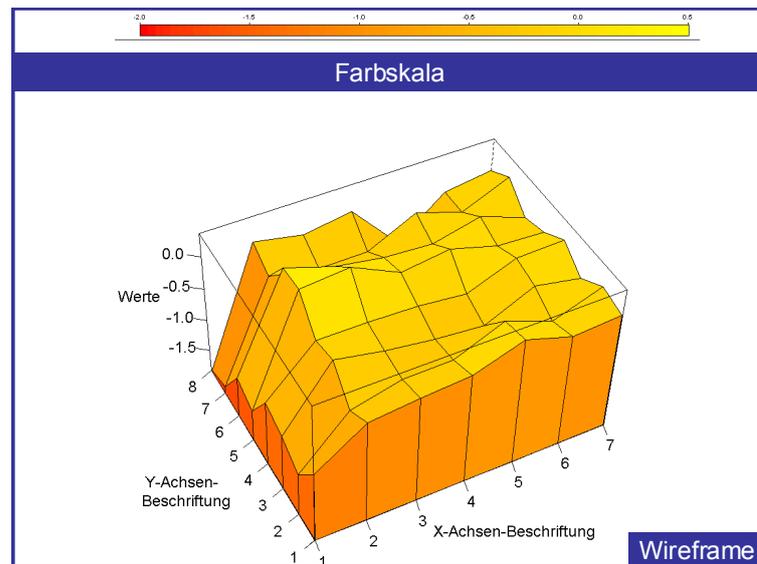


Abb. 17: Beispiel-Wireframe (oben: Farbskala; unten: dreidimensionales Diagramm [Wireframe])

#### 2.2.4 Principal Component Analysis (PCA)

*PCA* heißt übersetzt Hauptkomponentenanalyse. Das Ziel besteht in der Reduzierung einer Menge von Variablen (entspricht Dimensionen) auf einige wenige Komponenten (Faktoren), was einer dimensionsreduzierenden Transformation entspricht (Smith, (12.01.2009). Eine weite Verbreitung hat die Methode mit zunehmender Verfügbarkeit von Computern im dritten Quartal des 20. Jahrhunderts erlangt.

Die *PCA* erstellt ein  $n$ -dimensionales Koordinatensystem anhand der neuen Variablen, die durch Koordinatentransformation entstanden sind (Eriksson et al., 2001). Die Hauptkomponenten (*Principal Components, PC*) einer Matrix sind die Eigenvektoren von deren Kovarianzmatrix<sup>34</sup>, verlaufen zueinander orthogonal und sind Linearkombinationen der ursprünglichen Variablen. Die zugeordneten Eigenwerte entsprechen der Varianz der Hauptkomponenten. Die Hauptkomponenten sind entsprechend ihrer Eigenwerte geordnet, wodurch die ersten beiden die höchsten Eigenwerte aufweisen. Das Resultat einer *PCA* sind dann zwei Matrizen: Die Matrix der Faktorladungen (*loadings*), welche die Beiträge der ursprünglichen Variablen zu den Hauptkomponenten angibt, und die Matrix der Faktorwerte (*scores*), welche die Position der Datenpunkte entlang jeder neuen Achse angibt (Harvey, 12.01.2009). Aus den *scores* wird abschließend eine zwei- oder dreidimensionale Projektion der Daten erstellt. Wenn genügend repräsentative Daten und lineare Zusammenhänge vorhanden sind, können die Hauptkomponenten ausgewertet werden.

<sup>34</sup> Von jedem Wert wird der Mittelwert seiner Daten-Dimension subtrahiert.

Abb. 18 zeigt ein *PCA-Plot*, auf welchem die beiden ersten Hauptkomponenten auf den Koordinaten-Achsen abgebildet sind. Die Werte in den Klammern hinter den Bezeichnungen geben die prozentualen Anteile an, inwieweit die verbleibende Varianz erklärt werden kann. Zusätzlich ist die *loading-Tabelle*<sup>35</sup> der ersten beiden Hauptkomponenten des *PCAs* auf der rechten oberen Seite mit eingeblendet, welche den Einfluss der einzelnen Datenbereiche, in dem Fall der Elemente, auf die Position der Punkte anzeigt. Je höher die angegebenen Werte in der Tabelle sind, desto größer ist der Einfluss der einzelnen Faktoren. Je nachdem ob ein bestimmter Wert bei Hauptkomponente eins höher ist, desto weiter rechts positionieren sich einige Punkte im *PCA-Plot* (im negativen Fall links). Ähnlich verhält es sich bei den Werten bei Hauptkomponente zwei, nur dass bei einem Wert unter null einige Punkte sich unterhalb der X-Koordinatenachse orientieren bzw. bei über null oberhalb. Im Tabellenkopf sind analog zu den Achsenbeschriftungen die prozentualen Anteile der Hauptkomponenten eingeblendet, wie auch der Gesamtanteil beider zusammen in der Tabellenkopfmittle. Aus einer *PCA-Plot* kann man die Ähnlichkeit, in dem Fall der Nährstoffmangelsituationen, herauslesen. Je näher die eingetragenen Punkte im Koordinatensystem liegen, desto ähnlicher verhalten sie sich. Daraus schlussfolgernd impliziert eine größere Entfernung ein unterschiedlicheres Verhalten (Bortz, 2005).

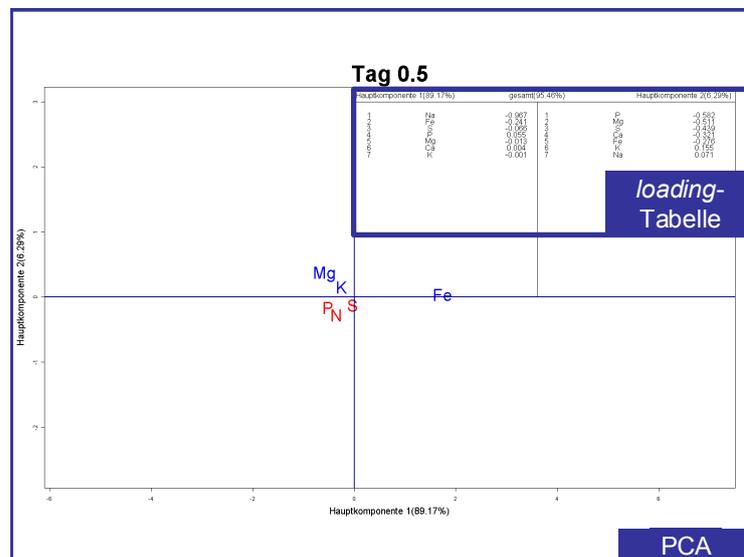


Abb. 18: Beispiel PCA mit Ranking-Tabelle

<sup>35</sup> Stellt die Matrix der Faktorladungen (*loadings*), welche die Position von jeder neuen Achse relativ zum originalen Achsensystem wiedergibt, in einer Tabelle dar. Dabei werden die Werte nach ihrer absoluten Größe sortiert.

### 3 Ergebnisse

In diesem Kapitel werden zunächst neue bzw. erweiterte grafische Ausgabemöglichkeiten beschrieben, die die Analyse und Interpretation von experimentellen Daten erleichtern und die in der Entwicklung dieser Arbeit entstanden sind. Daraufhin folgen die Ergebnisse der Experimente anhand von verschiedenen Grafiken und Erläuterungen.

#### 3.1 Erstellung der SQLite-Datenbank

Um die Vielzahl an Werten (fünf Tabellen mit Daten aus vier Messverfahren [RP-HPLC, GC/TOF-MS, IC + ICP-MS] und zwei Veröffentlichungen [Morcuende et al., 2007; Nikiforova et al., 2005]) in eine geordnete Struktur zu bringen, zu archivieren und auf diese auch einen schnellen und exakten Zugriff anhand einer Suche zu haben, wurde die SQLite-Datenbank „DB\_BigEx“ angelegt. Für den Datensatz der Messwerte eines Verfahrens wurde je eine Tabelle eingerichtet. Mit Hilfe des Paketes *RSQLite* war es möglich, eine Schnittstelle zwischen der Datenbank und dem Statistikprogramm *R* zu schaffen, wodurch anhand von Scripten die Suchfunktionen von SQLite hilfreich waren, die entsprechenden Daten zu extrahieren und weiter verarbeiten zu können.

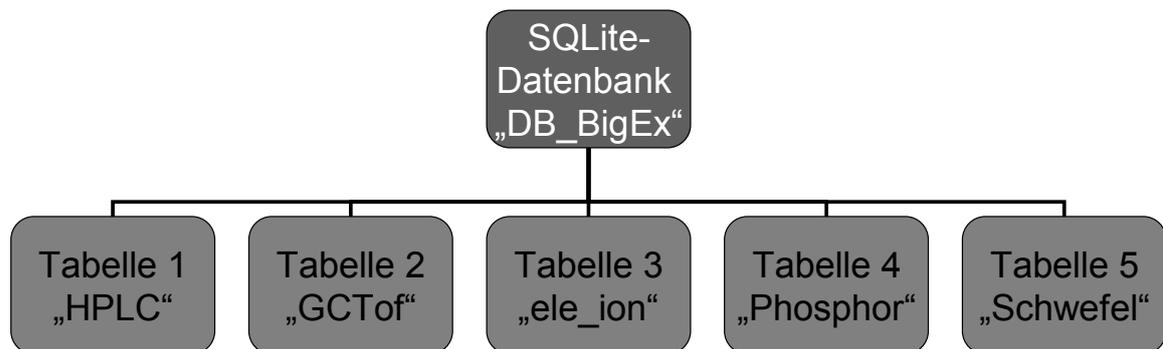


Abb. 19: Struktur der Datenbank „DB\_BigEx“

#### 3.2 PCA Abstandsdiagramm

Das Ergebnis der dimensionsreduzierenden Transformation einer *PCA* kann durch einen *PCA-Plot* in einem zweidimensionalen Koordinatensystem abgebildet werden. Dabei sind die Abstände der gezeichneten Punkte ein entscheidendes Kriterium zur Interpretation. Da die Längenunterschiede zum Teil mit bloßem Auge nur schwer sichtbar sind, wurden für diese Arbeit *PCA* Abstandsdiagramme über alle Zeitpunkte erstellt. Ein *PCA* Abstandsdiagramm stellt Verlaufsdigramme dar, das die Abstände der Punkte im *PCA* ausliest (Tabelle 6) und im Falle des Beispieldiagramms die Entfernungen der beiden Gruppen „mikro“ und „mak-

## Ergebnisse

ro“ in Form von *mean* (Mittelwert), *min* (Minimum) und *max* (Maximum) jeweils mit einer Linie über einen bestimmten Zeitraum anzeigt.

**Tabelle 6: Beispiel-Abstandsmatrix**

	0.5	1	2	3	4	5	6	7
<b>FeK</b>	1.80	2.45	0.40	1.13	1.19	0.39	2.18	1.67
<b>FeMg</b>	1.81	2.82	1.44	1.53	2.98	1.32	1.26	0.24
<b>FeN</b>	4.03	5.65	4.46	5.31	4.33	5.53	2.42	3.35
<b>FeP</b>	2.82	4.18	3.65	3.94	5.73	5.77	5.62	6.15
<b>FeS</b>	2.72	4.11	2.34	1.84	3.13	2.33	2.62	3.70
<b>KMg</b>	0.41	0.39	1.13	0.76	1.80	0.93	3.14	1.62
<b>KN</b>	3.01	4.10	4.51	4.20	3.60	5.14	4.59	4.85
<b>KP</b>	1.08	1.76	3.33	3.46	4.63	5.60	5.60	7.00
<b>KS</b>	0.92	1.69	2.09	1.16	1.99	2.11	4.43	5.36
<b>MgN</b>	2.64	4.05	3.96	3.88	2.91	4.23	1.90	3.53
<b>MgP</b>	1.33	1.37	2.20	2.70	3.19	5.09	4.95	5.97
<b>MgS</b>	1.04	1.30	1.01	0.40	0.83	1.62	1.37	3.74
<b>NP</b>	3.26	3.98	4.03	3.90	5.50	5.80	6.61	7.39
<b>NS</b>	2.82	4.06	3.29	3.76	3.74	4.45	2.00	2.43
<b>PS</b>	0.45	0.11	1.46	2.30	2.65	3.51	4.72	5.22
<b>Gesamtabstand (mean)</b>	2.01	2.80	2.62	2.69	3.21	3.59	3.56	4.15
<b>Mikro (mean)</b>	1.34	1.89	0.99	1.14	1.99	0.88	2.19	1.18
<b>Mikro (min)</b>	0.41	0.39	0.40	0.76	1.19	0.39	1.26	0.24
<b>Mikro (max)</b>	1.81	2.82	1.44	1.53	2.98	1.32	3.14	1.67
<b>Makro (mean)</b>	2.18	2.72	2.92	3.32	3.97	4.58	4.44	5.01
<b>Makro (min)</b>	0.45	0.11	1.46	2.30	2.65	3.51	2.00	2.43
<b>Makro (max)</b>	3.26	4.06	4.03	3.90	5.50	5.80	6.61	7.39
<b>Mikro/Makro (min)</b>	0.92	1.30	1.01	0.40	0.83	1.62	1.37	3.35
<b>Mikro/Makro (max)</b>	4.03	5.65	4.51	5.31	5.73	5.77	5.62	7.00

Dabei werden zunächst die Koordinaten der einzelnen Markierungen ausgelesen, woraufhin zu allen möglichen Kombinationen des Vergleiches die Entfernung zweier Zeichen mit der Abstandsformel  $d = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}$  ermittelt wird (siehe Tabelle 6). Anschließend erfolgt die Zuordnung dieser Kombinationen in eine Gruppe [mikro, makro, mikro/makro] und dementsprechend auch die Berechnung von Minimum, Maximum und Mittelwert. Diese berechneten Werte werden im letzten Schritt im Diagramm abgetragen und mit farbigen Linien verbunden (siehe Abb. 20).

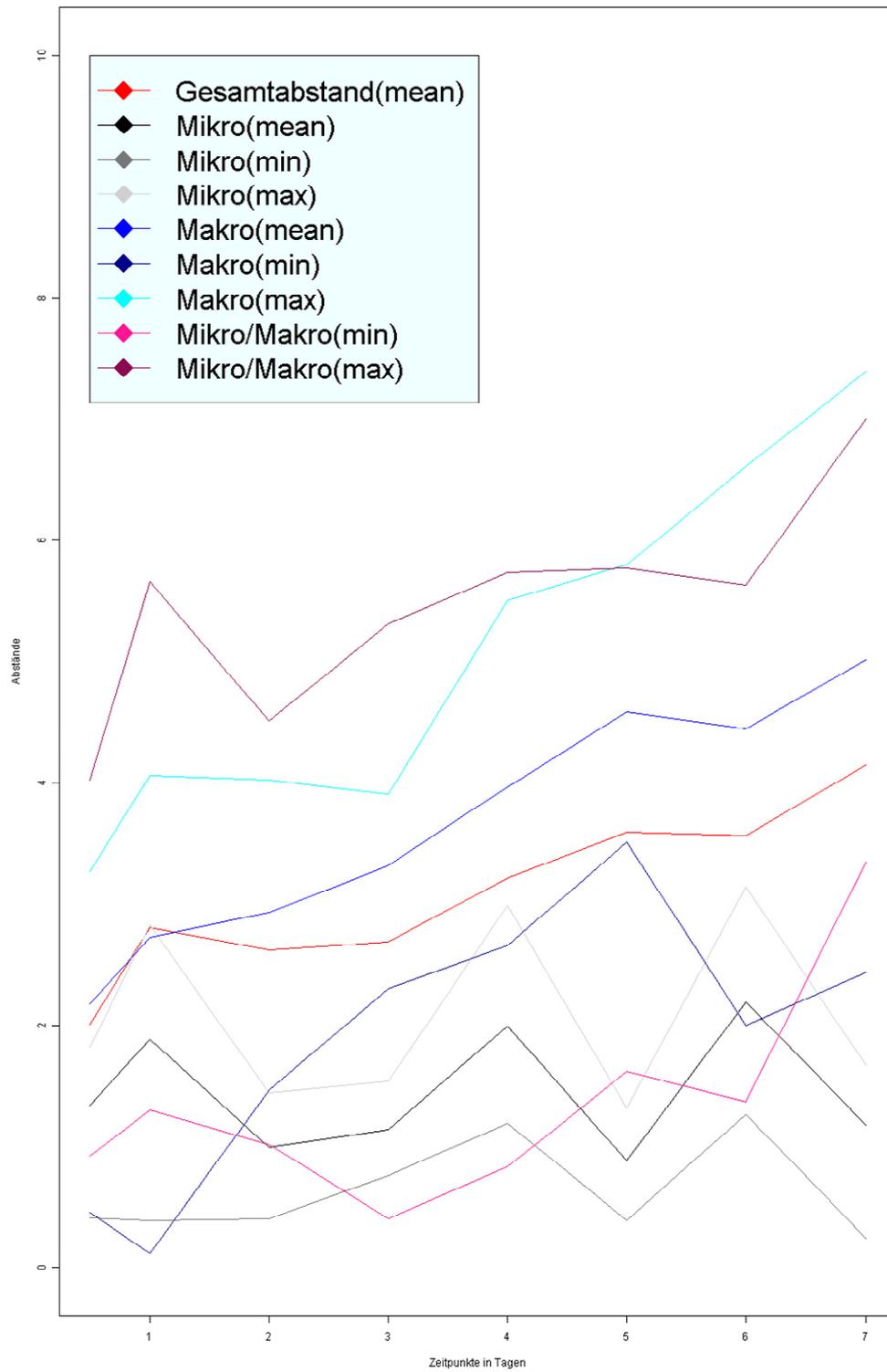


Abb. 20: Beispiel-Abstandsdiagramm

### 3.3 Visualisierung der Element- und Ionendaten

Aus dem zu Grunde liegenden Experiment wurden Blatt- und Wurzelmaterial mit Hilfe des ICP-MS<sup>36</sup>- und IC-Verfahrens<sup>37</sup> hinsichtlich ihrer Element<sup>38</sup>- und Ionenzusammensetzung<sup>39</sup> untersucht. Die erhaltenen Messdaten wurden ausgewertet und grafisch mittels *Heatmaps*<sup>40</sup>, *Wireframes*<sup>41</sup> und *PCAs*<sup>42</sup> dargestellt. Wobei hinsichtlich der ersten beiden die Daten der Blätter und der Wurzeln nebeneinander und die entsprechenden *Wireframes* direkt darunter abgebildet werden. Die *Heatmaps* zeigen die mit  $\log_2$ -transformierten Werte in einer zweidimensionalen Darstellung durch die Zuordnung von Wertebereichen in einem bestimmten Farbcodex. Dies lässt sich im Kästchen links oben der *Heatmaps*, also der Farbskala, ablesen und zusätzlich wird die Menge der verwendeten Farben mit Hilfe der grünblauen Linie angegeben. Die Spalten zeigen die Bezeichnungen der gemessenen Daten, z. B. Elemente wie Schwefel oder Eisen, und die Zeilen stehen für je einen Zeitpunkt in Tagen. Zusätzlich wird ein Dendrogramm, d. h. ein hierarchisches Cluster in Baumstruktur, der Spalten ausgegeben, um Zusammenhänge der gemessenen Größen besser zu erkennen. Dies beruht auf der Distanzmethode „*euclidean*“ und der Clustermethode „*complete*“. Die *Wireframes* sind im Grunde eine andere Darstellungsform der *Heatmap*, da in diesem Fall beide das gleiche Farbschema zum Codieren der Daten nutzen. Allerdings werden dort die Ergebnisse in einem dreidimensionalen Raum dargestellt. Dabei bilden die x- und y-Achse die gleichen Punkte bezüglich der *Heatmap* und die dritte Koordinate auf der z-Achse steht für die Messwerte. Zu beachten ist hier, dass der Farbübergang anders ist als bei den *Heatmaps*. Bei *Wireframes* zeigen die Linien, die vom ersten bis zum letzten Zeitpunkt verlaufen, den Größenverlauf der Werte. Die Farben der Flächen veranschaulichen dabei den Unterschied zwischen den Linien der gemessenen Daten zwischen zwei Zeitpunkten. Demzufolge ist die Farbe der *Heatmaps* von nur einem Wert abhängig, die der *Wireframes* von den vier Punkten der einzufärbenden Fläche. Die dritte Darstellungsform stellt der *PCA-Plot* dar, der für jeden Zeitpunkt jeweils erzeugt worden ist. Es werden in einem zweidimensionalen Koordinatensystem mit den ersten beiden Hauptkomponenten als Achsen pro Mangelsituationen ein Punkt abgebildet, also insgesamt sechs. Je näher die Punkte zusammen liegen, desto ähnlicher verlaufen die Situationen. Zu-

---

<sup>36</sup> Siehe Kapitel 1.4.4 Inductively-Coupled-Plasma Mass-Spectrometry (ICP-MS), S. 15.

<sup>37</sup> Siehe Kapitel 1.4.3 Ion-Chromatographie (IC), S. 13.

<sup>38</sup> Siehe Kapitel 2.1.3.1 Erhebung der Element- und Ion-Daten, S. 19.

<sup>39</sup> Siehe Kapitel 2.1.3.1 Erhebung der Element- und Ion-Daten, S. 19.

<sup>40</sup> Siehe Kapitel 2.2.2 Heatmap, S. 27.

<sup>41</sup> Siehe Kapitel 2.2.3 Wireframe, S. 28.

<sup>42</sup> Siehe Kapitel 2.2.4 Principal Component Analysis (PCA), S. 29.

sätzlich werden entsprechende Abstandsdiagramme<sup>43</sup> und *loading*-Tabellen<sup>44</sup>, wie auch Grafiken<sup>45</sup> geboten. Wobei einige *Heatmaps*, *Wireframes*, *PCAs* usw. nicht näher erläutert werden, aber im Anhang zum Betrachten zu finden sind.

### 3.3.1 Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation Eisen (*Fe*)

In Abb. 21 sind *Heatmaps* und *Wireframes* für die Daten aus dem Eisenmangelexperiment im Bereich halber bis siebenter Tag und je für die Kategorien Blätter und Wurzel abgebildet. Der Großteil der  $\log_2$ -transformierten Daten liegt im Bereich um null herum bzw. leicht abnehmend (helloranger Bereich bei Blätter, dunkelgelber Bereich bei Wurzel), d. h. im Vergleich zur Kontrolle veränderte sich bei Eisenmangel nur sehr wenig bei den meisten Element- und Ionendaten. Bei den Wurzeln kann man eine deutliche Eisenabnahme beobachten, während hinsichtlich der Blätter vor allem das gemeinsame Cluster von Eisen (*Fe*) und Natrium (*Na*) bzw. auch Nitrat ( $NO_3^-$ ) auffällt. Diese Beobachtung konnte für die Wurzeln nicht gemacht werden. Jedoch fokussiert sich der Eisenmangel hauptsächlich auf das Element selbst. In Abb. 22 sind die Element- und Ionendaten der Tage drei bis fünf und zu dem Zeitpunkt „resupply“, der nach dem vierten Tag eingeleitet und vier Stunden später gemessen worden ist, während des Eisenmangels abgebildet. Beide Kategorien zeigen beim Vergleich des fünften Tages mit dem Zeitpunkt „resupply“ eine geringe Zunahme des Eisengehaltes (*Fe*) nach der wieder eingesetzten Zuführung von Eisen (*Fe*). Bei den restlichen Elementen und Ionen tritt nahezu keine Veränderung auf. Lediglich der Nitratgehalt ( $NO_3^-$ ) in den Blättern nimmt stärker für den Zeitpunkt „resupply“ ab als am fünften Tag, siehe Abb. 22.

---

<sup>43</sup> Es werden die Abstände von den Punkten innerhalb einer PCA berechnet. Dies geschieht für mehrere Zeitpunkte/*PCAs* und alle kalkulierten Abstände eines Punktes werden anhand einer Linie in einem Verlaufsdigramm abgebildet.

<sup>44</sup> Stellt die Matrix der Faktorladungen (*loadings*), welche die Position von jeder neuen Achse relativ zum originalen Achsensystem wiedergibt, in einer Tabelle dar. Dabei werden die Werte nach ihrer absoluten Größe sortiert.

<sup>45</sup> Die *loading*-Grafiken stellen die *loading*-Werte von Hauptkomponente eins und zwei eines Elementes je als x- und y-Koordinate in einem zweidimensionalen Koordinatensystem dar.

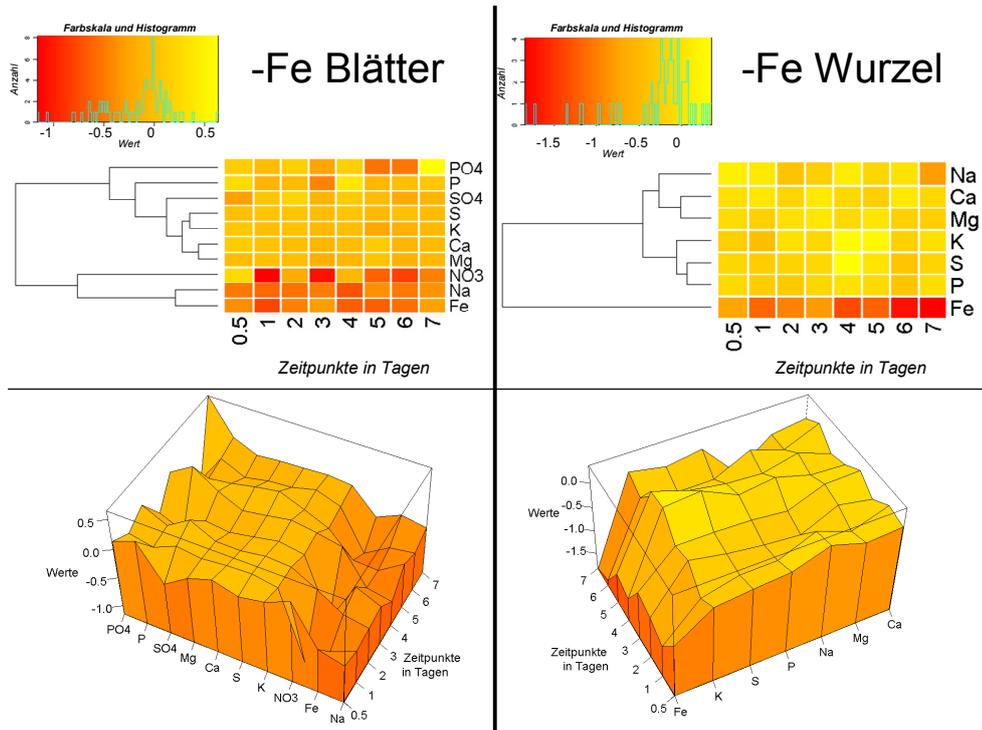


Abb. 21: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts, nur Elemente] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

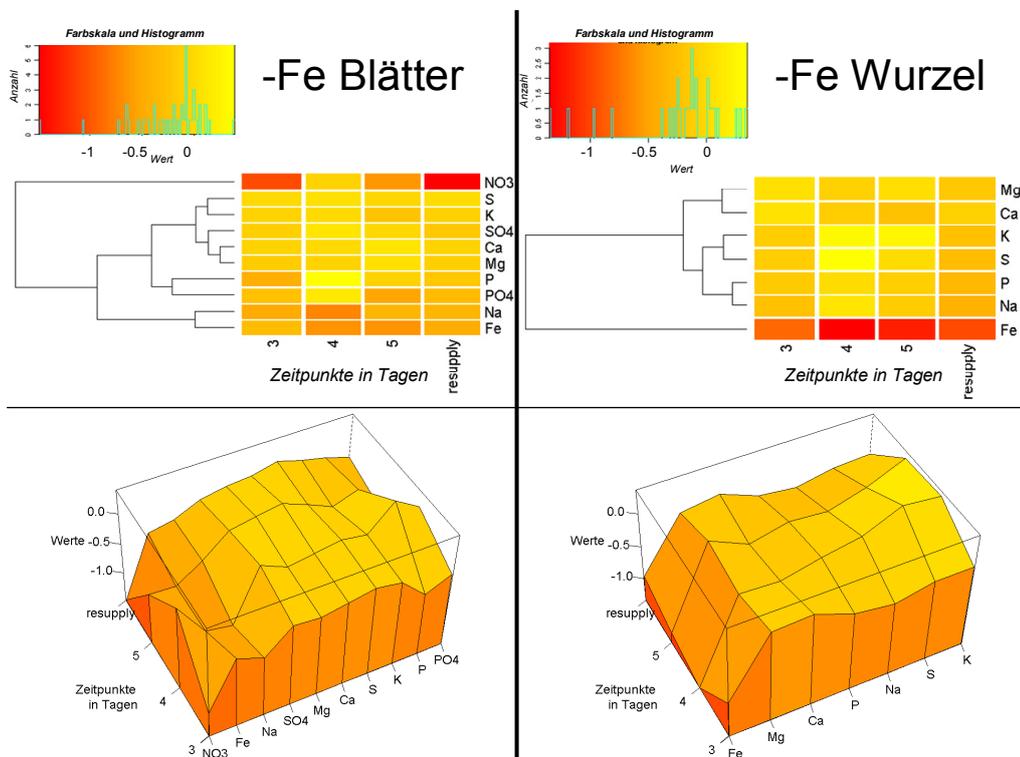


Abb. 22: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts, nur Elemente] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.3.2 Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation Kalium ( $K$ )

Abb. 23 zeigt die *Heatmaps* und *Wireframes* für Daten der Wurzeln und Blätter unter Kaliummangel angezogener Pflanzen der Zeitpunkte halber bis siebenter Tag. Für den Mangelzeitraum konnte eine stetige Abnahme von Kalium ( $K$ ) im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden. Dagegen nimmt der Natriumanteil ( $Na$ ) im Verlauf der Zeit zu. Ferner ließ sich eine Erhöhung des Magnesiumsgehaltes ( $Mg$ ) in den Wurzeln feststellen. Für die restlichen Elemente und Ionen waren keine bzw. nur geringe Veränderungen im Vergleich zur Kontrolle zu beobachten. Die meisten Werte sind dunkelorange dargestellt, das einem log-Wert von null entspricht.

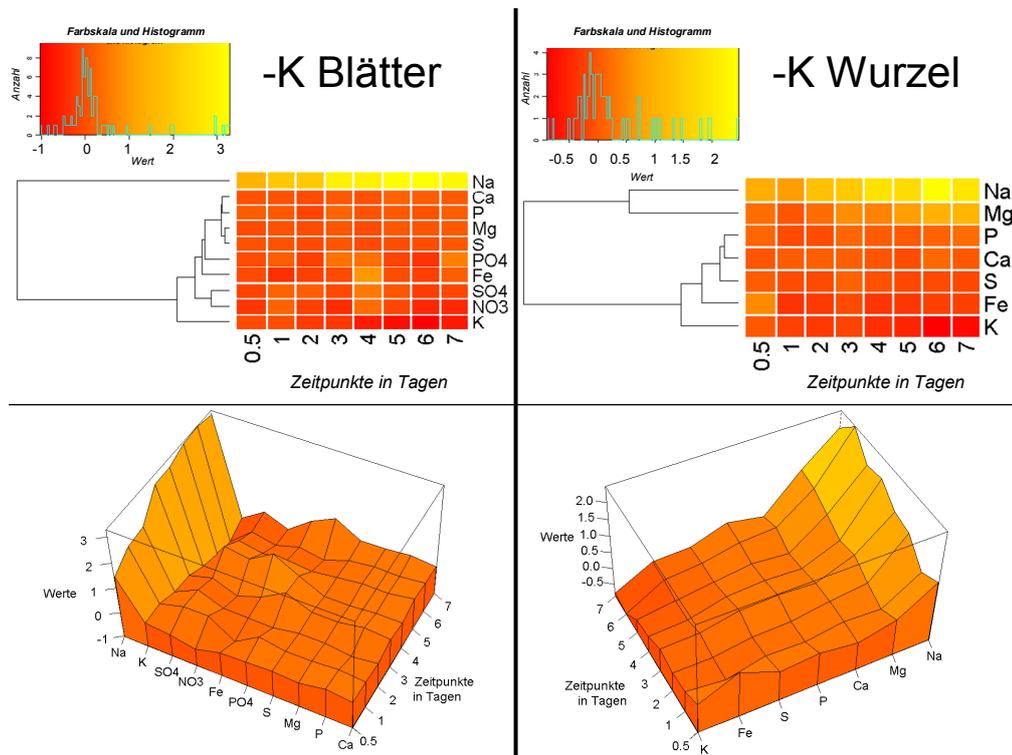


Abb. 23: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts, nur Elemente] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.3.3 Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation

#### Magnesium ( $Mg$ )

Die Erhebung der Daten für die Magnesiummangelsituation wies größere Lücken in der Bestimmung der Metabolitgehalte auf. Daten für die Kategorie Blätter fehlen komplett für den siebenten Tag und es treten Fehlwerte für die Zeitpunkte halber, erster und fünfter Tag auf (blaue Felder, Abb. 24). Trotz der Fehlwerte ist eine stetige Abnahme beim Magnesium ( $Mg$ ) im Vergleich zur Kontrolle zu beobachten während der Natriumgehalt ( $Na$ ) zunimmt.

Dies ist vergleichbar mit Natriumgehalt ( $Na$ ) beim Kaliummangel. Auffällig ist zusätzlich das Cluster von Nitrat ( $NO_3^-$ ) und Magnesium ( $Mg$ ) bei den Blättern. Die weiteren Element- und Ionenwerte sind zum größten Teil unverändert und somit dunkelorange für die Blätter bzw. orange für die Wurzeln dargestellt.

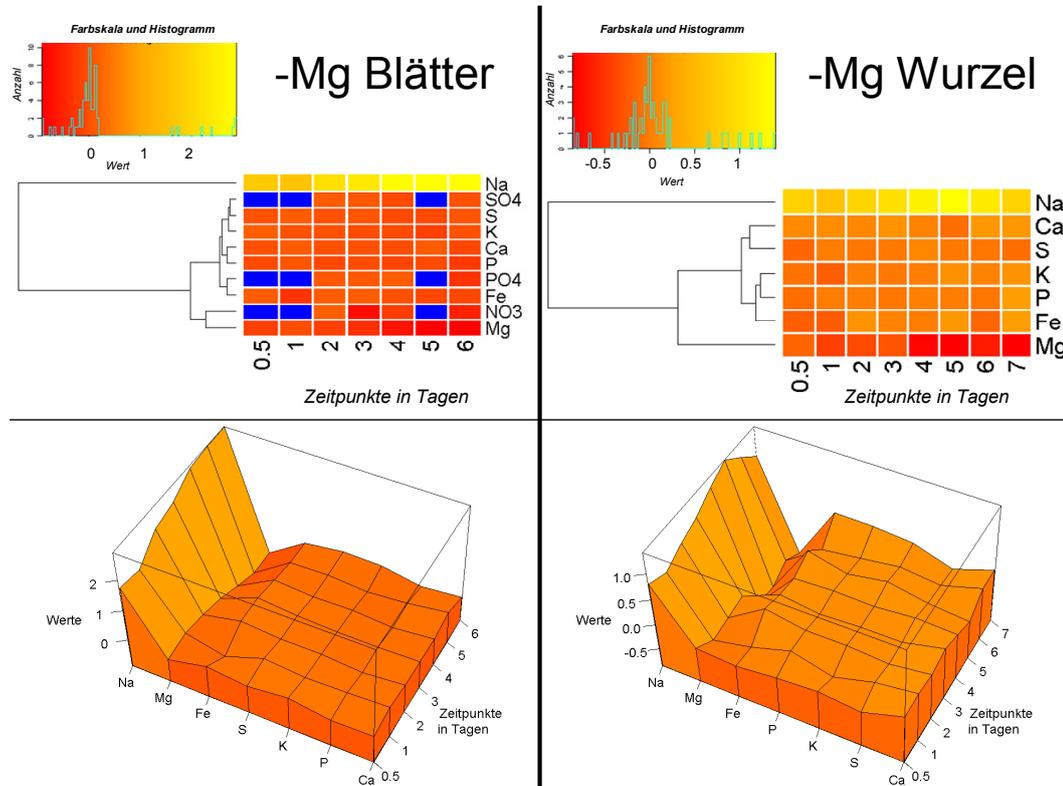


Abb. 24: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts, nur Elemente] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des halben bis sechsten bzw. siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.3.4 Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Stickstoff ( $N$ )

Unter Stickstoffmangel ist eine stetige Abnahme von Nitrat ( $NO_3^-$ ) zu beobachten (Abb. 25). Die weiteren untersuchten Elemente und Ionen verbleiben dabei ohne Reaktion und verzeichnen keine nennenswerte Veränderung im Vergleich zur Kontrolle. Für den Zeitpunkt „re-supply“ konnte nach der Zufuhr von Stickstoff ( $N$ ) in Form von Nitrat ( $NO_3^-$ ) der Anstieg des Gehaltes verzeichnet werden (Abb. 26). Somit reagiert die Pflanze unmittelbar auf den wieder hinzugefügten Stickstoff ( $N$ ). Ebenso sind erhöhte Nitratgehalte für die Blätter zu konstatieren.

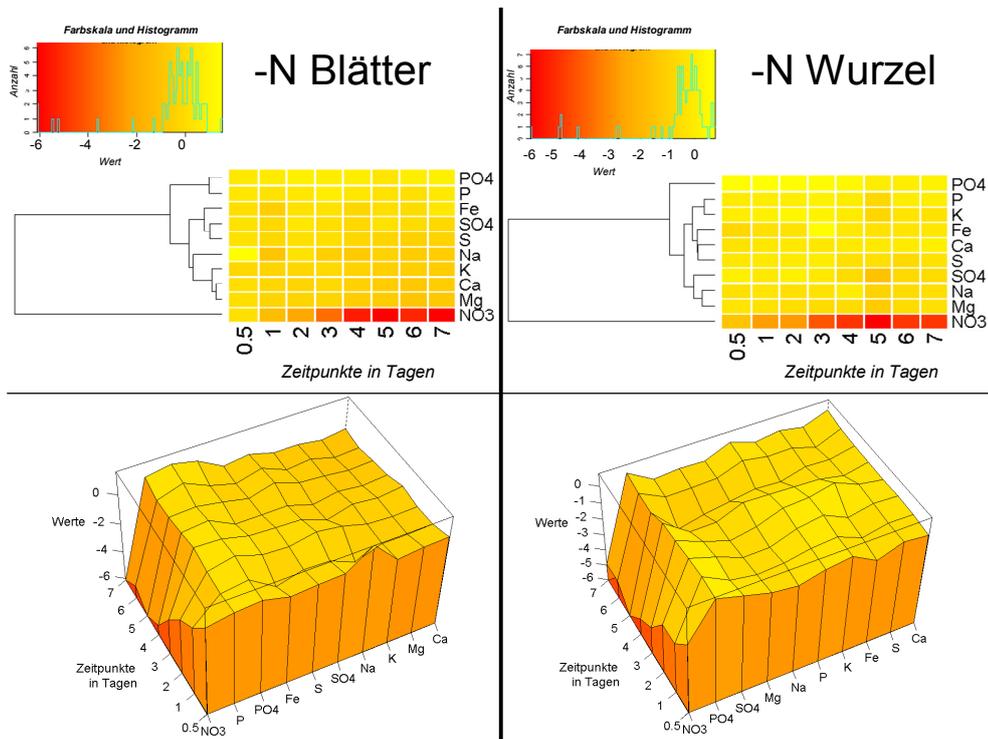


Abb. 25: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

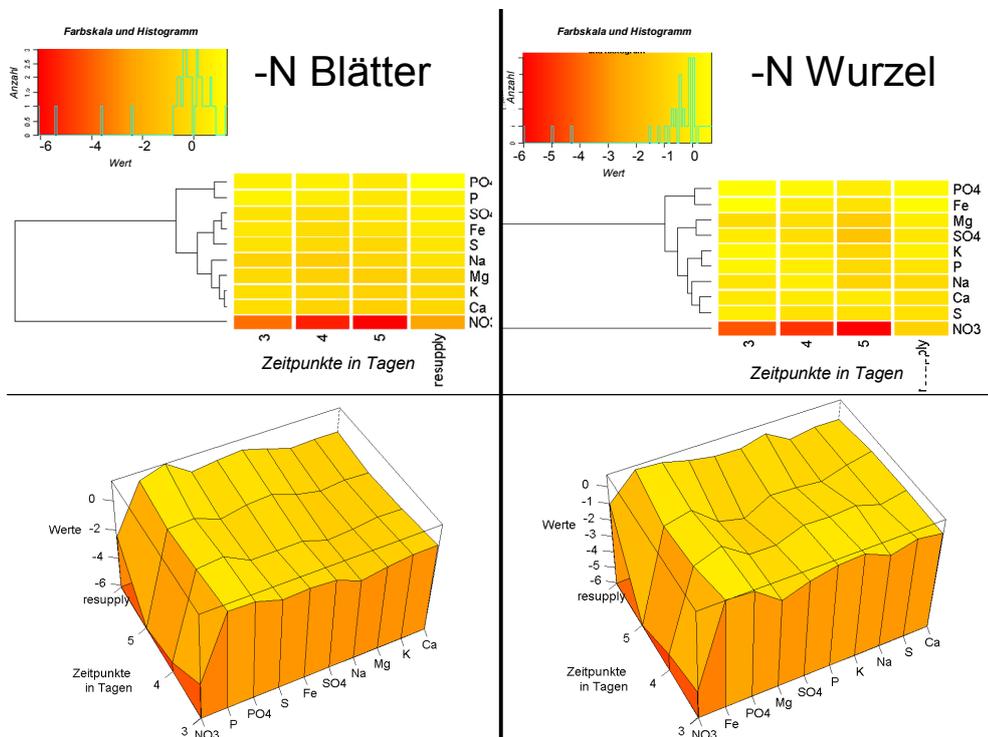
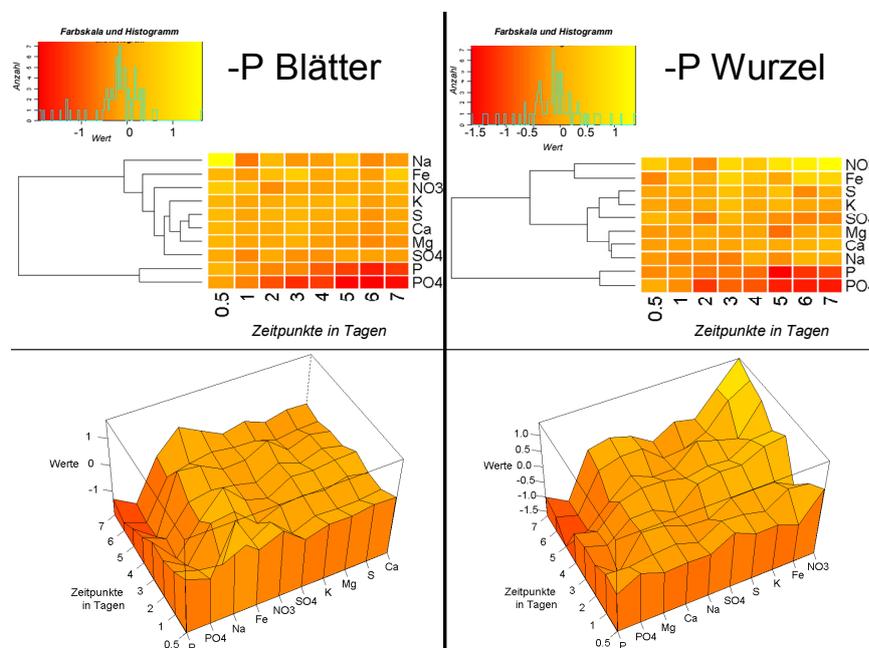


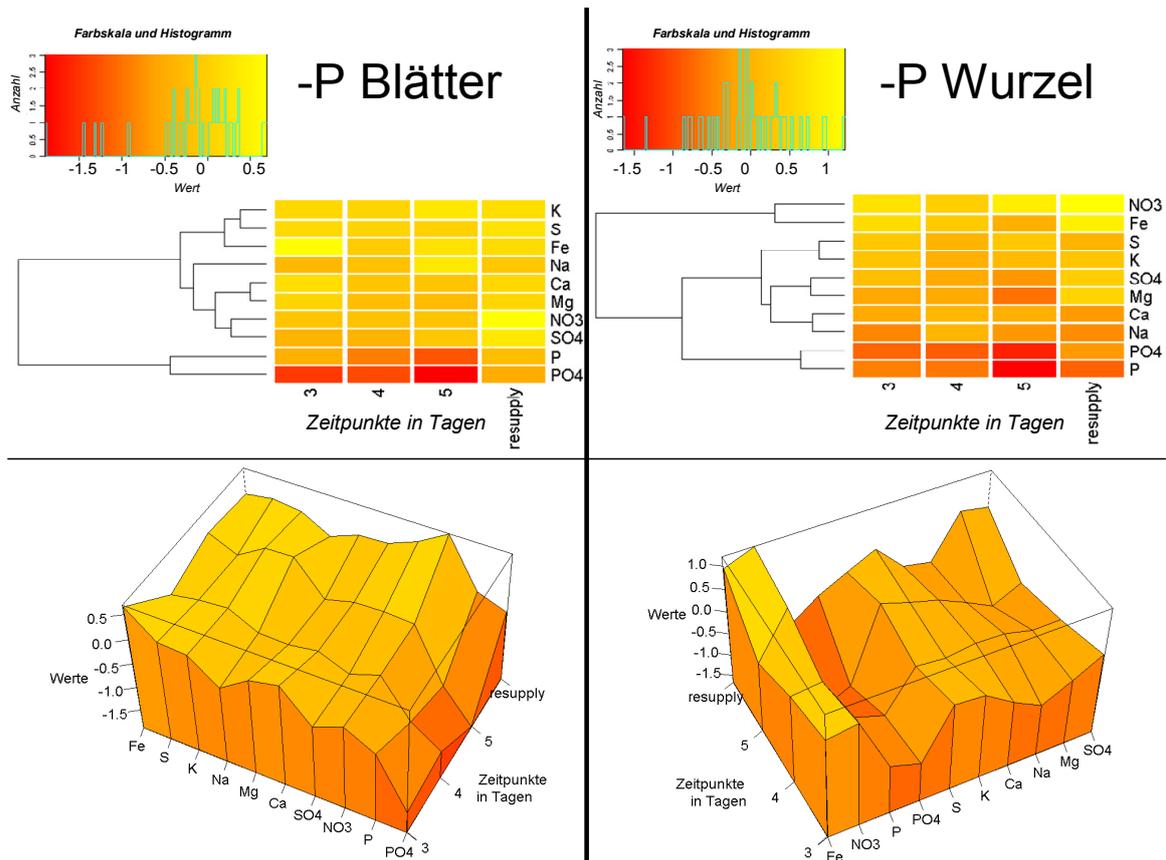
Abb. 26: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.3.5 Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Phosphor (P)

Anhand der *Heatmaps* und *Wireframes* ist eine stetige Abnahme bei Phosphor (P) und Phosphat ( $PO_4^{3-}$ ) unter Phosphatmangelsituation zu erkennen (Abb. 27). Dabei nehmen die Werte des Ions schneller ab, als die des Gesamtgehaltes des Elementes. Für die Blätter konnte am ersten Zeitpunkt ein relativ hoher Natriumwert (Na) im Vergleich zur Kontrolle gemessen werden. Dieser nimmt allerdings ab und verbleibt über die anderen Zeitpunkte auf einem konstanten Level (oranger Farbereich, entspricht null). Für die weiteren Elemente und Ionen trifft dies nicht zu. Bei den Wurzeln liegt für Nitrat ( $NO_3^-$ ) eine Zunahme des Gehalts im Verlauf der Zeitpunkte vor. Die anderen untersuchten Elemente und Ionen bleiben relativ konstant oder weisen eine geringe Abnahme auf (oranger Bereich, entspricht null). Im betrachteten Zeitraum der Abb. 28 vom dritten bis fünften Tag unter Phosphatmangel wird eine kontinuierliche Abnahme der Phosphor (P)- und Phosphatgehalte ( $PO_4^{3-}$ ) beobachtet. Durch Zugabe von Phosphat verändern sich die Gehalte beider Stoffe in den Blättern und Wurzeln im Vergleich zur Kontrolle. Beide Gewebe (Blätter und Wurzeln) zeigen eine Erhöhung der Gehalte für Sulfat ( $SO_4^{2-}$ ) und Nitrat ( $NO_3^-$ ) für den Zeitpunkt „resupply“. Ferner steigen die Gehalte von Eisen (Fe) und Magnesium (Mg) in den Wurzeln nach Phosphatzugabe wieder an. Für die weiteren Elemente und Ionen konnten keine Veränderungen beim Zeitpunkt „resupply“ ermittelt werden.



**Abb. 27:** Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes



**Abb. 28:** Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.3.6 Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Schwefel (S)

Abb. 29 illustriert die Gehalte von Elementen und Ionen im Zeitverlauf unter Schwefelmangel. Auffällig ist die Abnahme des Gesamtschwefel (S)- und Sulfatgehaltes ( $SO_4^{2-}$ ). Das Sulfation ( $SO_4^{2-}$ ) nimmt dabei schneller ab als der Gesamtgehalt des Schwefels (S) im Vergleich zur Kontrolle. Es sind keine Änderungen in den anderen Element- und Ionengehalten auffällig. Interessanterweise nimmt der Nitratgehalt ( $NO_3^-$ ) in den Wurzeln bis zum siebenten Tag zu. Für den Zeitpunkt „resupply“ lassen die graphischen Darstellungen in Abb. 30 erkennen, dass nach vierstündiger Zugabe von Sulfat ( $SO_4^{2-}$ ) der Gesamtschwefelgehalt (S) und der Sulfatgehalt ( $SO_4^{2-}$ ) steigt. Für die weiteren Elemente bzw. Ionen wurden keine nennenswerten Unterschiede festgestellt. Für die Wurzeln konnte eine Zunahme für Nitrat ( $NO_3^-$ ), Eisen (Fe) und Magnesium (Mg) beobachtet werden.

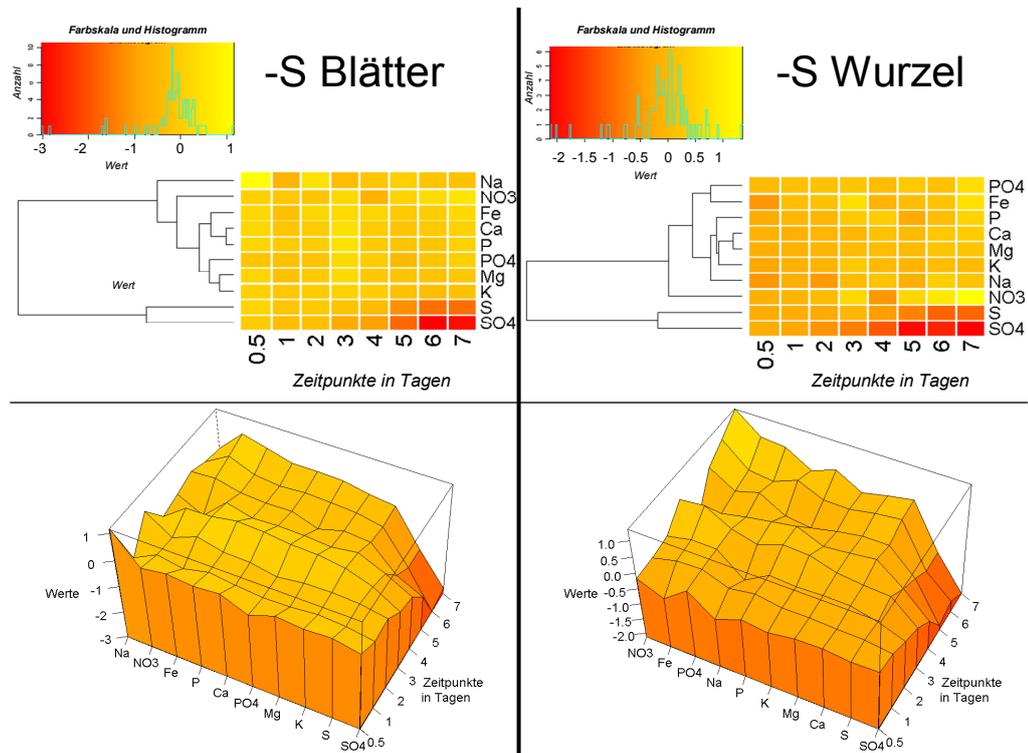


Abb. 29: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

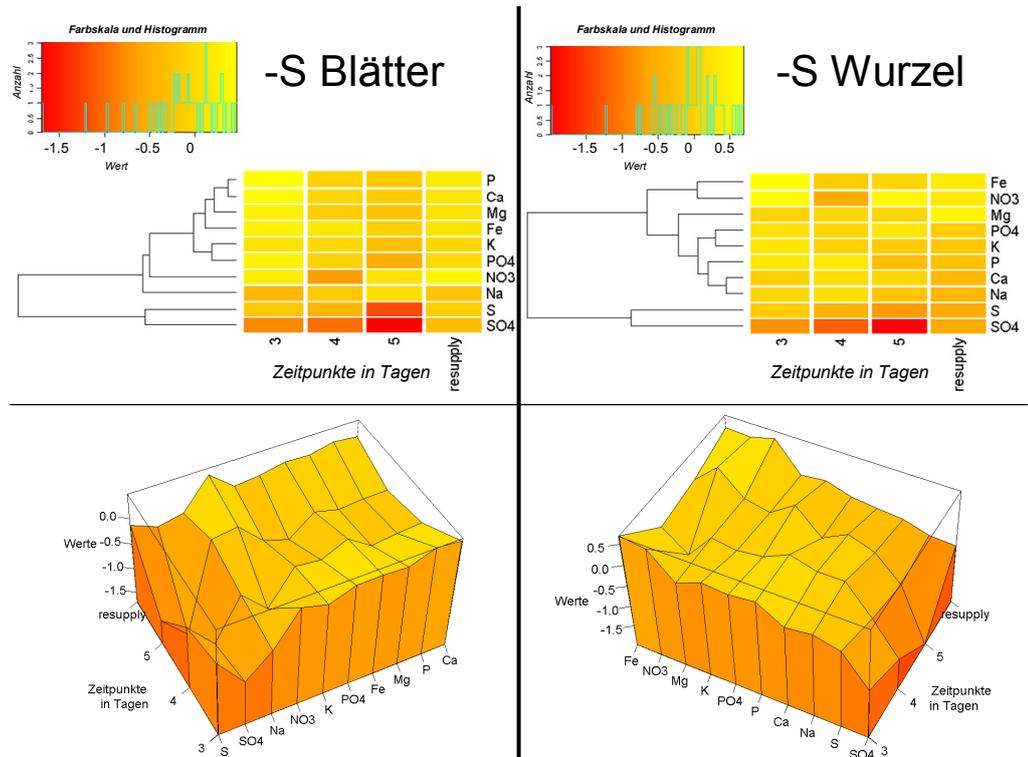


Abb. 30: Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes

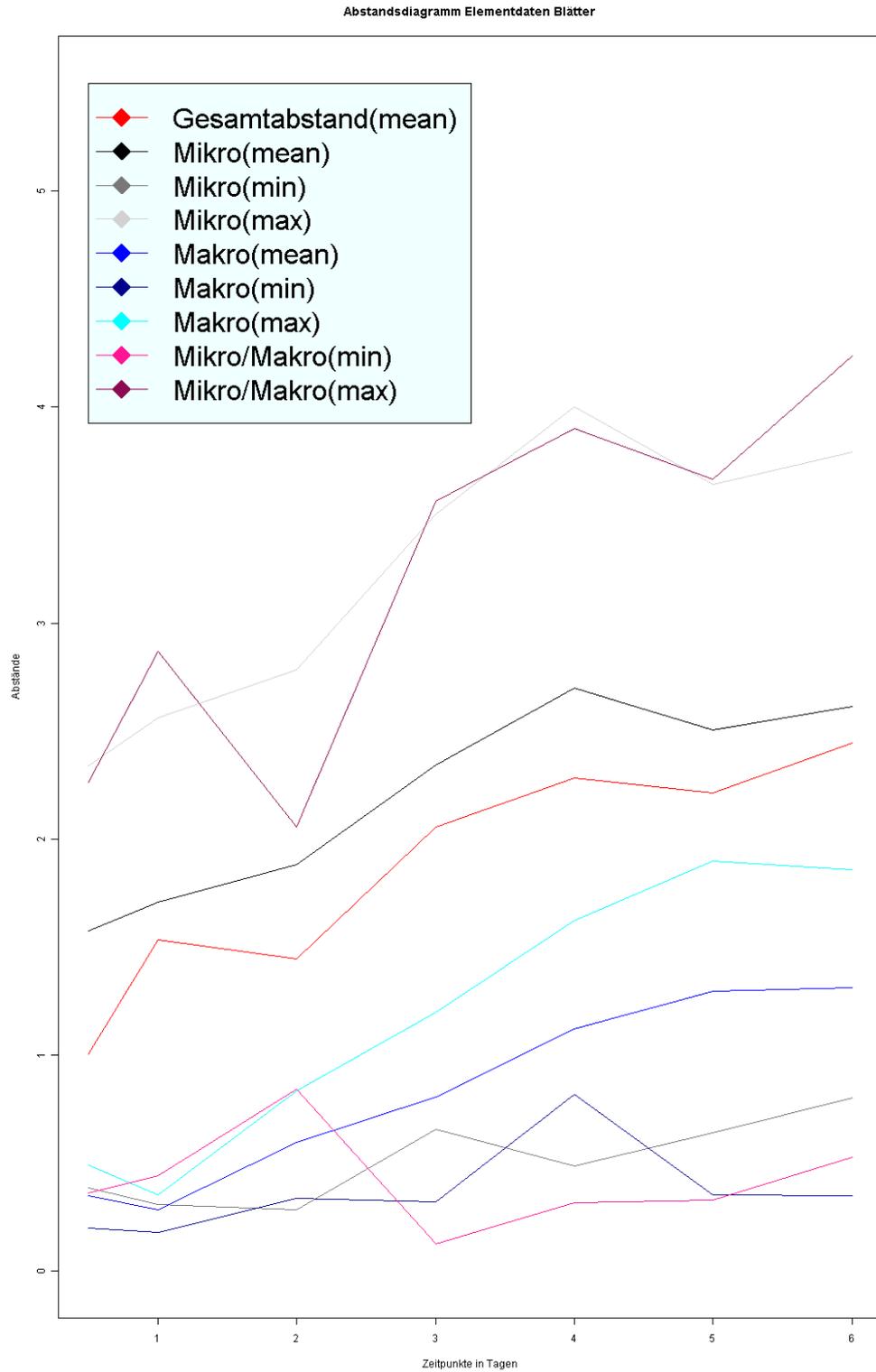
### 3.3.7 PCA-Plots, Abstandsdiagramme und *loading*-Grafiken der Blätter

In Tabelle 7 (linke Spalte) sind die *PCA-Plots* für die Messwerte der Elemente aus den Blättern der sieben Zeitpunkte für alle Nährstoffmangelsituationen abgebildet. Anhand der *PCA-Plots* und dem Abstandsdiagramm in Abb. 31 ist eine Erhöhung der Abstände zwischen dem zweiten und vierten Tag bei den Makronährstoffmangelsituationen (Makro) wie auch bei den Mikronährstoffmangelsituationen (Mikro) erkennbar. Speziell Eisen (*Fe*) ist bei den Mikroelementen zu allen Zeitpunkten weiter von Magnesium und Kalium entfernt als diese zueinander. Das trifft bei Phosphatmangel im Verhältnis zu den anderen Makros vom dritten bis zum sechsten Tag zu. Ansonsten haben Stickstoff (*N*) und Schwefel (*S*) auf allen *PCA-Plots* eine sehr kurze Distanz zueinander, wie auch Magnesium (*Mg*) zu Kalium (*K*). Die entsprechenden *loading*-Tabellen<sup>46</sup> und -Grafiken<sup>47</sup> der *PCAs* der Blätterdaten der Elemente befinden sich in der Tabelle 7. Dort ist der Einfluss der einzelnen Datenreihen auf die Positionen der Punkte im *PCA-Plot* veranschaulicht. So ist beispielsweise bei allen Zeitpunkten eine Dominanz der Natriumwerte (*Na*) [Tage 0.5-6] auf die Koordinaten der Hauptkomponente 1 zu erkennen, die sich vor allem auf die Magnesium (*Mg*)- und Kalium (*K*)-Position in den *PCA-Plots* auswirkt (siehe *loading*-Grafiken). Dies hat folgende Ursache: Je nachdem auf welcher Position auf der Hauptkomponentenachse 1 der *loading*-Grafik sich Natrium (*Na*) befindet, orientieren sich die Magnesium (*Mg*)- und Kalium (*K*)-Mangelsituationen im *PCA-Plot* daran und positionieren sich tendenziell in die gleiche Richtung auf dieser Achse im zugehörigen *PCA-Plot*. Die Position auf der Hauptkomponente 2 wird hauptsächlich von Phosphormesswerten (*P*) [halber bis sechster Tag] beeinflusst. Die Varianz der ersten beiden Hauptkomponenten beträgt bei den *PCAs* zwischen 85 und 97 Prozent.

---

<sup>46</sup> Stellt die Matrix der Faktorladungen (*loadings*), welche die Position von jeder neuen Achse relativ zum originalen Achsensystem wiedergibt, in einer Tabelle dar. Dabei werden die Werte nach ihrer absoluten Größe sortiert.

<sup>47</sup> Die *loading*-Grafiken stellen die *loading*-Werte von Hauptkomponente eins und zwei eines Elementes je als x- und y-Koordinate in einem zweidimensionalen Koordinatensystem dar.



**Abb. 31:** Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des halben bis sechsten Tages<sup>48</sup>

<sup>48</sup> Es werden die Abstände von den Punkten innerhalb einer PCA berechnet. Dies geschieht für mehrere Zeitpunkte/PCAs und alle kalkulierten Abstände eines Punktes werden anhand einer Linie in einem Verlaufsdiagramm abgebildet.

## Ergebnisse

**Tabelle 7: Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Blätter des halben bis sechsten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken<sup>49</sup>**

Tag	Hauptkomponente 1 (89.17 %)		95.46 %	Hauptkomponente 2 (6.29 %)	
	Bezeichnung	loadingWert		Ranking	Bezeichnung
0.5	Na	-0.967	1	P	-0.582
	Fe	-0.241	2	Mg	-0.511
	S	-0.066	3	S	-0.439
	P	0.055	4	Ca	-0.321
	Mg	-0.013	5	Fe	-0.276
	Ca	0.004	6	K	0.155
	K	-0.001	7	Na	0.071

Tag 0.5

(loading) Tag 0.5

Tag	Hauptkomponente 1 (93.69 %)		96.79 %	Hauptkomponente 2 (3.1 %)	
	Bezeichnung	loadingWert		Ranking	Bezeichnung
1	Na	0.987	1	Fe	-0.514
	Mg	0.083	2	P	-0.481
	Ca	0.076	3	Mg	0.411
	S	0.074	4	Ca	0.369
	K	0.065	5	K	0.325
	Fe	0.046	6	S	0.298
	P	0.029	7	Na	-0.069

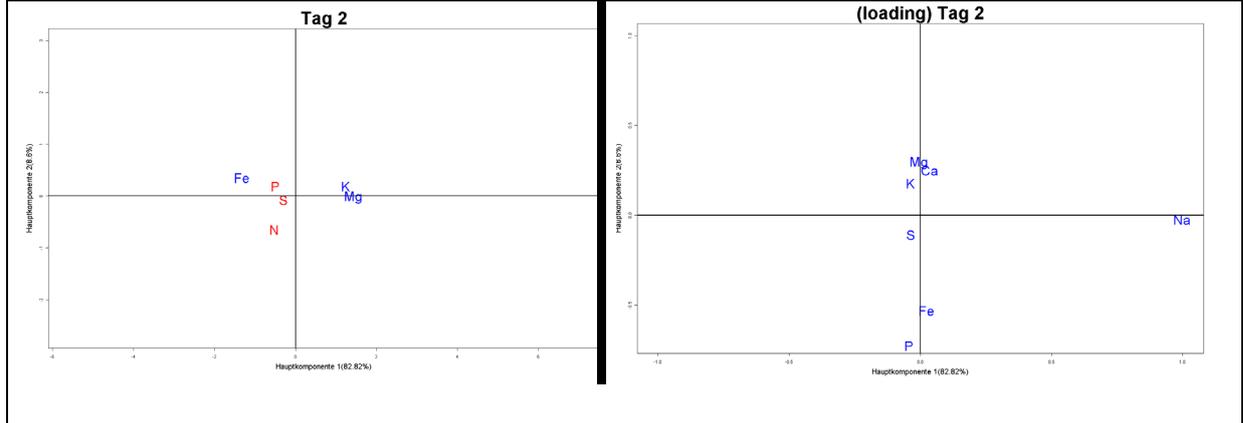
Tag 1

(loading) Tag 1

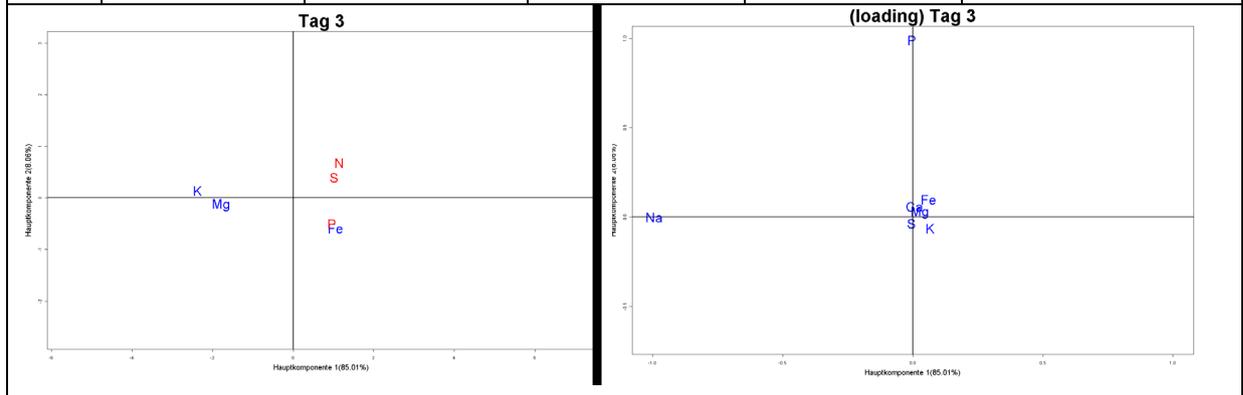
<sup>49</sup> Die loading-Grafiken stellen die loading-Werte von Hauptkomponente eins und zwei eines Elementes je als x- und y-Koordinate in einem zweidimensionalen Koordinatensystem dar.

# Ergebnisse

Tag	Hauptkomponente 1 (82.82 %)		91.42 %	Hauptkomponente 2 (8.6 %)	
	Bezeichnung	loadingWert		Ranking	Bezeichnung
2	Na	0.997	1	P	-0.726
	P	-0.044	2	Fe	-0.53
	K	-0.038	3	Mg	0.292
	S	-0.037	4	Ca	0.25
	Ca	0.034	5	K	0.178
	Fe	0.023	6	S	-0.108
	Mg	-0.005	7	Na	-0.024

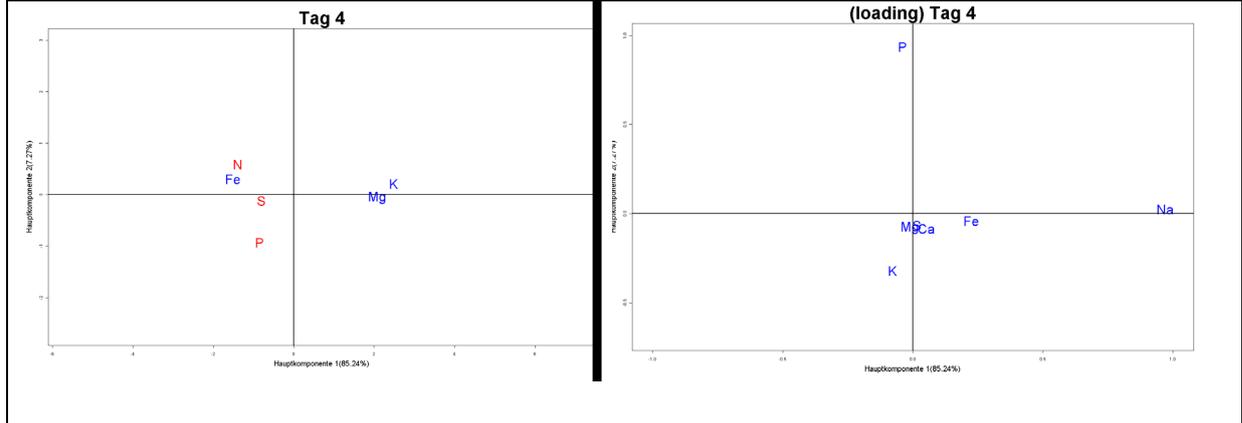


Tag	Hauptkomponente 1 (85.01 %)		93.07 %	Hauptkomponente 2 (8.06 %)	
	Bezeichnung	loadingWert		Ranking	Bezeichnung
3	Na	-0.996	1	P	0.99
	K	0.066	2	Fe	0.098
	Fe	0.061	3	K	-0.063
	Mg	0.028	4	Ca	0.059
	S	-0.006	5	S	-0.035
	Ca	0.006	6	Mg	0.028
	P	-0.004	7	Na	-0.001

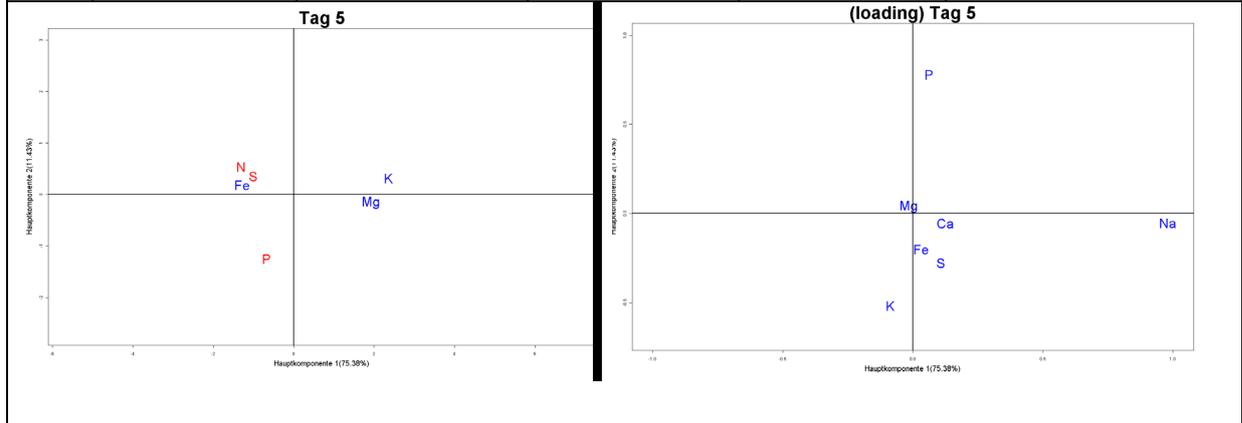


# Ergebnisse

Tag	Hauptkomponente 1 (85.24 %)		92.51 %	Hauptkomponente 2 (7.27 %)	
	Bezeichnung	loadingWert		Ranking	Bezeichnung
4	Na	0.969	1	P	0.937
	Fe	0.225	2	K	-0.32
	K	-0.078	3	Ca	-0.083
	Ca	0.051	4	Mg	-0.079
	P	-0.04	5	S	-0.065
	S	0.015	6	Fe	-0.041
	Mg	-0.012	7	Na	0.026



Tag	Hauptkomponente 1 (75.38 %)		86.81 %	Hauptkomponente 2 (11.43 %)	
	Bezeichnung	loadingWert		Ranking	Bezeichnung
5	Na	0.98	1	P	0.779
	Ca	0.125	2	K	-0.518
	S	0.108	3	S	-0.278
	K	-0.088	4	Fe	-0.201
	P	0.062	5	Ca	-0.053
	Fe	0.032	6	Na	-0.051
	Mg	-0.016	7	Mg	0.039



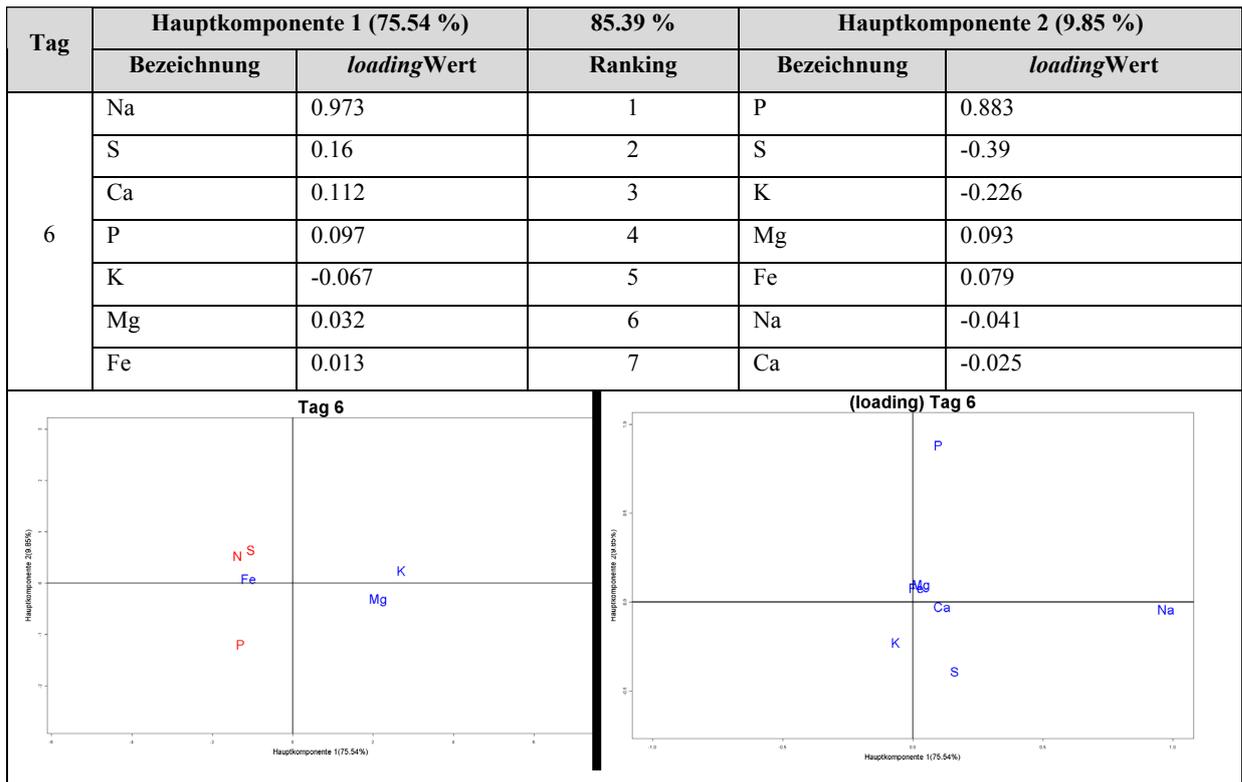
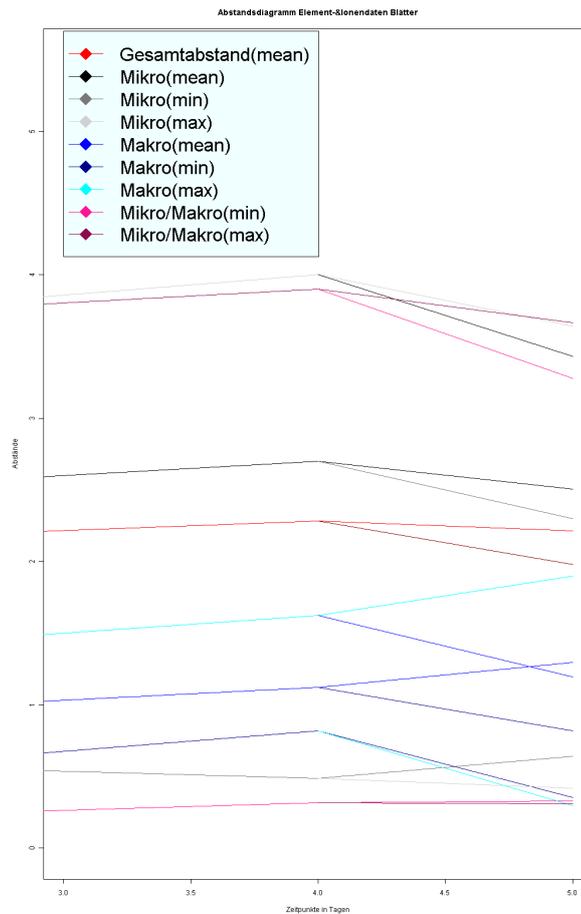
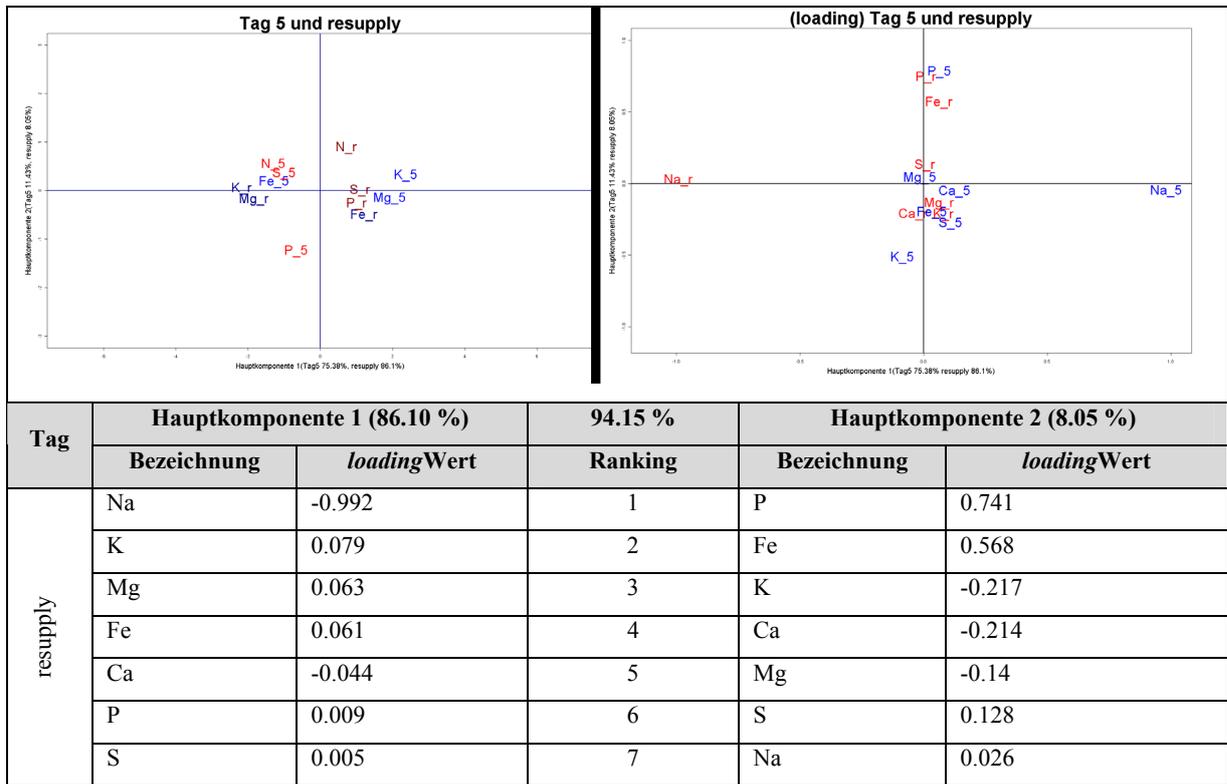


Tabelle 8 bildet den *PCA-Plot*, *loading*-Tabellen und -Grafik der Blattdaten der Tage fünf und zu dem Zeitpunkt „resupply“ ab und in Abb. 32 ist das zugehörige Abstandsdiagramm dargestellt. Bei allen Werten des Abstanddiagrammes sieht man Veränderungen zwischen dem fünften Tag und dem Zeitpunkt „resupply“. Alle Abstände des „resupply“ werden kleiner im Vergleich zum fünften Tag (siehe Abb. 32). Es negiert sich der Einfluss von Natrium auf die Hauptkomponente 1 (Tabelle 8, *loading*-Grafik), wodurch eine Verschiebung von Magnesium (*Mg*) und Kalium (*K*) auf dem *PCA-Plot* erkennbar ist.

**Tabelle 8: Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Blätter des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem *PCA-Plot*, *loading*-Tabellen und einer *loading*-Grafik**

Tag	Hauptkomponente 1 (75.38 %)		86.81 %	Hauptkomponente 2 (11.43 %)	
	Bezeichnung	loadingWert		Ranking	Bezeichnung
5	Na	0.98	1	P	0.779
	Ca	0.125	2	K	-0.518
	S	0.108	3	S	-0.278
	K	-0.088	4	Fe	-0.201
	P	0.062	5	Ca	-0.053
	Fe	0.032	6	Na	-0.051
	Mg	-0.016	7	Mg	0.039

# Ergebnisse



**Abb. 32:** Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „re-supply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen)

### 3.4 Visualisierung der Metabolitdaten

Dieser Abschnitt enthält die Ergebnisse der Metabolitanalyse. Dazu gehört zunächst ein Literaturvergleich mit zwei Publikationen, die den Phosphatmangel und den Schwefelmangel an *Arabidopsis thaliana* untersucht haben. Die nächsten Abschnitte bilden die Darstellung der GC/TOF-MS<sup>50</sup>-Messdaten<sup>51</sup>, der RP-HPLC<sup>52</sup>-Messdaten<sup>53</sup> und abschließend folgt der Vergleich der gemeinsam bestimmten Metabolitdaten der Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC.

#### 3.4.1 Literaturvergleich

Für den Vergleich der aktuellen Messdaten wurden zwei Veröffentlichungen herangezogen: Zum einen die Veröffentlichung von Morcuende et al. (2007), welche die Metabolitenänderungen unter Phosphatmangel untersucht und zum anderen die Veröffentlichung von Nikiforova et al. (2005a), die den Schwefelmangel bei *Arabidopsis thaliana* untersucht.

##### 3.4.1.1 Phosphatmangel

Für diesen Vergleich konnten 18 Aminosäuren untersucht werden. Die erzeugten Messdaten in Morcuende et al. (2007) wurden mittels HPLC bestimmt. Im Folgenden wurden zwei Beispiele für Aminosäuren herausgegriffen und diese exemplarisch dargestellt. Die Gegenüberstellungen der anderen Aminosäuren befinden sich im Anhang. In Abb. 33 [A, B] ist der Vergleich für die Aminosäure Alanin (Ala) in einem Verlaufs- und einem Säulendiagramm abgebildet. Dabei ist aber nur eine Komparation der Tendenzen möglich, da in der Veröffentlichung andere Zeitpunkte verwendet wurden [Tag 0 und 1]. So fanden die Zeitpunkte halber und erster Tag im vorliegenden Experiment Verwendung, um mit den Zeitpunkten nullter und erster Tag der Literatur zumindest eine Tendenz ermitteln zu können. Es ist eine Übereinstimmung zwischen den veröffentlichten Daten und den HPLC-Daten des hier untersuchten Experiments zu erkennen. Die ermittelten Metabolitdaten für die Wurzeln zeigen jedoch ein entgegengesetztes Bild. Die Ursache dafür liegt wohl in der unterschiedlichen Wahl des Pflanzenausgangsmaterials begründet, da für das Experiment komplette Keimlinge eingesetzt wurden. Das zweite Beispiel beinhaltet den Vergleich von Methioningehalten (siehe Abb. 33 [C, D]). Für diesen Fall existieren RP-HPLC- und GC/TOF-MS-Messdaten des vorliegenden Experimentes, die sich aber sehr unterschiedlich zu den Literaturdaten verhalten. Während die

---

<sup>50</sup> Siehe Kapitel 1.4.2 Gas Chromatography / Time-Of-Flight Mass Spectrometry (GC/TOF-MS), S. 11.

<sup>51</sup> Siehe Kapitel 2.1.3.3 Erhebung der mit GC/TOF-MS ermittelten Metabolitdaten, S. 22.

<sup>52</sup> Siehe Kapitel 1.4.1 Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC), S. 8.

<sup>53</sup> Siehe Kapitel 2.1.3.2 Erhebung der mit RP-HPLC ermittelten Metabolitdaten, S. 20.

GC/TOF-MS-Werte tendenziell entgegen Morcuendes Arbeit verlaufen, zeigt sich beim RP-HPLC eine Übereinstimmung.

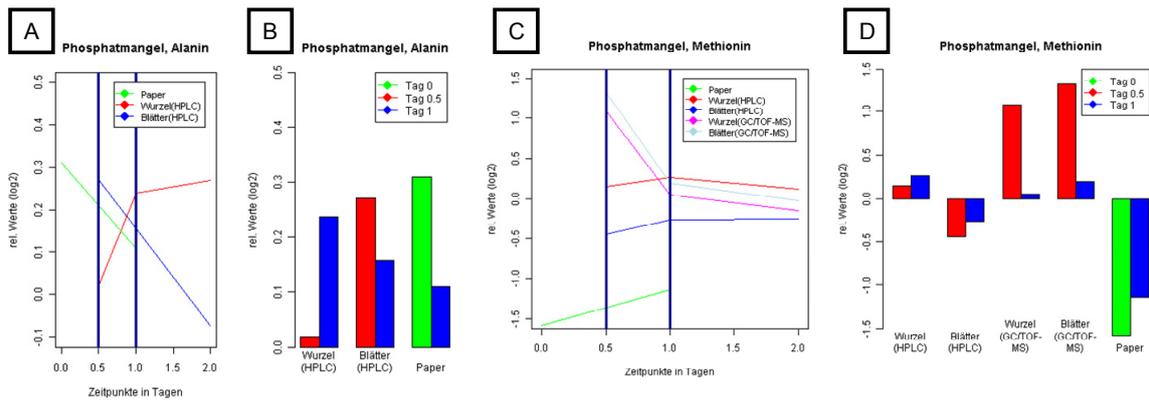


Abb. 33: Literaturvergleich für die Aminosäuren Alanin [A, B] und Methionin [C, D] unter Phosphatmangel in Form von Verlaufsdiagrammen [A, C] und Säulendiagrammen [B, D]

### 3.4.1.2 Schwefelmangel

Für diesen Vergleich konnten 16 Aminosäuren herangezogen werden. Als Literaturwerte dienten die Angaben der Veröffentlichung von Nikiforova et al. (2005a). Auch hier werden zwei Beispiele exemplarisch vorgestellt. Für die Aminosäure Asparaginsäure (Asp) (Abb. 34) wird die gleiche Tendenz für durch RP-HPLC ermittelten Werte und der Publikation festgestellt. Jedoch kann dies durch die GC/TOF-MS-Daten nicht bestätigt werden. Hier ist der Trend entgegengesetzt. Auch hier wurden wiederum andere Messzeitpunkte (Tage sechs und zehn) gewählt als bei den Experimenten dieser Arbeit. Weiterhin sind auch für dieses Experiment Keimlinge statt Blätter und Wurzeln eingesetzt worden. Für das zweite Beispiel (Abb. 35) fiel die Wahl auf die Aminosäure Isoleucin (Ile), weil hier eine entgegengesetzte Übereinstimmung beobachtet wurde. Hier stimmen die GC/TOF-MS-Daten tendenziell mit der Veröffentlichung überein, die HPLC-Daten jedoch nicht.

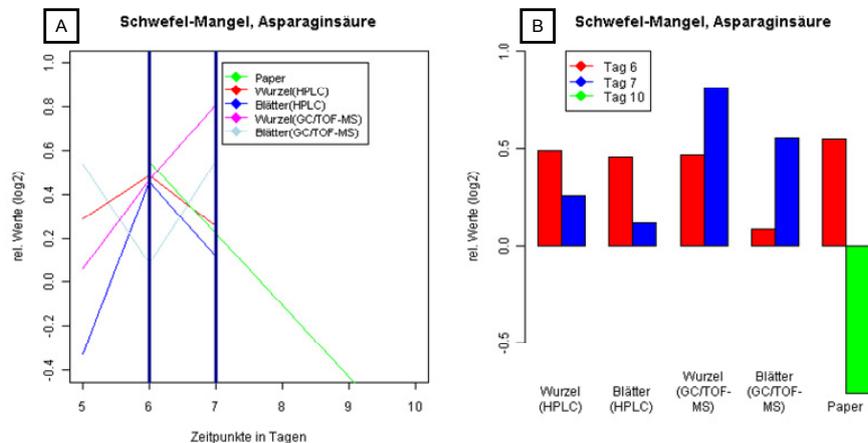


Abb. 34: Literaturvergleich für die Aminosäure Asparaginsäure unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]

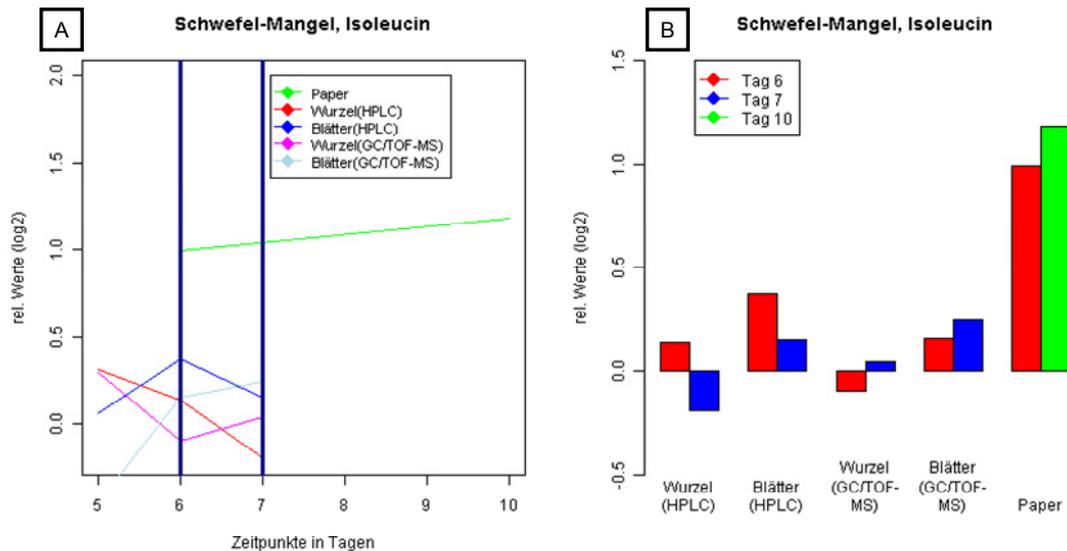


Abb. 35: Literaturvergleich für die Aminosäure Isoleucin unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]

### 3.4.2 Mit dem Verfahren GC/TOF-MS gemessene Metabolitdaten

Die mittels GC/TOF-MS<sup>54</sup> bestimmten Messwerte weisen eine Vielzahl von Fehlwerten auf<sup>55</sup>. Die Bestimmung der Daten erfolgte für insgesamt 94 Metaboliten, von denen 34 Metaboliten für die Blätter und 31 Metaboliten für die Wurzeln einen kompletten Datensatz aufweisen. Für den ersten Zeitpunkt (halber Tag) zeigten sich generell sehr hohe Messwerte. Dieser Befund beeinflusst die Erstellung der *Heatmaps* sehr stark (Abb. 36). Aus diesem Grund geschah der Ausschluß des halben Tages bei den GC/TOF-MS-Grafiken. Des Weiteren wurden die Metaboliten anhand von Stoffwechselwegen gruppiert. Diese Gruppen werden vor den Namen in den Klammern benannt. Aus Platzgründen fanden für diese Arbeit nur einige Analysegrafiken den Platz in die ausführliche Beschreibung. Alle restlichen *Heatmaps*, *Wireframes* usw. sind aber im Anhang zu finden.

<sup>54</sup> Siehe Kapitel 1.4.2 Gas Chromatography / Time-Of-Flight Mass Spectrometry (GC/TOF-MS), S. 11.

<sup>55</sup> Siehe Kapitel 2.1.3.3 Erhebung der mit GC/TOF-MS ermittelten Metabolitdaten, S. 22.

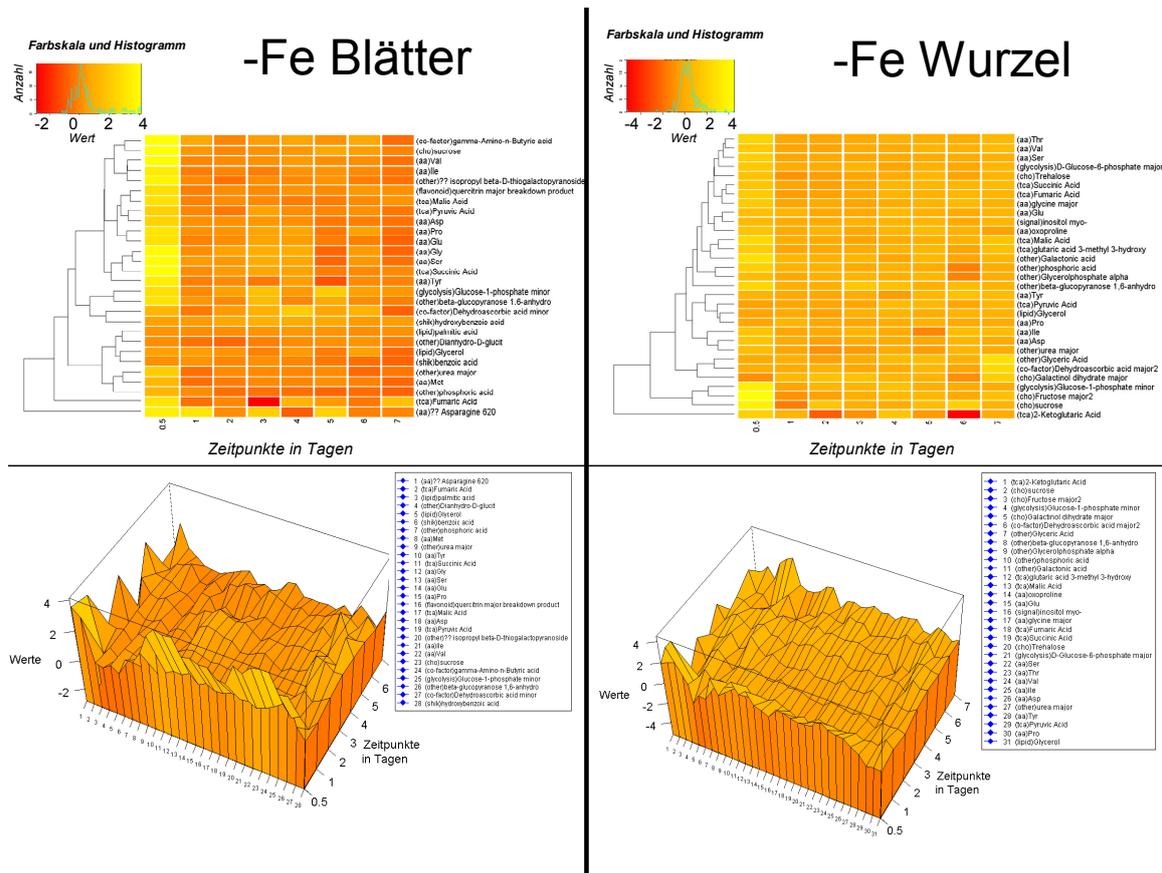


Abb. 36: Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.4.2.1 Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Stickstoff (N)

Für die Messdaten unter Stickstoffmangel zeigt die Clusteranalyse, dass insgesamt drei Hauptgruppen zu beobachten sind (Abb. 37). Zum einen bildet sich ein Cluster von Metaboliten, die in ihren Gehalten abnehmen (Blätter: *Fumaric Acid*, Asparginsäure (Asp), Glycin (Gly)); ein Cluster, der Metaboliten aufweist, die in ihren Gehalten unverändert sind, wie Prolin (Pro), Valin (Val), und ein Cluster mit Metaboliten mit steigenden Gehalten (Blätter: *phosphoric acid*; Wurzeln: *Glyceric Acid* und *Galactinol dihydrate major*). Auffällig ist die Abnahme der Hauptaminosäuren Asparginsäure (Asp) in Blättern und Wurzeln und Glutaminsäure (Glu) bei den Wurzeln. Der größte Teil der Metaboliten ist unbeeinflusst durch den Stickstoffentzug.

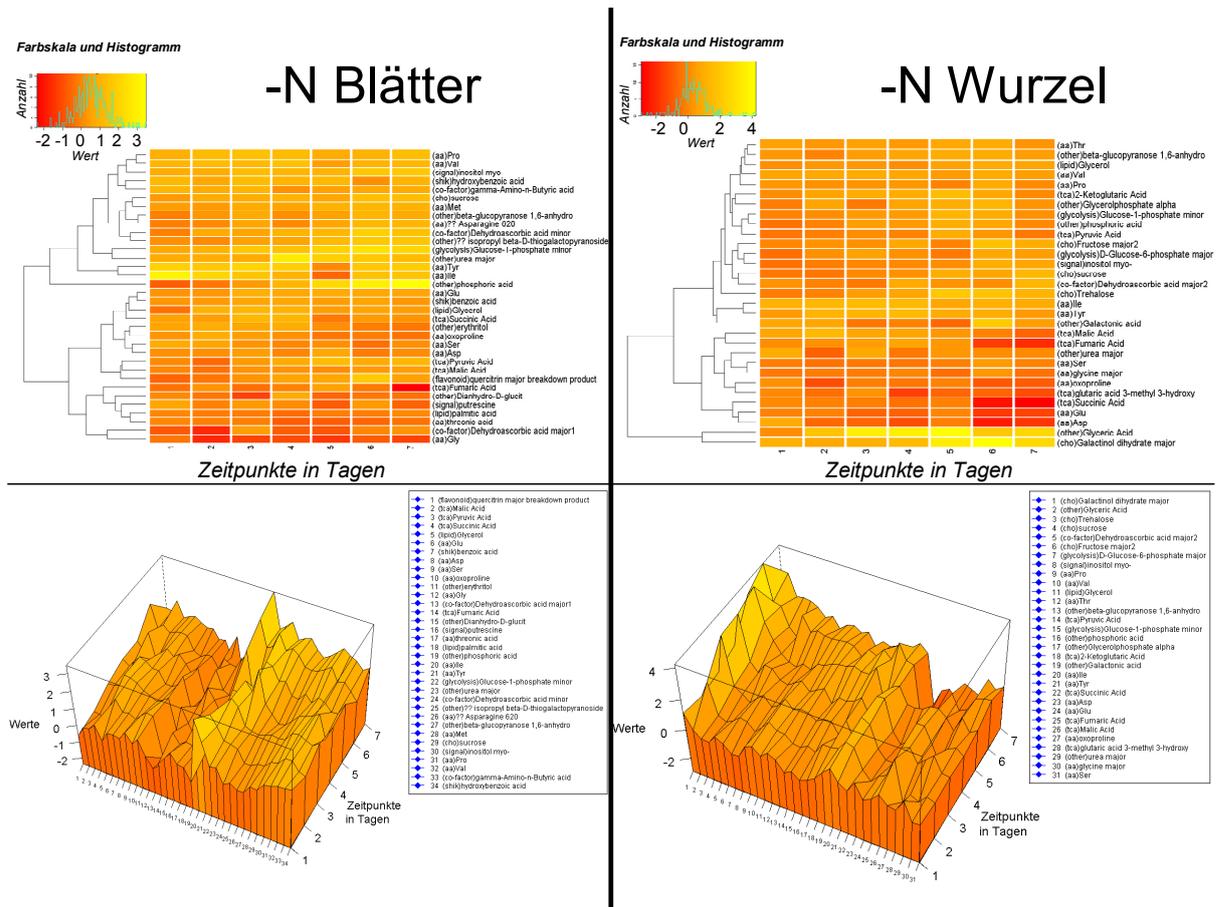


Abb. 37: Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.4.2.2 Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Phosphor (P)

Beim Phosphatmangel sind jeweils zwei Gruppierungen zu erkennen (Abb. 38). Ein großes Cluster für die Blätter bilden die Metaboliten, die unbeeinflusst sind (orangefarbener Bereich; Serin (Ser), Valin (Val)) sowie diejenigen, die in ihrem Gehalt abnehmen (roter Bereich; *Phosphoric acid*, *Fumaric Acid* [vierter bis siebenter Tag]). In den Wurzeln sind ebenso zwei Cluster erkennbar: Zum einen die Metaboliten mit abnehmenden Werten (roter Bereich; *Phosphoric acid*, *Glyceric acid*, *D-Glucose-6-phosphat major*, *Glycerolphosphat alpha*) und zum anderen die Metaboliten deren Gehalt unverändert bleibt (oranger Bereich; Valin (Val), Prolin (Pro)). Nach der Wiederaufnahme von Phosphat zeigt der Zeitpunkt „resupply“ in Abb. 39, dass sich die meisten Metaboliten, die Phosphor enthalten (*Phosphoric acid*, *Glycerolphosphat alpha*; *D-Glucose-6-phosphat major*), noch nicht wieder regenerieren und es dementsprechend keine Zunahme ihrer Gehalte gibt. *Glucose-1-phosphat minor*, Isoleucin(Ile) und *Fumaric Acid* weisen in den Blättern sowie *sucrose* in den Wurzeln eine höhere Konzentration als am vierten Tag auf.

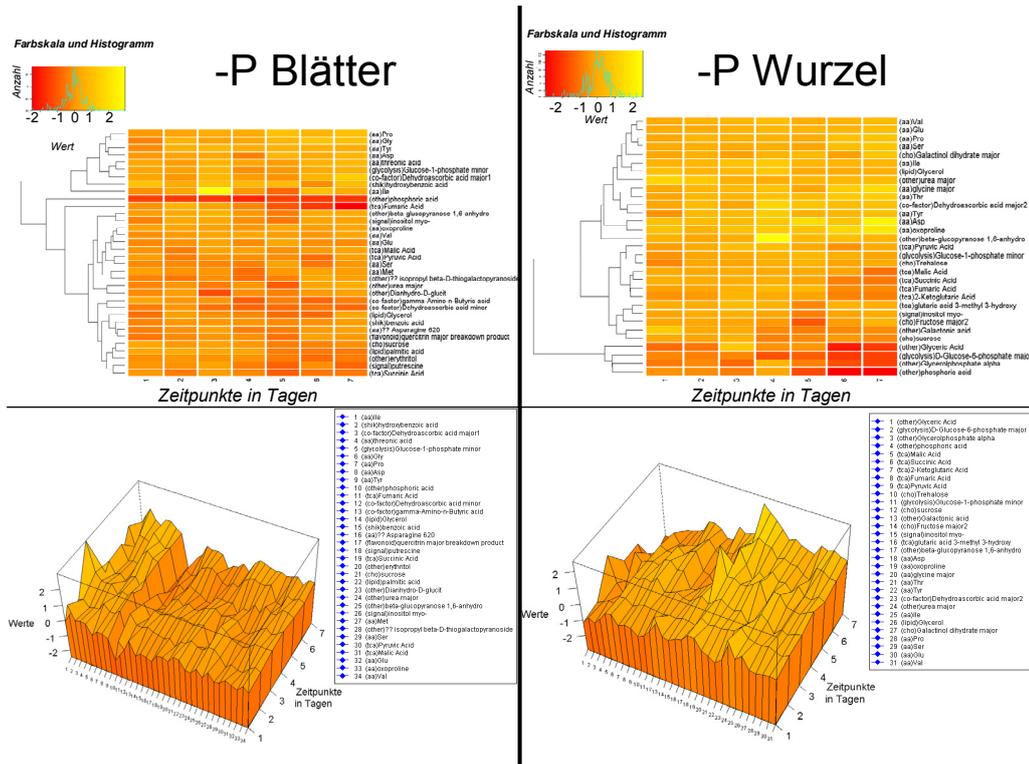


Abb. 38: Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

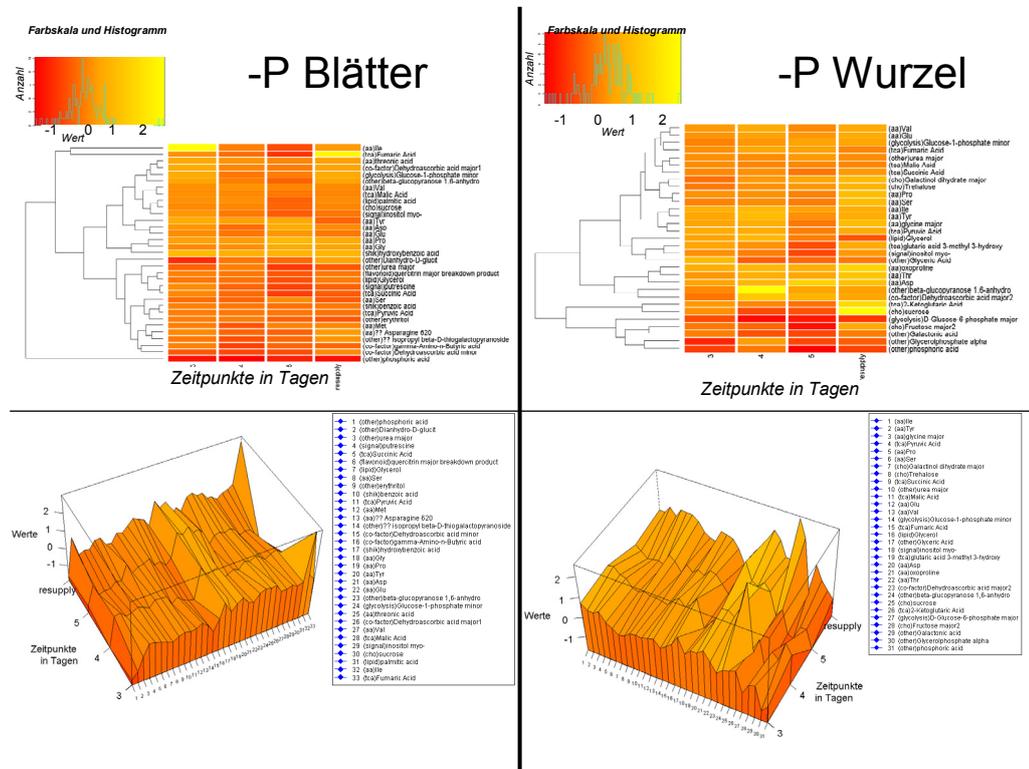


Abb. 39: Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.4.3 Mit dem Verfahren RP-HPLC gemessene Metabolitdaten

Mit Hilfe des Verfahrens RP-HPLC<sup>56</sup> sind 21 Metaboliten bestimmt worden (20 Aminosäuren und Glutathion (GSH))<sup>57</sup>. Es sind analog zu den Element- und Ionen- sowie den GC/TOF-MS-Daten, keine Werte für den siebenten Tag der Blätter bei Magnesiummangel vorhanden und dementsprechend für diesen Tag nicht visualisierbar. Für die Arbeit sind wie bei den vorherigen Abschnitten nur einige Analysegrafiken zur ausführlichen Beschreibung ausgewählt worden. Alle unverwendeten Visualisierungen sind zur Einsicht aber im Anhang zu finden.

#### 3.4.3.1 Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation Eisen (*Fe*)

Abb. 40 bildet bei den Blättern drei Cluster ab. Dies ist zum einen die Gruppe der konstanten bis leicht zunehmenden Metabolitgehalte (hellorange bis gelb; 0 bis 1) [z. B. Asparagin (Asn), Arginin (Arg), Glutamin (Gln)]; die leicht abnehmenden Metabolitgehalte (orange; -1 bis 0) [z. B. Leucin (Leu), Lysin (Lys), Methionin (Met), Alanin (Ala)] und die stark abnehmenden Metabolitgehalte im Vergleich zur Kontrolle (rot bis dunkelorange; -2.5 bis -1) [z. B. Glutathion (GSH), Prolin (Pro), Valin (Val)]. Eine Veränderung der Werte im Verlauf der Zeitpunkte ist nicht zu erkennen. Bei den Wurzeln zeichnen sich zwei größere Cluster ab. Der höhere Bereich liegt bei den konstanten bis leicht zunehmenden Metabolitwerten (orange bis gelb; 0 bis 1.5), wobei Cystein (Cys) mit einer Zunahme zum siebenten Tag heraus sticht. Die zweite Kategorie umfasst die Aminosäuren Glutamin (Gln), Isoleucin (Ile), Phenylalanin (Phe), Tryptophan (Trp) und Lysin (Lys). Deren Werte verringern sich im Vergleich zur Kontrolle (rot bis orange; -1.5 bis 0).

---

<sup>56</sup> Siehe Kapitel 1.4.1 Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC), S. 8.

<sup>57</sup> Siehe Kapitel 2.1.3.2 Erhebung der mit RP-HPLC ermittelten Metabolitdaten, S. 20.

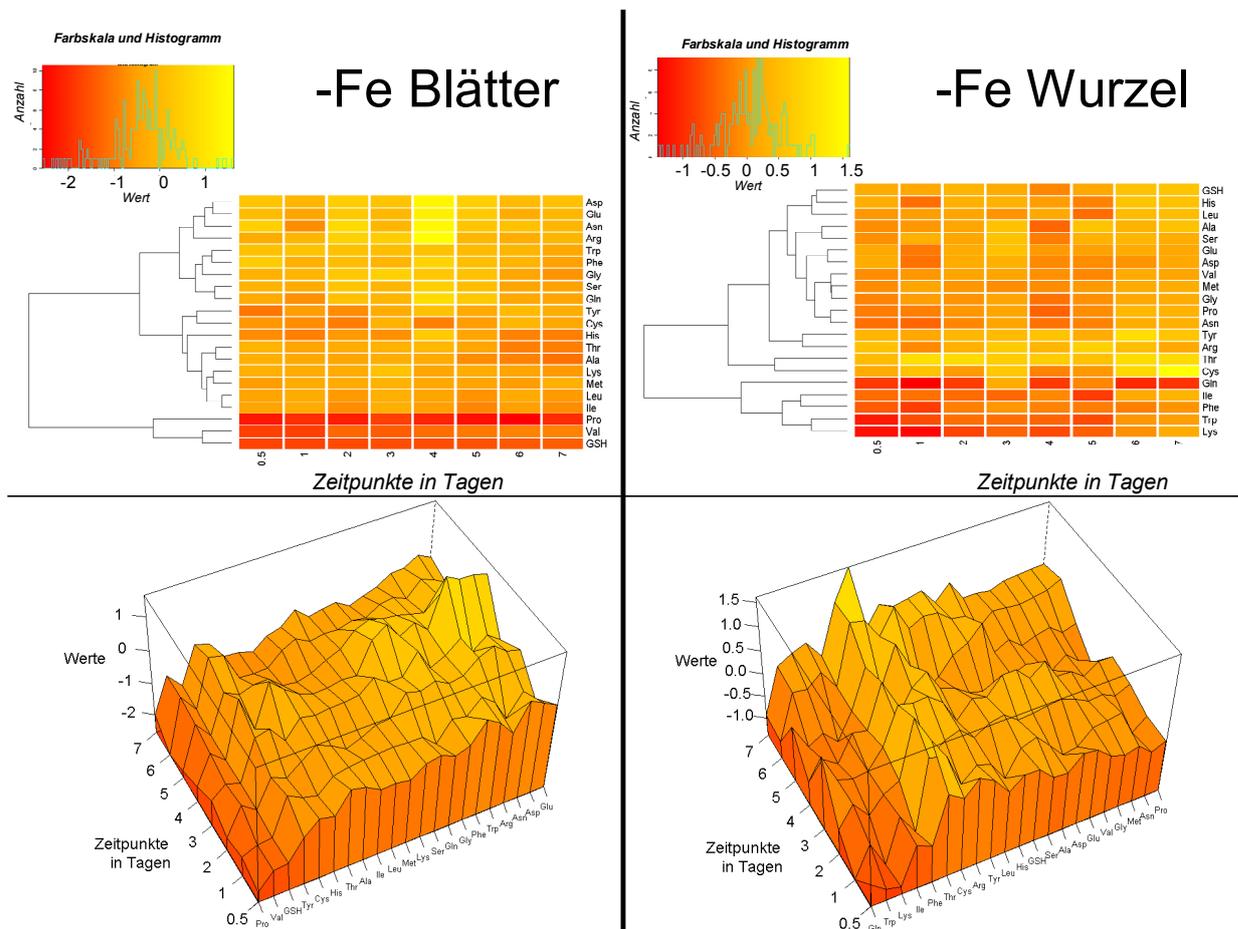


Abb. 40: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.4.3.2 Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation Kalium (K)

In den Blättern (Abb. 41) haben sich die gleichen drei Clusterbereiche wie unter Eisenmangel gebildet. Gleichfalls gehören beispielsweise Asparagin (Asn), Arginin (Arg) und Glutamin (Gln) zu den Metaboliten mit steigendem Gehalt [hellorange bis gelb; 0 bis 2]; Leucin (Leu), Lysin (Lys), Methionin (Met) und Alanin (Ala) zu den Metaboliten mit unveränderten bis leicht abnehmenden Gehalt [orange; -1 bis 0] und Glutathion (GSH), Prolin (Pro), Valin (Val) zu den Metaboliten mit stark abnehmenden Gehalt (rot bis dunkelorange; -2 bis -1). Über alle Zeitpunkte hinweg sind keine größeren Schwankungen eines Metaboliten festzustellen. Die Wurzeln bilden ein großes Cluster der leicht abnehmenden, konstanten und leicht zunehmenden Metabolitwerte [orange bis hellorange; -0.5 bis 1]. Arginin (Arg) und Cystein (Cys) prägen je einen eigenen Bereich aus, wobei bei Letzteren eine starke Zunahme an den letzten beiden Zeitpunkten [sechster bis siebenter Tag] erkennbar ist.

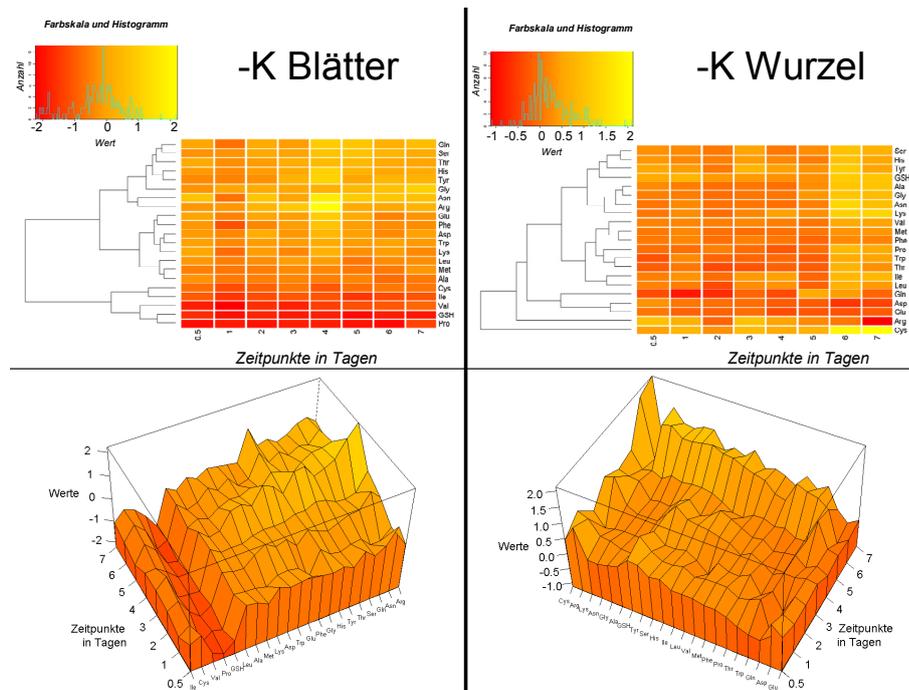


Abb. 41: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.4.3.3 Heatmaps und Wireframes für die Mikronährstoffmangelsituation

#### Magnesium (Mg)

Die Erhebung der Daten für die Magnesiummangelsituation ergab in der Kategorie Blätter für den kompletten siebenten Tag Fehlwerte in der Bestimmung der Metabolitgehalte. Aus diesem Grund wird in Abb. 42 nur der Bereich zwischen halbem und sechstem Tag auf der linken Seite abgebildet. Trotz der Fehlwerte bilden sich in den Blättern drei Cluster. Das erste Cluster umfasst die leicht zunehmenden Metabolitgehalte (Asparagin (Asn), Arginin (Arg) und Glutamin (Gln)) [hellorange bis gelb; 0 bis 2]; das zweite mit den konstanten und leicht abnehmenden Metabolitgehalten (Leucin (Leu), Lysin (Lys), Methionin (Met) und Alanin (Ala)) [orange; -1 bis 0] und das dritte mit den abnehmenden Metabolitgehalten beispielsweise mit Glutathion (GSH), Prolin (Pro), Valin (Val) [rot bis orange; -2 bis -1]. Der zeitliche Verlauf zeigt dabei keine größeren Veränderungen innerhalb der Metaboliten in den Blättern. Die Wurzeln weisen im Gegensatz dazu zwei Clusterbereiche auf. Zum einem den größeren Bereich der relativ konstanten Metabolitgehalte, zu dem 19 von 21 Metaboliten gehören [rot bis orange; -0.5 bis 0.5]. Einzig Arginin (Arg) und Valin (Val) bilden je einen eigenen Bereich. Die Werte bei Arginin (Arg) sind aber recht schwankend, da eine starke Zunahme am dritten und vierten Tag erfolgt und am siebenten Tag eine drastische Abnahme geschieht. Valin (Val) bleibt im Vergleich dazu gleichmäßig ansteigend.

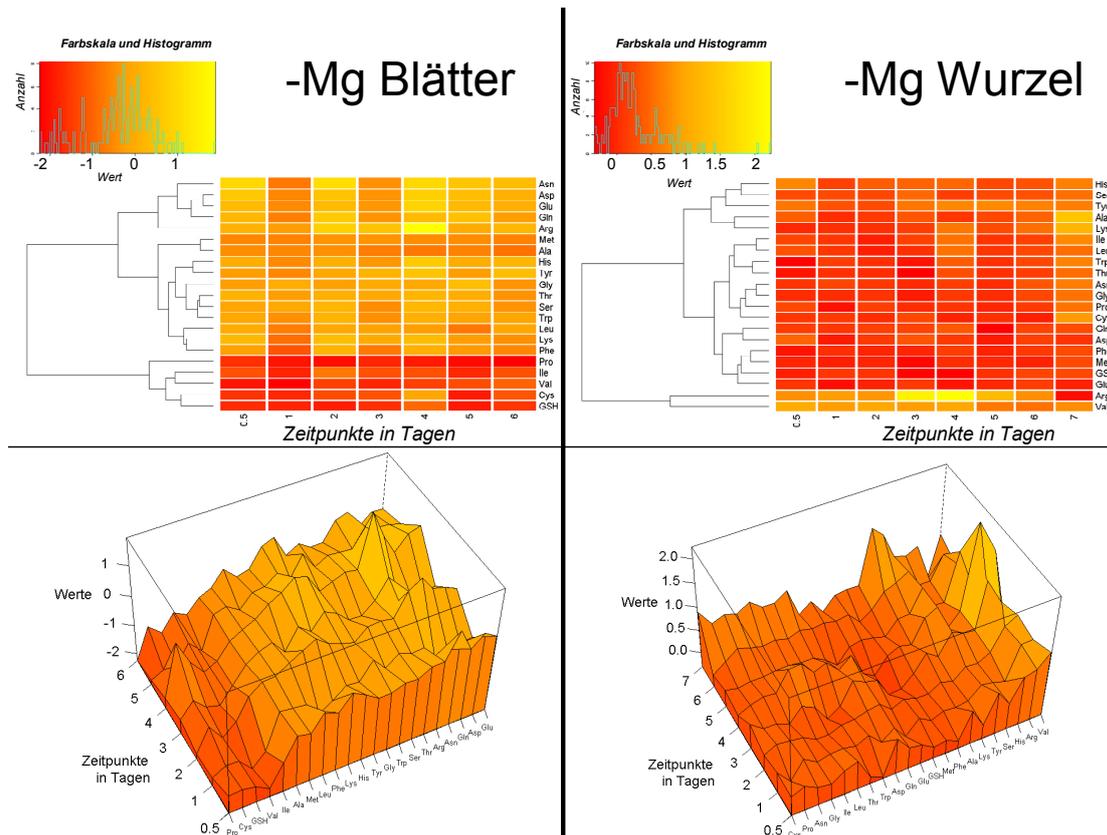


Abb. 42: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des halben bis sechsten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.4.3.4 Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Stickstoff (N)

Abb. 43 weist zwei größere Cluster in den Blättern auf: Zum einen die Metaboliten mit konstantem Gehalt im Vergleich zur Kontrolle [orange; 0 bis 1], beispielsweise Cystein (Cys) oder Glutathion (GSH) und zum anderen die leicht abnehmenden Metabolitgehalte [orange bis hellorange; -1 bis 0], z. B. Glutaminsäure (Glu), Asparaginsäure (Asp), Asparagin (Asn), Glutamin (Gln). Weiterhin bilden die Aminosäuren Tyrosin (Tyr), Arginin (Arg) und Glycin (Gly) einzelne Cluster. Dabei ist Glycin (Gly) auf einem konstant abnehmenden Level; Tyrosin (Tyr) im Gegensatz dazu ansteigend und Arginin (Arg) anwachsend von sehr gering am halben Tag bis zu einer starken Zunahme am vierten Tag und danach wieder abfallend. In der Kategorie Wurzel werden hingegen drei Cluster gebildet: Erstens die abnehmenden Metabolitgehalte [rot bis orange; -1 bis 0] (analog zu den Blättern Asparagin (Asn), Asparaginsäure (Asp), Glutamin (Gln) und Glutaminsäure (Glu)); zweitens die unbeeinflussten Metaboliten [orange bis hellorange; 0 bis 1] (Valin (Val)) und drittens die zunehmenden Metabolitgehalte [hellorange bis gelb; 1 bis 3] (Isoleucin (Ile), Leucin (Leu) und Arginin (Arg)). Außerdem weist Alanin (Ala) eine kontinuierliche Zunahme vom halben [rot] bis zum siebenten Tag [gelb] auf.

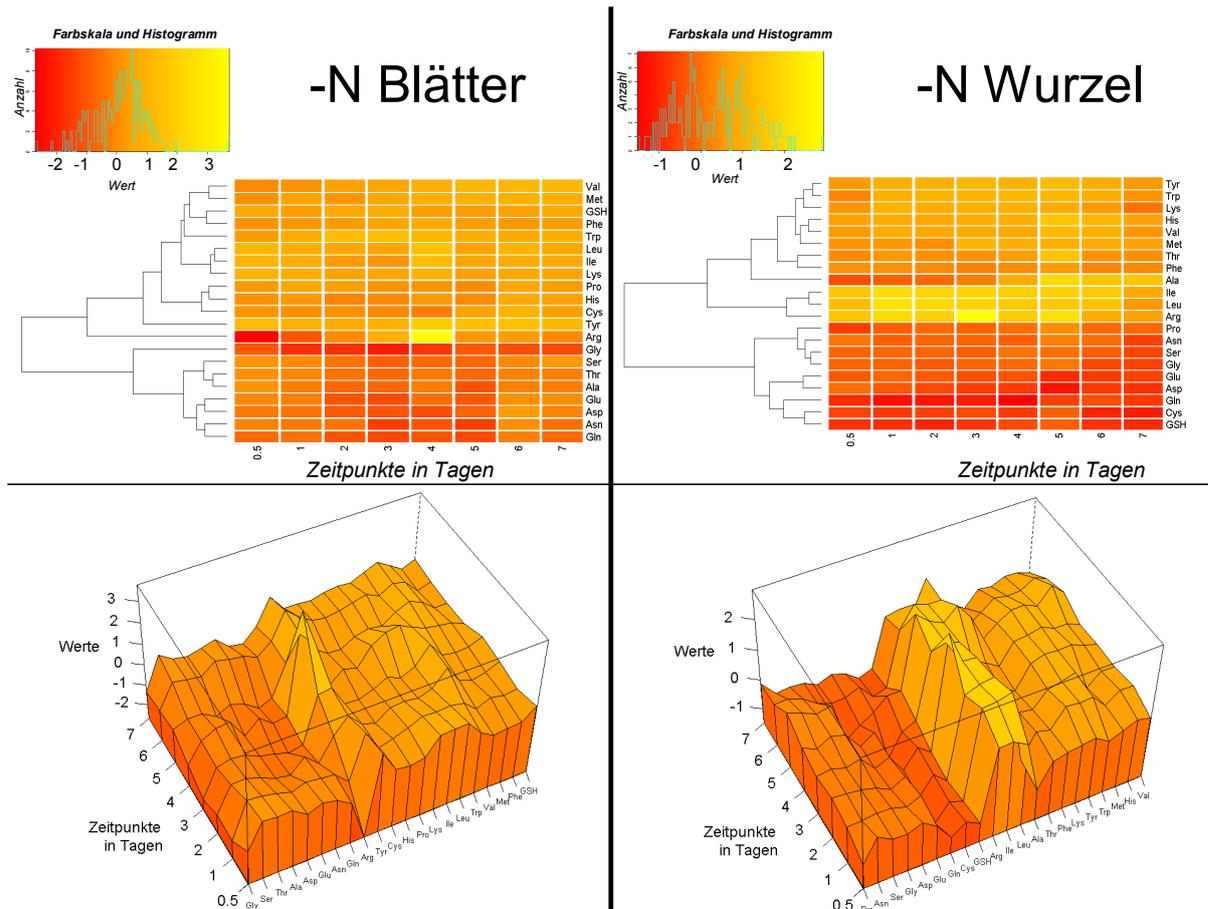


Abb. 43: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.4.3.5 Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Phosphor (P)

Der geringe Einfluss des Phosphatmangels auf die Metaboliten in den Blättern ist in Abb. 44 auf der linken Seite sehr gut zu erkennen. Alle Metaboliten, außer Arginin (Arg) am ersten [rot; -1] und vierten Tag [gelb; 4], haben einen Wert um die null herum [orange], also konstant im Vergleich zur Kontrolle. Dementsprechend bildete sich ein sehr großes Cluster mit 20 Metaboliten und Arginin (Arg) als einzelnes Cluster. Die Wurzeln haben einen ähnlichen Verlauf. Es existiert ein großer Bereich von 18 Metaboliten, die konstant bzw. leicht ansteigend sind [rot; 0 bis 1]. Glutamin (Gln), Asparagin (Asn) und Arginin (Arg) zeigen hingegen eine ansteigende Tendenz vom halben bis zum siebenten Tag. Vor allem der Arginin (Arg)-Gehalt ist vom ersten Zeitpunkt an relativ hoch und steigert sich im Verlaufe der Zeit im Vergleich zu den Werten der Kontrolle.

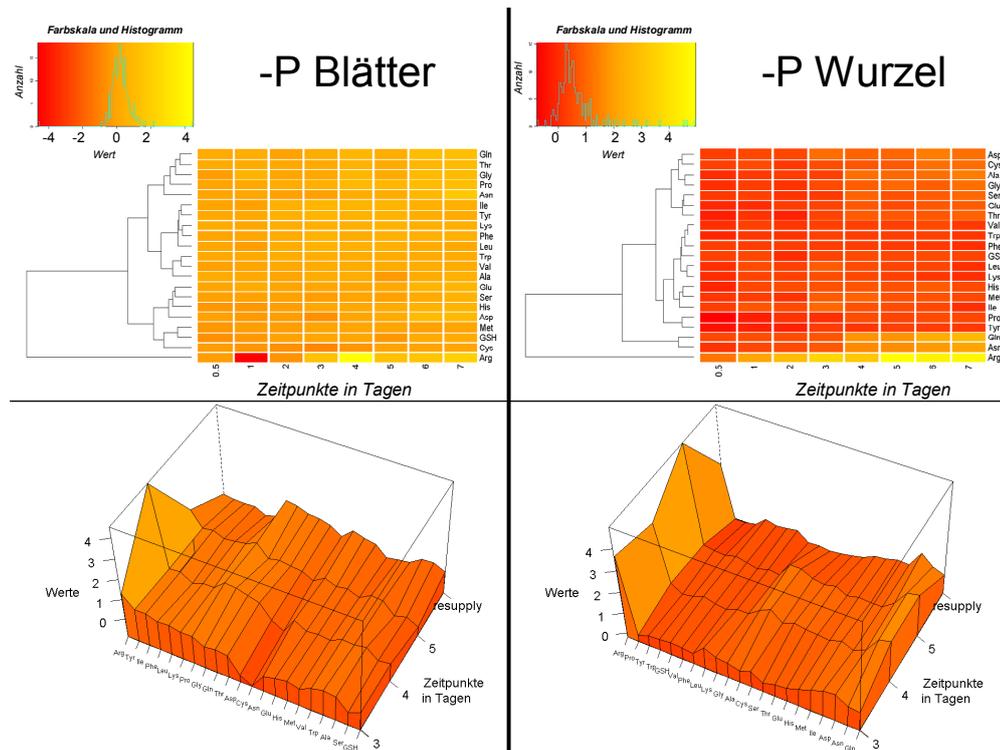


Abb. 44: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.4.3.6 Heatmaps und Wireframes für die Makronährstoffmangelsituation Schwefel (S)

Schwefelmangel bewirkt nur eine geringe Änderung auf den Großteil der Metaboliten bei beiden Pflanzenmaterialien [Blätter: hellorange bis gelb; -1 bis 1] [Wurzeln: orange; -0.5 bis 0.5], beispielsweise auf das schwefelhaltige Methionin (Met). Bei den Blättern stechen allerdings Arginin (Arg), Glutathion (GSH) und Cystein (Cys) heraus, da deren Metabolitgehalte kontinuierlich über alle Zeitpunkte im Vergleich zur Kontrolle geringer werden. Die Hauptaminosäuren<sup>58</sup> [Asparagin (Asn), Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Glutamin (Gln)] clustern zusammen und verzeichnen an den letzten beiden Zeitpunkten einen Anstieg. Bei den Wurzeln weist lediglich Arginin (Arg) einen Anstieg bis zum fünften Tag auf. Die weiteren Metaboliten teilen sich in zwei Bereiche: Zum einen die konstanten Metabolitgehalte, u. a. mit Methionin (Met) und zum anderen die abnehmenden Metabolitgehalte wie z. B. Glutathion (GSH) und Cystein (Cys). Beim Zeitpunkt *resupply* in Abb. 46 nimmt Arginin(Arg) nach dem wiederzugeführten Sulfat stark ab [rot; -3]. Dagegen nehmen Cystein (Cys) und Glutathion (GSH), die Schwefel (S) enthalten, wieder zu [gelb; 0.5]. Die restlichen Metabolitgehalte bleiben unverändert.

<sup>58</sup> Aminosäuren die in größerer Menge vorkommen als andere.

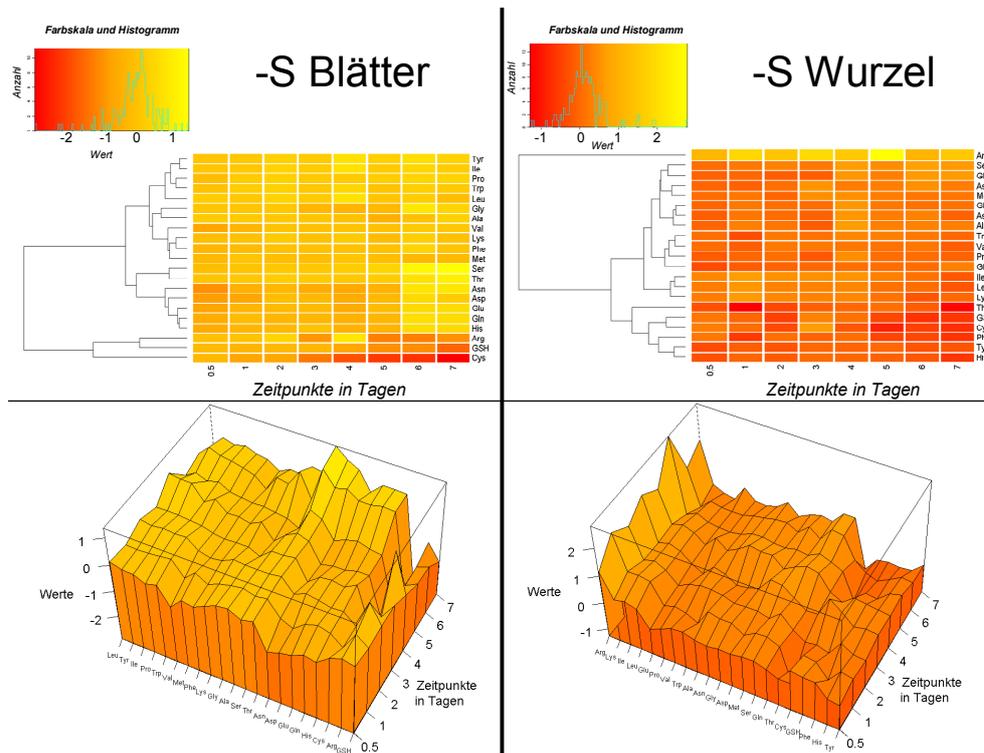


Abb. 45: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des halben bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes

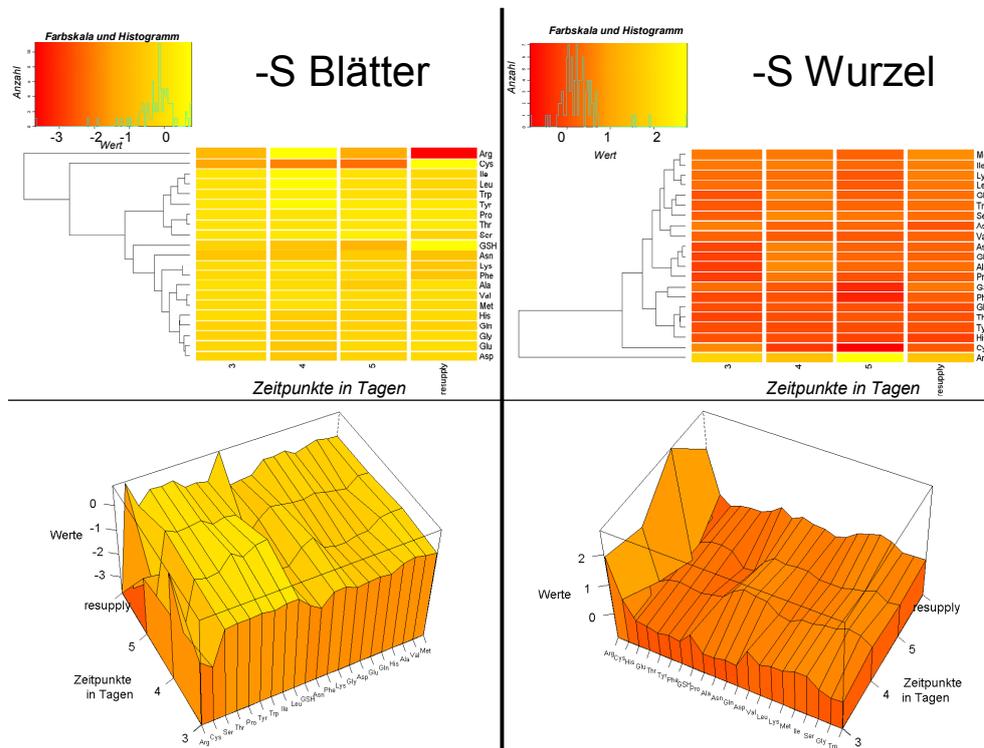
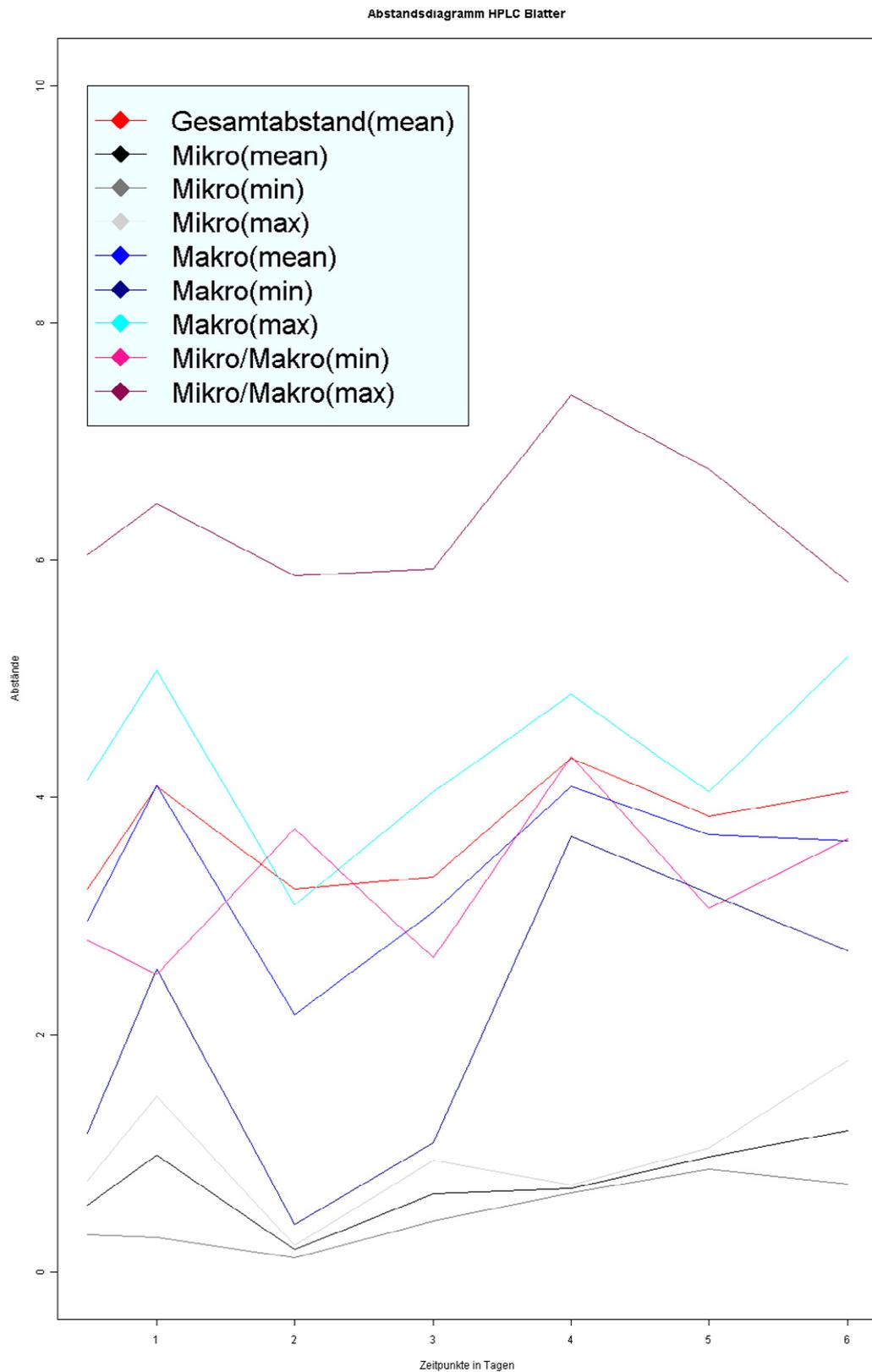


Abb. 46: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes

### 3.4.3.7 PCAs, Abstandsdiagramme und loading-Grafiken der Blätter

In Tabelle 9 (linke Spalte) sind die *PCA-Plots* der sieben Zeitpunkte (0.5 - 6. Tag) abgebildet, zu denen in allen Nährstoffmangelsituationen Messwerte der Blätter existierten. Anhand der *PCA-Plots* und des Abstandsdiagramms in Abb. 47 ist ein Höhepunkt der Abstände der Makronährstoffelemente [Stickstoff (*N*), Phosphor (*P*), Schwefel (*S*)] (Makros) zueinander am Tag vier zu erkennen, d. h. sie sind zu diesem Zeitpunkt im *PCA-Plot* am weitesten voneinander entfernt. Selbst das Minimum der Makronährstoffelemente ist am vierten Tag mit Abstand größer als das Maximum der Mikronährstoffelemente [Eisen (*Fe*), Kalium (*K*), Magnesium (*Mg*)] (Mikros). Allerdings sind die Abstände der Mikros im gesamten Zeitverlauf sehr gering.

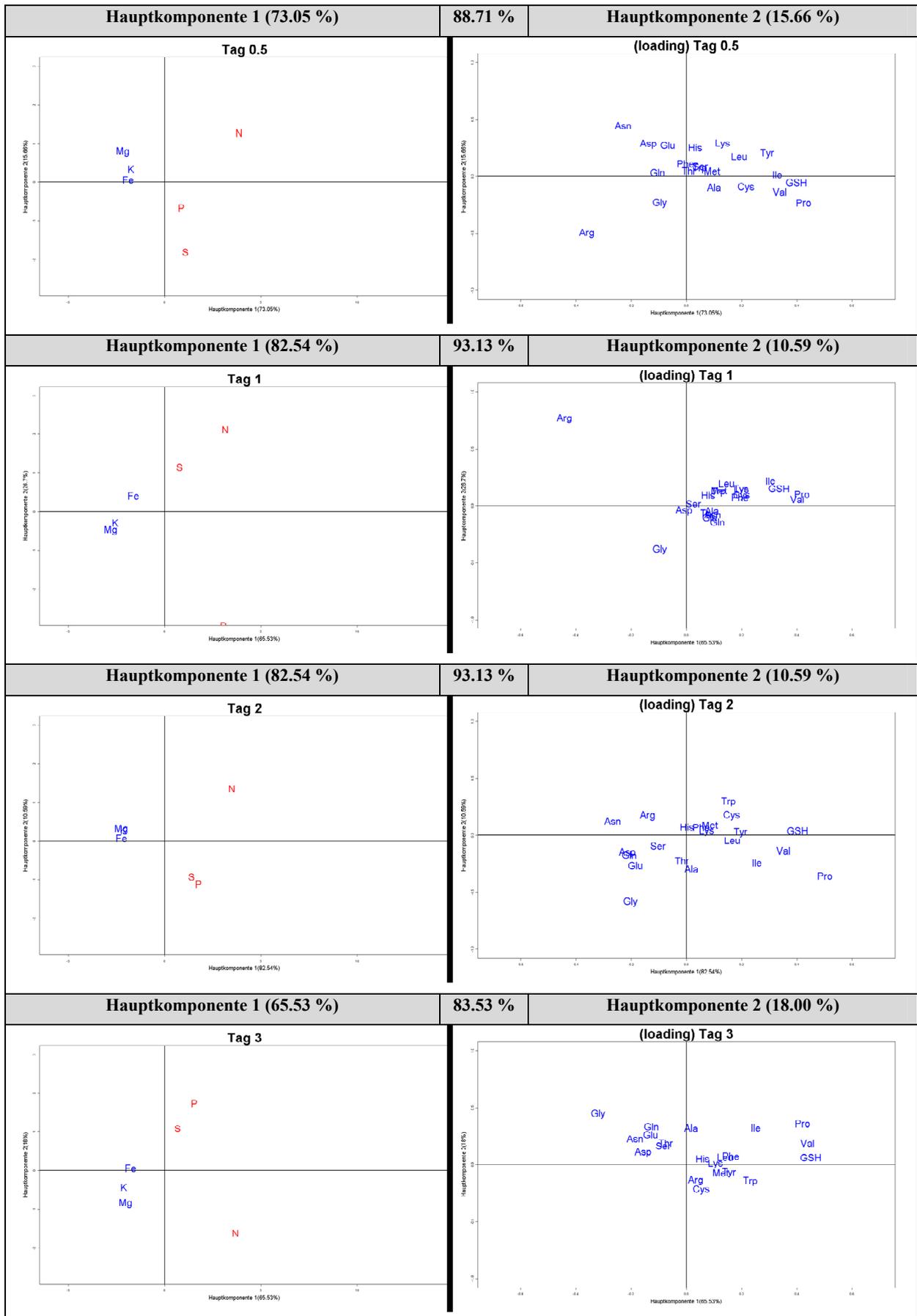
Durch die *loading*-Grafiken (Tabelle 9, rechte Spalte) ist es möglich, die beeinflussenden Werte auf die Position der Punkte im *PCA-Plot* zu erkennen. Dementsprechend hat Arginin (Arg) eine starke Einwirkung auf die Y-Koordinaten von Phosphor (*P*) [Tage 0.5/unten, 4/unten, 5/oben], Schwefel (*S*) [Tage 0.5/unten, 1/oben] und Stickstoff (*N*) [Tag 1/oben]. Denn je nachdem wo sich ein Faktor in der *loading*-Grafik befindet, veranlasst er Punkte im *PCA-Plot* sich in eine analoge Position zu begeben bzw. in die gleiche Richtung [links, rechts, oben, unten] zu transformieren. Außerdem haben Asparagin (Asn) [Tag 0.5/oben auf Stickstoff (*N*)], Glycin (Gly) [Tag 1/unten auf Phosphor (*P*), Tag 2/unten auf Schwefel (*S*) und Phosphor (*P*)], Prolin (Pro) [Tag 2/rechts auf Makros, Tag 3/rechts auf Stickstoff (*N*), Tag 6/rechts auf Makros], Valin (Val) [Tag 3/rechts auf Stickstoff (*N*)], Gluthation (GSH) [Tag 3/rechts auf Stickstoff (*N*)] und Cystein (Cys) [Tag 5/oben auf Phosphor (*P*), Tag 6/oben auf Stickstoff (*N*)] Einfluss auf einige Positionen im *PCA-Plot*. Die zugehörigen *loading*-Tabellen sind im Anhang zu finden. Die Varianzabdeckung (Addition der Prozentwerte von Hauptkomponente 1 und 2) wiegt bei den *PCAs* zwischen 83 und 93 Prozent.

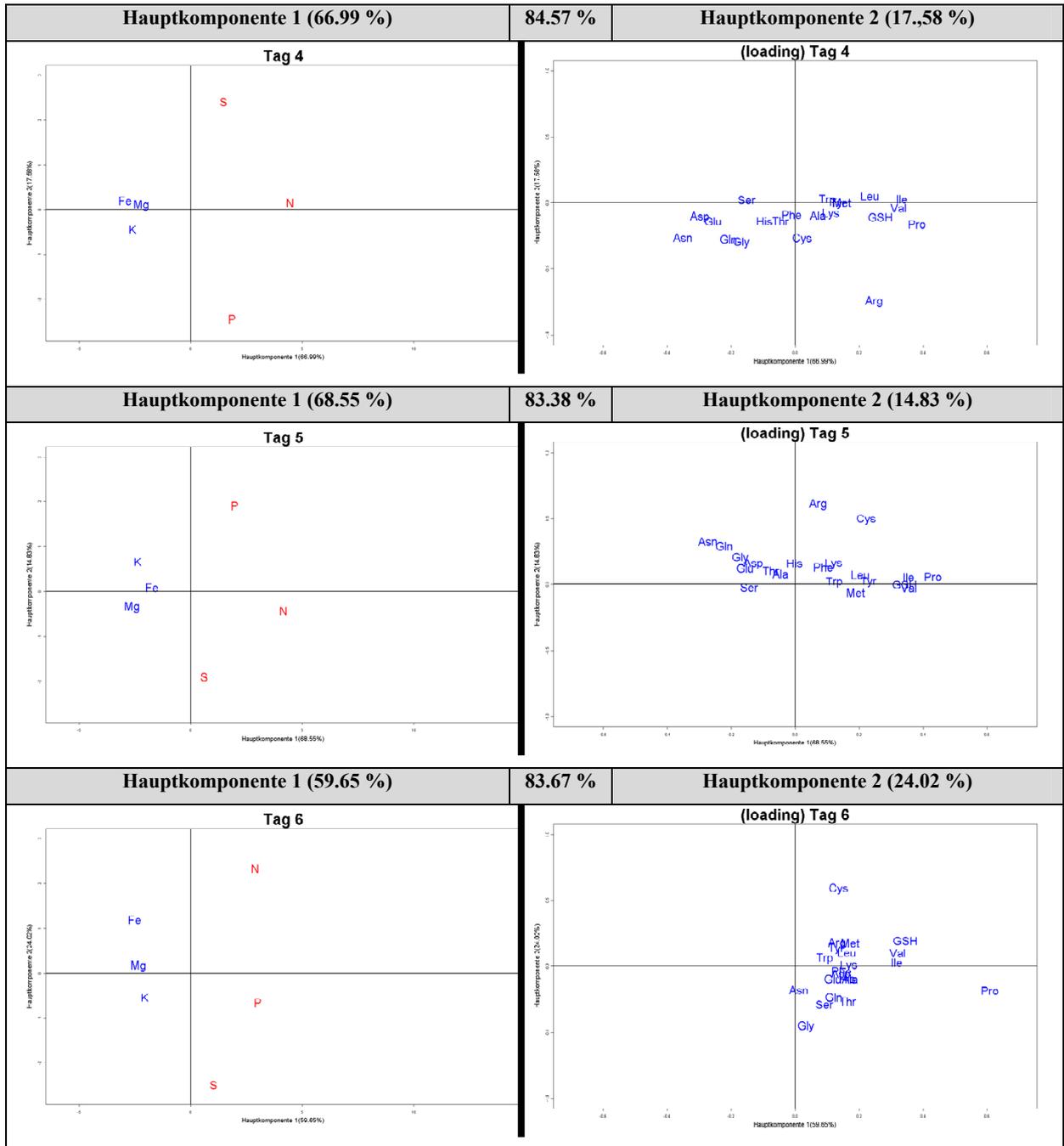


**Abb. 47:** Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des halben bis sechsten Tages

**Ergebnisse**

**Tabelle 9: Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form von PCA-Plots und loading-Grafiken des halben bis sechsten Tages**





### 3.4.4 Vergleich der mit den Verfahren GC/TOF-MS- und RP-HPLC gemessenen Metabolitdaten

Da zwei verschiedene Methoden (GC/TOF-MS und RP-HPLC) zum Bestimmen der Metaboliten aus dem gleichen Pflanzenmaterial genutzt wurden, lag es nahe, einen Vergleich dieser beiden Verfahren anhand der gemeinsam bestimmten Metaboliten durchzuführen. Es überschneiden sich zwar nicht einmal die Hälfte der Aminosäuren, die mit RP-HPLC bestimmt worden sind, mit den gemessenen Metaboliten des Verfahrens GC/TOF-MS (neun bei den Blättern [Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Glycin (Gly), Isoleucin (Ile), Methionin (Met), Prolin (Pro), Serin (Ser), Tyrosin (Tyr) und Valin (Val)] und acht bei den Wurzeln [Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Isoleucin (Ile), Prolin (Pro), Serin (Ser), Threonin (Thr), Tyrosin (Tyr) und Valin (Val)]). Trotzdem liefert der komparative Ansatz durchaus interessante Ergebnisse.

Die Gegenüberstellung der beiden Messmethoden erfolgt anhand der Visualisierungswerkzeuge *Heatmaps*, *PCA-Plots* mit Abstandsdiagrammen und entsprechenden *loading*-Grafiken. Dabei wurde der erste Zeitpunkt (halber Tag) nicht berücksichtigt, weil er die Daten auf Grund der GC/TOF-MS-Werte zu sehr verfälscht hätte<sup>59</sup>. Den Metabolitbezeichnungen ist bei den *Heatmaps* ein „HPLC\_“ (RP-HPLC) oder ein „GCTOF\_“ (GC/TOF-MS) voran gestellt, um die beiden zu differenzieren. Bei den *PCA-Plots* ist der Übersicht halber nur ein „\_H“ für RP-HPLC bzw. ein „\_G“ für GC/TOF-MS angehängen.

In diesem Vergleich geht es vor allem darum, herauszufinden, ob beide Messverfahren die gleichen Ergebnisse bei den identischen Aminosäuren ergeben, z. B. durch ein gemeinsames Cluster bei den *Heatmaps*, oder komplett verschiedene Resultate zu Stande kommen.

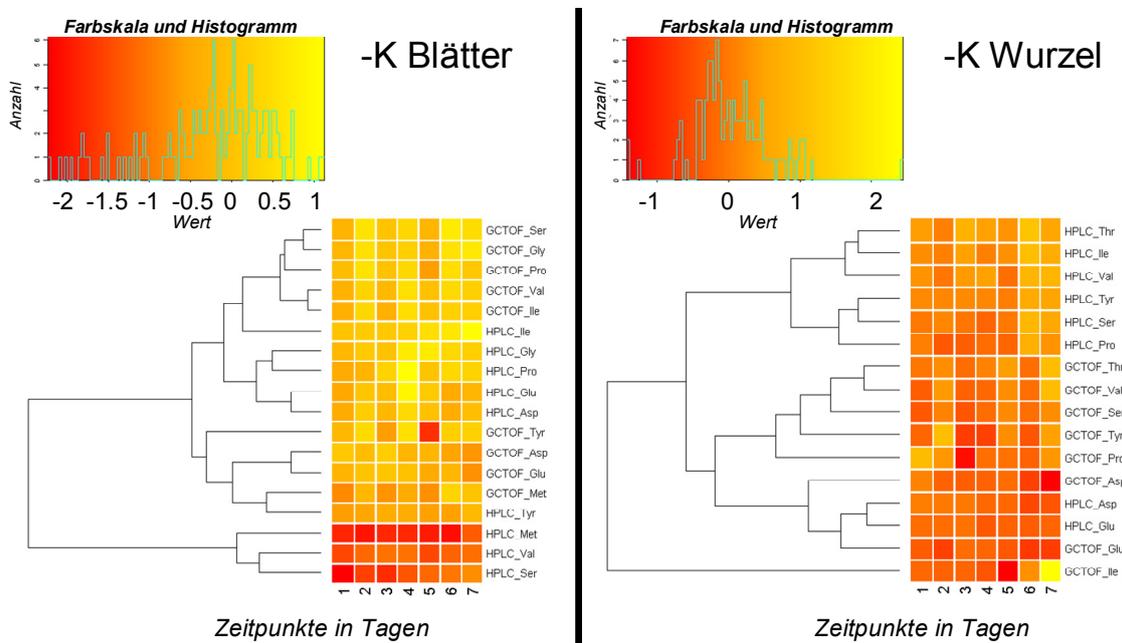
#### 3.4.4.1 Heatmaps für die Mikronährstoffmangelsituation Kalium (K)

Abb. 48 bildet die *Heatmaps* von GC/TOF-MS und RP-HPLC-Daten unter Kaliummangel von Blätter und Wurzeln ab. Hauptsächlich die Metaboliten eines Messverfahrens finden in einem Cluster zusammen [Blätter GC/TOF-MS: (Glycin (Gly), Isoleucin (Ile), Prolin (Pro), Serin (Ser), Valin (Val)), (Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Methionin (Met), Tyrosin (Tyr)); RP-HPLC: (Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Glycin (Gly), Prolin (Pro)), (Methionin (Met), Serin (Ser), Valin (Val))] [Wurzeln GC/TOF-MS: (Prolin (Pro), Serin (Ser), Threonin (Thr), Tyrosin (Tyr), Valin (Val)); RP-HPLC: (Isoleucin (Ile), Prolin (Pro), Serin (Ser), Threonin (Thr), Tyrosin (Tyr), Valin (Val)), (Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu))]. Einige Ausnahmen bilden beispielsweise bei den RP-HPLC-Daten der

---

<sup>59</sup> Siehe Kapitel 3.4.2 Mit dem Verfahren GC/TOF-MS, S. 52.

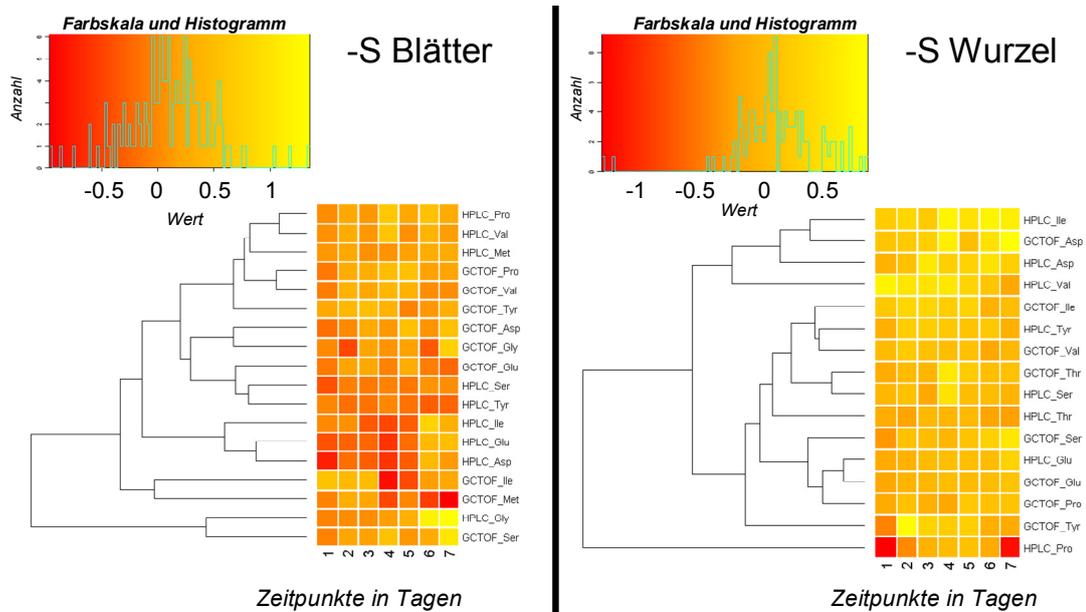
Blätter Isoleucin (Ile) und Tyrosin (Tyr), die sich mit ihrem entsprechenden Pendant bei den GC/TOF-MS-Clustern einordnen. In der Kategorie Wurzeln sind es bei den GC/TOF-MS-Daten hingegen Asparaginsäure (Asp) und Glutaminsäure (Glu), die sich im entsprechenden Bereich ihres Ebenbilds der RP-HPLC-Daten eingliedern.



**Abb. 48:** Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps

### 3.4.4.2 Heatmaps für die Makronährstoffmangelsituation Schwefel (S)

Die Schwefelmangelsituation (Abb. 49) zeigt analog zu den zuvor gezeigten Ergebnissen des Kaliummangels einige Übereinstimmungen zwischen den beiden Messmethoden [Blätter GC/TOF-MS+RP-HPLC: (Prolin (Pro), Valin (Val))+(Methionin (Met), Prolin (Pro), Valin (Val))] [Wurzeln GC/TOF-MS+RP-HPLC: (Glutaminsäure (Glu))+Glutaminsäure (Glu)]. Allerdings existiert auch eine Reihe von Clustern innerhalb eines Verfahrens [Blätter GC/TOF-MS: (Prolin (Pro), Valin (Val)), (Asparaginsäure (Asp), Glycin (Gly)), (Isoleucin (Ile), Methionin (Met)); RP-HPLC: (Methionin (Met), Prolin (Pro), Valin (Val)), (Serin (Ser), Tyrosin (Tyr)), (Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Isoleucin (Ile))].



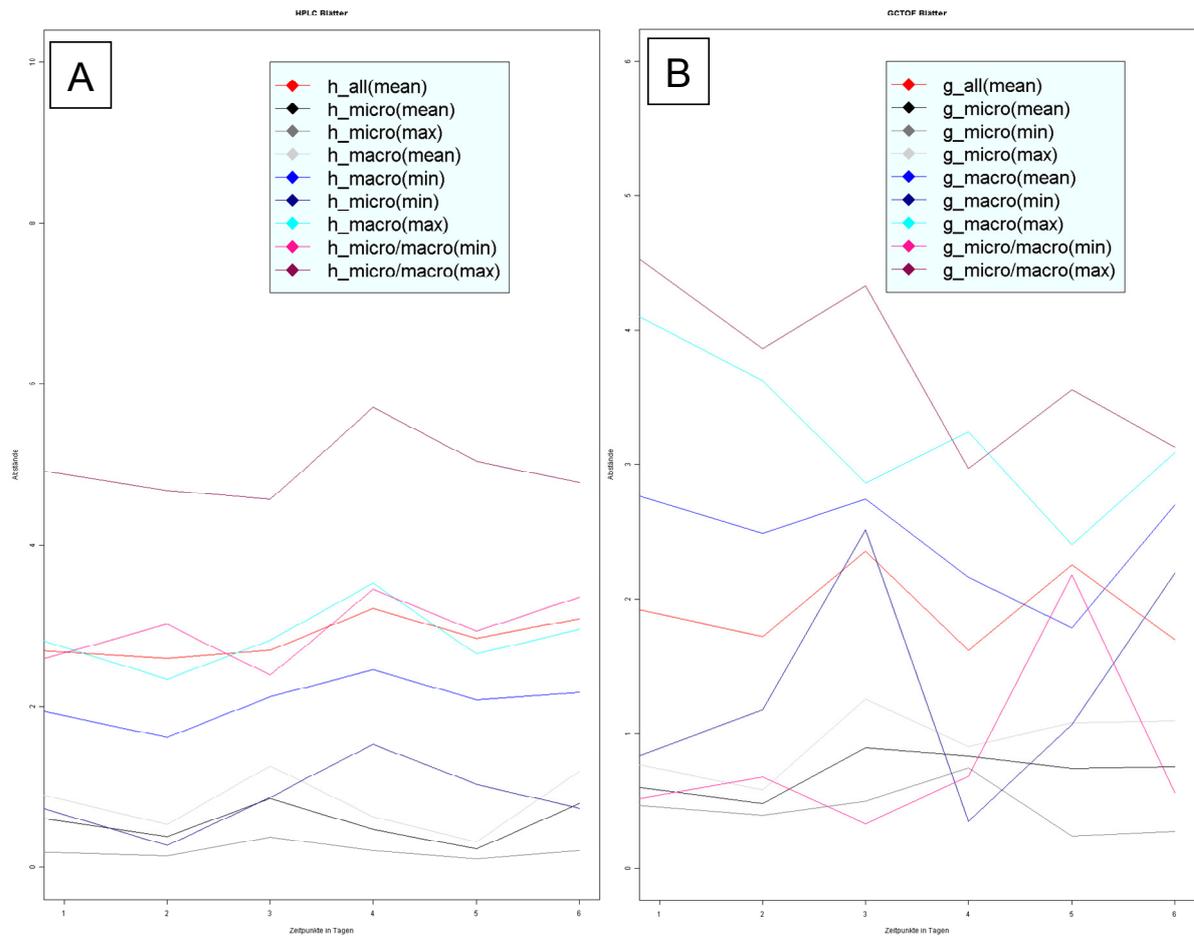
**Abb. 49:** Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps

### 3.4.4.3 PCAs, Abstandsdiagramme und loading-Grafiken der Blätter

In diesem Abschnitt wird der Vergleich der beiden Messmethoden GC/TOF-MS und RP-HPLC anhand von *PCA-Plots*, einem Abstandsdiagramm und *loading-Grafiken* visualisiert. Die zugehörigen *loading*-Tabellen befinden sich im Anhang. In den *PCA-Plots* [linke Spalte] und *loading-Grafiken* [rechte Spalte] der Tabelle 10 sind die Punkte mit einem „G“ (GC/TOF-MS) bzw. „H“ (RP-HPLC) versehen, um die jeweilige Messmethode zu kennzeichnen. Im Tabellenkopf jeden Tages ist die prozentuale Abdeckung der Varianzen für die Hauptkomponenten angegeben. Abb. 50 bildet die beiden Abstandsdiagramme der Methoden ab. Darauf und in den *PCA-Plots* ist bei den RP-HPLC-Daten ein Anstieg der Abstände der Makronährstoffe [Stickstoff (*N*), Phosphor (*P*), Schwefel (*S*)] zueinander am vierten Tag zu beobachten (Abb. 50 [A]), während bei den GC/TOF-MS-Daten solch ein Ausschlag am dritten bzw. sechsten Tag erfolgt (Abb. 50 [B]). Allerdings bleiben bei beiden Verfahren die Punkte der Mikronährstoffe [Eisen (*Fe*), Kalium (*K*), Magnesium (*Mg*)] über alle Zeitpunkte in den *PCA-Plots* nah zusammen. Anhand der *loading-Grafiken* ist eine starke Beeinflussung von beispielsweise Glycin (Gly) und Prolin (Pro) der RP-HPLC-Messung auf die Positionen von Phosphor (*P*) und Schwefel (*S*) in den *PCA-Plots* aller Zeitpunkte zu erkennen. Die Stickstoffmangelsituation (*N*)-Position des GC/TOF-MS-Verfahrens in den *PCA-Plots* des ersten und zweiten Tages wird dagegen durch Glycin (Gly) (siehe entsprechende *loading-Grafiken*) beeinflusst. Die Varianzabdeckung der *PCAs* liegt bei den RP-HPLC-

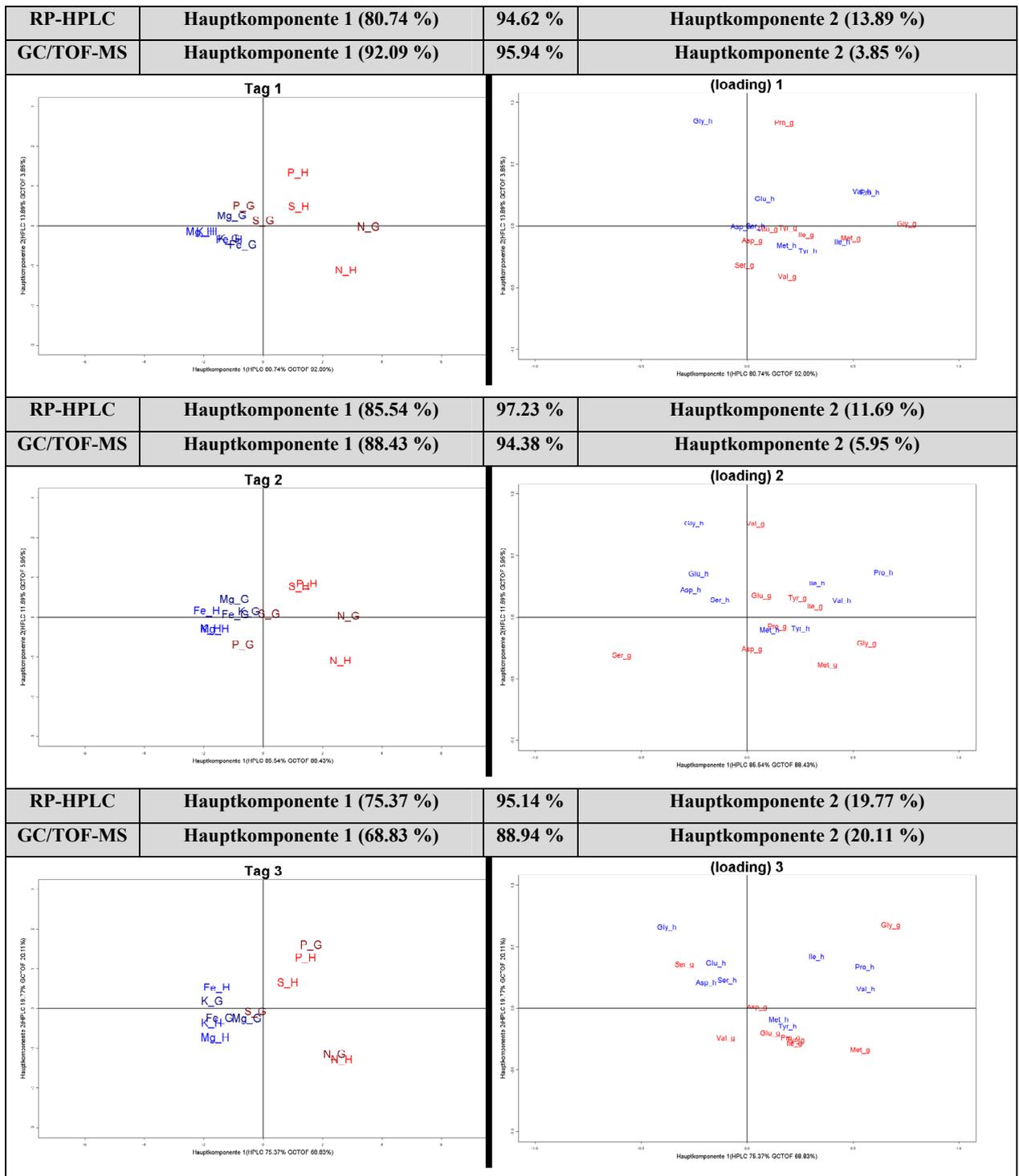
## Ergebnisse

Messdaten zwischen 93 und 97 Prozent und bei den GC/TOF-MS-Messdaten zwischen 83 und 96 Prozent.

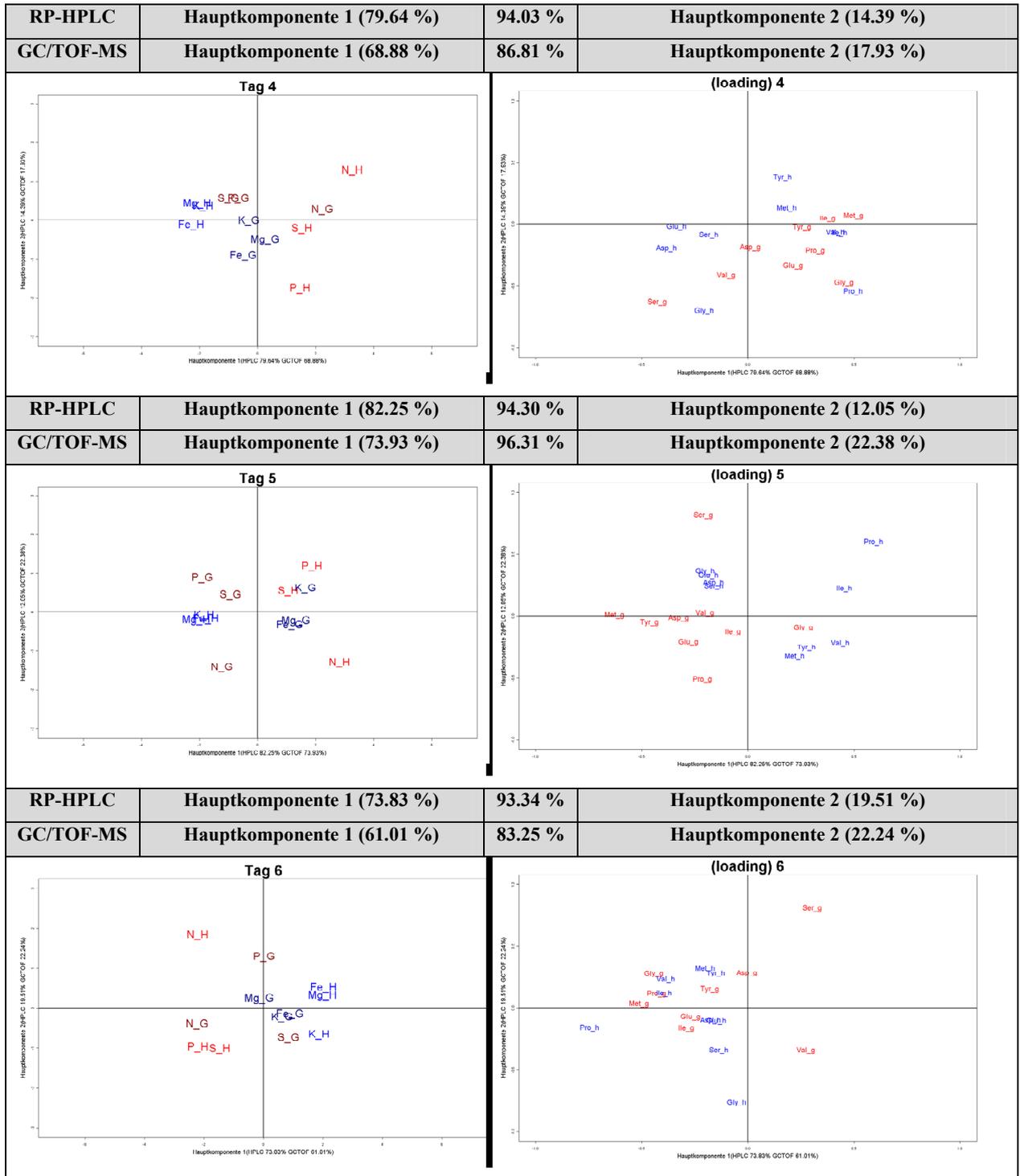


**Abb. 50:** Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS [B] und RP-HPLC [A] bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des ersten bis sechsten Tages

**Tabelle 10: Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter des ersten bis sechsten Tages in Form von PCA-Plots und loading-Grafiken<sup>60</sup>**



<sup>60</sup> Die loading-Grafiken stellen die loading-Werte von Hauptkomponente eins und zwei eines Elementes je als x- und y-Koordinate in einem zweidimensionalen Koordinatensystem dar.



### 3.5 Animierte PCA – Eine Erweiterung der PCA

Dieser Methode liegt die Idee zu Grunde, dass aus statischen PCAs für eine Kinetik „fließende“, d. h. animierte Bilder erzeugt werden können. Zur besseren Darstellung werden sogenannte Zwischenbilder für zwei benachbarte PCAs berechnet und eingefügt (siehe Abb. 51). Die Positionsänderungen der Punkte werden so gleichmäßig, abhängig von der Anzahl der Zwischenbilder, vollzogen. Alle Berechnungen sind mit  $R^{61}$  durchgeführt und die animierte gif-Datei<sup>62</sup> mit Hilfe des Pakets *animation*<sup>63</sup> und der Software *ImageMagick*<sup>64</sup> erzeugt worden. Dafür generiert und speichert man alle Einzelbilder und fügt sie danach zu einer Datei zusammen.

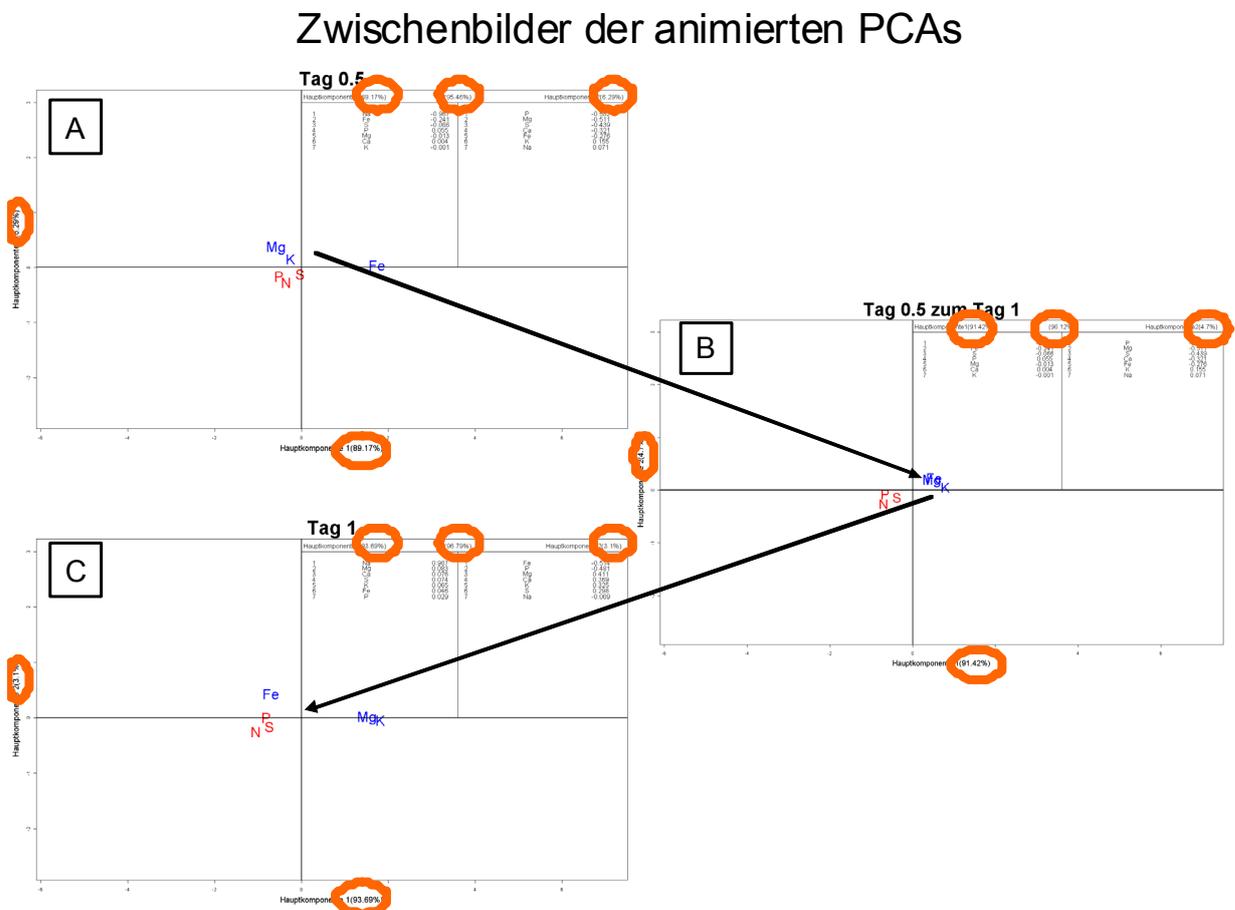


Abb. 51: Ablauf eines animierten PCAs<sup>65</sup>

<sup>61</sup> Siehe Kapitel 2.1.1 R 2.8.0, S. 17.

<sup>62</sup> Gif (Graphics Interchange Format) ist ein Grafikformat, mit dem es möglich ist, mehrere Einzelbilder in einer Datei abzuspeichern und diese beim Ausführen der Datei als Animation anzuzeigen.

<sup>63</sup> Siehe Kapitel 2.1.1.3 R-Paket *animation* 1.0-1 inkl. *ImageMagick* 6.4.3, S. 18.

<sup>64</sup> Siehe ebd.

<sup>65</sup> Es werden die Koordinaten der Punkte aus den PCA-Plots der ganzen Tage [A] und [C] herausgelesen. Darauf folgt die Berechnung der Differenzen und die Kalkulation der Zwischenkoordinaten für das Zwischenbild der PCA-Plots [B]. Dementsprechend wird auch bei den Prozentangaben [orange Kreise] der Varianzabdeckung verfahren.

Zunächst sind die Differenzen jeder Koordinate (x und y) der gleichen Punkte in den beiden *PCA-Plots* im Koordinatensystem mit der Formel  $d_x = abs(x_1 - x_2)$  bzw.  $d_y = abs(y_1 - y_2)$  zu berechnen. Vom Ergebnis wird der absolute Wert genommen. Der nächste Schritt beinhaltet die Feststellung, ob die Differenz der Koordinaten kleiner gleich null ist. Falls dies der Fall ist, wird, um die Änderungsgröße zu den Koordinaten der Zwischenbilder zu ermitteln,  $d_x$  bzw.  $d_y$  durch die Anzahl der Zwischenbilder + 1 dividiert. Die Addition mit eins ergibt sich aus der Tatsache, dass die letzte berechnete Koordinate, der des regulären *PCA-Plots* entspricht. Wenn der Sonstfall eintritt, wird der errechnete Änderungswert negiert, da die Koordinate des zweiten Punktes kleiner ist als die des ersten. Im letzten Schritt erfolgt die Addition des berechneten Änderungswertes zu dem Koordinatenwert des vorangegangenen Bildes, je für x- und y-Wert. Diese Berechnungen werden für jeden Punkt des *PCA-Plots* und ebenso für die Prozentangaben der Hauptkomponenten durchgeführt (Abb. 52). Die erstellten gif-Animationen befinden sich auf der beiliegenden DVD und können mittels eines Bildbetrachters (*Windows Bild- und Faxanzeige; IrfanView*) oder eines Browsers (*Microsoft Internet Explorer; Mozilla Firefox*) eingesehen werden.

Berechnung der Punktkoordinaten für die Zwischenbilder			
Punkt <sub>1</sub> (x <sub>1</sub> =3;y <sub>1</sub> =4)		Punkt <sub>2</sub> (x <sub>2</sub> =6;y <sub>2</sub> =-3)	
Anzahl der Zwischenbilder = 5			
$d_x = abs(x_1 - x_2) = abs(3 - 6) = abs(-3) = 3$		$d_y = abs(y_1 - y_2) = abs(4 - (-3)) = abs(7) = 7$	
dann wenn $(x_1 - x_2) \leq 0 \rightarrow$ wenn $(3 - 6) \leq 0$ sonst		dann wenn $(y_1 - y_2) \leq 0 \rightarrow$ wenn $(4 - (-3)) \leq 0$ sonst	
$\frac{d_x}{(Anzahl\_der\_Zwischenbilder + 1)} = \frac{3}{(5 + 1)} = \frac{3}{6} = 0,5$	$-\frac{d_x}{(Anzahl\_der\_Zwischenbilder + 1)}$	$\frac{d_y}{(Anzahl\_der\_Zwischenbilder + 1)}$	$-\frac{d_y}{(Anzahl\_der\_Zwischenbilder + 1)} = -\frac{7}{(5 + 1)} = -\frac{7}{6} = -1,167$
<b>x-Koordinaten der Zwischenbilder</b> $x_{z1} = x_1 + \text{Änderungswert}_x = 3,5$ $x_{z2} = x_{z1} + \text{Änderungswert}_x = 4$ $x_{z3} = x_{z2} + \text{Änderungswert}_x = 4,5$ $x_{z4} = x_{z3} + \text{Änderungswert}_x = 5$ $x_{z5} = x_{z4} + \text{Änderungswert}_x = 5,5$		<b>y-Koordinaten der Zwischenbilder</b> $y_{z1} = y_1 + \text{Änderungswert}_y = 2,833$ $y_{z2} = y_{z1} + \text{Änderungswert}_y = 1,667$ $y_{z3} = y_{z2} + \text{Änderungswert}_y = 0,5$ $y_{z4} = y_{z3} + \text{Änderungswert}_y = -0,667$ $y_{z5} = y_{z4} + \text{Änderungswert}_y = -1,833$	
Punkt <sub>1</sub> (3;4) → Punkt <sub>z1</sub> (3,5;2,833) → Punkt <sub>z2</sub> (4;1,667) → Punkt <sub>z3</sub> (4,5;0,5) → Punkt <sub>z4</sub> (5;-0,667) ← Punkt <sub>z5</sub> (5,5;-1,833) ← Punkt <sub>2</sub> (6;-3)			

Abb. 52: Beispiel-Berechnung der Punktkoordinaten für die Zwischenbilder<sup>66</sup>

<sup>66</sup> Berechnungsablaufplan mit einer Beispielberechnung der Koordinaten für die Zwischenbilder. Im ersten Schritt werden die Differenzen der x- und y-Koordinaten berechnet. Im nächsten Schritt erfolgt die Berechnung der Differenzwerte in Abhängigkeit zur Anzahl der Zwischenbilder. Zum Schluss wird zur x<sub>1</sub>-Koordinate der Änderungswert addiert. Dieses Ergebnis wird wiederum mit dem Änderungswert addiert usw. So kommen in diesem Beispiel fünf x- und fünf y-Koordinaten für die Zwischenbilder heraus.

### 3.6 Zusammenfassung der Ergebnisse

**Tabelle 11: Zusammenfassung der Ergebnisse**

Bereich		Ergebnis	
Erweiterung für <i>PCAs</i>	Abstandsdiagramm	ein Verlaufsdiagramm, das hilfreich bei der Erkennung der Abstände der Punkte im <i>PCA</i> ist	
Erweiterung für <i>PCAs</i>	animierte <i>PCA</i>	Animation aus mehreren <i>PCAs</i> erstellen, die die Zusammenhänge zwischen diesen deutlicher darstellen	
<b>Element- und Ionendaten</b>			
Blätter, Wurzeln	<i>Heatmaps</i> und <i>Wireframes</i>		stetige Abnahme des entsprechenden Mangel元素的 bzw. Ions über alle Zeitpunkte
			Ionen des Mangel元素的 nehmen schneller ab als deren Elemente
	<i>Heatmaps</i> und <i>Wireframes</i> ( <i>resupply</i> )		Zunahme der entsprechenden Mangel Elemente bzw. Ionen
	<i>Heatmap</i> und <i>Wireframes</i>	Kaliummangel	stetige Natriumzunahme über alle Zeitpunkte
Magnesiummangel			
Blätter		keine Werte für Magnesiummangel am siebenten Tag vorhanden	
Blätter	<i>PCA</i>		Restvarianzerklärung zwischen 85 und 97 Prozent
	<i>PCA-Plots</i> , Abstandsdiagramm		stetiger Wachstum der Punktabstände in den <i>PCAs</i>
	<i>PCA-Plots</i>		Mikronährstoffelement Eisen mit großen Abstand zu restlichen Mikros [Kalium, Magnesium], die eng zusammen stehen
			Makronährstoffelemente verlaufen relativ zusammen, nur Phosphor löst sich von der Gruppe ab dem dritten Tag
	<i>loading-Grafiken</i> , <i>PCA-Plots</i>		Natriumwerte üben starken Einfluss auf Kalium- und Magnesiumposition aus
	<i>Heatmap</i>	Eisenmangel	gemeinsames Cluster von Natrium, Nitrat und Eisen
Magnesiummangel		gemeinsames Cluster von Nitrat und Magnesium	
Blätter ( <i>resupply</i> )	<i>PCA-Plots</i>		alle Abstände sind kleiner beim <i>resupply</i> als beim Tag fünf
	<i>loading-Grafiken</i> , <i>PCA-Plots</i>		Natriumeinfluss negiert sich im Vergleich zum Tag fünf mit entsprechenden Wechsel der Kalium- und Magnesiumposition
	<i>Heatmap</i> und <i>Wireframe</i>	Eisenmangel	Nitrat- und Sulfatzunahme
		Phosphormangel	Nitratzunahme
Schwefelmangel		Nitratzunahme	
Wurzeln	<i>Heatmap</i> und <i>Wireframe</i>	Kaliummangel	stetige Magnesiumzunahme über alle Zeitpunkte
		Phosphormangel	stetige Nitratzunahme über alle Zeitpunkte
		Schwefelmangel	stetige Nitratzunahme vom fünften bis siebenten Tag
Wurzeln ( <i>resupply</i> )	<i>Heatmap</i> und <i>Wireframe</i>	Phosphormangel	Nitrat-, Sulfat-, Eisen- und Magnesiumzunahme
		Schwefelmangel	Eisen- und Magnesiumzunahme
<b>Metaboliten - Literaturvergleich</b>			
Phosphor- und Schwefelmangel		unterschiedliche Tendenzen (Übereinstimmungen und Widersprüche)	

<b>Metaboliten - GC/TOF-MS-Daten</b>			
Blätter, Wurzeln			halber Tag nicht berücksichtigt, da die Daten des halben Tages durch ihre starke Abweichung im Vergleich zu den anderen Werten den kompletten Datensatz verfälschen
Blätter			keine Werte für Magnesiummangel Blätter des siebenten Tages vorhanden
Blätter	Heatmap und Wi-reframe	Stickstoffmangel	Großteil der Metaboliten bleibt im neutralen Bereich
			Abnahme von <i>Fumaric Acid</i> am siebenten Tag
			Abnahme von Glycin (Gly)
		stetige Zunahme von <i>phosphoric acid</i>	
		Phosphormangel	Abnahme von <i>phosphoric acid</i>
			Abnahme von <i>Fumaric Acid</i> vom fünften bis zum siebenten Tag
Blätter (resupply)	Heatmap und Wi-reframe	Phosphormangel	Zunahme von u. a. <i>Fumaric Acid</i> , <i>Glucose-1-phosphat minor</i> und Isoleucin (Ile)
Wurzeln	Heatmap und Wi-reframe	Stickstoffmangel	Zunahme von <i>Glyceric Acid</i> und <i>Galactinol dihydrate major</i>
			Abnahme von <i>Succinic Acid</i> , Glutaminsäure (Glu) und Asparaginsäure (Asp)
		Phosphormangel	Abnahme von <i>phosphoric acid</i> , <i>Glyceric Acid</i> , <i>D-Glucose-6-phosphate major</i> und <i>Glycerolphosphate alpha</i>
Wurzeln (resupply)	Heatmap und Wi-reframe	Phosphormangel	Zunahme von u. a. „sucrose“
<b>Metaboliten - RP-HPLC-Daten</b>			
Blätter, Wurzeln	Heatmap und Wi-reframe	Stickstoffmangel	Abnahme der Hauptaminosäuren Asparagin (Asn), Asparaginsäure (Asp), Glutamin (Gln) und Glutaminsäure (Glu)
		Phosphormangel	so gut wie keine Veränderung beim Großteil der Metaboliten (Blätter 20, Wurzeln 18)
		Schwefelmangel	so gut wie keine Veränderung beim Großteil der Metaboliten erkennbar
Blätter			keine Werte für Magnesiummangel Blätter der siebente Tag vorhanden
Blätter	<i>PCA</i>		Restvarianzerklärung zwischen 83 und 93 Prozent
	PCA-Plots, Abstandsdiagramm		Höhepunkt der Abstände der Makronährstoffmangelemente [Stickstoff, Phosphor, Schwefel] am Tag vier
			Abstände der Makronährstoffelemente [Stickstoff, Phosphor, Schwefel] immer größer zueinander als bei den Mikronährstoffmangelementen [Eisen, Kalium, Magnesium]
			Abstände der Mikronährstoffmangelemente sind sehr gering
	loading-Grafiken, PCA-Plots		Arginin (Arg) hat starken Einfluss auf die Phosphor- [Tag 0.5, 4, 5], Schwefel- [Tag 0.5, 1] und Stickstoffposition [Tag 1]
Heatmap und Wi-reframe	Mikronährstoffmangelsituationen (Eisen, Kalium, Magnesium)	Abnahme von Glutathion (GSH), Prolin (Pro) und Valin (Val) leichte Zunahme von Asparagin (Asn), Arginin (Arg) und Glutamin (Gln)	

## Ergebnisse

		Magnesiummangel	Zunahme von Arginin (Arg), v. a. am dritten und vierten Tag
			Zunahme von Valin (Val) vom halben bis zum vierten Tag
		Stickstoffmangel	Abnahme von Glycin (Gly)
		Schwefelmangel	stetige Abnahme von Arginin (Arg), Glutathion (GSH) und Cystein (Cys)
			gemeinsames Cluster der Hauptmassenaminosäuren Asparagin (Asn), Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Glutamin (Gln) und Anstieg am sechsten und siebenten Tag
Blätter (resupply)	Heatmap und Wi- reframe	Schwefelmangel	Abnahme von Arginin(Arg)
			Zunahme von Glutathion (GSH) und Cystein (Cys)
Wurzeln	Heatmap und Wi- reframe	Mikronährstoffmangelsituationen (Eisen, Kalium, Magnesium)	starke Zunahme von Cystein (Cys) am siebenten Tag
		Stickstoffmangel	Zunahme von Isoleucin (Ile), Leucin (Leu) und Arginin (Arg)
			stetige Zunahme von Alanin (Ala)
		Phosphormangel	stetige Zunahme bei Asparagin (Asn), Glutamin (Gln) und besonders bei Arginin (Arg)
Schwefelmangel	Anstieg von Arginin (Arg)		
Wurzel (resupply)	Heatmap und Wi- reframe	Schwefelmangel	Arginin (Arg) Zunahme im Vergleich zum vierten Tag
<b>Metaboliten – Vergleich GC/TOF-MS- und RP-HPLC-Daten</b>			
Blätter, Wurzeln			halber Tag nicht berücksichtigt, da die Daten von GC/TOF-MS durch ihre starke Abweichung im Vergleich zu den anderen Werten den kompletten Datensatz verfälschen
Blätter, Wurzeln	Heatmaps	Kalium- und Schwefelmangel	hauptsächlich Metaboliten eines Messverfahrens clustern zusammen
Blätter			keine Werte für Magnesiummangel Blätter des siebenten Tages vorhanden
Blätter	PCA		Restvarianzerklärung zwischen 93 und 97 Prozent (RP-HPLC) sowie 83 bis 96 Prozent (GC/TOF-MS)
	PCA-Plots, Abstandsdiagramm		RP-HPLC: Höhepunkt der Abstände der Makronährstoffmangелеlemente [Stickstoff, Phosphor, Schwefel] am Tag vier
			GC/TOF-MS: Höhepunkte der Abstände der Makronährstoffmangелеlemente [Stickstoff, Phosphor, Schwefel] am Tag drei und am Tag sechs
			Abstände der Mikronährstoffmangелеlemente [Eisen, Kalium, Magnesium] ist bei beiden Verfahren sehr gering
	Heatmaps	Kaliummangel	Isoleucin (Ile) und Tyrosin (Tyr) beider Verfahren clustern indirekt
Schwefelmangel		Prolin (Pro) und Valin (Val) beider Verfahren clustern indirekt	
Wurzeln	Heatmaps	Kaliummangel	Asparaginsäure (Asp) und Glutaminsäure (Glu) beider Verfahren clustern indirekt
		Schwefelmangel	Glutaminsäure (Glu) beider Verfahren clustern direkt

## 4 Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war es, den gegebenen Messdatensatz anhand von bioinformatischen Methoden zu visualisieren. Diese erstellten Grafiken haben den Zweck Zusammenhänge zwischen Nährstoffen und Stoffwechselwegen anhand verschiedener Metabolit-, bzw. Element- und Ionendaten bei gleichen und unterschiedlichen Mangelsituationen zu erkennen. Für diese Arbeit wurden des Weiteren neue bzw. erweiterte Möglichkeiten der Darstellung des *PCAs* entwickelt (Abstandsdiagramm und animierte *PCA*), die die Interpretation dieser erleichtern und vertiefen sollen.

### 4.1 Vergleich der Visualisierungsmöglichkeiten Heatmap und Wireframe

*Heatmaps* und *Wireframes* können zweidimensionale Datenmatrizen abbilden. Dabei bietet die *Heatmap* (Voraussetzung zur Erstellung dieser ist das installierte R-Paket *gplots*; erhältlich unter der Internetadresse <<http://cran.r-project.org/web/packages/gplots/index.html>>) die Möglichkeit der Sortierung der Spalten und/oder Zeilen nach Durchführung eines Distanzmaßes und anschließender Clusterfunktion. Diese Sortierung ist im Prinzip bei einer *Wireframe* (Voraussetzung zur Erstellung dieser ist das installierte R-Paket *lattice*; erhältlich unter der Internetadresse <<http://cran.r-project.org/web/packages/lattice/index.html>>) auch möglich. Allerdings waren mit den genutzten Paketen für *R* diese Funktionen nicht direkt implementiert und so mussten die Datenmatrizen vorher einer Distanz- und einer Clusterfunktion unterzogen und danach sortiert in eine neue Matrix geschrieben werden. Den Vorteil der *Heatmap* stellt dabei die grafische Ausgabe von z. B. sich ähnlich verhaltenen Metaboliten (Clusterbildung) als Baumstruktur dar, was die Interpretation im großen Maße erleichtert, aber bei einem *Wireframe* nicht möglich ist. *Heatmaps* bilden die Werte der Datenmatrix direkt als Farbe abhängig vom entsprechenden Farbcode in der Grafik ab, wohingegen bei einem *Wireframe* ein Farbblock von den Werten der vier Eckpunkte abhängig ist, was die Analyse anhand der Farbcodierung schwieriger gestaltet. Trotzdem lassen sich mit Hilfe der *Wireframes* Höhen und Tiefen der Werte an den Ausbuchtungen im abgebildeten dreidimensionalen Netz sehr gut beobachten. Allerdings leidet die Übersichtlichkeit bei einer Vielzahl von Spalten und Zeilen, da die Beschriftung derer dann nur über eine Legende möglich ist. Die *Heatmap* bietet dagegen auch bei einer größeren Anzahl von Spalten und Zeilen eine gute übersichtliche Darstellung der Werte. Beim Einsatz der beiden Visualisierungsmöglichkeiten scheinen die Vorteile einer *Heatmap* zu überwiegen, da zum größten Teil diese Darstellungsform gewählt wird und sich die Anzahl der Publikationen mit *Wireframes* in der Bioinformatik sehr gering ist. Ferner ist die Erstellung einer *Heatmap* einfacher und schneller durchzuführen und z. T. einfacher zu interpretieren, da für eine *Wireframe*-Darstellung das Ermitteln der perfek-

ten Sichtwinkels, um das Datennetz bei der dreidimensionalen Darstellung komplett betrachten zu können, einen sehr großen Zeitfaktor beinhaltet. Aus diesem Grund ist eine *Heatmap*-einer *Wireframe*-Darstellung vorzuziehen.

### 4.2 Die erweiterten Möglichkeiten der Analyse durch die *PCA*-Erweiterungen Abstandsdiagramm und animierte *PCA*

Beide Erweiterungen finden ihren Einsatz bei der Visualisierung von Datensätzen durch mehrere *PCAs* (z. B. zu jedem Messzeitpunkt ein *PCA*). Das Abstandsdiagramm liest die Distanzen der Punkte oder Gruppen von Punkten (wie in dieser Arbeit mikro und makro) zueinander aus und bildet diese in einem Verlaufsdigramm ab. Es bietet damit eine sehr gute Übersicht der Abstände in den *PCAs*, die ansonsten nur schwer differenzierbar sind. Dabei lassen sich eine Vielzahl von statistischen Funktionen (Minimum, Maximum oder Durchschnitt) integrieren, die eine noch detailliertere grafische Ausgabe für die spätere Interpretationen bieten. Jedoch sollte ein gewisses Übermaß an Kriterien/Linien (ca. neun) im Diagramm nicht überschritten werden, da ansonsten die Übersichtlichkeit leidet.

Die zweite Neuentwicklung dieser Arbeit stellt die animierte *PCA* dar. Sie zeigt die *PCAs* eines Datensatzes in z. B. der zeitlichen Reihenfolge und berechnet für die abgebildeten Punkte Zwischenbilder, so dass eine flüssige Bilderfolge der *PCAs* entsteht. Damit lassen sich Veränderungen zwischen den *PCAs* leichter, schneller und komfortabler erkennen, im Gegensatz zur Betrachtung der einzelnen Grafiken nebeneinander. Ein nicht zu verachtender Nachteil der Animation ist aber, dass sie nur direkt am PC abgespielt und nicht in einer Veröffentlichung abgedruckt werden kann. Dies ist nur möglich, indem die einzelnen *PCAs* extrahiert und publiziert werden.

### 4.3 Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Eisen

Bei dem verwendeten Datensatz für diese Arbeit ist zunächst der Eisenmangel innerhalb der Pflanzen an Wurzeln und Blättern durch die *Heatmaps* und *Wireframes* nachgewiesen worden. Diese zeigen eine Abnahme des Totalelementes (Abb. 21) wie auch eine Zunahme des Eisengehaltes nach dessen Wiederzuführung (Abb. 22). Auffällig waren sowohl ein gemeinsames Cluster des Nitrat- und Eisengehaltes in den Blättern als auch die starke Abnahme des Nitrats in den Blättern am Zeitpunkt „resupply“. Die RP-HPLC-Ergebnisse (Abstandsdiagramm [Abb. 47] + *PCA-Plots* und *loading*-Grafiken [Tabelle 9]) weisen eine starke Ähnlichkeit der Mikromangelsituationen (Eisen, Kalium, Magnesium) auf. Die *Heatmaps* und *Wireframes* bestätigen dies, indem sich in den jeweils drei gebildeten Clustern (abnehmender, konstanter und zunehmender Gehalt) der Blätterdaten größtenteils die gleichen Metaboliten

zusammenfinden. Aber grundsätzlich ist der Großteil der mit GC/TOF-MS bzw. RP-HPLC (Abb. 40) gemessenen Metabolitgehalte im Vergleich zur Kontrolle unverändert.

Die Publikation von Thimm et al. (2001) beinhaltet die transkriptionelle Untersuchung von *Arabidopsis* unter Eisenmangel an drei Messzeitpunkten (1, 3, 7 Tagen). Es wurde gezeigt, dass die ansteigende Atmungsaktivität eine Antwort auf den Eisenmangel ist und transkriptionelle Regulationen von einzelnen Genen zur Stoffwechselkodierung einbezogen waren. Des Weiteren werden in der Publikation von Baxter et al. (2008) Ionengehalte der Triebe von *Arabidopsis thaliana* unter Eisenmangel nach fünf Wochen des Wachstums gemessen und veränderte Konzentrationen der Mikronährstoffe (Mn, Co, Zn, Mo, Cd) detektiert. Außerdem wurde die mögliche Eisendefizienz der Pflanzen unter Mangelsituationen (z. B. von Kalzium, Magnesium, Nitrat) bestimmt, wobei keines der drei genannten Elemente bzw. Ionen eine signifikante Veränderung zur entsprechenden Kontrolle zeigte.

Der Vergleich der hier zu Grund liegenden Ergebnisse mit Daten aus anderen Veröffentlichungen gestaltet sich schwierig, da zum einem die gewählten Messbedingungen nicht miteinander vergleichbar sind oder zum anderen keine Metabolitdaten sondern u. a. Transkriptdaten bestimmt wurden. Zusammenfassend lassen die hier dargestellten Ergebnisse der Element- und Ionendaten unter Eisenmangel eine Beeinflussung des Mangels auf den Nitratgehalt vermuten (Blätter), während hinsichtlich der meisten Metabolitgehalte kaum Veränderungen im Vergleich zur Kontrolle auftreten (Blätter+Wurzeln).

#### 4.4 Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Kalium

Ähnlich wie bei Eisenmangel konnte anhand der Element- und Ionendaten die Reduktion des Mangel-elementgehaltes Kalium nachgewiesen werden (Abb. 23) bzw. die Zunahme beim Zeitpunkt „resupply“. Des Weiteren ist eine Natriumgehaltszunahme in den Blättern und Wurzeln zu verzeichnen. Außerdem ist die Ähnlichkeit der anhand von RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten zu den anderen Mikronährstoffmangelsituationen zu erwähnen (Abstandsdiagramm [Abb. 47] + *PCA-Plots* und *loading*-Grafiken [Tabelle 9]). Dies wurde ausführlich im Abschnitt zuvor beschrieben.

*Arabidopsis thaliana* unter Kaliummangel wurde beispielsweise in der Veröffentlichung von Maathuis et al. (2003) auf der Transkriptionsebene untersucht. Dabei zeigten sich eine Vielzahl von Transkriptlevelwechsel von vielen Genen der meisten Transporterfamilien. Da keine Metabolitdaten gemessen wurden, ist die direkte Vergleichbarkeit mit den hier gezeigten Daten nicht gegeben.

Die beobachtete Natriumgehaltszunahme liegt vermutlich darin begründet, dass Natrium als Kompensator für den verringerten Kaliumgehalt innerhalb der Pflanze genutzt wird und ist

dementsprechend in höheren Mengen vorhanden. Die meisten Metabolitgehalte zeigen kaum Veränderungen im Vergleich zur Kontrolle auf (Abb. 41).

### 4.5 Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Magnesium

Die *Heatmaps* und *Wireframes* der Element- und Ionendaten bilden eine stetige Zunahme der Natriumwerte im Vergleich zu einem abnehmenden Magnesiumgehalt ab (Abb. 24). Die Analogie von Eisen-, Kalium- und Magnesiummangel der mit RP-HPLC gemessenen Metabolitdaten der Blätter ist anhand des Abstandsdiagrammes (Abb. 47) und den *PCA-Plots* und *loading*-Grafiken (Tabelle 9) erkennbar.

Die Situation Magnesiummangel wurde bisher in *Arabidopsis thaliana* selten beschrieben. Gardner (2003) untersucht den Stoffwechsel von Magnesium und Magnesiumtransportierenden Genen in Pflanzen, jedoch liefert er keine Anhaltspunkte für einen möglichen Vergleich mit den hier dargestellten Daten. Dementsprechend stellt dies eine Erstveröffentlichung dar.

Der Einsatz von Natrium als Kompensator für das reduzierte Magnesium (wie unter 4.4 beschrieben) erklärt vermutlich die Zunahme des Natriumgehaltes in Blättern und Wurzeln der Pflanze. Die Veränderungen der meisten Metabolitgehalte sind im Vergleich zur Kontrolle marginal (Abb. 42).

### 4.6 Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Stickstoff

In der vorliegenden Arbeit ist erstens der Stickstoffmangel anhand vom Gehalt des Nitrat-Ions in Blättern und Wurzeln nachgewiesen worden (Abb. 25 + Abb. 26). Zweitens ist bei den Metabolitdaten, die durch das Verfahren GC/TOF-MS gemessen wurden (Abb. 37), eine kontinuierliche Zunahme von „phosphoric acid“ in den Blättern und „Glyceric Acid“ wie auch „Galactinol dihydrate major“ in den Wurzeln zu beobachten, was auf einen Zusammenhang schließen lässt. Bei den Metabolitdaten des RP-HPLC-Messverfahrens weisen die Hauptamino-säuren Asparagin (Asn), Asparaginsäure (Asp), Glutamin (Gln) und Glutaminsäure (Glu) bei beiden Pflanzenmaterialien eine Abnahme im Vergleich zur Kontrolle auf (Abb. 43). Während der Großteil der Metabolitgehalte unverändert im Vergleich zur Kontrolle bleibt, sind die Hauptamino-säuren aufgrund ihres hohen Vorkommens in ihren Konzentrationen verhältnismäßig reduziert. Da es sich bei den beschriebenen Aminosäuren um die Massenamino-säuren handelt und die Aminosäuren Glutamin und Glutamat direkt aus dem GOGAT-Stoffwechselweg hervorgehen (Heldt & Piechulla, 2008), der den Abschluss der Stickstofffixierung darstellt, ist dies als eine Konsequenz des Stickstoffmangels anzusehen.

Die Veröffentlichung von Wang et al. (2000) beschreibt eine genomische Analyse von Arabidopsisreaktionen auf Stickstoffmangel. Dabei wurden mehr als 15 neue, nitraterzeugende Ge-

ne in Arabidopsis identifiziert, mehr als doppelt so viele wie bis dato bekannt waren. Colebatch et al. (2002) untersuchte die symbiotische Stickstofffixierung in Wurzeln des *Lotus japonicus* und identifizierte eine Reihe involvierte Gene. Im Gegensatz dazu beschreibt Hesse et al. (2004) neben der transkriptionellen auch metabolische Veränderungen von Parametern des Stickstoff- und Sulfatstoffwechsels. In Korrespondenz mit den abgebildeten Daten werden in diesem Review unter Stickstoffmangel keine Veränderung der Cystein (Cys)- und Glutathion (GSH)-Spiegel beschrieben.

### 4.7 Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Phosphor

Mit Hilfe der Element- und Ionendaten war der Nachweis des Phosphatmangels durch die Abnahme des Phosphor- und Phosphatgehaltes möglich (Abb. 27 + Abb. 28). Dabei nahm der Ionengehalt schneller ab, als der des Totalelementes. Weiterhin ist eine kontinuierliche Zunahme des Nitratgehaltes in den Wurzeln über alle Zeitpunkte zu beobachten, was auf eine Reaktion durch den Phosphatmangel hinweist. Die GC/TOF-MS-Metabolitdaten beider Pflanzenmaterialien weisen eine Abnahme von „phosphoric acid“ auf, das u. a. Phosphor enthält und dementsprechend reagiert (Abb. 38). Ähnlich sieht es bei den Metaboliten „D-Glucose-6-phosphate major“ und „Glycerolphosphate alpha“ in den Wurzeln aus, die ebenfalls Phosphor enthalten und deren Gehalte abnehmen. Die Metabolitdaten des RP-HPLC-Verfahrens zeigen größtenteils unveränderte Gehalte (Abb. 44). In den Wurzeln ist noch die Zunahme von Arginin (Arg), Asparagin (Asn) und Glutamin (Gln) zu verzeichnen, was auf eine Reaktion der Pflanze auf den Phosphatmangel schließen lässt.

Anhand der Publikation von Morcuende et al. (2007) wurde schon ein Vergleich der 18 übereinstimmenden Aminosäuren in dieser Arbeit vollzogen (siehe 3.4.1.1). Er ergab zum Teil Übereinstimmungen in der Tendenz (z. B. bezüglich der Aminosäure Alanin (Ala) in Blätter; Abb. 33 [A+B]), aber auch eine Reihe an Widersprüchen (z. B. bezüglich der Aminosäure Methionin (Met); Abb. 33 [C+D]). Die Vergleichbarkeit ist daher nur eingeschränkt möglich. Gründe dafür sind u. a. das abweichende Pflanzenmaterial (komplette Keimlinge statt Blätter und Wurzeln) und andere Messzeitpunkte.

### 4.8 Auswirkungen der Mikronährstoffmangelsituation Schwefel

Die Element- und Ionendaten zeigen während des Schwefelmangels die Abnahme des Schwefel- und Sulfatgehaltes auf und zeigen somit, dass die Mangelsituation eingetreten ist. Dabei nahm der Ionengehalt schneller ab, als der des Totalelementes (Abb. 29 + Abb. 30). Des Weiteren ist eine Nitratzunahme vom fünften bis siebenten Tag in den Wurzeln zu beobachten. Die beiden schwefelenthaltenden Aminosäuren Glutathion (GSH) und Cystein (Cys) nehmen wie vermutet kontinuierlich über alle Zeitpunkte in den Blättern ab (Abb. 45 + Abb. 46). Al-

lerdings ist verwunderlich, das Methionin (Met), obwohl es auch Schwefel enthält, einen konstanten Gehalt während des Mangels im Vergleich zur Kontrolle aufweisen kann.

Die Arbeitsgruppe um Kazuki Saito (Maruyama-Nakashita et al., 2003) untersucht das Transkriptomprofil von Schwefel-responsiven Genen (Sulfattransporter) und zeigten u. a. die Reduktion von Sulfat, Cystein, Methionin und Glutathion in Blättern und Wurzeln von *Arabidopsis* mit mutierten (nicht funktioniellen) Sulfattransportern im Vergleich zum Wildtyp. Die Interaktionen des Sulfatstoffwechsels mit dem Stickstoff- und Kohlenstoffmetabolismus sind in der Veröffentlichung von Hesse et al. (2004) diskutiert. Unter Schwefelmangelsituation wird einerseits eine Akkumulation der Aminosäuren Arginin (Arg) und Asparagin (Asn) und andererseits eine Reduktion der schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin (Met) und Cystein (Cys) beschrieben, während eine Zunahme von Arginin (Arg) und Asparagin (Asn) in den in Abb. 45 dargestellten Daten nicht detektierbar war, konnte eine deutliche Reduktion der Glutathion (GSH)- und Cystein (Cys)-Gehalte in Blättern unter Schwefelmangel gezeigt werden. Die Publikation von Nikiforova et al. (2005a) wurde für einen Vergleich der 16 übereinstimmenden Aminosäuren in dieser Arbeit genutzt (siehe 3.4.1.2). Dabei wurden die Messwerte von Serin (Ser) und Tryptophan (Trp) auch schon in der Publikation von Nikiforova et al. (2003) veröffentlicht und weiterhin in der Publikation Nikiforova et al. (2005b) bei der Untersuchung der Informationsflüsse in Kommunikationsnetzwerken von *Arabidopsis thaliana* unter Schwefelmangel anhand von Transkript- und Metabolitdaten genutzt. Allerdings überschatteten beim Vergleich mit Nikiforova et al. (2005a) Übereinstimmungen (beispielsweise die Aminosäure Asparaginsäure; Abb. 34), aber auch eine Reihe von Widersprüchen (beispielsweise die Aminosäure Isoleucin; Abb. 35) die Ergebnisse, wodurch keine eindeutige Aussage getroffen werden konnte. Gründe dafür sind u. a. das abweichende Pflanzenmaterial (kompletten Keimlinge statt Blätter und Wurzeln) und andere Messzeitpunkte. Insgesamt ist bei allen nicht Schwefel-enthaltenden Metaboliten keine Veränderung der Gehalte im Vergleich zur Kontrolle unter Schwefelmangel zu verzeichnen.

#### **4.9 Vergleich der durch die Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitmesswerte**

GC/TOF-MS und RP-HPLC bilden trotz der gleichen zu bestimmenden Metaboliten und Proben unterschiedliche Ergebnisse für diese ab. Zum einem zeigen die *Heatmaps* in Abb. 48 und Abb. 49 gemeinsame Cluster der gleichen Metaboliten der beiden Messverfahren, was für ähnliche Metabolitgehalte sprechen würde, zum anderen ergeben sich Cluster der Metaboliten eines Messverfahrens, dass für unterschiedliche Gehalte steht. Einen analogen Eindruck hinterlassen die Abstandsdiagramme in Abb. 50 [A+B] und zugehörigen *PCA-Plots* mit *loading-*

Grafiken in Tabelle 10. Einerseits verlaufen die Mikronährstoffmangelsituationen sehr ähnlich zueinander bei beiden Verfahren, aber andererseits ist der Abstandshöhepunkt der RP-HPLC-Daten am vierten Tag und bei GC/TOF-MS am dritten Tag. Dies kann mehrere Ursachen haben. Erstens sind die Ergebnisse der GC/TOF-MS-Daten relativ unausgeglichen, beispielsweise waren die Werte des halben Tages deutlich höher als die der restlichen Zeitpunkte und wurden deshalb herausgestrichen. Zweitens werden unterschiedliche Chemikalien zur Bestimmung genutzt, was ebenfalls in nicht kongruenten Messwerten resultieren kann. Außerdem können Chromatogramme der GC/TOF-MS neben dem Hauptpeak des untersuchten Metaboliten auch weitere kleinere Peaks aufweisen, was die Metabolitbestimmung erschwert.

### 4.10 Ausblick

Die Auswertung der Messwerte von Metabolitgehalten unter Nährstoffmangelsituationen in *Arabidopsis thaliana* mit den verwendeten Visualisierungswerkzeugen stellt eine potentielle Möglichkeit der Analyse dar. Allerdings könnten noch andere zusätzliche Darstellungsmethoden genutzt werden, um eine vertiefte Interpretation der Messdaten zu ermöglichen, beispielsweise durch Anwendung der *Independent Component Analysis (ICA)*, die Daten so linear transformiert, dass die Komponenten statistisch unabhängig sind. Im Gegensatz dazu waren die verwendeten Messmethoden durch ihre vielen Fehlwerte eher suboptimal. Bei nachfolgenden Experimenten sollte zum einen die Anzahl der unabhängigen Proben erhöht werden und zum anderen weitere Methoden zur Messung verwendet werden, um die Serie der zu bestimmenden Metaboliten zu steigern.

## 5 Zusammenfassung

Diese Arbeit umfasst die Archivierung, Visualisierung anhand bioinformatischer Methoden und Interpretation eines vorhandenen Messdatensatz (Element [ICP-MS]-, Ionen [IC]- und Metabolitdaten [RP-HPLC und GC/TOF-MS]) der Pflanze *Arabidopsis thaliana* getrennt in Blätter und Wurzeln. Die Pflanzen wurden den sechs Mangelsituationen der Nährstoffe Eisen, Kalium, Magnesium, Stickstoff, Phosphor und Schwefel ausgesetzt und zu neun Messzeitpunkten [0.5-, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-in Tagen und „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag)] analysiert. Es erfolgte die Integration der Messdaten in eine *SQLite*-Datenbank. Die Veranschaulichung erfolgte mit Hilfe der Programmiersprache *R*. Anhand einiger Pakete zur Erweiterung des Funktionsumfangs von *R* wurde erstens eine Schnittstelle zur *SQLite*-Datenbank hergestellt, was ein Abfragen an diese ermöglichte und zweitens verhalfen sie zu der Erstellung einer Reihe zusätzlicher Darstellungsformen (*Heatmap*, *Wireframe*, *PCA*). Selbstgeschriebene Skripte erlaubten den Datenzugriff und die grafische Ausgabe als z. B. *Heatmaps*. In der Entstehung dieser Arbeit sind weiterhin zwei weitere Visualisierungsformen von *PCA*-Daten entwickelt worden: Das Abstandsdiagramm und die animierte *PCA*. Beides sind hilfreiche Werkzeuge zur Interpretation von *PCA*-Plots eines zeitlichen Verlaufes.

Anhand der Darstellungen der Element- und Ionendaten ließen sich die Nährstoffmangelsituationen durch Abnahme der entsprechenden Totalelemente und Ionen nachweisen. Weiterhin sind starke Ähnlichkeiten der durch RP-HPLC bestimmten Metaboliten unter Eisen-, Kalium- und Magnesiummangel erkannt worden. Allerdings gibt es nur eine geringe Anzahl an Interaktionen der Metabolitgehalte, da der Großteil der Metabolitlevel im Vergleich zur Kontrolle unverändert blieb.

Der Literaturvergleich mit zwei Publikationen, die den Phosphat- und Schwefelmangel in *Arabidopsis thaliana* untersuchten, zeigte ein durchwachsenes Ergebnis. Einerseits gab es eine gleiche Tendenz der verglichenen Aminosäuren zu verzeichnen, aber andererseits wiesen die Visualisierungen auch Gegensätzlichkeiten auf.

Der Vergleich der mit RP-HPLC und GC/TOF-MS gemessenen Metaboliten erbrachte ein sehr kontroverses Ergebnis. Zum einen wurden Übereinstimmungen der gleichen Metaboliten durch gemeinsame Cluster in den *Heatmaps* beobachtet, zum anderen auch Widersprüche, exemplarisch in den Abstandsdiagrammen der Blätterdaten jedes Verfahrens, in welchen unterschiedliche Abstandshöhepunkte erkennbar sind.

## 6 Literaturverzeichnis

**AlphaCrom OHG.** 12.11.2008. Detektoren für HPLC – Anlagen

<[http://www.alphacrom.de/german-pages/hplc\\_geraete/detektoren.htm](http://www.alphacrom.de/german-pages/hplc_geraete/detektoren.htm)>.

**Armengaud P, Breitling R & Amtmann A.** 2004. The Potassium-Dependent Transcriptome of Arabidopsis Reveals a Prominent Role of Jasmonic Acid in Nutrient Signaling. *Plant Physiology*, **136**, S. 2556-2576.

**Arnon DI & Stout PR.** 1939. The Essentiality of Certain Elements in Minute Quantity for Plants with Special Reference to Copper. *Plant Physiology*, **14**, S. 371-375.

**Baxter IR, Vitek O, Lahner B, Muthukumar B, Borghi M, Morrissey J, Guerinot ML & Salt DE.** 2008. The Leaf Ionome as a Multivariable System to Detect a Plant's Physiological Status. *PNAS*, **105**, S. 12081-12086.

**Bortz J.** 2005. Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler. 6. Aufl. Springer Medizin Verlag, Heidelberg.

**Bruckner MZ.** 09.12.2008. What is Ion Chromatography.

<[http://serc.carleton.edu/microbelife/research\\_methods/biogeochemical/ic.html](http://serc.carleton.edu/microbelife/research_methods/biogeochemical/ic.html)>.

**Buchanan BB, Gruissem W & Jones RL.** 2000. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists.

**Colebatch G, Kloska S, Trevaskis B, Freund S, Altmann T & Udvard MK.** 2002. Novel Aspects of Symbiotic Nitrogen Fixation Uncovered by Transcript Profiling with cDNA Arrays. *MPMI*, **15**, S. 411-420.

**Engels JW & Lottspeich F.** 2006. Bioanalytik. 2. Aufl. Elsevier GmbH München. Spektrum Akademischer Verlag.

**Eriksson L, Johansson E, Kettaneth-Wold N & Wold S.** 2001. Multi- and Megavariate Data Analysis; Principles and Applications. *Umetrics Academy*.

**Fachinformationszentrum (FIZ) Chemie Berlin.** 12.11.2008. HPLC - mobile Phase.

<[http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/croma/hplc\\_detail1.vlu/Page/vsc/de/ch/3/anc/croma/hplc/mob\\_phase/mobphasem63ht0400.vscml.html](http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/croma/hplc_detail1.vlu/Page/vsc/de/ch/3/anc/croma/hplc/mob_phase/mobphasem63ht0400.vscml.html)>.

**Gardner RC.** 2003. Genes for Magnesium Transport. *Current Opinion in Plant Biology*, **6**, S. 263-267.

**Harvey D.** 12.01.2009. Using R for a Principal Component Analysis.

<<http://fs6.depauw.edu:50080/~harvey/Chem%20351/PDF%20Files/Handouts/RDocs/Using%20R%20for%20a%20Principle%20Component%20Analysis.pdf>>.

**Heldt HW & Piechulla B.** 2008. Pflanzenbiochemie. 4. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag.

- Hell R.** 1997. Molecular Physiology of Plant Sulphur Metabolism. *Planta*, **202**, S. 138-148.
- Hesse H, Nikiforova V, Gakière B & Hoefgen R.** 2004. Molecular Analysis and Control of Cysteine Biosynthesis: Integration of Nitrogen and Sulphur Metabolism. *Journal of Experimental Botany*, **55**, S. 1283-1292.
- Hipp DR.** 04.12.2008. About SQLite. <<http://www.sqlite.org/about.html>>.
- Hoffmann MH.** 2002. Biogeography of *Arabidopsis thaliana* (L.) heynh. (Brassicaceae). *Journal of Biogeography*, **29**, S. 125-134.
- Hübl W.** 12.11.2008. Säulen-Chromatographie.  
<[http://www.med4you.at/laborbefunde/techniken/chromatographie/lbef\\_chromatographie\\_hplc\\_gc.htm](http://www.med4you.at/laborbefunde/techniken/chromatographie/lbef_chromatographie_hplc_gc.htm)>.
- Hübl W.** 09.12.2008. Chromatographie.  
<[http://www.med4you.at/laborbefunde/techniken/chromatographie/lbef\\_chromatographie.htm](http://www.med4you.at/laborbefunde/techniken/chromatographie/lbef_chromatographie.htm)>.
- Ihaka R & Gentleman R.** 1996. R: A Language for Data Analysis and Graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, **5**, S. 299-314.
- Kataoka T, Hayashi N, Yamaya T, and Takahashi H.** 2004. Root-to-Shoot Transport of Sulfate in Arabidopsis. Evidence for the Role of SULTR3;5 as a Component of Low-Affinity Sulfate Transport System in the Root Vasculature. *Plant Physiology*; **136**, S. 4198-4204.
- Koornneef M, Alonso-Blanco C & Vreugdenhil D.** 2004. Naturally Occurring Genetic Variation in Arabidopsis Thaliana. *Annu. Rev. Plant Biology*, **55**, S. 141-72.
- Kutz A, Müller A, Hennig P, Kaiser WM, Piotrowski M, Weiler EW.** 2002. A Role for Nitrilase 3 in the Regulation of Root Morphology in Sulphur-Starving *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal*, **30**, S. 95-106.
- LemnaTec GmbH.** 28.11.2008. Arabidopsis FAQ.  
<[http://www.lemnatec.de/arabidopsis\\_faq.htm](http://www.lemnatec.de/arabidopsis_faq.htm)>.
- Lodder RA.** 12.11.2008. HPLC: A Users Guide.  
<[http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/theory\\_of\\_operation.html](http://kerouac.pharm.uky.edu/asrg/hplc/theory_of_operation.html)>.
- Maathuis FJM, Filatov V, Herzyk P, Krijger GC, Axelsen KB, Chen S, Green BJ, Li Y, Medagan KL, Sánchez-Fernández R, Forde BG, Palmgren MG, Rea PA, Williams LE, Sanders D & Amtmann A.** 2003. Transcriptome Analysis of Root Transporters Reveals Participation of Multiple Gene Families in the Response to Cation Stress. *The Plant Journal*. **35**, S. 675-692.

- Marschner H.** 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants Second Edition. Academic Press Limited. First Edition 1986. Reprinted 1988. Typeset by Paston Press Ltd. London/Norfolk. Printed in Great Britain by The University Printing House, Cambridge.
- Maruyama-Nakashita A, Inoue E, Watanabe-Takahashi A, Yamaya T & Takahashi H.** 2003. Transcriptome Profiling of Sulfur-Responsive Genes in *Arabidopsis* Reveals Global Effects of Sulfur Nutrition on Multiple Metabolic Pathways. *Plant Physiology*, **132**, S. 597-605.
- Mathworks The.** 2004. MATLAB 7: The Language of Technical Computing. <<http://www.mathworks.de/mason/tag/proxy.html?dataid=4364&fileid=18842>>.
- Meili R.** 28.02.2009. Einführung in S-Plus 6 für Windows <<http://stat.ethz.ch/~statsoft/stat.programme/splus6win.pdf>>.
- Morcuende R, Bari R, Gibon Y, Zheng W, Pant BD, Bläsing O, Usadel B, Czechowski T, Udvardi MK, Stitt M & Scheible WR.** 2007. Genome-Wide Reprogramming of Metabolism and Regulatory Networks of *Arabidopsis* in Response to Phosphorus. *Plant, Cell and Environment*, **30**, S. 85-112.
- Nikiforova VJ, Freitag J, Kempa S, Adamik M, Hesse H & Hoefgen R.** 2003. Transcriptome Analysis of Sulphur Depletion in *Arabidopsis thaliana*: Interlacing of Biosynthetic Pathways Provides Response Specificity. *The Plant Journal*, **33**, S. 633-650.
- Nikiforova VJ, Gakiere B, Kempa S, Adamik M, Willmitzer L, Hesse H, Hoefgen R.** 2004. Towards Dissecting Nutrient Metabolism in Plants: a Systems Biology Case Study on Sulphur Metabolism. *Journal of Experimental Botany*, **55**, S. 1861-1870.
- Nikiforova VJ, Kopka J, Tolstikov V, Fiehn O, Hopkins L, Hawkesford MJ, Hesse H, Hoefgen R.** 2005a. Systems Rebalancing of Metabolism in Response to Sulfur Deprivation, as Revealed by Metabolome Analysis of *Arabidopsis* Plants. *Plant Physiology*, **138**, S. 304-318.
- Nikiforova VJ, Daub CO, Hesse H, Willmitzer L & Hoefgen R.** 2005b. Integrative genome-metabolite network with implemented causality deciphered informational fluxes of sulphur stress response. *Journal of Experimental Botany*, **56**, S. 1887-1896.
- Nottingham Arabidopsis Stock Centre.** 28.11.2008. What is *Arabidopsis*?. <[http://arabidopsis.info/InfoPages?template=arabidopsis;web\\_section=arabidopsis](http://arabidopsis.info/InfoPages?template=arabidopsis;web_section=arabidopsis)>.
- Sachs L.** 2002. Angewandte Statistik - Anwendung statistische Methoden. 10. Aufl. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York.
- Schachtman DP & Shin R.** 2007. Nutrient Sensing and Signaling: NPKS. *Annu. Rev. Plant Biology*, **58**, S. 47-69.
- Schmidt KH, Gebel A.** 22.01.2009. Was ist ICP-MS?. <<http://www.icp-ms.de/wasist.html>>.

- Schulze W, Schulze ED, Stadler J, Heilmeier H, Stitt M & Mooney HA.** 1994. Growth and Reproduction of *Arabidopsis thaliana* in Relation to Storage of Starch and Nitrate in the Wild-type and in Starch-deficient and Nitrate-uptake-deficient Mutants. *Plant, Cell and Environment*, **17**, S. 795-809.
- Schwartz M, Harrell F, Jr., Rossini A & Francis I.** 04.12.2008. R: Regulatory Compliance and Validation Issues a Guidance Document for the Use of R in Regulated Clinical Trial Environments. <<http://www.r-project.org/doc/R-FDA.pdf>>.
- Scott RPW.** 09.12.2008. Ion Chromatography. <<http://www.chromatography-online.org/topics/ion/chromatography.html>>.
- Smith FW, Mudge SR, Rae AL & Glassop D.** 2003. Phosphate Transport in Plants. *Plants and Soil*, **248**, S. 71-83.
- Smith LI.** 12.01.2009. A Tutorial on Principal Components Analysis. <[http://www.seas.harvard.edu/courses/cs171/lectures/principal\\_components.pdf](http://www.seas.harvard.edu/courses/cs171/lectures/principal_components.pdf)>
- Stark A.** 09.12.2008. Ionenchromatographie. <<http://www.fz-juelich.de/zch/ic>>.
- Stark A.** 22.01.2009. Massenspektrometrie mit induktiv gekoppelter Plasmaionenquelle (ICP-MS). <<http://www.fz-juelich.de/zch/index.php?index=41>>.
- Stryer L, Berg J & Tymoczko J.** 2002. Biochemistry. 5th Ed. W.H. Freeman and Company, New York.
- Systat.** 2008. SigmaPlot 11 Analyze and Graph Your Data with Unparalleled Ease and Precision. <<http://www.sigmaplot.com/downloads/down/ind.php?fna=sigmaplot.pdf>>.
- Thimm O, Essigmann B, Kloska S, Altmann T & Buckhout TJ.** 2001. Response of Arabidopsis to Iron Deficiency Stress as Revealed by Microarray Analysis. *Plant Physiology*, **127**, S. 1030-1043.
- Wang R, Guegler K, LaBrie ST & Crawford NM.** 2000. Genomic Analysis of a Nutrient Response in Arabidopsis Reveals Diverse Expression Patterns and Novel Metabolic and Potential Regulatory Genes Induced by Nitrate. *The Plant Cell*, **12**, S. 1491-1509.
- Wang R, Okamoto M, Xing X, Crawford NM.** 2003. Microarray Analysis of the Nitrat Response in Arabidopsis Roots and Shoots Reveals over 1,000 Rapidly Responding Genes and New Linages to Glucose, Trehalose-6-Phosphate, Iron, and Sulfate Metabolism. *Plant Physiology*, **132**, S. 556-567.
- Worley J & Kvech S.** 22.01.2009. ICP-MS. <<http://www.cee.vt.edu/ewr/environmental/teach/smprimer/icpms/icpms.htm>>.

## **Die DVD-ROM zur vorliegenden Arbeit**

Auf der beiliegenden DVD-ROM, die nur in einem DVD-ROM-kompatiblen Laufwerk abgespielt werden kann, befinden sich alle für diese Arbeit erstellten Grafiken. Dazu gehören *Heatmaps*, *Wireframes*, *PCA-Plots*, *PCA-loading*-Grafiken, Abstandsdiagramme, animierte *PCAs* und alle Visualisierungen des Literaturvergleiches, die alle mit Hilfe eines Bildbetrachters (*Windows Bild- und Faxanzeige*; *IrfanView*) oder eines Browsers (*Microsoft Internet Explorer*; *Mozilla Firefox*) am PC eingesehen werden können.

Ferner liegen die erstellte *SQLite*-Datenbank „DB\_BigEx“ und alle *R*-Skripte mit Quelltexten dabei. Der Datenträger beinhaltet weiterhin *SQLite* in der Version 3.6.7, *R* für Windows in der Version 2.8.0 und alle verwendeten *R*-Erweiterungspakete (*animation* 1.0-1 + *ImageMagick* 6.4.7-3 für Windows; *gplots* 2.6.0; *lattice* 0.17-14; *RSQLite* 0.6-9) inklusive der zugehörigen Originaldokumentationen im *PDF*-Format (beispielsweise anzeigbar mit dem Adobe Acrobat Reader).

## Danksagung

**M**ein Dank gilt Prof. Dr. Joachim Selbig und Dr. Rainer Höfgen, die mir die Möglichkeit gegeben haben, in der Arbeitsgruppe „Höfgen“ diese Diplomarbeit anfertigen zu können. Für ihre engagierte Betreuung und die Bereitschaft, auftretende Fragen zu jeder Zeit zu diskutieren, was bei der täglichen Arbeit eine große Hilfe war, danke ich meinen Betreuern Dr. Holger Hesse und Matthias Steinfath.

Mein Dank gilt weiterhin allen Mitgliedern der AG Höfgen, die mir bei meinen ersten Schritten in die Wissenschaft hilfreich zur Seite standen. Insbesondere Mariusz Bromke, Hans-Michael Hubberten und Caroline Manger, die mich mit zahlreichen »Tipps und Tricks« im wissenschaftlichen Alltag unterstützten.

Bedanken möchte ich mich auch bei Birgit, Janin und Marc für das Lesen und die Korrektur dieses Manuskripts.

Abschließend möchte ich mich bei all jenen bedanken, die während der Diplomarbeit für manch ablenkende Aufheiterung sorgten, insbesondere meiner Kickerbande (Basti, Birgit und Carsten) uvm.

Mein ganz besonderes Dankeschön gilt noch meiner Familie, die mir dieses Studium ermöglichte und mich in jeder Hinsicht unterstützte.

## Abkürzungsverzeichnis

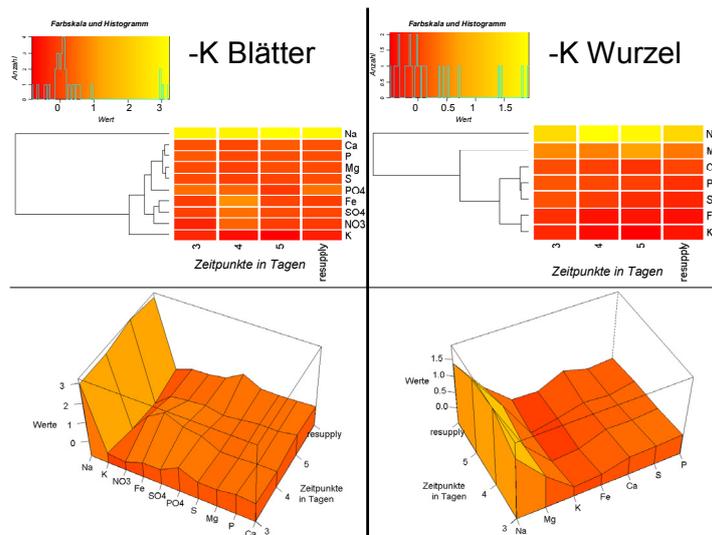
ADP	Adenosindiphosphat
Ala	Alanin (alanine)
AMP	Adenosinmonophosphat
Arg	Arginin (arginine)
Asn	Asparagin (asparagine)
Asp	Asparaginsäure (aspartic acid)
ATP	Adenosintri-phosphat
$Ca^{2+}$	Kalziumion
$CO_2$	Kohlenstoffdioxid
$C_{10}H_{14}N_5O_7P$	Adenosinmonophosphat
CRAN	Comprehensive R Archive Network
Cys	Cystein (cysteine)
DNA (DNS)	<b>D</b> esoxyribo <b>N</b> ucleic <b>A</b> cid ( <b>D</b> esoxyribo <b>N</b> uklein <b>S</b> äure)
ECD	<b>E</b> lektrochemischer <b>D</b> etektor
<i>Fe</i>	Eisen
FIZ	<b>F</b> ach <b>I</b> nformations <b>Z</b> entrum
GC	<b>G</b> as <b>C</b> hromatography (Gaschromatographie)
GC/TOF-MS	<b>G</b> as <b>C</b> hromatography / <b>T</b> ime <b>o</b> f <b>F</b> light - <b>M</b> ass <b>S</b> pectrometry (Gaschromatographie / Flugzeit - Massenspektrometrie)
gif	<b>G</b> raphics <b>I</b> nterchange <b>F</b> ormat
Gln	Glutamin (glutamine)
Glu	Glutaminsäure (glutamic acid)
Gly	Glycin (glycine)
GNU	GNU is not Unix
GPL	GNU General Public License
GSH	Glutathion (glutathione)
GUI	<b>G</b> raphical <b>U</b> ser <b>I</b> nterface
$H_3PO_4$	Phosphorsäure (phosphoric acid)
His	Histidin (histidine)
HPLC	<b>H</b> igh <b>P</b> erformance <b>L</b> iquid <b>C</b> hromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
IC	<b>I</b> on <b>C</b> hromatography (Ion-Chromatographie)

ICP-MS	<b>I</b> nductively <b>C</b> oupled <b>P</b> lasma - <b>M</b> ass <b>S</b> pectrometry (Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma)
Ile	Isoleucin (isoleucine)
JGR	<b>J</b> ava <b>G</b> UI for <b>R</b>
<i>K</i>	Kalium
Leu	Leucin (leucine)
Lys	Lysin (lysine)
Makro	Makronährstoffmangelsituationen
Met	Methionin (methionine)
<i>Mg</i>	Magnesium
<i>Mg</i> <sup>2+</sup>	Magnesiumion
Mikro	Mikronährstoffmangelsituationen
<i>N</i>	Stickstoff
<i>Na</i>	Natrium
NA	<b>N</b> ot <b>A</b> vailable (fehlender Wert)
<i>NH</i> <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ammonium
<i>NO</i> <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrat
<i>P</i>	Phosphor
PCA	<b>P</b> rincipal <b>C</b> omponent <b>A</b> nalysis
PDA	<b>P</b> ersonal <b>D</b> igital <b>A</b> ssistant
Phe	Phenylalanin (phenylalanine)
<i>PO</i> <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Phosphat
Pro	Prolin (proline)
RNA (RNS)	<b>R</b> ibo <b>N</b> ucleic <b>A</b> cid ( <b>R</b> ibo <b>N</b> uklein <b>S</b> äure)
RP-HPLC	<b>R</b> eversed <b>P</b> hase- <b>H</b> igh <b>P</b> erformance <b>L</b> iquid <b>C</b> hromatography (Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
<i>S</i>	Schwefel
Ser	Serin (serine)
<i>SO</i> <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Sulfat
SQL	<b>S</b> tructured <b>Q</b> uery <b>L</b> anguage
Thr	Threonin (threonine)
Trp	Tryptophan (tryptophan)
Tyr	Tyrosin (tyrosine)
Val	Valin (valine)

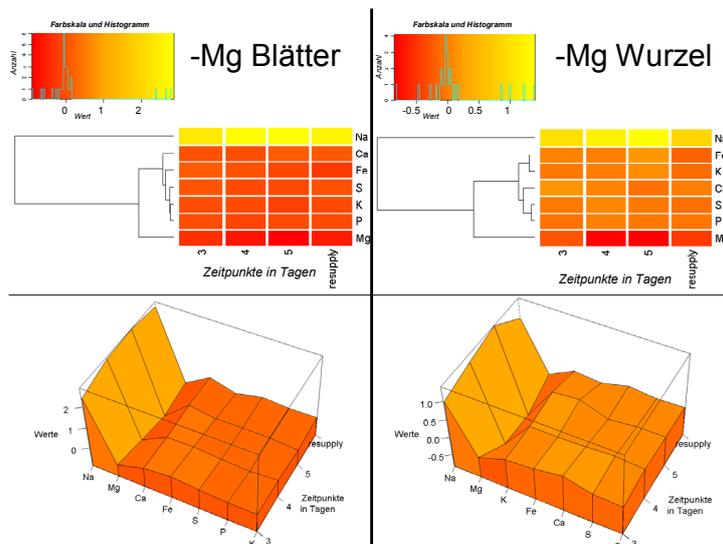
## 7 Anhang

### 7.1 Visualisierung der Element- und Ionendaten

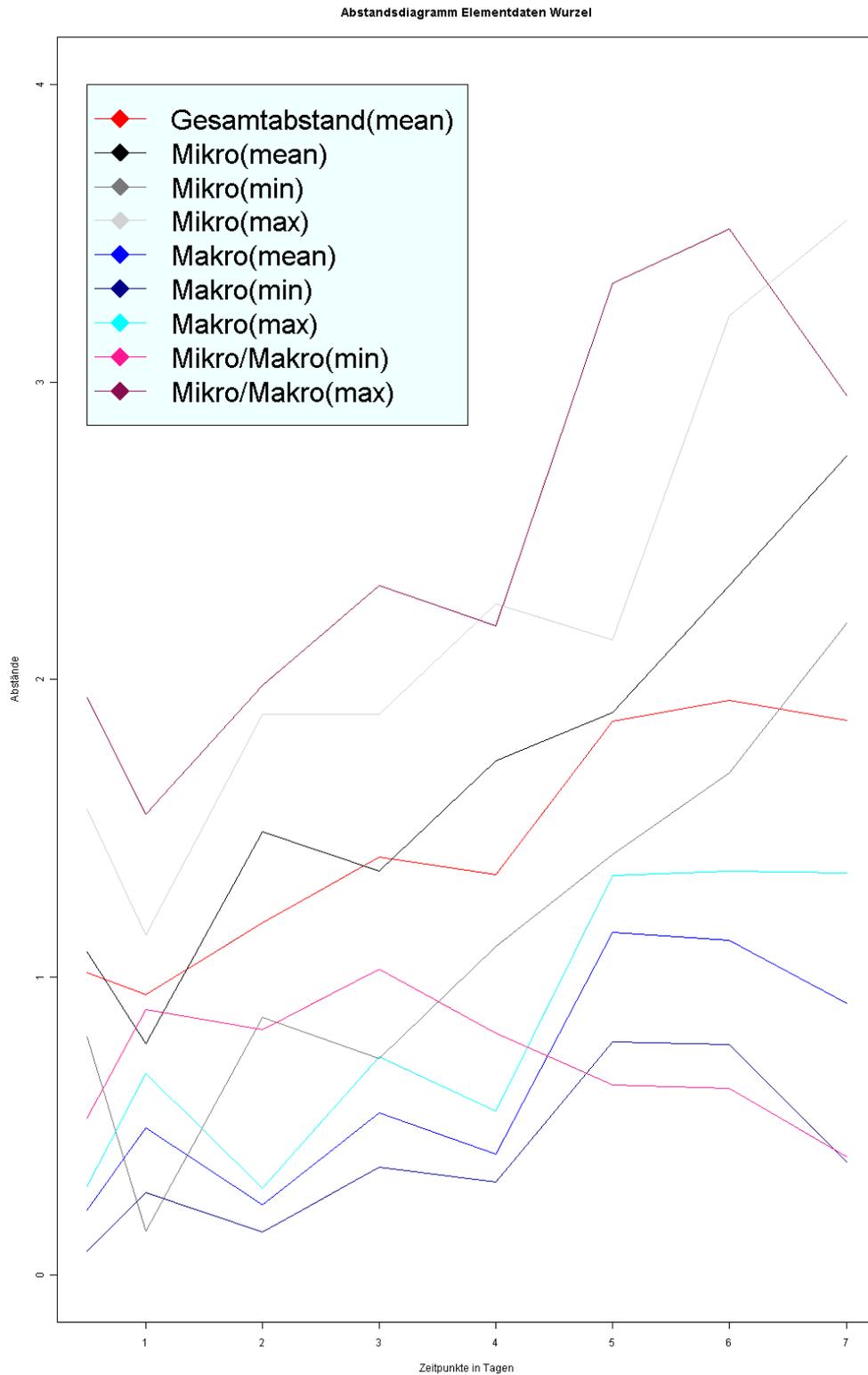
7.1.1 Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS und IC bestimmten Element- und Ionendaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts, nur Elemente] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes



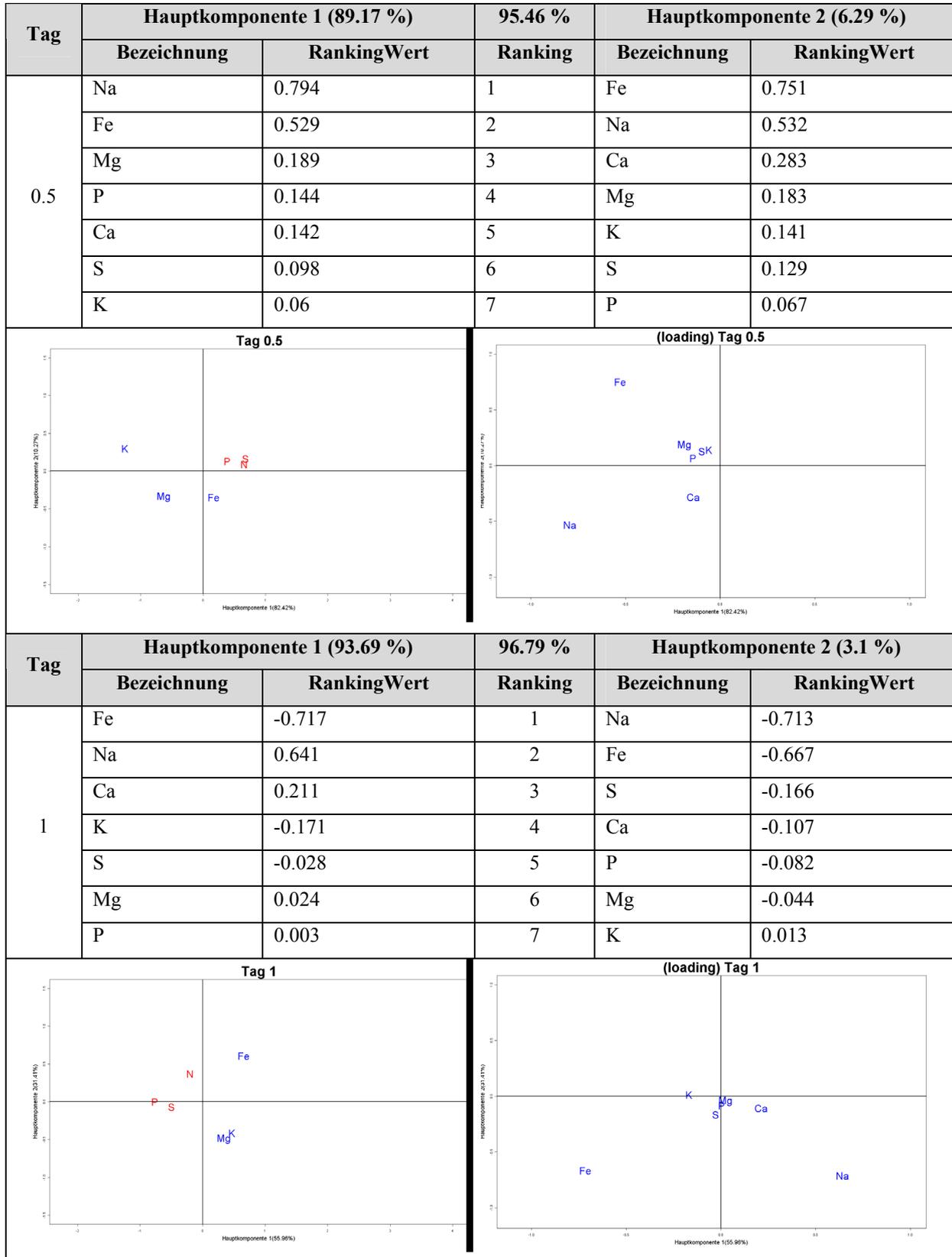
7.1.2 Darstellung der mit den Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes



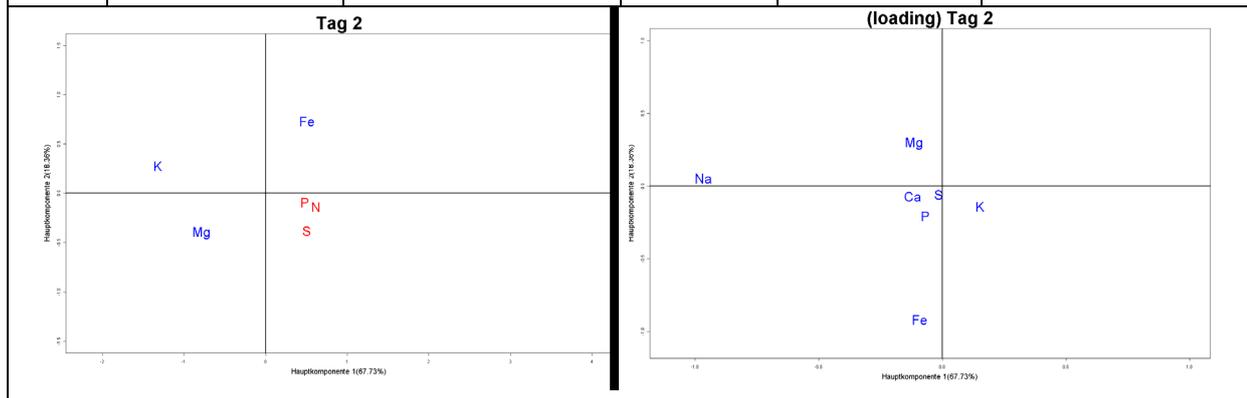
**7.1.3 Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des halben bis siebenten Tages**



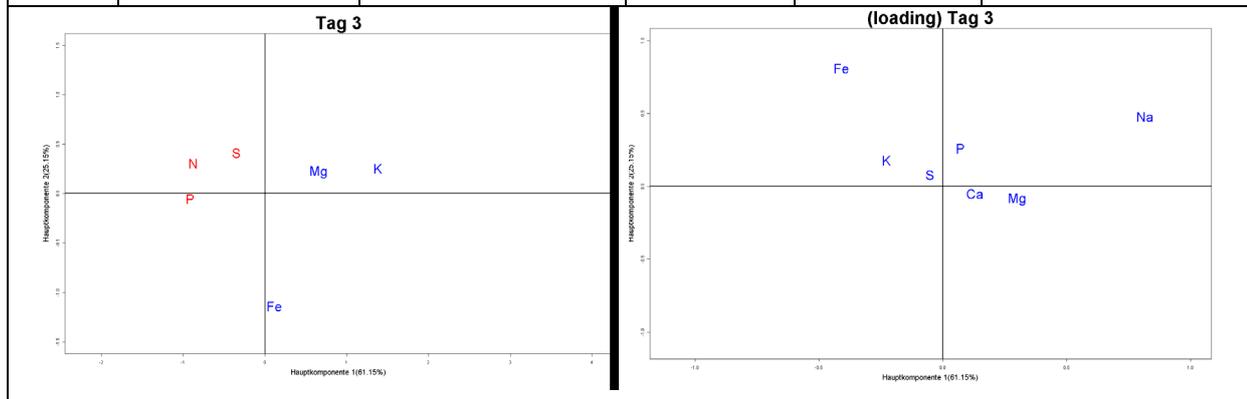
### 7.1.4 Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Wurzeln des halben bis siebenten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken



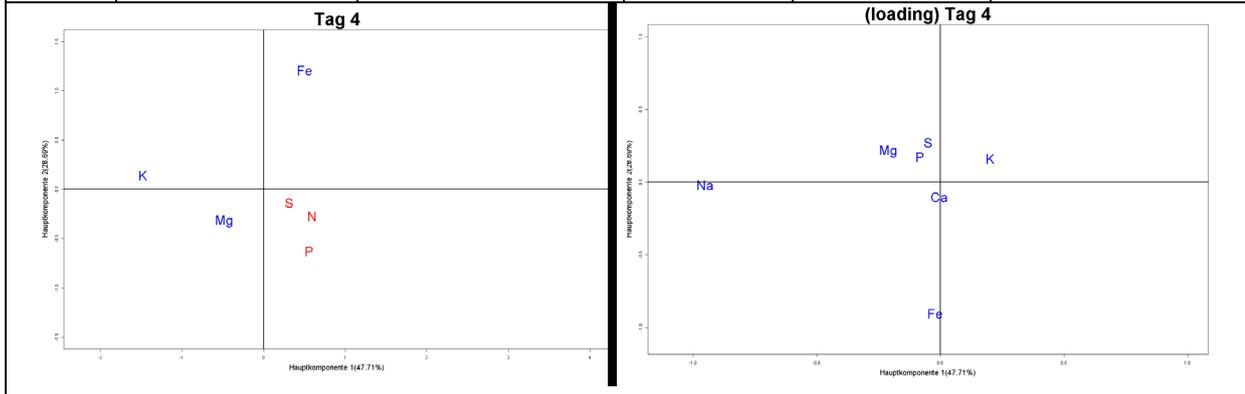
Tag	Hauptkomponente 1 (82.82 %)		91.42 %	Hauptkomponente 2 (8.6 %)	
	Bezeichnung	RankingWert		Ranking	Bezeichnung
2	Na	-0.968	1	Fe	-0.917
	K	0.151	2	Mg	0.293
	Ca	-0.12	3	P	-0.206
	Mg	-0.114	4	K	-0.14
	Fe	-0.092	5	Ca	-0.07
	P	-0.07	6	S	-0.058
	S	-0.015	7	Na	0.055



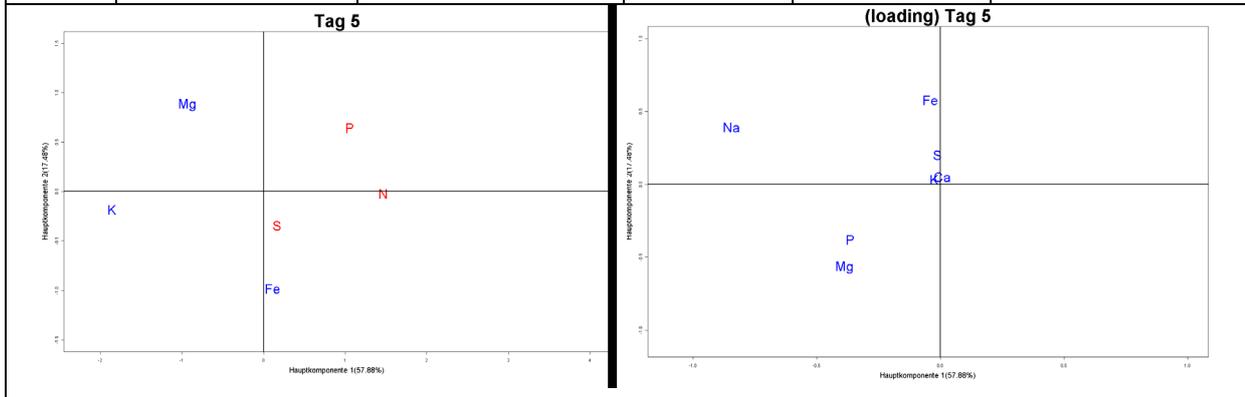
Tag	Hauptkomponente 1 (85.01 %)		93.07 %	Hauptkomponente 2 (8.06 %)	
	Bezeichnung	RankingWert		Ranking	Bezeichnung
3	Na	0.816	1	Fe	0.808
	Fe	-0.41	2	Na	0.479
	Mg	0.3	3	P	0.261
	K	-0.229	4	K	0.179
	Ca	0.128	5	Mg	-0.087
	P	0.071	6	S	0.079
	S	-0.052	7	Ca	-0.051



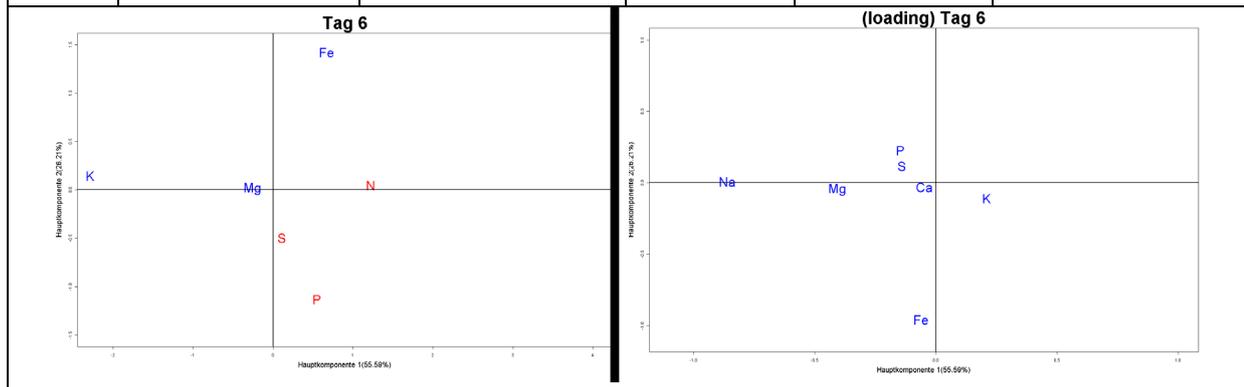
Tag	Hauptkomponente 1 (85.24 %)		92.51 %	Hauptkomponente 2 (7.27 %)	
	Bezeichnung	RankingWert	Ranking	Bezeichnung	RankingWert
4	Na	-0.952	1	Fe	-0.902
	Mg	-0.21	2	S	0.272
	K	0.201	3	Mg	0.213
	P	-0.083	4	P	0.173
	S	-0.049	5	K	0.16
	Fe	-0.022	6	Ca	-0.101
	Ca	-0.005	7	Na	-0.021



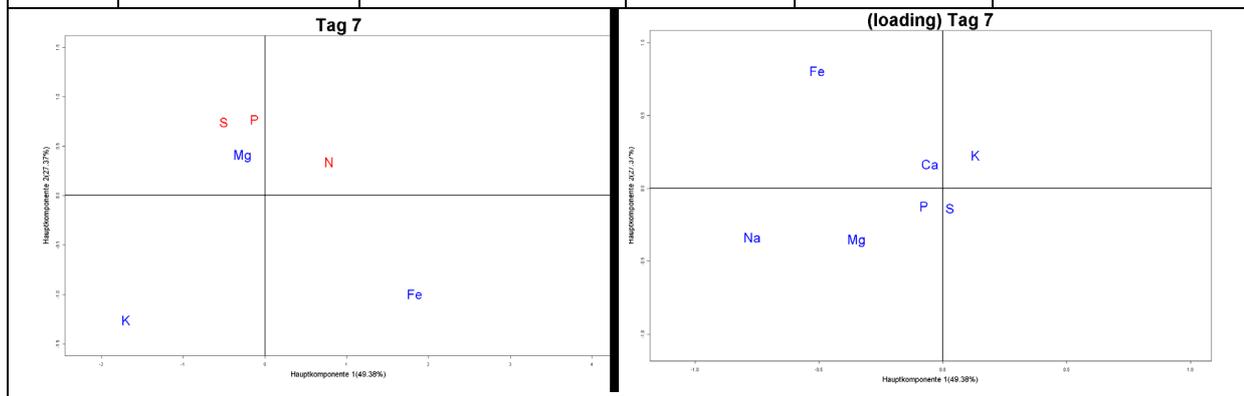
Tag	Hauptkomponente 1 (75.38 %)		86.81 %	Hauptkomponente 2 (11.43 %)	
	Bezeichnung	RankingWert	Ranking	Bezeichnung	RankingWert
5	Na	-0.845	1	Fe	0.578
	Mg	-0.387	2	Mg	-0.569
	P	-0.365	3	Na	0.393
	Fe	-0.04	4	P	-0.378
	K	-0.026	5	S	0.202
	S	-0.012	6	Ca	0.051
	Ca	0.007	7	K	0.033



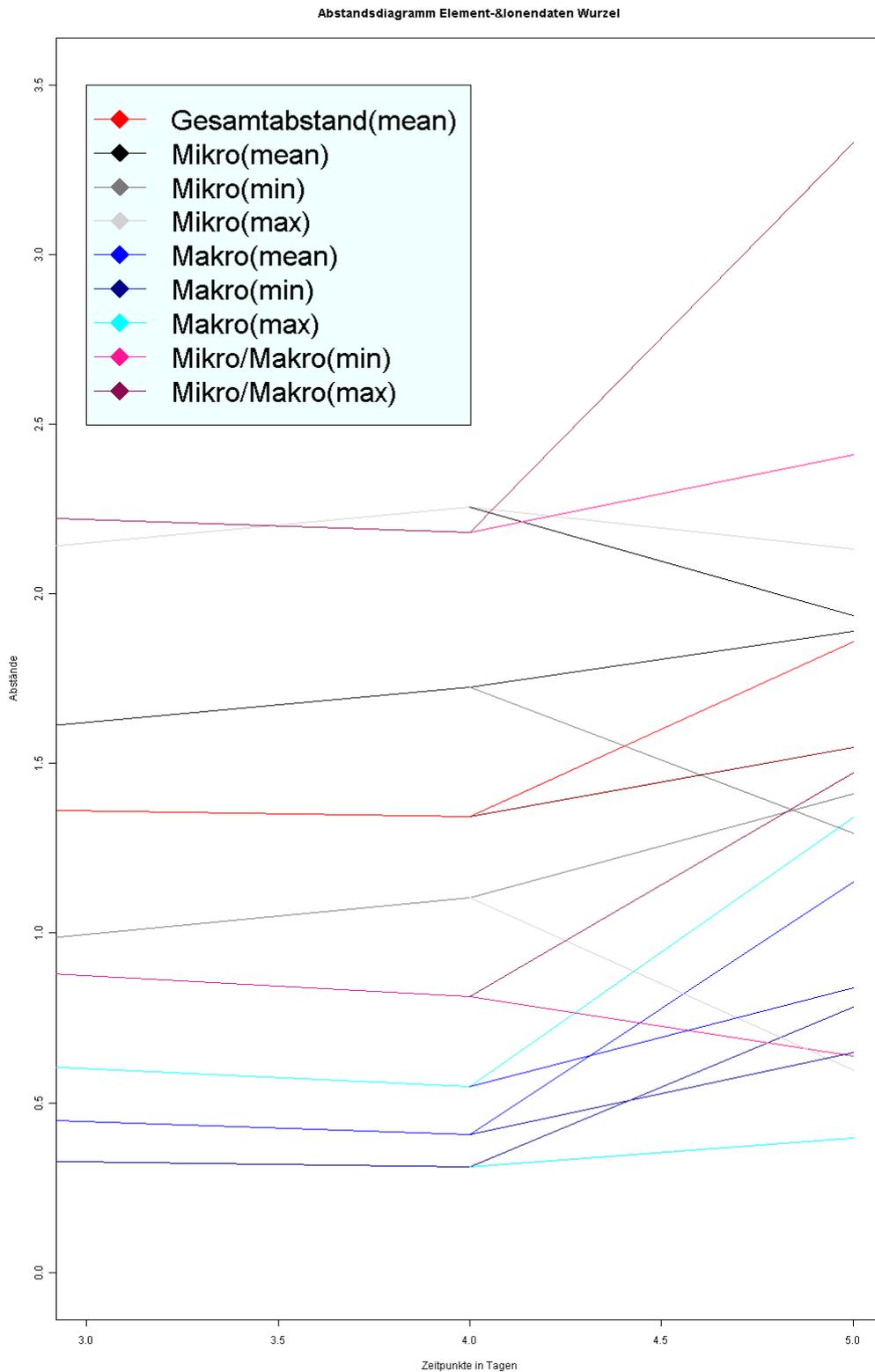
Tag	Hauptkomponente 1 (75.54 %)		85.39 %	Hauptkomponente 2 (9.85 %)	
	Bezeichnung	RankingWert		Ranking	Bezeichnung
6	Na	-0.862	1	Fe	-0.959
	Mg	-0.407	2	P	0.226
	K	0.208	3	S	0.116
	P	-0.148	4	K	-0.11
	S	-0.141	5	Mg	-0.047
	Fe	-0.062	6	Ca	-0.03
	Ca	-0.049	7	Na	0.008



Tag	Hauptkomponente 1 (75.54 %)		85.39 %	Hauptkomponente 2 (9.85 %)	
	Bezeichnung	RankingWert		Ranking	Bezeichnung
7	Na	-0.771	1	Fe	0.805
	Fe	-0.508	2	Mg	-0.357
	Mg	-0.349	3	Na	-0.334
	K	0.13	4	K	0.226
	P	-0.077	5	Ca	0.167
	Ca	-0.052	6	S	-0.137
	S	0.029	7	P	-0.123

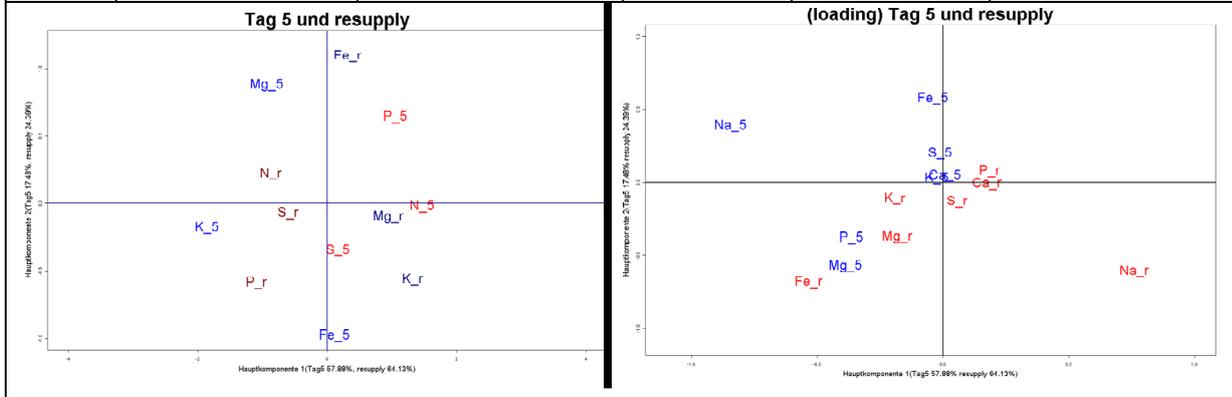


**7.1.5 Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen)**



**7.1.6 Darstellung der mit dem Verfahren ICP-MS bestimmten Elementdaten der Wurzeln des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik**

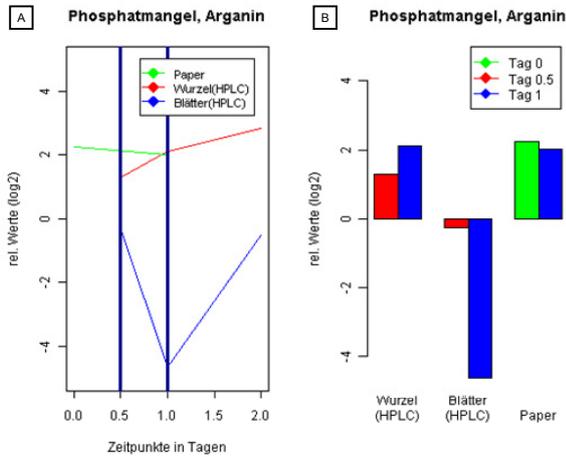
Tag	Hauptkomponente 1 (75.54 %)		85.39 %	Hauptkomponente 2 (9.85 %)	
	Bezeichnung	RankingWert		Ranking	Bezeichnung
5	Na	-0.845	1	Fe	0.578
	Mg	-0.387	2	Mg	-0.569
	P	-0.365	3	Na	0.393
	Fe	-0.04	4	P	-0.378
	K	-0.026	5	S	0.202
	S	-0.012	6	Ca	0.051
	Ca	0.007	7	K	0.033



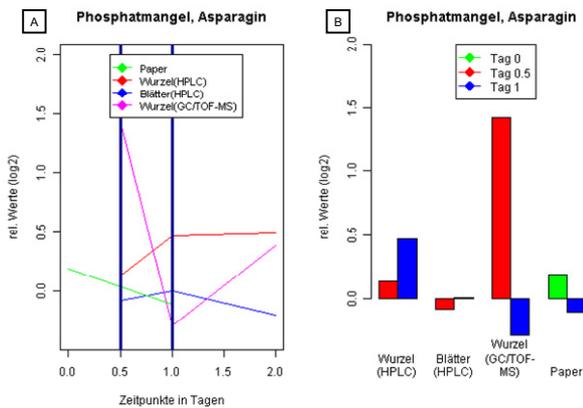
Tag	Hauptkomponente 1 (75.54 %)		85.39 %	Hauptkomponente 2 (9.85 %)	
	Bezeichnung	RankingWert		Ranking	Bezeichnung
resupply	Na	0.759	1	Fe	-0.681
	Fe	-0.535	2	Na	-0.605
	K	-0.193	3	Mg	-0.369
	P	0.184	4	S	-0.128
	Mg	-0.182	5	K	-0.107
	Ca	0.173	6	P	0.08
	S	0.055	7	Ca	-0.006

## 7.2 Visualisierung des Literaturvergleiches für Aminosäuren unter Phosphatmangel

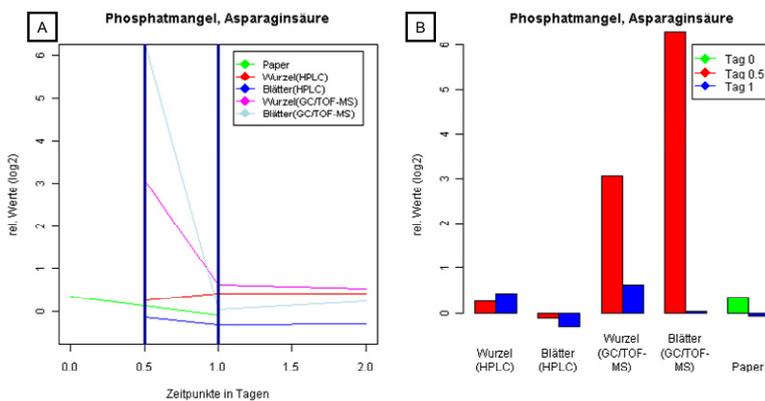
### 7.2.1 Literaturvergleich für die Aminosäure Arginin (Arg) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



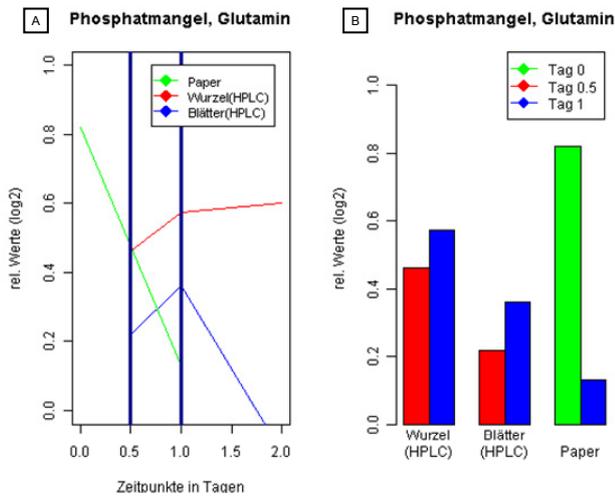
### 7.2.2 Literaturvergleich für die Aminosäure Asparagin (Asn) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



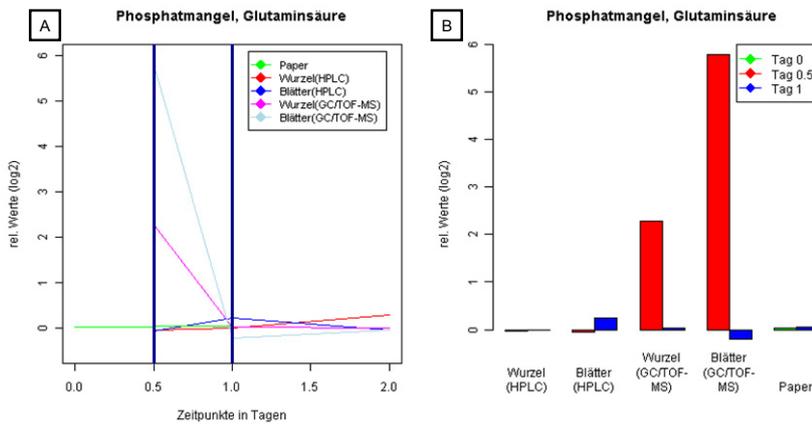
### 7.2.3 Literaturvergleich für die Aminosäure Asparaginsäure (Asp) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



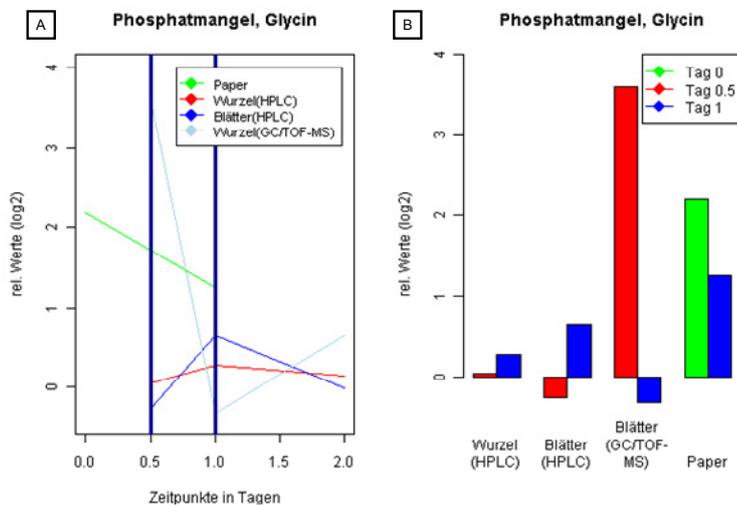
### 7.2.4 Literaturvergleich für die Aminosäure Glutamin (Gln) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



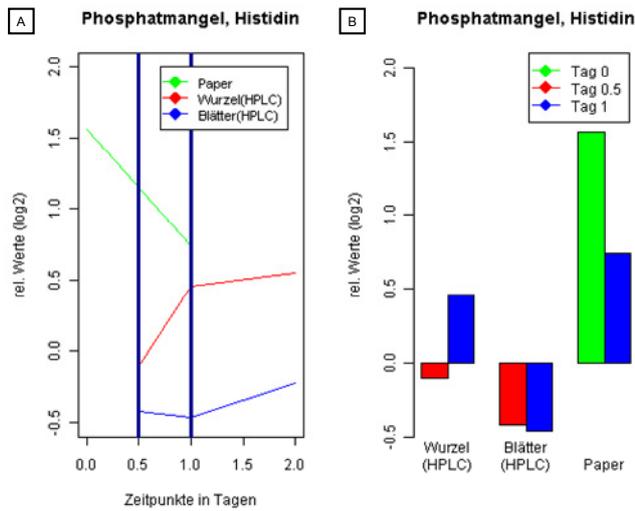
### 7.2.5 Literaturvergleich für die Aminosäure Glutaminsäure (Glu) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



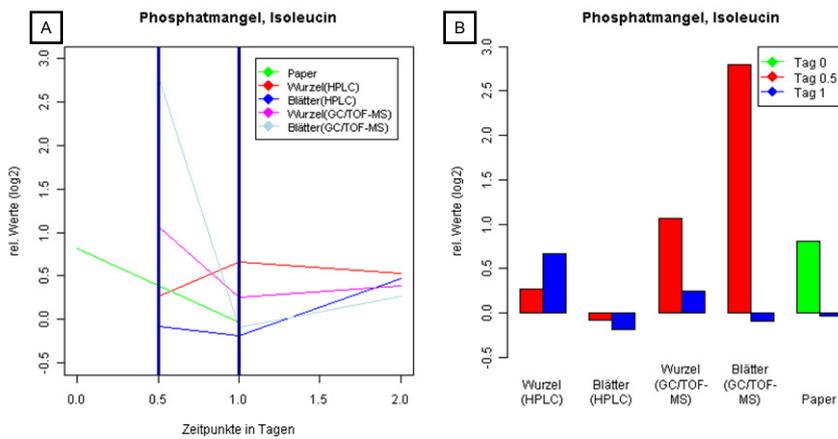
### 7.2.6 Literaturvergleich für die Aminosäure Glycin (Gly) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



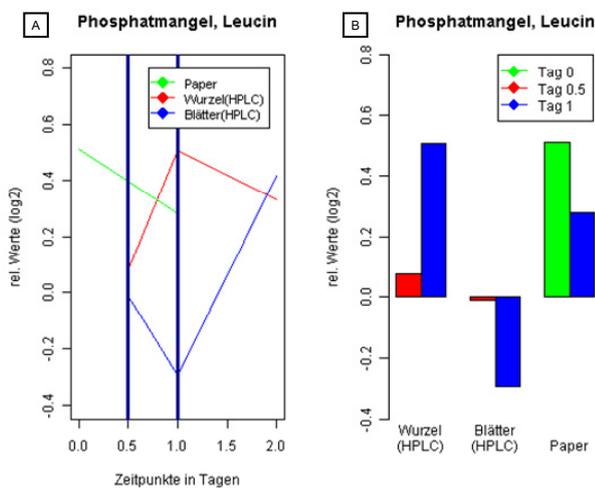
### 7.2.7 Literaturvergleich für die Aminosäure Histidin (His) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



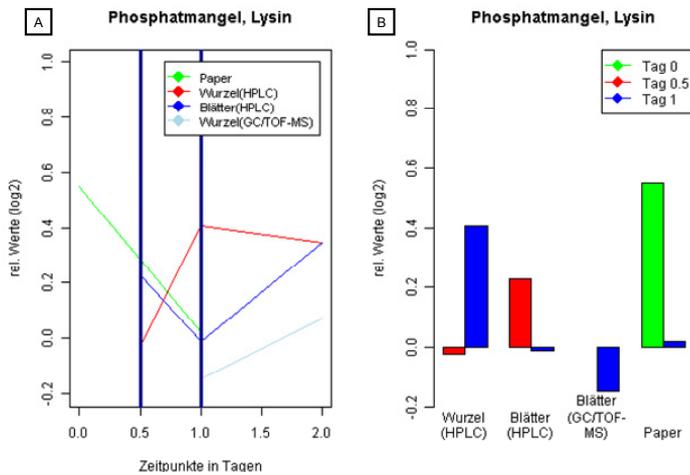
### 7.2.8 Literaturvergleich für die Aminosäure Isoleucin unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



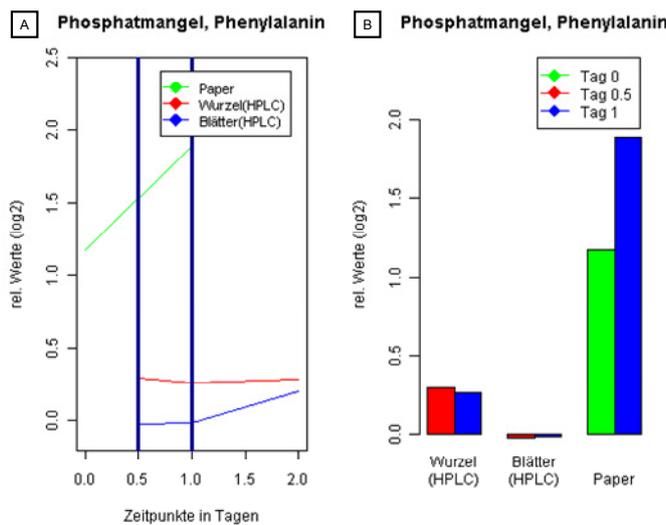
### 7.2.9 Literaturvergleich für die Aminosäure Leucin (Leu) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



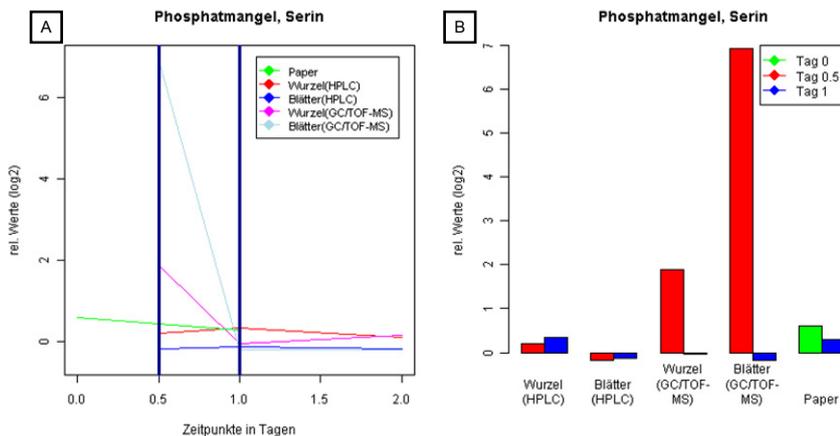
### 7.2.10 Literaturvergleich für die Aminosäure Lysin (Lys) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



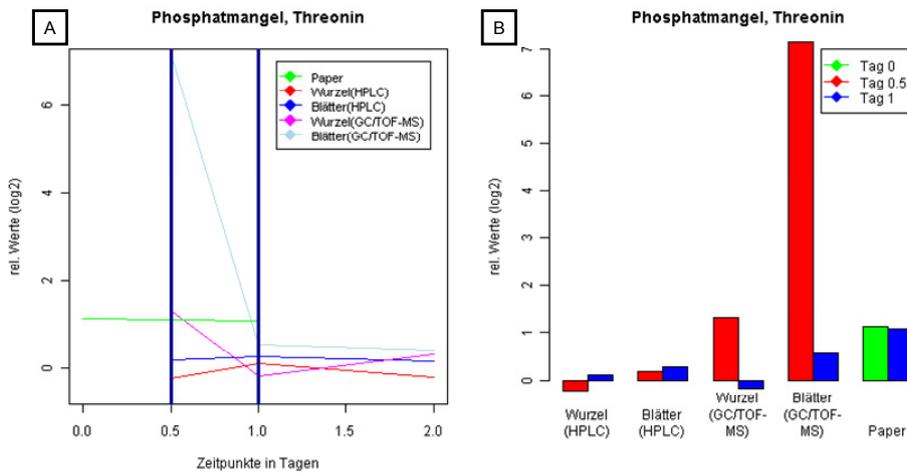
### 7.2.11 Literaturvergleich für die Aminosäure Phenylalanin (Phe) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



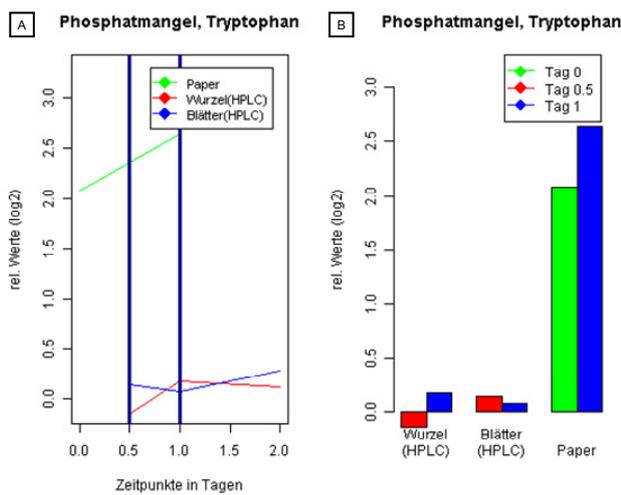
### 7.2.12 Literaturvergleich für die Aminosäure Serin (Ser) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



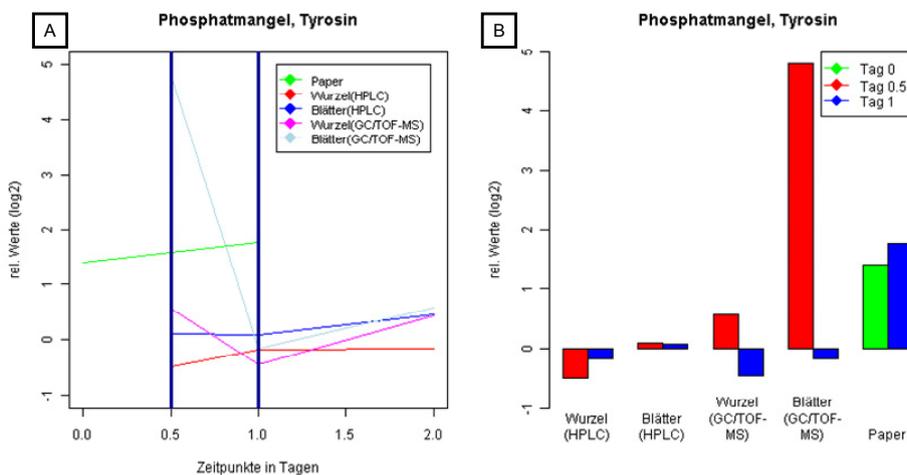
### 7.2.13 Literaturvergleich für die Aminosäure Threonin (Thr) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



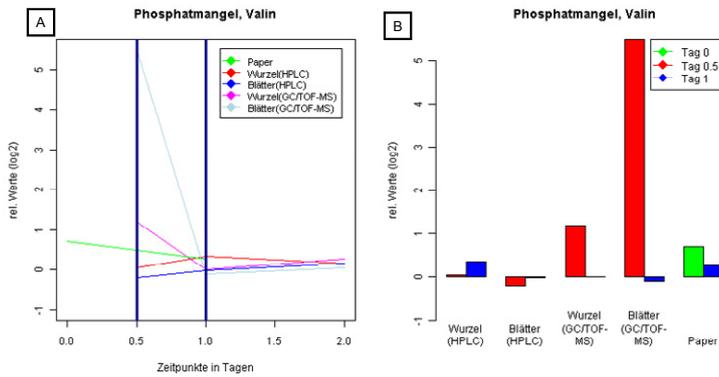
### 7.2.14 Literaturvergleich für die Aminosäure Tryptophan unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



### 7.2.15 Literaturvergleich für die Aminosäure Tyrsin (Tyr) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]

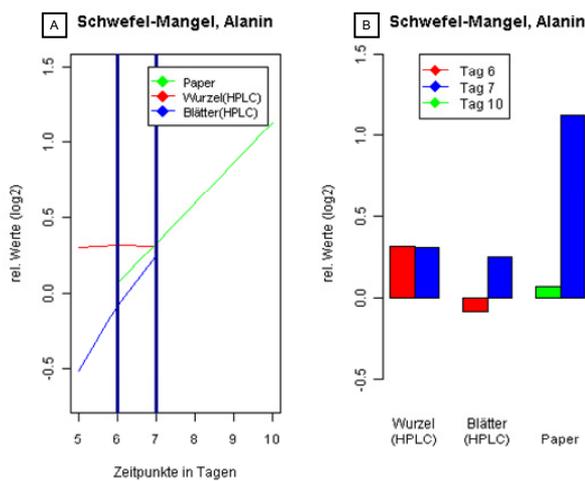


### 7.2.16 Literaturvergleich für die Aminosäure Valin (Val) unter Phosphatmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]

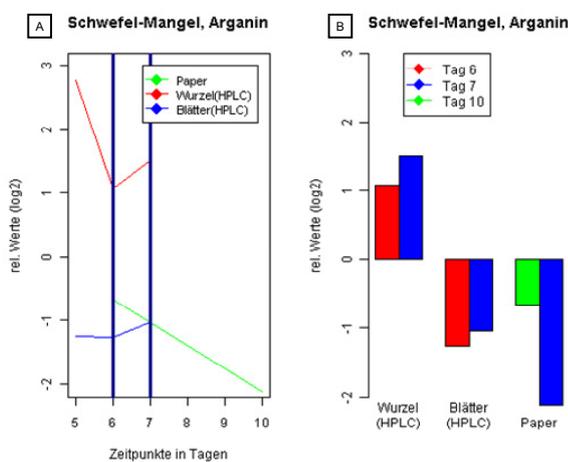


## 7.3 Visualisierung des Literaturvergleiches für Aminosäuren unter Schwefelmangel

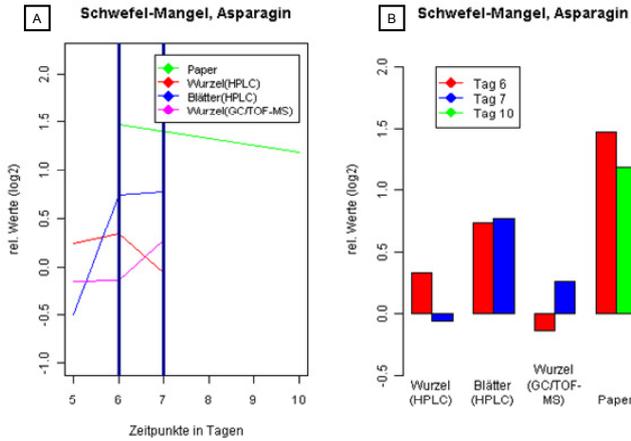
### 7.3.1 Literaturvergleich für die Aminosäure Alanin (Ala) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



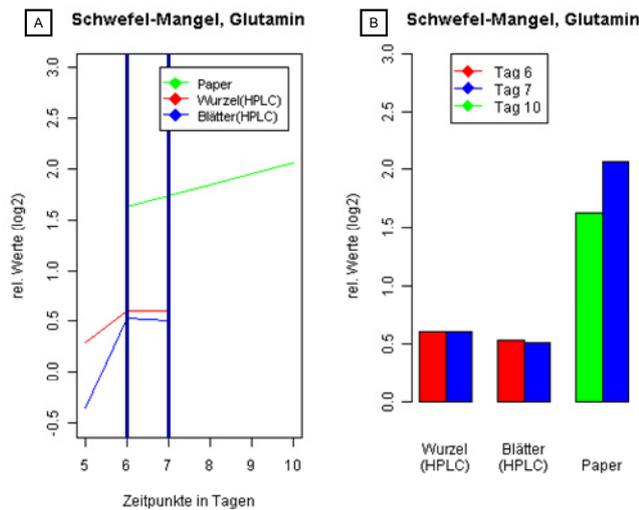
### 7.3.2 Literaturvergleich für die Aminosäure Arginin (Arg) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



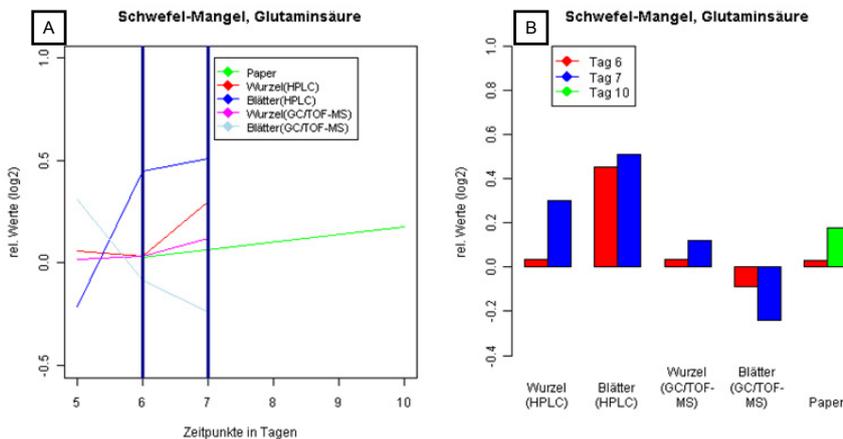
### 7.3.3 Literaturvergleich für die Aminosäure Asparagin (Asn) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



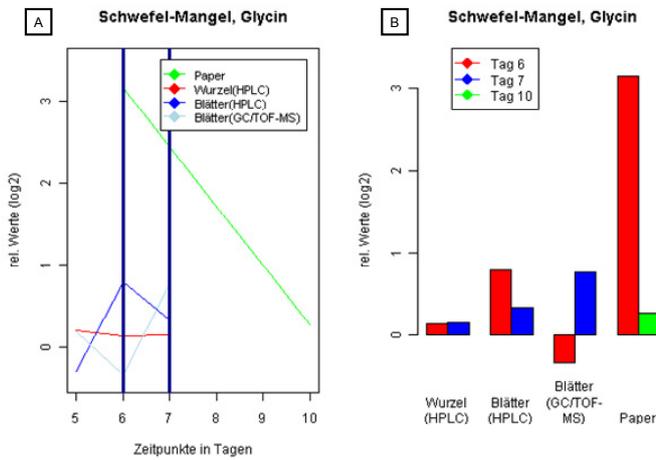
### 7.3.4 Literaturvergleich für die Aminosäure Glutamin (Gln) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



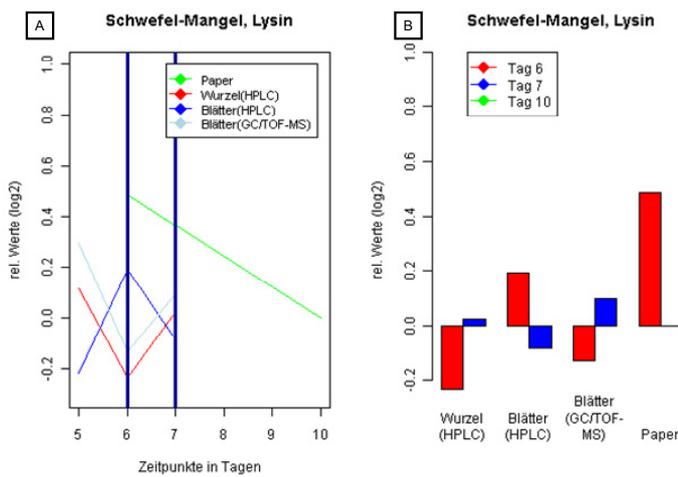
### 7.3.5 Literaturvergleich für die Aminosäure Glutaminsäure (Glu) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



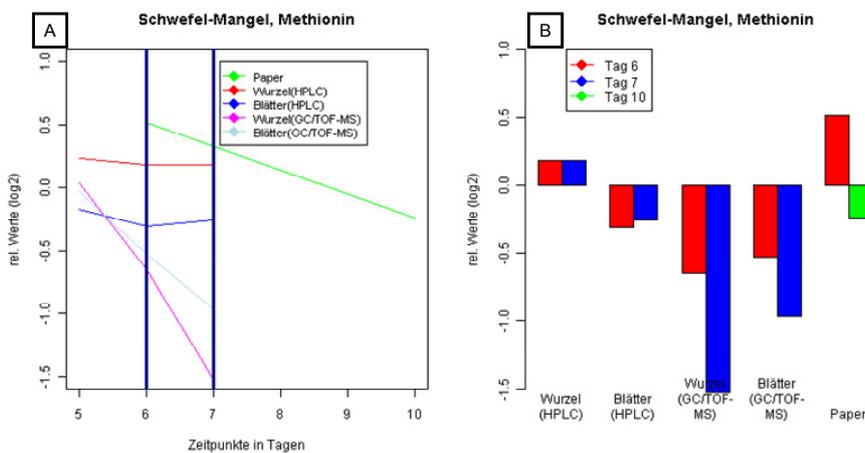
### 7.3.6 Literaturvergleich für die Aminosäure Glycin (Gly) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



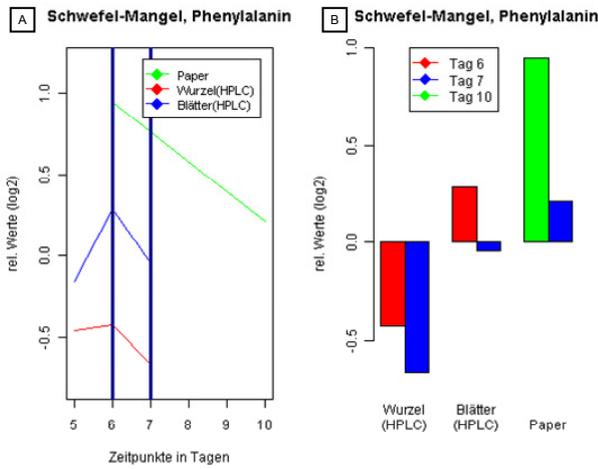
### 7.3.7 Literaturvergleich für die Aminosäure Lysin (Lys) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



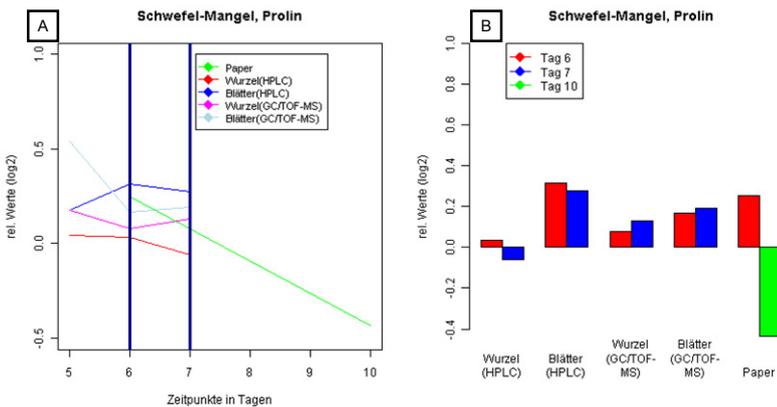
### 7.3.8 Literaturvergleich für die Aminosäure Methionin (Met) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



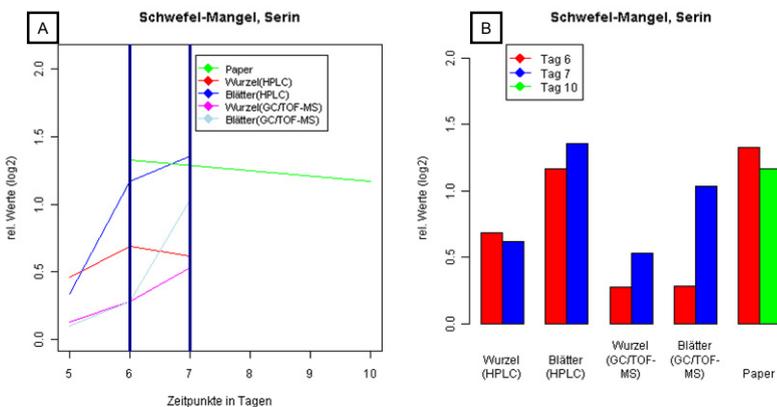
### 7.3.9 Literaturvergleich für die Aminosäure Phenylalanin (Phe) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



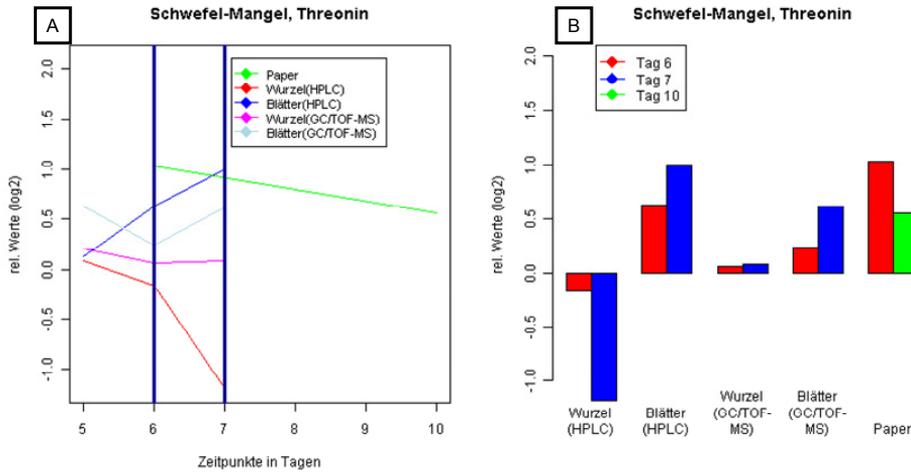
### 7.3.10 Literaturvergleich für die Aminosäure Prolin (Pro) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



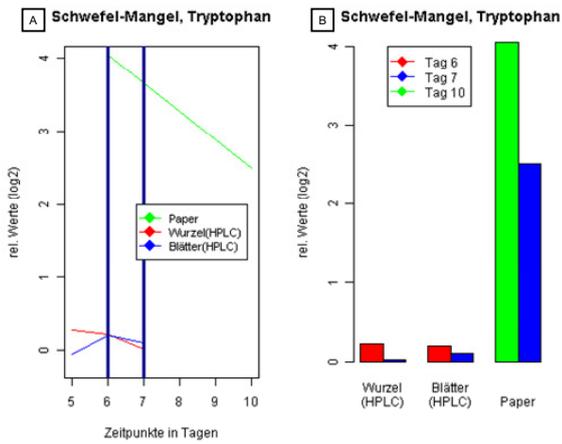
### 7.3.11 Literaturvergleich für die Aminosäure Serin (Ser) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdiagrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]



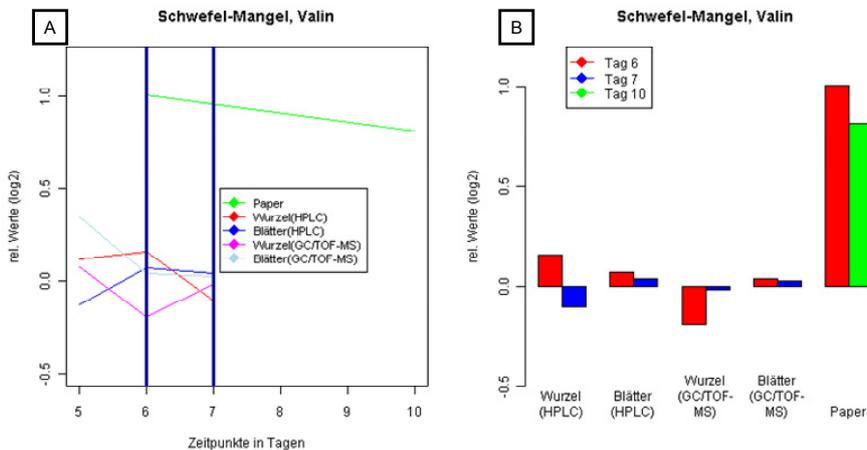
**7.3.12 Literaturvergleich für die Aminosäure Threonin (Thr) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]**



**7.3.13 Literaturvergleich für die Aminosäure Tryptophan (Trp) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]**

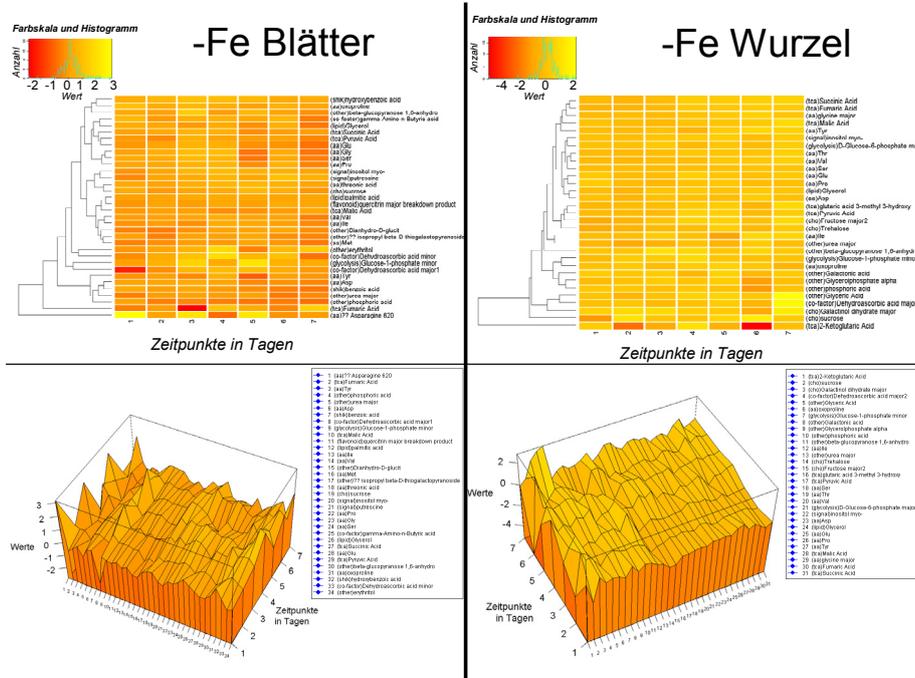


**7.3.14 Literaturvergleich für die Aminosäure Valin (Val) unter Schwefelmangel in Form eines Verlaufsdigrammes [A] und eines Säulendiagrammes [B]**

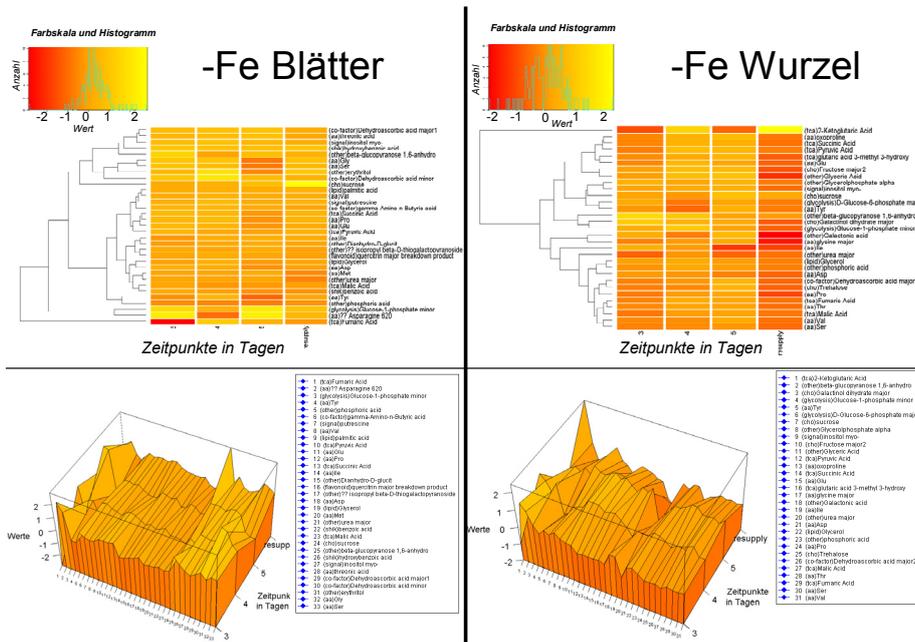


## 7.4 Visualisierung der GC/TOF-MS-Metabolitdaten

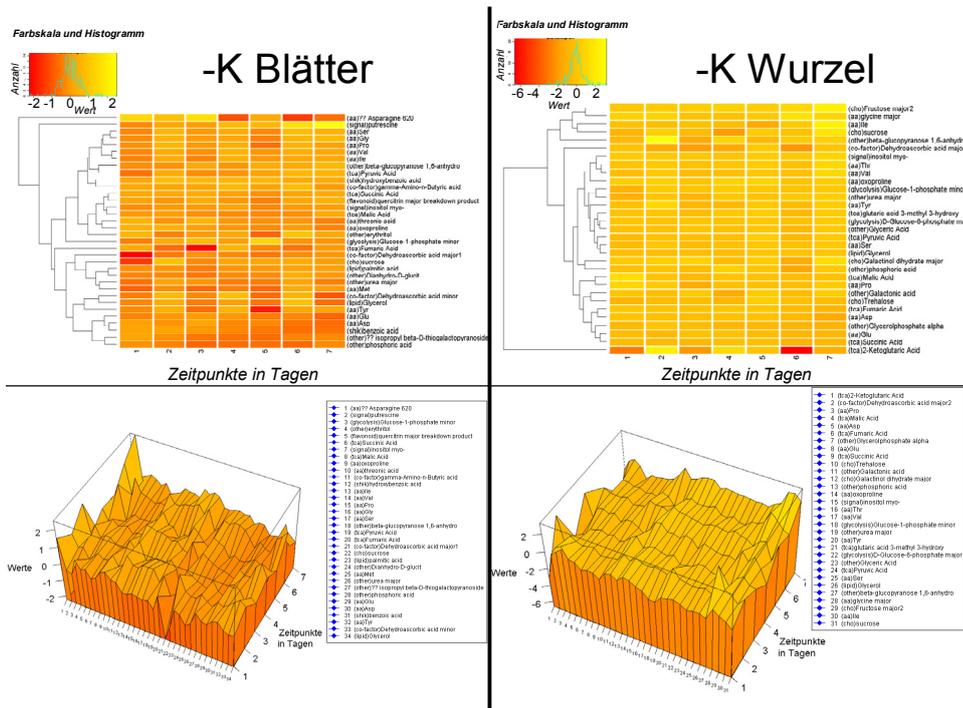
### 7.4.1 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes



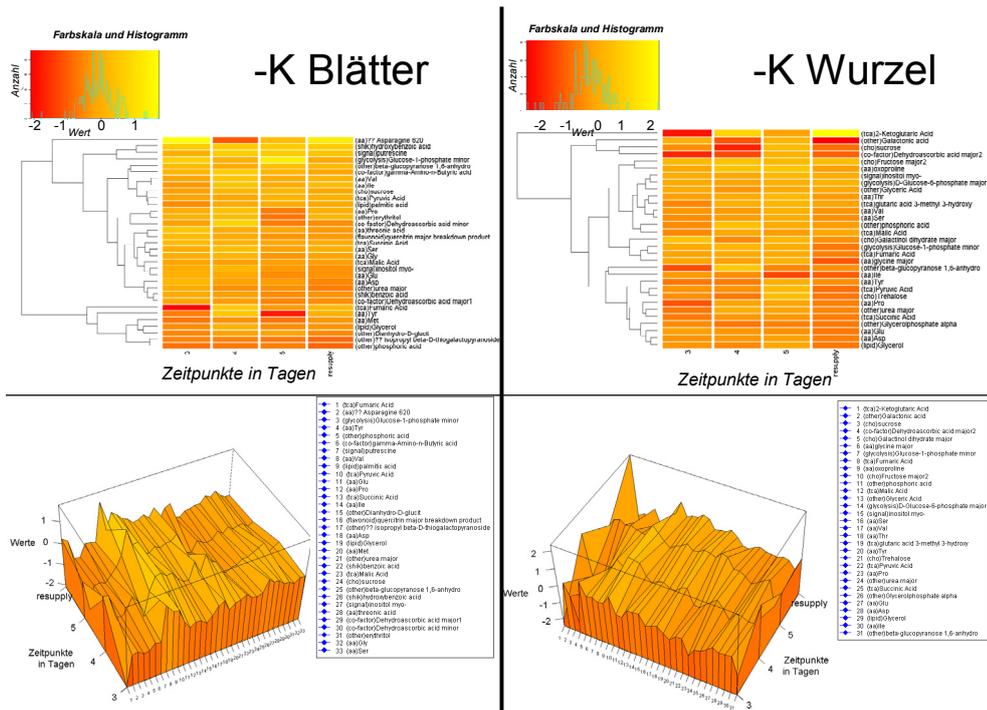
### 7.4.2 Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes



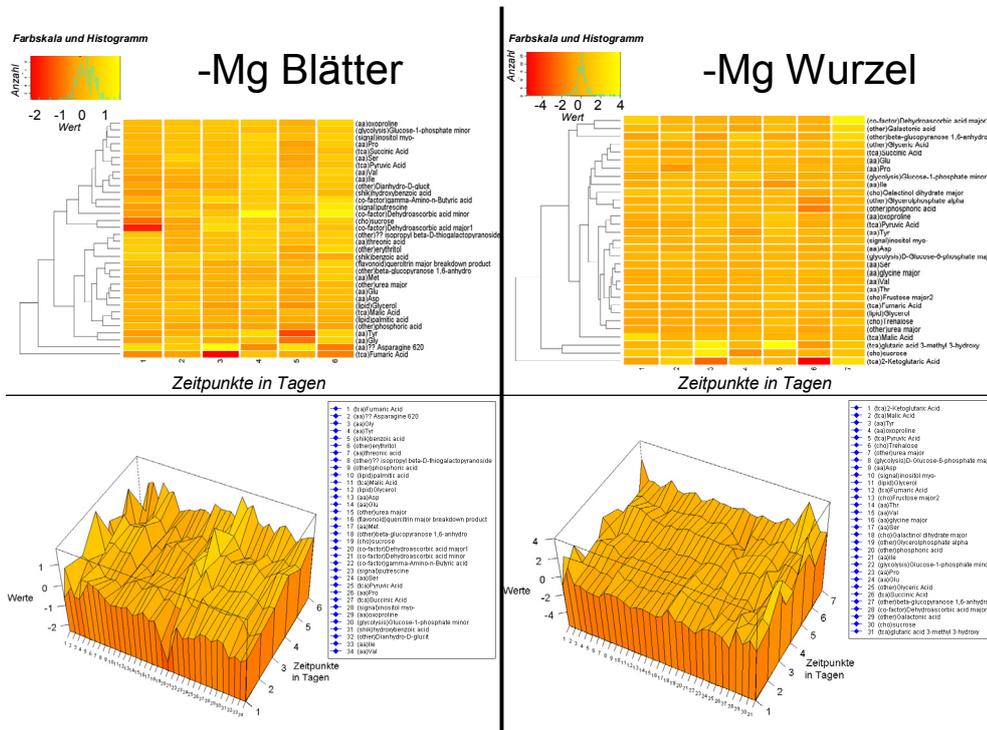
### 7.4.3 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes



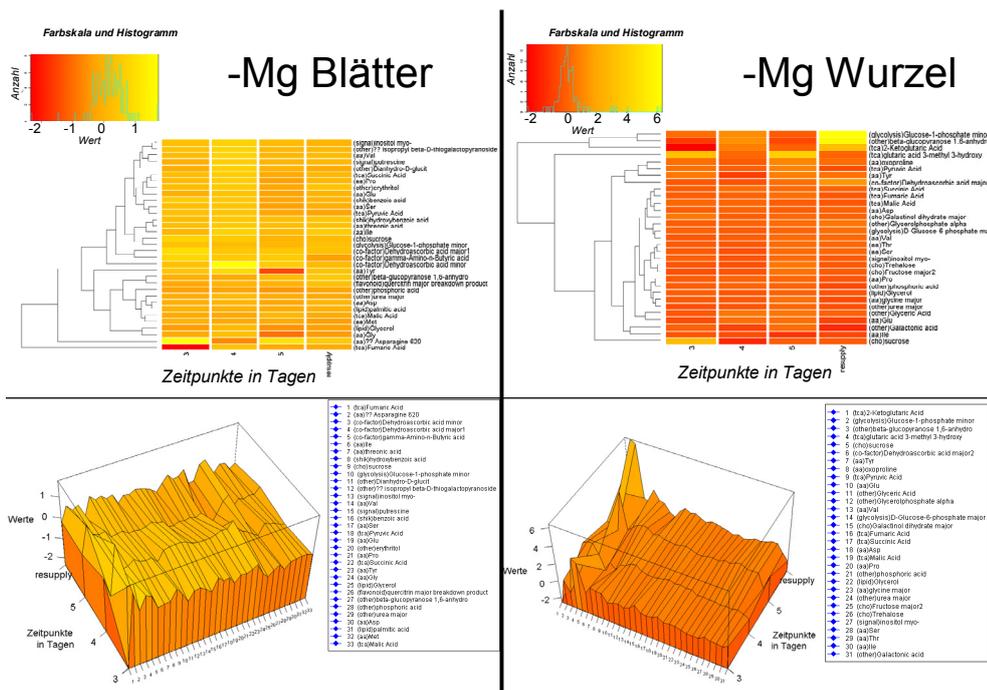
### 7.4.4 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes



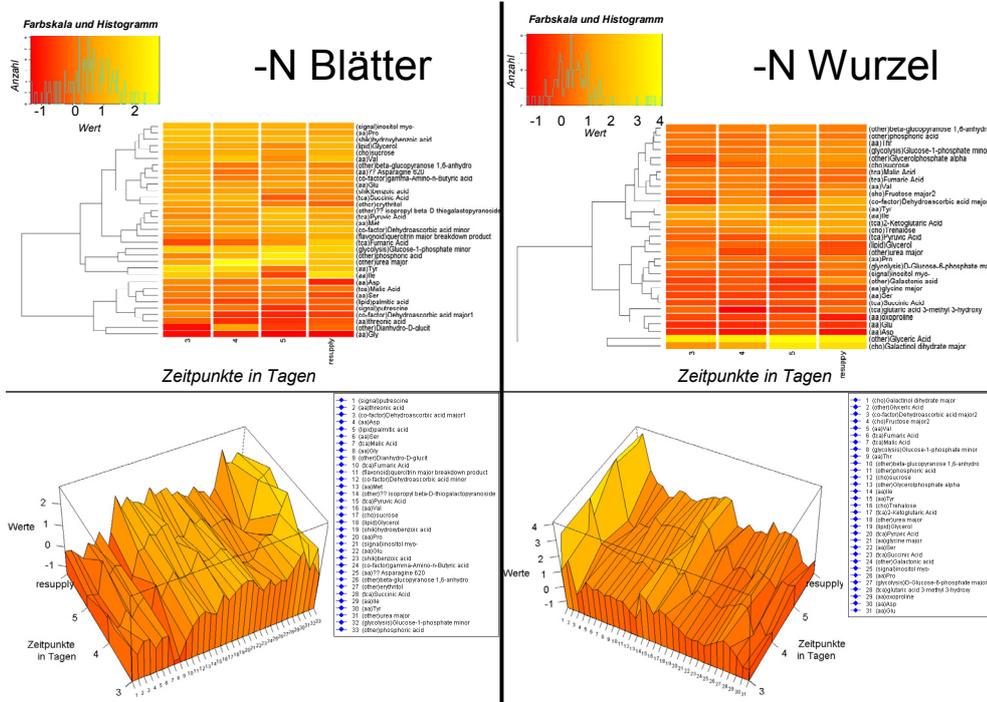
### 7.4.5 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes



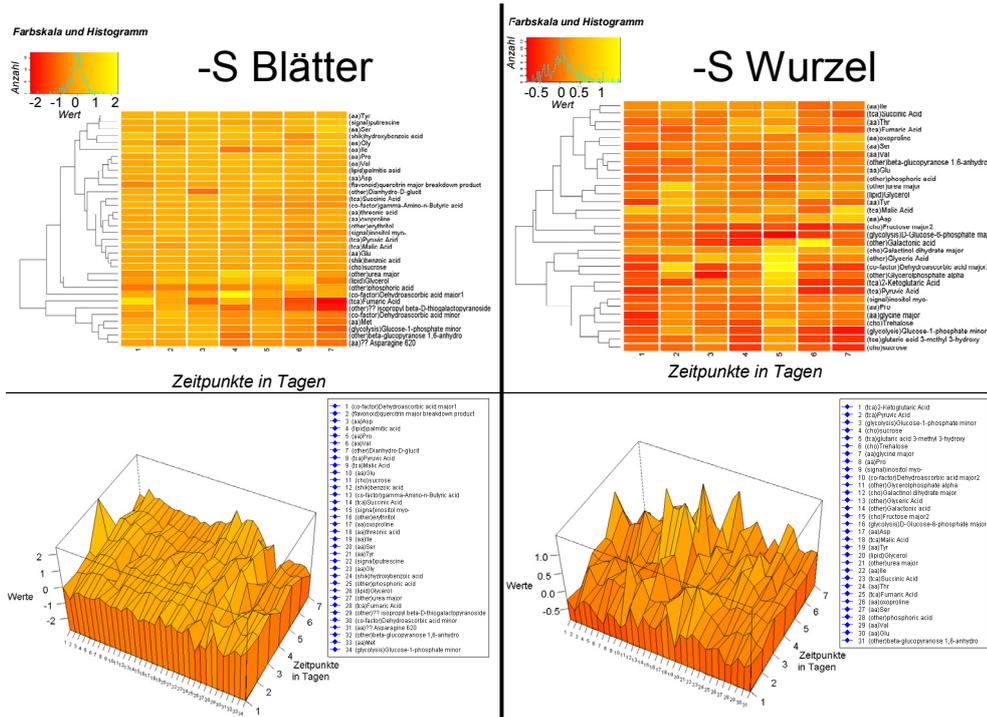
### 7.4.6 Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes



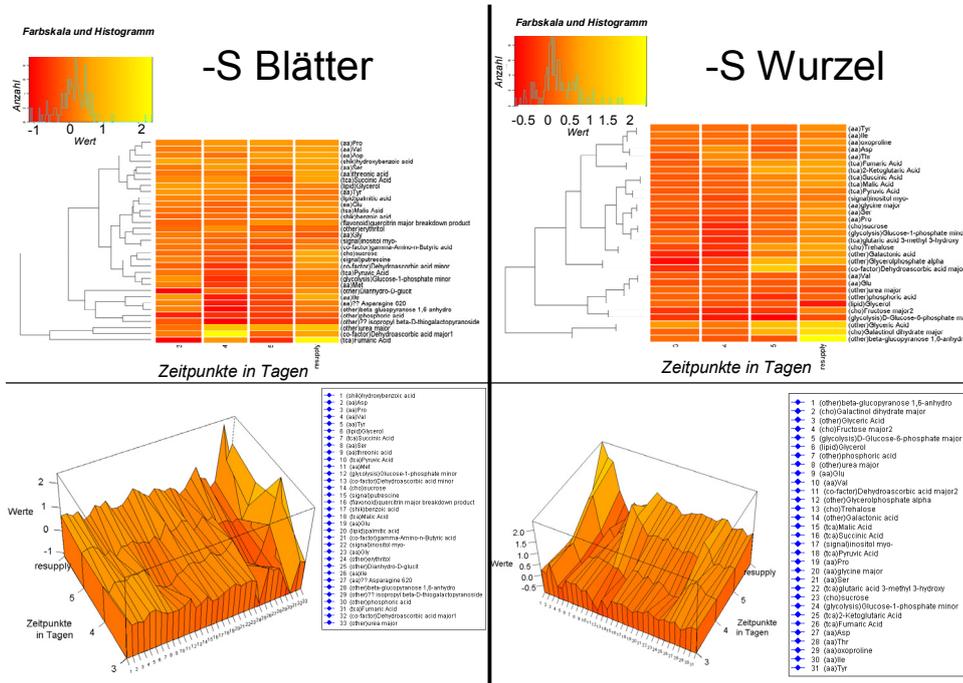
**7.4.7 Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes**



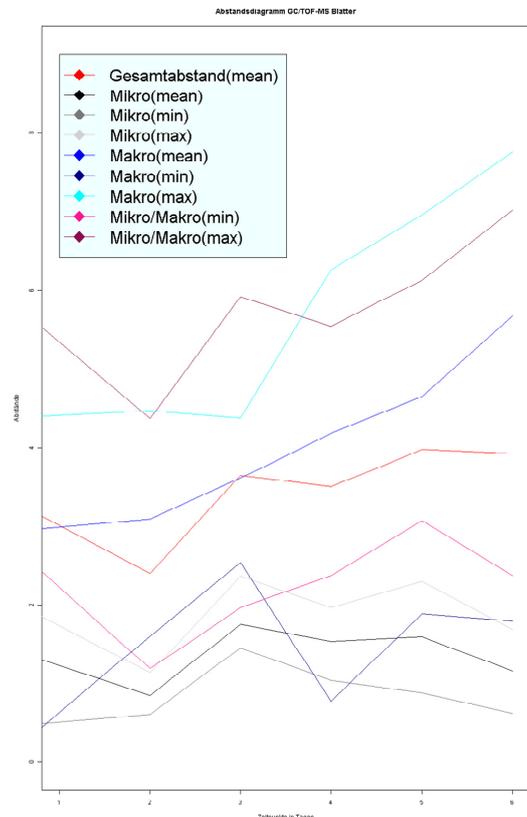
**7.4.8 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps und Wireframes**



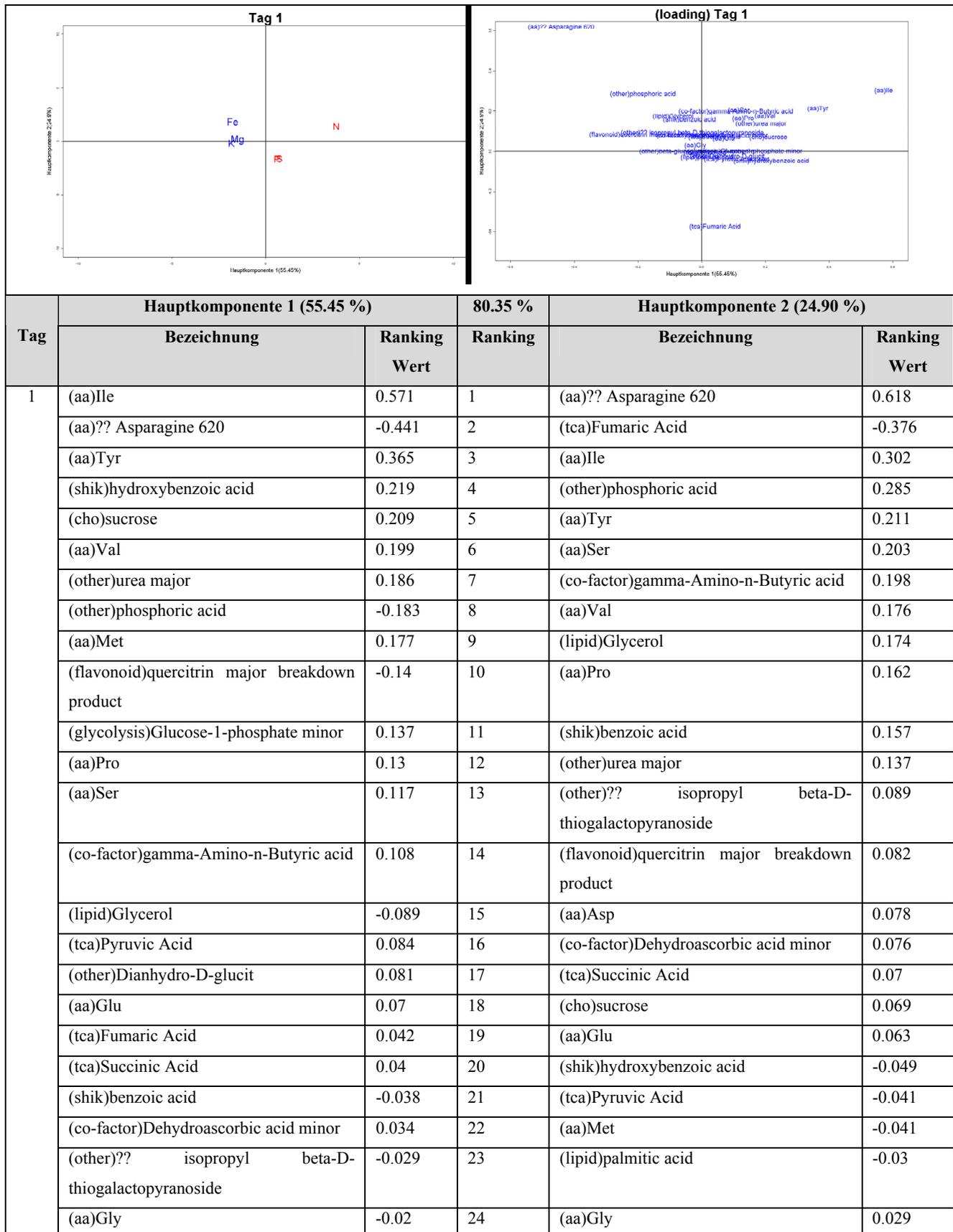
**7.4.9 Darstellung der mit den Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Schwefelmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes**



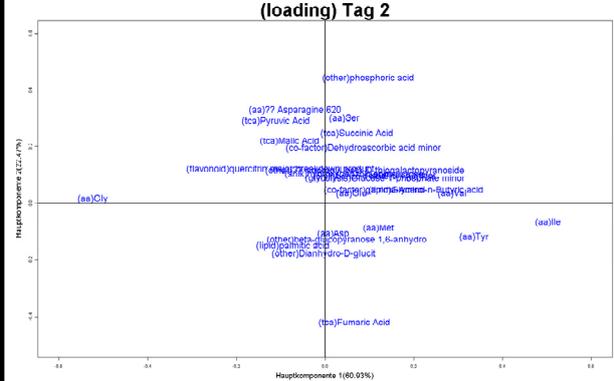
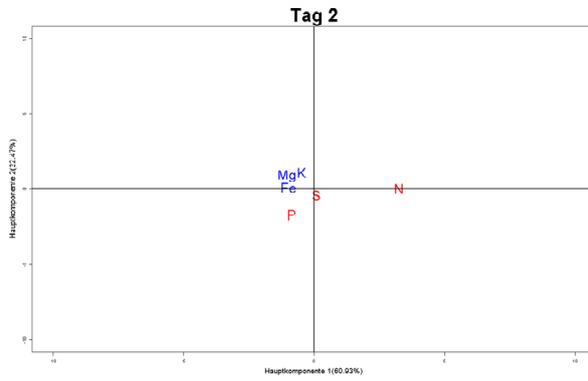
**7.4.10 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des ersten bis sechsten Tages**



### 7.4.11 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter des ersten bis sechsten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken

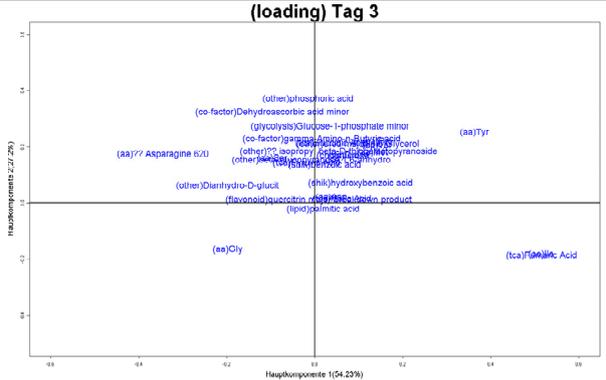
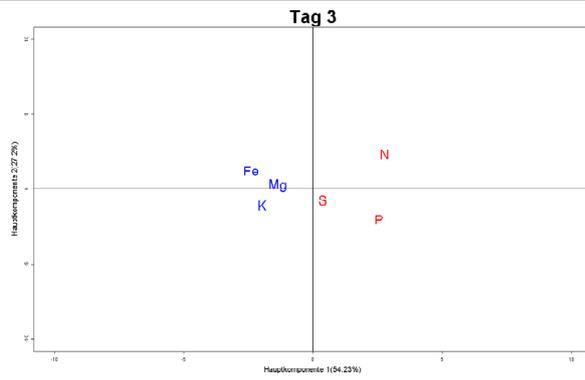


(lipid)palmitic acid	0.017	25	(other)Dianhydro-D-glucit	-0.027
(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.015	26	(tca)Malic Acid	-0.009
(tca)Malic Acid	0.01	27	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.001
(aa)Asp	0.002	28	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.001



Tag	Hauptkomponente 1 (60.63 %)		83.10 %	Hauptkomponente 2 (22.47 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
2	(aa)Gly	-0.524	1	(other)phosphoric acid	0.441
	(aa)Ile	0.503	2	(tca)Fumaric Acid	-0.422
	(aa)Tyr	0.336	3	(aa)?? Asparagine 620	0.328
	(aa)Val	0.286	4	(aa)Ser	0.3
	(aa)Pro	0.216	5	(tca)Pyruvic Acid	0.29
	(co-factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.178	6	(tca)Succinic Acid	0.247
	(other)urea major	0.17	7	(tca)Malic Acid	0.219
	(lipid)Glycerol	0.163	8	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	0.194
	(cho)sucrose	0.162	9	(other)Dianhydro-D-glucit	-0.178
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.135	10	(lipid)palmitic acid	-0.151
	(aa)Met	0.121	11	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.13
	(tca)Pyruvic Acid	-0.111	12	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	0.121
	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	-0.1	13	(aa)Tyr	-0.119
	(other)phosphoric acid	0.098	14	(other)?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	0.114
	(other)?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	0.09	15	(aa)Asp	-0.109
	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	0.087	16	(shik)hydroxybenzoic acid	0.103
	(tca)Malic Acid	-0.079	17	(cho)sucrose	0.102
	(tca)Succinic Acid	0.072	18	(other)urea major	0.096
	(lipid)palmitic acid	-0.072	19	(shik)benzoic acid	0.093
	(aa)?? Asparagine 620	-0.068	20	(aa)Pro	0.093
	(tca)Fumaric Acid	0.066	21	(aa)Met	-0.089
	(aa)Glu	0.06	22	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.087
	(shik)benzoic acid	0.056	23	(aa)Ile	-0.067
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.049	24	(co-factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.046
	(aa)Ser	0.043	25	(lipid)Glycerol	0.046

(shik)hydroxybenzoic acid	0.029	26	(aa)Glu	0.034
(aa)Asp	0.019	27	(aa)Val	0.034
(other)Dianhydro-D-glucit	-0.003	28	(aa)Gly	0.016



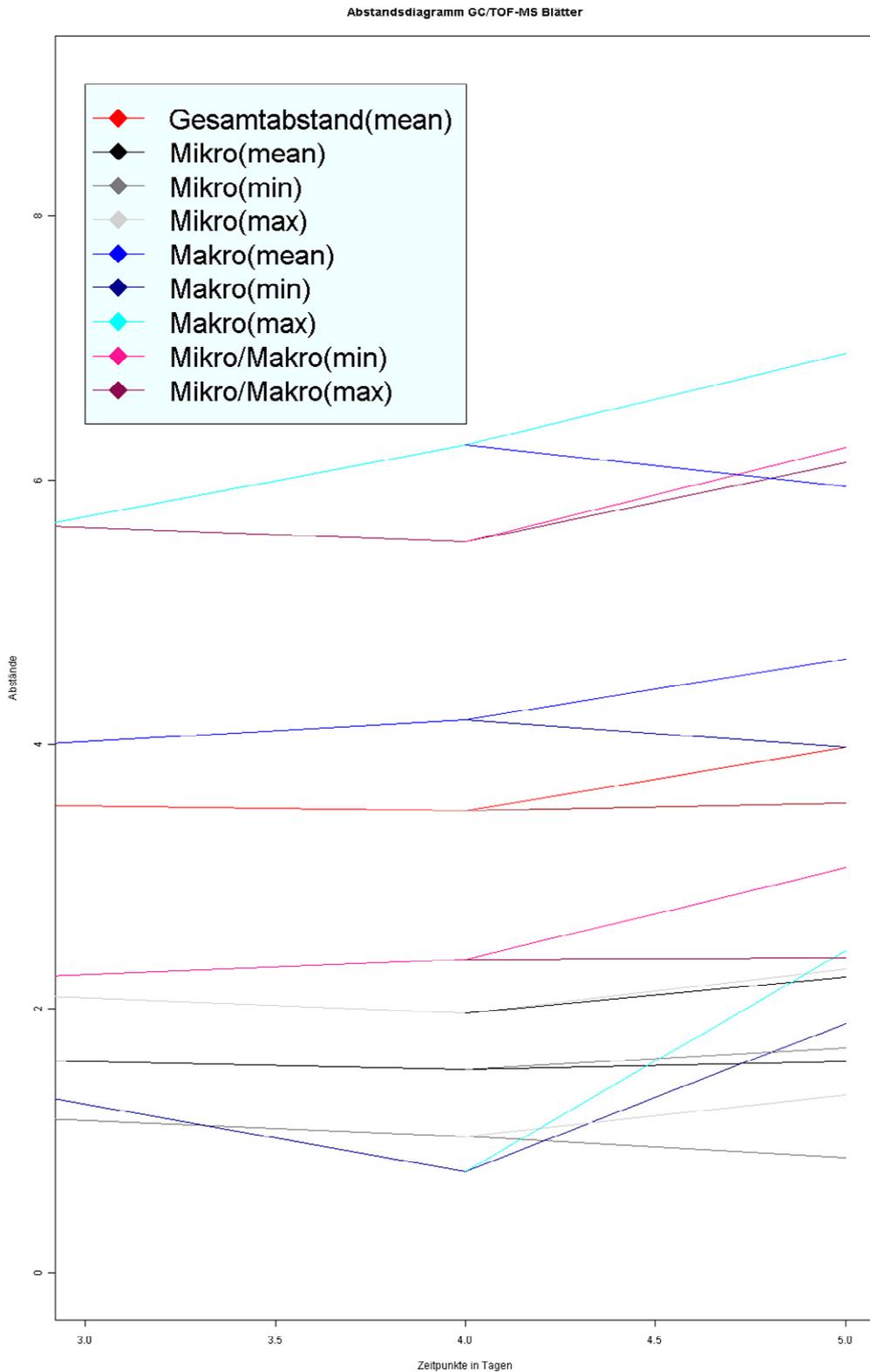
Tag	Hauptkomponente 1 (54.23 %)		81.43 %	Hauptkomponente 2 (27.20 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
3	(tca)Fumaric Acid	0.516	1	(other)phosphoric acid	0.37
	(aa)Ile	0.515	2	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	0.323
	(aa)Tyr	0.363	3	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.273
	(aa)?? Asparagine 620	-0.345	4	(aa)Tyr	0.252
	(other)Dianhydro-D-glucit	-0.198	5	(co-factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.227
	(aa)Gly	-0.197	6	(aa)Pro	0.22
	(lipid)Glycerol	0.174	7	(tca)Succinic Acid	0.213
	(aa)Pro	0.144	8	(lipid)Glycerol	0.209
	(aa)Val	0.141	9	(other)urea major	0.208
	(aa)Met	0.132	10	(aa)Val	0.205
	(shik)hydroxybenzoic acid	0.105	11	(tca)Fumaric Acid	-0.187
	(aa)Ser	-0.096	12	(other)?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	0.183
	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	-0.096	13	(aa)Ile	-0.182
	(aa)Glu	0.066	14	(aa)Met	0.18
	(cho)sucrose	0.065	15	(aa)?? Asparagine 620	0.174
	(tca)Malic Acid	0.062	16	(aa)Glu	0.169
	(other)?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	0.055	17	(cho)sucrose	0.168
	(other)urea major	0.039	18	(aa)Gly	-0.165
	(tca)Succinic Acid	0.039	19	(aa)Ser	0.161
	(aa)Asp	0.038	20	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.153
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.035	21	(tca)Pyruvic Acid	0.143
	(shik)benzoic acid	0.024	22	(shik)benzoic acid	0.137
	(lipid)palmitic acid	0.02	23	(shik)hydroxybenzoic acid	0.07
	(tca)Pyruvic Acid	-0.018	24	(other)Dianhydro-D-glucit	0.062
	(co-factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.016	25	(lipid)palmitic acid	-0.023
	(other)phosphoric acid	-0.015	26	(aa)Asp	0.02
	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	0.009	27	(tca)Malic Acid	0.014

	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.008	28	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	0.011
Tag	Hauptkomponente 1 (56.74 %)		84.02 %	Hauptkomponente 2 (27.28 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
4	(other)phosphoric acid	-0.403	1	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	0.626
	(other)urea major	-0.39	2	(other)urea major	-0.472
	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	-0.296	3	(aa)Gly	0.284
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.28	4	(co-factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.269
	(other)?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	-0.26	5	(tca)Fumaric Acid	0.256
	(aa)Tyr	-0.244	6	(other)?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	0.196
	(aa)Ile	-0.221	7	(aa)Ser	0.156
	(aa)Val	-0.188	8	(aa)?? Asparagine 620	-0.156
	(tca)Succinic Acid	-0.186	9	(aa)Ile	0.15
	(aa)Met	-0.181	10	(tca)Malic Acid	-0.114
	(aa)Gly	0.181	11	(aa)Tyr	-0.099
	(cho)sucrose	-0.164	12	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.09
	(tca)Pyruvic Acid	-0.16	13	(aa)Glu	0.076
	(other)Dianhydro-D-glucit	-0.152	14	(aa)Val	-0.071
	(lipid)Glycerol	-0.139	15	(lipid)Glycerol	-0.054
	(aa)Pro	-0.137	16	(lipid)palmitic acid	0.051
	(aa)Glu	-0.135	17	(aa)Asp	0.045
	(shik)benzoic acid	-0.132	18	(aa)Pro	-0.044
	(aa)?? Asparagine 620	-0.122	19	(shik)benzoic acid	-0.043
	(lipid)palmitic acid	0.11	20	(tca)Pyruvic Acid	0.039
	(co-factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	-0.102	21	(cho)sucrose	0.033
	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	-0.095	22	(other)phosphoric acid	-0.021
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.087	23	(shik)hydroxybenzoic acid	-0.021
	(shik)hydroxybenzoic acid	-0.049	24	(aa)Met	0.018
	(aa)Asp	-0.033	25	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.017
	(tca)Malic Acid	-0.032	26	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	-0.013
	(tca)Fumaric Acid	0.029	27	(tca)Succinic Acid	0.011

(aa)Ser		0.002	28	(other)Dianhydro-D-glucit	0.005
<p><b>Tag 5</b></p>			<p><b>(loading) Tag 5</b></p>		
Tag	Hauptkomponente 1 (50.55 %)		84.02 %	Hauptkomponente 2 (33.47 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5	(other)phosphoric acid	-0.484	1	(aa)Tyr	-0.458
	(other)urea major	-0.358	2	(aa)?? Asparagine 620	0.406
	(glycolysis)Glucose-1- phosphate minor	-0.323	3	(aa)Pro	-0.346
	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	-0.288	4	(aa)Asp	-0.26
	(aa)Gly	0.288	5	(other)phosphoric acid	-0.23
	(other)?? isopropyl beta-D- thiogalactopyranoside	-0.272	6	(aa)Glu	-0.223
	(tca)Fumaric Acid	-0.24	7	(aa)Ile	0.208
	(aa)?? Asparagine 620	-0.22	8	(other)urea major	-0.202
	(tca)Pyruvic Acid	-0.189	9	(aa)Ser	-0.182
	(aa)Met	-0.169	10	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.18
	(other)beta-glucopyranose 1,6- anhydro	-0.152	11	(other)beta--glucopyranose 1,6-anhydro	0.177
	(cho)sucrose	-0.142	12	(aa)Met	-0.152
	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	-0.14	13	(tca)Pyruvic Acid	-0.137
	(lipid)Glycerol	-0.132	14	(aa)Gly	-0.131
	(co- factor)gamma Amino-n-Butyric acid	-0.128	15	(tca)Fumaric Acid	0.118
	(shik)benzoic acid	-0.084	16	(shik)benzoic acid	-0.114
	(tca)Succinic Acid	-0.067	17	(other)Dianhydro-D-glucit	0.105
	(aa)Glu	-0.065	18	(co -factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.102
	(shik)hydroxybenzoic acid	-0.061	19	(lipid)Glycerol	-0.092
	(aa)Val	-0.044	20	(cho)sucrose	0.088
	(aa)Ile	-0.037	21	(tca)Succinic Acid	0.083
	(other)Dianhydro-D- glucit	0.033	22	(shik)hydroxybenzoic acid	-0.08
	(lipid)palmitic acid	-0.028	23	(other)?? isopropyl beta-D- thiogalactopyranoside	-0.064
	(aa)Tyr	0.027	24	(aa)Val	-0.061
	(tca)Malic Acid	-0.025	25	(lipid)palmitic acid	0.06
	(aa)Ser	0.014	26	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	-0.059
	(aa)Asp	0.004	27	(tca)Malic Acid	-0.042

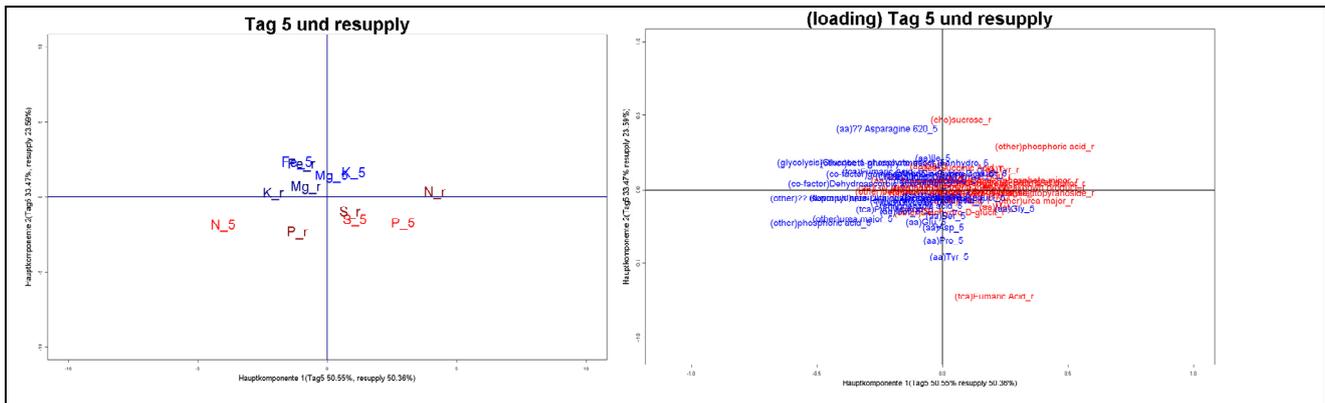
(aa)Pro		0.004	28	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	0.037
<p><b>Tag 6</b></p>			<p><b>(loading) Tag 6</b></p>		
Tag	Hauptkomponente 1 (64.67 %)		82.64 %	Hauptkomponente 2 (17.97 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
6	(other)phosphoric acid	0.511	1	(co-factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.431
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.356	2	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	0.337
	(other)?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	0.304	3	(aa)?? Asparagine 620	-0.315
	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	0.282	4	(aa)Ser	0.311
	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	0.219	5	(tca)Pyruvic Acid	0.288
	(aa)?? Asparagine 620	0.217	6	(tca)Fumaric Acid	0.251
	(cho)sucrose	0.203	7	(lipid)Glycerol	0.24
	(other)urea major	0.198	8	(aa)Ile	-0.224
	(aa)Tyr	0.198	9	(other)urea major	-0.222
	(aa)Met	0.174	10	(cho)sucrose	0.161
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.159	11	(tca)Succinic Acid	0.158
	(aa)Gly	-0.152	12	(shik)benzoic acid	-0.154
	(aa)Ile	0.147	13	(aa)Asp	-0.153
	(tca)Pyruvic Acid	0.145	14	(shik)hydroxybenzoic acid	0.148
	(tca)Fumaric Acid	0.14	15	(other)Dianhydro-D-glucit	0.137
	(aa)Val	0.131	16	(lipid)palmitic acid	0.127
	(co-factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.126	17	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.121
	(shik)benzoic acid	0.119	18	(aa)Tyr	-0.108
	(aa)Glu	0.11	19	(other)?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	-0.105
	(tca)Succinic Acid	0.088	20	(aa)Val	0.069
	(aa)Ser	-0.073	21	(tca)Malic Acid	-0.047
	(aa)Pro	0.069	22	(aa)Pro	-0.039
	(tca)Malic Acid	0.057	23	(aa)Glu	-0.036
	(shik)hydroxybenzoic acid	0.046	24	(aa)Gly	-0.006
	(other)Dianhydro-D-glucit	-0.041	25	(aa)Met	0.005
	(aa)Asp	-0.026	26	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	0.003
	(lipid)Glycerol	0.022	27	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.001
	(lipid)palmitic acid	-0.01	28	(other)phosphoric acid	-0.001

**7.4.12 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen)**



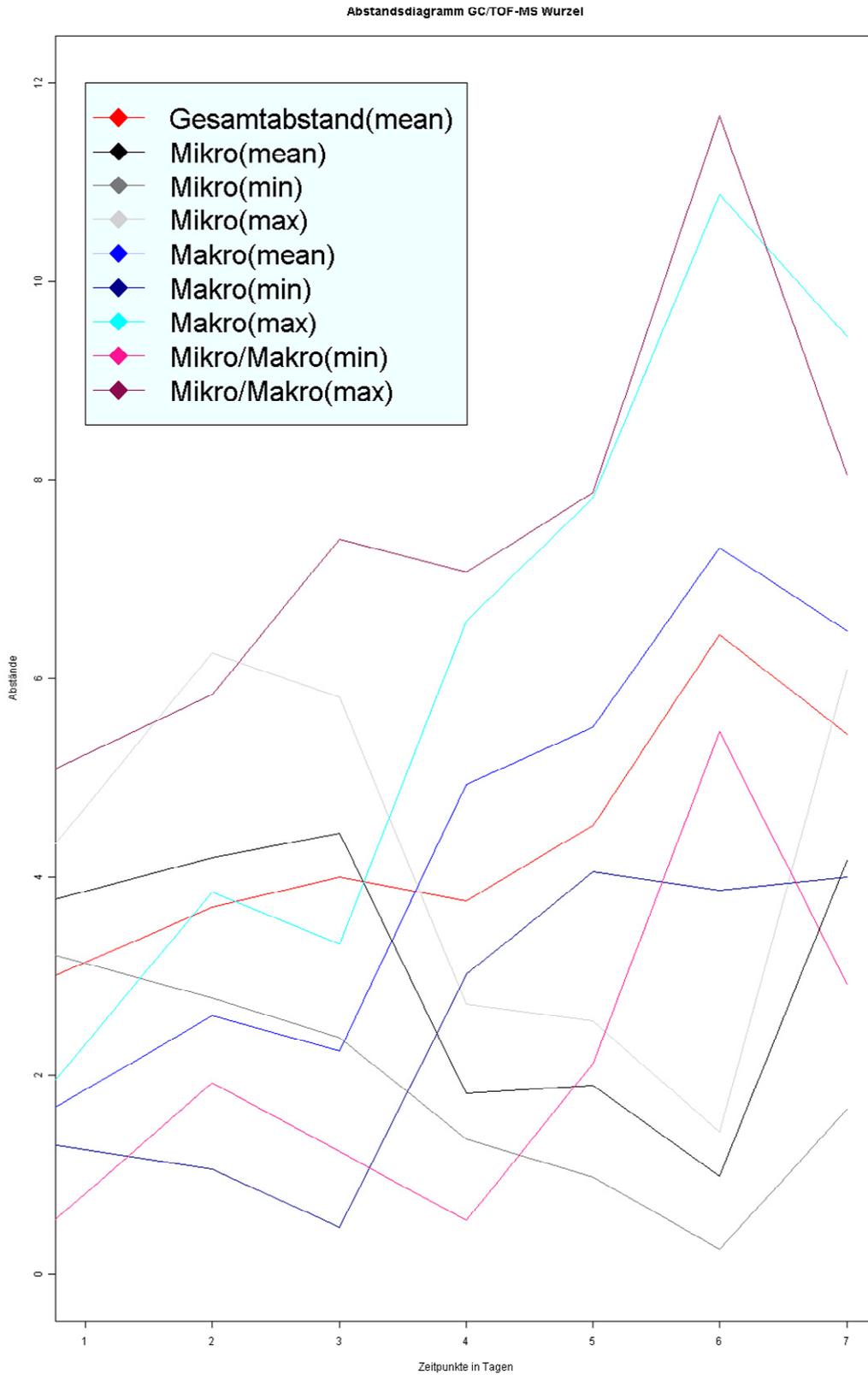
**7.4.13 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Blätter des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik**

Tag	Hauptkomponente 1 (50.55 %)		83.95 %	Hauptkomponente 2 (33.40 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5	(other)phosphoric acid	-0.484	1	(aa)Tyr	-0.458
	(other)urea major	-0.358	2	(aa)?? Asparagine 620	0.406
	(glycolysis)Glucose-1- phosphate minor	-0.323	3	(aa)Pro	-0.346
	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	-0.288	4	(aa)Asp	-0.26
	(aa)Gly	0.288	5	(other)phosphoric acid	-0.23
	(other)?? isopropyl beta-D- thiogalactopyranoside	-0.272	6	(aa)Glu	-0.223
	(tca)Fumaric Acid	-0.24	7	(aa)Ile	0.208
	(aa)?? Asparagine 620	-0.22	8	(other)urea major	-0.202
	(tca)Pyruvic Acid	-0.189	9	(aa)Ser	-0.182
	(aa)Met	-0.169	10	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.18
	(other)beta-glucopyranose 1,6- anhydro	-0.152	11	(other)beta--glucopyranose 1,6-anhydro	0.177
	(cho)sucrose	-0.142	12	(aa)Met	-0.152
	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	-0.14	13	(tca)Pyruvic Acid	-0.137
	(lipid)Glycerol	-0.132	14	(aa)Gly	-0.131
	(co- factor)gamma Amino-n-Butyric acid	-0.128	15	(tca)Fumaric Acid	0.118
	(shik)benzoic acid	-0.084	16	(shik)benzoic acid	-0.114
	(tca)Succinic Acid	-0.067	17	(other)Dianhydro-D-glucit	0.105
	(aa)Glu	-0.065	18	(co -factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.102
	(shik)hydroxybenzoic acid	-0.061	19	(lipid)Glycerol	-0.092
	(aa)Val	-0.044	20	(cho)sucrose	0.088
	(aa)Ile	-0.037	21	(tca)Succinic Acid	0.083
	(other)Dianhydro-D- glucit	0.033	22	(shik)hydroxybenzoic acid	-0.08
	(lipid)palmitic acid	-0.028	23	(other)?? isopropyl beta-D- thiogalactopyranoside	-0.064
	(aa)Tyr	0.027	24	(aa)Val	-0.061
	(tca)Malic Acid	-0.025	25	(lipid)palmitic acid	0.06
	(aa)Ser	0.014	26	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	-0.059
	(aa)Asp	0.004	27	(tca)Malic Acid	-0.042
	(aa)Pro	0.004	28	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	0.037

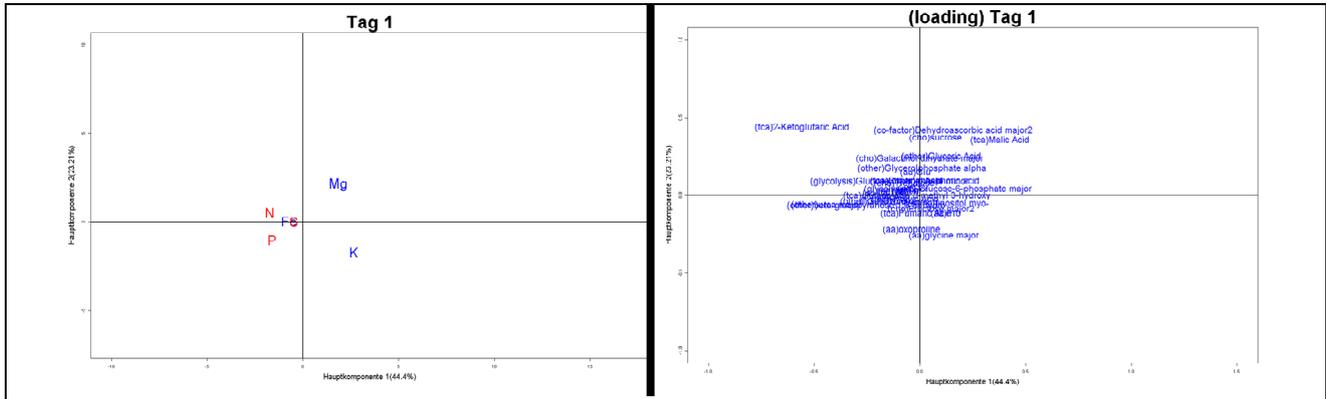


Tag	Hauptkomponente 1 (50.36 %)		73.95 %	Hauptkomponente 2 (23.59 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
resupply	(other)phosphoric acid	0.406	1	(tca)Fumaric Acid	-0.727
	(other)urea major	0.367	2	(cho)sucrose	0.468
	(aa)Ile	0.303	3	(other)phosphoric acid	0.289
	(aa)Gly	-0.26	4	(aa)Ser	0.158
	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	0.246	5	(other)Dianhydro-D-glucit	-0.157
	(aa)Tyr	0.232	6	(tca)Succinic Acid	0.144
	(lipid)Glycerol	0.23	7	(aa)Asp	-0.143
	(aa)Met	0.224	8	(aa)Tyr	0.133
	(aa)Val	0.222	9	(aa)Met	-0.123
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.211	10	(tca)Pyruvic Acid	0.089
	(tca)Fumaric Acid	0.206	11	(other)urea major	-0.082
	(other)?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	0.197	12	(tca)Malic Acid	-0.08
	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	0.182	13	(aa)Pro	-0.08
	(co-factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.17	14	(aa)?? Asparagine 620	0.062
	(tca)Pyruvic Acid	0.124	15	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.061
	(aa)Glu	0.121	16	(co-factor)gamma-Amino-n-Butyric acid	0.049
	(shik)benzoic acid	0.111	17	(shik)benzoic acid	-0.046
	(aa)?? Asparagine 620	-0.086	18	(aa)Glu	0.044
	(aa)Asp	-0.083	19	(co-factor)Dehydroascorbic acid minor	0.039
	(tca)Succinic Acid	0.078	20	(other)?? isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside	-0.026
	(aa)Pro	0.075	21	(aa)Ile	-0.025
	(cho)sucrose	0.073	22	(aa)Val	0.023
	(shik)hydroxybenzoic acid	0.059	23	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.016
	(tca)Malic Acid	0.058	24	(lipid)Glycerol	-0.011
	(aa)Ser	-0.055	25	(shik)hydroxybenzoic acid	-0.011
	(lipid)palmitic acid	-0.046	26	(flavonoid)quercitrin major breakdown product	0.011
	(other)Dianhydro-D-glucit	0.028	27	(aa)Gly	0.008
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.016	28	(lipid)palmitic acid	0.003

**7.4.14 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des ersten bis siebenten Tages**

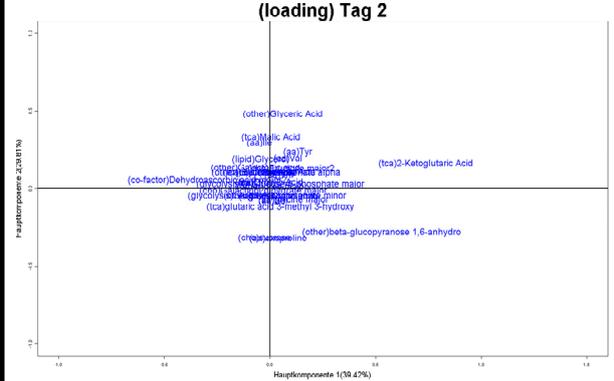
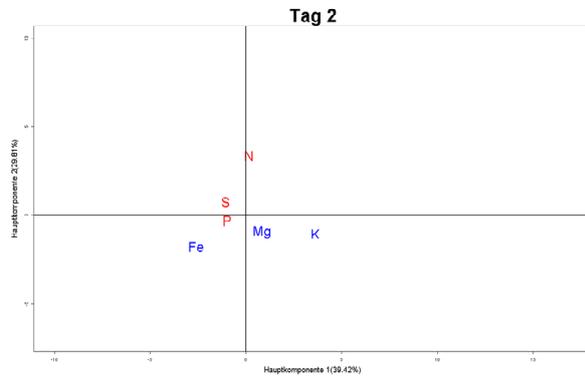


**7.4.15 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln des ersten bis siebenten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken**



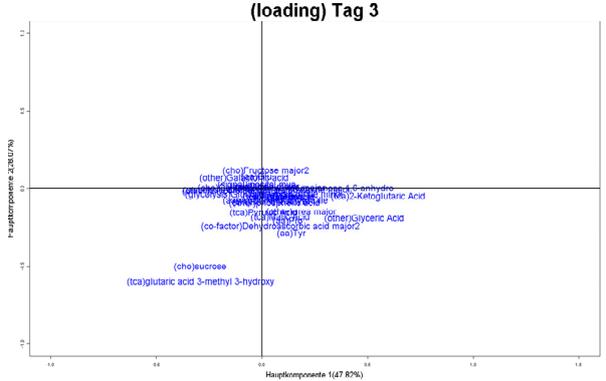
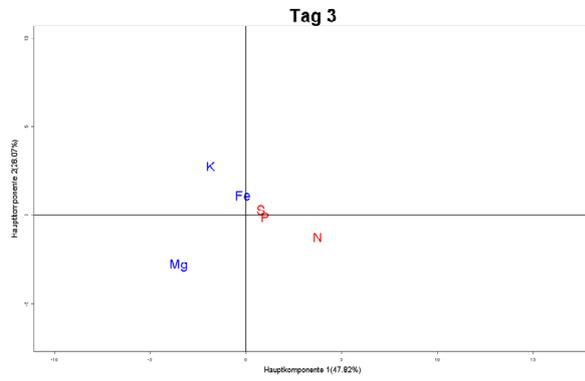
Tag	Hauptkomponente 1 (44.40 %)		67.81 %	Hauptkomponente 2 (23.41 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
1	(tca)2-Ketoglutaric Acid	-0.557	1	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.439
	(other)urea major	-0.444	2	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	0.418
	(tca)Malic Acid	0.378	3	(cho)sucrose	0.367
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.254	4	(tca)Malic Acid	0.353
	(aa)Ile	-0.21	5	(aa)glycine major	-0.262
	(other)Galactonic acid	-0.165	6	(other)Glyceric Acid	0.25
	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	0.158	7	(cho)Galactinol dihydrate major	0.238
	(lipid)Glycerol	-0.15	8	(aa)oxoproline	-0.223
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.143	9	(other)Glycerolphosphate alpha	0.175
	(signal)inositol myo-	0.136	10	(aa)Glu	0.145
	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.133	11	(aa)Pro	-0.118
	(aa)Val	-0.132	12	(tca)Fumaric Acid	-0.116
	(aa)Pro	0.124	13	(other)phosphoric acid	0.09
	(aa)Asp	-0.121	14	(cho)Fructose major2	-0.089
	(aa)glycine major	0.115	15	(tca)Succinic Acid	0.088
	(other)Glyceric Acid	0.102	16	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.087
	(cho)sucrose	0.076	17	(cho)Trehalose	0.075
	(cho)Trehalose	-0.074	18	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.065
	(tca)Pyruvic Acid	-0.069	19	(other)urea major	-0.064
	(other)phosphoric acid	0.068	20	(signal)inositol myo-	-0.054
	(aa)Tyr	-0.068	21	(other)Galactonic acid	-0.042
	(tca)Succinic Acid	-0.064	22	(lipid)Glycerol	-0.039
	(aa)Thr	-0.061	23	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.038
	(cho)Fructose major2	0.053	24	(aa)Ser	0.037
	(aa)oxoproline	-0.04	25	(aa)Tyr	0.031
	(aa)Ser	-0.032	26	(tca)Pyruvic Acid	-0.026
	(aa)Glu	-0.019	27	(aa)Thr	0.025

(tca)Fumaric Acid	-0.017	28	(aa)Val	0.025
(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.015	29	(aa)Asp	-0.015
(other)Glycerolphosphate alpha	0.011	30	(aa)Ile	0.01
(cho)Galactinol dihydrate major	0	31	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.003



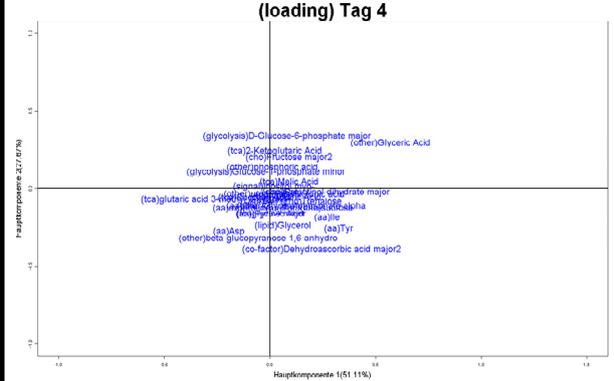
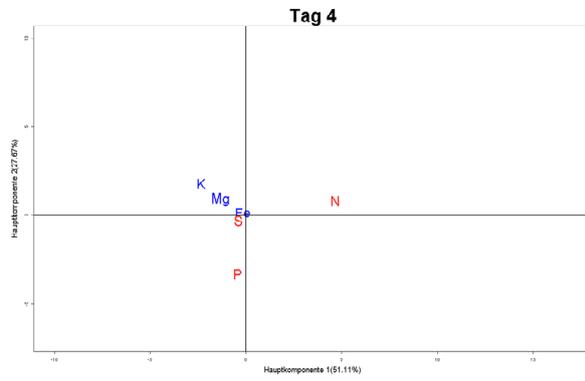
Tag	Hauptkomponente 1 (39.42 %)		69.23 %	Hauptkomponente 2 (29.81 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
2	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.739	1	(other)Glyceric Acid	0.478
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.529	2	(tca)Malic Acid	0.331
	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	-0.297	3	(aa)oxoproline	-0.322
	(aa)Tyr	0.132	4	(cho)sucrose	-0.32
	(aa)glycine major	0.113	5	(aa)Ile	0.295
	(cho)Fructose major2	0.102	6	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.282
	(aa)Val	0.085	7	(aa)Tyr	0.235
	(aa)Glu	-0.077	8	(aa)Val	0.192
	(other)Galactonic acid	-0.068	9	(lipid)Glycerol	0.188
	(other)Glyceric Acid	0.063	10	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.162
	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	0.051	11	(other)Galactonic acid	0.132
	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.049	12	(cho)Fructose major2	0.127
	(aa)Ile	-0.048	13	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.117
	(tca)Succinic Acid	-0.048	14	(tca)Succinic Acid	0.105
	(tca)Fumaric Acid	0.048	15	(tca)Fumaric Acid	0.103
	(signal)inositol myo-	0.046	16	(other)Glycerolphosphate alpha	0.102
	(aa)Thr	0.045	17	(aa)Pro	0.101
	(lipid)Glycerol	-0.044	18	(cho)Trehalose	0.1
	(aa)oxoproline	0.039	19	(aa)Thr	0.085
	(aa)Asp	-0.036	20	(aa)Ser	-0.08
	(cho)Galactinol dihydrate major	-0.031	21	(aa)glycine major	-0.074
	(other)Glycerolphosphate alpha	0.03	22	(signal)inositol myo-	-0.055
	(cho)sucrose	-0.024	23	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	0.054
	(aa)Ser	0.018	24	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.049
	(aa)Pro	0.017	25	(other)phosphoric acid	-0.048
	(cho)Trehalose	-0.016	26	(aa)Asp	-0.043
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.012	27	(tca)Pyruvic Acid	0.04

(other)urea major	0.01	28	(aa)Glu	0.039
(tca)Malic Acid	0.005	29	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.029
(tca)Pyruvic Acid	-0.003	30	(cho)Galactinol dihydrate major	-0.016
(other)phosphoric acid	-0.001	31	(other)urea major	0.011



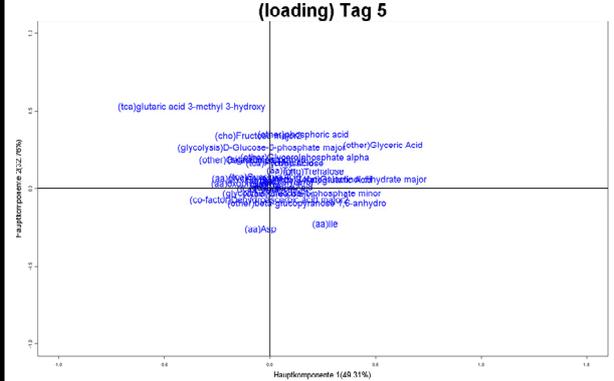
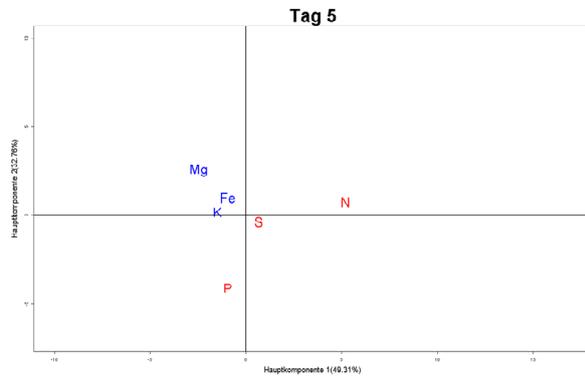
Tag	Hauptkomponente 1 (47.82 %)		75.89 %	Hauptkomponente 2 (28.07 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
3	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.55	1	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.599
	(other)Glyceric Acid	0.486	2	(cho)sucrose	-0.504
	(cho)sucrose	-0.291	3	(aa)Tyr	-0.289
	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.289	4	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	-0.244
	(aa)Ile	0.255	5	(aa)Pro	-0.211
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.249	6	(other)Glyceric Acid	-0.194
	(other)urea major	0.185	7	(tca)Malic Acid	-0.188
	(aa)Val	0.157	8	(tca)Pyruvic Acid	-0.155
	(aa)Tyr	0.139	9	(other)urea major	-0.151
	(aa)Pro	0.124	10	(cho)Fructose major2	0.115
	(cho)Trehalose	0.107	11	(other)phosphoric acid	-0.095
	(aa)Thr	0.097	12	(tca)Succinic Acid	-0.089
	(tca)Malic Acid	0.088	13	(aa)Val	-0.081
	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	0.088	14	(aa)Ile	-0.079
	(other)Galactonic acid	-0.084	15	(aa)oxoproline	-0.077
	(tca)Fumaric Acid	0.079	16	(aa)Glu	0.075
	(lipid)Glycerol	0.075	17	(other)Galactonic acid	0.066
	(other)Glycerolphosphate alpha	-0.072	18	(aa)Thr	-0.059
	(other)phosphoric acid	0.06	19	(lipid)Glycerol	-0.058
	(aa)oxoproline	-0.048	20	(tca)Fumaric Acid	-0.058
	(aa)Asp	-0.046	21	(cho)Trehalose	-0.056
	(tca)Succinic Acid	0.033	22	(tca)2-Ketoglutaric Acid	-0.053
	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.023	23	(aa)Ser	-0.043
	(aa)Glu	-0.023	24	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.042
	(cho)Fructose major2	0.019	25	(signal)inositol myo-	0.024
	(signal)inositol myo-	-0.016	26	(other)Glycerolphosphate alpha	-0.02
	(aa)glycine major	0.013	27	(aa)glycine major	0.013

(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.012	28	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	-0.01
(tca)Pyruvic Acid	0.009	29	(aa)Asp	0.008
(aa)Ser	0.009	30	(cho)Galactinol dihydrate major	0.005
(cho)Galactinol dihydrate major	-0.002	31	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.002



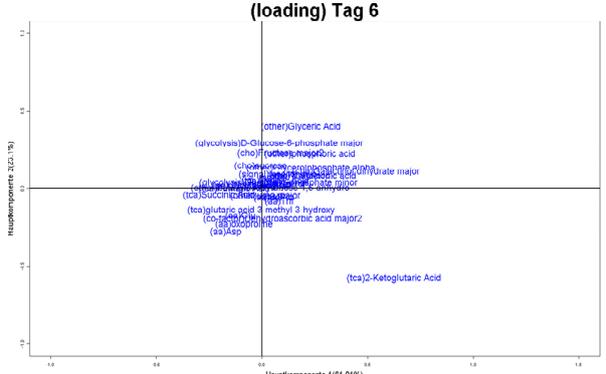
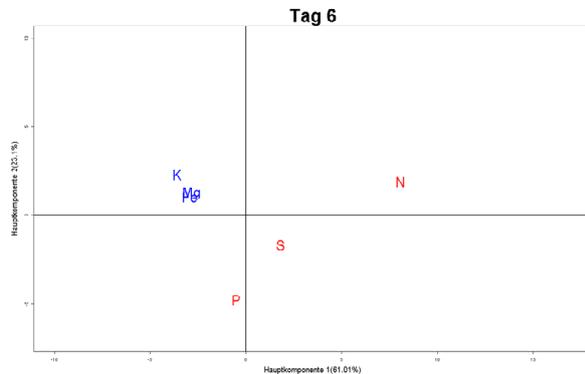
Tag	Hauptkomponente 1 (51.11 %)		78.98 %	Hauptkomponente 2 (27.87 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
4	(other)Glyceric Acid	0.571	1	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	-0.394
	(aa)Tyr	0.326	2	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.34
	(aa)Ile	0.272	3	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.322
	(cho)sucrose	0.269	4	(other)Glyceric Acid	0.295
	(cho)Galactinol dihydrate major	0.267	5	(aa)Asp	-0.277
	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.261	6	(aa)Tyr	-0.258
	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	0.245	7	(lipid)Glycerol	-0.241
	(cho)Trehalose	0.196	8	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.239
	(aa)Asp	-0.193	9	(cho)Fructose major2	0.2
	(other)Glycerolphosphate alpha	0.149	10	(aa)Ile	-0.188
	(other)Galactonic acid	0.144	11	(aa)glycine major	-0.166
	(aa)oxoproline	-0.133	12	(tca)Pyruvic Acid	-0.165
	(aa)Glu	-0.131	13	(other)phosphoric acid	0.138
	(aa)Val	0.123	14	(aa)Thr	-0.13
	(cho)Fructose major2	0.092	15	(aa)oxoproline	-0.127
	(tca)Malic Acid	0.091	16	(cho)sucrose	-0.124
	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.08	17	(aa)Val	-0.114
	(tca)Fumaric Acid	0.076	18	(aa)Glu	-0.111
	(tca)Succinic Acid	-0.073	19	(other)Glycerolphosphate alpha	-0.111
	(aa)Pro	0.066	20	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.107
	(lipid)Glycerol	0.062	21	(aa)Ser	-0.089
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.055	22	(cho)Trehalose	-0.086
	(other)urea major	-0.053	23	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.07
	(aa)Thr	0.052	24	(tca)Succinic Acid	-0.062
	(aa)Ser	-0.03	25	(tca)Fumaric Acid	-0.059
	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.023	26	(tca)Malic Acid	0.043
	(signal)inositol myo-	0.02	27	(other)Galactonic acid	-0.039

(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.019	28	(other)urea major	-0.037
(other)phosphoric acid	0.013	29	(aa)Pro	-0.026
(aa)glycine major	0.005	30	(cho)Galactinol dihydrate major	-0.024
(tca)Pyruvic Acid	0.003	31	(signal)inositol myo-	0.014



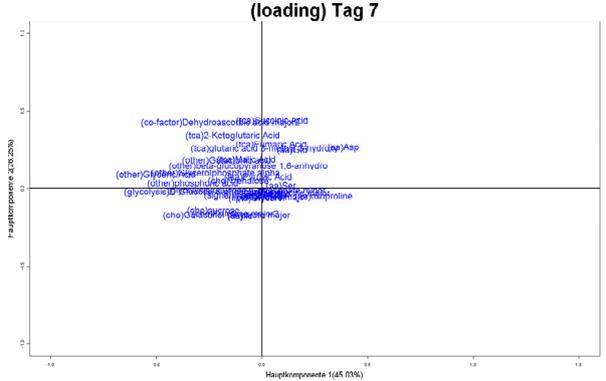
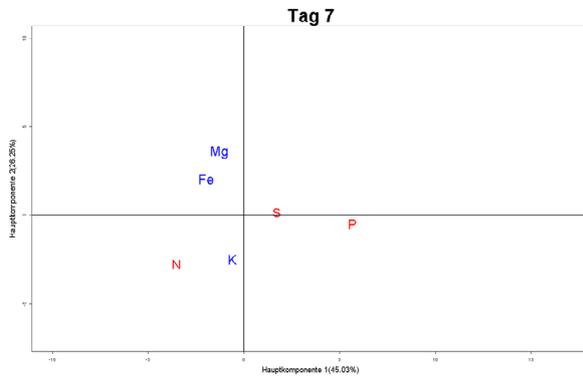
Tag	Hauptkomponente 1 (49.31 %)		81.77 %	Hauptkomponente 2 (32.46 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5	(other)Glyceric Acid	0.537	1	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	0.524
	(cho)Galactinol dihydrate major	0.442	2	(other)phosphoric acid	0.347
	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.37	3	(cho)Fructose major2	0.338
	(aa)Ile	0.263	4	(other)Glyceric Acid	0.275
	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.262	5	(aa)Asp	-0.262
	(cho)Trehalose	0.207	6	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.261
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.175	7	(aa)Ile	-0.23
	(other)Glycerolphosphate alpha	0.167	8	(other)Glycerolphosphate alpha	0.198
	(other)phosphoric acid	0.158	9	(signal)inositol myo-	0.186
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.152	10	(other)Galactonic acid	0.184
	(aa)oxoproline	-0.142	11	(cho)sucrose	0.162
	(cho)sucrose	0.131	12	(tca)Pyruvic Acid	0.161
	(other)Galactonic acid	-0.123	13	(aa)Tyr	0.114
	(aa)glycine major	-0.107	14	(cho)Trehalose	0.107
	(lipid)Glycerol	0.072	15	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.098
	(tca)Malic Acid	0.065	16	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	-0.076
	(cho)Fructose major2	-0.054	17	(tca)Succinic Acid	0.072
	(aa)Tyr	0.053	18	(aa)glycine major	0.063
	(aa)Thr	0.053	19	(cho)Galactinol dihydrate major	0.056
	(tca)Pyruvic Acid	0.048	20	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.052
	(aa)Asp	-0.043	21	(aa)Val	0.049
	(aa)Ser	-0.043	22	(aa)Ser	0.049
	(other)urea major	0.041	23	(lipid)Glycerol	0.041
	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	-0.04	24	(other)urea major	-0.038
	(aa)Glu	-0.025	25	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.034
	(tca)Succinic Acid	-0.021	26	(aa)oxoproline	0.032
	(aa)Val	0.021	27	(aa)Pro	0.024

(aa)Pro	-0.02	28	(aa)Thr	-0.012
(tca)Fumaric Acid	0.012	29	(tca)Malic Acid	0.007
(signal)inositol myo-	-0.007	30	(aa)Glu	0.005
(other)Glyceric Acid	0.537	31	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	0.524



Tag	Hauptkomponente 1 (61.01 %)		84.11 %	Hauptkomponente 2 (23.10 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
6	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.626	1	(tca)2-Ketoglutaric Acid	-0.578
	(cho)Galactinol dihydrate major	0.446	2	(other)Glyceric Acid	0.398
	(other)Galactonic acid	0.235	3	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.293
	(other)Glycerolphosphate alpha	0.233	4	(aa)Asp	-0.278
	(other)phosphoric acid	0.228	5	(aa)oxoproline	-0.232
	(tca)Succinic Acid	-0.202	6	(cho)Fructose major2	0.227
	(other)Glyceric Acid	0.186	7	(other)phosphoric acid	0.222
	(cho)Trehalose	0.18	8	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	-0.196
	(aa)Asp	-0.17	9	(aa)Glu	-0.178
	(tca)Fumaric Acid	-0.131	10	(cho)sucrose	0.146
	(aa)Glu	-0.099	11	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.139
	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	0.098	12	(other)Glycerolphosphate alpha	0.132
	(cho)Fructose major2	0.089	13	(cho)Galactinol dihydrate major	0.109
	(aa)oxoproline	-0.085	14	(signal)inositol myo-	0.09
	(signal)inositol myo-	0.084	15	(aa)Thr	-0.082
	(aa)Thr	0.083	16	(cho)Trehalose	0.081
	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.083	17	(other)Galactonic acid	0.08
	(aa)Pro	0.08	18	(aa)Ile	0.066
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.078	19	(aa)Ser	-0.06
	(lipid)Glycerol	0.074	20	(aa)Pro	-0.059
	(aa)glycine major	-0.067	21	(other)urea major	-0.048
	(tca)Pyruvic Acid	0.064	22	(tca)Pyruvic Acid	0.048
	(aa)Val	0.061	23	(tca)Succinic Acid	-0.044
	(aa)Tyr	0.055	24	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.039
	(aa)Ile	0.047	25	(lipid)Glycerol	0.032
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.04	26	(tca)Malic Acid	0.023
	(aa)Ser	0.032	27	(aa)glycine major	0.019

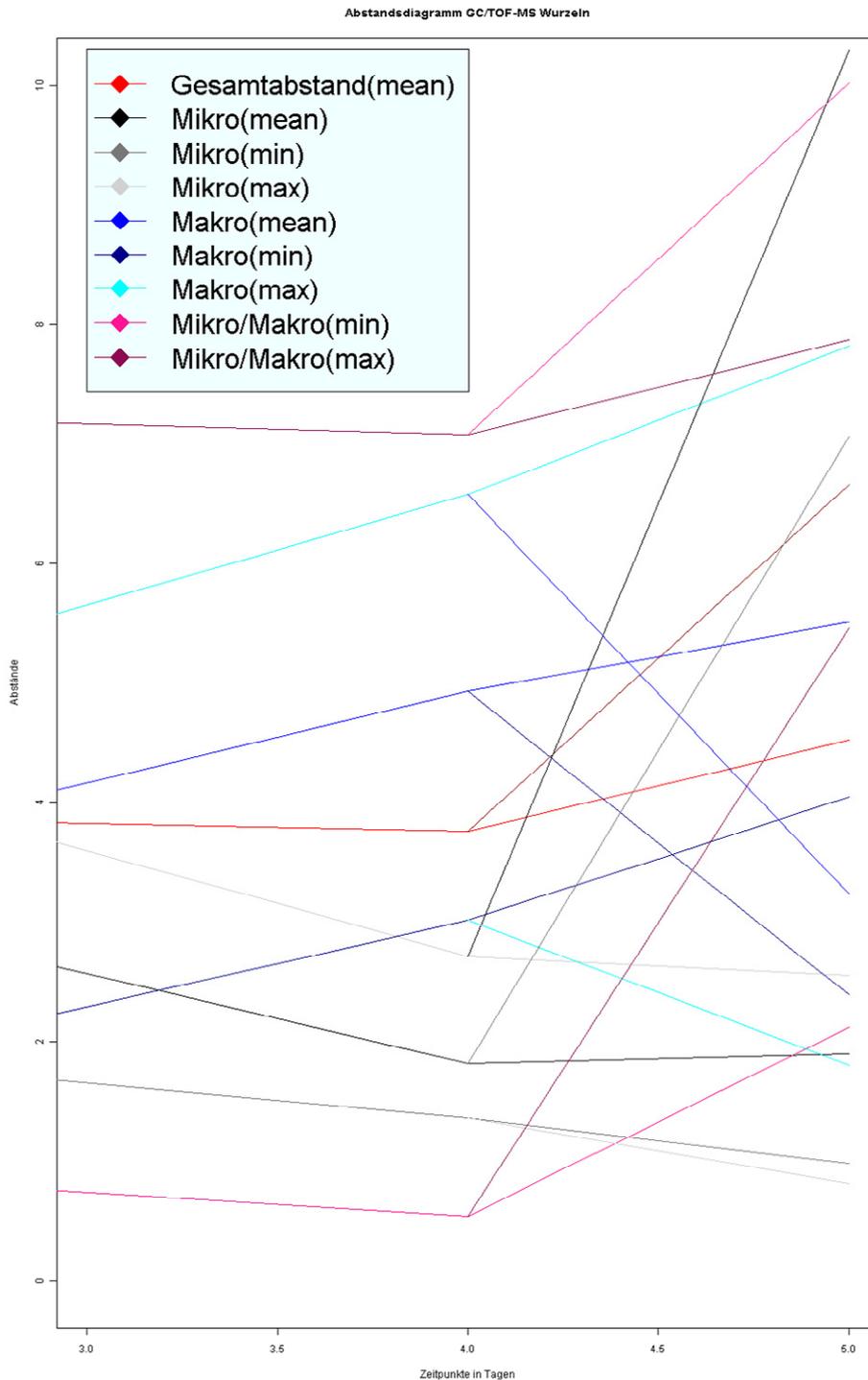
(other)urea major	0.017	28	(aa)Val	0.018
(cho)sucrose	-0.005	29	(aa)Tyr	0.017
(tca)Malic Acid	-0.003	30	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.005
(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.003	31	(tca)Fumaric Acid	-0.001



Tag	Hauptkomponente 1 (45.03 %)		71.28 %	Hauptkomponente 2 (26.25 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
7	(other)Glyceric Acid	-0.501	1	(tca)Succinic Acid	0.433
	(aa)Asp	0.385	2	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	0.42
	(other)phosphoric acid	-0.326	3	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.34
	(aa)oxoproline	0.293	4	(tca)Fumaric Acid	0.283
	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	-0.256	5	(aa)Asp	0.264
	(cho)sucrose	-0.229	6	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	0.255
	(other)Glycerolphosphate alpha	-0.218	7	(aa)Glu	0.247
	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	-0.197	8	(tca)Malic Acid	0.185
	(cho)Galactinol dihydrate major	-0.167	9	(other)Galactonic acid	0.181
	(other)Galactonic acid	-0.166	10	(aa)Ile	-0.179
	(aa)glycine major	0.158	11	(cho)Galactinol dihydrate major	-0.175
	(aa)Glu	0.145	12	(cho)Fructose major2	-0.165
	(tca)2-Ketoglutaric Acid	-0.137	13	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.144
	(cho)Fructose major2	-0.126	14	(cho)sucrose	-0.142
	(cho)Trehalose	-0.111	15	(other)Glycerolphosphate alpha	0.095
	(aa)Ile	-0.101	16	(other)Glyceric Acid	0.086
	(aa)Ser	0.092	17	(tca)Pyruvic Acid	0.072
	(signal)inositol myo-	-0.08	18	(lipid)Glycerol	-0.064
	(tca)Malic Acid	-0.073	19	(other)urea major	-0.059
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.071	20	(aa)Val	-0.055
	(aa)Pro	0.066	21	(aa)oxoproline	-0.053
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.064	22	(aa)Thr	-0.053
	(tca)Succinic Acid	0.051	23	(signal)inositol myo-	-0.048
	(other)urea major	0.05	24	(cho)Trehalose	0.047
	(aa)Thr	0.049	25	(aa)Pro	-0.038
	(tca)Fumaric Acid	0.045	26	(other)phosphoric acid	0.034
	(aa)Val	-0.031	27	(aa)glycine major	-0.032

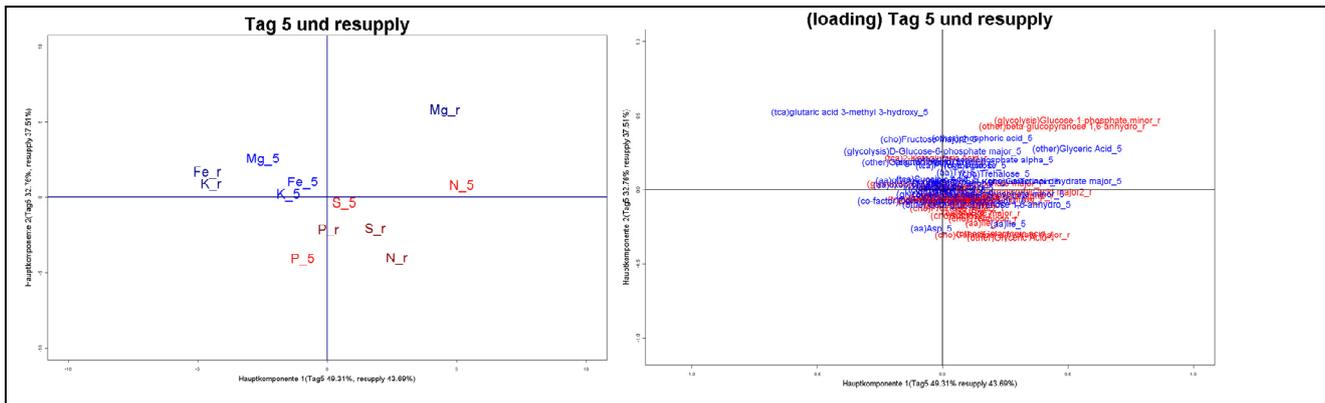
(lipid)Glycerol	-0.023	28	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	-0.024
(aa)Tyr	-0.017	29	(aa)Tyr	-0.024
(tca)Pyruvic Acid	-0.016	30	(aa)Ser	0.018
(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	0.013	31	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.015

**7.4.16 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen)**



**7.4.17 Darstellung der mit dem Verfahren GC/TOF-MS bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik**

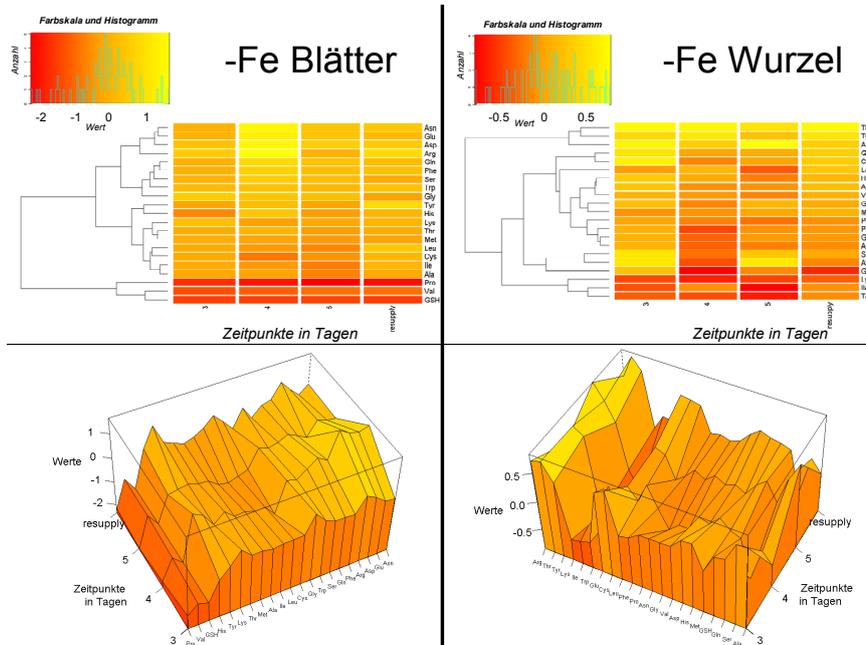
Tag	Hauptkomponente 1 (49.31 %)		81.77 %	Hauptkomponente 2 (32.46 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5	(other)Glyceric Acid	0.537	1	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	0.524
	(cho)Galactinol dihydrate major	0.442	2	(other)phosphoric acid	0.347
	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.37	3	(cho)Fructose major2	0.338
	(aa)Ile	0.263	4	(other)Glyceric Acid	0.275
	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.262	5	(aa)Asp	-0.262
	(cho)Trehalose	0.207	6	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.261
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.175	7	(aa)Ile	-0.23
	(other)Glycerolphosphate alpha	0.167	8	(other)Glycerolphosphate alpha	0.198
	(other)phosphoric acid	0.158	9	(signal)inositol myo-	0.186
	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.152	10	(other)Galactonic acid	0.184
	(aa)oxoproline	-0.142	11	(cho)sucrose	0.162
	(cho)sucrose	0.131	12	(tca)Pyruvic Acid	0.161
	(other)Galactonic acid	-0.123	13	(aa)Tyr	0.114
	(aa)glycine major	-0.107	14	(cho)Trehalose	0.107
	(lipid)Glycerol	0.072	15	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	-0.098
	(tca)Malic Acid	0.065	16	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	-0.076
	(cho)Fructose major2	-0.054	17	(tca)Succinic Acid	0.072
	(aa)Tyr	0.053	18	(aa)glycine major	0.063
	(aa)Thr	0.053	19	(cho)Galactinol dihydrate major	0.056
	(tca)Pyruvic Acid	0.048	20	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.052
	(aa)Asp	-0.043	21	(aa)Val	0.049
	(aa)Ser	-0.043	22	(aa)Ser	0.049
	(other)urea major	0.041	23	(lipid)Glycerol	0.041
	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	-0.04	24	(other)urea major	-0.038
	(aa)Glu	-0.025	25	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	-0.034
	(tca)Succinic Acid	-0.021	26	(aa)oxoproline	0.032
	(aa)Val	0.021	27	(aa)Pro	0.024
	(aa)Pro	-0.02	28	(aa)Thr	-0.012
	(tca)Fumaric Acid	0.012	29	(tca)Malic Acid	0.007
	(signal)inositol myo-	-0.007	30	(aa)Glu	0.005
	(other)Glyceric Acid	0.537	31	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	0.524



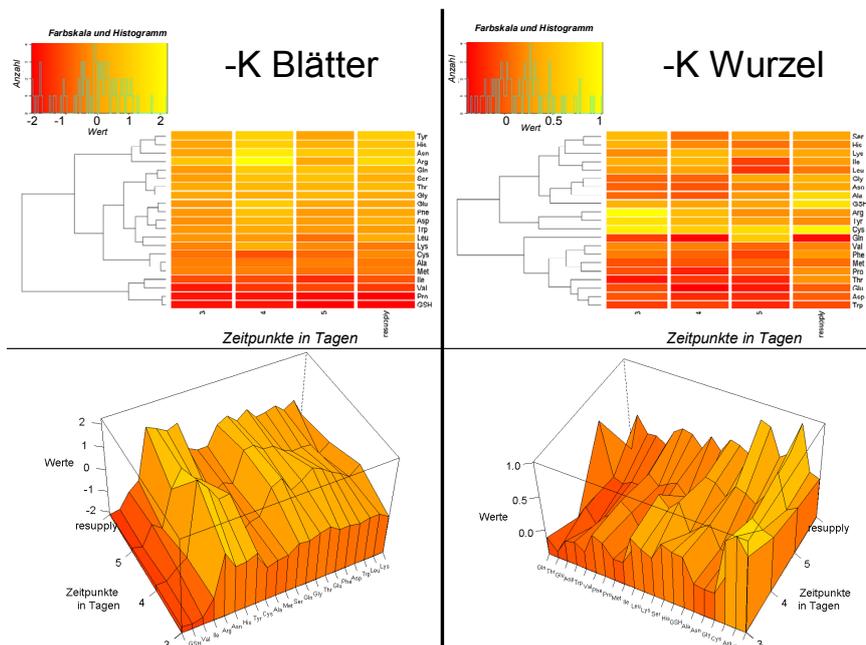
Tag	Hauptkomponente 1 (43.59 %)		81.09 %	Hauptkomponente 2 (37.50 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
resupply	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.536	1	(glycolysis)Glucose-1-phosphate minor	0.465
	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.477	2	(other)beta-glucopyranose 1,6-anhydro	0.429
	(other)Glyceric Acid	0.273	3	(other)Glyceric Acid	-0.326
	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	0.265	4	(cho)Galactinol dihydrate major	-0.307
	(other)Galactonic acid	0.249	5	(other)Galactonic acid	-0.298
	(cho)Galactinol dihydrate major	0.239	6	(aa)Ile	-0.225
	(other)Glycerolphosphate alpha	0.168	7	(tca)2-Ketoglutaric Acid	0.211
	(cho)Trehalose	0.161	8	(cho)Trehalose	-0.195
	(aa)Ile	0.158	9	(cho)sucrose	-0.178
	(aa)glycine major	0.154	10	(aa)glycine major	-0.159
	(aa)Tyr	0.14	11	(aa)Pro	-0.155
	(aa)Pro	0.125	12	(cho)Fructose major2	-0.124
	(aa)Thr	0.111	13	(aa)Thr	-0.112
	(aa)Val	0.104	14	(tca)Pyruvic Acid	-0.111
	(aa)Ser	0.097	15	(aa)Glu	-0.087
	(tca)Succinic Acid	0.094	16	(aa)Tyr	-0.086
	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	0.092	17	(tca)Fumaric Acid	-0.08
	(tca)Fumaric Acid	0.082	18	(other)phosphoric acid	-0.074
	(cho)sucrose	0.074	19	(tca)Malic Acid	-0.07
	(tca)Pyruvic Acid	0.063	20	(aa)Val	-0.069
	(cho)Fructose major2	0.059	21	(tca)glutaric acid 3-methyl 3-hydroxy	-0.067
	(aa)Asp	0.051	22	(aa)Ser	-0.06
	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.049	23	(signal)inositol myo-	-0.056
	(tca)Malic Acid	0.047	24	(other)urea major	-0.051
	(signal)inositol myo-	0.044	25	(tca)Succinic Acid	-0.044
	(aa)oxoproline	0.039	26	(other)Glycerolphosphate alpha	-0.042
	(other)urea major	0.031	27	(glycolysis)D-Glucose-6-phosphate major	0.038
	(tca)2-Ketoglutaric Acid	-0.026	28	(co-factor)Dehydroascorbic acid major2	-0.018
	(aa)Glu	0.021	29	(aa)oxoproline	0.01
	(lipid)Glycerol	0.021	30	(lipid)Glycerol	0.009
	(other)phosphoric acid	0.019	31	(aa)Asp	0.005

## 7.5 Visualisierung der RP-HPLC-Metabolitdaten

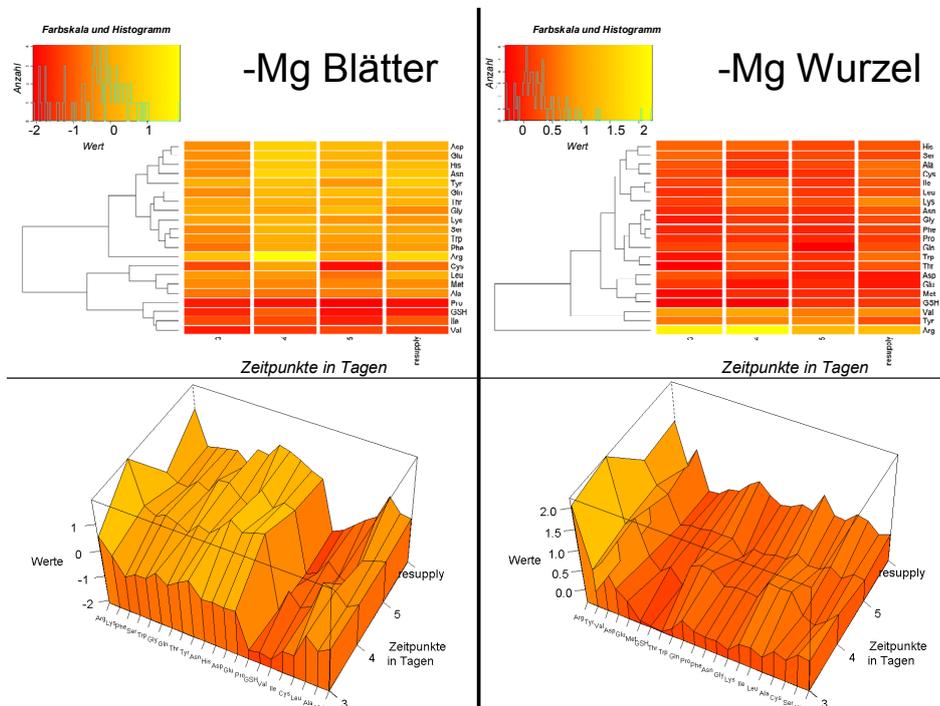
**7.5.1 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes**



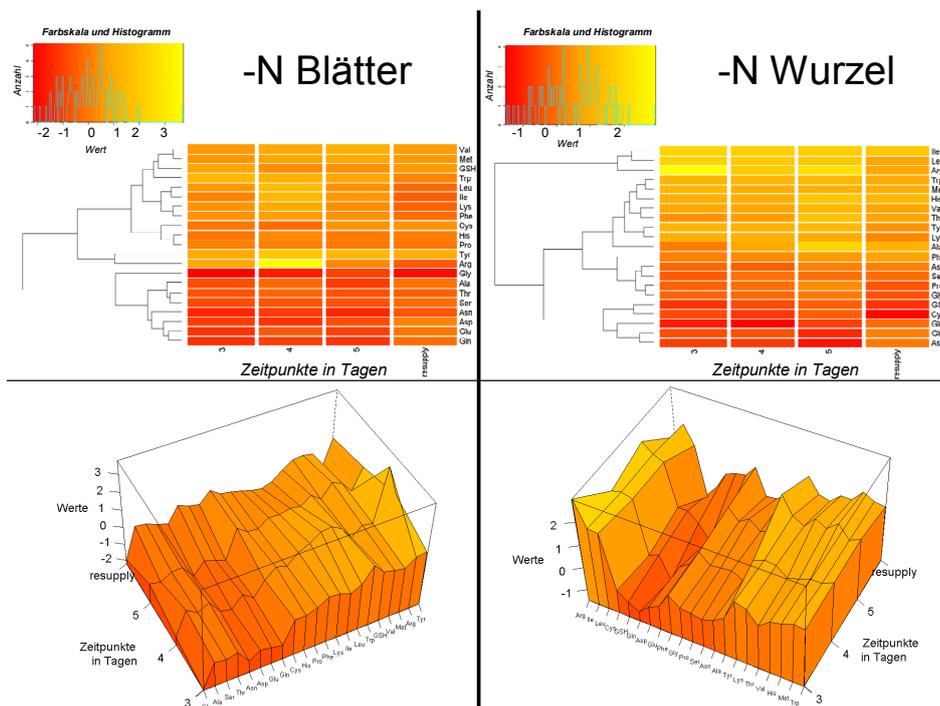
**7.5.2 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Kaliummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes**



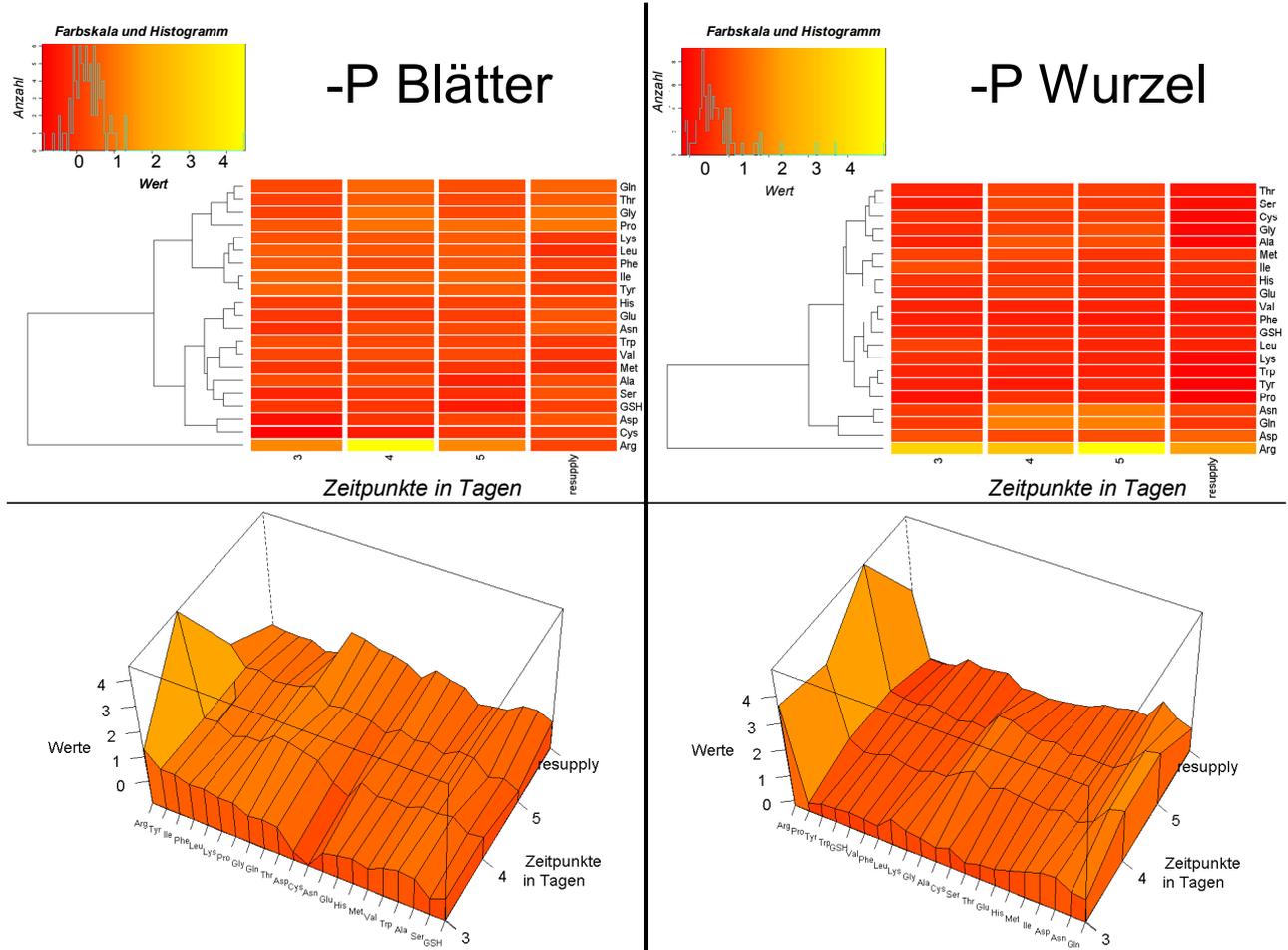
**7.5.3 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes**



**7.5.4 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes**



**7.5.5 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von Heatmaps und Wireframes**



### 7.5.6 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter des halben bis sechsten Tages in Form von loading-Tabellen

Tag	Hauptkomponente 1 (73.05 %)		88.71 %	Hauptkomponente 2 (15.66 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
0.5	Pro	0.425	1	Arg	-0.498
	GSH	0.399	2	Asn	0.447
	Arg	-0.36	3	Lys	0.286
	Val	0.339	4	Asp	0.284
	Ile	0.329	5	Glu	0.275
	Tyr	0.293	6	His	0.255
	Asn	-0.229	7	Gly	-0.234
	Cys	0.216	8	Pro	-0.23
	Leu	0.192	9	Tyr	0.201
	Asp	-0.137	10	Leu	0.177
	Lys	0.131	11	Val	-0.133
	Gln	-0.105	12	Phe	0.112
	Ala	0.1	13	Cys	-0.097
	Gly	-0.097	14	Ala	-0.096
	Met	0.093	15	Ser	0.089
	Glu	-0.068	16	Trp	0.07
	Ser	0.05	17	GSH	-0.054
	Trp	0.049	18	Thr	0.049
	His	0.032	19	Met	0.048
	Thr	0.009	20	Gln	0.036
	Phe	-0.003	21	Ile	0.017
Tag	Hauptkomponente 1 (65.53 %)		92.23 %	Hauptkomponente 2 (26.70 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
1	Arg	-0.441	1	Arg	0.766
	Pro	0.418	2	Gly	-0.384
	Val	0.402	3	Ile	0.223
	GSH	0.336	4	Leu	0.197
	Ile	0.305	5	GSH	0.154
	Cys	0.2	6	Tyr	0.146
	Lys	0.199	7	Lys	0.142
	Tyr	0.195	8	Gln	-0.14
	Phe	0.194	9	Met	0.135
	Leu	0.145	10	Trp	0.123
	Met	0.119	11	Glu	-0.101
	Trp	0.117	12	Pro	0.1
	Gln	0.112	13	His	0.093
	Gly	-0.097	14	Cys	0.09
	Asn	0.095	15	Asn	-0.076

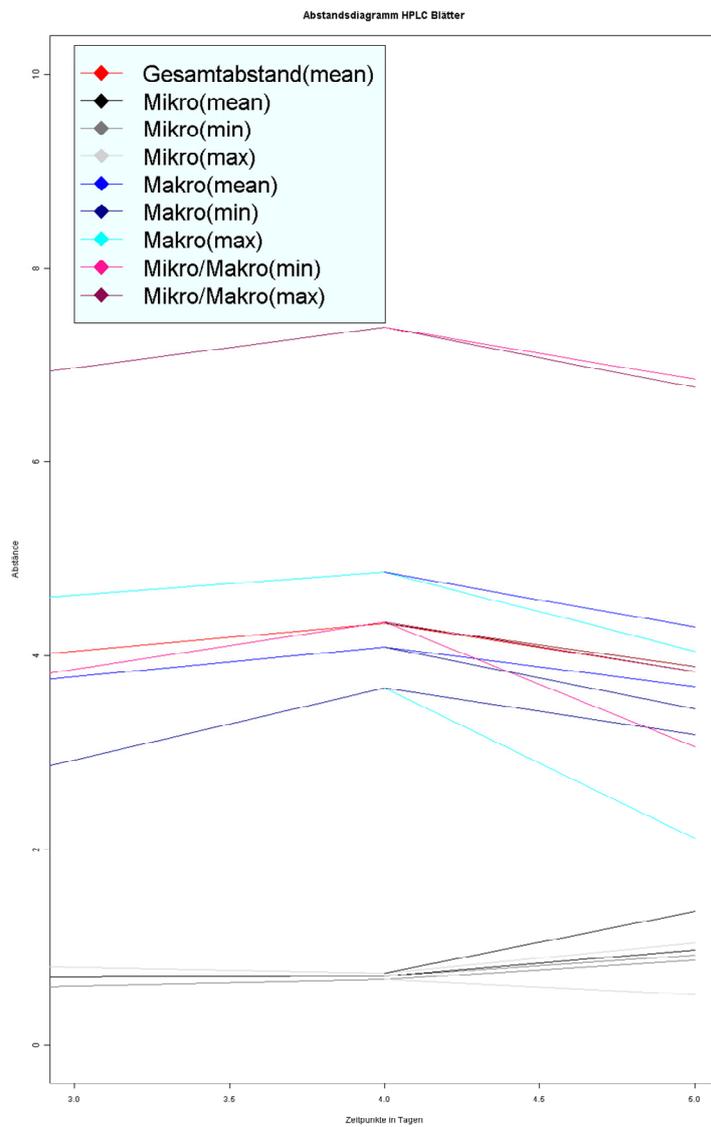
	Ala	0.092	16	Phe	0.075
	Glu	0.084	17	Thr	-0.063
	His	0.079	18	Val	0.057
	Thr	0.076	19	Ala	-0.044
	Ser	0.025	20	Asp	-0.043
	Asp	-0.008	21	Ser	0.018
Tag	<b>Hauptkomponente 1 (82.54 %)</b>		<b>93.13 %</b>	<b>Hauptkomponente 2 (10.59 %)</b>	
	<b>Bezeichnung</b>	<b>Ranking Wert</b>	<b>Ranking</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>Ranking Wert</b>
2	Pro	0.501	1	Gly	-0.584
	GSH	0.402	2	Pro	-0.357
	Val	0.352	3	Trp	0.294
	Asn	-0.267	4	Ala	-0.293
	Ile	0.256	5	Glu	-0.265
	Asp	-0.213	6	Ile	-0.242
	Gln	-0.207	7	Thr	-0.222
	Gly	-0.203	8	Cys	0.176
	Tyr	0.196	9	Gln	-0.173
	Glu	-0.186	10	Arg	0.172
	Leu	0.166	11	Asp	-0.152
	Cys	0.164	12	Val	-0.134
	Trp	0.154	13	Asn	0.128
	Arg	-0.14	14	Ser	-0.093
	Ser	-0.103	15	Met	0.09
	Met	0.085	16	His	0.071
	Lys	0.073	17	Phe	0.071
	Phe	0.054	18	Leu	-0.045
	Ala	0.018	19	GSH	0.04
	Thr	-0.016	20	Lys	0.038
	His	0.002	21	Tyr	0.024
Tag	<b>Hauptkomponente 1 (65.53 %)</b>		<b>83.53 %</b>	<b>Hauptkomponente 2 (18.00 %)</b>	
	<b>Bezeichnung</b>	<b>Ranking Wert</b>	<b>Ranking</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>Ranking Wert</b>
3	GSH	0.45	1	Gly	0.446
	Val	0.438	2	Pro	0.364
	Pro	0.421	3	Gln	0.335
	Gly	-0.321	4	Ile	0.325
	Ile	0.251	5	Ala	0.321
	Trp	0.232	6	Glu	0.264
	Asn	-0.186	7	Asn	0.228
	Phe	0.161	8	Cys	-0.221
	Asp	-0.156	9	Thr	0.19
	Tyr	0.155	10	Val	0.19
	Leu	0.14	11	Ser	0.166
	Glu	-0.13	12	Trp	-0.144

	Gln	-0.127	13	Arg	-0.137
	Met	0.125	14	Asp	0.107
	Lys	0.105	15	Phe	0.075
	Ser	-0.084	16	Met	-0.071
	Thr	-0.075	17	Tyr	-0.069
	His	0.059	18	Leu	0.065
	Cys	0.054	19	GSH	0.063
	Arg	0.034	20	His	0.052
	Ala	0.017	21	Lys	0.008
Tag	<b>Hauptkomponente 1 (66.99 %)</b>		<b>84.57 %</b>	<b>Hauptkomponente 2 (17.58 %)</b>	
	<b>Bezeichnung</b>	<b>Ranking Wert</b>	<b>Ranking</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>Ranking Wert</b>
4	Pro	0.381	1	Arg	-0.746
	Asn	-0.351	2	Gly	-0.3
	Ile	0.334	3	Cys	-0.274
	Val	0.323	4	Gln	-0.273
	Asp	-0.297	5	Asn	-0.263
	GSH	0.266	6	Pro	-0.161
	Glu	-0.257	7	Glu	-0.138
	Arg	0.247	8	His	-0.138
	Leu	0.233	9	Thr	-0.137
	Gln	-0.209	10	GSH	-0.107
	Gly	-0.17	11	Asp	-0.106
	Ser	-0.152	12	Ala	-0.093
	Met	0.146	13	Phe	-0.089
	Tyr	0.134	14	Lys	-0.083
	Lys	0.111	15	Leu	0.052
	Trp	0.102	16	Val	-0.037
	His	-0.096	17	Ile	0.029
	Ala	0.071	18	Ser	0.023
	Thr	-0.046	19	Trp	0.022
	Cys	0.022	20	Tyr	-0.005
	Phe	-0.011	21	Met	0.004
Tag	<b>Hauptkomponente 1 (68.55 %)</b>		<b>83.38 %</b>	<b>Hauptkomponente 2 (14.83 %)</b>	
	<b>Bezeichnung</b>	<b>Ranking Wert</b>	<b>Ranking</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>Ranking Wert</b>
5	Pro	0.43	1	Arg	0.61
	Val	0.355	2	Cys	0.495
	Ile	0.354	3	Asn	0.325
	GSH	0.342	4	Gln	0.293
	Asn	-0.273	5	Gly	0.205
	Tyr	0.23	6	His	0.164
	Cys	0.222	7	Lys	0.162
	Gln	-0.222	8	Asp	0.158
	Leu	0.203	9	Phe	0.133

Anhang

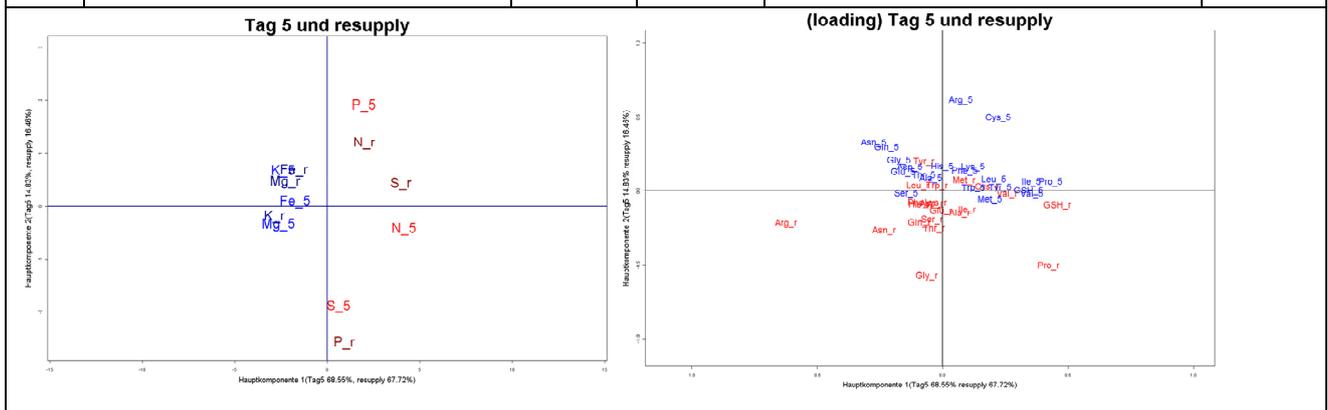
	Met	0.19	10	Glu	0.126
	Gly	-0.172	11	Thr	0.105
	Glu	-0.157	12	Ala	0.085
	Ser	-0.144	13	Leu	0.077
	Asp	-0.13	14	Pro	0.062
	Trp	0.123	15	Ile	0.061
	Lys	0.121	16	Met	-0.059
	Phe	0.088	17	Tyr	0.022
	Thr	-0.076	18	Val	-0.022
	Arg	0.073	19	Trp	0.021
	Ala	-0.046	20	Ser	-0.021
	His	-0.001	21	GSH	0.001
Tag	<b>Hauptkomponente 1 (59.65 %)</b>		<b>83.67 %</b>	<b>Hauptkomponente 2 (24.02 %)</b>	
	<b>Bezeichnung</b>	<b>Ranking Wert</b>	<b>Ranking</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>Ranking Wert</b>
6	Pro	0.608	1	Cys	0.588
	GSH	0.344	2	Gly	-0.455
	Val	0.32	3	Ser	-0.288
	Ile	0.318	4	Thr	-0.265
	Met	0.173	5	Gln	-0.232
	Ala	0.171	6	GSH	0.196
	Lys	0.168	7	Pro	-0.183
	Thr	0.164	8	Met	0.178
	His	0.164	9	Asn	-0.178
	Leu	0.161	10	Arg	0.176
	Phe	0.145	11	Tyr	0.133
	Asp	0.144	12	Leu	0.103
	Cys	0.136	13	Val	0.102
	Arg	0.131	14	Ala	-0.095
	Tyr	0.128	15	Glu	-0.094
	Gln	0.12	16	His	-0.092
	Glu	0.117	17	Asp	-0.062
	Trp	0.093	18	Trp	0.058
	Ser	0.092	19	Phe	-0.037
	Gly	0.033	20	Ile	0.028
	Asn	0.012	21	Lys	0.005

**7.5.7 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen)**



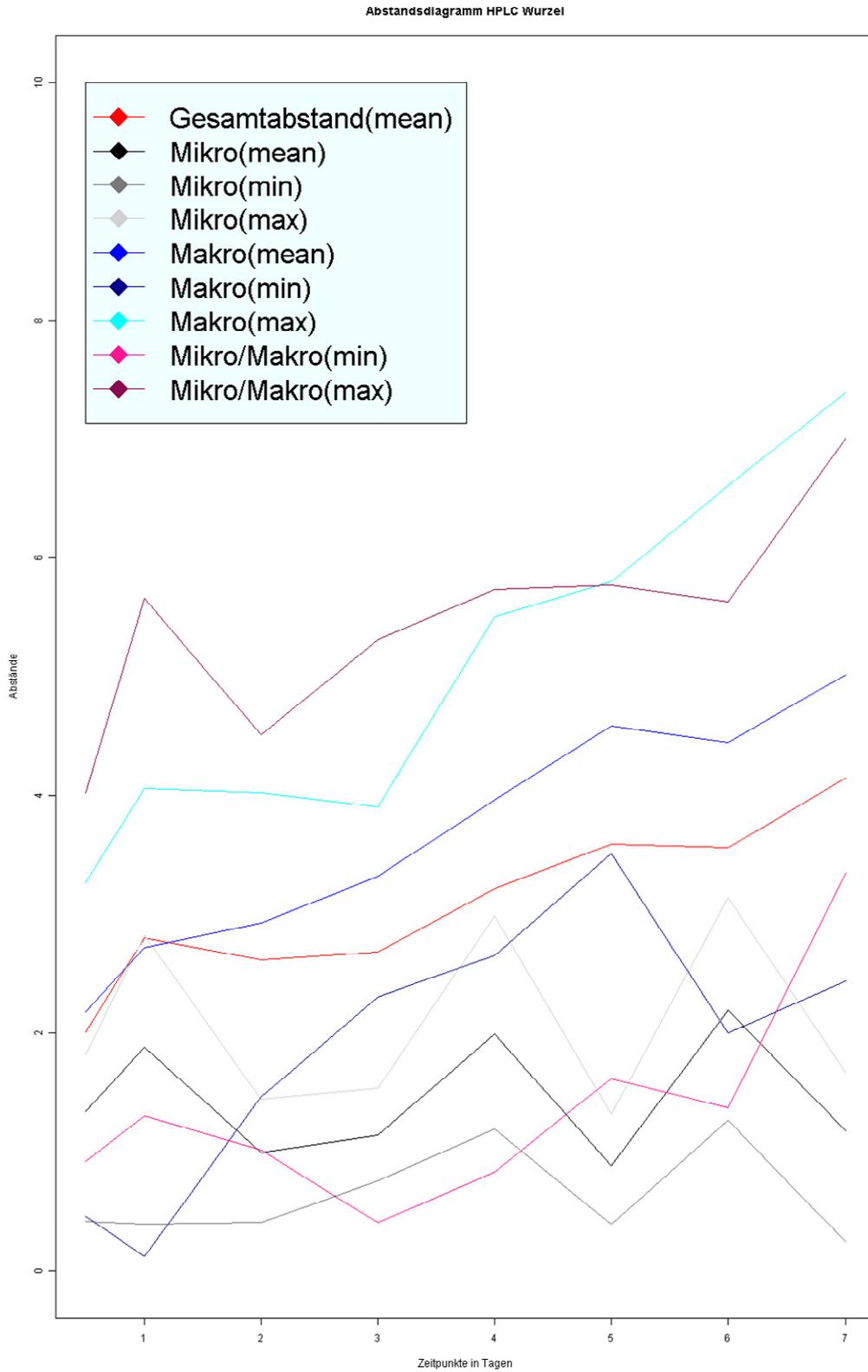
**7.5.8 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik**

Tag	Hauptkomponente 1 (68.55 %)		83.38 %	Hauptkomponente 2 (14.83 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5	Pro	0.43	1	Arg	0.61
	Val	0.355	2	Cys	0.495
	Ile	0.354	3	Asn	0.325
	GSH	0.342	4	Gln	0.293
	Asn	-0.273	5	Gly	0.205
	Tyr	0.23	6	His	0.164
	Cys	0.222	7	Lys	0.162
	Gln	-0.222	8	Asp	0.158
	Leu	0.203	9	Phe	0.133
	Met	0.19	10	Glu	0.126
	Gly	-0.172	11	Thr	0.105
	Glu	-0.157	12	Ala	0.085
	Ser	-0.144	13	Leu	0.077
	Asp	-0.13	14	Pro	0.062
	Trp	0.123	15	Ile	0.061
	Lys	0.121	16	Met	-0.059
	Phe	0.088	17	Tyr	0.022
	Thr	-0.076	18	Val	-0.022
	Arg	0.073	19	Trp	0.021
	Ala	-0.046	20	Ser	-0.021
	His	-0.001	21	GSH	0.001

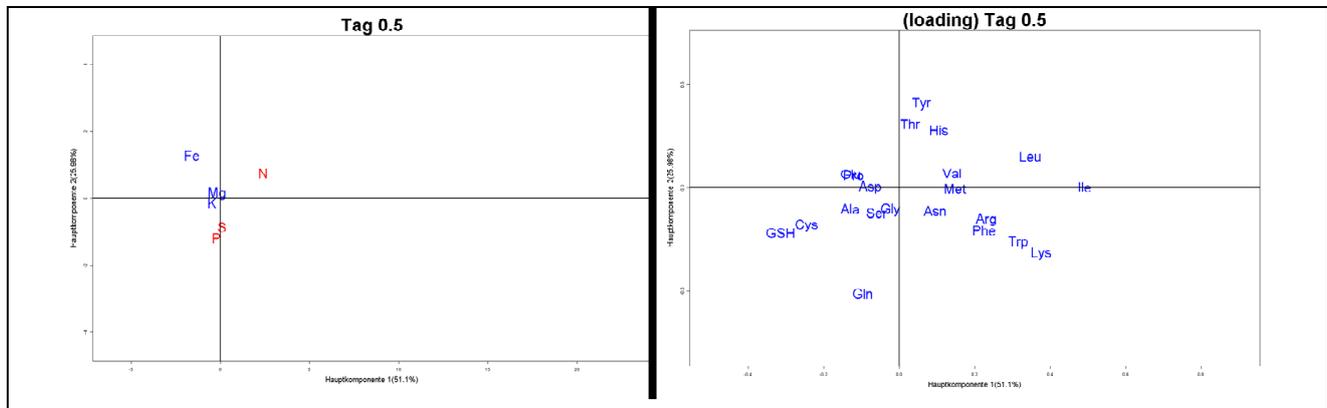


Tag	Hauptkomponente 1 (67.72 %)		84.18 %	Hauptkomponente 2 (16.46 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert		Ranking	Bezeichnung
resupply	Arg	-0.623	1	Gly	-0.575
	GSH	0.458	2	Pro	-0.507
	Pro	0.422	3	Asn	-0.266
	Val	0.258	4	Thr	-0.255
	Asn	-0.233	5	Arg	-0.218
	Cys	0.175	6	Gln	-0.217
	Leu	-0.097	7	Tyr	0.198
	Ile	0.097	8	Ser	-0.194
	His	-0.094	9	Ala	-0.152
	Gln	-0.094	10	Glu	-0.135
	Phe	-0.092	11	Ile	-0.128
	Met	0.085	12	GSH	-0.095
	Tyr	-0.074	13	His	-0.091
	Ala	0.069	14	Asp	-0.086
	Gly	-0.063	15	Phe	-0.082
	Asp	-0.045	16	Lys	-0.082
	Ser	-0.042	17	Met	0.071
	Thr	-0.034	18	Leu	0.036
	Lys	-0.028	19	Trp	0.035
	Trp	-0.022	20	Cys	0.028
	Glu	-0.006	21	Val	-0.023

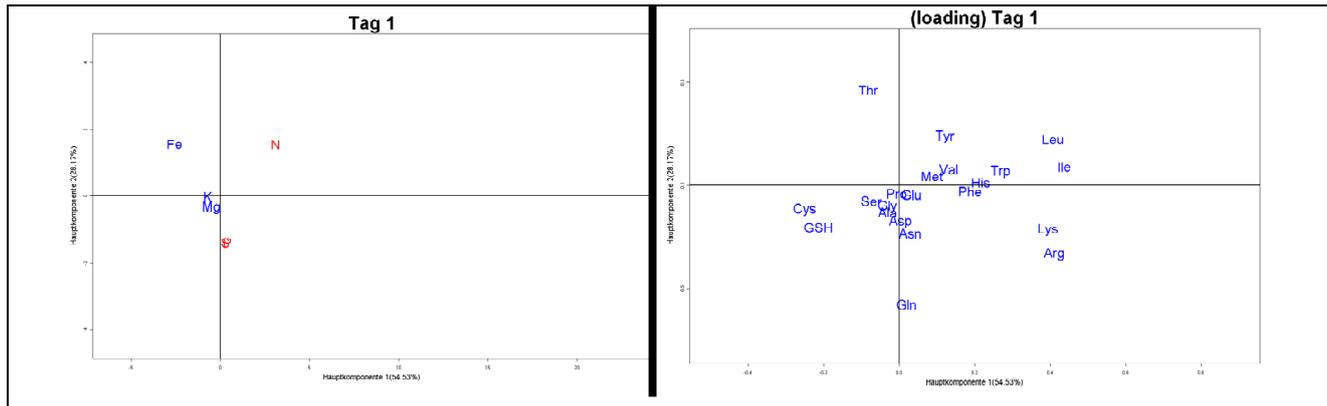
**7.5.9 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPIC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des halben bis siebenten Tages**



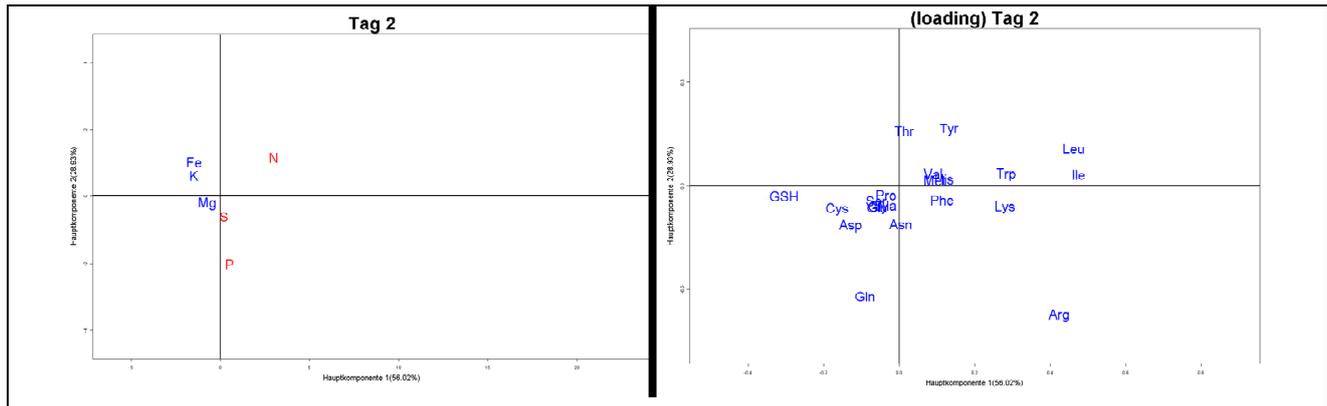
### 7.5.10 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln des halben bis siebenten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken



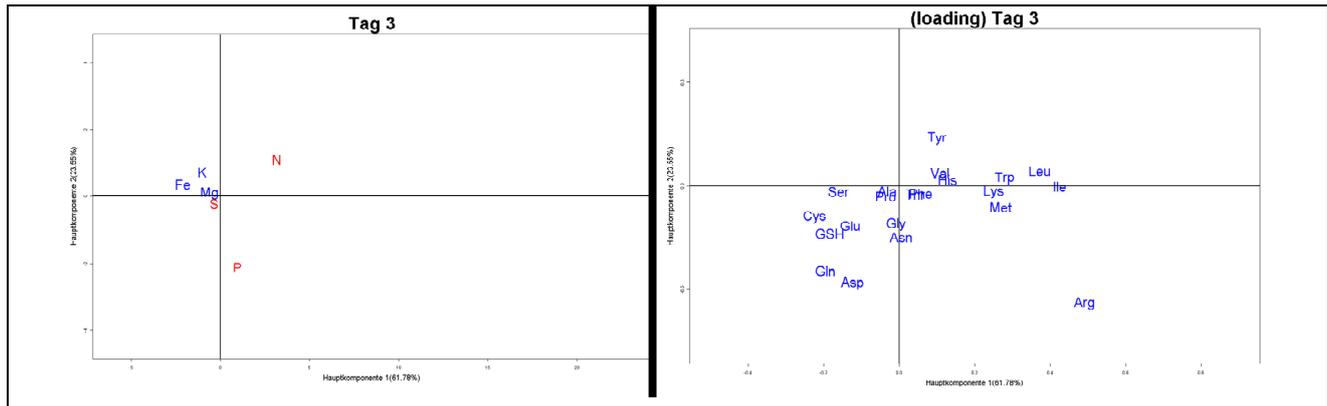
Tag	Hauptkomponente 1 (51.10 %)		83.67 %	Hauptkomponente 2 (25.98 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
0.5	Ile	0.491	1	Gln	-0.51
	Lys	0.376	2	Tyr	0.407
	Leu	0.347	3	Lys	-0.317
	Trp	0.317	4	Thr	0.31
	GSH	-0.314	5	His	0.28
	Cys	-0.245	6	Trp	-0.263
	Arg	0.231	7	GSH	-0.217
	Phe	0.225	8	Phe	-0.206
	Met	0.148	9	Cys	-0.183
	Val	0.14	10	Arg	-0.153
	Ala	-0.13	11	Leu	0.151
	Glu	-0.129	12	Ser	-0.119
	Pro	-0.121	13	Asn	-0.11
	His	0.105	14	Gly	-0.106
	Gln	-0.097	15	Ala	-0.102
	Asn	0.095	16	Val	0.071
	Asp	-0.076	17	Glu	0.067
	Ser	-0.06	18	Pro	0.063
	Tyr	0.059	19	Met	-0.005
	Thr	0.029	20	Ile	0.003
	Gly	-0.024	21	Asp	0.001



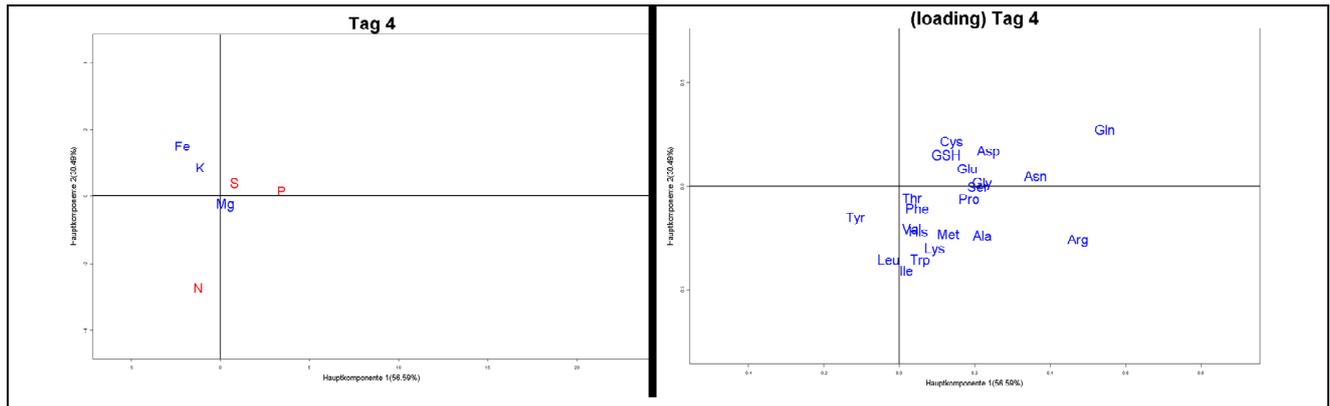
Tag	Hauptkomponente 1 (54.53 %)		82.70 %	Hauptkomponente 2 (28.17 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
1	Ile	0.437	1	Gln	-0.573
	Arg	0.412	2	Thr	0.463
	Leu	0.408	3	Arg	-0.329
	Lys	0.394	4	Tyr	0.237
	Trp	0.269	5	Asn	-0.231
	Cys	-0.25	6	Leu	0.225
	His	0.216	7	Lys	-0.214
	GSH	-0.215	8	GSH	-0.201
	Phe	0.188	9	Asp	-0.173
	Val	0.131	10	Ala	-0.128
	Tyr	0.121	11	Cys	-0.115
	Met	0.087	12	Gly	-0.101
	Thr	-0.082	13	Ile	0.094
	Ser	-0.074	14	Val	0.08
	Gly	-0.032	15	Ser	-0.075
	Glu	0.032	16	Trp	0.068
	Ala	-0.031	17	Met	0.047
	Asn	0.029	18	Glu	-0.043
	Gln	0.019	19	Pro	-0.038
	Pro	-0.007	20	Phe	-0.028
	Asp	0.004	21	His	0.016



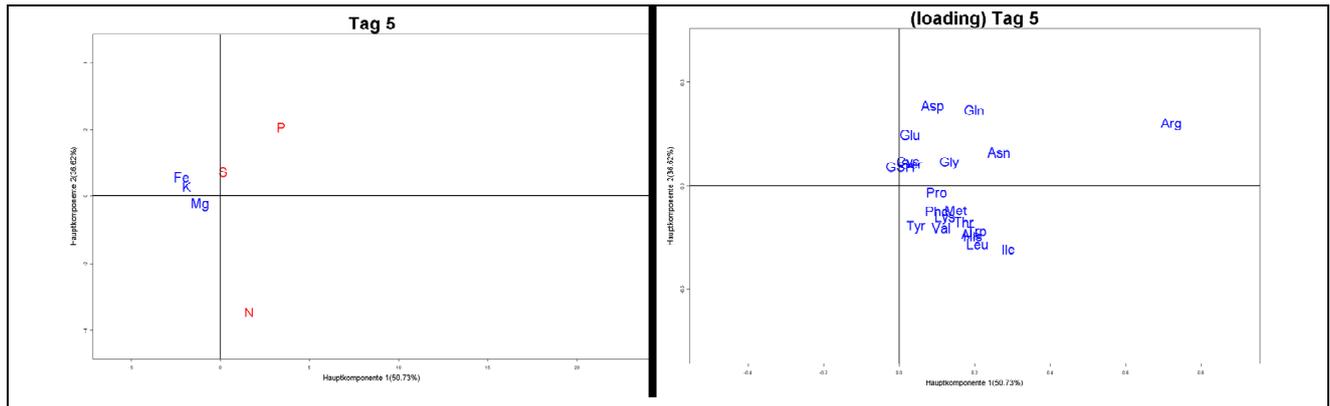
Tag	Hauptkomponente 1 (56.02 %)		84.95 %	Hauptkomponente 2 (28.93 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
2	Ile	0.476	1	Arg	-0.625
	Leu	0.463	2	Gln	-0.532
	Arg	0.425	3	Tyr	0.273
	GSH	-0.306	4	Thr	0.266
	Trp	0.284	5	Asp	-0.194
	Lys	0.281	6	Asn	-0.185
	Cys	-0.165	7	Leu	0.18
	Tyr	0.132	8	Cys	-0.111
	Asp	-0.128	9	Gly	-0.104
	His	0.119	10	Glu	-0.102
	Phe	0.114	11	Lys	-0.101
	Met	0.094	12	Ala	-0.092
	Gln	-0.091	13	Ser	-0.071
	Val	0.09	14	Phe	-0.066
	Ser	-0.061	15	Val	0.058
	Glu	-0.059	16	Trp	0.054
	Gly	-0.057	17	Ile	0.053
	Pro	-0.035	18	GSH	-0.049
	Ala	-0.032	19	Pro	-0.044
	Thr	0.013	20	His	0.032
	Asn	0.004	21	Met	0.028



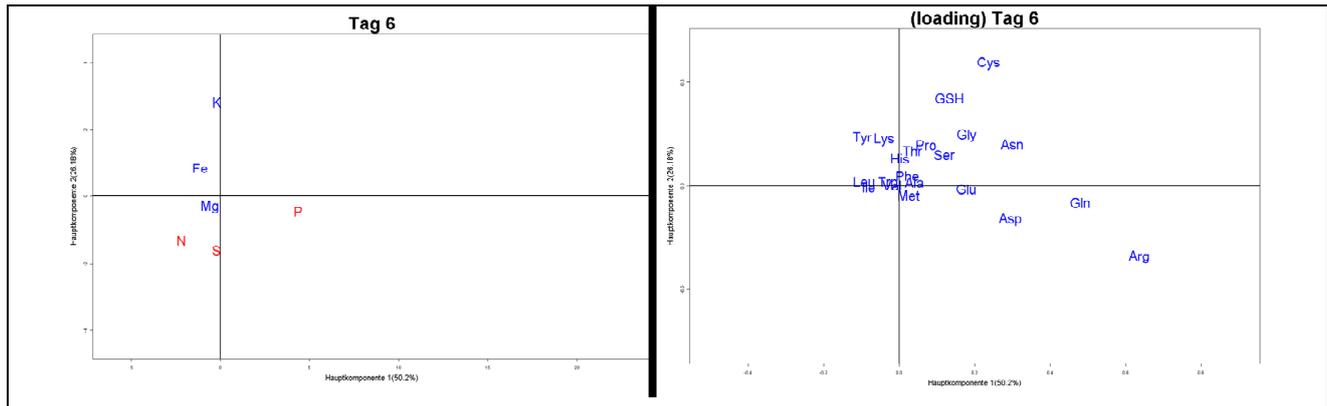
Tag	Hauptkomponente 1 (61.78 %)		85.33 %	Hauptkomponente 2 (23.55 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
3	Arg	0.491	1	Arg	-0.625
	Ile	0.426	2	Asp	-0.532
	Leu	0.372	3	Gln	0.273
	Trp	0.28	4	Asn	0.266
	Met	0.269	5	Tyr	-0.194
	Lys	0.25	6	GSH	-0.185
	Cys	-0.225	7	Glu	0.18
	Gln	-0.196	8	Gly	-0.111
	GSH	-0.184	9	Cys	-0.104
	Ser	-0.162	10	Met	-0.102
	Glu	-0.131	11	Leu	-0.101
	His	0.128	12	Val	-0.092
	Asp	-0.123	13	Pro	-0.071
	Val	0.108	14	Thr	-0.066
	Tyr	0.1	15	Trp	0.058
	Phe	0.057	16	Phe	0.054
	Thr	0.042	17	His	0.053
	Pro	-0.036	18	Lys	-0.049
	Ala	-0.032	19	Ser	-0.044
	Gly	-0.009	20	Ala	0.032
	Asn	0.005	21	Ile	0.028



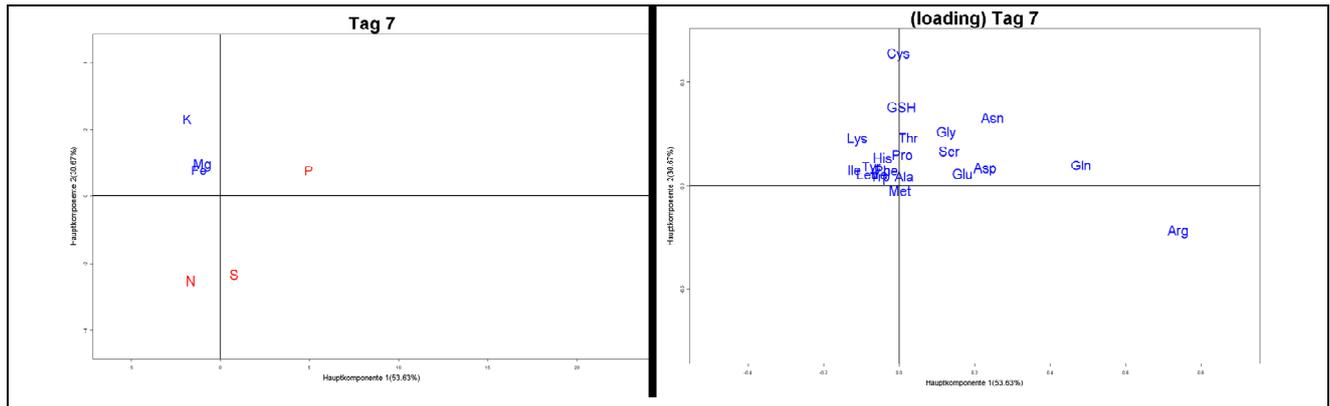
Tag	Hauptkomponente 1 (56.59 %)		87.08 %	Hauptkomponente 2 (30.49 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
4	Gln	0.544	1	Ile	-0.407
	Arg	0.475	2	Trp	-0.359
	Asn	0.361	3	Leu	-0.351
	Asp	0.237	4	Lys	-0.305
	Ala	0.22	5	Gln	0.273
	Gly	0.219	6	Arg	-0.262
	Ser	0.208	7	Ala	-0.237
	Pro	0.185	8	Met	-0.23
	Glu	0.18	9	His	-0.218
	Cys	0.139	10	Cys	0.212
	Met	0.13	11	Val	-0.204
	GSH	0.124	12	Asp	0.165
	Tyr	-0.116	13	Tyr	-0.155
	Lys	0.094	14	GSH	0.151
	Trp	0.056	15	Phe	-0.107
	His	0.051	16	Glu	0.086
	Phe	0.048	17	Pro	-0.06
	Thr	0.034	18	Thr	-0.058
	Val	0.032	19	Asn	0.05
	Leu	-0.028	20	Gly	0.012
	Ile	0.019	21	Ser	-0.002



Tag	Hauptkomponente 1 (50.73 %)		87.35 %	Hauptkomponente 2 (36.62 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5	Arg	0.721	1	Asp	0.383
	Ile	0.289	2	Gln	0.368
	Asn	0.264	3	Ile	-0.302
	Leu	0.207	4	Arg	0.3
	Trp	0.206	5	Leu	-0.28
	Gln	0.199	6	Glu	0.247
	His	0.195	7	His	-0.243
	Ala	0.189	8	Ala	-0.233
	Thr	0.171	9	Trp	-0.224
	Met	0.15	10	Val	-0.201
	Gly	0.132	11	Tyr	-0.196
	Lys	0.121	12	Thr	-0.174
	Val	0.111	13	Asn	0.164
	Phe	0.101	14	Lys	-0.154
	Pro	0.099	15	Phe	-0.119
	Asp	0.089	16	Met	-0.116
	Tyr	0.044	17	Cys	0.113
	Ser	0.033	18	Gly	0.113
	Glu	0.028	19	Ser	0.106
	Cys	0.024	20	GSH	0.093
	GSH	0.003	21	Pro	-0.031

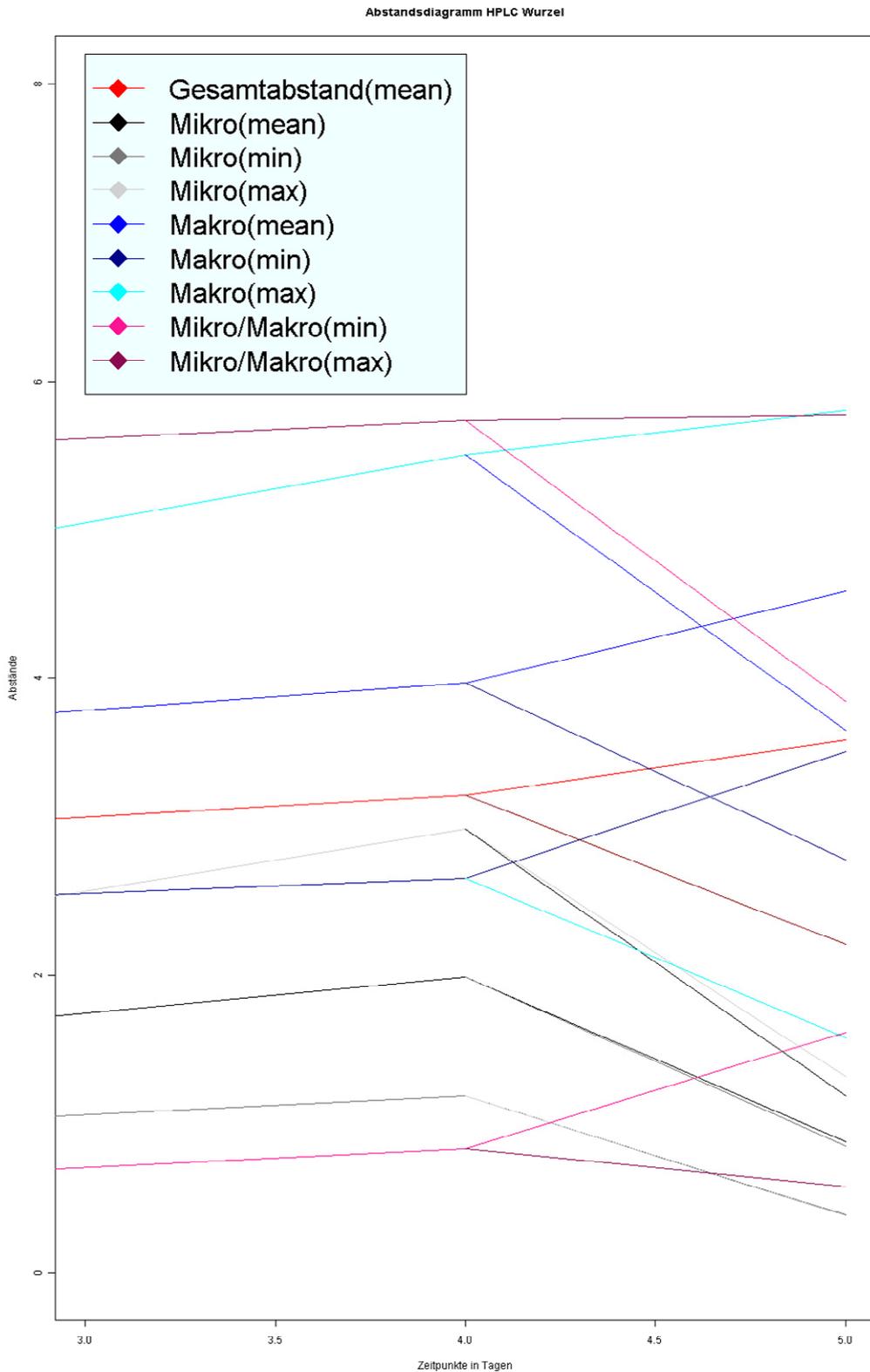


Tag	Hauptkomponente 1 (50.20 %)		76.38 %	Hauptkomponente 2 (26.18 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
6	Arg	0.636	1	Cys	0.594
	Gln	0.479	2	GSH	0.423
	Asn	0.3	3	Arg	-0.342
	Asp	0.296	4	Gly	0.244
	Cys	0.237	5	Tyr	0.231
	Gly	0.178	6	Lys	0.224
	Glu	0.177	7	Asn	0.202
	GSH	0.134	8	Pro	0.198
	Ser	0.119	9	Thr	0.171
	Tyr	-0.098	10	Asp	-0.161
	Leu	-0.093	11	Ser	0.152
	Ile	-0.081	12	His	0.132
	Pro	0.071	13	Gln	-0.08
	Lys	-0.04	14	Phe	0.048
	Ala	0.04	15	Met	-0.044
	Thr	0.035	16	Leu	0.021
	Trp	-0.029	17	Ala	0.016
	Met	0.025	18	Glu	-0.015
	Phe	0.022	19	Trp	0.014
	Val	-0.019	20	Ile	-0.006
	His	0.002	21	Val	0.003



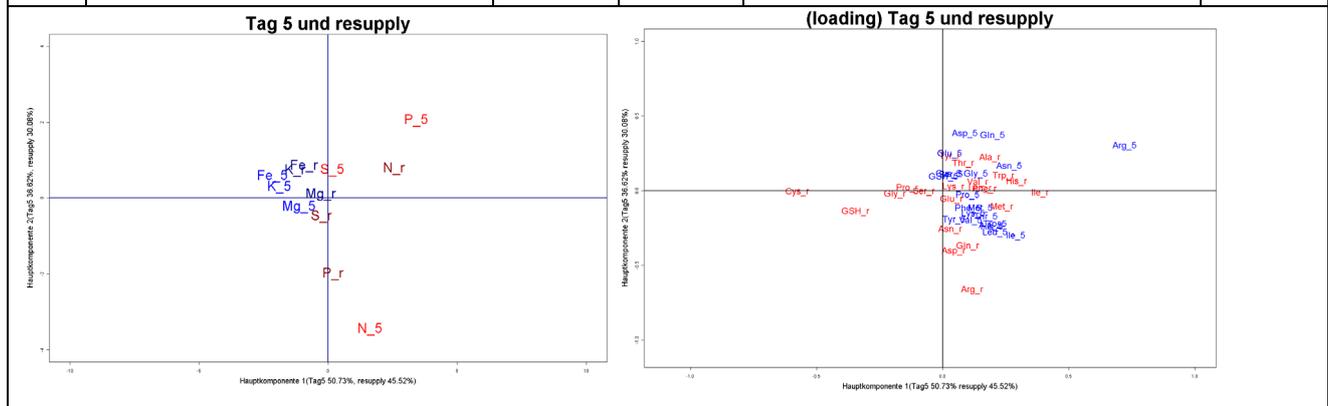
Tag	Hauptkomponente 1 (50.20 %)		76.38 %	Hauptkomponente 2 (26.18 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
7	Arg	0.739	1	Cys	0.636
	Gln	0.481	2	GSH	0.382
	Asn	0.247	3	Asn	0.331
	Asp	0.229	4	Gly	0.256
	Glu	0.167	5	Thr	0.234
	Ser	0.132	6	Lys	0.224
	Gly	0.124	7	Arg	-0.22
	Ile	-0.119	8	Ser	0.169
	Lys	-0.111	9	Pro	0.152
	Leu	-0.084	10	His	0.136
	Tyr	-0.074	11	Gln	0.101
	Trp	-0.05	12	Tyr	0.088
	Val	-0.049	13	Asp	0.081
	His	-0.045	14	Ile	0.077
	Phe	-0.034	15	Phe	0.076
	Thr	0.024	16	Val	0.059
	Ala	0.012	17	Glu	0.059
	Pro	0.007	18	Leu	0.058
	GSH	0.006	19	Ala	0.046
	Met	0.002	20	Trp	0.04
	Cys	-0.002	21	Met	-0.021

**7.5.11 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des dritten bis fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen)**



**7.5.12 Darstellung der mit dem Verfahren RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln des fünften Tages und des Zeitpunktes „resupply“ (vier Stunden nach dem vierten Tag gemessen) in Form von einem PCA-Plot, loading-Tabellen und einer loading-Grafik**

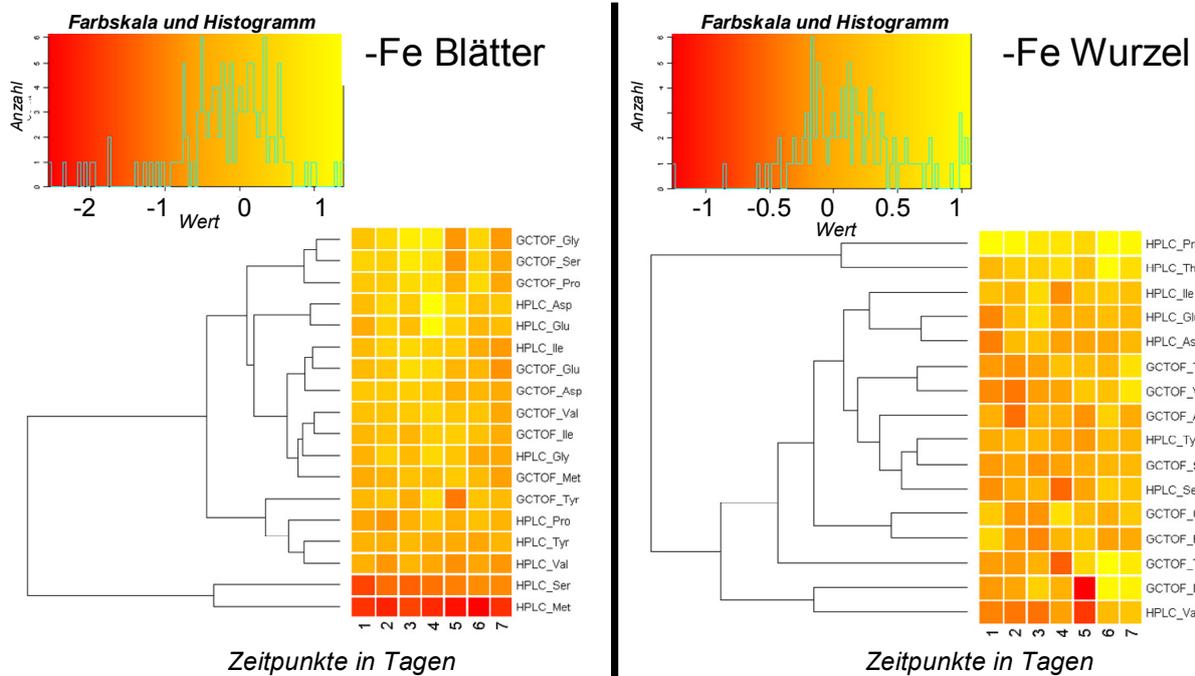
Tag	Hauptkomponente 1 (50.73 %)		87.35 %	Hauptkomponente 2 (36.62 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5	Arg	0.721	1	Asp	0.383
	Ile	0.289	2	Gln	0.368
	Asn	0.264	3	Ile	-0.302
	Leu	0.207	4	Arg	0.3
	Trp	0.206	5	Leu	-0.28
	Gln	0.199	6	Glu	0.247
	His	0.195	7	His	-0.243
	Ala	0.189	8	Ala	-0.233
	Thr	0.171	9	Trp	-0.224
	Met	0.15	10	Val	-0.201
	Gly	0.132	11	Tyr	-0.196
	Lys	0.121	12	Thr	-0.174
	Val	0.111	13	Asn	0.164
	Phe	0.101	14	Lys	-0.154
	Pro	0.099	15	Phe	-0.119
	Asp	0.089	16	Met	-0.116
	Tyr	0.044	17	Cys	0.113
	Ser	0.033	18	Gly	0.113
	Glu	0.028	19	Ser	0.106
	Cys	0.024	20	GSH	0.093
	GSH	0.003	21	Pro	-0.031



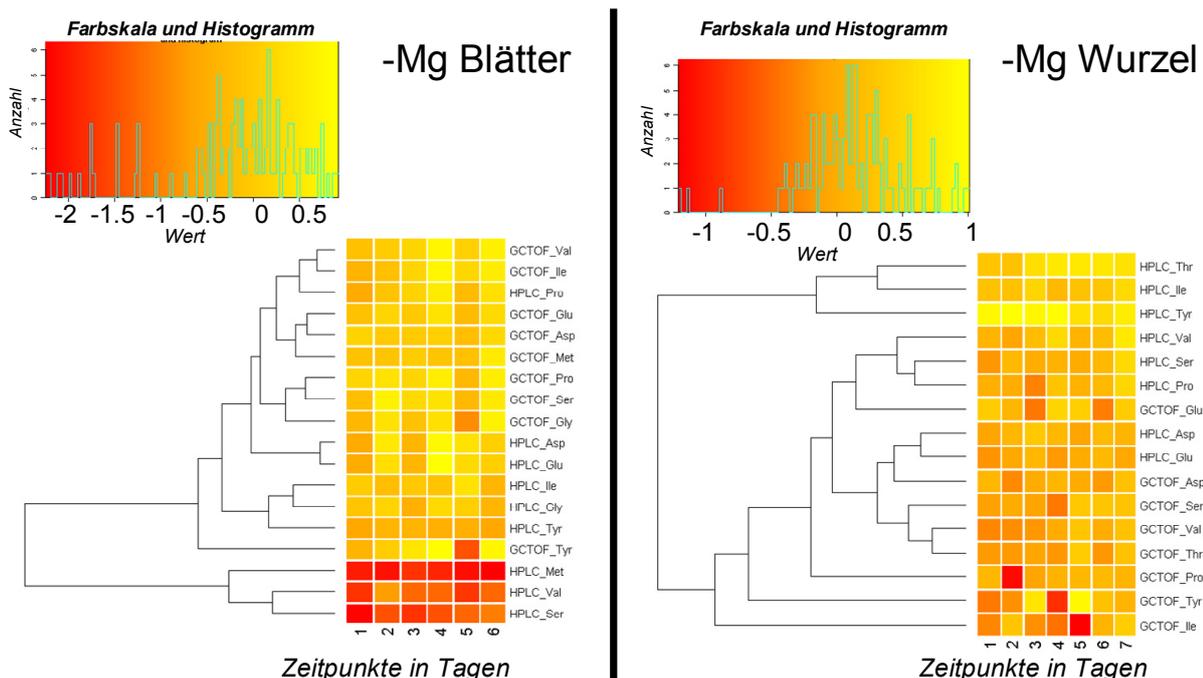
Tag	Hauptkomponente 1 (45.52 %)		75.58 %	Hauptkomponente 2 (30.06 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert		Ranking	Bezeichnung
resupply	Cys	-0.576	1	Arg	-0.663
	Ile	0.385	2	Asp	-0.405
	GSH	-0.346	3	Gln	-0.372
	His	0.292	4	Asn	-0.26
	Trp	0.242	5	Tyr	0.232
	Met	0.233	6	Ala	0.223
	Gly	-0.189	7	Thr	0.182
	Ala	0.187	8	GSH	-0.14
	Phe	0.165	9	Met	-0.109
	Leu	0.148	10	Trp	0.1
	Pro	-0.142	11	His	0.061
	Val	0.14	12	Glu	-0.059
	Arg	0.116	13	Val	0.056
	Gln	0.098	14	Lys	0.025
	Thr	0.082	15	Gly	-0.021
	Ser	-0.075	16	Pro	0.018
	Asp	0.043	17	Ile	-0.016
	Lys	0.041	18	Leu	0.014
	Glu	0.035	19	Phe	0.012
	Asn	0.03	20	Cys	-0.007
	Tyr	0.029	21	Ser	-0.004

## 7.6 Visualisierung des Vergleiches der GC/TOF-MS- und RP-HPLC-Metabolitdaten

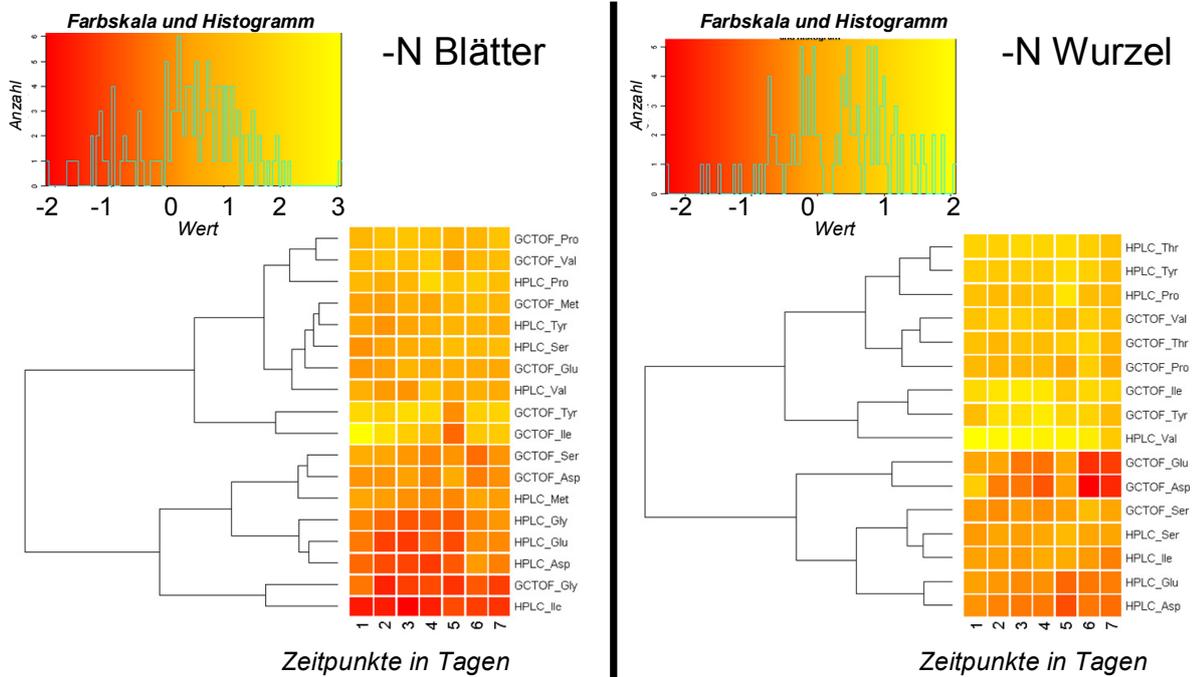
### 7.6.1 Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Eisenmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps



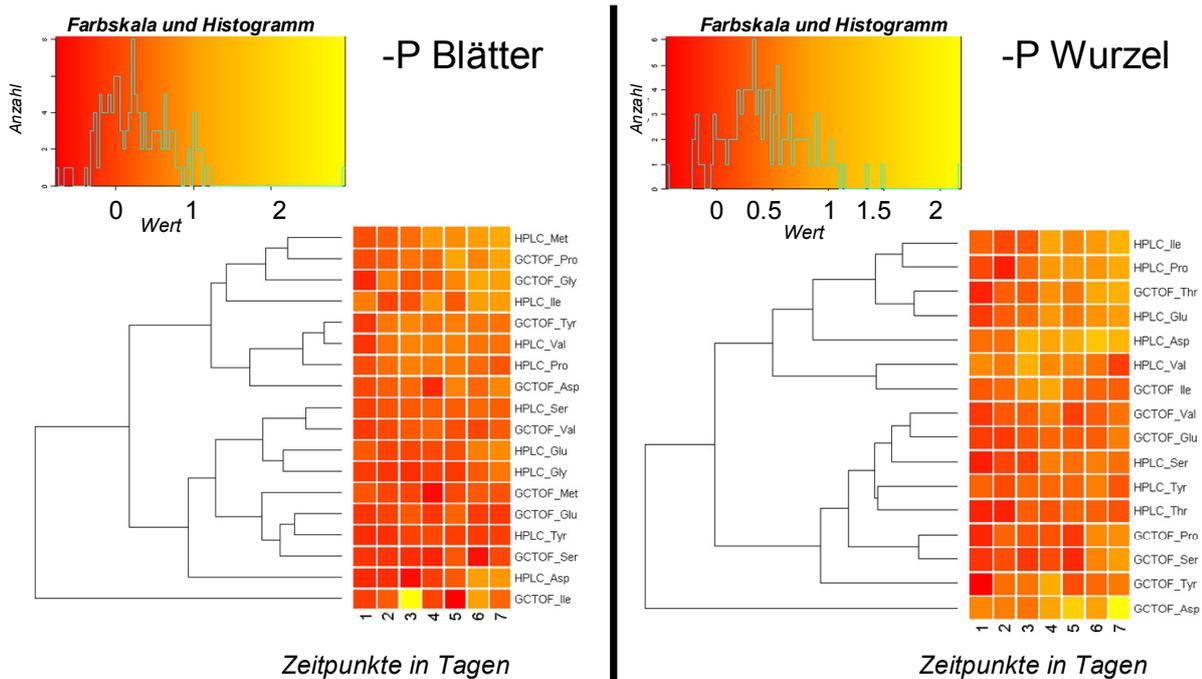
### 7.6.2 Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Magnesiummangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps



**7.6.3 Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Stickstoffmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps**



**7.6.4 Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter [links] und Wurzeln [rechts] unter Phosphatmangel angezogener Pflanzen des ersten bis siebenten Tages in Form von Heatmaps**



### 7.6.5 Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Blätter des ersten bis sechsten Tages in Form von loading-Tabellen

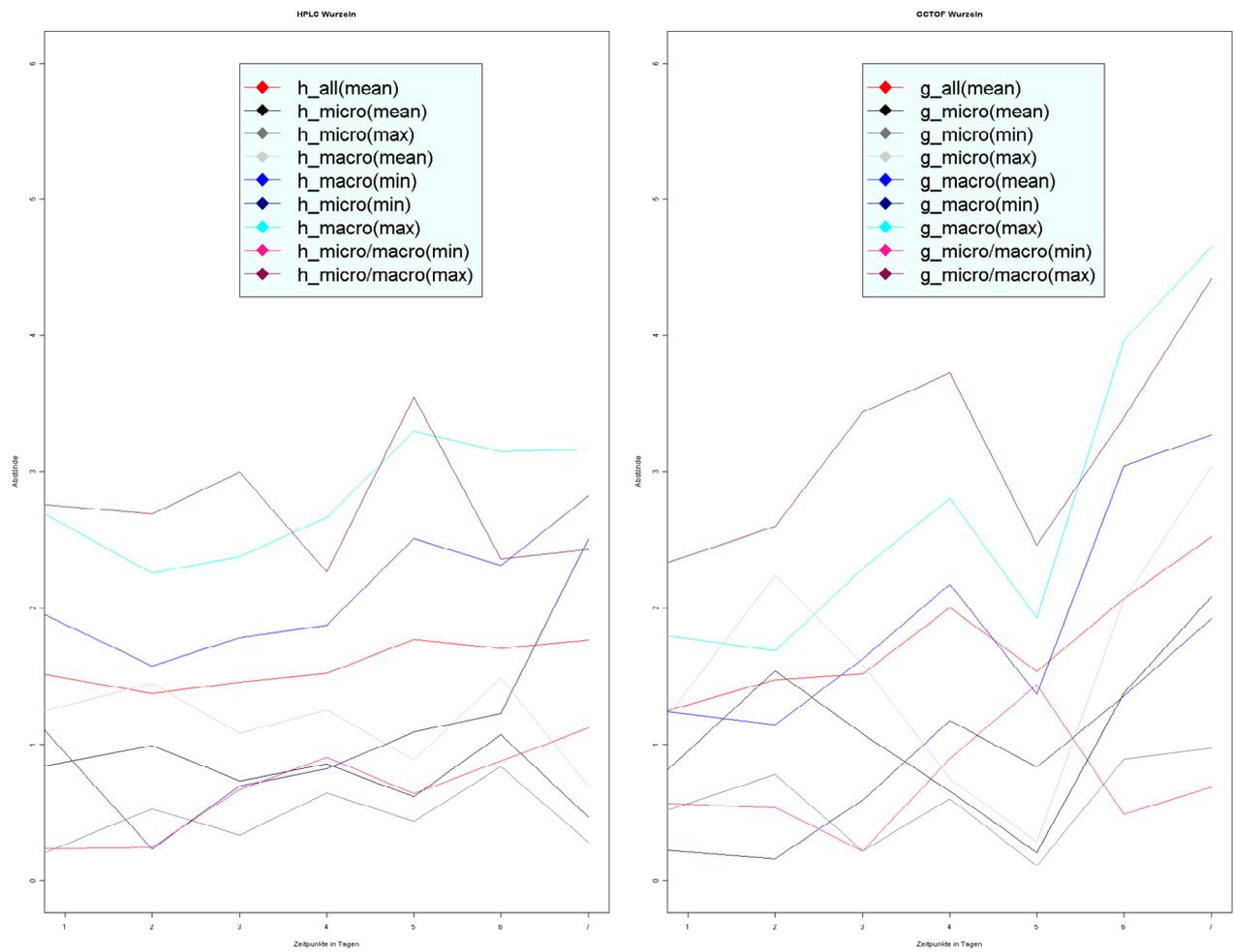
Tag	Hauptkomponente 1 (80.74 %)		94.62 %	Hauptkomponente 2 (13.89 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
1 RP-HPLC	Pro	0.579	1	Gly	0.847
	Val	0.541	2	Val	0.279
	Ile	0.449	3	Pro	0.268
	Tyr	0.287	4	Glu	0.217
	Gly	-0.209	5	Tyr	-0.205
	Met	0.187	6	Met	-0.16
	Glu	0.083	7	Ile	-0.131
	Ser	0.039	8	Asp	-0.007
	Asp	-0.028	9	Ser	-0.004
Tag	Hauptkomponente 1 (92.09 %)		95.94 %	Hauptkomponente 2 (3.85 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
1 GC/TOF-MS	Gly	0.754	1	Pro	0.832
	Met	0.489	2	Val	-0.415
	Ile	0.279	3	Ser	-0.32
	Tyr	0.194	4	Asp	-0.121
	Val	0.19	5	Met	-0.104
	Pro	0.175	6	Ile	-0.076
	Glu	0.098	7	Glu	-0.027
	Asp	0.024	8	Tyr	-0.018
	Ser	-0.013	9	Gly	0.014
Tag	Hauptkomponente 1 (85.54 %)		97.23 %	Hauptkomponente 2 (11.69 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
2 RP-HPLC	Pro	0.643	1	Gly	0.755
	Val	0.447	2	Pro	0.359
	Ile	0.33	3	Glu	0.349
	Asp	-0.265	4	Ile	0.272
	Tyr	0.253	5	Asp	0.217
	Gly	-0.25	6	Ser	0.139
	Glu	-0.229	7	Val	0.132
	Ser	-0.129	8	Met	-0.111
	Met	0.107	9	Tyr	-0.095

Tag	Hauptkomponente 1 (88.43 %)		94.38 %	Hauptkomponente 2 (5.95 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
2 GC/TOF-MS	Ser	-0.592	1	Val	0.754
	Gly	0.565	2	Met	-0.39
	Met	0.379	3	Ser	-0.311
	Ile	0.32	4	Asp	-0.262
	Tyr	0.238	5	Gly	-0.218
	Pro	0.142	6	Glu	0.174
	Glu	0.067	7	Tyr	0.153
	Val	0.04	8	Ile	0.082
	Asp	0.023	9	Pro	-0.081
Tag	Hauptkomponente 1 (75.37 %)		95.14 %	Hauptkomponente 2 (19.77 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
3 RP-HPLC	Val	0.561	1	Gly	0.66
	Pro	0.555	2	Ile	0.413
	Gly	-0.378	3	Glu	0.366
	Ile	0.328	4	Pro	0.335
	Asp	-0.193	5	Ser	0.224
	Tyr	0.191	6	Asp	0.207
	Met	0.149	7	Val	0.153
	Glu	-0.148	8	Tyr	-0.151
	Ser	-0.094	9	Met	-0.092
Tag	Hauptkomponente 1 (68.83 %)		88.94 %	Hauptkomponente 2 (20.11 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
3 GC/TOF-MS	Gly	0.678	1	Gly	0.673
	Met	0.533	2	Ser	0.356
	Ser	-0.296	3	Met	-0.339
	Tyr	0.228	4	Ile	-0.284
	Ile	0.224	5	Tyr	-0.259
	Pro	0.205	6	Val	-0.242
	Glu	0.109	7	Pro	-0.241
	Val	-0.101	8	Glu	-0.204
	Asp	0.047	9	Asp	0.007

Tag	Hauptkomponente 1 (79.64 %)		94.03 %	Hauptkomponente 2 (14.39 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
4 RP-HPLC	Pro	0.497	1	Gly	-0.7
	Ile	0.431	2	Pro	-0.542
	Val	0.413	3	Tyr	0.379
	Asp	-0.383	4	Asp	-0.196
	Glu	-0.336	5	Met	0.129
	Gly	-0.206	6	Ser	-0.085
	Ser	-0.185	7	Ile	-0.071
	Met	0.183	8	Val	-0.066
	Tyr	0.165	9	Glu	-0.02
Tag	Hauptkomponente 1 (68.88 %)		86,81 %	Hauptkomponente 2 (17.93 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
4 GC/TOF-MS	Met	0.498	1	Ser	-0.633
	Gly	0.453	2	Gly	-0.476
	Ser	-0.428	3	Val	-0.413
	Ile	0.376	4	Glu	-0.338
	Pro	0.318	5	Pro	-0.214
	Tyr	0.257	6	Asp	-0.186
	Glu	0.213	7	Met	0.069
	Val	-0.101	8	Ile	0.046
Tag	Hauptkomponente 1 (82.25 %)		94.30 %	Hauptkomponente 2 (12.05 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5 RP-HPLC	Pro	0.591	1	Pro	0.599
	Ile	0.455	2	Gly	0.364
	Val	0.436	3	Glu	0.329
	Tyr	0.278	4	Met	-0.326
	Met	0.221	5	Asp	0.27
	Gly	-0.202	6	Tyr	-0.256
	Glu	-0.186	7	Ser	0.241
	Asp	-0.161	8	Ile	0.222
	Ser	-0.16	9	Val	-0.218

Tag	Hauptkomponente 1 (73.93 %)		96.31 %	Hauptkomponente 2 (22.38 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5 GC/TOF-MS	Met	-0.629	1	Ser	0.816
	Tyr	-0.463	2	Pro	-0.512
	Asp	-0.326	3	Glu	-0.208
	Glu	-0.28	4	Ile	-0.129
	Gly	0.262	5	Gly	-0.093
	Pro	-0.214	6	Tyr	-0.05
	Ser	-0.21	7	Val	0.023
	Val	-0.202	8	Asp	-0.015
	Ile	-0.071	9	Met	0.008
Tag	Hauptkomponente 1 (73.83 %)		93.34 %	Hauptkomponente 2 (19.51 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
6 RP-HPLC	Pro	-0.746	1	Gly	-0.767
	Ile	-0.395	2	Ser	-0.341
	Val	-0.387	3	Met	0.32
	Met	-0.201	4	Tyr	0.281
	Asp	-0.175	5	Val	0.23
	Tyr	-0.151	6	Pro	-0.161
	Glu	-0.149	7	Ile	0.115
	Ser	-0.137	8	Glu	-0.107
	Gly	-0.053	9	Asp	-0.102
Tag	Hauptkomponente 1 (61.01 %)		83.25 %	Hauptkomponente 2 (22.24 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
6 GC/TOF-MS	Met	-0.513	1	Ser	0.809
	Gly	-0.443	2	Val	-0.342
	Pro	-0.43	3	Asp	0.284
	Ser	0.303	4	Gly	0.279
	Ile	-0.29	5	Ile	-0.162
	Val	0.275	6	Tyr	0.153
	Glu	-0.27	7	Pro	0.114
	Tyr	-0.178	8	Glu	-0.073
	Asp	-0.005	9	Met	0.032

### 7.6.6 Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln in Form des Abstandsdiagramms der PCAs des ersten bis siebenten Tages



**7.6.7 Darstellung des Vergleiches der mit den Verfahren GC/TOF-MS und RP-HPLC bestimmten Metabolitdaten der Wurzeln des ersten bis siebenten Tages in Form von PCA-Plots, loading-Tabellen und -Grafiken**

Tag	Hauptkomponente 1 (47.95 %)		85.84 %	Hauptkomponente 2 (37.89 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert		Ranking	Bezeichnung
1 RP-HPLC	Ile	-0.821	1	Thr	0.9
	Tyr	-0.38	2	Ile	-0.356
	Val	-0.316	3	Tyr	0.167
	Thr	-0.205	4	Asp	-0.119
	Ser	0.174	5	Val	0.109
	Asp	0.086	6	Pro	-0.079
	Pro	0.041	7	Glu	-0.055
	Glu	-0.033	8	Ser	0.011

**Tag 1**

**(loading) 1**

Tag	Hauptkomponente 1 (65.15 %)		88.57 %	Hauptkomponente 2 (23.42 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert		Ranking	Bezeichnung
1 GC/TOF-MS	Ser	-0.666	1	Thr	-0.876
	Ile	-0.425	2	Val	-0.321
	Asp	-0.36	3	Tyr	-0.178
	Val	-0.344	4	Pro	0.175
	Tyr	-0.338	5	Glu	0.161
	Glu	0.109	6	Asp	0.15
	Thr	0.03	7	Ser	0.103
	Pro	0.004	8	Ile	0.094

Tag	Hauptkomponente 1 (58.05 %)		85.11 %	Hauptkomponente 2 (27.06 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
2 RP-HPLC	Ile	-0.823	1	Thr	0.824
	Tyr	-0.351	2	Tyr	0.424
	Asp	0.309	3	Ile	-0.336
	Val	-0.206	4	Pro	-0.08
	Glu	0.157	5	Glu	0.078
	Ser	0.14	6	Val	0.077
	Thr	-0.109	7	Ser	-0.075
	Pro	0.072	8	Asp	-0.058

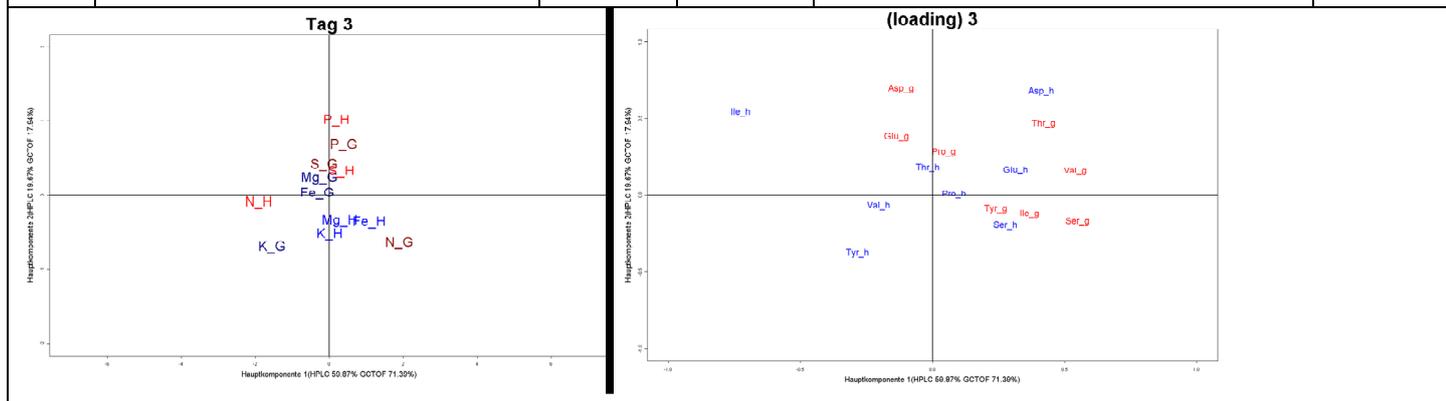
**Tag 2**

**(loading) 2**

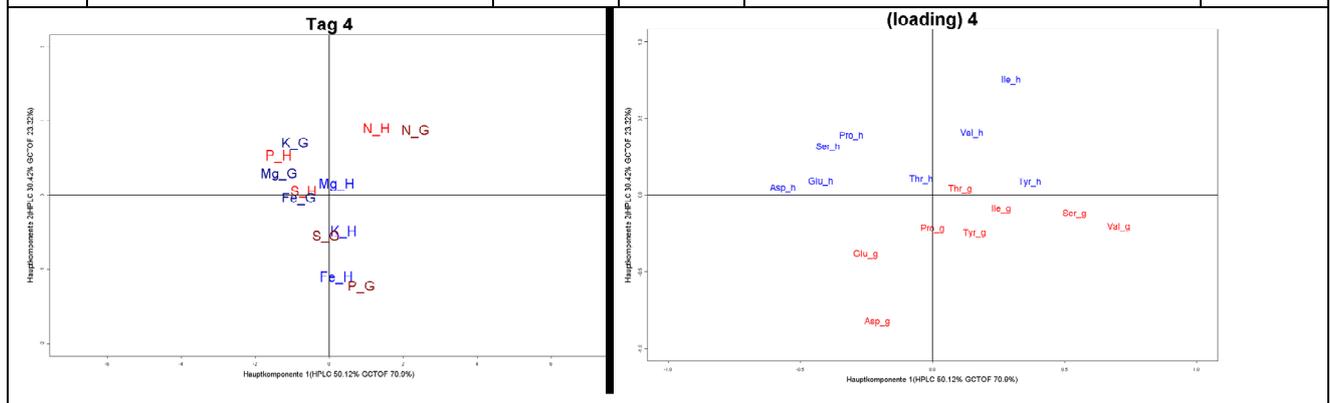
Tag	Hauptkomponente 1 (56.05 %)		81.60 %	Hauptkomponente 2 (25.55 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
2 GC/TOF-MS	Val	-0.622	1	Ser	0.721
	Thr	-0.468	2	Thr	-0.451
	Ile	-0.447	3	Asp	-0.329
	Ser	-0.354	4	Glu	0.284
	Tyr	-0.24	5	Pro	-0.266
	Pro	0.078	6	Val	-0.106
	Glu	0.074	7	Ile	0.068
	Asp	0.004	8	Tyr	-0.041

Tag	Hauptkomponente 1 (59.87 %)		85.11 %	Hauptkomponente 2 (19.67 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
3 RP-HPLC	Ile	-0.726	1	Asp	0.679
	Asp	0.413	2	Ile	0.543
	Glu	0.315	3	Tyr	-0.376
	Tyr	-0.283	4	Ser	-0.197
	Ser	0.276	5	Thr	0.182
	Val	-0.202	6	Glu	0.163
	Pro	0.082	7	Val	-0.067
	Thr	-0.017	8	Pro	0.008



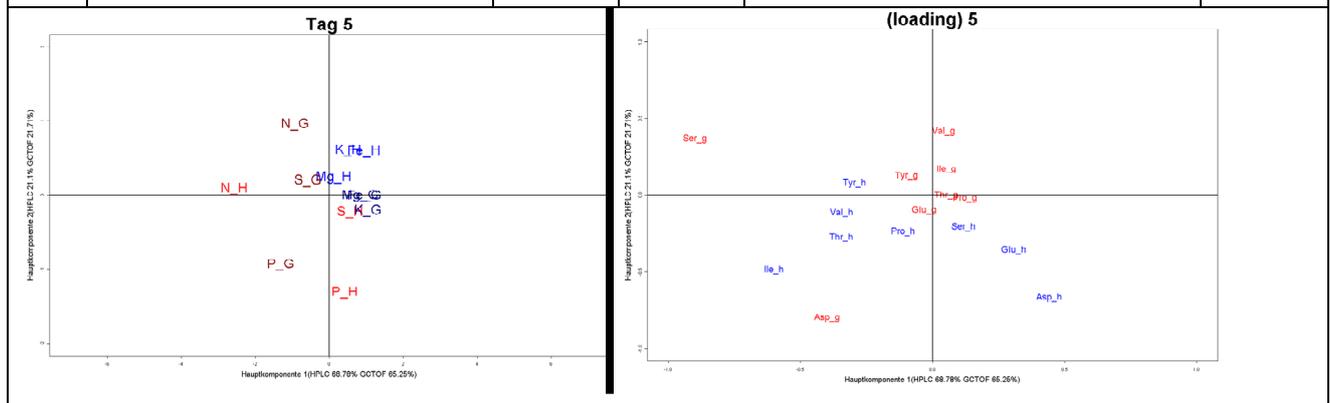
Tag	Hauptkomponente 1 (71.39 %)		81.60 %	Hauptkomponente 2 (17.94 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
3 GC/TOF-MS	Ser	0.549	1	Asp	0.695
	Val	0.542	2	Thr	0.464
	Thr	0.422	3	Glu	0.381
	Ile	0.367	4	Pro	0.28
	Tyr	0.24	5	Ser	-0.173
	Glu	-0.136	6	Val	0.16
	Asp	-0.119	7	Ile	-0.119
	Pro	0.042	8	Tyr	-0.088

Tag	Hauptkomponente 1 (50.12 %)		80.54 %	Hauptkomponente 2 (30.42 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
4 RP-HPLC	Asp	-0.566	1	Ile	0.748
	Glu	-0.424	2	Val	0.403
	Ser	-0.395	3	Pro	0.387
	Tyr	0.369	4	Ser	0.318
	Pro	-0.308	5	Thr	0.104
	Ile	0.297	6	Glu	0.089
	Val	0.15	7	Tyr	0.084
	Thr	-0.042	8	Asp	0.048



Tag	Hauptkomponente 1 (70.90 %)		94.22 %	Hauptkomponente 2 (23.32 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
4 GC/TOF-MS	Val	0.706	1	Asp	-0.824
	Ser	0.538	2	Glu	-0.383
	Ile	0.26	3	Tyr	-0.244
	Glu	-0.253	4	Pro	-0.219
	Asp	-0.209	5	Val	-0.208
	Tyr	0.16	6	Ser	-0.12
	Thr	0.106	7	Ile	-0.089
	Pro	0	8	Thr	0.041

Tag	Hauptkomponente 1 (68.78 %)		80.54 %	Hauptkomponente 2 (21.10 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5 RP-HPLC	Ile	-0.601	1	Asp	-0.667
	Asp	0.441	2	Ile	-0.488
	Thr	-0.344	3	Glu	-0.356
	Val	-0.344	4	Thr	-0.271
	Glu	0.308	5	Pro	-0.236
	Tyr	-0.294	6	Ser	-0.205
	Ser	0.118	7	Val	-0.113
	Pro	-0.112	8	Tyr	0.08



Tag	Hauptkomponente 1 (65.25 %)		94.22 %	Hauptkomponente 2 (21.71 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
5 GC/TOF-MS	Ser	-0.899	1	Asp	-0.797
	Asp	-0.399	2	Val	0.416
	Pro	0.123	3	Ser	0.371
	Tyr	-0.097	4	Ile	0.171
	Ile	0.053	5	Tyr	0.126
	Thr	0.053	6	Glu	-0.094
	Val	0.043	7	Pro	-0.019
	Glu	-0.032	8	Thr	-0.001

Tag	Hauptkomponente 1 (58.62 %)		80.15 %	Hauptkomponente 2 (21.53 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
6 RP-HPLC	Asp	0.662	1	Thr	-0.564
	Ile	-0.426	2	Pro	-0.497
	Glu	0.415	3	Tyr	-0.495
	Tyr	-0.349	4	Ser	-0.361
	Ser	0.217	5	Glu	-0.217
	Val	-0.181	6	Ile	0.103
	Thr	-0.078	7	Val	0.034
	Pro	0.034	8	Asp	0.029

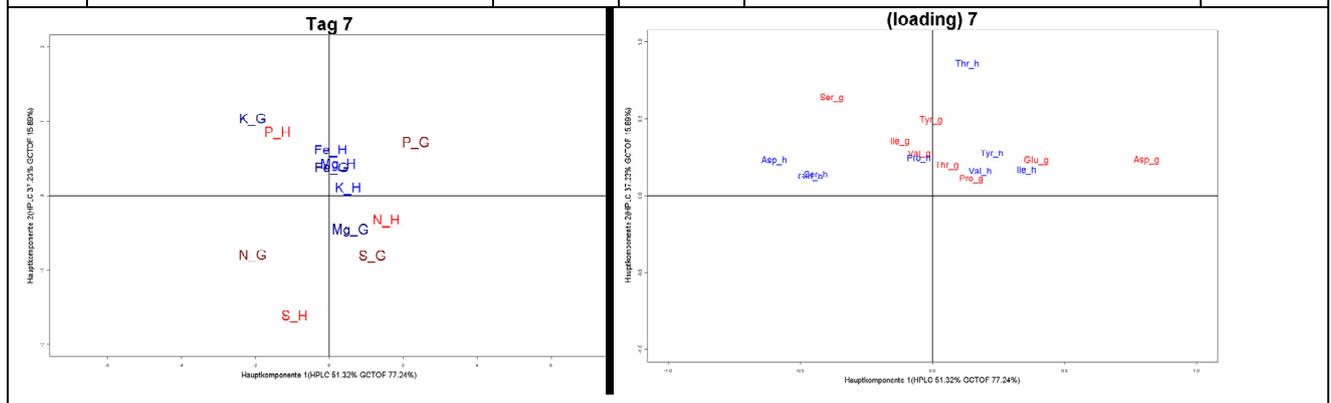
**Tag 6**

**(loading) 6**

Tag	Hauptkomponente 1 (67.29 %)		89.82 %	Hauptkomponente 2 (22.53 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
6 GC/TOF-MS	Asp	-0.77	1	Val	0.561
	Glu	-0.468	2	Tyr	0.447
	Ser	0.23	3	Asp	0.333
	Ile	0.209	4	Thr	0.323
	Val	0.179	5	Ser	0.302
	Tyr	0.173	6	Ile	0.282
	Thr	0.169	7	Glu	0.235
	Pro	0.025	8	Pro	0.211

Tag	Hauptkomponente 1 (51.32 %)		88.55 %	Hauptkomponente 2 (37.23 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
7 RP-HPLC	Asp	-0.599	1	Thr	0.854
	Glu	-0.462	2	Tyr	0.273
	Ser	-0.442	3	Pro	0.242
	Ile	0.356	4	Asp	0.227
	Tyr	0.227	5	Ile	0.168
	Val	0.182	6	Val	0.157
	Thr	0.133	7	Ser	0.137
	Pro	-0.051	8	Glu	0.12



Tag	Hauptkomponente 1 (77.24 %)		93.13 %	Hauptkomponente 2 (15.89 %)	
	Bezeichnung	Ranking Wert	Ranking	Bezeichnung	Ranking Wert
7 GC/TOF-MS	Asp	0.811	1	Ser	0.637
	Glu	0.393	2	Tyr	0.492
	Ser	-0.382	3	Ile	0.352
	Pro	0.147	4	Val	0.273
	Ile	-0.122	5	Asp	0.229
	Thr	0.055	6	Glu	0.226
	Val	-0.049	7	Thr	0.197
	Tyr	-0.004	8	Pro	0.109