

**MANSIKKANÄLVIKKÄÄN MESIANGERVOSSA
INDUSOIMAT VOC-YHDISTEET JA NIIDEN VAIKUTUS
LOISPISTIÄISEN SAALISTUSKÄYTTÄYTYMISEEN**

Maarit Walta
Ympäristötiede
Kuopion yliopiston ympäristötieteiden laitos
Joulukuu 2007

KUOPION YLIOPISTO, Luonnontieteiden ja ympäristötieteiden tiedekunta
Ympäristötieteen koulutusohjelma, Ekologinen ympäristötiede
WALTA MAARIT H.: Mansikkanälvikään mesiangervossa indusoimat VOC-yhdisteet ja niiden vaikutus loispistiäisen saalistuskäyttäytymiseen

Pro Gradu -tutkielma 58 sivua

Tutkielman ohjaajat: FT Juha Heijari
FM Sari Himanen

Joulukuu 2007

avainsanat: mesiangervo, haihtuvat orgaaniset yhdisteet, VOC, mansikkanälvikäs, *Asecodes mento* –loispistiäinen

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää mitä haihtuvia yhdisteitä mesiangervosta (*Filipendula ulmaria*) vapautuu ja miten mansikkanälvikäiden (*Galerucella tenella*) aiheuttama vioitus vaikuttaa mesiangervon lehtien haihtuviin yhdisteisiin. Lisäksi selvitettiin mansikkanälvikästä saalistavan *Asecodes mento* – loispistiäisen kykyä suunnistautua mesiangervon tuottamien haihtuvien yhdisteiden avulla. Kokeessa käytettiin kahdesta eri paikasta kerättyjä mesiangervon siemeniä, Kylörenistä Ruotsin rannikolta ja Skeppsvikistä, Ruotsin saaristosta.

Tutkimuksessa mansikkanälvikäiden aiheuttama vioitus lisäsi sekä Kylörenin että Skeppsvikin kannalla eniten seksiviterpeenien kokonaispäästöä. Aineryhmäkohtaisista päästöistä mansikkanälvikäsvioituksessa lisääntyivät tilastollisesti merkitsevästi monoterpenit, seksiviterpeenit ja yleishaihtuvat yhdisteet sekä Kylörenin että Skeppsvikin kannalla. Yksittäisistä haihtuvien yhdisteiden päästöistä tilastollisesti merkitsevästi lisääntyivät Kylörenin kannalla 2-heksenaalin, (Z)-3-heksen-1-oli+(E)-2-heksenaalin, (Z)-3-heksenylyiasetaatin ja metyylylialisylaatin päästöt mansikkanälvikäiden voittamalla kasveilla. Skeppsvikin kannalla mansikkanälvikäsvioitus lisäsi tilastollisesti merkitsevästi 2-heksenaalin, (Z)-3-heksen-1-oli+(E)-2-heksenaalin, (Z)-3-heksenylyiasetaatin, metyylylialisylaatin, (E)-karyofylleenin sekä (E),(E)- α -farneseenin päästöjä kasveilla.

Asecodes mento –loispistiäiset suunnistautuivat tasaisesti sekä voittamattomille että mansikkanälvikäsvioitetuille kasveille molemmilla kannoilla Y-putkiolfaktometrissä. Kylörenin kannalla mansikkanälvikäsvioitetuille mesiangervoille suunnistautui 59,6 % ja kontrolli mesiangervoille 40,4 %, mutta tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Trendi oli kuitenkin nähtävissä (P-arvo on 0,062). Skeppsvikin kannalla mansikkanälvikäsvioitetuille mesiangervoille suunnistautui 54,0 % ja kontrolli mesiangervoille 46,0 % testatuista loispistiäisistä, mutta tälläkään kannalla tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevä.

Tulokset osoittavat mesiangervolla tapahtuvan indisoituvaa puolustusta herbivorivioituksessa eli kasvinsyöjien aiheuttamassa vioituksessa. Tämä voidaan päätellä lisääntyneestä monoterpeenien, seksiviterpeenien ja yleishaihtuvien yhdisteiden päästöistä tilastollisesti merkitsevästi kummallakin kannalla. Kolmen trofiatason väliselle vuorovaikutukselle ei saatu tässä tutkimuksessa vahvistusta, sillä loispistiäinen ei kyennyt suunnistautumaan tilastollisesti merkitsevästi mansikkanälvikäiden voittamille mesiangervoille. Suuremmalla testattavalla loispistiäisten määrällä tilanne olisi saattanut muuttua, sillä mesiangervon Kylörenin kannalla tulos oli hyvin lähellä tilastollista merkitsevyyttä.

UNIVERSITY OF KUOPIO, Faculty of Natural and Environmental Sciences
Degree programme in Environmental Science, Department of Environmental Science
WALTA MAARIT H.: Leaf beetle (*Galerucella tenella*) -induced VOC emission from *Filipendula ulmaria* plants and effects on parasitoid orientation

Master's thesis 58 pages

Supervisors: Ph.D. Juha Heijari
M.Sc. Sari Himanen

December 2007

Keywords: meadowsweet, *Filipendula ulmaria*, volatile organic compounds, VOC, *Galerucella tenella*, *Asecodes mento*

Aim of this study was to find out what volatile organic compounds meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) release and how *Galerucella tenella* leaf beetle damage affect emission of volatile organic compounds. Further investigations included how these volatile organic compounds impact on *Asecodes mento* parasitoid behaviour which parasitize on *Galerucella tenella* leaf beetles.

On the study we used two different populations of meadowsweets: those were collected from coast as seeds of Sweden Kylören and archipelago of Skeppsvik in Sweden. The damage which *Galerucella tenella* leaf beetles caused to meadowsweet leaves increased total emission of sesquiterpenes in both Kylören and Skeppsvik populations. Both in Kylören and Skeppsvik the leaf beetle damage caused statistically significant increase in monoterpene, sesquiterpene and green leaves volatile total emissions. From single volatile organic compounds, statistically significant increase was observed in Kylören, 2-hexenal, (Z)-3-hexen-1-ol+(E)-2-hexenal,(Z)-3-hexenyl acetate and methyl salicylate emissions on those meadowsweet plants which *Galerucella tenella* had damaged. On Skeppsvik, the leaf beetle damage induced 2-hexenal, (Z)-3-hexen-1-ol+(E)-2-hexenal, (Z)-3-hexenyl acetate, methyl salicylate, (E)-caryophyllene and (E),(E)- α -farnesene emissions.

Asecodes mento parasitoids orientated evenly on Y-tube tests in both control and *Galerucella tenella* damaged plants in both Kylören and Skeppsvik. In Kylören population, *Asecodes mento* – parasitoids orientated 59,6 % and 40, 4 % in *Galerucella tenella* leaf beetles damaged plants of and in control plants respectively, but the result was not statistically significant (however, trend was seen P-value is 0,062). In Skeppsvik population, *Asecodes mento* – parasitoids orientated 54,0 % and 46,0 % in *Galerucella tenella* leaf beetles damaged plants of and in control plants respectively, but the result was not statistically significant.

The presented results show that herbivory damage induced defense in meadowsweet. That is stated because the emission of monoterpenes, sesquiterpenes and green leaves volatiles increased statistically significantly on both in Kylören and Skeppsvik. In this study we did not get conformation on third trophic level interaction because *Asecodes mento* parasitoids did not statistically significantly orientated on those meadowsweet plants which *Galerucella tenella* leaf beetles had damaged. If we had tested more *Asecodes mento* parasitoids we might have had statistically significant result because in Kylören the parasitoid behaviour result was already very near significant.

ESIPUHE

Tämä pro gradu – työ tehtiin Kuopion yliopiston Ekologisen ympäristötieteen laitoksella kesällä 2006. Opinnäytetyöni kokeellisen osan tein kesällä 2006 ja kirjoitustyön vuoden 2007 aikana opintojeni ohella. Työni ohjaajia olivat FT, tutkija Juha Heijari ja FM, tutkija Sari Himanen.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli saada tietoa mesiangervon haihtuvista yhdisteistä sekä kontrollikasveilta että mansikkanälvikkään vioittamilta kasveilta ja näiden haihtuvien yhdisteiden vaikutuksista loispistiäisen saalistuskäyttäytymiseen. Tutkielmaan kuuluvat kokeelliset osat tehtiin FT Jarmo Holopaisen kemiallisen ekologian tutkimusryhmässä. Tätä tutkimusprojektia on rahoittanut FT Jarmo Holopaisen tutkimusryhmä.

Suuret kiitokset pro gradu – työni valmistumisesta esitän työni ohjaajille FT, tutkija Juha Heijarille erityisesti avusta kokeellisen osuuden suunnittelemisessa ja toteutuksessa sekä neuvoista kirjoitusvaiheessa ja FM, tutkija Sari Himaselle ohjeista ja neuvoista sekä kokeellisen osuuden että kirjoitustyön aikana. Kiitokset myös väitöskirjaansa valmistelevalle Johan Stenbergille (Umeå Universitet) käytännön avusta kokeellisen osuuden aikana. Kiitän myös koko Kuopion yliopiston ekologisen ympäristötieteen laitoksen henkilökuntaa avusta ja tutkimuspuutarhan henkilökuntaa mesiangervon taimien kasvatuksesta ja hoidosta.

Henkilökohtaiset kiitokseni haluan esittää Samille kannustuksesta ja tuesta sekä vanhemmilleni Eilalle ja Tapiolle tuesta ja motivoinnista niin tämän työn kuin koko opiskelujeni ajalta.

Siilinjärvellä marraskuussa 2007

Maarit Walta

SISÄLLYSLUETTELO

1 JOHDANTO	7
2 TAUSTAA KASVEISTA JA HYÖNTEISISTÄ	8
2.1 MESIANGERVO (FILIPENDULA ULMARIA)	8
2.2 HYÖNTEISET	9
2.2.1 Mansikkanälvikäs (<i>Galerucella tenella</i>)	9
2.2.2 <i>Asecodes mento</i> – loispistiäinen	10
2.3 MESIANGERVON, MANSIKKANÄLVIKKÄÄN JA A. MENTO – LOISPISTIÄISEN KESKINÄINEN VUOROVAIKUTUS	12
3 HAIHTUVAT ORGAANISET YHDISTEET	14
3.1 HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN SYNTETISOINTI, AKKUMULOINTI JA VAPAUTTAMINEN	15
3.2 HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN TEHTÄVÄT	16
3.3 HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN MUODOSTUMISEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT	17
3.4 TERPEENIT	18
3.4.1 Terpeenien biosynteesi	19
3.4.2 Monoterpeenit	21
3.4.3 Seskviterpeenit	21
3.5 YLEISHAIHTUVAT YHDISTEET	22
3.5.1 Yleishaihtuvien yhdisteiden biosynteesi	22
3.6 AROMAATTISET YHDISTEET	22
3.6.1 Metyylisalisylaatti	22
4 TOISEN JA KOLMANNEN TROFIATASON HYÖNTEISTEN VUOROVAIKUTUS KASVIEN KANSSA	24
4.1 TOISEN TROFIATASON VUOROVAIKUTUS	24
4.2 KOLMANNEN TROFIATASON VUOROVAIKUTUS	27
5 AINEISTO JA MENETELMÄT	31
5.1 KASVIMATERIAALI JA KASVUOLOSUHTEET	31
5.2 HYÖNTEISET	31
5.2.1 Mansikkanälvikäs <i>Galerucella tenella</i>	31
5.2.2 <i>Asecodes mento</i> – loispistiäinen	32
5.3 HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN KERÄYS	32
5.4 HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN MÄÄRITYS KAASUKROMATOGRAFI- MASSASPEKTROMETRILLÄ (GC-MS)	33
5.5 MESIANGERVOJEN KUIVAPAINOJEN MITTAAMINEN JA TULOSTEN LASKEMINEN	34
5.6 LOISPISTIÄISTEN SUUNNISTAUTUMINEN	34
5.7 TULOSTEN TILASTOLLINEN KÄSITTELY	35
6 TULOKSET	36
6.1 HAIHTUVAT ORGAANISET YHDISTEET	36
6.1.1 Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden kokonaispäästöt	36
6.1.2 Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden suhteelliset osuudet	36

6.1.3 Yksittäisten yhdisteiden päästöt mansikkanälvikäsvoituksessa	38
6. 2 ASECODES MENTO – LOISPISTIÄISTEN SUUNNISTAUTUMINEN Y- PUTKIOLFAKTOMETRISSÄ	41
6.2.1 <i>Asecodes mento</i> – loispistiäisten suunnistautuminen	41
6.2.2 <i>Asecodes mento</i> – loispistiäisten suunnistautuminen yksittäisten haihtuvien yhdisteiden suhteen	42
7 TULOSTEN TARKASTELU	43
7.1 HAIHTUVAT ORGAANISET YHDISTEET	43
7.2 ASECODES MENTO – LOISPISTIÄISEN SUUNNISTAUTUMINEN	45
8 YHTEENVETO	47
9 KIRJALLISUUSLUETTELO	48

1 JOHDANTO

Kasvit tuottavat ja vapauttavat haihtuvia orgaanisia yhdisteitä (volatile organic compounds, VOC) kuten etyleeniä, isopreeniä, mono- ja seksviterpeenejä, alkaaneja, alkeeneja, alkoholeja, aldehydejä, eettereitä, estereitä, karboksyylihappoja, orgaanisia happoja ja ketoneja (Langenheim 1994; Peñuelas & Llusà 2004) lehdistä, kukista ja hedelmistä ilmakehään ja juurista maahan. Haihtuvien yhdisteiden kemiallinen koostumus ja niiden pitoisuus voivat kantaa tietoa kasvin fysiologisesta tilasta ja niistä stresseistä joille se on altistunut (Dudareva ym. 2006). Ne voivat tarjota myös lisääntymisetua houkuttamalla pölyttäjiä ja siementenlevittäjiä (Pichersky & Gershenzon 2002). Kasvien haihtuvien yhdisteiden päästö on usein monimutkainen sekoitus ja se voi muodostua yli 200 erilaisesta yhdisteestä (Baldwin & Preston 1999; Dicke & Van Loon 2000).

Kasvit vapauttavat yleensä jatkuvasti pieniä määriä haihtuvia yhdisteitä, mutta kasvinosien vioittuessa esimerkiksi herbivorien eli kasvinsyöjien syönnin seurauksena, enemmän ja useampia yhdisteitä vapautuu. Hyönteisten vioittamien kasvien vapauttamat haihtuvat yhdisteet ovat selkeästi eroteltavissa muunlaisen vioituksen aikaansaamista haihtuvista yhdisteistä. (Takabayashi ym. 1994; Bruin ym. 1995; Paré & Tumlinson 1999; Farag & Paré 2002.) Jotkin näistä vapautuvista haihtuvista yhdisteistä toimivat houkuttimina herbivorin luontaisille vihollisille (Turlings ym. 1990) kuten monille loispistiäisille. Loispistiäiset tunnistavat kasvien kemialliset vihjeet, ja ne pystyvät erottelemaan tiettyjen herbivorien aikaansaamat haihtuvat yhdisteet taustatuoksusta (Takabayashi ym. 1995). Myös oppimisella on tärkeä rooli siinä, että loispistiäiset löytävät herbivoreja. (Geervliet ym. 1997.) Vapautuvien haihtuvien yhdisteiden signaalien puolustusarvo onkin niiden kolmannelle trofiatasolle saapuvassa informaatiossa (Takabayashi & Dicke 1996).

Mansikkanälvikäs (*Galerucella tenella*) käyttää Itämeren Merenkurkun maannousema-alueen saarilla ja rannikoilla pääasiallisena ravintonaan mesiangervoa (*Filipendula ulmaria*) (Hambäck ym. 2006). Mansikkanälvikäs vioittaa mesiangervon lehtiä raaputtaen niiden alapinnalta kasvisolukon niin, että muodostuu ohutkalvoisia ikkunakuvioita. Kasvivoitus aiheuttaa mesiangervon kasvukunnon heikkenemistä. (Tuovinen 1997.) Mansikkanälvikään luontainen vihollinen on Pohjanlahden saarilla *Asecodes mento* – loispistiäinen (Hambäck ym. 2006). Aikuinen loispistiäinen käyttää kukkien siitepölyä ja mettä ravinnokseen ja naaras munii mansikkanälvikään toukkiin, minkä seurauksena pistiäisen toukka käyttää mansikkanälvikästä ravinnokseen (Sandhall & Hedqvist 1976).

Tämän tutkimuksen tarkoituksena on selvittää mitä haihtuvia yhdisteitä mesiangervosta vapautuu, koska tästä ei ole juurikaan aiempaa tutkimustietoa. Sen lisäksi tarkoituksena on tutkia mansikkanälvikäsvioituksen vaikutuksia mesiangervon lehtien haihtuviin yhdisteisiin sekä näiden yhdisteiden vaikutuksia mansikkanälvikästä saalistavan loispistiäisen kykyyn suunnistautua yhdisteiden avulla.

Tutkimushypoteesit ovat:

H₁: Mansikkanälvikäsvioitus indusoi mesiangervossa seuraavia VOC-yhdisteitä:

- a) yleishaihtuvia yhdisteitä (GLV, green leaves volatiles)
- b) lisää mono- ja seksviterpeenien emissiota
- c) uusia, lajille tyypillisiä haihtuvia yhdisteitä

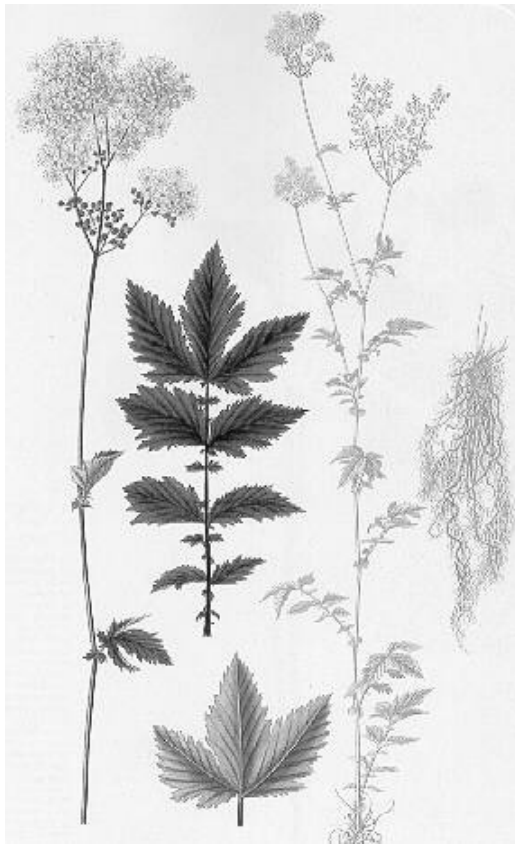
H₂: Loispistiäinen käyttää hyväkseen mesiangervon VOC-yhdisteitä suunnistautumisessaan.

2 TAUSTAA KASVEISTA JA HYÖNTEISISTÄ

2.1 MESIANGERVO (*FILIPENDULA ULMARIA*)

Angervot kuuluvat lahkoon *Rosales*, heimoon *Rosaceae* ja angervojen (*Filipendula*) sukuun. Yleisesti angervot ovat monivuotisia, juurakollisia ja pystyvartisia ruohoja. Niiden lehtilapa on päätöparinen ja lehdyköiden välissä on pieniä välilehdyköitä. Kukinto on laaja kerrannais-huiskilo, jossa kukat ovat pieniä ja teriö on valkoinen. Muodostuva hedelmä on pähkylä. (Hämet-Ahti ym. 1998.)

Mesiangervo *Filipendula ulmaria* (L.) on karvainen 50 – 120 cm korkea monivuotinen kasvi. Mesiangervo kasvaa kosteilla niityillä, ojissa, rantaniityillä sekä pensaikoissa, kosteissa lehdossa, lehtokorvissa, letoilla ja lähteiköissä. (Hämet-Ahti ym. 1998.) Sitä tavataan hyvin yleisesti koko Suomessa (Hiitonen & Kurtto 2004). Mesiangervo on hyönteispölytteinen ja pölytys tapahtuu heinä-elokuussa (Hambäck ym. 2006; Stenberg ym. 2006). Mesiangervon aluslehdet ovat 20 – 40 cm pitkät ja niitä on lukuisia. Niiden lapa on 3 – 5-parinen, alta ne ovat tavallisesti harmaita. Päätölehdykkä on muita isompi, muut lehdykät ovat soikeita ja toistamiseen sahalaitaisia. (Hämet-Ahti ym. 1998.) Kukinto on tiheä, 5 – 25 cm pitkä ja voimakastuoksuinen (Hämet-Ahti ym. 1998; Hiitonen & Kurtto 2004). Kukan osat ovat 5-lukuiset, teriöt ovat kellanvalkeat (Hiitonen & Kurtto 2004) ja pähkylät ovat noin 3 mm pitkiä, kierteisiä ja kaljuja (Hämet-Ahti ym. 1998).



Kuva 1. Mesiangervo (*Filipendula ulmaria*).

(Alkuperäinen kuva: <http://www.yrttitarha.com/kanta/mesiangervo/> 8.10.2007)

2.2 HYÖNTEISET

2.2.1 Mansikkanälvikäs (*Galerucella tenella*)

Nälvikkääät kuuluvat hyönteisten, *Insecta*, luokkaan, kovakuoriaisten, *Coleoptera*, lahkoon, *Polyphaga* alalahkoon, lehtikuoriaismaisten (*Chrysomeloidea*) yläheimoon ja lehtikuoriaisten (*Chrysomelida*) heimoon (Chinery 1988).

Lajimäärältään kovakuoriaiset ovat suurin hyönteislahko. Suuosien rakenne on kovakuoriaisille tyypillinen, eri lajien kesken erittäin vähän vaihteleva ominaisuus. Niillä on ns. purevat suuosat, joihin kuuluvat voimakkaat, toisiaan vastaan liikkuvat yläleuat ja näiden alla sirommat, monijaokkeiset alaleuat. Näiden lisäksi suosiin kuuluvat vielä jaokkeiset leuka- ja huu-lirihmat. Kovakuoriaisilla on verkkosilmät ja monijaokkeiset tuntosarvet. Ruumiinosaat ovat pää, keskiruumis ja takaruumis. Keskiruumiissa on kolme raajaparia. Selkäpuolella niillä on keskiruumiista alkava kilpi. Lehtikuoriaiset ovat muodoltaan yleensä leveän pyöreitä, lyhyt-raajaisia ja liikkeissään hieman kömpelöjä. Kovakuoriaiset lisääntyvät yleensä suvullisesti. (Sandhall & Lindroth 1976.) Toukat ovat yleensä pehmeäihoisia, matomaisia ja useimmilla on kolme jalkaparia eturuumiissa. Toukat ja aikuiset käyttävät usein samaa ravintoa. (Tuovinen 1997.) Kovakuoriaiset kokevat täydellisen muodonvaihdoksen, jonka vaiheet ovat muna, toukka, kotelo ja aikuinen. Hajuaisti on ilmeisesti kovakuoriaisille tärkein aisti, sillä sen avulla ne tunnistavat ravintokasvinsa ja parittelukumppaninsa. Kitiinipanssari suojaa kovakuoriaisia vihollisilta, mutta myös suojaväri on tehokas suojautumiskeino. (Sandhall & Lindroth 1976.)

Kovakuoriaiset pystyvät käyttämään ravintonaan monipuolisesti luonnon niin eläin- kuin kasvipäisiä aineita. Kovakuoriaiset ovat vaihtelevassa määrin sidoksissa tietyn tyyppisiin ravintolähteisiin, kuten esimerkiksi kasvinsyöjät. Ne käyttävät ravintonsa hienontamiseen pääasiassa yläleukojaan. Monofagit käyttävät ravintonaan vain yhtä lajia, oligofagit muutamaa tiettyä lajia ja polyfagit monia eri lajeja. Kovakuoriaisissa on suuri osa tuhohyönteisiä, jotka käyttävät ravintonaan puita, viljelyskasveja sekä rakennusmateriaaleja. Hyötyä kovakuoriaisista on toisten hyönteisten biologisessa torjunnassa metsissä ja viljelysaloilla. (Sandhall & Lindroth 1976.) Eniten tuholaisina esiintyviä kovakuoriaisia on lehtikuoriaisten ja kärsäkkäiden heimoissa (Tuovinen 1997).

Lehtikuoriaisten heimo on moninainen ja siihen kuuluu lähes 40 000 lajia. Lähes kaikki niistä ovat kasvinsyöjiä eli herbivoreja. Isäntäkasvinsa ne valitsevat sen perusteella, että siihen voi laskea munat, se sopii toukkien ravinnoksi ja kasvupaikaksi sekä aikuisten ravinnoksi. Monilla lajeilla isäntäkasvi antaa suojaa toukalle sen kotelovaiheessa. Isäntäkasvin valintaan lehtikuoriaisilla vaikuttaa myös kasvin kasvuympäristö sekä kasvin geno- ja fenotyyppi. Myös kasvin lehtien koko ja ikä, sekä herbivorin kehitysvaihe vaikuttaa sen ravinnon, munimisen ja/tai suojan tarpeeseen. (Fernandez & Hilker 2007.)

Mansikkanälvikäs (*Galerucella tenella*) on yleinen koko maassa ja sen tuhoeläinmerkitys mansikanviljelyssä on kohtalainen: tuhoja esiintyy usein (Tuovinen ym. 2003). Mansikkanälvikkään toukka on 6 – 8 mm pitkä, aluksi vihreä ja mustapisteinen, myöhemmin lähes musta kellertävin poikkiraidoin. Munat ovat kooltaan n. 0,6 mm pitkiä ja väriltään vaalean kellertäviä tai rusehtavia. Ne ovat ulkonäöltään kananmunamaisia ja tiiviissä rykelmässä. Kotelo on musta ja alustaansa kiinnittynyt. Mansikkanälvikkään muninta voi jatkua pitkälle kesään ja munamäärä voi olla useita satoja. Naaras munii 10 – 30 munan ryhmiä lehtien alapinnoille.

Toukat elävät aluksi ryhmissä syöden lehtien pintaa kalvamalla niihin ikkunakuvioita. Ne koteloituvat lehdille tai maahan ja ensimmäiset aikuiset kuoriutuvat jo heinäkuussa. (Tuovinen 1997.) Mansikkanälvikäs talvehtii aikuisena maaperässä ja sillä on Suomessa yksi sukupolvi vuodessa. Kooltaan aikuinen on noin 4 mm pitkä ja väriltään vaalean- tai tummanruskea. (Tuovinen ym. 2003; Hambäck ym. 2006.) Aikuiset syövät jo aikaisin keväällä kasvien lehtiin ikkunakuvioita ja koloja (Tuovinen 1997). Mansikkanälvikkään isäntäkasveja ovat esimerkiksi mansikka (*Fragaria* sp.), mesiangervo (*Filipendula ulmaria*), hanhikit (*Potentilla* sp.) sekä niittykellukka l. ojakellukka (*Geum rivale*) (Tuovinen, Parikka & Härd 2003; Hiitonen & Kurtto 2004). Mansikalla aikuisten ja toukkien aiheuttama runsas vioitus voi tuhota lehdet pahoin aiheuttaen kasvukunnan heikkenemistä. Toukat syövät myös marjoja ja ne voivat aikuisten nälvikkäiden ohella vioittaa myös kukkia ja raakileita. Nälvikkäiden esiintymistä keväällä tarkkaillaan ja tarvittaessa torjunta tehdään viimeistään ennen muninnan alkua. (Tuovinen 1997.)



Kuva 2. Mansikkanälvikäs (*Galerucella tenella*). Kuva: Jarmo Holopainen.

2.2.2 Asecodes mento – loispistiäinen

Loispistiäiset kuuluvat hyönteisten *Insecta* luokkaan, pistiäisten *Hymenoptera* lahkoon ja *Apocrita* alalahkoon, *Eulophidae* yläheimoon (Hambäck ym. 2006), kätköpistiäisten *Parasitica* ryhmään ja loispistiäisten *Ichneumonoidea* yläheimoon (Sandhall & Hedqvist 1976; Chinery 1988). Pistiäiset käyttävät munanasetintaan munimisessa poraamalla sen avulla eläin- tai kasvisolukkoa ja asettamalla munansa isäntälajinsa kudosten sisään. Kuoriutuvat toukat ovat jalattomia ja niiden pää on mitätön, johtuen niiden elinympäristöstä, joka on ravinnon ympäröimä, esim. isäntälajin toukan sisällä. (Chinery 1988.)

Pistiäiset ovat yksi maailman runsaslajisimmista hyönteislahkoista (Tumlinson ym. 1993). Pistiäisnaaraat voivat munia joko suoraan isäntäkasvilleen tai isäntäeliöön, joko sen pinnalle tai sisälle sen ruumiiseen (Sandhall & Hedqvist 1976). Näin toukasta tulee loisittu ja munat kehittyvät sen sisällä loispistiäisen toukiksi. Kasvava loispistiäisen toukka syö isäntätoukkaansa ja lopulta tappaa sen. Sitten se muodostaa kotelon joko isäntätoukan sisällä tai lähelle sen ruumista, ja koteloituu. (Tumlinson ym. 1993.) Pisimmälle kehittyneet pistiäiset, kuten ampiaiset, munivat pesäänsä. Pistiäisten elämänsykli sisältää 4 vaihetta: muna, toukka, kote-

lo ja aikuinen, ja näin ollen se kokee täydellisen muodonvaihdon. Toukkavaiheessa pistiäiset läpikäyvät viisi toukkavaihetta luoden jokaisen välillä nahkansa. Ensimmäinen toukka-aste on liikkuva koska isäntäkasviin tai -eliöön voi olla munittuna useammankin pistiäisyksilön munia ja ensin kuoriutuneet toukat vaeltavat tuhoten vielä kuoriutumattomat munat ja varmistavat näin oman ravintonsa riittävyyden. (Sandhall & Hedqvist 1976.) Loisiminen hidastaa toukan syömisajan pituutta ja päättää sen lisääntymiskierron samalla lisäten loispistiäisiä. Loispistiäiset löytävät isäntälajinsa toukat niistä erittyvien tyypillisten haihtuvien yhdisteiden sekä niiden syömästä kasvista vapautuvien haihtuvien yhdisteiden avulla. (Tumlinson ym. 1993.)

Ravintonaan pistiäiset käyttävät kukkien siitepölyä, mettä, puiden mahlaa ja kirvojen makeaa nestettä. Muniensa kehittymiseen pistiäisnaaraat tarvitsevat valkuaisainepitoista ravintoa, kuten siitepölyä. Osa pistiäisistä on petoja ja ne saalistavat toisia, pienempiä hyönteisiä, yleensä ravinnoksi toukille. Naaraat voivat myös pistää isäntätoukkansa ihoon munanasettimellaan reiän ja imeä sen kautta suuosillaan toukan ruumiinnesteitä. Pistiäisillä on useita vihollisia, mm. linnut, petohyönteiset ja hämähäkit. Suojakeinoina niillä on varoitusvärit, pahanhajuiset nesteet, vahvat leuat ja myrkkypistiäisillä pistimet. Toukilla on pinnallaan usein vahaa tai limaa, joka torjuu saalistajia. Pahimmat viholliset ovat kuitenkin yleensä toiset pistiäiset, jotka loisivat esimerkiksi sahapistiäisissä. Tällöin on kyse loisenloisista, eli toisen asteen loisista. Monet pistiäiset ovat hyviä lentäjiä, mutta siitä huolimatta ne ovat yleensä melko paikkauskollisia ja pysyvät samoilla pesäpaikoilla vuodesta toiseen. Pistiaisten levittäytyminen uusille alueille riippuukin monista tekijöistä ja eniten vaikuttavat sää- ja ravintotekijät. (Sandhall & Hedqvist 1976.)

Loispistiäiset voivat olla moni- tai yksi-isäntäisiä. Moni-isäntäiset lajit ovat yleensä tärkeämpiä tuhohyönteisten luonnollisen torjunnan kannalta, sillä niitä ilmestyy viljelyksille nopeammin kuin yhteen lajiin rajoittuneita pistiäisiä. Varsinaisessa biologisessa torjunnassa käytetään kuitenkin yleensä tiettyyn lajiin rajoittuneita pistiäisiä, joiden torjuntateho on parempi. Biologisen torjunnan sovellukset loispistiäisiä käyttämällä ovat Suomessa käytössä kasvihuoneviljelyssä. (Tuovinen 1997.)

Asecodes mento (Walker) – loispistiäinen on toukkien endoparasiitti, joka munii nuoriin toukkavaiheisiin lehtikuoriaisten heimossa. *A. mento* – loispistiäisen elinkierto on hyvin samanlainen kuin sen isäntienkin *Galerucella* – suvussa, sillä erotuksella, että loispistiäiset talvehtivat normaalisti toukkavaiheina koteloituneissa isäntätoukissa. (Hippa & Koponen 1984; Hambäck ym. 2006.)



Kuva 3. *Asecodes mento* (Walker) – loispistiäinen. Kuva: Jarmo Holopainen.

2.3 MESIANGERVON, MANSIKKANÄLVIKKÄÄN JA *A. MENTO* – LOISPISTIÄISEN KESKINÄINEN VUOROVAIKUTUS

Skeppsvikin saaristo sijaitsee Ruotsin rannikolla, Sävarissa, Uumajasta 20 kilometriä itään päin. Saariston maanpinta kohoaa vuosittain keskimäärin 0,85 cm (Hambäck ym. 2006). Uusia saaria muodostuu alueella jatkuvasti ja niitä valloittavat johtojänteelliset kasvit, joita taas valloittavat monet erilaiset, niitä ravinnokseen käyttävät herbivorit eli kasvinsyöjät (Carlsson ym. 1990). Saaristoon kuuluu noin sata pientä saarta, joissa osalla kasvusto vasta orastaa ja osalla kasvaa jo metsää. Kylörenin niemi sijaitsee Hörneforsissa, Uumajasta noin 40 kilometriä lounaaseen. Näillä Itämeren pohjoisilla rannoilla mesiangervo ja rantakukka ovat yleisiä ruohovartisia kasveja. Skeppsvikin saaristossa rantakukkaa esiintyy vähemmän, yleensä vain saariston ulkoreunan saarilla. Mesiangervo taas on yleinen koko saaristossa. (Hambäck ym. 2006; Stenberg ym. 2006; Stenberg ym. 2007.) Mesiangervojen altistuminen mansikkanälvikäille vaihteli Kylörenin ja Skeppsvikin kesken: Kylörenissä mansikkanälvikäiden populaation tiheys on usein varsin korkea, kun taas Skeppsvikin saaristossa mansikkanälvikäs populaation tiheys on matala (J. Stenberg, henkilökohtainen tiedonanto 24.4.2006).

Mesiangervon merkittävin herbivori näillä Itämeren rannikoilla sekä saaristoissa on mansikkanälvikäs ja rantakukalla *Galerucella calmariensis* nälvikäs. Koska ruohokasvit ovat näillä pohjoisen saaristoissa altistuneet lehtikuoriaisille kautta historian, on niillä korkea herbivori-kestävyys. Molempien nälvikäiden luontainen vihollinen näissä saaristoissa on *A. mento* – loispistiäinen. (Hambäck ym. 2006; Stenberg ym. 2006; Stenberg ym. 2007.)

Stenberg ym. (2006) tutkivat kuudella Perämeren saarella mesiangervon populaatioita, jotka toimivat isäntäkasveina mansikkanälvikäille. Tulokset osoittivat, että monet hyönteiskasvivuorovaikutukselle tärkeät ominaisuudet (lehtien fenolien ja tanniinien yksittäiset konsentraatiot, kasvien korkeus, mansikkanälvikkään aikuisten vioitus ja muniminen) korreloivat merkitsevästi saaren iän kanssa. Vanhemmissa kasvipopulaatioissa lehtien tanniini- ja fenolikonsentraatiot olivat suurempia, mansikkanälvikäiden muninta ja lehtien syöminen heikompa ja toukkien esiintyminen vähäisempää. Voidaan todeta, että ruohokasvien korkea herbivori-kestävyys kuvastaa niiden historiallista altistusta lehtikuoriaisille pohjoisessa saaristossa. (Stenberg ym. 2006.)

Asecodes-Galerucella-Filipendula systeemissä loisittu toukka ei koteloidu kuin vasta vähän ennen koteloitumistaan ja näin ollen loisitut toukat kuluttavat yhtä paljon kasvin biomassaa kuin ne joihin ei ole loisittu (Stenberg ym. 2007). Loisinnan aiheuttamat suorat vaikutukset ovat ilmeisiä herbivorin populaatioissa ja epäsuorat vaikutukset isäntäkasvissa ovat nähtävissä seuraavana kasvukautena. Tätä tapahtuu myös luonnollisissa populaatioissa elinympäristön monimuotoisuudesta huolimatta. (Kessler ym. 2004.) Tämä monimutkainen ekosysteemin ilmiö voi olla herbivorien indusoiman haihtuvien yhdisteiden vapautumisen suuntaamaa (Stenberg ym. 2007). Sen perusteella mansikkanälvikäällä on vahva kelpoisuus isäntäkasvillaan. Mesiangervon kestokyky mansikkanälvikästä vastaan heijastaa aiempien vuosien kuoriaispopulaation esiintymistä ja tämän perusteella voidaan päätellä, että nämä mansikkanälvikäät lisäävät isäntäkasvin evolutiivista resistenssiä. (Stenberg ym. 2006.)

Herbivorien ravinnokseen käyttämän isäntäkasvin määrä vaihtelee alueittain, sillä herbivorien ja niiden luontaisten vihollisten levinneisyys on epätasaista (Stenberg ym. 2007). Herbivorien ja niiden luontaisten vihollisten, levinneisyys voi myös olla riippuvainen samalla alueella elävistä muista kasvilajeista, jotka tarjoavat vaihtoehdoisen ravinnonlähteen keskinäisessä vuorovaikutuksessa eläville lajeille (Hambäck ym. 2006). Kasvit voivat kilpailla herbivorien luon-

taisista vihollisista keskenään suoraan vapauttamalla houkuttelevia haihtuvia yhdisteitä tai tarjoamalla niille ravintoa. *A. mento* – loispistiäisen hyökkääminen mansikkanälvikkään toukkien kimppuun mesiangervopopulaatiossa on uusi esimerkki luontaisen vihollisen aikaan saamista epäsymmetrisestä, näennäisestä kilpailusta lajien välillä. (Stenberg ym. 2007.) *A. mento* –loispistiäinen on yleisempi kasvipopulaatioissa, joissa mesiangervoa esiintyy yhdessä rantakukan (*Lythrum salicaria*) kanssa, koska rantakukkaa käyttää ravinnokseen ja suojakseen *Galerucella californiensis* nälvikäs, joka on mansikkanälvikkäälle läheinen laji ja jonka toukkiin *A. mento* myös loisii mansikkanälvikkään lisäksi. Nälvikäslajien ja hyönteispopulaatiotyypin (alueella vain yhtä lajia tai alueella molempia lajeja) välillä oli nähtävissä oleva vuorovaikutus loisimisen suhteen, mutta se ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Loisimistiheys oli 2.3 kertaa suurempi mansikkanälvikkäällä kuin *G. californiensis* nälvikkäällä molempien lajien yhteispopulaatiossa. Tämän mukaan loispistiäisellä on valintapaine mansikkanälvikkäälle. (Hambäck ym. 2006.) Kasvin ja herbivorin välillä olevalla vuorovaikutuksella on jonkin verran vaikutusta luontaiseen viholliseen, mutta luontaiset viholliset voivat myös käyttää vastavuoroista valintapainetta (Ode 2006). Mansikkanälvikäs kärsii enemmän loisimisesta kun se esiintyy samalla alueella *G. californiensis* nälvikkään kanssa, koska mansikkanälvikkään toukka on loispistiäiselle ensisijainen isäntä. (Hambäck ym. 2006.) Rantakukan ja mesiangervon yhteisessä populaatiossa lisääntynyt loisiminen sai mesiangervolla aikaan nälvikkäiden vähentynyttä syöntiä ja siementen tuotannon kasvua (Stenberg ym. 2007).

3 HAIHTUVAT ORGAANISET YHDISTEET

Korvatakseen liikkumattomuutensa kasvit ovat kehittäneet monia mekanismeja joilla ne voivat olla vuorovaikutuksessa ympäristönsä kanssa. Niihin kuuluvat myös kasvien vapauttavat haihtuvat orgaaniset yhdisteet, sekundaariyhdisteet, joita ne vapauttavat lehdistä, kukista ja hedelmistä ilmakehään ja juurista maahan. (Dudareva ym. 2006.) Kasvit vapauttavat yleensä pieniä määriä haihtuvia yhdisteitä, mutta kun kasvi vioittuu herbivorien syönnin seurauksena, enemmän ja useampia yhdisteitä vapautuu (Paré & Tumlinson 1999). Näitä haihtuvia orgaanisia yhdisteitä ovat esimerkiksi etyleeni, isopreeni, mono- ja seskviterpeenit, alkaanit, alkeenit, alkoholit, aldehydit, eetterit, esterit, karboksyylihapot, orgaaniset hapot ja ketonit (Langenheim 1994; Peñuelas & Llusià 2004). Kasvien vapauttavat haihtuvat yhdisteet ovat alhaisia molekyylipainoltaan ja niiden kemiallinen koostumus sekä pitoisuus voivat kantaa tietoa kasvin fysiologisesta tilasta ja niistä stresseistä joille se on altistunut (Dudareva ym. 2006). Esimerkiksi kehrääjäpunkkien vioittamat limanpavut vapauttivat keskimäärin 30 – 50 kertaa suuremman määrän haihtuvia yhdisteitä kuin vioittumattomat limanpavut (Dicke ym. 1999). Kasvien haihtuvien yhdisteiden päästö on usein monimutkainen sekoitus ja se voi muodostua yli 200 erilaisesta yhdisteestä, joista monia esiintyy vain hyvin pieninä pitoisuuksina (Dicke & Van Loon 2000; Baldwin & Preston 1999). Haihtuvien yhdisteiden sekoituksen erot voivat olla määrällisiä, kuten saman yhdisteen eri määrä, tai laadullisia, kuten vioituksessa vapautuva yhdiste jota ei vapaudu vioittumattomasta kasvista (Turlings ym. 1990; Takabayashi ym. 1991; Takabayashi ym. 1994; Takabayashi & Dicke 1996; Geervliet ym. 1997; De Moraes ym. 1998; Dicke 1999). Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden kokonaispäästömäärä vaihtelee ajan ja paikan sekä lajin mukaan välillä 0 – 100 $\mu\text{g g}^{-1}\text{h}^{-1}$ (Kesselmeier & Staudt 1999). On selvää, että genetiikka määrää voimakkaasti haihtuvien yhdisteiden tuotannosta, saaden päästöt hyvin laji-spesifisiksi (Kesselmeier & Staudt 1999) tai jopa ekotyypin-spesifisiksi (Peñuelas & Llusià 2001).

Vioituksen jälkeen kasvissa vapautuu esimerkiksi metyyliisalisylaattia (MeSa) (Dicke ym. 1999), (Z)-3-heksenyliasettaattia (Paré & Tumlinson 1996), etyleeniä, terpenoideja ja fenyyliipropanoideja, sekä LOX-reitin avulla muodostuneita metyylijasmonaattia (MeJa) ja yleishaihtuvia yhdisteitä. Haihtuvat yhdisteet muodostuvat nopeasti vioittuneessa kohdassa ja hetkellisesti. Ne kulkeutuvat ilman mukana signaalimolekyyliin kauempiinkin kasvinosiin. (Bruin ym. 1995; Bate & Rothstein 1998.) Isopreeni, monoterpeenit, seskviterpeenit ja jotkin muut haihtuvat yhdisteet voivat olla suhteellisen reaktiivisia ilmakehässä ja niiden kemiallinen elinikä vaihtelee minuuteista tunteihin. Isopreeni ei varastoidu kasveihin sen tuottamisen jälkeen, vaan se haihtuu nopeasti. (Kesselmeier & Staudt 1999.) *Tetranychus urticae* kehrääjäpunkin vioittamilta gerberoilta (*Gerbera jamesonii*) vapautui haihtuvista yhdisteistä eniten terpeenejä (noin 80 %) ja loput noin 20 % olivat aldehydejä, ketoneja, alkoholeja, estereitä sekä typpipitoisia yhdisteitä (Gols ym. 1999). (E)- β -farneseeni ja (E)-nerolidolin aineenvaihduntatuote (3E)-4,8-dimetyyli-1,3,7-nonatrieeni (DMNT) ovat huomattavia herbivorien indusoimia vapautuvia haihtuvia yhdisteitä (Dudareva ym. 2006).

Yleishaihtuvat yhdisteet ovat ensimmäisiä vioittuneesta solukosta vapautuvia haihtuvia yhdisteitä (Turlings ym. 1995; Farag & Paré 2002). On todisteita siitä, että yleishaihtuvat yhdisteet, kuten (Z)-3-heksenaali ja heksanaali, ovat biologisesti aktiivisia myös pienissä konsentraatioissa vapautuessaan kasveista. Tämän perusteella voidaankin päätellä että yleishaihtuvat yhdisteet kykenevät signaalinvälitykseen. Terpeenien, tyyppiä sisältävien yhdisteiden ja salisylihapon johdannaisten vapautuminen vaihtelee kasvilajien välillä. (Bate & Rothstein 1998.) Osa kasvien vapauttamista haihtuvista yhdisteistä on samoja kuin hyönteisten hormonit, kuten

juveniilihormoni (JH). Juveniilihormonia onkin käytetty hyönteisten torjunnassa estämään hyönteisten metamorfoosia. Kasveista on löydetty myös hyönteisten kuoren vaihtoon liittyvää hormonia, ekdysonia. Kasveissa on myös muita samankaltaisia yhdisteitä kuten ergosteroleja ja stigmasteroleja. Nämä voivat estää hyönteisiä käyttämästä kasvia ravintonaan. (Vickery & Vickery 1981; Slama 1987.)

Haihtuvat orgaaniset yhdisteet voidaan jaotella niiden synteesireitin (Feeny 1992) tai toimintatarkoituksen mukaan. Ne voivat toimia esimerkiksi houkutteina, stimulantteina, karkotteina, pelotteina tai inhibiittoreina (Städler 1992).

3.1 HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN SYNTETISOINTI, AKKUMULOINTI JA VAPAUTTAMINEN

Monet haihtuvat orgaaniset yhdisteet syntetisoidaan, akkumuloidaan ja vapautetaan nuorissa, kehittyvissä solukoissa kuten lehdissä (Vickery & Vickery 1981; Bennett & Wallsgrave 1994), tai lisääntymissolukoissa kuten kukissa ja siemenissä (Bennett & Wallsgrave 1994). Tämä voi johtua siitä, että niissä on usein korkein ravinnetaso ja vähemmän varastoituja puolustusyhdisteitä ja näin ollen herbivorit hyökkäävät niihin ensimmäiseksi (Edwards & Wratten 1987). Herbivorien hyökkäyksen aikaansaamien syntetisoinnin ja akkumuloinnin seurauksena nuorissa lehdissä onkin suurempia pitoisuuksia toksisia haihtuvia yhdisteitä kuin vanhoissa lehdissä. Haihtuvat orgaaniset yhdisteet tarjoavat nuorille solukoille suojaa ja niiden määrä ja tärkeys vähenee kun solukko ikääntyy. (Bennett & Wallsgrave 1994.) Herbivorien ruuansulatusta heikentäviä haihtuvia yhdisteitä on vähemmän nuorissa, nopeasti kasvavissa lehdissä ja enemmän täysikasvuisissa, vanhoissa lehdissä (Cates 1987). Yleishaihtuvien yhdisteiden biosynteesiin 18-hiilisestä rasvahapon prekursorista liittyy kaksi entsyymattista vaihetta joita katalysoivat lipoksygenaasi (LOX) ja hydroperoksidaasilyaasi (HPL) (Loughrin ym. 1994; Farag & Paré 2002). Monet nopeasti vapautuvista haihtuvista yhdisteistä muodostuvat lipoksygenaasi reittiä ja sisältävät (*Z*)-3-heksenaalia, (*E*)-2-heksenaalia ja isomeerisiä heksenyylibutyraatteja (Loughrin ym. 1994). Substraatista riippuen hydroperoksidi lyaasi (HPL) tuottaa taas joko (*Z*)-3-heksenaalia tai heksenaalia (Bate & Rothstein 1998; Farag & Paré 2002). Seuraavat yhdisteet taas syntetisoituvat *de novo* vasta tunteja vioituksen jälkeen: indoli, (*E*),(*E*)- β -farneseeni, linalooli, (*E*)- β -okimeeni, (*E*)-4,8-dimetyyli-1,3,7-nonatrieeni ja (*E*),(*E*)-4,8,12-trimetyyli-1,3,7,11-tridekatrieeni (Paré & Tumlinson 1997a).

Ne haihtuvat yhdisteet, joita vapautuu suurempia määriä päivällä ja jotka vapautuvat erityisesti vasteena hyönteisten aiheuttamalle vioitukselle, syntetisoituvat *de novo* eikä niitä varastoida kasviin (Paré ja Tumlinson 1997b). Haihtuvien yhdisteiden vapautuminen vioitetusta kasvista, mutta vioittumattomasta lehdestä on systeeminen vaste (Röse ym. 1996; Paré & Tumlinson 1999). Systeemiset haihtuvat yhdisteet syntetisoidaan sillä paikalla, jossa ne muodostuvat (Paré & Tumlinson 1999). Lipoksygenaasireitin (LOX) aktivoituminen vioittumattomissa lehdissä tarkoittaa, että systeeminen vaste voi lähettää tietoa vioittuneesta kohdasta kauempiin lehtiin ja laukaista siellä saman reitin jonka tuloksena signaaliryöppy aktivoi monia kasvin puolustusvasteita (Farmer & Ryan 1992).

Vioittumattomat kasvit sisältävät perustason haihtuvia metaboliitteja jotka vapautuvat lehden pinnasta ja/tai akkumuloiduvat erilaisiin varastoihin (Paré & Tumlinson 1999). Kasvin puolustusyhdisteet eivät siis ole kasvin pinnalla tai kasvisoluissa vapaana (Städler 1992; Paré & Tumlinson 1997a). Nämä varastot ovat erikoistuneita rakenteita (Paré & Tumlinson 1999),

kuten vakuoleja, tonoplasteja, pihkatiehyitä tai solukarvoja (Städler 1992; Paré & Tumlinson 1997a) ja niiden rakenne ja määrä riippuu niin yhdisteestä kuin kasvilajistakin (Paré & Tumlinson 1999; Peñuelas & Llusà 2001). Nämä kemialliset varastot sisältävät usein monoterpeenejä, seskviterpeenejä ja aromaattisia yhdisteitä (Paré & Tumlinson 1997a). Varasto tai sen puuttuminen vaikuttaa vastustuskyvyn leviämiseen eri haihtuvilla yhdisteillä. Tämä riippuu pääasiassa lehden anatomiasta: leviäminen on vähäisempää lehden sisäosissa kuin ulkoisissa. Niillä lajeilla jotka eivät varastoi haihtuvia yhdisteitä vastustuskyvyn leviäminen on vähäisempää. (Peñuelas & Llusà 2001.) Varastoidut haihtuvat orgaanisen yhdisteet ovat valosta riippumattomia, mutta indusoituvat haihtuvat orgaanisen yhdisteet ovat valosta riippuvaisia (Loughrin ym. 1997).

Haihtuvia yhdisteitä tulee syntetisoida järkevästi ja varastoida turvallisesti, koska lisääntynyt synteesi voi olla kallista ja mahdollisesti myrkyllistä kasville. Esimerkiksi terpeenien kohooneet määrät voivat toimia saasteina lisäten kasvin stressiä. Myös näiden fytokeemiallisten päästöjen metabolinen kustannus voi olla korkea. (Paré & Tumlinson 1999.) Etenkin terpeenit ovat kalliimpia tuottaa grammaa kohti kuin suurin osa muista primaarisista ja sekundaarisista metaboliiteista (Gershenzon 1994). Terpeenien akkumulaation väheneminen voi myös tehdä yksittäisen kasvin haavoittuvammaksi hyönteisten hyökkäyksille tai lämpötilastressille (Paré & Tumlinson 1999). Yleensä haihtuvien yhdisteiden biosynteesi tapahtuu epidermisoluissa kasvisolukossa, jotta ne pääsevät helposti vapautumaan ilmakehään (Scalliet ym. 2006). Kasvullisissa elimissä kasvien haihtuvat yhdisteet voidaan syntetisoida rauhastrikomien pinnalla (Pichersky ym. 2006) ja sitten erittää soluista ja varastoida pussiin joka on tehty kutikulan laajenemasta (Turner ym. 2000). Mono- ja seskviterpeenit syntetisoidaan sytosolissa, mutta synteessin jälkeen ne kuljetetaan pois solusta, sillä konsentroituneina ne voivat olla myrkyllisiä soluille. Siksi ne varastoidaan usein lehden pinnalla oleviin rakkuloihin tai solukarvoihin. (McCaskill & Croteau 1995.) Kaasut, jotka muodostuvat lehdissä, täytyy saada ilmakehään ilmarakojen läpi jos niitä ei voida diffusoida hydrofobisen kutikulan läpi (Kesselmeier & Staudt 1999). Seuraavaa reittiä on esitetty haihtuvien yhdisteiden kulkeutumisiksi synteesi-paikasta ilmakehään: 1) siirto solun sisään, 2) kuljetus plasmamembraanin ja soluseinän läpi, 3) siirtyminen kutikulan läpi ja 4) kutikulan pinnasta haihtuminen (Jetter 2006). Kun vioittumattomat vieressä olevat kasvit altistuvat vioittuneiden kasvien vapauttamille haihtuville yhdisteille, niissä olevien niiden geenien ilmeneminen, jotka säätelevät puolustusta, säädetään nousemaan (Arimura ym. 2000). Tämä voi osaltaan selittää sen tuntien viiveen herbivorien aiheuttaman vioituksen alkamisen ja indusoitujen haihtuvien yhdisteiden vapautuksen välillä (Paré & Tumlinson 1997a). Yleensä useampi biokemiallinen reitti on vastuussa haihtuvien yhdisteiden sekoituksen vapautumisesta (Dudareva ym. 2006).

3.2 HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN TEHTÄVÄT

Evoluution kuluessa kasvit ovat hyödyntäneet haihtuvien orgaanisten yhdisteiden päästöjä ja sen seurauksena parantaneet kilpailukykyään (Peñuelas & Llusà 2004). Haihtuvat orgaanisten yhdisteet voivat olla kasville selviytymisen kannalta elintärkeitä, kuten kukkien kirkkaan värin aiheuttavat yhdisteet, joiden avulla pölyttäjät löytävät kukan. Kasvista haihtuvat terpeenit ja fenoliset yhdisteet voivat estää kilpailevan kasvin siemenenmuodostumisen tai kasvun. Kasvien kyky tuottaa biologisesti aktiivisia yhdisteitä on niiden tärkein suoja niitä ravintonaan käyttäviä herbivorihyönteisiä sekä erilaisia taudinaiheuttajia vastaan. (Vickery & Vickery 1981; Bell 1987.)

Monet sekundaariset yhdisteet ovat fungisidejä tai antibiootteja, jotka suojaavat kasvia sienitai bakteeri-infektioilta. Toiset sekundaariset yhdisteet taas ovat toksiineja ja myrkyllisiä hyönteisille sekä eläimille. Herbivorit, eli kasvinsyöjät, ovat oppineet tunnistamaan niille myrkyllisiä ja haitallisia kasveja ja osa on sopeutunut kasvin myrkyllisiin yhdisteisiin ja pystyy käyttämään kasvia ravinnokseen. (Vickery & Vickery 1981.) Yhdisteet voivat myös estää herbivorien kasvinsyöntiä olematta kuitenkaan niille toksisia. Tällaisia aineita ovat esimerkiksi terpeenit, flavonoidit ja alkaloidit. (Bell 1987.) Jotkin haihtuvista orgaanisista yhdisteistä vapautuvat herbivorien hyökkäyksen aikana ja toimivat houkuttimena herbivorin luontaisille vihollisille (Turlings ym. 1990). Kasveista erittyy myös sellaisia haihtuvia yhdisteitä, jotka spesifisesti houkuttavat hyönteisiä ja stimuloivat herbivorien kasvinsyöntiä. Tällaisia yhdisteitä kutsutaan kairomoneiksi ja niitä ovat esimerkiksi kaalikasvien glukosinolaatit ja niiden haihtuvat hajoamistuotteet. (Bell 1987.) Tomaatilla (*Lycopersicon esculentum*) hyönteisten aiheuttama vioitus laukaisee haihtuvien yhdisteiden sekoituksen vapautumisen paikallisesti ja terpeenien vapautumisen systeemisesti (Farag & Paré 2002). Yleishaihtuvien yhdisteiden läsnäolo indusoi fenyylipropanoidiin liittyvien geenien ilmentymistä yhdessä vioituksen vasteen ja kasvin puolustuksen kanssa. Näin ollen yleishaihtuvien yhdisteiden rooli onkin ilmeisesti aktivoita matalan tason puolustusvasteet. (Bate & Rothstein 1998.) Jotkut haihtuvat orgaaniset yhdisteet, kuten metyylijasmonaatti, alkeenit, (*E*)-3-heksen-1-oli ja jotkin terpeenit, voivat toimia signaaleina saman kasvin eri osien välillä, kasvien välillä ja kasvien, eläinten ja mikroorganismien välillä (Farmer & Ryan 1990; Langenheim 1994; Shulaev ym. 1997; Peñuelas & Llusià 2001.) Muita mahdollisia haihtuvien yhdisteiden, kuten isopreenin ja terpeenien, tehtäviä ovat kasvin membraanien vakauttaminen ja suojeleminen korkeita lämpötiloja vastaan tai läheisten kasvien kukinnan muuttaminen (Loreto ym. 1998). Haihtuvat yhdisteet voivat myös tarjota lisääntymisetua houkuttamalla pölyttäjiä ja siementenlevittäjiä (Pichersky & Gershenzon 2002). Terpeenit voivat myös liittyä palopaikoille kasvavan kasvillisuuden kehittymiseen (Owens ym. 1998). Joillakin kasveilla haihtuvat orgaaniset yhdisteet toimivat vapautuessaan karkotteina, haavojen sulkijoina tai ei-polaarisina liuotteina niille korkean molekyyllipainon omaaville puolustusyhdisteille, jotka eivät muuten liukenisi (Pichersky & Gershenzon 2002). Monet haihtuvat yhdisteet ovat tärkeitä monien lääkeaineiden, hormonien ja steroidien esiasieita ja niitä käytetään myös teollisuudessa hajua- ja makuaineina. (Vickery & Vickery 1981.)

Kasvin vaste vioittumiseen vaatii oletettavasti vioittuneesta kohdasta lähtevän signaalin, sekä kasvin puolustuksen että korjausmekanismien indusointiin. Vioituksen tyyppi määrittää, välitetäänkö signaali kauemmille solukoille vai pysyykö puolustusvaste paikallisena. Kasvit ovat kehittäneet monia strategioita välittääkseen signaalia näistä erilaisista stresseistä. (Bate & Rothstein 1998.) Hyönteisten aiheuttama vioitus indusoi myös muita vastereittejä, sekä paikallisia että kauempia, jotka ovat spesifisiä hyönteisten aiheuttamalle vioitukselle (Farmer & Ryan 1990). Haihtuvat yhdisteet, jotka varoittavat kasveja solukkovaurioista ja muodostuvat haavautumiskohdassa ovat mahdollisia signaalimolekyylien lähteitä (Bate & Rothstein 1998).

3.3 HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN MUODOSTUMISEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT

Kasvien lehdissä tai varsissa oleva vioitus saa aikaan kasvien vapauttamien haihtuvien yhdisteiden määrän merkittävän kasvun (Dicke & Dijkman 2001). Hyönteisten vioittamat kasvit vapauttavat haihtuvia yhdisteitä jotka ovat selkeästi eroteltavissa muunlaisen vioituksen aikaansaamista haihtuvista yhdisteistä (Dicke 1999; Paré & Tumlinson 1999). Kemiallinen analyysi osoittaa haihtuvien yhdisteiden koostumuksen eroavan kasvilajien mukaan (Dicke 1999). Merkittäviä tekijöistä ovat kasvilaji, kasvin genotyyppi (Loughrin ym. 1995), viljelmä

(Takabayashi & Dicke 1996, Dicke ym. 1998), kasvin koko, vioittuneet kasvinosat, lehden ikä, kasvin kasvuolosuhteet, aika päivästä, herbivorilaji sekä herbivorin toukan kehitysvaihe (Cates 1987; Geervliet ym. 1997). Viljelmien välillä onkin havaittu eroja niiden haihtuvien yhdisteiden koostumuksessa ja houkuttelevuudessa (Loughrin ym. 1995). Suurinta haihtuvien yhdisteiden koostumuksen ja määrän vaihtelu on kahden kasvilajin välillä joita vioittaa sama herbivori ja pienintä saman lajin ja viljelmän kasvien välillä, joita vioittaa eri herbivorilaji (Takabayashi ym. 1994; Takabayashi & Dicke 1996; Dicke 1999). Toisin sanoen kasvi on tärkein yhdisteitä määrittävä tekijä (Geervliet ym. 1997). Näiden edellä mainittujen tekijöiden lisäksi myös ulkoiset stressitekijät, kuten kuivuus, lämpötila, lannoitus, hedelmöittyminen ja kilpailevien kasvien ilmestyminen sekä erilaiset ympäristöstressit, vaikuttavat kasvien primaari- ja sekundaariyhdisteiden muodostumiseen (Cates 1987; Städler 1992; Takabayashi ym. 1994). Esimerkiksi lämpötilalla voi olla merkittävää vaikutusta haihtuvien yhdisteiden vapautuvaan määrään (Röse ym. 1996). Joidenkin ainesosien vapautuminen on todennäköisimmin passiivinen seuraus niiden varastoiden, kuten vakuolien, vioittumisesta (Baldwin ym. 2002).

Vapautuvat haihtuvat yhdisteet yleensä indusoituvat elisitorien avulla ja nämä elisitorit voivat olla sekä kasvi ja/tai herbivorilajispesifisiä (Takabayashi ym. 1995; De Moraes ym. 1998; Dicke 1999) ja eri kasvilajit voivat reagoida erilaiseen elisiittoriin (Alborn ym. 1997). Herbivori siirtää syömisensä aikana kasville esimerkiksi sylkensä tai oksennuksensa mukana valikoiman elisitoreita, kuten hajottavia entsyymejä (Mattiacci ym. 1995) tai rasvahappoaminohappo konjukaatteja (FAC) (Alborn ym. 1997). Tämä elisitori on vuorovaikutuksessa plasmamembraanin reseptorien kanssa ja johtaa lipaasin aktivaatioon (Gols ym. 1999), jonka seurauksena linoleenihappo vapautuu ja muutetaan jasmonihapoksi oktadekanoidireitin avulla (Vick & Zimmerman 1984; Krumm ym. 1995; Farag & Paré 2002). Oktadekanoidireitillä on siis kasvin puolustuksessa herbivorien hyökkäystä vastaan tärkeä osa (Farmer & Ryan 1992). Jasmonihappo näyttää olevan osa yleistä kasvin puolustusmekanismia joka indusoituu herbivorin aiheuttaman vioituksen seurauksena, mutta monet seikat voivat muokata monimutkaista biosynteettisten reaktioiden kulkua tai indusoida muita reittejä (Gols ym. 1999). Jasmonihapon biosynteesin aktivaatio ei kuitenkaan yksin vastaa kaikista haavautumisen tai herbivorien indusoimista vasteista. Etyleeni ja salisyylihappo (SA) liittyvät myös signaaliryöppyihin. (Dudareva ym. 2006.) Herbivorien vahingonteko, mekaaninen vioitus ja kasvin altistuminen herbivorien indusoimille haihtuville yhdisteille voivat aktivoida myös etyleenin biosynteesin ja sen emission (Arimura ym. 2002).

Kasvien on hyödyllistä erottaa mekaaninen vioitus tuholaisten tai patogeenien aiheuttamasta vioituksesta sekä myös vioituksen aste, koska toistuva tai laaja vioitus on tulosta patogeenistä tai herbivoreista ja oletettavasti laukaisee täydentävän signaalinvälitysreitin. Yleishaihtuvien yhdisteiden vastereitin merkitys kasveille on siinä, että kasvien tarvitsee jopa pienessäkin vioituksessa aktivoida puolustuksensa suojellakseen itseään opportunistisilta infektiolta vioittuneessa kudoksessa ilman monia normaaleja fysikaalisia puolustusmekanismeja. (Bate & Rothstein 1998.)

3.4 TERPEENIT

Terpeenit ovat kirjava, laajalle levinnyt ja erittäin suuri ryhmä yhdisteitä, jotka ovat peräisin mevalonaatin biosynteesistä (Dey & Harborne 1991). Terpeenit ovat rasvaliukoisia isopreno-idi-johdannaisia eli 2-metyyli-1-butadieenin polymeroitumistuotteita (Dey & Harborne 1991;

Keskitalo ym. 2001) ja ne muodostuvat toisiinsa liittyneistä viiden hiiliatomin muodostamasta 2-metyyli-*isopentenyl*- eli isopreeniyksiköstä (Keskitalo ym. 2001) eli C₅-yksiköistä ja niiden yleiskaava on (C₅H₈)_n. Monoterpeeneissä on 10 C₅-yksikköä ja seskviterpeeneissä on 15 C₅-yksikköä. Terpeenejä on yleensä tavattu korkeammista kasveista, sammalista, levistä ja naivoista. (Dey & Harborne 1991.) Kasveissa tavattuja terpeenejä tunnetaan yli 22 000 erilaista yhdistettä (McGarvey & Croteau 1995). Kasvien terpeenit käsittävät rakenteellisesti hyvin monenlaisia yhdisteitä ja ne voidaan jakaa primäärisiin ja sekundäärisiin aineenvaihduntatuotteisiin. Primäärisiin terpeeneihin luokitellaan muun muassa sterolit, karotenoidit ja useat kasvihormonit. Niitä esiintyy pääsääntöisesti kaikissa kasveissa. Sen sijaan sekundääristen terpeniyhdisteiden, kuten mono- ja seskviterpeenien, esiintyminen saattaa olla rajoittunut tiettyihin heimoihin, sukuihin tai jopa lajikkeisiin. (Chappel 1995.) Monilla kasvien terpeeneillä kuten steroleilla, karotenoideilla ja gibberelliineillä, on hyvin tunnettuja tehtäviä kasvien kasvussa ja kehityksessä. Seskviterpeni (*E*)-β-karyofylleeni esiintyy kasvikunnassa hyvin laajalti. (Chen ym. 2003.) Arvellaan että haihtuvien öljyjen (mono- ja seskviterpeenien) pitoisuus ja aromikkuus ovat Suomessa kasvavissa kasveissa suurempia kuin etelässä viljellyissä kasveissa (Linnala & Keskitalo 2001).

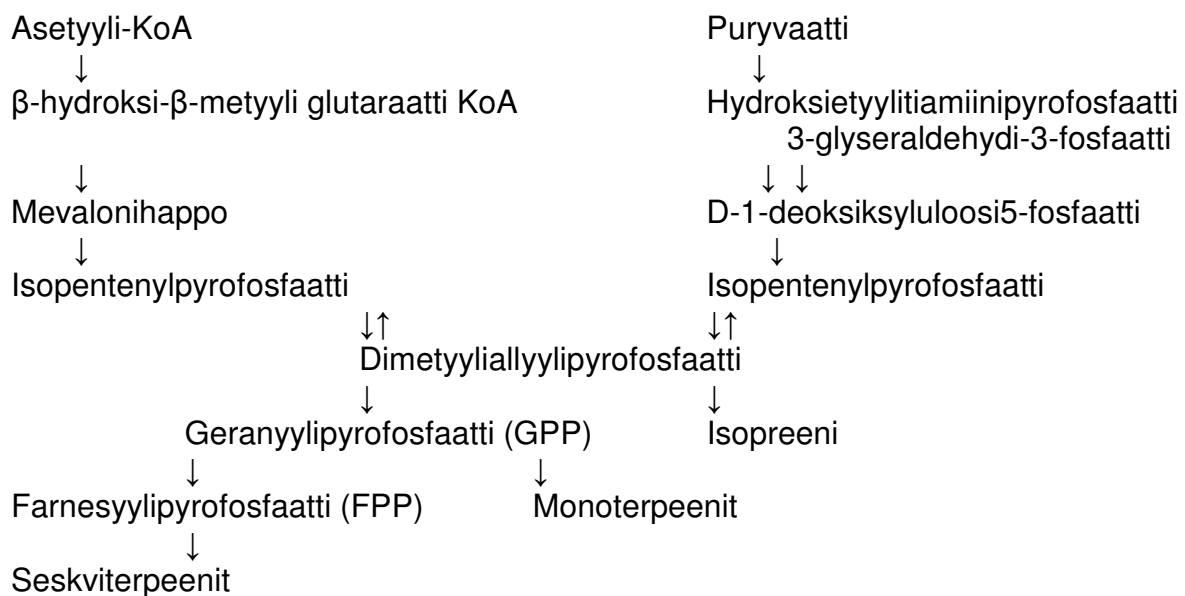
Viiden hiilen yksiköt muodostavat seuraavat terpeenien ryhmät: C₁₀ mono-, C₁₅ seskvi-, C₂₀ di-, C₃₀ tri-, C₄₀ tetra- ja C > 40 polyterpeenit. Mono- ja seskviterpeenit ovat eteerisiä öljyjä ja ne ovat haihtuvia, mutta di- ja triterpeenit eivät ole. (Langenheim 1994.) Diterpenoideja löydetty korkeammista kasveista ja sienistä. Triterpenoidit voidaan jakaa kahteen luokkaan: tetrasyklisiin yhdisteisiin, joissa on neljä rengas ja pentasyklisiin yhdisteisiin, joissa on viisirengas. Kasveissa pentasykliset triterpenoidit esiintyvät glukosideissa. (Vickery & Vickery 1981.) Monoterpeeneillä voi olla monenlaisia vaikutuksia kasvin ympäristöön, kuten kasvien puolustamista herbivoreja ja patogeenejä vastaan, allelopaattisia vaikutuksia, reaktiivisten kaasujen muodostamista ilmakehään, epäsuoria puolustusvaikutuksia sekä kasvien pölytykseen liittyviä vaikutuksia. Terpeenejä esiintyy niin nuorissa kuin vanhoissakin ruohokasveissa, pensaissa ja puissa. (Langenheim 1994.) Terpeenit sijaitsevat kasveissa kertyneenä soluseinän ja plasmalemmän väliin, öljypisaroina sytoplasmassa, vakuoleissa kasvin maitiaisnesteessä sekä eritesoluissa (Keskitalo ym. 2001).

3.4.1 Terpeenien biosynteesi

Kaikki terpeenit saavat alkunsa viiden hiilen muodostamista prekursoreista, isopentenyylidifosfaatista (IPP) ja sen allyyli-isomeeristä dimetylaalidifosfaatista (DMAPP), jotka tuotetaan kahta vaihtoehtoista reittiä (Dudareva ym. 2006) glykolyysin tai puruvaatin avulla (kuva 4) (Linnala & Keskitalo 2001). Mevalonaatti on pääasiallinen terpeenien ja steroidien prekursori eli isopentenyylidifosfaatin (IPP) esiaste (Vickery & Vickery 1981) ja se on johdettu asetyyli-koliini-Asta. Mevalonaatti fosforyloidaan katalyyttisesti ATP:lla ja mevalonaattihappokinaasilla. Mevalonaatin dekarboksylaatio ja dehydraatio isopentenyylipyrofosfaatiksi on pyrofosfomevalonaattidekarboksylaasin katalysoima. Isopentenyylipyrofosfaatti isomeroituu erittäin reaktiiviseksi dimetylaalipyrofosfaatiksi. Farnesyylipyrofosfaatti on seskviterpeenien prekursori ja sen biosynteesi alkaa isopentenyylipyrofosfaatin liittämistä geranyylipyrofosfaattiin. Geranyylipyrofosfaattia katalysoiva prenyylitransferaasi katalysoi myös farnesyyliderivaatin muodostumista. (Vickery & Vickery 1981.)

Sytosolissa tapahtuvan mevalonaattireitin (MVA) (Dicke & van Loon 2000) lisäksi terpeenejä syntetisoidaan plastideissa metyyli-erythritoli-fosfaattireitin (MEP) avulla, jossa pyruvaatista

ja glyseraldehydi-3-fosfaatista johdetaan isopentenyylidifosfaattia (IPP) (Lichtenthaler 1999). Vaikka solunalainen jako mevalonaatti- ja metyyli-erythritoli-fosfaattireittien välillä sallii niiden toimia itsenäisesti, niin aineenvaihdunnallinen ”keskustelu” niiden välillä on mahdollista ja sen välittäjänä toimivat erikoistuneet metaboliittikuljettajat (Bick & Lange 2003). Yleensä ”keskustelun” suunta on plastideista sytosoliin päin (Laule ym. 2003). Plastideissa dimetylaalidifosfaatti (DMAPP) muodostuu metyyli-erythritoli-fosfaattireitin avulla ja sitä käytetään isopreenisynteesissä (Miller ym. 2001) isopreenin muodostamiseen (Rodriguez-Consepción & Boronat 2002). Sytosolissa ja plastideissa IPP ja DMAPP käytetään prenyltransferaasissa prenyylidifosfaatin tuotantoon (Dudareva ym. 2006). Sytosolissa kahden IPP molekyylin ja yhden DMAPP molekyylin kondensaatiota katalysoi farnesyylipyrofosfaattisyntaasi-entsyymi (FPPS), jonka tuloksena muodostuu farnesyylidifosfaattia (FPP) joka on seskviterpeenien luontainen prekursori (McGarvey & Croteau 1995). Plastideissa ylhäältä alas tapahtuva yhden IPP molekyylin ja yhden DMAPP molekyylin kondensaatiota katalysoi geranyylipyrofosfaattisyntaasi (GPPS), ja siitä muodostuu geranyylidifosfaattia (GPP) joka on yleinen kaikkien monoterpeenien prekursori (Ogura & Koyama 1998). Asyklisen prekursoreiden geranyylidifosfaatin (GPP), farnesyylidifosfaatin (FPP) ja glukoosi-6-fosfaatin (GGPP) muodostumisen jälkeen tuotetaan suuri määrä rakenteellisesti erilaisia syklisiä ja asyklisiä mono- ja seskviterpeenejä terpeenisyntaasi sekä -syklaasi entsyymien (TPS) avulla (Dudareva ym. 2006). Eräs näiden entsyymien merkittävä ominaisuus on niiden taipumus tehdä monia tuotteita yhdestä prenyylidifosfaattisubstraatista (Martin ym. 2004). Monoterpeenit muodostuksessa mevalonaatista muodostuu isopentenyylipyrofosfaattia ja 3,3-dimetylaalipyrofosfaattia ja ne kondensoituvat edelleen geranyylipyrofosfaatiksi, josta muodostuu monoterpeenejä. Seskviterpeenien muodostuksessa reitin alku on samanlainen, mutta geranyylipyrofosfaatista muodostuu vielä isopentenyylipyrofosfaatin liittyessä siihen edelleen 2E,6E – farnesyylipyrofosfaattia, josta seskviterpeenit muodostuvat. (Dey & Harborne 1991.) Monoterpeenit ilmeisesti tuotetaan MEP biosynteesireitin avulla ja seskviterpeenit ilmeisesti sekä MVA että MEP reittien avulla (Dicke & van Loon 2000). Kaikki terpeenisyntaasit eivät muodosta monia tuotteita (Dudareva ym. 2006).



Kuva 4. Isoprenoidien muodostumisen merkittävimmät reaktiovaiheet kasveilla (alkuperäinen kuva: Kesselmeier & Staudt 1999).

3.4.2 Monoterpeenit

Monoterpeenit ovat yksinkertaisimpia isoprenoideja, suurin osa monoterpeeneistä on rakentunut kahdesta isopreeniyksiköstä, mutta niissä on myös pyraani- ja furaanirenkaista muodostuneita monoterpeenejä. (Dey & Harborne 1991.) Monoterpeenit voidaan rakenteensa perusteella jaotella avoketjuisiin sekä yksi tai kaksi rengasta sisältäviin molekyyleihin, joihin on tavallisesti liittynyt hydroksyyli-, okso-, aldehydi-, karboksyyli- tai esteriryhmä (Keskitalo ym. 2001).

Monoterpeenien ensisijainen tehtävä liittyy ilmeisimmin kasvin puolustautumiseen (Rowell-Rahier & Pasteels 1992). Haihtuvien monoterpeenien muita tehtäviä ovat esimerkiksi hyönteispölyttäjien houkuttelu kasviin sekä tunkeutujien torjunta. Ne kasvit, jotka sisältävät suurimääräisiä monoterpeenejä, eivät houkuttele herbivoreja. (Vickery & Vickery 1981.) Kasvisoluissa monoterpeenit ovat sytotoksisia: ne aiheuttavat mitokondrioiden ja golgin laitteiden määrän dramaattista vähenemistä, haittaavat respiraatiota sekä fotosynteesiä ja vähentävät soluseinän läpäisevyyttä. Tämän toksisuutensa takia monoterpeeneillä, kuten sineolilla, on tärkeä osa korkeampien kasvien allelopatiassa. (Vickery & Vickery 1981; Dey & Harborne 1991.) Monoterpeenit voivat olla myös yleisesti merkittäviä herbisidien lähteitä. Kasvien ja hyönteisten sekä eläinten välinen vuorovaikutus voi olla myös monoterpeenien välillisesti aikaansaamaa. Esimerkiksi korkea linaloolipitoisuus sitruhedelmien kuoressa toimii resistenssinä *Anastrepha suspensa* – hedelmäkärpäsen hyökkäyksiä vastaan. Monoterpeeneillä on myös huomattava ja monimutkainen rooli hyönteisten suojamekanismeissa. Niitä onkin käytetty hyönteiskarkotteiden kaupallisissa sovelluksissa ja niiden kehittämisessä. Monilla monoterpeeneillä on myös antimikrobisia ominaisuuksia, joita on hyödynnetty farmasiassa. (Dey & Harborne 1991.)

3.4.3 Seskviterpeenit

Seskviterpeenit ovat terpeenien laajin alaluokka ja niihin kuuluu useita tuhansia yhdisteitä (Keskitalo ym. 2001). Niiden perusrakenteessa on kolme isopreeni-yksikköä (Dey & Harborne 1991). Seskviterpeeneissä tunnetaan rakenteellisesti ainakin 200 erilaista runkoa ja ne voivat olla avoketjuisia tai syklisiä hiilivetyjä, alkoholeja tai ketoneita. Seskviterpeenejä on myös haihtuvissa öljyissä, mutta ne ovat huomommin haihtuvia kuin monoterpeenit. (Keskitalo ym. 2001.)

Myös seskviterpeenien tehtävät liittyvät kasvin puolustautumiseen (Rowell-Rahier & Pasteels 1992). Jotkin seskviterpeenit estävät hyönteisiä ja eläimiä syömästä kasvia. Seskviterpeeneistä fytoaleksiinit ovat kasveissa muodostuvia antimikrobisia aineita, jotka aiheuttavat vasteen sienten, bakteerien tai virusten hyökätessä kasviin. Myös UV-säteily ja lämpötilashokki voivat laukaista tämän vasteen. Osalla seskviterpeeneistä, kuten monoterpeeneilläkin, on toksisia ja antimikrobisia vaikutuksia ja näitä on hyödynnetty lääketieteessä. Tärkein kasvien kasvua säätelevä seskviterpeeni on abskisiinihappo. (Dey & Harborne 1991.)

3.5 YLEISHAIHTUVAT YHDISTEET

Yleishaihtuvia yhdisteitä (GLV = Green Leaves Volatiles,) vapautuu vihreistä kasveista mekaanisen tai biologisen, kuten herbivorien aiheuttaman, vioituksen seurauksena kun kasvin solukalvot rikkoontuvat (Paré & Tumlinson 1999; Arimura ym. 2001). Yleishaihtuvat yhdisteet ovat kuusi- tai yhdeksänhiilisiä yhdisteitä ja niihin kuuluvat muun muassa aldehydit (*E*)-2-heksenaali, heksanaali ja (*Z*)-3-heksenaali, sekä niitä vastaavat alkoholit sekä estereitä (Bate & Rothstein 1998; Kesselmeier & Staudt 1999). Yleishaihtuvat yhdisteet tuoksuvat kasveista vapautuessaan vastaleikatulta nurmikolta (Sharkey 1996) ja ne ovat helposti hajoavia yhdisteitä (Paré & Tumlinson 1999). (*Z*)-3-heksenoli, ja (*Z*)-3-heksenylyliasettaatti ovat yleisimmät kasvien vapauttamista yleisistä haihtuvista yhdisteistä ja muodostavat suurimman osan kasvien kokonaisuudesta (Paré & Tumlinson 1999). Näiden lisäksi (*E*)-2-heksenaali ja metyylijasmonaatti muodostavat myös suuren osan kasvien haihtuvista yhdisteistä (Dudareva ym. 2006). Yleishaihtuvat yhdisteet ovat tärkeitä signaalimolekyylejä kasvien välisessä vuorovaikutuksessa. Kun niitä vapautuu vihreistä kasveista herbivorien aiheuttaman mekaanisen vioituksen seurauksena, ne liittyvät mahdollisesti sekä kasvien sisäiseen että kasvien väliseen vuorovaikutukseen. (Yan & Wang 2006.) Esimerkiksi (*Z*)-3-heksenoli, (*E*)-2-heksenaali ja (*Z*)-3-heksenylyliasettaatti indusoivat puolustusgeenien ilmenemistä voittamattomilla kasveilla. Puolustusgeenien ilmentyminen vastaanottavissa lehdissä on kalsiumin soluihin sisään virtauksen, proteiinien fosforylaation ja defosforylaation välittämää ja kasvien puolustusreaktiot, jotka indusoituvat tiettyjen spesifisten signaalireittien kautta, voivat vaikuttaa herbivorin fysiologiaan negatiivisesti. (Arimura ym. 2000.) Koska yleishaihtuvia yhdisteitä haihtuu voittamattomista limanpavuista vain hyvin pieniä määriä (Arimura ym. 2000), voivat ne toimia nopeana vasteena kasvien välisessä ilmajälitteisessä mekaanisen vioituksen signaalin välityksessä. Kasvien signaalien vastaanotto voi olla riippuvainen aukinaisista ilmaraoista tai vain suorasta diffuusiosta ei-polaarisen vahapinnan läpi. (*Z*)-3-heksenylyliasettaatti on tehokas houkute monille herbivorien luontaisille vihollisille, myös loiseliöille. (Yan & Wang 2006.)

3.5.1 Yleishaihtuvien yhdisteiden biosynteesi

Yleishaihtuvat yhdisteet tuotetaan voittuneessa tai haavoittuneessa kasvisolukossa hydroperoksidaasi lyaasin (HPL) entsyymattisen aktiivisuuden tuotteena (Bate & Rothstein 1998). Ensin pyruvaatista muodostuu asetyylikoentsyymi A:ta ja siitä malonyylikoentsyymi A:ta, josta muodostuu taas linoleenihappoa. Lipoksygenaasi-lyyaasi reitillä asetyylikoentsyymi A:sta ja rasvahapoista peroksidaation ja solukalvon rasvahappojen oksidatiivisen hajoamisen seurauksena muodostuu hydroperoksidaasi lyaasin avulla yleishaihtuvia yhdisteitä (Paré & Tumlinson 1999; Dudareva ym. 2006.)

3.6 AROMAATTISET YHDISTEET

3.6.1 Metyylialisylaatti

Metyylialisylaattia (MeSa) muodostuu monissa kasveissa vioituksen seurauksena ja se syntetisoidaan salisyylilhaposta (Dicke ym. 1999). On mahdollista, että metyylialisylaatti toimii ilmajälitteisen signaalin välittäjänä kasvien välisessä vuorovaikutuksessa suurina konsentraa-

tioina. Onkin oletettu, että metyyllisalisylaatin tehtävä ilmavälitteisen signaalin välityksessä on aktivoida tautien vastainen resistanssi ja puolustusgeenien ilmeneminen viereisissä kasveissa. (Shulaev ym. 1997.) Jotkin puolustusgeenit aktivoituvat etyleenin avulla (O'Donnell ym. 1996), ja sen on myös oletettu olevan yksi ehdokas kasvien välisen ilmavälitteisen signaalin välitykseen (Arimura ym. 2001).

Metyyllisalisylaatti on tunnistettu eri herbivorien indusoimista kasvien haihtuvista yhdisteistä ainakin 10 kasvilajilta, kuten limanpavulta (*Phaseolus lunatus*) (Ozawa ym. 2000), tomaatilta (*Lycopersicon esculentum*) (Dicke ym. 1998), kurkulta (*Cucumis sativus*) (Agrawal ym. 2002), kaalilta (*Brassica oleracea*) (Geervliet ym. 1997), päärynältä (*Pyrus communis*) (Scutareanu ym. 1997), humalalta (*Humulus lupulus*) (Campbell ym. 1993), perunalta (*Solanum tuberosum*) (Bolter ym. 1997), tupakalta (*Nicotiana attenuata*) (Kessler & Baldwin 2001) ja lootukselta (*Lotus japonicus*) (Ozawa ym. 2000). Viruksilla käsitellyllä tupakalla metyyllisalisylaatin emission on ehdotettu olevan se mekanismi, jolla kasvi hävittää indusoitunutta salisyylihappoa (Shulaev ym. 1997).

4 TOISEN JA KOLMANNEN TROFIATASON HYÖNTEISTEN VUOROVAIKUTUS KASVIEN KANSSA

4.1 TOISEN TROFIATASON VUOROVAIKUTUS

Spesialistihyönteisten, tiettyä kasvia ravinnokseen käyttävien hyönteisten, isäntäkasvin valinta tapahtuu pääasiassa erilaisten ärsykkeiden, kuten haihtuvien yhdisteiden, avulla. Generalistit, yleisherbivorit, taas valitsevat isäntäkasvinsa pääasiassa välttelemällä niitä kasveja, jotka sisältävät erilaisia karkotteita tai jotka ovat pahanmakuisia. (Feeny 1992.) Kasvin ja hyönteisen vuorovaikutukseen vaikuttavia seikkoja ovat esimerkiksi kasvin alueellinen levinneisyys, sen itämis- ja kukkimisajankohta sekä kilpailevat kasvilajit. Myös yksittäisen kasvin rakenteelliset ominaisuudet, kuten lehtien muoto, väri, pinnan rakenne, koko, karvaisuus ja sijoittuminen kasvin varteeseen, voivat vaikuttaa siihen, pystyykö hyönteinen käyttämään kasvia ravinnokseen tai laskemaan siihen munansa. (Southwood 1987; Städler 1992.) Lisäksi kasvin kasvuympäristö vaikuttaa hyönteisen ruuan etsimiskäyttäytymiseen: esimerkiksi sekä valon määrällä että laadulla ja maaperän ravinteilla on vaikutusta. Näiden lisäksi myös hyönteisen kehitysvaihe vaikuttaa sen ravinnon tarpeeseen sekä sen käytökseen ravinnon hankkimiseksi. Hyönteiset reagoivat eri ärsykkeisiin silloin kun ne etsivät itselleen ruokaa tai etsiessään sopivaa laskupaikkaa kehittyville munilleen. (Städler 1992.) Isäntäkasveja etsivät yleensä naarashyönteiset, mutta myös urokset ja toukat voivat havaita kasvien haihtuvia yhdisteitä (Visser 1986). Monet sukukypsät naarashyönteiset etsivät kasveista tiettyjä ravintoaineita, kuten hiilihydraatteja ja proteiineja, joita ne tarvitsevat muniensa kehittymiseen (Städler 1992; Karban & Agrawal 2002). Laskupaikalla tulisi olla myös kehittyville toukille sopivaa ruokaa (Städler 1992), koska monet herbivorien toukat eivät voi liikkua kauas kehityksensä aikana (Karban & Agrawal 2002).

Hyönteisten käytösvasteet aiheutuvat niiden keskushermostossaan (NCS) käsittelemistä hermostollisista tiedoista (Feeny 1992). Näitä tietoja hyönteisille välittävät kasvin erittämät monenlaiset, sekä haihtuvat että haihtumattomat, kemialliset yhdisteet sekä niiden yhdistelmät (Visser 1986; Norlund 1987; Feeny 1992; Turlings ym. 1995). Herbivorien ravinnokseen käyttämän isäntäkasvin määrä vaihtelee alueittain, sillä herbivorien ja niiden luontaisten vihollisten levinneisyys on epätasaista (Stenberg ym. 2007). Koska kasvit kasvavat yleensä laikkuina muiden samaa ja eri lajia olevien kasvien ympäröiminä, tulevat isäntäkasville spesifiset ärsykkeet näiltä laikuilta voimakkaampina. Laikun valloitukseen voi sen koon lisäksi vaikuttaa voimakkaasti myös sen raja. (Städler 1992.) Monilla kasvilajeilla kasvin käyttö herbivorien ravintona vähenee lehtien vahingoittuessa. Herbivorien vähenemiseen voittuneessa kasvissa voivat vaikuttaa monet seikat, kuten se että hyönteiset vaihtavat ravintokasvia välttääkseen niitä saalistavia petoja, jotka suunnistavat herbivorien luo tarkkailemalla niiden jälkeensä jättämiä syöntijälkiä. (Edwards & Wratten 1987.) Myös kasvin lehtien fyysiset vauriot, jotka aiheuttavat monenlaisia muutoksia kasvin metaboliassa ja sen fysiologiassa (Wastermack & Parthier 1997), voivat vaikuttaa herbivorien vähenemiseen. Jotkin kasvissa tapahtuvista muutoksista johtuvat kasvien suorista solukkovaurioista ja toiset ovat osa kasvin korjausprosessia. On myös mahdollista, että vioitus kasvin lehdistä aiheuttaa kasvin kudoksissa veden vähenemistä ja herbivorit siksi lakkaavat syömästä niitä. (Edwards & Wratten 1987.) On myös todisteita siitä, että maanpäällisten osien herbivoria johtaa muutoksiin kasvin juurissa, joka vaikuttaa kasvin ja herbivorin vuorovaikutukseen (Moran & Whitham 1990). Kasville kokemus herbivoriasta on tärkeä: aiempi tai nykyinen herbivoria on kasville selvin vihje tulevasta herbivoriasta. Aiempi vioitus tarjoaa tietoa riskistä, jonka kasvi voi kohdata monia kuu-

kausia tai viikkoja myöhemmin. Sen perusteella kasvi voi valita sopivan puolustuskeinon herbivoreja vastaan. (Karban ym. 1999.)

Herbivorien määrän sekä niiden aiheuttaman voinituksen vähenemiseen voinittuneessa kasvissa voivat vaikuttaa myös kasvin puolustuksen aktivoituminen ja kasvit voivatkin vastata monin eritavoin herbivorien aiheuttamaan voinitukseen (Gols ym. 1999; Farag & Paré 2002). Paikallisesti kasvien vasteet herbivorien voinitukseen vaihtelevat yhdestä lehdestä koko kasviin ja ajallisesti minuuteista koko kasvin kehitykseen. Paikallinen vaste voi rohkaista herbivoreja syömään samaa kasvia toisesta kohtaa, jolloin kasvin vaurio kyllä leviää, mutta vähenee paikallisesti. (Karban & Myers 1989; Baldwin & Preston 1999.) Kasvilla on kolme puolustuskeinoa herbivoreja vastaan: suora kemiallinen puolustus, epäsuora kemiallinen puolustus ja indusoitu puolustus (Kessler & Baldwin 2002). Suorassa kemiallisessa puolustuksessa kasvi tuottaa herbivoreille haitallisia tai myrkyllisiä yhdisteitä. Näitä haitallisia tai myrkyllisiä yhdisteitä voivat olla toksiset sekundaariset metaboliitit sekä puolustusproteiinit kuten proteaasi-inhibiittorit (PI) ja polyfenolioksidaasit (PPO) jotka vähentävät ravinteiden käytettävyyttä ja näin hidastavat herbivorien kasvua. (Turlings ym. 1990; Farmer & Ryan 1992; Blechert ym. 1995; Baldwin & Preston 1999.) Haitallisten tai myrkyllisten yhdisteiden lisäksi tai niiden sijasta kasvit voivat käyttää myös solujen sisältöjä syöviä herbivoreja vastaan hypersensitiivistä vastetta (HR), jossa kasvi tappaa omia solujaan ja näin herbivorin ravinnonlähde ehtyy. Suuremmissa mittakaavassa ne voivat käyttää sitä kuolettaakseen osia itsestään, jolloin se on tehokas puolustuskeino sitä kasvin osaa syövää herbivoria vastaan. (Baldwin & Preston 1999.) Monet kasvien fysiologiset ominaisuudet sekä niiden tuottamat kemialliset yhdisteet ovat siis myrkyllisiä herbivoreille tai vähentävät kasvin sulavuutta herbivorien ruuansulatuselimistössä. Herbivorit kuitenkin tuottavat syljessään entsyymejä, jotka minimoivat kasvin kemiallisen puolustuksen vaikutusta. Syljen entsyymit voivat myös vähentää kasvin indusoituvaa puolustusta siirtyessään kasviin voinituksen kautta syljessä. (Karban & Agrawal 2002.) Herbivorien tottuminen isäntäkasviin vaatii tottumisen sen ravinnepitoisuuteen, fysiologiseen ja kemialliseen vastustuskykyyn, sen petoihin ja loisiin, mikroilmastoon, fenologiaan, levinneisyyteen sekä muihin ekologisiin ominaisuuksiin (Feeny 1992). Kasvin suorat puolustusmenetelmät voivat kääntyä myös sitä itseään vastaan, koska sen erittämät toksiinit voivat esimerkiksi olla herbivorien käytettävissä niiden luontaisia vihollisia vastaan (Baldwin & Preston 1999): herbivorit voivat syödä myrkyllistä kasvia ja antaa vihollistensa ymmärtää niiden itsensä sisältävän myös toksiineja (Rowell-Rahier & Pasteels 1992). Jotkut kasvin suorat puolustusmenetelmät vaativat suuria voimavarojen panostuksia, jotka voitaisiin muuten käyttää esimerkiksi kasvuun tai siementen tuotantoon (van Dam & Baldwin 1998) ja näin ollen kasvin täytyy kohdentaa voimavaroja tarkasti vastustuskykyyn ja kilpailuun (Baldwin & Preston 1999). Tämän lisäksi vastustuskyvyn fysiologinen hinta, sen allokointokustannus ja sensitiivisyys herbivorien vastustuskykyä ja kestävyyttä (Mauricio ym. 1997) tai erilaisia luontaisia vihollisia (Rausher 1996) kohtaan voi johtaa merkittävään kelpoisuuden vähenemiseen (Baldwin & Preston 1999). Epäsuora kemiallinen puolustus tarkoittaa herbivorin luontaisten vihollisten houkuttelemista paikalle kasvin haihtuvien yhdisteiden avulla (Kessler & Baldwin 2002)

Indusoituvassa eli jonkin, esimerkiksi herbivorin aiheuttaman voinituksen, aikaansaamassa puolustuksessa on erotettavissa kolme pääasiallista signaalia muuttavaa reittiä: 1. oktadekanoidi reitti, jonka keskeinen yhdiste on jasmonihappo (JA) (Wasternack & Parthier 1997; Farag & Paré 2002), 2. fenolireitti, jonka keskeinen yhdiste on salisyylihappo ja 3. etyleenireitti (Dicke ym. 1999). Jasmonihappo, sen metyyliesteri, jotkin aminokonjugaatit, glukoosiesterit ja jasmonaatit, esiintyvät yleisesti kaikilla kasvilajeilla ja sisältävät suurimman osan stressin indusoimista geenien ilmentymisen signaaleista (Wasternack & Parthier 1997). Haihtuvien

yhdisteiden tuottamisen ja vapauttamisen laukaiseva, indusoiva, tekijä voi esimerkiksi olla herbivorien syljen erityys (Turlings ym. 1990). Leualliset sekä imukärsäiset herbivorit tuottavat suun eritteitä, jotka sisältävät sylkeä, ja jotka joutuessaan kosketuksiin vioittuneen kudoksen kanssa (Dicke & van Loon 2000) elisitoivat herbivorien indusoimaa haihtuvien yhdisteiden tuotantoa (Turlings ym. 1990; Loughrin ym. 1994; Mattiacci ym. 1995; Alborn ym. 1997). Herbivorien syljestä on tunnistettu kaksi elisitoria, jotka laukaisevat haihtuvien yhdisteiden tuotannon: maissin (*Zea mays*) herbivorilla kulkuyökkösen (*Spodoptera exiqua*) toukalla N-(17-hydrosyyliinolenoyyli)-L-glutamiini, eli volisitiini (Alborn ym. 1997) ja kaalin (*Brassica oleracea*) herbivorilla kaaliperhosen (*Pieris brassicae*) toukalla beta-glukosidaasi (Mattiacci ym. 1995). Nämä elisitorit aktivoivat ainakin kaksi erilaista biosynteesireittiä: isoprenoidi- ja tryptofaanireitit (Paré & Tumlinson 1997b).

Herbivorien vioituksen aikana tapahtuvat kemialliset muutokset kasvissa aiheuttavat viiveen monien haihtuvien yhdisteiden vapautumisessa (Paré & Tumlinson 1997b). Terpeenit, indoli ja metyyliisalisylaatti vapautuvat vioittuneesta kohdasta vasta tunteja herbivorien aiheuttaman vioituksen jälkeen (Dudareva ym. 2006). Kuitenkin monet keskeiset yleishaihtuvat yhdisteet vapautuvat välittömästi kasvin mekaanisen vioituksen jälkeen ja niiden määrä korreloi vioituksen määrän kanssa (Paré & Tumlinson 1997b) ja ne ovat tyypillisiä merkkejä vioituksesta (Hatanaka 1993). Eroavaisuudet kasvien vasteissa voivat olla tulosta erityyppisistä syömisen aiheuttamista vioituksista tai eroista herbivorien syljen erityksessä (McCloud & Baldwin 1997). Myös saman kasvilajin eri viljelmien vasteet herbivorin vioitukseen (Loughrin ym. 1995) sekä niiden vastustuskyky herbivoreja vastaan voivat myös vaihdella (Panda & Kush 1995). Vähentynyt syömisen aiheuttama vioitus voi vaikuttaa määrällisesti haihtuvien yhdisteiden tuotantoon (Gols ym. 1999). Lyhytaikaiset vasteet esiintyvät herbivorien hyökkäyksen aikana, jolloin hyökkäävät herbivoriyksilöt kokevat aiheuttamiensa muutosten seuraukset. Pitkäaikaiset vasteet taas esiintyvät hyökkäyksen jälkeen ja niiden vaikutus hyökkääviin herbivoriyksilöihin on vähäinen. Ne voivat kuitenkin vaikuttaa myöhemmin hyökkääviin herbivoriyksilöihin. (Karban & Myers 1989.)

Herbivorin ja kasvin välinen vuorovaikutus on esimerkki kasvin lähettämien signaalien vastaanottamisesta ja hyödyntämisestä (Bruin ym. 1995): herbivorien on kaukaa helpompi havaita toisten herbivorien jo vioittamat kasvit niiden vapauttamien haihtuvien yhdisteiden avulla. Nämä yhdisteet välittävät muun muassa tietoa ravintokasvin sijainnista ja sen indusoidusta puolustuksesta. Ne voivat myös ilmaista, että kasvin puolustus on herbivorien nujertama. Vihjeet voivat tulla siis myös kasveilta, jotka ovat jo heikentyneet ja siten sopivampia herbivorien ravinnoksi tai ravinteiltaan köyhtyneitä edellisten herbivorien jäljiltä. Herbivorien indusoimat haihtuvat yhdisteet kertovat joka tapauksessa syövästä herbivoreista, jotka voivat olla mahdollisia kilpailijoita. Ne kertovat myös siitä mahdollisuudesta, että alueella on jo niiden luontaisia vihollisia kasvin haihtuvien yhdisteiden paikalle houkuttelemina. On vaikeaa ennustaa houkuttelevatko vai torjuvatko kasvin haihtuvat yhdisteet herbivoreja. Suurin osa niistä kuitenkin houkuttelee. (Dicke & van Loon 2000.) Selitys voi olla se, että herbivorien on helpompi havaita muiden herbivorien indusoimat kasvien haihtuvat yhdisteet kuin vioittumattomien kasvien yhdisteet (Vet & Dicke 1992). Herbivorien vioittamien kasvien löytämisen ekologinen kustannus on herbivorille pienempi kuin se, että alueella on jo mahdollisesti sen luontaisia vihollisia (Dicke & van Loon 2000).

Tuulensuunnan muutokset kasvien välisiä signaaleja kuljettaneissa ilmavirroissa merkitsevät kasvien ajoittaisia altistumisia varoitussignaaleille, ja se voi aiheuttaa vastaanottavalle kasville puolustuksen jatkumisen yli varsinaisen herbivorialtistumisen. Kun vioittumattomat kasvit saavat signaalin puolustautua, on siitä hyötyä alun perin herbivorien hyökkäyksenkin koh-

teeksi joutuneelle kasville, sillä koko kasvipopulaation puolustautuessa tulee siitä yhtenäisenä herbivoreille ravinnoksi kelpaamaton. Siinä tapauksessa herbivorit voivat siirtyvät etsimään ruokaansa kauempaa. (Bruin ym. 1995.)

4.2 KOLMANNEN TROFIATASON VUOROVAIKUTUS

Kasvit toimivat aktiivisesti välittäjinä toisen ja kolmannen trofiatason välillä (Paré & Tumlinson 1997b). Vaikka herbivorien kasvu on toksiinien seurauksena hitaampaa, syö herbivori kasvia koko kehittymisensä ajan, ja näin ollen ei suora kemiallinen puolustus yksin paranna kasvin kestävyyttä (De Leo ym. 1998). Joten joidenkin suoran puolustuksen menetelmien oletetaan koordinoivan muita, epäsuoran puolustuksen keinoja (Takabayashi & Dicke 1996; Baldwin & Preston 1999). Epäsuorassa kemiallisessa puolustuksessa kasvit syntetisoivat (Turlings ym. 1990; Dicke ym. 2003) ja vapauttavat haihtuvia yhdisteitä ja houkuttelevat näin paikalle herbivorien luontaisia vihollisia, kontrolloimaan herbivorien populaation kokoa (Turlings ym. 1990; Vet & Dicke 1992; Takabayashi ym. 1994; Bruin ym. 1995; Turlings ym. 1995; Takabayashi & Dicke 1996; De Leo ym. 1998; De Moraes ym. 1998; Baldwin & Preston 1999; Dicke 1999; Dicke & Van Loon 2000; Farag & Paré 2002). Vapautuvien haihtuvien yhdisteiden signaalien puolustusarvo on niiden kolmannelle trofiatasolle saapuvassa informaatiossa (Takabayashi & Dicke 1996). Niitä on verrattu kykyyn puhua, koska ne välittävät tietoa kasvin kohtaaman hyökkäyksen tilasta (Dicke ym. 2003). On kuitenkin epätodennäköistä, että kasvien haihtuvat yhdisteet ovat olemassa vain herbivorien luontaisten vihollisten houkuttelemista varten, koska niillä on kasvin puolustuksessa muitakin käyttökohteita: ne yleensä liittyvät esimerkiksi myös herbivorin isäntäkasvin paikallistamiseen (Rowell-Rahier & Pasteels 1992).

Herbivorien aiheuttaman vioituksen aikaansaamien haihtuvien yhdisteiden koostumus on kemiallisesti monimuotoinen ja on vaikeaa selvittää mikä tai mitkä yhdisteet ovat oikeasti vastuussa herbivorien luontaisten vihollisten vastaanottamasta signaalista (Dudareva ym. 2006). Herbivorin aiheuttama koostumuksen vaihtelu on tärkeää sitä etsivälle luontaiselle viholliselle, koska se tarjoaa tietoa herbivorista ja sen sopivuudesta saaliiksi tai isännäksi (Vet & Dicke 1992; Alborn ym. 1997; Frey ym. 2000). Näin ollen suuri vaihtelu herbivorien aiheuttaman vioituksen aikaansaamissa haihtuvissa yhdisteissä, niiden pitoisuudessa sekä niiden koostumuksessa vähentää näiden kemikaalien merkittävyyttä, koska niiden välittämästä tiedosta tulee epäluotettavaa. (Geervliet ym. 1997; De Moraes ym. 1998.) Kemiallisten päästöjen rakenteellinen samankaltaisuus eri kasvilajeilla hyönteisten syönnin seurauksena ilmaisee, että yleisten biosynteesireittien aktivaatio on samanlainen isolla osalla kasviheimosta ja että niiden tuotteet ovat loisien ja petojen tunnistettavissa. Isäntää etsivien hyönteisten kyky tunnistaa kemialliset vihjeet ja erotella ne taustatuoksuista tarkoittaa sitä, että herbivorien vioittamat kasvit vapauttavat enemmän ja erilaisia haihtuvia yhdisteitä, jotka ovat selkeästi eroteltavissa muunlaisen vioituksen aikaansaamista haihtuvista yhdisteistä. (Tumlinson ym. 1993; De Moraes ym. 1998; Paré & Tumlinson 1999.)

Kasveilla voi olla joko positiivinen (Dicke & Sabelis 1988) tai negatiivinen (Rowell-Rahier & Pasteels 1992) vaikutus kolmanteen trofiatasoon, koska kasvit eivät pysty kontrolloimaan haihtuvien yhdisteidensä kulkeutumista ilmassa, eikä sitä miten niitä vastaanottavat kasvit tai eliöt niiden sisältämää tietoa käyttävät (Jones ym. 1993; Bruin ym. 1995; Takabayashi & Dicke 1996). Negatiivinen vaikutus on silloin, kun kasvit fyysisesti tarjoavat herbivoreille paikan suojassa niiden luontaisilta vihollisilta (Rowell-Rahier & Pasteels 1992), kun kasvi

houkuttelee haihtuvien yhdisteidensä avulla tehottomia petoja, jotka voivat jopa kilpailla tehokkaiden kolmannen trofiatason petojen kanssa, tai petojen petoja tai muita, kasvia ravinnokseen käyttäviä herbivoreja (Bruin ym. 1995; Takabayashi & Dicke 1996; Bolter ym. 1997; Baldwin & Preston 1999; Dicke & van Loon 2000). Loiselöt voivat myös kärsiä kasvin suoran kemiallisen puolustuksen toksisista yhdisteistä loisiessaan toukkiin jotka ovat saaneet myrkyä syödessään kasvia (Rowell-Rahier & Pasteels 1992). Positiivista vaikutus tietenkin on silloin, kun kasvi houkuttelee haihtuvilla yhdisteillään niin kolmannen trofiatason loisia ja saalistajia kuin pölyttäjiäkin (Vinson ym. 1987). Kasvin kestävyuden kannalta pedot muodostavat kaksi strategioiltaan hyvin erilaista ryhmää. Pedot, jotka syövät herbivorin heti sen löydettyään, vähentävät kasvin kokemaa vioitusta välittömästi ja merkittävästi. Tällä on varmasti suoraa merkitystä kasvin kestävyydelle. Loiselöt kuitenkin munivat herbivoriin, joka jatkaa kasvin käyttämistä ravintonaan edelleen, kunnes loisen toukka poistuessaan herbivorista tappaa sen. Tässä kasvin hyötyminen on vähäisempää. (Dicke & van Loon 2000.) Kuitenkin tutkimuksessa, jossa tutkittiin yksineläviä loisia kaksisiipisissä ja pistiäisissä, selvisi että loisitut isännät kuluttivat vähemmän ruokaa kuin loisimattomat (Harvey ym. 1999). Myös herbivorin ikä voi vaikuttaa sen aiheuttamaan vioitukseen kasvilla: *Pseudaletia separata* toukassa loisiva loispistiäinen loisiessaan kolmannen toukkavaiheen toukassa vähentää merkittävästi toukan lehden biomassan käyttöä, mutta kuudennen toukkavaiheen toukassa se ei enää vähennä (Takabayashi ym. 1995).

Isäntäeliön elinpiirin paikallistaminen on loiselöiden ja petojen ensimmäinen tehtävä (Norlund 1987). Pedot ja loiselöt ovatkin kehittäneet etsimisstrategioita saaliinsa löytämiseksi (Rowell-Rahier & Pasteels 1992; Venzon ym. 1999), koska isännän tai saaliin löytäminen sattumanvaraisesti on vähäistä (Paré & Tumlinson 1999). Monet loiselöt ovatkin erikoistuneet etsimään isäntäeliöitä vain tietyiltä elinaluilta. Luonnossa loiselöiä kohtaa useita erilaisia elinympäristöjä, joista sen pitää paikallistaa alue, jolla isäntäeliöt todennäköisimmin elävät. (Norlund 1987.) Loispistiäisten ja muiden loiselöiden etsimät pienet herbivorit ovat yleensä hyvin naamioituneita ja oleilevat lehtien alapinnoilla (Paré & Tumlinson 1999). Yleensä suurin rajoittava tekijä loisisessa on kuitenkin isäntäeliön populaation suuruus, eikä sopivan isäntäeliölajin löytäminen (Norlund 1987). Herbivorin elinalueen paikallistamiseen voivat liittyä monet erilaiset ärsykkeet, kuten kasvien ulkomuoto, korkeus ja väri, auringonvalon määrä (Norlund 1987) sekä kemialliset, näkö- ja kuulohavainnot, lämpötilan ja ilmankosteuden muutokset tai mekaanisia tekijät (Venzon ym. 1999). Kasvien ilmaan vapauttavat vihjeet, herbivorivioituksen indusoimat haihtuvat yhdisteet, ovat tärkeässä asemassa etsinnän alussa (Turlings ym. 1990; Rowell-Rahier & Pasteels 1992; Vet & Dicke 1992; Tumlinson ym. 1993) ja tärkeä vihje loiselölle on myös mahdollisen isäntäherbivorin itsensä erittämä tai jättämä jälki (Vet & Dicke 1992; Krips ym. 2001). Isännän etsiminen on vaikeampaa niille loispistiäisille joiden isäntähyönteiset syövät monia kasvilajeja, koska herbivorien aiheuttaman vioituksen seurauksena vapautuvat haihtuvat yhdisteet vaihtelevat silloin enemmän. (Rowell-Rahier & Pasteels 1992; Paré & Tumlinson 1999) ja näin ollen vioittuneen lehtialan kokonaisuus on kasville tärkeää vihollisten houkuttelemisessa (Krips ym. 2001). Sekä maissin (*Zea mays*) (Turlings ym. 1990) että puuvillan (*Gossypium hirsutum*) (McCall ym. 1994) taimet vapauttavat merkittävästi enemmän herbivorien vioituksen indusioimia haihtuvia yhdisteitä yön aikana, kuin heti vioituksen jälkeen. Kasvien lähettäessä signaaleja herbivorien luontaisille vihollisille haihtuvissa yhdisteissään, vapauttavat ne niitä suurempia määriä silloin kun luontaiset viholliset aktiivisesti etsivät isäntiä tai saaliita. (Loughrin ym. 1994.)

Myös petojen ja loiselöiden oppimisella on tärkeä rooli herbivorien löytämisessä (Geervliet ym. 1997). Kokemukset isäntäeliöstä nostavat loiselöiden vastaanottavuutta sen isäntäherbivorin aikaansaamille haihtuville yhdisteille (Paré & Tumlinson 1999) ja tällä on merkitystä varsin-

kin silloin kun isäntäeliöitä on kasvilla vähän (Vet & Dicke 1992; Geervliet ym. 1998). Kasvien luontaisista populaatioista löydetty geneettinen vaihtelu voikin heikentää haihtuvien yhdisteiden luotettavuutta signaaleina luontaisille vihollisille (Vet & Dicke 1992). Lisäksi kokemukset isäntäeliöstä voivat edistää sitä, että erottaako loiselio kaksi kasvilajia, joilla molemmilla on sen isäntäeliötä (Geervliet ym. 1998; Baldwin & Preston 1999) tai saman lajin kasvit joilla on eri herbivorilajia (Dicke 1999). Loiselion isännän etsimiseen vaikuttavat sen aiemmat palkitsevat ja ei-palkitsevat kokemukset (Vet ym. 1998; Dicke 1999). Varsinkin silloin kun hajujen lähteiden erot olivat pieniä, loispistiäiset erottivat ne paremmin sen jälkeen kun ne olivat kokeneet sekä palkitsevia että ei-palkitsevia kokemuksia (Dicke 1999). Haihtuvien yhdisteiden vapauttamisella herbivorien indusoimana on yleensä positiivinen vaikutus loiselioon: se parantaa loiselion kelpoisuutta kohottamalla sen ruuanetsinnän onnistumista ja tehokkuutta. Isäntäkasvin kemialliset ominaisuudet voivat myös vaikuttaa negatiivisesti loiselioiden kelpoisuuteen vähentämällä selviytymistä, munien kokoa, ruumiin kokoa ja/tai hedelmällisyyttä. Negatiiviset vaikutukset loispistiäisen kelpoisuuteen voivat olla suoria: kehittyvä loinen kohtaa kasvin toksiineja, tai epäsuoria: loisen kelpoisuus kärsii isännän koon tai ominaisuuksien takia. (Ode 2006.) Jotkin loiseliot voivat erottaa laadullisesti erilaiset haihtuvien yhdisteiden sekoitukset ja sen perusteella tunnistaa isäntäeliönsä ja kasvilajin (Takabayashi ym. 1995), kun taas määrälliset erot voivat olla niille merkityksetöntä kohinaa (Geervliet ym. 1997). On myös yhdisteitä, joita loispistiäisnaaras vapauttaa loisiessaan isäntäherbivoriin, ja nämä yhdisteet ovat tyypillisiä juuri sille tietylle isäntäherbivorille ja kertovat sen sijainnista (Paré & Tumlinson 1999).

Hyvin tutkittu esimerkki kolmannen trofiatason indusoidusta epäsuorasta puolustuksesta on limanpapu, sen herbivori kehrääjäpunkki (*Tetranychus urticae*) ja herbivorin luontainen vihollinen petopunkki (*Phytoseiulus persimilis*) (Frey ym. 2000; Arimura ym. 2002). Kehräjäpukkien syönti limanpavun lehdistä indusoi ne haihduttamaan erilaisia haihtuvia yhdisteitä, jotka houkuttelevat paikalle petopunkkeja (Takabayashi & Dicke 1996). Tämä haihtuvien yhdisteiden sekoitus indusoi myös altistetun kasvin tuulen alapuolella olevia kasveja houkuttelemaan petopunkkeja ja torjumaan kehrääjäpukkeja (Arimura ym. 2000). Kehräjäpukkin indusoimat pääasialliset haihtuvat yhdisteet ovat terpenoidit, metyyllisalisylaatti ja yleishaihtuvat C₆-yhdisteet (Dicke 1999). Toinen hyvä esimerkki ovat lituruohot (*Arabidopsis thaliana*) joita kaaliperhosen (*Pieris rapae*) toukat ovat vahingoittaneet. Ne houkuttelivat *Cotesia rubecula* loisen naaraita ja houkuttavuus korreloi suurempien metyyllisalisylaatin, myrseenin ja kahden nitriliin päästöjen kanssa (Van Poecke ym. 2001). Myös muita kemiallisesti välitetyjä kolmannen trofiatason vuorovaikutuksia on todistettu, esimerkiksi omenapuilla (*Malus*) (Takabayashi ym. 1991) sekä jo aiemmin mainituilla kurkulla (Takabayashi ym. 1994), puuvillalla sekä maissilla (Loughrin ym. 1994; De Moraes ym. 1998). Puuvillalla heti herbivorien aiheuttaman vioituksen jälkeen vapautui esimerkiksi (Z)-3-heksenaalia ja terpeenejä, ja vioituksen edetessä vapautui lisää terpeenejä, kuten linaloolia ja (E)-β-farneseenia. Puuvilla tuottaa siis herbivorien indusoimana terpeenejä, jotka houkuttelevat paikalle sen herbivorien luontaisia vihollisia. (Loughrin ym. 1994.) Laboratoriokokeissa on osoitettu, että metyyllisalisylaatti ja homoterpeeni 4,8,12-trimetyyli-1,3E,7E,11-tridekatetraeni [(E,E)-TMTT] voivat houkuttaa petopunkkeja (*Phytoseiulus persimilis*) (Ozawa ym. 2000; De Boer & Dicke 2004) ja petoludetta (*Anthocoris nemoralis*) (James 2003). Näiden lisäksi metyyllisalisylaatti houkuttelee myös *Chrysopa nigricornis*-verkkosiipistä (James 2003). Esimerkkinä elisitorista, volisitiini indusoi esimerkiksi viljakasvien vioittuneissa lehdistä haihtuvien yhdisteiden vapautumista houkuttamaan *Cotesia marginiventris* loispistiäisnaaraita, perhosentoukkien luontaisia vihollisia. Volisitiini onkin avainkomponentti kemiallisten signaalien ketjussa joka säätelee kolmannen trofiatason vuorovaikutuksia kasvien, herbivorien ja niiden luontaisten vihollisten välillä. (Alborn ym. 1997.)

Kasvien haihtuvat yhdisteet voivat toimia myös signaaleina viereisille, vioittumattomille kasveille aktivoimalla niiden puolustukseen liittyvät geenit (Farmer & Ryan 1990; Bruin ym. 1995; Shualey ym. 1997; Arimura ym. 2000) ja näin aiheuttaa niissä fysiologisia vasteita (Paré & Tumlinson 1999; Dicke & Bruin 2001). Kasvien signaalien välitystä viereisille kasveille kutsutaan allelopatiaksi (Bruin ym. 1995). Kasvien fyysikaalinen yhteys ei ole rajoittunut saman lajin kasveihin, ne voivat myös varoittaa lähistöllä olevia toisen lajin kilpailevia kasveja (Sabelis & de Jong 1988; Bruin ym. 1995). Kasvien välinen kommunikaatio tarjoaa välitöntä hyötyä molemmille osapuolille, lähettäjälle ja vastaanottajalle, kun kasvit ovat kyllin läheistä sukua keskenään (Bruin ym. 1995). Informaation siirtäminen kasvilta kasville riippuu ilmeisesti haihtuvan signaalin hajaantumisesta ja sen vaihdosta lähettäjän ja vastaanottajan välillä. Näin ollen se vaatii korkean konsentraation yhdisteille niiden vapautuessa tai niiden korkean akkumulaation altistumisen jälkeen. Kasvien täytyy kohdata se haaste, että jos signaalia kuljettavia haihtuvia yhdisteitä täytyy vapauttaa suuria määriä, täytyisi kasvin olla vastaanottamattomia vapauttavista kohdistaan, mutta samalla tehokkaasti vastaanottavia saadaksesen signaalin moninkertaisesti laimennetusta ilman seoksesta. (Baldwin ym. 2002.) Villiä tupakkaa on kasvatettu vioitetun marunan (*Artemisia tridentata*) kanssa ja tupakkakasveilla on todettu suurempia pitoisuuksia puolustusentsyymiä polyfenolioksidaasia ja vähemmän hyönteisvioletusta verrattuna kontrollikasveihin, jotka ovat kasvaneet vioittumattoman marunan kanssa (Karban ym. 2003). Myös limanpavulla on todistettu kasvien välistä vuorovaikutusta: Limanpavut indusoivat monien puolustukseen liittyvien geenien ilmentymistä altistuesaan toisen limanpavun kehrääjäpunkkien aiheuttaman violetuksen seurauksena vapauttamille haihtuville yhdisteille (Arimura ym. 2000).

5 AINEISTO JA MENETELMÄT

5.1 KASVIMATERIAALI JA KASVUOLOSUHTEET

Kokeessa käytettyjen mesiangervojen (*Filipendula ulmaria*) siemenet kerättiin Ruotsin saaristosta, Itämeren Pohjanlahdelta, läheltä Uumajaa. Keräyspaikat olivat Hörnefors, Kyllören (sijainti 19°47'E, 63°32'N ja keräyspäivä 25.2.2006) ja Sävar, Skeppsvik:n saaristo (sijainti 20°40'E, 63°47'N ja keräyspäivä 2.3.2003). Niitä kerättiin kustakin paikasta 1 – 14 kasvista. (J. Stenberg, henkilökohtainen tiedonanto 24.4.2006.)

Edellä mainituista siemenistä kylvö suoritettiin Kuopion yliopiston tutkimuspuutarhalla 29.5.2006. Taimet kouluttiin 5. – 14.6.2006 pieniin, 0,1 l potteihin. Isompiin (0,5 l) potteihin, taimet istutettiin 3.7.2006. Kasvualustana mesiangervoilla käytettiin B2 turvetta ja hiekkaa suhteessa 1:1. Kasveja lannoitettiin viikoittain alkaen kaksi viikkoa koulinnasta (0,1 % Kekkilän Taimisuperex). Kasvatuksen ajan kasvit olivat tutkimuspuutarhalla kasvihuoneessa, jossa lämpötila oli yöllä 18 °C ja päivällä 20 °C. Kosteuden minimiraja oli 60 % ja maksimiraja 80 %. Valaistus oli päällä klo 6.00 – 24.00.

Taimet siirrettiin kolmeen Kuopion yliopiston ekologisen ympäristötieteen laitoksen kasvatuskammioon (Bioklim 2600T Kryo-Service Oy, Helsinki, Finland), vähintään kahta vuorokautta ennen kokeita. Kaikissa kammioissa vallitsivat samat lämpötila-, kosteus- ja valolosuhteet. Suhteellinen kosteus kammioissa oli 22 – 23 %, lämpötila valojaksolla +22 °C ja pimeäajaksolla +19 °C ja valojakso 12 h valoa ja 12 h pimeää. Kuhunkin kolmesta kammioista sijoitettiin kuusi läpinäkyvää polyakryylimuovista häkkiä (32,5 × 59,8 × 32,5 cm), ja viiteen näistä sijoitettiin 12 kasvia ja yhteen 4 kasvia sekä 8 multapottia eli yhdessä kammiossa oli aina 64 kasvia ja 8 multapottia odottamassa kokeita. Kahdella sivulla häkkiä on harso, josta kosteus pääsee haihtumaan ja ilma kiertämään. Toisessa niistä on ”hiha”, jonka kautta kasvien ja hyönteisten ottaminen on mahdollista ilman että hyönteisiä karkaa. Häkin edessä on magneeteilla kiinni oleva isompi luukku, josta kasvien lisääminen ja häkin puhdistus tapahtuu. Taimista valittiin satunnaisesti kasveja kontrollikäsittelyyn ja hyönteisvioletuskäsittelyyn.

5.2 HYÖNTEISET

5.2.1 Mansikkanälvikäs *Galerucella tenella*

Kokeissa käytetyt mansikkanälvikkään (*Galerucella tenella*) toukat oli kerätty samoista saaristoista kuin mesiangervon siemenet, eli Kylörenistä ja Skeppsvik:n saaristosta. Toukkia säilytettiin pakasterasioissa pimeässä, ravintonaan mesiangervon lehtiä sekä Uumajassa, kuljetuksen aikana että Kuopiossa kokeiden aikana. Mansikkanälvikkään toukkia kerättiin kokeisiin lisää myös Kuopion yliopiston tutkimuspuutarhalla olevan koekentän läheisyydestä Savilahden rannalla olevilta mesiangervoilta kokeen toisen viikon aikana 10. – 14.7.2006.

Mansikkanälvikkään toukat siirrettiin koemesiangervojen lehdille 48 tuntia ennen haihtuvien yhdisteiden keräämistä. Siirtäminen tapahtui varovasti pensselillä vioittamatta lehden pintaa tai toukkaa. Kullekin mesiangervolle asetettiin 5 toukkaa, kukin toukka eri lehdelle. Jos kas-

vissa ei ollut tarpeeksi lehtiä, asetettiin suurimmalle lehdelle kaksi toukkaa. Kokeen alussa toukat olivat keskenään samansuuruisia, mutta kokeen edetessä jouduttiin käyttämään joitakin jo kokeessa olleita, talteen otettuja toukkia, jotka olivat ehtineet kasvaa jo suuremmiksi. Näitä suurempia toukkia kuitenkin laitettiin kokeessa käytettyihin mesiangervoihin vain 4, jotta niiden aiheuttaman vioituksen määrä pysyi lähes samana. Kun 48 h vioituksen alkamisesta oli kulunut, toukat siirrostettiin varovasti pensselillä pois kasveilta.

5.2.2 *Asecodes mento* – loispistiäinen

A. mento – loispistiäisellä on kaksi isäntää Skeppsvik:n saaristossa: mansikkanälvikäs *G. tenella*, joka käyttää ravintonaan mesiangervoa (*F. ulmaria*) sekä *Galerucella calvariensis*, joka käyttää ravintonaan rantakukkaa (*Lythrum salicaria*). Kokeissa käytetyt loispistiäiset oli kerätty samoista saaristoista kuin mesiangervon siemenet, eli Kylörenistä, Obbola-saaresta sekä Skeppsvik:n saaristosta. (J. Stenberg, henkilökohtainen tiedonanto 24.4.2006.) Ne oli säilytetty pakastusrasioissa keräyksen jälkeen ja kuljetuksen aikana.

Eri kantaa olevia loispistiäisiä pidettiin erillisissä häkeissä 30.6.2006 alkaen ylläkuvatuissa kasvatuskammiossa ja olosuhteissa. Siellä niillä oli mahdollisuus paritteluun. Yksittäisiä loispistiäisiä käytettiin kokeeseen vain kerran. Kokeissa käytettiin pääosin vain mesiangervolla elävää mansikkanälvikästä loisivaa *A. mento* – kantaa, mutta kokeiden loppuajana jouduttiin käyttämään myös yksilöitä rantakukkaa ravintonaan käyttävää *G. calvariensis* lajia loisivasta loispistiäiskannasta.

5.3 HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN KERÄYS

Haihtuvien yhdisteiden keräys mesiangervosta suoritettiin 3. – 14.7.2006 Kuopion yliopiston ekologisen ympäristötieteen laitoksen huoneessa numero 4111 Snellmania rakennuksessa. Huoneen tuuletusikkunat pidettiin suljettuina. Tyhjien eksikaattorien haihtuvat yhdisteet mitattiin uudelleen tarkastuksen vuoksi 22.8.2006 Kuopion yliopiston ekologisen ympäristötieteen laitoksen laboratoriossa numero 4141. Kaikkiaan kasveja käytettiin 128 kpl haihtuvien yhdisteiden keräämisessä: kummallakin kannalla 8 toistoa ja 4 kasvia per toisto, ja mukaan on laskettu vioitetut ja kontrollikasvit.

Lasiset eksikaattorit, joihin kasvit laitettiin keräystä varten, kuumennettiin uunissa (Termaks 2000) mahdollisten epäpuhtauksien poistamiseksi +120 °C tunnin ajan ja jäädytettiin huoneenlämpöiseksi ennen kuin kasvit laitettiin niiden sisään ja koe aloitettiin. Samoja eksikaattoreita käytettiin kokeessa vain kerran, jonka jälkeen ne kuumennettiin ennen seuraavaa koetta. Käytössä oli 4 samanlaista 22-litran eksikaattoria (Schott Duran, Mainz, Saksa). Halkaisijaltaan ne olivat 32 cm ja korkeudeltaan kannen kanssa on noin 42 cm. Kuhunkin eksikaattoriin asetettiin aina kerrallaan 4 kontrolli- tai hyönteisvioitettua kasvia. Mesiangervojen lehdet ja varret eivät koskettaneet eksikaattorin seinämiä tai kantta. Mahdolliset mullasta haihtuneet yhdisteet vähennettiin tuloksista pelkkien multapottien päästömittausten mukaisesti

Haihtuvien yhdisteiden keräyslaitteisto sisälsi eksikaattorit, niihin tulevan puhtaan suodatetun ilman putkistot, eksikaattoreista lähtevän ilman (josta haihtuvien yhdisteiden keräys) putkistot ja imupumpun. Putkistot olivat materiaaliltaan teflonia, jotta niistä ei haihtu mitään yhdistei-

tä. Liittimet olivat ruostumatonta terästä. Imupumpun merkki oli KNF Neuberger D-79112 Freiburg ja sen tyyppi oli N 022 AN.18. Laitteistoon tuleva ilma oli aktiivihiilisuodatettua ja otsonipoistettua (MnO_2 suodin) ilmaa, jonka virtaus oli säädetty $1,2 \text{ l min}^{-1}$ joka jaettiin kahteen eksikaattoriin $0,6 \text{ l min}^{-1}$ per eksikaattori. Eksikaattoreiden läpi virtaavasta ilmasta (jossa haihtuvat yhdisteet) imettiin $0,2 \text{ l min}^{-1}$ per eksikaattori näytekeräysputkien läpi, joihin kerättiin kasvien vapauttamat haihtuvat yhdisteet. Loppuilmä ($0,4 \text{ l min}^{-1}$ per eksikaattori) johdettiin Y-putken haaraan juoksutuskokeita varten. Putkissa olevat työntö- ja imuilmät kalibroitiin aina ennen keräysten ja juoksutusten aloittamista BUCK saippuakalibraattorilla (malli M-5, toiminta-alue $1 - 6\,000 \text{ ml min}^{-1}$). Kokeessa haihtuvat yhdisteet kerättiin Tenax-adsorbentilla (Tenax TA, Supelco) täytettyihin näyteputkiin (PERKIN-ELMER), jotka säilytettiin jääkaapissa. Myös ne putket, joihin näytteet oli kerätty, säilytettiin messinkikorkit päissään jääkaapissa kunnes ne vietiin kaasukromatografille analysoitaviksi.

Huoneessa oli päällä vain keinovaloa: kattovalot, kumpaakin eksikaattoria kohden olevat kaksi pöytälamppua ja juoksutuslaatikon päällä oleva pöytälamppu. Valonmäärä oli koko ajan sama. Pöytälamppujen merkki oli LIVAL (Shuttle plus) ja niiden maksimiteho $24\text{W } 230\text{V}$. Koetta aloitettaessa mesiangervot laitettiin eksikaattoreihin, neljä kasvia potteineen per eksikaattori, ja eksikaattorit suljettiin huolellisesti. Niiden päällä olevat pöytälamput sytytettiin. Mesiangervojen annettiin totuttautua näihin olosuhteisiin kymmenen minuuttia, jonka jälkeen haihtuvien yhdisteiden keräysputket, tenax-putket (2) ja Y-putki laitettiin paikoilleen. Keräysaika oli 60 minuuttia, jonka mittaaminen aloitettiin imun aikaan saavan moottorin käynnistyksestä.

5.4 HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN MÄÄRITYS KAASUKROMATOGRAFI- MASSASPEKTROMETRILLÄ (GC-MS)

Kaasukromatografi-massaspektrometrille (Hewlett-Packard GC type 6890, MSD 5973) vietiin tenax-hartsia sisältävät keräysputket useamman päivän keräyksestä kerrallaan. Ajoon laitettiin lisäksi standardiputket, joihin oli injektoitu tunnetut konsentraatiot kaupallisesti saatavia haihtuvia yhdisteitä, haihtuvien yhdisteiden määrän laskemista varten. Kokeessa käytettiin terpeenini, GLV ja (*E*)- β -karyofylleeni standardeja. Terpeenistandardi sisälsi α -pineeniä, sabineeniä, β -pineeniä+myrseeniä, (*Z*)-okimeeniä, limoneeniä, 1,8-sineolia, 1-kloori-oktaania, γ -terpineeniä, linaloolia, *E*-DMNT:tä, allo-okimeeniä, α -kopaeeniä, longifoleeniä, (*E*)- β -karyofylleeniä, aromadendriiniä, α -humuleeniä, δ -kadineeniä sekä karyofylleenioksidia. GLV-standardi sisälsi (*Z*)-3-hexen-1-ol+(*E*)-2-heksenaalia, 1-heksanolia, 1-okten-3-olia, (*Z*)-3-heksenyliasettaattia, 1-kloori-oktaania, nonanaalia, (*Z*)-3-heksenylibutyraattia, metyy-lisalisylaattia, (*Z*)-3-heksenyli-isovaleraattia sekä (*Z*)-3-heksenyylitiglaattia. Injektointi tehtiin juuri ennen kuin putket vietiin kaasukromatografille ajettaviksi. Jokaista standardia injektointiin $2 \mu\text{l}$ kahteen tenax-putkeen.

GC-MS oli varustettu automaattisella näytteensyöttäjällä ja termodesorptioyksiköllä (Perkin Elmer ATD400 Automatic Thermal Desorption System). Adsorbenttiin tarttuneet yhdisteet desorboitiin $250 \text{ }^\circ\text{C}$ 10 min, kryofokusoiitiin $-30 \text{ }^\circ\text{C}$ ja injektointiin kaasukromatografian HP-5-kapillaarikoloniin (pituus 50 m, filmin paksuus $0,33 \mu\text{m}$, sisähalkaisija $0,2 \text{ mm}$, J&W Scientific, USA). Ajo-ohjelma oli seuraavanlainen: uunin alkulämpötila oli minuutin ajan $+40 \text{ }^\circ\text{C}$, jonka jälkeen lämpötilaa nostettiin $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ $210 \text{ }^\circ\text{C}$:een ja edelleen $250 \text{ }^\circ\text{C}$:een $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ nopeudella. Heliumia käytettiin kantokaasuna. Tulokset tallentuivat omaan tiedostoonsa koneelle, josta ne voitiin siirtää tietokoneelle, jolla tulosten analysointi tehtiin MSD Chemstati-

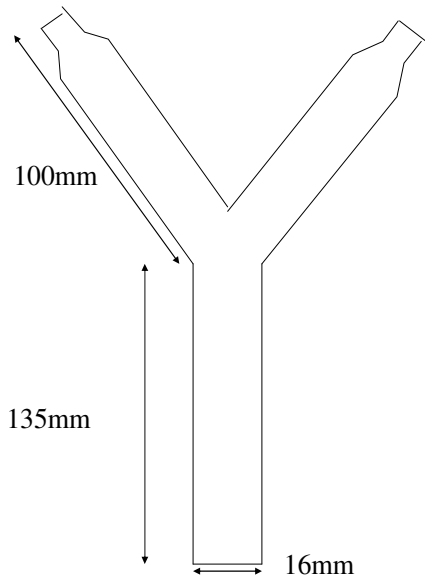
on – ohjelmalla. Standardin perusteella saatiin tarkat retentioajat kullekin yhdisteelle kussakin yksittäisessä ajossa. Näytteiden analyysissä tarkistettiin kaikkien standardissa olevien aineiden mahdollinen esiintyminen näytteessä ja pitoisuudet laskettiin vertaamalla yhdisteen piikin pinta-alaa standardin piikin pinta-alaan ja tunnettuun konsentraatioon. Muiden yhdisteiden tunnistamisessa verrattiin yhdisteen massaspektriä Wiley'n kirjastoon ja näiden yhdisteiden pitoisuudet määritettiin vastaavien, niitä rakenteeltaan muistuttavien standardiyhdisteiden avulla.

5.5 MESIANGERVOJEN KUIVAPAINOJEN MITTAAMINEN JA TULOSTEN LASKEMINEN

Kun mesiangervoista oli kerätty haihtuvat yhdisteet kasvit poistettiin eksikaattoreista, varret katkaistiin multapotin pinnalta ja kuivattiin lämpökaapissa (Termaks, +60 °C, 48 h). Varsien ja lehtien yhteinen kuivapaino punnittiin elektronisella vaa'alla (Sartorius analytic). Kuivapainoa käytettiin haihtuvien yhdisteiden määrän laskemiseen ng g^{-1} kasvien kuivapaino.

5.6 LOISPISTIÄISTEN SUUNNISTAUTUMINEN

Loispistiäisten käyttäytymiskokeet tehtiin samalla eksikaattorilaitteistolla, jolla haihtuvat yhdisteet kerättiin, ja kokeet suoritettiin samoilla kasveilla, joista kerättiin haihtuvat yhdisteet, yhtäaikaisesti keräyksen kanssa. Pistiäisiä testattiin 10 yksilöä samoilla kasveilla. Kaikkiaan 221 pistiäistä käytettiin testauksissa viitenä eri testauspäivänä. Jos kaikkia kymmenen loispistiäisen juoksutusta ei ehditty tehdä sen tunnin aikana, jonka tenax-putkiin kerättiin haihtuvia yhdisteitä, niin tunnin kuluttua tenax-putkien tilalle vaihdettiin käytetyt putket siksi aikaa, että juoksutukset saatiin tehtyä loppuun. Loispistiäisten kykyä suuntautua isännän voittamalle kasville verrattuna voittamattomaan kasviin testattiin ns. Y-putkiolfaktometrilla (Kuva 5). Y-putki oli lasia ja sen pituus on 20,5 cm: alaosan pituus on 13,5 cm ja sakaroiden pituus on 10 cm. Sakaroiden väli on yläosastaan 15 cm. Putken halkaisija on 1,6 cm. Y-putket kuumennettiin uunissa tunnin ajan +120 °C ja jäähdytettiin huoneenlämpöön joka aamu ennen kokeiden aloittamista. Y-putkeen liitettiin kaksi työntöputkea: toinen tuli kontrollikasveilta ja toinen voitetuilta kasveilta tulevasta eksikaattoreista. Näin haihtuvat yhdisteet kulkeutuivat Y-putkeen.



Kuva 5. Y-putkiolfaktometri.

A. mento - loispistiäiset totutettiin vioittumattomaan mesiangerveen tunnin ajan ennen kokeen aloittamista. Ne vapautettiin totutushäkkiin pienistä muovisista eppendorf-putkista, joihin ne oli kerätty niistä häkeistä, joissa niitä säilytettiin kammiossa. Loispistiäiset jaoteltiin sukupuolen mukaan ja kokeeseen valittiin vain naaraspuolisia loispistiäisiä, koska vain naaraat etsivät nälvikkäitä loisittaviksi. Kun tunti oli kulunut totuttamisessa, loispistiäiset kerättiin takaisin eppendorf-putkiin, joista ne vapautettiin sitten Y-putkeen.

Kutakin pistiäistä käytettiin kokeissa vain kerran. Yksittäinen loispistiäinen vapautettiin eppendorf-putkesta muoviseen asettimeen, josta se pääsi Y-putkeen. Kello käynnistettiin siinä vaiheessa, kun loispistiäinen siirtyi asettimesta Y-putkeen. Maksimiaika loispistiäisen suunnistautumiselle oli 5 minuuttia, ja jos se ei sinä aikana tehnyt valintaa, tulos oli ”ei-valintaa”. Valinnan rajana Y-putken sakarassa oli loispistiäisen ylittämä kuvitteellinen raja kohdassa $2/3$ haaran pituudesta ja sen pysyttelemisen siellä 5 sekunnin ajan. Kun tämä tuli täyteen, katsottiin kellosta aika, jolloin valinta tapahtui. Tämän jälkeen loispistiäinen poistettiin Y-putkesta ja Y-putkea käännettiin 180° , eli sakarat vaihtoivat ”puolia”. Näin saatiin poissuljettua se mahdollisuus, että seuraava loispistiäinen olisi seurannut aina edellisen hajupolkua tai merkkejä. Y-putki vaihdettiin noin joka kymmenennen juoksutuksen jälkeen puhtaaseen.

5.7 TULOSTEN TILASTOLLINEN KÄSITTELY

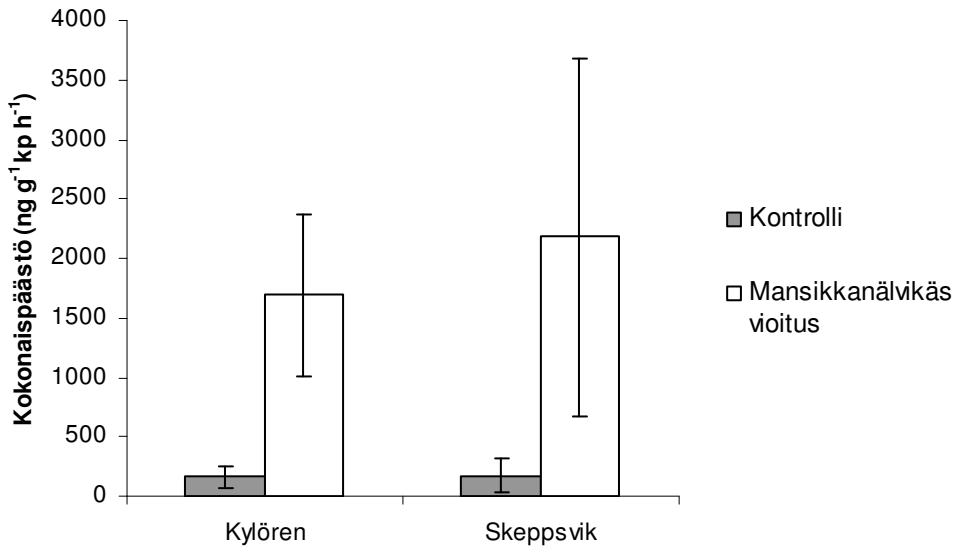
Tulosten tilastollinen käsittely tehtiin Windows for SPSS 14.0 – ohjelman avulla. Haihtuvista yhdisteistä testattiin tulosten normaalijakautuneisuus sekä varianssien homogeenisyys (Levenen testi). Tulokset poikkesivat monen yhdisteen kohdalla normaalijakaumasta, eivätkä varianssit olleet homogeenisiä, joten niille tehtiin logaritimuunnos ($\log(x+1)$) tai neliöjuurimuunnos (sqrt). Niille muuttujille, jotka tämän jälkeen noudattivat normaalijakaumaa, tehtiin riippumattomien otosten T-testi. Niille muuttujille, jotka eivät noudattaneet normaalijakaumaa muunnosten jälkeen, tehtiin kahdelle riippumattomalle muuttujalle ei-parametrinen Mann-Whitneyn U-testi. Loispistiäisten juoksutustulosten tilastolliseen käsittelyyn käytettiin ei-parametristä Chi-square testiä.

6 TULOKSET

6.1 HAIHTUVAT ORGAANISET YHDISTEET

6.1.1 Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden kokonaispäästöt

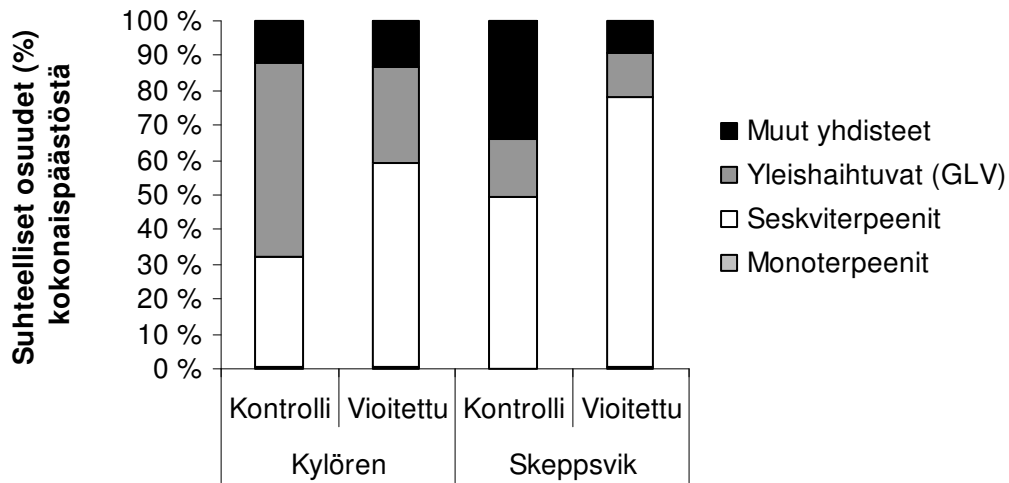
Mesiangervolla sekä Kylörenin että Skeppsvikin kannalla mansikkanälvikäsvoitus lisäsi kokonaispäästöjä tilastollisesti merkitsevästi ($P = 0,001$) (kuva 6). Molemmilla kannoilla kontrollikasveilla kokonaispäästöt olivat hyvin lähellä toisiaan, mutta mansikkanälvikäsvoitettujen kasvien kokonaispäästöt olivat Skeppsvikin kannalla suuremmat.



Kuva 6. Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden kokonaispäästöt (keskiarvo \pm SE, ng g⁻¹ kp h⁻¹) Kylörenin ja Skeppsvikin kannoilla kontrollikasveilla ja mansikkanälvikäsvoitetuilla kasveilla. (n = 8).

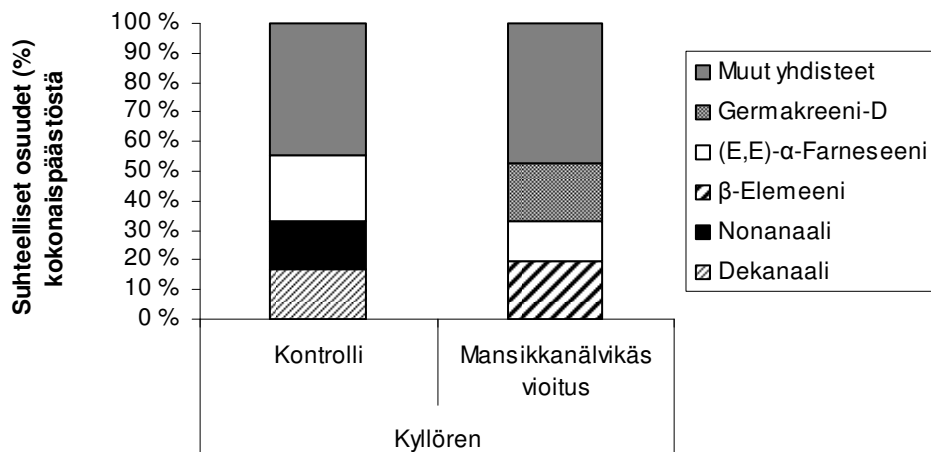
6.1.2 Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden suhteelliset osuudet

Kylörenin kannan kontrollimesiangervoilta emittoitui eniten yleishaihtuvia yhdisteitä, noin 55 % kokonaispäästöstä, kun taas Kylörenin mansikkanälvikäsvoitetuilta sekä Skeppsvikin kontrolli- että mansikkanälvikäsvoitetuilta mesiangervoilta emittoitui eniten seksviterpeenejä (kuva 7).



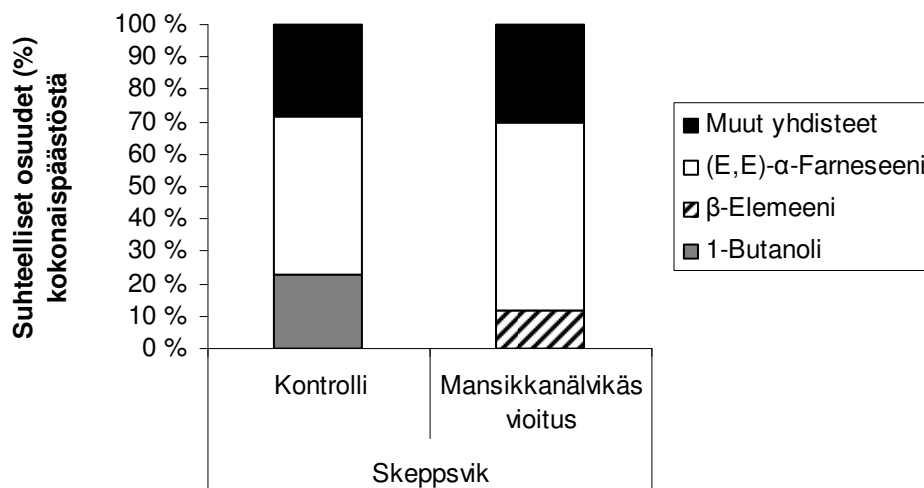
Kuva 7. Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden suhteelliset osuudet (%) kokonaispäästöstä mesiangervolla. $n = 8$. Muut yhdisteet ovat happoja, alkoholeja, aldehydejä ja ketoneita.

Kylörenin kannan vioittamattomien mesiangervojen haihtuvien yhdisteiden kokonaispäästöjen suhteellisesta (%) osuudesta yli puolet muodostui (*E*),(*E*)- α -farneseenista (22,3 %), nonanaalista (16,5 %) sekä dekanaalista (16,7 %) (kuva 8). Muita yhdisteitä (alle 10 % osuuden kokonaispäästöjen suhteellisesta osuudesta muodostaneet yhdisteet) kokonaispäästöjen suhteellisesta osuudesta oli 44,5 %. Mansikkanälvikäsvioitetuilla mesiangervoilla Kylörenin kannan haihtuvien yhdisteiden kokonaispäästöjen suhteellisesta (%) osuudesta yli puolet muodostuivat germakreeni-D:stä (19,7 %), (*E*),(*E*)- α -farneseenista (13,8 %) sekä β -elemeenistä (19,4 %). Muita yhdisteitä kokonaispäästöjen suhteellisesta osuudesta oli 47,2 %.



Kuva 8. Kylörenin kannan haihtuvien yhdisteiden suhteelliset osuudet (%) kokonaispäästöstä mesiangervolla. $n = 8$. Kuvaan on kerätty yli 10 % kokonaispäästöstä muodostaneet yhdisteet. Alle 10 % osuuden muodostaneet yhdisteet kuuluvat ryhmään: Muut yhdisteet.

Skeppsvikin kannan voittamattomien mesiangervojen haihtuvien yhdisteiden kokonaispäästöjen suhteellisesta (%) osuudesta yli puolet muodostui (*E*),(*E*)- α -farneseenista (48,6 %) ja 1-butanolista (22,9 %) (kuva 9). Muita yhdisteitä kokonaispäästöjen suhteellisesta osuudesta oli 28,5 %. Mansikkanälvikäsvoitetuilla mesiangervoilla Skeppsvikin kannan haihtuvien yhdisteiden kokonaispäästöjen suhteellisesta (%) osuudesta yli puolet muodostuivat (*E*),(*E*)- α -farneseenista (58,3 %) ja β -elemeenistä (11,4 %). Muita yhdisteitä kokonaispäästöjen suhteellisesta osuudesta oli 30,3 %.



Kuva 9. Skeppsvikin kannan haihtuvien yhdisteiden suhteelliset osuudet (%) kokonaispäästöstä mesiangervolla. $n = 8$. Kuvaan on kerätty yli 10 % kokonaispäästöstä muodostaneet yhdisteet. Alle 10 % osuuden muodostaneet yhdisteet kuuluvat ryhmään: Muut yhdisteet.

6.1.3 Yksittäisten yhdisteiden päästöt mansikkanälvikäsvoituksessa

Kylörenin kannalla mansikkanälvikäsvoituksen seurauksena tilastollisesti merkitsevästi kohosivat seuraavien haihtuvien yhdisteiden päästömäärät: 2-heksenaali, (*Z*)-3-heksen-1-oli+(*E*)-2-heksenaali, (*Z*)-3-heksenyliasettaatti ja metyyllisalisylaatti (Taulukko 1). Muiden yhdisteiden määrät eivät eronneet kontrollikasvien ja mansikkanälvikäsvoitettujen kasvien välillä.

Skeppsvikin kannalla seuraavien haihtuvien yhdisteiden päästömäärät kohosivat tilastollisesti merkitsevästi mansikkanälvikäsvoituksen seurauksena: 2-heksenaali, (*Z*)-3-heksen-1-oli+(*E*)-2-heksenaali, (*Z*)-3-heksenyliasettaatti, metyyllisalisylaatti, (*E*)-karyofylleeni sekä (*E*),(*E*)- α -farneseeni.

Kylörenistä kerätyiltä mesiangervoilta vain mansikkanälvikäsvoitettut kasvit vapauttivat 1-heksanolia, (*Z*)-3-heksenylibutyyraattia, (*Z*)-3-heksenyli-isovaleraattia, (*Z*)-okimeenia+limoneenia, linaloolia, α -humuleenia, karyofylleeniä, (*E*)-karyofylleeniä, α -kububeenia ja β -elemeeniä.

Skeppsvikistä kerätyiltä mesiangervoilta vain mansikkanälvikäsvoitetut kasvit vapauttivat heksanaalia, benzaldehydiä, 1-heksanolia, (*Z*)-3-heksenylibutyraattia, (*Z*)-3-heksenyliisovaleraattia, (*Z*)-okimeenia+limoneenia, linaloolia, allo-okimeenia, α -kopaeenia, aromadendriiniä, α -humuleenia, α -kadineenia, β -elemeeniä ja germakreeni-D:tä. Myös monoterpeenejä haihtui vain mansikkanälvikkäiden voittamilta kasveilta. Etikkahappoa taas haihtui kontroleilta, mutta ei mansikkanälvikkäiden voittamilta kasveilta.

Metyylisalisylaatin päästö oli sekä Kylörenin että Skeppsvikin kannoilla suurempi mansikkanälvikäsvoitetuilla mesiangervoilla kuin voittumattomilla mesiangervoilla. Samoin β -elemeenin sekä (*E*),(*E*)- α -farneseenin päästöt olivat sekä Kylörenin että Skeppsvikin kannoilla suurempia mansikkanälvikäsvoitetuilla mesiangervoilla kuin voittumattomilla mesiangervoilla. Kaikissa muissa tulos oli tilastollisesti merkitsevä, paitsi (*E*),(*E*)- α -farneseenin päästöjen kohdalla Kylörenin kannalla.

Taulukko 1. Keskiarvo \pm SE haihtuvien orgaanisten yhdisteiden päätöstä ($\text{ng g}^{-1} \text{kp h}^{-1}$) kontrollikasveilla sekä mansikkänälvikäsvoitetuilla kasveilla kannoilla Kylören ja Skeppsvik, sekä tilastollisten testien tulokset (riippumattomien otosten t-testi ja Mann-Whitney U). SE = keskiarvon keskivirhe. n = 8. ns = tulos ei ole tilastollisesti merkitsevä. * normaalisti jakautunut aineisto. eh = ei havaittu.

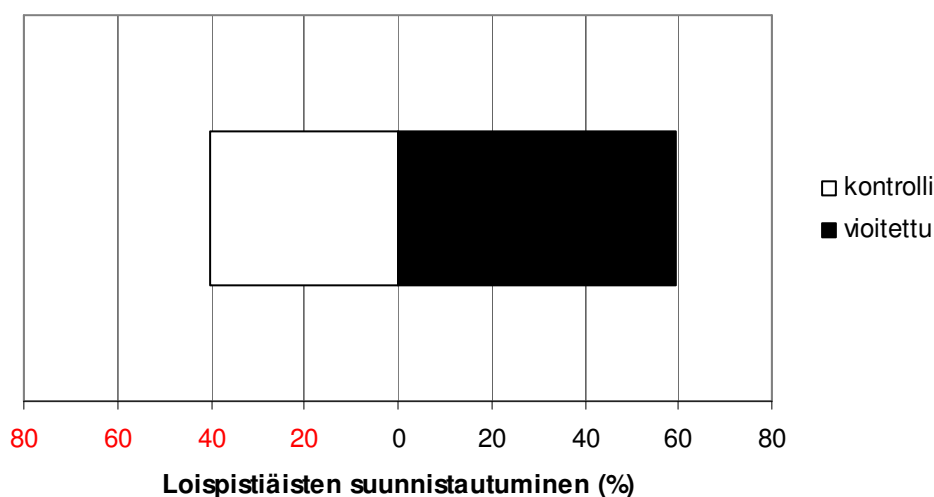
Yhdiste	Kylören			Skeppsvik		
	Kontrolli	Mansikkänälvikäs voitus	P	Kontrolli	Mansikkänälvikäs voitus	P
	Ka \pm SE	Ka \pm SE		Ka \pm SE	Ka \pm SE	
Etikkahappo	3,4 \pm 3,4	58,0 \pm 58,0	ns	16,8 \pm 12,8	eh	ns
1-Butanoli	11,4 \pm 3,8	12,9 \pm 5,2	ns*	40,2 \pm 21,4	11,8 \pm 2,9	ns
Heksanaali	2,8 \pm 2,5	43,9 \pm 17,7	ns	eh	33,1 \pm 16,7	0,010
2-Heksenaali	4,5 \pm 4,5	98,2 \pm 40,0	0,003	2,5 \pm 2,5	132,3 \pm 69,5	0,002
Heptanaali	1,4 \pm 1,0	0,5 \pm 0,5	ns	eh	eh	
Benzaldehydi	2,8 \pm 2,8	14,1 \pm 14,1	ns	eh	19,0 \pm 18,6	ns
Dekanaali	27,1 \pm 10,1	54,5 \pm 10,1	ns*	4,6 \pm 2,1	42,2 \pm 33,5	ns
(Z)-3-Hekseeni-1-ol+	4,9 \pm 4,9	166,9 \pm 39,0	0,001	3,5 \pm 2,6	67,5 \pm 19,5	0,005
(E)-2-Heksenaali						
1-Heksanoli	eh	4,0 \pm 2,4	ns	eh	5,4 \pm 1,6	0,010
(Z)-3-Heksenyyliasetaatti	11,8 \pm 7,6	140,6 \pm 29,3	0,001*	14,3 \pm 6,9	115,1 \pm 17,1	0,001
Nonanaali	26,8 \pm 8,9	19,8 \pm 6,6	ns	2,0 \pm 1,3	1,6 \pm 1,2	ns
(Z)-3-Heksenyylibutyaatti	eh	26,6 \pm 8,6	0,001	eh	11,6 \pm 1,8	0,001
Metyylisilylaatti	13,2 \pm 7,5	51,6 \pm 22,8	0,034*	4,6 \pm 2,0	26,8 \pm 5,0	0,001
(Z)-3-Heksenyyliisovaleraatti	eh	2,4 \pm 0,8	0,038	eh	5,4 \pm 1,2	0,002
(Z)-Okimeeni+ Limoneni	eh	1,9 \pm 1,9	ns	eh	7,3 \pm 1,3	0,002
1,8-Sineoli	0,6 \pm 0,6	1,6 \pm 1,0	ns	eh	eh	
Linalooli	eh	9,6 \pm 4,7	ns	eh	8,5 \pm 4,6	ns
Allo-okimeeni	eh	eh		eh	1,1 \pm 0,3	0,038
α -Kopaeeni	eh	eh		eh	0,2 \pm 0,2	ns
(E)- β -Farneseeni	eh	eh		0,7 \pm 0,7	3,5 \pm 3,5	ns
Aromadendriini	eh	eh		eh	0,7 \pm 0,7	ns
α -Humuleeni	eh	9,6 \pm 1,5	0,001	eh	13,2 \pm 5,1	0,002
α -Kadineeni	eh	eh		eh	1,8 \pm 0,8	ns
Karyofylleenioksidi	eh	1,8 \pm 1,8	ns	eh	eh	
(E)-Karyofylleeni	eh	63,3 \pm 8,1	0,001	1,2 \pm 1,2	68,5 \pm 27,3	0,001
α -Kububeeni	eh	15,6 \pm 15,6	ns	eh	eh	
β -Elemeeni	eh	327,6 \pm 57,1	0,002	eh	249,4 \pm 77,9	0,002
(E,E)- α -Farneseeni	36,3 \pm 24,9	233,3 \pm 93,3	ns	85,4 \pm 35,3	1271,2 \pm 351,7	0,001
Germakreeni-D	15,8 \pm 15,8	332,3 \pm 143,1	ns	eh	83,4 \pm 31,4	0,038
Monoterpeenit	0,6 \pm 0,6	13,1 \pm 4,5	0,049	eh	16,9 \pm 5,2	0,002
Seksviterpeenit	52,0 \pm 26,5	983,5 \pm 109,4	0,001	87,3 \pm 34,9	1691,9 \pm 464,1	0,001
Yleishaihtuvat (GLV)	90,0 \pm 27,5	466,4 \pm 93,9	0,005*	28,9 \pm 10,3	275,91 \pm 46,3	0,001*
Kokonaispäästöt	162,6 \pm 34,4	1690,7 \pm 239,2	0,001*	175,7 \pm 49,1	2181,0 \pm 530,5	0,001

6.2 ASECODES MENTO – LOISPISTIÄISTEN SUUNNISTAUTUMINEN Y-PUTKIOLFAKTOMETRISSÄ

6.2.1 *Asecodes mento* – loispistiäisten suunnistautuminen

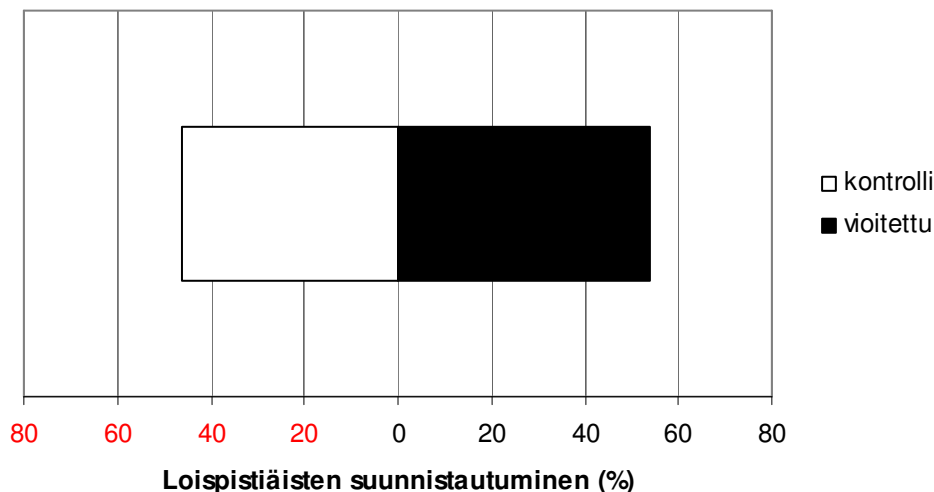
Asecodes mento – loispistiäiset suunnistautuivat tasaisesti sekä voittamattomille että mansikkanälvikäsvoitetuille kasveille molemmilla kannoilla Y-putkiolfaktometrissä.

Kylörenin kannalle *Asecodes mento* loispistiäisillä juoksutuksia tehtiin yhteensä 104. Vioiteuille mesiangervoille suunnistautui näistä 62 yksilöä (59,6 %) ja kontrolli mesiangervoille 42 yksilöä (40,4 %) (kuva 10). Tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevää ($P = 0,062$).



Kuva 10. *Asecodes mento* loispistiäisen valinta Y-putkiolfaktometrissä Kylörenin kannalla voittumattomalle ja mansikkanälvikäsvoitetulle mesiangervolle 48 tunnin voitoksen jälkeen.

Skeppsvikin kannalle *Asecodes mento* loispistiäisillä juoksutuksia tehtiin yhteensä 100. Vioitetuille mesiangervoille suunnistautui näistä 54 yksilöä (54,0 %) ja kontrolli mesiangervoille 46 yksilöä (46,0 %) (kuva 11). Tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevää ($P = 0,484$).



Kuva 11. *Asecodes mento* loispistiäisen valinta Y-putkiolfaktometrissä Skeppsvikin kannalla voittumattomalle ja mansikkanälvikäsvoitetulle mesiangervolle 48 tunnin voituksen jälkeen.

6.2.2 *Asecodes mento* – loispistiäisten suunnistautuminen yksittäisten haihtuvien yhdisteiden suhteen

Loispistiäisen suunnistautumista merkittävimpien yksittäisten yhdisteiden eli metyy-lisalisylaatin, (*E*),(*E*)- α -farneseenin sekä β -elemenin suuntaan tutkittiin vertaamalla loisen suunnistautumista kasville (kontrolli tai voitettu), joka kussakin testiparissa vapautti kyseistä yhdistettä enemmän.

Loispistiäiset suunnistautuivat tilastollisesti merkitsevästi Kylörenin kannalla (*E*),(*E*)- α -farneseenin suuntaan ($P = 0,040$). Muiden tutkittujen haihtuvien yhdisteiden suuntaan ne eivät suunnistautuneet tilastollisesti merkitsevästi Kyllörenin eivätkä Skeppsvikin kannalla.

7 TULOSTEN TARKASTELU

7.1 HAIHTUVAT ORGAANISET YHDISTEET

Tulokset osoittavat, että mesiangervolla mansikkanälvikäsvoitus indusoi haihtuviin orgaanisiin yhdisteisiin perustuvaa puolustusta, koska monoterpeenien, seksviterpeenien ja yleishaihtuvien yhdisteiden pitoisuuksien määrät kohosivat voituksen seurauksena. Tästä voidaan päätellä, että mesiangervolla seksviterpeenien vapautuminen on herbivorivoituksesta kertova indikaattori. Skeppsvikistä kerättyjen mesiangervojen haihtuvien yhdisteiden määrä mansikkanälvikäsvoituksen jälkeen oli suurempi kuin Kylörenistä kerättyjen. Kylörenin kannalla voittamattomilta mesiangervoilta haihtui eniten yleishaihtuvia yhdisteitä, kun taas mansikkanälvikäsvoitetuilta mesiangervoilta haihtui eniten seksviterpeenejä. Skeppsvikin kannalla sekä voittamattomilta että mansikkanälvikäsvoitetuilta mesiangervoilta haihtui eniten seksviterpeenejä. Tämä johtunee kantojen välisestä, erilaisesta geneettisestä taustasta.

Yksittäisten aineiden päästöistä 2-heksenaalin, dekanaalin, (*Z*)-3-heksen-1-oli+(*E*)-2-heksenaalin, (*Z*)-3-heksenyliasetaatin, metyyliisalisylaatin sekä (*E*),(*E*)- α -farneseenin päästöt suurensivat sekä Kylörenin että Skeppsvikin kannoilla mansikkanälvikäsvoituksen seurauksena. 2-heksenaalin, (*Z*)-3-heksen-1-oli+(*E*)-2-heksenaalin, (*Z*)-3-heksenyliasetaatin ja metyyliisalisylaatin päästöjen kohoaminen voituksen seurauksena oli molemmilla kannoilla tilastollisesti merkitsevää. Skeppsvikin kannalla (*E*),(*E*)- α -farneseenia vapautui enemmän sekä voittamattomilta että voittaneilta kasveilta kuin Kylörenin kannalta. Sekä Kylörenin että Skeppsvikin kannoilla mansikkanälvikäsvoitus taas vähensi nonanaalin päästöä.

Mesiangervoa on tutkittu haihtuvien yhdisteiden osalta hyvin vähän. Tutkimuksessa, jossa tutkittiin ripsiäisten (*Frankliniella occidentalis*) käytösvasteita mesiangervon haihtuviin yhdisteisiin, saatiin selville, että 1,8-sineoli oli yksi pääasiallisista mesiangervon haihtuvista yhdisteistä. Eniten mesiangervolta haihtui eukarvonia, jolla ei kuitenkaan ollut elektrofysiologista aktiivisuutta. 1,8-sineoli sekä metyyliisalisylaatti saivat ripsiäisissä aikaan käytösvasteen, jonka tutkimiseen käytettiin olfaktometriä. Metyyliisalisylaatti houkutteli ripsiäisiä kaikissa testatuissa konsentraatioissa, mutta 1,8-sineoli vain 0,01 mg konsentraatioissa. (Chermenskaya ym. 2001.) Tässä tutkimuksessa 1,8-sineolia vapautui vain Kylörenin kannan mesiangervoista ja niistäkin vain hyvin vähäisiä määriä. Mansikkanälvikäiden voittamista kasveista sitä vapautui enemmän kuin voittamattomista, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevää. Kukkivan mesiangervon kukinnosta vapautuvia haihtuvia yhdisteitä ovat muun muassa bentsyylialkoholit, fenyylialkoholit, salisyylialdehydit sekä anisaldehydit (Stenberg ym. 2007). Nämä tuoksut ovat niin voimakkaita, että myös ihminen voi havaita ne haistamalla.

Kasvissa haihtuvien orgaanisten yhdisteiden muodostumiseen sekä niiden vapautumiseen vaikuttavat monet seikat kuten kasvin genotyyppi, koko, voittuneet kasvinosat, lehden ikä, kasvuolosuhteet, voituksen aika päivästä, herbivorilaji, herbivorin toukan kehitysvaihe sekä ulkoiset stressitekijät kuten kuivuus, lämpötila ja lannoitus. Tässä tutkimuksessa näitä tekijöitä pyrittiin säätelemään kasvuolosuhteiden, kuten valon, kosteuden ja lannoituksen, kasvien koon ja lehtien iän osalta niin, että ne pyrittiin pitämään kaikille tutkimuskasveille samanlaisina. Vaihtelua tuloksiin tuovat kuitenkin kasvien erilainen genotyyppi sekä erot kokeessa käytettyjen herbivorin toukkien kehitysvaiheissa, koska toukan kehitysvaihe vaikuttaa voituksen voimakkuuteen.

Mesiangervot olivat kehitysvaiheeltaan kokeessa samassa vaiheessa, joten sillä ei pitäisi olla vaikutusta tuloksiin. Yleisemmin kehitysvaiheen vaikutuksista mesiangervon haihtuviin yhdisteisiin ei ole tietoa. On mahdollista, että kasvit vioittuivat kokeessa niiden käsittelyn ja siirtelyn aikana, kun esimerkiksi mansikkanälvikkään toukkien siirrettiin mesiangervon leh-dille. Tämän seurauksena lehden karvat ovat voineet katketa ja yleishaihtuvien yhdisteiden tuotanto ja vapautuminen on voinut käynnistyä. Mesiangervon varsi ja lehdet ovat lyhyen karvoituksen peitossa ja nämä karvat katkeavat helposti kun jokin osuu kasviin. Myös sillä on voinut olla vaikutusta kasvin haihtuvien yhdisteiden määrään että, mansikkanälvikkään toukat tuotiin Ruotsista vain suurin piirtein samankokoisina, eikä niiden tarkkaa kehitysvaihetta tiedetty. Tämän lisäksi toukat ehtivät kasvaa kokeen aikana, joten myöhemmin vioitetut kasvit ovat kärsineet hieman enemmän kasvaneiden toukkien aiheuttamia vahinkoja. Myös se on voinut vaikuttaa päästöjen määrään ja laatuun, että osa toukista oli käyttänyt ravinnokseen myös kasvin vartta lehtien sijaan tai kaivautunut potissa olevaan multaa koteloitumaan.

Kasvia imemällä vioittavat herbivorit saavat aikaan hieman kohonneita yleishaihtuvien yhdis-teiden päästöjä ja puremalla vioittavat herbivorit, kuten lehtikuoriaiset, vioittavat kasvia enemmän ja näin ollen niiden tulisi aiheuttaa myös kohonneita yleishaihtuvien yhdisteiden päästöjä. Himasen ym. (2005) tutkimuksessa näin ei kuitenkaan käynyt: mansikalla yleishaih-tuvien yhdisteiden päästöt eivät tilastollisesti merkitsevästi muuttuneet mansikkanälvikkään aiheuttaman vioituksen seurauksena, mutta haihtuvien terpeenien määrä kasvoi huomattavasti. Mansikkanälvikäs ei puremalla vioita lehden rakennetta kokonaan, vaan se kalvaa lehden me-sofyllisolukkoa lehden alapuolelta muodostaen ikkunakuvioita. Näin ylempi epidermisolukko ei vioitu. (Himanen ym. 2005.) Mesiangervolla yleishaihtuvien yhdisteiden päästöt kohosivat tilastollisesti merkitsevästi niin Kylörenin kuin Skeppsvikin kannallakin mansikkanälvikäs-vioituksen seurauksena. Näin tapahtui myös mono- ja seksviterpeenien kohdalla. On kuitenkin mahdollista, että kasvit vioittuivat lievästi myös mekaanisesti niitä käsiteltäessä mittauksia varten, mikä saattoi nostaa yleishaihtuvien yhdisteiden päästöjen määrää. On kuitenkin toden-näköisempää, että yleishaihtuvien yhdisteiden päästöjen määrä nousi mansikkanälvikäs-vioi-tuksen seurauksena, eikä mekaanisesta vioituksesta johtuen.

Mansikalla (*Fragaria x ananassa* Duch.) mansikkanälvikäsvioituksen seurauksena vapautuu seuraavia haihtuvia yhdisteitä (*Z*)-okimeenia, (*E*)- β -okimeenia, (*E*)- β -karyofylleeniä, (*E*),(*E*)- α -farneseenia, germakreeni-D:tä ja DMNT:tä ((*3E*)-4,8-dimetyyli-1,3,7-nonatrieenia) tilastol-lisesti merkitseviä määriä vioittumattomiin mansikoihin verrattuna (Himanen ym. 2005). Täs-sä tutkimuksessa mesiangervolla (*Z*)-okimeenin ja limoneenin tulos on yhdistetty joten mah-dotonta sanoa, kumpaa yhdistettä kasvi vapautti. Näitä kuitenkin vapautui molemmilla kan-noilla mansikkanälvikkäiden vioittamilta kasveilta, mutta ei vioittumattomilta kasveilta. Skeppsvikin kannalla ero oli tilastollisesti merkitsevä. (*E*),(*E*)- α -farneseenin päästöt kohosivat sekä Kylörenin että Skeppsvikin kannoilla mansikkanälvikäsvioituksen seurauksena, mutta ero kontrolli- ja vioitetun kasvin välillä oli tilastollisesti merkitsevä vain Skeppsvikin kannal-la. Germakreeni-D:tä vapautui Kylörenin kannalla sekä vioittumattomilta että mansikkanälvi-käsvioitetuilta kasveilta. Skeppsvikin kannalla germakreeni-D:tä vapautui vain mansikkanäl-vikkään vioittamilta mesiangervoilta, ja ero vioittamattomiin oli tilastollisesti merkitsevä, joten tällä kannalla se näytti olevan selkeästi herbivori-indusoituva yhdiste.

7.2 ASECODES MENTO – LOISPISTIÄISEN SUUNNISTAUTUMINEN

Kolmen trofiatason välisen vuorovaikutuksen toimimiselle ei saatu tässä tutkimuksessa vahvistusta, sillä loispistiäiset eivät suunnistautuneet tilastollisesti merkitsevästi kummallakaan kannalla mansikkanälvikkäiden vioittamille mesiangervoille. Jos juoksutuksia olisi tehty lisää Kylörenin kannalla, tulos olisi todennäköisesti ollut tilastollisesti merkitsevä, sillä trendi vioittumattomien kasvin houkuttelevuudesta oli nähtävissä ($P = 0,062$).

Kasvien haihtuvat yhdisteet houkuttelevat loispistiäisiä herbivorien vioittamille kasveille ja niiden määrällä sekä laadulla on merkitystä suunnistautumisessa (Turlings ym. 1990). Myös loiselioiden aiemmilla kokemuksilla ja assosiatiiivisella oppimisella on tärkeä rooli herbivorien löytämisessä (Geervliet ym. 1997). Herbivorin aiheuttama haihtuvien yhdisteiden koostumuksen vaihtelu on tärkeää sitä etsivälle loispistiäiselle, koska se kertoo sopiiko herbivori sille isännäksi (Vet & Dicke 1992; Alborn ym. 1997; Frey ym. 2000).

Loispistiäiset suunnistautuivat tilastollisesti merkitsevästi Kylörenin kannalla (*E*),(*E*)- α -farneseenin suuntaan. Tämän perusteella voidaan päätellä, että (*E*),(*E*)- α -farneseeni on mahdollisesti se yhdiste, joka houkuttaa *Asecodes mento* loispistiäisiä mesiangervolla. Vaikka mansikkanälvikkäiden vioittamilta kasveilta (*E*),(*E*)- α -farneseenia vapautui enemmän, niin sitä vapautui kuitenkin myös vioittumattomilta mesiangervoilta. Tämän vuoksi on kuitenkin mahdollista, että (*E*),(*E*)- α -farneseeni ei yksin vastaa loispistiäisen houkuttelemisesta. (*E*),(*E*)- α -farneseenin on todettu houkuttelevan *Vitis vinifera* viiniköynnökselle munivaa *Lobesia botrana* koiperhosta (Tasin ym. 2005) sekä omenalla vastasyntyneitä omenakääriäisen (*Cydia pomonella*) toukkia (Landolt ym. 2000).

Tässä tutkimuksessa metyyllisalisylaatin päästö oli sekä Kylörenin että Skeppsvikin kannoilla suurempi mansikkanälvikäsvoitetuilla mesiangervoilla kuin vioittumattomilla mesiangervoilla ja tulos oli molemmilla kannoilla tilastollisesti merkitsevä. Siksi se voisi toimia merkittävänä houkuttimena ollen erityisen luotettava merkki herbivorivioituksesta loispistiäisille. Metyyllisalisylaatti ei kuitenkaan verrattaessa kasviparikohtaisia päästöjä saanut tilastollisen analyysin perusteella yksittäisenä signaaliyhdisteenä loispistiäisiä suunnistautumaan mansikkanälvikkäiden vioittamille kasveille kummallakaan kannalla. Metyyllisalisylaatin on osoitettu houkuttelevan petopunkkeja (Ozawa ym. 2000; De Boer & Dicke 2004), petoludetta ja *Chrysopa nigricornis*-verkkosiipistä (James 2003). Herbivorien aiheuttaman vioituksen aikaansaamien haihtuvien yhdisteiden koostumus on kuitenkin kemiallisesti monimuotoinen ja siksi on vaikeaa selvittää mikä tai mitkä yhdisteet ovat oikeasti vastuussa herbivorien luontaisten vihollisten signaalista (Dudareva ym. 2006). Sen tutkiminen, että onko loispistiäisen suuntautuminen suhteessa johonkin tiettyyn yhdisteeseen ja sen kohonneeseen määrään, vaatisi uusia käyttäytymistutkimuksia synteettisillä yhdisteillä. Usein kokonaispäästö on kuitenkin tärkein tekijä hyönteisen suunnistautumisessa tietyille kasvilajille.

Aiemmillä tutkimuksilla todistettuja kolmen trofiatason epäsuoria vuorovaikutussysteemejä on esimerkiksi limanpapu, sen herbivori kehrääjäpunkki ja herbivorin luontainen vihollinen petopunkki (Frey ym. 2000; Arimura ym. 2002) sekä lituruoho, sen herbivori kaaliperhonen ja sen luontainen vihollinen *Cotesia rubecula* loinen (Van Poecke ym. 2001). Vastaavaa, yhtä selkeää kolmen trofiatason vuorovaikutussysteemiä ei käytetyillä tutkimusmenetelmillä tässä tutkimuksessa löydetty. Muita todistettuja kolmannen trofiatason vuorovaikutuksia on esimerkiksi kurkulla (Takabayashi ym. 1994) ja omenapuilla (Takabayashi ym. 1991) sekä puuvillalla että maissilla (Loughrin ym. 1994; De Moraes ym. 1998).

Jatkossa olisi mielenkiintoista tutkia vanhempien mesiangervojen sekä kukkivien mesiangervojen päästöjä ilman vioitusta sekä mansikkanälvikkäiden vioituksen jälkeen. Tämän lisäksi voitaisiin tutkia mahdollisten erilaisten keräysmenetelmien vaikutusta haihtuvien yhdisteiden päästöihin mesiangervolla. Olisi myös mielenkiintoista havaita mikä tulos saataisiin loispistiäisten suunnistautumisesta suuremmalla määrällä Y-putkitestauksia, sillä tilastollinen merkittävyys oli jo tällä otoksella lähellä. Myös yksittäisten yhdisteiden houkuttavuutta synteettisillä yhdisteillä olisi järkevää tutkia, koska loispistiäiset suunnistautuivat tässä tutkimuksessa tilastollisesti merkitsevästi (*E*),(*E*)- α -farneseenin suuntaan. Näiden lisäksi loispistiäisten ekologista eriytymistä olisi mielenkiintoista selvittää vertaamalla eri saaristoista kerättyjen loispistiäisten luontaista kykyä suunnistautua, tutkimalla suunnistautuuko loispistiäinen tehokkaammin omalla elinalueellaan kasvavalle mesiangervokannalle.

8 YHTEENVETO

Tulokset osoittavat mesiangervolla tapahtuvan indusoituvaa puolustusta mansikkanälvikäs-
violetuksessa päätellen lisääntyneistä monoterpeenien, seskviterpeenien ja yleishaihtuvien yhdis-
teiden päästöistä tilastollisesti merkitsevästi kummallakin mesiangervon kannalla. Tulosten
perusteella voidaan päätellä, että mesiangervolla erityisesti seskviterpeenien vapautuminen on
herbivorivioletuksesta kertova indikaattori. Ensimmäisen tutkimushypoteesin voidaan katsoa
toteutuneen tässä tutkimuksessa, sillä mansikkanälvikäs-
violetus indusoi mesiangervossa yleis-
haihtuvia yhdisteitä, lisäsi mono- ja seskviterpeenien päästöjä ja sai aikaan myös uusien, me-
siangervolle tyypillisten herbivoriasta indikoivien haihtuvien yhdisteiden haihtumista.

Kolmen trofiatason väliselle vuorovaikutukselle ei saatu tässä tutkimuksessa selvää vahvistus-
ta, sillä loispistiäiset eivät kyenneet suunnistautuneet tilastollisesti merkitsevästi kummalla-
kaan kannalla mansikkanälvikäiden violettamille mesiangervoille. Toinen tutkimushypoteesi
siten kumoutui tässä tutkimuksessa. Mahdollisesti suuremmalla testattavien loispistiäisten
määrällä tilanne olisi saattanut muuttua, sillä Kylörenin kannalla loispistiäisten suunnistautu-
minen oli toimivan tritrofisen vuorovaikutuksen olemassaolon suhteen suhteellisen voimak-
kaasti suuntaa-antava.

9 KIRJALLISUUSLUETTELO

Agrawal, A. A., Janssen, A., Bruin, J., Posthumus, M. A. & Sabelis, M. W. 2002. An ecological cost of plant defence: Attractiveness of bitter cucumber plants to natural enemies of herbivores. *Ecological Letters* 5: 377 – 385.

Alborn, H. T., Turlings, T. C. J., Jones, T. H., Stenhagen, G., Loughrin, J. H. & Tumlinson, J. H. 1997. An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science* 276: 945 – 949.

Arimura, G., Ozawa, R., Shimoda, T., Nishioka, T., Boland, W. & Takabayashi, J. 2000. Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature* 406: 512 – 515.

Arimura, G., Ozawa, R., Horiuchi, J., Nishioka, T. & Takabayashi, J. 2001. Plant-plant interactions mediated by volatiles emitted from plants infested by spider mites. *Biochemical Systematics and Ecology* 29: 1049 – 1061.

Arimura, G., Ozawa, R., Nishioka, T., Boland, W., Koch, T., Kühnemann, F. & Takabayashi, J. 2002. Herbivore-induced volatiles induce the emission of ethylene in neighboring lima bean plants. *The Plant Journal* 29: 87 – 98

Baldwin, I. T. & Schultz, J. C. 1983. Rapid changes in tree leaf chemistry induced by damage: evidence for communication between plants *Populus*, *Acer saccharum*. *Science* 221: 277 – 279.

Baldwin, I. T. & Preston, C. A. 1999. The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores. *Planta* 208: 137 – 145.

Baldwin, I. T., Kessler, A. & Halitschke, R. 2002. Volatile signalling in plant-plant-herbivore interactions: what is real? *Current opinion in plant biology* 5: 1 – 4.

Bate, N. J. & Rothstein, S. J. 1998. C₆-volatiles derived from the lipoxygenase pathway induce a subset of defence-related genes. *The Plant Journal* 16: 561 – 569.

Bell, E. A. 1987. Secondary compounds and insect herbivores. Teoksessa Labeyrie, V., Fabres, G. & Lachaise, D. (toim.) *Insects – Plants. Proceedings of the 6th International Symposium on Insect – Plant relationships (PAU 1986)*. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers.

Bennett, R. N. & Wallsgrove, R. M. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist* 127: 617 – 633.

Bick, J. A. & Lange, B. M. 2003. Metabolic cross talk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis: Unidirectional transport of intermediates across the chloroplast envelope membrane. *Archives of biochemistry and biophysics* 415: 146 – 154.

- Blechert, S., Brodschelm, W., Hölder, S., Kammerer, S., Kutchan, T. M., Mueller, M. J., Xia, Z. & Zenk, M. H. 1995. The octadecanoid pathway: signal molecules for the regulation of secondary pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 92: 4099 – 4105.
- Bolter, C. J., Dicke, M., Van Loon, J. J. A., Visser, J. H. & Posthumus, M. A. 1997. Attraction of Colorado potato beetles to herbivore-damaged plants during herbivory and after its termination. *Journal of Chemical Ecology* 23: 1003 – 1023.
- Bruin, J., Sabelis, M. W. & Dicke, M. 1995. Do plants tap SOS signals from their infested neighbours? *Trends in Ecology and Evolution* 10: 167 – 170.
- Campbell, C. A. M., Pettersson, J., Pickett, J. A., Wadhams, L. J. & Woodcock, C.M. 1993. Spring migration of Damson-Hop aphid, *Phorodon humuli* (Homoptera: *Aphididae*), and summer host plant-derived semiochemicals released on feeding. *Journal of Chemical Ecology* 19: 1569 – 1576.
- Carlsson, U., Elmqvist, T., Wennström, A. & Ericson, L. 1990. Infection by pathogens and population age of host plants. *Journal of Ecology* 78: 1094 – 1105.
- Cates, R. G. 1987. Influence of biological rhythms, tissue development, and physiological state of plants and insects on their interactions. Teoksessa Labeyrie, V., Fabres, G. & Lachaise, D. (toim.) *Insects – Plants. Proceedings of the 6th International Symposium on Insect – Plant relationships (PAU 1986)*. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers.
- Chen, F., Tholl, D., D’Auria, J. C., Farooq, A., Pichersky, E. & Gershenzon, J. 2003. Biosynthesis and Emission of Terpenoid Volatiles from *Arabidopsis* Flowers. *The Plant Cell* 15: 481 – 494.
- Chappel, J. 1995. The biochemistry and molecular biology of isoprenoid metabolism. *Plant Physiology* 107: 1 – 6.
- Chermenskaya, T.D., Burov, V.N., Maniar, S.P., Pow, E.M., Roidakis, N., Selytskaya, O.G., Shamshev, I.V., Wadhams, L.J. & Woodcock, C.M. 2001. Behavioural responses of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), to Volatiles from three aromatic plants. *Insect Science and its Application* 21: 67-72.
- Chinery, M. 1988. Pohjois-Euroopan hyönteiset. Pohjois-Euroopan hyönteisheimojen määrittäminen. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.
- De Boer, J. G. & Dicke, M. 2004. The role of methyl salicylate in prey searching behavior of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. *Journal of Chemical Ecology* 30: 255 – 271.
- De Leo, F., Bonade-Bottino, M. A., Ceci, L. R., Gallerani, R. & Jouanin, L. 1998. Opposite effects on *Spodoptera littoralis* larvae of high expression level of a trypsin proteinase inhibitor in transgenic plants. *Plant Physiology* 118: 997 – 1004.
- De Moraes, C. M., Lewis, W. J., Páre, P. W., Alborn, H. T. & Tumlinson, J. H. 1998. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature* 393: 570 – 573.

- Dey, P. M. & Harborne, J. B. 1991. *Methods in plant biochemistry*. Volume 7 Terpenoids. Academic Press Limited, USA. 565 s.
- Dicke, M. & Sabelis, M. W. 1988. How plants obtain predatory mites as bodyguards. *Netherlands Journal of Zoology* 38: 148 – 165.
- Dicke, M., Takabayashi, J., Posthumus, M. A., Schuette, C. & Krips, O. E. 1998. Plant–phytoseiid interactions mediated by prey-induced plant volatiles: Variation in production of cues and variation in responses of predatory mites. *Experimental and Applied Acarology* 22: 311 – 333.
- Dicke, M. 1999. Are herbivore-induced plant volatiles reliable indicators of herbivore identity to foraging carnivorous arthropods? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 131 – 142.
- Dicke, M., Gols, R., Ludeking, D. & Posthumus, M. A. 1999. Jasmonic acid and herbivory differentially induce carnivore-attracting plant volatiles in lima bean plants. *Journal of Chemical ecology* 25: 1907 – 1922.
- Dicke, M. & Van Loon, J. J. A. 2000. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97: 237 – 249.
- Dicke, M. & Bruin, J. 2001. Chemical information transfer between plants: back to the future. *Biochemical Systematics and Ecology* 29: 981 – 994.
- Dicke, M. & Dijkman, H. 2001. Within-plant circulation of systemic elicitor of induced defence and release from roots of elicitor that affects neighbouring plants. *Biochemical Systematics and Ecology* 29: 1075 – 1087.
- Dicke, M., Agrawal, A. A. & Bruin, J. 2003. Plants talk, but are they deaf? *Trends in Plant Science* 8: 403 – 405.
- Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D.A. & Orlova, I. 2006. Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25: 417 – 440.
- Edwards, P. J. & Wratten S.D. 1987. Ecological significance of wound-induced changes in plant chemistry. Teoksessa Labeyrie, V., Fabres, G. & Lachaise, D. (toim.) *Insects – Plants. Proceedings of the 6th International Symposium on Insect – Plant relationships (PAU 1986)*. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers.
- Farag, M. A. & Paré, P. W. 2002. C₆-Green leaf volatiles trigger local and systemic VOC emissions in tomato. *Phytochemistry* 61: 545 – 554.
- Farmer, E. E. & Ryan, C. A. 1990. Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87: 7713 – 7716.
- Farmer, E. E. & Ryan, C. A. 1992. Octadecanoid precursor of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. *The Plant Cell* 4: 129 – 134.

- Feeny, P. 1992. The evolution of chemical ecology: contributions from the study of herbivorous insects. Teoksessa Rosenthal, G. A. & Berenbaum, M. R. (toim.) *Herbivores. Their interactions with secondary plant metabolites. Volume II. Ecological and evolutionary processes.* San Diego: Academic Press, inc.
- Fernandez, P. & Hilker, M. 2007. Host plant location by *Chrysomelidae*. *Basic and Applied Ecology* 8: 97 – 116.
- Frey, M., Stettner, C., Paré, P. W., Schmelz, E. A., Tumlinson, J. H. & Gierl, A. 2000. An herbivore elicitor activates the gene for indole emission in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 14801 – 14806.
- Geervliet, J. B. F., Posthumus, M. A., Vet, L. E. M. & Dicke, M. 1997. Comparative analysis of headspace volatiles from different caterpillarinfested or uninfested food plants of *Pieris* species. *Journal of Chemical Ecology* 23: 2935 – 2954.
- Geervliet, J. B. F., Ariëns, S., Dicke M. & Vet, L. E. M. 1998. Longdistance assessment of patch profitability through volatile infochemicals by the parasitoids *Cotesia glomerata* and *C. rubecula* (*Hymenoptera: Braconidae*). *Biological Control* 11: 113 – 121.
- Gershenson, J. 1994. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. *Journal of Chemical Ecology* 20: 1281 – 1328.
- Gols, R., Posthumus, M. A. & Dicke, M. 1999. Jasmonic acid induces the production of gerbera volatiles that attract the biological control agent *Phytoseiulus persimilis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 93: 77 – 86.
- Hambäck, P. A., Stenberg, J. A. & Ericson, L. 2006. Asymmetric indirect interactions mediated by a shared parasitoid. connecting species traits and local distribution patterns for two chrysomelid beetles. *Oecologia* 148: 475 – 481.
- Harvey, J. A., Jervis, M. A., Gols, R., Jiang, N. & Vet, L. E. M. 1999. Development of the parasitoid, *Cotesia rubecula* (*Hymenoptera: Braconidae*) in *Pieris rapae* and *Pieris brassicae* (*Lepidoptera: Pieridae*) evidence for host regulation. *Journal of Insect Physiology* 45: 173 – 182.
- Hatanaka, A. 1993. The biogenesis of green odour by green leaves. *Phytochemistry* 34: 1201 – 1218.
- Hiitonen, I. & Kurtto, A. (toim.) 2004. Otavan värikasvio. Björn Ursingin ja Hans-Erik Wanntorpin teoksen *Fältflora. Kärlväxter* mukaan. 27. painos. Keuruu: Otavan kirjapaino Oy.
- Himanen, S., Holopainen, J. K., Vuorinen, T. & Tuovinen, T. 2005. Effects of cyclamen mite (*Phytonemus pallidus*) and leaf beetle (*Galerucella tenella*) damage on volatile emission from strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) plants and orientation of predatory mites (*Neoseiulus cucumeris*, *N. californicus*, and *Euseius finlandicus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 624 – 8630.

- Hippa, H. & Koponen, S. 1984. Parasitism of larvae of *Galerucini* (Col., Chrysomelidae) by larvae of *Asecodes mento* (Hym., Eulophidae). Reports from the Kevo Subarctic Research Station 19: 63 – 65.
- Hämet-Ahti, L., Suominen, J., Ulvinen, T. & Uotila, P. (toim.) 1998. Retkeilykasvio. 4. täysin uudistettu painos. Luonnontieteellinen keskusmuseo, kasvimuseo. Helsinki: Yliopistopaino.
- James, D. G. 2003. Field evaluation of herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects: methyl salicylate and the green lacewing, *Chrysopa nigricornis*. Journal of Chemical Ecology 29: 1601 – 1609.
- Jetter, R. 2006. Examination of the processes involved in the emission of scent volatiles from flowers. Teoksessa Dudareva, N. & Pichersky, E. (toim.) Biology of Floral Scent. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Jones, C. G., Hopper, R. F., Coleman, J. S. & Krischik, V. A. 1993. Control of systemically induced herbivore resistance by plant vascular architecture. Oecologia 93: 452 – 456.
- Karban, R. & Myers, J. H. 1989. Induced plant responses to herbivory. Annual Review of Ecology and Systematics 20: 331 – 348.
- Karban, R., Agrawal, A. A., Thaler, J. S. & Adler, L. S. 1999. Induced plant responses and information content about risk of herbivory. Trends in Ecology and Evolution 14: 443 – 447.
- Karban, R. & Agrawal, A. A. 2002. Herbivore offence. Annual review of Ecology and Systematics 33: 641 – 664.
- Karban, R., Maron, J., Felton, G. V., Ervin, G. & Eichenseer, H. 2003. Herbivore damage to sagebrush induces resistance in wild tobacco: evidence for eavesdropping between plants. Oikos 100: 325 – 332.
- Keskitalo, M., Linnala, M., Holopainen, J. & Hyvärinen, H. 2001. Yleistä terpeeneistä. Teoksessa Hyvärinen, H. (toim.) 2001. Kasvipäriset biomolekyylit – fenoliset yhdisteet ja terpeenit. Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskuksen julkaisuja 100 sarja A. Jokioinen: MTT.
- Kesselmeier, J. & Staudt, M. 1999. Biogenic Volatile Organic Compounds (VOC): An Overview on Emission, Physiology and Ecology. Journal of Atmospheric Chemistry 33: 23 – 88.
- Kessler, A. & Baldwin, I. T. 2001. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. Science 291: 2141 – 2144.
- Kessler, A. & Baldwin, I. T. 2002. Plant responses to insect herbivory: The emerging molecular analysis. Annual Review of Plant Biology 53: 299 – 328.
- Kessler, A., Halitschke, R. & Baldwin, I.T. 2004. Silencing the Jasmonate Cascade: Induced Plant Defenses and Insect Populations. Science 305: 665 – 668.

- Krips, O. E., Willems, P. E. L., Gols, R., Posthumus, M. A., Gort, G. & Dicke, M. 2001. Comparison of cultivars of ornamental crop *Gerbera jamesonii* on production of spider mite-induced volatiles, and their attractiveness to the predator *Phytoseiulus persimilis*. *Journal of Chemical Ecology* 27: 1355 – 1372.
- Krumm, T., Bandemer, K. & Boland, W. 1995. Induction of volatile biosynthesis in the Lima bean (*Phaseolus lunatus*) by leucine- and isoleucine conjugates of 1-oxo- and 1 hydroxyindan-4-carboxylic acid: evidence for amino acid conjugates of jasmonic acid as intermediates in the octadecanoid signalling pathway. *FEBS Letters* 377: 523 – 529.
- Landolt, P. J., Brumley, J.A., Smithhisler, C. L., Biddick, L. L. & Hofstetter, R. W. 2000. Apple fruit infested with codling moth are more attractive to neonate codling moth larvae and possess increased amounts of (E,E)- alpha -farnesene. *Journal of Chemical Ecology* 26: 1685 – 1699.
- Langenheim, J.H. 1994. Higher plant terpenoids: A phytocentric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology* 6: 1223 – 1280.
- Laule, O., Furholz, A., Chang, H. S., Zhu, T., Wang, X., Heifetz, P. B., Grisse, W. & Lange, B. M. 2003. Crosstalk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 6866 – 6871.
- Lichtenthaler, H. K. 1999. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plant. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 47 – 65.
- Linnala, M. & Keskitalo, M. 2001. Terpeenien biosynteesi ja esiintyminen. Teoksessa Hyvärinen, H. (toim.) 2001. Kasvipäriset biomolekyylit – fenoliset yhdisteet ja terpenit. Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskuksen julkaisuja 100 sarja A. Jokioinen: MTT.
- Loreto, F., Förster, A., Dürr, M., Csiky, O. & Seufert, G. 1998. On the monoterpene emission under heat stress and on the increased thermotolerance of leaves of *Quercus ilex* L. fumigated with selected monoterpenes. *Plant, Cell and Environment* 21: 101 – 107.
- Loughrin, J. H., Manukian, A., Heath, R. R., Turlings, C. J. & Tumlinson, J. H. 1994. Diurnal cycle of emission of induced volatile terpenoids by herbivore-injured cotton plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 11836 – 11840.
- Loughrin, J. H., Manukian, A., Heath, R. R. & Tumlinson, J. H. 1995. Volatiles emitted by different cotton varieties damaged by feeding beet armyworm larvae. *Journal of Chemical Ecology* 21: 1217 – 1227.
- Loughrin, J. H., Potter, D. A., Hamilton-Kemp, T. R. & Byers, M. E. 1997. Diurnal emission of volatile compounds by Japanese beetledamaged grape leaves. *Phytochemistry* 45: 919 – 923.

- Martin, D. M., Fäldt, J. & Bohlmann, J. 2004. Functional characterization of nine Norway spruce TPS genes and evolution of gymnosperm terpene synthases of the TPS-d subfamily. *Plant Physiology* 135: 1908 – 1927.
- Mattiacci, L., Dicke, M. & Posthumus, M. A. 1995. beta-Glucosidase: an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92: 2036 – 2040.
- Mauricio, R., Rausher, M. D. & Burdick, D. S. 1997. Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? *Ecology* 78: 1301 – 1311.
- McCaskill, D. & Croteau, R. 1995. Monoterpene and sesquiterpene biosynthesis in glandular trichomes of peppermint (*Mentha X piperita*) rely exclusively on plastid-derived isopentenyl diphosphate. *Planta* 197: 49 – 56.
- McCall, P. J., Turlings, T. C. J., Loughrin, J. H., Proveaux, A. T. & Tumlinson, J. H. 1994. Herbivore-induced volatile emissions from cotton (*Gossypium hirsutum L.*) seedlings. *Journal of Chemical Ecology* 20: 3039 – 3050.
- McCloud, E. S. & Baldwin, I. T. 1997. Herbivory and caterpillar regurgitants amplify the wound-induced increases in jasmonic acid but not in *Nicotiana sylvestris*. *Planta* 203: 430 – 435.
- McGarvey, D. J. & Croteau, R. 1995. Terpenoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1015 – 1026.
- Miller, B., Oschinski, C. & Zimmer, W. 2001. First isolation of an isoprene synthase gene from poplar and successful expression of the gene in *Escherichia coli*. *Planta* 213: 483 – 487.
- Moran, N. A. & Whitham, T. G. 1990. Interspecific competition between root-feeding and leaf-galling aphids mediated by host-plant resistance. *Ecology* 71: 1050 – 1058.
- Norlund, D. A. 1987. Plant produced allelochemicals and their involvement in the host selection behaviour of parasitoids. Teoksessa Labeyrie, V., Fabres, G. & Lachaise, D. (toim.) *Insects – Plants. Proceedings of the 6th International Symposium on Insect – Plant relationships (PAU 1986)*. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers.
- Ode, P. J. 2006. Plant chemistry and natural enemy fitness: Effects on Herbivore and Natural Enemy Interactions. *Annual Review of Entomology* 51: 163 – 185.
- O'Donnell, P. J., Calvert, C., Atzorn, R., Wasternack, C., Leyser, H. M. O. & Bowles, D. J. 1996. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *Science* 274: 1914–1917.
- Ogura, K. & Koyama, T. 1998. Enzymatic aspects of isoprenoid chain elongation. *Chemical Reviews* 98: 1263 – 1276.
- Owens, M. K., Lin, C., Taylor Jr., C. A. & Whisenant, S. G. 1998. Seasonal patterns of plant flammability and monoterpene content in *Juniperus ashei*. *Journal of Chemical Ecology* 24: 2115 – 2129.

- Ozawa, R., Shimoda, T., Kawaguchi, M., Arimura, G., Horiuchi, J., Nishioka, T. & Takabayashi, J. 2000. Lotus japonicus infested with herbivorous mites emits volatile compounds that attract predatory mites. *Journal of Plant Research* 113: 427 – 433.
- Panda, N. & Kush, G. S. 1995. Host plant resistance to insects. Wallingford, U.K.: CAB International.
- Paré, P. W. & Tumlinson, J. H. 1996. Plant volatile signals in response to herbivore feeding. *Florida Entomologist* 79: 93 – 103.
- Paré, P. W. & Tumlinson, J. H. 1997a. De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants. *Plant Physiology* 114: 1161 – 1167.
- Paré, P. W. & Tumlinson, J. H. 1997b. Induced synthesis of plant volatiles. *Nature* 385: 30 – 31.
- Paré, P. W. & Tumlinson, J. H. 1999. Plant Volatiles as a Defense against Insect Herbivores. *Plant Physiology* 121: 325 – 331.
- Peñuelas, J. & Llusà, J. 2001. The complexity of factors driving volatile organic compound emissions by plants. *Biologia Plantarum* 44: 481 – 487.
- Peñuelas, J. & Llusà, J. 2004. Plant VOC emissions: making use of the unavoidable. *Trends in ecology and evolution* 19: 402 – 404.
- Pichersky, E. & Gershenzon, J. 2002. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 237 – 243.
- Pichersky, E., Noel J. P. & Dudareva, N. 2006. Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. *Science* 311: 808 – 811.
- Rausher, M. D. 1996. Genetic analysis of coevolution between plants and their natural enemies. *Trends in Genetics* 12: 212 – 217.
- Rodríguez-Concepción, M. & Boronat, A. 2002. Elucidation of the methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics. *Plant Physiology* 130: 1079 – 1089.
- Rowell-Rahier, M. & Pasteels, J. M. 1992. Third trophic level influences of plant allelochemicals. Teoksessa Rosenthal, G. A. & Berenbaum, M. R. (toim.) *Herbivores. Their interactions with secondary plant metabolites. Volume II. Ecological and evolutionary processes.* San Diego: Academic Press, inc.
- Röse, U. S. R., Manukian, A., Heath, R. R. & Tumlinson, J. H. 1996. Volatile semiochemicals released from undamaged cotton leaves – a systemic response of living plants to caterpillar damage. *Plant Physiology* 111: 487 – 495.
- Sabelis, M. W. & de Jong, M. C. M. 1988. Should all plants recruit bodyguards? Conditions for a polymorphic ESS of synomone production in plants. *Oikos* 53: 247 – 252.

Sandhall, Å. & Hedqvist K-J. 1976. Pistiäiset. Pistiäisten ulkonäkö, kehitys, elintavat ja käyttäytyminen. Porvoo: WSOY.

Sandhall, Å. & Lindroth C. H. 1976. Kovakuoriaiset. Kovakuoriaisten ulkonäkö, kehitysvaiheet, elintavat ja käyttäytyminen. Porvoo: WSOY.

Scalliet, G., Lionnet, C., Le Behec, M., Dutron, L., Magnard, J. L., Baudino, S., Bergognoux, V., Jullien, F., Chambrier, P., Vergne, P., Dumas, C., Cock, J. M. & Huguency, P. 2006. Role of petal-specific orcinol O-methyltransferases in the evolution of rose scent. *Plant Physiology* 140: 18 – 29.

Scutareanu, P., Drukker, B., Bruin, J., Posthumus, M. A. & Sabelis, M. W. 1997. Volatiles from psylla-infested pear trees and their possible involvement in attraction of anthocorid predators. *Journal of Chemical Ecology* 23: 2241 – 2260.

Sharkey, T. D. 1996. Emission of low molecular mass hydrocarbons from plants. *Trends in Plant Science* 1: 78 – 82.

Shulaev, V., Silverman, P. & Raskin, I. 1997. Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature* 385: 718–721.

Slama, K. 1987. Insect hormones and bioanalogues in plants. Teoksessa Labeyrie, V., Fabres, G. & Lachaise, D. (toim.) *Insects – Plants. Proceedings of the 6th International Symposium on Insect – Plant relationships (PAU 1986)*. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers.

Southwood, T. R. E. 1987. Plant variety and its interaction with herbivorous insects. Teoksessa Labeyrie, V., Fabres, G. & Lachaise, D. (toim.) *Insects – Plants. Proceedings of the 6th International Symposium on Insect – Plant relationships (PAU 1986)*. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers.

Stenberg, J. 2006. *Filipendula*. johan.stenberg@emg.umu.se 24.4.2006.

Stenberg, J., Heijari, J., Holopainen, J. K. & Ericson, L. 2007. Presence of *Lythrum salicaria* enhances the bodyguard effects of the parasitoid *Asecodes mento* for *Filipendula ulmaria*. *Oikos*. 116: 482 – 490.

Stenberg, J., Witzell, J. & Ericson, L. 2006. Tall herb herbivory resistance reflects historic exposure to leaf beetles in a boreal archipelago age-gradient. *Oecologia* 148: 414 – 425.

Städler, E. 1992. Behavioral responses of insects to plant secondary compounds. Teoksessa Rosenthal, G. A. & Berenbaum, M. R. (toim.) *Herbivores. Their interactions with secondary plant metabolites. Volume II. Ecological and evolutionary processes*. San Diego: Academic Press, inc.

Takabayashi, J., Dicke, M. & Posthumus, M. A. 1991. Induction of indirect defence against spider-mites in uninfested lima bean leaves. *Phytochemistry* 30: 1459 – 1462.

Takabayashi, J., Dicke, M. & Posthumus, M. A. 1994. Volatile herbivore-induced terpenoids in plant-mite interactions: variation caused by biotic and abiotic factors. *Journal of Chemical Ecology* 20: 1329 – 1354.

Takabayashi, J. S., Takahashi, S., Dicke, M. & Posthumus, M. A. 1995. Developmental stage of the herbivore *Pseudaletia seperata* affects the production of herbivore-induced synomone by corn plants. *Journal of Chemical Ecology* 21: 273 – 287.

Takabayashi, J. & Dicke, M. 1996. Plant-carnivore mutualism through herbivore-induced carnivore attractants. *Trends in Plant Science* 1: 109 – 113.

Tasin, M., Anfora, G., Ioriatti, C., Carlin, S., Cristofaro, A., Schmidt, S., Bengtsson, M., Versini, G. & Witzgall, P. 2005. Antennal And Behavioral Responses Of Grapevine Moth *Lobesia botrana* Females To Volatiles From Grapevine. *Journal of Chemical Ecology* 31: 77 – 87.

Tumlinson, J. H., Lewis, W. J. & Vet, L. E. M. 1993. How parasitic wasps find their hosts. *Scientific American* 268: 100 – 106.

Tuovinen, T. 1997. Hedelmä- ja marjakasvien tuhoeläimet. Kasvinsuojeluseuran julkaisu n:o 89. Vaasa: Ykkös-Offset Oy.

Tuovinen, T., Parikka, P. & Härd, E. (toim.) 2003. Mansikan taudit, tuhoeläimet ja hyötyeliöt. Tasapainoinen kasvinsuojelu-tunnistusopas 4. Kasvinsuojeluseuran julkaisuja n:o 98. Helsinki: Kasvinsuojeluseura r.y.

Turlings, T. C. J., Tumlinson, J. H. & Lewis, W. J. 1990. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* 250: 1251 – 1253.

Turlings, T. C., Röse, U. S., Lewis, W. J., Loughrin, J. H., McCall, P. J. & Tumlinson, J. H. 1995. How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92: 4169 – 4174.

Turner, G. W., Gershenzon, J. & Croteau, R. B. 2000. Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. *Plant Physiology* 124: 655 – 663.

van Dam, N. M. & Baldwin, I. T. 1998. Costs of jasmonate-induced responses in plants competing for limited resources. *Ecological Letters* 1: 30 – 33.

Van Poecke, R. M. P., Posthumus, M. A. & Dicke, M. 2001. Herbivore-induced volatile production by *Arabidopsis thaliana* leads to attraction of the parasitoid *Cotesia rubecula*: chemical, behavioral, and gene-expression analysis. *Journal of Chemical Ecology* 27: 1911 – 1928.

Venzon, M., Janssen, A. & Sabelis, M. W. 1999. Attraction of a generalist predator towards herbivore-infested plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 93: 305 – 314.

Vet, L. E. M. & Dicke, M. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology* 37: 141 – 172.

Vet, L. E. M., de Jong, A.G., Franchi, E. & Papaj, D. R. 1998. The effect of complete versus incomplete information on odour discrimination in a parasitic wasp. *Animal Behaviour* 55: 1271 – 1279.

Vick, B. A. & Zimmerman, D. C. 1984. Biosynthesis of jasmonic acid by several plant species. *Plant Physiology* 75: 458 – 461.

Vickery, M. L. & Vickery, B. 1981. *Secondary plant metabolism*. Lontoo: The Macmillan Press Ltd.

Vinson, S. B., Elzen, G. W. & Williams, H. J. 1987. The influence of volatile plant allelochemicals on the third trophic level (parasitoids) and their herbivorous hosts. Teoksessa Labeyrie, V., Fabres, G. & Lachaise, D. (toim.) *Insects – Plants. Proceedings of the 6th International Symposium on Insect – Plant relationships (PAU 1986)*. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers.

Visser, J. H. 1986. Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 31: 121 – 144.

Wasternack, C. & Parthier, B. 1997. Jasmonate-signalled plant gene expression. *Trends in Plant Science* 2: 302 – 307.

Yan, Z. & Wang, C. 2006. Wound-induced green leaf volatiles cause the release of acetylated derivatives and a terpenoid in maize. *Phytochemistry* 67: 34 – 42.