ردیابی گیاهان بیمار از طریق واکاوی ترکیبات آلی فرار

مرضیه ملکی[۱] و رضا مستوفی‌زاده قلمفرسا[۲]*

۱- دانش‌آموخته کارشناسی گیاه‌پزشکی، بخش گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۲- دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، بخش گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت : ۱۳۹۱/۰۶/۲۶ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۱/۱۰/۰۵

ملکی، م. و مستوفی‌زاده قلمفرسا، ر. ۱۳۹۱. ردیابی گیاهان بیمار از طریق واکاوی ترکیبات آلی فرار. *دانش‌بیماری‌شناسی‌گیاهی* ۲(۱): ۲۴-۱۶.

چکیده

امروزه با توجه به نیاز به بهبود کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی، مسئله حفاظت از گیاهان بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. یکی از راه‌های رسیدن به مدیریت موفقیت‌آمیز بیماری‌های گیاهی یافتن راهی برای شناسایی و ردیابی دقیق بیمارگرهای گیاهی است. از روش‌هایی که در تشخیص بیماگرهای گیاهی به کار می‌رود، واکاوی ترکیبات آلی فرّار منتشر شده از گیاهان بیمار است. در این روش باید به اختصاصی بودن ترکیبات آلی فرار منتشر شده، عوامل مؤثر بر شناسایی بیماری از طریق این ترکیبات و روش‌های مؤثر بر تعادل این ترکیبات توجه نمود. به این منظور ابتدا این ترکیبات باید جمع‌آوری شده، سپس واکاوی شوند. مناسب‌ترین روش برای واکاوی این ترکیبات در محصولات کشاورزی نمونه‌برداری پویا به همراه انجام کروماتوگرافی گازی و استفاده از ردیاب مناسب است. اگرچه به دلیل هزینه زیاد تجهیزات، استفاده از این روش در کشاورزی دشوار است، اما با استفاده از روش‌ها و برآوردهای آماری می‌توان این هزینه را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: آلی، بیمار، فرار، کروماتوگرافی، گیاه

* مسئول مکاتبه، پست الکترونیک: rmostofi@shirazu.ac.ir

مقدمه

هم‌اکنون جمعیت جهان حدود هفت میلیارد نفر است و تا سال ۲۰۵۰ به هشت تا ده میلیارد نفر خواهد رسید، بنابراین فراهم کردن مهم‌ترین نیاز این جمعیت، یعنی غذا و امنیت غذایی، بسیار حائز اهمیت است. از آن‌جایی که بیماری‌های گیاهی و آفات، سالانه حدود۳۰-۴۰٪ از محصول را از بین می‌برند، کنترل آن‌ها برای دست‌یابی به این هدف بسیار مهم است (آگریوس، ۲۰۰۵). برای مقابله با بیماری‌ها از روش‌هایی مانند شیوه‌های جدید کشت، به‌نژادی گیاهی، زیست فناوری، کنترل زیستی و سموم شیمیایی استفاده می‌شود. در صورتی این روش‌ها مؤثر و عملی واقع می‌شوند که بتوان عامل بیماری را تشخیص داد. در این صورت وقتی هدف، تشخیص بیماری در یک گیاه است، این سؤال پیش می‌آید که چگونه می‌توان در گیاهی که قادر به تکلم نیست، وجود بیماری را تشخیص داد. به همین منظور در سال ۱۹۷۸ اصطلاح "رویکرد سخن‌گویی گیاه" (Speaking plant approach) ابداع شد، که نشان دهنده مدیریت محصول بر پایه محاسبات حالات هر گیاه است. طبق عقیده آن‌ها، در صورتی که محصولات کشاورزی به عنوان بهترین نشانگر و حس‌گر محیط خود در نظر گرفته شوند، پس حس‌گرهایی که قادر به جذب نشانه‌های ساطع شده از این محصولات باشند، می‌توانند حرف محصولات را بفهمند و اطلاعات خوبی درباره موقعیت محصول ارائه کنند. مطالعات زیادی نشان داده که وقتی گیاه در معرض بیماری قرار می‌گیرد ترکیبات آلی فرار (Volatile organic compound) از خود ساطع می‌کند. اگرچه این انتشار شبیه سخنرانی نیست ولی در صورت تفسیر درست می‌توان از آن برای شناسایی و کنترل بیماری‌های گیاهی استفاده کرد (Jansen *et al*., 2011).

۱- نحوه انتشار ترکیبات آلی فرار

تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که این ترکیبات در اثر بیماری‌های عفونی و غیرعفونی از گیاه ساطع می‌شوند. تأثیر عوامل محیطی مولد بیماری‌های غیرعفونی به گونه‌ای است که افزایش دما باعث افزایش میزان آنزیم‌ها، افزایش فشار بخار ترکیبات آلی فرار و افزایش سرعت انتشار آن‌ها می‌شود. اثر خشکی به صورت تولید الکل و آلدئید، شدت نور و شرایط غیرهوازی به صورت افزایش انتشار اتانول، متانول و استالدئید است. اشعه ماوراءبنفش باعث افزایش و کمبود مواد غذایی باعث کاهش انتشار این ترکیبات می‌شوند (Jansen *et al*., 2011).

همچنین گیاهان پس از ارتباط با بیمارگرهایی مانند *Sclerotium rolfsii*، *Marssonina betulae*، *Ganoderma boninense*، *Melampsora epitea*، *Botrytis cinerea*، *Erysiphe orontii*، *Erysiphe flexuosa*، *Guignardia aesculi*، *Phytophthora infestans*، *Alternaria brassicae*، *Pythium aphanidermatum*، *Trichoderma harzianum*، *Erwinia amylovora*، *Agrobacterium vitis*، *Pseudomonas syringae*، Tobacco mosaic virus (TMV) و *Meloidogyne incognita* ترکیبات آلی فرار از خود منتشر می‌کنند (Jansen *et al*., 2011; Johne *et al*., 2006).

۲- اختصاصی بودن ترکیبات آلی فرار

مطالعات انجام شده ثابت کرده که بعضی از ترکیبات آلی فرار ساطع شده از گیاه در اثر بیماری‌ها اختصاصی و بعضی دیگر غیراختصاصی هستند. در زمینه انتشار ترکیبات غیراختصاصی، یکسان بودن ترکیبات آلی فرار ساطع شده از بیماری‌های واگیردار و غیرواگیردار ثابت شده است. بیشتر ترکیبات آلی فرار منتشر شده از گوجه فرنگی تیمار شده با *Botrytis cinerea* و نمونه تیمار شده با گاز ازن (جدول ۱) با یکدیگر مشابه هستند (Jansen *et al*., 2009).

همچنین انتشار ترکیبات آلی فرار یک‌سان از گیاهان مختلف تحت آلودگی یک‌سان هم گزارش شده است. مانند آلودگی به ویروسTMV در توتون و گوجه فرنگی باعث افزایش متیل سالیسیلات در آن‌ها می‌شود. باید به این نکته توجه کرد که انتشار ترکیبات یک‌سان تحت تنش‌های مختلف احتمالاً به خاطر واکنش کلی گیاه توسط سازوکارهای مشابه است (Shulaev *et al*., 1997; Deng *et al*., 2004).

در زمینه اختصاصی بودن این ترکیبات اولین استدلالی که حضور ترکیبات آلی خاص را در رابطه با گیاه- بیمارگر تقویت می‌کند، مطالعات مولکولی است. شواهد مولکولی نشان داده که فعل و انفعالات حیاتی مختلف باعث خروج سیگنال‌های ویژه از گیاهان می‌شود. به عنوان مثال دفاع وابسته به اسید سالسیلیک در واکنش به بیمارگرهای زیواپرور (Biotrophic) و دفاع وابسته به اسید جاسمونیک و اتیلن در واکنش به بیمارگرهای مرده‌پرور(Necrotrophic) و حشرات گیاه‌خوار فعال می‌شود (Koornneef & Pieterse, 2008). تحقیقات نشان داده که در ذرت ترکیبات آلی فرار ساطع شده ناشی از تغذیه گیاه‌خواران وقتی گیاه آلوده به بیمارگرهای مرده‌پرور هم باشد، حدود ۵۰٪ کاهش می‌یابد. زیرا اسید سالسیلیک تولید شده به دلیل واکنش‌های منفی باعث کاهش تولید اسید جاسمونیک می‌شود (Rost'as *et al*., 2006).

استدلال دیگری که به کار می‌رود، حاصل مطالعات روی گیاه‌خواران است. در حضور حشرات گیاه‌خوار ترکیبات آلی فرار ساطع شده از گیاه تغییر می‌کنند. بسیاری از پارازیتوئیدهای حشرات گیاه‌خوار و کنه‌ها از ترکیبات آلی فرار منتشر شده از گیاه در اثر تحریکات گیاه‌خواران، برای پیدا کردن میزبان و مستقر شدن روی گیاه استفاده می‌کنند. آزمایشی که روی زنبورهای پارازیتوئید *Cardiochiles nigriceps* صورت گرفته نشان داد که این زنبور با استفاده از ترکیبات آلی فرار ساطع شده از گیاه، می‌تواند گیاهان آلوده به میزبانش (*Heliothis virescens*) را از گیاه آلوده به *Helicoverpa zea* که یک گونه گیاه‌خوار نزدیک به میزبان ولی غیرمیزبان است، تشخیص دهد (Paré & Tumlinson, 1999).

وقتی سیب‌زمینی در برابر تنش‌های مختلف *Phytophthora infestans*، *Tetranychus uriticae*، *Frankliniella occidentalis*، *Myzus persica* و *Spodoptera exigua* قرار می‌گیرد ترکیبات آلی فرار مختلفی ساطع می‌کند. گرچه این ترکیبات حاوی مواد اصلی یکسان مانند متیل سالیسیلات، (E)-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene (DMNT)، (E,E)-4,8,12-trimethyl-1.3.7.11-tridecatetraene (TMTT) و لیپوکسی‌ژناز Lipoxygenase (LOX) بودند اما هر ترکیب نسبتاً دارای خاصیت منحصر به فردی بود که با استفاده از واکاوی اجزای بنیادی قابل دیدن هستند (Jansen *et al*., 2011).

جدول ۱. ترکیبات آلی فرار مشابه منتشر شده ازگوجه‌فرنگی تیمار شده با *Botrytis cinerea* و گاز ازن (Jansen *et al*., 2009).

گروه	ترکیب آلی فرار
Aldehydes	(E)-2-hexanal
Alcohols	(z)-3-hexenol
Homoterpenes	(E-E)-4,8,12-trimethyl-1,3,7,11-tridecatetraene
Sesquiterpenes	β-caryophyllen, α –copaene
Monoterpene	Linoal, α–pinene, α- terpinene
Phenolics	Methyl salicylate

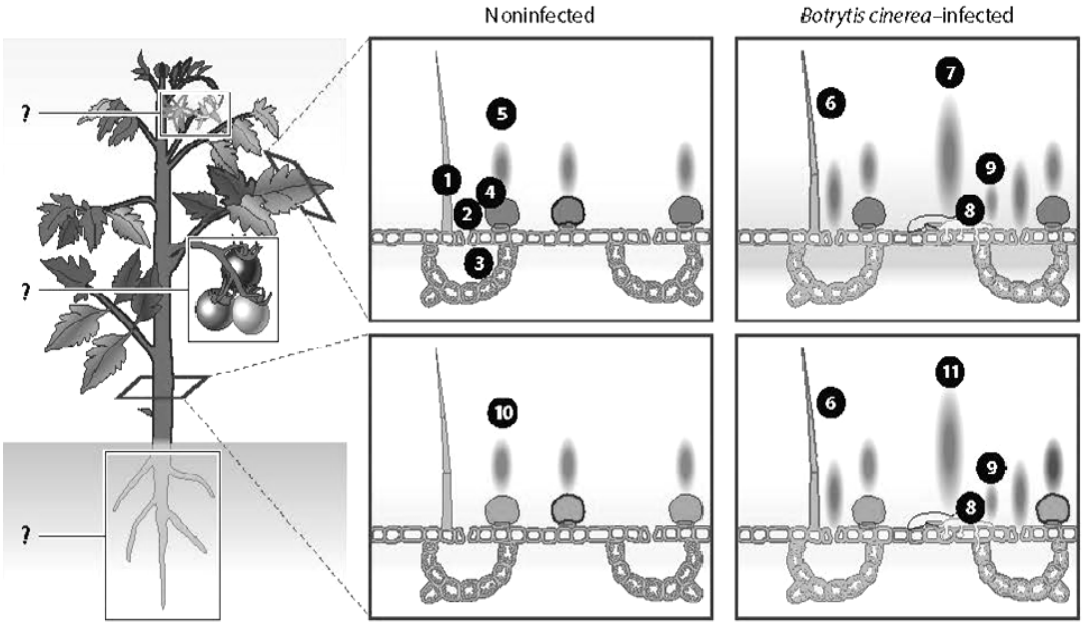
۳- عوامل مؤثر در شناسایی بیماری‌ها از طریق ترکیبات آلی فرار

از عوامل موثر در تولید این ترکیبات نوع ساختمان گیاهی است. به عنوان مثال آسیب به غشای سلولی باعث انتشار موضعی تعداد زیادی محصولات لیپوکسی‌ژناز (LOX) در مکان آسیب دیده می‌شود. این محصولات از شکاف C_{18} اسیدهای‌چرب، در حضور اکسیژن و آنزیم‌ها به دست می‌آیند. بنابراین از این محصولات به عنوان نشانگر بیماری‌هایی که در آن غشای سلولی آسیب می‌بیند، می‌توان استفاده کرد. همچنین آسیب موضعی به کرک‌های غده‌ای باعث انتشار ترپن‌های ذخیره شده می‌شود. ترکیبات آلی فرار در هر کرک بستگی به موقعیت آن در گیاه دارد. مثلاً در گوجه فرنگی نسبت β-caryophylen درکرک‌های ساقه بیشتر از کرک‌های برگ است(شکل ۱). که این باعث ایجاد تفاوت بین کرک‌های آسیب دیده می‌شود. همچنین آسیب لحظه‌ای به دنبال تنش ناشی از بیماری باعث افزایش متیل سالیسیلات در گیاه می‌شود. بنابراین متیل سالیسیلات به عنوان نشانگر وجود تنش در گیاه آسیب دیده است (Jansen *et al*., 2011; Jansen *et al*., 2009).

علاوه‌بر مواد شیمیایی موجود در ترکیبات آلی فرار مدت زمان بین اولین پاسخ و پاسخ تأخیری و شدت آسیب هم در میزان انتشار این ترکیبات اثرگذار است. مثلاً در گوجه فرنگی آلوده به TMV، ۸/۵ ساعت پس از تلقیح، ترشح متیل سالسیلات آغاز و ۴۸ ساعت پس از تلقیح میزان آن به بالاترین میزان خود (۲۳۴/۶ نانوگرم بر گیاه) می‌رسد (Huang *et al*., 2003).

۴- عوامل موثر بر تعادل گازی ترکیبات آلی فرار گیاهان

عواملی که روی تعادل ترکیبات ساطع شده از گیاه اثر گذار هستند، شامل جابه‌جایی ترکیبات آلی فرار توسط انتقال هوا، واکنش با OH، NO_3 و O_3 در لایه‌های پایین اتمسفر (که باعث تجزیه آن‌ها می‌شود)، جذب به سطوح مختلف، حل شدن در اجسام آبی و جذب ترکیبات آلی فرار توسط کوتیکول و روزنه‌ها است (Jansen *et al*., 2011). برای جذب ترکیبات آلی فرار توسط روزنه باید غلظت آن‌ها در دهانه روزنه کمتر از هوای اطراف باشد. همچنین ترکیبات آلی فرار قطبی مانند الکل‌ها می‌توانند در آب موجود اطراف دهانه روزنه حل شوند.



شکل ۱. انتشار ترکیبات آلی فرار از گوجه فرنگی غیر آلوده و نمونه آلوده به *Botrytis cinerea* . ۱- کرک غیر غده‌ای ۲- روزنه، ۳- دهانه روزنه، ۴-کرک غده‌ای، ۵- انتشار از کرک، ۶- انتشار از سیستم، ۷- انتشار از کرک آسیب دیده، ۸- آلودگی *B. cinerea*، ۹- انتشار از غشای سلولی آسیب دیده، ۱۰- انتشار از کرک ساقه‌ای، ۱۱- انتشار از کرک ساقه آسیب دیده. علامت سؤال نشانگر بخشی از گیاه است که انتشار ترکیبات آلی فرار ناشی از *B. cinerea* نامعلوم است (Jansen *et al*., 2011).

۵- جمع‌آوری ترکیبات آلی فرار

جمع‌آوری ترکیبات ساطع شده از گیاه با پیش‌تغلیظ گاز موجود در هوا به دست می‌آید. پیش‌تغلیظ ترکیبات آلی فرار به دو صورت پیش‌تغلیظ پویا و پیش‌تغلیظ ایستا صورت می‌گیرد. در پیش‌تغلیظ پویا، هوا به طور فعال به خشاب‌هایی پمپ می‌شود. در این خشاب‌ها مواد تله‌ای ترکیبات مذکور را به دام می‌اندازد. در این روش از فیبرهایی مانند Poly dimethyl siloxane (برای غلیظ کردن ترکیبات فرار غیرقطبی) استفاده می‌شود و در پیش‌تغلیظ ایستا، چون مواد در معرض هوا قرار می‌گیرند به دام انداختن ترکیبات آلی فرار به فرآیند پخش گسترده بستگی دارد. در این روش از موادی مانند پلیمر متخلخل تناکس (Tenax) برای غلیظ کردن الکل‌ها و آلدئیدها و جاذب‌های کربن‌دار استفاده می‌کنند (Jansen *et al*., 2011). موادی که برای پیش‌تغلیظ به کار می‌روند باید سطح ساکن و یک‌سان داشته باشند، جذب و

جذب سطحی ترکیبات آلی فرار مورد نظر کامل و سریع باشد و همچنین میل ترکیبی کمی با آب داشته باشند (Jansen *et al*., 2009).

۶- جداسازی و شناسایی ترکیبات آلی فرار

برای جداسازی ترکیبات آلی فرار از کروماتوگرافی گازی (Gas chromatography= GC) استفاده می‌کنند. این روش از ۲ فاز تشکیل شده، فاز متحرک یا فاز گازی که در آن اغلب از یک گاز بی‌اثر مانند هلیوم، نیتروژن، آرگون و دی‌اکسیدکربن استفاده می‌شود و فاز ثابت، که در آن از یک جسم جامد جاذب استفاده می‌شود که در دیواره داخلی ستون قرار گرفته و یا به صورت پوششی روی سطح گلوله‌های شیشه‌ای یا فلزی قرار داده شده است. در این روش، جداسازی اجزای یک مخلوط، متناسب با میزان توزیع اجزای تشکیل دهنده آن بین فاز متحرک گازی و فاز ساکن جامد یا مایع صورت می‌گیرد. هر مولکولی که سست‌تر جذب ستون شده باشد زودتر و جزئی که قدرت جذب بیشتری با ستون دارد دیرتر از ستون خارج می‌شود. برای شناسایی ترکیبات آلی فرار از ردیاب‌هایی مانند (Flame ionization (FID، (Solid phase micro extraction (SPME، (Mass spectrometer(MS، (Electronic noses(E-nose، گزارش‌گرهای زیستی زیست‌تاب (Bioluminescent bio reporter) و حس‌گر زیستی (Biosensor) استفاده می‌کنند. FID با شناسایی یون‌ها، MS با بررسی نسبت جرم به بار مولکول‌ها با استفاده از میدان الکترومغناطیسی، E-nose با نشان دادن میزان شباهت و تفاوت نمونه نسبت به یک استاندارد خاص و گزارش‌گرهای زیستی با تولید نورهای قابل دیدن در واکنش به ماده شیمیایی یا عوامل فیزیکی خاص، ترکیبات آلی فرار را شناسایی می‌کنند. حس‌گرهای زیستی، حس‌گرهای شیمیایی هستند که از عناصر با حساسیت بالا مانند آنزیم، آنتی‌بادی و اسید نوکلئیک، ریزجانداران یا سلول برای شناسایی ترکیب آلی فرار استفاده می‌کنند (Jansen *et al*., 2011; Jansen *et al*., 2009). امروزه از یک جانور یا بخشی از اندام یک جانور در حس‌گرهای زیستی استفاده می‌شود. به عنوان مثال از شاخک سوسک کلرادو در حس‌گرهای زیستی برای تشخیص ترکیبات آلی فرار ساطع شده از سیب‌زمینی آلوده به *Phytophthora infestans* استفاده می‌شود (Jansen *et al*., 2011). همچنین *Cameraria ohridella* به وسیله شاخک‌های خود قادر به شناسایی ترکیباتی مانند 1-octen-3-ol، 3-octanone و decanal ساطع شده از قارچ‌های *Erysiphe flexuosa*، *Guignardia aesculi* است

(Johne *et al*., 2006). از زنبورهای آموزش دیده که به ترکیبات 3-octanane، myrcene، cadaverine و potrescine حساس هستند، می‌توان برای شناسایی ترکیبات فرار ساطع شده از گیاه استفاده کرد (Jansen *et al*., 2009).

نتیجه

تحقیقات نشان داده که از ترکیبات آلی منتشر شده از گیاهان می‌توان برای کنترل آفات و بیماری‌ها هم استفاده کرد. از برگ‌های لوبیا، *Phaseolus vulgaris* در هنگام واکنش فوق حساسیت به *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* ترکیباتی ضد باکتری مانند (E)-Z-hexenal و (Z)-3-hexenol آزاد می‌شوند (Huang *et al*., 2003). ترکیبات فرار منتشر شده از ذرت مانند هگزانال و اکتانال شدیداً از رشد شعاعی قارچ *Aspergillus parasiticus* روی محیط کشت جامد جلوگیری می‌شود (Huang *et al*., 2003). در گیاه نخود آلوده به *Sclerotium rolfsii* ترکیبات آلی مانند محصولات اکسی‌ژناز، ترپنوئیدها، ایندول و متیل سالسیلیک اسید ترشح می‌کند. در این گیاه (Z)-3-hexenyl acetate، linalool شدیداً از رشد قارچ روی محیط کشت جامد جلوگیری می‌کند (Huang *et al*., 2003). ماده‌ی فرار 5-ethyl-2(5h)- furanone از گیاه *Aesculus hippocastanum* آلوده به *Erysiphe flexuosa* و *Guignardia aesculi* ترشح می‌شود که خاصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی دارد (Johne *et al*., 2006). وجود ترکیبات 1-octen-3-ol، 3-octanone و decanal ساطع شده ازبرگ‌های آلوده *Aesculus hippocastanum* به بیمارگرهای *Erysiphe flexuosa* و *Guignardia aesculi* باعث کاهش تخم گذاری *Cameraria ohridella* می‌شود، زیرا حشرات ماده از این ترکیبات به عنوان نشانگرهایی برای تشخیص آلودگی قارچی برگ‌ها استفاده می‌کنند، در نتیجه روی برگ‌های آلوده تخم گذاری نمی‌کند. بنابراین از این ترکیبات می‌توان در کنترل این حشره استفاده کرد (Johne *et al*., 2006). در تحقیقاتی که تاکنون صورت گرفته بیشتر روی ترکیبات با وزن مولکولی متوسط در طیف C_4–C_5 کار شده، اما می‌توان روی ترکیبات با وزن مولکولی کم هم کار کرد (Jansen *et al*., 2009).

سیستم‌های ردیابی که گیاهان بیمار را تشخیص می‌دهد به کشاورزان امکان عمل‌کرد سریع را در مقابله با بیماری‌ها و آفات می‌دهد. شناسایی عوامل بیماری باعث رشد چنین سیستمی می‌شود. با توجه به این که گیاهان بیمار انواع ترکیبات آلی فرار را در مقادیر متفاوت از خود ساطع می‌کنند، شناسایی بیماری‌ها فقط بر اساس ترکیبات آلی فرار ساطع شده کاری مشکل است، اما می‌توان از آن‌ها استفاده کرد. هم‌چنین به دلیل توجه بیشتر به محصولات ارگانیک گرایش به سمت ردیابی گیاهان سالم به صورت تجارتی بیشتر شده است، بنابراین نمونه برداری پویا همراه با گازکروماتوگرافی و استفاده از ردیاب

مناسب بهترین روش است، گرچه استفاده از چنین وسایلی به دلیل هزینه زیاد همچنان دارای مشکلاتی خواهد بود، اما با استفاده از روش‌ها و برآوردهای آماری می‌توان این هزینه را کاهش داد.

منابع

آگریوس، جی. ان. ۲۰۰۵. بیماری‌شناسی گیاهی. جلد اول. ک.، ایزد پناه، م. اشکان، ض. بنی‌هاشمی، ح. رحیمیان و و. میناسیان (مترجمین). انتشارات آییژ، ۱۳۸۹، تهران، ۶۷۸ ص.

Deng, C., Zhang, X., Zhu, W. & Qian, J. 2004. Investigation of tomato plant defense response to tobacco mosaic virus by determination of methyl salicylate with SPME-capillary GC-MS. *Chromatographia* 59:263–67.

Huang, J., Cardoza, Y.J., Schmelz, A., Raina, R., Engelberth, J. & Tumlinson, J. H. 2003. Differential volatile emissions and salicylic acid levels from tobacco plants in response to different strains of *Pseudomonas syringae*. *Planta* 5:767–75.

Jansen, R.M.C., Hofstee, J.W., Wildt ,J., Verstappen, F.W.A., Bouwmeester, H.J. & van Henten, E.J. 2009. Induced plant volatiles allow sensitive monitoring of plant health status in greenhouses. *Plant Signal. Behav.* 4:824–29.

Jansen, R.M.C., Wildt, J., Kappers, I.F., Bouwmeester, H.J., Hofstee, J.W. & van Henten, E. J. 2011. Detection of diseased plants by analysis of volatile organic compound emission. *Annual Rev. Phytopathol*. 49:157–174.

Johne, A. B., Weißbecker, B. & Schütz, S. 2006. Microorganisms on *Aesculus hippocastanum* – olfactory perspective of *Cameraria ohridella* (Deschka & Dimic). *Mitteilung. Deutsch. Gesellsch. Allgem. Ang. Entomol.* 15:147−151.

Koornneef, A., Pieterse, C.M.J. 2008. Cross talk in defense signaling. *Plant Physiol.* 146:839– 44.

Paré ,P.W. & Tumlinson, J.H. 1999. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiol*. 121:325-31.

Rost´as, M., Ton, J., Mauch-Mani, B. & Turlings, T.C.J. 2006. Fungal infection reduces herbivore-induced plant volatiles of maize but does not affect naive parasitoids. *J. Chem. Ecol.* 32:1897–909.

Shulaev, V., Silverman, P. & Raskin, I. 1997. Airborne signaling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature* 385:718–21.