



UNIwersytet Technologiczno-Przyrodniczy
IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH
W BYDGOSZCZY

ROZPRAWY NR 131

Dariusz Piesik

**WPŁYW ŻEROWANIA LARW I CHRZĄSZCZY
SKRZYPIONKI ZBOŻOWEJ (*Oulema melanopus* L.,
COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)
NA WYDZIELANIE LOTNYCH
ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH PRZEZ PSZENICĘ
(*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.)
ORAZ REAKCJA IMAGINES
NA TE KOMPONENTY**

BYDGOSZCZ – 2008

REDAKTOR NACZELNY
prof. dr hab. inż. Janusz Prusiński

REDAKTOR DZIAŁOWY
dr hab. Ewa Spychaj-Fabisiak, prof. UTP

OPINIODAWCY
prof. zw. dr hab. Bogusław Buszewski
prof. dr hab. Jan Nawrot

OPRACOWANIE REDAKCYJNE I TECHNICZNE
mgr Michał Górecki, mgr inż. Daniel Morzyński

© Copyright
Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego
Bydgoszcz 2008

ISSN 0209-0597

Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, tel. (052) 3749482, 3749426
e-mail: wydawucz@utp.edu.pl <http://www.utp.edu.pl/~wyd>

Wyd. I. Nakład 120 egz. Ark. aut. 5,5. Ark. druk. 5,5.
Oddano do druku i druk ukończono w czerwcu 2008 r.
Zakład Poligraficzny ARGONEX
Bydgoszcz, ul. Przemysłowa 30

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP I CEL PRACY	5
2. PRZEGLĄD LITERATURY	6
2.1. Światowa produkcja pszenicy	6
2.2. Uszkodzenia pszenicy przez skrzypionkę zbożową	7
2.3. Niepożądane efekty chemicznej metody ochrony roślin	8
2.4. System obronny roślin	10
2.5. Rozwój metod zbierania VOC i technik chromatograficznych	10
2.6. Lotne związki organiczne (VOC)	11
3. MATERIAŁ I METODY BADAŃ	15
3.1. Laboratoryjna uprawa roślin	15
3.2. Hodowla owadów	15
3.3. Żerowanie owadów	15
3.4. Zbieranie VOC	16
3.5. Analiza chromatograficzna VOC	17
3.6. Obserwacje zachowania się owadów	17
3.7. Syntetyczne VOC	20
3.8. Wpływ syntetycznych GLV na zachowanie chrząszczy	20
3.9. VOC uwalniane z uszkodzonych roślin	22
3.10. Analiza statystyczna - walidacja	23
4. WYNIKI	27
4.1. Analiza chromatograficzna	27
4.2. Reakcja chrząszczy na obecność GLV	30
4.3. Analiza niektórych parametrów uzyskanych z TSLC dla GLV	32
4.4. Reakcja chrząszczy na obecność pozostałych VOC z wykorzystaniem TSLC	32
4.5. Reakcja chrząszczy na obecność VOC z roślin uszkodzanych	33
4.6. Analiza skupień dla VOC.....	33
5. DYSKUSJA	35
6. WNIOSKI	39
LITERATURA	40
RYSUNKI	51
TABELE	75
STRESZCZENIA	87

1. WSTĘP I CEL PRACY

Rośliny włączyły w swój mechanizm obronny wiele sposobów chroniących je przed atakiem roślinożerców i patogenów. Produkują szereg lotnych metabolitów, które pozwalają na specyficzny język komunikacyjny w środowisku z przedstawicielami tego samego gatunku, a także z innymi organizmami. Lotne związki mogą być uwalniane przez kwiaty i są wtedy rozpatrywane jako atraktanty dla zapylaczy. Z drugiej strony są również emitowane z części wegetatywnych roślin jako reakcja na atak roślinożerców, pełniąc rolę informacji chemicznej dla wrogów naturalnych agresora. Chemiczna komunikacja między roślinożercą a rośliną przez długi czas była przyjmowana ze sceptycyzmem. Obecnie wiadomo, że GLV¹, powszechnie występujące C₆ alkohole, aldehydy czy octany odgrywają zasadniczą rolę w systemie obronnym roślin.

W odniesieniu do większości analizowanych roślin można zauważyć pewne podobieństwa w wydzielaniu lotnych związków jako następstwo ataku ze strony roślinożercy, a dotyczą one ich biosyntetycznej ścieżki wytwarzania. Informacja chemiczna może zawierać wskazówki, że rośliny produkują toksyczne komponenty równocześnie z wydzielaniem lotnych związków.

Zaobserwowano zdolność owadów do rozróżniania VOC² i lokalizowania gospodarza. Mięsożerne stawonogi, używając sygnałów chemicznych wydzielanych przez atakowane rośliny, lokalizują swoją ofiarę. Podobnie wiele owadów drapieżnych i parazytoidów wędruje w kierunku VOC wydzielanych przez rośliny. Komponenty te, którymi są monoterpény, seskwiterpény, homoterpény i związki aromatyczne są składowymi mechanizmu obronnego roślin.

Ostatnie odkrycia w zakresie roślinnych lotnych terpenów, które zwabiają naturalnych wrogów mogą stanowić cenny potencjał dla biologicznego zwalczania szkodników w agroekosystemach, a to może prowadzić do powstania nowych strategii w nowoczesnej ochronie roślin. Mogą one być osiągnięte w konwencjonalny sposób lub w wyniku genetycznych modyfikacji. Szeroko rozumiane metody biologiczne ochrony roślin proponują alternatywny sposób walki ze szkodnikami w porównaniu z syntetycznymi insektycydami. W konsekwencji mniejsza ilość substancji aktywnej może być wprowadzana do środowiska, co jest zgodne z jednym z priorytetów Unii Europejskiej, dotyczącym poszukiwania środowiskowo-przyjaznych metod walki z agrofagami.

Celem pracy było określenie wpływu żerowania skrzypionki zbożowej (*Oulema melanopus* L., Coleoptera: Chrysomelidae) na emisję VOC wydzielanych przez uszkodzone rośliny pszenicy (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.) odmiany Tonacja.

Szczegółowe badania obejmowały:

- określenie wpływu żerowania larw i imagines skrzypionki zbożowej na wydzielanie VOC przez pszenicę,
- reakcję skrzypionki zbożowej na wydzielanie VOC przez rośliny nieuszkodzone oraz poddane żerowaniu owadów,
- reakcję skrzypionki zbożowej na syntetyczne VOC będące odpowiednikami w stosunku do tych, które oznaczono z wykorzystaniem chromatografii gazowej.

¹ GLV – Green Leaf Volatiles; lotne związki organiczne z zielonego liścia

² VOC – Volatile Organic Compounds; lotne związki organiczne

2. PRZEGLĄD LITERATURY

2.1. ŚWIATOWA PRODUKCJA PSZENICY

Produkcja pszenicy (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.) dostarcza żywności dla milionów ludzi na całym świecie. Zajmuje ona 17% światowej powierzchni upraw i dostarcza 35% pożywienia oraz 20% kalorii [7]. Obok kukurydzy i ryżu jest jedną z trzech głównych upraw na świecie. W latach 2000/01 powierzchnia uprawy pszenicy wynosiła 215,6 milionów hektarów, a międzynarodowy handel tym zbożem sięgnął 40 milionów ton [10]. Światowa produkcja pszenicy wynosi około 581,3 milionów ton przy średnim plonie na poziomie $2,7 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ [144]. Powierzchnia uprawy, plon i znaczenie gospodarcze tej rośliny nie uległo do dzisiaj istotnym zmianom. W latach 2007/08 światowa produkcja pszenicy wyniesie około 601 milionów ton. Globalna produkcja zbóż w latach 2004/05 wyniosła 1635 milionów ton, jednocześnie przekraczając zapotrzebowanie konsumpcyjne o 11% w porównaniu z 2003/04 [154]. Stanowi to o 219,6 milionów ton mniej niż w latach 1997/98 [145]. W krajach Unii Europejskiej całkowite zbiory ziarna w 2004 roku wyniosły około 285 milionów ton i były rekordowe [154].

Na przestrzeni następnych 50 lat zaistnieje potrzeba zwiększenia plonowania, aby zapobiec niekontrolowanemu wzrostowi cen lub zwiększaniu powierzchni upraw [93, 133, 147]. Podczas zielonej rewolucji (1960-1980) miało miejsce podwojenie plonu ziarna dzięki zastosowaniu nawadniania, nawożenia i wprowadzeniu chemicznych środków ochrony roślin [93, 133]. Po zakończeniu zielonej rewolucji (od 1980) średni plon pszenicy np. w Meksyku wynosił $4 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, a pod koniec stulecia osiągnął $5 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ [93, 107]. W związku ze zmianami klimatycznymi wysiłki naukowców skupiają się na analizach plonu w czasie [112, 163], symulowaniu plonowania pszenicy (modelowanie) [6, 14, 120], a także na przestrzennej analizie warunków wzrostu [92]. Techniki empiryczne nie zawsze są pomocne dla zobrazowania problemu badawczego. Wad tych nie posiada natomiast system modelowania [93].

Utrzymujący się w Europie Zachodniej znaczny spadek liczby gospodarstw, szczególnie wśród tych nieprofesjonalnych (poniżej 12 ha uprawy pszenicy i mniej niż 75% zatrudnionych na stałe pracowników), jest zdecydowanie większy niż w porównaniu z tymi profesjonalnymi (2,3%). Dla przykładu całkowite subsydia do francuskich gospodarstw w 2004 roku sięgnęły 9,25 miliarda €, co stanowiło 15,9% rolniczej wartości produkcyjnej i 73% przychodu netto. Reprezentowało to około 40% publicznych dotacji przekazanych dla sektora rolniczego, które osiągnęły w efekcie 28,8 miliarda € uwzględniając dodatkowe 44% dla osłony socjalnej, 6,6% dla szkół i sfery badawczej oraz 5% kosztów administracyjnych. Wspomniane subwencje nie są tylko skierowane do rolników, ale także do ich rodzin i całej społeczności wiejskiej, która reprezentuje 25% francuskiej populacji [8].

Światowe prognozy dla produkcji pszenicy (2004-2013), zgodnie z globalnym modelem symulacyjnym (Global Wheat Policy Simulation Model), przewidują wzrost gospodarczy na następne 9 lat. Światowy handel i zapotrzebowanie na pszenicę twardą będzie większe niż dla odmian pozostałych [86]. Nowoczesne technologie, jak inżynieria genetyczna, szybko tworzą nowe odmiany dla wielu roślin uprawnych. Aktualnie biotechnologicznie wzbogacone (GMO - Genetically Modified Objects) odmiany kukurydzy, soi, bawełny i rzepaku są uprawiane na milionach hektarów na całym świecie. Pszenica nie była dotychczas w sferze zainteresowań badaczy zajmujących się inżynierią genetyczną, lecz obecnie ulega to znacznej zmianie. W związku z tym kładzie się

duże wysiłki na badania związane z wpływem nowych odmian na stan zdrowia ludzi, ekologię i żywienie zwierząt [124].

2.2. USZKODZENIA PSZENICY PRZEZ SKRZYPIONKĘ ZBOŻOWĄ

Produkcja żywności dla ludzi jest narażona na straty spowodowane atakiem agrofagów, takich jak chwasty, patogeny i owady. Rośliny można chronić przed chwastami stosując metody mechaniczne i chemiczne. Ich efektywność jest większa w porównaniu ze zwalczaniem patogenów i owadów, których redukcja jest związana głównie z wykorzystaniem syntetycznych środków ochrony roślin. Aczkolwiek straty plonów nie zmniejszyły się istotnie przez ponad 40 lat stosowania pestycydów [113]. Skrzyptionka zbożowa (*Oulema melanopus* L., Coleoptera: Chrysomelidae) jest w wielu krajach najważniejszym szkodnikiem pszenicy [49, 81]. Zarówno larwy, jak i imagines wyrządzają znaczne szkody, żerując na liściach zbóż powodując ograniczenie ich powierzchni asymilacyjnej, zmniejszenie masy tysiąca nasion, skrócenie kłosów oraz zmniejszenie liczby nasion w kłosie (fot. 1).



Fot. 1. Uszkodzenia liści przez skrzyptionkę zbożową (Janusz Nowacki, Marek Bunalski)

Photo 1. Leaves damaged by leaf beetles (Janusz Nowacki, Marek Bunalski)

O. melanopus ma zwykle jedną generację w roku. W krajach o chłodniejszym klimacie sporadycznie dwa lata są konieczne dla zakończenia całego rozwoju. Osobniki dorosłe zimują w ściernisku, korze drzew i zaczynają być aktywne przez około 6 tygodni (żerowanie, kopulacja i składanie jaj), gdy temperatura powietrza osiągnie około 10°C. Ma ona zasadnicze znaczenie dla jaj i pierwszego stadium larwalnego *O. melanopus*, nie pozostając bez znaczenia dla imagines (temperatura poniżej 10°C istotnie hamuje przeżywalność chrząszczy). Larwy we wszystkich stadiach pokrywają swoje ciała

ekskrementami, co ma zapewnić ochronę przez wrogami (kałowe osłony powodują, że wyglądem przypominają ślimaki). Osobniki dorosłe żerują na roślinach zbożowych i chwastach. Skrzypionka zbożowa jest szeroko rozpowszechniona w Polsce (próg szkodliwości dla zbóż ozimych od 1 do 1,5 larwy na źdźbło), ale także w Rumunii, gdzie około 200 tysięcy hektarów jest narażonych na atak tego szkodnika [134]. W Transylwanii żerowanie larw i dorosłych powoduje od 14% do 62% strat w plonie [95]. Wybiórcze badania nad występowaniem *O. melanopus* w Serbii w 2003 r. dowiodły liczniejszą populację tych szkodników niż oczekiwano [158]. Badania prowadzone na terytorium Krasnodaru w Rosji potwierdziły, że najbardziej niebezpieczny jest wczesny atak skrzypionki, a straty zależą również od kondycji roślin. Aczkolwiek udowodniono, że wzmoczone nawożenie mineralne może rekompensować straty masy vegetatywnej (od 20% do 30% uszkodzenia liścia flagowego) [157]. Skrzypionki są również szeroko rozpowszechnione w Republice Czeskiej, gdzie także po raz pierwszy został odnotowany gatunek *O. rufocyanea* [16]. W Bułgarii, w wyniku znaczących strat plonu, rozpoczęto intensywne badania nad uzyskaniem pszenicy genetycznie odpornej na skrzypionki [87]. Badania prowadzone przez Hausammanna [65] w Szwajcarii wykazały, że skrzypionka zbożowa jest powszechnym szkodnikiem. W latach 1980-1986 w Holandii 95% pól było zaatakowane przez skrzypionkę zbożową [37]. W Polsce straty plonu ziarna spowodowane żerowaniem skrzypionek szacuje się na poziomie 30-60% [175, 176, 177]. Doniesienia o stratach w plonie pszenicy spowodowanych żerowaniem skrzypionek pochodzą też z Węgier [117]. Pierwszy raport opisujący skrzypionkę zbożową w Ameryce Północnej pochodzi z 1962 roku. Obecnie owady te występują od Ontario do Alabamy i od Utah do Kolumbii Brytyjskiej. W związku z ustabilizowaniem się populacji *O. melanopus* w Ameryce Północnej zagrożone zostały także tereny Kanady bezpośrednio graniczące z USA, gdzie obsiewa się zbożami 10 milionów hektarów rocznie [75, 115].

Oprócz skrzypionek gospodarczo ważnym szkodnikiem pszenicy jest *Sitobion avenae* F. (Homoptera: Aphididae), jedna z najbardziej szkodliwych mszyc w zachodniej Europie. Najbardziej atakowana jest pszenica, lecz także jęczmień i owies [123]. W ostatnich latach w niektórych regionach globu odnotowano szczególnie wysokie straty plonu pszenicy oraz złą jakość ziarna spowodowane żerowaniem ździeblarza pszenicznego (*Cephus cinctus* Norton) [73]. Żerowanie wciornastków, mimo iż nie powoduje ograniczenia zdolności kiełkowania pszenicy, ma istotny wpływ na zawartość białek w ziarnie [82].

2.3. NIEPOŻĄDANE EFEKTY CHEMICZNEJ METODY OCHRONY ROŚLIN

Rośliny są często uszkodzane przez kompleks agrofagów (patogeny, owady, nicienie, chwasty), które współzawodniczą o pokarm [88]. Produkcja rolnicza w związku z powiększającą się populacją ludzi i rosnącą produkcją bydła powinna wzrosnąć w niedalekiej przyszłości. Ochrona roślin stanowi klucz do rozwiązania problemów strat plonu spowodowanego przez agrofagi. W skali świata wśród roślin uprawnych straty wahają się od 50% do 80% (w 2006 r. dla pszenicy wyniosły od 25% do 30% [113]). Biorąc pod uwagę wszystkie agrofagi, chwasty wywierają największy negatywny wpływ na rośliny (34%), a następnie patogeny (18%) i owady (16%). Z drugiej strony ochrona roślin przed chwastami jest najbardziej skuteczna i wynosi 68% w porów-

naniu z ochroną przed szkodnikami (39%) i patogenami (32%) [114]. W skali świata około 35,8 miliona hektarów głównych upraw jest szczególnie narażona na zachwaszczenie, co powoduje istotne straty plonu (do 16,5%). W efekcie dla przykładu w 1996 r. straty te wyniosły 16,5 miliona ton ziarna [184].

Ochrona roślin przed agrofagami na świecie jest ciągle zdominowana przez pestycydy, jednakże w tej kwestii spodziewane są ważne zmiany. Są one najczęściej stosowane, gdyż po pierwsze są efektywne i jako nowoczesne środki regulują rozwój szerokiej gamy organizmów z jednoczesnym niewielkim wpływem na plon roślin. Po drugie, pozwalają rolnikom na wybór, jak i kiedy je stosować [35]. Jednak ciągłe użycie pestycydów w ochronie roślin przez wiele lat spowodowało wzrost odporności szkodników. Rosnące wykorzystywanie szkodliwych pestycydów wraz z obawą społeczeństwa o ich wpływ na zdrowie powodują zwiększony 'nacisk' na rolników, co ma na celu redukcję ilości syntetycznych środków ochrony roślin [99]. Środki chemiczne nie tylko często zawodzą, ale stwarzają nowe zagrożenie, a mianowicie uaktywniają dotąd nieznanne ze swej szkodliwości organizmy. Agrofagi, niemające kilka lat temu żadnego znaczenia gospodarczego, dzisiaj bywają dużym problemem [97]. Niektóre organizmy niepożądane są redukowane, lecz inne pozostają odporne na pestycydy i w ten sposób mogą stać się nowym groźnym gatunkiem [183]. Stosowanie więc tylko i wyłącznie pestycydów jest jednak z wielu powodów krótkowzroczne. Metoda ta, obok wysokiej skuteczności, ma jednak poważne wady, np. drogą selekcji tworzą się odporne biotypy, które później trudno zwalczyć [21], środki chemiczne zmieniają metabolizm roślin uprawnych [21], zanieczyszczają środowisko [188] i nierzadko niszczą wrogów naturalnych. Zjawisko uzyskiwania odporności szkodników na stosowane środki chemiczne jest obserwowane na całym świecie, a szczególnie w tych krajach, gdzie zużywa się ich bardzo dużo. Dzieje się tak wskutek jednostronnego ich stosowania kilka lat pod rząd w tym samym miejscu [105]. Dotyczy to między innymi endotoksyn Bt (*Bacillus thuringiensis*) [137] czy pyretroidów [138], na które uodporniło się wiele gatunków owadów. Na świecie zaobserwowano odporność szkodników na pestycydy z wszystkich tzw. konwencjonalnych grup insektycydów [17, 143]. Stosowanie Bt czy disulfotonu w pewnych rejonach USA przeciwko skrzypionkom okazało się mało efektywne [24]. Ponadto chemiczne metody zwalczania agrofagów prowadzą również do zanieczyszczania wód powierzchniowych, wód gruntowych oraz powietrza [74].

Negatywne nastawienie opinii publicznej przeciwko masowemu stosowaniu pestycydów w rolnictwie spowodowało wzrost nacisku na rozwój metod alternatywnych, które są przyjazne środowisku. Spowodowało to zwiększenie zainteresowania naukowców biologią i ekologią agrofagów po to, aby zlikwidować „technologiczną kulę”, jaką coraz częściej stają się pestycydy dla środowiska. Biologiczne metody zwalczania mogą stanowić długoterminową alternatywę dla rozwoju agrofagów [142]. Poszukiwanie alternatywnego w stosunku do metody chemicznej sposobu walki z agrofagami jest jednym z priorytetów Unii Europejskiej zmierzającym do zmniejszenia użycia pestycydów, aby zapewnić bardziej przyjazny środowisku sposób pozyskiwania plonów. Nowe strategie walki z agrofagami są opracowywane w laboratoriach zajmujących się relacjami owad-roślina. W przypadku owadów można zastosować pułapki z atraktantami lub repelentami w celu ograniczenia ich populacji. Mogą one polegać na wykorzystaniu roślin, które zawierają wytworzone na drodze ewolucji związki ingerujące w rozwój owadów. Zwiększenie atrakcyjności niektórych chwastów wydzielających lotne związki może prowadzić do rozrostu populacji wyspecjalizowanych roślinożerców, a w konsekwencji do redukcji zachwaszczenia.

2.4. SYSTEM OBRONNY ROŚLIN

Rośliny nie są pasywnymi ofiarami ataku roślinożerców, gdyż posiadają specyficzny arsenał chemiczny dla swojej obrony [136, 171]. Nie mając możliwości „ucieczki”, wykształciły szereg mechanizmów obronnych, wśród których można wymienić toksyny, ekdsteroidy czy lotne związki. Wszystkie gatunki roślin są podatne na uszkodzenia przez liczne organizmy, a także są narażone na uszkodzenia mechaniczne. Rośliny wysyłają zatem sygnały chemiczne do wrogów naturalnych [26, 27, 42], jak i do roślinożerców [5, 80]. Zrozumienie tych sygnałów może spowodować wzrost efektywności naturalnych wrogów [41, 83, 139, 159]. Z kolei inne lotne związki mogą mieć repelentny (odstraszający) wpływ na roślinożerców [27, 42]. Analizy biochemiczne wykazały, że w wielu przypadkach zwiększona produkcja takich związków, jak ocimen, farnezen czy salicylan metylu powoduje przywabianie owadów [4]. Niestety, pomimo badań przeprowadzonych nad ich funkcją w naturalnym systemie obronnym roślin, ich mechanizm sygnalizacyjny nie jest całkowicie poznany [58, 156]. Komponenty C₆ są bezpośrednimi induktorami VOC, co potwierdzają badania prowadzone przez Farag i Paré [58].

2.5. ROZWÓJ METOD ZBIERANIA VOC I TECHNIK CHROMATOGRAFICZNYCH

Obecnie, dzięki nowoczesnym metodom separacyjnym, a zwłaszcza chromatograficznym można odszyfrować część informacji chemicznej wysyłanej przez rośliny do środowiska [126]. Znaczący postęp w identyfikacji ścieżki wytwarzania VOC pozwala na poznanie ich molekularnej natury. Wzrost zainteresowania biochemią lotnych związków spowodował rozwój technik odpowiedzialnych za zbieranie i analizowanie tych komponentów [103]. W ostatniej dekadzie odnotowano zdecydowany wzrost efektywności analiz biochemicznych przez wykorzystanie technik chromatografii gazowej. Metody te są zdecydowanie bardziej efektywne niż tradycyjne wykorzystujące proces destylacji. Lotne związki mogą być zbierane z całych roślin, ale także z ich fragmentów, np. z części zielonych lub organów generatywnych [161]. Szczególną wagę przywiązuje się do możliwości zbierania lotnych związków z roślin bez konieczności ich uszkodzenia. Generalnie wykorzystuje się worki foliowe (np. Nalophan), szczelnie otaczające roślinę, szklane tuby, metalowe połączenia i teflon. Posiadają one wspólną cechę, gdyż nie wydzielają lotnych związków [103]. Szczególnym osiągnięciem było wprowadzenie do praktyki laboratoryjnej zminiaturyzowanej odmiany ekstrakcji (Solid Phase Microextraction – SPME), która jest stosunkowo prostą metodą, dającą możliwość zbierania małych ilości lotnych związków. SPME bazuje na zjawisku sorpcji lotnych związków przez inercyjne włókno pokryte różnymi typami adsorbentów. Włókno jest połączone z igłą/tłokiem, które umieszcza się w szklanej tubie okalającej roślinę. Po odpowiednim czasie zbierania VOC włókno wprowadza się bezpośrednio do dozownika. Zaletą tej metody to wielokrotna możliwość użycia włókna SPME (około 100 razy) oraz fakt, że nie potrzeba wykorzystywać rozpuszczalników, które mogłyby spowodować zanieczyszczenia. Z drugiej jednak strony po umieszczeniu całej próby w chromatografie nie ma możliwości powtórzenia analizy [161]. Adsorbent, przez który podczas zbierania lotnych związków przepływa powietrze, jest zwykle umieszczany w wąskiej, szklanej lub metalowej tubie. Zebrane związki są wymywane do odpowiednich szklanych fiolek przy użyciu rozpuszczalnika. Dla celów analiz ilościowych dodaje się wzo-

rzec. Najczęściej stosowanymi adsorbentami są Tenax, Super-Q czy Poropak. Szczególną zaletą Super-Q jest możliwość jego wielokrotnego użycia [161].

Istnieje kilka metod zbierania lotnych związków. Jedną z nich jest system „zamkniętej pętli” [162]. Zbudowany po raz pierwszy przez Bolanda i innych [22], a następnie rozwinięty przez Donatha i Bolanda [51] składa się z 1 lub 3 ekscyktorów połączonych z pompami. Rośliny, lub ich części są umieszczane we wnętrzu szklanych komór, przez które przepływa ciągły strumień powietrza. System „zamkniętej pętli” chroni przed zanieczyszczeniami i nadaje się doskonale do zbierania lotnych związków z roślin mało aromatycznych [30]. Inną metodą zbierania VOC jest system, który określa się jako „ssaćo-tłoczący”. Różni się od poprzedniego tym, że pobiera powietrze z zewnątrz. Powietrze uprzednio oczyszczone za pomocą filtra „obmywa” roślinę i transportuje uwalniane lotne związki bezpośrednio do adsorbenta [25]. System ten doskonale nadaje się dla roślin, które uwalniają duże ilości związków. Zamknięcie roślin w szklanych tubach lub wolnych od lotnych związków workach redukuje ryzyko zanieczyszczeń [50]. Przepływ powietrza musi być precyzyjnie nastawiony (przyrząd do pomiaru przepływu powietrza), gdyż zbyt duży może spowodować utratę adsorbenta, a zbyt mały będzie niewystarczający do zbierania VOC [53]. Podobnie zasysanie powietrza jest regulowane przez przyrządy. W niektórych przypadkach istnieje konieczność zbierania VOC z części nieuszkodzonych rośliny, aby zbadać reakcję zdrowych liści na uszkodzenia spowodowane żerowaniem owadów na tej samej roślinie [148]. System pozwala np. na odizolowanie nieuszkodzonej górnej części rośliny od dolnej [66, 67, 96, 148]. VOC są analizowane przy użyciu chromatografów gazowych z wykorzystaniem kolumn o różnym stopniu polarności (DB-1, DB-5, CPSil-5, Carbowax-20M, DB-Wax, HP-20M). Identyfikacja lotnych związków odbywa się za pomocą odpowiednich bibliotek (Wiley i NIST MS, indeksy Kovatsa). Poleganie tylko na czasach retencji bywa jednak zawodne, dlatego zasadnym jest analizowanie odpowiedniego materiału odniesienia [162].

2.6. LOTNE ZWIĄZKI ORGANICZNE (VOC)

Lotne związki organiczne są to wtórne metabolity roślin, które mogą pełnić rolę atraktantów, repelentów, bądź komunikatorów chemicznych. Badania nad VOC uwalnianymi na drodze reakcji na żerowanie owadów są stosunkowo nowe. Po raz pierwszy identyfikacji lotnych związków dokonali badacze z Holandii i USA pod koniec ubiegłego wieku [47, 170]. Dla roślin ukorzenionych jedynie wymiana informacji chemicznej dostarcza sposobu komunikowania się z roślinami sąsiednimi tego samego gatunku, a także z innymi żywymi organizmami [57]. Zrozumienie relacji między strukturą a funkcją „węchowego” systemu drapieżników może dostarczyć informacji dla technologii bazującej na wykorzystaniu VOC, aby wzmocnić efektywność biologicznej metody ochrony roślin w rolnictwie zrównoważonym [186]. W związku z tym alternatywą dla stosowania syntetycznych insektycydów jest rozwój i zrozumienie funkcji VOC wykorzystywanych przez roślinożerców w celu lokalizacji gospodarza [98]. Taktyka bazująca na lotnych związkach ma wystarczający potencjał, aby przerwać cykl rozwojowy owadów bez niebezpieczeństwa skażenia środowiska [1]. Roślinny mechanizm obronny zawiera zarówno chemiczne, jak i fizyczne czynniki wpływające na zachowanie się roślinożercy [43, 44] lub rozwój patogenów [58] po to, aby stawiać opór uszkodzeniom i stresom [19]. Zapach produkowany przez rośliny podczas ataku roślinożercy jest czę-

sto wykorzystywany przez parazytoidy do lokalizacji gospodarza. Z reguły uszkodzanie roślin ma swoje odzwierciedlenie w zwiększonym wydzielaniu GLV, podczas gdy inne lotne związki (terpeny, seskwiterpeny) wydzielane przez rośliny są specyficzne jako reakcja na określony gatunek roślinożercy, a nawet sposób żerowania [71]. Oznacza to swoistą trójpoziomową relację, która wytworzyła się w wyniku koewolucyjnego współżycia gospodarza, agrofaga i wroga naturalnego. Mechanizmy obronne są skierowane przeciwko jednemu roślinożercy lub ich grupie. Strategia ta oferuje nową, przyjazną środowisku metodę ochrony roślin [40]. Odpowiednie sygnały chemiczne mogłyby być emitowane wśród roślin nieposiadających tej zdolności, zapewniając odpowiednią liczbę wrogów naturalnych oraz odstraszać innych potencjalnych roślinożerców. Dalsze badania nad relacją między owadami a roślinami oraz wrogami naturalnymi powinny dostarczyć informacji na temat praktycznej aplikacji pośrednich mechanizmów obronnych [40]. Warto wspomnieć, że także uszkodzenia mechaniczne wpływają na uwalnianie VOC, czego przykładem może być *Minthostachys mollis* (aromatyczna roślina wykorzystywana do celów medycznych); sztucznie uszkodzona wydziela intensywnie niektóre monoterpenu (pulegon i menton) [13].

Sterowanie emisją VOC w uprawie polowej może być wartościową strategią (przywabianie naturalnych wrogów roślinożerców), prowadzącą do minimalizowania problemu walki ze szkodnikami [40]. GLV składają się głównie ze zdegradowanych produktów C_{18} kwasów tłuszczowych, które są transformowane do C_{12} i C_6 . W zależności od substratu C_{18} tworzą się w efekcie (Z)-3-heksenal lub heksanal [64]. Dalsze procesy acetylacji i izomeryzacji prowadzą do powstania komponentów C_6 , jak (Z)-3-heksenol, octan (Z)-3-hexenylu i ich odpowiednich izomerów (E) [64].

Szacuje się, że przynajmniej 12 rodzin spośród roślin produkuje VOC w rezultacie żerowania owadów [46, 108, 155]. Głównymi VOC uwalnianymi przez uszkodzone rośliny są monoterpenu i seskwiterpeny. Przedstawiciele terpenów powodują charakterystyczne zapachy olejków roślinnych, kwiatów czy owoców, ale również są dominującymi składnikami wielu lotnych mieszanek przywabiających wrogów naturalnych roślinożerców [118]. Wiele monoterpenu i seskwiterpenów jest uwalnianych nie po zwykłym uszkodzeniu mechanicznym, lecz w odpowiedzi na żerowanie owadów [166].

Rośliny są zdolne do syntetyzowania ekdysteroidów (np. hormonów wylinkowych), które to z całą pewnością nie są potrzebne do wzrostu czy rozwoju. Ekdysteroidy ingerują w rozwój owada powodując np. przyspieszone procesy linienia, co może powodować skrócenie czasu rozwoju poszczególnych stadiów larwalnych. Imagines stają się niezdolne do życia, rozrodu, a nierzadko w ogóle nie następuje rozwój osobników dorosłych. Roślinożercy nie pozostają bierni w działaniu i wytwarzają mechanizmy pozwalające na dezaktywację toksyn produkowanych przez rośliny. Obserwuje się, że enzymy zawarte w ślinie owadów przerywają mechanizm obronny roślin.

Wiadomo, że wrogowie naturalni szkodników są przywabiani poprzez lotne związki do roślin zaatakowanych przez owady [119, 136, 152, 153, 170]. Te sygnały pozwalają naturalnym wrogom na lokalizację ofiary i w ten sposób pomagają roślinom obniżyć populację roślinożercy [72]. Do ich wydzielania dochodzi podczas żerowania [168] lub składania jaj przez roślinożercę [68]. Uwzględniając ich pożyteczną rolę dla roślin i mięsożerców, określa się je jako sygnały indukowane żerowaniem (SIŻ) [173]. SIŻ wielu badaczy rozpatruje jako pośredni mechanizm obronny, który kolokwialnie określa się jako „płacz o pomoc”. Fizjologiczne zmiany w roślinach, będące następstwem uszkodzeń lub stresu, określa się jako indukowany mechanizm obronny (IMO) [100]. Badania wskazują, że IMO efektywnie wzmacnia bezpośredni wpływ na roślino-

żercę [2, 11] lub pośrednio poprzez wzmoczenie intensywności ataku parazytoidów [159]. Chemiczne mechanizmy obronne skierowane przeciwko roślinożercom definiuje się jako bezpośrednie oddziaływanie w przypadku, gdy są one powiązane z produkcją toksyn oraz jako działanie pośrednie, gdy wzmagają efektywność wrogów naturalnych [46]. (Z)-jasmon jest dobrze znanym komponentem lotnych związków, którego uwalnianie jest związane i indukowane w wyniku uszkodzeń spowodowanych żerowaniem owadów [180]. Związek ten okazał się być elektrofizjologicznie aktywny jako repelent dla pewnych mszyc żerujących na sałacie. Jest on także znanym komponentem pełniącym zasadniczą rolę w reakcji obronnej roślin przeciwko szkodnikom. Udowodniono, że pszenica spryskiwana tym związkiem była mniej podatna na atak mszycy zbożowej [23]. (Z)-jasmon występuje jako komponent lotnych związków wydzielanych przez kwiaty, ale także może być produkowany przez uszkodzone tkanki roślinne [19]. Ponadto jest on także sygnałem wykorzystywanym przez inne sąsiednie nieuszkodzone rośliny, pozwalając w ten sposób na przygotowanie obrony [29, 128]. Ponadto udowodniono, że fasola spryskana (Z)-jasmonem bardziej przywabiała niektóre parazytoidy [19]. Dodany do strumienia przepływu powietrza może indukować u roślin nieuszkodzonych produkcję monoterpenu, (E)- β -ocimenu, który wpływa na system obronny rośliny poprzez stymulowanie aktywności parazytoidów. Kwas jaśminowy powoduje znaczący bezpośredni wzrost systemu obronnego w wyniku produkcji toksyn, antytrawiennych protein i antyżywnieniowych enzymów [12].

Rośliny atakowane przez roślinożercę uwalniają wiele lotnych metabolitów [60] nie tylko z miejsc uszkodzonych, ale także z innych części, które nie były atakowane przez roślinożercę. W wielu przypadkach lotne związki emitowane z liści jako reakcja następstwa na uszkodzenia pozwalają parazytoidom czy owadom mięsożernym na rozróżnienie roślin uszkodzonych od zdrowych [3]. Czas między uszkodzeniem spowodowanym żerowaniem owadów a uwalnianiem VOC jest różny w zależności od specyfiki biosyntezy związku. Niektóre spośród nich są uwalniane natychmiast po uszkodzeniu [64], a inne dopiero po kilku dniach [169]. Ponadto VOC są wydzielane jeszcze przez jakiś czas po zakończeniu żerowania owadów. Uwalnianie lotnych związków może być także osiągnięte przez wspólne wysiewanie roślin intensywnie reagujących na atak roślinożercy i roślin mniej czułych, jednak zarazem takich, w których indukcja spowoduje oczekiwaną reakcję obronną [129]. Ponadto ekskrementy larw i owadów dorosłych oraz feromony produkowane przez roślinożercę mogą być wykorzystywane przez owady mięsożerne lub parazytoidy do lokalizacji ofiary. Rośliny są atakowane przez więcej niż jednego roślinożercę, co stymuluje indukcję ich różnych systemów obronnych. Z drugiej strony atak roślinożercy może pozostać bez odpowiedzi ze strony rośliny. Żerowanie *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) nie indukuje pośredniego mechanizmu obronnego, natomiast uszkodzenia powodowane przez *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) powodują silną reakcję rośliny [146]. Liście *Nicotiana attenuata* Torr. ex S. Wats emitują większe ilości (Z)-3-heksen-1-olu i linalolu w następstwie ataku roślinożerców. W szczególności linalol powoduje obniżenie płodności u owadów, co w konsekwencji może prowadzić do 90% redukcji populacji owadów na roślinie [83]. Dla przykładu (Z)-3-heksenyl emitowany przez uszkodzone rośliny tytoniu jest silnym repelentem dla *Heliothis virescens* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae), których samice unikają składania jaj na roślinach zaatakowanych [42]. Z drugiej strony niektóre GLV z kapusty przywabiają *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Cotesia plutellae* Kurdjumov (Hymenoptera: Braconidae) i *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) do gąsienic *Plutella*

xylostella L. (Lepidoptera: Plutellidae) [140]. Wytwarzanie lotnych związków jest związane z elementarnym metabolizmem, ale ich transport, magazynowanie i emisja nie są do końca poznane [127]. Ponadto rośliny także rozróżniają żerowanie owadów od uszkodzeń mechanicznych, które to zwykle nie indukują mechanizmu obronnego [118]. Interesującym jest fakt, że żerowanie larw prowadzi do wzmożonego wydzielania lotnych związków, natomiast składanie jaj przez samice może, chociaż nie musi indukować emisji. Dla przykładu składanie jaj przez *Xanthogaleruca luteola* Müll. (Coleoptera: Chrysomelidae) indukuje uwalnianie lotnych związków, które przywabiają *Oomyzus gallerucae* [102]. Związki takie, jak (Z)-3-heksenal czy linalol mogą powodować zwiększone niszczenie jaj szkodników poprzez przywabianie odpowiednich parazytoidów. W niektórych przypadkach redukuje to znacznie potencjał roślinożercy (nawet do 90%) [83]. W roślinach pomidora (E)-2-heksenal zapoczątkowuje lokalną i systemiczną emisję VOC [58]. U kukurydzy taką funkcję pełnią (Z)-3-heksenal, (Z)-3-heksen-1-ol i octan (Z)-3-heksenyli, które indukują emisję seskwiterpenów [57]. Zauważono, że octan (Z)-3-heksenyli jest efektywny w przywabianiu wrogów naturalnych roślinożerców, parazytoidów, takich jak *Microplitis croceipes* Cresson [179], *Aphidius ervi* Haliday [52], *Cotesia flavipes* Cameron [109] (Hymenoptera: Braconidae) oraz drapieżców *Deraeocoris brevis* Uhler (Hemiptera: Miridae), *Orius tristicolor* White (Heteroptera: Anthocoridae) [77]. Mszyce mogą być szczególnie wrażliwe na lotne związki wydzielane z kukurydzy, gdyż jednym z głównych komponentów emitowanych przez te rośliny jest (E)- β -farnezen, będący jednocześnie feromonem alarmu dla tych owadów [15]. Okazuje się, że nie tylko silne uszkodzenie tkanki liścia powoduje wzmożoną emisję lotnych związków, ale także nakłucia mogą wywołać podobną reakcję rośliny. Wynika stąd, że wysysanie soków z roślin, np. przez mszyce jest również wystarczającym powodem do indukcji reakcji obronnej rośliny. Ponadto taki sposób żerowania, jak drażnienie kanałów w źdźble, np. przez ździeblarza pszenicznego także wyzwala mechanizm obronny [167]. Reinecke i inni [141] zidentyfikowali 16 typowych VOC w badaniach elektrofizjologicznych prowadzonych na samcach chrząszcza majowego. Interesujący jest fakt, że alkohole GLV przywabiły owady, podczas gdy aldehydy i octany tych związków nie wpływały na ich zachowanie.

Hipotezy badawcze. Założono, że:

1. Ilość lotnych związków produkowanych przez rośliny pszenicy zmienia się wskutek żerowania larw i chrząszczy skrzypionki zbożowej.
2. Emitowanie lotnych związków jest zróżnicowane w zależności od: stadiów larwalnych i chrząszczy skrzypionki zbożowej żerujących na roślinie, czasu który upłynął od uszkodzenia oraz od długości stresu utrzymującego się od momentu uszkodzenia.
3. Reakcja chrząszczy na wydzielanie VOC jest uzależniona od stężenia związku; wydzielane przez rośliny zdrowe mają charakter atraktantów, natomiast zwielokrotnione ilości VOC emitowane przez rośliny uszkodzone działają repelentnie.

3. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Prace doświadczalne prowadzono w latach 2002-2006 w następujących placówkach naukowych:

1. Instytut National de la Recherche Agronomique Paris-Grignon (Francja),
2. Montana State University, Department of Entomology (USA),
3. Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, Katedra Entomologii Stosowanej.

3.1. LABORATORYJNA UPRAWA ROŚLIN

Przedmiotem badań była ozima pszenica zwyczajna odmiany Tonacja (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.). Ziarna wysiewano pojedynczo do doniczek, które umieszczano w szklarni. Rośliny utrzymywano w temperaturze $22 \pm 2^\circ\text{C}$ w ciągu dnia (D) i $18 \pm 2^\circ\text{C}$ w ciągu nocy (N) przy długości oświetlenia 16D : 8N. Wykorzystano podłoże przygotowane bezpośrednio do siewu (Canadian sphagnum peat moss, perlite, vermiculite, and Dolmitic lime – Sun Gro Horticulture, Inc., Bellevue, Washington, USA). Rośliny podlewano cztery razy w tygodniu oraz nawożono zgodnie z zaleceniami (Peters Profesional® 20-10-20 General Purpose Fertilizer) w ilości 100 ppm roztworu nawozowego dwa razy w tygodniu jako część regularnego nawadniania. Nawożenie rozpoczęto, gdy rośliny osiągnęły fazę trzech liści.

3.2. HODOWLA OWADÓW

Przedmiotem badań była skrzypionka zbożowa (*Oulema melanopus* L., Coleoptera: Chrysomelidae). Hodowlę prowadzono w warunkach laboratoryjnych w temperaturze i przy długości dnia takiej jak dla laboratoryjnej uprawy roślin przez cały czas trwania eksperymentów. Celem było dostarczenie owadów do doświadczeń. Imagines pozyskano wczesną wiosną oraz na przełomie maja i czerwca z pól produkcyjnych. Do hodowli wykorzystano płaskie pojemniki plastikowe wyłożone lekko zwilżoną ligniną i używane do przechowywania potraw w lodówce (20 x 12 x 5 cm). Pojemniki wraz z owadami zostały umieszczone w laboratorium w miejscu dobrze oświetlonym, lecz osłoniętym od bezpośredniego nasłonecznienia. Owadom podawano świeże liście zbóż, które dostarczano każdego dnia. Codziennie zmieniano też ligninę, aby zapobiec rozwojowi grzybów pleśniowych. Dorosłe larwy po uwolnieniu się z osłonki kałowej przepoczwarzały się na ligninie, a cały okres rozwoju trwał około trzy tygodnie. Owady pozyskane do hodowli z naturalnych warunków siedliskowych w początkowej fazie były identyfikowane za pomocą klucza do oznaczania gatunków z rodziny stonkowatych [178].

3.3. ŻEROWANIE OWADÓW

Badania prowadzono w celu określenia ilościowego i jakościowego składu lotnych związków, wydzielanych przez rośliny pszenicy uszkodzone żerowaniem trzech następujących po sobie stadiów larwalnych (L1, L2, L3) oraz osobników dorosłych. Larwy nakładano na rośliny następnego dnia po linieniu, a dorosłe w kolejnym dniu po przepoczwarzeniu. Zastosowano dwa modele czasu żerowania i przebywania owadów na

roślinie. Pierwszy to 24-godzinny okres żerowania, bezpośrednio poprzedzający zbieranie lotnych związków (model 1). Na główne źdźbło nakładano po dwie larwy poszczególnych stadiów larwalnych lub jedną parę osobników dorosłych rozróżnianą na podstawie stadium „in copula”.

Drugi model żerowania polegał na ciągłym przebywaniu na pszenicy poszczególnych stadiów larwalnych i dorosłych. Zdejmowano je tylko na czas zbierania VOC (model 2), aby uniknąć zbierania sygnałów chemicznych wydzielanych przez owady.

3.4. ZBIERANIE VOC

Pozyskiwanie lotnych związków dla pierwszego sposobu żerowania (model 1; 24 h) obejmowało trzy zbierania VOC przez jedną godzinę w ciągu jednego dnia po 24 godzinach żerowania owadów: T1: 9.00-10.00, T2: 12.00-13.00, T3: 15.00-16.00. Dla drugiego sposobu żerowania (model 2; 3-dniowy) zbieranie wykonywano trzy razy przez jedną godzinę w ciągu trzech kolejno następujących po sobie dni: T1, T2, T3: 12.00-13.00.

Do pozyskiwania VOC wykorzystano:

- a) aparaturę zakupioną w poszczególnych podzespołach i złożoną w całość (Fisher Scientific Bioblock, VWR Supplier Partnership for Customer Solutions, ETS Charles frères, Inc. Alltech Associates),
- b) nowoczesną aparaturę (Analytical Research Systems – ARS, Inc. Gainesville, Florida, USA) zaprojektowaną specjalnie w celu badawczym, tzw. Volatile Collection System (VCS).

ARS składał się z pięciu szklanych tub (\varnothing 40 mm x 800 mm długości) otwartych na jednym końcu, aby umieścić w nich rośliny. Na każdą tubę zakładano teflonowe rękawy szczelnie owinięte dookoła głównego źdźbła, aby uniknąć zasysania VOC do tuby spoza systemu. Drugi koniec każdej z tub był połączony ze szklaną kulą zawierającą trzy wyloty (możliwość zbierania VOC w trzech różnych przedziałach czasowych z jednej rośliny bez demontażu). W każdy z wylotów wkładano drobną tubę (Super-Q, \varnothing 6,35 mm x 76 mm długości) wypełnioną 30 mg materiału do zbierania VOC (Alltech Associates, Inc., Deerfield, Illinois, USA). Połączenia Super-Q dokonano z każdym z wylotów przy wykorzystaniu otwartych nakrętek zaopatrzonych w gumę uszczelniającą. Oczyszczone i nawilżone powietrze było dostarczane przez pompę w ilości $1,0 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ (regulator przepływu powietrza) do spodu szklanych tub, w których znajdowały się rośliny. Druga pompa połączona za pomocą giętkich przewodów (Tygon) z Super-Q zasysała powietrze w ilości $0,8 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ (regulator zasysania powietrza). Zasysanie ustawione na mniejszym poziomie miało na celu uniknięcie zbierania VOC z otoczenia. Aparatura współpracowała z oprogramowaniem komputerowym pozwalającym na zaprogramowanie czasu trwania doświadczenia. VOC zbierano tylko z głównego źdźbła. Doświadczenia prowadzono w dziesięciu powtórzeniach w przypadku uszkodzonych roślin, zaczynając od fazy 32 wg Zadoksa. Dla roślin nieuszkodzonych (kontrola) wykonano trzy powtórzenia. Dodatkowo przeprowadzono dwie próby czyste, w których VOC zbierano z tub niezawierających roślin. Reasumując, wykonano trzy niezależne doświadczenia dające w efekcie 10 prób:

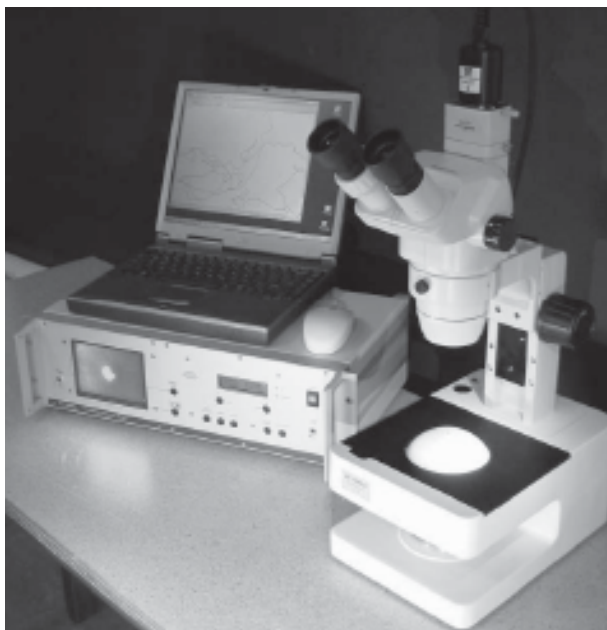
- a) 3 rośliny uszkodzone – 1 kontrola – 1 próba czysta,
- b) 3 rośliny uszkodzone – 1 kontrola – 1 próba czysta,
- c) 4 rośliny uszkodzone – 1 kontrola.

3.5. ANALIZA CHROMATOGRAFICZNA VOC

Przy użyciu 225 μl heksanu VOC były ekstrahowane z Super-Q do 1 ml fiolek, zawierających szklany wkład. Fiolki następnie zakręcano szczelnie nakrętkami. Dodatkowo do próby dodawano 7 ng dekanu, aby umożliwić ocenę ilościową (internal standard). VOC były analizowane przy użyciu chromatografów gazowych (GC Agilent Technologies 6890 z kolumną 30-m DB-1MS, MS Agilent Technologies 5973 oraz GC Perkin Elmer AutoSystem XL z kolumną 30-m DB-5MS). Do doświadczeń przyjęto schemat (wcześniejsze eksperymenty), który powodował wzrost temperatury od 40°C do 250°C (2 minuty w 40°C, 5°C na 1 minutę do 200°C, 10 minut w 200°C). Cały proces analizy trwał 44 min. Ilość dozowanego materiału wynosiła każdorazowo 1 μl . Identyfikację związków prowadzono wykorzystując bibliotekę zawartą w komputerze, a także na podstawie czasów retencji i jonów charakterystycznych (m/z) widm spektralnych zakupionych w Sigma-Aldrich oraz dostępnych w zasobach INRA syntetycznych VOC.

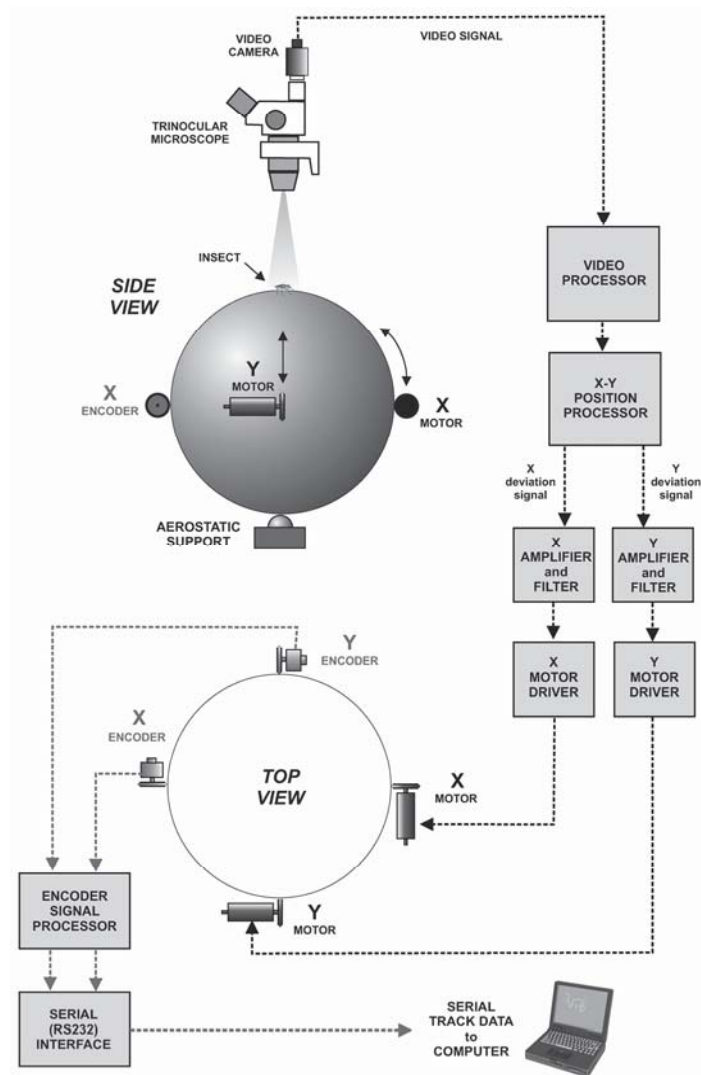
3.6. OBSERWACJE ZACHOWANIA SIĘ OWADÓW

W celu badania zachowań owadów na testowane VOC wykorzystano sferę TSLC – 100 (Track Sphere Locomotion Compensator, SYNTECH, Netherlands) oraz stymulator CS – 55 (Stimulus Controller, SYNTECH, Netherlands) (fot. 2).



Fot. 2. Aparatura służąca do badania prędkości poruszania się owadów, długości śladu oraz orientacji (TSLC – 100, SYNTECH)

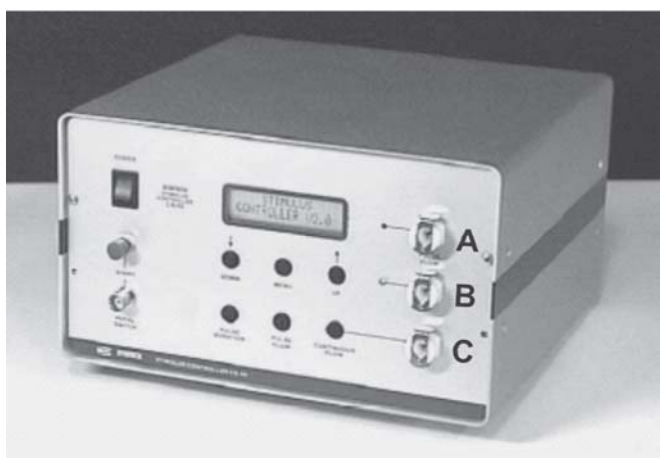
Photo 2. Equipment useful for speed control, track length and orientation of insects (TSLC – 100, SYNTECH)



TSLC – 100 (\varnothing 100 mm) to aparat wykorzystywany do obserwacji wszystkich aktywnie poruszających się owadów (fot. 2). Poza tym jest to jedyna aparatura, pozwalająca na nieograniczone przestrzenią obserwacje i pomiary prędkości poruszania się owadów, długości śladu i tzw. wyprostowania. Składa się z mikroskopu (TRINOCULAR MICROSCOPE) i sfery (TOP VIEW), na wierzch której nakładane były testowane owady (INSECT) (zgodnie z powyższym schematem). Pod sferą, w celu ułatwienia jej ruchu, umieszczona została kula (\varnothing 30 mm) (AEROSTATIC SUPPORT). Sferę obracały dwa silniki elektryczne w kierunku przeciwnym do wędrówki owadów. Silniki (X MOTOR, Y MOTOR) były kierowane przez kamerę (VIDEO CAMERA) umieszczoną nad sferą i owadem. Sygnał odbierany z kamery (VIDEO SIGNAL), oprócz umożliwiania kierowania sferą (VIDEO PROCESSOR, X-Y POSITION PROCESSOR, X-Y AMPLIFIER and FILTERS, X-Y MOTOR DRIVER) był również

przekazywany do komputera, którego oprogramowanie pozwalało na odtworzenie śladu na ekranie monitora (X-Y ENCODER, ENCODER SIGNAL PROCESSOR, SERIAL RS232 INTERFACE, SERIAL TRACK DATA to COMPUTER). Pozwalało to na określanie długości śladu, prędkości, z jaką poruszały się owady oraz kątów wędrówki między osią x a rzeczywistym śladem. Po przetestowaniu 30 owadów powierzchnię sfery czyszczono heksanem, aby uniknąć osiadania molekuł na jej powierzchni.

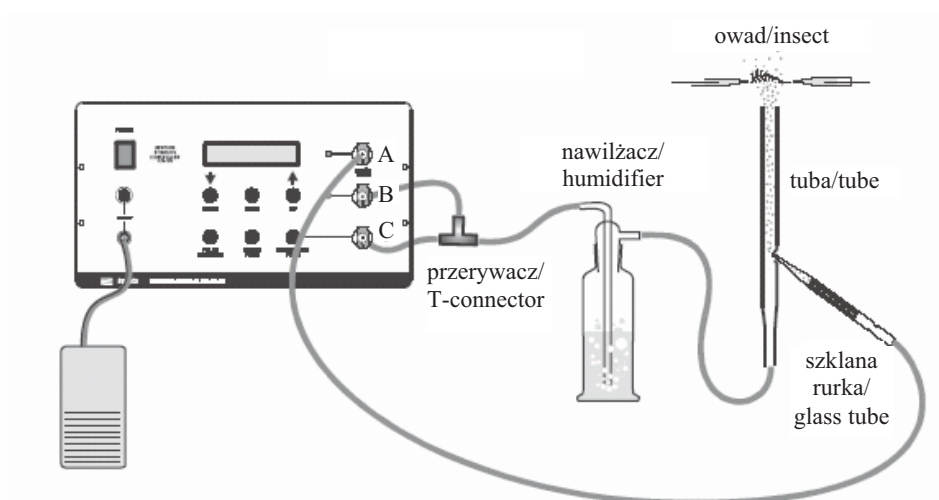
Aparat do regulacji przepływu powietrza (Stimulus Controller CS-55) składał się z dwóch niezależnych pomp dostarczających oczyszczone i nawilżone powietrze (ciągły i przerywany strumień powietrza) (fot. 3).



Fot. 3. Aparatura służąca do regulacji przepływu powietrza (Stimulus Controller CS – 55, SYNTECH)

Photo 3. Equipment useful for air stream control (Stimulus Controller CS – 55, SYNTECH)

Wyjście oznaczone literą A (schemat, str. 20) dostarczało przerywany strumień powietrza bezpośrednio do tuby poprzez szklaną rurkę, w której znajdowała się bibuła filtracyjna z rozcieńczonym analizowanym związkim. Z tuby powietrze płynęło bezpośrednio do owada znajdującego się na sferze. Ujście C natomiast dostarczało oczyszczony (Activated Charcoal Trap, 400cc, Inc. Alltech Associates) i nawilżony (nawilżacz, szklane naczynie z wodą destylowaną oraz filtrem umożliwiającym wytworzenie pęcherzyków) strumień ciągłego przepływu powietrza także do tuby. W celu zapewnienia niezmiennej ilości dostarczanego powietrza (ciągły i przerywany strumień) zastosowano przerywacz. W przypadku, gdy nie działało ujście A, dodatkowo automatycznie było załączane ujście B, dostarczające taką samą ilość przerywanego strumienia powietrza jak ujście A, lecz bez testowanego związku. Wibracje charakterystyczne dla pomp zostały zredukowane do minimum. Ilość uwalnianego powietrza, jak i czas stymulacji były regulowane manualnie do pożądanej wielkości.



3.7. SYNTETYCZNE VOC

W celu analizy poszczególnych związków zidentyfikowanych z wykorzystaniem chromatografu, badaniu poddano ich syntetyczne odpowiedniki. Czystość związków (oprócz (Z)-3-HAL i (Z)-OCI) wynosiła ~ 98%. Część syntetycznych VOC wykorzystano z zasobów INRA (Instytut National de la Recherche Agronomique, 78026 Versailles). Były to następujące związki: (Z)-3-heksenal = (Z)-3-HAL (50% (Z)-3-HAL + 50% triacetinu), (E)-2-heksenal = (E)-2-HAL, (Z)-3-heksen-1-ol = (Z)-3-HOL, (E)-2-heksen-1-ol = (E)-2-HOL, octan (Z)-3-heksen-1-ylu = (Z)-3-HAC oraz octan 1-heksylu = 1-HAC. Wymienione wyżej związki są określane mianem GLV. Pozostałe VOC niewystępujące w zasobach INRA, a potrzebne do doświadczeń zakupiono w Sigma-Aldrich (Francja) i Fluka-Buchs (Szwajcaria). Były to następujące związki: 4-heptanon = 4-HEP, β -pinen = β -PIN, β -myrcen = β -MYR, (Z)-ocimen = (Z)-OCI (70% (Z)-OCI + 25% (R)-(+)-limonenu), linalol = LIN, tlenek linalolu = LOX, octan benzylu = BAC, salicylan metylu = MAT, indol = IND, β -kariofilen = β -CAR, 6,10-dimetylo-5,9-undekadien-2-on = 5,9-UND, (E)- β -farnezen = (E)- β -FAR oraz pentadekan = PEN. Badaniu poddano także obydwa stabilizatory (triacetin i limonen).

3.8. WPŁYW SYNTETYCZNYCH GLV NA ZACHOWANIE CHRZĄSZCZY

Dla GLV przy użyciu programu komputerowego współpracującego z TLC – 100 określano prędkość wędrówki owadów, kierunek poruszania się, długość śladu, wyprostowanie oraz kąty między osią x a właściwym śladem (10 Hz). Program komputerowy analizował wyżej wymienione parametry przez 5 minut, dając 3000 pomiarów. Dla lepszego zobrazowania wyników pomiary uśredniono, co w efekcie dało jeden zapis na sekundę (300/5 min). Dorosłe owady nakładano na sferę i po upływie 1 minuty (akomodacja) dokonywano pomiarów. Każdorazowo analizowano 30 owadów obu płci dla

każdego z testowanych związków. Dla porównania wyników testowano 10 owadów obu płci, które poddano działaniu przepływającego powietrza tylko z heksanem (rozpuszczalnik), lecz bez GLV. Oczyszczone i nawilżone powietrze było dostarczane owadowi w ilości $150 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Analizowany GLV za pomocą automatycznej pipety nakładano na bibułę filtracyjną. Rozcieńczenia przygotowano, kierując się uprzednio przyjętą zasadą, że na bibułę filtracyjną zawsze podawano $10 \mu\text{l}$ roztworu wraz z badanym związkiem w odpowiednim stężeniu. Po 5 minutach rejestrowania kierunku poruszania się owada, zmieniano bibułę filtracyjną i przed kolejnym testem podawano nową dawkę w odpowiednim rozcieńczeniu. W ten sposób analizowano 30 owadów obu płci, którą to płć oznaczano po zakończeniu eksperymentu. Testowany GLV w odpowiednim stężeniu był dostarczany w strumień ciągłego przepływu powietrza w ilości $50 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ poprzez przerywany strumień powietrza (stymulator) z częstotliwością 2s-2s. Dla syntetycznych GLV do doświadczeń użyto takie ilości (odpowiedniki), jakie zostały odczytane z analiz chromatograficznych dla 24 h modelu żerowania w przeliczeniu na jedną minutę (wydzielane powtarzalnie, a nie śladowo). Zastosowano tylko model 1 żerowania, gdyż poprzednie doświadczenia własne obejmujące GLV wykazały, że związki te są uwalniane natychmiast po uszkodzeniu roślin. Oznacza to, że właśnie te ilości powinny wywierać wpływ na zachowanie owadów. Obliczono średnią dawkę VOC ($\text{ng}\cdot\text{min}^{-1}$), biorąc pod uwagę wszystkie jednostkowe wyniki dla największego uwalniania i dla kontroli w tym modelu. Do doświadczeń wykorzystano następujące stężenia:

- (Z)-3-HAL (rośliny nieuszkodzone) – $0,5 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (Z)-3-HAC (rośliny nieuszkodzone) – $0,5 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (Z)-3-HAL (rośliny uszkodzone, maksymalne uwalnianie) – $7,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (Z)-3-HAC (rośliny uszkodzone, maksymalne uwalnianie) – $7,4 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$.

Stymulator dostarczał powietrze wraz z testowanym związkiem przez 2 s. Przez kolejne 2 s dostarczane było powietrze zawierające rozcieńczalnik (heksan). Całkowity przepływ powietrza dostarczany do testowanych owadów był zawsze taki sam i wynosił $200 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. System umożliwiał uniknięcie błędu nierównomiernego dostarczania powietrza do testowanego owada, co mogłoby spowodować np. pozytywną reakcję w kierunku zwiększonego przepływu powietrza.

Pozostałe VOC analizowano zarówno dla 24 h, jak i 3-dniowego modelu żerowania w związku z tym, że ich uwalnianie może być „opóźnione” w czasie. Obliczono średnią dawkę VOC ($\text{ng}\cdot\text{min}^{-1}$), biorąc pod uwagę wszystkie jednostkowe wyniki dla najmniejszego i największego uwalniania oraz dla kontroli w obu modelach. Do doświadczeń wykorzystano następujące stężenia:

Model 24 h:

- LIN (kontrola) – $0,0 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- LIN (minimalne uwalnianie) – $0,2 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- LIN (maksymalne uwalnianie) – $2,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (E)- β -FAR (kontrola) – $0,0 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (E)- β -FAR (minimalne uwalnianie) – $0,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (E)- β -FAR (maksymalne uwalnianie) – $1,2 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$.

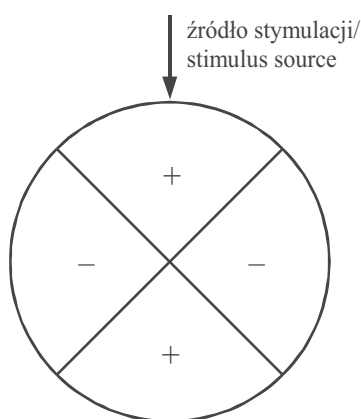
Model 3-dniowy:

- LIN (kontrola) – $0,0 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- LIN (minimalne uwalnianie) – $0,2 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- LIN (maksymalne uwalnianie) – $2,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (E)- β -FAR (kontrola) – $0,0 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (E)- β -FAR (minimalne uwalnianie) – $0,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,

- (E)- β -FAR (maksymalne uwalnianie) – $1,9 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (Z)-OCI (kontrola) – $0,0 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (Z)-OCI (minimalne uwalnianie) – $0,4 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$,
- (Z)-OCI (maksymalne uwalnianie) – $2,5 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$.

Z powyższego zestawienia wynika, że niektóre wyniki z modelu 24 h żerowania pokrywają się z tymi z modelu 3-dniowego. Mimo to obliczone wartości ($\text{ng}\cdot\text{min}^{-1}$) poddano analizie w obydwu modelach, aby potwierdzić istniejącą tendencję.

Badaniu poddano 30 owadów w teście i 10 w kontroli, jednak dla pozostałych VOC nie określano prędkości i kątów między osią x a śladem. Obserwowano natomiast kierunek wędrówki owadów. Komputerowy obraz sfery (okrąg) podzielono na cztery równe części (zgodnie z poniższym schematem).



Źródło uwalnianego powietrza z testowanym VOC znajdowało się zawsze na górze okręgu. Jedynie dwie naprzeciwległe ćwiartki były rozpatrywane jako reakcja owada na uwalniany związek (+). Dwie pozostałe horyzontalne ćwiartki (-) nie były brane pod uwagę. Obserwacji dokonywano w ciągu pięciu minut.

3.9. VOC UWALNIANE Z USZKODZONYCH ROŚLIN

W celu badania zachowań owadów na VOC uwalniane przez uszkodzone rośliny także wykorzystano sferę TSLC – 100 oraz stymulator CS – 55. Każdorazowo analizowano 30 owadów obu płci dla roślin uszkodzonych, jak i dla kontroli. W celu uszkodzenia roślin nakładano na nie po 2 larwy i 2 osobniki dorosłe skrzypionki zbożowej wg schematu:

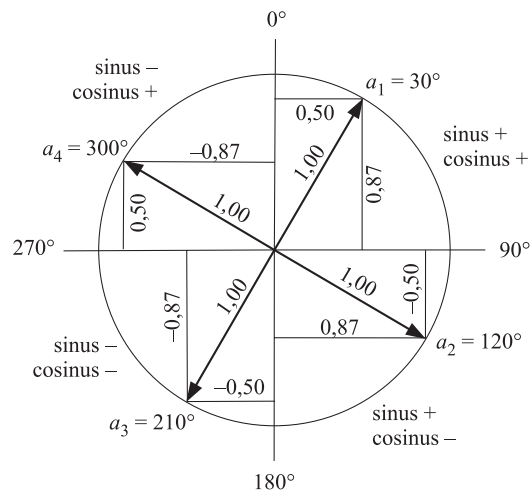
- dwie larwy L1 na roślinę, które żerowały przez 24 h (model 1),
- dwie larwy L2 na roślinę, które żerowały przez 24 h (model 1),
- dwie larwy L3 na roślinę, które żerowały przez 24 h (model 1),
- dwa osobniki dorosłe (rozdzielane na podstawie stadium „in copula”) na roślinę, które żerowały przez 24 h (model 1),
- dwie larwy L1 na roślinę, które żerowały przez 3 dni (model 2),
- dwie larwy L2 na roślinę, które żerowały przez 3 dni (model 2),
- dwie larwy L3 na roślinę, które żerowały przez 3 dni (model 2),
- dwa osobniki dorosłe (rozdzielane na podstawie stadium „in copula”) na roślinę, które żerowały przez 3 dni (model 2).

Przerywany strumień powietrza (stymulator) z częstotliwością 2 s - 2 s był dostarczany do szczelnie owiniętej rośliny przy użyciu wolnych od VOC worków (Nalophan, ETS Charles frères), a następnie transportowany na wierzch sfery, na której znajdował się owad. Umożliwiło to testowanie zachowań owadów dorosłych na VOC wydzielane z roślin uszkodzonych bez ich jakościowej i ilościowej identyfikacji. Dla zobrazowania wyników wykorzystano także model czterech ćwiartek.

3.10. ANALIZA STATYSTYCZNA – WALIDACJA

Do obliczeń wyników uzyskanych z TSLC – 100 (dla GLV) zastosowano model analizy (poniżej opisano jego najważniejsze elementy) proponowany przez Li [91].

1. Obliczanie sinus i cosinus dla okręgu



$$\cos \alpha = \frac{X}{r} \quad \sin \alpha = \frac{Y}{r}$$

a , r – punkty i ich bieguny, przekątne prostokątów; X , Y – wartości liczbowe dla poszczególnych ćwiartek okręgu (+ +, + -, - +, - -).

2. Obliczanie średniego kąta między osią x a śladem (10 Hz)

$$X = \frac{\sum_{i=1}^n \cos a_i}{n} \quad Y = \frac{\sum_{i=1}^n \sin a_i}{n} \quad r = \sqrt{X^2 + Y^2}$$

n – kąty, a_1, \dots, a_n ,

\bar{a} – średni kąt,

r – długość średniego wektora,

\bar{a} – średni kąt mający następujące sinus i cosinus:

$$\cos \bar{a} = \frac{X}{r} \quad \sin \bar{a} = \frac{Y}{r}$$

3. Rozproszenie poszczególnych pomiarów

Zmienność kołowa:

$$S^2 = 1 - r$$

Zmienność kątowna:

$$s^2 = 2(1 - r)$$

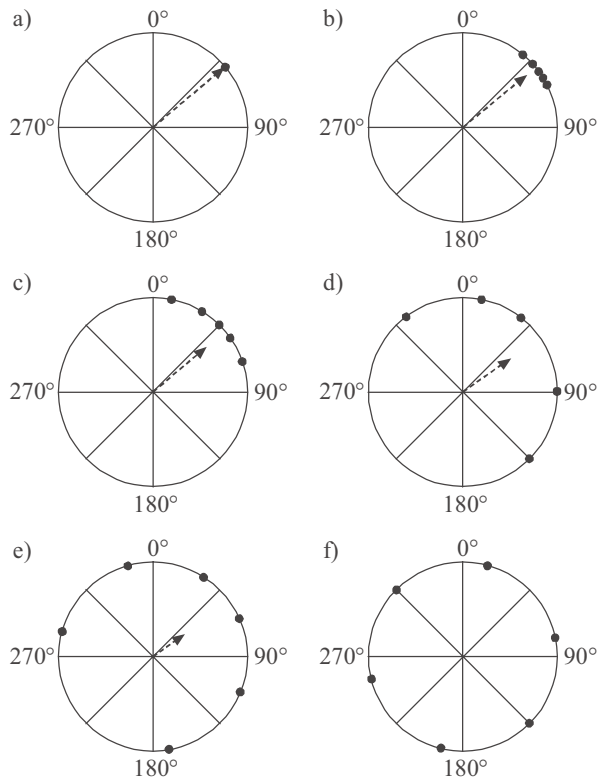
Zmienność standardowa:

$$s_0^2 = -2 \ln r$$

Odchylenie kątowne:

$$s = \frac{180^\circ}{\pi} \sqrt{2(1 - r)}$$

Kołowe odchylenie standardowe:



- r – miara koncentracji, od 0 do 1,
 0 – duże rozproszenie i średni kąt nie może być oszacowany,
 1,0 – wszystkie wyniki są skoncentrowane w tym samym kierunku ($1-r$ – miara rozproszenia),
 $1 - r = 0$ – brak rozproszenia,
 $1 - r = 1,0$ – maksymalne rozproszenie.

Powyżej poszczególne okręgi przedstawiają korelacje rozproszenia (czarne punkty) z długością wektora (linia przerywana). Im większe skupienie, tym dłuższy wektor (rys. a, b). Im większe rozproszenie, tym krótszy wektor lub jego brak (rys. e, f).

- a) $r = 1,00$; $s = 0^\circ$; $s_0 = 0^\circ$
- b) $r = 0,99$; $s = 8,10^\circ$; $s_0 = 8,12^\circ$
- c) $r = 0,90$; $s = 25,62^\circ$; $s_0 = 26,30^\circ$
- d) $r = 0,60$; $s = 51,25^\circ$; $s_0 = 57,91^\circ$
- e) $r = 0,30$; $s = 67,79^\circ$; $s_0 = 88,91^\circ$
- f) $r = 0,00$; $s = 81,03^\circ$; $s_0 = \infty$

4. Przedziały ufności dla populacji ($\bar{a} \pm d$)

jeśli: $r \leq 0,9$ i $r > \sqrt{\chi^2_{\alpha,1}/2n}$

to:

$$d = \arccos \left(\frac{\sqrt{\frac{2n(2R^2 - n x_{\alpha,1}^2)}{4n - x_{\alpha,1}^2}}}{R} \right)$$

jeśli: $r \geq 0,9$

to:

$$d = \arccos \left(\frac{\sqrt{n^2 - (n^2 - R^2)e^{x_{\alpha,1}^2/n}}}{R} \right)$$

gdzie:

$$R = nr$$

Do obliczeń wyników uzyskanych z TSLC – 100 (pozostałe VOC) zastosowano test χ^2 .

$$\chi^2 = \frac{(|\text{Obserwowana}_1 - \text{Oczekiwana}| - 0,5)^2}{\text{Oczekiwana}} + \frac{(|\text{Obserwowana}_2 - \text{Oczekiwana}| - 0,5)^2}{\text{Oczekiwana}}$$

χ^2 ($v = 1$), gdzie:

- + badany VOC,
- kontrola,

$$\chi^2_{v_p=0,05} = 3,84^*$$

$$\chi^2_{v_p=0,01} = 6,64^{**}$$

$$\chi^2_{v_p=0,001} = 10,83^{***}$$

Dane dotyczące ilości wydzielanych przez rośliny VOC, w zależności od czynników (sposób żerowania, czas, stadium), zostały poddane analizie wariancji wg modelu 3-czynnikowego, całkowicie losowego. Natomiast średnie dla efektów głównych czynników oraz średnie kombinacji pomiędzy nimi zostały porównane za pomocą testu wielokrotnych porównań Tukeya przy $p = 0,05$. Klasyfikację 30 obiektów doświadczalnych oraz 19 badanych VOC przeprowadzono wykorzystując grupowanie metodą analizy skupień za pomocą programu Statistica 7 (StatSoft Polska).

Uwaga. Na wykresach obrazujących średnie i ich półprzedziały ufności w interakcji, horyzontalne przesunięcie poszczególnych markerów nie obrazuje żadnych wartości liczbowych. Każdy z wykresów zawiera trzy punkty odzwierciedlające trzy przedziały czasowe (T1, T2, T3; obydwa modele żerowania) korespondujące z L1, L2, L3, osobnikami dorosłymi i kontrolą. Przesunięcia te mają na celu zapobieganie nakładania się markerów na siebie. Pojedyncze pomiary (rys. 1-19) zawarte na wykresach ze średnimi i ich półprzedziałami ufności zostały celowo powtórzone w tabelach 2-20 (kolor szary), aby precyzyjniej zobrazować wartości średnie i interakcje. Ponadto zobrazowane za pomocą „wąsów” zakresy zmienności średnich są niejednakowe dla różnych związków i nie występują w tabelach 2-20.

4. WYNIKI

4.1. ANALIZA CHROMATOGRAFICZNA

W badaniach laboratoryjnych (1 h przedziały interwałowe) zidentyfikowano 19 VOC wydzielanych w reakcji obronnej na żerowanie skrzypionki zbożowej przez pszenicę odmiany „Tonacja” (tab. 1). Związki zostały uszeregowane wg czasów retencji z podziałem na GLV i pozostałe VOC. Najniższy czas retencji zaobserwowano dla (Z)-3-HAL (5,59), natomiast najwyższy dla PEN (28,25). Odnotowano, że masa cząsteczkowa nie jest skorelowana z czasem retencji (pomimo mniejszej masy cząsteczkowej niektóre VOC charakteryzowały się większym czasem retencji). Dotyczyło to takich związków, jak 4-HEP (114), β -PIN (136), β -MYR (136) i (Z)-OCI (136) w porównaniu z (Z)-3-HAC (142) i 1-HAC (144). To samo zaobserwowano dla BAC (150), MAT (152), IND (117) i 5,9-UND (184) (tab. 1).

Porównując obydwa modele żerowania owadów (24 h i 3-dniowy) na pszenicy, zaobserwowano wyższą emisję wszystkich zidentyfikowanych VOC w następstwie ciągłego uszkodzenia rośliny. Ponad dwukrotnie większą produkcję lotnych związków odnotowano w 3-dniowym modelu żerowania dla (E)-2-HAL (25,2 ng·h⁻¹) (tab. 3), (E)-2-HOL (8,8 ng·h⁻¹) (tab. 5), 4-HEP (4,6 ng·h⁻¹) (tab. 6), β -PIN (9,7 ng·h⁻¹) (tab. 7), 5,9-UND (9,3 ng·h⁻¹) (tab. 18) i PEN (4,1 ng·h⁻¹) (tab. 20). Trzy- i czterokrotnie większa emisja lotnych związków charakteryzowała odpowiednio IND i β -CAR. Model 24 h żerowania indukował wydzielanie średnio 40,0 ng·h⁻¹ IND i 2,4 ng·h⁻¹ β -CAR, natomiast model 3-dniowy wpłynął na zwiększenie emisji do 121,6 ng·h⁻¹ dla IND i 10,0 ng·h⁻¹ dla β -CAR (tab. 16, 17). Największa zwyżka produkcji VOC w obydwu modelach żerowania miała miejsce w przypadku MAT. Zanotowano tu 11-krotnie większą emisję lotnych związków w 3-dniowym modelu (z 0,3 ng·h⁻¹ w modelu 1 do 3,3 ng·h⁻¹ w modelu 2) (tab. 15).

Obrazując obydwa modele żerowania, w następstwie ataku owada dorosłego, zaobserwowano największe wydzielanie VOC dla takich związków jak (Z)-3-HAL, (E)-2-HAL, (E)-2-HOL, 4-HEP, β -MYR, (Z)-3-HAC, 1-HAC, (Z)-OCI, MAT, IND, β -CAR i (E)- β -FAR (rys. 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 18). Dla porównania, maksymalne wydzielanie niektórych VOC było indukowane żerowaniem L3. Zjawisko to zaobserwowano dla (Z)-3-HOL (L3 – 100,6 ng·h⁻¹; dorosłe – 100,4 ng·h⁻¹) (tab. 4), β -PIN (L3 – 12,3 ng·h⁻¹; dorosłe – 12,1 ng·h⁻¹) (tab. 7), LIN (L3 – 108,6 ng·h⁻¹; dorosłe – 108,5 ng·h⁻¹) (tab. 12), LOX (L3 – 6,3 ng·h⁻¹; dorosłe – 6,2 ng·h⁻¹) (tab. 13), BAC (L3 – 115,3 ng·h⁻¹; dorosłe – 114,4 ng·h⁻¹) (tab. 14) i 5,9-UND (L3 – 11,5 ng·h⁻¹; dorosłe – 11,1 ng·h⁻¹) (tab. 18). Reasumując, żerowanie L3 i dorosłych spowodowało wydzielanie przez rośliny VOC na zbliżonym poziomie z wyjątkiem β -CAR (tab. 17). W tym przypadku zaobserwowano u pszenicy istotnie większą (x 1,8) emisję VOC w następstwie żerowania na niej osobników dorosłych (L3 – 9,8 ng·h⁻¹; dorosłe – 17,5 ng·h⁻¹).

Trzy spośród zidentyfikowanych GLV ((Z)-3-HAL, (Z)-3-HAC i (Z)-3-HOL) były wydzielane przez nieindukowane żerowaniem rośliny pszenicy w obydwu modelach (rys. 1, 3, 8). Dla pierwszych dwóch komponentów uwalnianie kształtowało się na poziomie około 30 ng·h⁻¹ (tab. 2, 9), natomiast dla (Z)-3-HOL odnotowano o połowę mniejszą aktywność pszenicy (tab. 4). Oznacza to, że również rośliny nieuszkodzone mogą wydzielać pewne ilości VOC. W odniesieniu do innych GLV, jak i pozostałych VOC obserwowano jedynie wydzielanie śladowych ilości tych związków przez rośliny kontrolne.

Tabela 1. Fizykochemiczne parametry oznaczonych analitów

Table 1. Physicochemical parameters of determined compounds

Lp. No.		Nazwa związku Compound's name	Struktura Structure	Masa cząsteczkowa Molecular weight (g·mol ⁻¹)	Charakterystyczny jon molekularny Characteristic molecular ion	Czas retencji Retention time (min)
1	GLV	(Z)-3-HAL (Z)-3-heksenal	C ₆ H ₁₀ O	98	41, 42, 98	5,59
2		(E)-2-HAL (E)-2-heksenal	C ₆ H ₁₀ O	98	27, 41, 98	8,32
3		(Z)-3-HOL (Z)-3-heksen-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	100	41, 67, 100	9,02
4		(E)-2-HOL (E)-2-heksen-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	100	41, 57, 100	9,16
5		(Z)-3-HAC octan (Z)-3-heksen-1-ylu	C ₈ H ₁₄ O ₂	142	43, 67, 142	13,45
6		1-HAC octan 1-heksylu	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	43, 56, 144	14,22
7	pozostałe – rest of VOC	4-HEP 4-heptanon	C ₇ H ₁₄ O	114	43, 71, 114	9,23
8		β-PIN β-pinen	C ₁₀ H ₁₆	136	41, 93, 136	13,33
9		β-MYR β-myrcen	C ₁₀ H ₁₆	136	41, 93, 136	13,37
10		(Z)-OCI (Z)-ocimen	C ₁₀ H ₁₆	136	41, 93, 136	15,36
11		LIN linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	41, 71, 154	17,35
12		LOX tlenek linalolu	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170	43, 59, 170	17,40
13		BAC octan benzylu	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	91, 108, 150	18,20
14		MAT salicylan metylu	C ₈ H ₈ O ₃	152	92, 120, 152	19,22
15		IND indol	C ₈ H ₇ N	117	90, 117, 117	21,25
16		β-CAR β-kariofilen	C ₁₅ H ₂₄	204	93, 133, 204	26,02
17		5,9-UND 6,10-dimetylo-5,9-undekadien-2-on	C ₁₃ H ₂₈	184	43, 69, 184	26,08
18		(E)-β-FAR (E)-β-farnezen	C ₁₅ H ₂₄	204	41, 93, 204	26,25
19		PEN pentadekan	C ₁₅ H ₃₀	210	43, 57, 210	28,25

VOC były wydzielane przez uszkodzone rośliny w różnych ilościach. Największe uwalnianie lotnych związków odnotowano w drugim modelu dla (Z)-3-HAL i (Z)-3-

-HAC; odpowiednio $563,5 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ (dorosłe/T3) i $570,7 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ (L3/T3) (tab. 2, 9). Porównując VOC wydzielane w największych ilościach po 24 h żerowania owadów (T1, model 1) ze związkami wydzielanymi w największych ilościach po kolejnych dwóch dobach żerowania skrzypionki (T3, model 2), zaobserwowano zwiększenie, ale nie wielokrotnianie produkcji lotnych związków, mimo utrzymującego się stresu. Tendencję tę odnotowano dla (Z)-3-HAL ($428,8 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T1/model 1; $563,5 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T3/model 2) (tab. 2), (E)-2-HAL ($34,8 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T1/model 1; $52,6 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T3/model 2) (tab. 3), (Z)-3-HOL ($108,2 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – L3 i dorosłe/T1/model 1; $150,9 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – L3/T3/model 2) (tab. 4), (E)-2-HOL ($11,4 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – L3/T1/model 1; $18,3 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T3/model 2) (tab. 5), (Z)-3-HAC ($443,7 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T1/model 1; $570,7 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – L3/T3/model 2) (tab. 9), 1-HAC ($12,5 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T1/model 1; $19,0 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T3/model 2) (tab. 10). Biorąc pod uwagę MAT ($2,0 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T1/model 1; $14,6 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T3/model 2), zaobserwowano wielokrotnienie produkcji tego związku (tab. 15). Podobną, chociaż nieco słabszą tendencję odnotowano dla β -CAR ($15,6 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T1/model 1; $42,1 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – dorosłe/T3/model 2) (tab. 17) i 5,9-UND ($10,4 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – L3/dorosłe/T1/model 1; $25,0 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ – L3/T3/model 2) (tab. 18). Część spośród zidentyfikowanych VOC było wydzielanych w największych ilościach w drugim dniu po żerowaniu owadów. Prawidłowość tą zaobserwowano (model 1 żerowania) dla 4-HEP, β -PIN, β -MYR, (Z)-OCI, LIN, LOX, BAC, IND, (E)- β -FAR i PEN (rys. 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 15, 18, 19). Z całą pewnością taka „opóźniona” reakcja rośliny dotyczy także modelu 2, z tą różnicą, że w tym przypadku występuje tu zjawisko nakładania się wyników, gdyż większe wydzielanie VOC było spowodowane żerowaniem owadów w dwóch po sobie następujących dniach. Ciekawą reakcję odnotowano dla LIN, porównując obydwa modele żerowania (rys. 11). Związek ten można zaliczyć do tych, które wydzielane są w największych ilościach w drugim dniu po uszkodzeniu. Model 2 żerowania spowodował mniejsze wydzielanie VOC przez uszkodzone rośliny w porównaniu z modelem 1 (L3 – $128,0 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ i dorosłe – $127,0 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla modelu 1; L3 – $123,4 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ i dorosłe – $120,7 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla modelu 2) (tab. 12). Kontynuacja żerowania w trzecim dniu powodowała utrzymywanie wydzielania na poziomie z dnia poprzedniego (L3 – $118,4 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3 i dorosłe – $120,0 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3).

Na tle interakcji pomiędzy sposobem żerowania (24 h, a 3 dni) oraz czasem kolekcji (T1, T2, T3) zaobserwowano istotne różnice w wydzielaniu VOC. Dla 24 h modelu żerowania owadów i dla VOC uwalnianych zaraz po uszkodzeniu, odnotowano zmniejszające się wydzielanie VOC w miarę upływu czasu. Dotyczyło to następujących związków: (Z)-3-HAL ($212,1 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T1 – $46,7 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3) (tab. 2), (E)-2-HAL ($19,7 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T1 – $4,3 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3) (tab. 3), (Z)-3-HOL ($67,1 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T1 – $26,2 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3) (tab. 4), (E)-2-HOL ($6,3 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T1 – $1,9 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3) (tab. 5), (Z)-3-HAC ($221,0 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T1 – $48,7 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3) (tab. 9), 1-HAC ($6,8 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T1 – $1,9 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3) (tab. 10), MAT ($0,9 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T1 – $0,1 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3) (tab. 15), β -CAR ($5,0 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T1 – $0,1 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3) (tab. 17) i 5,9-UND ($5,5 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T1 – $1,3 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T3) (tab. 18). Najwięcej VOC w tym modelu zebrano w Super-Q podczas pierwszej godziny (T1: 9.00-10.00) bezpośrednio po zdjęciu owadów z rośliny. Dla innych związków maksymalne zbieranie przypadało na drugą godzinę (T2: 12.00-13.00). Dotyczyło to: 4-HEP ($3,1 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T2) (tab. 6), β -PIN ($7,2 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T2) (tab. 7), β -MYR ($7,0 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T2) (tab. 8), (Z)-OCI ($51,0 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T2) (tab. 11), LIN ($70,6 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T2) (tab. 12), LOX ($4,3 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T2) (tab. 13), BAC ($73,3 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T2) (tab. 14), IND ($84,1 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T2) (tab. 16), (E)- β -FAR ($42,7 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T2) (tab. 19) i PEN ($3,3 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$ dla T2) (tab. 20). Dla modelu 2 zaobserwowano silniejszą reakcję

roślin na żerowanie. Było to najprawdopodobniej spowodowane ciągłą ingerencją w tkanki roślinne, a więc nieustannym stresem. Ten sposób żerowania indukował wzrost wydzielania VOC przez rośliny przez cały czas trwania doświadczenia i dotyczył takich związków, jak (Z)-3-HAL (212,8 ng·h⁻¹ dla T1 – 279,6 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 2), (E)-2-HAL (20,3 ng·h⁻¹ dla T1 – 30,6 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 3), (Z)-3-HOL (67,3 ng·h⁻¹ dla T1 – 91,3 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 4), (E)-2-HOL (6,6 ng·h⁻¹ dla T1 – 11,2 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 5), 4-HEP (1,7 ng·h⁻¹ dla T1 – 7,2 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 6), β-MYR (4,2 ng·h⁻¹ dla T1 – 12,5 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 8), (Z)-3-HAC (225,4 ng·h⁻¹ dla T1 – 290,2 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 9), 1-HAC (6,2 ng·h⁻¹ dla T1 – 11,5 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 10), (Z)-OCI (36,7 ng·h⁻¹ dla T1 – 79,0 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 11), BAC (62,9 ng·h⁻¹ dla T1 – 104,7 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 14), MAT (1,0 ng·h⁻¹ dla T1 – 5,9 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 15), IND (21,9 ng·h⁻¹ dla T1 – 181,9 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 16), β-CAR (5,2 ng·h⁻¹ dla T1 – 15,9 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 17), 5,9-UND (5,6 ng·h⁻¹ dla T1 – 14,0 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 18) i (E)-β-FAR (14,8 ng·h⁻¹ dla T1 – 65,1 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 19). W kontraście, mimo ciągłego stresu spowodowanego uszkodzaniem roślin przez owady produkcja β-PIN (12,6 ng·h⁻¹ dla T2 – 12,6 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 7), LIN (71,3 ng·h⁻¹ dla T2 – 70,0 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 12), LOX (5,9 ng·h⁻¹ dla T2 – 6,1 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 13) i PEN (5,2 ng·h⁻¹ dla T2 – 5,6 ng·h⁻¹ dla T3) (tab. 20) zwiększała się nieznacznie lub w ogóle w trzecim dniu kolekcji.

Emisja VOC była efektem współdziałania pomiędzy sposobem żerowania (24 h i 3 dni), a stadium rozwojowym owada (L1, L2, L3, dorosłe). Analizując wyniki, zaobserwowano zdecydowanie większe wydzielanie VOC przez rośliny indukowane żerowaniem owadów bardziej zaawansowanych w rozwoju osobniczym. Dla 24 h modelu żerowania dotyczyło to takich związków, jak (Z)-3-HAL, 4-HEP, (Z)-3-HAC, 1-HAC, LIN, MAT, β-CAR, (E)-β-FAR i PEN (rys. 1, 5, 8, 9, 11, 14, 16, 18, 19). Dla 3-dniowego modelu żerowania większe wydzielanie skorelowane ze stadium rozwojowym dotyczyło (Z)-3-HAL, (E)-2-HAL, (Z)-3-HOL, (E)-2-HOL, 4-HEP, β-PIN, β-MYR, (Z)-3-HAC, 1-HAC, (Z)-OCI, MAT, IND, β-CAR i (E)-β-FAR (rys. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 18). Dla 24 h modelu żerowania nie zaobserwowano zmian ilościowych w wydzielaniu VOC, porównując stadium larwalne L3 i imago dla (E)-2-HOL (7,3 ng·h⁻¹) (tab. 5), β-MYR (9,3 ng·h⁻¹) (tab. 8) i LOX (4,3 ng·h⁻¹) (tab. 13). W odniesieniu do niektórych VOC żerowanie larw L3 indukowało w roślinach silniejszą reakcję niż uszkodzenia powodowane przez imago. Odnosiło się to do modelu 1 jak i modelu 2 żerowania i dotyczyło (E)-2-HAL (model 1: L3 – 21,6 ng·h⁻¹; dorosłe – 21,5 ng·h⁻¹) (tab. 3), (Z)-3-HOL (model 1: L3 – 73,0 ng·h⁻¹; dorosłe – 71,6 ng·h⁻¹) (tab. 4), β-PIN (model 1: L3 – 7,7 ng·h⁻¹; dorosłe – 7,2 ng·h⁻¹) (tab. 7), (Z)-OCI (model 1: L3 – 58,7 ng·h⁻¹; dorosłe – 58,3 ng·h⁻¹) (tab. 11), LIN (model 2: L3 – 116,2 ng·h⁻¹; dorosłe – 116,0 ng·h⁻¹) (tab. 12), LOX (model 2: L3 – 8,2 ng·h⁻¹; dorosłe – 8,1 ng·h⁻¹) (tab. 13), BAC (model 1: L3 – 85,5 ng·h⁻¹; dorosłe – 84,1 ng·h⁻¹ i model 2: L3 – 145,0 ng·h⁻¹; dorosłe – 144,7 ng·h⁻¹) (tab. 14), 5,9-UND (model 1: L3 – 6,6 ng·h⁻¹; dorosłe – 6,5 ng·h⁻¹ i model 2: L3 – 16,5 ng·h⁻¹; dorosłe – 15,8 ng·h⁻¹) (tab. 18) i PEN (model 2: L3 – 8,4 ng·h⁻¹; dorosłe – 8,2 ng·h⁻¹) (tab. 20).

4.2. REAKCJA CHRZĄSZCZY NA OBECNOŚĆ GLV

Dwa spośród GLV ((Z)-3-HAL i (Z)-3-HAC) wywierały wpływ na zachowanie owadów dorosłych. Badania triacetinu (stabilizatora dla (Z)-3-HAL) nie wpłynęły w żadnym stopniu na zachowanie owadów obu płci. (Z)-3-HOL okazał się związkiem

nie wykazującym atraktantnego i repelentnego działania na owady dorosłe skrzyponki zbożowej obu płci, pomimo że rośliny nieuszkodzone wydzielały znaczące ilości tego komponentu. Wykresy obrazujące całkowitą długość śladu wędrówki owadów na sektor są efektem pomiarów (oprogramowanie do TSLC – 100) dokonywanych między osią x a rzeczywistym śladem z częstotliwością 10 Hz przez 5 minut. Dla lepszego zobrazowania wyników uśredniono 10 pomiarów (10 Hz na 1 Hz), co w efekcie dało 300 zapisów. Dla (Z)-3-HAL i (Z)-3-HAC ($0,5 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$; samice i samce skrzyponki zbożowej) najdłuższy ślad przypadał na granicę między dwoma sektorami (350°) (rys. 20a, 21a, 22a, 23a). Silną reakcję samic zaobserwowano dla (Z)-3-HAL, gdzie całkowita długość śladu w obrębie sektorów 340° i 0° wynosiła około 1500 mm (rys. 20a). Na uwagę zasługuje fakt, że w odniesieniu do (Z)-3-HAC również samice reagowały intensywniej na badany związek w porównaniu z samcami (rys. 22a, 23a). Reakcja ta jednak nie była tak silna, jak w przypadku poprzedniego związku. Całkowita długość śladu samców w obrębie opisywanych sektorów (340° i 0°), dla obydwu testowanych związków, wynosiła około 1000 mm (rys. 21a, 23a). Interesującymi są również diagramy obrazujące przedziały ufności dla populacji (rys. 20b, 21b, 22b, 23b). Każdy z nich obrazuje 30 niezależnych zapisów uzyskanych w wyniku testowania 30 owadów obu płci. Dla obydwu testowanych związków i dla obydwu płci zdecydowana większość wyników mieściła się w granicach przedziałów ufności badanej populacji. Szczególnie wyraźnie obrazuje to rysunek 20b, gdzie wszystkie pojedyncze wyniki zawierają się w tej granicy. Średnia dla wektorów (czerwony kolor) obrazuje rozproszenie dla 30 pomiarów. Długość wektora była skorelowana ze skupieniem wszystkich 30 śladów. Najdłuższy wektor, a więc największe skupienie obrazują diagramy przedstawiające wędrówkę samic dla obydwu testowanych związków (rys. 20b, 22b). Nieco większe rozproszenie charakteryzowało samce (rys. 21b, 23b). Większe stężenia syntetycznych GLV ((Z)-3-HAL – $7,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$; (Z)-3-HAC – $7,4 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$) obliczone na podstawie analiz chromatograficznych (maksymalne uwalnianie po 24 h żerowania) wpływały repelentnie na zachowanie owadów dorosłych skrzyponki zbożowej. Testowane owady obu płci wędrowały w kierunku przeciwnym do źródła powietrza wraz z testowanym związkiem. Najsilniejszą reakcję odzwierciedloną przez najdłuższy ślad zaobserwowano dla samców ((Z)-3-HAL – $7,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$) (rys. 25a). Długość śladu w tym przypadku przypadająca na granicę pomiędzy dwoma sektorami (180°) wynosiła ponad 1700 mm. Dla samic ((Z)-3-HAC – $7,4 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$) i samców ((Z)-3-HAL – $7,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$) najdłuższy odnotowany ślad to około 1200 mm (rys. 24a, 27a). Wszystkie diagramy obrazujące repelentne działanie obydwu testowanych związków odzwierciedlają dwa główne kierunki wędrówki owadów (rys. 24a, 25a, 26a, 27a). Ślady te przypadały na następujące sektory:

- samice ((Z)-3-HAL – $7,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$), granica sektorów 150° - 170° i sektory 180° i 200° (rys. 24a),
- samce ((Z)-3-HAL – $7,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$), granica sektorów 150° - 170° i sektor 180° i 190° (rys. 25a),
- samice ((Z)-3-HAC – $7,4 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$), granica sektorów 150° - 170° i sektor 180° i 190° (rys. 26a),
- samce ((Z)-3-HAC – $7,4 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$), granica sektorów 150° - 170° i sektory 180° i 200° (rys. 27a).

Analizując przedziały ufności dla populacji (rys. 24b, 25b, 26b, 27b) zaobserwowano zdecydowanie większe skupienie w porównaniu ze stężeniami kontrolnymi ($0,5 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$). Wszystkie jednostkowe pomiary mieściły się w granicach przedziału

ufności dla populacji. Oznacza to silne repelentne działanie testowanych stężeń. Na uwagę zasługują też diagramy kontrolne (rys. 28, 29) obrazujące zachowanie owadów w stosunku do samego rozpuszczalnika (heksan). Zarówno w zachowaniu samic jak i samców zaobserwowano brak wyraźnego kierunku wędrówki. W rzeczywistości owady wędrowały po sferze w poszukiwaniu sygnału chemicznego. Całkowita długość śladu nie przekraczała 300 mm w żadnym z analizowanych sektorów (rys. 28a, 29a). W konsekwencji nie można określić przedziałów ufności dla populacji (rys. 28b, 29b). Nie zaobserwowano więc wektora świadczącego o wyraźnym skupieniu śladu poszczególnych owadów.

4.3. ANALIZA NIEKTÓRYCH PARAMETRÓW UZYSKANYCH Z TSLC DLA GLV

Analizując średnią prędkość, z jaką owady obydwu płci poruszały się na sferze dla (Z)-3-HAL i (Z)-3-HAC nie stwierdzono istotnych różnic (rys. 30). Skrzypionki poruszały się z prędkością ponad $11 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$, z wyjątkiem samic ($0,5 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$ – (Z)-3-HAC) i $0,5 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$ – (Z)-3-HAL), których szybkość przemieszczania się wynosiła odpowiednio $10,91 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ i $10,65 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$. Istotnie mniejsza była natomiast prędkość poruszania się owadów w kontroli ($9,01 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ dla samic i $9,03 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ dla samców). Owady, reagując na badane związki, przebyły podczas 5 min obserwacji dystans ponad 3100 mm (rys. 31). Nieco krótszy dystans pokonały samice, które poruszały się z mniejszą prędkością (kombinacja $0,5 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$ dla (Z)-3-HAC) i (Z)-3-HAL). Istotnie mniejszy dystans przebyły owady w kontroli (2701,8 mm dla samic i 2707,8 mm dla samców). Szczególną reakcję (atraktant/repelent) obrazuje średnie wyprostowanie (rys. 32). Zarówno samice, jak i samce poruszały się w stronę uwalnianego związku lub w kierunku przeciwnym (w zależności od stężenia), niemal po linii prostej. Najbardziej wyprostowany ślad dotyczył samic ($0,5 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$ – (Z)-3-HAC) i wynosił on 0,98 (skala od 1,00 = maksymalne wyprostowanie do 0,00 = minimalne wyprostowanie). Istotnie mniejsze wyprostowanie dotyczyło owadów w testach kontrolnych (samice 0,32, samce 0,25).

4.4. REAKCJA CHRZĄSZCZY NA OBECNOŚĆ POZOSTAŁYCH VOC Z WYKORZYSTANIEM TSLC

W doświadczeniach wykorzystywano TSLC, lecz nie oceniano takich parametrów jak dla GLV (długość wektora dla poszczególnych sektorów okręgu, przedział ufności dla populacji, prędkość, długość śladu, wyprostowanie). Obserwacje dotyczyły wyboru przez owady na sferze dwóch naprzeciwległych ćwiartek okręgu (+). Pozostałe VOC analizowano zarówno dla 24 h, jak i 3-dniowego modelu żerowania. Dwa związki (LIN i (E)- β -FAR) z 24 h modelu żerowania i trzy (LIN, (E)- β -FAR oraz (Z)-OCI) z 3-dniowego modelu żerowania wpływały na zachowanie się owadów. Pozostałe VOC nie wykazywały atraktantnego i repelentnego działania na dorosłe skrzypionki obu płci. W pierwszym modelu żerowania maksymalne dawki LIN ($2,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$) i (E)- β -FAR ($1,2 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$) okazały się być silnymi repelentami w stosunku do samic i samców skrzypionki zbożowej (tab. 21). Największą repelentną reakcję zaobserwowano ($p = 0,01$) dla LIN (samice $\chi^2 = 7,5$) i (E)- β -FAR (samice i samce $\chi^2 = 9,63$). W 3-dniowym

modelu żerowania w porównaniu z modelem 1 nie stwierdzono różnic w maksymalnym wydzielaniu LIN ($2,1 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$), co wpłynęło na taką samą reakcję w zachowaniu się samców skrzypionki ($\chi^2 = 5,63$) (tab. 21, 22). Zaobserwowano natomiast silniejszą reakcję samic na ten związek (repellent). Zdecydowanie intensywniej oddziaływał na samice i samce (E)- β -FAR. W tym przypadku odnotowano większe wydzielanie tego związku (model 2; $1,9 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$) w porównaniu z modelem 1 ($1,2 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$).

Z pewnością wpłynęło to na reakcję wędrówka w kierunku przeciwnym do uwalniania) większej liczby owadów na testowany VOC ($p = 0,001$; samice $\chi^2 = 14,7$; samce $\chi^2 = 12,03$). Dodatkowo zaobserwowano reakcję na (Z)-OCI indukowaną żerowaniem dorosłych osobników skrzypionki zbożowej, których to aktywność spowodowała maksymalne uwalnianie tego związku. Zdecydowanie silniej na ten repellent reagowały samice ($p = 0,01$; $\chi^2 = 7,5$) niż samce ($p = 0,05$; $\chi^2 = 5,63$). Badania (R)-(+)-limonenu (stabilizatora dla (Z)-OCI nie wpłynęły w żadnym stopniu na zachowanie owadów obu płci.

4.5. REAKCJA CHRZĄSZCZY NA OBECNOŚĆ VOC Z ROŚLIN USZKADZANYCH

Obserwowano także zachowanie imagines skrzypionki zbożowej na roślinach uprzednio uszkodzonych przez poszczególne stadia larwalne i osobniki dorosłe w obydwu modelach żerowania. W modelu 1, zarówno rośliny nieuszkodzone (kontrola), jak i rośliny uszkodzone przez larwy L1 były atrakcyjne (a) dla samic (kontrola $\chi^2 = 9,63$; żerowanie L1 $\chi^2 = 7,5$) oraz dla samców (kontrola $\chi^2 = 7,5$; żerowanie L1 $\chi^2 = 5,63$) (tab. 23). Żerowanie L3 oraz dorosłych spowodowało silniejszą reakcję roślin (większa produkcja VOC), co wpłynęło na odwrotną w stosunku do źródła uwalniania (repellent) wędrówkę owadów na sferze (r). W szczególności dotyczyło to reakcji samic na uprzednio żerowanie dorosłych na pszenicy ($\chi^2 = 7,5$). Analizując model 2 żerowania owadów na roślinie, zaobserwowano, iż 3-dniowy stres spowodował, że owady dorosłe nie wybierały już kierunku wędrówki w stronę źródła stymulacji z wyjątkiem kontroli (tab. 24).

Prawdopodobnie na takie zachowanie owadów wpłynął (E)- β -FAR, który był wydzielany w większych ilościach w trzecim dniu po uszkodzeniu lub połączone działanie tego związku z LIN i (Z)-OCI.

Szczególnie silna repellentna reakcja owadów została zaobserwowana w przypadku samic ($\chi^2 = 12,03$), którym dostarczano powietrze z roślin uprzednio uszkodzonych przez imagines skrzypionki. Na uwagę zasługuje żerowanie larw L2 w tym modelu i jego wpływ na zachowanie testowanych owadów dorosłych. Uszkodzone rośliny produkowały nieco więcej VOC, co wpłynęło na zachowanie się owadów (samice $\chi^2 = 7,5$ (r); samce $\chi^2 = 5,63$ (r)). Dla porównania żerowanie L2 w 24 h modelu uszkodzenia roślin było nieistotne.

4.6. ANALIZA SKUPIEŃ DLA VOC

Zarówno obiekty doświadczalne, będące kombinacjami poziomów badanych czynników (długość żerowania x czas żerowania x stadium owada) oraz wszystkie analizowane VOC przyczyniły się jednocześnie do układu skupień. Klasyfikacja dwukierunkowa została poprzedzona grupowaniem metodą k-średnich odrębnie dla obiektów doświadczalnych i lotnych związków. Ponieważ uzyskano zbieżne skupienia w obydwu

metodach, dlatego w pracy zaprezentowano jednoczesną klasyfikację obiektów i związków (rys. 33).

Wyraźną jednorodną grupę lotnych związków stanowią (Z)-3-HAL i (Z)-3-HAC, które w 8 obiektach (3D T1 L3, 3D T1 Imago, 3D T2 L3, 3D T3 L3, 3D T2 Imago, 3D T3 Imago oraz 24 h T1 L3 i 24 h T1 Imago) były produkowane przez pszenicę w bardzo dużych ilościach (powyżej $400 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$). Emisja tych dwóch związków była istotnie mniejsza pod wpływem żerowania młodszych stadiów larwalnych w różnym czasie zbierania.

Na uwagę zasługuje również druga grupa lotnych związków, w skład której wchodzi (Z)-3-HOL, (Z)-OCI, LIN, BAC i IND. Są one produkowane przez uszkodzoną pszenicę podczas 3 dni żerowania larw L3, a także dorosłych skrzypionek w 2. i 3. czasie zbierania. Spośród tych komponentów pszenica najaktywniej emitowała IND – powyżej $300 \text{ ng}\cdot\text{h}^{-1}$. Pozostałe VOC były wydzielane w kilkakrotnie mniejszych ilościach, niezależnie od czasu zbierania, sposobu żerowania oraz stadium skrzypionki. Dotyczy to również wszystkich obiektów kontrolnych, w których badano 19 lotnych związków emitowanych przez pszenicę nieuszkodzoną.

5. DYSKUSJA

Uwalnianie VOC przez pszenicę było indukowane atakiem larw i imagines skrzypionki zbożowej. W badaniach laboratoryjnych zidentyfikowano 19 VOC, których emisja była skorelowana z żerowaniem i rozwojem tego szkodnika. Podobne rezultaty otrzymali Ceva-Antunes i inni [28], Chen i inni, [31], De Moraes i inni [42], Harmel i inni [63], Hoballah i inni [69], Hoballah i Turlings [70], Jiang [79], Vernon i Tóth [172], którzy opisali to zjawisko jako efektywnie udokumentowaną strategię obronną roślin, skierowaną przeciwko agresorowi, pomimo iż wiadomo, że VOC mogą być także uwalniane w następstwie uszkodzeń mechanicznych roślin [62, 84, 85, 104, 130, 131], a także w konsekwencji penetracji tkanki roślinnej przez patogena grzybowego [34, 36, 132]. Ponadto Imrei i inni [76] stwierdzili, że zjawisko uwalniania VOC w następstwie uszkodzeń nie dotyczy tylko roślin uprawnych, ale także drzew, czego przykładem może być silna reakcja kornika (*Ips typographus* L., Coleoptera: Scolytidae) na (Z)-3-HOL i (E)-2-HOL [182].

Niektóre spośród GLV (w szczególności (Z)-3-HAL i (Z)-3-HAC) mogą odegrać kluczową rolę w interakcji pszenica-skrzypionka, a w związku z tym stanowią ważną implementację dla Integrowanego Programu Ochrony Roślin. Kishimoto i inni [84, 85] udowodnili, że to właśnie aldehydy C₆ są odpowiedzialne za indukcję genów powodujących odporność rzodkiewnika na *Botrytis cinerea*. Także Engelberth i inni [57] podkreślają rolę VOC, jaką mogą pełnić w informowaniu roślin sąsiednich, a nieuszkodzonych, o obecności roślinożercy.

Rezultaty badań potwierdzają w sposób jednoznaczny specyficzną funkcję VOC w podstawowym systemie obronnym pszenicy. Brak jest doniesień naukowych o roli lotnych związków w komunikacji między pszenicą a skrzypionkami. Funkcja ta jest natomiast szeroko udokumentowana w odniesieniu do innych roślin. Zhou i inni [185] w badaniach nad ryżem donoszą, że roślina ta syntetyzuje i uwalnia kompleks VOC ((E)-2-HAL, (E)-2-HOL) w następstwie ataku roślinożercy. Sygnały te są skierowane do wrogów naturalnych szkodliwych owadów. Wspomniane związki mają istotnie repelentny wpływ na dorosłe *Nilaparvata lugens* Stal (Homoptera: Delphacidae). Myung i inni [106], badając uszkodzane owoce truskawek, zauważyli, że produkują one szeroką grupę VOC, w szczególności (E)-2-HAL. Thibout i inni [160] wykazali, że (E)-2-HAL jest atraktantem dla obydwu płci *Plioreocepta poeciloptera* L. (Diptera: Tephritidae), chociaż samce wydają się być bardziej wrażliwe i szybciej lokalizują gospodarza. Badania prowadzone nad (E)-2-HAL wskazują na możliwość użycia tego związku w ochronie żywności, co przytaczają także Lanciotti i inni [90], opisując jego znaczący hamujący wpływ na rozwój pałeczki okrężnicy (*Escherichia coli*). W testach polowych z zastosowaniem pułapek zawierających (E)-2-HAL Deng i inni [45] skutecznie odławiali *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). Ruther i Mayer [150], badając wpływ innych GLV ((Z)-3-HOL i (Z)-3-HAL), odławiali więcej *Phyllopertha horticola* L. (Coleoptera: Scarabaeidae). Chen i inni [32] podkreślają, że (Z)-3-HOL jest z całą pewnością wykorzystywany w komunikacji między rośliną gospodarza (herbata) a głównymi szkodnikami *Ectropis obliqua* Warren (Lepidoptera: Geometridae) i *Toxoptera aurantii* Boyer (Homoptera: Aphididae). Peacock i inni [121], badając uszkodzenia spowodowane żerowaniem chrząszczy *Phratora vulgatissima* L., *Phratora vitellinae* L. i *Galerucella lineola* Fab. (Coleoptera: Chrysomelidae) na niektórych odmianach wierzby stwierdzili, że prowadzą one do znacznego zwiększenia produkcji (Z)-3-HOL.

Du i inni [52] wykazali, że samice *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) reagowały na VOC wydzielane przez bób uszkodzony przez mszycę *Acyrtosiphon pisum* Harris (Homoptera: Aphididae). W badaniach laboratoryjnych zastosowali syntetyczne odpowiedniki VOC (LIN, (Z)-3-HAC i (Z)-3-HOL), które potwierdziły ich właściwości przywabiania parazytoidów. Jest powszechnie znane, że żerowanie gąsienic *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera: Pieridae) na liściach kapusty prowadzi do uwalniania lotnych związków przywabiających *Cotesia glomerata* L. (Hymenoptera: Braconidae). Parazytoid ten jest przywabiany zwykle bardzo szybko po ataku roślinożercy. Scascighini i inni [152], analizując chromatograficznie liście kapusty, wykazali istotny wzrost produkcji (Z)-3-HOL. Peacock i inni [122] stwierdzili, że żerowanie *Phratora vulgatissima* L. (Coleoptera: Chrysomelidae) na wierzbie długokończystej (*Salix dasyclados* Wimm.) powodowało wzrost ilości produkowanych VOC, a w szczególności (Z)-3-HAC.

Zaobserwowano zwiększone wydzielanie (Z)-OCI w konsekwencji uszkodzeń spowodowanych przez skrzyponki. Nie odnotowano istotnych ilości tego terpenu w roślinach kontrolnych. Podobne rezultaty uzyskali Blackmer i inni [20], którzy zauważyli, że uszkodzone rośliny lucerny uwalniały między innymi (Z)-OCI, który nie był obecny w roślinach zdrowych. Emisja (Z)-OCI przez pszenicę ma miejsce w kilkanaście godzin po uszkodzeniu żerowaniem poszczególnych stadiów larwalnych i imagines skrzyponki. Arimura i inni [9] także donoszą, że związek ten jest obecny w roślinach zaatakowanych przez agrofagi. Zwykle nie występuje on u roślin uszkodzanych mechanicznie. Tomova i inni [164] dowiedli, że obok β -CAR także (Z)-OCI może odegrać znaczącą rolę w regulacji populacji niektórych mszyc *Acyrtosiphon pisum* Harris, *Myzus persicae* Sulzer, *Aulacorthum solani* Kaltentbach (Homoptera: Aphididae).

(E)- β -FAR nie był uwalniany w istotnych ilościach przez nieuszkodzone rośliny pszenicy lub świeżo uszkodzone. Związek ten był natomiast emitowany przez rośliny w 24 h po ataku owadów w obydwu modelach żerowania. Mało jest doniesień o wpływie (E)- β -FAR na zachowanie roślinożerców. Z drugiej strony związek ten jest dobrze znanym atraktantem dla parazytoidów. Ngumbi i inni [110] badali reakcję endoparazytoida *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) na VOC produkowane przez kukurydzę w reakcji obronnej tej rośliny na żerowanie *Chilo partellus* Swinh (Lepidoptera: Pyralidae). W testach z użyciem olfaktometru (Y-tuba) i z wykorzystaniem między innymi (E)- β -FAR stwierdzili, że parazytoidy znacznie chętniej wybierają to ramię tuby, gdzie znajduje się testowany VOC. Fukushima i inni [59] zaobserwowali, że samice parazytoida *Cotesia kariyai* Watanabe (Hymenoptera: Braconidae) były przywabiane do mieszanki czterech syntetycznych związków, którego składnikiem był (E)- β -FAR. Kunert i inni [89] oraz Petrescu i inni [125] dowiedli, że mszycę *Acyrtosiphon pisum* Harris (Homoptera: Aphididae) zaatakowane przez naturalnego wroga uwalniają (E)- β -FAR, który powoduje rozproszenie się szkodników na roślinie bądź ich opadanie z powierzchni liści. Istnieje więc prawdopodobieństwo, że rośliny, uwalniając właśnie ten lotny związek, ingerują w zachowanie się mszyc. Röse i Tumlinson [149] dowiedli, że żerowanie larw *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) na bawełnie bezpośrednio wpływało na uwalnianie szerokiej gamy terpenów, jak (E)- β -FAR, (E,E)- α -FAR czy LIN.

Kolejnym związkiem wydzielanym w reakcji obronnej pszenicy na żerowanie skrzyponki był IND. James [78] potwierdza w swoich badaniach polowych, że *Orius tristicolor* White (Hemiptera: Anthocoridae) był przywabiany do pułapek nasączonych między innymi IND.

Zaobserwowano zdecydowanie intensywniejsze wydzielanie MAT w 3-dniowym modelu żerowania w konsekwencji utrzymującego się stresu. Także Effmert i inni [54] wykazali znaczącą rolę tego związku w komunikacji między roślinami w otaczającym środowisku. Ponadto De Boer i Dicke [39] potwierdzają bardzo ważną rolę MAT na zachowanie *Phytoseiulus persimilis* L. (Acari: Phytoseiidae). Bichao i inni [18] dowiedli zwiększoną aktywność receptorów czułek *Anthonomus rubi* Herbst (Coleoptera: Curculionidae) w stosunku do MAT. Zhou i inni [185] opisują MAT i jego repelentne właściwości na *Nilaparvata lugens* Stal (Homoptera: Delphacidae). Z drugiej strony Zhu i Park [187] wykazują atrakcyjność pułapek z MAT dla *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae). W testach wyboru (Y-tuba) De Boer i Dicke [38] opisyują silniejszą reakcję drapieżnego dobroczynka szklarniowego *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) i kierowanie się w stronę tego ramienia olfaktometru, które zawierało MAT.

Zaobserwowano nieznaczne wydzielanie PEN i β -MYR przez pszenicę w konsekwencji uszkodzenia roślin przez owady w przypadku obydwu modeli żerowania. Z drugiej strony Vogel i Hadacek [174] oraz Deng i inni [44] podkreślają rolę PEN jako komponenta części generatywnych roślin, jednak wiadomo, że znajduje się on również w częściach wegetatywnych [56, 151]. Dla porównania Effmert i inni [55], Habegger i Schnitzler [61], Nguyen i inni [111], Paik i inni [116], i Tran i inni [165] przypuszczają, że β -MYR występuje zarówno w częściach wegetatywnych, jak i generatywnych. Yasuda [181] stwierdził, że pentadekan może także być wykorzystywany do zwabiania drapieżcy *Eocanthecona furcellata* Wolff (Heteroptera: Pentatomidae). Pluskwiak ten był zachęcany przez VOC wydzielane z ekstraktu z *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae).

W doświadczeniach ze skrzypionką zbożową i pszenicą odmiany 'Tonacja' zaobserwowano nieznaczne wydzielanie β -PIN w obydwu modelach żerowania. Inne rezultaty odnotowali Priemé i inni [135], którzy zauważyli, że uszkodzenia świerku norweskiego (*Picea abies* (L.) H. Karst.) przez *Strophosoma melanogrammum* Forster (Coleoptera: Curculionidae) powodowało znaczną emisję α i β -PIN, natomiast żerowanie innego ryjkowca *Otiorhynchus* sp. (Coleoptera: Curculionidae) nie wpływało na zwiększoną produkcję tych związków. Choi i inni [33] także opisują olejki uzyskane z tymianku, szałwi, eukaliptusa i goździka (zawierające między innymi α i β -PIN), które mogą być potencjalnymi repelentami dla rozwoju dorosłych muchówek *Lycoriella mali* Fitch (Diptera: Sciaridae).

Na uwagę zasługuje fakt, że niektóre spośród VOC były wydzielane natychmiast po ataku agrofaga. Zjawisko to dotyczyło wszystkich GLV ((Z)-3-HAL, (E)-2-HAL, (Z)-3-HOL, (E)-2-HOL, (Z)-3-HAC, 1-HAC), a także niektórych spośród VOC (MAT, β -CAR, 5,9-UND). Pozostałe VOC były wydzielane w ciągu kilku lub kilkunastu godzin od momentu uszkodzenia (4-HEP, β -PIN, β -MYR, (Z)-OCI, LIN, LOX, BAC, IND, (E)- β -FAR i PEN). Podobne rezultaty dotyczące β -MYR, (Z)-OCI i BAC otrzymali Turlings i inni [169]. Myung i inni [106] zauważyli, że (Z)-3-HAL wzrósł dwukrotnie po 10 minutach od uszkodzenia testowanych roślin, co potwierdza szybką reakcję na atak agrofaga. Z kolei Hatanaka [64] donosi, że niektóre terpeny i indole mogą być uwalniane niekiedy dopiero kilka dni po uszkodzeniu. Typowe GLV uwalniane przez pszenicę jako następstwo ataku roślinożercy ((Z)-3-HAL, (E)-2-HAL, (Z)-3-HOL, (E)-2-HOL, (Z)-3-HAC, 1-HAC) wykazują tendencję do zaniku, gdy roślina przestaje być poddawana stresowi, jakim jest żerowanie. Podobne właściwości opisują Turlings i inni [169] w eksperymentach prowadzonych na kukurydzy.

Badania nad koewolucyjnymi powiązaniem między pszenicą a skrzyplionkami zbożowymi mogą posłużyć jako przykład modelowy, co może znacznie wpłynąć na redukcję stosowanych insektycydów w środowisku. W odniesieniu do GLV ((Z)-3-HAL, (Z)-3-HAC) zaobserwowano, że minimalne ilości wydzielane przez rośliny zdrowe były atraktantami dla dorosłych skrzyplionek, natomiast większe ilości emitowane w konsekwencji żerowania owadów, okazały się silnymi repelentami. Podobne rezultaty otrzymał Dickens [48], który dowodzi, że VOC zawierające znaczne ilości (E)-2-HOL i (Z)-3-HOL oraz β -CAR są silnymi repelentami dla owadów, natomiast minimalne ilości (Z)-3-HAC były atraktantami. Także Reinecke i inni [141] wykazali, że (E)-2-HOL i (Z)-3-HOL przywabiły samce *Melolontha melolontha* L. (Coleoptera: Scarabaeidae), podczas gdy ich aldehydy i octany były nieaktywne.

Dorośle skrzyplionki pozbawione chemicznego sygnału wędrowały po sferze w poszukiwaniu bodźca. W efekcie ich ruch przypominał mniej lub bardziej regularne okręgi. Podobne rezultaty otrzymali Lönnendonker i Scharstein [94] oraz McMahon i Guerin [101], obserwując pewne owady, które pozbawione chemicznego stymulatora wędrowały, wykonując nieregularne ruchy.

6. WNIOSKI

1. Żerowanie larw i imagines skrzypionki zbożowej (*Oulema melanopus* L.) na pszenicy (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori & Paol.) odmiany Tonacja prowadzi do uaktywnienia reakcji obronnej rośliny polegającej na zwiększonej produkcji VOC.
2. Bardziej zaawansowane w rozwoju owady (larwy L3 oraz imagines) indukują pszenicę do ilościowo największej produkcji VOC.
3. Dłuższy okres przebywania owadów na roślinie (model żerowania 2) powoduje silniejszą reakcję roślin. Ponadto emisja VOC indukowana ciągłym żerowaniem, jest utrzymywana w czasie; zwiększa się lub ewentualnie pozostaje na tym samym poziomie w trzecim dniu analizy.
4. Niektóre spośród GLV ((Z)-3-HAL, (Z)-3-HAC, (Z)-3-HOL) są wydzielane również przez rośliny kontrolne, nieuszkodzone żerowaniem owadów. Ich emisja przez rośliny pszenicy, pomimo iż powtarzalna, jest jednak ilościowo mniejsza. Reszta spośród GLV oraz wszystkie pozostałe VOC są wydzielane przez nieuszkodzoną pszenicę jedynie w ilościach śladowych.
5. GLV są wydzielane natychmiast po rozpoczęciu żerowania owadów, natomiast inne VOC mogą być uwalniane później. Do drugiej grupy można zaliczyć 4-HEP, β -PIN, β -MYR, (Z)-OCI, LIN, LOX, BAC, IND, (E)- β -FAR i PEN.
6. Wydzielanie niektórych z GLV, jako reakcja rośliny na uszkodzenia, jest zdecydowanie ilościowo większe. Dotyczy to (Z)-3-HAL i (Z)-3-HAC.
7. Imagines skrzypionki zbożowej są przywabiane przez małe koncentracje GLV, które są obecne w roślinach nieuszkodzonych ((Z)-3-HAL i (Z)-3-HAC). Rośliny uszkodzone wydzielają ich większe ilości, co pozwala im uniknąć kontaktu z owadami.
8. Niektóre spośród VOC (LIN, (E)- β -FAR; model żerowania 1, maksymalne uwalnianie) i LIN, (E)- β -FAR oraz (Z)-OCI; model żerowania 2, maksymalne uwalnianie) wykazują repelentne działanie w stosunku do imagines skrzypionki zbożowej.
9. Uzyskane rezultaty mogą być w przyszłości wykorzystane do ograniczenia wprowadzania syntetycznych środków ochrony roślin do środowiska. W konsekwencji istnieje potrzeba opracowania metody pozwalającej na wykorzystanie naturalnego systemu obronnego pszenicy i włączenia go do integrowanego programu ochrony roślin, co jest zgodne z dyrektywą Unii Europejskiej dotyczącej ograniczania stosowania pestycydów.

LITERATURA

- [1] Agelopoulos N., Birkett M.A., Hick A.J., Hooper A.M., Pickett J.A., Pow E.M., 1999. Exploiting semiochemicals in insect control. *Pestic. Sci.* 55, 225-235.
- [2] Agrawal A.A., 1998. Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science* 279, 1201-1202.
- [3] Agrawal A.A., 2000. Mechanisms, ecological consequences and agricultural implications of tri-trophic interactions. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 329-335.
- [4] 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. *Ecol. Lett.* 5, 377-385.
- [5] Agrawal A.A., Tuzun S., Bent E., 1999. Induced plant defenses against pathogens and herbivores. APS Press, St Paul, Minnesota.
- [6] Andresen J.A., Alagarwamy G., Rotz C.A., Ritchie J.T., LeBaron A.W., 2001. Weather impacts on maize, soybean, and alfalfa production in the Great Lakes region 1895-1996. *Agron. J.* 93, 1059-1070.
- [7] Anonymous, 2002. World wheat facts. Fact sheet November 2002. Web page: [http://www.worc.org/pdfs/world/wheat facts.pdf](http://www.worc.org/pdfs/world/wheat%20facts.pdf)
- [8] Anonymous, 2005. French farming: 2004/05 economic figures. *Chambres d'Agriculture* 942, 11-38.
- [9] Arimura G., Ozawa R., Kugimiya S., Takabayashi J., Bohlmann J., 2004. Herbivore-induced defense response in a model legume. Two-spotted spider mites induce emission of (E)-beta-ocimene and transcript accumulation of (E)-beta-ocimene synthase in *Lotus japonicus*. *Plant Physiol.* 135(4), 1976-1983.
- [10] Askew M.F., 2001. Production trends and developments in wheat markets. *Aspects Appl. Biol.* 64, 7-14.
- [11] Baldwin I.T., 1998. Jasmonate-induced responses are costly but benefit plants under attack in native populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 8113-8118.
- [12] Baldwin I.T., 2001. An ecologically motivated analysis of plant-herbivore interactions in native tobacco. *Plant Physiol.* 127, 1449-1458.
- [13] Banchio E., Zygadlo J., Valladares G.R., 2004. Effects of mechanical wounding on essential oil composition and emission of volatiles from *Minthostachys mollis*. *J. Chem. Ecol.* 31(4), 719-727.
- [14] Bell M.A., Fischer R.A., 1994. Using yield prediction models to assess yield grains – a case study for wheat. *Field Crop. Res.* 36, 161-166.
- [15] Bernasconi M.L., Turlings T.C.J., Ambrosetti L., Bassetti P., Dorn S., 1998. Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. *Entomol. Exp. Appl.* 87, 133-142.
- [16] Bezdek J., 2001. The species representation and the phenology of the chrysomelid genus *Oulema* (Coleoptera: Chrysomelidae) in winter wheat and spring barley growths near Brno. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 49(3), 29-37.
- [17] Bi J.L., Toscano N.C., 2007. Current status of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, susceptibility to neonicotinoid and conventional insecticides on strawberries in southern California. *Pest Manag. Sci.* 63, 747-752.

- [18] Bichao H., Borg-Karlson A.K., Araujo J., Mustaparta H., 2005. Five types of olfactory receptor neurons in the strawberry blossom weevil *Anthonomus rubi*: selective responses to inducible host-plant volatiles. *Chem. Senses* 30(2), 153-170.
- [19] Birkett M.A., Campbell C.A.M., Chamberlain K., Guerrieri E., Hick A.J., Martin J.L., Matthes M., Napier J.A., Pettersson J., Pickett J.A., Poppy G.M., Pow E.M., Pye B.J., Smart L.E., Wadhams G.H., Wadhams L.J., Woodcock C.M., 2000. New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(16), 9329-9334.
- [20] Blackmer J.L., Rodriguez-Saona C., Byers J.A., Shope K.L., Smith J.P., 2004. Behavioral response of *Lygus hesperus* to conspecifics and headspace volatiles of alfalfa in a Y-tube olfactometer. *J. Chem. Ecol.* 30(8), 1547-1564.
- [21] Boczek J., 1996. Stan i perspektywy walki biologicznej z chwastami. *Postępy Nauk Roln.* 4, 77-89.
- [22] Boland W., Ney P., Jaenicke L., Gassmann G., 1984. A 'closedloop-stripping' technique as a versatile tool for metabolic studies of volatiles. [In]: *Analysis of Volatiles*, ed. P. Schreier, Berlin, Walter de Gruyter, 371-373.
- [23] Bruce T.J.A., Martin J.L., Pickett J.A., Pye B.J., Smart L.E., Wadhams L.J., 2003. cis-Jasmone treatment induces resistance in wheat plants against the grain aphid, *Sitobion avenae* (Fabricius) (Homoptera: Aphididae). *Pest Manag. Sci.* 59, 1031-1036.
- [24] Buntin G.D., Flanders K.L., Slaughter R.W., DeLamar Z.D., 2004. Damage loss assessment and control of the cereal leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in winter wheat. *J. Econ. Entomol.* 97(2), 374-382.
- [25] Burger B.V., Munro Z.M., Visser J.H., 1988. Determination of plant volatiles 1: analysis of the insect-attracting allomone of the parasitic plant *Hydnora africana* using Grob-Habich activated charcoal traps. *J. High Res. Chromatogr.* 11, 496-499.
- [26] Cardoza Y.J., Albron H.T., Tumlinson J.H., 2002. In vivo volatile emissions from peanut plants induced by simultaneous fungal infection and insect damage. *J. Chem. Ecol.* 28, 161-174.
- [27] Cardoza Y.J., Teal P.E.A., Tumlinson J.H., 2003. Effect of peanut plant fungal infection on oviposition preference by *Spodoptera exigua* and on host-searching behavior by *Cotesia marginiventris*. *Environ. Entomol.* 32(5), 970-976.
- [28] Ceva-Antunes P.M.N., Bizzo H.R., Silva A.S., Carvalho C.P.S., Antunes O.A.C., 2006. Analysis of volatile composition of siriguela (*Spondias purpurea* L.) by solid phase microextraction (SPME). *Lebensm.-Wiss. Technol.* 39(4), 437-443.
- [29] Chamberlain K., Pickett J.A., Woodcock C.M., 2000. Plant signalling and induced defense in insect attack. *Mol. Plant Pathol.* 1, 67-72.
- [30] Chen F., Tholl D., D'Auria J.C., Farooq A., Pichersky E., Gershenzon J., 2003. Biosynthesis and emission of terpenoid volatiles from Arabidopsis flowers. *Plant Cell* 15, 481-494.
- [31] Chen M.X., Chen X.S., Zhou J., Liu Y.M., Ci Z.J., Wu Y., 2005. Changes of aroma constituents in apricot during fruit development. *Sci. Agr. Sin.* 38(6), 1244-1249.
- [32] Chen Z.M., Xu N., Han B.Y., Zhao D.X., 2003. Chemical communication between tea plant-herbivore-natural enemies. *J. Tea Sci.* 23, 38-45.
- [33] Choi W.S., Park B.S., Lee Y.H., Jang D.Y., Yoon H.Y., Lee S.E., 2006. Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. *Crop Prot.* 25, 398-401.

- [34] Chukanhom K., Borisuthpeth P., Hatai K., 2005. Antifungal activities of aroma components from *Alpinia galanga* against water molds. *Biocontrol Sci.* 10(3), 105--109.
- [35] Coble H.D., 1995. Rationalizing weed control options for the future. Second Int. Weed Contr. Congr., Copenhagen 4, 1169-1174.
- [36] Conrath U., Pieterse C.M.J., Mauch-Mani B., 2002. Priming in plant-pathogen interactions. *Trends Plant Sci.* 7(5), 210-216.
- [37] Daamen R.A., Stol W., 1994. Surveys of cereal diseases and pests in the Netherlands. 6. Occurrence of insect pests in winter wheat. *Ned. J. Plant Pathol.* 99(3), 51-56.
- [38] De Boer J.G., Dicke M., 2004. The role of methyl salicylate in prey searching behavior of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. *J. Chem. Ecol.* 30(2), 255-271.
- [39] De Boer J.G., Dicke M., 2005. Information use by the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae), a specialised natural enemy of herbivorous spider mites. *Appl. Entomol. Zool.* 40(1), 1-12.
- [40] Degenhardt J., Gershenzon J., Baldwin I.T., Kessler A., 2003. Attracting friends to feast on foes: engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies. *Curr. Opin. Biotech.* 14, 169-176.
- [41] De Moraes C.M., Lewis W.J., Paré P.W., Alborn H.T., Tumlinson J.H., 1998. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature* 393, 570-573.
- [42] De Moraes C.M., Mescher M.C., Tumlinson J.H., 2001. Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel nonspecific females. *Nature* 410, 577-580.
- [43] Deng C.H., Li N., Zhu W.M., Qian J., Yang X.F., Zhang X.M., 2005. Rapid determination of C6-aldehydes in tomato plant emission by gas chromatography-mass spectrometry and solid-phase microextraction with on-fiber derivatization. *J. Sep. Sci.* 28, 172-176.
- [44] Deng C.H., Song G.X., Hu Y.M., 2004. Rapid determination of volatile compounds emitted from *Chimonanthus praecox* flowers by HS-SPME-GC-MS. *Z. Naturforsch. C* 59(9/10), 636-640.
- [45] Deng J.Y., Wei H.Y., Huang Y.P., Du J.W., 2004. Enhancement of attraction to sex pheromones of *Spodoptera exigua* by volatile compounds produced by host plants. *J. Chem. Ecol.* 30(10), 2037-2045.
- [46] Dicke M., 1999. Evolution of induced indirect defense of plants. [In]: *The Ecology and Evolution of Inducible Defenses*, R. Tollrian, C.D. Harvell eds., Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 62-88.
- [47] Dicke M., Van Beek T.A., Posthumus M.A., Ben Dom N., Van Bokhoven H., De Groot A.E., 1990. Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predator-prey interactions. *J. Chem. Ecol.* 16, 381-396.
- [48] Dickens J.C., 2000. Orientation of Colorado potato beetle to natural and synthetic blends of volatiles emitted by potato plants. *Agric. For. Entomol.* 2(3), 167-172.
- [49] Dimitrijevic B., Jelic M., Lomovic S., 1999. The effect of mineral nutrition on the damage degree of spring wheat by *Lema melanopus* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Acta Entomologica Serbica* 4(1/2), 49-55.
- [50] Dobson H.E.M., 1991. Analysis of flower and pollen volatiles [In]: *Modern Methods of Plant Analysis*, Vol. 12, H.F. Linskens, J.F. Jackson eds., Berlin, Springer, 231-251.
- [51] Donath J., Boland W., 1995. Biosynthesis of acyclic homoterpenes – enzyme selectivity and absolute configuration of the nerolidol precursor. *Phytochemistry* 39, 785-790.

- [52] Du Y.J., Poppy G.M., Powell W., Pickett J.A., Wadhams L.J., Woodcock C.M., 1998. Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid, *Aphidius ervi*. *J. Chem. Ecol.* 24(8), 1355-1368.
- [53] Dudareva N., Martin D., Kish C.M., Kolosova N., Gorenstein N., Fäldt J., Miller B., Bohlmann J., 2003. (E)- β -ocimene and myrcene synthase genes of floral scent biosynthesis in snapdragon: function and expression of three terpene synthase genes of a new terpene synthase subfamily. *Plant Cell* 15, 1227-1241.
- [54] Effmert U., Grösse J., Röse U.S.R., Ehrig F., Kagi R., Piechulla B., 2005. Volatile composition, emission pattern, and localization of floral scent emission in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). *Am. J. Bot.* 92(1), 2-12.
- [55] Effmert U., Saschenbrecker S., Ross J., Negre F., Fraser C.M., Noel J.P., Dudareva N., Piechulla B., 2005. Floral benzenoid carboxyl methyltransferases: from in vitro to plant function. *Phytochemistry* 66(11), 1211-1230.
- [56] El-Sawi S.A., Hashem F.A., Biuomy A.R., 2003. Investigation of lipid and volatile oil contents from the aerial parts of *Acacia saligna* Wendl and its anti-inflammatory activity. *B. Natl. Res. Centre* 28(1), 21-33.
- [57] Engelberth J., Alborn H.T., Schmelz E.A., Tumlinson J.H., 2004. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 101(6), 1781-1785.
- [58] Farag M.A., Paré P.W., 2002. C6-green leaf volatiles trigger local and systemic VOC emissions in tomato. *Phytochemistry* 61, 545-554.
- [59] Fukushima J., Kainoh Y., Honda H., Takabayashi J., 2002. Learning of herbivore-induced and nonspecific plant volatiles by a parasitoid, *Cotesia kariyai*. *J. Chem. Ecol.* 28(3), 579-586.
- [60] Goff S.A., Klee H.J., 2006. Plant volatile compounds: Sensory cues for health and nutritional value? *Science* 311, 815-819.
- [61] Habegger R., Schnitzler W.H., 2005. Aroma compounds of coloured carrots (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* Hoffm.). *J. Appl. Bot. Food Qual.* 79(2), 130-135.
- [62] Han B.Y., Chen Z.M., 2002. Composition of the volatiles from intact and mechanically pierced tea aphid-tea shoot complexes and their attraction to natural enemies of the tea aphid. *J. Agr. Food Chem.* 50(9), 2571-2575.
- [63] Harmel N., Almohamad R., Fauconnier M-L., Du Jardin P., Verheggen F., Marlier M., Haubruge E., Francis F., 2007. Role of terpenes from aphid-infested potato on searching and oviposition behavior of *Episyrphus balteatus*. *Insect Sci.* 14, 57-63.
- [64] Hatanaka A., 1993. The biogenesis of green odour by green leaves. *Phytochemistry* 34, 1201-1218.
- [65] Hausammann A., 1996. The effects of sown weed strips on pests and beneficial arthropods in winter wheat fields. *Bulletin OILB/SROP* 19(3), 106-109.
- [66] Heath R.R., Manukian A., 1992. Development and evaluation of systems to collect volatile semiochemicals from insects and plants using a charcoal-infused medium for air purification. *J. Chem. Ecol.* 18, 1209-1226.
- [67] Heath R.R., Manukian A., 1994. An automated system for use in collecting volatile chemicals released from plants. *J. Chem. Ecol.* 20, 593-608.
- [68] Hilker M., Rohfritsch O., Meiners T., 2002. The plant's response towards insect egg deposition [In]: *Chemocology of Insect Eggs and Egg Deposition*, M. Hilker, T. Meiners eds., Blackwell, Berlin, 61-90.

- [69] Hoballah M.E.F., Tamo C., Turlings T.C.J., 2002. Differential attractiveness of induced odors emitted by eight maize varieties for the parasitoid *Cotesia marginiventris*: is quality or quantity important? *J. Chem. Ecol.* 28(5), 951-968.
- [70] Hoballah M.E.F., Turlings T.C.J., 2001. Experimental evidence that plants under caterpillar attack may benefit from attracting parasitoids. *Evol. Ecol. Res.* 3(5), 553-565.
- [71] Hoballah M.E.F., Turlings T.C.J., 2005. The role of fresh versus old leaf damage in the attraction of parasitic wasps to herbivore-induced maize volatiles. *J. Chem. Ecol.* 31(9), 2003-2018.
- [72] Hountondji F.C.C., Sabelis M.W., Hanna R., Janssen A., 2005. Herbivore-induced plant volatiles trigger sporulation in entomopathogenic fungi: the case of *Neozygites tanajoae* infecting the cassava green mite. *J. Chem. Ecol.* 31(5), 1003-1021.
- [73] Huang X.G., Wang H.Q., Ge J.M., Gao H.C., Li C.X., 2003. Biology of the wheat stem sawfly and control countermeasures. *Entomol. Knowl.* 40(6), 515-518.
- [74] Hurle K., 1996. Weed management impact on the abiotic environment in particular on water and air quality. *Second Int. Weed Contr. Congr., Copenhagen 3*, 1153-1158.
- [75] Ibragimov R.A., Herbert D.A. Jr., Duyn J.W. van, Bradley J.R. Jr., 2001. Relationship between cereal leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) egg and fourth-instar populations and impact of fourth-instar defoliation of winter wheat yields in North Carolina and Virginia. *J. Econ. Entomol.* 94(3), 634-639.
- [76] Imrei Z., Toth M., Tolasch T., Francke W., 2002. 1,4-Benzoquinone attracts males of *Rhizotrogus vernus* Germ. *Z. Naturforsch. C* 57(1/2), 177-181.
- [77] James D.G., 2003. Synthetic herbivore-induced plant volatiles as field attractants for beneficial insects. *Environ. Entomol.* 32, 977-982.
- [78] James D.G., 2005. Further field evaluation of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects. *J. Chem. Ecol.* 31(3), 481-495.
- [79] Jiang J., 2005. Volatile composition of the laksa plant (*Polygonum hydropiper* L.), a potential source of green note aroma compounds. *Flavour Frag. J.* 20(5), 455-459.
- [80] Karban R., Baldwin I.T., 1997. Induced responses to herbivory. *Univ. Press Chicago*.
- [81] Karic N., 2003. Effects of temperature on the development of *Oulema melanopus* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Works of the Faculty of Agriculture University of Sarajevo* 48(52), 57-68.
- [82] Kałol E., Miętkiewski R., 2002. Występowanie i szkodliwość wciornastków (*Thripidae*) na pszenicy jarej. *Prog. Plant Prot.* 42(2), 647-650.
- [83] Kessler A., Baldwin I.T., 2001. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science* 291, 2141-2144.
- [84] Kishimoto K., Matsui K., Ozawa R., Takabayashi J., 2005. Volatile C6-aldehydes and allo-ocimene activate defense genes and induce resistance against *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 46(7), 1093-1102.
- [85] Kishimoto K., Matsui K., Ozawa R., Takabayashi J., 2006. Components of C6-aldehyde-induced resistance in *Arabidopsis thaliana* against a necrotrophic fungal pathogen, *Botrytis cinerea*. *Plant Sci.* 170(4), 715-723.
- [86] Koo W.W., Taylor R.D., 2005. Outlook of the U.S. and world wheat industries, 2004-2013. *Agribusiness and Applied Economics Report*. Department of Agribusiness and Applied Economics, North Dakota State University 562, 53.
- [87] Kostov K., 2001. Breeding wheat lines for host-plant resistance to cereal leaf beetle by using the cross-mutation method. *Bulgarian J. Agr. Sci.* 7(1), 7-14.

- [88] Kranz J., 2005. Interactions in pest complexes and their effects on yield. *Z. Pflanzenk. Pflanzen.* 112(4), 366-385.
- [89] Kunert G., Otto S., Rose U.S.R., Gershenzon J., Weisser W.W., 2005. Alarm pheromone mediates production of winged dispersal morphs in aphids. *Ecol. Lett.* 8(6), 596-603.
- [90] Lanciotti R., Belletti N., Patrignani F., Gianotti A., Gardini F., Guerzoni M.E., 2003. Application of hexanal, (E)-2-hexenal, and hexyl acetate to improve the safety of fresh-sliced apples. *J. Agr. Food Chem.* 51(10), 2958-2963.
- [91] Li Dongmei, 2005. Circular distribution in biostatistical analysis. Department of Statistics, University of Connecticut, <http://www.stat.uconn.edu/~studentjournal/index files/dongmei%20li s05.ppt>
- [92] Lobell D., Asner G., 2003. Climate and management contributions to recent trends in US agricultural yields. *Science* 299, 1032.
- [93] Lobell D.B., Ortiz-Monasterio J.I., Asner G.P., Matson P.A., Naylor R.L., Falcon W.P., 2005. Analysis of wheat yield and climatic trends in Mexico. *Field Crop. Res.* 94, 250-256.
- [94] Lönnendonker U., Sharstein H., 1991. Fixation and optomotor response of walking Colorado beetles: interactions with spontaneous turning tendencies. *Physiol. Entomol.* 16, 65-76.
- [95] Malschi D., Mustea D., 1998. Involvements of bio-ecological factors in the integrated control system of pests in wheat crops in central Transylvania. *Probleme de Protectia Plantelor* 26(1), 45-55.
- [96] Manukian A., Heath R.R., 1993. Development of an automated data collection and environmental monitoring system. *Sci. Comput. Autom.* 9, 27-40.
- [97] Marocchi G., 1989. New Problems in weed control in Italy. *Proc. VII Int. Symp. Biol. Contr. Weeds, Rome Italy*, 633-637.
- [98] Martel J.W., Alford A.R., Dickens J.C., 2005. Laboratory and greenhouse evaluation of a synthetic host volatile attractant for Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Agr. Forest Entomol.* 7, 71-78.
- [99] Matteson P.C., 1995. The 50% pesticide cuts in Europe: a glimpse of our future? *Am. Entomol.* 41, 210-220.
- [100] Mattiacci L., Rocca B.A., Scascighini N., D'Alessandro M., Hern A., Dorn S., 2001. Systemically induced plant volatiles emitted at the time of „danger”. *J. Chem. Ecol.* 27(11), 2233-2252.
- [101] McMahon C., Guerin P.M., 2000. Responses of the tropical bont tick, *Amblyoma variegatum* (Fabricius), to its aggregation attachment pheromone presented in an air stream on a servosphere. *J. Comp. Physiol. A* 186, 95-103.
- [102] Meiners T., Hilker M., 2000. Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. *J. Chem. Ecol.* 26, 221-232.
- [103] Millar J.G., Sims J.J., 1998. Preparation, cleanup, and preliminary fractionation of extracts [In]: *Methods in Chemical Ecology*, J.G. Millar, K.F. Haynes eds., Boston, Kluwer Academic Publishers, 1-37.
- [104] Mithofer A., Wanner G., Boland W., 2005. Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on lima bean leaves. II. Continuous mechanical wounding resembling insect feeding is sufficient to elicit herbivory-related volatile emission. *Plant Physiol.* 137(3), 1160-1168.
- [105] Moss S.R., Rubin B., 1993. Herbicide – resistant weeds: a worldwide perspective. *J. Agric. Sci.* 120, 141-148.

- [106] Myung K., Hamilton-Kemp T.R., Archbold D.D., 2006. Biosynthesis of trans-2-hexenal in response to wounding in strawberry fruit. *J. Agr. Food Chem.* 54(4), 1442-1448.
- [107] Naylor R.L., Falcon W.P., Puente-Gonzalez A., 2001. Policy Reforms and Mexican Agriculture: Views from the Yaqui Valley. CIMMYT Economics Program Paper No. 01-01. CIMMYT, Mexico, D.F.
- [108] Neveu N., Grandgirard J., Nenon J.P., Cortesero A.M., 2002. Systemic release of herbivore-induced plant volatiles by turnips infested by concealed root-feeding larvae *Deliaradicum* L. *J. Chem. Ecol.* 28, 1717-1731.
- [109] Ngi-Song A.J., Njagi P.G.N., Torto B., Overholt W.A., 2002. Identification of behaviourally active components from maize volatiles for the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). *Insect Sci. Appl.* 20, 181-189.
- [110] Ngumbi E.N., Ngi-Song A.J., Njagi E.N.M., Torto R., Wadhams L.J., Birkett M.A., Pickett J.A., Overholt W.A., Torto B., 2005. Responses of the stem borer larval endoparasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) to plant derived synomones: Laboratory and field cage experiments. *Biocontrol Sci. Techn.* 15(3), 271-279.
- [111] Nguyen A.D., Tran D.T., Nguyen X., 2005. Chemical composition of the leaf oil of *Michelia balansae* (A.DC.) Dandy from Vietnam. *J. Essent. Oil-Bearing Plants* 8(1), 11-14.
- [112] Nicholls N., 1997. Increased Australian wheat yield due to recent climate trends. *Nature* 387, 484-485.
- [113] Oerke E.C., 2006. Crop losses to pests. *J. Agr. Sci.* 144(1), 31-43.
- [114] Oerke E.C., Dehne H.W., 2004. Safeguarding production - losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Prot.* 23(4), 275-285.
- [115] Olfert O., Weiss R.M., Woods S., Philip H., Dosdall L., 2004. Potential distribution and relative abundance of an invasive cereal crop pest, *Oulema melanopus* (Coleoptera: Chrysomelidae), in Canada. *Can. Entomol.* 136(2), 277-287.
- [116] Paik S.Y., Koh K.H., Beak S.M., Paek S.H., Kim J.A., 2005. The essential oils from *Zanthoxylum schinifolium* pericarp induce apoptosis of HepG2 human hepatoma cells through increased production of reactive oxygen species. *Biol. Pharm. Bull.* 28(5), 802-807.
- [117] Papp M., Mesterhazy A., 1996. Resistance of winter wheat to cereal leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) and bird cherry-oat aphid (Homoptera: Aphididae). *J. Econ. Entomol.* 89(6), 1649-1657.
- [118] Paré P.W., Tumlinson J.H., 1999. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiol.* 121, 325-331.
- [119] Paschold A., Halitschke R., Baldwin I.T., 2006. Using 'mute' plants to translate volatile signals. *Plant J.* 45, 275-291.
- [120] Pathak H., Ladha J.K., Aggarwal P.K., Peng S., Das S., Singh Y., Singh B., Kamra S.K., Mishra B., Sastri A., Aggarwal H.P., Das D.K., Gupta R.K., 2003. Trends of climatic potential and on-farm yields of rice and wheat in the Indo-Gangetic plains. *Field Crop. Res.* 80, 223-234.
- [121] Peacock L., Lewis M., Herrick S., 2001. Factors influencing the aggregative response of the blue willow beetle, *Phratora vulgatissima*. *Entomol. Exp. Appl.* 98, 195-201.

- [122] Peacock L., Lewis M., Powers S., 2001. Volatile compounds from *Salix* spp. varieties differing in susceptibility to three willow beetle species. *J. Chem. Ecol.* 27(10), 1943-1951.
- [123] Pedigo L.P., 1999. *Entomology and Pest Management*, 3rd ed. Prentice-Hall, New Jersey.
- [124] Peterson R.K.D., Shama L.M., 2005. A comparative risk assessment of genetically engineered, mutagenic, and conventional wheat production systems. *Transgenic Res.* 14, 859-875.
- [125] Petrescu A.S., Mondor E.B., Roitberg B.D., 2001. Subversion of alarm communication: Do plants habituate aphids to their own alarm signals? *Can. J. Zool.* 79(4), 737-740.
- [126] Pichersky E., Gershenzon J., 2002. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 237-243.
- [127] Pichersky E., Noel J.P., Dudareva N., 2006. Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. *Science* 311, 808-811.
- [128] Pickett J.A., Poppy G.M., 2001. Switching on plant genes by external chemical signals. *Trends Plants Sci.* 6, 137-139.
- [129] Pickett J.A., Rasmussen H.B., Woodcock C.M., Matthes W., Napier J.A., 2003. Plant stress signalling: understanding and exploiting plant-plant interactions. *Biochem. Soc. T.* 31, 123-127.
- [130] Piesik D., Weaver D.K., Peck G.E., Morrill W.L., 2006. Diel patterns in volatiles released by mechanically-damaged wheat plants. *Elect. J. Pol. Agric. Univ., Agronomy*, 9(4), <http://www.ejpau.media.pl/volume9/issue4/art-07.html>
- [131] Piesik D., Weaver D.K., Peck G.E., Morrill W.L., 2006. Mechanically-injured wheat plants release greater amounts of the secondary metabolites linalool and linalool oxide. *J. Plant Prot. Res.* 46(1), 29-39.
- [132] Piesik D., Wenda-Piesik A., Weaver D.K., Morrill W.L., 2007. Influence of *Fusarium* crown rot disease on semiochemical production by wheat plants. *J. Phytopathol.*, 155: 488-496.
- [133] Pingali P.L., Heisey P.W., 1999. *Cereal Productivity in Developing Countries: Past Trends and Future Prospects*. CIMMYT Economics Program Paper 99-03. CIMMYT, Mexico.
- [134] Popov C., Malschi D., Vilau F., 2004. Cercetari privind dinamica populatiilor gandacului ovazului (*Lema melanopa*) in conditiile din Romania. *Probleme de Protectia Plantelor* 32(1), 33-41.
- [135] Priemé A., Knudsen T.B., Glasius M., Christensen S., 2000. Herbivory by the weevil, *Strophosoma melanogrammum*, causes severalfold increase in emission of monoterpenes from young Norway spruce (*Picea abies*). *Atmos. Environ.* 34, 711-718.
- [136] Rasmann S., Köllner T.G., Degenhardt J., Hiltbold I., Toepfer S., Kuhlmann U., Gershenzon J., Turlings T.C.J., 2005. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature* 434, 732-737
- [137] Raymond B., Sayyed A.H., Hails R.S., Wright D.J., 2007. Exploiting pathogens and their impact on fitness costs to manage the evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *J. Appl. Ecol.* 44, 768-780.
- [138] Razaq M., Suhail A., Arif M.J., Aslam M., Sayyed A.H., 2007. Effect of rotational use of insecticides on pyrethroids resistance in *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae). *J. Appl. Entomol.* 131(7), 460-465.

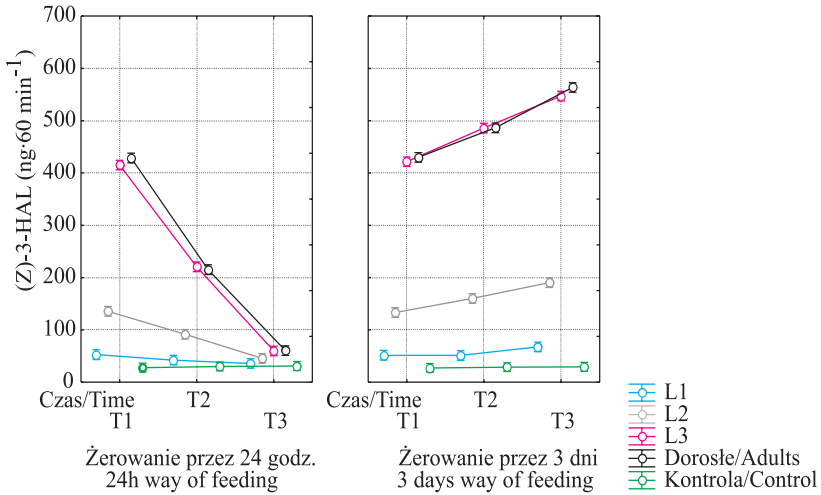
- [139] Reddy G.V.P., Guerrero A., 2004. Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends Plant Sci.* 9, 253-261.
- [140] Reddy G.V.P., Holopainen J.K., Guerrero A., 2002. Olfactory responses of *Plutella xylostella* natural enemies to host pheromone, larval frass, and green leaf volatiles. *J. Chem. Ecol.* 28, 131-143.
- [141] Reinecke A., Ruther J., Tolasch T., Francke W., Hilker M., 2002. Alcoholism in cockchafers: orientation of male *Melolontha melolontha* towards green leaf alcohols. *Naturwissenschaften* 89, 265-269.
- [142] Reinhardt C.F., 2000. Weed management practices in natural ecosystems: a critical overview. *Koedoe* 43(1), 67-74.
- [143] Reyes M., Franck P., Charmillot P.J., Ioriatti C., Olivares J., Pasqualini E., Sauphanor B., 2007. Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of the Codling moth, *Cydia pomonella*. *Pest Manag. Sci.* 63, 890-902.
- [144] Roberson R., Purcell B., Anulacion M., Sandene P., Lindeman M., Miller S., Crutchfield J., Achutuni R., 2000. 2000/01 world wheat situation. *World Agr. Prod. WAP 07-00*, 36-41.
- [145] Rocke T., 1997. 1997/98 world grain outlook. *World Agr. Prod.* 5, 54-68.
- [146] Rodriguez-Saona C., Crafts-Brandner S.J., Cañas L.A., 2003. Volatile emissions triggered by multiple herbivore damage: beet armyworm and whitefly feeding on cotton plants. *J. Chem. Ecol.* 29(11), 2539-2550.
- [147] Rosegrant M., Paisner M., Meijer S., Witcover J., 2001. Global food projections to 2020: Emerging trends and alternative futures. International Food Policy Research Institute, Washington, D.C.
- [148] 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 Physiol.* 111, 487-495.
- [149] Röse U.S.R., Tumlinson J.H., 2004. Volatiles released from cotton plants in response to *Helicoverpa zea* feeding damage on cotton flower buds. *Planta* 218(5), 824-832.
- [150] Ruther J., Mayer C.J., 2005. Response of garden chafer, *Phyllopertha horticola*, to plant volatiles: from screening to application. *Entomol. Exp. Appl.* 115(1), 51-59.
- [151] Santos A.P., Lopes M.C., Limberger R.P., Apel M.A., Henriques A.T., Moreno P.R.H., 2004. Analysis of the volatile oil from *Pilocarpus pennatifolius* Lem-maire (*Rutaceae*) leaves by GC-MS. *Flavour and Frag. J.* 19(4), 325-326.
- [152] Scascighini N., Mattiacci L., D'Alessandro M., Hern A., Rott A.S., Dorn S., 2005. New insights in analysing parasitoid attracting synomones: early volatile emission and use of stir bar sorptive extraction. *Chemoecology* 15, 97-104.
- [153] Schnee C., Kollner T.G., Held M., Turlings T.C.J., Gershenzon J., Degenhardt J., 2006. The products of a single maize sesquiterpene synthase form a volatile defense signal that attracts natural enemies of maize herbivores. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103(4), 1129-1134.
- [154] Schumacher K.D., Striewe L., 2006. The market for cereals and oilseeds. *Agrarwirtschaft* 55(1), 11-20.
- [155] Shiojiri K., Takabayashi J., Yano S., Takafuji A., 2000. Flight response of parasitoids toward plant herbivore complexes: A comparative study of two parasitoid herbivore systems on cabbage plants. *Appl. Entomol. Zool.* 35, 87-92.

- [156] Sivasankar S., Sheldrick B., Rothstein S.J., 2000. Expression of allene oxide synthase determines defense gene activation in tomato. *Plant Physiol.* 122, 1335-1342.
- [157] Sokolov I.M., 1999. The effect of damage by larvae of the cereal leaf beetle *Oulema melanopus* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae) on the yield of winter wheat ears. *Entomologicheskoe Obozrenie* 78(2), 307-315.
- [158] Stamenkovic S., 2004. Occurrence and damage of cereal leaf beetle (*Oulema melanopus* L.). *Plant Doctor* 32(2), 124-127.
- [159] Thaler J.S., 1999. Jasmonate-inducible plant defences cause increased parasitism of herbivores. *Nature* 399, 686-688.
- [160] Thibout E., Pierre D., Mondy N., Lecomte C., Biemont J.C., Auger J., 2005. Host-plant finding by the asparagus fly, *Plioreocepta poeciloptera* (Diptera: Tephritidae), a monophagous, monovoltine tephritid. *B. Entomol. Res.* 95(5), 393-399.
- [161] Tholl D., Boland W., Hansel A., Loreto F., Röse U.S.R., Schnitzler J.P., 2006. Practical approaches to plant volatile analysis. *Plant J.* 45, 540-560.
- [162] Tholl D., Chen F., Petri J., Gershenzon J., Pichersky E., 2005. Two sesquiterpene synthases are responsible for the complex mixture of sesquiterpenes emitted from *Arabidopsis* flowers. *Plant J.* 42, 757-771.
- [163] Thompson L.M., 1975. Weather variability; climatic change; and grain production. *Science* 188, 535-541.
- [164] Tomova B.S., Waterhouse J.S., Doberski J., 2005. The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on aphid reproduction. *Entomol. Exp. Appl.* 115, 153-159.
- [165] Tran D.T., Le V.T., Hoang V.L., Nguyen X.D., Ngo X.L., 2004. Chemical composition of the essential oil of *Canarium album* (Lour.) Raeusch. leaves from Vietnam. *J. Essent. Oil-Bearing Plants* 7(2), 125-128.
- [166] Turlings T.C.J., Alborn H.T., Loughrin J.H., Tumlinson J.H., 2000. Volicitin, an elicitor of maize volatiles in oral secretion of *Spodoptera exigua*: Isolation and bioactivity. *J. Chem. Ecol.* 26(1), 189-202.
- [167] Turlings T.C.J., Bernasconi M., Bertossa R., Bigler F., Caloz G., Dorn S., 1997. The induction of volatile emissions in maize by three herbivore species with different feeding habits: Possible consequences for their natural enemies. *Biol. Control* 11, 122-129.
- [168] Turlings T.C.J., Gouinguéné S., Degen T., Fritzsche-Hoballah M.E., 2002. The chemical ecology of plant–caterpillar–parasitoid interactions. [In]: *Multitrophic Level Interactions*, eds. T. Tschamtkke, B. Hawkins, Cambridge University Press, UK, 148-173.
- [169] Turlings T.C.J., Lengwiler U.B., Bernasconi M.L., Wechsler D., 1998. Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. *Planta* 207, 146-152.
- [170] 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.
- [171] Van Tol R.W.H.M., James D.E., de Kogel W.J., Teulon D.A.J., 2007. Plant odours with potential for a push–pull strategy to control the onion thrips, *Thrips tabaci*. *Entomol. Exp. Appl.* 122, 69-76.
- [172] Vernon R.S., Tóth M., 2007. Evaluation of pheromones and a new trap for monitoring *Agriotes lineatus* and *Agriotes obscurus* in the Fraser Valley of British Columbia. *J. Chem. Ecol.* 33, 345-351.
- [173] Vet L.E.M., Dicke M., 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annu. Rev. Entomol.* 37, 141-172.

- [174] Vogel S., Hadacek F., 2004. Contributions to the functional anatomy and biology of *Nelumbo nucifera* (Nelumbonaceae). III. An ecological reappraisal of floral organs. *Plant Syst. Evol.* 249(3/4), 173-189.
- [175] Walczak F., 2005. Determination of developmental periods of leaf beetle (*Oulema* spp.) for short-term forecasting. *J. Plant Prot. Res.* 45(3), 145-153.
- [176] Walczak F., 2005. Studies on leaf beetles (*Oulema* spp.) development for short-term forecasting – evaluation of effect of temperature and humidity on duration of egg incubation. *J. Plant Prot. Res.* 45(3), 135-143.
- [177] Walczak F., Mrówczyński M., Wachowiak H., 1999. Skrzypionki zbożowe i ich zwalczanie. *Ochr. Rośl.* 43(6), 10-11.
- [178] Warchałowski A., 2003. Chrysomelidae. The Leaf beetles of Europe and the Mediterranean area. *Natura Optima Dux*, Warszawa, 600 pp. + 56 pl.
- [179] Whitman D.W., Eller F.J., 1992. Orientation of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) to green leaf volatiles: dose-response curves. *J. Chem. Ecol.* 18, 1743-1753.
- [180] Yan Z.G., Wang C.Z., 2006. Wound-induced green leaf volatiles cause the release of acetylated derivatives and a terpenoid in maize. *Phytochemistry* 67, 34-42.
- [181] Yasuda T., 2000. Role of semiochemicals in prey-locating behavior of a generalist predatory stink bug, *Eocanthecona furcellata* (Wolff) (Heteroptera: Pentatomidae). *Jpn. Agr. Res. Q.* 34(1), 15-20.
- [182] Zhang Q.H., Schlyter F., Anderson P., 1999. Green leaf volatiles interrupt pheromone response of spruce bark beetle, *Ips typographus*. *J. Chem. Ecol.* 25(12), 2847-2861.
- [183] Zhang Z.P., 1996. Developing chemical weed control and attaching importance to integrated weed management. [In]: Proceedings of the National Symposium of IPM in China, eds. Z.L. Zhang, Y.F. Piao., J.W. Wu, China Agricultural Science and Technology Press, Beijing, 1110-1114.
- [184] Zhang Z.P., 2003. Development of chemical weed control and integrated weed management in China. *Weed Biol. Manag.* 3, 197-203.
- [185] Zhou Q., Xu T., Zhang G.R., Gu D.X., Zhang W.Q., 2003. Repellent effects of herbivore-induced rice volatiles on the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal. *Acta Entomol. Sinica* 46(6), 739-744.
- [186] Zhu J., Obrycki J.J., Ochieng S.A., Baker T.C., Pickett J.A., Smiley D., 2005. Attraction of two lacewing species to volatiles produced by host plants and aphid prey. *Naturwissenschaften* 92, 277-281.
- [187] Zhu J., Park K.C., 2005. Methyl salicylate, a soybean aphid-induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata*. *J. Chem. Ecol.* 31(8), 1733-1746.
- [188] Zwerger P., 1996. Integrated weed management in developed nations. Second Int. Weed Contr. Congr., Copenhagen 3, 933-942.

RYSUNKI/FIGURES

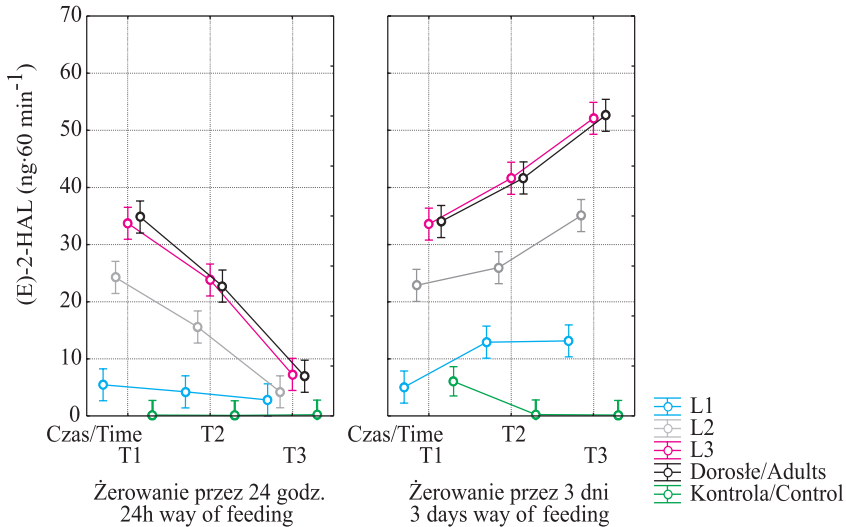
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 357,21; p = 0,0000$



Rys. 1. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imago *Oulema melanopus* L. na wydzielanie (Z)-3-HAL

Fig. 1. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagoes) on (Z)-3-HAL releasing

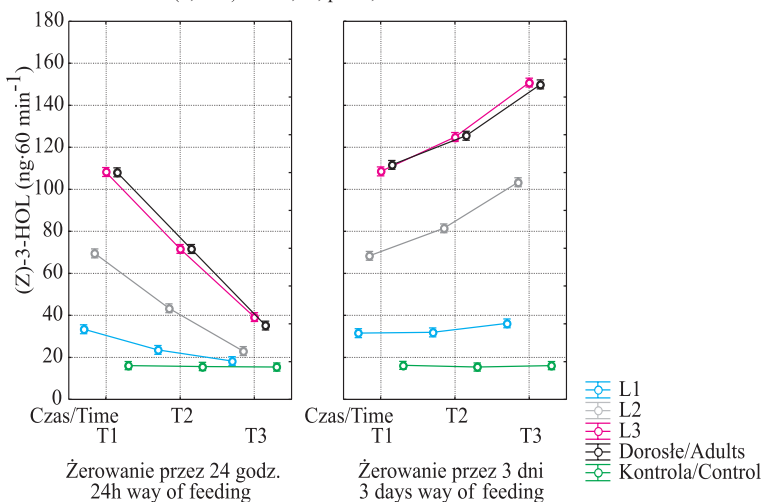
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 35,900; p = 0,0000$



Rys. 2. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imago *Oulema melanopus* L. na wydzielanie (E)-2-HAL

Fig. 2. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagoes) on (E)-2-HAL releasing

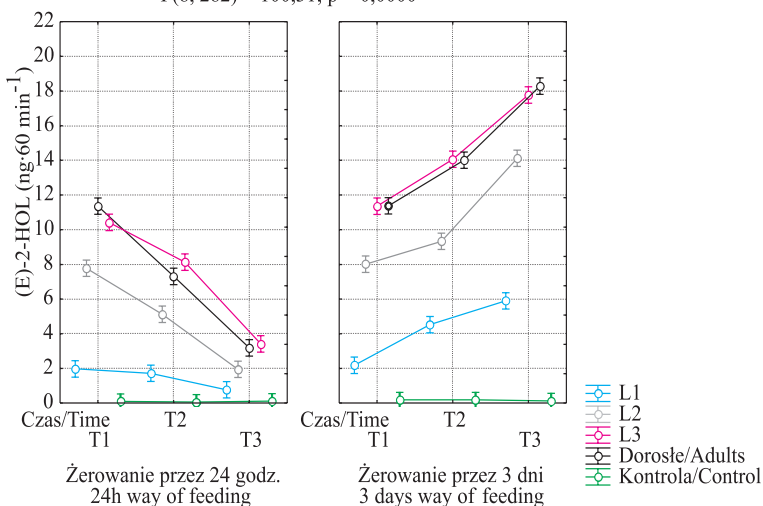
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 312,53; p = 0,0000$



Rys. 3. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie (Z)-3-HOL

Fig. 3. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on (Z)-3-HOL releasing

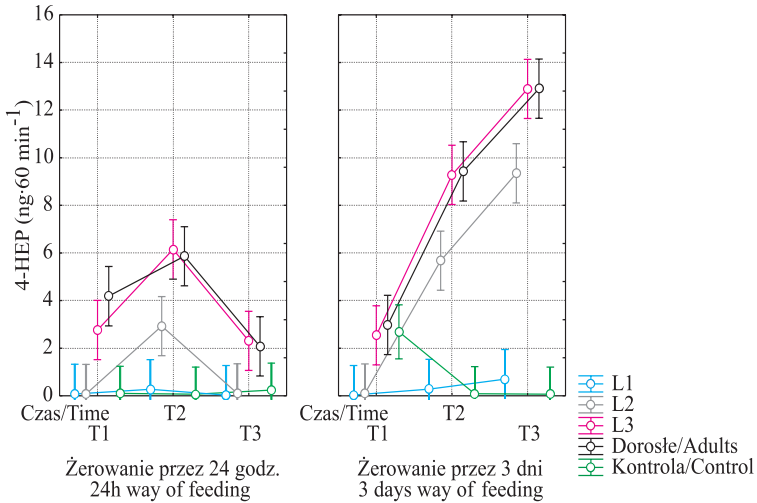
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 100,31; p = 0,0000$



Rys. 4. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie (E)-2-HOL

Fig. 4. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on (E)-2-HOL releasing

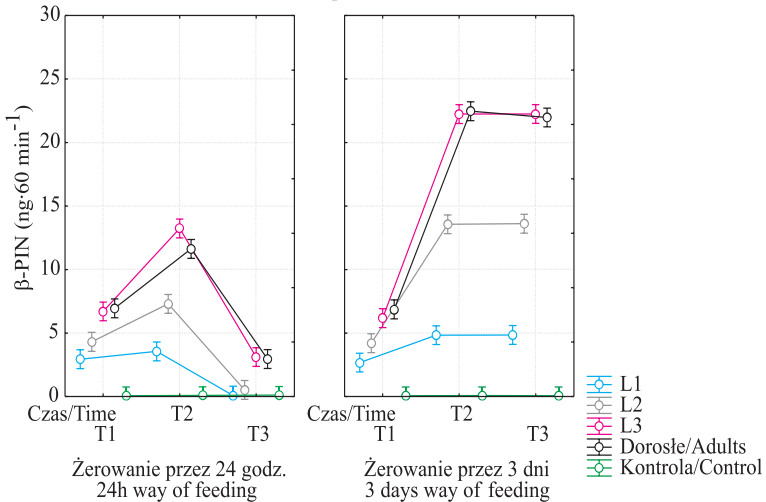
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 15,003; p = 0,0000$



Rys. 5. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie 4-HEP

Fig. 5. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on 4-HEP releasing

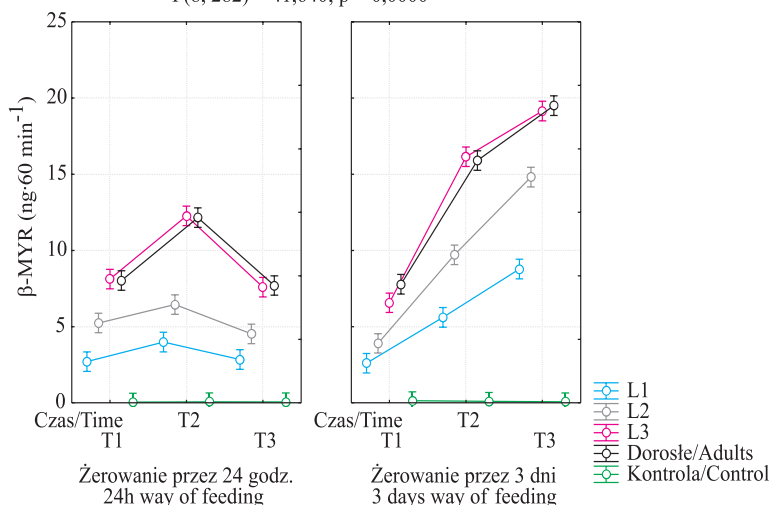
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 72,917; p = 0,0000$



Rys. 6. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie β-PIN

Fig. 6. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on β-PIN releasing

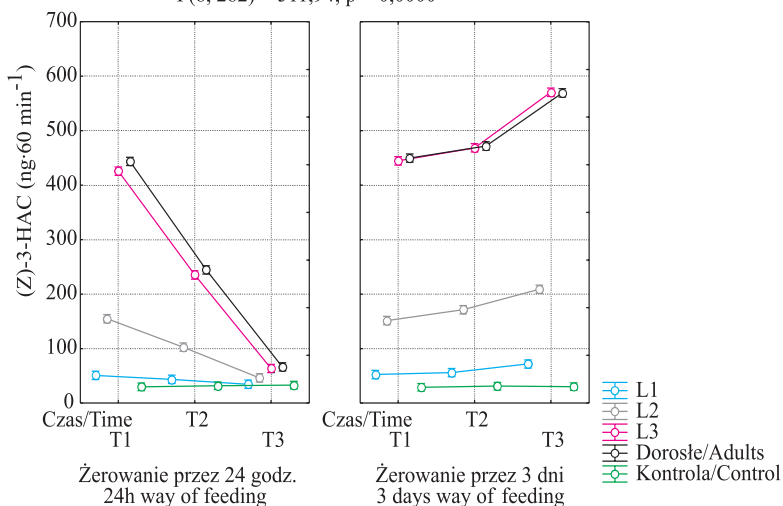
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 41,640; p = 0,0000$



Rys. 7. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie β -MYR

Fig. 7. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on β -MYR releasing

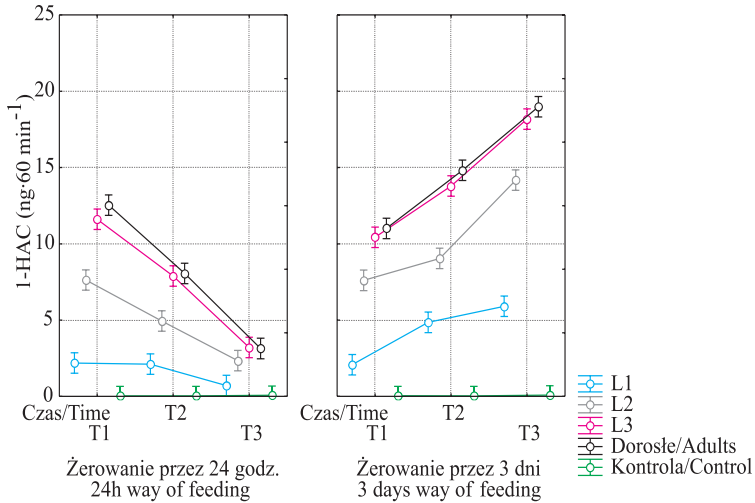
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 511,94; p = 0,0000$



Rys. 8. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie (Z)-3-HAC

Fig. 8. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on (Z)-3-HAC releasing

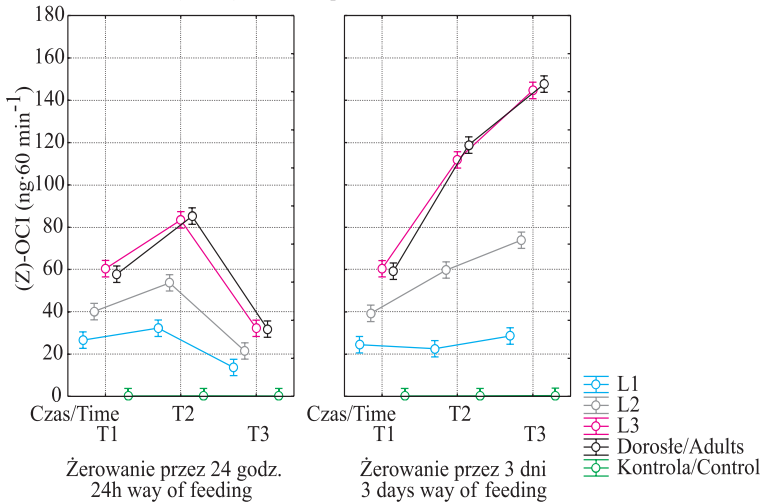
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 64,963; p = 0,0000$



Rys. 9. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie 1-HAC

Fig. 9. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on 1-HAC releasing

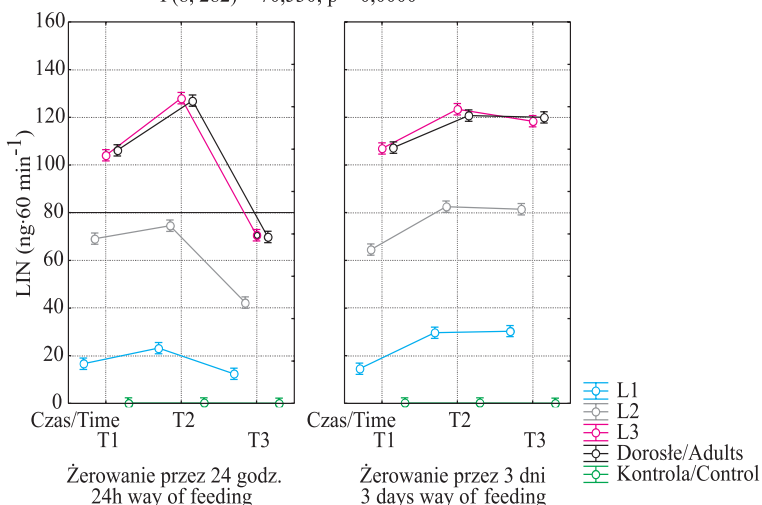
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 100,76; p = 0,0000$



Rys. 10. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie (Z)-OCI

Fig. 10. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on (Z)-OCI releasing

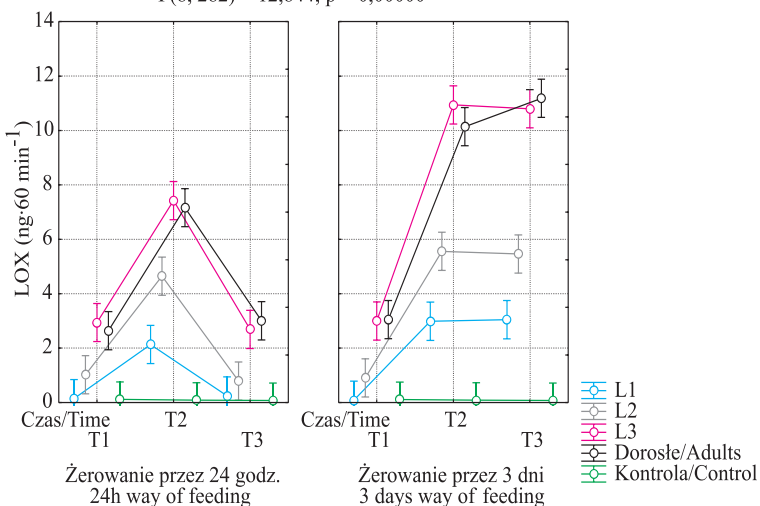
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 70,530; p = 0,0000$



Rys. 11. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie LIN

Fig. 11. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on LIN releasing

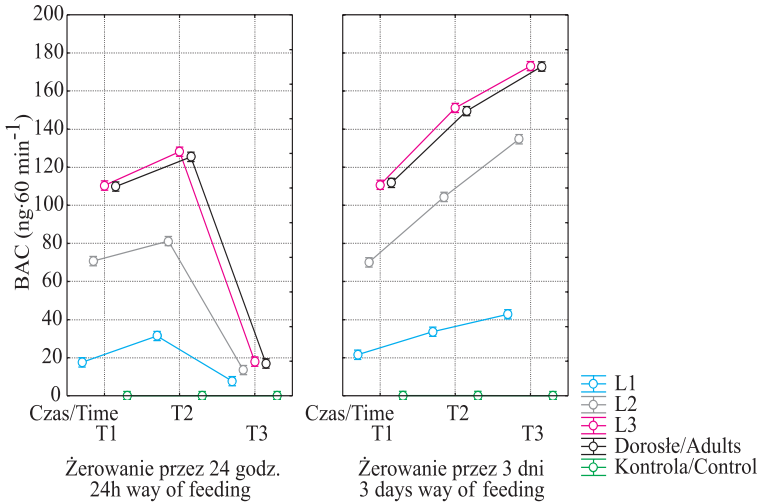
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 12,844; p = 0,00000$



Rys. 12. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie LOX

Fig. 12. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on LOX releasing

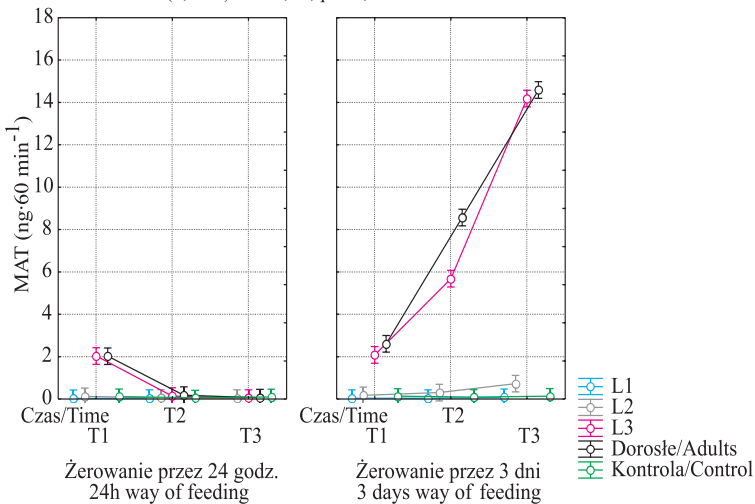
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 525,82; p = 0,0000$



Rys. 13. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie BAC

Fig. 13. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on BAC releasing

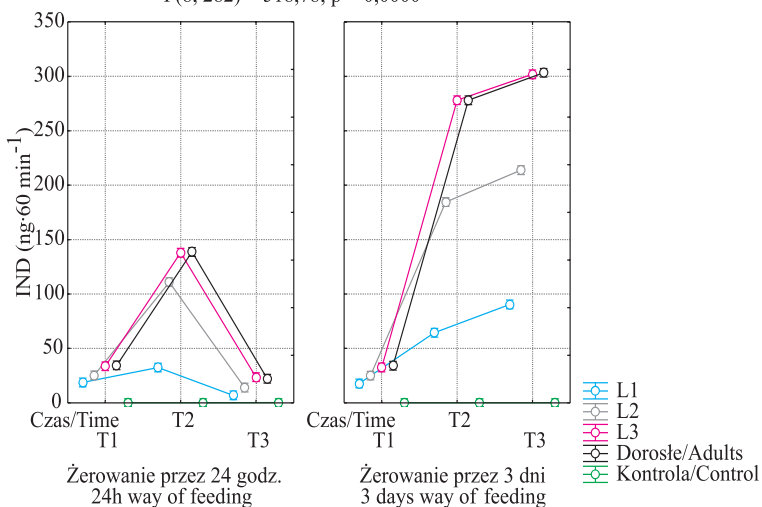
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 187,31; p = 0,0000$



Rys. 14. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie MAT

Fig. 14. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on MAT releasing

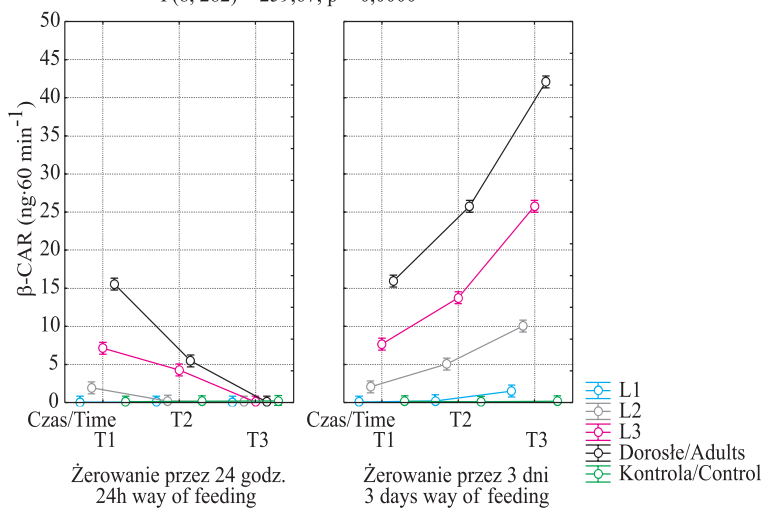
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 518,78; p = 0,0000$



Rys. 15. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie IND

Fig. 15. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on IND releasing

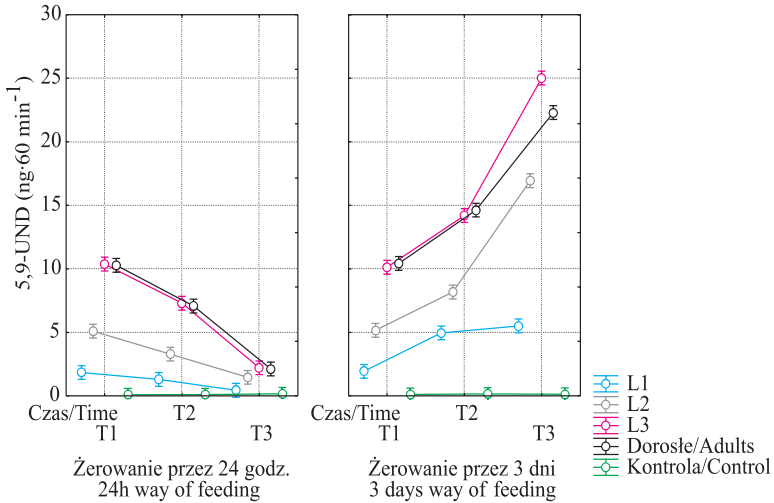
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 259,67; p = 0,0000$



Rys. 16. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie β-CAR

Fig. 16. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on β-CAR releasing

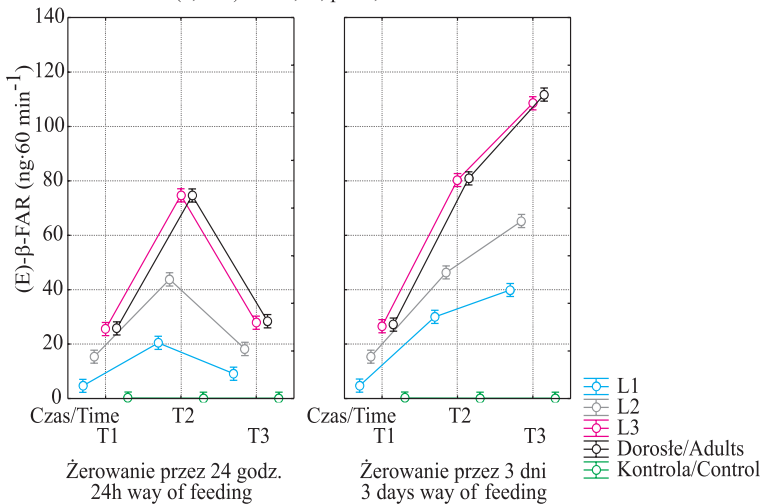
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 185,18; p = 0,0000$



Rys. 17. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie 5,9-UND

Fig. 17. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on 5,9-UND releasing

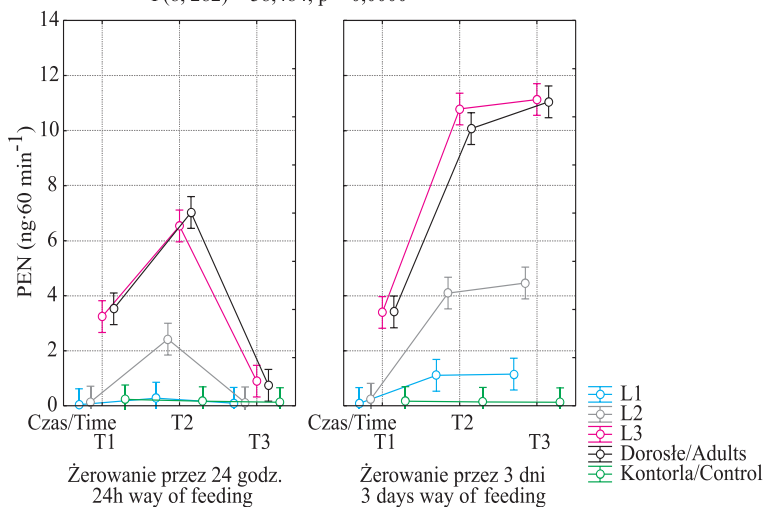
Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 140,21; p = 0,0000$



Rys. 18. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. Na wydzielanie (E)-β-FAR

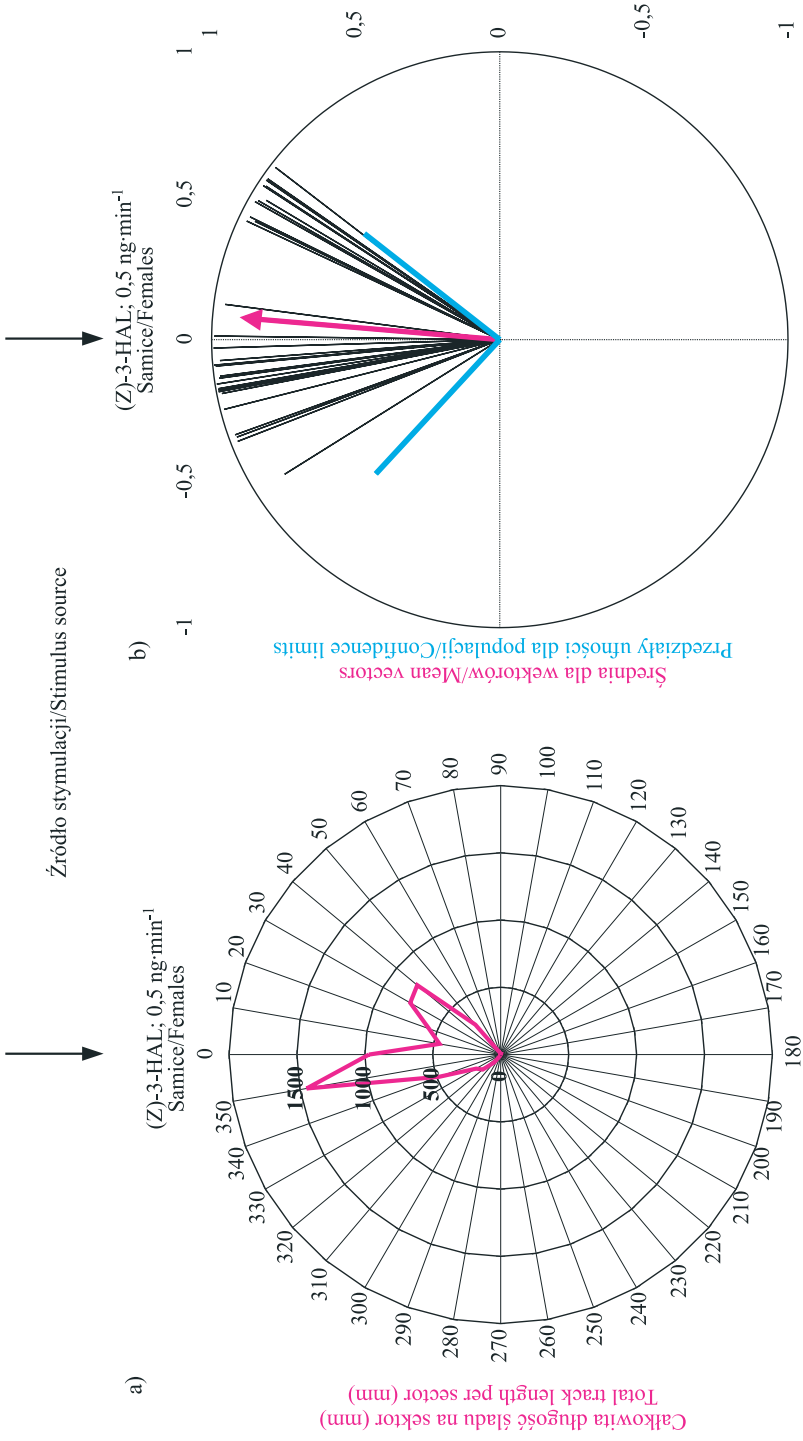
Fig. 18. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on (E)-β-FAR releasing

Średnie (\pm 95%) półprzedziały ufności dla interakcji
 sposób żerowania \times czas \times stadium
 Means (\pm 95%) confidence intervals for way of feeding \times time \times stage interaction
 $F(8, 282) = 38,484; p = 0,0000$

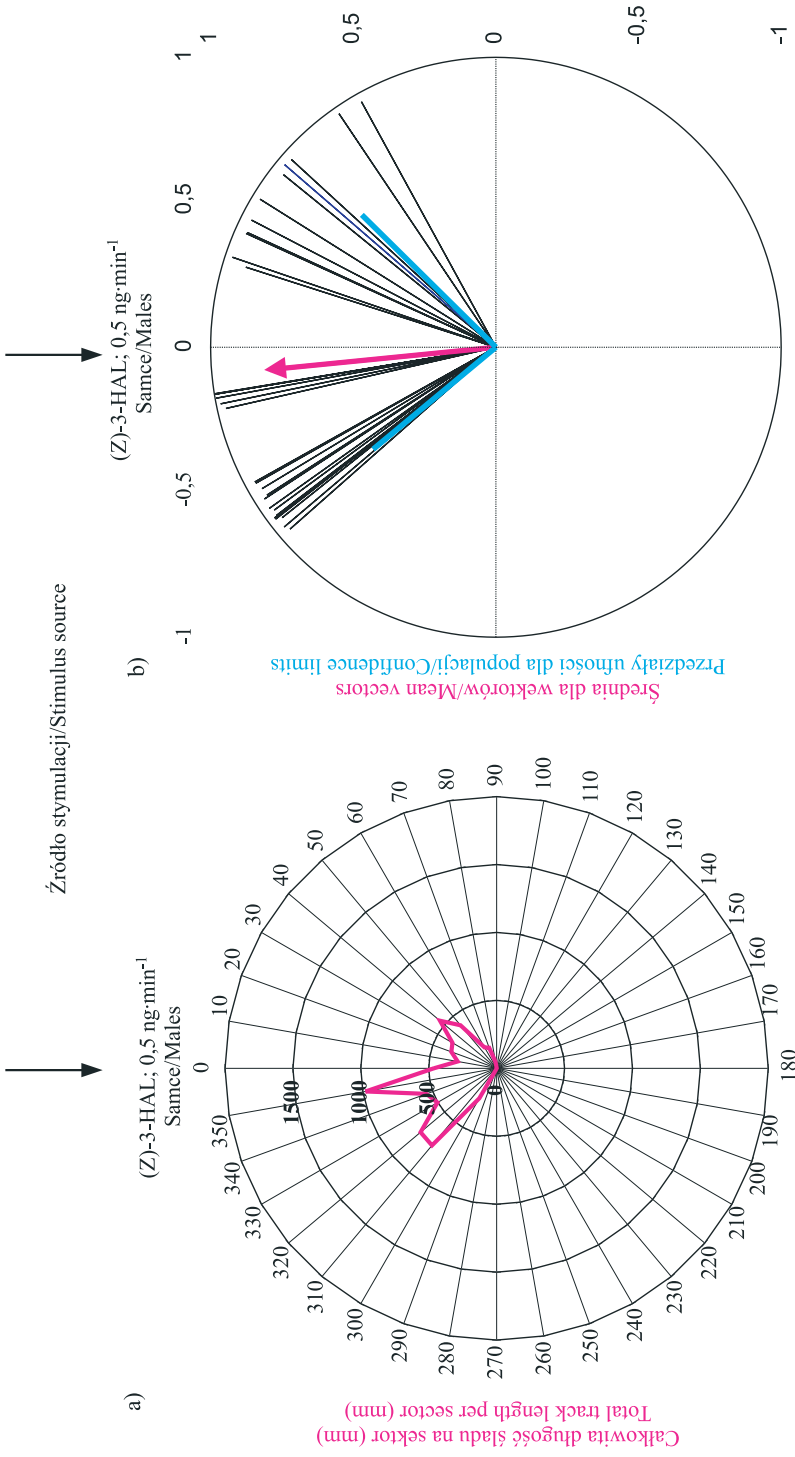


Rys. 19. Wpływ czasu i sposobu żerowania larw i imagines *Oulema melanopus* L. na wydzielanie PEN

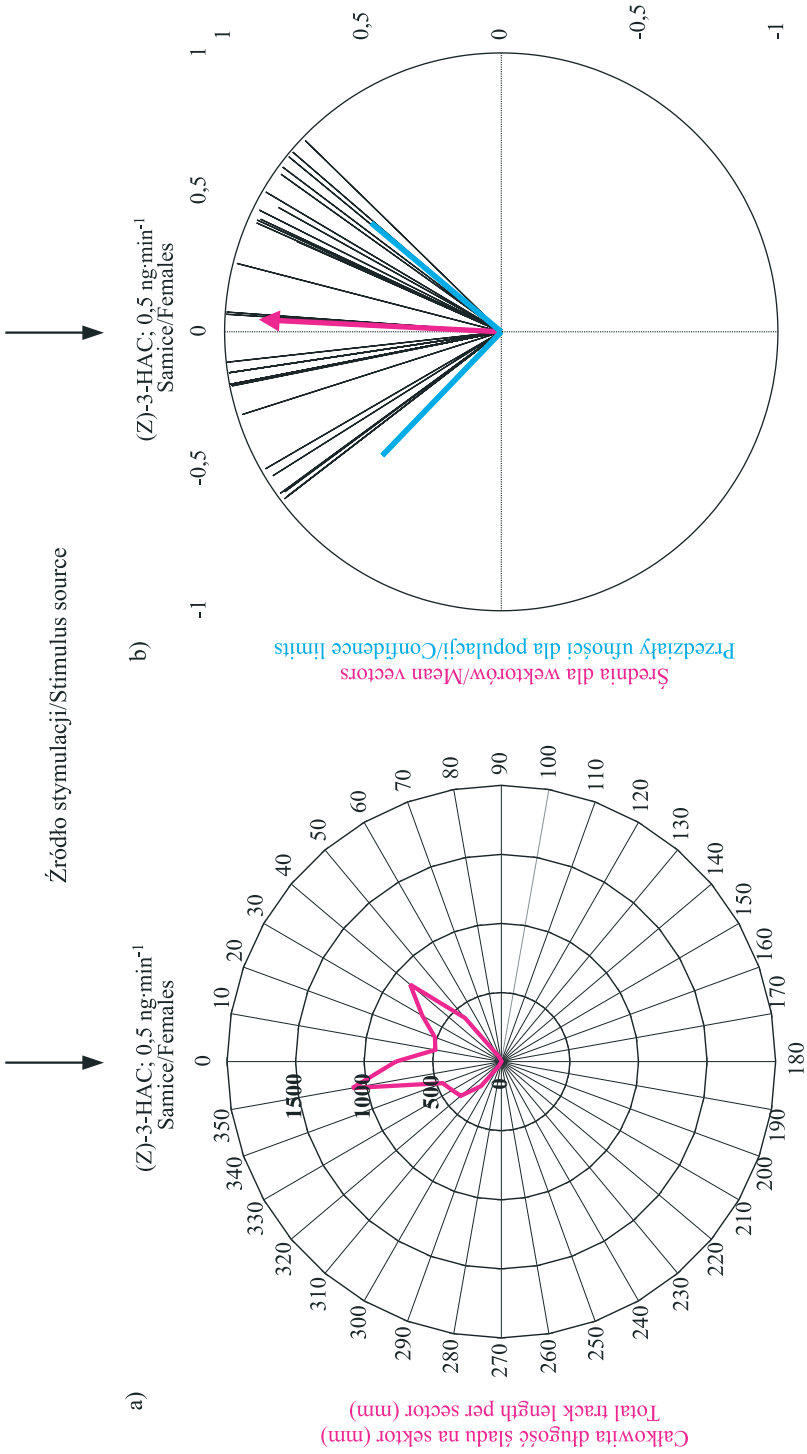
Fig. 19. Time effect and way of feeding of *Oulema melanopus* L. (larvae and imagines) on PEN releasing



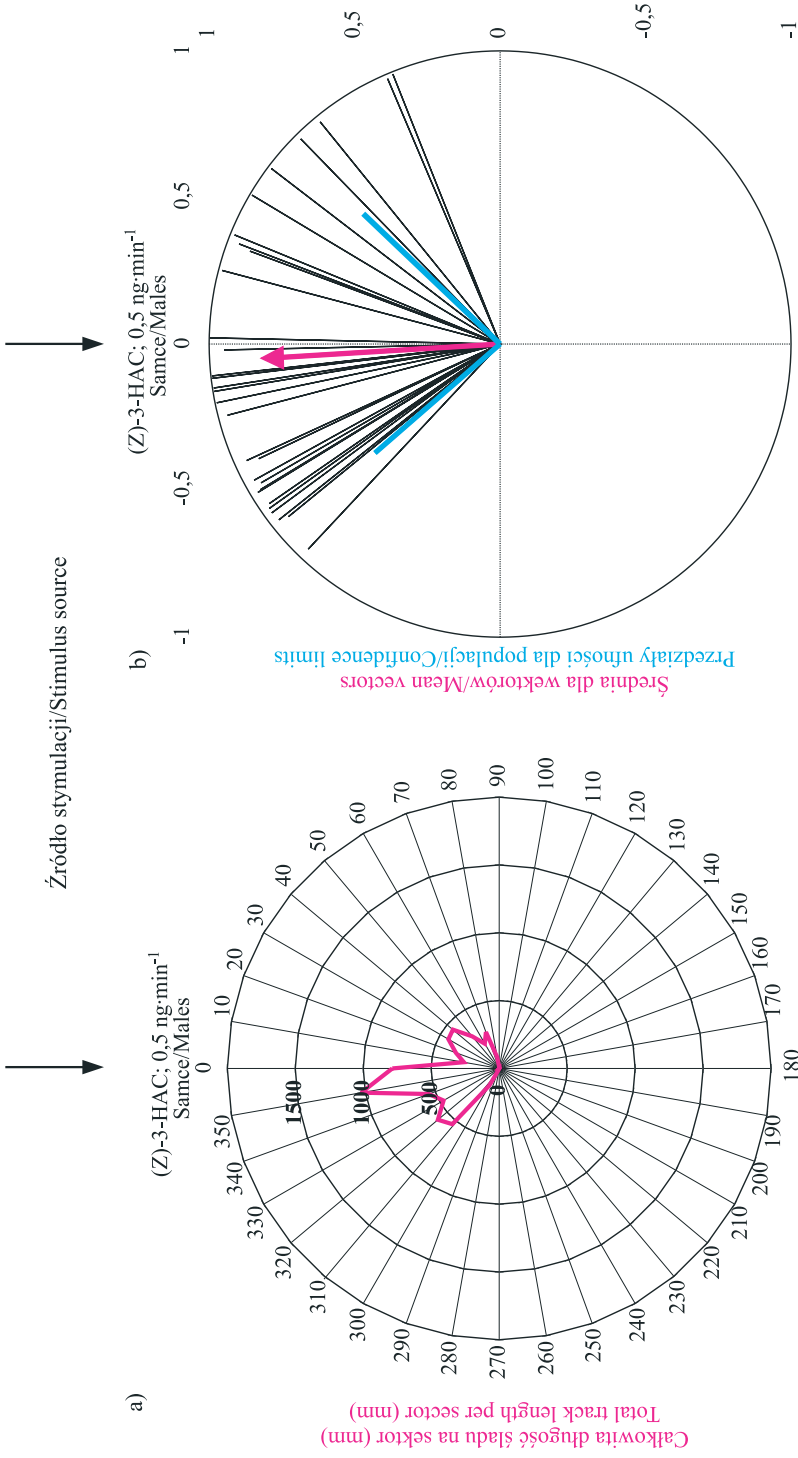
Rys. 20. Wpływ uwalniania (Z)-3-HAL (0,5 ng·min⁻¹) na zachowanie samic *Oulema melanopus* L.
Fig. 20. Effect of (Z)-3-HAL (0.5 ng·min⁻¹) releasing on females of *Oulema melanopus* L. behavior



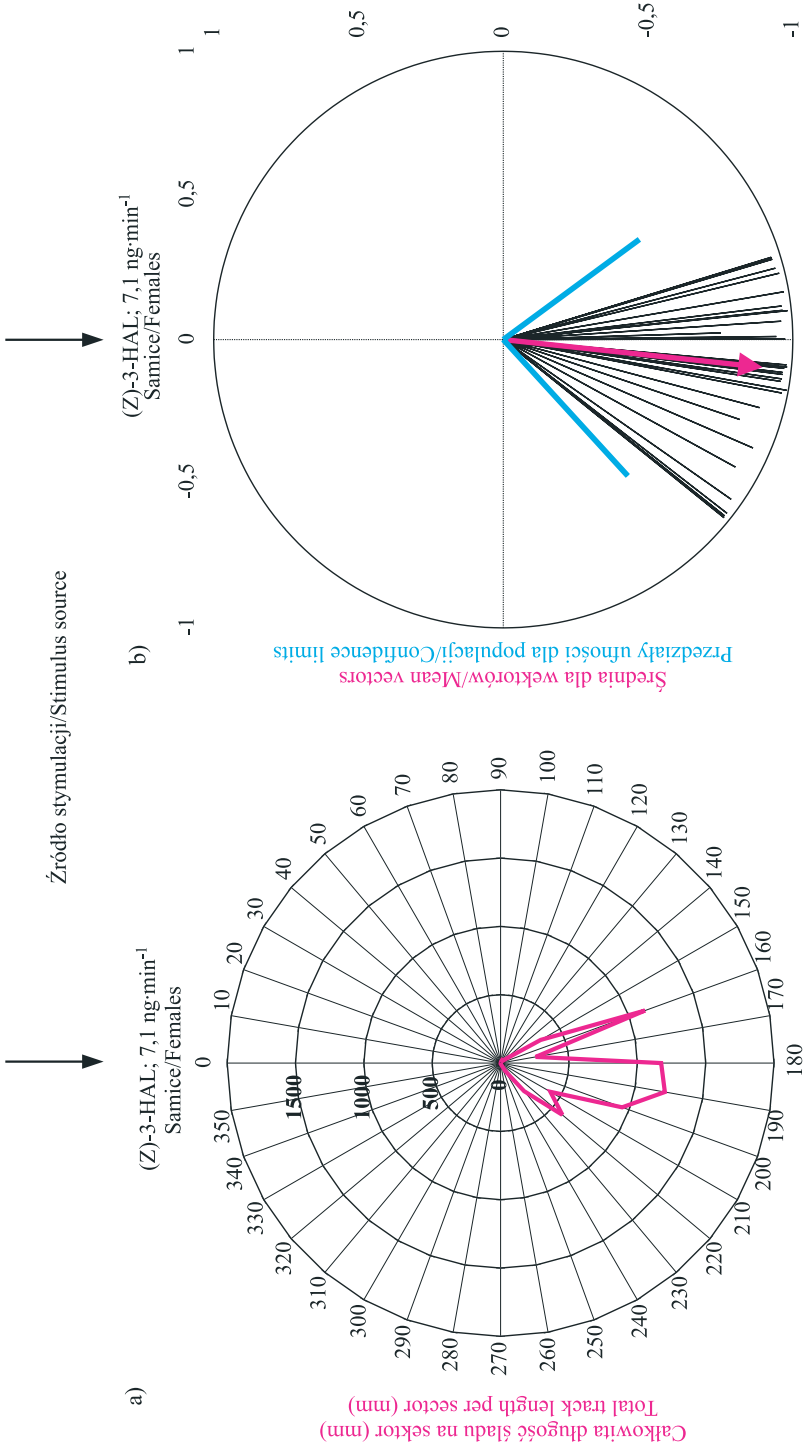
Rys. 21. Wpływ uwalniania (Z)-3-HAL (0,5 ng·min⁻¹) na zachowanie samców *Oulema melanopus* L.
 Fig. 21. Effect of (Z)-3-HAL (0.5 ng·min⁻¹) releasing on males of *Oulema melanopus* L. behavior



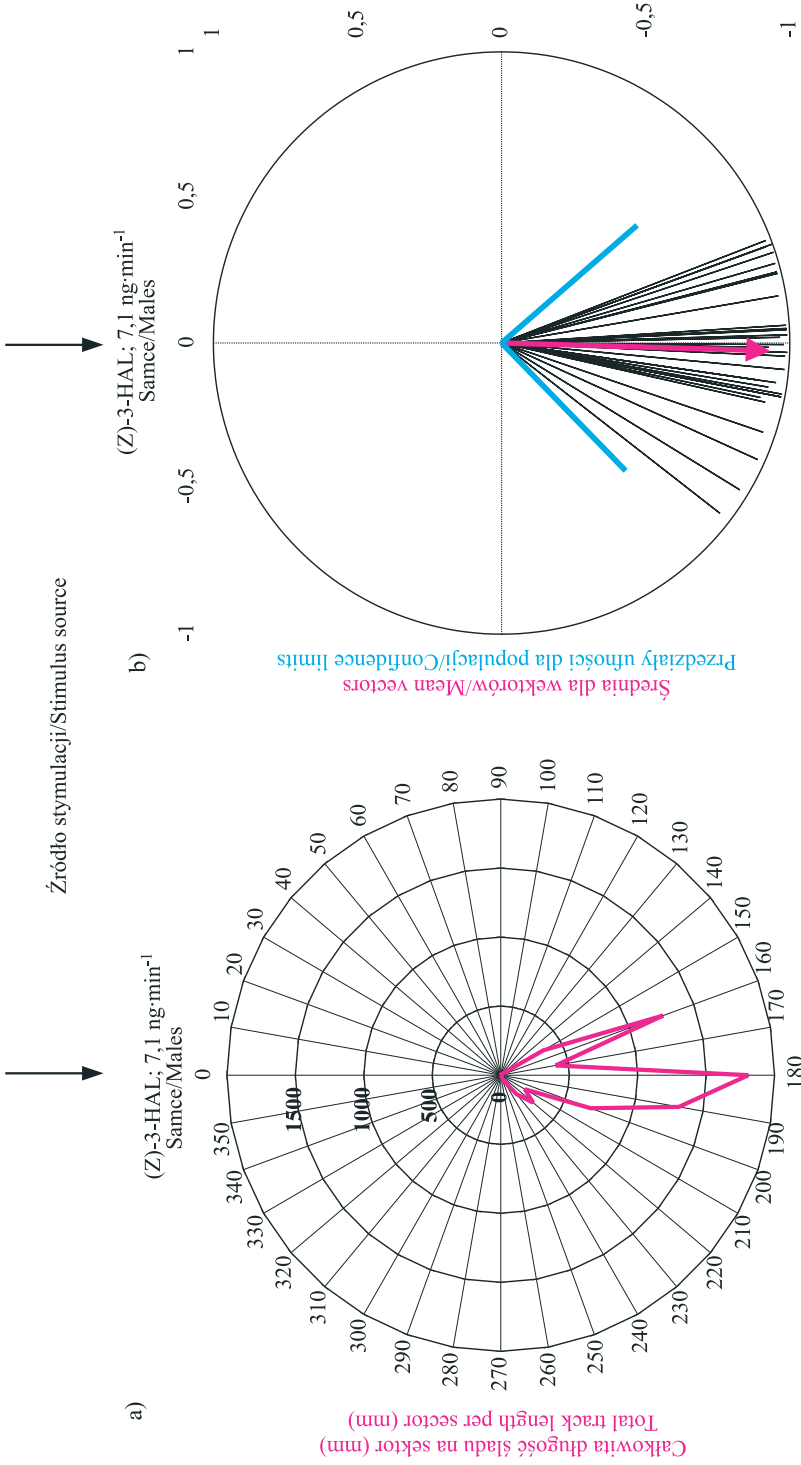
Rys. 22. Wpływ uwalniania (Z)-3-HAC (0,5 ng·min⁻¹) na zachowanie samic *Oulema melanopus* L.
 Fig. 22. Effect of (Z)-3-HAC (0.5 ng·min⁻¹) releasing on females of *Oulema melanopus* L. behavior



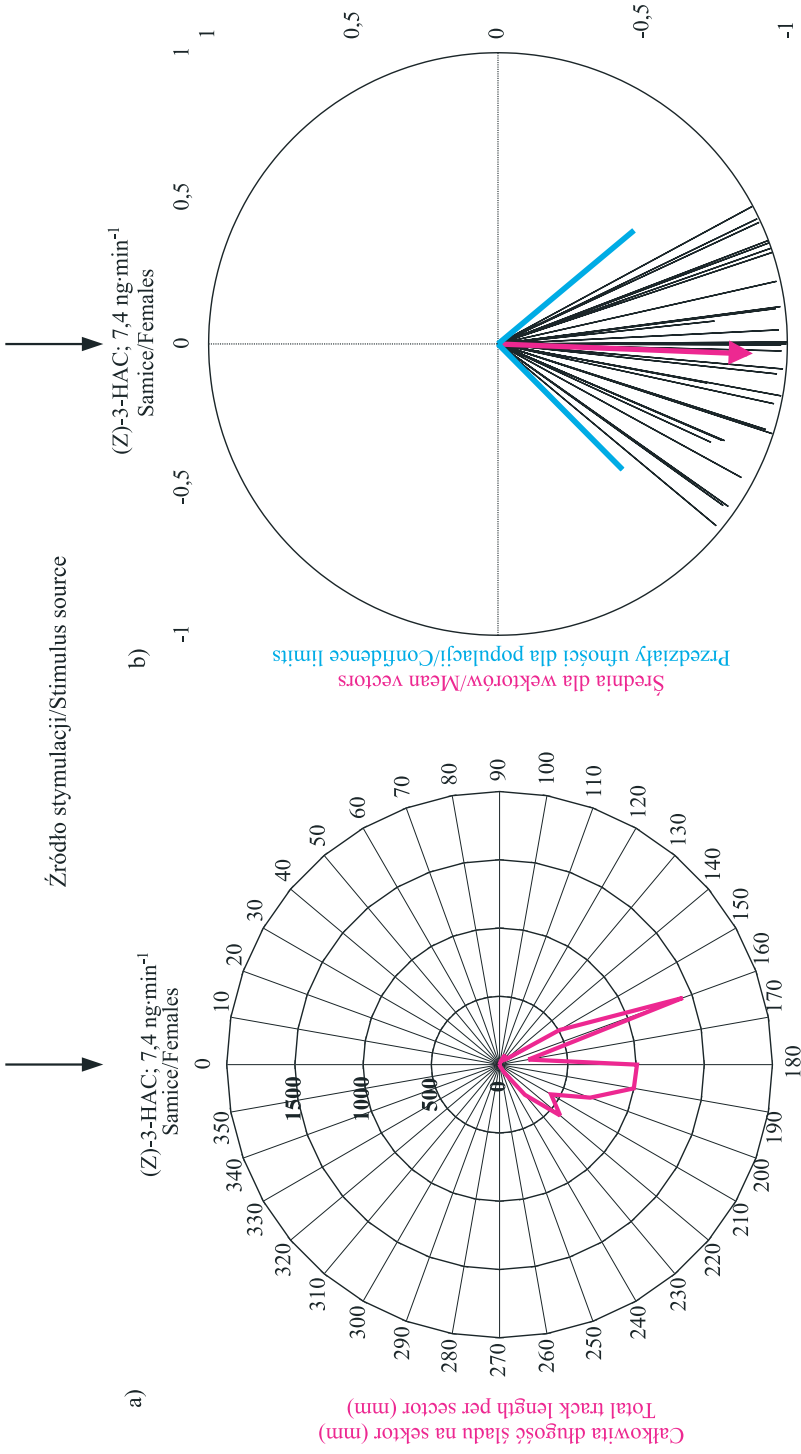
Rys. 23. Wpływ uwalniania (Z)-3-HAC (0,5 ng·min⁻¹) na zachowanie samców *Oulema melanopus* L.
Fig. 23. Effect of (Z)-3-HAC (0.5 ng·min⁻¹) releasing on males of *Oulema melanopus* L. behavior



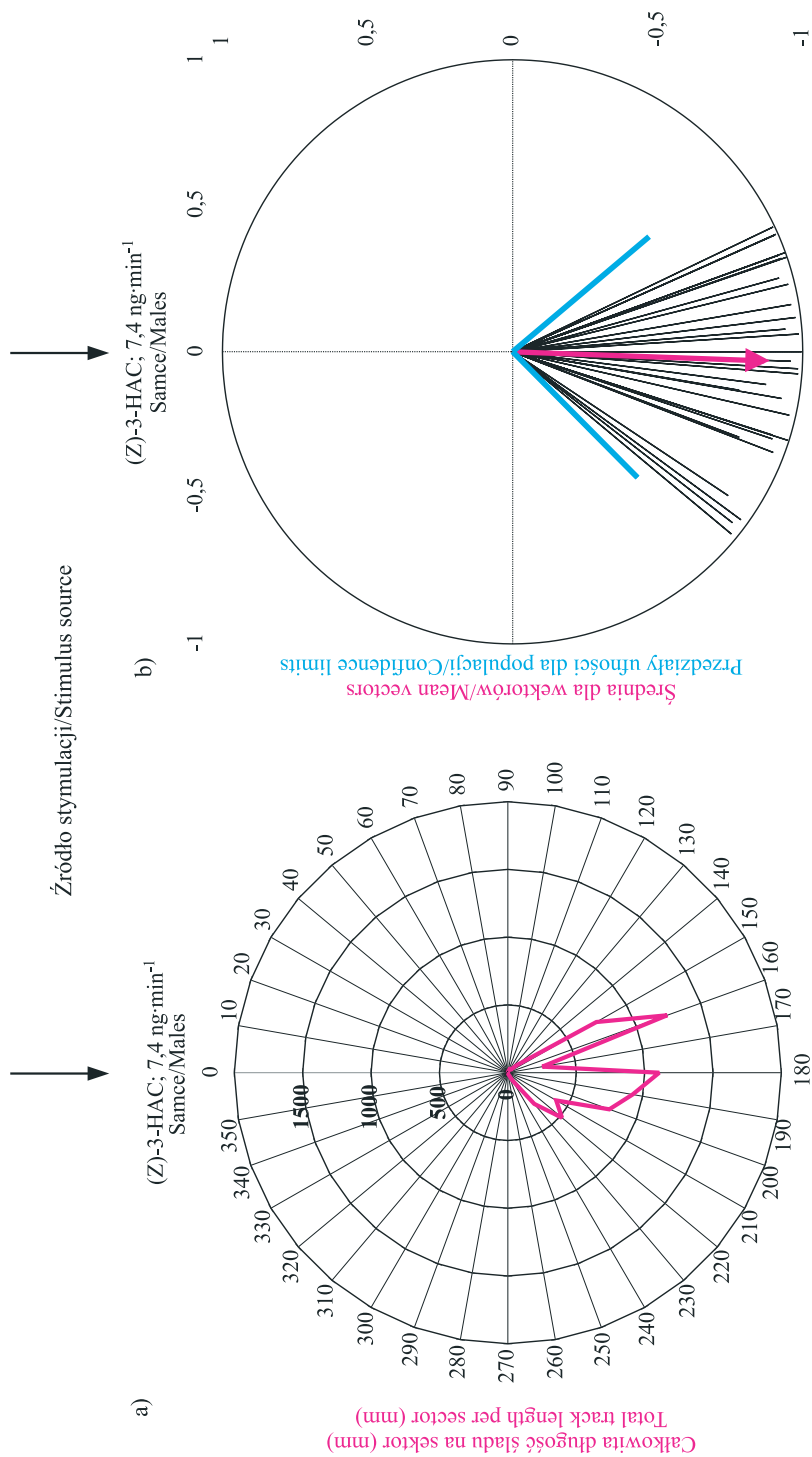
Rys. 24. Wpływ uwalniania (Z)-3-HAL (7,1 ng·min⁻¹) na zachowanie samic *Oulema melanopus* L.
Fig. 24. Effect of (Z)-3-HAL (7.1 ng·min⁻¹) releasing on females of *Oulema melanopus* L. behavior



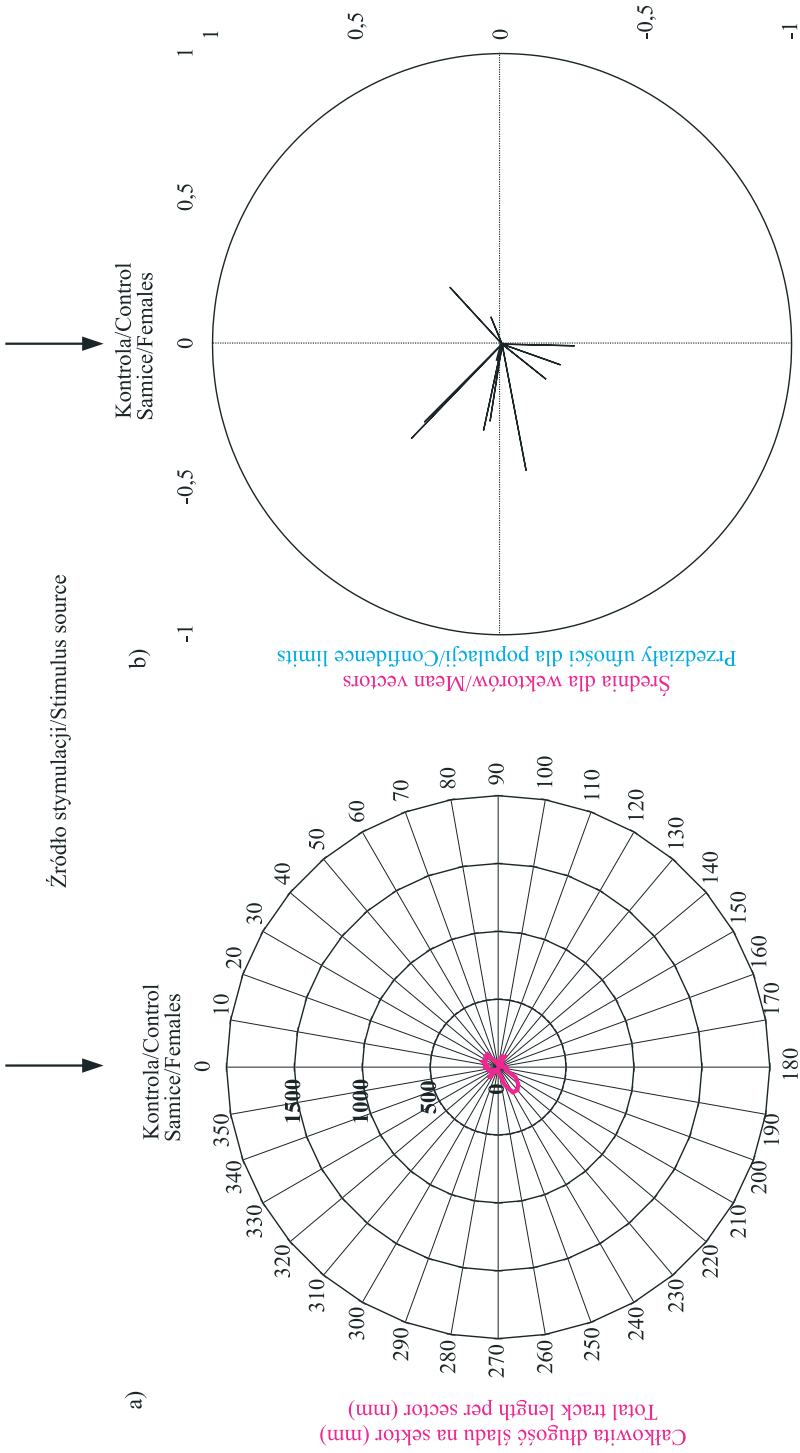
Rys. 25. Wpływ uwalniania (Z)-3-HAL (7,1 ng·min⁻¹) na zachowanie samców *Oulema melanopus* L.
 Fig. 25. Effect of (Z)-3-HAL (7.1 ng·min⁻¹) releasing on males of *Oulema melanopus* L. behavior



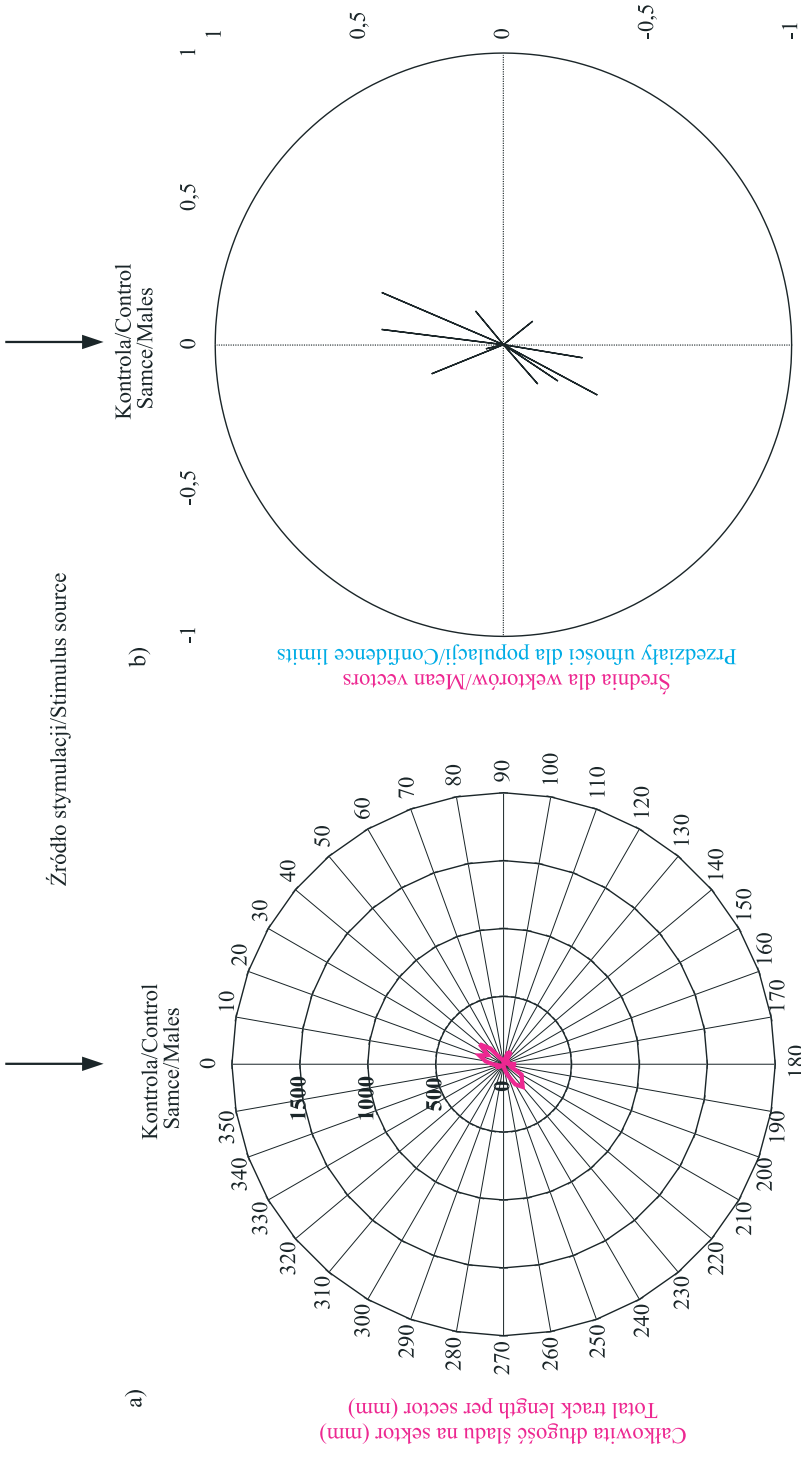
Rys. 26. Wpływ uwalniania (Z)-3-HAC (7,4 ng·min⁻¹) na zachowanie samic *Oulema melanopus* L.
Fig. 26. Effect of (Z)-3-HAC (7.4 ng·min⁻¹) releasing on females of *Oulema melanopus* L. behavior



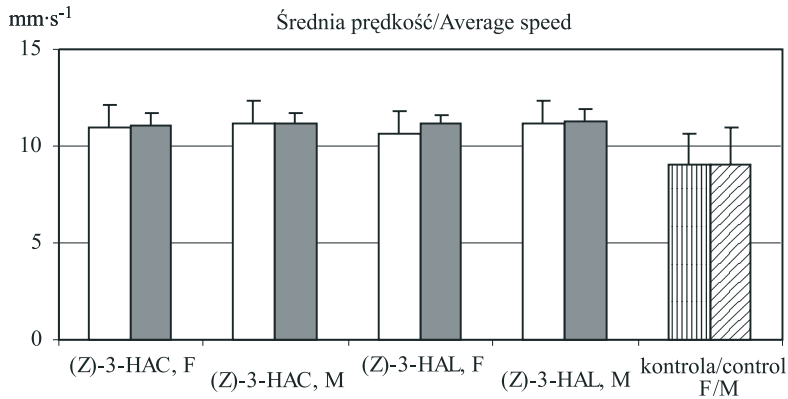
Rys. 27. Wpływ uwalniania (Z) -3-HAC ($7,4 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$) na zachowanie samców *Oulema melanopus* L. Fig. 27. Effect of (Z) -3-HAC ($7,4 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$) releasing on males of *Oulema melanopus* L. behavior



Rys. 28. Wpływ uwalniania czystego powietrza na zachowanie samic *Oulema melanopus* L.
Fig. 28. Effect of clean air releasing on females of *Oulema melanopus* L. behavior



Rys. 29. Wpływ uwalniania czystego powietrza na zachowanie samców *Oulema melanopus* L.
Fig. 29. Effect of clean air releasing on males of *Oulema melanopus* L. behavior

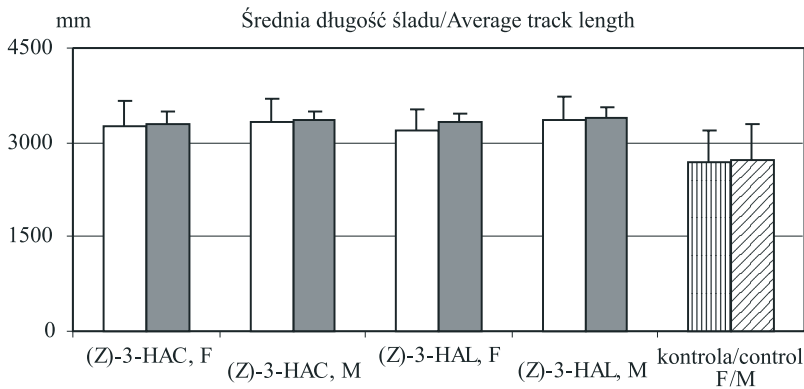


Legenda/Legend (Rys. 30-32/ Fig. 30-32):

- (Z)-3-HAC, F - samice - females, (Z)-3-HAC, M - samce - males
- (Z)-3-HAL, F - samice - females, (Z)-3-HAL, M - samce - males
- 0,5 ng·min⁻¹ = średnie wydzielanie VOC dla roślin nieuszkodzonych
0,5 ng·min⁻¹ = average VOC releasing for undamaged plants,
ponad 7,0 ng·min⁻¹ = 7,4 ng·min⁻¹ dla (Z)-3-HAC; 7,1 ng·min⁻¹ dla (Z)-3-HAL
more than 7,0 ng·min⁻¹ = 7,4 ng·min⁻¹ for (Z)-3-HAC; 7,1 ng·min⁻¹ for (Z)-3-HAL,
- kontrola - control F/M: ▨ - samice - females, ▩ - samce - males

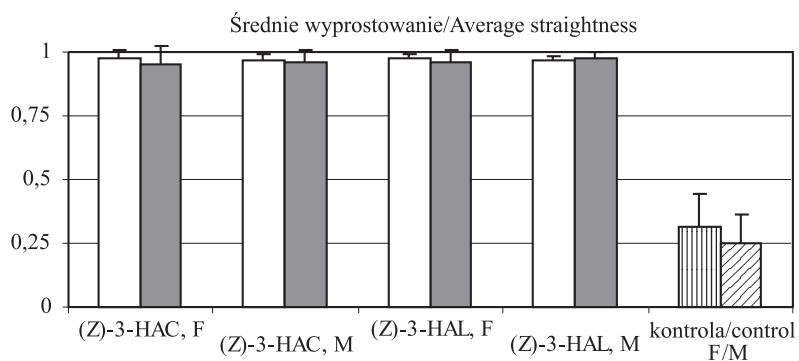
Rys. 30. Wpływ uwalniania (Z)-3-HAC i (Z)-3-HAL (0,5 ng·min⁻¹ i ponad 7,0 ng·min⁻¹) na średnią prędkość imagines *Oulema melanopus* L.

Fig. 30. Effect of (Z)-3-HAC and (Z)-3-HAL (0,5 ng·min⁻¹ and over 7,0 ng·min⁻¹) releasing on average speed of imagines of *Oulema melanopus* L.



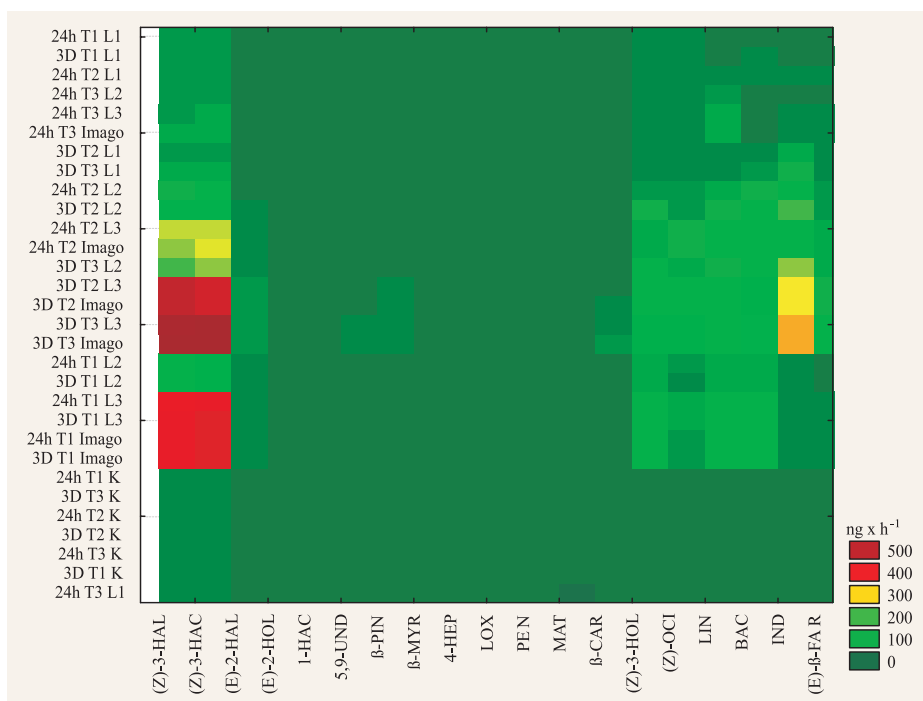
Rys. 31. Wpływ uwalniania (Z)-3-HAC i (Z)-3-HAL (0,5 ng·min⁻¹ i ponad 7,0 ng·min⁻¹) na średnią długość śladu imagines *Oulema melanopus* L.

Fig. 31. Effect of (Z)-3-HAC and (Z)-3-HAL (0,5 ng·min⁻¹ and over 7,0 ng·min⁻¹) releasing on average track length of imagines of *Oulema melanopus* L.



Rys. 32. Wpływ uwalniania (Z)-3-HAC i (Z)-3-HAL ($0,5 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1}$ i ponad $7,0 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1}$) na średnie wyprostowanie imagines *Oulema melanopus* L.

Fig. 32. Effect of (Z)-3-HAC and (Z)-3-HAL ($0,5 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1}$ and over $7,0 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1}$) releasing on average straightness of imagines of *Oulema melanopus* L.



Legenda/Legend:

24 h - żerowanie przez 24 h - 24 h way of feeding,
 3D - żerowanie przez 3 dni - 3 days way of feeding,
 T1, T2, T3 - czas zbierania VOC - time of VOC collection,
 L1, L2, L3 - stadia larwalne - stage of larvae,
 Imago - owady dorosłe - adults,
 K - kontrola - control.

Rys. 33. Wyniki grupowania obiektów i cech

Fig. 33. Clusters of treatments and compounds

TABELE/TABLES

Tabela 2. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę (Z)-3-HAL (ng·h⁻¹) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 2. Releasing by damaged wheat (Z)-3-HAL (ng·h⁻¹) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorośle Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	52,8	135,8	415,3	428,8	28,0	212,1
	T2	42,3	91,8	220,7	215,3	30,1	120,0
	T3	36,0	45,6	59,9	60,5	31,2	46,7
	Średnia – Mean	43,7	91,1	232,0	234,9	29,8	126,3
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	51,6	133,2	421,7	429,9	27,5	212,8
	T2	51,3	160,2	485,9	486,3	29,0	242,5
	T3	67,6	190,4	547,0	563,5	29,6	279,6
	Średnia – Mean	56,8	161,3	484,8	493,2	28,7	245,0
Średnia – Mean		50,3	126,2	358,4	364,1	29,2	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 4,1

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 9,1

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 7,1

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 8,5

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 9,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 12,9

Tabela 3. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę (E)-2-HAL (ng·h⁻¹) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 3. Releasing by damaged wheat (E)-2-HAL (ng·h⁻¹) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorośle Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	5,5	24,3	33,7	34,8	0,2	19,7
	T2	4,2	15,6	23,8	22,7	0,1	13,3
	T3	2,8	4,2	7,3	7,0	0,2	4,3
	Średnia – Mean	4,2	14,7	21,6	21,5	0,2	12,4
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	5,1	22,9	33,6	34,1	6,1	20,3
	T2	12,9	26,0	41,6	41,7	0,3	24,5
	T3	13,2	35,1	52,1	52,6	0,2	30,6
	Średnia – Mean	10,4	28,0	42,4	42,8	2,2	25,2
Średnia – Mean		7,3	21,3	32,0	32,1	1,2	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 1,3

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 2,8

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 2,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 2,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 2,8

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 3,9

Tabela 4. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę (Z)-3-HOL (ng·h⁻¹) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 4. Releasing by damaged wheat (Z)-3-HOL (ng·h⁻¹) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	33,4	69,6	108,2	108,2	16,1	67,1
	T2	23,6	43,4	71,7	71,6	15,7	45,2
	T3	18,3	23,0	39,2	35,1	15,4	26,2
	Średnia – Mean	25,1	45,3	73,0	71,6	15,7	46,2
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	31,6	68,4	108,6	111,7	16,2	67,3
	T2	31,9	81,4	124,9	125,6	15,4	75,9
	T3	36,2	103,4	150,9	150,0	16,1	91,3
	Średnia – Mean	33,2	84,4	128,1	129,1	15,9	78,2
Średnia – Mean		29,2	64,9	100,6	100,4	15,8	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 1,0

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 2,1

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 1,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 2,0

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 2,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 3,0

Tabela 5. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę (E)-2-HOL (ng·h⁻¹) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 5. Releasing by damaged wheat (E)-2-HOL (ng·h⁻¹) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	2,0	7,8	11,4	10,4	0,1	6,3
	T2	1,7	5,1	7,3	8,1	0,1	4,5
	T3	0,8	1,9	3,2	3,4	0,1	1,9
	Średnia – Mean	1,5	4,9	7,3	7,3	0,1	4,2
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	2,2	8,0	11,4	11,4	0,2	6,6
	T2	4,5	9,3	14,1	14,0	0,2	8,4
	T3	5,9	14,1	17,8	18,3	0,1	11,2
	Średnia – Mean	4,2	10,5	14,4	14,6	0,2	8,8
Średnia – Mean		2,8	7,7	10,8	10,9	0,1	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 0,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 0,5

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 0,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 0,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 0,5

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 0,7

Tabela 6. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę 4-HEP (ng·h⁻¹) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 6. Releasing by damaged wheat 4-HEP (ng·h⁻¹) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	0,1	0,1	2,8	4,2	0,1	1,4
	T2	0,3	2,9	6,2	5,9	0,1	3,1
	T3	0,0	0,1	2,3	2,1	0,2	1,0
	Średnia – Mean	0,1	1,0	3,7	4,0	0,1	1,8
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	0,0	0,1	2,5	3,0	2,7	1,7
	T2	0,3	5,7	9,3	9,4	0,1	5,0
	T3	0,7	9,4	12,9	12,9	0,1	7,2
	Średnia – Mean	0,3	5,0	8,2	8,4	1,0	4,6
Średnia – Mean		0,2	3,0	6,0	6,2	0,5	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 1,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 1,0

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 1,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 1,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 1,7

Tabela 7. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę β -PIN (ng·h⁻¹) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 7. Releasing by damaged wheat β -PIN (ng·h⁻¹) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	2,9	4,3	6,7	6,9	0,1	4,2
	T2	3,5	7,3	13,2	11,6	0,1	7,2
	T3	0,1	0,5	3,1	3,0	0,1	1,4
	Średnia – Mean	2,2	4,0	7,7	7,2	0,1	4,2
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	2,7	4,2	6,2	6,9	0,1	4,0
	T2	4,8	13,6	22,2	22,5	0,1	12,6
	T3	4,8	13,6	22,2	22,0	0,1	12,6
	Średnia – Mean	4,1	10,5	16,9	17,1	0,1	9,7
Średnia – Mean		3,2	7,3	12,3	12,1	0,1	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 0,3

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 0,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 0,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 0,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 1,0

Tabela 8. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę β -MYR ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 8. Releasing by damaged wheat β -MYR ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	2,7	5,2	8,1	8,0	0,0	4,8
	T2	4,0	6,5	12,3	12,2	0,1	7,0
	T3	2,8	4,5	7,6	7,7	0,1	4,5
	Średnia – Mean	3,2	5,4	9,3	9,3	0,1	5,5
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	2,6	3,9	6,6	7,8	0,1	4,2
	T2	5,6	9,7	16,2	15,9	0,1	9,5
	T3	8,8	14,8	19,2	19,5	0,1	12,5
	Średnia – Mean	5,7	9,5	14,0	14,4	0,1	8,7
Średnia – Mean		4,4	7,4	11,6	11,9	0,1	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 0,3

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 0,5

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 0,9

Tabela 9. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę (Z)-3-HAC ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 9. Releasing by damaged wheat (Z)-3-HAC ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	50,8	154,9	425,8	443,7	29,8	221,0
	T2	43,6	102,7	235,3	244,6	31,8	131,6
	T3	34,6	46,2	63,5	66,3	33,1	48,7
	Średnia – Mean	43,0	101,3	241,5	251,5	31,6	133,8
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	52,4	151,4	444,6	449,6	29,0	225,4
	T2	55,9	171,4	468,6	472,0	31,1	239,8
	T3	71,7	208,9	570,7	569,3	30,3	290,2
	Średnia – Mean	60,0	177,2	494,6	497,0	30,1	251,8
Średnia – Mean		51,5	139,2	368,1	374,3	30,8	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 3,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 7,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 6,0

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 7,1

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 7,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 10,7

Tabela 10. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę 1-HAC ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 10. Releasing by damaged wheat 1-HAC ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorośle Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	2,2	7,6	11,6	12,5	0,0	6,8
	T2	2,1	4,9	7,9	8,1	0,0	4,6
	T3	0,7	2,3	3,2	3,1	0,1	1,9
	Średnia – Mean	1,7	5,0	7,6	7,9	0,1	4,4
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	2,1	7,6	10,4	11,0	0,0	6,2
	T2	4,9	9,0	13,8	14,8	0,0	8,5
	T3	5,9	14,2	18,2	19,0	0,1	11,5
	Średnia – Mean	4,3	10,3	14,1	14,9	0,1	8,7
Średnia – Mean		3,0	7,6	10,9	11,4	0,1	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 0,3

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 0,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 0,5

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 0,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 0,9

Tabela 11. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę (Z)-OCI ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 11. Releasing by damaged wheat (Z)-OCI ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorośle Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	26,6	40,1	60,4	57,8	0,2	37,0
	T2	32,3	53,7	83,4	85,3	0,3	51,0
	T3	13,7	21,5	32,2	31,8	0,2	19,9
	Średnia – Mean	24,2	38,4	58,7	58,3	0,2	36,0
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	24,5	39,3	60,4	59,2	0,2	36,7
	T2	22,6	59,8	111,8	118,8	0,3	62,7
	T3	28,6	73,9	144,6	147,7	0,4	79,0
	Średnia – Mean	25,2	57,6	105,6	108,6	0,3	59,5
Średnia – Mean		24,7	48,0	82,2	83,4	0,3	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 1,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 3,9

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 3,0

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 3,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 3,9

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 5,4

Tabela 12. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę LIN ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 12. Releasing by damaged wheat LIN ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	16,6	69,1	104,1	106,2	0,2	59,2
	T2	23,2	74,5	128,0	127,0	0,2	70,6
	T3	12,4	42,3	70,6	69,8	0,1	39,0
	Średnia – Mean	17,4	62,0	100,9	101,0	0,1	56,3
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	14,6	64,6	106,9	107,3	0,2	58,7
	T2	29,6	82,5	123,4	120,7	0,2	71,3
	T3	30,3	81,5	118,4	120,0	0,1	70,0
	Średnia – Mean	24,8	76,2	116,2	116,0	0,2	66,7
Średnia – Mean		21,1	69,1	108,6	108,5	0,2	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 1,1

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 2,3

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 1,8

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 2,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 2,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 3,3

Tabela 13. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę LOX ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 13. Releasing by damaged wheat LOX ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	0,1	1,0	2,9	2,6	0,1	1,4
	T2	2,1	4,6	7,4	7,2	0,1	4,3
	T3	0,2	0,8	2,7	3,0	0,1	1,4
	Średnia – Mean	0,8	2,2	4,3	4,3	0,1	2,3
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	0,1	0,9	3,0	3,0	0,1	1,4
	T2	3,0	5,6	10,9	10,1	0,1	5,9
	T3	3,0	5,5	10,8	11,2	0,1	6,1
	Średnia – Mean	2,0	4,0	8,2	8,1	0,1	4,5
Średnia – Mean		1,4	3,1	6,3	6,2	0,1	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 0,3

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 0,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 0,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 0,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 1,0

Tabela 14. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę BAC ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 14. Releasing by damaged wheat BAC ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorośle Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	17,6	70,7	110,4	109,9	0,1	61,8
	T2	31,4	81,3	128,2	125,5	0,1	73,3
	T3	7,7	13,6	18,0	17,0	0,1	11,3
	Średnia – Mean	18,9	55,2	85,5	84,1	0,1	48,8
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	21,6	70,1	110,8	111,8	0,2	62,9
	T2	33,7	104,5	151,2	149,5	0,2	87,8
	T3	42,8	134,8	173,1	172,9	0,1	104,7
	Średnia – Mean	32,7	103,1	145,0	144,7	0,2	85,1
Średnia – Mean		25,8	79,1	115,3	114,4	0,1	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 1,1

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 2,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 1,9

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 2,3

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 2,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 3,4

Tabela 15. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę MAT ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 15. Releasing by damaged wheat MAT ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorośle Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	0,0	0,1	2,0	2,0	0,1	0,9
	T2	0,0	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
	T3	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1
	Średnia – Mean	0,0	0,1	0,7	0,8	0,1	0,3
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	0,0	0,2	2,1	2,6	0,1	1,0
	T2	0,0	0,3	5,7	8,6	0,1	2,9
	T3	0,1	0,7	14,2	14,6	0,1	5,9
	Średnia – Mean	0,1	0,4	7,3	8,6	0,1	3,3
Średnia – Mean		0,0	0,2	4,0	4,7	0,1	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 0,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 0,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 0,3

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 0,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 0,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 0,5

Tabela 16. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę IND ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 16. Releasing by damaged wheat IND ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	18,7	25,4	33,6	34,4	0,2	22,5
	T2	32,5	110,9	138,0	138,8	0,2	84,1
	T3	6,9	14,0	23,6	22,2	0,2	13,4
	Średnia – Mean	19,4	50,1	65,1	65,1	0,2	40,0
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	17,8	25,0	32,5	34,2	0,2	21,9
	T2	64,4	184,5	278,1	278,0	0,2	161,0
	T3	90,5	213,8	301,9	303,3	0,2	181,9
	Średnia – Mean	57,6	141,1	204,2	205,2	0,2	121,6
Średnia – Mean		38,5	95,6	134,6	135,1	0,2	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 1,8

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 4,0

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 3,1

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 3,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 4,0

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 5,6

Tabela 17. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę β -CAR ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 17. Releasing by damaged wheat β -CAR ($\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}$) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	0,0	1,9	7,1	15,6	0,1	5,0
	T2	0,1	0,2	4,3	5,5	0,2	2,0
	T3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
	Średnia – Mean	0,1	0,7	3,8	7,0	0,2	2,4
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	0,1	2,1	7,7	15,9	0,2	5,2
	T2	0,2	5,1	13,7	25,8	0,1	9,0
	T3	1,5	10,0	25,8	42,1	0,2	15,9
	Średnia – Mean	0,6	5,7	15,7	27,9	0,1	10,0
Średnia – Mean		0,3	3,2	9,8	17,5	0,1	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 0,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 0,8

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 0,7

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 0,8

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 1,1

Tabela 18. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę 5,9-UND (ng·h⁻¹) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 18. Releasing by damaged wheat 5,9-UND (ng·h⁻¹) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorośle Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	1,8	5,1	10,4	10,3	0,1	5,5
	T2	1,3	3,3	7,3	7,1	0,1	3,8
	T3	0,4	1,5	2,2	2,1	0,2	1,3
	Średnia – Mean	1,2	3,3	6,6	6,5	0,1	3,5
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	1,9	5,2	10,1	10,4	0,1	5,6
	T2	5,0	8,2	14,2	14,6	0,1	8,4
	T3	5,5	16,9	25,0	22,3	0,1	14,0
	Średnia – Mean	4,1	10,1	16,5	15,8	0,1	9,3
Średnia – Mean		2,7	6,7	11,5	11,1	0,1	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 0,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 0,5

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 0,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 0,5

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 0,8

Tabela 19. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę (E)- β -FAR (ng·h⁻¹) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 19. Releasing by damaged wheat (E)- β -FAR (ng·h⁻¹) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorośle Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	4,6	15,4	25,5	25,8	0,2	14,3
	T2	20,5	43,8	74,7	74,6	0,1	42,7
	T3	9,1	18,2	27,9	28,4	0,1	16,8
	Średnia – Mean	11,4	25,8	42,7	42,9	0,1	24,6
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	4,7	15,4	26,6	27,2	0,2	14,8
	T2	30,0	46,3	80,3	80,9	0,1	47,5
	T3	39,9	65,2	108,5	111,7	0,1	65,1
	Średnia – Mean	24,9	42,3	71,8	73,3	0,1	42,5
Średnia – Mean		18,1	34,1	57,3	58,1	0,1	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 1,1

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 2,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 1,9

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 2,3

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 2,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 3,4

Tabela 20. Uwalnianie przez zaatakowaną pszenicę PEN (ng·h⁻¹) w zależności od sposobu żerowania, czasu zbierania i stadium rozwojowego *Oulema melanopus* L.

Table 20. Releasing by damaged wheat PEN (ng·h⁻¹) depending on way of feeding, collection time, and developmental stage of *Oulema melanopus* L.

Sposób żerowania Way of feeding (A)	Czas Time (B)	Stadium – Stage (C)				Kontrola Control	Średnia Mean
		Larwy – Larvae			Dorosłe Adults		
		L1	L2	L3			
Żerowanie przez 24 h 24 h way of feeding	T1	0,0	0,1	3,2	3,5	0,2	1,4
	T2	0,3	2,4	6,5	7,0	0,2	3,3
	T3	0,1	0,1	0,9	0,7	0,1	0,4
	Średnia – Mean	0,1	0,9	3,6	3,8	0,2	1,7
Żerowanie przez 3 dni 3 days way of feeding	T1	0,1	0,2	3,4	3,4	0,2	1,5
	T2	1,1	4,1	10,8	10,1	0,1	5,2
	T3	1,2	4,5	11,1	11,0	0,1	5,6
	Średnia – Mean	0,8	2,9	8,4	8,2	0,1	4,1
Średnia – Mean		0,5	1,9	6,0	6,0	0,2	

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A) = 0,2

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/B) = 0,4

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (B/A) = 0,5

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (A/C) = 0,6

NIR – HSD Tukey $\alpha = 0.05$ (C/A) = 0,8

Tabela 21. Wpływ uwalniania LIN i (E)- β -FAR (model żerowania 1) na zachowanie się dorosłych *Oulema melanopus* L.

Table 21. Effect of LIN and (E)- β -FAR releasing (model 1 of feeding) on adults of *Oulema melanopus* L. behavior

Nazwa związku Name of compound	Dawka Dosage	ng · min ⁻¹	Samice – Females			Samce – Males		
			+	–	χ^2	+	–	χ^2
LIN	min.	~0,2	15	15	ni – ns	13	17	ni – ns
	max	~2,1	23	7	7,5**	22	8	5,63*
	kontrola - control	~0,0	17	13	ni – ns	16	14	ni – ns
(E)- β -FAR	min.	~0,1	13	17	ni – ns	18	12	ni – ns
	max	~1,2	24	6	9,63**	24	6	9,63**
	kontrola - control	~0,0	18	12	ni – ns	18	12	ni – ns

ni – nie istotne; ns – not significant

Tabela 22. Wpływ uwalniania (Z)-OCI, LIN i (E)- β -FAR (model żerowania 2) na zachowanie się dorosłych *Oulema melanopus* L.

Table 22. Effect of (Z)-OCI, LIN, and (E)- β -FAR releasing (model 2 of feeding) on adults of *Oulema melanopus* L. behavior

Nazwa związku Name of compound	Dawka Dosage	ng · min ⁻¹	Samice – Females			Samce – Males		
			+	–	χ^2	+	–	χ^2
(Z)-OCI	min.	~0,4	18	12	ni – ns	12	18	ni – ns
	max	~2,5	23	7	7,5**	22	8	5,63*
	kontrola - control	~0,0	14	16	ni – ns	14	16	ni – ns
LIN	min.	~0,2	16	14	ni – ns	15	15	ni – ns
	max	~2,1	25	5	12,03***	22	8	5,63*
	kontrola - control	~0,0	16	14	ni – ns	14	16	ni – ns
(E)- β -FAR	min.	~0,1	17	13	ni – ns	16	14	ni – ns
	max	~1,9	26	4	14,7***	25	5	12,03***
	kontrola - control	~0,0	14	16	ni – ns	15	15	ni – ns

ni – nie istotne; ns – not significant

Tabela 23. Wpływ żerowania kolejnych stadiów larwalnych i imagines (model 1) na zachowanie się owadów dorosłych *Oulema melanopus* L.

Table 23. Feeding effect of consecutive larval stages and imagines (model 1) on adults of *Oulema melanopus* L. behavior

	Samice – Females			Samce – Males		
	+	–	χ^2	+	–	χ^2
żerowanie L1 – feeding of L1	23	7	7,5**(a)	22	8	5,63*(a)
żerowanie L2 – feeding of L2	16	14	ni – ns	13	17	ni – ns
żerowanie L3 – feeding of L3	22	8	5,63*(r)	22	8	5,63*(r)
żerowanie dorosłych – feeding of adults	23	7	7,5**(r)	21	9	4,03*(r)
kontrola – control	24	6	9,63**(a)	23	7	7,5**(a)

ni – nie istotne; ns – not significant

Tabela 24. Wpływ żerowania kolejnych stadiów larwalnych i imagines (model 2) na zachowanie się owadów dorosłych *Oulema melanopus* L.

Table 24. Feeding effect of consecutive larval stages and imagines (model 2) on adults of *Oulema melanopus* L. behavior

	Samice – Females			Samce – Males		
	+	–	χ^2	+	–	χ^2
żerowanie L1 – feeding of L1	13	17	ni – ns	14	16	ni – ns
żerowanie L2 – feeding of L2	23	7	7,5**(r)	22	8	5,63*(r)
żerowanie L3 – feeding of L3	23	7	7,5**(r)	21	9	4,03*(r)
żerowanie dorosłych – feeding of adults	25	5	12,03***(r)	23	7	7,5**(r)
kontrola – control	24	6	9,63**(a)	22	8	5,63*(a)

ni – nie istotne; ns – not significant

Wpływ żerowania larw i chrząszczy skrzypionki zbożowej (*Oulema melanopus* L., Coleoptera: Chrysomelidae) na wydzielanie lotnych związków organicznych przez pszenicę (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.) oraz reakcja imagines na te komponenty

Streszczenie

Pszenica (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.) w reakcji obronnej na atak skrzypionki zbożowej (*Oulema melanopus* L., Coleoptera: Chrysomelidae) syntetyzuje i uwalnia z liści zwiększone ilości lotnych związków różniących się ilościowo i jakościowo od roślin nieuszkodzonych. Identyfikację tych związków (aldehidów, alkoholi, monoterpenu i seskwiterpenów) prowadzono za pomocą chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (ang. GC-MS) z potwierdzeniem przez wzorce. Rośliny pszenicy uszkodzone przez *O. melanopus*, uwalniają większe ilości następujących wtórnych metabolitów: (Z)-3-heksenal, (E)-2-heksenal, (Z)-3-heksen-1-ol, (E)-2-heksen-1-ol, 4-heptanon, β -pinen, β -myrcen, octan (Z)-3-heksen-1-ylu, octan 1-hexylu, (Z)-ocimen, linalol, tlenek linalolu, octan benzylu, salicylan metylu, β -kariofilen, 6,10-dimetylo-5,9--undekadien-2-on, (E)- β -farnezen i pentadekan. Ich zwiększona emisja, jako rezultat żerowania, może być wyjaśniona za pomocą mechanizmu obronnego przeciwko owadom. Ponadto, niektóre spośród lotnych wtórnych metabolitów są uwalniane natychmiast po uszkodzeniu, natomiast inne składniki są produkowane i emitowane później.

Zdrowe rośliny uwalniają odpowiednio mniejsze ilości lotnych związków. Do badań ukierunkowania poruszania się owadów w stronę uwalnianych związków wykorzystano aparaturę zapisującą ślad wędrówki. Zarówno samice, jak i samce były przywabiane przez lotne związki wydzielane przez nieuszkodzone żerowaniem rośliny. Ponadto, zdolność imagines *O. melanopus* do lokalizowania pszenicy została dodatkowo potwierdzona poprzez syntetyczne komponenty ((Z)-3-heksenal, octan (Z)-3-heksen-1-ylu) GLV. Wyniki badań sugerują, że roślinne lotne związki odgrywają ważną rolę w komunikacji między roślinami i roślinożercami. Duże ilości lotnych związków wydzielane w konsekwencji indukcji spowodowanej żerowaniem owadów, okazały się silnymi repelentami dla dorosłych *O. melanopus* (linalol, (Z)-ocimen, (E)- β -farnezen).

Komponenty te mogą być wykorzystane dla rozwoju pułapek monitoringowych. Ochrona roślin przed szkodnikami z wykorzystaniem środowiskowo-przyjaznych metod jest zasadniczym celem w Europie. Unia Europejska jest zainteresowana ograniczeniem używania pestycydów, w szczególności tych, które okazały się nieskuteczne lub szkodliwe dla środowiska. Integrowana Ochrona Roślin promuje użycie lotnych związków w celu odstraszania owadów z rolniczych pól produkcyjnych.

Feeding effect of *Oulema melanopus* L. (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae and beetles on volatile organic compounds' releasing by wheat (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.) and the reaction of imagines on these components

Summary

Wheat plants (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.) can respond to *Oulema melanopus* L. (Coleoptera: Chrysomelidae) herbivory by synthesizing and releasing from their leaves increased amounts of volatile compounds, that differ both quantitatively and qualitatively from undamaged plants. Identification of semiochemicals (aldehydes, alcohols, monoterpenes, and sesquiterpenes) was determined by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) confirmed by co-injections with synthetic components. In this study, *O. melanopus*-injury increased the release of the secondary metabolites; (Z)-3-hexenal, (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexen-1-ol, (E)-2-hexen-1-ol, 4-heptanone, β -pinene, β -myrcene, (Z)-3-hexen-1-yl acetate, 1-hexyl acetate, (Z)-ocimene, linalool, linaloloxide, benzyl acetate, methyl salicylate, indole, β -caryophyllene, 5,9-undecadien-2-one, 6,10-dimethyl, (E)- β -farnesene and pentadecane by wheat plants. The increased emission of these compounds, as a result of injury, may be explained as a defense mechanism against insects. Moreover, some of the volatiles are released immediately after damage, but the other components are produced and emitted significantly later.

Healthy plants released relatively small amounts of volatiles. A locomotion compensator apparatus was used to record walking tracks in response to odor sources. Both, females and males were attracted to semiochemicals released by not-damaged host plant. They moved upwind toward odors. Furthermore, the ability of *O. melanopus* adults to locate a host plant appears to be proved by two synthetic ((Z)-3-hexenal, (Z)-3-hexen-1-yl acetate) green leaf volatiles (GLV). The results suggest that plant volatiles play an important role in the communication between plants and herbivores. Large herbivory-induced amounts of volatiles appeared to be strong repellents for adults of *O. melanopus* (linalool, (Z)-ocimene, (E)- β -farnesene).

These compounds represent a promising basis for the development of monitoring traps. Protecting crops against insect pest using environmental-friendly practices is a growing concern in Europe. This concern led the European Union to re-evaluate and limit the use of pesticides on all crops that were found to be inefficient or too harmful for the environment. Integrated Pest Management (IPM) practices consider the agricultural system as a whole, and, in the case of insects, promote the use of “semiochemicals” to drive insects out of the agricultural system.