

COMPUESTOS VOLÁTILES DE PLANTAS. ORIGEN, EMISIÓN, EFECTOS, ANÁLISIS Y APLICACIONES AL AGRO

VOLATILE COMPOUNDS FROM PLANTS. ORIGIN, EMISSION, EFFECTS, ANALYSIS AND AGRO APPLICATIONS

J. Camilo Marín-Loaiza¹ y Carlos L. Céspedes^{*1,2}

¹Laboratorio de Fitoquímica, Unidad de Biotecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de Los Barrios 1. 54090, Tlalneptla. Estado de México, México. Tel. (56) 4225-3256, Fax: (56) 4220-3046. ²Dirección Actual: Facultad de Ciencias, Departamento Ciencias Básicas, Universidad del Bio-Bio. Av. Andres Bello s/n, Casilla 447. Chillán, Chile.

* Autor para correspondencia (cespedes_leonardo@yahoo.com)

RESUMEN

Las plantas producen y emiten numerosos compuestos volátiles orgánicos. Siempre se ha reconocido el olor que producen, por su importancia comercial y estética, que liberan no sólo de flores y frutos sino también de tejidos vegetativos. Desde hace más de dos décadas se ha establecido la influencia que ejercen los aromas sobre numerosas interacciones, en relación con funciones fisiológicas, ecológicas y más recientemente, atmosféricas. Generalmente estas mezclas están conformadas por terpenos, derivados de ácidos grasos y compuestos aromáticos. La importancia de los volátiles de plantas radica en que pueden actuar como señales para otros organismos, y aún para la misma planta; además, pueden ser exportados y modificar el entorno de las especies que los producen, sus vecinos y sus enemigos. Los volátiles químicos sirven a las plantas para: reproducción, al atraer polinizadores o dispersores de semillas; como defensa para repeler insectos o detener la colonización de bacterias y hongos fitopatógenos; para atraer enemigos naturales de herbívoros; y como mensajeros intra- e interespecíficos. Los progresos en las técnicas de análisis, la biología molecular y la bioquímica, han permitido elucidar vías biosintéticas, enzimas y genes involucrados en la producción y emisión de éstos, lo que ha ayudado a conocer parcialmente la razón del porqué se producen este tipo de sustancias, el papel que desempeñan en la interacción con otros organismos y con el medio. En esta revisión se ofrece una visión general de las propiedades de los volátiles producidos por las plantas y de las funciones que desempeñan en distintos niveles tróficos.

Palabras clave: Biosíntesis, interacciones planta-herbívoro, interacciones planta-planta, volátiles inducibles.

SUMMARY

Plants produce and emit large amounts of volatile organic compounds. The smell produced by plants has always been recognized for its commercial and aesthetic value and it is emitted not only from flowers and fruits, but also from vegetative tissues. Since approximately two decades, the influence of these scents in a vast array of interactions has been established carrying out physiological, ecological and more recently atmospheric functions. Generally these mixtures

consist of terpenes, fatty acid derivatives and aromatic compounds. One of the major volatile's role is their involvement as signals to other organisms, and even for the same plant. Furthermore, they can be exported to modify the environment of the releaser species and influence the behavior of neighbors and enemies. Chemical volatiles have so many functions: in plant reproduction, attracting pollinators or seed dispersers; in chemical defense, repelling insects, avoiding bacterial or fungi phytopathogen colonization, attracting natural enemies of herbivores; or using them like intra and inter specific messengers. The progress on analytical techniques, molecular biology and biochemistry, have allowed the elucidation of biosynthetic pathways, enzymes and genes involved in plant volatiles production and emission, helping to understand, partially, the reason why this kind of compounds perform an active role in organisms and environmental relationships. This review offers a general vision about properties of plant volatiles, including the function that these compounds accomplish in several relationships at different trophic levels.

Index words: Biosynthesis, plant-herbivore interactions, plant-plant interactions, induced plant volatiles.

INTRODUCCIÓN

Una de las áreas nuevas del conocimiento que más desarrollo ha presentado en los últimos tiempos es la ecología química, la cual se encarga de estudiar las interacciones bióticas mediadas por sustancias químicas. Dichas interacciones son variables entre especies, así como los efectos ocasionados, y muchas de ellas están asociadas con metabolitos constitutivos o inducidos como respuesta a un estímulo. Esos metabolitos, principalmente los secundarios, producen cambios morfológicos y conductuales en los organismos involucrados, ya sean plantas, animales o microorganismos.

Aún no se ha elucidado completamente la razón por la que se producen los metabolitos secundarios (MS), ni los

beneficios que producen a los organismos que los sintetizan. Sin embargo, a través de la ecología química se puede dar una explicación racional, en parte satisfactoria, a la enorme diversidad química de metabolitos secundarios, especialmente en plantas (Harborne, 1988; Jolivet, 1998; Rosenthal y Berenbaum, 1991; Rosenthal y Berenbaum, 1992; Mori, 1999). El crecimiento de esta rama científica se debe principalmente a la importancia que se le ha brindado a las sustancias químicas involucradas en interacciones tróficas con enfoque ecológico y al avance de las técnicas químicas para purificar y caracterizar estos productos naturales.

Entre las sustancias químicas que median las relaciones bióticas, los MS desempeñan un papel significativo, por no decir esencial, y son objeto de exhaustivos estudios por su gran número de aplicaciones en las industrias farmacológica, agrícola, etc. En las dos últimas décadas ha surgido interés por los MS volátiles debido a sus propiedades como atrayentes de polinizadores, y como señales para ubicar fuentes de comida, anidación, cría, recompensa, feromonas, etc. (Knudsen *et al.*, 1993). Estos volátiles están altamente involucrados en las relaciones planta-herbívoro y planta-planta.

En este trabajo se sintetiza lo que se conoce hasta el momento de los volátiles, acerca de cómo son producidos y liberados, sus implicaciones ecológicas, las interacciones en las que se ven comprometidos, y las propuestas para emplearlos en el control racional de plagas y en el mejoramiento de cultivos. Se omiten algunas sustancias volátiles de las cuales ya se han hecho amplias revisiones, como jasmonato de metilo, salicilato de metilo y etileno (Raskin, 1992; Kende, 1993; Creelman y Mullet, 1997; Kieber, 1997; D'Maris *et al.*, 1999; Bleeker y Kende, 2000; Walling, 2000; De Bruxelles y Roberts, 2001; Gatehouse, 2002), y sólo se hará referencia de éstas cuando sea pertinente.

¿PORQUÉ LAS PLANTAS PRODUCEN COMPUESTOS VOLÁTILES?

Se ha demostrado la utilidad de los compuestos volátiles (CV) en la defensa, protección y comunicación de las plantas. Pero, ¿Será ésta la razón por la cual se producen? La función de los CV en las plantas no es generalizada ni universal. Si bien son emitidos por la mayoría de éstas, algunas especies no tienen dicha capacidad y sin embargo son exitosas en reproducirse y defenderse. Por ello se cree que no hay una razón específica para que cada mezcla de CV sea emitida, sino más bien se piensa que son liberados debido únicamente a sus propiedades volátiles *per se* y por ser productos que están en exceso después de haber cumplido con los niveles requeridos para producir otros. La

utilidad de estas sustancias surge entonces a través de la selección natural, ya que las emisiones de volátiles han sido adaptadas de diferentes maneras para obtener un beneficio de ellas (Owen y Peñuelas, 2005).

Peñuelas y Llusà (2004) proponen una hipótesis que conjunta los hallazgos hechos por ellos mismos y por Rosenstiel *et al.* (2004) y Niinemets *et al.* (2004), en la que sugieren que los organismos producen estos compuestos sin una finalidad dada, pero la evolución los utiliza para convertirlos en útiles o no sin un papel adaptativo en particular.

RUTAS BIOSINTÉTICAS, DIVERSIDAD QUÍMICA Y ENZIMAS IMPLICADAS

Los CV emitidos por plantas generalmente son mezclas complejas de muchos compuestos orgánicos que representan pequeñas cantidades respecto al peso total de la planta. Conocidos también como aceites esenciales, aceites volátiles o esencias, por lo general son sustancias altamente lipofílicas de bajo peso molecular, cuya volatilidad se debe a que se evaporan al ser expuestos al aire o a temperatura ambiente, por lo que sus presiones de vapor son altas (Vaughn, 2001; Pichersky, 2004; Dudareva y Negre, 2005).

Estos metabolitos son producidos por muchas especies vegetales, además de musgos (Saritas *et al.*, 2001), hongos (Rosecke *et al.*, 2000) y bacterias (Fernando *et al.*, 2005). Debido a que las plantas han sido y siguen siendo las más estudiadas, se dará un enfoque especial a éstas. Los volátiles de plantas son producidos principalmente en las flores, pero también se encuentran en los frutos, tallos, hojas y raíz (Chen *et al.*, 2004; Steeghs *et al.*, 2004). Las esencias florales varían ampliamente entre especies, número, identidad y cantidades relativas de sus constituyentes (Dudareva y Pichersky, 2000).

Su producción ocurre en las mismas rutas biosintéticas de metabolitos secundarios no volátiles, lo que explica su diversidad. Los terpenos son los CV más relevantes, seguidos de los derivados de ácidos grasos (hidrocarburos saturados e insaturados), bencenoides y fenilpropanoides, aunque también se han reportado sustancias azufradas y nitrogenadas (Knudsen, 1993; Dudareva *et al.*, 2004).

Los volátiles de origen vegetal son producidos principalmente por tres rutas biosintéticas (Figura 1). La primera, conocida como la vía de los ácidos grasos/lipooxigenasa (Paré y Tumlinson, 1996) o vía de los volátiles de hojas verdes (VHV; en inglés GLV, green leaf volatiles) dan el olor característico a éstas. Son sintetizados a partir del ácido linoleico (ácido (Z,Z)-9,12-

octadecadienóico) (AL) o ácido α -linolénico (ácido (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienóico) (ALN) y sus respectivos hidroperóxidos (p. e., ácido 13-(S)-hidroperoxi (9Z,11E,15Z) linolénico) que son fragmentados para formar dos compuestos: uno de 12 carbonos (ácido 12-oxo-Z-9-dodecenóico) y otro de seis ((Z)-3-hexenal), que mediante reordenamientos, reducciones o esterificaciones producen una variedad de VHV (Paré y Tumlinson, 1999) que incluye alcoholes como el (Z)-3-hexenol, aldehídos como el (Z)-3-hexenal y ésteres como el acetato de (Z)-3-hexenilo, todos ellos con seis átomos de carbono (C6) (Dudareva y Pichersky, 2000). Por esta vía también se forman los jasmonatos (Creelman y Mullet, 1997; Beale y Ward, 1998). En general, los VHV son liberados cuando las hojas son dañadas mecánicamente y cada compuesto volátil de seis carbonos (C6) tiene un olor característico.

Las enzimas lipoxigenasa (LOX) e hidroperóxido liasa (HL) son claves en la formación de los VHV. Este sistema enzimático (LOX y HL) se ha encontrado en té (*Thea sinensis*), unido a la membrana lamelar de los tilacoides en los cloroplastos. La actividad de estas enzimas cambia durante la estación de crecimiento y parece estar relacionada con la temperatura y la radiación solar (Hatanaka *et al.*, 1987; Hatanaka, 1993).

La segunda ruta biosintética para la síntesis de volátiles es la que da origen a los terpenos y se lleva a cabo a través de dos vías, la del mevalonato y la del no mevalonato (Rohmer o de la deoxi-xilulosa-4-fosfato (DOXP)). La mayoría de terpenos conocidos se deriva de estas vías, y son los homoterpenos (p. e., iononas, 6-metil-5-hepten-2-ona, geranil acetona), monoterpenos (p. e., linalool, limoneno, mirceno, trans- β -ocimeno), sesquiterpenos (α -farneseno, nerolidol, cariofileno) y diterpenos (cembreno, fitol) (Knudsen *et al.*, 1993), que son las más comunes, aunque los diterpenos debido a su baja volatilidad se encuentran en mucha menor proporción (Loughrin *et al.*, 1990). Ambas vías tienen como compuesto intermediario al isopentenil pirofosfato (IPP), y según el sitio de síntesis dan origen a monoterpenos o a sesquiterpenos. Así, si el IPP proviene del ácido mevalónico, su síntesis ocurre principalmente en el citosol, para que luego dos moléculas de IPP se condensan con una de dimetil-alil-pirofosfato (DMAPP) y formen el farnesil pirofosfato (FPP), el cual es precursor de todos los sesquiterpenos. Caso diferente ocurre con los monoterpenos, en el cual el IPP es sintetizado a través de la DOXP en los compartimentos plasmídicos, donde se transforma en su isómero DMAPP, y por la condensación de una molécula de IPP con una de DMAPP se genera el geranil pirofosfato (GPP), precursor universal de los monoterpenos (Croteau, 1987; McGarvey y Croteau 1995; McCaskill y Croteau, 1998).

Algunas enzimas importantes en la producción de los CV tipo terpeno son: hidroximetil-glutaril coenzima A reductasa (HMGCAR), que es clave en la biosíntesis de mevalonato, y las terpeno sintetasas (TS), familia de enzimas que cataliza la conversión de los intermediarios de la vía de los terpenos [dimetil alil difosfato (C5), geranil difosfato (GPP C10), farnesil difosfato (FPP C15), geranil-geranil difosfato (C20)] en hemi, mono, sesqui, y diterpenos, respectivamente. Casi todos los productos de hemi, mono y sesqui sintetasas son volátiles a temperatura ambiente y presión atmosférica, y se encuentran como componentes clásicos de flores. Muchos ADNc correspondientes a genes de monoterpeno sintetasas (MTS) han sido clonados y caracterizados (Bolhman *et al.*, 2000; Cheng, 2003b; Pichersky, 2004; Shimada *et al.*, 2005). En el Cuadro 1 se muestran algunas enzimas involucradas en la producción de VHV y terpenoides, aisladas de varias especies.

Se conoce poco acerca del sitio de síntesis, pero se propone que se lleva a cabo en el citosol o en los peroxisomas. Los resultados concernientes a las vías metabólicas para bencenoides son contradictorios y sugieren que hay diferentes rutas en plantas, y aún en la misma planta en función de sus condiciones fisiológicas. El primer paso en la biosíntesis de bencenoides es el que lleva a cabo la fenilalanina-amonio liasa (L-PAL), al desaminar la fenilalanina para generar el ácido cinámico (AC). Luego sigue la eliminación de dos carbonos de la cadena, usando al AC como precursor. Para esto se han propuesto dos rutas; la vía β -oxidación dependiente de CoA, análoga a la β -oxidación de ácidos grasos, y la vía alternativa independiente de CoA, no β -oxidativa. El acortamiento de la cadena lateral puede ocurrir a través de una combinación de estas dos vías, aunque no se ha resuelto ni el mecanismo ni las interconexiones entre los diferentes bencenoides. Boatright *et al.* (2004) investigaron las vías metabólicas que producen los compuestos bencenoides en petunia (*Petunia hybrida*) cv. 'Mitchell' (Solanaceae) y encontraron dos vías (la dependiente de CoA, β -oxidativa y la independiente de CoA, no β -oxidativa) que contribuyen a su formación (Boatright *et al.*, 2004). Recientemente se mostró un avance en el conocimiento de la vía biosintética del ácido salicílico (AS), precursor de un volátil como el salicilato de metilo, el cual se puede producir a partir de la fenilalanina vía AC y ácido benzoico; los estudios genéticos con *A. thaliana* revelaron que el AS se sintetiza en los cloroplastos a partir del ácido isocorísmico (Mettraux, 2002).

Cuadro 1. Algunas enzimas de plantas comprometidas en la biosíntesis de volátiles de hojas verdes (VHV) y terpenos que han sido caracterizadas.

Enzima	Sustrato/producto	Aislada de	Referencia
9-Lipoxigenasa	Ácido linoleico, ácido linolénico/	a) <i>Corylus avellana</i>	a) Santino <i>et al.</i> , 2003.
	Ácido 9 (<i>S</i>)-hidroperóxi-(10 <i>E</i> ,12 <i>Z</i>) octadecadienoico. (9-HPOD)	b) <i>Prunus dulcis</i>	b) Mita <i>et al.</i> , 2001.
13-Lipoxigenasa	Ácido linoleico, ácido linolénico/	<i>Solanum tuberosum</i>	Santino <i>et al.</i> , 2005. León <i>et al.</i> , 2002.
	Ácido 13-(<i>S</i>) hidroperoxi-(9 <i>Z</i> ,11 <i>E</i> , 15 <i>Z</i>) octadecatrienoico (13-HPOT)		
9-Hidroperóxido liasa	(9-HPOD) / Ácido 9-oxo-nonánico, 3- <i>Z</i> -nonenal	<i>Cucumis melo</i>	Tijet <i>et al.</i> , 2001.
9-Hidroperóxido liasa	(9-HPOD) / (2 <i>E</i>)-nonenal	<i>Prunus dulcis</i>	Mita <i>et al.</i> , 2005.
13-Hidroperóxido liasa	Ácido 13-(<i>S</i>) hidroperóxi-(9 <i>Z</i> ,11 <i>E</i>) octadecadienoico (13-HPOD), (13-HPOT) / <i>trans</i> -2- hexenal	<i>Capsicum annuum</i>	Husson <i>et al.</i> , 2002.
	(13-HPOD) / hexanal, ácido 12-oxo-(9 <i>Z</i>)-dodecenoico		
13-Hidroperóxido liasa	(13-HPOT) / 3-(<i>Z</i>)-hexenal, ácido 12-oxo-(9 <i>Z</i>)-dodecenoico	<i>Medicago sativa</i>	Noordermeer <i>et al.</i> , 2000.
Mirceno/(<i>E</i>)-β-ocimeno sintetasa	Geranil Pirofosfato (GPP) / β-mirceno, (<i>E</i>)-β-ocimeno	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Bohlmann <i>et al.</i> , 2000.
Linalool sintetasa	Geranil Pirofosfato (GPP) / (-)-3 <i>R</i> -linalool	a) <i>Mentha citrata</i> Ehrh	a) Crowell <i>et al.</i> , 2002. Dudareva <i>et al.</i> , 1996.
	Geranil Pirofosfato (GPP) / (-)-3 <i>S</i> -linalool	b) <i>Clarkia breweri</i>	b) Pichersky <i>et al.</i> , 1995.
(<i>E</i>)-β-Farneseno sintetasa	Farnesil Pirofosfato (FPP) / (<i>E</i>)-β-farneseno	a) <i>Mentha x piperita</i>	a) Crock <i>et al.</i> , 1997.
		b) <i>Citrus junos</i>	b) Maruyama <i>et al.</i> , 2001.
(3 <i>S</i>)- <i>E</i> -Nerolidol sintetasa	Farnesil Pirofosfato (FPP) / (3 <i>S</i>)-(<i>E</i>)-nerolidol	a) <i>Cucumis sativus</i> , <i>Phaseolus lunatus</i>	a) Bouwmeester <i>et al.</i> , 1999.
		b) <i>Zea mays</i>	b) Degenhardt <i>et al.</i> , 2000.

Poco se conoce acerca del metabolismo y la fisiología de volátiles, debido quizás a que las enzimas que los producen se encuentran en cantidad escasa (Schuurink *et al.*, 2006). En la producción y regulación de esencias, algunos estudios con plantas modelo, como *Clarkia breweri* y *Antirrhinum majus*, permitieron aislar y caracterizar los genes que codifican la producción de las enzimas involucradas directamente en la formación de volátiles (Dudareva y Pichersky, 2000). De las flores de *C. breweri* se aisló la enzima (*S*)-linalool-sintetasa (Pichersky *et al.*, 1994; Pichersky *et al.*, 1995; Dudareva *et al.*, 1996; Pichersky y Gershenzon, 2002; Pichersky, 2004), la cual es clave para la formación del *S*-linalool a partir de GPP en tejidos florales. También se aisló el gen específico (*Lis*) que codifica dicha enzima. En otra especie relacionada (*C. concinna*) se mostró que el gen *Lis* se expresa en muy bajos niveles en los pétalos, por lo que se produce poca enzima y se sintetiza muy poco linalool que se emite sólo en trazas (Pichersky, 2004).

De *C. breweri* se aislaron y caracterizaron los genes de las enzimas: S-adenosil-L-metil (iso) eugenol-*O*-metil-transferasa (IEMT) que cataliza el paso final en la formación de metil-eugenol o metil-isoeugenol, al utilizar como sustrato a eugenol o isoeugenol, respectivamente (Wang *et al.*, 1997; Wang y Pichersky, 1998); la acetil-CoA bencil alcohol acetil transferasa (BEAT), purificada de pétalos y responsable de la producción de acetato de benzilo a partir de alcohol bencilico (Dudareva *et al.*, 1998a; Dudareva *et al.*, 1998b), y la S-adenosil-L-metionina: ácido salicílico carboxi-metiltransferasa (SAMT), de la cual se conoce su estructura cristalina (Zubieta *et al.*, 2003) y que produce salicilato de metilo mediante la esterificación metilica del ácido salicílico (Dudareva *et al.*, 1998b; Ross *et al.*, 1999). De flores de *A. majus* se aisló la S-adenosil-L-metionina: ácido benzoico carboxil metiltransferasa (BAMT), la última enzima en la biosíntesis del benzoato de metilo que cataliza la transferencia del grupo metilo de la SAM al grupo carboxilo del ácido benzoico (Dudareva *et al.*, 2000; Dudareva y Pichersky, 2000; Murfitt *et al.*,

2000; Kolosova *et al.*, 2001; Pichersky y Gershenzon, 2002; Effmert *et al.*, 2005) (Cuadro 2).

TÉCNICAS DE ANÁLISIS

Varias metodologías para el aislamiento y separación de volátiles presentan la ventaja de producir grandes cantidades de material, pero dificultan la determinación de los volátiles que componen las mezclas. Por ejemplo, el material capturado sólo es una fracción porque la otra escapa, de manera que se permitan determinar los volátiles presentes en el tejido pero no necesariamente los emitidos; se extraen mezclas complejas de compuestos volátiles y no volátiles, por lo que se requiere de numerosos pasos para obtener compuestos puros, lo que eleva los costos y los tiempos de preparación (Knudsen, 1993; Millar y Haynes, 1998; Agelopoulos *et al.*, 1999; Vainstein *et al.*, 2001; Vaughn, 2001).

Las dificultades anteriores se han solucionado con la técnica de cromatografía de gases (CG) “*headspace*” (Dewulf *et al.*, 2002), porque permite determinar los tiempos en los que salen éstos de la columna (tiempo de retención) y se pueden acoplar a un espectrómetro de masas (CG-EM). Sus desventajas son que requieren cantidades considerables de material, y tiempos muy largos de muestreo

(Agelopoulos y Pickett, 1998; Ruther y Hilker, 1998; Dugdale y Pichersky, 2000). La comparación del espectro de masas de cada componente de la mezcla con los que se tienen en bases de datos, permite su identificación (Adams, 1995; Ruther, 2000). Una modificación de la CG permite el calentamiento de pequeñas muestras de tejido en el inyector y la desorción térmica de los volátiles atrapados. Cuando la recolección de volátiles y la unidad de desorción térmica son combinadas en un solo instrumento acoplado a CG o CG-EM, el método se conoce como análisis de purga y trampa. Como desventaja de la técnica de desorción se encuentra la posibilidad de que se degraden los compuestos termolábiles y produzcan datos falsos (artefactos) (Millar y Haynes, 1998).

Otra técnica es la micro-extracción en fase sólida (Solid Phase Microextraction, SPME) (Matich *et al.*, 1996), que permite la captura de volátiles de diferentes muestras (agua, aire, suelo) y su identificación sin emplear solventes (Agelopoulos y Pickett, 1998; Millar y Haynes, 1998; Barták *et al.*, 2003; Flamini *et al.*, 2003). Recientemente se ha inventado un equipo que puede ser llevado a condiciones naturales y permite repetir los análisis en intervalos cortos, además de recoger y separar los volátiles, que es conocido como zNoseTM (Kunert *et al.*, 2002).

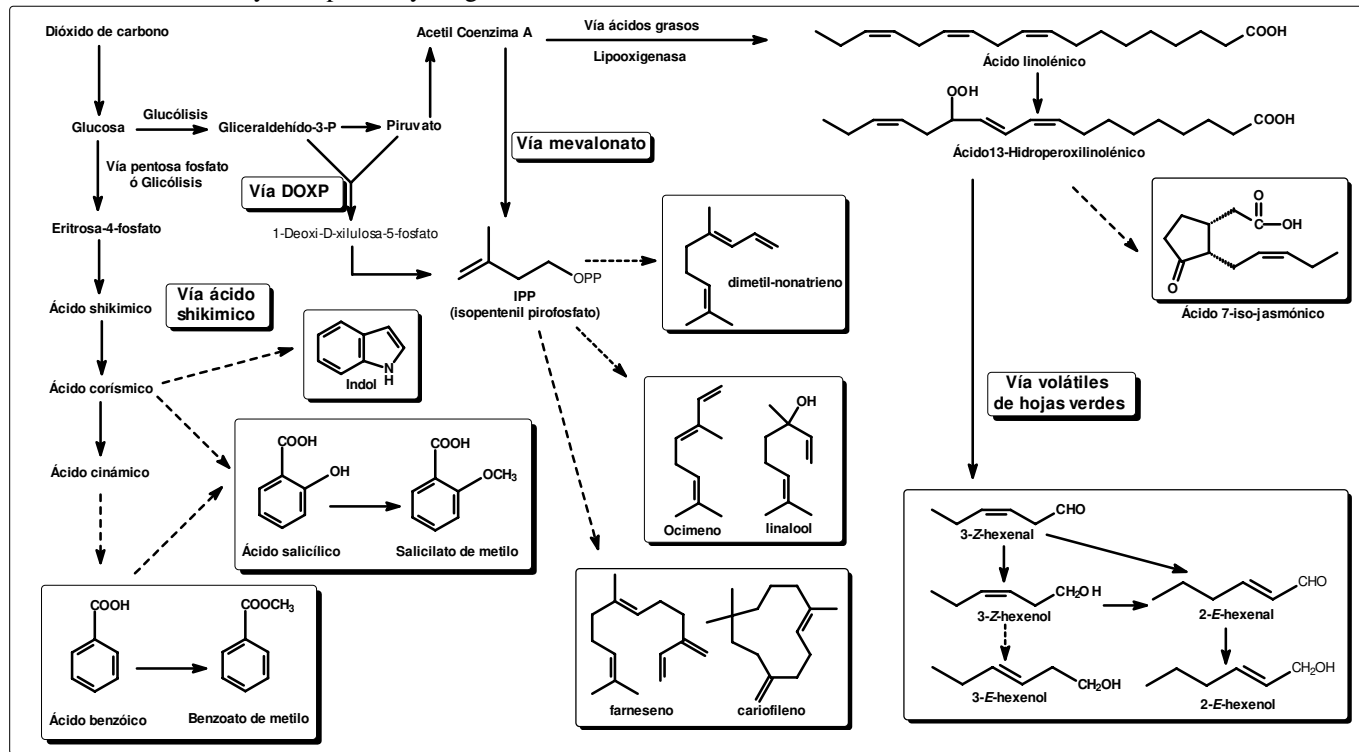


Figura 1. Rutas biosintéticas para la síntesis de compuestos volátiles en plantas. (-----➡ : varios pasos).

Cuadro 2. Algunas enzimas de plantas que han sido caracterizadas y que se encuentran comprometidas en la biosíntesis de bencenoides.

Enzima	Sustrato/producto	Aislada de	Referencia
Acetil-CoA:bencil alcohol acetiltransferasa (BEAT)	Alcohol bencílico / acetato de bencilo	<i>Clarkia breweri</i> a) <i>Clarkia breweri</i> b) <i>Stephanotis floribunda</i>	Dudareva <i>et al.</i> , 1998a. Dudareva <i>et al.</i> , 1998b. a) Dudareva <i>et al.</i> , 1998b. Ross <i>et al.</i> , 1999. b) Pott <i>et al.</i> , 2003. Pott <i>et al.</i> , 2004.
S-adenosil-L-metionina: ácido salicílico carboxi metiltransferasa (SAMT)	Ácido salicílico / salicilato de metilo	c) <i>Antirrhinum majus</i> d) <i>Atropa belladonna</i>	c) Negre <i>et al.</i> , 2002. d) Fukami <i>et al.</i> , 2002.
S-adenosil-L-metionina: ácido benzoico carboxi metiltransferasa (BAMT)	Ácido benzoico / benzoato de metilo	a) <i>Antirrhinum majus</i> b) <i>Petunia hybrida</i>	a) Dudareva <i>et al.</i> , 2000. Dudareva y Pichersky, 2000. Murfitt <i>et al.</i> , 2000. b) Negre <i>et al.</i> , 2003.
Benzoil-CoA: bencil alcohol benzoil transferasa (BEBT)	Alcohol bencílico + benzoil CoA / benzoato de bencilo	<i>Clarkia breweri</i>	D'Auria <i>et al.</i> , 2002.
Orcinol O-metil transferasa (OMT)	Orcinol / dimetoxitolueno	<i>Rosa hybrida</i>	Lavid <i>et al.</i> , 2002.
S-adenosil-L-metionina: (iso)eugenol O-metiltransferasa (IEMT)	Eugenol, isoeugenol / metileugenol, isometileugenol	<i>Clarkia breweri</i>	Wang <i>et al.</i> , 1997. Wang y Pichersky, 1998.
S-Adenosil metionina: ácido benzoico / ácido salicílico carboxi metiltransferasas (BSMT)	Ácido salicílico/ salicilato de metilo Acido benzoico / benzoato de metilo	a) <i>Nicotiana suaveolens</i> b) <i>Arabidopsis thaliana</i> y <i>A. lyrata</i>	a) Pott <i>et al.</i> , 2004. b) Cheng <i>et al.</i> , 2003a.
Indol-3-glicerol fosfato liasa (IGL)	Indol-glicerol-3-fosfato / indol	<i>Zea mays</i>	Frey <i>et al.</i> , 2000.

Para el análisis de volátiles emitidos por muestras en las cuales la determinación es complicada (p. e., la rizosfera, hongos endófitos), se ha desarrollado una técnica denominada reacción de transferencia de un protón por espectrometría de masas (proton transfer reaction mass spectrometry, PTR-MS) cuyo principio es ionizar las moléculas orgánicas en fase gaseosa al hacerlas reaccionar con H_3O^+ para formar moléculas MH^+ (donde M es la molécula orgánica neutra), para luego ser detectadas por un analizador de masas (Ezra *et al.*, 2004; Steeghs *et al.*, 2004).

Aunque es importante conocer la composición química de las mezclas de volátiles emitidos por plantas, también es necesario conocer la respuesta que ocasiona un estímulo químico en otras especies, como los insectos. Para determinar esto se emplean principalmente dos técnicas; la primera conocida como CG-EM-DEA (en inglés GC-MS-EAD; detección electroantenográfica acoplada a cromatografía de gases-masas) (Weißbecker *et al.*, 1997; Abassi *et al.*, 2000; Raguso, 2001), que consiste en registrar los cambios de voltaje que se presentan entre la punta y la base de la antena del insecto durante la estimulación producida por una mezcla de volátiles. La mezcla de volátiles se inyecta luego en la columna de CG para separarla en sus

componentes; la mitad del eluyente en la columna se dirige al detector CG, y la otra mitad pasa simultáneamente sobre la antena, lo que permite que ambos sean monitoreados por CG-EM (Arn *et al.*, 1975; Bruce *et al.*, 2005).

La segunda técnica SCR-GC (Single Cell Recording-Gas Chromatography) utiliza una sola celda sensorial unida a un cromatógrafo de gases (SCR-GC), y toma los registros electrofisiológicos de las respuestas olfativas a los volátiles de plantas, por lo que aporta mucha más información que la anterior (Wadhams, 1982; Wibe, 2004). El trabajar conjuntamente la identificación de los componentes de las mezclas de volátiles con los efectos que ocasionan en los insectos, permitirá profundizar en los mecanismos que median en estas interacciones.

REGULACIÓN DE LA EMISIÓN

Debido a la variabilidad en cantidades, tiempos y tejidos de emisión de volátiles, es de suponer que las plantas poseen mecanismos de control que regulan cuándo, dónde y cuáles sustancias producir (Peñuelas y Llusià, 2001; Vaughn, 2001; Peñuelas y Llusià, 2003; Dudareva *et al.*, 2004; Dudareva y Negre, 2005).

Las emisiones resultan de la difusión de los volátiles a través de un gradiente de presión de vapor, desde los compartimentos celulares, donde hay relativamente altas concentraciones, al aire que rodea la hoja donde la concentración es relativamente baja (Peñuelas y Llusià, 2003). Las tasas de emisión de volátiles de plantas están influenciadas en mayor o menor grado por una gran cantidad de factores que pueden alterar ya sea la síntesis, la presión de vapor o su difusión a la atmósfera. Estos son clasificados en dos grupos principales: a) Genéticos y bioquímicos, y b) Externos, subdividido a su vez en bióticos y abióticos (Figura 2). Los del primer grupo determinan la producción y emisión de volátiles porque regulan los niveles de enzima responsable del paso final en la biosíntesis y la disponibilidad del sustrato en la célula, y hacen que las emisiones sean altamente específicas y regidas por el desarrollo de la planta; generalmente es en los estadios tempranos cuando hay más emisión: en las flores a punto de ser polinizadas, en las hojas jóvenes y en los frutos inmaduros (Dudareva *et al.*, 2004; Dudareva y Negre, 2005).

Entre los factores abióticos se encuentran: temperatura, luz, disponibilidad de agua, humedad y ozono; otros factores son: viento, granizo y la operación de cosecha, que inducen la producción de volátiles cerca del lugar del daño, y afectan las estructuras de almacenamiento y permiten la volatilización de los compuestos almacenados, lo que conlleva a una emisión más larga, perdurable y aumentada (Peñuelas y Llusià, 2001). Para determinar la influencia de los factores abióticos en la producción de volátiles inducidos, Gouinguéné y Turlings (2002) hicieron un experimento con maíz (*Zea mays* L.), donde descubrieron que la humedad del suelo, la temperatura, la luz y la tasa de fertilización causaban cambios significativos en las proporciones de los compuestos presentes en las mezclas emitidas.

Los factores externos bióticos son ocasionados por la interacción con animales, plantas y microorganismos, ya que los compuestos producidos son empleados para la defensa, disuasión o atracción de polinizadores. Los volátiles de flores, hojas no dañadas y hojas atacadas por herbívoros, a menudo exhiben patrones de emisión distintos entre sí (De Moraes *et al.*, 2001; Arimura *et al.*, 2004; Dudareva y Negre, 2005).

La compleja red de factores, sus interacciones y las diferentes respuestas inducidas con los volátiles, conducen a una amplia variabilidad cualitativa y cuantitativa, espacial y temporal de las emisiones. Éstas a su vez tienen fuerte relevancia en la fisiología de las plantas y su ecología, la química atmosférica y el clima (Peñuelas y Llusià, 2001; Peñuelas y Llusià, 2003). Algunos genes involucrados en la formación de los volátiles se han aislado y caracteriza-

do, pero no es suficiente la información acerca del tráfico de compuestos entre compartimentos, la liberación de los mismos, su mecanismo y regulación (Dudareva *et al.*, 2004); pero esto puede ser el primer paso para elucidar cómo se regula la síntesis de volátiles (Dudareva y Negre, 2005).

PROPIEDADES

Los CV juegan un papel preponderante en el ciclo de vida de las plantas al transmitir y proporcionar información con el ambiente que las rodea; poseen propiedades tan diversas que generan redes interactivas muy complejas, con implicaciones ecológicas, fisiológicas y atmosféricas (Peñuelas y Llusià, 2001; Holopainen, 2004). A continuación se describen algunas propiedades que presentan, los efectos que ocasionan y las interacciones en que están involucrados. En la Figura 3 se encuentran ilustradas dichas propiedades.

Atrayentes de polinizadores

La relación mutualística entre plantas está mediada por factores bioquímicos, como la esencia, el color de las flores y el valor nutricional del polen y néctar. Los MS son protagonistas destacados en esta interacción al proporcionar las señales adecuadas. Los azúcares, aminoácidos y lípidos en el polen y el néctar sirven como recompensa nutricional (Harborne, 1988; Harborne, 2001).

Se supone que el principal motivo por el cual un insecto se aproxima a una flor es el olor, determinado por las mezclas de compuestos volátiles. Los insectos tienen los medios (antenas y partes bucales) para detectar pequeñas concentraciones de tales volátiles y presentar respuestas específicas a ellos. Por ello se piensa que estos compuestos fueron diseñados para atraer polinizadores, pero son pocas las pruebas científicas al respecto (Ômura *et al.*, 2000; Harborne, 2001; Raguso, 2001; Pichersky, 2004).

Un ejemplo del papel de los volátiles florales en la atracción de polinizadores son las orquídeas del género *Ophrys*, que sólo son polinizadas por abejas macho del género *Andrena* que son atraídos por el olor de la flor y transfieren el polen durante la pseudo-copulación. Aquí tales volátiles de flores simulan feromonas femeninas para inducir la pseudo-copulación de la flor por la abeja macho, además de que la orquídea tiene la misma forma y color que la abeja hembra. Es decir, hay correspondencia entre los constituyentes de la flor y las feromonas volátiles de la hembra. En *O. lutea*, el 1-octanol, el acetato de decilo y el linalool son constituyentes comunes de los volátiles florales y de las feromonas de estas abejas (Borg-Karlson y Tengo, 1986).

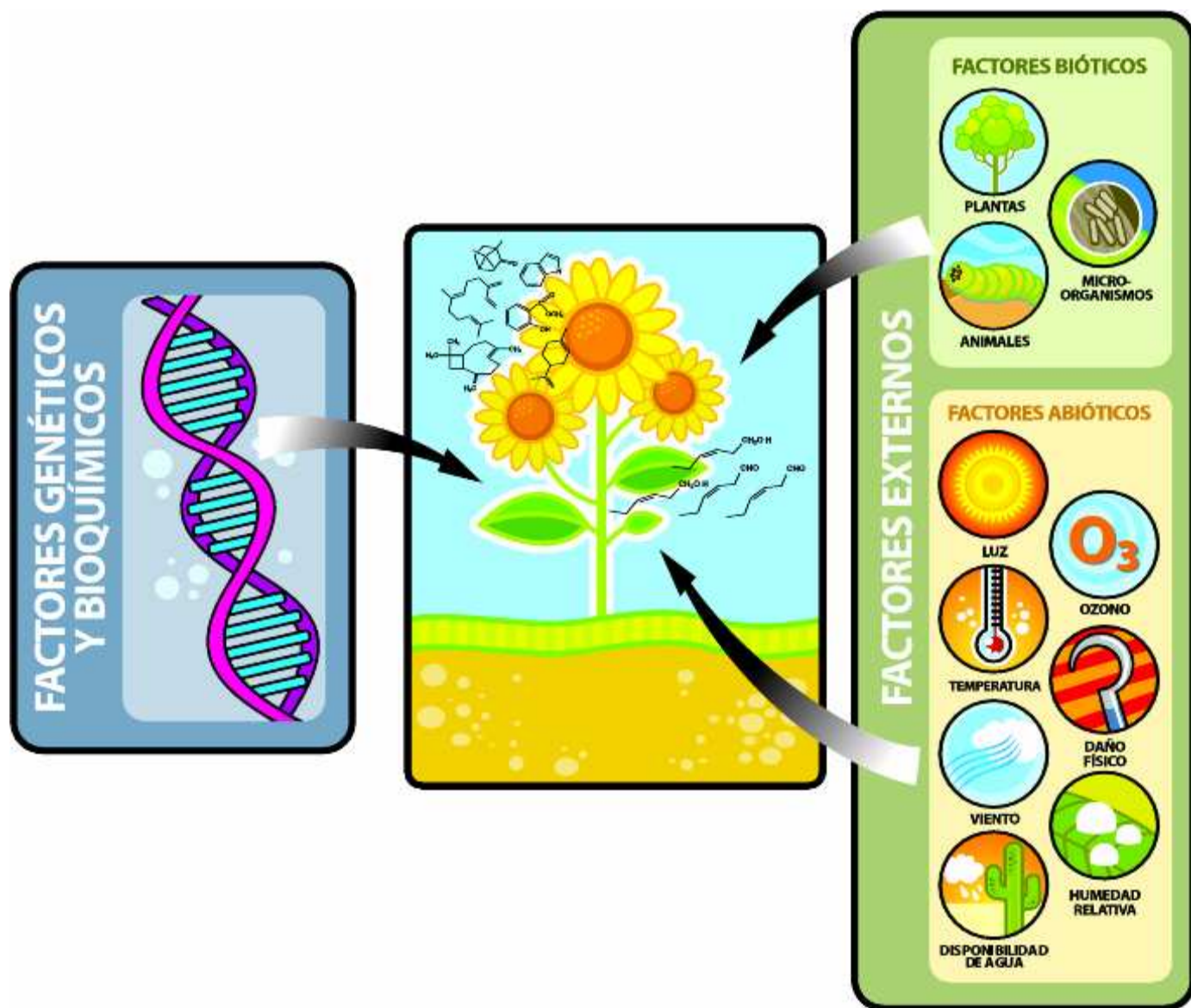


Figura 2. Factores que afectan las emisiones de volátiles. Los genéticos y bioquímicos a la izquierda y los externos (bióticos y abióticos) a la derecha.

PROPIEDADES RECONOCIDAS PARA LOS VOLÁTILES DE PLANTAS

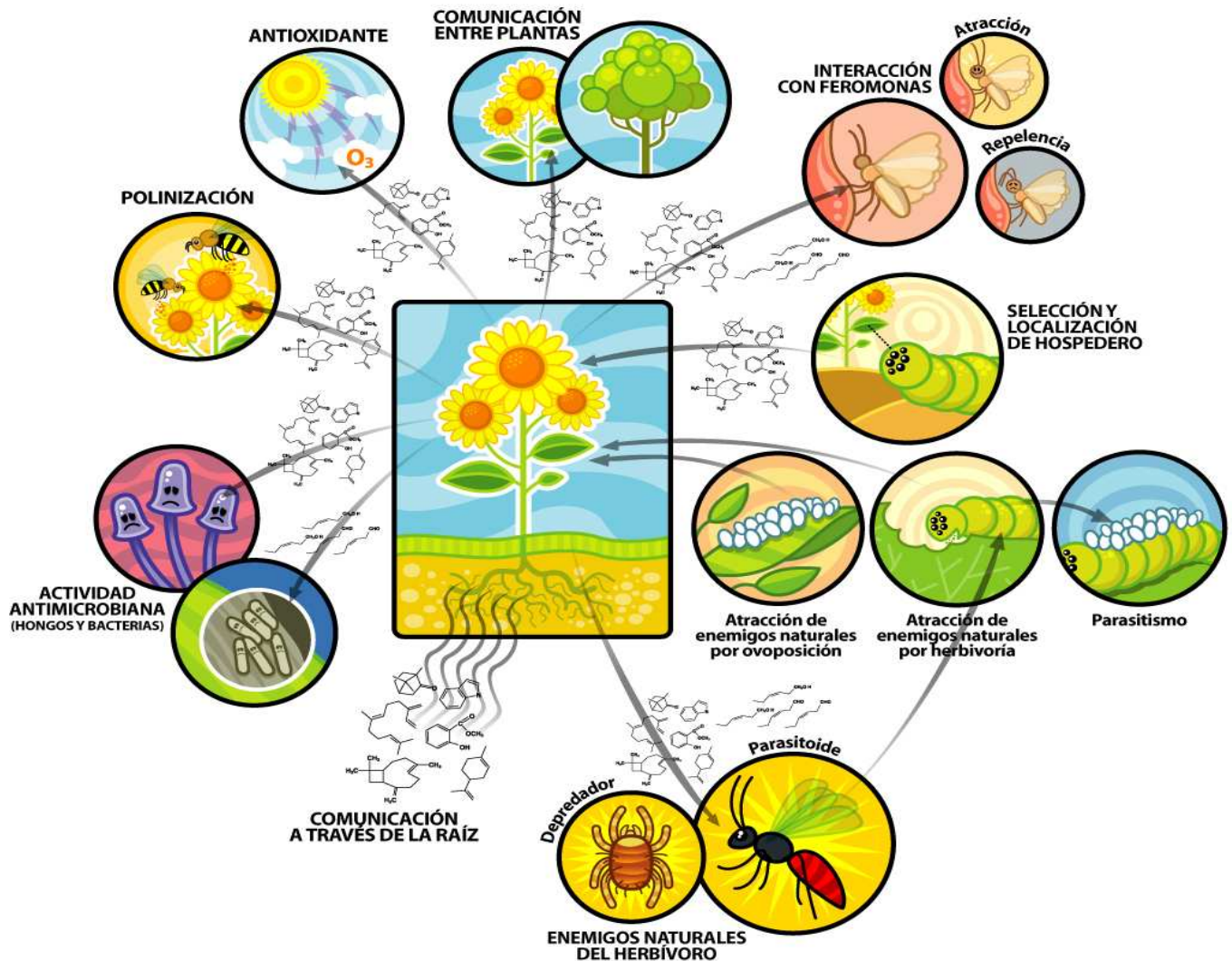


Figura 3. Propiedades reconocidas para los volátiles de plantas.

Las flores de *O. sphegodes* producen los mismos compuestos y casi en la misma proporción que tienen las feromonas de la abeja *A. nigroaenea*, especie que la poliniza; en este caso, el olor de la flor resultó ser la señal más importante que dispara la pseudo-copulación y los compuestos que lo constituyen son largas cadenas de hidrocarburos saturados e insaturados. Muchas especies de *Ophrys* que son polinizadas por abejas macho producen constituyentes feromonaes particulares que atraen recíprocamente a especies del género *Andrena* (Schiestl *et al.*, 1999). Además, se ha demostrado que la concentración de *trans*-hexanoato de farnesilo aumenta después de la polinización, aumento que quizás sea una señal que guía a los poliniza-

dores hacía las flores y represente un mecanismo para incrementar el éxito reproductivo (Schiestl *et al.*, 1997; Schiestl y Ayasse, 2001).

En insectos nocturnos como polillas y otros animales, en los que el estímulo visual está ausente, el olor es de especial importancia (Vainstein *et al.*, 2001). Un ejemplo son los murciélagos, y las flores que polinizan presentan características típicas, como abrir durante la noche y cerrar durante el día, ser ricas en polen y néctar, y carecer de colores brillantes. A menudo su ubicación dentro de la planta es solamente de exposición. Estas flores liberan esencias que se consideran desagradables, diferentes a los

de flores polinizadas por abejas, polillas o moscas. En estas mezclas de volátiles con mal olor se encuentran compuestos azufrados (di y trisulfuros), isoprenoides (limoneno, α -pineno), monoterpenos (1,8-cineol) y sesquiterpenos (cariofileno) (Bestmann *et al.*, 1997). También existen mezclas con olores desagradables debido a algunas aminas, como el de la carroña, heces o materia en descomposición, que atraen escarabajos y mosquitas del estiércol. Estas últimas polinizan a la planta *Arum maculatum* al sentirse atraídas por el indol y el *p*-cresol que produce la planta, que comúnmente contribuyen al olor del estiércol, lugar donde la mosquita se alimenta (Kite, 1995). Las plantas *Sauromatum guttatum* (Borg-Karlson *et al.*, 1994), *Heraclium sphondylium*, y *Helleborus foetidus* también liberan olores aminoides no placenteros (Harborne, 1988). En cambio, los olores agradables generalmente contienen monoterpenos, sesquiterpenos o sustancias aromáticas o alifáticas.

Selección y localización del hospedero

Las flores pueden ser atractivas para los insectos como comida, como lugar de apareamiento, para ovopositar o como refugio. Los insectos aprenden a reconocer el olor emitido por las flores y este factor es el principal responsable del fenómeno de constancia en flores, que conduce a la fidelidad de un polinizador o insecto para visitar regularmente a un número limitado de especies vegetales. Tal fidelidad es guiada por la morfología de la planta, el olor y el color de los pétalos, de modo que los insectos limitan su atención a unas pocas o únicas especies (Harborne, 2001).

Los insectos fitófagos varían desde los que se alimentan en sólo una o pocas especies, a los generalistas que se alimentan de un amplio rango de plantas. Cada insecto tiene la capacidad de discernir entre la planta hospedera y las que no lo son. La selección de un hospedero involucra escoger una planta dentro de un grupo de especies, apropiada para alimentarse de ella, sobrevivir y desarrollarse. Los insectos hacen uso de una gran variedad de modalidades sensoriales y la integración de señales visuales, olfatorias y gustativas, que les permite orientarse y encontrar hospederos apropiados. Dentro de los factores visuales para elegir una planta están el color, la forma y el tamaño; otros factores pueden ser la química superficial de las hojas y quizás sus características físicas.

El factor que quizás influya más en la selección son los CV emitidos por la planta, aunque hay autores que no concuerdan con esta aseveración (Finch y Collier, 2000). El reconocimiento de flores por medio de sus CV puede deberse a un solo compuesto o bien de una mezcla específica, que son percibidos por los órganos receptores de los insectos y procesados en el sistema nervioso central. Hay diversas teorías acerca de la localización de hospederos

mediante volátiles (Finch y Collier, 2000); una de las que tiene mayor aceptación indica que la localización se da por el reconocimiento de mezclas de compuestos en diferentes proporciones, más que por el reconocimiento de un compuesto específico (Bruce *et al.*, 2005).

Los insectos pueden localizar las plantas apropiadas a través de la detección de la señal en un rango de concentraciones, a una distancia dada y la diferenciación de tal señal en un fondo olfativo ruidoso (otras emisiones), y por la codificación y recuperación de la información para confirmar que la planta es la correcta (Raguso, 2001). Por la importancia de las señales olfativas, más que un único factor determinante, la elección de una planta se debe a la combinación de varios factores (Bernays y Chapman, 1994).

Se han hecho muchos análisis de EAG de la respuesta de los herbívoros a los olores de plantas, pero muy pocos en polinización y fragancias florales. La escasa literatura disponible sugiere que muchos insectos pueden detectar los volátiles de la planta en concentraciones significativas, pero la fisiología olfatoria de muchos polinizadores permanece sin ser estudiada. Aún quedan muchas preguntas sin respuesta, como: ¿Cuáles son las respuestas que ocasionan los volátiles en los polinizadores? ¿Cuáles son los compuestos implicados? ¿Sólo son atrayentes para determinadas especies? (Raguso, 2001).

Defensas de la planta

Estas defensas se pueden clasificar de dos formas; las físicas que proporcionan barreras mecánicas (modificaciones morfológicas, como espinas, púas, tricomas, migración de semilla a nuevos hábitats, o reemplazo de partes), y las de índole bioquímica que atacan directamente al invasor (producción de toxinas, alteración de componentes químicos en tejidos de la planta, emisión de volátiles para atraer depredadores o parasitoides). La defensa química implica producir una variedad apreciable de MS. La mayoría de estos MS son considerados como agentes de protección porque son tóxicos para muchos insectos y microorganismos y evitan las infestaciones masivas, el consumo excesivo y restringen el daño. Los MS presentan una gran diversidad estructural, y los terpenos, alcaloides, y fenilpropanoides son los más comunes (Baldwin *et al.*, 2001; Sánchez-Serrano, 2001; Kessler y Baldwin, 2002; Schardl, 2002). En esta revisión se hará especial énfasis en los CV empleados como repelentes, antimicrobianos (bacterias y hongos) e inhibidores de la germinación, o bien indirectamente como atrayentes de parasitoides o depredadores.

Defensa directa. Se refiere a los rasgos de la planta que confieren resistencia al ataque por artrópodos o microorganismos, como espinas, tricomas y metabolitos primarios y secundarios. Las defensas directas no son las más apropiadas en cuestiones de costos, ya que conllevan grandes cargas metabólicas y disminuyen la adaptabilidad de la planta (Kessler y Baldwin, 2002).

Los VHV son los compuestos que se liberan más rápidamente al producirse un daño, y poseen diversas actividades biológicas (bactericidas, fungicidas e insecticidas) en bajas concentraciones. Su rápida emisión y pronta declinación, sugieren una defensa volátil directa contra enemigos que se posan en la planta (Agelopoulos *et al.*, 1999). Los compuestos liberados al momento del daño varían en función de la planta y del insecto o microorganismo, aunque la inducida por microorganismos ha sido la menos estudiada (Paré y Tumlinson, 1999). Los volátiles están involucrados en la defensa contra bacterias, hongos (Hamilton-Kemp *et al.*, 1992; Croft *et al.*, 1993; Deng *et al.*, 1993; Zeringue *et al.*, 1996; Friedman *et al.*, 2002; Hammer *et al.*, 2003; Sridhar *et al.*, 2003; Faleiro *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2005), insectos fitófagos (Hildebrand *et al.*, 1993), en la acumulación de fitoalexinas sesquiterpénicas en cápsulas de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) (Zeringue, 1992), y en la actividad inhibitoria de la germinación de semillas y el crecimiento (Bradow y Connick, 1988a; Bradow y Connick, 1988b; Connick *et al.*, 1989; Gardner *et al.*, 1990; Bradow, 1991). Igualmente, el *trans*-2-hexenal está comprometido en la expresión de genes involucrados en la respuesta de defensa de *Arabidopsis* (Bate y Rothstein, 1998).

Muchas plantas emiten volátiles al ser dañadas, y en otras ayudan a que la planta se defienda, como es el caso de *Nicotiana tabacum* que libera volátiles durante día y noche cuando es atacada por herbívoros. Muchos volátiles son exclusivos de emisiones nocturnas y resultan repelentes para las hembras de *Heliothis virescens* que depositan sus huevecillos durante la noche. En la mezcla diurna de volátiles de *N. tabacum* se determinó la presencia de (*E*)- β -ocimeno, linalool, β -cariofileno, α -humuleno, (*E,E*)- α -farneseno y un sesquiterpeno no identificado. En la emisión nocturna se identificaron adicionalmente a cinco compuestos: (*Z*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-butirato de hexenilo, (*Z*)-3-isobutirato de hexenilo, (*Z*)-3-acetato de hexenilo y (*Z*)-3-tiglatato de hexenilo. Sólo un compuesto no identificado se produjo exclusivamente durante la noche. El (*E*)-2-hexenal y otros tres compuestos no identificados fueron producidos en cantidades mucho mayores en la noche que en el día (De Moraes *et al.*, 2001; Ryan, 2001; Pichersky, 2004).

La liberación de volátiles por una planta después de haber sido atacada por herbívoros puede influir en las tasas de ovoposición y depredación. En el estudio de Kessler y Baldwin (2001), los volátiles inducidos por *M. quinquemaculata* (Lepidoptera, Sphingidae), *Dyciphus minimus* (Heteroptera, Miridae) y *Epitrix hirtipennis* (Coleoptera, Chrysomelidae) al consumir las hojas de *Nicotiana attenuata* Torr. Ex Wats (Solanaceae), disminuyeron la tasa de ovoposición de *M. quinquemaculata* en plantas atacadas por orugas. El linalool aislado de la mezcla también produjo una disminución considerable en la descarga de huevos. Así, al emitir los volátiles la planta emplea una defensa directa, que junto con la indirecta puede alcanzar altos niveles de efectividad (Kessler y Baldwin, 2001; Pichersky y Gershenzon, 2002).

Los VHV generados por el daño en papa (*Solanum tuberosum* cv. 'Desiree') funcionan como defensa directa contra áfidos. Mediante modificación genética se obtuvo una papa que produce bajos niveles de volátiles al reducir la cantidad de la enzima HL que cataliza la formación de aldehídos y oxoácidos volátiles. Los áfidos (*Myzus persicae*) que se alimentaron de las plantas modificadas fueron aproximadamente dos veces más fecundos que los que se alimentaron en plantas no transformadas, lo que mostró el impacto negativo de los compuestos derivados de HL sobre el desarrollo de áfidos (Vancanneyt *et al.*, 2001). También se mostró que plantas transgénicas de *Arabidopsis thaliana* que sobreexpresan la linool/nerolidol sintetasa de fresa (*FaNES1*) pudieron repeler al áfido *Myzus persicae*, y esto constituye el primer ejemplo de reducción de herbivoría por mejoramiento de los volátiles (Aharoni *et al.*, 2003; Dudareva y Negre, 2005).

La presencia de volátiles que contrarrestan invasores y colonizadores es clara, pero es importante determinar qué tan efectivos son en tiempo real, cuánto sirven a la planta en el momento del daño, cuáles son sus costos y sus beneficios, y cómo es la defensa directa en condiciones naturales.

Defensa indirecta (mediante atracción de enemigos naturales). Después de haber sido atacada por un herbívoro, la planta libera volátiles de las estructuras secretoras internas y externas donde los sintetiza y almacena. Otros compuestos volátiles son formados al momento del daño (aldehídos y alcoholes C6, VHV) o sintetizados *de novo* a horas o días después del daño (generalmente terpenos) (Mattiacci *et al.*, 1995; Rose *et al.*, 1996). Los inducidos horas o días después de iniciado el daño están ligados con la defensa indirecta, porque atraen parasitoides o depredadores de los herbívoros que la están consumiendo, al funcionar como señales de comunicación en interacciones tritróficas que aumentan el éxito de la búsqueda de alimento

por parte de los carnívoros y facilitan el control de las poblaciones de herbívoros por la planta (Kessler y Baldwin, 2001).

Los volátiles orgánicos emitidos son señales que indican a los depredadores y parasitoides que una planta está siendo atacada. Igualmente, las plantas pueden proporcionar alimento (néctar extrafloral o polen) y refugio en estructuras especializadas a los enemigos de los herbívoros (Kessler y Baldwin, 2001). La atracción de parasitoides se ha demostrado en numerosos experimentos de laboratorio (Scutareanu *et al.*, 1997; Du *et al.*, 1998; Birkett *et al.*, 2003; Bukovinszky *et al.*, 2005; Lou *et al.*, 2005), y en condiciones naturales (Drukker *et al.*, 1995; Shimoda *et al.*, 1997; Thaler, 1999; Kessler y Baldwin, 2001; Heil, 2004), como ilustraron Kessler y Baldwin (2001) al cuantificar las emisiones volátiles producidas por el ataque de tres especies de herbívoros que se alimentaron de hojas de *Nicotiana attenuata* Torr. Ex Wats (Solanaceae) que crecían en el desierto de Utah. De las mezclas emitidas, tres compuestos (*cis*-3-hexen-1-ol, linalool y *cis*- α -bergamoteno) incrementaron las tasas de depredación de huevos de *Manduca sexta* por el generalista *Geocoris pallens* (Heteroptera, Geocoridae); la planta pudo así reducir el número de herbívoros al influenciar sus tasas de ovoposición y depredación (Kessler y Baldwin, 2001).

Un ejemplo claro de la interacción tritrófica de volátiles inducidos que atraen parasitoides, es el sistema *Zea mays*-*Spodoptera exigua*-*Cotesia marginiventris* (Gesson), en el que el insecto *S. exigua* induce en *Z. mays* la liberación de volátiles, y éstos atraen a la hembras de la avispa *C. marginiventris* que ovipositan en el interior de la larva; así, cuando los huevos eclosionan y las crías emergen, éstas se alimentan de la larva y la matan (Tumlinson *et al.*, 1993). Los compuestos semioquímicos volátiles responsables de atraer a las hembras del parasitoide y que fueron liberados por el maíz en cantidades significantes, fueron ((*Z*)-3-hexenal, (*E*)-2-hexenal, (*Z*)-3-hexen-1-ol, acetato de (*Z*)-3-hexen-1-ilo, 3-(*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno, indol, α -*trans*-bergamoteno, (*E*)- β -farneseno, (*E*)-nerolidol y 3*E*,7*E*-4,8,12 trimetil 1,3,7,11 tridecatetraeno). Las avispas fueron más atraídas por las plantas dañadas por herbívoros, ya que las plantas sin daño sólo liberan pequeñas cantidades de algunos de estos compuestos. El que las plantas sin daño sean casi inodoras puede ser una característica que las hace discretas para los herbívoros, pero al ser atacadas por éstos ocurre un cambio dramático en el número y la cantidad de volátiles que libera la planta (Turlings *et al.*, 1990; Turlings *et al.*, 1991). Otra interacción similar con parasitoides ocurre en algodón (Loughrin *et al.*, 1994; Paré y Tumlinson, 1997a).

Como ejemplo de la interacción con depredadores está la planta *Phaseolus lunatus* que al ser infestada por *Tetranychus urtica* libera volátiles que atraen al depredador *Phytoseiulus persimilis* que se alimenta de ellos. Las hojas de plantas no infectadas y las dañadas mecánicamente no liberan estas señales y por tanto no atraen a los depredadores, lo que demuestra la especificidad de los químicos producidos. Aunque el ataque por *T. urticae* sea masivo, cuando los depredadores aparecen se reduce drásticamente la población de herbívoros (Dicke *et al.*, 1990a; Dicke *et al.*, 1993; Takabayashi y Dicke, 1996). Un estudio similar ha sido reportado para tomate (Dicke *et al.*, 1998).

Quizás ésta sea la principal diferencia entre la defensa indirecta que ocasiona la atracción de parasitoides y la que atrae depredadores, ya que los parasitoides como las avispas parasíticas, depositan sus huevos en la oruga, y al eclosionar las larvas de avispa matan al insecto plaga (Paré y Tumlinson, 1999); es decir, los insectos plaga paran de comer solamente hasta que la progenie de la avispa emerge, lo cual en tiempos de control de una infestación masiva puede ser devastador para la planta. En cambio, los depredadores matan al herbívoro y acaban en ese mismo instante con el daño, lo que depende del volumen de la población que se controla (Takabayashi y Dicke, 1996; Dicke y van Loon, 2000).

Cuando los herbívoros depositan sus huevos, se inducen emisiones de volátiles que atraen parasitoides o depredadores de los huevos (Hilker y Meiners, 2002; Pichersky y Gershenzon, 2002; Pichersky, 2004). Uno de los pocos sistemas tritróficos descritos incluye la participación de *Xanthogaleruca luteola* Muller (Coleoptera, Chrysomelidae), que al descargar sus huevos estimula en las hojas de *Ulmus minor* Miller la producción de volátiles atrayentes de la avispa *Oomyzus gallerucae* (Hymenoptera, Eulophidae) (Meiners y Hilker, 1997; Meiners y Hilker, 2000; Wegener *et al.*, 2001). De igual manera, el insecto *Diprion pini* L. (Hymenoptera, Diprionidae) induce la producción de volátiles en las acículas de *Pinus sylvestris* L. que atraen la avispa *Chrysonotomyia ruforum* (Hymenoptera, Eulophidae) (Hilker *et al.*, 2002; Mumm *et al.*, 2003).

Recientemente se reportó que *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae) parasita los huevos de *Nezara viridula* L. (Heteroptera: Pentatomidae) al responder a señales inducidas por la ovoposición y la alimentación del herbívoro sobre las hojas de *Vicia faba* L. y *Phaseolus vulgaris* L. A diferencia de *D. pini* que causa una incisión en las acículas de pino para insertar sus huevos o de *Xanthogaleruca luteola* que con sus partes bucales remueve la superficie de la hoja antes de la ovoposición, las hembras de *N. viridula* no causan daño físico al ovopositar sobre la superficie del hospedero, porque colocan los

huevos en racimos que luego son adheridos a la hoja por una secreción que se presume es la inductora de las emisiones (Colazza *et al.*, 2004a). Colazza *et al.* (2004b) determinaron los compuestos responsables de la atracción de los parasitoides de los huevos.

Los volátiles inducidos por un ataque por herbivoría presentan similitud estructural con los volátiles producidos cuando no hay daño, lo que indica que sus vías biosintéticas son semejantes. Los monoterpenos parecen ser producidos a través de la vía DOXP, mientras que los sesquiterpenos pueden ser producidos por ambas vías, mevalonato y DOXP. Ambas vías pueden ser compartidas por muchas familias y son detectables por una multitud de insectos depredadores que los usan para distinguir una planta infectada de una sana, o para distinguir entre diferentes tipos de daño (Paré y Tumlinson, 1999). Existe una clara diferencia entre los volátiles emitidos por la planta sana, por la planta dañada por herbivoría (sintetizados *de novo*) (Paré y Tumlinson, 1997a; Paré y Tumlinson, 1997b) y por daño mecánico, aunque en algunos casos la composición es idéntica entre plantas con daño mecánico y las que presentan herbivoría (Geervliet *et al.*, 1997). La liberación puede presentar diferencias cuantitativas o bien variar entre tejidos de la planta afectada (Dicke *et al.*, 1990a; Turlings *et al.*, 1995; Takabayashi y Dicke, 1996).

Otra característica de los volátiles inducidos es la especificidad que ocurre en muchos sistemas tritróficos estudiados, aunque no en todos. La especificidad hace referencia a diferencias en las mezclas de volátiles o a la discriminación de los carnívoros a plantas que han sido dañadas por otros herbívoros, especificidad que es influenciada por la edad de la planta, el estado de desarrollo del herbívoro y la atracción del parásito o depredador (variaciones interespecíficas, intraespecíficas y por individuo) (Takabayashi *et al.*, 1994a; Takabayashi *et al.*, 1994b; Takabayashi *et al.*, 1995; Takabayashi y Dicke, 1996; De Moraes *et al.*, 1998; Dicke *et al.*, 1998; Dicke y van Loon, 2000).

Para que los volátiles emitidos funcionen efectivamente deben ser claramente distinguibles de otros, ser específicos para presas o especies hospederas que se alimentan en la planta, y ser emitidos a tiempo cuando los enemigos naturales buscan comida (De Moraes *et al.*, 1998). Un estudio que demuestra que las emisiones de plantas pueden transmitir información herbívoro específica que es detectada por parasitoides, fue hecho por De Moraes *et al.* (1998); en dicho estudio se ilustra que plantas de tabaco, algodón y maíz producen distintas mezclas de volátiles en respuesta al daño producido por dos especies de herbívoros, *Heliothis virescens* y *Helicoverpa zea*. La avispa parasítica especialista *Cardiochiles nigriceps* usa estas diferencias para

distinguir a *H. virescens* (hospedero) de *H. zea* (Turlings *et al.*, 1995; De Moraes *et al.*, 1998).

La liberación de volátiles inducidos no se restringe al área dañada por el herbívoro, sino también ocurre en partes distales que no sufrieron daño; esto sugiere una respuesta sistémica que sirve igualmente para atraer insectos defensores (Turlings *et al.*, 1993; Dicke, 1994; Paré y Tumlinson, 1996; Rose *et al.*, 1996; Guerrieri *et al.*, 1999; Pichersky, 2004). Al respecto, Turlings y Tumlinson (1992) reportaron que las plántulas de maíz implicadas en una interacción planta-herbívoro-parasitoide produjeron volátiles inducidos por el herbívoro *Spodoptera exigua*, tanto en el sitio de daño como en toda la planta (Turlings y Tumlinson, 1992). Igualmente, el algodón atacado por herbívoros libera semioquímicos volátiles de partes distales sin daño, que atraen enemigos naturales de los ofensores a las plantas dañadas (Rose *et al.*, 1996).

Un descubrimiento que ha permitido comprender el porqué se dan este tipo de interacciones y porqué hay emisiones de volátiles en plantas atacadas por herbívoros, quizás ha sido la detección y caracterización de los elicitores (Farmer, 1997). Aunque también se han aislado de hongos (Piel *et al.*, 1997; Engelbert *et al.*, 2000) y bacterias (Spiteller *et al.*, 2000), un elicitor o evocador es cualquier compuesto que venga de los herbívoros e interactúe con la planta a nivel celular. De herbívoros únicamente han sido aislados dos clases de elicitores involucrados en defensa indirecta; el primero fue obtenido de secreciones orales de larvas de *Pieris brassicae*, y es la enzima hidrolítica β -glucosidasa que elicit la liberación de terpenoides volátiles de las hojas de *Brassicca oleracea* var. *gemmifera* cv. 'Titure', cuyas hojas responden liberando una mezcla de volátiles que hacen a la oruga más atractiva para la avispa parasítica *Cotesia glomerata*. Debido a que el daño mecánico libera los mismos volátiles, se piensa que los terpenos u otros volátiles son liberados de los glucósidos por acción directa de la enzima (Mattiacci *et al.*, 1995). Hilker *et al.* (2005) caracterizaron un elicitor de tipo proteico en la secreción del oviducto de *Diprion pini*, que al descargar sus huevos induce la producción de volátiles en *Pinus sylvestris* L. los cuales atraen al parasitoide de los huevos, *Chrysonotomyia ruforum* Krausse (Hymenoptera, Eulophidae).

La segunda clase de elicitores son los ácidos grasos conjugados con aminoácidos (AGCs), que se han detectado en el regurgitado de larvas de Sphingidae, Noctuidae y Geometridae (Alborn *et al.*, 1997; Paré *et al.*, 1998; Pohnert *et al.*, 1999; Alborn *et al.*, 2000; Halitschke *et al.*, 2001; Mori *et al.*, 2001; Alborn *et al.*, 2003; Mori *et al.*, 2003). El primer AGC aislado fue el de secreciones orales de *Spodoptera exigua* Hübner, denominado volicitina

[N-(17-hidroxisilinoil)-L-glutamina] que activa la producción de compuestos volátiles en plántulas de maíz. Esta emisión está compuesta de la misma mezcla de sustancias que se libera cuando hay daños por una oruga que se alimenta de la planta, pero los AGCs no elicitán la misma respuesta en todas las plantas. Estos volátiles atraen hembras de avispas parasíticas *Cotesia marginiventris*, que son enemigos naturales de las orugas (Alborn *et al.*, 1997).

La volicitina induce la biosíntesis *de novo* de compuestos volátiles por activación de la indol 3-glicerol fosfatasa y la sesquiterpen-ciclasa, además de inducir la liberación de volátiles de las hojas indemnes de maíz en las plantas dañadas (Frey *et al.*, 2000; Shen *et al.*, 2000). Mediante marcaje con ^{13}C , Paré *et al.* (1998) demostraron que la porción de AG de la volicitina provenía de la planta, pero la reacción de hidroxilación en el C-17 y la conjugación con glutamina eran llevados a cabo por el insecto; además, la glutamina provenía de las orugas (Paré *et al.*, 1998). Yoshinaga *et al.* (2003) probaron que la glutamina, aunque no fuera el aminoácido dominante en el intestino larval de *Spodoptera litura*, era el único que era conjugado *in vivo* con el AG pero sin saber el porqué de esta elección. La especificidad del sustrato y la demostración de que la biosíntesis *in vitro* se lleva a cabo en tejidos del intestino medio de *Spodoptera litura*, fue hecha por Yoshinaga *et al.* (2005).

La manera de cómo estos elicitores inducen la emisión de volátiles no se ha esclarecido completamente, pero recientemente se determinó que la volicitina establece una interacción proteína-ligando (Truitt y Paré, 2004; Truitt *et al.*, 2004). Probablemente éste sea el primer paso en la planta para generar una señal e iniciar una reacción en cadena que active cascadas de traducción de señales que involucren mensajeros de información (sistemina, jasmonato, etileno, peróxido de hidrógeno, etc.), al activar los genes responsables de respuestas de defensa; como consecuencia produce una respuesta local o sistémica, que puede desembocar en la liberación de mezclas de volátiles que atraen parasitoides (Frey *et al.*, 2000; Shen *et al.*, 2000; Halitschke *et al.*, 2001; Schittko *et al.*, 2001; Ferry *et al.*, 2004; Arimura *et al.*, 2005).

El conocimiento del papel de los volátiles inducidos ha crecido enormemente en las últimas décadas y se les ha reconocido numerosas funciones, pero todavía falta elucidar el mecanismo de producción, liberación y reconocimiento de los volátiles inducidos y los pasos siguientes en la señalización, la relevancia ecológica, y cómo ha sido la evolución de esta interacción. Lo que ya es claro es que la producción de volátiles no sólo ocurre nivel de laboratorio sino también en condiciones naturales, como respuesta activa para atraer los carnívoros; más que una respuesta ac-

cidental al daño parece ser que la planta se ve beneficiada con la reducción de herbívoros al atraer carnívoros (Takabayashi y Dicke, 1996; Dicke y Van Loon 2000; Loon *et al.*, 2000; Holopainen, 2004; Arimura *et al.*, 2005).

Comunicación entre plantas

Casi desde que se evidenció que los volátiles mediaban la defensa indirecta, se discutió la posibilidad de que las mezclas de volátiles orgánicos sean transportadoras de información entre plantas y les permita establecer una "comunicación". Los estudios iniciales carecían de rigor científico por tener serias deficiencias experimentales, como la dosis aplicada, mecanismos de acción desconocidos, carencia de experimentos en el campo y de realismo en las metodologías empleadas (Dicke y Bruin, 2001; Baldwin *et al.*, 2002), por lo que no había un consenso de aceptación. En los últimos años este panorama ha cambiado y se han reportado una serie de experimentos contundentes que apoyan el postulado de la comunicación planta-planta mediada por volátiles. La idea es que las plantas incrementan sus defensas tempranamente, en respuesta a señales que emiten las vecinas que están bajo el ataque de herbívoros o patógenos, y emplean esta información para desplegar defensas directas o indirectas (Agrawal, 2000; Dicke y Bruin, 2001). De acuerdo con Dicke *et al.* (2003), las plantas capaces de activar sus defensas en respuesta a información proporcionada por sus vecinas, aparte de hacer su defensa más efectiva pueden tener ventaja sobre las plantas que no reconocen esa información (Dicke *et al.*, 2003).

La comunicación con plantas enfermas o dañadas se puede dar de varias formas: señalización con plantas sanas de la misma especie, con plantas de otras especies, y señalización interna en la planta a través de sustancias volátiles (Farmer, 2001). Entre los muchos ejemplos de comunicación planta-planta (Dicke y Bruin, 2001; Dicke *et al.*, 2003), quizás uno de los más rigurosos en condiciones naturales fue el realizado por Karban *et al.* (2000), donde establecen que las hojas sin daño de *Nicotiana attenuata* responden a las señales liberadas por su vecina *Artemisia tridentata*. Durante tres de las cinco temporadas que duró el estudio, las plantas de *N. attenuata* que tenían como vecinas a plantas de *A. tridentata* dañadas (corte con tijeras), redujeron considerablemente los niveles de daño por herbivoría, comparado con el control sin cortar, y las plantas cercanas a las de *A. tridentata* heridas mecánicamente incrementaron sus niveles de enzimas oxidativas implicadas en defensa, como polifenoloxidasas (PFOs) (Karbon *et al.*, 2000).

Con este experimento como antecedente, estos autores propusieron el papel que pueden desempeñar los volátiles inducidos por herbívoros en plantas vecinas, en comparación con el daño mecánico (Karban *et al.*, 2003). Al igual que en el caso anterior con plantas de *N. attenuata* vecinas de *A. tridentata* que sufrieron daño por herbivoría causado por una especie de saltamontes y un crisomélido (*Trirhabda pilosa*), las plantas aumentaron la actividad de PFOs y redujeron la herbivoría. Pero cuando se probó qué pasaba con la interacción entre plantas de tabaco, una sin daño vecina de una con daño, los niveles de PFOs y herbivoría no se vieron afectados en plantas sin daño. Las plantas de tabaco próximas a las de *A. tridentata* dañadas produjeron más flores y cápsulas, pero fueron más susceptibles al daño por congelamiento comparado con los testigos (Karban y Maron, 2002; Dicke *et al.*, 2003).

Otra investigación que ha sido un parteaguas en el estudio de la comunicación entre plantas, fue la realizada con árboles *Alnus glutinosa* creciendo en condiciones naturales unos cerca de otros. Los árboles fueron defoliados mecánicamente para estimular el ataque de *Agelastica alni*; luego del daño se descubrió que la defoliación manual redujo la herbivoría en las temporadas posteriores al daño, y no sólo en los árboles defoliados sino también en los vecinos que no sufrieron daño alguno. También se encontró que adicional al daño foliar, el grado de consumo y el número de huevos ovopositados correlacionaron positivamente con la distancia del árbol defoliado (Dolch y Tscharnkte, 2000).

Estudios posteriores mostraron que la herbivoría por *A. alni* induce en las hojas de *A. glutinosa* la emisión de etileno y una mezcla de volátiles que no fue emitida por las hojas sanas, que incluía mono, sesqui y homoterpenos, así como derivados de ácidos grasos y compuestos aromáticos. Además, hubo cambios en la química de las hojas sometidas a herbivoría, porque aumentó el contenido fenólico y la actividad de enzimas oxidativas (PFOs, LOX y peroxidasa) y de inhibidores de proteasa. Se observó también la activación de la vía de los octadecanoides por un aumento en la liberación de ácido jasmónico (JA). Los autores postularon que los compuestos volátiles activos que transfieren la señal, son etileno, β -ocimeno, 4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno (DMNT), y 4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno (TMTT), lo que permitió proponer una activación de las respuestas de defensas directa e indirecta en la planta, inducidas por los volátiles después del daño producido por *A. alni* (Agrawal 2000; Tscharnkte *et al.*, 2001; Dicke *et al.*, 2003).

Los volátiles inducidos por *Tetranychus urticae* en plantas de algodón atraen a los enemigos naturales del herbívoro, el depredador *Phytoseiulus persimilis*. El estudio

de Bruin *et al.* (1992) mostró que las plantas no infestadas cercanas a plantas infestadas por *T. urticae*, se protegen mejor contra la herbivoría mediante reducción de la tasa de ovoposición. Con este trabajo se sentaron las bases para un estudio posterior de Arimura *et al.* (2000), el cual proporciona evidencia de que los volátiles inducidos por herbivoría producen cambios transcripcionales que permiten la defensa ante un futuro ataque, en plantas vecinas que no sufrieron daño. El sistema empleado fue *Phaseolus lunatus*-*T. urticae*-*P. persimilis*, y permitió demostrar que no sólo la planta atacada sino también las vecinas, sufren menos daño por el herbívoro y son más atractivas para sus depredadores. Las hojas sin infestación de *P. lunatus*, al ser expuestas a los volátiles de hojas infestadas con *T. urticae* activaron diferentes genes de defensa. De la mezcla de volátiles, (*E*)- β -ocimeno, DMNT y TMTT parecen estar implicados en dicha activación, ya que su concentración aumentó con el tiempo transcurrido después de la inducción (Arimura *et al.*, 2000). Luego se estableció que la exposición a la mezcla de volátiles inducidos por *T. urticae*, o a cualquiera de los siete componentes mayoritarios (β -ocimeno, DMNT, TMTT, linalool, (*Z*)-3-hexenol, (*E*)-2-hexenal y (*Z*)-3- acetato de hexenilo) de esta mezcla, así como la propia infestación por *T. urticae* y el daño artificial, activan en hojas de *P. lunatus* la transcripción de genes involucrados en la biosíntesis de etileno, S-adenosilmetionina (SAMS sintetasa) y ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico oxidasa (ACO), así como un gen que codifica para una enzima implicada en la síntesis de poliaminas, la SAM descarboxilasa (SAMDC). Además, las plantas de *P. lunatus* expuestas a los volátiles inducidos por *T. urticae* emitieron etileno y acumularon ácido jasmónico (Arimura *et al.*, 2002).

La mayoría de estudios encaminados a establecer la comunicación entre plantas, se hacen con información que fluye a través del aire, y pocos se han realizado para observar cómo se da el intercambio bajo tierra. La herbivoría en partes subterráneas de la planta induce la producción de volátiles atrayentes de enemigos de los herbívoros. Estos volátiles pueden ser inducidos sistémicamente en la planta dañada. En el sistema empleado por Dicke y Dijkman (2001) se muestra que al exponer hojas de *P. lunatus* sin infestación a un elicitador, se provoca una disminución en la tasa de reproducción del herbívoro *T. urticae*, y cuando las hojas de *P. lunatus* que no están siendo atacadas por el herbívoro son incubadas con el elicitador se produce la atracción del depredador *P. persimilis*.

Para determinar si las plantas infestadas por herbívoros interactúan con vecinas no dañadas a través de la información química transmitida por el suelo, se usó el mismo elicitador obtenido al colocar plantas completas (con raíces) de *P. lunatus* en agua destilada. Luego se colocaron plantas

completas (con raíces) que no presentaban herbivoría en el agua donde estaba el elicitor y éstas resultaron más atractivas para el depredador *P. persimilis*, lo que indicó el flujo de la señal a través de la rizosfera (Dicke y Dijkman, 2001). De igual forma, experimentos hechos con *Vicia faba* infestada por el áfido *Acyrtosiphon pisum* muestran que los volátiles que induce el herbívoro son específicos, liberados sistémicamente y que son claves en la orientación del parasitoide *Aphidius ervi*. La comunicación transmitida por las raíces parece ser necesaria para que esta interacción sea exitosa, ya que plantas de *V. faba* sin herbívoros que están en el mismo recipiente con plantas infestadas por *A. pisum*, fueron más atractivas para las hembras del parasitoide; pero cuando se evitó el contacto de las raíces entre las plantas y sólo se permitió el contacto aéreo, no se observó tal atracción, lo que sugirió que el exudado de las raíces de las plantas infestadas puede inducir la emisión de volátiles que median interacciones tritróficas en las plantas vecinas (Chamberlain *et al.*, 2001; Guerrieri *et al.*, 2002; Dicke *et al.*, 2003).

Los hallazgos mencionados muestran claramente que puede existir la comunicación entre plantas, por medio de señales aéreas o subterráneas, lo que ilustra lo complejas que pueden llegar a ser las interacciones que involucran compuestos volátiles, herbívoros, depredadores o parasitoides, además de señales responsables de transmitir la información a otras partes de la planta o a otras plantas, y la interacción de estas redes de comunicación (Putten *et al.*, 2001; Bezemer y van Dam, 2005). Algunas moléculas volátiles, como salicilato de metilo, jasmonato de metilo y etileno, han sido consideradas las responsables de la señalización dentro de una planta y entre plantas (Crozier *et al.*, 2000).

La comunicación en plantas es un tópico apasionante, que a medida que se profundiza en él se abren nuevas puertas. Ahora las preguntas que surgen son: ¿Cómo perciben las plantas estos volátiles? ¿Qué y cuáles son los receptores (si los tienen)? ¿Pueden las plantas discriminar entre diferentes mezclas de volátiles? ¿Cuándo deben las plantas responder a los volátiles y cuándo no? También falta caracterizar cómo las señales entran a la planta y cómo responden a las señales volátiles en condiciones naturales, sin hacer a un lado la señalización subterránea que no es afectada por competidores, vecinos inmediatos o la dirección del viento (Baldwin *et al.*, 2002; Dicke y Bruin, 2001).

Interacción con feromonas

Las feromonas son infoquímicos o semioquímicos (moléculas que transportan señales de un organismo a otro) que median la interacción entre organismos de la misma

especie, y pueden beneficiar al organismo que las produce (+, -), al que las recibe (-, +) o a ambos (+, +) (Dicke *et al.*, 1990b). Los volátiles producidos por plantas pueden influenciar el comportamiento y la fisiología de los insectos al interactuar con las feromonas que éstos emplean para comunicarse. Los volátiles vegetales pueden inducir la producción o liberación de feromonas en algunos insectos y a menudo sinergizar o aumentar sus respuestas sexuales; ó se pueden provocar efectos inhibitorios o repelentes que interrumpen la respuesta de los insectos a estos infoquímicos (Reddy y Guerrero, 2004). Algunos ejemplos de la interacción de volátiles con feromonas se enuncian a continuación; para mayor información consultar la revisión hecha por Reddy y Guerrero (2004).

El estímulo que ejercen los volátiles de plantas para que los insectos liberen feromonas ocurre en muchas especies de coleópteros y lepidópteros. La palma *Elaeis quinensis* produce una mezcla de ésteres volátiles, de los cuales el acetato de etilo induce a los machos de *Rynchophorus phoenicis* a liberar la feromona rincoforol ((*E*)-6-metil-2-hepten-4-ol) (Jaffé *et al.*, 1993). Los volátiles de plantas hospederas igualmente pueden provocar un sinergismo ya que cuando el insecto libera la feromona ésta se combina con los volátiles de la planta ocurre una mayor atracción de los insectos a las feromonas. Así, para *Antonomus grandis* Boh, *Scolytus multistriatus* y *Ceratitidis capitata* Weid se reportó que los VHV aumentan las respuestas a la feromona de atracción.

En pruebas de campo, la adición de *trans*-2-hexen-1-ol a la feromona de agregación (grandlure) de *A. grandis* y la adición de 1-hexanol y 1-hexanal a la feromona de agregación multilure de *S. multistriatus*, se logró mayor captura en la trampa, que con la feromona sola. Para *C. capitata* se encontró que el *trans*-2-hexenal aumentó la respuesta de las hembras al olor de los machos (Dickens, 1989; Dickens *et al.*, 1990).

En relación con los efectos inhibidores o repelentes, los VHV de plantas no hospederas han mostrado interrumpir la respuesta feromonal en tres especies de escarabajos, *Dendroctonus frontalis*, *Ips avulsus* e *Ips grandicollis*, que ocasionan un efecto negativo cuando están buscando hospedero. El 1-hexanol y el hexanal en combinación con las feromonas de agregación frontalina y turpentina, interrumpieron la respuesta de *D. frontalis* a estas feromonas. Similarmente, el hexanal interrumpió la respuesta a la feromona de las dos especies *Ips* (mezcla de ipsdienol, ipsenol y *cis*-verbenol en una proporción de 1:1:2) (Dickens *et al.*, 1992). Los VHV también pueden actuar como antiagregantes, como en *Dendroctonus ponderosae* Hopkins con la mezcla de 1-hexanol, (*Z*)-2-hexen-1-ol, (*E*)-3-hexen-1-ol y (*Z*)-3-hexen-1-ol, que en experimentos de campo con

trampas perturbaron la respuesta de atracción a los semioquímicos (Wilson *et al.*, 1996).

Antioxidantes y termorreguladores

Últimamente se ha tenido en consideración la importancia de los volátiles por sus propiedades antioxidantes, y por su impacto en el clima al fungir como termorreguladores de la planta (Peñuelas y Llusià, 2003; Holopainen, 2004). El isopreno es un buen atrapador de radicales libres hidroxilo y de ozono, además de proteger las membranas del daño oxidativo (Zeidler *et al.*, 1997; Loreto y Velikova, 2001; Loreto *et al.*, 2001). Algunos monoterpenos también presentan actividad atrapadora del ozono, y disminuyen las especies reactivas de oxígeno (H_2O_2 y $OH\cdot$), y tal vez los volátiles inducidos por ser liberados en mayor cantidad puedan desempeñar esta misma función (Holopainen, 2004).

Los volátiles como isopreno y monoterpenos, pueden conferir protección contra altas temperaturas, a la que se denomina termotolerancia que está íntimamente ligada con las propiedades antioxidantes de los isoprenoides (Peñuelas y Llusià, 2004). Esta hipótesis se basa en la observación de que las hojas que emiten isopreno pueden tolerar más las altas temperaturas que las hojas que no lo producen. Si bien esta propiedad no ocurre en todos los emisores de isopreno, algunos estudios con monoterpenos no almacénables muestran el papel termoprotector de éstos (Loreto *et al.*, 1998). Sin embargo, algunos monoterpenos que son emitidos instantáneamente, en vez de conferir termotolerancia lo que hacen es reemplazar a la fotorrespiración para proteger el aparato fotosintético a altas temperaturas y bajas concentraciones de CO_2 (Peñuelas y Llusià, 2002; Peñuelas y Llusià 2003; Owen y Peñuelas, 2005; Llusià *et al.*, 2005).

Desde un punto de vista atmosférico, los volátiles emitidos por plantas son químicos muy reactivos, por lo que pueden regular la capacidad oxidativa de la troposfera al cambiar el potencial de reducción de la atmósfera, afectar la concentración de radical hidroxilo, así como la producción de monóxido de carbono y la oxidación de metano y del ozono. A pesar de su corta vida media, se puede pensar en los efectos que puedan acarrear en los cambios climáticos (Logan *et al.*, 2000; Peñuelas y Llusià, 2003; Holopainen, 2004).

Interacción con otros organismos

La mayoría de las interacciones de los volátiles involucran a las plantas que los producen y los insectos, debido a la diversidad química que presentan las plantas y la relación estrecha que mantienen con los insectos. Pero tam-

bién pueden suceder otras interacciones, y en esta sección se ilustran las relaciones con diferentes organismos que son mediadas por emisiones volátiles de plantas.

Hormigas. En el árbol *Leonardoxa africana* las hormigas *Petalomyrmex phylax* patrullan las hojas jóvenes y tiernas durante las 24 h, porque éstas son mas vulnerables al ataque por insectos fitófagos que son presas de las hormigas, de modo que éstas brindan protección a la planta. Hay evidencia de que la atracción de las hormigas por hojas jóvenes es mediada químicamente, como se demostró al hacer un análisis comparativo con *L. africana* subsp. *gracilicaulis* que no es del agrado de las hormigas. Las hojas jóvenes estaban compuestas principalmente de VHV mientras que las hojas de la especie no atractiva (*L. africana* subsp. *gracilicaulis*) y las hojas maduras de la especie atractiva (*Leonardoxa africana*) tenían una abundante presencia de salicilato de metilo, que la hormiga emplea como antiséptico en sus nidos. Por tanto, se cree que la sustancia en mención sirve como atrayente y como recompensa para las hormigas por su trabajo protector (Brouat *et al.*, 2000).

Bacterias. Algunas rizobacterias liberan volátiles que promueven el crecimiento (Ryu *et al.*, 2003) e inducen la resistencia sistémica (Ryu *et al.*, 2004). La producción de volátiles orgánicos por parte de *Bacillus subtilis* y *B. amyloliquefaciens* estimularon el crecimiento de retoños en *Arabidopsis thaliana*, y de las mezclas emitidas se aislaron la 3-hidroxibutan-2-ona (acetoina) y el 2R,3R-butan-diol, como compuestos mayoritarios y exclusivos de los volátiles emitidos por las bacterias, que son los responsables de estimular el crecimiento, en función de la dosis (Ping y Boland, 2004).

Hongos. El hongo *Puccinia monoica* infecta algunas especies de la familia *Brassicaceae*, y modifica la morfología de la hoja al producir "pseudoflores" muy parecidas en color, tamaño, forma y hábito a las flores verdaderas. Este sistema ayuda en la reproducción sexual del hongo a través de los insectos que buscan alimento mediante señales visuales y olfatorias; las flores falsas producen una fragancia dulce que los insectos emplean como señal o exudan una solución rica en fructosa que puede servir como recompensa. La fragancia emitida por las flores falsas está compuesta principalmente de alcoholes aromáticos, aldehídos y ésteres (benzaldehído, fenil acetaldehído y fenil etil ésteres), y difiere completamente de la que emite su hospedero en flores y partes vegetativas (*Arabidopsis* spp. donde dominan los VHVs, y puede estar compuesta también de derivados volátiles de AG, pocos aromáticos, y uno que otro sesquiterpeno). Lo que aún no se sabe es si el hongo sintetiza los metabolitos *de novo* o produce la fragancia

por modificación de los metabolitos de la planta (Raguso y Roy, 1998).

Virus. El áfido *Rhopalosiphum padi* L. es una plaga que ataca a muchos cereales y también es vector del virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV, por sus siglas en inglés). Jiménez-Martínez *et al.* (2004) demostraron por primera vez que los volátiles emitidos por plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) infectadas con el virus BYDV influenciaron el comportamiento de los áfidos *R. padi*, al presentar éstos una respuesta preferencial por las plantas infectadas; los autores postularon que la liberación de los volátiles media esta atracción inducida por el virus, ya que los volátiles recolectados en el espacio cercano a las espigas de las plantas infectadas presentaron una mayor concentración, de acetato de (Z)-3-hexenilo.

Entomopatógenos. En la búsqueda de efectos que ocasionan los volátiles en otros organismos, se encontró que los volátiles emitidos por plantas de *Manihot esculenta* infestadas por *Mononychellus tanajoa*, disparan la esporulación del hongo entomopatógeno *Neozygites tanajoeae*. Los resultados mostraron dos efectos dependientes de las mezclas de volátiles empleadas; cuando se usaron volátiles de plantas sin daño los hongos no produjeron conidias, pero cuando se usaron volátiles inducidos por herbivoría comenzó la producción de conidias. Aunque reportaron algunos de volátiles emitidos por plantas sin daño (VHV) y de las emisiones inducidas por herbivoría ((3E)-4,8,-dimetil-1,3,7,-nonatrieno; (E)-(trans)-β-ocimeno; 4,8,12-trimetil-1,3(E),7(E),11-tridecatetraeno; salicilato de metilo y linalool), todavía no se conoce cuáles son responsables de este efecto dual (Hountondji *et al.*, 2005). Caso contrario fue el reportado por Baverstock *et al.* (2005) en el que el hongo entomopatógeno *Pandora neoaphidis* no respondió a las emisiones de volátiles inducidas por el áfido *Acyrtosiphon pisum* en *Vicia faba* (Baverstock *et al.*, 2005).

Mamíferos. Aunque son mas difíciles de determinar las interacciones con mamíferos, se descubrió que el canguro (*Macropus fuliginosus*) al buscar alimento evita las plantas de la familia *Myrtaceae* que son ricas en volátiles, lo cual logra mediante señales olfativas, porque el follaje contiene aceites esenciales potencialmente tóxicos (Jones *et al.*, 2003).

PERSPECTIVAS

Dado el papel de los volátiles en la polinización, se podrían manipular genéticamente las plantas económicamente rentables con polinización entomófila para que produzcan mezclas de volátiles específicas y sean más atractivas a los insectos polinizadores, al incrementar la frecuencia de las

visitas y disminuir la pérdida de polen y de la polinización interespecífica no exitosa, para mejorar así la producción. La ingeniería genética también beneficiaría la industria de la floricultura, al mantener o mejorar sus aromas debido a que las flores pierden su esencia a medida que envejecen (Vainstein *et al.*, 2001; Pichersky, 2004).

Siempre se han considerado a las feromonas como una alternativa amigable de control, pero por diversas razones ésta no ha prosperado. Una combinación de mezclas de volátiles con feromonas de insectos puede ocasionar atracción a trampas o modificar las respuestas de insectos hacia feromonas sexuales o de agregación (Müller y Hilker, 2000). El sinergismo entre feromonas de insectos y volátiles de plantas puede incrementar la atracción de enemigos naturales y ofrecer nuevas estrategias de control (Reddy y Guerrero, 2004).

Los volátiles de plantas también se pueden usar para protegerlas contra patógenos y plagas. Lo que se busca en un futuro es la expresión de genes involucrados en la síntesis de fragancias, que permitan que los volátiles puedan ser almacenados y al momento del daño ser utilizados como compuestos antimicrobianos o repelentes de herbívoros.

Si se incrementara el flujo metabólico de los compuestos volátiles implicados en repeler herbívoros o atraer parasitoides y depredadores, aumentaría la protección de las plantas en su medio natural y proporcionaría una alternativa de control biológico de plagas. Si se conocen los picos máximos de producción diurnos o nocturnos se pueden modificar las plantas para que generen mezclas de volátiles como defensa a determinadas horas del día (atracción de parasitoides) o de la noche (evitar postura de huevos) (Ryan, 2001). Pero la atracción de parasitoides y depredadores presentaría como desventaja la atracción de enemigos de los herbívoros sin que esté presente el hospedero. Además, no conviene esperar a que ocurra el ataque por herbívoros para iniciar el llamado. Igualmente, la emisión preventiva podría generar una asociación de aprendizaje que podría conducir a que los depredadores y parasitoides logren ignorar estas claves rápidamente. Una mejor opción sería producir variedades genéticamente modificadas que respondan de una manera contundente al ataque de plagas (Whitfield, 2001).

Los cultivos que liberan señales volátiles en respuesta al ataque de herbívoros pueden proporcionar las bases de una nueva era en el control de las plagas agrícolas. Todas estas propuestas de mejoramiento y control son promisorias, cuyo componente genético aún no se ha establecido. Hasta que las enzimas implicadas y los genes que las codifican no sean completamente conocidos y caracterizados, y los mecanismos de regulación, producción, respuesta y

emisión sean totalmente elucidados, se podrá predecir cómo se dan estas interacciones y el impacto que puedan ocasionar en condiciones naturales. Hasta el momento son grandes los avances obtenidos pero falta todavía mucho camino por recorrer, quizás por la complejidad del sistema y las vías información, además de la amplia cantidad de actores y factores que están comprometidos (Kessler y Baldwin, 2002).

Además de las relaciones planta-insecto y planta-planta, también deben estudiarse las relaciones con otros tipos de organismos, como mamíferos, microorganismos, etc. Para conocer de manera más profunda las interacciones en las que están comprometidos los volátiles, se debe determinar qué ocurre en los organismos receptores de la señal, cuáles son los efectos comportamentales que ocasionan sobre éstos, cómo reciben las señales, cómo son procesadas y cómo responden a esa información, así como establecer cuáles son los compuestos activos y responsables de dicha actividad (Dudareva y Negre, 2005).

AGRADECIMIENTOS

A la DGAPA-PAPIIT-UNAM por el apoyo parcial de para la realización de este trabajo a través de los proyectos de investigación No. IN-243802 e IN-211105-3, a la DGEP-UNAM por el otorgamiento de una beca de doctorado. También al Dr. Manuel Jiménez Estrada (Instituto de Química, UNAM), los árbitros y al editor por sus valiosos aportes y comentarios, y al Sr. Gustavo Zapata "Z" (Medellín, Colombia) por las magníficas ilustraciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Abassi S A, M A Birkett, J Pettersson, J A Pickett, L J Wadhams, C M Woodcock (2000) Response of the seven-spot ladybird to an aphid alarm pheromone and an alarm pheromone inhibitor is mediated by paired olfactory cells. *J. Chem. Ecol.* 26:1765-1771.
- Adams R P (1995) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectroscopy. 2nd ed. Allured Publ. Carol Stream, IL. USA. 468 p.
- Agelopoulos N G, A M Hooper, S P Maniar, J A Pickett, L J Wadhams (1999) A novel approach for isolation of volatile chemicals released by individual leaves of a plant *in situ*. *J. Chem. Ecol.* 25: 1411-1425.
- Agelopoulos N G, J A Pickett (1998) Headspace analysis in chemical ecology: effects of different sampling methods on ratios of volatile compounds present in headspace samples. *J. Chem. Ecol.* 24:1161-1172.
- Agrawal A A (2000) Communication between plants: this time it's real. *Trends Ecol. Evol.* 15:446.
- Aharoni A, A P Giri, S Deurleijn, F Griepink, W J de Kogel, F W A Verstappen, H A Verhoeven, M A Jongsma, W Schwab, H J Bouwmeester (2003) Terpenoid metabolism in wild-type and transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Cell* 15:2866-2884.
- Alborn H T, M M Brennan, J H Tumlinson (2003) Differential activity and degradation of plant volatile elicitors in regurgitant of tobacco hornworm (*Manduca sexta*) larvae. *J. Chem. Ecol.* 29:1357-1372.
- Alborn H T, T H Jones, G S Stenhagen, J H Tumlinson (2000) Identification and synthesis of volicitin and related components from beet armyworm oral secretion. *J. Chem. Ecol.* 26:203-220.
- Alborn H T, T C J Turlings, T H Jones, G Stenhagen, J H Loughrin, J H Tumlinson (1997) An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science* 296:945-949.
- Arimura G-I, D P W Huber, J Bohlmann (2004) Forest tent caterpillars (*Malacosoma disstria*) induce local and systemic diurnal emissions of terpenoid volatiles in hybrid poplar (*Populus trichocarpa* x *deltoides*): cDNA cloning, functional characterization, and patterns of gene expression of (-)-germacrene D synthase, PtdTPS1. *Plant J.* 37:603-616.
- Arimura G-I, C Kost, B Wilhelm (2005) Herbivore induced, indirect plant defenses. *Biochim. Biophys. Acta* 1734:91-111.
- Arimura G-I, R Ozawa, T Nishioka, W Boland, T Koch, F Kuhnemann, J Takabayashi (2002) Herbivory-induced volatiles induce the emission of ethylene in neighboring lima bean plants. *Plant J.* 29:87-98.
- Arimura G-I, R Ozawa, T Shimoda, T Nishioka, W Boland, J Takabayashi (2000) Herbivory-induced volatiles elicit defense genes in lima bean leaves. *Nature* 406:512-515.
- Arn H, E Stadler, S Rauscher (1975) The electroantennographic detector - A selective and sensitive tool in the gas chromatographic analysis of insect pheromones. *Zeitschrift Für Naturforschung* 30c:722-725.
- Baldwin I T, R Halitschke, A Kessler, U Schittko (2001) Merging molecular and ecological approaches in plant insect-interactions. *Curr. Op. Plant Biol.* 4:351-358.
- Baldwin I T, A Kessler, R Halitschke (2002) Volatile signaling in plant-plant-herbivore interactions: what is real? *Curr. Opin. Plant Biol.* 5:1-4.
- Barták P, P Bednár, L Cáp, L Ondráková, Z Stránský (2003) SPME - A valuable tool for investigation of flower scent. *J. Sep. Sci.* 26:715-721.
- Bate N J, S J Rothstein (1998) C6-volatiles derived from the lipoxigenase pathway induce a subset of defense-related genes. *Plant J.* 16:561-569.
- Baverstock J, S L Elliot, P G Alderson, J K Pell (2005) Response of the entomopathogenic fungus *Pandora neoaphidis* to aphid-induced plant volatiles. *J. Invert. Pathol.* 89:157-164.
- Beale M H, J L Ward (1998) Jasmonates: key players in the plant defence. *Nat. Prod. Rep.* 15:533-548.
- Bernays E A, R F Chapman (1994) Behaviour: the process of host-plant selection. In: Host Plant Selection by Phytophagous Insects. Chapman & Hall. USA. pp:95-150.
- Bestmann H J, L Winkler, O Von Helversen (1997) Headspace analysis of volatile flower scent constituents of bat-pollinated plants. *Phytochemistry* 46:1169-1172.
- Bezemer M, N M van Dam (2005) Linking aboveground and belowground interactions via induced plant defenses. *Trends Ecol. Evol.* 20:617-624.
- Birkett M A, K Chamberlain, E Guerrieri, J A Pickett, L J Wadhams, T Yasuda (2003) Volatiles from whitefly-infested plants elicit a host-locating response in the parasitoid, *Encarsia formosa*. *J. Chem. Ecol.* 29:1589-1600.
- Bleecker A B, H Kende (2000) Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 16:1-18.
- Boatright J, F Negre, X Chen, C M Kish, B Wood, G Peel, I Orlova, D Gang, D Rhoades, N Dudareva (2004) Understanding *in vivo* benzenoid metabolism in *Petunia* petal tissue. *Plant Physiol.* 135:1993-2011.
- Bohlmann J, D Martin, N J Oldham, J Gershenzon (2000) Terpenoid secondary metabolism in *Arabidopsis thaliana*: cDNA cloning, characterization, and functional expression of a myrcene/ (E)- β -ocimene synthase. *Arch. Biochem. Biophys.* 375:261-269.

- Borg-Karlson A K, F B England, C R Unelius (1994) Major volatiles released from *Sauromatum guttatum*. *Phytochemistry* 35:321-323.
- Borg-Karlson A K, J Tengo (1986) Odour mimetism? Key substances in *Ophrys lutea-Andrena* pollination. *J. Chem. Ecol.* 12:1927-1941.
- Bouwmeester H J, F W A Verstappen, M A Posthumus, M Dicke (1999) Spider mite-induced (3S)-(E)-nerolidol synthase activity in cucumber and lima bean. The first dedicated step in acyclic C11-homoterpene biosynthesis. *Plant Physiol.* 121:173-180.
- Bradow J M (1991) Relationships between chemical structure and inhibitory activity of C6 through C9 volatiles emitted by plant residues. *J. Chem. Ecol.* 17:2193-2212.
- Bradow J M, W J Connick (1988a) Seed germination inhibition by volatile alcohols and other compounds associated with *Amaranthus palmeri* residues. *J. Chem. Ecol.* 14:1633-1648.
- Bradow J M, W J Connick (1988b) Volatile methyl ketone seed germination inhibitors from *Amaranthus palmeri* S. Wats. residues. *J. Chem. Ecol.* 14:1617-1631.
- Brouat C, D McKey, J-M Bessiere, L Pascal, M Hossaert-mcKey (2000) Leaf volatile compounds and the distribution of ant patrolling in an ant-plant protection mutualism: Preliminary results on *Leonardoxa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and *Petalomyrmex* (Formicidae: Formicinae). *Acta Oecol.* 21:349-357.
- Bruce T J A, L J Wadhams, C M Woodcock (2005) Insect host location: a volatile situation. *Trends Plant Sci.* 10:269-274.
- Bruin J, M Dicke, M W Sabelis (1992) Plants are better protected against spider-mites after exposure to volatiles from infested conspecifics. *Experientia* 48:525-529.
- Bukovinsky T, R Gols, M A Posthumus, L E M Vet, J C van Lenteren (2005) Variation in plant volatiles and attraction of the parasitoid *Diadegma semiclausum* (hellen). *J. Chem. Ecol.* 31:461-480.
- Colazza S, A Fucarino, E Peri, G Salerno, E Conti, F Bin (2004a) Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. *J. Exp. Biol.* 207:47-53.
- Colazza S, J S Mcelfresh, J G Millar (2004b) Identification of volatile synomones, induced by *Nezara viridula* feeding and oviposition on bean spp, that attract the egg parasitoid *Trissolcus basalidis*. *J. Chem. Ecol.* 30:945-964.
- Connick W J, J M Bradow, M Legendre (1989) Identification and bioactivity of volatile allelochemicals from amaranth residues. *J. Agric. Food Chem.* 37:792-796.
- Creelman R A, J E Mullet (1997) Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:355-381.
- Crock J, M Wildung, R Croteau (1997) Isolation and bacterial expression of a sesquiterpene synthase cDNA clone from peppermint (*Mentha x piperita*, L.) that produces the aphid alarm pheromone (E)-farnesene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:12833-12838.
- Croft K P C, F Juttner, A J Slusarenko (1993) Volatile products of the lipoxygenase pathway evolved from *Phaseolus vulgaris* (L.) leaves inoculated with *Pseudomonas syringae* pv phaseolicola. *Plant Physiol.* 101:13-24.
- Croteau R (1987) Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. *Chem. Rev.* 87:929-954.
- Crowell A L, D C Williams, E M Davis, M R Wildung, R Croteau (2002) Molecular cloning and characterization of a new linalool synthase. *Arch. Biochem. Biophys.* 405:112-121.
- Crozier A, Y Kamiya, G Bishop, T Yokota (2000) Biosynthesis of hormones and elicitor molecules. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. B B Buchanan, W Gruissem, R L Jones (eds). American Society of Plant Physiologists. Rockville, MD. USA. pp:1250-1318.
- Chamberlain K, E Guerrieri, F Penacchio, J Pettersson, J A Pickett, G M Poppy, W Powell, L J Wadhams, C M Woodcock (2001) Can aphid-induced plant signals be transmitted aerially and through the rizosphere? *Biochem. Syst. Ecol.* 29:1063-1074.
- Chen F, D K Ro, J Petri, J Gershenzon, J Bohlmann, E Pichersky, D Tholl (2004) Characterisation of root-specific Arabidopsis terpene synthase responsible for the formation of the volatile monoterpene 1,8-cineole. *Plant Physiol.* 135:1956-1966.
- Cheng F, J C D'Auria, D Tholl, J R Ross, J Gershenzon, J P Noel, E Pichersky (2003a) An *Arabidopsis thaliana* gene for methylsalicylate biosynthesis, identified by a biochemical genomics approach, has a role in defense. *Plant J.* 36:577-588.
- Cheng F, D Tholl, J C D'Auria, A Farooq, E Pichersky, J Gershenzon (2003b) Biosynthesis and emission of terpenoid volatiles from Arabidopsis flowers. *Plant Cell* 15:481-494.
- D'Auria J C, F Chen, E Pichersky (2002) Characterisation of an acyltransferase capable of synthesizing benzylbenzoate and other volatile esters in flowers and damaged leaves of *Clarkia breweri*. *Plant Physiol.* 130:466-476.
- D'Maris A D, J Shah, D F Klessig (1999) Salicylic acid and disease resistance in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 18:547-575.
- De Bruxelles G L, M R Roberts (2001) Signals regulating multiple responses to wounding and herbivores. *Crit. Rev. Plant Sci.* 20:487-521.
- Degenhardt J, J Gershenzon (2000) Demonstration and characterisation of (E)-nerolidol synthase from maize: a herbivore-inducible terpene synthase participating in (3E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene biosynthesis. *Planta* 210: 815-822.
- De Moraes C M, W J Lewis, P W Paré, H T Alborn, J H Tumlinson (1998) Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature* 393:570-573.
- De Moraes C M, M C Mescher, J H Tumlinson (2001) Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel nonspecific females. *Nature* 410:577-580.
- Deng W, T R Hamilton-Kemp, M T Nielsen, R A Andersen, G B Collins, D F Hildebrand (1993) Effects of six-carbon aldehydes and alcohols on bacterial proliferation. *J. Agric. Food Chem.* 41:506-510.
- Dewulf J, H Van Langenhove, G Wittmann (2002) Analysis of volatile organic compounds using gas chromatography. *Trends Anal. Chem.* 21:637-646.
- Dicke M (1994) Local and systematic production of volatile herbivore-induced terpenoids: Their role in plant-carnivore mutualism. *J. Plant Physiol.* 143:465-472.
- Dicke M, A A Agrawal, J Bruin (2003) Plants talk, but are they deaf? *Trends Plant Sci.* 8:403-405.
- Dicke M, P V Baarlen, R Wessels, H Dijkman (1993) Herbivory induces systemic production of plant volatiles that attract predators of the herbivore: Extraction of endogenous elicitor. *J. Chem. Ecol.* 19:581-599.
- Dicke J, T A V Beek, M A Posthumus, N B Dom, H V Bokhoven, A E De Groot (1990a) Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predator-prey interactions. Involvement of host plants in its production. *J. Chem. Ecol.* 16:381-396.
- Dicke M, J Bruin (2001) Chemical information transfer between plants: back to the future. *Biochem. Syst. Ecol.* 29:981-994.
- Dicke M, H Dijkman (2001) Within-plant circulation of systemic elicitor of induced defence and release from roots of elicitor that affects neighboring plants. *Biochem. Syst. Ecol.* 29:1075-1087.
- Dicke M, J J A Van Loon (2000) Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomol. Exp. Appl.* 97:237-249.
- Dicke M, M W Sabelis, J Takabayashi, J Bruin, M A Posthumus (1990b) Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: prospects for application in pest control. *J. Chem. Ecol.* 11:3091-3115.
- Dicke M, J Takabayashi, M A Posthumus, C Schutte, O E Krips (1998) Plant-phytoseiid interactions mediated by prey-induced

- plant volatiles: variation in production of cues and variation in responses of predatory mites. *Exp. Appl. Acarol.* 22:311-333.
- Dickens J C (1989) Green leaf volatiles enhance aggregation pheromone of boll weevil, *Anthonomus grandis*. *Entomol. Exp. Appl.* 52:191-203.
- Dickens J C, R F Billings, T L Payne (1992) Green leaf volatiles interrupt aggregation pheromone response in bark beetles infesting southern pines. *Experientia* 48:523-524.
- Dickens J C, E B Jang, D M light, A R Alford (1990) Enhancement of insect pheromone responses by green leaf volatiles. *Naturwissenschaften* 77:29-31.
- Dolch R, T Tscharnkte (2000) Defoliation of alders (*Alnus glutinosa*) affects herbivory by leaf beetles on undamaged neighbours. *Oecologia* 125:504-511.
- Drukker B, P Scutareanu, M W Sabelis (1995) Do anthocoid predators respond to synomones from psylla-infested pear trees under field conditions. *Entomol. Exp. Appl.* 11:193-203.
- Du Y, G M Poppy, W Powell, J A Pickett, L J Wadhams, C M Woodcock (1998) Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. *J. Chem. Ecol.* 24:1355-1368.
- Dudareva N, L Cseke, V M Blanc, E Pichersky (1996) Evolution of floral scent in *Clarkia*: novel patterns of S-Linalool synthase gene expression in the *C. breweri* flower. *Plant Cell* 8:1137-1148.
- Dudareva N, J C D'Auria, K H Nam, R A Raguso, E Pichersky (1998a) Acetyl CoA:benzylalcohol acetyltransferase: an enzyme involved in floral scent production in *Clarkia breweri*. *Plant J.* 14:297-304.
- Dudareva N, L M Murfitt, C J Mann, N I Gorenstein, N Kolosova, C M Kish, C Bonham, K Wood (2000) Developmental regulation of methyl benzoate biosynthesis and emission in snapdragon flowers. *Plant Cell* 12:949-961.
- Dudareva N, F Negre (2005) Practical applications of research into the regulation of plant volatile emission. *Curr. Op. Plant Biol.* 8:113-118.
- Dudareva N, E Pichersky (2000) Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiol.* 122:627-633.
- Dudareva N, E Pichersky, J Gershenzon (2004) Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiol.* 135:1893-1902.
- Dudareva N, R A Raguso, J Wang, J R Ross, E Pichersky (1998b) Floral scent production in *Clarkia breweri*: III. Enzymatic synthesis and emission of benzenoid esters. *Plant Physiol.* 116:599-604.
- Effmert U, S Saschenbrecker, J Ross, F Negre, C M Fraser, J P Noel, N Dudareva, B Piechulla (2005) Floral benzenoid carboxyl methyltransferases: From *in vitro* to in planta function. *Phytochemistry* 66:1211-1230.
- Engelbert J, T Koch, F Kuhnemann, W Boland (2000) Channel-forming peptaibols are potent elicitors of plant secondary metabolism and trendil coiling. *Angewandte Chemie Intl Ed.* 39:1860-1862.
- Ezra D, J Jasper, T Rogers, B Knighton, E Grimsrud, G Strobel (2004) Proton transfer reaction mass-spectrometry as a technique to measure volatile emissions of *Muscodor albus*. *Plant Sci.* 166:1471-1477.
- Faleiro L L, M Graca, S Gomes, L Costa, F Venancio, A Teixeira, A C Figueiredo, J G Barroso, L G Pedro (2005) Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare*. *J. Agric. Food Chem.* 53:8162-8168.
- Farmer E E (1997) New fatty acid-based signals: a lesson from the plant world. *Science* 276:912-913.
- Farmer E E (2001) Surface-to-air signals. *Nature* 411:854-856.
- Fernando W G D, R Ramarathnam, A S Krishnamoorthy, S C Savchuk (2005) Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. *Soil Biol. Biochem.* 37:955-964.
- Ferry N, M G Edwards, J A Gatehouse, A M R Gatehouse (2004) Plant-insect interactions: molecular approaches to insect resistance. *Curr. Opin. Biotech.* 15:155-161.
- Finch S, R H Collier (2000) Host-plant selection by insects a theory based on 'appropriate/inappropriate landings' by pest insects of cruciferous plants. *Entomol. Exp. Appl.* 96:91-102.
- Flamini G, P L Cioni, I Morelli (2003) Use of solid-phase micro-extraction as a sampling technique in the determination of volatiles emitted by flowers, isolated flower parts and pollen. *J. Chromatogr. A.* 998:229-233.
- Frey M, C Stettner, P W Paré, E A Schmelz, J H Tumlinson, A Gierl (2000) An herbivore elicitor activates the gene for indole emission in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:14801-14806.
- Friedman M, P Rhenika, R E Mandrell (2002) Bactericidal activities of plant essential oils. *J. Food Prot.* 65:1545-1560.
- Fukami H, T Asakura, H Hirano, K Abe, K Shimomura, T Yamakawa (2002) Salicylic acid carboxyl methyltransferase induced in hairy root cultures of *Atropa belladonna* after treatment with exogenously added salicylic acid. *Plant Cell Physiol.* 43:1054-1058.
- Gardner H W, L D Dornbos Jr, A E Desjardins (1990) Hexanal, trans-2-Hexenal, and trans-2-Nonenal inhibit soybean, *Glycine max*, seed germination. *J. Agric. Food Chem.* 38:1316-1320.
- Gatehouse J A (2002) Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. *New Phytol.* 156:145-169.
- Geervliet J B F, M A Posthumus, L E Vet, M Dicke (1997) Comparative analysis of headspace volatiles from different caterpillar-infested and uninfested food plants of *Pieris* species. *J. Chem. Ecol.* 23:2935-2954.
- Gouinguéné S P, T C J Turlings (2002) The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. *Plant Physiol.* 129:1296-1307.
- Guerrieri E, G M Poppy, W Powell, R Rao, F Pennacchio (2002) Plant-to-plant communication mediating in-flight orientation of *Aphidius ervi*. *J. Chem. Ecol.* 28:1703-1715.
- Guerrieri E, G M Poppy, W Powell, E Tremblay, F Pennacchio (1999) Induction and systemic release of herbivore-induced plant volatiles mediating in-flight orientation of *Aphidius ervi*. *J. Chem. Ecol.* 25:1247-1262.
- Halitschke R, U Schittko, G Pohnert, W Boland, I T Baldwin (2001) Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. III. Fatty acid amino acid conjugates in herbivore oral secretions are necessary and sufficient for herbivore-specific plant responses. *Plant Physiol.* 125:711-717.
- Hamilton-Kemp T R, C T McCracken, J H Loughrin, R A Andersen, D F Hildebrand (1992) Effects of some natural volatile compounds on the pathogenic fungi *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea*. *J. Chem. Ecol.* 18:1083-1091.
- Hammer K A, C F Carson, T V Riley (2003) Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *J. Appl. Microbiol.* 95:853-860.
- Harborne J B (1988) Introduction to Ecological Biochemistry. 3rd ed. Academic press. UK. 356 p.
- Harborne J B (2001) Secondary metabolites: attracting pollinators. In: Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester. <http://www.els.net/> 1-5. [doi: 10.1038/npg.els.0000909].
- Hatanaka A (1993) The biogeneration of green odour by green leaves. *Phytochemistry* 34:1201-1218.
- Hatanaka A, T Kajiwara, J Sekiya (1987) Biosynthetic pathway for C6-aldehydes formation from linolenic acid in green leaves. *Chem. Phys. Lipids* 44:341-361.
- Heil M (2004) Induction of two indirect defences benefits lima bean (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae) in nature. *J. Ecol.* 92:527-536.

- Hildebrand D F, G C Brown, D M Jackson, T R Hamilton-Kemp (1993) Effects of some leaf-emitted volatile compounds on aphid population increase. *J. Chem. Ecol.* 19:1875-1887.
- Hilker M, C Kobs, M Varama, K Schrank (2002) Insect egg deposition induces pinus to attract egg parasitoids. *J. Exp. Biol.* 205:455-461.
- Hilker M, T Meiners (2002) Induction of plant responses to oviposition and feeding by herbivorous arthropods: a comparison. *Entomol. Exp. Appl.* 104:181-192.
- Hilker M, C Stein, R Schröder, M Varama, R Mumm (2005) Insect egg deposition induces defence responses in *Pinus sylvestris*: characterisation of the elicitor. *J. Exp. Biol.* 208:1849-1854.
- Holopainen J K (2004) Multiple functions of inducible plant volatiles. *Trends Plant Sci.* 9:529-533.
- Hountondji F C C, M W Sabelis, R Hanna, A Janssen (2005) Herbivore-induced plant volatiles trigger sporulation in entomopathogenic fungi: the case of *Neozygites tanajoae* infecting the Cassava green mite. *J. Chem. Ecol.* 31:1003-1021.
- Husson F, J M Belin (2002) Purification of hydroperoxide lyase from green bell pepper (*Capsicum annuum* L.) fruits for the generation of C6-aldehydes in vitro. *J. Agric. Food Chem.* 50:1991-1995.
- Jaffé K, P Sánchez, H Cerda, J V Hernandez, R Jaffé, N Urdaneta, G Guerra, R Martínez, B Miras (1993) Chemical ecology of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): attraction to host plants and to a male-produced aggregation pheromone. *J. Chem. Ecol.* 19:1703-1720.
- Jiménez-Martínez E S, N A Bosque-Perez, P H Berger, R S Zemetra, H J Ding, S D Eigenbrode (2004) Volatile cues influence the response of *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) to barley yellow dwarf virus-infected transgenic and untransformed wheat. *Environ. Entomol.* 33:1207-1216.
- Jolivet P (1998) Pollination. In: Interrelationship Between Insects and Plants. CRC Press. USA. pp:173-200.
- Jones A S, B B Lamont, M M Fairbanks, C M Rafferty (2003) Kangaroos avoid eating seedlings with or near others with volatile essential oils. *J. Chem. Ecol.* 29:2621-2635.
- Karban R, I T Baldwin, K J Baxter, G Laue, G W Felton (2000) Communication between plants: induced resistance in wild tobacco plants following clipping of neighboring sagebrush. *Oecologia* 125:66-71.
- Karban R, J Maron (2002) The fitness consequences of interspecific eavesdropping between plants. *Ecology* 83:1209-1213.
- Karban R, J Maron, G W Felton, G Ervin, H Eichenseer (2003) Herbivore damage to sagebrush induces resistance in wild tobacco: evidence for eavesdropping between plants. *Oikos* 100:325-332.
- Kende H (1993) Ethylene biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44:283-307.
- Kessler A, I T Baldwin (2001) Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science* 291:2141-2144.
- Kessler A, I T Baldwin (2002) Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53:299-328.
- Kieber J J (1997) The ethylene response pathway in Arabidopsis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:277-296.
- Kim Y S, C-S Hwang, D-H Shin (2005) Volatile constituents from the leaves of *Polygonum cuspidatum* S. et Z. and their anti-bacterial activities. *Food Microbiol.* 22:139-144.
- Kite G C (1995) The Floral Odour of *Arum maculatum*. *Biochem. Syst. Ecol.* 23:343-354.
- Knudsen J T, L Tollsten, L G Bergstrom (1993) Floral scents - a checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques. *Phytochemistry* 33:253-280.
- Kolosova N, D Sherman, K Karlson, N Dudareva (2001) Cellular and subcellular localization of S-adenosyl-L-methionine: Benzoic acid carboxyl methyltransferase, the enzyme responsible for biosynthesis of the volatile ester methylbenzoate in snapdragon flowers. *Plant Physiol.* 126:956-964.
- Kunert M, A Biedermann, T Koch, W Boland (2002) Ultrafast sampling and analysis of plant volatiles by a hand-held miniaturised GC with pre-concentration unit: Kinetic and quantitative aspects of plant volatile production. *J. Sep. Sci.* 25:677-684.
- Lavid N, J Wang, M Shalit, I Guterman, E Bar, T Beuerle, N Menda, S Shafir, D Zamir, Z Adam, A Vainstein, D Weiss, E Pichersky, E Lewinsohn (2002) O-methyltransferases involved in the biosynthesis of volatile phenolic derivatives in rose petals. *Plant Physiol.* 129:1899-1907.
- León J, J Royo, G Vancanneyt, C Sanz, H Silkowski, G Griffiths, J J Sánchez-Serrano (2002) Lipoygenase h1 gene silencing reveals a specific role in supplying fatty acid hydroperoxides for aliphatic aldehyde production. *J. Biol. Chem.* 277:416-423.
- Logan B A, R K Monson, M J Postonak (2000) Biochemistry and physiology of foliar isoprene production. *Trends Plant Sci.* 5:1765-1769.
- Loon van J J A, G J de Boer, M Dicke (2000) Parasitoid-plant mutualism: parasitoid attack of herbivore increases plant reproduction. *Entomol. Exp. Appl.* 97:219-227.
- Loreto F, A Förster, M Dürr, O Csiky, G Seufert (1998) On the monoterpene emission under heat stress and on the increased thermotolerance of leaves of *Quercus ilex* L. fumigated with selected monoterpenes. *Plant Cell Environ.* 21:101-107.
- Loreto F, M Mannozi, C Maris, P Nascetti, F Ferranti, S Pasqualini (2001) Ozone quenching properties of isoprene and its antioxidant role in leaves. *Plant Physiol.* 126:993-1000.
- Loreto F, V Velikova (2001) Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiol.* 127:1781-1787.
- Lou Y-G, B Ma, J-A Cheng (2005) Attraction of the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* to rice volatiles induced by the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *J. Chem. Ecol.* 31:2357-2372.
- Loughrin J H, T R Hamilton-Kemp, R A Andersen, D F Hildebrand (1990) Head-space compounds from flowers of *Nicotiana tabacum* and related species. *J. Agric. Food Chem.* 38:455-460.
- Loughrin J H, A Manukian, R R Heath, T C J Turlings, J H Tumlinson (1994) Volatiles emitted by different cotton varieties damaged by feeding beet armyworm larvae. *J. Chem. Ecol.* 21:1217-1227.
- Llusià J, J Peñuelas, D Asensio, S M Bosch (2005) Airborne limonene confers limited thermotolerance to *Quercus ilex*. *Physiol. Plant.* 123:40-48.
- Maruyama T, M Ito, G Honda (2001) Molecular cloning, functional expression and characterisation of (E)- β -farnesene synthase from *Citrus junos*. *Biol. Pharm. Bull.* 24 1171-1175.
- Matich A J, D D Rowan, N H Banks (1996) Solid phase microextraction for quantitative headspace sampling of apple volatiles. *Anal. Chem.* 68:4114-4118.
- Mattiacci L, M Dicke, M A Posthumus (1995) β -glucosidase: an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:2036-2040.
- McCaskill D, R Croteau (1998) Some caveats for bioengineering terpenoid metabolism in plants. *Trends Biotech.* 16:349-355.
- McGarvey D J, R Croteau (1995) Terpenoid metabolism. *Plant Cell* 7:1015-1026.
- Meiners T, M Hilker (1997) Host location in *Oomyzus gallerucae* (Hymenoptera: Eulophidae), an egg parasitoid of the elm leaf beetle *Xanthogalura luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Oecologia* 112:87-93.
- Meiners T, M Hilker (2000) Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. *J. Chem. Ecol.* 26:221-232.
- Metraux J-P (2002) Recent breakthroughs in the study of salicylic acid biosynthesis. *Trends Plant Sci.* 7:332-334.

- Millar J G, K F Haynes (1998) Preparation, cleanup and preliminary fractionation of extracts: *In: Methods in Chemical Ecology* Volume 1. Chemical Methods. J G Millar, K F Haynes (eds). Kluwer Academic Publishers. USA. pp:8-19.
- Mita G, A Gallo, V Greco, C Zasiura, R Casey, G Zacheo, A Santino (2001) Molecular cloning and biochemical characterization of a lipoxygenase in almond (*Prunus dulcis*) seed. *Eur. J. Biochem. (FEBS)* 268:1500-1507.
- Mita G, A Quarta, P Fasano, A De Paolis, G P Di Sansebastiano, C Perrotta, R Iannacone, E Belfield, R Hughes, N Tsesmetzis, R Casey, A Santino (2005) Molecular cloning and characterization of an almond 9-hydroperoxide lyase, a new CYP74 targeted to lipid bodies. *J. Exp. Bot.* 419:2321-2333.
- Mori K (1999) Miscellaneous natural products, including marine natural products, pheromones, plant hormones and aspects of ecology. Volume 8. *In: Comprehensive Natural Products Chemistry*. Sir D Barton, K Nakanishi (eds). Elsevier. UK. 748 p.
- Mori N, H T Alborn, P E A Teal, J H Tumlinson (2001) Enzymatic decomposition of elicitors of plant volatiles in *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea*. *J. Insect Physiol.* 47:749-757.
- Mori N, N Yoshinaga, Y Sawada, M Fukui, M Shimoda, K Fujisaki, R Nishida, Y Kuwahara (2003) Identification of volicitin-related compounds from the regurgitant of lepidopteran caterpillars. *Biosci. Biotech. Biochem.* 67:1168-1171.
- Müller C, M Hilker (2000) The effect of a green leaf volatile on host plant finding by larvae of a herbivorous insect. *Naturwissenschaften* 87:216-219.
- Mumm R, K Schrank, R Wegener, S Schulz, M Hilker (2003) Chemical analysis of volatiles emitted by *Pinus sylvestris* after induction by insect oviposition. *J. Chem. Ecol.* 29:1235-1252.
- Murfitt L M, N Kolosova, C J Mann, N Dudareva (2000) Purification and characterization of S-adenosyl-L-methionine: benzoic acid carboxyl methyltransferase, the enzyme responsible for biosynthesis of the volatile ester methyl benzoate in flowers of *Antirrhinum majus*. *Arch. Biochem. Biophys.* 382:145-151.
- Negre F, C M Kish, J Boatright, B Underwood, K Shibuya, C Wagner, D G Clark, N Dudareva (2003) Regulation of methylbenzoate emission after pollination in snapdragon and petunia flowers. *Plant Cell* 15:2992-3006.
- Negre F, N Kolosova, J Knoll, C M Kish, N Dudareva (2002) Novel S-adenosyl-L-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase, an enzyme responsible for biosynthesis of methyl salicylate and methyl benzoate, is not involved in floral scent production in snapdragon flowers. *Arch. Biochem. Biophys.* 406:261-270.
- Niinemetts U, F Loreto, M Reichstein (2004) Physiological and physicochemical controls on foliar volatile organic compound emissions. *Trends Plant Sci.* 9:180-186.
- Noordermeer M A, A J H van Dijken, S C M Smeekens, G A Veldink, J F G Vliegthart (2000) Characterization of three cloned and expressed 13-hydroperoxide lyase isoenzymes from alfalfa with unusual N-terminal sequences and different enzyme kinetics. *Eur. J. Biochem. (FEBS)* 267:2473-2482.
- Ômura H, K Honda, N Hayashi (2000) Floral scent of *Osmanthus fragrans* discourages foraging behavior of cabbage butterfly, *Pieris rapae*. *J. Chem. Ecol.* 26:655-666.
- Owen M S, J Peñuelas (2005) Opportunistic emissions of volatile isoprenoids. *Trends Plant Sci.* 10:420-426.
- Paré P W, H T Alborn, J H Tumlinson (1998) Concerted biosynthesis of an insect elicitor of plant volatiles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:13971-13975.
- Paré P W, J H Tumlinson (1996) Plant volatile signals in response to herbivore feeding. *Behavioral Ecology Symposium '95*. Fla. Entomol. 79:93-103.
- Paré P W, J H Tumlinson (1997a) *De novo* biosynthesis of volatiles induced by insect herbivore in cotton plants. *Plant Physiol.* 114:1161-1167.
- Paré P W, J H Tumlinson (1997b) Induced synthesis of plant volatiles. *Nature* 385:30-31.
- Paré P W, J H Tumlinson (1999) Plant volatiles as a defense against Insect Herbivores. *Plant Physiol.* 121:325-331.
- Peñuelas J, J Llusà (2001) The complexity of factors driving volatile organics compound emissions by plants. *Biol. Plantarum* 44:481-487.
- Peñuelas J, J Llusà (2002) Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in Quercus. *New Phytol.* 15:227-237.
- Peñuelas J, J Llusà (2003) BVOCs: plant defense against climate warming?. *Trends Plant Sci.* 8:105-108.
- Peñuelas J, J Llusà (2004) Plant VOC emissions: making use of the unavoidable. *Trends Ecol. Evol.* 9:402-404.
- Pichersky E (2004) Plant scents. *Am. Sci.* 92:514-521.
- Pichersky E, J Gershenzon (2002) The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Curr. Op. Plant Biol.* 5:237-243.
- Pichersky E, E Lewinsohn, R Croteau (1995) Purification and characterization of S-linalool synthase, an enzyme involved in the production of floral scent in *Clarkia breweri*. *Arch. Biochem. Biophys.* 316:803-807.
- Pichersky E, R A Raguso, E Lewinsohn, R Croteau (1994) Flower scent production in Clarkia (Onagraceae). I. Localization and developmental modulation of monoterpenes emission and linalool synthase activity. *Plant Physiol.* 106:1533-1540.
- Piel J, R Atzorn, R Gaebler, F Kuëhnemann, W Boland (1997) Cellulysin from the plant parasitic fungus *Trichoderma viride* elicits volatile biosynthesis in higher plants via the octadecanoid signaling cascade. *FEBS Letters* 416:143-148.
- Ping L, W Boland (2004) Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci.* 9:263-266.
- Pohnert G, V Jung, E Haukioja, K Lempa, W Boland (1999) New fatty acid amides from regurgitant of lepidopteran (Noctuidae, Geometridae) caterpillars. *Tetrahedron* 55:11275-11280.
- Pott M B, U Effmert, B Piechulla (2003) Transcriptional and post-translational regulation of S-adenosyl-L-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase (SAMT) during *Stephanotis floribunda* flower development. *J. Plant Physiol.* 160:635-643.
- Pott M B, F Hippauf, S Saschenbrecker, F Chen, J Ross, I Kiefer, A Slusarenko, J P Noel, E Pichersky, U Effmert, B Piechulla (2004) Biochemical and structural characterization of benzenoid carboxyl methyltransferases involved in floral scent production in *Stephanotis floribunda* and *Nicotiana suaveolens*. *Plant Physiol.* 135:1946-1955.
- Putten Van der W H, L E M Vet, J A Harvey, F L Wäckers (2001) Linking above- and belowground multitrophic interactions of plants, herbivores, pathogens, and their antagonists. *Trends Ecol. Evol.* 16:547-554.
- Raguso R A (2001) Floral scent. Olfaction, and scent-driven foraging behaviour. *In: Cognitive Ecology of Pollination, Animal Behavior and Floral Evolution*. L Chittka, J D Thomson (eds). Cambridge University Press. UK. pp:83-105.
- Raguso R A, B A Roy (1998) "Floral" scent production by Puccinia rust fungi that mimic flowers. *Mol. Ecol.* 7:1127-1136.
- Raskin I (1992) Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43:439-463.
- Reddy G V P, A Guerrero (2004) Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends Plant Sci.* 9:253-261.
- Rose U S R, A Manukian, R R Heath, J H Tumlinson (1996) Volatile semiochemicals released from undamaged cotton leaves. *Plant Physiol.* 111:487-495.
- Roseck J, M Pietsch, W A König (2000) Volatile constituents of wood-rotting basidiomycetes. *Phytochemistry* 54:747-750.
- Rosenstiel T N, A L Ebbets, W C Khatri, R Fall, R K Monson (2004) Induction of poplar leaf nitrate reductase: a test of extrachloroplastic control of isoprene emission rate. *Plant Biol.* 6:12-21.

- Rosenthal G A, M R Berenbaum (1991) Herbivores their Interactions with Secondary Plant Metabolites Volume I: The Chemical Participants. G A Rosenthal, M R Berenbaum (eds). 2nd ed. Academic Press, Inc. USA. 468 p.
- Rosenthal G A, M R Berenbaum (1992) Herbivores their Interactions with Secondary Plant Metabolites Volume II: Ecological and Evolutionary Processes. G A Rosenthal, M R Berenbaum (eds). 2nd ed. Academic Press, Inc. USA. 493 p.
- Ross J R, K H Nam, J C D'Auria, E Pichersky (1999) S-adenosyl-L-methionine:salicylic acid carboxyl methyltransferase, an enzyme involved in floral scent production and plant defense, represents a new class of plant methyltransferases. Arch. Biochem. Biophys. 367:9-16.
- Ruther J (2000) Retention index database for identification of general green leaf volatiles in plants by coupled capillary gas chromatography mass spectrometry. J. Chromatogr. A. 890:313-319.
- Ruther J, M Hilker (1998) A versatile method for on-line analysis of volatile compounds from living samples. J. Chem. Ecol. 24:525-534.
- Ryan C A (2001) Night moves of pregnant moths. Nature 410:530-531.
- Ryu C M, M A Farag, C-H Hu, M S Reddy, H-X Wei, J W Kloepper, P W Paré (2004) Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidopsis. Plant Physiol. 134:1017-1026.
- Ryu C M, M A Farag, C-H Hu, M S Reddy, H-X Wei, P W Paré, J W Kloepper (2003) Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100:4927-4932.
- Sánchez-Serrano J J (2001) Plant responses to wounding. In: Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, Ltd : Chichester. <http://www.els.net/> 1-5. [doi: 10.1038/npg.els.0001321].
- Santino A, A De Paolis, A Gallo, A Quarta, R Casey, G Mita (2003) Biochemical and molecular characterization of hazelnut (*Corylus avellana*) seed lipoxygenases. Eur. J. Biochem. (FEBS) 270: 4365-4375.
- Santino A, R Iannaccone, R Hughes, R Casey, G Mita (2005) Cloning and characterization of an almond 9-lipoxygenase expressed early during seed development. Plant Sci. 168:699-706.
- Saritas Y, M M Sonwa, H Iznaguen, W A König, H Muhle, R Mues (2001) Volatile constituents in mosses (Musci). Phytochemistry 57:443-457.
- Scutareanu P, B Drukker, J Bruin, M A Posthumus, M W Sabelis (1997) Isolation and identification of volatile synomones involved in the interaction between Psylla-infested pear trees and two anthocoid predators. J. Chem. Ecol. 23:2241-2260.
- Schardl C L (2002) Plant defences against herbivore and insect attack. In: Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. <http://www.els.net/> 1-5. [doi: 10.1038/npg.els.0001324].
- Schiestl F P, M Ayasse (2001) Post-pollination emission of a repellent compound in a sexually deceptive orchid: a new mechanism for maximizing reproductive success?. Oecologia 126:531-534.
- Schiestl F P, M Ayasse, H F Paulus, D Erdmann, W Francke (1997) Variation of floral scent emission and postpollination changes in individual flowers of *Ophrys sphegodes* subsp. *Sphogodes*. J. Chem. Ecol. 23:2881-2895.
- Schiestl F P, M Ayasse, H F Paulus, C Löfstedt, B S Hansson, F Ibarra, W Francke (1999) Orchid pollination by sexual swindle. Nature 399:3.
- Schittko U, D Hermsmeier, I T Baldwin (2001) Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. II. Accumulation of plant mRNAs in response to insect-derived cues. Plant Physiol. 125:701-710.
- Schuurink R C, M A Haring, D G Clark (2006) Regulation of volatile benzenoid biosynthesis in petunia flowers. Trends Plant Sci. 11:20-25.
- Shen B Z, Z W Zheng, H K Dooner (2000) A maize sesquiterpene cyclase gene induced by insect herbivory and volicitin: characterization of wild-type and mutant alleles. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:14807-14812.
- Shimada M T, T Endoa, H Fujiia, M Harab, M Omura (2005) Isolation and characterization of (*E*)-beta-ocimene and 1,8 cineole synthases in *Citrus unshiu*. Plant Sci. 168:987-995.
- Shimoda T, J Takabayashi, W Ashihara, A Takafuji (1997) Response of predatory insect *Scolothrips takahashii* toward herbivore-induced plant volatiles under laboratory and field conditions. J. Chem. Ecol. 23:2033-2048.
- Spiteller D, K Dettner, W Boland (2000) Gut bacteria may be involved in interactions between plants, herbivores and their predators: microbial biosynthesis of N-acylglutamine surfactants as elicitors of plant volatiles. Biol. Chem. 381:755-762.
- Sridhar S R, R V Rajagopal, R Rajavel, S Masilamani, S Narasimhan (2003) Antifungal activity of some essential oils. J. Agric. Food Chem. 51:7596-7599.
- Steeghs M, H P Bais, J de Gouw, P Goldan, W Kuster, M Northway, R Fall, J M Vivanco (2004) Proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) as a new tool for real time analysis of root-secreted volatile organic compounds (VOCs) in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol. 135:47-58.
- Takabayashi J, M Dicke (1996) Plant-carnivore mutualism through herbivore-induced carnivore attractants. Trends Plant Sci. 1:109-113.
- Takabayashi J, M Dicke, M A Posthumus (1994a) Volatile herbivore-induced terpenoids in plant-mite interactions: Variation caused by biotic and abiotic factors. J. Chem. Ecol. 20:1329-1354.
- Takabayashi J, M Dicke, S Takahashi, M A Posthumus, T A Van Beek (1994b) Leaf age affects composition of herbivore-induced synomones and attraction of predatory mites. J. Chem. Ecol. 20:373-386.
- Takabayashi J, S Takahashi, M Dicke, M A Posthumus (1995) Developmental stage of herbivore *Pseudaletia separata* affects production of herbivore-induced synomone by corn plants. J. Chem. Ecol. 21:273-287.
- Thaler J S (1999) Jasmonate-inducible plant defences cause increased parasitism of herbivores. Nature 399:686-688.
- Tijet N, C Schneider, B L Muller, A R Brash (2001) Biogenesis of volatile aldehydes from fatty acid hydroperoxides: molecular cloning of a hydroperoxide lyase (CYP74C) with specificity for both the 9- and 13-hydroperoxides of linoleic and linolenic acids. Arch. Biochem. Biophys. 386:281-289.
- Truitt C L, P W Paré (2004) *In situ* translocation of volicitin by beet armyworm larvae to maize and systemic immobility of the herbivore elicitor in planta. Planta 218:999-1007.
- Truitt C L, H-X Wei, P W Paré (2004) A plasma membrane protein from *Zea mays* binds with the herbivore elicitor volicitin. Plant Cell 16:523-532.
- Tscharntke T, S Thiesen, R Dolch, W Boland (2001) Herbivory, induced resistance and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*. Biochem. Syst. Ecol. 29:1025-1047.
- Tumlinson H J, W J Lewis, L E M Vet (1993) How parasitic wasps find their hosts? Sci. Am. 268:46-52.
- Turlings T C J, J H Loughrin, P J McCall, U S R Rose, W J Lewis, J H Tumlinson (1995) How caterpillars-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:4169-4174.
- Turlings T C J, P J McCall, H T Alborn, J H Tumlinson (1993) An elicitor in caterpillar oral secretions that induces corn seedlings to emit chemical signals attractive to parasitic wasps. J. Chem. Ecol. 19:411-425.
- Turlings T C J, J H Tumlinson (1992) Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:8399-8402.
- Turlings T C J, J H Tumlinson, R R Heath, A T Proveaux, R E Doolittle (1991) Isolation of allelochemicals that attract the larval

- parasitoid *Cotesia marginiventris* (Gesson), to the microhabitat of one of its hosts. *J. Chem. Ecol.* 17:2235-2251.
- Turlings T C J, J H Tumlinson, W J Lewis (1990)** Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* 250:1251-1253.
- Vainstein A, E Lewinsohn, E Pichersky, D Weiss (2001)** Floral Fragrance. New inroads into an old commodity. *Plant Physiol.* 127:1383-1389.
- Vancanneyt G, C Sanz, T Farmaki, M Paneque, F Ortego, P Castañera, J J Sánchez-Serrano (2001)** Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to an increase in aphid performance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:8139-8144.
- Vaughn S F (2001)** Plant volatiles. *In: Encyclopedia of Life Sciences.* John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. <http://www.els.net/> 1-6. [doi: 10.1038/npg.els.0000910].
- Wadhams L J (1982)** Coupled Gas chromatography - Single Cell Recording: a new technique for use in the analysis of insect pheromones. *Zeitschrift Für Naturforschung* 37c:947-952.
- Walling L L (2000)** The myriad plant responses to herbivores. *J. Plant Growth Reg.* 19:195-216.
- Wang J, N Dudareva, S Bhakta, R A Raguso, E Pichersky (1997)** Floral scent production in *Clarkia breweri* (Onagraceae). II. Localization and developmental modulation of the enzyme SAM:(Iso)Eugenol O-methyltransferase and phenylpropanoid emission. *Plant Physiol.* 114:213-221.
- Wang J, E Pichersky (1998)** Characterization of S-adenosyl-L-methionine: (iso)eugenol O-methyltransferase involved in floral scent production in *Clarkia breweri*. *Arch. Biochem. Biophys.* 349:153-160.
- Wegener R, S Schulz, T Meiners, K Hadwich, M Hilker (2001)** Analysis of volatiles induced by oviposition of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* on *Ulmus minor*. *J. Chem. Ecol.* 27:499-515.
- Weißbecker B, S Schütz, A Klein, H E Hummel (1997)** Analysis of volatiles emitted by potato plants by means of a Colorado beetle electroantennographic detector. *Talanta* 44:2217-2224.
- Whitfield J (2001)** Making crops cry for help. *Nature* 410:736-737.
- Wibe A (2004)** How the choice of method influence on the results in electrophysiological studies of insect olfaction. *J. Insect Physiol.* 50:497-503.
- Wilson I M, J H Borden, R Gries, G Gries (1996)** Green leaf volatiles as antiaggregants for the mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae* Hopkins (Coleoptera: Scolytidae). *J. Chem. Ecol.* 22:1861-1875.
- Yoshinaga N, N Morigaki, F Matsuda, R Nishida, N Mori (2005)** *In vitro* biosynthesis of volicitin in *Spodoptera litura*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 35:175-184.
- Yoshinaga N, Y Sawada, R Nishida, Y Kuwahara, N Mori (2003)** Specific incorporation of L-glutamine into volicitin in the regurgitant of *Spodoptera litura*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 67:2655-2657.
- Zeidler J G, H K Lichtenthaler, H U May, F W Lichtenthaler (1997)** Is isoprene emitted by plants synthesized via the novel isopentenyl pyrophosphate pathway?. *Zeitschrift Für Naturforschung* 52:15-23.
- Zeringue Jr H J (1992)** Effects of C6-C10 alkenals and alkanals on eliciting a defense response in the developing cotton boll. *Phytochemistry* 31:2305-2308.
- Zeringue H J, R L Brown, J N Neucere, T E Cleveland (1996)** Relationships between C6-C12 alkanal and alkenal volatile contents and resistance of maize genotypes to *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *J. Agric. Food Chem.* 44:403-407.
- Zubieta C, J R Ross, P Koscheski, Y Yang, E Pichersky, J P Noel (2003)** Structural basis for substrate recognition in the salicylic acid methyltransferase family. *Plant Cell* 15:1704-1716