

Pro Gradu –tutkielma

**Lisääntymissysteemin vaikutus metsäkurjenpolven
(*Geranium sylvaticum*) patogeeni-resistenssiin**

Kristiina Kähkölä



Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Ekologia ja evoluutiobiologia

07.04.2016

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Ekologia ja evoluutiobiologia

Kähkölä, K.: Lisääntymissysteemin vaikutus metsäkurjenpolven
(*Geranium sylvaticum*) patogeeni-resistenssiin

Pro Gradu –tutkielma: s. 29

Työn ohjaaja: FT Minna-Maarit Kytöviita

Tarkastajat: Prof. Anneli Hoikkala, Prof. Johanna Mappes

Huhtikuu 2016

Hakusanat: *Geranium sylvaticum*, gynodieekkkiset kasvit, kvalitatiivinen resistenssi, kvantitatiivinen resistenssi, lisääntymissysteemit, resurssiallokaatio

TIIVISTELMÄ

Lisääntymissysteemiltään gynodieekkisissä kasvipopulaatioissa on tavallisesti sukupuoleltaan kahdenlaisia yksilöitä, puhtaasti emikukkaisia kasveja sekä kaksineuvoisia kukkia tuottavia kasveja. Nämä eri sukupuolet eroavat toisistaan geneettisten, morfologisten ja fysiologisten piirteiden suhteen. Lisääntymissysteemi vaikuttaa myös yksilöiden resurssiallokointitapaan sekä siihen miten ja missä suhteessa gynodieekkisten populaatioiden yksilöt osallistuvat geenien siirtämiseen jälkeläisilleen. Emikasvit osallistuvat jälkeläistuotantoon siemenaiheita tuottamalla ja kaksineuvoiset kasvit siemenaiheita sekä siitepölyä tuottamalla. Edellä mainitut sukupuolisidonnaisten erojen vaikutukset voivat heijastua myös yksilöiden resistenssiin. Esimerkiksi enemmän lisääntymiseen panostava sukupuoli saattaa olla alttiimpi patogeeneille, sillä on mahdollista ettei kasvi kykene allokoimaan resursseja lisääntymisen ohella samanaikaisesti resistenssin ylläpitämiseen. Mikäli gynodieekkisen populaation emikasvien ja kaksineuvoisten kasvien kyvyssä ylläpitää resistenssiä on sukupuolisidonnaisista ominaisuuksista johtuvia eroja, voi tämä edelleen vaikuttaa kuolleisuuden tai heikentyneen jälkeläistuotannon kautta kasvipopulaation geneettiseen rakenteeseen ja populaation sukupuolijakaumaan. Seuraukset voivat heijastua takaisin lajin lisääntymissysteemin evoluutioon sekä vaikuttaa kasvin ja muun ympäristön välisiin ekologisiin vuorovaikutussuhteisiin. Tässä työssä tutkittiin kasvihuonekokeen avulla sitä, vaihteleeko gynodieekin metsäkurjenpolven (*Geranium sylvaticum*) patogeeni-resistenssi yksilön sukupuolen mukaan eli eroaako emikasvien, välimuotojen tai kaksineuvoisten kasvien alttius kurjenpolvenhärmälle (*Podosphaera fugax*). Tutkimuksessa havaittiin, että välimuotojen ja kaksineuvoisten välillä oli kokoeroja, jotka eivät kuitenkaan vaikuttaneet sukupuolten härmäinfektionlaajuuteen. Kvalitatiivisessa tai kvantitatiivisessa resistenssissä ei havaittu sukupuolisidonnaisia eroja. Tutkimuksen perusteella gynodieekkiseen lisääntymissysteemiin kuuluvat sukupuolisidonnaiset erot eivät ainakaan metsäkurjenpolvella vaikuta sukupuolten infektiotaltiuteen.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Mathematics and Science

Department of Biological and Environmental Science
Ecology and Evolutionary Biology

Kähkölä, K.: The influence of breeding system on pathogen resistance of
Geranium sylvaticum

Master of Science Thesis: p. 29
Supervisor: PhD Minna-Maarit Kytöviita
Inspectors: Prof. Anneli Hoikkala, Prof. Johanna Mappes
April 2016

Key Words: breeding system, *Geranium sylvaticum*, gynodioecy, qualitative resistance, quantitative resistance, resource allocation

ABSTRACT

Gynodioecious plant populations are usually composed of two kinds of gender morphs, females and hermaphrodites. Between these two genders there are genetic, morphological and physiological differences that may influence plant's resource allocation patterns and how and to what extent each morph contributes to the production of offspring. In a gynodioecious population females allocate resources to ovule production whereas hermaphrodites allocate resources to both ovule and pollen production. Since resources are limited, these differences in resource allocation patterns may influence other life cycle traits through trade-offs. In case of infection, gender morph that allocates more of its resources to reproduction, that is, to the production of certain kinds of flowers, may not be able to allocate enough resources to resistance. If females and hermaphrodites differ in their resource allocation patterns and it affects their resistance in different ways this may eventually lead to changes in population's genetic structure and its sex ratio through increased mortality or decreased production of offspring. These changes may eventually influence the evolution of plant breeding system and ecological interactions between plants and their environment. In this study greenhouse experiment was set up to study whether females, intermediates or hermaphrodites of gynodioecious *Geranium sylvaticum* differ in their susceptibility to fungal pathogen, *Podosphaera fugax*. The results showed that gender morphs have size differences that did not, however, have an effect on the extent of plant infection. Qualitative resistance did not differ significantly between genders and neither did quantitative resistance of leaves and reproductive organs. Based on the results it seems that there are no significant differences between quantitative or qualitative resistance of different genders of *Geranium sylvaticum* to *Podosphaera fugax*.

Sisällysluettelo

1. JOHDANTO.....	5
2. AINEISTO JA MENETELMÄT.....	10
2.1. Kurjenpolvenhärmä (<i>Podosphaera fugax</i>).....	10
2.2. Metsäkurjenpolvi (<i>Geranium sylvaticum</i>).....	11
2.3. Kasvihuonekoe.....	12
2.4. Maastohavainnot.....	14
2.5. Aineiston tilastollinen analysointi.....	14
3. TULOKSET	15
3.1. Kasvihuonekokeen tulokset – metsäkurjenpolvien koko.....	15
3.2. Kasvihuonekokeen tulokset – kvalitatiivinen resistenssi.....	18
3.3. Kasvihuonekokeen tulokset – kvantitatiivinen resistenssi.....	19
3.4. Maastohavaintojen tulokset.....	21
4. TULOSTEN TARKASTELU.....	22
4.1. Metsäkurjenpolven sukupuoli ja koko.....	22
4.2. Kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen resistenssi.....	23
4.3. Kasvihuonehavaintojen ja maastohavaintojen vertailu.....	25
4.4. Johtopäätökset.....	25
KIITOKSET.....	26
KIRJALLISUUS.....	26

1. JOHDANTO

Suurin osa tunnetuista siemenkasveista kuuluu koppisiemenisiin eli kasveihin, joille on evoluution myötä kehittynyt kukiksi ja hedelmiksi kutsutut lisääntymiselimet (Campbell & Reese 2005; Terävä & Kanervo 2008). Näiden lisääntymiselinten ominaisuudet ovat osaltaan vaikuttaneet koppisiemenisten lisääntymisstrategioiden kehittymiseen sekä koppisiemenisten lajien erilaistumiseen ja monimuotoisuuteen. Tämän monimuotoisuuden johdosta koppisiemenisiin kuuluville lajeille on kehittynyt evoluution myötä myös monia erilaisia elinkiertostrategioita. Elinkiertostrategia kuvaa sitä lajityypillistä tapaa, jonka mukaan kasvi jakaa rajalliset resurssinsa elämän kannalta keskeisimpien toimintojen kesken (Campbell & Reese 2005; Friis ym. 2006; Salonen 2006). Kasvin elinkierron kannalta kaikkein keskeisimpiä toimintoja eli elinkiertotekijöitä ovat kasvu, puolustautuminen ja lisääntyminen (Obeso 2002; Strauss ym. 2002). Allokaatioperiaatteen (*principle of allocation*) mukaan kasvin on kyettävä jakamaan käytössään olevat resurssit mahdollisimman tehokkaasti näiden toimintojen kesken (Purrington 2000). Elinkiertotekijöistä erityisesti lisääntyminen on merkittävässä asemassa kasvin elinkiertostrategiassa, sillä lisääntyminen vaikuttaa yksilöiden suhteelliseen kelpoisuuteen ja populaation geneettiseen rakenteeseen (Salonen 2006; Silvertown & Charlesworth 2001). Lisääntyminen vaatii kuitenkin myös paljon resursseja, sillä kukkien lisäksi koppisiemenisten on usein tuotettava runsaasti pölyttäjäien houkuttelemiseen tarvittavia rakenteita ja yhdisteit. Näiden lisäksi kasvien on myös allokoitava resursseja kukkimisen ja onnistuneen pölyttymisen jälkeen sellaisten rakenteiden tuottamiseen, joiden avulla yksilö varmistaa siementensä leviämisen ja itämisen sopivissa olosuhteissa (Barrett & Hough 2013; Reekie & Bazzaz 2005; Salonen 2006). Taustaoletuksena on usein se, ettei tällaisia lisääntymiseen jo allokoituja resursseja voida enää ohjata kasvin muihin elinkiertotekijöihin (Obeso 2002; Salonen 2006). Jos kasvi siis esimerkiksi panostaa kasvukauden aikana erityisen paljon resursseja lisääntymiseen eikä resursseja riitä tämän jälkeen muiden oleellisten elinkiertotekijöiden, kuten vaikkapa puolustautumisen ylläpitoon, voidaan puhua lisääntymisen ja puolustautumisen välisestä kaupankäynnistä (*trade off*). Toisaalta kaupankäynti voi vaikuttaa kasvin elinkiertoon myös päinvastoin eli kasvi voi joutua ohjaamaan resursseja puolustautumiseen siinä määrin, että sen on resurssien puutteessa lykättävä lisääntymistä. Resurssien rajallisuuden takia elinkiertotekijöiden toteutuminen eli kasvin resurssiallokointitapa saattaakin vaikuttaa kaupankäynnin välityksellä merkittävästi muihin elinkiertotekijöihin ja näin ollen myös kasvin kelpoisuuteen (Salonen 2006; Simms & Triplett 1994).

Koska lisääntyminen vaikuttaa osaltaan kasvin resurssiallokointitapaan ja sen kautta kykyyn ylläpitää muita elinkiertotekijöitä, on tärkeää kiinnittää erityistä huomiota siihen millainen populaation lisääntymissysteemi on (Obeso 2002; Silvertown & Charlesworth 2001). Lisääntymissysteemi kuvaa sitä minkä sukupuolen edustajia populaatiosta löytyy eli miten emit ja heteet ovat jakautuneet yksilöiden kesken. Koppisiemenisten kasvien yleisin lisääntymissysteemi on kaksineuvoisuus (Percival 1965; Richards 1986; Yampolsky & Yampolsky 1922). Kaksineuvoisen populaation kaikki yksilöt tuottavat kukkia, joissa on sekä naaras- että koiraspuoliset lisääntymiselimet (Silvertown & Charlesworth 2001). On esitetty, että muut lisääntymissysteemit ovat kehittyneet juuri tällaisesta kaksineuvoisesta kantamuodosta. Todennäköisesti lisääntymissysteemin kehittyminen toiseksi on tällöin tapahtunut siten, että naaras- ja koirasteriiliyttä aiheuttavien geenien (*female/male sterility gene*) vaikutuksesta populaatioon on ilmestynyt kaksineuvoisuudesta poikkeavia yksilöitä (Barrett 2002; Charlesworth 2006). Esimerkiksi koirassteriiliyttä aiheuttavan geenin ilmestymisen myötä populaatiosta löytyy kaksineuvoisten kasvien lisäksi heteettömiä

emikasveja, jolloin populaation lisääntymissysteemiä on tapana nimittää gynodieekkiseksi. Se säilyvätkö tällaiset kaksineuvoisuudesta poikkeavat kasvit populaatioissa, riippuu muun muassa kasvuolosuhteista ja geneettisistä tekijöistä. Koppisiemenisten sukupuolen määrittelevät geenit voivat periytyä eri tavoin. Se missä nämä sukupuoleen vaikuttavat geenit sijaitsevat solussa ja miten ne periytyvät vaikuttavat edelleen populaation lisääntymissysteemin kehittymiseen (Bailey ym. 2003; Barrett 2002; Charlesworth 2006; Silvertown & Charlesworth 2001). Kaksineuvoisuudesta gynodieekkiseksi kehittynyt populaatio voikin eri tekijöiden vaikutuksesta, joko pysyä gynodieekkisenä, kehittyä jälleen kaksineuvoiseksi tai edelleen esimerkiksi kaksikotiseksi (Barrett 2002). Kasvien evoluutiota tarkasteltaessa lisääntymissysteemeihin on oleellista kiinnittää huomiota, sillä populaation lisääntymissysteemi vaikuttaa kahteen keskeiseen seikkaan: I) Siihen miten yksilöt, etenkin kaksineuvoisuudesta poikkeavien populaatioiden yksilöt, allokoivat resursseja sukupuoliominaisuuksien tuottamiseen, sekä II) siihen millä tavoin yksilöt voivat osallistua jälkeläistuotantoon ja millaisia perinnöllisiä seurauksia lisääntymisellä on (Ashman 2006; Barrett 2002; Charlesworth & Charlesworth 1987).

Sekä resurssiallokoinnin että perimän kannalta on oleellista kiinnittää huomiota siihen, että lisääntymissysteemit voidaan jakaa suvullisesti monomorfisiin (*sexually monomorphic*) ja polymorfisiin (*sexually polymorphic*) lisääntymissysteemeihin. Esimerkiksi edellä mainittu kaksineuvoisuus kuuluu suvullisesti monomorfisiin lisääntymissysteemeihin. Kaksineuvoisuuden kohdalla monomorfisuus tarkoittaa sitä, että populaation kaikki yksilöt ovat periaatteessa samanlaisia eli tuottavat kukkia, joissa on sekä naaras- että koiraspuoliset lisääntymiselimet (Silvertown & Charlesworth 2001). Tällaisten populaatioiden yksilöt allokoivat siis jokseenkin samalla tavalla resursseja lisääntymisrakenteiden tuottamiseen, vaikka tuotettujen kukkien määrä voikin vaihdella yksilöiden välillä (Salonen 2006; Silvertown & Charlesworth 2001). Lisäksi kaksineuvoisen populaation kaikki yksilöt voivat osallistua jälkeläistuotantoon sekä siemenaiheita että siitepölyä tuottamalla (Richards 1986). On kuitenkin olemassa kaksineuvoisuudesta poikkeavia polymorfisia lisääntymissysteemejä, joissa populaation yksilöt eroavat sen suhteen miten ne allokoivat resursseja lisääntymiseen eli siis sen suhteen millaisia lisääntymiselimiä ja sukusoluja ne kykenevät tuottamaan. Tällaisten populaatioiden yksilöillä esiintyy eriasteisia sukupuolisidonnaisia ominaisuuksia, joiden takia on mahdollista että valintapaineet kohdistuvat eri tavoin eri sukupuoliin (Barrett & Hough 2013; Charlesworth & Charlesworth 1987).

Gynodieekkisyys on yleisin kaksineuvoisuudesta poikkeava polymorfinen lisääntymissysteemi ja noin 7 % kaikista tunnetuista koppisiemenisistä kuuluu tähän lisääntymissysteemiin. Gynodieekkkiset populaatiot muodostuvat yleensä kaksineuvoisista ja pelkästään emikukkia tuottavista kasveista. Tosin joissain populaatioissa saattaa esiintyä myös yksilöitä, jotka tuottavat välimuodoiksi kutsuttuja kukkia eli kaksineuvoisia kukkia joiden heteistä osa on surkastunut (*partially male sterile*) (Rodríguez-Riaño & Dafni 2007). Gynodieekkkisessä populaatioissa kaksineuvoiset allokoivat resurssejaan siitepölyn ja siemenaiheiden tuottamiseen, kun taas emikasvit tuottavat vain siemenaiheita (Barrett & Hough 2013; Richards 1986; Salonen 2006). Tästä seuraa se, että tiettyä sukupuolta edustavat yksilöt eroavat resurssiallokaation lisäksi sen suhteen miten ne siirtävät geenejään jälkeläisille. Koska kaksineuvoisilla yksilöillä on gynodieekkkisissä populaatioissa emikasveihin nähden enemmän tapoja osallistua jälkeläistuotantoon, pitäisi niiden lopulta syrjäyttää emikasvit populaatiosta (Charlesworth & Charlesworth 1978; Lewis 1941). Osa koppisiemenisten lajien populaatioista on kuitenkin lisääntymissysteemiltään gynodieekkkisiä, joten voidaan olettaa että jokin tekijä tasaa kaksineuvoisten ja emikasvien välisiä eroja jälkeläistuotannossa siten, että myös emikasvit

säilyvät populaatiossa ainakin tilapäisesti (Marshall & Ganders 2001; Silvertown & Charlesworth 2001).

Gynodieekkisen lisääntymissysteemin olemassaoloa on tutkittu paljon ja etenkin sen säilymistä on selitetty eri tavoin. Useimmissa teorioissa ja malleissa korostetaan vain joko geneettisten tekijöiden tai resurssiallokoinnin vaikutusta. Se miten geneettiset tekijät, resurssiallokaatio ja sukupuolisidonnaiset ominaisuudet vaikuttavat edelleen kasvien ekologisiin vuorovaikutussuhteisiin on saanut osakseen vähemmän huomiota (Barrett 2002; Barrett & Hough 2013; Marshall & Ganders 2001; Sakai ym. 1997). Geneettisten tekijöiden ja resurssiallokaation merkitystä korostettaessa on esimerkiksi esitetty että, koska emikasvit allokoivat resursseja yksistään siementen tuottamiseen, toisin kuin kaksineuvoiset, jotka allokoivat resursseja sekä siitepölyn että siementen tuottamiseen, voivat emikasvit ainakin teoriassa ohjata muutoin siitepölyn tuottamiseen kuluvat resurssit yksistään siementen tuottamiseen. Tämän seurauksena emikasvien siementen paino ja määrä voi olla kaksineuvoisiin kasveihin verrattuna suurempi eli ne tuottavat laadultaan parempia jälkeläisiä tai määrällisesti enemmän jälkeläisiä. Gynodieekkisen populaation emikasvit saattavat myös hyötyä siitä, että ne eivät voi olla itsepölytteisiä eli mahdollisen sisäsiitosdepression vaikutukset eivät kohdistu emikasveihin yhtä voimakkaasti kuin kaksineuvoisiin kasveihin (Carr & Eubanks 2002; Chang 2007). Edellä mainittujen teorioiden mukaan gynodieekkisen lisääntymissysteemi säilyy joko emikasvien resurssiallokointitavan tai sisäsiitosdepression vaikutuksesta. On kuitenkin havaittu, ettei luonnonpopulaatioiden emi- ja kaksineuvoisten yksilöiden esiintymisfrekvenssiä voida kaikissa tapauksissa selittää yksistään näillä tekijöillä (Lloyd 1974; Shykoff 1988). Onkin mahdollista, että resurssiallokointitavan ja geneettisten tekijöiden lisäksi on otettava huomioon ekologisten vuorovaikutussuhteiden kohdistuminen eri tavoin eri sukupuolten edustajiin. Toisin sanoen ekologiset tekijät, kuten herbivoria, saattavat kohdistua kaksineuvoisiin (*sex-biased herbivory*) siinä määrin, että populaatio pysyy gynodieekkisenä (Collin ym. 2002; Marshall & Ganders 2001).

Mutta miten ja miksi ekologiset tekijät kohdistuvat eritavoin gynodieekkisten populaatioiden emikasveihin ja kaksineuvoisiin kasveihin? Jotta voitaisiin vastata tähän kysymykseen on kiinnitettävä huomiota gynodieekkisten populaatioiden sukupuolisidonnaisiin ominaisuuksiin ja näiden ekologisiin seurauksiin. Kasvien sukupuolisidonnaiset erot voidaan jakaa primaaristen ja sekundaaristen sukupuoliominaisuuksien eroihin. Primaaristen sukupuoliominaisuuksien eroja ovat lisääntymiselimiin liittyvät erot. Sekundaaristen sukupuoliominaisuuksien erot kuvaavat puolestaan muita sukupuolten välisiä morfologisia ja fysiologisia eroja (Barrett & Hough 2013; Campbell & Reese 2005). Shykoffin ym. (2003) tekemässä meta-analyysissä tutkittiin millaisia gynodieekkisten lajien emikasvien ja kaksineuvoisten välisiä sukupuolisidonnaisia eroja eri tutkimuksissa on raportoitu. Shykoffin ym. (2003) meta-analyysin mukaan useissa tutkimuksissa raportoitiin emi- ja kaksineuvoisten kasvien kukkien välisistä kokoeroista. Lisäksi tutkimuksissa havaittiin, että jollain lajeilla emikasvit todella tuottivat kaksineuvoisiin nähden enemmän ja painavampia siemeniä (Shykoff ym. 2003). Yhdessä tällaiset sukupuolisidonnaiset morfologiset erot, sekä erot resurssiallokaatiossa ja geneettisissä tekijöissä, saattavat vaikuttaa siihen, että ekologiset tekijät kuten herbivorit ja patogeenit suosivat toisen sukupuolen edustajia ravinnonlähteenään. Mikäli esimerkiksi herbivoria tai patogeeni-infektio kohdistuu gynodieekkisessä populaatiossa kaksineuvoisiin yksilöihin useammin kuin emikasveihin, voivat kasvinsyöjät osaltaan selittää emikasvien säilymisen populaatiossa (Ashman 2002; 2004; Barrett & Hough 2013; Carr & Eubanks 2002; Collin ym. 2002; Delph 2003; Marshall & Ganders 2001).

Ekologisten tekijöiden vaikutusta arvioidessa onkin hyvä pitää mielessä, että lisääntymisen lisäksi kasvien on kyettävä allokoimaan resursseja muihinkin oleellisiin toimintoihin kuten puolustautumiseen (Barrett & Hough 2013). Puolustautumiseen ja patogeenien torjumiseen ohjattavien resurssien määrä voivat vaihdella merkittävästi. Infektioajankohta, isäntäkasvin kunto ja ikä, käytettävissä olevat resurssit, muut ympäristötekijät sekä patogeenin virulenssi ja isäntäkasvin resistenssi, vaikuttavat kaikki osaltaan siihen miten kasvi kykenee allokoimaan resursseja patogeenien torjumiseen sekä muiden elinkierto-tekijöiden ylläpitämiseen (Agrios 1988). Isäntäkasvin ja patogeenin välinen vuorovaikutus, virulenssin ja resistenssin välinen evolutiivinen kilpajuoksu, voikin vaikuttaa huomattavasti lajien kehittymiseen. Kasvien ja niiden suhteellisen kelpoisuuden näkökulmasta tämä tarkoittaa sitä, että luonnossa patogeenit ja herbivorit voivat saada aikaan valintapaineen, joka vaikuttaa resistenssin ja toleranssin kehittymiseen sekä populaation rakenteen muuttumiseen (Koskela ym. 2002). Pohjimmiltaan kasvin geneettiset tekijät ja tarjolla oleva geneettinen monimuotoisuus kuitenkin määrittelevät populaation patogeeniresistenssin (Agrios 1988; Marshall & Ganders 2001; Walters 2010). Kasvin patogeeniresistenssi eli ne strategiat, joiden avulla kasvi voi torjua patogeeneja voidaan jakaa yhden geenin (*R-gene*) aikaansaamaan täydelliseen resistenssiin ja usean geenin (*QRL*, *quantitative resistance loci*) aikaansaamaan osittaiseen resistenssiin ja toleranssiin. R-geenin aikaansaamaa täydellistä resistenssiä voidaan myös kutsua kvalitatiiviseksi resistenssiksi ja käytännössä se tarkoittaa sitä, että kasvi on joko altis tai resistentti sen mukaan kykeneekö sen R-geeni tunnistamaan patogeenin (Poland ym. 2008). Usean geenin aikaansaamaan kvantitatiiviseen resistenssiin kuuluu puolestaan erilaisia mekaanisia ja biokemiallisia torjuntakeinoja, joiden avulla isäntäkasvi pyrkii hidastamaan patogeenin kasvua ja ehkäisemään sen lisääntymistä. Käytännössä kvantitatiivinen resistenssi tarkoittaa sitä, että isäntäkasvi ei kykene torjumaan patogeeninfektiota vaan sen on pyrittävä minimoimaan infektion aiheuttamat haittavaikutukset. Tällöin yksilöiden väliset erot kvantitatiivisessa resistenssissä ilmenevät infektiolaajuuden ja toleranssin eroina (Koskela ym. 2002; Strauss & Agrawal 1999; Poland ym. 2008; Susi 2014).

On mahdollista, että lisääntymissysteemi ja siihen liittyvät sukupuolisidonnaiset ominaisuudet vaikuttavat kasvin sukupuolten kvalitatiivisen ja kvantitatiivisen resistenssiin muun muassa elinkierto-tekijöiden välisen kaupankäynnin kautta (Marshall & Ganders 2001). Allokaatioperiaatteen mukaan kasvin on jaettava käytössä olevat resurssit kasvuun, lisääntymiseen ja puolustautumisen kesken (Purrington 2000). Usein oletuksena on, että mikäli kasvi allokoii resursseja, johonkin tiettyyn elinkierto-tekijään, ei näitä resursseja voida enää käyttää toisten elinkierto-tekijöiden ylläpitämiseen. Gynodieekkisten populaatioiden emikasvit ja kaksineuvoiset kasvit allokoivat resursseja eritavoin lisääntymiseen, joten on mahdollista että niiden kyky allokoida resursseja kasvuun ja/tai resistenssiin saattaa myös vaihdella (Bergelson & Purrington 1996; Charlesworth & Charlesworth 1987; Herms & Mattson 1992; Purrington 2000; Strauss ym. 2002). On kuitenkin huomioitava, että toisen sukupuolen suurempi infektioltuus, mikäli sellaista esiintyy, voi johtua muistakin syistä kuin siitä, etteivät resurssit riitä samanaikaisesti sekä lisääntymiseen liittyvien rakenteiden tuottamiseen että puolustautumiseen. Esimerkiksi lisääntymissysteemin liittyvät perinnölliset tekijät, kuten sukupuolten vaihteleva altuus sisäsiitosdepressiolle, saattaa vaikuttaa sukupuolten resistenssiin eritavoin. Mikäli eri sukupuolten resistenssissä voidaan kuitenkin havaita eroja, voivat ne johtaa siihen, että polymorfisissa lisääntymissysteemeissä sukupuoliin kohdistuu ekologisten vuorovaikutusten myötä erilaisia valintapaineita (Delph 2003; Collin ym. 2002).

Kurjenpolvikasvien heimoon kuuluva metsäkurjenpolvi (*Geranium sylvaticum*) on monivuotinen ruoho, joka määritellään lisääntymissysteemiltään gynodieekkiseksi.

Aikaisempien tutkimusten perusteella metsäkurjenpolvella on havaittu sukupuolisidonnaisia eroja. Emikasvit esimerkiksi pölyttivät kaksineuvoisia todennäköisemmin, tuottivat enemmän siemeniä mutta vähemmän ja tasaisemmin mettä kaksineuvoisiin verrattuna (Asikainen & Mutikainen 2003; Varga ym. 2013). Näiden tutkimusten perusteella sukupuolten resurssiallokaatiotavoissa sekä morfologiassa on selkeästi havaittavia eroja. Toisaalta esimerkiksi kasvinsyönnin simulointi vaikutti samalla tavalla emi- ja kaksineuvoisten kasveihin (Varga & Kytöviita 2014; Varga ym. 2003; Varga ym. 2013). Metsäkurjenpolvea tarkasteltaessa on huomioitava se että, sillä on puhtaasti kaksineuvoisten yksilöiden (10 hedettä) ja emikasvien (0 hedettä) lisäksi kaksineuvoisia yksilöitä, joiden kukkien heteiden lukumäärä vaihtelee (1-9) välillä. Tällaisilla välimuodoilla heteiden tuottamiseen saattaa liittyä koirassteriiliuden kumoamisesta aiheutuvia kustannuksia (*costs of restoration*), jotka vaikuttavat resurssiallokointiin ja näiden yksilöiden suhteelliseen kelpoisuuteen (Bailey ym. 2003).

Tässä työssä tutkittiin vaihteleko metsäkurjenpolven resistenssi, kvalitatiivinen tai kvantitatiivinen, eri sukupuolten välillä ja onko sukupuolten infektiotaltiudessa kurjenpolvenhärmälle (*Podosphaera fugax*) eroja. Tutkimuksen teoreettisena viitekehiksenä on resurssiallokaation vaikutus kasvin patogeenesistenssiin (Obeso 2002; Purrington 2000; Simms & Triplett 1994). Luonnonkasvien sienipatogeeneista, ja etenkin monista härmälajeista, tiedetään ennestään hyvin vähän eikä metsäkurjenpolven patogeeneja ole tutkittu aiemmin (Glawe 2008). Härmät ovat kasvipatogeeneja, jotka kasvattavat rihmaston isäntäkasvinsa pintasolukkoon ja hyödyntävät kasvin sisältämiä ravinteita. Härmä ei itsessään yleensä aiheuta kasvin kuolemaa mutta se saattaa heikentää isäntäkasvia, sillä kasvin on allokoitava resursseja eri tavoin, kun se reagoi härmäinfektioon. Lisäksi härmä kasvaa isäntäkasvinsa lehtien pinnalla, joten se vaikuttaa kasvin yhteyttämistehokkuuteen ja käytettävissä olevien resurssien määrään (Agrios 1988; Moriondo ym. 2005; Magyarosy 1975). Mikäli kurjenpolvenhärmälttiys vaihtelee sukupuolten välillä voi härmä vaikuttaa sukupuolten suhteelliseen esiintymisfrekvenssiin. Sukupuolia vertailtaessa huomioitiin se, että metsäkurjenpolven kaksineuvoisten yksilöiden heteiden määrä voi vaihdella 1-10:een. Kasveja, joiden heteistä osa oli surkastunut kutsuttiin 'välimuodoiksi' ja kasveja, joilla kaikki heteet kehittyivät normaalisti kutsuttiin puolestaan kaksineuvoisiksi. Eli käytännössä molemmat ovat lisääntymisen suhteen kaksineuvoisia mutta niihin viitataan tässä tutkimuksessa välimuotoina (1-9 hedettä) ja kaksineuvoisina (10 hedettä). Koska välimuodot ja kaksineuvoiset eroavat toisistaan ainakin sen suhteen miten ne allokoivat resursseja heteiden tuottamiseen, käsiteltiin niitä omina ryhminään. Kasvihuonekokeessa tutkittiin sitä, eroaako resistenssi emikasvien, välimuotojen ja kaksineuvoisten välillä siten, että jotkin näistä ovat toisia alttiimpia metsäkurjenpolven härmäpatogeenille. Tutkimuskysymyksenä oli: Onko emikasvien, välimuotojen tai kaksineuvoisten kasvien kvalitatiivisessa ja/tai kvantitatiivisessa resistenssissä eroja? Tutkimuksessa keskityttiin siihen onko tarkasteltavien ryhmien (emikasvi, välimuoto, kaksineuvoinen) välillä eroa infektion esiintymisessä ja laajuudessa. Oletuksena oli, että sukupuolten geneettiset erot, sukupuolidimorfiset erot tai erot resurssiallokaatiossa voivat vaikuttaa suoraan tai välillisesti eri sukupuolta edustavien yksilöiden resistenssiin ja näin ollen infektiolaajuuteen.

Tutkimuksen nollahypoteesina oli se että, metsäkurjenpolven sukupuolen ja kvalitatiivisen tai kvantitatiivisen resistenssin välillä ei ole kaupankäyntiä (*trade-off*) eli infektiotaltiutus tai -laajuus ei vaihtelee emikasvien, välimuotojen tai kaksineuvoisten välillä. Työhypoteesina oli puolestaan se, että metsäkurjenpolven kvalitatiiviseen tai kvantitatiiviseen resistenssiin ja sukupuolen välillä on kaupankäyntiä (*trade-off*) eli sukupuolet eroavat infektiotaltiuden ja -laajuuden suhteen. Kasvihuoneessa ja maastossa

kerätyllä havaintoaineistolla tutkittiin metsäkurjenpolven kvalitatiivista ja kvantitatiivista resistenssiä. Maastohavainnoilla pyrittiin lisäksi arvioimaan kurjenpolvenhärmän todellista esiintymistä metsäkurjenpolven luonnonpopulaatioissa eli sitä kuinka yleinen patogeeni kurjenpolvenhärämä on luonnonpopulaatioissa.

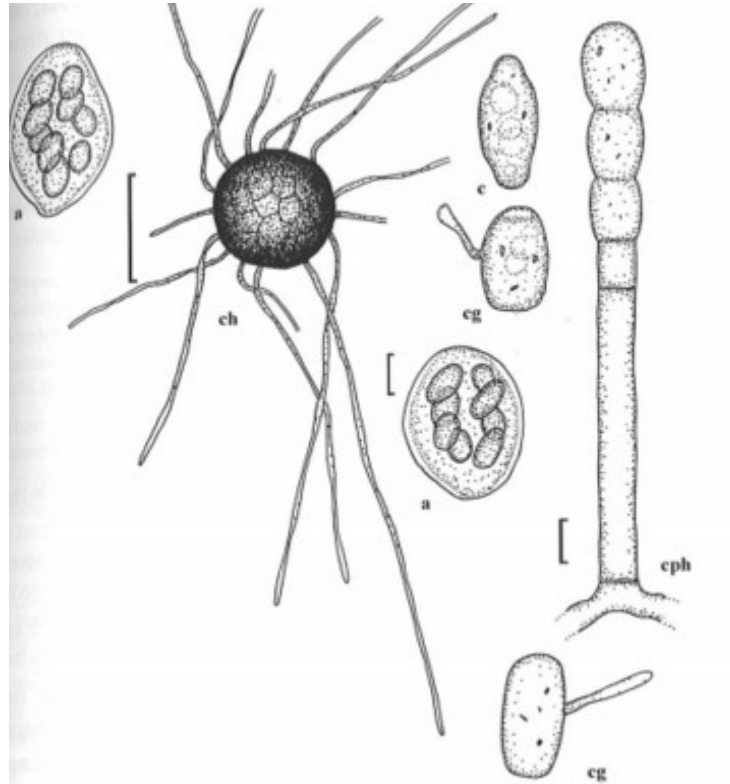
2. AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1. Kurjenpolvenhärämä (*Podosphaera fugax*)

Härmät (eng. *Powdery mildew*) (*Ascomycotina*, *Erysiphales*) ovat yleisiä ja kasvutapansa perusteella usein helposti tunnistettavia taudinaiheuttajia. Monilla koppisiemenisillä on oma lajispesifinen ja obligatorinen härmäpatogeeni. Härmät ovat biotrofisia sienipatogeeneja eli ne tarvitsevat ravinnonlähteekseen elävän isäntäkasvin, jonka maanpäällisissä osissa kuten lehdillä, varsilla, kukissa ja hedelmissä ne voivat kasvaa. Härmän tyypillisenä tunnusmerkkinä voidaan pitää harmaata tai valkeaa, jauhomaista kasvustoa infektoituneen kasvin pinnassa. Ravintonsa härmät saavat kasvattamalla rihmastonsa isäntäkasvin pintasolukkoon (Agrios 1988; Glawe 2008). Ne voivat hyödyntää kasvin sisältämiä ravinteita, heikentää yhteyttämistehokkuutta ja hidastaa kasvua (Moriondo ym. 2005; Magyarosy 1975). Lisäksi härmän vaikutus voi ulottua välittömästi infektoituneita kasvisoluja laajemmalle. Fotopoulos ym. (2003) havaitsivat, että härmä ohjasi tarvitsemiaan ravinteita isännältä itselleen ja sai näin aikaan laajempia fysiologisia muutoksia isäntäkasvissaan. Härmäinfektio ei siis välttämättä aiheuta isäntäkasvinsa kuolemaa mutta saattaa muuttaa kasvin resurssiallokointitapaa ja heikentää kasvin perustoimintoja (Agrios 1988; Fotopoulos 2003).

Koska härmät ovat obligatorisia patogeeneja, niiden on kyettävä selviämään ajanjaksoista, jolloin infektoitavia isäntäkasveja ei ole tarjolla. Tätä varten härmät voivat muodostaa rihmastoa, joka kestää hyvin epäsuotuisia olosuhteita. Jotkin härmä lajit voivat myös talvehtia isäntäkasvinsa silmuissa (Glawe 2008). Kun olosuhteet ovat härmän kannalta suotuisat, se tuottaa runsaasti itiöitä jotka leviävät ympäristöön ja isäntäkasvin pinnalle. Isännäksi sopivan kasvin pinnalle laskeutuvien itiöiden on kyettävä tunkeutumaan kasvin pintarakenteiden läpi (Agrios 1988). Mikäli härmä onnistuu ohittamaan isäntäkasvin puolustuksen, se kasvattaa rihmastoa kasvin soluväliin tai joissain tapauksissa myös solun sisälle ja ohjaa ravinteita rihmaston kasvuun. Näin härmä muodostaa lopulta sille tyypillisen jauhomaisten kasvuston kasvin pintaan. Härmäinfektion saanut isäntäkasvi voi myös altistaa lähellä kasvavat lajitoverinsa infektiolle, sillä härmät lisääntyvät nopeasti suvuttomasti ja levittävät itiöitä uusien isäntäkasvien pinnalle (Braun & Cook 2012; Glawe 2008).

Kurjenpolvenhärämä (*Podosphaera fugax*) on metsäkurjenpolvella (*Geranium sylvaticum*) esiintyvä härmäsienten luokkaan kuuluva obligaatti sienipatogeeni. Koska kurjenpolvenhärämä on isäntäkasvistaan riippuvainen patogeeni, sen esiintyminen myötäilee pitkälti isäntäkasvin maantieteellistä levinneisyyttä. Kurjenpolvenhärämää on havaittu Afrikassa, Pohjois-Amerikassa, Kaukasuksella, kaikkialla Euroopassa ja se on myös levinnyt Uuteen-Seelantiin. Kurjenpolvenhärämä muodostaa metsäkurjenpolven lehdille, varsiin ja lehtiruoteihin valkoista sienirihmastoa, joka tummuu vanhetessaan. Lisääntyessään kurjenpolvenhärämä tuottaa itiökotelon, joka sisältää 6-8 itiötä (Kuva 1) (Braun & Cook 2012).



Kuva 1 *Phodosphaera fugax* (Braun & Cook 2012).



Kuva 2: Metsäkurjenpolven (*Geranium sylvaticum*) härmäinfektio (*Podosphaera fugax*).

2.2. Metsäkurjenpolvi (*Geranium sylvaticum*)

Metsäkurjenpolvi (*Geranium sylvaticum*) on kurjenpolvikasvien (*Geraniaceae*) heimoon kuuluva monivuotinen ruoho. Ulkoasultaan se on pystyhaarainen, lyhytkarvainen kasvi,

jonka lehdet ovat sormijakoisia ja kukat ovat väriltään joko sinipunaisia tai lähes valkoisia. Metsäkurjenpolven tyypillisiä kasvupaikkoja ovat lehdot, lehtomaiset kangasmetsät, rantapensaikot, tuoret niityt ja tienpientareet (Hämet-Ahti & Hackman 1998). Metsäkurjenpolvi on lisääntymissysteemiltään gynodieekkinen mutta kaksineuvoisten ja emikukkien lisäksi metsäkurjenpolven kasvustoissa voi paikoitellen esiintyä myös kukkia, joiden toimivien heteiden lukumäärä vaihtelee 1-9 välillä. Metsäkurjenpolven populaatiot voivat siis muodostua kaksineuvoisista eli hermafrodiiteista, välimuodoista tai emikasveista (Volkova ym. 2007) (Kuva 3). Emi-, välimuoto- ja kaksineuvoisten kasvien esiintymisfrekvenssi vaihtelee runsaasti eri populaatioiden välillä. Emikasvien määrä on usein hyvin alhainen välimuotoihin ja kaksineuvoisiin verrattuna. Välimuotojen esiintymisfrekvenssi voi vaihdella populaatiossa 0 – 84 %:iin. Valtaosa metsäkurjenpolven kasveista on siis joko kaksineuvoisia tai välimuotoja ja emikasvit ovat yleensä harvalukuisimpia. Kaksineuvoisten, välimuotojen ja emikasvien suhteellisissa määrissä voidaan usein havaita selkeätä maantieteellistä vaihtelua (Varga ym. 2013; Volkova ym. 2007).



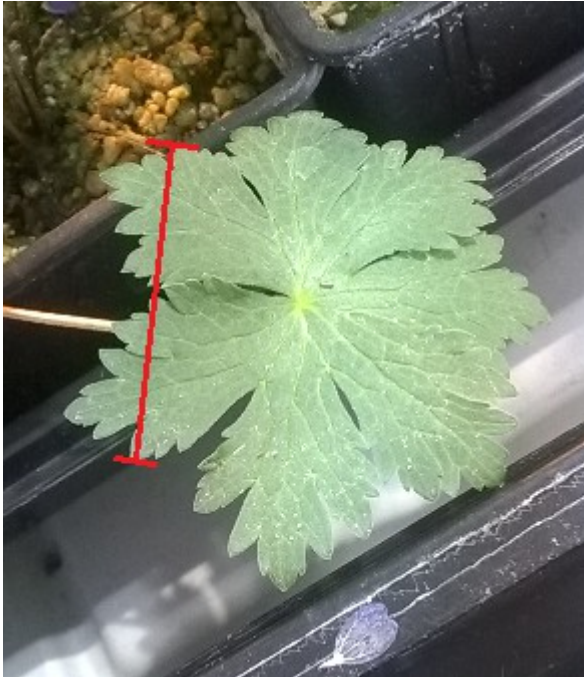
Kuva 3: Emikukka (F), välimuoto (I) kukka ja kaksineuvoinen kukka (H)

2.3. Kasvihuonekoe

Kasvihuonekokeessa havaintoaineisto kerättiin metsäkurjenpolvilta, joiden siemenet olivat peräisin aikaisemmin tehdystä pölytyskokeesta (Varga ym. 2013). Nämä siemenet oli laitettu itämään huhtikuussa 2011 ja niitä oli kasvatettu kasvihuoneessa vuosina 2011-2014. Metsäkurjenpolvet siirrettiin talvehtimaan kylmähuoneeseen 20.10.2014 ja kasvit siirrettiin takaisin kasvihuoneeseen 13.01.2015. Keinovalot (Osram Powerstar HQI-BT 400W/D E40) olivat kasvihuoneessa päällä 18 h vuorokaudessa ja jokainen metsäkurjenpolviyksilö kasvoi steriloidussa hiekassa omassa ruukussaan. Kasvihuoneessa ruukut asetettiin kastelualustalle (3 - 10 yksilöä/alusta). Tutkimuksessa käytetyissä metsäkurjenpolvissa oli jo aiemmin havaittu perättäisinä vuosina runsaasti kurjenpolvenhärmää, joten kurjenpolvenhärmän lepoitioiden oletettiin olevan läsnä kasvihuoneessa. Todennäköisesti kurjenpolvenhärmä on siirtynyt pölytyskokeen yhteydessä kerättyjen siementen mukana maastosta kasvihuoneeseen.

Kasvihuoneessa aineistonkeruu suoritettiin kahdessa vaiheessa. Havaintoaineiston keruu aloitettiin metsäkurjenpolvien ($n=154$) sukupuolen määrittämisellä. Tämä tehtiin laskemalla jokaisen kasviyksilön kukkien määrä ja jokaisen lasketun kukan heteiden määrä (0-10). Metsäkurjenpolviyksilö voi tuottaa pelkästään emikukkia, kaksineuvoisia kukkia tai välimuotokukkia mutta yksilö saattaa myös tuottaa kaikkia näitä samanaikaisesti. Yksilön kukkien sisältämien heteiden perusteella metsäkurjenpolviyksilö määriteltiin joko kaksineuvoiseksi (*H*; kukinnan kaikissa kukissa on 10 hedettä), välimuodoksi (*I*; kukinnossa hermafrodiitteja/naaraita ja välimuotoja, hermafrodiitteja ja naaraita tai pelkästään välimuotoja) tai emikasviksi (*F*; kukinnan kaikki kukat heteettömiä, 0 hedettä) (Kuva 3). Käytännössä luokittelu tehtiin siten, että kasvin kaikkien kukkien havaittujen heteiden kokonaismäärää verrattiin siihen heteiden määrään, joka kyseisellä kasvilla voisi olla mikäli sen kaikissa kukissa oli kymmenen hedettä. Näin saatu suhdeluku voi saada minkä tahansa arvon 0 – 1,0 väliltä. Emikasveiksi tulkittiin sellaiset kasvit, jotka saivat arvon 0 – 0,05 ja kaksineuvoisiksi kasvit, jotka saivat arvon 0,95 – 1,0. Välimuodot sijoittuivat tälle välille (0,05 – 0,95) ja kyseinen luokka saattoi sisältää kasveja, joiden kukat olivat yksistään välimuotoja tai sekoitus emi-, välimuoto ja kaksineuvoisia kukkia ([*I*]; [*I*; *F*]; [*I*; *H*]; [*F*; *H*]; [*I*; *F*; *H*]). Emikasveihin ja kaksineuvoisiin nähden tutkimuksessa käytetty 'välimuotojen'-ryhmä viittaakin enemmän tuotettujen heteiden määrään kuin varsinaiseen sukupuoleen.

Toisessa vaiheessa eli kukintavaiheen lopulla kaikki metsäkurjenpolvet käytiin uudelleen läpi, kasvien koko määriteltiin ja tutkittiin onko yksilössä silminhavaittavaa härmäinfektiota (kvalitatiivinen resistenssi; kasvi on joko resistentti tai infektiokasvi). Metsäkurjenpolvella on suuria korvakelehtiä kukkaverson yläosassa sekä pitkäruotisia ruusukelehtiä, jotka kasvavat suoraan juurakosta. Metsäkurjenpolven kvantitatiivista resistenssiä tutkittiin laskemalla jokaiselta yksilöltä sen korvakkeiden sekä ruusukelehtien määrä. Lisäksi laskettiin korvakkeiden ja ruusukelehtien infektoituneiden lehtien infektion pinta-ala. Metsäkurjenpolven lehdet mitattiin siten, että lähinnä lehtiruotia vastakkain sijaitsevien sormilehdyköiden välinen etäisyys mitattiin ja lehti määriteltiin kuuluvaksi joko korvakkeisiin (1 cm - 3 cm) tai ruusukelehtiin (> 3 cm) (Kuva 3). Jaottelu kahteen kokoluokkaan eli korvakkeisiin ja ruusukelehtiin auttoi arvioimaan tarkemmin kasvin kokoa ja infektoituneen pinta-alan laajuutta suhteessa terveeseen lehtipinta-alaan. Infektion saaneiden metsäkurjenpolviyksilöiden härmäinfektion infektiopinta-ala arvioitiin silmämääräisesti (I = 25 %; II = 50 %; III = 75%; IV = 100% lehden kokonaispinta-alasta). Lehtien lisäksi myös jokaisen metsäkurjenpolven lisääntymiselinten eli nuppujen, kukkien ja hedelmien määrät laskettiin. Näiden kokonaismäärä ja infektoituneiden rakenteiden määrä kirjattiin ylös. Tarkoituksena oli laskea infektoituneiden lisääntymisrakenteiden suhde terveisiin lisääntymisrakenteisiin ja tutkia, kuten lehtien kohdalla, vaikuttaako sukupuoli näiden rakenteiden infektiokasvuun. Kurjenpolvenhärmän lisäksi havaintoihin kirjattiin muiden mahdollisten patogeeni esiintyminen, sillä ne saattavat vaikuttaa härmäinfektion laajuuteen ja metsäkurjenpolven yleiskuntoon.



Kuva 4: Lehdet mitattiin ja luokiteltiin pieniin (1 - 3 cm; korvakkeet) ja suuriin (> 3 cm; ruusukelehdet). Kuvassa härmäinfektion saanut ruusukelehti.

2.4. Maastohavainnot

Kasvihuonekokeen lisäksi tutkimusta varten tehtiin maastohavainnot, joiden tarkoituksena oli arvioida kuinka yleinen ja merkittävä kurjenpolvenhärmäpatogeeni (*Phodosphaera fugax*) on metsäkurjenpolven luonnonpopulaatioissa. Lounais-Suomessa havainnot kerättiin kahdelta eri paikalta, (60°48'59"N, 21°16'30"E (Lepäinen); 60°46'53"N, 21°27'11"E (Haapaniemi)), kahdella eri keruukerralla (16.06; 23.06). Otoskoko molemmilla paikoilla oli n=25. Molemmilla kasvupaikoilla metsäkurjenpolvet kasvoivat tienpientareella. Havainnot kerättiin valitsemalla satunnainen aloituspaikka metsäkurjenpolvikasvustosta. Tästä aloituspaikasta edettiin tiensuuntaisesti siten, että kaikki 2 m etäisyydellä tiestä kasvavat metsäkurjenpolvet huomioitiin aineistonkeruussa. Kaiken kaikkiaan tiedot kerättiin kahdestakymmenestä viidestä metsäkurjenpolviyksilöstä noudattaen muutoin samoja aineistokeruumenetelmiä kuin kasvihuoneessa. Kuitenkin kasvihuonehavainnoista poiketen maastohavainnoissa sukupuolen määrittäminen ja infektion esiintymisen sekä laajuuden havainnointi tehtiin samalla kertaa. Lisäksi erillisiä havainnot tehtiin kolmessa eri paikassa Keski-Suomessa (62°14'33"N, 25°28'47"E (Kuohu); 62°13'1"N, 25°29'24"E (Kuusimäki); 62°35'22"N, 26°13'40"E (Rinteenmäki)). Näissä havainnoissa tarkasteltiin vain sitä oliko metsäkurjenpolvilla (n=50; n=50; n=500) silminhavaittavaa kurjenpolvenhärmäinfektiota.

2.5. Aineiston tilastollinen analysointi

Aineiston tilastollisessa analysoinnissa ensimmäisenä tarkasteltiin sitä, onko metsäkurjenpolven sukupuolen ja koon välillä yhteyttä. Mikäli emi-, välimuoto tai kaksineuvoiset kasvit ovat selkeästi toisiinsa verrattuna eri kokoisia, eli koko on sukupuolisidonnainen ominaisuus, voi tämä vaikuttaa infektiodennäköisyyteen. Saattaa esimerkiksi olla todennäköisempää, että härmäitiö laskeutuu kooltaan suuremman kuin

pienemmän metsäkurjenpolven pinnalle. Toisaalta koko voi vaikuttaa resurssiallokaation kautta resistenssiin. Mikäli jokin sukupuoli panostaa kasvuun toisia voimakkaammin saattaa tämä heijastua myös resistenssiin resurssiallokaation liittyvien kompromissien kautta. Mahdolliset kokoerot voivat siis vaikuttaa sukupuolten infektiotaltiuteen eri tavoin. Kasvin kokoa arvioitiin erikseen korvakkeiden (pienet lehdet) ruusukelehtien (isot lehdet) suhteen eli tutkittiin yksisuuntaisen varianssianalyysin avulla eroavatko sukupuolten korvakkeiden ja ruusukelehtien määrä emikasvien, välimuoto ja kaksineuvoisten kasvien välillä.

Kvalitatiivista resistenssiä tarkasteltaessa tutkittiin muodostuuko tarkastelun kohteena oleva joukko täysin resistenteistä tai alttiista yksilöistä ja mikäli resistenssi on luonteeltaan kvalitatiivista vaikuttaako kasvin sukupuoli siihen. Kvalitatiivista resistenssiä tutkittiin siten, että huomioitiin yksilön sukupuoli ja se saiko yksilö infektion vai kykenikö se torjumaan patogeenin, jolloin infektiota ei siis päässyt syntymään. Kvalitatiivisen resistenssin analyysi aloitettiin ristiintaulukoimalla sukupuolten härmäinfektio (infektio on/ei ole).

Kvantitatiivista resistenssiä tutkittiin vertailemalla yksisuuntaisella varianssianalyysillä erikseen korvakkeiden ja ruusukelehtien suhteellisen infektiopinta-alan eroja eri sukupuolten välillä. Lehtien infektiolaajuuden tarkastelua varten kaikille yksilöille laskettiin korvakkeiden ja ruusukelehtien infektioprosentti. Tässä tapauksessa infektioprosentti kuvasi sitä, kuinka suuri osa korvakkeiden (pienet lehdet) ja ruusukelehtien (suuret lehdet) pinta-alasta oli infektoitunut eli kuinka suuri oli yksilön infektoituneen pinta-alan suhde sen koko lehtipinta-alaan.

Kurjenpolvenhärmää kasvoi sekä lehdillä että lisääntymiselimillä, joten lehtien infektiopinta-alan analyysin lisäksi tutkittiin sitä, onko sukupuolen ja lisääntymiselinten infektion välillä yhteyttä. Mikäli jonkin sukupuolen infektoituneiden lisääntymiselinten määrä on selkeästi toista suurempi saattaa seurauksena olla heikentynyt jälkeläistuotanto ja alhaisempi suhteellinen kelpoisuus. Lisääntymiselimille laskettiin infektioprosentti, jossa verrattiin yksilön infektoituneiden lisääntymiselinten määrää niiden kokonaismäärään. Sukupuolten välisiä infektioprosentin eroja tutkittiin varianssianalyysin sijasta Kruskal-Wallis -testillä, sillä aineisto ei noudattanut normaalijakaumaa.

3. TULOKSET

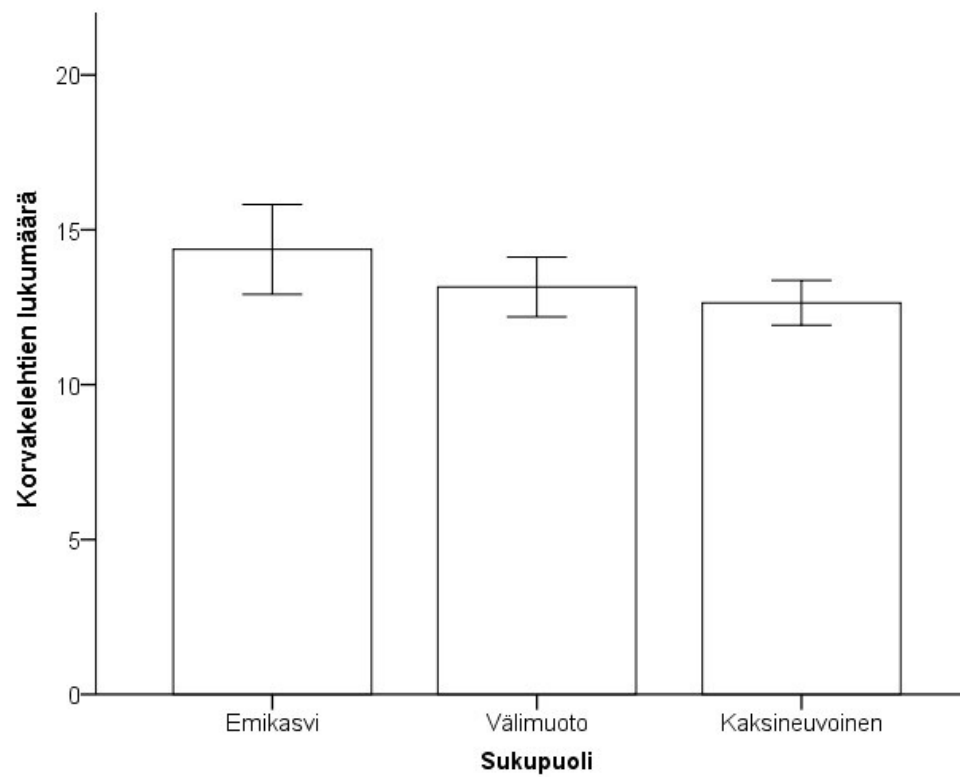
3.1. Kasvihuonekokeen tulokset – metsäkurjenpolvien koko

Kasvihuoneessa tutkittuja metsäkurjenpolvia oli kaiken kaikkiaan 154 yksilöä, joista 114 kukki havaintojenteko hetkellä (Taulukko 1). Lisäksi joukossa oli metsäkurjenpolvia, jotka eivät kukkineet ($n = 40$). Kukkimattomien metsäkurjenpolvien sukupuolta ei voitu määrittää, joten ne jätettiin pois tutkimuksesta.

Taulukko 1. Kasvihuonekokeessa tutkittujen metsäkurjenpolvien sukupuolijakauma.

	Sukupuoli	
	n	%
Emikasvit	19	16,7
Välimuodot	39	34,2
Kaksineuvoiset	56	49,1
	114	100

Korvakkeiden määrässä ei havaittu yksisuuntaisen varianssianalyysin perusteella tilastollisesti merkitsevää eroa emikasvien, välimuoto tai kaksineuvoisten kasvien välillä (Taulukko 2; Kuva 5).

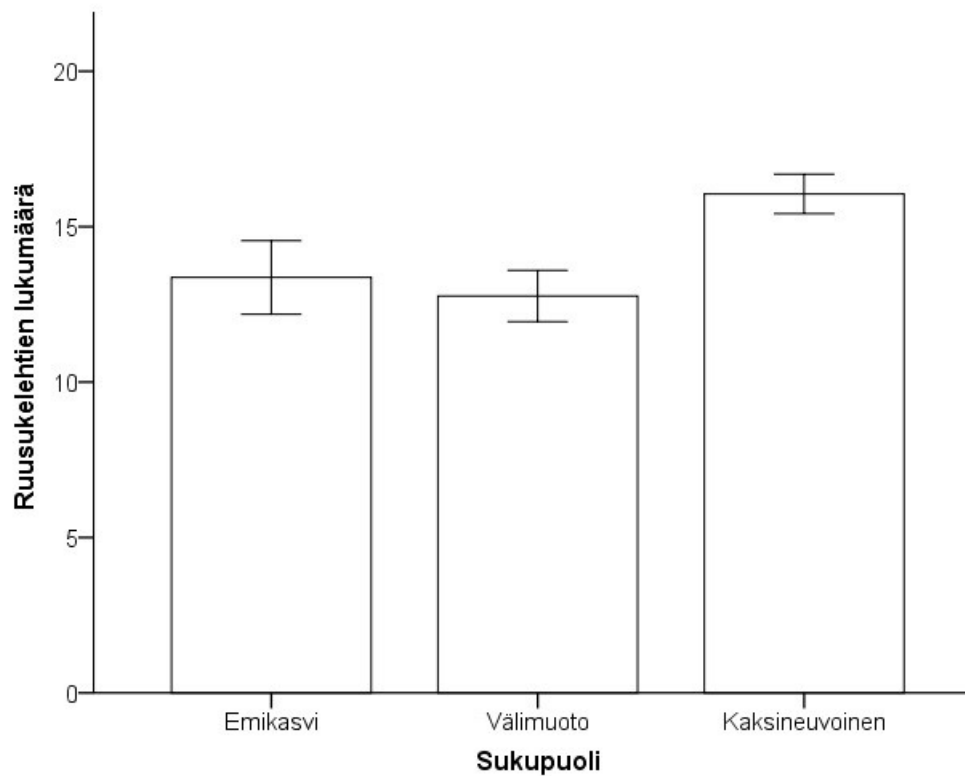


Kuva 5: Metsäkurjenpolven (*Geranium sylvaticum*) eri sukupuolten korvakelehtien lukumäärä ($\bar{x} \pm SE$).

Taulukko 2. Metsäkurjenpolven eri sukupuolten korvakelehtien lukumäärän varianssianalyysin tulokset.

	Neliösumma	df	Keskineliö	F	P -arvo
Corrected Model	42,382	2	21,191	,636	,531
Intercept	16781,873	1	16781,873	503,953	<0,01
Sukupuoli	42,382	2	21,191	,636	,531
Error	3696,355	111	33,300		
Total	23318,000	114			
Corrected Total	3738,737	113			

Ruusukelehtien määrä erosi tilastollisesti merkitsevästi (Taulukko 3; Kuva 6). Post hoc -testin (Tukeyn-testi) perusteella emikasvit eivät eroa välimuodoista ($p = 0.903$) tai kaksineuvoisista kasveista ($p = 0.108$) tilastollisesti merkitsevästi lehtien määrän suhteen mutta välimuodot ja kaksineuvoiset eroavat lehtien määrän suhteen ja tämä ero on tilastollisesti merkitsevä ($p = 0.006$). Välimuodoilla on kaksineuvoisiin verrattuna vähemmän ruusukelehtiä eli välimuodot ovat tämän perusteella kaksineuvoisia pienempiä.



Kuva 6: Metsäkurjenpolven (*Geranium sylvaticum*) eri sukupuolten ruusukelehtien lukumäärä ($\bar{x} \pm SE$).

Taulukko 3. Metsäkurjenpolven eri sukupuolten ruusukelehtien lukumäärän varianssianalyysin tulokset.

	Neliösumma	df	Keskineliö	F	P-arvo
Corrected Model	276,281	2	138,141	5,608	,005
Intercept	18517,674	1	18517,674	751,764	<0,01
Sukupuoli	276,281	2	138,141	5,608	,005
Error	2734,183	111	24,632		
Total	26921,000	114			
Corrected Total	3010,465	113			

Koska välimuotojen ja kaksineuvoisten koossa on ruusukelehtien määrän perusteella eroja, tutkittiin erikseen korrelaatioanalyysin avulla onko kasvin ruusukelehtien määrän ja infektiolaajuuden välillä yhteyttä. Analyysin perusteella suurten lehtien määrän ja infektiolaajuuden välillä ei kuitenkaan näytä olevan tilastollisesti merkitsevää riippuvuutta ($p = 0.126$) (Taulukko 4).

Taulukko 4. Ruusukelehtien ja infektioprosentin korrelaatioanalyysi (Pearsonin korrelaatio).

		Ruusukelehdet	Ruusukelehtien Infektio-%
Suuret lehdet	Pearsonin korrelaatio	1	-,144
	Sig. (2-tailed)		,126
	N	114	114

3.2. Kasvihuonekokeen tulokset – kvalitatiivinen resistenssi

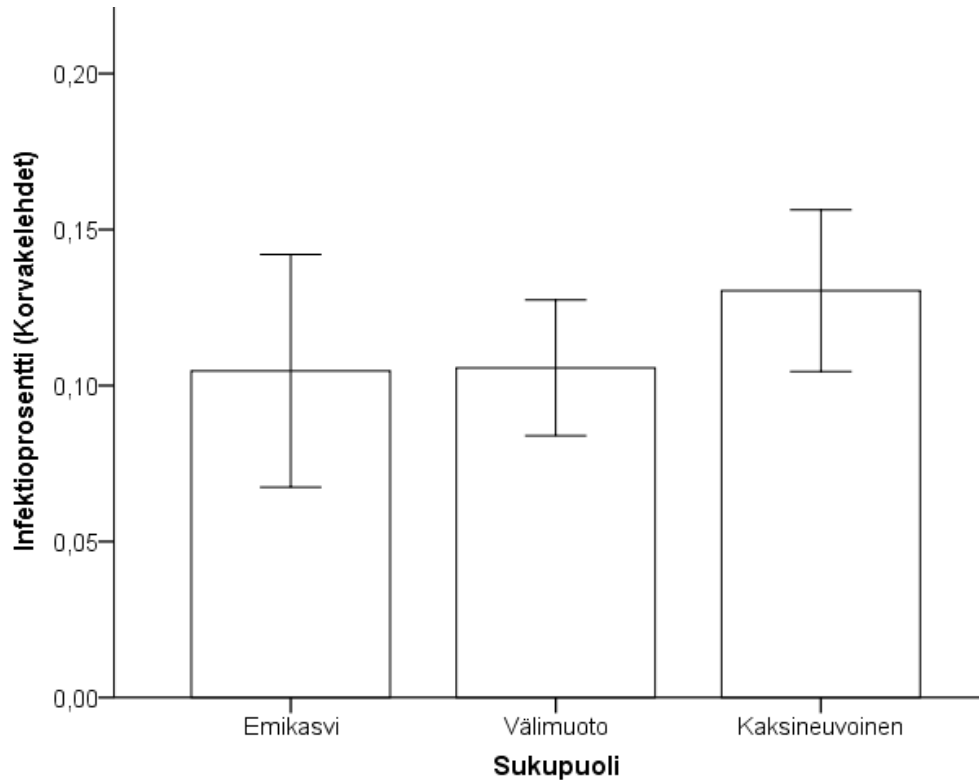
Aineistoa tarkasteltaessa havaittiin, että kasvihuoneessa kasvavista metsäkurjenpolvista ($n = 114$) kahta välimuotoa lukuunottamatta kaikki metsäkurjenpolvet ($n = 112$) saivat kurjenpolvenhärnäinfektion (Taulukko 5). Niistä kahdesta välimuodosta, jotka eivät saaneet härnäinfektiota, toisessa havaittiin jonkin muun patogeenin aikaansaama infektio. Tulosten perusteella välimuodoista 5 % oli havaintoajanjakson aikana tehtyjen havaintojen perusteella täysin resistenttejä härnälle (ei silminhavaittavaa infektiota). Kaikki emikasvit ja kaksineuvoiset kasvit saivat härnäinfektion. Tulosten perusteella ainakin metsäkurjenpolven välimuotokasveissa saattaa olla täysin härnälle resistenttejä yksilöitä.

Taulukko 5. Metsäkurjenpolven eri sukupuolten infektioltaisuus kurjenpolvenhärnälle.

		Härnäinfektio		
		Ei härnää	Härnä	n
Sukupuoli	Emikasvi	0	19	19
	Välimuoto	2	37	39
	Kaksineuvoinen	0	56	56
n		2	112	114

3.3. Kasvihuonekokeen tulokset – kvantitatiivinen resistenssi

Kvantitatiivisen resistenssin tarkastelussa tutkittiin ensin sitä, vaikuttaako sukupuoli korvakeiden infektioprosenttiin. Yksisuuntaisen varianssianalyysin perusteella sukupuolten infektioprosentissa ei ole tilastollisesti merkitseviä eroja eli sukupuoli ei vaikuta korvakeiden infektiotalttiuteen (Taulukko 6; Kuva 7).

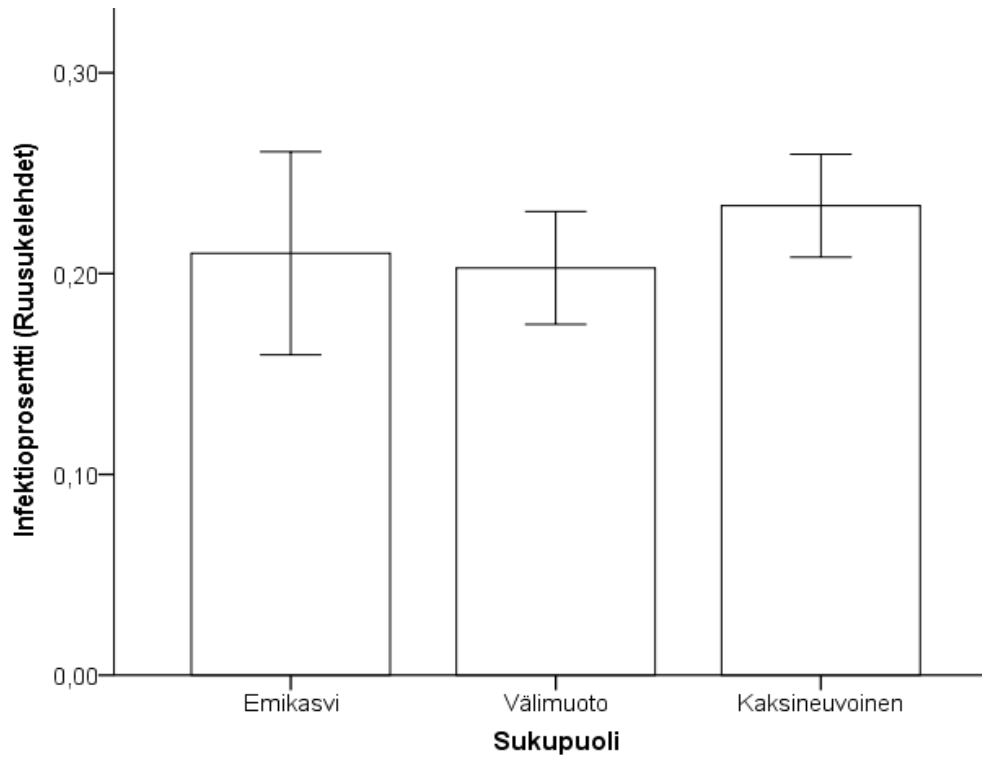


Kuva 7. Sukupuolen vaikutus korvakelehtien infektioprosenttiin ($\bar{x} \pm SE$).

Taulukko 6. Eri sukupuolten korvakelehtien infektioprosentin varianssianalyysin tulokset.

	Neliösumma	df	Keskineliö	F	P-arvo
Corrected Model	,018	2	,009	,306	,737
Intercept	1,208	1	1,208	41,313	<0,01
Sukupuoli	,018	2	,009	,306	,737
Error	3,246	111	,029		
Total	4,843	114			
Corrected Total	3,264	113			

Yksisuuntaisen varianssianalyysin avulla tutkittiin onko sukupuolten ruusukelehtien infektioprosentissa tilastollisesti merkitseviä eroja. Tulosten perusteella sukupuoli ei vaikuta merkittävästi kasvin ruusukelehtien infektiotalttiuteen (Taulukko 7; Kuva 8).

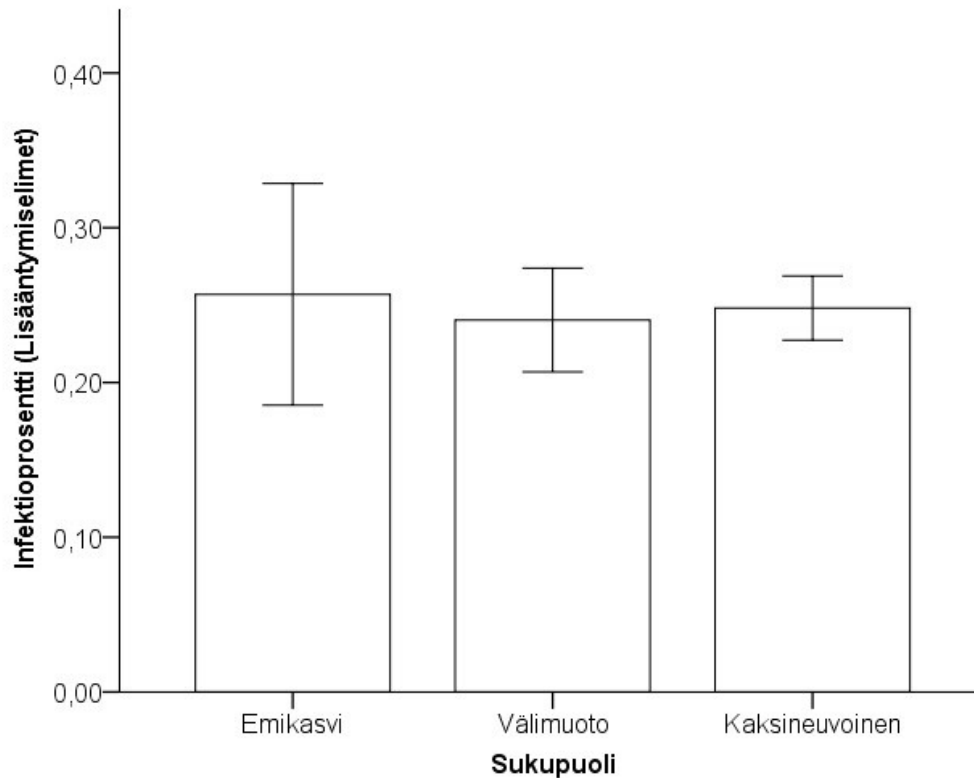


Kuva 8. Sukupuolen vaikutus ruusukelehtien infektiolaajuuteen ($\bar{x} \pm SE$).

Taulukko 7. Eri sukupuolten ruusukelehtien infektioprosentin varianssianalyysin tulokset.

	Neliösumma	df	Keskineliö	F	P-arvo
Corrected Model	,024	2	,012	,328	,721
Intercept	4,351	1	4,351	118,601	<0,01
Sukupuoli	,024	2	,012	,328	,721
Error	4,072	111	,037		
Total	9,577	114			
Corrected Total	4,096	113			

Lehtien lisäksi tutkittiin onko sukupuolella vaikutusta lisääntymiselinten härmäinfektioon. Kruskal-Wallis-testin perusteella lisääntymiselinten infektioprosenteissa ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja sukupuolten välillä ($p = ,501$) (Taulukko 8; Kuva 9).



Kuva 9. Sukupuolen vaikutus lisääntymiselinten infektioprosenttiin ($\bar{x} \pm SE$).

Taulukko 8. Eri sukupuolten lisääntymiselinten infektioprosentin Kruskal-Wallis testin tulos.

Khiin neliö	1,381
df	2
Asymp. Sig.	,501

3.4. Maastohavaintojen tulokset

Lounais-Suomessa maastohavaintoja tehtiin kahdella paikalla, joista kummallakaan ei havaittu kurjenpolvenhärmää. Keski-Suomessa tehdyissä havainnoissa kurjenpolvenhärmää löydettiin yhdeltä havaintopaikalta (62°35'22"N, 26°13'40"E). Kyseisellä paikalla läpikäydyistä yksilöistä (n = 500) yksi oli saanut härmäinfektion.

4. TULOSTEN TARKASTELU

4.1. Metsäkurjenpolven sukupuoli ja koko

Koppisiemenisillä kasveilla, joiden lisääntymissysteemi poikkeaa kaksineuvoisuudesta voidaan havaita erilaisia sukupuolisidonnaisia eroja. Gynodieekkisillä lajeilla selkein sukupuolisidonnainen ero on sukupuolielinten jakautuminen siten, että populaatiossa voidaan erottaa emikasveja ja kaksineuvoisia kasveja (Barrett & Hough 2013; Shykoff ym. 2003). Lisäksi joillain koppisiemenisillä voidaan havaita sukupuolisidonnaisia eroja esimerkiksi terälehtien koon, tuotetun meden ja siementen määrässä sekä laadussa (Shykoff ym. 2003). Aikaisempien tulosten perusteella myös metsäkurjenpolvella esiintyy joitain tällaisia sukupuolisidonnaisia eroja (Asikainen & Mutikainen 2003; Shykoff ym. 2003; Varga ym. 2013). Suoraan lisääntymiseen liittyvien sukupuolisidonnaisten erojen lisäksi, joillain gynodieekkisillä lajeilla voidaan havaita vegetatiivisiin ominaisuuksiin, kuten kasvutapaan, -muotoon tai kokoon liittyviä eroja (Barrett & Hough 2013). Esimerkiksi monilla kaksikotisilla lajeilla emi- ja hedekasvien välillä on havaittu sukupuolten vegetatiivisten ominaisuuksien välisiä kokoeroja (Kavanagh ym. 2011; Obeso 2002). Mikäli elinkiertoekijöiden välillä on kaupankäyntiä voivat sukupuolisidonnaiset erot vaikuttaa eri tavoin eri sukupuolten edustajiin. Niinpä vegetatiivisiin ominaisuuksiin liittyvien erojen huomioiminen on tärkeää, sillä erot resurssien allokoinnissa kasvuun tai esimerkiksi tietynlainen kasvumuoto saattaa vaikuttaa kasveihin kohdistuvaan herbivoriaan tai infektiolttiuteen (Ashman 2004; Barrett & Hough 2013). Tämän kokeen perusteella myös gynodieekin metsäkurjenpolven vegetatiivissa ominaisuuksissa voidaan havaita kokoon liittyviä eroja. Erot eivät kuitenkaan ilmenneet emikasvien ja kaksineuvoisten kasvien välillä vaan kaksineuvoisten kasvien eri muotojen (välimuodot, kaksineuvoiset) välillä.

Mistä tällaiset välimuotojen ja kaksineuvoisten väliset kokoerot voivat johtua? Heil ym. (2000) havaitsivat, että kemiallisen puolustautumisen laukaiseminen keinotekoisesti vaikutti tutkittujen kasvien kokoon ja tuotettujen siementen määrään negatiivisesti. Kasvihuoneessa havaitut metsäkurjenpolvien kokoerot voivat näin ollen johtua esimerkiksi siitä, että kurjenpolvenhärnäinfektion torjuminen ja hidastaminen vaikuttavat kaupankäynnin välityksellä välimuotojen kasvuun (Heil ym. 2000). Koska juuri välimuodot jäivät kaksineuvoisia pienemmiksi on mahdollista, että niillä heteiden tuottamiseen liittyy koirassteriiliyden kumoamisesta aiheutuvia resurssiallokaatiokustannuksia, jotka vaikuttavat kasvin kasvuun (*costs of restoration*) (Bailey ym. 2003). Härmäinfektion alkaessa koirassteriiliyden kumoamisesta aiheutuvat kustannukset saattavat myös metsäkurjenpolvella aiheuttaa sen, etteivät välimuotojen resurssit riitä infektion torjumisen ja hidastamisen sekä heteiden palauttamisen lisäksi enää kasvuun samalla lailla kuin emikasveilla ja kaksineuvoisilla. On myös mahdollista, että välimuodot jäävät aina keskimäärin kaksineuvoisia pienemmiksi härmäinfektion esiintymisestä riippumatta. Tämän kokeen perusteella ei voida päätellä ovatko myös härmättömät kaksineuvoiset keskimäärin välimuotoja suurempia. Jotta saataisiin selville johtuvatko metsäkurjenpolven välimuotojen ja kaksineuvoisten kokoerot härmäinfektion torjunnan ja muiden elinkiertoekijöiden välisestä kaupankäynnistä, olisikin verrattava sekä infektion saaneita että terveitä metsäkurjenpolvia keskenään. Lisäksi metsäkurjenpolven lisääntymissysteemin evoluution kannalta ja välimuotojen esiintymisen selittämiseksi olisi oleellista tietää mitkä geneettiset tekijät vaikuttavat heteiden surkastumiseen tai palautumiseen ja millaisia allokaatiokustannuksia näihin mahdollisesti liittyy.

Mikäli välimuotojen ja kaksineuvoisten välisiä kokoeroja esiintyy myös luonnossa härmästä riippumatta, olisi mielenkiintoista tietää vaikuttavatko ne metsäkurjenpolvien

suhteelliseen kelpoisuuteen etenkin niukkaravinteisissa olosuhteissa. Mikäli välimuodot ovat luonnonolosuhteissa kooltaan pienempiä eli allokoivat resursseja kaksineuvoisia vähemmän kasvuun, kykenevätkö ne tällöin allokoimaan kaksineuvoisia tehokkaammin resursseja lisääntymiseen? Delph (1990; 2003) havaitsi gynodieekkista *Hebe strictissima* -lajia tutkiessaan, että emikasvien esiintymisfrekvenssi oli korkeampi ravinneniukassa kuin runsas ravinteisessa elinympäristössä. Elinympäristön ravinnepitoisuus voi vaikuttaa emikasvien ja kaksineuvoisten esiintymisfrekvenssiin mutta onko mahdollista, että se joissain tapauksissa suosii myös välimuotojen säilymistä niukkaravinteisissa olosuhteissa. Mikäli itse heteiden surkastumiseen ei liity huomattavia kustannuksia, voivat välimuodot allokoida kaksineuvoisia vähemmän resursseja koirastoimintoihin mutta säilyttää vielä kykynsä lisääntyä emikasveihin nähden monipuolisemmin. Tällöin välimuotojen saavuttamat edut katoaisivat vasta, kun ravinneolosuhteet ovat hyvät ja heteiden palauttamiseen liittyy kustannuksia. Kaiken kaikkiaan välimuotojen ja kaksineuvoisten kokoerot saattavat osaltaan vaikuttaa niihin kohdistuviin valintapaineisiin siten, että välimuotojen ja kaksineuvoisten suhteellinen esiintymisfrekvenssi vaihtelee populaatiosta toiseen. Eli vaikka härmäinfektion ja koon välillä ei kasvihuonekokeen perusteella ole korrelaatiota, voi pölyttäjien ja herbivorien toiminta luonnossa kohdistua eritavoin erikokoisiin yksilöihin. Esimerkiksi Collin ym. (2002) havaitsivat, että gynodieekkisen *Dianthus sylvestris* -lajin suurempia kukkia tuottavat kaksineuvoiset kasvit olivat emikasveja alttiimpia herbivorialle.

Tässä kokeessa metsäkurjenpolvella havaittuja kokoeroja tulkittaessa on kuitenkin huomioitava tulosten suuri keskihajonta ja sukupuolten, eritoten emikasvien, vaatimaton määrä (Taulukko 1). Mahdolliset kokoerot välimuotojen ja kaksineuvoisten välillä oli kuitenkin huomioitava infektiolta ja -laajuutta tutkiessa, sillä kooltaan isompien kasvien todennäköisyys saada infektio voi olla pienempiin kasveihin verrattuna suurempi. Tilastotestien perusteella lehtien määrän ja härmäinfektion (infektiolaajuuden) välillä ei kuitenkaan havaittu korrelaatiota. Välimuotojen ja kaksineuvoisten kokoerot osoittavat kuitenkin sen, ettei näitä ole välttämättä mielekästä käsitellä yhtenä homogeenisena 'kaksineuvoisten' kasvien ryhmänä. Molemmat, niin välimuodot kuin kaksineuvoiset, osallistuvat jälkeläisten tuottamiseen siitepölyn ja siemenaiheiden avulla mutta tuotetun siitepölyn määrä voi vaihdella ja ainakin koon perusteella välimuodot ja kaksineuvoiset saattavat ohjata resurssejaan eritavoin. Nämä erot voivat puolestaan vaikuttaa siihen, miten sukupuolet allokoivat resurssejaan resistenssin tai muiden elinkiertoekijöiden ylläpitoon.

4.2. Kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen resistenssi

Elinkiertostrategia teorian taustalla on oletus siitä, että kasvin täytyy allokoida rajalliset resurssinsa mahdollisimman tehokkaasti eri elinkiertoekijöiden, kuten kasvun, lisääntymisen ja puolustautumisen kesken (Obeso 2002; Salonen 2006; Silvertown & Charlesworth 2001). Mikäli kasvi allokoii rajallisia resurssejaan enemmän tietyn elinkiertoekijän ylläpitämiseen, on muiden elinkiertoekijöiden käytettävissä vähemmän resursseja. Esimerkiksi resistenssin ja kasvun sekä lisääntymisen ja kasvun välillä on monissa kaksikotisia lajeja koskevissa tutkimuksissa havaittu kaupankäyntiä, joka vaihtelee kasvin sukupuolen mukaan (Bergelsen & Purrington 1996; Cipollini & Whigham 1994). Tässä tutkimuksessa havaittujen kokoerojen lisäksi, gynodieekkisella metsäkurjenpolvella on myös aikaisemmissa tutkimuksissa havaittu erilaisia sukupuolisidonnaisia eroja (Asikainen & Mutikainen 2003; Shykoff ym. 2003; Varga ym. 2013). Tutkimuskysymyksen kannalta oleellista on se, vaihtelevatko metsäkurjenpolven sukupuolisidonnaiset erot merkittävästi emikasvien, välimuotojen ja kaksineuvoisten välillä ja onko sukupuolisidonnaisten ominaisuuksien sekä resistenssin välillä kaupankäyntiä. Esimerkiksi allokaatioperiaatteen (*principle of allocation*) perusteella

voitaisiin olettaa, että mikäli edellä mainittujen ominaisuuksien välillä on kaupankäyntiä se havaitaan metsäkurjenpolven emikasvien, välimuotojen ja kaksineuvoisten kasvien välisinä resistenssin eroina.

Kvalitatiivinen resistenssi tarkoittaa R-geenin aikaansaamaa täydellistä resistenssiä. Käytännössä se tarkoittaa sitä, että yksilö on tietylle patogeenille joko resistentti tai altis sen mukaan kykeneekö sen R-geeni tunnistamaan patogeenin (Poland ym. 2008). Koska kurjenpolvenhärmän on mitä todennäköisemmin kulkeutunut kasvihuoneeseen siellä kasvatettavien metsäkurjenpolvien mukana ja kasvit olivat saaneet jo aikaisempina vuosina härmäinfektion, voitiin jo lähtökohtaisesti olettaa että ainakaan osalla kasveista ei ollut kvalitatiivista resistenssiä härmälle. Kasvihuonehavaintojen perusteella infektioalttius ei vaihdellut merkittävästi emikasvien, välimuotojen ja kaksineuvoisten välillä, sillä kaikki kasvit, kahta välimuotoa lukuunottamatta, saivat härmäinfektion. Tässä yhteydessä onkin kenties aiheellista pohtia sitä, vaikuttaako geneettinen tausta huomattavasti resurssiallokointia enemmän kvalitatiivisen resistenssiin. Kvalitatiivinen resistenssi perustuu yhteen geeniin, joten on mahdollista, että lisääntymissysteemi vaikuttaa siihen enemmän esimerkiksi itsepölytyksen ja mahdollisen sisäsiitoksen välityksellä. Muun muassa Chang (2007) tutki eroaako *Geranium maculatum* -lajin kaksineuvoisten ja emikasvien sisäsiitosdepression taso toisistaan. Tutkimuksessa ei kuitenkaan havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja kaksineuvoisten ja emikasvien välillä mutta ainakin teoreettisesti emikasvien kyvyttömyys itsepölytykseen saattaa vaikuttaa populaation geneettiseen monimuotoisuuteen (Silvertown & Charlesworth 2001) ja tätä kautta kenties myös R-geeneihin perustuvaan kvalitatiiviseen resistenssiin.

Koska kasvihuoneessa tutkitut metsäkurjenpolvet olivat pääsääntöisesti alttiita härmälle, on myös mahdollista ettei kurjenpolvenhärämä ole niin yleinen tai haitallinen patogeeni, että kasveille olisi kehittynyt kyky puolustautua härmää vastaan kvalitatiivisen resistenssin avulla. Esimerkiksi Tian ym. (2003) havaitsivat, että R-geenien aikaansaamaan resistenssiin liittyy kustannuksia. Kvalitatiiviseen resistenssin ylläpitoon liittyvät kustannukset saattavat vaikuttaa resistenttien kasvien suhteelliseen kelpoisuuteen, sellaisissa elinympäristöissä joissa patogeenia ei ole tai joissa sen vaikutukset eivät ole merkittäviä (Parker 1992). Tämän tutkimuksen perusteella metsäkurjenpolvien kvalitatiivisesta resistenssistä voidaan kuitenkin todeta vain se, että kasvihuoneessa kasvavat metsäkurjenpolvet olivat pääsääntöisesti alttiita härmäinfektioille eli ne eivät kyenneet tunnistamaan ja torjumaan kurjenpolvenhärmää.

Sukupuolisidonnaisten erojen on todettu voivan vaikuttaa eritavoin emikasveihin ja kaksineuvoisiin kasveihin kohdistuvaan herbivoriaan (Collin ym. 2002; Marshall & Ganders 2001). Tällöin kyse on kuitenkin siitä, että esimerkiksi suuremmat kukat (Collin ym. 2002) houkuttelevat pölyttäjien lisäksi patogeeneja. Käytännössä tämä olisi vastannut sitä, että metsäkurjenpolven ruusukelehtien suurempi määrä (ts. koko) olisi altistanut yksilön herkemmin patogeenille. Tällaisia eroja ei kuitenkaan havaittu, eikä kvantitatiivisen resistenssikään havaittu vaihtelevan ryhmien välillä. Korvakelehtien, ruusukelehtien ja lisääntymiselinten perusteella metsäkurjenpolven kvalitatiivisessa härmäresistenssissä ei näin ollen havaittu eroja emikasvien, välimuotojen ja kaksineuvoisten välillä. Sukupuolisidonnaiset erot eivät tämän tutkimuksen perusteella vaikuta kaupankäynnin kautta kasvien kykyyn hidastaa härmäinfektiota tai tällaisia eroja ei kyetty havaitsemaan tämän kokeen puitteissa.

Tässä tutkimuksessa onkin huomioitava muun muassa se, että resistenssin erojen havaitsemista voi vaikeuttaa joidenkin lajien kyky palauttaa jo lisääntymiseen allokoituja resursseja takaisin käyttöönsä (Ashman 1993). Resurssien allokoinnin ja ohjautumisen kannalta härmä onkin mielenkiintoinen patogeeni. Härmän on todettu voivan heikentää yhteyttämistehokkuutta ja hyödyntää isäntäkasvia ravinnonlähteenään (Moriendo ym.

2005; Magyarosy 1975; Fotopoulos 2003) mutta onko mahdollista, että se häiritsisi myös isäntäkasvin kykyä uudelleen kierrättää lisääntymiseen allokoituja resursseja? Kasvihuoneessa havaittiin, että kurjenpolvenhärmää kasvoi muun muassa lehtien, nuppujen ja varsien pinnassa. Mikäli metsäkurjenpolven yksilöt kykenevät ottamaan resursseja takaisin käyttöönsä on mahdollista, että härmä vaikuttaa tähän ominaisuuteen. Lisäksi tämän tutkimuksen tulosten kannalta on huomioitava, että jotkin kasvit saattavat kompensoida resurssiallokaatiosta aiheutuvia kaupankäyntikustannuksia tehostamalla ravinteiden käyttöönottoa, jolloin kustannusten havaitseminen vaikeutuu (Obeso 2002).

4.3. Kasvihuonehavaintojen ja maastohavaintojen vertailu

Kasvihuoneessa kahta kasvia lukuunottamatta kaikki metsäkurjenpolvet (n=112) saivat kurjenpolvenhärmäinfektion. Maastossa kurjenpolvenhärmää havaittiin vain yhdellä viidestä tutkitusta paikasta. Neljällä paikalla härmää ei tavattu eli härmää ei joko esiinny näillä paikoilla, sitä ei havaittu tai vuosi oli huono härmäinfektion leviämislle eikä härmää havaittu sen alhaisen esiintymisfrekvenssin takia. Havainnot kerättiin kuitenkin vain kerran jokaiselta havainnointipaikalta, joten on hyvin mahdollista että tämä vaikutti osaltaan siihen ettei härmää havaittu näillä paikoilla. Mikäli kurjenpolvenhärmän esiintymistä haluttaisiin tutkia tarkemmin olisi aiheellista kerätä useampia havaintoja jokaista keruupaikkaa kohden. Vuoden 2015 maastohavaintojen perusteella kurjenpolvenhärmä ole tutkituilla paikoilla kovin yleinen patogeeni.

Kurjenpolvenhärmän vaikutusten arvioimisen kannalta olisi mielenkiintoista tietää, saavuttaako tämä härmä luonnossa koskaan kasvihuoneen kaltaista esiintymisfrekvenssiä, kuinka usein ja millaisissa olosuhteissa. On kuitenkin huomioitava se, että esimerkiksi Gerns ym. (2001) havaitsivat tutkimuksessaan härmän *Erysiphe graminis*, olevan yleisempi ja lisääntyvän tehokkaammin kasvihuoneessa kuin maastossa ja härmäpatogeenit ovatkin monien kasvihuoneessa kasvavien kasvilajien yleisiä patogeeneja (Kiss 2003). Kasvihuoneen olosuhteet, yhden kasvilajin monokulttuuri ja luonnonympäristöön verrattuna kenties vähäisempi kilpailu härmän ja muiden lajien välillä, saattavatkin olla härmäpatogeenien kannalta otolliset ja lisätä isäntäkasvin infektiotaltiutta.

4.4. Johtopäätökset

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, vaikuttavatko metsäkurjenpolven sukupuolisidonnaiset erot emikasvien, välimuotojen ja kaksineuvoisten kvalitatiiviseen tai kvantitatiiviseen härmäresistenssiin. Aikaisempien sukupuolisidonnaisten erojen lisäksi (Asikainen & Mutikainen 2003; Shykoff ym. 2003; Varga ym. 2013) metsäkurjenpolvella havaittiin välimuotojen ja kaksineuvoisten välisiä kokoeroja. Emikasvit eivät eronneet merkittävästi välimuodoista tai kaksineuvoisista. Onkin mielenkiintoista havaita, ettei kokoeroja havaittu varsinaisesti sukupuolten välillä vaan kaksineuvoisten ryhmän (välimuodot, kaksineuvoiset) sisällä. Kokoeroista huolimatta tutkimuksessa ei kuitenkaan havaittu korrelaatiota lehtien määrän ja härmäinfektioaajuuden välillä. Olisi kuitenkin aiheellista tutkia eroavatko luonnonvaraiset välimuoto ja kaksineuvoiset kasvit fysiologisten ja morfologisten ominaisuuksien suhteen toisistaan sekä tutkia vaikuttavatko nämä erot metsäkurjenpolven muihin ekologiisiin vuorovaikutussuhteisiin (herbivoria, pölyttäjät, mykorritsasienet). Lisääntymissysteemin evoluution kannalta olisi myös oleellista tietää miten ja millaisissa kasvuympäristöissä välimuodot kehittyvät ja säilyvät sekä mikä niiden suhteellinen kelpoisuus on emikasveihin ja kaksineuvoisiin nähden.

Sukupuolten resurssiallokaatioerojen tutkimisessa on huomioitava erityisesti se, miten sukupuoli määriteltiin. Metsäkurjenpolvi määritellään usein gynodieekkiseksi lajiksi, jonka yksilöt voivat tuottaa emikukkien ja kaksineuvoisten kukkien lisäksi välimuotoisia kukkia. Tässä tutkimuksessa kasville määriteltiin sukupuoli sen kukkien sisältämien

heteiden määrän perusteella. Emikasvien ja kaksineuvoisten kohdalla jako on melko selkeä mutta välimuotojen-ryhmä sisältää paljon vaihtelua, sillä se pitää sisällään joukon erilaisia kukkia tuottavia yksilöitä. Välimuotojen kohdalla kyse onkin kenties enemmän tietynlaisesta resurssien allokoinnista heteiden tuottamiseen kuin varsinaisesta 'sukupuolesta'. Lisäksi kasvien sukupuoli määriteltiin yhdellä havaintokerralla, joten niin sanottu sukupuoli on pikemminkin arvio kasvin tavasta allokoida resursseja tietynlaisten sukupuolielinten tuottamiseen, kuin lopullinen määritelmä yksilön sukupuolesta. Emikasveihin, kaksineuvoisiin ja välimuotokasveihin perustuvan jaottelun sijaan saattaisikin olla mielekkäämpää lähestyä resurssiallokaatiota tuotettujen kukkien ja lisääntymiselinten määrän perusteella. Eli käytännössä kerätä useampia otoksia siitä, kuinka paljon lisääntymiselimiä (kukkia, nuppuja, heteitä ym.) yksilöt tuottavat keskimäärin kukinnan aikana ja verrata korreloiko resurssien allokointi kasvun tai infektion laajuuden kanssa. Nyt tehdyssä tutkimuksessa oletuksena oli, että jako emikasveihin, kaksineuvoisiin ja välimuotoihin kuvaa riittävästi yksilön tapaa käyttää resursseja. On kuitenkin mahdollista, ettei tämä jako kykene kuvaamaan yksilöiden välistä vaihtelua etenkin, kun välimuotojen ryhmän sisäinen vaihtelu on morfologisten ominaisuuksien suhteen suurta ja sukupuolen määritelmä perustuu kasvin kaikkien kukkien heteiden keskiarvoon. Tämä on hyvä pitää mielessä silloinkin, kun tulkitaan välimuotojen ja kaksineuvoisten välisiä kokoroja. Mikäli kasvin sukupuolella on merkitystä tutkimuskysymyksen kannalta, on aiheellista pohtia miten kasvin sukupuoli määritellään ja kuinka paljon vaihtelua lisääntymissysteemin käsite voi todella pitää sisällään.

Metsäkurjenpolvien kvalitatiivisessa tai kvantitatiivisessa härmäresistenssissä ei havaittu eroja emikasvien, välimuotojen ja kaksineuvoisten kasvien välillä. Kaksi välimuotokasvia ei saanut härmäinfektiota. Niiden härmäresistenssi saattoi olla kvalitatiivista eli ne kykenevät tunnistamaan ja torjumaan härmän mutta varmoja johtopäätöksiä ei voida tämän kokeen pohjalta tehdä. Korvakkeiden, ruusukelehtien ja kukinnan perusteella emikasvien, välimuotojen ja kaksineuvoisten kvantitatiivisessa resistenssissä ei myöskään havaittu eroja. Mikäli sukupuolisidonnaisten erojen tuottamiseen liittyy huomattavia resurssiallokaatiokustannuksia ja kustannukset heijastuvat kaupankäynnin välityksellä kasvin resistenssiin, ei tällaisia eroja kyetty ainakaan tässä kokeessa havaitsemaan. Vaikutusten arvioimiseksi olisi kuitenkin syytä tehdä idätyskoe eli tutkia vaikuttaako härmäinfektio härmällisten ja härmättömien kasvien lisääntymismenestykseen. Metsäkurjenpolvi on monivuotinen kasvi, joten olisi aiheellista tutkia myös vaikuttaako härmäinfektio kasvien selviytymiseen tai lisääntymismenestykseen infektiota seuraavina kasvukausina. Näiden avulla voitaisiin vahvistaa käsitystä siitä, onko gynodieekkiseen lisääntymissysteemiin liittyvien sukupuolisidonnaisten ominaisuuksien ja patogeenien välillä merkittävää vuorovaikutusta.

KIITOKSET

Haluan kiittää ohjaajaani Minna-Maarit Kytöviitaa avusta tutkimuksen suunnittelussa ja toteuttamisessa sekä kirjallisen työn kommentoinnista. Lisäksi kiitän Emilia Kostamoja kannustamisesta ja valaisevista kommentteista.

KIRJALLISUUS

- Agrios G.N. 1988. *Plant pathology*. Academic Press, San Diego.
- Ashman T.-L. 1993. A dynamic perspective on the physiological cost of reproduction in plants. *The American Naturalist*. 144(2): 300-316.
- Ashman T.-L. 2002. The role of herbivores in the evolution of separate sexes from hermaphroditism. *Ecology*. 83(5): 1175-1184.

- Ashman T.-L. 2004. Sex-differential resistance and tolerance to herbivory in a gynodioecious wild strawberry. *Ecology*. 85: 2550-2559.
- Ashman T.-L. 2006. The evolution of separate sexes: a focus on the ecological context. Teoksessa: Harder L. D. & Barrett S.C.H. (toim.), *Ecology and evolution of flowers*. Oxford University Press, Oxford, s. 204-222.
- Asikainen E. & Mutikainen P. 2003. Female Frequency and Relative Fitness of Females and Hermaphrodites in Gynodioecious *Geranium sylvaticum* (Geraniaceae). *American Journal of Botany*. 90: 226-234.
- Bailey M.F., Delph L.F. & Lively C.M. 2003. Modelling Gynodioecy: Novel Scenarios for Maintaining Polymorphism. *The American Naturalist*. 161: 762-776.
- Barrett S.C.H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature reviews genetics*. 3: 274-284.
- Barrett S.C.H. & Hough J. 2013. Sexual dimorphism in flowering plants. *Journal of Experimental Botany*. 64(1): 67-82.
- Bergelson J. & Purrington C.B. 1996. Surveying patterns in the cost of resistance in plants. *The American Naturalist*. 148: 536-558.
- Braun U. & Cook R.T. 2012. *Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews)*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht.
- Campbell N.A. & Reece J.B. 2005. *Biology*. Benjamin Cummings, San Francisco (Calif.).
- Carr D.E. & Eubanks M.D. 2002. Inbreeding alters resistance to insect herbivory and host plant quality in *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae). *Evolution*. 56(1): 22-30.
- Chang S. 2007. Gender-specific inbreeding depression in a gynodioecious plant, *Geranium maculatum* (Geraniaceae). *American Journal of Botany*. 94: 1193-1204.
- Charlesworth B. & Charlesworth D. 1978. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *The American Naturalist*. 112: 975-997.
- Charlesworth C. 2006. Evolution of Plant Breeding Systems. *Current Biology*. 16: 726-735.
- Charlesworth D. & Charlesworth B. 1987. The effect of investment in attractive structures on allocation to male and female functions in plants. *Evolution*. 41(5): 948-968
- Cipollini M.L. & Whigham D.F. 1994. Sexual dimorphism and cost of reproduction in the dioecious shrub *Lindera benzoin* (Lauraceae). *American Journal of Botany*. 81(1): 65-75.
- Collin C.L., Pennings P.S., Rueffler C., Widmer A. & Shykoff J.A. 2002. Natural enemies and sex: how seed predators and pathogens contribute to sex-differential reproductive success in a gynodioecious plant. *Oecologia*. 131: 94-102.
- Delph L.F. 1990. Sex-ratio variation in the gynodioecious shrub *Hebe strictissima* (Scrophulariaceae). *Evolution*. 44: 134-142.
- Delph L.F. 2003. Sexual dimorphism in gender plasticity and its consequences for breeding system evolution. *Evolution & Development*. 5: 34-39.
- Fotopoulos V., Gilbert M.J., Pittman J.K., Marvier A.C., Buchanan A.J., Sauer N., Hall J.L. & Williams L.E. 2003. The monosaccharide transporter gene, *AtSTP4*, and the cell-wall invertase, *Atβfruct1*, are induced in *Arabidopsis* during infection with the fungal biotroph *Erysiphe cichoracearum*. *Plant Physiology*. 132: 821-29.
- Gerrns H., von Alten H. & Poehling H.-M. 2001. Arbuscular mycorrhiza increased the activity of a biotrophic leaf pathogen – is a compensation possible? *Mycorrhiza*. 11: 273-243.
- Glawe D.A. 2008. The Powdery Mildews: A Review of the World's Most Familiar (Yet Poorly Known) Plant Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. 46: 27-51.
- Heil, M., Hilpert A., Kaiser W. & Linsenmair E. 2000. Reduced growth and seed set following chemical induction of pathogen defence: does systemic acquired resistance (SAR) incur allocation costs? *Journal of Ecology*. 88: 645-654.
- Hermes A.D. & Mattson W.J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology*. 67(3): 283-335.
- Hämet-Ahti L. & Hackman W. 1998. *Retkeilykasvio*. Luonnontieteellinen keskusmuseo, Helsinki.
- Kavanagh P.H., Lehnebach C.A., Shea M.J. & Burns K.C. 2011. Allometry of Sexual Size Dimorphism in Dioecious Plants: Do Plants Obey Rensch's Rule? *The American Naturalist*. 178(5): 596-601.
- Kiss L. 2003. A review of fungal antagonists of powdery mildews and their potential as biocontrol agents. *Pest Management Science*. 59: 475-483.

- Koskela T., Puustinen S., Salonen V. & Mutikainen P. 2002. Resistance and tolerance in a host plant-holoparasitic plant interaction: genetic variation and costs. *Evolution*. 56(5): 899-908.
- Lewis D. 1941. Male sterility in natural populations of hermaphrodite plants. *The New Phytologist*. 40: 56-63.
- Lloyd D.G. 1974. Theoretical sex ratios of dioecious and gynodioecious angiosperms. *Heredity*. 32: 11-34.
- Magyarosy A.C., Schürmann P. & Buchanan B.B. 1975. Effect of Powdery Mildew Infection on Photosynthesis by Leaves and Chloroplasts of Sugar Beets. *Plant physiology*. 57: 486-489.
- Marshall M. & Ganders F.R. 2001. Sex-biased seed predation and the maintenance of females in a gynodioecious plant. *American Journal of Botany*. 88(8): 1437-1443.
- Moriondo, M., Orlandini S., Guintoli A. & Bindi M. 2005. The Effect of Downy and Powdery Mildew on Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Leaf Gas Exchange. *Journal of Phytopathology*. 153: 350-357.
- Obeso J.R. 2002. The costs of reproduction in plants. *The New Phytologist*. 3: 321-348.
- Parker M.A. 1992. Disease and plant population genetic structure. Teoksessa: Fritz R.S. & Simms E.L. (toim.), *Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution, and genetics*. The University of Chicago Press, Chicago, s. 345-362.
- Percival M. 1965. *Floral biology*. Pergamon, Oxford.
- Poland J.A., Balint-Kurti P.J., Wisser R.J., Pratt R.C. & Nelson R.J. 2008. Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends in Plant Science*. 14: 21-29.
- Purrington C.B. 2000. Costs of resistance. *Current Opinion in Plant Biology*. 3: 305-308.
- Reekie E.G. & Bazzaz F.A. 2005. *Reproductive allocation in plants*. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston.
- Richards A.J. 1986. *Plant breeding systems*. Allen & Unwin, London.
- Rodríguez-Riño T. & Dafni A. 2007. Pollen-Stigma Interference in Two Gynodioecious Species of Lamiaceae with Intermediate Individuals. *Annals of Botany*. 100(2): 423-431.
- Sakai A.K., Weller S.G., Chen M., Chou S. & Tسانont C. 1997. Evolution of gynodioecy and maintenance of females: The role of inbreeding depression, outcrossing rates, and resource allocation in *Schiedea adamantis* (Caryophyllaceae). *Evolution*. 51: 724-736.
- Salonen, V. 2006. *Kasviekologia: millaista on luonnonkasvien elämä?* WSOY oppimateriaalit, Helsinki.
- Simms E.L. & Triplett J. 1994. Costs and benefits of plant responses to disease: Resistance and tolerance. *Evolution*. 48(6): 1973-1985.
- Shykoff J.A. 1988. Maintenance of gynodioecy in *Silene acaulis* (Caryophyllaceae): Stage-specific fecundity and viability selection. *American Journal of Botany*. 75: 822-850.
- Shykoff J.A., Kolokotronis S.-O., Collin C. L. & López-Villavicencio. 2003 Effects of male sterility on reproductive traits in gynodioecious plants: a meta-analysis. *Oecologia*. 135:1-9.
- Silvertown J.W. & Charlesworth D. 2001. *Introduction to plant population biology*. Blackwell, Oxford.
- Strauss S.Y. & Agrawal A.A. 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *TRENDS in Ecology and Evolution*. 14:179-185.
- Strauss S.Y., Rudgers J.A., Lau J.A. & Irwin R.E. 2002. Direct and ecological costs of resistance to herbivory. *TRENDS in Ecology & Evolution*. 17(6): 278-285.
- Susi H. 2014. *Host-pathogen co-evolution through trade-offs and coinfection*. Department of Biosciences Faculty of Biological and Environmental Sciences. University of Helsinki.
- Terävä E. & Kanervo E. 2008. *Kasvianatomia*. Edita Publishing Oy, Helsinki.
- Tian D., Traw M.B., Chen J.Q., Kreitman M. & Bergelson J. 2003. Fitness costs of R-gene-mediated resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Letters to Nature*. 423:74-77.
- Walters D. 2010. *Plant defence: warding off attack by pathogens, herbivores and parasitic plants*. Blackwell, Chichester, West Sussex.
- Varga S., Nuortila C. & Kytöviita M.-M. 2013. Nectar Sugar Production across Floral Phases in the Gynodioecious Protandrous Plant *Geranium sylvaticum*. *PLoS ONE*. 8(4):e62575.
- Varga S. & Kytöviita M.-M. 2014. Variable mycorrhizal benefits on the reproductive output of *Geranium sylvaticum*, with special emphasis on the intermediate phenotype. *Plant Biology*. 16: 306-314.

- Varga S., Vega-Frutis R. & Kytöviita M.-M. 2003. Transgenerational effects of plant sex and arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*. 199: 812-821.
- Volkova P.A. , Rudakova V.S. & Shipunov A.B. 2007. Sex ratios in population of *Geranium sylvaticum* in European Russia. *Plant Species Biology*. 22:125-128.
- Yampolsky E. & Yampolsky H. 1922. Distribution of sex forms in the phanerogamic flora. *Bibliotheca Genetica*. 3: 1-62.