



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

Tuntokasvin (*Mimosa pudica*) puolustuskäyttäytyminen: yksilölliset erot ja kasvinsyönnin vaikutukset

Milla M. Aalto

Biologia

Pro gradu -tutkielma

Laajuus: 30 op

29.4.2023

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu

Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Pääaine: Biologia

Tekijä: Milla Aalto

Otsikko: Tuntokasvin (*Mimosa pudica*) puolustuskäyttäytyminen: yksilölliset erot ja kasvinsyönnin vaikutukset

Ohjaajat: Marjo Helander ja Milla Salonen

Sivumäärä: 40 sivua

Päivämäärä: 29.4.2023

Kasvit puolustautuvat herbivoreilta eli kasvinsyöjiltä erilaisilla puolustusmekanismeilla. Indusoituvia puolustusmekanismeja voidaan tutkia myös käyttäytymisekologian näkökulmasta. Tuntokasvi (*Mimosa pudica*) puolustautuu taivuttamalla lehtensä kosketettaessa nopeasti piiloon. Tässä tutkimuksessa selvitettiin laboratorio-oloissa, vaikuttaako herbivoria tuntokasvin käyttäytymiseen ja kasvuun, onko käyttäytymiseroilla vaikutusta kasvuun ja esiintyykö kasvulla käyttäytymisen toistettavuutta. Tutkimusta varten kasvatettiin tuntokasveja kahdessa käsittelyryhmässä: simuloitu herbivoria ja kontrolli. 6 käsittelyviikon jälkeen tehtiin kosketuskokeet, joissa kasvin kolmea eri-ikäistä lehteä ärsytettiin mekaanisesti ja niiden reaktio dokumentoitiin. Kokeet tehtiin jokaiselle kasville 3 kertaa. Kokeiden jälkeen kasvien biomassaa punnittiin. Tutkimuksessa käyttäytymistä kuvaavia muuttujia olivat lehden nuokahdus (taipuiko lehti ärsytettäessä kokonaan alas) ja reaktion laajuus (miten suurelta osin lehden lehdykät sulkeutuivat). Kasvua kuvaavia muuttujia olivat juuren ja version biomassat kuivattuna sekä näiden suhde eli juuri-verso-suhde. Juuren ja version biomassoille ja juuri-verso-suhteelle sovitettiin yleistetyt lineaariset mallit, joissa selitettiin kasvumuuttujaa käsittelyllä ja yksilön reaktioprosentin keskiarvolla. Nuokahdukselle ja reaktioprosentille sovitettiin sekamallit, joissa selitettiin käyttäytymisvastetta käsittelyllä ja satunnaismuuttujana yksilöllä, johon pesitettiin lehden ikäluokka. Mallien tuloksia tarkasteltiin varianssianalyysillä ja parittaisilla vertailuilla. Käyttäytymisvasteiden malleista testattiin yksilön reaktion toistettavuus (käyttäytymisvasteen pysyvyys kosketuskokeiden eri kierroksilla). Herbivoriakäsittelyllä oli vaikutus reaktion laajuuteen: käsittelyryhmän kasveilla reaktion laajuus oli 12,2 % suurempi kuin kontrolliryhmässä. On todennäköistä, että tuntokasvi lisää panostusta mekanismin herkkyyteen, kun herbivori on jatkuvasti läsnä. Samaa vaikutusta ei kuitenkaan ollut lehden nuokahdukseen. Ero saattaa selittyä reaktion fysiologisella mekanismilla. Käsittelyllä ei ollut vaikutusta juuren tai version biomassaan. Käsittely vaikutti kuitenkin kasvin biomassan jakautumiseen: juuri-verso-suhde oli käsittelyryhmän kasveilla suurempi. Kun versoon kohdistuu herbivoriaa, kasvin kasvustrategia voikin painottua juuren biomassan kasvattamiseen. Myös lehtien sulkeutumiskäyttäytyminen oli yhteydessä biomassaan: niillä kasviyksilöillä, joiden sulkeutumisreaktion laajuus oli suurempi, version biomassa oli pienempi. Kyse lienee kasvun ja puolustautumisen välisestä allokaatiokustannuksesta. Käyttäytymisvasteen pysyvyyden testauksessa mielenkiintoisesti havaittiin, että lehdyköiden sulkeutumisreaktion laajuus oli toistettava. Nuokahdus ei ollut toistettava, minkä selitys saattaa myös liittyä mekanismin toimintaan. Tämän tutkimuksen tulokset osoittavat, että tuntokasvin käyttäytyminen ja kasvu mukautuvat vasteena simuloituun herbivoriaan, mutta myös käyttäytymisellä on vaikutusta kasvuun. Tulokset vahvistavat myös jo aiemmin eräissä kenttätutkimuksissa esitettyä näkemystä tuntokasvin käyttäytymisen toistettavuudesta: tuntokasvilla vaikuttaisi olevan ”persoonallisuus”, kun persoonallisuudesta käytetään eläinten käyttäytymistutkimuksessa vakiintunutta määritelmää eli sellaisia yksilöiden välisiä käyttäytymiseroja, jotka ovat suhteellisen pysyviä eri konteksteissa läpi yksilön elämän. Reaktion laajuuden kohdalla käyttäytymisen toistettavuusaste oli samaa luokkaa kuin aiemmissa tutkimuksissa eläinten persoonallisuudesta. Tällainen käyttäytymisekologinen lähestymistapa ja eläinten käyttäytymistutkimuksen elementtien lainaaminen tarjoavat uudenlaisen, merkittävän näkökulman kasvibiologiaan.

Avainsanat: *Mimosa pudica*, tuntokasvi, indusoitava puolustus, kasvinsyönti, allokaatiokustannus, käyttäytyminen, persoonallisuus

SISÄLLYS

1. JOHDANTO.....	4
1.1. Kasvien puolustautumismekanismit	4
1.2. Kasvien käyttäytyminen	5
1.3. Käyttäytymistutkimus tuntokasvilla	9
1.4. Persoonallisuus käyttäytymisekologian käsitteenä.....	12
1.5. Tutkimuksen tavoitteet ja hypoteesit	13
2. AINEISTO JA MENETELMÄT	14
2.1. Tutkimuslaji tuntokasvi	14
2.2. Kasvatus ja käsittely	16
2.3. Kokeet ja mittaukset	17
2.4. Aineiston tilastollinen analysointi	18
3. TULOKSET	21
3.1. Kuvaileva analyysi	21
3.2. Biomassa ja sen jakautuminen.....	22
3.3. Herbivorian vaikutus käyttäytymiseen	26
3.4. Käyttäytymisen toistettavuus.....	27
4. TULOSTEN TARKASTELU	28
4.1. Herbivoria, puolustuskäyttäytyminen ja biomassa	28
4.2. Tuntokasvin käyttäytymisen toistettavuus.....	30
4.3. Kasvien käyttäytymistutkimuksen terminologia	32
5. JOHTOPÄÄTÖKSET	34
KIITOKSET	35
LÄHTEET	36

1. JOHDANTO

1.1. Kasvien puolustautumismekanismit

Kasvin kelpoisuus riippuu sen kyvystä mukautua ympäristöönsä (Herms & Matsson 1992; de Vries ym. 2017). Kelpoisuus eli fitness kuvaa eliöyksilön kykyä säilyä elossa ja saada lisääntymiskykyisiä jälkeläisiä verrattuna populaation muihin yksilöihin. Ympäristön olosuhteet vaihtelevat kasvin elinaikana, ja kelpoisuuden kannalta on ratkaisevaa, miten kasvi pystyy sopeutumaan erilaisiin muutoksiin (de Vries ym. 2017). Sen on kilpailtava muiden kasvien kanssa valosta sekä puolustauduttava herbivoreja eli kasvinsyöjiä ja patogeeneja eli taudinaiheuttajia vastaan (de Vries ym. 2017). Sen täytyy samanaikaisesti onnistua sekä kasvamaan riittävän nopeasti pärjätäkseen kilpailussa että ylläpitämään riittäviä puolustusmekanismeja selvitäkseen herbivoreista ja patogeeneista (Herms & Matsson 1992; de Vries ym. 2017). Tätä kutsutaan ”kasvin dilemmaksi” (Herms & Matsson 1992).

Kun resursseja on käytettävissä niukasti, kyseessä on kasvun ja puolustautumisen *trade-off* (engl. *growth-defence trade-off*) eli allokaatiokustannus (Herms & Matsson 1992; de Vries ym. 2017). Perinteisen mallin mukaan kasvun ja puolustautumisen trade-off perustuu yksinkertaisesti siihen, että kasvilla on rajallinen määrä resursseja käytettävissään näihin toimintoihin, joten resurssien käyttäminen yhteen toimintoon vie niitä toiselta, mutta uudet tutkimukset ovat haastaneet tämän mallin (Hamilton ym. 2001; Zust & Agrawal 2017; Fiorucci 2020). Resurssien jakaminen ei tapahdu yksinkertaisesti kasvun ja puolustautumisen välillä, vaan kyseessä on monimutkainen prosessi, johon vaikuttavat monet ympäristötekijät, kuten valon määrä ja laatu (de Vries ym. 2017; Zust & Agrawal 2017; Fiorucci 2020). Tämä luonnonvalinnan muovaama prosessi pyrkii ylläpitämään optimaalista kelpoisuutta vastauksena ympäristön vaihteleviin olosuhteisiin (Zust & Agrawal 2017).

Herbivoria voi haitata kasvin kasvua ja lisääntymistä tai jopa johtaa kasvin kuolemaan. Erilaisia herbivoreja on laaja joukko, johon lukeutuu muun muassa hyönteisiä, nisäkkäitä ja lintuja (Coley & Barone 1996; Dicke & Hilker 2003). Paikoilleen juurtuneena kasvava kasvi ei pysty pakenemaan, joten sen on käytettävä muunlaisia keinoja välttyäkseen herbivorialta. Kasvi panostaa herbivoreilta puolustautumisessaan erityisesti niihin osiinsa, joiden puolustaminen on sille kelpoisuuden kannalta hyödyllisintä tai joihin herbivori todennäköisimmin iskee (de Vries ym. 2017). Tyypillisiä puolustautumiskeinoja ovat kemiallinen puolustautuminen myrkyllisiä kemiallisia yhdisteitä tuottamalla ja rakenteellinen puolustautuminen esimerkiksi piikkejä ja karvoja kasvattamalla (Harvell

1990; Agrawal & Rutter 1998; Dicke & Hilker 2003). Kasvi voi myös puolustautua epäsuorasti tuottamalla haihtuvia yhdisteitä, jotka houkuttelevat paikalle herbivorin saalistajia tai loisia (Dicke & Hilker 2003).

Kasvien puolustusmekanismit jakautuvat jatkuvatoimisiin ja indusoituviin sen mukaan, vaatiiko mekanismi ympäristöstä tulevan ärsykkeen aktivoituakseen (Harvell 1990; Adler & Karban 1994). Jatkuvatoimisia puolustusmekanismeja (engl. *constitutive defences*) kasvi ylläpitää jatkuvasti (Harvell 1990; Adler & Karban 1994), mutta indusoituvat puolustusmekanismit (engl. *inducible defences*) aktivoituvat vasta, kun herbivori uhkaa kasvia (Harvell 1990; Adler & Karban 1994; Agrawal & Rutter 1998; Dicke ja Hilker 2003). Jatkuvatoimisia puolustusmekanismeja ovat esimerkiksi puiden runkojen kaarna ja lehtien vahapinta (Harvell 1990; Adler & Karban 1994). Indusoituvia puolustusmekanismeja ovat esimerkiksi kemiallisten puolustusyhdisteiden muodostaminen sekä piikkien ja muiden rakenteiden kasvattaminen vasteena herbivoriaan (Harvell 1990; Adler & Karban 1994). Indusoituva puolustautuminen herbivoriaa vastaan aktivoituu esimerkiksi silloin, kun herbivori alkaa syödä kasvia tai kun hyönteisherbivori munii kasviin (Agrawal & Rutter 1998; Dicke ja Hilker 2003). Indusoituvat puolustusmekanismit ovat verrattain tehokkaita ja optimoivat puolustuksen kustannukset kasville silloin, kun herbivorian uhka ei ole jatkuvasti läsnä (Hamilton ym. 2001). Indusoituvan puolustusmekanismin aktivoituminen kuitenkin usein heikentää kasvin kasvua (Zust & Agrawal 2017).

1.2. Kasvien käyttäytyminen

Monia kasvien toimintoja voidaan tutkia käyttäytymisekologian näkökulmasta (Brenner ym. 2006; Karban 2008; Trewavas 2009; Karban & Orrock 2018; Cahill Jr. 2019). Kasvin käyttäytyminen on määritelty sellaisiksi kasviyksilön reaktioiksi, jotka syntyvät vasteena yksilön elämän aikana tapahtuviin tilanteisiin tai ympäristön muutoksiin (Silvertown & Gordon 1989; Silvertown 1998; Karban 2008). Lyhyesti ilmaistuna kasvin käyttäytyminen on sitä, mitä kasvi tekee (Trewavas 2009). Tieteen termipankki (2021) määrittelee eläinten käyttäytymisen aktiiviseksi ja silmin nähtäväksi reagoimiseksi ympäristöstä tuleviin ärsykkeisiin. Tarkemman määritelmän mukaan eläinten käyttäytyminen tarkoittaa eläinyksilön tai -ryhmän sisäisesti koordinoituja reaktioita – joko toimintoja tai toimeentuloa – vasteena ympäristöstä tuleviin tai sisäisiin ärsykkeisiin, pois lukien yksilönkehitykseen liittyvät muutokset (Levitis ym. 2009).

Teoriassa käyttäytymisen määritelmät kasveilla ja eläimillä muistuttavatkin toisiaan. Eläinten käyttäytymisen fysiologinen perusta ovat kuitenkin eläinten uniikit, ympäristön ärsykeitä vastaanottavat aistinelimet ja hermosto, jotka ovat hyvin erilaiset eri eläinryhmissä, mikä vaikuttaa eläinten reaktioihin eri tavoin (Tieteen termipankki 2021). Kasvien rakenne on aivan erilainen kuin eläinten, eikä niillä ole vastaavia aistinelimiä tai hermostoa, joten kasvien kohdalla käyttäytymisen fysiologinen perusta on tyystin toinen kuin eläimillä (Brenner ym. 2006; Karban 2008; Parise ym. 2020). Kasvien käyttäytymien perustuu kasvisoluissa tapahtuviin fysikaalis-kemiallisiin toimintoihin (Brenner ym. 2006; Karban 2008). Kasviyksilö ei myöskään ole yhtä yhtenäinen ja selvärajainen yksikkö kuin eläin, vaan se voi olla rakenteeltaan modulaarinen, jolloin yksilö koostuu useista, osittain itsenäisesti toimivista kasvullisista yksiköistä (Karban 2008).

Kasvien käyttäytymisen määritelmä on osin limittäinen fenotyyppisen plastisuuden eli ilmiön joustavuuden käsitteen kanssa (Silvertown & Gordon 1989; Silvertown 1998). Fenotyyppinen plastisuus koskee kuitenkin yksilöiden välisiä eroja erilaisissa ympäristöissä, kun taas käyttäytymistä tarkastellaan aina yksittäisen kasviyksilön elämän kontekstissa (Silvertown & Gordon 1989; Silvertown 1998). Yksilön määrittäminen ei tosin ole kaikkien kasvilajien kohdalla yksinkertaista niiden modulaarisen rakenteen vuoksi, mutta riittävän tarkka määrittäminen on kuitenkin mahdollista (Silvertown & Gordon 1989). Kasvien käyttäytyminen voidaan määritelmällisesti nähdä myös sellaisena fenotyyppisen plastisuuden muotona, joka tapahtuu kasviyksilössä vasteena johonkin ärsykkeeseen nopeasti mutta ei pysyvästi (Silvertown & Gordon 1989; Karban 2008; Trewavas 2009). Käyttäytyminen myös eroaa muista kasvin fysiologisista ja kemiallisista reaktioista siten, että se tapahtuu aina vasteena johonkin ärsykkeeseen, on suhteellisen nopeaa mutta ei pysyvää vaan voi helposti muuttua tai peruuntua (Karban 2008). Käyttäytymisen määrittelyssä voidaan pitää keskeisenä myös toiminnan tarkoituksellisuutta kasvin kelpoisuuden kannalta eli niin sanottua ”pyrkimyksellisyyttä”: onko kasvin toiminnalla tarkoituksellisuutta, kuten esimerkiksi herbivorialta välttyminen (Trewavas 2009). Käyttäytymiseen lukeutuvat valon, veden ja ravinteiden kerääminen sekä mahdollisten kilpailijoiden, herbivorien ja mutualistien havaitseminen ja niihin reagoiminen (Karban & Orrock 2018). Käyttäytymiseksi ei katsota niitä yksilönkehitykseen kuuluvia muutoksia, jotka väistämättä tapahtuvat esimerkiksi kasvin itäessä (Silvertown 1998).

Kasvien käyttäytymistä on useimmissa tapauksissa vaikea havaita silmämääräisesti (Trewavas 2009). Jotkin kasvit liikkuvat ihmissilmin tarkasteltuna nopeasti, kuten esimerkiksi lihansyöjäkasvi kärpäsloukku (*Dionaea muscipula* J. Ellis 1768), joka sulkee saalistusrakenteensa niihin osuvan hyönteisen ympärille, tai eräät hernekasvit (Fabacea), jotka puolustautuvat herbivoreilta tai

suojautuvat rankalta sateelta taivuttamalla lehtensä suppuun (Karban 2008). Usein kasvien käyttäytyminen on kuitenkin huomaamaton, sillä kasvit liikkuvat suhteellisen hitaasti (Karban 2008; Trewavas 2009). Tämä ero liikkeen nopeudessa on yksi perustavanlaatuisista eroista kasvien ja eläinten käyttäytymisen välillä ja tekee kasvien käyttäytymisen tunnistamisesta ja tutkimisesta vaikeampaa (Trewavas 2009). Erilaisilla teknologisilla menetelmillä, kuten ajastetulla kuvauksella, kasvien hitaat liikkeet saadaan näkyviksi (Trewavas 2009).

Aikanaan jo Darwin kuvaili kasvien hidasta liikettä, nutatiota (lat. *nutatio*: huojuminen), jonka erilaisilla variaatioilla kasvi voi reagoida valoon, painovoimaan ja muihin ympäristön tekijöihin (Karban 2008). Myös juurten kasvu vaihtelee samalla tavalla vasteena esimerkiksi kasvualustan ravinteikkuuteen ja kosteuteen (Karban 2008; Trewavas 2009). Verson kasvu mukautuu valoon: heikossa valossa kasvi venyy pituutta optimoidakseen valon saannin, kun taas runsaassa valossa verso pysyy matalampana ja haarautuu enemmän (Karban 2008; Trewavas 2009). Kasvien valontavoittelusta tai -keräämisestä käytetään nykyään usein myös englannin sanaa *foraging*, joka on ollut perinteisesti eläinten käyttäytymisen kontekstissa ravinnon etsintää tai saalistamista tarkoittava termi (Karban 2008; Trewavas 2009).

Kasvuun liittyvän käyttäytymisen ohella kasveilla esiintyy lisääntymiseen liittyvää käyttäytymistä vasteena ympäristömuuttujiin (Brenner ym. 2006; Karban 2008). Kasviyksilö, joka ei tule pölytetyksi, voi reagoida tilanteeseen lisäämällä kukkiensa houkuttelevuutta pölyttäjille (Karban 2008). Kun olosuhteet ovat pölyttymisen kannalta heikot, kasvi voi reagoida tuottamalla pelkästään itsepölyttyviä kukkia (Karban 2008). Vaste ympäristön epäedullisiin olosuhteisiin voi olla myös kohonnut panostaminen pelkästään joko koiras- tai naaraspuolisten kukkien tuottamiseen sen mukaisesti, minkälainen strategia varmemmin tehostaa kasvin lisääntymismenestystä kulloisessakin tilanteessa (Karban 2008).

Indusoituvia puolustusmekanismeja pidetään myös yhtenä kasvien käyttäytymisen osa-alueena (Karban 2008). Aiemmin puolustusmekanismeja ei katsottu käyttäytymiseksi, sillä niiden nähtiin olevan pääsääntöisesti kemiallisia piirteitä, joihin ei sisälly liikettä tai kasvin asennon muuttumista (Karban 2008). Tästä näkökulmasta kasvien useimpien herbivoriavasteiden koettiin muistuttavan varsinaisen käyttäytymisen sijaan ennemminkin eläinten fysiologisen plastisuuden käsitettä, joka vastaa kasvien fenotyyppistä plastisuutta (Tollrian & Harvell 1999; Karban 2008). Kuitenkin nykyään tiedetään, että kasvien vasteet herbivoriaan ovat usein verrattain nopeita eivätkä pysyviä vaan palautuvia, mikä sopii kasvien käyttäytymisen määritelmää (Karban 2008).

Koska kasveilla ei ole aivoja eikä hermostoa, niiden käyttäytymistä pidettiin aiemmin melko yksinkertaisena eläinten käyttäytymiseen verrattuna, vaikka käyttäytymisen monimutkaisuus ei välttämättä edellytäkään tiettyjä anatomisia rakenteita (Silvertown & Gordon 1989; Brenner ym. 2006; Trewavas 2009; Segundo-Ortin & Calvo 2019; Parise 2020). Kasvien havaittiin kyllä reagoivan ympäristön muuttujien vaihteluun, mutta niiden kyvystä tunnistaa myös näiden muuttujien mutkikkaampia yhdistelmiä ja laajempia kokonaisuuksia ei vielä tiedetty (Karban 2008). Indusoituvien puolustusmekanismien tutkimus on sittemmin paljastanut, että kasvit pystyvät tunnistamaan laajasti erilaisia seikkoja vallitsevasta herbivoriatilanteesta ja reagoimaan siihen täsmällisesti (Karban 2008). Kasvi voi esimerkiksi vastata herbivoriaan tuottamalla juuri tietynlaisia haihtuvia yhdisteitä, jotka houkuttelevat paikalle kyseistä herbivoria syöviä saalistajia tai loisia (Karban 2008). Kasvit kykenevät myös tunnistamaan monitahoisia vihjeitä vallitsevista ja odotettavissa olevista ympäristön olosuhteista, kuten havaitsemaan toisen kasvin haihduttamat puolustusyhdisteet, ja reagoimaan tähän informaatioon panostamalla omaan puolustukseensa ennakoivasti (Karban 2008).

Kasvien käyttäytymistä on tutkittu myös ”neurobiologian” näkökulmasta (Brenner ym. 2006; Barlow 2008; Segundo-Ortin & Calvo 2019; Calvo & Trewavas 2020), mutta ”kasvineurobiologiaksi” kutsuttuun alaan suhtaudutaan kuitenkin jossain määrin kriittisesti (Segundo-Ortin & Calvo 2019). Tutkimusala pyrkii selvittämään, miten ympäristöstä tulevan tiedon ”käsittely” tapahtuu kasvilla yksilön menestyksen optimoimiseksi (Brenner ym. 2006; Calvo & Trewavas 2020). Kasvin käyttäytymistä ohjaa laaja sisäinen signaalintisyysteemi, joka välittää viestejä kasvin osalta toiselle (Brenner ym. 2006; Segundo-Ortin & Calvo 2019; Calvo & Trewavas 2020). ”Kasvineurobiologia” pyrkii ymmärtämään tätä kasvien sisäistä viestintäjärjestelmää (Brenner ym. 2006; Segundo-Ortin & Calvo 2019; Calvo & Trewavas 2020). Johtosolukon kautta kulkeutuvat kasvihormonit ovat sen parhaiten tunnettu osa-alue, mutta niiden lisäksi kasveissa tiedetään tapahtuvan myös nopeampaa sähköistä signaalintia ja sellaista kemiallista viestintää, johon liittyviä yhdisteitä esiintyy eläimilläkin hermoston välittäjäaineina (Brenner ym. 2006; Trewavas 2009; Gilroy ym. 2016; Segundo-Ortin & Calvo 2019). Kasvien ja eläinten kyvyllä liikkua vaikuttaa myös olevan samanlainen sensoris-motorinen perusta (Grémiaux ym. 2014).

Vaikka ajatus kasveista huomattavasti oletettua monimutkaisempina, aktiivisesti käyttäytyvinä eliöinä on esitelty jo 1800-luvun lopulla (Pfeffer 1873), on kasvien käyttäytymistä alettu vasta hiljattain tutkia ja ymmärtää laajemmin (Brenner ym. 2006; Karban 2008; Grémiaux ym. 2014;

Abramson & Chicas-Mosier 2016; Cahill Jr. 2019). Sen on havaittu olevan monilta osin hyvinkin monimutkaista ja sisältävän piirteitä, joita pidettiin aiemmin yksinomaan eläinten käyttäytymisen ominaisuuksina (Brenner ym. 2006; Karban 2008). Kasvit usein ennakoivat ympäristön muutoksia, jotka eivät ole vielä tapahtuneet (Karban 2008). Kasvien aiemmat kokemukset muokkaavat niiden toimintaa tavalla, joka käytännössä vaikuttaa siltä, kuin niillä olisi ”oppimiskyky” ja ”muisti” (Karban 2008; Gagliano ym. 2014; Gagliano ym. 2016; Abramson & Chicas-Mosier 2016; Gagliano ym. 2018; Segundo-Ortin & Calvo 2019). Kasvit myös viestivät lajitovereidensa ja muiden eliöiden kanssa hyvinkin monimutkaisesti, ja viestinnän kautta saatu tieto muokkaa niiden käyttäytymistä (Brenner ym. 2006; Karban 2008; Grémiaux ym. 2014). Tämä käyttäytymisekologinen näkökulma kasveihin poikkeaa suuresti kasvitieteen perinteistä ja sitä on kritisoitu, mutta silti käyttäytymisekologian lähestymistapaa on hyvällä menestyksellä käytetty lukuisissa tutkimuksissa viime vuosikymmeninä (Brenner ym. 2006; Karban 2008; Trewavas 2009; Jensen ym. 2011; Amador-Vargas ym. 2014; Gagliano ym. 2014; Gagliano ym. 2016; Simon ym. 2016; Reed-Guy ym. 2017; Parise ym. 2020).

1.3. Käyttäytymistutkimus tuntokasvilla

Tuntokasvi eli tuntomimosa (*Mimosa pudica* L. 1753) on suosittu laji kasvitutkimuksessa, sillä sen puolustusreaktion voi nähdä paljaalla silmällä: sen lehdet taipuvat suppuun kosketettaessa (Abramson ja Chicas-Mosier 2016). Tämän nopean ja helposti havaittavan puolustusreaktionsa vuoksi se soveltuu mainiosti kasvien lyhytaikaisen indusoituvan puolustuskäyttäytymisen tutkimiseen (Abramson ja Chicas-Mosier 2016). Mekaaninen puolustusreaktio suojaa tuntokasvia herbivorialta, mutta lehtien liikuttaminen kuluttaa kasvin energiaa, ja lehtien ollessa supussa sen yhteyttämisteho heikkenee jopa 40 %, joten turhaan piiloutuminen ei ole energiataloudellisesti kannattavaa (Hoddinot 1977).

Tuntokasvin käyttäytymistä on tutkittu jo pitkään. Abramson ja Chicas-Mosier (2016) kävivät läpi tuntokasvilla tehtyjen käyttäytymistutkimusten historian katsausartikkelissaan, jossa he esittelivät monia sellaisia vanhoja julkaisuja, joita on nykyään vaikea löytää. Heidän mukaansa ehkä ensimmäinen tutkimus kasvien ”oppimiskyvystä” on Pfefferin (1873) tuntokasvien ”habituatiota” eli ”tottumista” (lat. *habituare*: tottua) käsittelevä tutkimus, jossa tuntokasvin lehtien toistuvan mekaanisen ärsytyksen havaittiin heikentävän niiden reaktioherkkyyttä. Bose (1906) vahvisti Pfefferin havainnot ja osoitti tuntokasvin reagoivan kosketusärsytyksen ohella myös sähkövirtaan. Holmes ja Gruenberg (1965) havaitsivat, että tuntokasvi pystyy erottamaan erilaiset

kosketusärsykkeet toisistaan ja että lehtien reaktioherkkyyden heikkeneminen toistuvan mekaanisen ärsytyksen myötä ei välttämättä johdu niiden ”väsymisestä” vaan ”habituaatiosta”. Applewhite (1972) tutki, vaikuttavatko tuntokasvin habituaatioon sellaiset tekijät, joiden tiedettiin vaikuttavan eläinten habituaatioon, ja havaitsi habituaation vaatiman ajan pitenevän sitä mukaa, mitä pidempi aika lehtiin kohdistuvien toistuvien ärsykkeiden välillä kuluu. Mahdollisesti ensimmäinen yritys soveltaa eläinten kouluttamisesta tunnettua ”klassista ehdollistumista” tuntokasviin oli Holmesin ja Gruenbergin (1965) tutkimus, jossa tuntokasvin ”kouluttaminen” ei onnistunut. Holmes ja Yost (1966) vahvistivat tämän tuloksen. Kuitenkin myöhemmin joissain tutkimuksissa tuntokasvi onnistuttiin ”ehdollistamaan”, mutta niiden toistaminen uudelleen ei ole onnistunut, ja usein ongelmana oli myös kontrolliryhmän puute, joten Abramson ja Chicas-Mosier (2016) suhtautuivat niihin hyvin varauksellisesti, ja niitä lieneekin syytä pitää epäluotettavina.

Tuntokasvia on hiljattain käytetty esimerkkilajina myös useissa uusissa kasvien käyttäytymisen tutkimuksissa, joissa on saatu mielenkiintoisia tuloksia kasvien lyhyt- ja pitkäkestoisesta reagoimisesta ympäristömuuttujiin sekä kasviyksilöiden välisistä käyttäytymiseroista. Jensen ym. (2011) tutkivat valon määrän vaikutusta tuntokasvin piiloutumisreaktioon kasvihuoneolosuhteissa. Tuntokasvien havaittiin avaavan lehtensä hitaammin runsaassa valossa ja nopeammin vähäisessä valossa. Tulos oli vastakohta sille, mitä pelkän energiatalouden puolesta voisi olettaa. Havaitun käyttäytymisen kuvailtiin sen sijaan vastaavan eläinten käyttäytymisen mallia, jonka mukaan energieettisesti heikommin voiva yksilö ottaa suuremman riskin joutua saaliiksi voidakseen käyttää enemmän aikaa energiansaantiin, kun taas energieettisesti paremmassa tilassa oleva yksilö voi käyttää enemmän aikaa saalistajilta suojautumiseen. Tutkijat totesivat, että tuntokasvin puolustuskäyttäytyminen muistuttaa osittain eläinten käyttäytymistä, joten eläinten käyttäytymisekologian teoria saattaa olla sovellettavissa myös tuntokasviin. He esittivät tämän näkökulmavalinnan ensimmäisenä pienenä askeleena kohti eläinten käyttäytymisekologisten mallien soveltamista kasveihin, ja painottivat, että jatkossa samanlaisessa käytössä eläimiin pohjautuvat mallit on syytä tarkasti mukauttaa kasvien omailemaiseen biologiaan.

Gagliano ym. (2014) tutkivat tuntokasvin habituaatiota eli tottumista toistuvaan, vaarattomaan ärsykkeeseen. He testasivat, miten pitkään habituaatio säilyy, ja ottivat huomioon myös kasvin mekaanisen ”väsymisen” mahdollisuuden. Tutkimuksessa tuntokasveihin kohdistettiin toistuvaa, vaaratonta ärsykettä pudottamalla kasveja standardisoidulla koejärjestelyllä, kunnes ne ”oppivat”, ettei ärsykkeeseen liittynyt herbivorian vaaraa, ja lakkasivat reagoimasta siihen. ”Väsymisen” mahdollisuus suljettiin pois kohdistamalla kasveihin pudotusärsyksen jälkeen toisenlainen

mekaaninen ärsyke, johon niiden havaittiin reagoivan reippaasti. ”Opittu” tieto pudotusärsykkeen vaarattomuudesta pysyi kasvin ”muistissa” kuukauden. Tutkimuksessa käytetty teoria, analysointimenetelmät ja termistö olivat suoraan eläinten käyttäytymistutkimuksen puolelta lainattuja. Kasvien kykyä ”oppia” ja ”muistaa” ei ollut aiemmin tutkittu tällä tavalla.

Väite tuntokasvin ”oppimiskyvystä” herätti kritiikkiä (Biegler 2018). Gagliano ym. (2018) julkaisivatkin vastineen, jossa täsmennettiin aiemman artikkelin yksityiskohtia. He avasivat habituaation käsitettä ja tutkimuksessa käytettyjä menetelmiä. He myös nostivat esiin muita esimerkkejä kasvien käyttäytymistutkimuksesta todeten, että kyseessä on jo pitkään olemassa ollut tutkimuksen ala.

Amador-Vargas ym. (2014) tutkivat tuntokasvin habituaatiota toistuvalla, vaarattomalla ärsykkeellä, mutta tekivät tutkimuksen laboratorio-olosuhteiden sijaan kentällä. Tässäkin tutkimuksessa suljettiin pois mahdollisen ”väsymisen” vaikutus tuloksiin. Tutkimuksessa havaittiin, että toistuvan, vaarattoman ärsykkeen myötä tuntokasvin piiloutumisreaktio muuttui tavalla, joka muistuttaa eläinten käyttäytymisestä tunnettua habituaatiota. Piiloutumisreaktion muuttuminen oli kuitenkin erilaista saman kasvin eri lehdillä, ja havaittu habituaatio vastasi oletusta allokaatiokustannuksesta puolustautumisen ja yhteyttämisen välillä.

Simon ym. (2016) tutkivat erilaisten tekijöiden vaikutusta tuntokasvin puolustuskäyttäytymiseen. Ympäristön olosuhteiden ja kasvin kunnon ohella ryhmä otti huomioon myös yksilöllisen vaihtelun. Kahdesta eri lähteestä hankituista siemenistä kasvatettujen kasviyksilöiden käyttäytymistä testattiin toistuvasti mahdollisen ”persoonallisuuden” tai ”käyttäytymissyndrooman” (engl. *behavioral syndrome*) olemassaolon havaitsemiseksi. Tutkimuksessa havaittiin, että huonommassa kunnossa olevat kasviyksilöt omaksuivat riskialttiimman valonkeräysstrategian (engl. *light-foraging strategy*): ne avasivat lehtensä nopeammin eivätkä reagoineet yhtä herkästi ärsytykseen. Hyväkuntoiset yksilöt käyttäytyivät joustavammin riippuen ympäristön muista ominaisuuksista. Kasvien todettiin kykenevän ”tekemään päätöksiä” oman vointinsa perusteella, ja kasvien ”päättöksenteon” kuvailtiin perustuvan joustavasti sekä sisäisiin että ulkoisiin tekijöihin. Tutkimuksessa ei havaittu todisteita niin kutsutusta ”persoonallisuudesta”, mutta kuitenkin eri siemenkantojen yksilöiden välillä havaittiin selkeä ero käyttäytymisessä.

Reed-Guy ym. (2017) käsittelivät samoja kysymyksiä kuin Simon ym. (2016), mutta standardisoitujen laboratorio-olojen sijaan tutkimus tehtiin kentällä, jotta voitaisiin selvittää alati

muuttuvien ja epätasaisten luonnon olosuhteiden vaikutusta kasvien käyttäytymiseen. Tavoitteena oli selvittää luonnossa, miten paljon tuntokasvin puolustusreaktiossa on yksilöllistä vaihtelua ja tapahtuuko ”päätos” lehdyköiden avaamisesta piiloutumisen jälkeen koko kasvin vai vain yksittäisen lehden tasolla. Tätä tutkittiin neljällä koesarjalla, joissa seurattiin tuntokasvien lehtien piiloutumisaikaa. Sekä kokonaisten kasviyksilöiden että yksittäisten lehtien valonsaantia manipuloitiin. Tulokset osoittivat, että huomattava osa piiloutumisajan vaihtelusta selittyi yksilöiden välisillä ”persoonallisilla” eroilla, ei niinkään kasveihin kohdistetuilla käsittelyillä, ja että ”päätos” lehtien sulkemisesta ja avaamisesta tapahtuu koko kasviyksilön tasolla. Tutkijat totesivat, että tuntokasvien käyttäytymisessä esiintyy sellaisia pysyviä yksilöllisiä eroja, joiden kaltaisia kutsuttaisiin eläimistä puhuttaessa ”persoonallisuudeksi”. He ehdottivat, että eläinten käyttäytymisen plastisuutta käsitteleviä malleja voitaisiin soveltaa myös muihin eliöihin, kuten kasveihin, jotta niiden käyttäytymistä voitaisiin ymmärtää paremmin. Heidän mukaansa tuntokasvin käyttäytyminen muistuttaa jokseenkin eläinten käyttäytymistä: sen puolustuskäyttäytyminen riippuu vallitsevista olosuhteista ja yksilöiden väliset ”persoonalliset” erot selittävät merkittävän osan vaihtelusta käyttäytymisessä.

1.4. Persoonallisuus käyttäytymisekologian käsitteenä

Eläinten käyttäytymisekologiassa käyttäytymisen toistettavuutta kutsutaan vakiintuneesti persoonallisuudeksi (Carere & Maestripieri 2013; Kaiser & Müller 2021). Persoonallisuudella tarkoitetaan sellaisia yksilöiden välisiä käyttäytymiseroja, jotka ovat suhteellisen pysyviä eri konteksteissa läpi yksilön elämän (Carere & Maestripieri 2013; Kaiser & Müller 2021). Selkärangaisilla eläimillä persoonallisuutta on tutkittu paljon, ja se onkin hyvin tunnettu ilmiö (Carere & Maestripieri 2013; Kaiser & Müller 2021). Persoonallisuuden esiintymiseen selkärangattomilla suhtauduttiin pitkään skeptisesti, mutta myös siitä on nykyään runsaasti näyttöä (Briffa & Greenaway 2011; Carere & Maestripieri 2013; Kaiser & Müller 2021).

Käsitettä käyttäytymissyndrooma (engl. *behavioral syndrome*) pidetään välillä synonyyminä persoonallisuudelle (Carere & Maestripieri 2013; Kaiser & Müller 2021). Käyttäytymissyndrooma määritellään kuitenkin eri lähteissä eri tavoin, eikä se vakiintuneesti tarkoita samaa kuin persoonallisuus (Kaiser & Müller 2021). Usein sitä käytetään hieman persoonallisuuden määritelmää väljemmässä merkityksessä, jolloin käyttäytymisen toistettavuutta tarkastellaan vain joko ajassa tai kontekstissa (Kaiser & Müller 2021). Erään määritelmän mukaan käyttäytymissyndrooma on korreloivan käyttäytymisen sarja, joka voi ilmetä joko tietyssä käyttäytymisen kontekstissa

(esimerkiksi korreloiva ravinnonhakukäyttäytyminen erilaisissa elinympäristöissä) tai erilaisissa konteksteissa (esimerkiksi korrelaatiot ravinnonhaku-, saalistajienvälttely-, lisääntymis- tai levintäkäyttäytymisen välillä) (Sih ym. 2004).

Eläinten persoonallisuutta tutkittaessa havainnoidaan käyttäytymistä, jonka perusteella voidaan määritellä persoonallisuuspiirteitä, joista persoonallisuus kokonaisuutena muodostuu (Carere & Maestripieri 2013; Kaiser & Müller 2021). Erilaiset persoonallisuudet voidaan myös luokitella persoonallisuustyypeiksi, joita kutsutaan myös persoonallisuusfenotyypeiksi (Carere & Maestripieri 2013; Kaiser & Müller 2021). Persoonallisuuden tutkimiseen on monia vakiintuneita menetelmiä, joilla käyttäytymistä havainnoidaan ja persoonallisuuspiirteitä määritellään (Kaiser & Müller 2021). Tavallisimpia tutkittavia persoonallisuuspiirteitä eläimillä ovat rohkeus, aggressiivisuus, uteliaisuus, aktiivisuus ja sosiaalisuus (Carere & Maestripieri 2013; Kaiser & Müller 2021).

1.5. Tutkimuksen tavoitteet ja hypoteesit

Pro gradu -työni tavoitteena on selvittää tuntokasvin yksilöiden välisiä käyttäytymiseroja ja niiden pysyvyyttä sekä herbivorian vaikutusta tuntokasvin käyttäytymiseen ja kasvuun laboratorioolosuhteissa. Tutkimuskysymykseni ovat: 1) Vaikuttaako herbivoria tuntokasvin käyttäytymiseen ja kasvuun? 2) Vaikuttavatko tuntokasviyksilöiden väliset käyttäytymiserot kasvin kasvuun? 3) Esiintyykö tuntokasvilla käyttäytymisen toistettavuutta?

Hypoteesini ovat: 1) Herbivoria vaikuttaa tuntokasvin kasvuun siten, että herbivorialle altistuvilla yksilöillä on erilainen kasvustrategia kuin herbivorialta välttyvillä yksilöillä. Tämä voi ilmetä esimerkiksi version kasvun ylikompensointina tai kasvun painottumisena juurten biomassaan version sijaan. Herbivoria vaikuttaa myös tuntokasvin käyttäytymiseen siten, että herbivorialle altistuvat yksilöt panostavat enemmän puolustukseen. 2) Tuntokasviyksilöiden väliset käyttäytymiserot vaikuttavat kasvuun siten, että herkemmin reagoivat kasvit kasvavat heikommin, sillä piiloutumisreaktio kuluttaa runsaasti resursseja ja heikentää kasvin yhteyttämistehoa. 3) Tuntokasvilla havaitaan käyttäytymisen toistettavuutta. Käyttäytymisen toistettavuutta on jo osoitettu esiintyvän tuntokasvilla luonnossa (Reed-Guy ym. 2017). Laboratorio-oloissa sitä ei kuitenkaan ole havaittu (Simon ym. 2016). Tässä tutkimuksessa käytettävät menetelmät eroavat kuitenkin Simon ym. (2016) käyttämistä laboratoriokokeiden menetelmistä siten, että kokeet tehdään pienten taimien sijaan isommilla, vanhemmilla yksilöillä ja mahdollisten virhelähteiden minimoimiseen kiinnitetään enemmän huomiota.

2. AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1. Tutkimuslaji tuntokasvi

Kansainvälisen luonnonsuojeluliiton lajikuvauksessa (IUCN 2010) tuntokasvi eli tuntomimosa (*Mimosa pudica* L. 1753) määritellään trooppisen Amerikan hernekasviksi (Fabacea), jota tavataan nykyään laajasti alkuperäisen esiintymisalueensa ulkopuolella ympäri maailman trooppisilla ja subtrooppisilla alueilla vieraslajina. Tuntokasvi on verrattain lyhytikäinen ja nopeakasvuinen avointen ja puoliavointen ympäristöjen laji, joka usein itää raivatulle maanpinnalle ensimmäisten kasvien joukossa ja on siten vaikea rikkakasvi monenlaisilla viljelyksillä, etenkin niillä alueilla, joille se on levinnyt vieraslajina. Tuntokasvia sanotaan eri lähteissä vaihtelevasti joko yksi-, kaksi- tai monivuotiseksi. Huonekasvina se voi elää joitain vuosia ja kukkia monta kertaa (oma havainto). Laji ei ole uhanalainen, ja se menestyy laajalti erilaisissa elinympäristöissä (Groom 2012).

Tuntokasvi voi kasvaa metrin pituiseksi, mutta tyypillisesti se jää noin puolimetriseksi (IUCN 2010). Tuntokasvin nuoret taimet kasvavat pystyinä, mutta vanhemmiten kasvutapa muuttuu kohenevasti suikertavaksi. Varsi on piikikäs. Juuriin muodostuu hernekasville tyypillisesti juurinystyröitä, jotka sitovat typpeä. Vuorottaisesti kasvavat lehdet ovat noin 9–12 cm pitkät, rakenteeltaan pitkäruoiset ja parilehdykkäiset (Kuva 1). Lehdyköitä on kussakin lehdessä noin 12–15. Kukinto on pallomainen, halkaisijaltaan noin 1–2 cm ja väriltään violetti tai vaaleanpunainen. Hernekasville tyypilliset palkomaiset siemenkodat ovat noin 2 cm pitkiä ja sisältävät 2–4 pientä, pyöreää siementä.

Tuntokasvi puolustautuu herbivoreilta eräiden muiden lähisukuisten hernekasvien tapaan nopealla mekaanisella piiloutumisreaktiolla (IUCN 2010). Kun lehdykät painuvat yhteen ja lehti nuokahtaa alas, kasvi ikään kuin piilottaa lehtensä herbivorilta (Karban 2008; Amador-Vargas ym. 2014). Kun kasvin lehdet taipuvat suppuun, se on oletettavasti vähemmän houkutteleva herbivorille, ja lehtien äkillinen liike voi säikäyttää pienen hyönteisherbivorin pakoon tai yksinkertaisesti pudottaa sen pois lehdeltä (Karban 2008; Amador-Vargas ym. 2014). Piiloutumisreaktion on osoitettu suojaavan tuntokasvia tehokkaasti hyönteisherbivoreilta (Hagihara ym. 2022). Lehtien taipuminen myös paljastaa esiin varressa kasvavat piikit, joilla kasvi voi puolustautua isompia herbivoreja vastaan (Karban 2008; Amador-Vargas ym. 2014).



Kuva 1. Tuntokasvin rakenne. Kuvaan on ympyröity lehti (1), yksi sen lehdyköistä (2) ja ruodin tyvi (3). Kun lehteä kosketetaan, lehdykät taipuvat suppuun toisiaan vasten, ja koko lehti voi nuokahtaa alas ruodin tyvestä. (Kuva: Pixabay)

Lehtien sulkeutuminen vie vain muutaman sekunnin, mutta niiden avautuminen uudelleen voi kestää noin 15 minuuttia (Abramson & Chicas-Mosier 2016). Valon määrä vaikuttaa piiloutumisen kestoon (Jensen ym. 2011). Kun lehteä vaurioitetaan, piiloutuminen kestää pidempään (Cahill Jr. ym. 2013; Amador-Vargas ym. 2014). Piiloutumisen kestoon vaikuttaa myös kasvin kunto: kun tuntokasvi kärsii valon puutteesta, sen lehtien piiloutumisaika on lyhyempi kuin riittävästi valoa saavilla verrokeilla (Reed-Guy ym. 2017). Luonnossa kasvavien tuntokasviyksilöiden välillä on havaittu esiintyvän suhteellisen pysyviä yksilöllisiä eroja piiloutumisen kestossa (Reed-Guy ym. 2017). Tuntokasvi myös reagoi valo-olosuhteisiin, sulkemalla lehtensä yöksi ja avaamalla ne päiväksi (Burkholder & Prat 1936). Tuntokasvin lehtien liikettä vaikuttaa säätelevän sähköinen signaalitransduktio (Volkov ym. 2014). Liikettä ohjaa erikoistunut rakenne, *pulvinus*, joka sijaitsee kunkin lehden ja lehdykän tyvessä (Volkov ym. 2010; Volkov ym. 2014).

Tuntokasvin tavallisimpia herbivoreja ja vaihtelua herbivorian määrässä lajin alkuperäisillä ja uusilla esiintymisalueilla ei tunneta kovin hyvin, mutta sitä syövät ainakin jotkin sorkka- ja kavioläimet sekä suuri joukko niveljalkaisia (Cahill Jr. ym. 2013). Ottaen huomioon lajin nykyisen laajan levinneisyyden ja vieraslajistatuksen, on tärkeää saada lisää tietoa sen perusekologiasta (Cahill Jr. ym. 2013).

2.2. Kasvatus ja käsittely

Tutkimusta varten kasvatettiin 71 tuntokasviyksilöä vakioituissa olosuhteissa kesällä 2017. Tuntokasvin siemenet tilattiin Amazon-verkkokaupasta, eikä niiden alkuperästä ollut saatavilla tarkempaa tietoa. Kasvatus aloitettiin 1.5.2017. Siemeniä liotettiin 19 tuntia vedessä 40 °C lämpötilassa ennen kylvöä. Siemenet kylvettiin pieniin (noin 1 dl) kasvatusastioihin, joissa kasvualustana käytettiin turve- ja ruukkusoraseosta. Kuhunkin astiaan kylvettiin 3–4 siementä. Kolmen viikon esikasvatusajan jälkeen taimet koulittiin niin, että jokaiseen astiaan jätettiin vain yksi hyvin kasvuun lähtenyt ja silmämääräisesti arvioituna terveeltä vaikuttava kasvi.

Tuntokasvit kasvatettiin ja kokeet tehtiin Turun yliopiston biologian laitoksen kasvatushuoneessa, jossa valorytmi oli 12:12 (valoa klo 8:00–20:00), lämpötila oli 23 °C ja ilmankosteus 60 %. Kasvit sijoitettiin pienissä kasvatusastioissaan ryhmittäin kahdeksalle isommalle korkealaitaiselle tarjottimelle, ja tarjottimet aseteltiin kasvatushuoneen hyllyille satunnaistetussa järjestyksessä. Kullekin tarjottimelle tuli 8–9 kasvia. Tarjottimia siirrettiin säännöllisesti sijainnin vaikutuksen minimoimiseksi, sillä kasvatushuoneen ilmanvaihtolaitteen puhallus osui voimakkaammin tiettyihin hyllyihin, valaisimet eivät sijainneet tasaisesti ja osa hyllyistä oli lähempänä ovea, josta kulkeminen aiheutti ilmavirtaa. Kasvit kasteltiin joka toinen päivä tarjottimille (altakastelu) ja lannoitettiin säännöllisesti Neko-viherkasviravinteella. Kasvatushuoneen olosuhteita tarkkailtiin kastelukäyntien yhteydessä ja mahdolliset poikkeukset lämpötilassa, kosteudessa tai muissa olosuhteissa kirjattiin.

Puolet kasveista valittiin satunnaistetusti herbivoria- eli laidunnuskäsittelyyn ja puolet pidettiin kontrolliryhmänä. Kullakin tarjottimella oli vain yhden käsittelyryhmän kasveja, jotta eri käsittelyryhmien kasvit eivät voisi viestiä toisilleen juuriensa kautta. Kasvien on osoitettu viestivän keskenään herbivoriasta juurien välityksellä (Karban 2008). Ne viestivät myös ilmaan haihtuvien yhdisteiden avulla (Karban 2008), mutta niiden leviämistä ei kuitenkaan tässä tutkimuksessa pystytty estämään.

Herbivoriakäsittely aloitettiin, kun kylvämisestä oli kulunut 13 viikkoa (31.7.2017) ja kasveilla oli vähintään kolme lehtikertaa, ja lopetettiin 6 viikkoa myöhemmin (10.9.2017). Herbivoriaa simuloitiin nyppäämällä pinseteillä pieni, noin 1–2 mm² kokoinen, pala kustakin käsittelyryhmän kasvista yhden lehdykän päästä 2 kertaa viikossa, satunnaisena päivänä, satunnaiseen aikaan, 6 viikon ajan. Lehdistä irti nypityt palaset punnittiin tarkkuusvaa’alla heti nyppimisen jälkeen, jotta saatiin talteen tieto kasvien menettämästä biomassasta. Käsittelyryhmän kasveja oli tarpeen liikutella käsittelyn aikana, joten myös kontrolliryhmän kasveja liikutettiin käsittelypäivinä, jotta liikeärsytys ei vaikuttaisi tuloksiin, vaan vain itse herbivoriakäsittely.

2.3. Kokeet ja mittaukset

Kuuden käsittelyviikon jälkeen aloitettiin kosketuskokeet, joissa kasvin lehtiä ärsytettiin mekaanisesti ja niiden piiloutumisreaktio dokumentoitiin. Kosketuskoe tehtiin molempien ryhmien jokaiselle kasville 3 kertaa, noin viikon välein. Ensimmäinen kierros tehtiin, kun kylvöstä oli kulunut 19 viikkoa ja käsittelyn loppumisesta yksi vuorokausi (11.9.2017). Viimeinen kierros tehtiin 15 päivää myöhemmin (26.9.2017). Aina koetta edeltävänä päivänä kasvit nostettiin pois tarjottimiltaan pöydälle kasvilampun alle, missä lehtien ärsyttäminen ja reaktion kuvaaminen pystyttiin tekemään viereisiä lehtiä ja kasveja koskettamatta. Kasveille varattiin varmuuden vuoksi kokonainen vuorokausi aikaa toipua siirtämisestä ja avata lehdykkänsä ennen koetta.

Kosketuskokeessa lehtiä ärsytettiin mekaanisesti pudottamalla vesipisara pipetillä lehden keskisuonelle. Vesipisaran pudottaminen todettiin aiemmin tehdyssä pilottikokeessa parhaaksi keinoksi tuottaa standardisoitu ärsytys, jonka voimakkuus ei riipu kokeen tekijästä tai muista seikoista. Koska kasveja ei ollut kasteltu lehdille, niillä ei ollut aiempaa kokemusta vesipisaroista, joten ne reagoivat pisaran aiheuttamaan mekaaniseen ärsytykseen kuin kyseessä olisi kasvia uhkaava herbivori. Kosketusreaktion laajuus eli prosentuaalinen arvio siitä, miten laajasti lehdykät sulkeutuivat, sekä koko lehden mahdollinen nuokahtaminen eli ruodin tyvestä alas taipuminen merkittiin lomakkeelle. Reaktio dokumentoitiin myös videokameralla tarkan sulkeutumisaajan toteamiseksi, mutta en käyttänyt videoaineistoa tässä pro gradu -työssä. Jokaisesta kasvista valittiin kokeisiin kolme eri ikäistä lehteä: nuori, keskivanha ja vanha. Vanha lehti valittiin ensimmäisestä sirkkalehtien jälkeen kasvaneesta lehtikerrasta, nuori lehti viimeisimmästä loppuun kehittyneestä lehtikerrasta ja keskivanha lehti tasan näiden puolivälistä. Kokeet tehtiin aina samoille lehdille, jotka oli merkitty pienellä pisaralla akryyliimaalia lehtiruodin tyveen. Koetilanteessa kerättiin lomakkeelle tiedot myös taustamuuttujista: kasvin etäisyys lampusta, kokeet suorittanut henkilö ja mahdolliset

lisätiedot koetilanteesta. Samat henkilöt tekivät kokeet ja arvioivat reaktion laajuuden, eikä kulloinkaan koetta suorittanut henkilö tiennyt, mihin käsittelyryhmään testattavat kasvit kuuluivat, etteivät testaajien väliset erot ja tieto käsittelyryhmästä vaikuttaisi tuloksiin.

Kun kosketuskokeet oli tehty kaikille kasveille kolme kertaa, koeasetelma purettiin ja kasveista mitattiin verson pituus, piikkien ja juurinystyröiden määrä sekä verson ja juuren biomassat tuoreena ja kuivattuna. Purku ja mittaus tehtiin 29.–30.9.2017. Verson pituus mitattiin kasvin maanpäällisen osan tyvestä viimeisen lehdykän päähän suoristettuna mitta-asteikon päälle. Verson massa tuoreena punnittiin heti irti leikkaamisen jälkeen. Juuret irrotettiin varovasti kasvualustasta, pestiin huolellisesti ja taputeltiin kuivaksi käsipaperilla ennen punnitsemista. Massan punnitsemista kuivana varten juuria ja versoja kuivattiin lämpökaapissa 22 tuntia 60 °C lämpötilassa. Kaikissa punnituksissa käytettiin samaa tarkkuusvaakaa.

2.4. Aineiston tilastollinen analysointi

Aineistossa kasvin käyttäytymistä kuvaavia muuttujia ovat: 1) nuokahdus eli taipuiko lehti ärsytettäessä kokonaan alas, 2) reaktion prosentuaalinen laajuus eli reaktioprosentti eli miten suurelta osin yhden lehden lehdykät sulkeutuivat, 3) reaktioaika eli miten nopeasti piiloutumisreaktio tapahtui (mutta reaktioaika-aineisto ei ole mukana tässä pro gradu -työssä). Reaktion laajuuden arvioinnissa huomioitiin paitsi se, miten moni lehdykkä taipui piiloon, myös se, sulkeutuivatko ne kokonaan suppuun toisiaan vasten vai jäivätne ne raolleen. Aineistossa kasvin kasvua ja siitä pääteltynä kelpoisuutta kuvaavia muuttujia ovat verson ja juuren biomassa tuoreena ja kuivattuna, verson pituus, verson piikkien määrä sekä piikkien määrän suhde verson pituuteen (mutta piikkien määrä ei ole mukana tässä pro gradu -työssä).

Valitsin analysoitavaksi käyttäytymistä kuvaavista muuttujista nuokahduksen (taipuiko lehti ärsytettäessä kokonaan alas) ja reaktion laajuuden (reaktioprosentti eli miten suurelta osin lehdykät sulkeutuivat ärsytettäessä). Kasvua kuvaavista muuttujista valitsin juuren ja verson biomassat kuivattuna sekä näiden kahden suhteen eli juuri-verso-suhteen. Tein analyysit R:n versiossa 4.0.3. (R Core Team 2020).

Sovitin juuren ja verson biomassalle yleistetyt lineaariset mallit, joissa selitin biomassaa käsittelyllä ja satunnaismuuttujana yksilön reaktioprosentin keskiarvolla, käyttäen R:n lme4-pakettia (Bates ym. 2015). Juuri-verso-suhteelle sovitin samalla paketilla samanlaisen yleistetyn lineaarisen mallin, jossa

selitin juuren ja verson massojen suhdetta käsittelyllä ja satunnaismuuttujana yksilön reaktioprocentin keskiarvolla. Reaktioprocentin keskiarvo tarkoittaa yhden kasviyksilön kolmen eri-ikäisen lehden kolmen käyttäytymiskoekierroksen reaktioprosenteista (yhteensä 9 havaintoa jokaisesta kasvista) laskettua keskiarvoa eli yksilön reaktion laajuutta keskimäärin. Käytin kaikissa kolmessa mallissa Gamma-jakaumaa, joka sopi aineistoon. Tarkastelin mallien sopivuutta ja oletusten täyttymistä visuaalisesti residuaaleista käyttäen paketteja rcompanion (Mangiafico 2021) ja boot (Canty & Ripley 2020). Testasin jatkuvan selittävän muuttujan (reaktioprosentti) lineaarisuuden sovittamalla jokaiselle mallille yleistetyn additiivisen mallin gam-paketilla (Hastie 2020). Visuaalisesti tarkasteltuna yhteys ei ollut lineaarinen, joten korotin reaktioprocentin keskiarvon neliöön ja otin sen mukaan malleihin. Testasin, esiintyykö aineistossa poikkeavia havaintoja laskemalla standardisoidut residuaalit käyttäen paketteja broom (Robinson ym. 2021), dplyr (Wickham ym. 2021) ja ggplot2 (Wickham 2016). Yleensä poikkeavina havaintoina pidetään sellaisia, joiden residuaalit sijaitsevat yli 3 keskihajonnan päässä residuaalien keskiarvosta, ja tällaisia ei esiintynyt lainkaan. Testasin car-paketilla (Fox & Weisberg 2019) multikollineaarisuuden laskemalla *variance inflation factor* -arvot (VIF), jotka olivat kaikilla malleilla hyvät. Lopuksi selvitin residuaalien autokorrelaatiota Durbin-Watsonin testillä käyttäen lmtest-pakettia (Zeileis & Hothorn 2002). Kaikilla malleilla testi osoitti aineistossa olevan vahvaa positiivista autokorrelaatiota: aineistossa peräkkäin olevien kasvien juurien ja versojen massat sekä näiden massojen suhde olivat keskenään samansuuruisempia kuin hajonnan puolesta voisi olettaa olevan. Samalla tarjottimella olleet kasvit ovat aineistossa peräkkäin, ja aineistoa tarkastelemalla havaitsin, että residuaaleissa näkyy eroja tarjottimien välillä. Tämä aineiston ominaisuus selittää residuaalien autokorrelaation ja syy lienee käsittelyissä, sillä yhdellä tarjottimella oli aina yhtä käsittelyryhmää.

Tein juuren, verson ja juuri-verso-suhteen lopullisista malleista kullekin kaksi eri versiota: malliin A otin mukaan reaktioprocentin keskiarvon korotettuna neliöön ja malliin B en, sillä muunnos levensi luottamusvälit suuriksi. Laskin tulokset kaikille malleille. Tein varianssianalyysit (ANOVA) *F*-testisuureen kanssa car-paketilla (Fox & Weisberg 2019), parittaiset vertailut emmeans-paketilla (Lenth 2021), jatkuvien muuttujien takaisinmuunnon effects-paketilla (Fox & Weisberg 2019) ja laskin keskiarvon sekä luottamusvälit.

Sovitin nuokahdukselle logistisen regression sekamallin ja reaktioprocentille lineaarisen sekamallin, joissa selitin käyttäytymisvastetta käsittelyllä ja satunnaismuuttujana yksilöllä, johon pesitin lehden ikäluokan, käyttäen R:n lme4-pakettia (Bates ym. 2015). Tarkastelin mallien sopivuutta aineistoon ja mallien oletusten täyttymistä arvioimalla residuaaleja visuaalisesti käyttäen paketteja pROC (Robin

ym. 2011) ja broom (Robinson ym. 2021). Nuokahduksen mallin logistisen regression oletukset täyttyivät. Tulkittuna visuaalisesti ROC-käyrästä (*receiver operating characteristic*) ja selittävyysasteen arvosta nuokahduksen mallilla oli hyvä selittävyysaste (0,9309). Käytin DHARMA-pakettia (Hartig 2021) tarkastaakseni, onko aineistossa heteroskedastisuutta ja poikkeavia havaintoja (engl. *outlier*). Mikään testeistä ei antanut merkitsevää tulosta, joten malli oli näiltäkin osin sopiva (*KS test* $p = 0,62$, *Dispersion test* $p = 0,86$, *Outlier test* $p = 1$, *Within-group deviation from uniformity*: ei merkitsevä, *Levene Test for homogeneity of variance*: ei merkitsevä).

Reaktioprosentin mallin sovittaminen oli vaikeampaa. Malli oli varianssin osalta sopiva, mutta heteroskedastisuuden testauksessa kuvaajat eivät näyttäneet optimaalisilta, ja testaus antoi myös merkitseviä tuloksia (*KS-test* $p = 0$, *Dispersion test* $p = 0,92$, *Outlier test* $p = 9,93$, *Within-group deviations from uniformity*: merkitsevä, *Levene test for homogeneity of variance*: merkitsevä). Kokeilin normaalijakauman sijaan muita jakaumia. Gamma-jakaumassa kaikkien arvojen on oltava suurempia kuin nolla, joten loin uuden muuttujan reaktioprosentista lisäämällä sen kaikkiin arvoihin 0,1. Tein mallin uudelleen käyttäen uutta muuttujaa ja Gamma-jakaumaa, mutta heteroskedastisuuden testauksen tulokset näyttivät huonommilta kuin normaalijakaumalla. Kokeilin vielä käännteistä Gaussin jakaumaa, mutta heteroskedastisuuden testaus ei toiminut, vaan antoi virheilmoituksia. On mahdollista, että sopivin jakauma olisi Beta-jakauma, mutta käytössä ollut lme4-paketin glmer-funktio ja toistettavuuden testaamiseen valitsemani rprr-paketti eivät tunne Beta-jakaumaa. Päädyin käyttämään alkuperäistä mallia ja normaalijakaumaa, sillä se osoittautui vaihtoehtoista parhaiten sopivaksi. En pitänyt sitä ylitsepääsemättömänä ongelmana, ettei täydellistä jakaumaa ollut käytettävissä, sillä malli antoi kuitenkin samanlaiset tulokset kaikilla huonommillakin jakaumilla. Vaikka en pystynyt korjaamaan heteroskedastisuusongelmaa tämän pro gradu -työn puitteissa, teen myöhemmin paremman mallin julkaisua varten.

Nuokahduksen ja reaktioprosentin mallien sopivuuden ja oletusten täyttymisen testaamisen jälkeen tein car-paketilla (Fox & Weisberg 2019) tyypin 3 ANOVA -varianssianalyysit ja emmeans-paketilla (Lenth 2021) parittaiset vertailut. Nuokahduksen mallin tuloksiin otin odds-testisuureiden suhteen (engl. *odds ratio*, *OR*) sekä OR:n luottamusvälit ja p -arvot, jotka kertovat onko luokkien välillä tilastollisesti merkitseviä eroja. Reaktioprosentin mallin tuloksiin otin t -testisuureen ja p -arvon.

Testasin yksilön reaktion toistettavuuden eli sen, miten pysyvä kunkin yksilön käyttäytymisvaste oli kosketuskokeiden eri kierroksilla, käyttäen rptR-pakettia (Stoffel ym. 2017), joka arvioi toistettavuusarvon ja sen luottamusvälit *bootstrapping*-menetelmällä. Tein laskennan tuhannella

bootstrapilla. Käytin testaukseen reaktioprosentin ja nuokahduksen sekamalleja, joissa selitin käyttäytymisvastetta satunnaismuuttujana yksilöllä, johon pesitin lehden ikäluokan, ja lisäksi käsittely oli mukana selittäjänä.

Käytin tilastollisen merkitsevyyden raja-arvona vakiintunutta p -arvoa $p = 0,05$. Toistettavuuden testauksessa käytin p -arvon lisäksi r -arvoa, jonka katsotaan olevan merkitsevä, kun sen alempi raja-arvo on nollan yläpuolella (Stoffel ym. 2017).

3. TULOKSET

3.1. Kuvaileva analyysi

Tutkimusta varten kasvatetut 71 tuntokasviyksilöä pysyivät elossa ja pääosin hyväkuntoisina kokeiden loppuun asti. Kasveista 21:llä yksi tai useampi kokeisiin valittu lehti muuttui huonokuntoiseksi, kuten kellastui hieman tai menetti lehdyköitään, mutta pysyi kuitenkin yhä toimintakykyisenä, joten näiden lehtien havainnot otettiin mukaan aineistoon. Näiden joukossa oli sekä kontrolli- että käsittelyryhmän kasveja. Yksi kontrolliryhmän kasvi oli kokeiden toiselta kierrokselta lähtien kokonaisuudessaan huonokuntoinen, ja sen kokeisiin valituista lehdistä vanha ja keskivanha lehti kuolivat ennen kokeiden kolmatta kierrosta. Lisäksi yhdellä muulla kontrolliryhmän kasvulla ja neljällä käsittelyryhmän kasvulla kokeisiin valituista lehdistä vanha lehti kuoli ennen kokeiden viimeistä kierrosta. Näiden 7 puuttuvan havainnon lisäksi aineistoon jäi myös 34 puuttuvaa havaintoa johtuen siitä, että jotkin kokeisiin valitut lehdet eivät olleet avautuneet (19 kontrolliryhmästä, 16 käsittelyryhmästä), sekä 20 muuta puuttuvaa havaintoa johtuen kokeiden toteuttamiseen liittyvistä virheistä (kuten kasviin osuminen vahingossa viereisen kasvin reaktiota videoitaessa) tai muista, kirjaamatta jääneistä syistä. Lopullinen aineisto koostui kaikkiaan 578 havainnosta.

Kun koejärjestely purettiin ja kasvit mitattiin, versot olivat keskimäärin 15,15 cm pitkiä (vaihteluväli 3,7–33,1 cm). Verson biomassa kuivattuna oli keskimäärin 0,78 g (vaihteluväli 0,17–1,98 g). Kontrolliryhmässä verson biomassa kuivattuna oli keskimäärin 0,80 g ja käsittelyryhmässä 0,76 g. Juuren biomassa kuivattuna oli keskimäärin 0,53 g (vaihteluväli 1,09–0,17 g). Kontrolliryhmässä juuren biomassa kuivattuna oli keskimäärin 0,51 g ja käsittelyryhmässä 0,55 g. Juuren ja verson kuivabiomassojen suhteen eli juuri-verso-suhteen keskiarvo oli 0,75 (vaihteluväli 0,34–1,77).

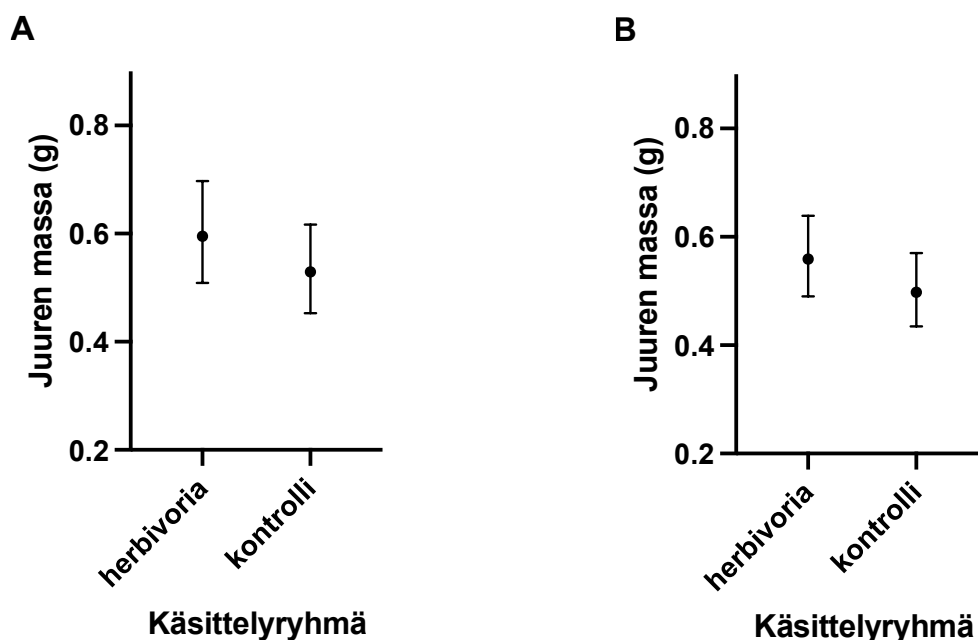
Piiloutumisreaktion laajuuden keskiarvo oli kontrolliryhmässä 72,8 % ja käsittelyryhmässä 81,7 %. Kontrolliryhmän kasveista 30,8 % nuokahti ja käsittelyryhmän kasveista 28,8 %.

3.2. Biomassa ja sen jakautuminen

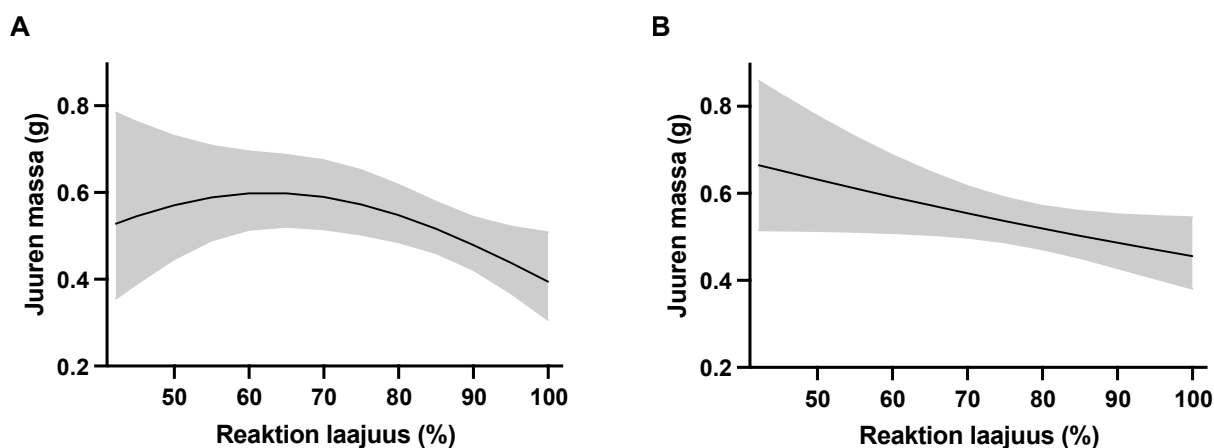
Herbivoriakäsittelyllä (Kuva 2) tai reaktion laajuudella (Kuva 3) ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta juuren kuivabiomassaan. Taulukossa 1 on esitetty juuren kuivabiomassan mallien A ja B varianssianalyysien tulokset. Mallissa A reaktioprosentin keskiarvo on korotettuna neliöön. Mallissa B reaktioprosentin keskiarvoa ei ole korotettu neliöön.

Taulukko 1. Todennäköisyydet käsittelyn ja reaktioprosentin vaikutukselle juuren kuivabiomassaan.

	Malli A		Malli B		DF
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	
Herbivoriakäsittely	1,509	0,224	1,415	0,238	1
Reaktioprosentti	1,689	0,198	3,597	0,062	1
Reaktioprosentti ²	2,347	0,130	.	.	1



Kuva 2. Herbivoriakäsittelyn vaikutus tuntokasvin juuren kuivabiomassaan mallissa A (reaktioprosentin keskiarvo korotettu neliöön) ja mallissa B (ei muunnosta). Käsittelyllä ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta. Hajonnat kuvaavat 95 % luottamusvälejä.

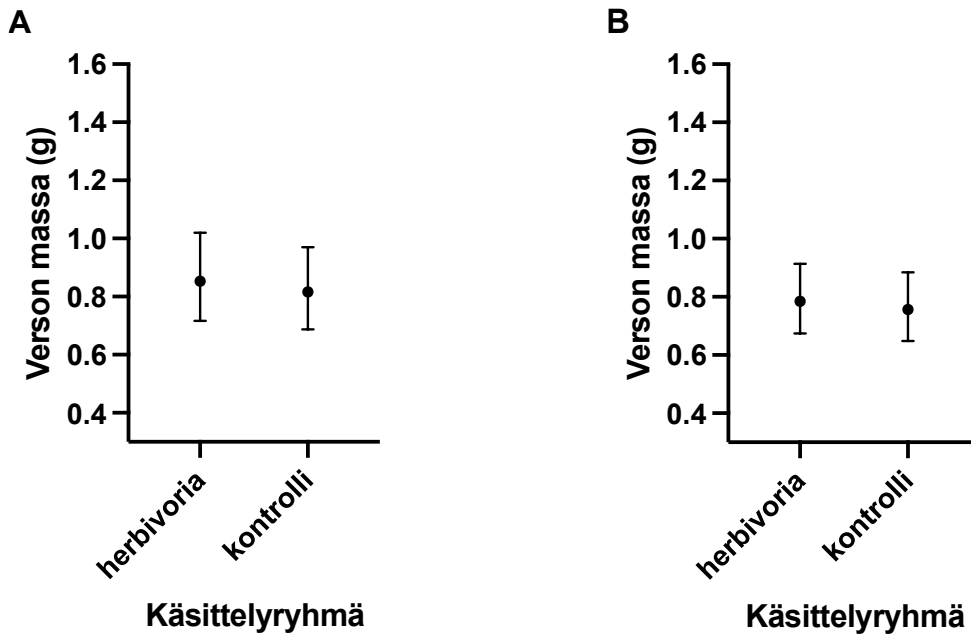


Kuva 3. Tuntokasvin lehtien piiloutumisreaktion laajuuden eli reaktioprocentin yhteys juuren kuivabiomassaan mallissa A (reaktioprocentin keskiarvo korotettu neliöön) ja mallissa B (ei muunnosta). Reaktion laajuuden ja juuren kuivabiomassan välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota. Harmaat alueet kuvaavat 95 % luottamusvälejä.

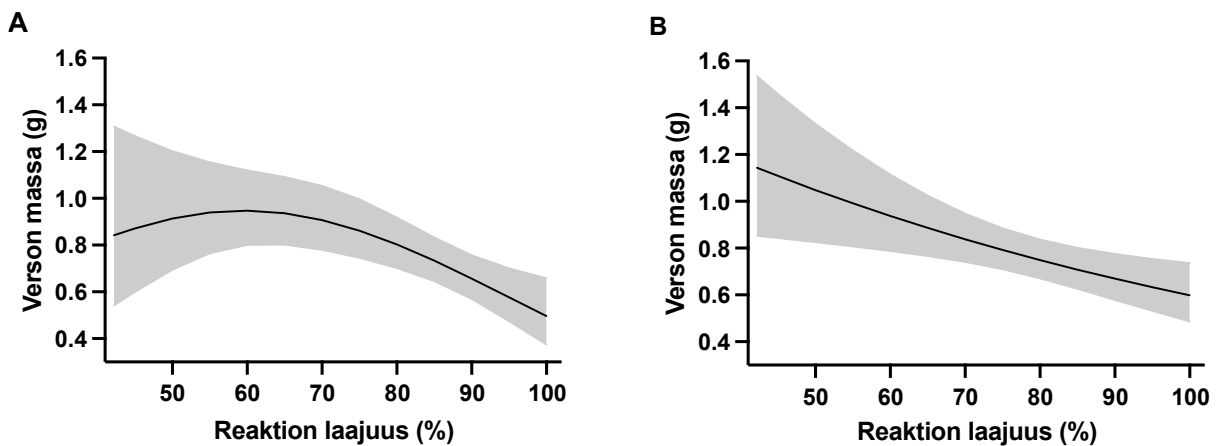
Herbivoriakäsittelyllä ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta version kuivabiomassaan (Kuva 4). Reaktion laajuudella puolestaan oli tilastollisesti merkitsevä korrelaatio version kuivabiomassan kanssa: mitä laajempi reaktio, sitä pienempi biomassa (Kuva 5). Taulukossa 2 on esitetty version kuivabiomassan mallien A ja B varianssianalyysien tulokset. Mallissa A reaktioprocentin keskiarvo on korotettuna neliöön. Mallissa B reaktioprocentin keskiarvoa ei ole korotettu neliöön.

Taulukko 2. Todennäköisyydet käsittelyn ja reaktioprocentin vaikutukselle version kuivabiomassaan.

	Malli A		Malli B		DF
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	
Herbivoriakäsittely	0,168	0,683	0,101	0,7515	1
Reaktioprocentti	2,166	0,151	7,687	0,007	1
Reaktioprocentti ²	3,262	0,0754	.	.	1



Kuva 4. Herbivoriakäsittelyn vaikutus version kuivabiomassaan mallissa A (reaktioprosentin keskiarvo korotettu neliöön) ja mallissa B (ei muunnosta). Käsittelyllä ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta. Hajonnat kuvaavat 95 % luottamusvälejä.



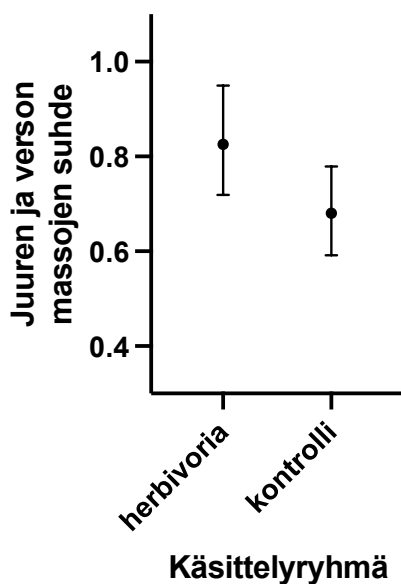
Kuva 5. Tuntokasvin lehden sulkeutumisreaktion laajuuden eli reaktioprosentin keskiarvon yhteys version kuivabiomassaan mallissa A (reaktioprosentin keskiarvo korotettu neliöön) ja mallissa B (ei muunnosta). Reaktion laajuuden ja version biomassan välillä oli tilastollisesti merkitsevä negatiivinen korrelaatio. Harmaat alueet kuvaavat 95 % luottamusvälejä.

Herbivoriakäsittelyllä oli tilastollisesti merkitsevä vaikutus juuri-verso-suhteeseen eli juuren ja version massojen suhteeseen siten, että käsittelyryhmän kasvien juuri-verso-suhde oli suurempi kuin kontrolliryhmän (Kuva 6). Reaktion laajuudella ei ollut tilastollisesti merkitsevää yhteyttä juuri-verso-suhteeseen (Kuva 7). Taulukossa 3 on esitetty juuri-verso-suhteen mallien A ja B varianssianalyysien tulokset. Mallissa A reaktioprosentin keskiarvo on korotettuna neliöön. Mallissa B reaktioprosentin keskiarvoa ei ole korotettu neliöön.

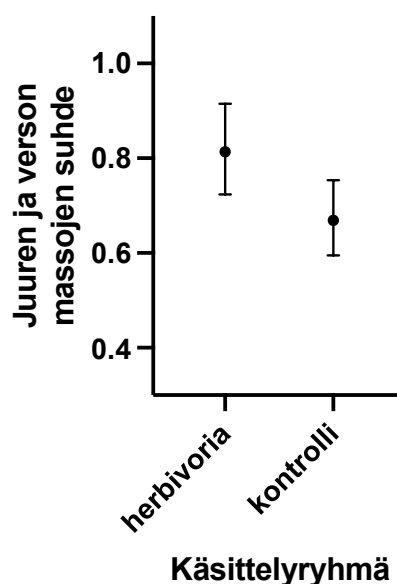
Taulukko 3. Todennäköisyydet käsittelyn ja reaktioprocentin vaikutukselle juuri-verso-suhteeseen.

	Malli A		Malli B		DF
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	
Herbivoriakäsittely	5,181	0,026	5,196	0,026	1
Reaktioprocentti	0,384	0,538	3,290	0,074	1
Reaktioprocentti ²	0,170	0,681	.	.	1

A

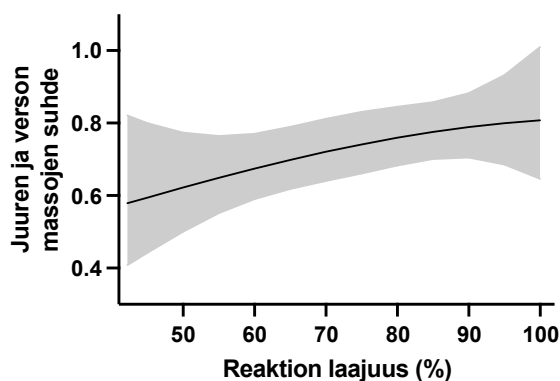


B

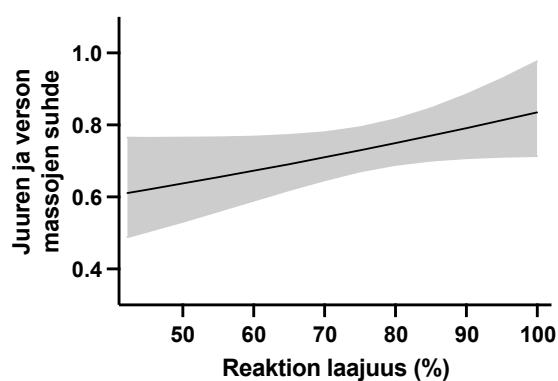


Kuva 6. Herbivoriakäsittelyn vaikutus juuren ja version kuivabiomassojen suhteeseen eli juuri-verso-suhteeseen mallissa A (reaktioprocentin keskiarvo korotettu neliöön) ja mallissa B (ei muunnosta). Käsittelyllä oli tilastollisesti merkitsevä vaikutus: käsittelyryhmän kasvien juuri-verso-suhde oli suurempi kuin kontrolliryhmän kasvien. Hajonnat kuvaavat 95 % luottamusvälejä.

A



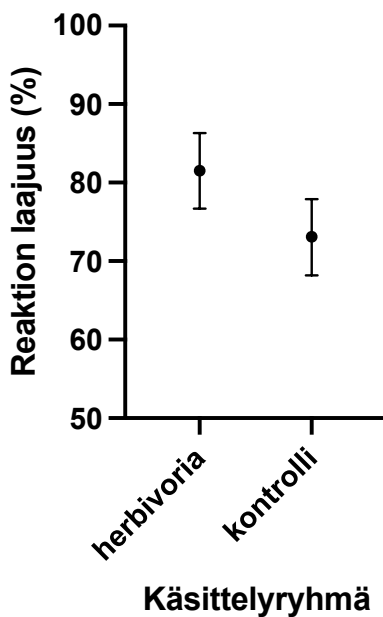
B



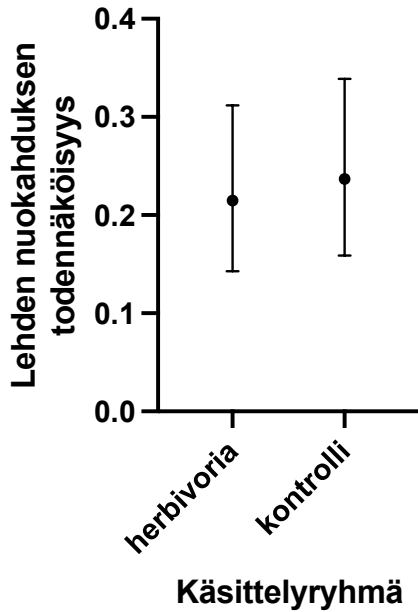
Kuva 7. Reaktion laajuuden eli reaktioprocentin keskiarvon yhteys juuren ja version kuivabiomassojen suhteeseen eli juuri-verso-suhteeseen mallissa A (reaktioprocentin keskiarvo korotettu neliöön) ja mallissa B (ei muunnosta). Reaktion laajuuden ja juuri-verso-suhteen välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota. Harmaat alueet kuvaavat 95 % luottamusvälejä.

3.3. Herbivorian vaikutus käyttäytymiseen

Herbivoriakäsittelyllä oli tilastollisesti merkitsevä vaikutus reaktioprosenttiin eli reaktion prosentuaaliseen laajuuteen siten, että käsittelyryhmän kasvien reaktion laajuus oli 12,2 % suurempi kuin kontrolliryhmän kasvien ($p = 0,016$, $F = 6,0628$, $Df = 1$, $t = -2,462$) (Kuva 8). Piiloutumisreaktion laajuuden keskiarvo oli kontrolliryhmässä 72,8 % ja käsittelyryhmässä 81,7 %. Herbivoriakäsittelyllä ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta nuokahdukseen ($p = 0,714$, $Df = 1$, $OR = 1,13$, luottamusvälit 0,584 ja 2,19) (Kuva 9).



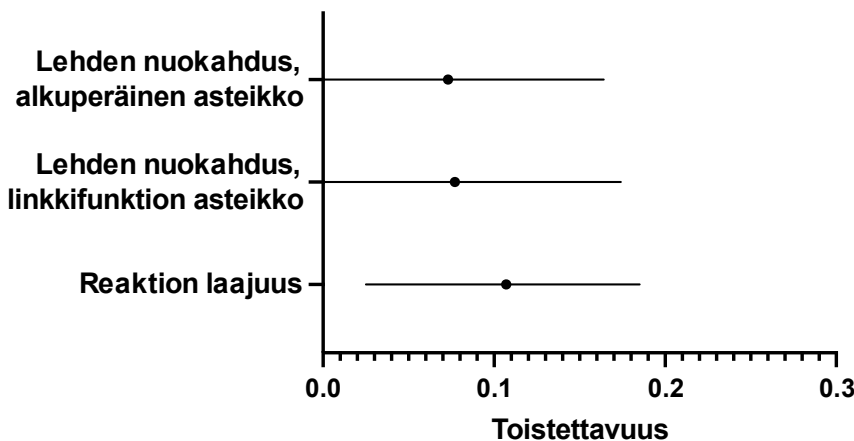
Kuva 8. Herbivoriakäsittelyn vaikutus tuntokasvin lehden sulkeutumisreaktion prosentuaaliseen laajuuteen (reaktioprosenttiin) eli siihen, miten laajasti lehdykät sulkeutuivat, kun lehteä ärsytettiin mekaanisesti. Käsittelyllä oli tilastollisesti merkitsevä vaikutus reaktion laajuuteen: käsittelyryhmän kasveilla reaktion laajuus oli suurempi kuin kontrolliryhmän kasveilla. Hajonnat kuvaavat 95 % luottamusvälejä.



Kuva 9. Herbivoriakäsittelyn vaikutus tuntokasvin lehden nuokahdukseen eli siihen, taipuiko lehti kokonaan alas, kun sitä ärsytettiin mekaanisesti. Käsittelyllä ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta nuokahdukseen. Hajonnat kuvaavat 95 % luottamusvälejä.

3.4. Käyttäytymisen toistettavuus

Kun testasin yksilöiden käyttäytymisvasteen pysyvyyttä kolmen koekierroksen aikana, reaktion laajuus oli toistettava ($r = 0,107$, luottamusvälit 0,025 ja 0,185), mutta nuokahdus ei ollut toistettava (linkkifunktion asteikko $r = 0,077$, luottamusvälit 0 ja 0,174; alkuperäinen asteikko $r = 0,073$, luottamusvälit 0 ja 0,164) (Kuva 10).



Kuva 10. Tuntokasvin käyttäytymisen toistettavuus eli käyttäytymisvasteen pysyvyys kolmen koekierroksen aikana. Kosketusreaktion laajuus eli reaktioprocentti oli toistettava mutta nuokahdus ei. Hajonnat kuvaavat 95 % luottamusvälejä.

4. TULOSTEN TARKASTELU

4.1. Herbivoria, puolustuskäyttäytyminen ja biomassa

Tuntokasvit (*M. pudica*), joiden lehtiä oli käsitelty simuloimalla herbivoriaa nyppimällä niistä paloja pois, reagoivat kosketukseen sulkemalla lehtensä 12,2 % laajemmin kuin kontrolliryhmän kasvit 6 viikon herbivorikäsittelyn jälkeen. Indusoituvat puolustusreaktiot tapahtuvat vasteena kasvin havaitsemaan herbivoriaan tai sen uhkaan (Agrawal & Rutter 1998; Dicke & Hilker 2003). Tuntokasvin sulkeutumisreaktio on itsessään indusoituva puolustusmekanismi, joka aktivoituu välittömästi ja silmin nähtävästi, kun kasvia kosketetaan uhkaavasti, mutta on myös todennäköistä, että tuntokasvi myös lisää pitkällä aikavälillä panostusta mekanismin herkkyyteen, kun herbivori on jatkuvasti läsnä. Sen sijaan herbivoriakäsittelyllä ei ollut vaikutusta lehden nuokahdukseen eli siihen, taipuiko lehti kosketettaessa kokonaan alas. Tämä ero saattaa selittyä tuntokasvin sulkeutumisreaktion fysiologisella mekanismilla. Mekanismi perustuu lehden liikettä ohjaavan *pulvinus*-rakenteen solujen turgoripaineen vaihteluun, eli kyseessä on hydraulinen liike (Volkov ym. 2010). Reaktiota säätelevät kalsiumioneiden liike ja sähköiset signaalit (Hagihara ym. 2022). Sen aktivoituminen molekyylitasolla on erilaista riippuen siitä, minkälainen kosketus tai vaurioitus kasviin kohdistuu (Hagihara ym. 2022). Mekanismin toimintaa ei kuitenkaan vielä aivan täysin tunneta.

Herbivoriakäsittelyllä ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta juuren tai verson biomassaan. Sen sijaan kasvin sulkeutumiskäyttäytyminen oli yhteydessä biomassaan: niillä kasviyksilöillä, joiden sulkeutumisreaktion laajuus oli suurempi, verson biomassa oli pienempi. Kyse on todennäköisesti kasvun ja puolustautumisen välisestä allokaatiokustannuksesta. Tuntokasvin sulkeutumisreaktio kuluttaa paljon energiaa ja heikentää kasvin yhteyttämistehoa jopa 40 % (Hoddinot 1977). Indusoituvan puolustusmekanismin aktivoitumisella on myös todettu olevan yleisesti kasvien kasvua hidastava vaikutus (Zust & Agrawal 2017). Vaikuttaa siltä, että laajempi piiloutumisreaktio heikentää kasvin kasvua ja siitä päätellen kelpoisuutta, sillä panostus puolustautumiseen vie resursseja kasvulta. Luonnossa tilanne voi kuitenkin poiketa tästä laboratorio-oloissa saadusta tuloksesta, sillä laajempi piiloutumisreaktio voi suojata kasvia tehokkaammin herbivorialta.

Herbivoriakäsittely vaikutti kasvin biomassan jakautumiseen siten, että juuren ja verson biomassojen suhde eli juuri-verso-suhde oli käsittelyryhmän kasveilla suurempi kuin kontrolliryhmän kasveilla. Kun versoon kohdistuu herbivoriaa, kasvin kasvustrategia voikin painottua juurten biomassan

kasvattamiseen (McNickle & Evans 2018; Sarquis ym. 2019). Kasvin ei ole välttämättä kannattavaa keskittyä version kasvattamiseen, kun herbivori todennäköisesti syö sen pois. Herbivoriakäsittelyn vaikutus juuren ja version biomassoihin erikseen ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkitsevä, joten ero käsittely- ja kontrolliryhmän välillä oli verrattain pieni.

Biomassan jakautumista tarkasteltaessa on otettava huomioon, että käsittelyryhmän kasvit menettivät hieman versionsa biomassaa käsittelyn myötä. Käsittelyssä lehdistä irti nypityt palat punnittiin tuoreina tarkkuusvaa'alla, jotta biomassan menetys saatiin dokumentoitua. Biomassan menetys oli keskimäärin vain 0,063 g (vaihteluväli 0,035–0,143 g). Poistettuja paloja ei kuivattu erikseen punnittavaksi, sillä niiden pienen koon vuoksi se olisi ollut todella vaikeaa, joten näitä lukuja ei voi suoraan verrata analyyseissä käyttämääni kuivabiomassaan. Biomassan menetyksestä voidaan kuitenkin laskea arvio suhteessa kasvin kuivabiomassaan. Joka tapauksessa menetetyn biomassan merkitys on hyvin pieni.

Lehtilä ja Boalt (2004) vertasivat katsausartikkelissaan simuloitun herbivorian ja aidon herbivorian eroja ja totesivat, että kasvit reagoivat simuloituun herbivoriaan usein eri tavalla kuin aidon herbivorin läsnäoloon. He esittivät, että mahdollisuuksien mukaan olisi hyvä käyttää aitoja herbivoreja, mutta koska se ei usein ole käytännöllisesti mahdollista, simuloitu herbivoria tulee pysymään kasvitutkijoiden menetelmävalikoimassa. Vaikka kasvien reaktioissa simuloituun ja aitoon herbivoriaan on eroja, vain hyvin harvoin – Lehtilän ja Boaltin aineistossa vain 3 % tapauksista – kasvit reagoivat niihin täysin käänteisesti, joten merkittävän virheen riski on pieni. Heidän mukaansa simuloitua herbivoriaa voidaan hyvin käyttää etenkin yksinkertaisempien herbivoriavasteiden, kuten biomassan jakautumisen, tutkimiseen.

Zust ja Agrawal (2017) tarkastelivat katsausartikkelissaan keinoja kasvin kelpoisuuden arvioimiseen. Kasvitutkimuksessa kasvin kelpoisuutta arvioidaan usein sen kasvua kuvaavilla muuttujilla, sillä varsinainen kelpoisuuden mittaaminen suoraan on hyvin vaikeaa. Varsinaisen kelpoisuuden suora mittaaminen edellyttäisi kasvin siemenistä itäneiden taimien määrän laskemista, mikä on harvoin mahdollista. Usein kelpoisuuden mittarina käytetäänkin kasvin kasvumenestystä. Zust ja Agrawal totesivat, että yksivuotisilla kasveilla, jotka ovat itäneet samanaikaisesti, kasvumenestys on hyvä kasvin kelpoisuutta ilmentävä mittari.

Piiloutumisreaktion lisäksi tuntokasvilla on rakenteellisena puolustusmekanismina piikkien kasvattaminen (IUCN 2010). En ole saanut selville, onko herbivorian vaikutusta tuntokasvin piikkien

määrään tutkittu, mutta aineistostani on mahdollista tutkia myös tätä kysymystä. Piikkien kasvattaminen kuluttaa kasvin resursseja, ja olisi mielenkiintoista selvittää kasviyksilöiden välisiä eroja panostuksessa eri puolustautumismekanismeihin. Tutkimuskasveja silmämääräisesti tarkasteltaessa vaikutti siltä, että kasviyksilöiden välillä oli eroa piikkien tiheydessä.

4.2. Tuntokasvin käyttäytymisen toistettavuus

Tuntokasvin lehden sulkeutumisreaktion prosentuaalisen laajuuden kohdalla käyttäytymisen toistettavuusaste oli samaa luokkaa kuin aiemmissa tutkimuksissa eläinten persoonallisuudesta (Bell ym. 2009; Dochterman ym. 2015). Kyseessä näyttäisi olevan samansuuntainen havainto kuin Reed-Guy ym. (2017) esittivät tutkimuksessaan tuntokasvin käyttäytymisestä luonnossa: tuntokasvilla vaikuttaisi olevan ”persoonallisuus” sikäli, kun persoonallisuudesta käytetään eläinten käyttäytymistutkimuksessa vakiintunutta määritelmää.

Lehden nuokahdus puolestaan ei ollut toistettava. On mielenkiintoinen kysymys, miksi tällainen ”persoonallisuuteen” viittaava toistettavuusaste ilmeni vain lehdyköiden sulkeutumisen kohdalla, mutta ei koko lehden nuokahduksessa. Koska samanlainen tulos oli myös herbivorian vaikutuksessa tuntokasvin käyttäytymiseen, on mahdollista, että vastaus liittyy lehdyköiden sulkeutumisen ja lehden nuokahduksen fysiologiseen mekanismiin. Eläinten käyttäytymisestä kuitenkin tiedetään, etteivät eläimilläkään kaikki persoonallisuuspiirteet ilmene kaikkien toimintojen kohdalla tai kaikissa tilanteissa vaan vain tietyissä toiminnoissa ja tietyissä konteksteissa (Kaiser & Müller 2021). Eläinten persoonallisuustutkimuksessa yksilöt laitetaankin kohtaamaan standardoidusti tietynlaisia tilanteita tiettyjen määriteltujen piirteiden havaitsemiseksi (Kaiser & Müller 2021).

Kasviyksilö ei ole aina yhtä selkeästi määriteltävissä oleva yksikkö kuin eläinyksilö, eikä kasveilla ole keskushermoston kaltaista järjestelmää, jonka kautta ”päätökset” esimerkiksi yksilön liikkeistä tapahtuisivat, joten on kiehtovaa, että tuntokasvin kosketusreaktion laajuus oli kuitenkin kasvin lehtien välillä yhteneväinen. Monimutkainen keskushermosto ei kuitenkaan ole eläimilläkään persoonallisuuden edellytys, sillä *Actinia equina* -merivuokolla on osoitettu olevan persoonallisuus, vaikka merivuokon hermosto on hyvin yksinkertainen (Briffa & Greenaway 2011). Ehkä persoonallisuutta voi esiintyä myös täysin erilaisilla eliöillä, joilla ei ole hermostoa ollenkaan.

Persoonallisuuden määritelmään eläimillä kuuluu yksilöllisten käyttäytymiserojen pysyvyys läpi elämän (Carere & Maestripieri 2013; Kaiser & Müller 2021), mihin nähden tämän tutkimuksen

aikajänne olisi voinut olla pidempi. Tutkimusyksilöt olivat kokeiden alkaessa noin 18 viikon ikäisiä laskettuna versojen itämisestä, ja niiden käyttäytymistä tarkkailtiin alle kuukauden ajan. Eri lähteissä tuntokasvia sanotaan joko yksi-, kaksi- tai monivuotiseksi. Oman havaintoni mukaan se voi elää huonekasvina joitain vuosia ja kukkia jopa useita kertoja, mutta kovin pitkäikäinen se ei kuitenkaan ole. Tuntokasvin käyttäytymistä olisi siis verrattain helposti mahdollista havainnoida vaikkapa sen koko elämän ajan, kunhan vain laboratoriotilaa olisi riittävästi jopa metrin mittaisiksi kasvaville versoille. Tosin on mainittava, että eläintenkaan persoonallisuustutkimuksessa käyttäytymistä ei usein havainnoida välttämättä kovin pitkään suhteessa eläimen koko elinikään (Bell ym. 2009).

Tässä tutkimuksessa havainnoitiin tuntokasvin käyttäytymistä vain yhdessä kontekstissa. Määritelmällisesti persoonallisuus on yksilöllisten käyttäytymiserojen pysyvyyttä paitsi ajassa myös eri konteksteissa, ja eläinten persoonallisuustutkimuksessa käyttäytymistä havainnoidaan erilaisissa tilanteissa (Carere & Maestripieri 2013; Kaiser & Müller 2021). Tuntokasvi sulkee lehensä yöksi ja avaa ne taas aamulla, joten toinen mahdollinen konteksti, jossa sen käyttäytymistä voisi tarkastella kosketusreaktion ohella, olisi kasvin reagoiminen valon ja pimeyden vaihteluun.

Mahdolliset virhelähteet pyrittiin tässä tutkimuksessa huolellisesti minimoimaan tarkalla koesuunnittelulla ja laboratoriotyöskentelyllä. Kasvien sijoittelu kasvatushuoneessa satunnaistettiin ja kasveja siirrettiin säännöllisesti, jotta kasvatushuoneen olosuhteiden pienet epätasaisuudet eivät vaikuttaisi tuloksiin. Kasvit valittiin käsittely- ja kontrolliryhmään satunnaistetusti. Ne sijoitettiin ryhmittäin tarjottimille, joista kullekin tuli vain yhden käsittelyryhmän kasveja, jotta eri ryhmien kasvit eivät voisi viestiä toisilleen juurien välityksellä. Kasvien viestimistä ilmaan haihtuvien yhdisteiden kautta ei kuitenkaan pystytty tässä tutkimuksessa estämään. Kontrolliryhmän kasveja liikuteltiin käsittelypäivinä, jottei käsittelyyn liittyvä liikeärsytys vaikuttaisi tuloksiin, vaan vain itse herbivoriakäsittely. Samat kolme henkilöä suorittivat kosketuskokeet ja arvioivat reaktion laajuuden, eikä kulloinkin koetta suorittanut henkilö tiennyt, mihin käsittelyryhmään testattavat kasvit kuuluivat, etteivät testaajien väliset erot ja tieto käsittelyryhmästä vaikuttaisi tuloksiin. Kaikki punnitukset tehtiin samalla tarkkuusvaa'alla. Analyyseissä käytin version ja juuren massoja kuivattuna, sillä tuoreena punnittuun massaansa saattaa vaikuttaa version nestetasapaino sekä juurakkoon pesussa jäänyt kosteus. Aineisto olisi voinut olla isompi, sillä pienehkön aineiston tilastollinen voima riittää heikosti erojen havaitsemiseen.

Selvitän myöhemmin käyttäytymisen toistettavuuden eroja käsittely- ja kontrolliryhmän kasvien välillä ja eri-ikäisillä lehdillä. Lisäksi tutkin vielä lehden sulkeutumisreaktion nopeuden

toistettavuutta. Tässä pro gradu -työssä en käyttänyt ollenkaan videoaineistoa, josta voidaan laskea lehden tarkka sulkeutumisaika.

Saman lajin yksilöiden välisten käyttäytymiserojen ymmärtäminen on tärkeää, sillä lajinsisäinen vaihtelu on evoluution ”raaka-ainetta” (Kaiser & Müller 2021). Kasvien käyttäytymistutkimusta voi olla mahdollista edistää hyvinkin nopeasti lainaamalla näkökulmia, teoriaa ja jopa menetelmiä eläinten käyttäytymistutkimuksen puolelta, sillä eläinten käyttäytymistutkimus on alana vakiintuneempi ja pidemmälle kehittynyt (Karban & Orrock 2018). Kasvien kohdalla käyttäytymisen toistettavuutta on tutkittu vasta hyvin vähän, mutta aiemmat mielenkiintoiset tulokset motivoivat tutkimaan asiaa tarkemmin (Simon ym. 2016; Reed-Guy ym. 2017). Tällainen käyttäytymisekologinen lähestymistapa tarjoaa uudenlaisen, merkittävän näkökulman kasvibiologiaan (Karban 2008; Jensen ym. 2011; Cahill Jr. 2019).

4.3. Kasvien käyttäytymistutkimuksen terminologia

Kasvien käyttäytymistutkimuksen sanasto on englanninkielisissä tieteellisissä teksteissä osin eläinten käyttäytymistutkimuksesta suoraan lainattua. Kasvien ”käyttäytymisestä” on puhuttu jo pitkään, ja sitä on verrattu laajalti eläinten käyttäytymiseen (Pfeffer 1873; Brenner ym. 2006; Barlow 2008; Karban 2008; Trewavas 2009; Jensen ym. 2011; Amador-Vargas ym. 2014; Gagliano ym. 2014; Grémiaux ym. 2014; Abramson & Chicas-Mosier 2016; Gagliano ym. 2016; Gilroy ym. 2016; Simon ym. 2016; Reed-Guy ym. 2017; Karban & Orrock 2018; Segundo-Ortin & Calvo 2019; Calvo & Trewavas 2020; Calvo ym. 2020; Parise ym. 2020; Trewavas ym. 2020).

Kun alan tutkimus on edennyt, uusia sanoja on omaksuttu käyttöön. Niin kutsutussa ”kasvineurobiologiassa” puhutaan esimerkiksi kasvien ”älykkyydestä” (engl. *intelligence*) ja ”tajunnasta” tai ”tietoisuudesta” (engl. *consciousness*) (Brenner ym. 2006; Trewavas 2009; Segundo-Ortin & Calvo 2019; Calvo & Trewavas 2020; Calvo ym. 2020; Trewavas ym. 2020). Näiden sanojen käyttäminen kasvien kohdalla on kuitenkin herättänyt kritiikkiä, kuten koko ”kasvineurobiologian” alakin (Segundo-Ortin & Calvo 2019). Kasvien on sanottu ”oppivan” ja ”muistavan” (Trewavas ym. 2020; Gagliano ym. 2014; Norris ym. 2015; Abramson & Chicas-Mosier 2016; Segundo-Ortin & Calvo 2019). Kasveilla on havaittu sellaista ”oppimista”, jossa kasvi yhdistää yhden ärsykkeen toiseen, ja tätä on nimitetty ”klassiseksi ehdollistumiseksi” (Gagliano ym. 2016; Abramson & Chicas-Mosier 2016; Segundo-Ortin & Calvo 2019). Kasvien tiedonhankinta ja -prosessointikykyyn on liitetty jopa ”kognition” käsite (Trewavas 2009; Segundo-Ortin & Calvo 2019; Parise ym. 2020).

Kasvin kykyä ”arvioida” ympäristöstä keräämäänsä tietoa ja ”tehdä päätöksiä” tämän tiedon perusteella on tarkasteltu myös ”psykologian” näkökulmasta (Abramson & Chicas-Mosier 2016; Karban & Orrock 2018). Tuntokasvilla on ehdotettu olevan ”persoonallisuus” (Reed-Guy ym. 2017).

Eläintutkimuksen vakiintuneiden sanojen soveltamista kasveihin on kuitenkin kritisoitu (Adams 2018; Calvo & Trewavas 2020). Yhden tutkimusalan käsitteiden lainaaminen suoraan toisen, hyvin erilaisen alan käyttöön ei välttämättä olekaan aivan ongelmatonta (Adams 2018).

Aihepiiristä ei ole kirjoitettu suomeksi juurikaan, eikä sille ole suomessa vakiintunutta termistöä. Kun kasvien käyttäytymistutkimus laajenee, alan terminologiaa on pohdittava: onko viisasta lainata suoraan eläinten käyttäytymistutkimukseen vakiintuneita käsitteitä vai tulisiko kasveja varten ottaa käyttöön tai jopa keksiä uusia sanoja?

Päätin käyttää pro gradu -tutkielmassani suoria suomennoksia eläinten käyttäytymistutkimuksesta aiemmin lainatuista sanoista, sillä koin käytännöllisimmäksi pitäytyä samassa terminologiassa lähteitteni kanssa. Tekstin selkeydenkin kannalta on parempi käyttää sanoja, jotka tarkoittavat jotain samankaltaista asiaa mutta esiintyvät nyt vain uudessa kontekstissa, kuin esitellä koko joukkoa uusia sanoja, jotka eivät välttämättä merkitse lukijalle vielä mitään. Eläin- ja kasvitieteillä on myös jo monia muita vakiintuneita yhteisiä termejä, joiden käyttö ei aiheuta hämminkiä tai herätä kritiikkiä: esimerkiksi sanalla *fysiologia* viitataan sekä eläin- että kasvifysiologiaan, mutta kukaan tuskin ajattelee sen tarkoittavan, että eläinten ja kasvien fysiologia olisi keskenään samanlaista (Calvo & Trewavas 2020).

5. JOHTOPÄÄTÖKSET

Pro gradu -tutkimukseni tulokset osoittavat, että tuntokasvin (*M. pudica*) käyttäytyminen ja kasvu mukautuvat vasteena simuloituun herbivoriaan, mutta myös käyttäytymisellä on vaikutusta kasvuun. Tulokseni vahvistavat myös jo aiemmin esitettyä mielenkiintoista näkemystä tuntokasvin käyttäytymisen toistettavuudesta: tuntokasvilla vaikuttaisi olevan ”persoonallisuus”.

Tuntokasvi puolustautuu herbivoreilta taivuttamalla lehtensä suppuun. Tässä tutkimuksessa havaitsin, että tuntokasvit, joita oli käsitelty simuloimalla herbivoriaa, reagoivat kosketukseen laajemmalla sulkeutumisreaktiolla kuin kontrolliryhmän kasvit. Tuntokasvin voidaan päätellä panostavan puolustukseen lisäämällä lehtiensä sulkeutumisherkkyttä, kun herbivori on jatkuvasti läsnä.

Havaitsin tuntokasvin puolustuskäyttäytymisellä yhteyden biomassaan: niillä kasviyksilöillä, joiden sulkeutumisreaktion laajuus oli suurempi, verson biomassa oli pienempi. Kyse on todennäköisesti kasvun ja puolustautumisen välisestä allokaatiokustannuksesta. Herbivoriakäsittely vaikutti kasvin biomassan jakautumiseen siten, että juuren ja verson biomassojen suhde eli juuri-verso-suhde oli käsittelyryhmän kasveilla suurempi kuin kontrolliryhmän kasveilla. Kun versoon kohdistuu herbivoriaa, kasvin kasvustrategia voikin painottua juurten biomassan kasvattamiseen.

Kun testasin tuntokasviyksilöiden käyttäytymisvasteen pysyvyyttä kolmen koekierroksen aikana, lehden sulkeutumisreaktion laajuuden kohdalla käyttäytymisen toistettavuusaste oli samaa luokkaa kuin aiemmissa tutkimuksissa eläinten persoonallisuudesta. Tämä viittaa siihen, että tuntokasvilla vaikuttaisi mahdollisesti olevan ”persoonallisuus” sikäli, kun persoonallisuudesta käytetään eläinten käyttäytymistutkimuksessa vakiintunutta määritelmää.

Tämä käyttäytymisekologinen lähestymistapa tarjoaa uudenlaisen, merkittävän näkökulman kasvibiologiaan. Vaikka kasvien käyttäytymistutkimusta voikin olla mahdollista edistää nopeasti lainaamalla siihen aineksia eläinten käyttäytymistutkimuksesta, on kasvien käyttäytymisestä puhuttaessa kuitenkin syytä välttää kasvien ”eläimellistämistä”, samoin kuin muista eläimistä puhuttaessa on hyvä välttää niiden inhimillistämistä. Jos kasvien käyttäytymistä jäädään tarkastelemaan vain eläinten käyttäytymisen viitekehyksessä, näkökulma voi rajautua turhan kapeaksi. Kasvien käyttäytyminen ei ole yhtä näkyvää, kuuluvaa ja helposti havaittavaa kuin eläinten, mutta se ei välttämättä tarkoita, että se olisi yksinkertaisempaa, alkeellisempaa tai vähäisempää.

KIITOKSET

Marjo Helander ja Milla Salonen, kiitos graduohjaajinani toimimisesta, neuvoista, kannustuksesta ja haastamisesta. Marjo, kiitos tämän yksinäisen projektin adoptoimisesta. Milla, erityiskiitos henkilökohtaisena R-opettajana toimimisesta. Katariina Riipinen, Salla Mikkola ja Alisa Olkinuora, suurkiitokset siitä, että olitte mukana luomassa tätä tutkimusta ja ahkeroimassa sen eteen. En silloin tiennyt, että opiskelijakaverusten villistä vapaa-ajan projektista tulisi lopulta graduni. Outi Vesakoski, kiitos rohkaisusta itsenäiseen tieteelliseen toimintaan ja tuesta projektin taloudessa. Meri-Tuulia Reponen ja Kirsikka Jokinen, kiitos apukäsinä toimimisesta. Esa Tyystjärvi, kiitos ongelmanratkomisesta kasvatushuoneella sekä tekstin kommentoimisesta. Kari Saikkonen, kiitos kommentoimisesta. Sami Merilaita ja tutkielmaryhmäläiset, kiitos hyvistä keskusteluista ja vertaistuesta gradun loppusuoralla. Ilman teitä graduni olisi ehkä vieläkin vain ”melkein valmis”. Ystävät ja perhe, kiitos henkisestä tuesta ja mielenkiinnon osoittamisesta vaikeaselkoista aiheittani kohtaan. Iris, kiitos päivystävästä matematiikkakonsultaatiosta. Sonja, kiitos oikoluvusta ja kaikista kahvihetkistä. Iitu, kiitos siitä, että sinulle voin kertoa kaiken.

LÄHTEET

- Abramson CI, Chicas-Mosier AM 2016: Learning in Plants: Lessons from *Mimosa pudica*. *Frontiers of Psychology* 7:417. DOI: 10.3389/fpsyg.2016.00417.
- Adams F 2018: Cognition wars. *Studies In History and Philosophy of Science* 68:20–30. DOI: 10.1016/j.shpsa.2017.11.007.
- Adler FR, Karban R 1994: Defended fortresses or moving targets? Another model of inducible defences inspired by military metaphors. *The American Naturalist* 144:813–832. DOI: 10.1086/285708.
- Agrawal AA, Rutter MT 1998: Dynamic anti-herbivore defense in ant-plants: the role of induced responses. *Oikos* 83:227–236. DOI: 10.2307/3546834.
- Amador-Vargas S, Dominguez M, León G, Maldonado B, Murillo J, Vides GL 2014: Leaf-folding response of a sensitive plant shows context-dependent behavioral plasticity. *Plant Ecology* 215:1445–1454. DOI: 10.1007/s11258-014-0401-4.
- Applewhite PB 1972: Behavioral plasticity in the sensitive plant, *Mimosa*. *Behavioral Biology* 7:47–53. DOI: 10.1016/S0091-6773(72)80187-1.
- Barlow PW 2008: Reflections on ‘plant neurobiology’. *BioSystems* 92:132–147. DOI: 10.1016/j.biosystems.2008.01.004.
- Bates D, Maechler N, Bolker B, Walker S 2015: Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67(1):1–48. DOI:10.18637/jss.v067.i01.
- Bell AM, Hankison SJ, Laskowski KL 2009: The repeatability of behaviour: a meta-analysis. *Animal Behavior* 77(4):771–783.
- Biegler R 2018: Insufficient evidence for habituation in *Mimosa pudica*. *Oecologia* 186:33–35. DOI: 10.1007/s00442-017-4012-3.
- Bose JC 1906: *Plant Response*. Longmans, Lontoo.
- Brenner ED, Stahlberg R, Mancuso S, Vivanco J, Baluska F, Van Volkenburgh E 2006: Plant neurobiology: an integrated view of plant signaling. *Trends in Plant Science* 11:8. DOI: 10.1016/j.tplants.2006.06.009.
- Briffa M, Greenaway J 2011: High in situ repeatability of behaviour indicates animal personality in the beadlet anemone *Actinia equina* (Cnidaria). *PLoS ONE* 6(7):e21963. DOI: 10.1371/journal.pone.0021963.
- Burkholder PR, Prat R 1936: Leaf movements of *Mimosa pudica* in relation to light intensity and wavelength of the incident radiation. *American Journal of Botany* 23:212–20. DOI: 10.2307/2436019.
- Cahill Jr. JF 2019: The inevitability of plant behavior. *American Journal of Botany* 106:903–905. DOI:10.1002/ajb2.1313.

- Cahill Jr. JF, Bao T, Maloney M, Kolenosky C 2013: Mechanical leaf damage causes localized, but not systemic, changes in leaf movement behavior of the Sensitive Plant, *Mimosa pudica* (Fabaceae) L. *Botany* 91:43–47. DOI: 10.1139/cjb-2012-0131.
- Calvo P, Gagliano M, Souza GM, Trewavas A 2020: Plants are intelligent, here's how. *Annals of Botany* 125: 11–28. DOI: 10.1093/aob/mcz155.
- Calvo P, Trewavas A 2020: Physiology and the (Neuro)biology of Plant Behavior: A Farewell to Arms. *Trends in Plant Science* 25:3.
- Canty A, Ripley B 2020: boot: Bootstrap R (S-Plus) Functions. R package version 1.3–25.
- Carere C, Maestripieri D (toim.) 2013: *Animal Personalities: Behavior, Physiology, and Evolution*. The University of Chicago Press, Chicago. 520 s.
- Coley PD, Barone JA 1996: Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review Ecology and Systematics* 27:305–335. DOI: 10.2307/2097237.
- De Vries J, Evers JB, Poelman EH 2017: Dynamic Plant–Plant–Herbivore Interactions Govern Plant Growth–Defence Integration. *Trends in Plant Science* 22. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.12.006.
- Dicke M, Hilker M 2003: Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. *Basic and Applied Ecology* 4:3–14.
- Dochtermann NA, Schwab T, Sih A 2015: The contribution of additive genetic variation to personality variation: heritability of personality. *Proceedings of the Royal Society B*. 282:20142201. DOI: 10.1098/rspb.2014.2201.
- Fiorucci AS 2020: To Grow or Defend? More on the Plant Cornelian Dilemma. *Plant Physiology* 183:437–438. DOI: 10.1104/pp.20.00497.
- Fox J, Weisberg S 2019: An {R} Companion to Applied Regression, Third Edition. *Thousand Oaks CA: Sage*. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion>.
- Gagliano M, Renton M, Depczynski M, Mancuso S 2014: Experience teaches plants to learn faster and forget slower in environments where it matters. *Oecologia* 175:63–72. DOI: 10.1007/s00442-013-2873-7.
- Gagliano M, Vyazovskiy VV, Borbély AA3, Grimonprez M, Depczynski M 2016: Learning by Association in Plants. *Scientific Reports* 6:38427. DOI: 10.1038/srep38427.
- Gagliano M, Abramson CI, Depczynski M 2018: Plants learn and remember: Lets get used to it. *Oecologia* 186:29–31. DOI: 10.1007/s00442-017-4029-7.
- Gilroy S, Bialasek M, Suzuki N, Górecka M, Devireddy AR, Karpinski S, Mittler R 2016: ROS, Calcium, and Electric Signals: Key Mediators of Rapid Systemic Signaling in Plants. *Plant Physiology* 171:1606–1615.

- Grémiaux A, Yokawa K, Mancuso S, Baluška F 2014: Plant anesthesia supports similarities between animals and plants. *Plant Signaling & Behavior* 9:1. DOI: 10.4161/psb.27886.
- Groom A 2012: *Mimosa pudica*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2012: e.T175208A20112058. DOI: 10.2305/IUCN.UK.2012.RLTS.T175208A20112058.en.
- Hagihara T, Mano H, Miura T, Hasebe M, Toyota M 2022: Calcium-mediated rapid movements defend against herbivorous insects in *Mimosa pudica*. *Nature Communications* 13:6412. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34106-x>.
- Hamilton JG, Zangerl AR, De Lucia EH, Berenbaum MR 2001: The carbon–nutrient balance hypothesis: its rise and fall. *Ecology Letters* 4:86–95. DOI:10.1046/j.1461-0248.2001.00192.x.
- Hartig F 2021: DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level/Mixed) Regression Models. R package version 0.4.4. <http://florianhartig.github.io/DHARMA>.
- Harvell CD 1990: The Ecology and Evolution of Inducible Defenses. *The Quarterly Review of Biology* 65:323–340.
- Hastie T 2020: gam: Generalized Additive Models. R package version 1.20. <https://CRAN.R-project.org/package=gam>.
- Herms DA, Mattson WJ 1992: The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology* 67:478–478.
- Hoddinott J 1977: Rates of translocation and photosynthesis in *Mimosa pudica* L. *New Phytologist* 79:269–272. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1977.tb02204.x.
- Holmes E, Gruenberg G 1965: Learning in plants. *Worm Runner's Digest* 7:9–12.
- Holmes E, Yost M 1966: “Behavioral” studies in the sensitive plant. *Worm Runner's Digest* 8:38–40.
- IUCN Global Invasive Species Database 2010: Species profile: *Mimosa pudica*. <http://www.iucngisd.org/gisd/speciesname/Mimosa+pudica>. Ladattu 21.11.2021.
- Jensen EL, Dill LM, Cahill Jr. JF 2011: Applying Behavioral-Ecological Theory to Plant Defense: Light-Dependent Movement in *Mimosa pudica* Suggests a Trade-Off between Predation Risk and Energetic Reward. *The American Naturalist* 177:377–381.
- Kaiser MI, Müller C 2021: What is an animal personality? *Biology & Philosophy* 36. DOI: 10.1007/s10539-020-09776-w.
- Karban R 2008: Plant behavior and communication. *Ecology Letters* 11:727–739. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2008.01183.x.
- Karban R, Orrock JL 2018: A judgment and decision-making model for plant behavior. *Ecology* 99:1909–1919.

- Lehtilä K, Boalt E 2004: The use and usefulness of artificial herbivory in plant-herbivore studies. *Ecological Studies* 173.
- Lenth RV 2021: emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.7.0. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>.
- Levitis DA, Lidicker WZ, Freund G 2009: Behavioural biologists don't agree on what constitutes behaviour. *Animal Behavior*. 1;78(1):103–110. DOI: 10.1016/j.anbehav.2009.03.018.
- Mangiafico S 2021: rcompanion: Functions to Support Extension Education Program Evaluation. R package version 2.4.1. <https://CRAN.R-project.org/package=rcompanion>.
- McNickle GG, Evans WD 2018: Toleration games: compensatory growth by plants in response to enemy attack is an evolutionarily stable strategy. *AoB PLANTS* 10:035. DOI: 10.1093/aobpla/ply035.
- Norris V, Ripoll C, Thellier M 2015: The theater management model of plant memory. *Plant Signaling & Behavior*. DOI: 10.4161/15592324.2014.976157.
- Parise AG, Gagliano M, Souza GM 2020: Extended cognition in plants: is it possible? *Plant Signaling & Behavior* 15. DOI: 10.1080/15592324.2019.1710661.
- Pfeffer W 1873: *Physiologische Untersuchungen*. W. Engelmann, Leipzig.
- R Core Team 2020: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org>.
- Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sanchez JC, Müller M 2011: pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics*. 12:77. DOI: 10.1186/1471-2105-12-77. <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/12/77>.
- Robinson D, Hayes A, Couch S 2021: broom: Convert Statistical Objects into Tidy Tibbles. R package version 0.7.10. <https://CRAN.R-project.org/package=broom>.
- Reed-Guy S, Gehris C, Shi M, Blumstein DT 2017: Sensitive plant (*Mimosa pudica*) hiding time depends on individual and state. *PeerJ*. DOI: 10.7717/peerj.3598 16/16.
- Sarquis A, Pestoni S, Cingolani AM, Harduindeguy NP 2019: Physiognomic changes in response to herbivory increase carbon allocation to roots in a temperate grassland of central Argentina. *Plant Ecology* 220:699–709. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11258-019-00945-w>.
- Sih A, Bell AM, Johnson JC, Ziemba RE 2004: Behavioral Syndromes: An Integrative Overview. *The Quarterly Review of Biology* 79. DOI: 10.1086/422893.
- Silvertown J 1998: Plant phenotypic plasticity and non-cognitive behaviour. *Trends in Ecology and Evolution* 13:255–256. DOI: 10.1016/S0169-5347(98)01398-6.
- Silvertown J, Gordon DM 1989: A Framework for Plant Behavior. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20:349–66. DOI: 10.1146/annurev.es.20.110189.002025.

Simon FW, Hodson CN2, Roitberg BD 2016: State dependence, personality, and plants: light-foraging decisions in *Mimosa pudica* (L.) *Ecology and Evolution* 6:6301–6309. DOI: 10.1002/ece3.2340.

Stoffel MA, Nakagawa S, Schielzeth H 2017: Repeatability estimation and variance decomposition by generalized linear mixed-effects models. *Methods in Ecology and Evolution* 2017 8:1639–1644. DOI: 10.1111/2041-210X.12797.

Tieteen termipankki: Eläintiede: käyttäytyminen.
<https://tieteentermipankki.fi/wiki/Eläintiede:käyttäytyminen>. Ladattu 18.11.2021.

Tollrian R, Harvell CD (toim.) 1999: *The ecology and evolution of inducible defences*. Princeton University Press. s. 306–323. 395 s.

Trewavas A 2009: What is plant behaviour? *Plant, Cell and Environment* 32:606–616. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2009.01929.x.

Trewavas A, Baluška F, Mancuso S, Calvo P 2020: Consciousness facilitates plant behavior. *Trends in Plant Science* 25:216–217. DOI: 10.1016/j.tplants.2019.12.015.

Volkov AG, Foster JC, Ashby TA, Walker RK, Johnsonn JJ, Markin VS 2010: *Mimosa pudica*: Electrical and mechanical stimulation of plant movements. *Plant, Cell & Environment* 33:163–73.

Volkov AG, Reedus J, Mitchell CM, Tuckett C, Volkova MI, Markin VS, Chua L 2014: Memory elements in the electrical network of *Mimosa pudica* L. *Plant Signaling & Behavior* 9. DOI: 10.4161/15592324.2014.982029.

Wickham H 2016: *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.

Wickham H, François R, Henry L, Müller K 2021: *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*. R package version 1.0.7. <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>.

Zeileis A, Hothorn T 2002: Diagnostic Checking in Regression Relationships. *R News* 2(3):7–10. <https://CRAN.R-project.org/doc/Rnews>.

Zust T, Agrawal AA 2017: Trade-Offs Between Plant Growth and Defense Against Insect Herbivory: An Emerging Mechanistic Synthesis. *Annual Review of Plant Biology* 68:513–534. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042916-040856.