

UNIVERZA V NOVI GORICI  
FAKULTETA ZA ZNANOSTI O OKOLJU

**VPLIV POZIVNEGA NAPEVA SAMICE NA  
ODGOVARJANJE SAMCA PRI VRSTI *NEZARA  
VIRIDULA* (L., 1758)**

DIPLOMSKO DELO

**Taja Žižek**

Mentor: prof. dr. Andrej Čokl

Nova Gorica, 2014

## IZJAVA

Izjavljam, da je diplomsko delo rezultat lastnega dela. Rezultati, ki so nastali v okviru skupnega raziskovanja z drugimi raziskovalci, ali so jih prispevali drugi raziskovalci, so eksplicitno prikazani oziroma navedeni v diplomskem delu.

Taja Žižek

## ZAHVALE

V prvi vrsti se zahvaljujem mentorju prof. dr. Andreju Čoklu, ki me je sprejel pod svoje mentorstvo ter s strokovnostjo in prijaznostjo vodil v pravo smer. Zahvaljujem se mu tudi za vse koristne nasvete pri delu.

Celotnemu osebju na Oddelku za entomologijo na Nacionalnem inštitutu za Biologijo v Ljubljani bi se želela zahvaliti za prijaznost in za prijetno delovno okolje. Hvala tudi vsem, ki ste v času moje odsotnosti poskrbeli za moje stenice.

Nenazadnje se zahvaljujem tudi vsem prijateljem, ki so mi pomagali pri oskrbi stenic in pri izvedbi diplomske naloge.

## POVZETEK

Rastlinska stenica vrste *Nezara viridula* (L., 1758) (Heteroptera: Pentatomidae) se je razširila po vsem svetu, razen na Arktiko in Antarktiko. Zaradi svoje pestre prehrane, ki vključuje eno- in dvokaličnice, uničuje veliko pomembnih kulturnih rastlin, kot denimo sojo, fižol, deteljo, paradižnik, bombaž, koruzo in radič. Najraje se hrani z reproduktivnimi deli rastlin (cvet, semena in plodovi), ki jih izsesa, ter tako uniči pridelek. Naravnih sovražnikov nima veliko, zatira pa se jo predvsem z insekticidi. Zaradi njene globalne razširjenosti in ekonomske pomembnosti sta njena biologija in komunikacija zelo dobro raziskani. Pri zeleni smrdljivki je dobro raziskana vibracijska komunikacija, ki ima ključno vlogo v paritvenem obdobju. Diplomsko delo obravnava vpliv pozivnega napeva samice, na odgovarjanje samca. Ugotoviti smo želeli pomen drugega tipa pozivnega napeva samice vrste *N. viridula* in njegov vpliv na obnašanje samca v času parjenja. Poskuse smo izvajali na svežih sadikah fižola, na katere smo postavili pare zelene smrdljivke. S pomočjo laserskega vibrometra smo registrirali njihove vibracijske signale, ki smo jih digitalizirane beležili na prenosnem računalniku. Kasneje smo z računalniškimi programi posnetke analizirali in jih grafično prikazali. Na podlagi zbranih rezultatov smo ugotovili, da pozivni napev samice na samca deluje odklonilno. Pri tem smo opazili, da se pri spremenjenem pozivnem samičjem napevu zmanjša pogostost napevov samca, in sicer tako pri pozivnem napevu (MCS), kakor tudi pri napevu dvorjenja (MCrS).

Ključne besede: *Nezara viridula*, spremenjen pozivni napev samice (MFSb), pozivni napev samca (MCS), napev dvorjenja (MCrS), pozivni napev samice (MFSa).

## SUMMARY

The green stinkbug *Nezara viridula* L. (Heteroptera: Pentatomidae) has spread to all continents except to Arctic and to Antarctic. Due to its varied diet, which includes both monocots and dicots, the green stinkbug has a profound effect on the destruction of many important cultural crops, such as soybeans, beans, clover, tomato, cotton, corn and chicory. It prefers to feed on the reproductive parts of plants (flower, seeds and fruits) and sucks the juice out of them, thus destroying the crop. It does not have many natural enemies and is mainly repressed using insecticides. The biology and the communication of the green stinkbug have been extensively investigated due to its global spread and economic importance. The green stinkbug's vibrational communication, being the key element of mating behaviour, has also been intensively studied. This work addresses the impact of the female calling song on the responding male. We aimed to determine the importance of the second type of the female calling song in *N. viridula* and its impact on male behaviour during mating. Experiments were carried out with pairs of green stinkbugs on fresh bean seedlings. Digitized laser vibrometer recorded vibratory signals were stored on the computer. Stored data were later analyzed and graphically displayed. Based on the accumulated results, we confirmed the hypothesis that the female calling song has a negative effect on the male. In doing so we noticed that the modified female calling song, reduces the frequency of male songs, both the calling song (MCS) and the courtship song (MCrS).

Key words: *Nezara viridula*, modified female calling song (MFSb), male calling song (MCS), male courtship song (MCrS), female calling song (MFSa).

## KAZALO VSEBINE

1	UVOD .....	1
1.1	Namen in cilji .....	2
1.2	Hipoteze .....	2
2	TEORETIČNE OSNOVE .....	3
2.1	Biologija vrste <i>Nezara viridula</i> .....	3
2.2	Komunikacija .....	5
2.3	Vibracijska komunikacija pri žuželkah .....	5
2.4	Organi za zaznavanje vibracijskih signalov .....	6
2.5	Prenos vibracijskih signalov preko rastlin.....	6
2.6	Vibracijska komunikacija pri stenici <i>Nezara viridula</i> (L.) (Pentatomidae: Pentatominae).....	7
3	PRAKTIČNI DEL.....	10
3.1	Materiali in metode .....	10
3.1.1	Poskusne živali.....	10
3.1.2	Rastline .....	11
3.1.3	Registracija in analiza napevov .....	12
4	REZULTATI IN RAZPRAVA.....	14
4.1	Karakteristike napevov .....	14
4.1.1	Pozivni napev samice - tip a (Female Calling Song – FCSa) .....	14
4.1.2	Pozivni napev samice - tip b (Female Calling Song – FCSb) .....	18
4.1.3	Pozivni napev samca – tip a (Male Calling Song – MCSa).....	21
4.1.4	Pozivni napev samca – tip b (Male Calling Song - MCSb) .....	25
4.1.5	Napev dvorjenja samca (Male Courtship Song – MCrS) .....	28
4.2	Vpliv zavrnitvenega napeva samice na samca.....	31
5	ZAKLJUČKI .....	38
5.1	Nadaljnje raziskave.....	38
6	VIRI .....	39

## KAZALO PREGLEDNIC

Tabela 1: Značilnosti vibracijskih signalov pri različnih vrstah napevov. Število osebkov = 4 (N=4); število signalov na osebek = 10 (n=10). .....	14
Tabela 2: Število parov, ki so prešli v kopulo, in število parov, ki niso kopulirali v obdobju snemanja od 22.1. 2014 do 21.2.2014 (prostoživeča generacija) in od 2.4.2014 do 11.4.2014 (laboratorijska generacija). .....	32

## KAZALO SLIK

Slika 1: Kopula samca in samice vrste <i>Nezara viridula</i> . .....	4
Slika 2: Shematični prikaz pozivnega napeva samice prvega tipa FCSa in drugega tipa FCSb. KP = kratek pulz; DP = dolg pulz (po Miklas N. in sod., 2000). .....	8
Slika 3: Slika napevov zelene smrdljivke: Slika prikazuje oscilogramе samca in samice zelene smrdljivke ( <i>Nezara viridula</i> ). Napevi so bili posneti na rastlini preko vibracijskega vibrometra. FCSa = pozivni napev samice, FCSb = spremenjeni pozivni napev samice, MCS a in b = pozivni napev samca in MCrS = samčev napev dvorjenja. ....	9
Slika 4: Razvrščanje stenic. ....	10
Slika 5: Heksagonalni sklopi jajčnih mas. ....	11
Slika 6: Modelni prikaz fiziološke sadike in postavitve laserskega vibrometra na rastlino. ....	12
Slika 7: Oscilogram pozivnega napeva samice (FCSa). ....	15
Slika 8: Oscilogram dueta pozivnega napeva samice (FCSa) in pozivnega napeva samca (MCS). ....	15
Slika 9: Povprečna dolžina in standardni odklon pulza pozivnega napeva samice (FCSa), pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	16
Slika 10: Povprečni ponavljalni čas in standardni odklon pozivnega napeva (FCSa) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	17
Slika 11: Povprečna dominantna frekvenca in standardni odklon pozivnega napeva samice (FCSa) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	18
Slika 12: Oscilogram pozivnega napeva samice (FCSb). ....	19
Slika 13: Povprečna dolžina pulza in standardni odklon pri pozivnem napevu samice (FCSb) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	19
Slika 14: Povprečni ponavljalni čas in standardni odklon pozivnega napeva samice (FCSb) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	20
Slika 15: Povprečna dominantna frekvenca in standardni odklon pozivnega napeva samice (FCSb), pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	21
Slika 16: Oscilogram pozivnega napeva samca (MCSa). ....	22
Slika 17: Povprečna dolžina pulza in standardni odklon pozivnega napeva samca (MCSa) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	23
Slika 18: Povprečni ponavljalni čas in standardni odklon pozivnega napeva samca (MCSa) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	24

Slika 19: Povprečna dominantna frekvenca in standardni odklon pozivnega napeva samca (MCSa) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	25
Slika 20: Oscilogram pozivnega napeva samca (MCSb).....	26
Slika 21: Povprečna dolžina pulza in standardni odklon pozivnega napeva samca (MCSb) pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	26
Slika 22: Povprečni ponavljalni čas in standardni odklon pozivnega napeva samca (MCSb, pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	27
Slika 23: Povprečna dominantna frekvenca in standardni odklon pozivnega napeva samca (MCSb) pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.....	28
Slika 24: Oscilogram samčevega napeva dvorjenja (MCRs).....	29
Slika 25: Povprečna dolžina pulza in standardni odklon napeva dvorjenja pri samcu (MCRs) pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju. ....	29
Slika 26: Povprečni ponavljalni čas in standardni odklon napeva MCRs pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.....	30
Slika 27: Povprečna dominantna frekvenca in standardni odklon samčevega napeva dvorjenja (MCRs) pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.....	31
Slika 28: Prikaz števila vibracijskih signalov MCSa napeva glede na oba pozivna napeva samice (FCSa in FCSb). V analizo so vključeni posentki, kjer je kasneje prišlo do kopulacije. N=4. ....	32
Slika 29: Primerjava števila signalov MCSa napeva pri različnih pozivnih napevih samice (FCSa in FCSb) glede na končni izid dueta. ....	33
Slika 30: Prikaz primera, ko samica s pozivnim napevom FCSb prekine samčev napev dvorjenja MCRs, vendar pri tem nadaljuje in dokonča svoj napev.....	34
Slika 31: Število signalov pozivnega napeva samice na en signal samčevega napeva dvorjenja MCRs. N=4. ....	34
Slika 32: Povprečno število signalov pozivnega napeva samice pri obeh samcih. N (število osebkov) = 4.....	35
Slika 33: Primerjava v številu signalov pozivnih napevov samic (FCSa in FCSb), ki prekinejo samčev napev dvorjenja, glede na končni izid dueta. ....	35



## 1 UVOD

Vrsta *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) spada v družino Pentatomidae, ki je ena večjih družin znotraj podreda Heteroptera (Virant-Doberlet M. in Čokl A., 2004). Vrsta, s slovenskim imenom zelena smrdljivka, se je v zadnjih sto letih kot vsejedi škodljivec razširila iz vzhodne Afrike po vsem svetu, razen na Arktiko in Antarktiko (Čokl A., Virant-Doberlet M. in McDowell A., 1998).

Komunikacija (sporazumevanje) je pomembna pri uspehu vrste v okolju, saj igra pomembno vlogo pri razmnoževanju. Da je komunikacija uspešna, morajo signali potovati čim dlje, ne da bi izgubili svojo informacijsko vrednost zaradi prenosa po mediju. Majhne žuželke, ki lahko učinkovito proizvajajo le visokofrekvenčne zvočne signale, se z njimi ne morejo sporazumevati v rastlinskem okolju, ki te signale močno duši. Zato se večina majhnih žuželk sporazumeva z nizkofrekvenčnimi vibracijskimi signali, ki se učinkovito prevajajo po rastlinah oz. po drugih podlagah (Virant-Doberlet M. in Čokl A., 2004; Cocco R.B. in Rodriguez R.L., 2005).

Napevi so vrstno specifični in omogočajo, da se partnerji najdejo in med seboj prepoznajo (Čokl A. in Virant-Doberlet M., 2003). S pomočjo pozivnih napevov se žuželke zberejo na istem mestu, z napevi dvorjenja pa se med seboj prepoznajo. Pozivni napevi in napevi dvorjenja se med seboj razlikujejo po časovnih in frekvenčnih lastnostih. Vibracije podlage zaznavajo z različnimi mehanoreceptorji na in v nogah ter na telesu (Čokl A. in sod., 2005).

Učinkovitost sporazumevanja z vibracijskimi signali je odvisna od razdalje med oddajnikom in sprejemnikom, od mehanskih lastnosti podlage (medija), jakosti oddanih signalov ter občutljivosti senzoričnega sistema in od abiotskega (veter in dež) ter biotskega (prisotnost drugih osebkov) šuma okolja (Cocco R.B. in Rodriguez R.L., 2005). Mehanski signali potujejo po različnih medijih, tako da na podlagi tega ločimo sporazumevanje po zraku, po trdni podlagi in po vodi (Greenfield D. in Lonsdale D., 2002). Glavni medij prenosa vibracijskih signalov pri rastlinskih stenicah so predvsem rastline, ki omogočajo komunikacijo med oddajnikom do sprejemnikom s pomočjo upogibnih valov (Michelsen A. in sod., 1982; Markl H., 1983; Cocco R.B. in sod., 2000; Barth F.G., 2002). Upogibni valovi se širijo po rastlini s slabim dušenjem in zaradi disperzne narave njihova hitrost narašča z naraščajočo frekvenco. Rastlina je po eni strani ugoden medij za prenos signalov, saj predstavlja relativno enostavno pot in onemogoča difuzijo. Po drugi strani pa lahko zaradi mehanskih lastnosti rastline med potovanjem prihaja do sprememb frekvenčnih, časovnih in amplitudnih lastnosti signala. Temu se morajo žuželke prilagoditi tako na nivoju oddajanja, kot sprejemanja signalov (Michelsen A. in sod., 1982).

*Nezara viridula* je modelna vrsta za proučevanje vibracijske komunikacije pri rastlinskih stenicah (Čokl A., 2006). Primerna je zaradi dobrega poznavanja njene biologije, relativno enostavnega gojenja v laboratoriju in dobro raziskane zgradbe in delovanja receptorjev (Michelsen A. in sod., 1982; Čokl A., 1983). Je rastlinski polifagen kozmopolitski škodljivec (Todd J.W., 1989), ki povzroča škodo zaradi mehanskega in kemičnega vpliva na poljščinah (Panizzi A.R., 1997).

Samci in samice proizvajajo vibracijske napeve, ki se pri pozivanju in dvorjenju pogosto izmenjujejo v duetu. Z vibracijami zadka proizvajajo nizkofrekvenčne in ozkopasovne vibracijske signale, katerih dominantna frekvenca leži med 80 in 120 Hz, višji harmonični toni pa običajno dosežajo vrednosti pod 500 Hz (Virant-Doberlet M. in Čokl

A., 2004; Čokl A., 2006). Nizkofrekvenčni signali se preko rastlin širijo z majhnim dušenjem in so uporabni za komunikacijo na daljše razdalje v okviru iste rastline (Virant-Doberlet M. in Čokl A., 2004; Čokl A. in sod., 2005).

## **1.1 Namen in cilji**

Ker je zelena smrdljivka ekonomsko pomembna škodljiva vrsta zaradi prehranjevanja na različnih kulturnih rastlinah, nam je o njeni splošni biologiji znanega veliko, na primer značilnosti njene razširjenosti, prehrane, življenjskega cikla, njenih plenilcev, itd (Schaefer C.W. in Panizzi A.R., 2000). Čeprav je dobro raziskano tudi njeno sporazumevanje v času parjenja (Čokl A., 2006), ostajajo odprta še mnoga vprašanja povezana s tem pojavom. Namen raziskave je ugotoviti zakaj samica *N. viridula* oddaja pozivni napev drugega tipa in kakšno vlogo igra v procesu sporazumevanja s samcem. Z raziskavo bi lahko zapolnili manjkajočo, nepojasnjeno vrzel pri razumevanju vibracijske komunikacije pri zeleni smrdljivki ter odprli številna nova vprašanja za nadaljnje raziskave. Z novimi raziskavami bi nato lahko prišli do boljšega razumevanja in poznavanja vrste.

## **1.2 Hipoteze**

V svojem delu želim potrditi ali zavreči naslednji hipotezi:

- 1/ Drugi tip pozivnega napeva samice deluje inhibitorno na vibracijsko odzivanje samca.
- 2/ Drugi tip pozivnega napeva samice spremeni vedenje samca.

## 2 TEORETIČNE OSNOVE

### 2.1 Biologija vrste *Nezara viridula*

Zelena smrdljivka, *N. viridula* je rastlinski polifagen kozmopolitski škodljivec (Todd J.W., 1989), ki se je v zadnjih sto letih razširil na vse celine, razen na Arktiko in Antarktiko. Zaradi sesanja rastlin pride do poškodb rastlinskih tkiv, predvsem na poljščinah (Panizzi A.R., 1997).

Vrsta izvira iz Etiopije, od koder se je razširila po celem svetu (Kavar T. in sod., 2006). Še vedno se intenzivno širi na nova področja, vzrok česar je najverjetneje globalno segrevanje (Kiritani K., 2011). Danes se predstavniki te vrste pojavljajo v tropskem, subtropskem in zmernem pasu (Todd J.W., 1989; Schaefer C.W. in Panizzi A.R., 2000). Pri nas jo lahko zasledimo od obale preko Kraškega roba vse do Nove Gorice (Gogala M., 2006). V zadnjih letih so zelene smrdljivke našli tudi v Ljubljani (Čokl A., neobjavljeni rezultati).

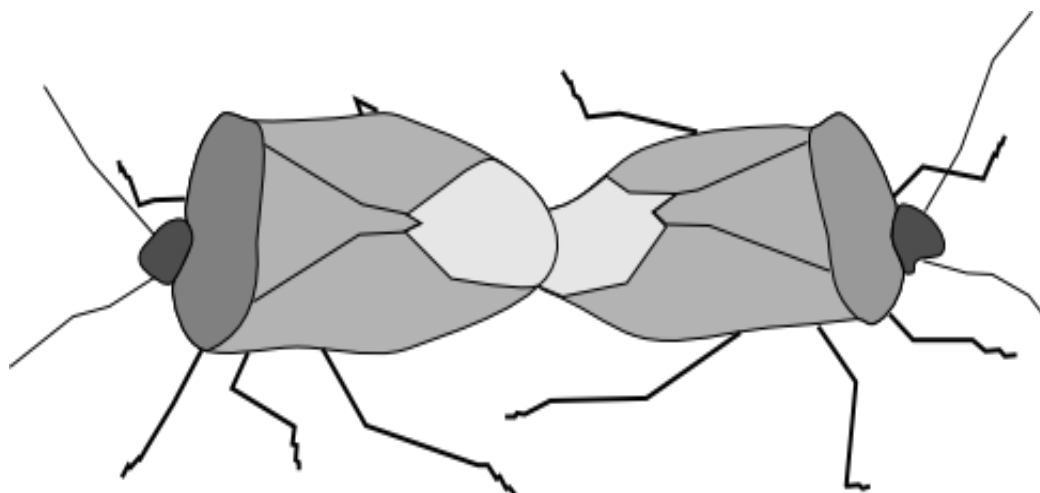
Stenice (Heteroptera) so dnevne živali, ki imajo zelo dobro razvite oči (Schaefer C.W. in Panizzi A.R., 2000). Prvi par kril so hemielitre z otrdelim korijem in mehko membrano, drugi par kril pa je sestavljen iz tanke membrane. Na pronotumu je velika ščitasta ploščica, na mezotoraksu pa trikoten ščitek (Prevorčnik S., 2010). Za stenice je značilen kljunec, s katerim prebodejo površino rastline in iz nje izsesavajo utekočinjena tkiva ter po drugem kanalu kljunca v rastlino vbrizgajo slino. Družina Pentatomidae (ščitaste stenice), med katere spada tudi *N. viridula*, se najraje hrani z reproduktivnimi deli rastline (cvet, semena in plodovi), ki jih popolnoma izsesa ter tako uniči pridelek. Predstavniki družine so uspešni škodljivci, saj se s svojim načinom hranjenja izogonejo zunanji rastlinski obrambi (trni, bodice) in mnogim pesticidom, ki se običajno zadržujejo na površini rastline (Schaefer C.W. in Panizzi A.R., 2000).

Rastline, na katerih se škodlivec razvija, hrani in razmnožuje, so enokaličnice in dvokaličnice iz več kot 30-ih različnih družin. To so na primer soja, fižol, detelja, paradižnik, bombaž, koruza in radič (Todd J.W., 1989; Panizzi A.R., 1997). Vrsta je ekonomsko pomemben škodljivec, ki najraje gostuje na soji, metuljnicah in stročnicah (Panizzi A.R., 1997). Poškodbe, ki jih povzroča, so mehanskega in kemičnega izvora, ker posledično izpostavi poljščino rastlinskim patogenom (Panizzi A.R., 1997), to pa vpliva na rast in razvoj rastline (McPherson J.E. in McPherson R.M., 2000). *Nezara viridula* je zaradi velikih površin soje, na kateri zaključijo četrto in peto razvojno stopnjo, najbolj razširjena v Južni Ameriki (Schaefer C.W. in Panizzi A.R., 2000).

Zelena smrdljivka se v tropskih in subtropskih predelih razmnožuje celo leto (Michieli Š. in Žener B., 1968), zaradi česar poznamo tam približno štiri do pet generacij na leto (Todd J.W., 1989; Kiritani K., 2006), medtem ko v zmernem pasu zimski del leta preživi v obliki mirujočega stadija (diapavza) (Michieli Š. in Žener B., 1968) in ima le dve do štiri generacije na leto (Todd J.W., 1989). Stenice se v diapavzi prebarvajo iz zelene v rjavo, ki ima kriptično funkcijo v času, ko prezimuje pod rastlinskim opadom, lubjem, kamenjem ali v človeških bivališčih (Panizzi A.R. in Hirose E., 1995).

Spomladi, ko se temperature v zmernem pasu dvignejo, se iz zimskega spanja prebudijo tudi zelene smrdljivke. Iskati začnejo hrano in se po sedmih do desetih dneh (pri samcih) začnejo pariti. Samice so pripravljene šele po enaindvajsetih dneh (Brennan B.M. in sod., 1977). Parjenje običajno poteka na kateri od gostiteljskih rastlin,

kjer se zberejo samci in samice. Samica začne oddajati pozivne vibracijske signale zaradi prisotnosti samčevih kemijskih signalov (feromonov) (Zgonik V. in Čokl A., 2014). Samičin pozivni napev sproži pri samcu oddajanje pozivnega napeva in/ali napeva dvorjenja, iskanje samice (Ota D. in Čokl A., 1991; Čokl A., 2006) in zvišano količino oddanega feromona (Miklas N. in sod., 2001). Duetu samičinega (FCSa) in samčevega (MCS) pozivnega napeva sledi oddajanje samčevega napeva dvorjenja (MCS), ki ga sproži FCSa (Čokl A. in Virant-Doberlet M., 2003). Samica s svojim pozivnim napevom privabi samca, ta pristopi do nje, nato pa preideta v fazo paritvenega vedenja, ki vključuje tudi anteniranje (otipavanje z antenami), tremulacijo (nihanje celotnega telesa), dvigovanje abdomna (zadka), poskus kopulacije (združitev genitalij) in kopulacija (Čokl A. in sod., 2000). Samec najprej pristopi do samice in se jo začne z antenami dotikati po glavi in po hrbtu. Samica prav tako polaga svoje antene na samca, to pa pri njem sproži značilno paritveno vedenje v obliki tremulacije zadka. Samec nato z glavo suva samico pod zadek, za kopulacijo motivirana samica dvigne zadek. Istočasno se obrača tudi samec in s svojim zadkom poskuša poiskati povezavo z genitalijami. Samec in samica imata zadke dvignjene od tal v obliki črke A. Po uspešni povezavi sledi kopulacija in nato oba naenkrat spustita svoje zadke v vodoravno lego (Čokl A., 2006). Med kopulacijo, ki lahko traja tudi več dni (McLain D.K., 1980), se sprehajata, tako da eden od para hodi naprej, medtem ko mu drugi sledi z vzvratno hojo (Slika 1).



**Slika 1: Kopula samca in samice vrste *Nezara viridula*.**

Po parjenju samica odloži jajca na različne površine, v naravi so to najpogosteje spodnje strani listov gostiteljskih rastlin. Jajčeca so zlepljena v rumene poligonalne skupke in posamezna jajčna masa vsebuje od 80 do 120 jajčec, katerih razvoj običajno traja štiri do devet dni v poletnem času. Med dozorevanjem se skupki iz rumene barve postopoma obarvajo v rdečo barvo.

Za rastlinske stenice je značilna nepopolna preobrazba, zato razvoj od jajčeca do odraslega osebka poteka preko petih mladostnih (nimfalnih) stadijev in lahko traja od 24 - 60 dni (Todd J.W., 1989). Izleganje je odvisno od temperature, dolžine dneva (fotoperiode) in od hrane ter poteka sinhrono, tako da se vse nimfe v jajčni masi izležejo približno istočasno (Lockwood J.A. in Story R.N., 1987).

Nimfe prvega stadija po izvalitvi se ne selijo in ostajajo na praznih jajčnih masah ter se ne hranijo. Po prvi levitvi se začnejo hraniti z rastlinskim sokom in se le nekoliko premikajo po listu. V prvih treh stadijih se nimfe držijo skupaj in izločajo svojo smradno

tekočino, ki je značilna za zelene smrdljivke, in se tako zavarujejo pred mravljami. V tretjem stadiju so nimfe že dovolj velike, da se lahko premikajo in se ne zadržujejo več v skupkih. Nimfe v petem (zadnjem) stadiju tako kot odrasle povzročijo veliko škode, saj potrebujejo vedno več hrane za svoj dokončen razvoj. Po zadnji levitvi se preobrazijo v odraslo žuželko in odletijo na drugo rastlino. Življenjska doba odraslih osebkov je približno tri tedne v poletnih mesecih, medtem ko v času zimskega mirovanja živijo tudi nekaj mesecev (Todd J.W., 1989).

Za zatiranje omenjenega škodljivca se uporablja kar nekaj različnih metod, vendar vse temeljijo na uporabi nevrotoksičnih pesticidov, ki vsebujejo številne karbamate, organofosfate in piretroide. Problematično je tudi dejstvo, da so stenice večinoma odporne na pesticide, tako da jih lahko uspešno nadzorujemo le z nekaterimi insekticidi (Panizzi A.R. in sod., 2000), kar pa ni ugodno za netarčne organizme (Horowitz A.R. in sod., 2009). Da bi se izognili tem neugodnim rešitvam se v zadnjem času veliko raziskuje in posega po alternativnih metodah za nadzor nad to škodljivo vrsto (Čokl A. in Millar J.G., 2009).

Naravni sovražniki *N. viridula* so različni členonožci. Večina pleni jajčne mase, najbolj znani plenilec jajc pa so ognjene mravlje *Solenopsis invicta* (Buren, 1972), ki parazitirajo tudi mlade nimfe in jajčni parazitoid *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858), katerega glavna gostiteljica je zelena smrdljivka. Pomembna parazita sta še muhi tahinidi in sicer *Trichopoda pennipes* (Fabricius, 1781) in *Trichopoda pilipes* (Fabricius, 1805), ki zajedata četrti in peti stadij nimf ter odrasle osebkove (Schaefer C.W. in Panizzi A.R., 2000).

## 2.2 Komunikacija

Komunikacija je po najenostavnejši opredelitvi izmenjava informacij med oddajnikom in sprejemnikom s pomočjo signalov različnih modalitet (Bradbury J.W. in Vehrencamp S.L., 1998). Oddajnik odda signal z določeno informacijo preko različnih medijev. Da je komunikacija uspešna, morajo signali potovati čim dlje, ne da bi pri prenosu preko medija izgubili svoje informacijske vrednosti (Virant-Doberlet M. in Čokl A., 2004). Sprejemnik se na podlagi sprejetega signala odloči, kako odgovoriti.

Komunikacija je verjetno eden najstarejših procesov, saj med seboj komunicirajo molekule, celice, organi in organizmi. Komunikacija vzdržuje združbe pri socialnih živalih in omogoča reprodukcijo pri solitarnih. Oddajnik s pomočjo signalov med drugim sporoča svoj položaj v prostoru, svojo identiteto, svoje fiziološko stanje in razpoloženje (npr. dominantnost, napadalnost). Majhne žuželke, ki lahko proizvajajo visokofrekvenčne zvočne signale, teh ne morejo uporabljati za sporazumevanje v rastlinskem okolju, ki take signale močno duši. Zaradi svoje velikosti je oddajanje nizkofrekvenčnih zvočnih signalov neučinkovito (Markl H., 1983). Zato se večina majhnih žuželk poslužuje komunikacije preko podlage, ki je v večini primerov rastlina (Virant-Doberlet M. in Čokl A., 2004; Cocroft R.B. in Rodriguez R.L., 2005).

## 2.3 Vibracijska komunikacija pri žuželkah

Komunikacija preko podlage je za razliko od prenosa zvoka po zraku manj raziskana. Znanstveniki so vseeno ugotovili, da imajo vibracijski signali pomembno vlogo pri

žuželkah. Signali so med drugim povezani tudi s spolnim, alarmnim in obrambnim vedenjem (Virant-Doberlet M. in Čokl A., 2004).

Oglašanje pri stenicah iz poddružine Geocorisae so opisali že pred tristo leti (Ray J., 1710), konec dvajsetega stoletja pa so začeli podrobneje raziskovati še ostale skupine stenic, med njimi tudi različne vrste poddružine Pentatominae (Čokl A., 2008). Najprej so vibracije registrirali kot zvok (Čokl A. in sod., 1978), kasneje pa s pomočjo laserskega vibrometra ali drugih kontaktnih in nekontaktnih metod registracije.

Mehanski signali potujejo po različnih medijih, zato ločimo sporazumevanje po zraku, po trdni podlagi in po vodi ali pa po njeni površini (Greenfield D. in Lonsdale D., 2002). Med različnimi mehanizmi za proizvodnjo vibracijskih signalov kot so bobnanje, stridulacija (drgnjenje posameznih delov telesa med seboj) in tremulacija (nihanje celotnega telesa) sta pri žuželkah najbolj razširjena bobnanje in nihanje celotnega telesa ali pa le njegovega dela (Ewing A.W., 1989). Mehanizem bobnanja vsebuje udarjanje različnih delov telesa neposredno po podlagi. Signali, ki nastanejo z nihanjem, so posledica različnih ritmičnih gibov, kot so guganje, nihanje in trzajoči gibi celega telesa, ki se na podlago prenesejo preko vseh šestih nog. Žuželke lahko vibracije podlage vzbudijo tudi s timbalnim mehanizmom ter s stridulacijo (Ewing A.W., 1989; Virant-Doberlet M. in Čokl A., 2003, 2004; Hill P.S., 2008). Medtem ko z vibracijo telesa proizvajajo signale frekvenc praviloma pod 200 Hz, so signali, nastali z bobnanjem ali stridulacijo, širokopasovni in višjefrekvenčni.

## **2.4 Organi za zaznavanje vibracijskih signalov**

Signali se lahko med prenosom skozi podlago spremenijo. Spremembe frekvenčnih, amplitudnih in časovnih lastnosti se večajo z naraščajočo razdaljo od oddajnika do sprejemnika. Za sprejemanje relevantne informacije iz tako spremenjenih signalov morajo biti senzorični organi temu primerno dovolj občutljivi. Organ mora mehanski dražljaj spremeniti v nevronska koda, ki se nato prenese po CZS (centralno živčni sistem) v možgane, kjer pride do ustreznega povelja za reakcijo (Čokl A. in sod., 2000b; Barth F.G., 2002).

Najbolje raziskani mehanoreceptorni organi za zaznavanje vibracij so različne kutikularne strukture (mehanosenzorne čutilne dlake in kampaniformne sensile) in subkutikularne strukture (horodotonalni organi), med katerimi je za zaznavanje vibracijskih signalov najbolj specializiran subgenualni organ. Nahaja se v proksimalnem delu tibije (golenica) v vsaki od šestih nog (Čokl A. in Virant-Doberlet M., 2003; Yack J.E., 2004; Virant-Doberlet M. in Čokl A., 2004; Hill P.S., 2008). Subgenualni organ zelene smrdljivke zaznava premike pri optimalni frekvenci med 150 in 1200 Hz (Čokl 1983).

## **2.5 Prenos vibracijskih signalov preko rastlin**

Rastline za večino žuželk predstavljajo glavno življenjsko okolje, saj se na njih prehranjujejo in razmnožujejo (Schaefer C.W. in Panizzi A.R., 2000). Žuželke za prenos vibracijskih signalov uporabljajo vse dele rastline (liste, steblo, korenine). Komunikacijska razdalja je omejena z merami rastline in lahko presega nekaj metrov (od dva do štiri) (Cocroft R.B. in Rodriguez R.L., 2005). Rastlina je ugoden medij za prenos signalov, vendar pa zaradi mehanskih lastnosti rastline, med potovanjem

prihaja do sprememb vibracijskega signala v frekvenčnih in časovnih lastnostih in tudi do sprememb amplitude. Temu se morajo žuželke prilagoditi na nivoju oddajanja in sprejemanja signalov. Žuželke za sporazumevanje po rastlini uporabljajo upogibne valove (Michelsen A. in sod., 1982). Upogibni valovi se širijo po rastlini s slabim dušenjem in zaradi disperzne narave njihova nizka hitrost narašča z naraščajočo frekvenco.

Na prenos vibracij vplivajo tudi strukturne komponente rastline. Pri prenosu vibracij po različnih delih rastline prihaja do dušenja. Slednje je največje na prehodu med pecljem in stebлом. Signali se najmanj dušijo na steblo, listnih žilah in listnih ploskvah (Čokl A. in sod., 2007; Čokl A., 2008). Deli rastline delujejo kot nizkopasovni filter, ki optimalno prepušča vibracije nizkih frekvenc in močno duši signale frekvenc nad 500 Hz (Čokl A. in sod., 2005).

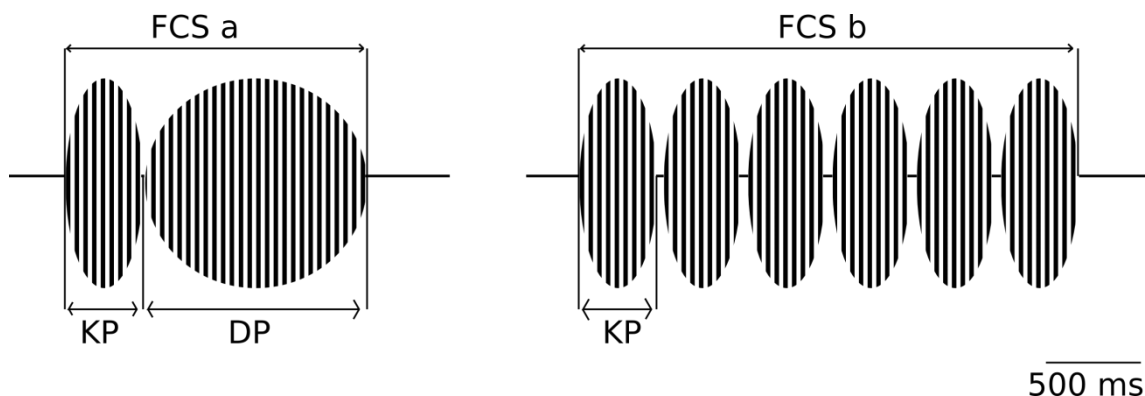
Vibracijska komunikacija pri stenica iz poddružine Pentatominae je dokaj dobro raziskana in ima pri sporazumevanju ključno vlogo v obdobju razmnoževanja, saj omogoča, da se partnerja na rastlini najdetaj, spoznata in uspešno parita (Čokl A. in Virant-Doberlet M., 2003; Gogala M., 2006; Čokl A., 2008). Osebkaj oddajajo vrstno in spolno specifične signale z vibriranjem zadka. Poddružina Pentatominae ima specializirano strukturo, ki jo tvorita prvi in drugi abdominalni tergaj, na katerega se vežejo nasprotno vpete mišice, ki sodelujejo pri proizvodnji vibracij (Kuštora V., 1989). Njihova značilnost je, da imajo vsi komunikacijsko-vibracijski signali dominantno frekvenco okoli 100 Hz, njihovi harmonični toni pa ne presegajo 500 Hz. (Čokl A. in Virant-Doberlet M., 2003). Vibracijski napevi različnih vrst in spolov se med seboj razlikujejo po času (dolžina pulza, ponavljalni čas), frekvenci (dominantna frekvenca) in amplitudi (stopnja amplitudne modulacije). Glede na lastnosti zato ločimo pozivni napev samca in samice za iskanje partnerja in napev dvorjenja za prepoznavanje vrste in pripravo na parjenje. Pri samcih poznamo še rivalni napev, pri samicah pa so opisali tudi zavrnitveni napev (Čokl A. in sod., 2000b).

Pri drugih vrstah stenic poznamo tudi ostale načine proizvodnje vibracijskih signalov, kot sta denimo tremulacija in bobnanje (Žunič A. in sod., 2011). Signali proizvedeni na ta način niso vrstno specifični, saj je njihova frekvenčna in časovna sestava variabilna in ni značilna za posamezno vrsto (Žunič A. in sod., 2008; Čokl A. in sod., 2011). Poleg kopenskih stenic, katerih komunikacija je omejena samo na rastline in drugo trdno podlago, poznamo še vodne stenice, ki zaznavajo vibracije preko zračnih mehurčkov, s katerimi dihajo (Theiß J., 1982).

## **2.6 Vibracijska komunikacija pri stenici *Nezara viridula* (L.) (Pentatomidae: Pentatominae)**

*Nezara viridula* spada v družino Pentatomidae, v okviru katere je opisanih preko 4000 vrst in je kot taka ena večjih družin med Heteropteri (Virant-Doberlet M. in Čokl A., 2004). Vibracijska komunikacija ima ključno vlogo v paritvenem obdobju zelene smrdljivke (Čokl A., 2008). Samec in samica na daljše razdalje komunicirata s pomočjo kemičnih in vibracijskih signalov, na kratke razdalje pa poleg vibracijske komunikacije uporabljata tudi vid in tip. Samec z vrstno specifičnimi feromoni omogoči združevanje osebkov na isti rastlini (Borges M. in sod., 1987), kjer se lahko začne izmenjava vibracijskih signalov. Samec in samica proizvajata pozivni napev, napev dvorjenja, samec lahko oddaja tudi rivalni napev in samica napev zavnitve (Čokl A., 2008). V času alterniranja (dueta) je samica ves čas na istem mestu, od koder oddaja pozivni

napev (Ota D. in Čokl A., 1991; Čokl A. in sod. 1999, 2000a). Pozivni napev samice je sestavljen iz zaporedja enakomerno ponavljajočih se pulzov oz. pulznih vlakov (Slika 3), kar pri samcu sproži paritveno zanimanje in aktivno lociranje položaja samice. Samec pri iskanju sočasno oddaja pozivni napev in napev dvorjenja (Slika 3) ter tako vzdržuje petje samice (Ota D. in Čokl A., 1991; Čokl A. in sod. 1999). Ko se samec približa samici, začne samica, ki je pripravljena na parjenje, oddajati napev dvorjenja (Borges M. in sod., 1987).

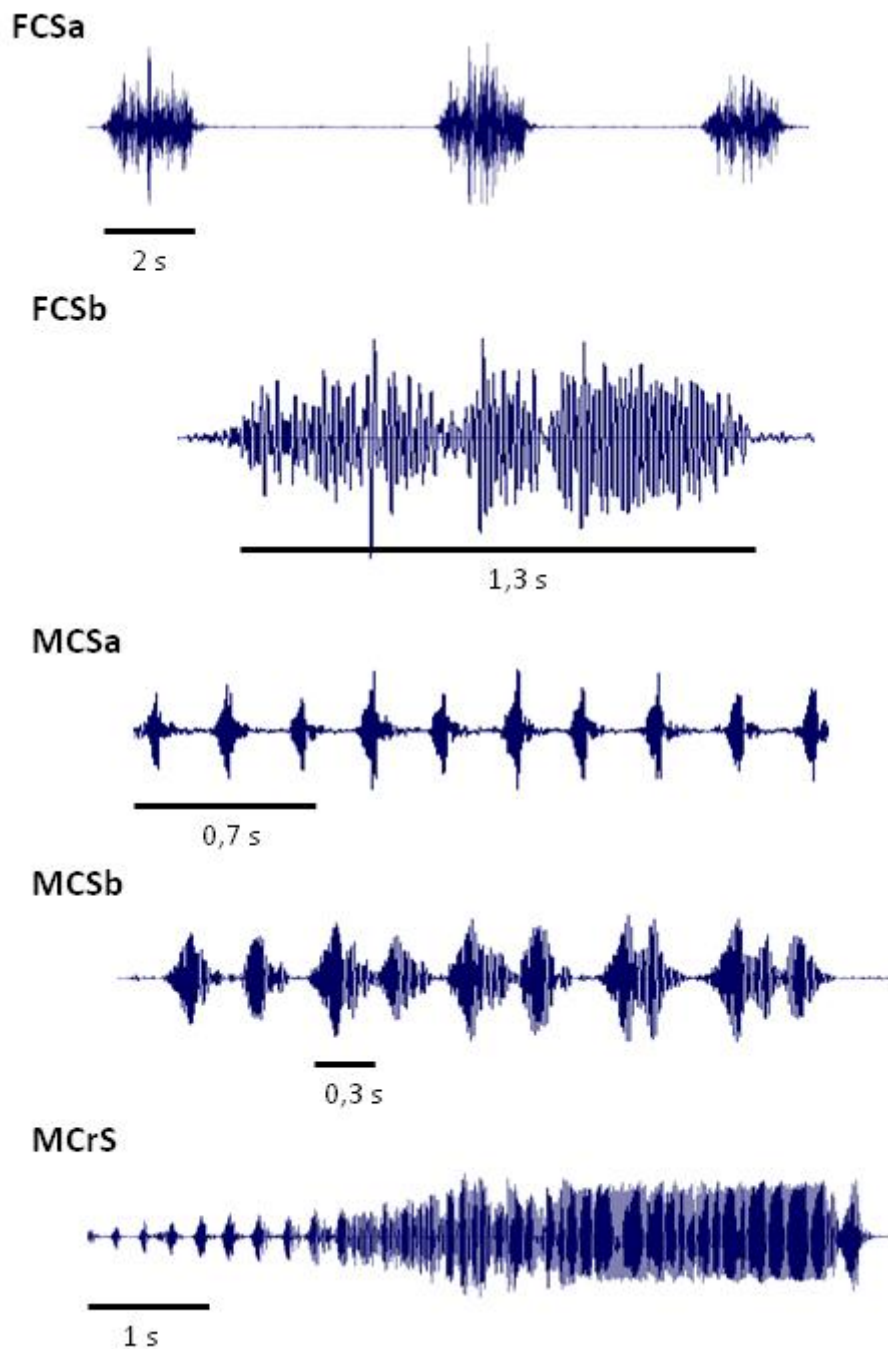


**Slika 2: Shematični prikaz pozivnega napeva samice prvega tipa FCSa in drugega tipa FCSb. KP = kratek pulz; DP = dolg pulz (po Miklas N. in sod., 2000).**

Pri samici poznamo dva tipa pozivnega napeva (FCS – female calling song) (Slika 2). Prvi tip (FCSa) je najpogostejši in ga sestavlja redosled redno se ponavljajočih pulzev, za drugi tip (FCSb) pa je značilno redno ponavljanje pulznih vlakov. Pri samcu ločimo pozivni napev MCS (male calling song) in napev dvorjenja MCrS (male courtship song), medtem ko napev dvorjenja pri samici opišemo kot napev FCrS (female courtship song). Poleg pozivnega napeva in napeva dvorjenja pri samcu poznamo še rivalni napev - MRS (male rival song), ki ga samec oddaja, če več samcev dvori isti samici, in še samičin zavrnitveni napev FRS (female repelling song), ki ga oddaja, kadar ni pripravljena na parjenje (Čokl A. in sod., 2000a).

Za vse do sedaj opisane napeve vrste *N. viridula* (Slika 3) je značilno, da so nizkofrekvenčni in ozkopasovni. Njihova dominantna frekvenca se giblje med 90 in 120 Hz. Napeve med sabo ločimo po časovnih in amplitudnih lastnostih: dolžina pulza, ponavljalni čas intervala, dominantna frekvenca, višji harmonični toni in frekvenčna modulacija. (Čokl A. in sod, 2000a,b; Čokl A., 2008).





**Slika 3: Slika napevov zelene smrdljivke: Slika prikazuje oscilograme samca in samice zelene smrdljivke (*Nezara viridula*). Napevi so bili posneti na rastlini preko vibracijskega vibrometra. FCSa = pozivni napev samice, FCSb = spremenjeni pozivni napev samice, MCS a in b = pozivni napev samca in MCrS = samčev napev dvorjenja.**

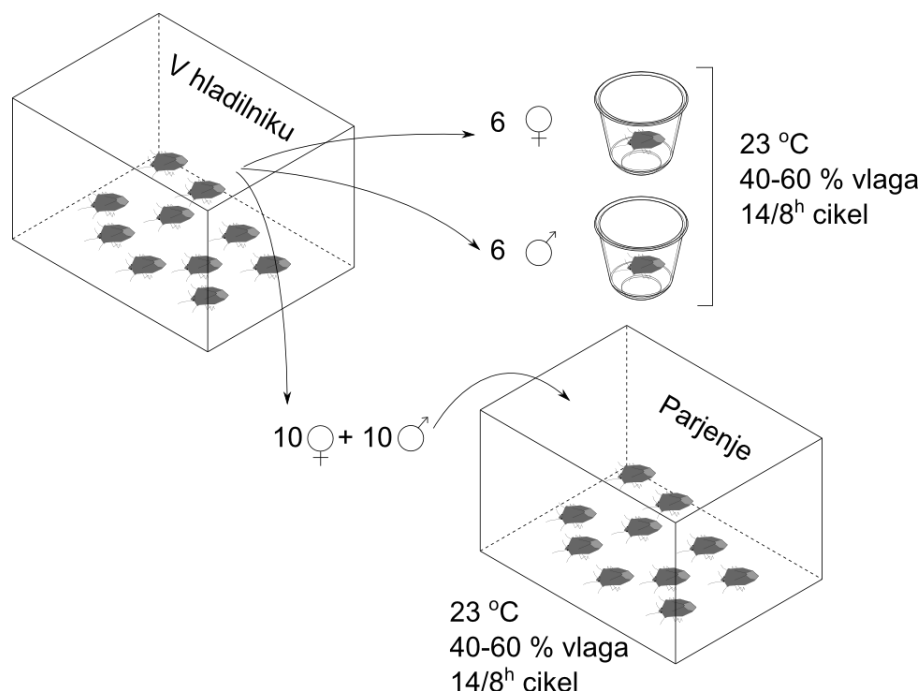
### 3 PRAKTIČNI DEL

#### 3.1 Materiali in metode

##### 3.1.1 Poskusne živali

Za poskuse smo uporabili spolno zrele prostoživeče stenice in njih prvo generacijo vrste zelena smrdljivka (*Nezara viridula* L.), ki smo jih nabrali jeseni, in sicer konec oktobra na slovenski obali Jadranskega morja v okolici Kopra. Stenice smo v laboratoriju ločili po spolu in jih dali v dva ločena terarija (30 x 40 x 25 cm), napolnjena z bršljanom. Terarij s stenicami smo postavili v temen hladilnik na temperaturo 8 °C. Tako smo jih pripravili do tega, da so prešle v obdobje mirujočega stanja - diapavzo.

Januarja (6.1.2014) smo jih vzeli iz hladilnika in v dva plastična lončka ločeno dali šest samic in šest samcev. Poleg tega smo v skupni terarij (30 x 40 x 25 cm) v parjenje dali še deset samcev in deset samic (Slika 4). Po diapavzi so stenice živele pod pogoji dnevno - nočnega cikla, in sicer šestnajst ur svetlobe in osem ur teme, pri temperaturi 22 - 25°C in pri 40 - 60 % relativni vlažnosti. Hranili smo jih s svežim stročjim fižolom (*Phaseolus vulgaris* L.), z arašidi (*Arachis hypogaea* L.), s poganjki pritličnega fižola in s kalčki lucerne (*Glycine max* L.).

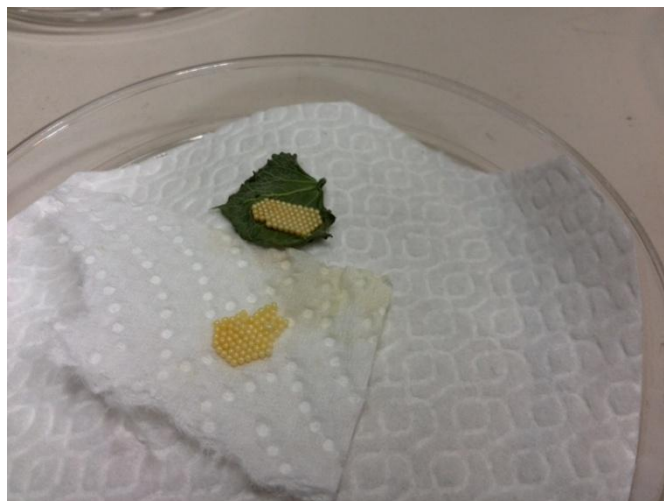


**Slika 4: Razvrščanje stenic.**

Po štirinajstih dneh so bile stenice pripravljene na parjenje. Samci potrebujejo 10 - 14 dni, samice pa 14 - 20 dni (Brennan B.M. in sod., 1977).

Prve jajčne mase so samice odložile približno mesec dni za tem, ko smo jih vzeli iz hladilnika. Jajca so odlagale na različne skrite površine, in sicer pod liste fižola, pod

brisačami in na dno terarija. Jajčne mase smo redno pobirali iz terarija in jih polagali v petrijevke. Dno petrijevke smo pokrili s filter papirjem, jajčno maso pa položili na list fižola ali na košček stročjega fižola (Slika 5). Petrijevko smo označili z datumom in imenom generacije, v našem primeru je bila to generacija F1 (prva hčerinska populacija vzgojena v laboratoriju).

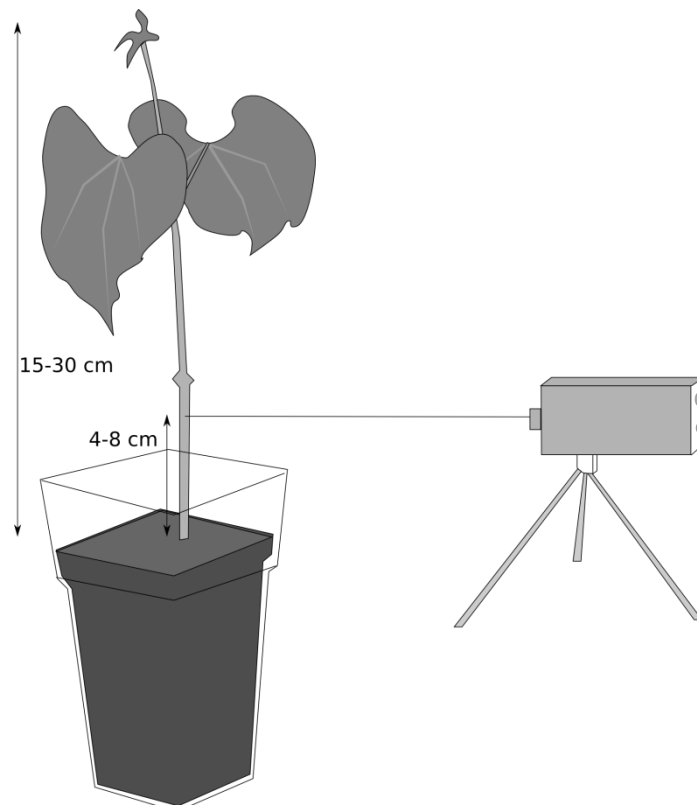


**Slika 5: Heksagonalni sklopi jajčnih mas.**

Po približno tednu dni so se iz jajčec razvile ličinke prvega stadija. Pri gojenju ličink je pomembno, da imajo na razpolago stalno vlago, saj se sicer hitro posušijo. Z levitvami so ličinke prehajale v druge stadije, in ko so bile dovolj velike (tretji ali četrti stadij), smo jih premestili v plastične lončke ter pokrili z gosto tkanino. Tam so se razvijale naprej do odraslega stadija. Dva dni po zadnji levitvi smo odrasle stenice ločili po spolu in jih premestili v plastične lončke.

### 3.1.2 Rastline

Vse poskuse smo izvajali na fižolovih sadikah vrste *Phaseolus vulgaris* L., ki smo jih posadili pred začetkom snemanja. V plastične lončke s prostornino 3 dl smo do polovice natresli navadno zemljo za sajenje, nanjo smo položili tri do pet semen fižola (nizek fižol, Semenarna Ljubljana), te pa smo nato zasuli z vermikulitom (Vermikulit, Agro Vermit - posebno sredstvo za vzdrževanje vlage v zemlji). Sadike smo gojili pod istimi pogoji kot stenice, torej pri 23 °C, 20 - 40 % relativni vlagi in pri dnevno - nočnem ciklu 16/8 ur. Poskuse smo izvajali na 15 - 30 cm visokih sadikah, ki so vsebovale večinoma najprej 2 večja lista (8 x 6 cm), in na vrhu še 2 manjša lista na vsaki strani (4 x 2 cm), na sredini pa je bil približno 3 cm visok vršiček s tremi majhnimi brsti (Slika 6).



**Slika 6: Modelni prikaz fižolove sadike in postavitve laserskega vibrometra na rastlino.**

### 3.1.3 Registracija in analiza napevov

Poskuse smo izvajali v laboratorijih Oddelka za entomologijo na Nacionalnem inštitutu za biologijo v Ljubljani, med osmo in dvanajsto uro. Napeve smo registrirali v komori z laserskim vibrometrom (Krmilnik 2200-L, senzorična glava OFV - 353, Polytec GmbH, Waldbronn, Nemčija). Lonček z rastlino, je bil pokrit z leseno konstrukcijo, ki je bila pokrita z gosto mrežasto tkanino, da smo preprečili odletavanje poskusnih žuželk. Lonček s fižolovo sadiko je slonel na marmorni plošči, le ta je bila položena na gumijaste noge, ki so absorbirale šume. Motnje iz okolja smo dodatno dušili s peno, ki je bila položena pod lonček z rastlino.

Poskus je potekal tako, da smo si najprej pripravili lonček z rastlino (običajno je bil to fižol), laserski vibrometer in stenice. Na približno štiri do osem centimetrov višine fižolovega stebela smo nalepili košček odbojne folije ( $2 \text{ mm}^2$ ), da smo dobili optimalni odboj fokusiranega laserskega žarka in tako zmanjšali šum. Na zgornje liste fižola smo postavili samca in samico, ki sta proizvajala vibracije. Vibracije, ki jih je registriral laserski vibrometer smo digitalizirali preko zvočne kartice (Sound Blaster Audigy 4, Creative Labs Inc., Singapur) in jih shranili na računalnik (hp, notebook) s pomočjo računalniškega programa Cool Edit Pro (Syntrillium Software, Phoenix, AZ, ZDA). Pri tem smo morali paziti, da je bil laserski žarek ves čas usmerjen pravokotno na steblo in čim bolj izostren. To smo lahko popravljali na samem laserju z možnostjo zoom + in zoom -. Na ta način smo prišli do čistih posnetkov brez velikih šumov. Veliko vlogo pri tem je imela tudi rastlina sama. Manjša kot je bila, manj se je zibala, posledično pa je prišlo do manjših šumov. Poskus z enim parom stenic na rastlini je trajal petnajst minut (3x po 5 minut). V primeru, da je do parjenja med oseboma prišlo že prej, smo poskus

ustavili in par odstranili z rastline. Stenici smo previdno ločili in ju tako kot vse ostale postavili nazaj, vsakega v svoj lonček glede na spol. Morali smo namreč ohraniti njihovo zanimanje do dvorjenja, da smo lahko pridobili primerne posnetke.

Za nadaljnjo analizo napevov smo uporabili računalniški program Sound Forge Pro 6.0 (Sonic Foundry, Inc. Madison, Ca, ZDA). Napeve smo najprej ločili po parih, glede nato, ali je do parjenja prišlo ali ne. Posnetke, kjer je prišlo do kopulacije smo nato podrobneje analizirali in iz zapiskov poskusili ugotoviti še morebitno spremenjeno obnašanje glede na napev.

Pri drugi generaciji smo uporabili tudi metodo registriranja vibracijskih signalov preko membrane zvočnika (Conrad Electronic, Nemčija, impedance 8 Ohm, 4.5 mm diameter, 50-2,000 Hz), ki smo ga pokrili s pleksi steklom, da stenice ne bi splezale iz snemalnega območja. Nato smo laserski žarek usmerili skozi ozko odprtino pleksi stekla navpično navzdol na zvočno membrano. Tako kot pri prejšnjem poskusu smo registrirali vibracije, ki smo jih nato digitalizirali in shranili v računalnik (glej zgoraj). Časovne lastnosti smo opisali z dolžino in ponavljalnim časom posameznih enot (pulzi), frekvenčne lastnosti pa s spektrogrami, pri katerih smo analizirali dominantno frekvenco.

V besedilu uporabljamo izraz napev za zaporedje vibracijskih signalov z jasnim začetkom in koncem ter ponovljivo notranjo strukturo. Napev sestavljajo signali, ki so lahko posamezni pulzi ali pa pulzni vlaki. Pulzi so definirani kot sklop nihanj (vibracij) z določeno dolžino. Izraz pulzni vlak pa uporabljamo, kadar so pulzi urejeni v ponavljajoče in časovno značilne skupine (Broughton W.B., 1963).

## 4 REZULTATI IN RAZPRAVA

### 4.1 Karakteristike napevov

Časovne in frekvenčne značilnosti vibracijskih signalov (Tabela 1) samcev in samic vrste *N. viridula* smo analizirali pri pozivnem napevu samic (FCSa in FCSb) in samcev (MCSa in MCSb) ter pri napevu dvorjenja samca (MCrS). Značilnosti vseh vrst napevov smo prikazali tudi grafično.

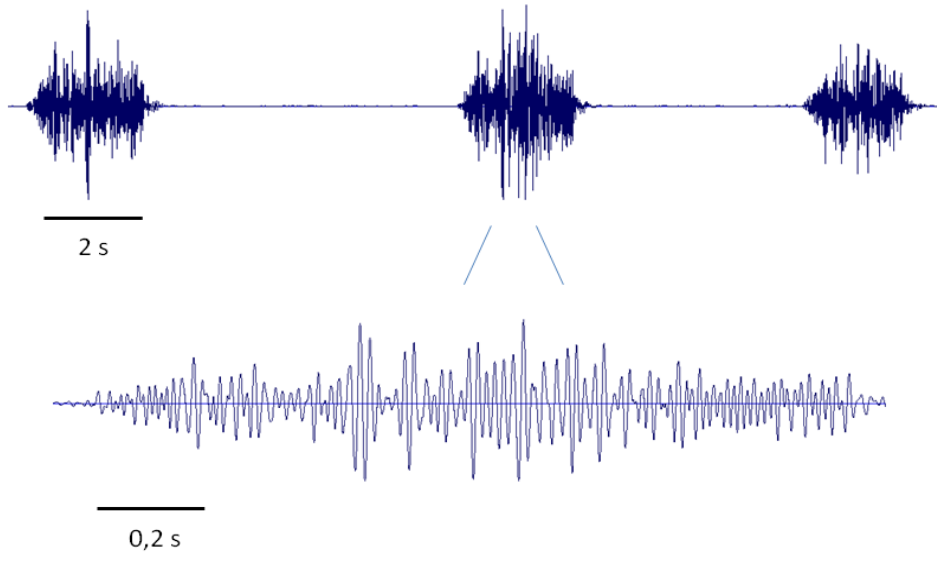
**Tabela 1: Značilnosti vibracijskih signalov pri različnih vrstah napevov. Število osebkov = 4 (N=4); število signalov na osebek = 10 (n=10).**

Napev	Karakteristike	Povp. dolžina pulza [ms]	STDEV	Povp. ponavljalni čas [ms]	STDEV	Povp. dominant. frekvenca [Hz]	STDEV
FCSa		1564,2	196,0	7889,4	4415,3	71,8	9,0
FCSb		1538,5	242,5	7903,9	4404,1	80,7	9,2
MCSa		152,1	18,2	396,1	82,7	88,9	22,0
MCSb		338,6	26,2	666,4	113,7	88,7	24,0
MCrS		4914,1	330,7	7599,9	1624,0	68,0	15,1

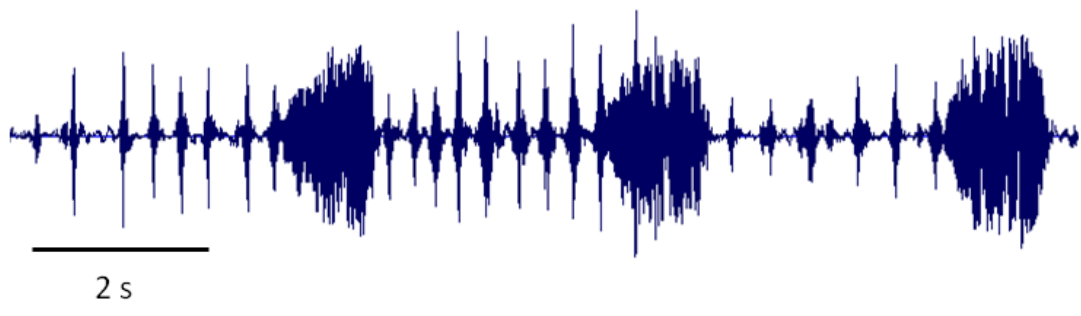
#### 4.1.1 Pozivni napev samice - tip a (Female Calling Song – FCSa)

FCSa napev je pri vrsti *N. viridula* zaporedje enakomerno ponavljajočih se pulzov oz. pulznih vlakov, ki jih samica oddaja neprekinjeno dalj časa z istega mesta na rastlini (Slika 7). Signali spodbudijo samca, da začne aktivno iskati samico, hkrati pa tudi oddajati vibracijske signale pozivnega napeva (MCS) (Ota D. in Čokl A., 1991; Čokl A. in sod., 2000a). V duetu med pozivnim napevom samice (FCSa) in/ali samčevim pozivnim napevom (MCS) ali samčevim napevom dvorjenja (MCrS) samec prilagodi trajanje in ponavljalni čas pulzov svojega napeva tako, da se njegovi pulzi pojavljajo v intervalu med zaporednima pulzoma FCSa (Slika 8) (Čokl A. in Virant-Doberlet M., 2003; Miklas N. in sod., 2003). Pulzni vlak je sestavljen iz enega do petih kratkih pulzov (80 - 250 ms), ki jim sledi daljši pulz (700 - 2000 ms).

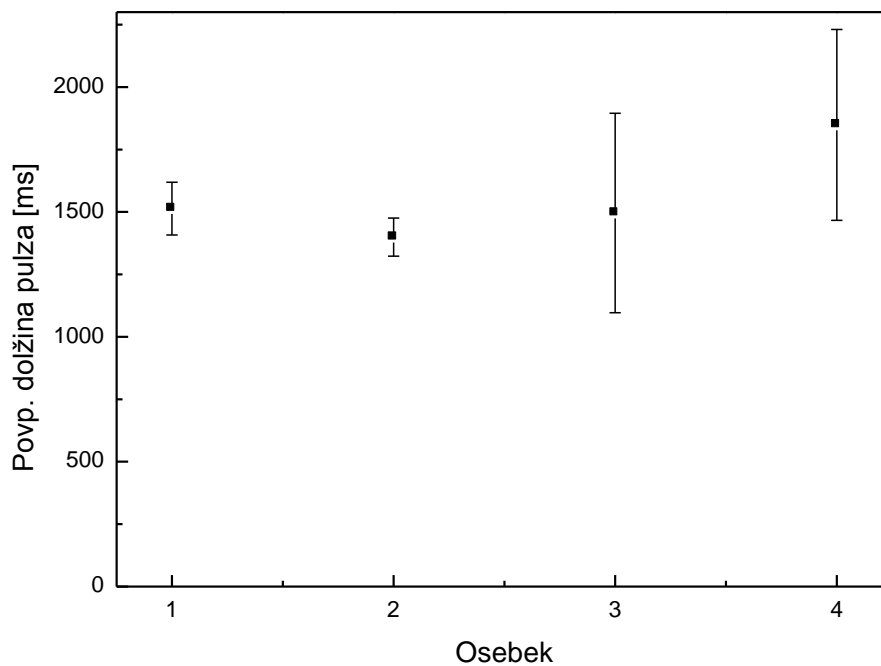
Miklas A. s sodelavci (2000) je izračunala povprečno srednjo vrednost dolžine in ponavljalnega časa (čas med prvim in naslednjim signalom) pulznega vlaka pozivnega napeva samice FCSa, ki znaša  $940 \pm 82$  ms za dolžino oziroma  $3786 \pm 260$  ms za ponavljalni čas. Iz podatkov v Tabela 1 je razvidno, da so vrednosti povprečne dolžine pulza in ponavljalnega časa FCSa napeva stenic, ki smo jih testirali v naših poskusih, različne. Tudi vrednosti dolžine pulza in ponavljalnega časa tretjega in četrtega osebka prve generacije vzgojene v laboratoriju močno presegata vrednosti, objavljene v zgoraj omenjenem članku. Razlogov za to je več, od razlike med divjo in laboratorijsko generacijo, individualnih razlik, do povezave z aktivnostjo samcev in tako naprej. Zaradi majhnega števila osebkov vzrokov za te razlike ne moremo potrditi.



**Slika 7: Oscilogram pozivnega napeva samice (FCSa).**



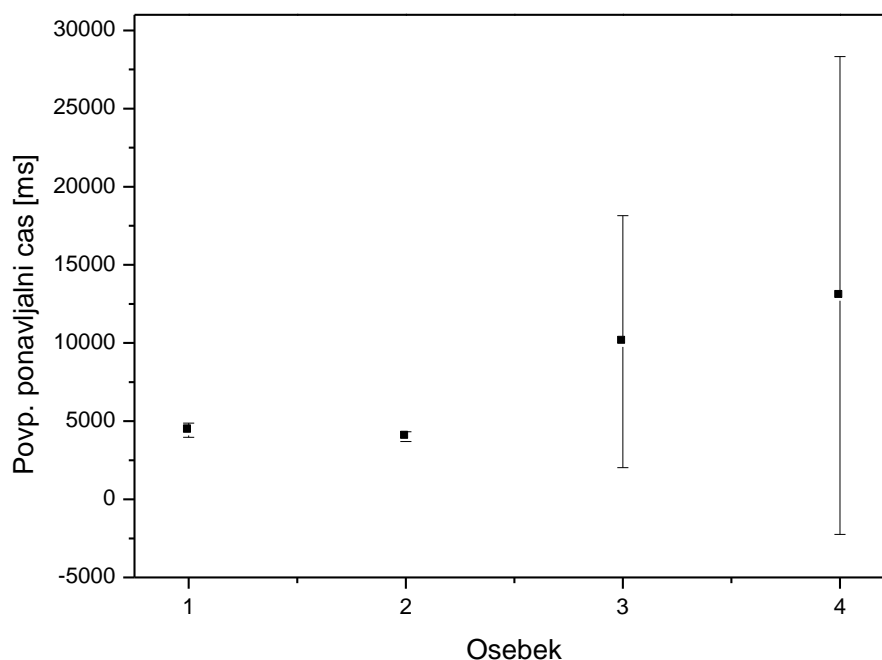
**Slika 8: Oscilogram dueta pozivnega napeva samice (FCSa) in pozivnega napeva samca (MCS).**



**Slika 9: Povprečna dolžina in standardni odklon pulza pozitivnega napeva samice (FCSa), pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Srednje vrednosti se gibljejo v območju med 1400 in 1850 ms. Najnižja posamezna srednja vrednost je bila  $1399,1 \pm 76$  ms (osebek 2), najvišja posamezna srednja vrednost pa  $1848,4 \pm 382$  ms (osebek 4) (Slika 9). Statistični test Anova je pokazal signifikantne razlike med posameznimi samicami. (One way ANOVA:  $P = <0,001$ ;  $F = 4,768$ ;  $df = 3$ ).

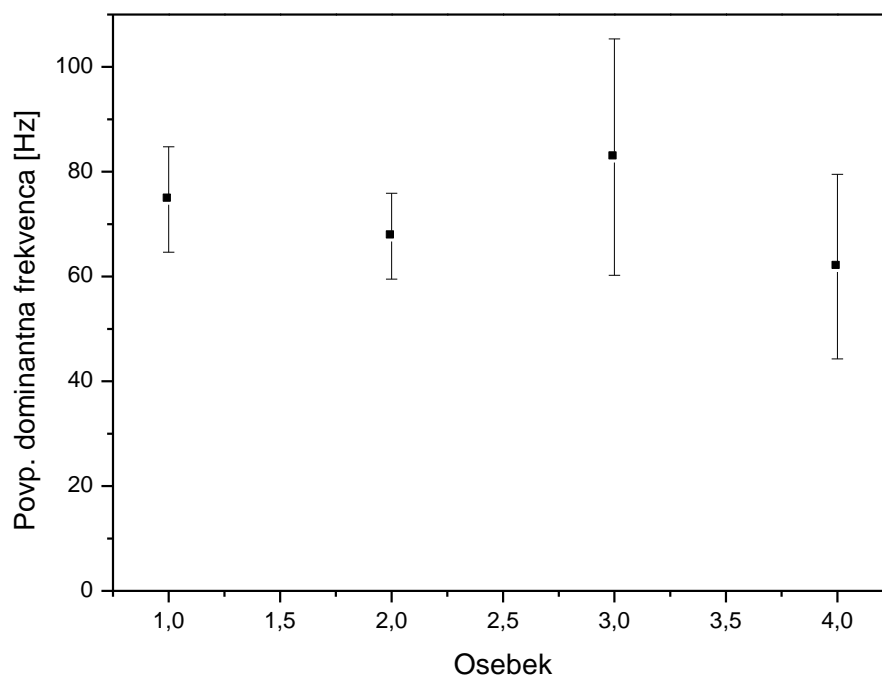




**Slika 10: Povprečni ponavljalni čas in standardni odklon pozivnega napeva (FCSa) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Pri ponavljalni frekvenci lahko prav tako opazimo, da pri prvem in drugem osebku iz prostoživeče generacije ni večjih odstopanj, pri tretjem in četrtem osebku iz prve generacije vzgojene v laboratoriju pa lahko zaznamo bistvena odstopanja med posameznimi ponavljalnimi časi (velika standardna deviacija) (Slika 10). Statistično smo primerjali samo napeva prve in druge samice, ker sta peli dolgo časa v enakomernem ritmu in sicer z najnižjo srednjo vrednostjo  $4007 \pm 315$  (2. osebek) in najvišjo srednjo vrednostjo  $4419 \pm 315$  (1. osebek). Po testu one way ANOVA smo dobili naslednje vrednosti:  $P = < 0.05$  oz.  $P = 0,0317$ ;  $F = 5.535$ ;  $df = 1$ . Rezultat je pokazal, da so med osebkom 1 in 2 signifikantne razlike.

Ostali dve samici sta oddajali pozivne signale FCSa v nerednem ponavljajočem se ritmu, pri čemer se je povprečni ponavljalni čas gibal med  $10088 \pm 8060$  (3. osebek) in  $13041 \pm 15288$  ms (4. osebek). Razlike so lahko posledica individualnih lastnosti samic ali pa aktivnosti samca.

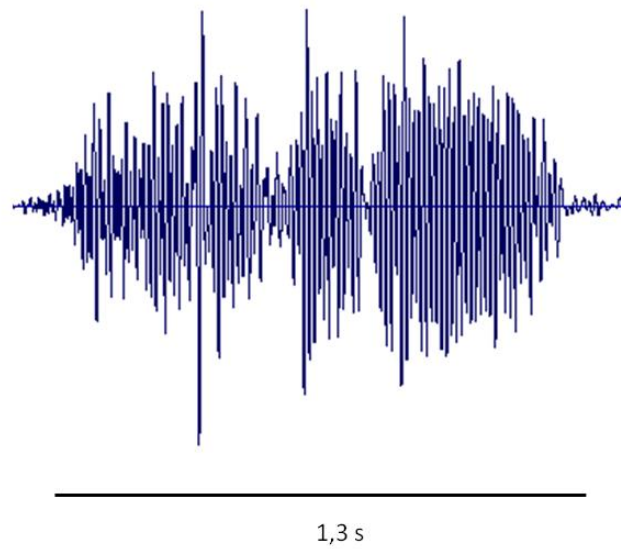


**Slika 11: Povprečna dominantna frekvenca in standardni odklon pozivnega napeva samice (FCSa) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

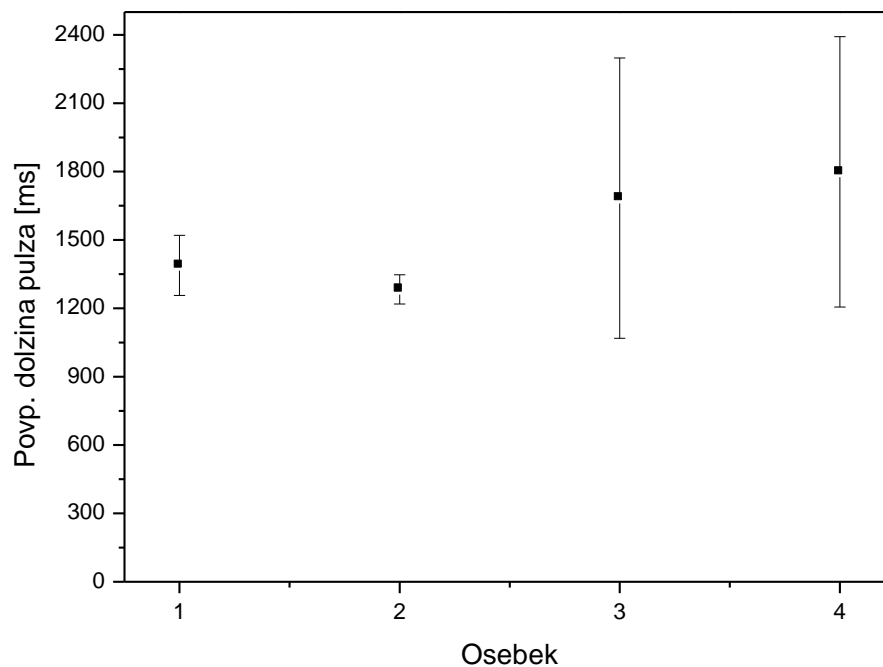
Srednje vrednosti dominantne frekvenca se gibljejo v območju med  $61,9 \pm 17,6$  Hz (osebka 4) in  $82,8 \pm 22,5$  Hz (osebka 3) (Slika 11). Pri slednjem lahko zaznamo tudi največji standardni odklon, saj je nekaj signalov presegalo vrednost 100 Hz. Med osebki so statistično signifikantne razlike v vrednosti dominantne frekvenca (One way ANOVA,  $P = 0,03126$ ;  $F = 3,297$ ;  $df = 3$ ). Tudi v primeru dominantne frekvenca signalov FCSa lahko opazimo razlike med laboratorijsko in prostoživečo populacijo stenic.

#### 4.1.2 Pozivni napev samice - tip b (Female Calling Song – FCSb)

Drugi in manj pogosti tip pozivnega napeva samice FCSb (female calling song) je sestavljen iz kratkih pulzov (90-300 ms), ki se povezujejo v pulzni vlak (Slika 12). Miklas N. s sodelavci (2000) je izračunala srednjo vrednost dolžine ( $151 \pm 41$  ms), ponavljalnega časa ( $4301 \pm 68$  ms) in dominantne frekvenca ( $109,6 \pm 5,2$  Hz) pulza FCSb napeva. Glede na vrednosti značilnosti signalov, ki smo jih registrirali v naši raziskavi (Tabela 1), vidimo, da srednje vrednosti ponavljalnega časa in dolžine pulza močno presegata vrednosti dosedanjih rezultatov, medtem ko srednja vrednost dominantne frekvenca vrednosti ne presega in je celo nižja od predhodnih objav.

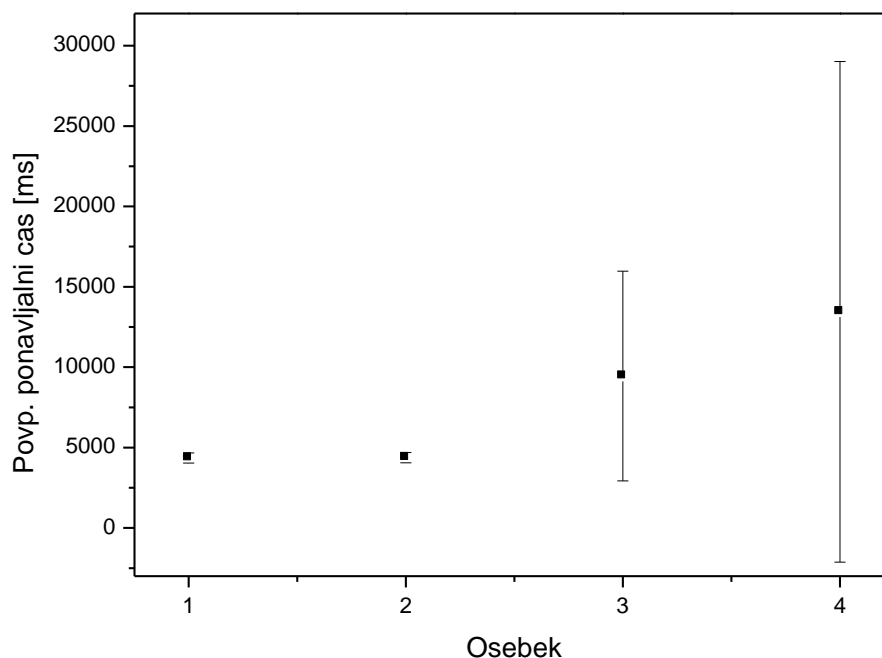


**Slika 12: Oscilogram pozivnega napeva samice (FCSb).**



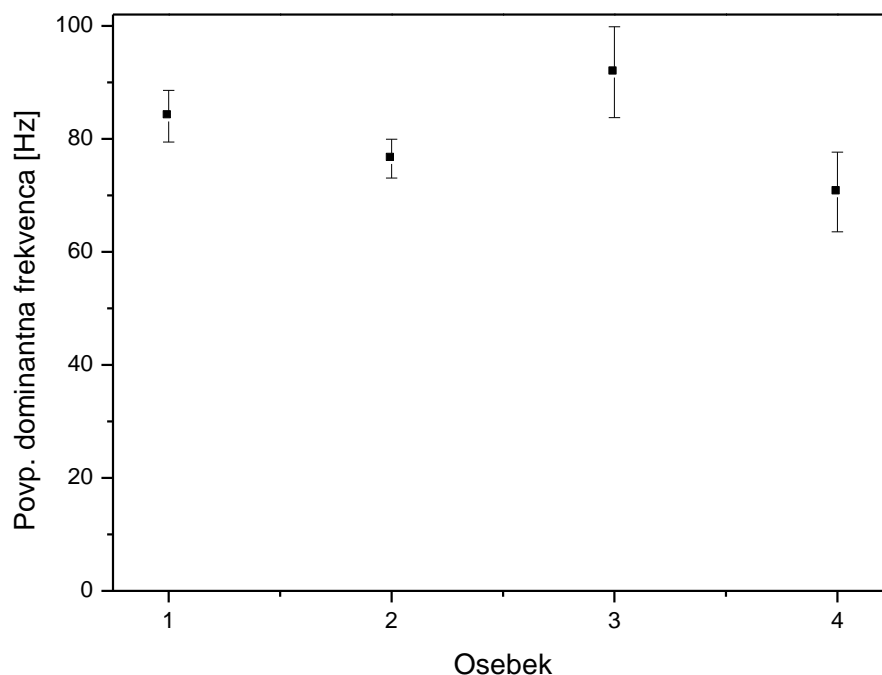
**Slika 13: Povprečna dolžina pulza in standardni odklon pri pozivnem napevu samice (FCSb) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Srednje vrednosti se gibajo v območju med  $1283,2 \pm 64$  ms (osebek 2) in  $1798,8 \pm 593$  ms (osebek 4) (Slika 13). Razlike med populacijama zaznamo tudi pri tem tipu napeva, saj je standardni odklon največji pri osebkih tri in štiri. Razlika med osebkoma je statistično značilna (One way ANOVA,  $P = 0,03743$ ;  $F = 3,131$ ;  $df = 3$ ).



**Slika 14: Povprečni ponavljalni čas in standardni odklon pozitivnega napeva samice (FCSb) pri različnih osebkih. Osebkama 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebkama 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Povprečne vrednosti se med generacijami razlikujejo (Slika 14). Pri osebkoma ena in dva se srednje vrednosti gibljejo v območju med  $4349,2 \pm 318$  ms (osebek 1) in  $4374,4 \pm 319,9$  ms (osebek 2), pri laboratorijski generaciji pa med  $9445,4 \pm 6521$  ms (osebek 3) in  $13446,4 \pm 15572$  ms (osebek 4). Vidimo, da imata osebek tri in štiri tudi tukaj največje vrednosti standardnih odklonov. Med osebkoma ni statistično značilnih razlik v vrednostih ponavljalnega časa (One way ANOVA  $P = 0,05876$ ;  $F = 2,72$ ;  $df = 3$ ).

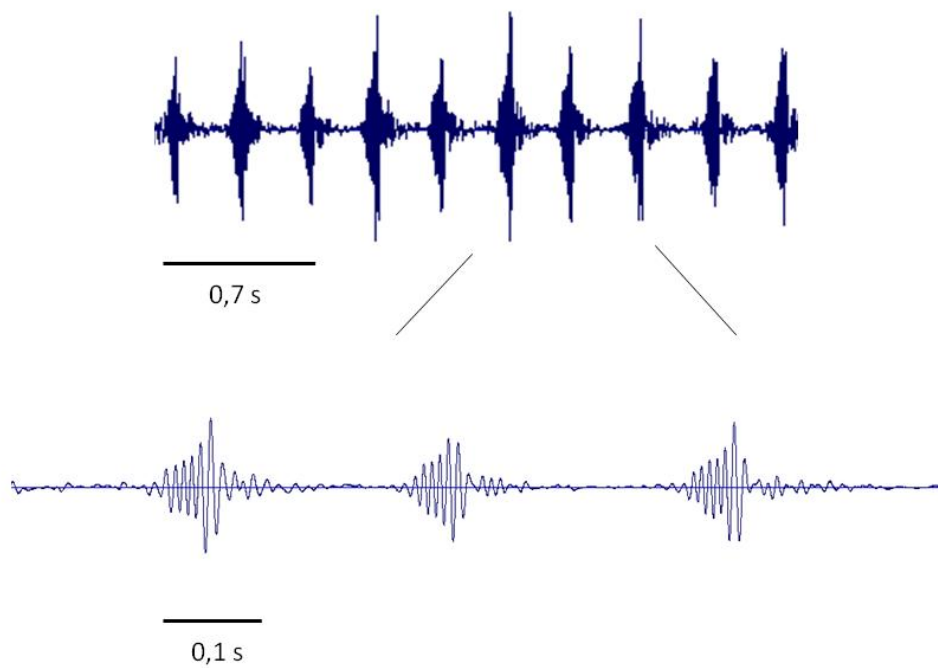


**Slika 15: Povprečna dominantna frekvenca in standardni odklon pozivnega napeva samice (FCSb), pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

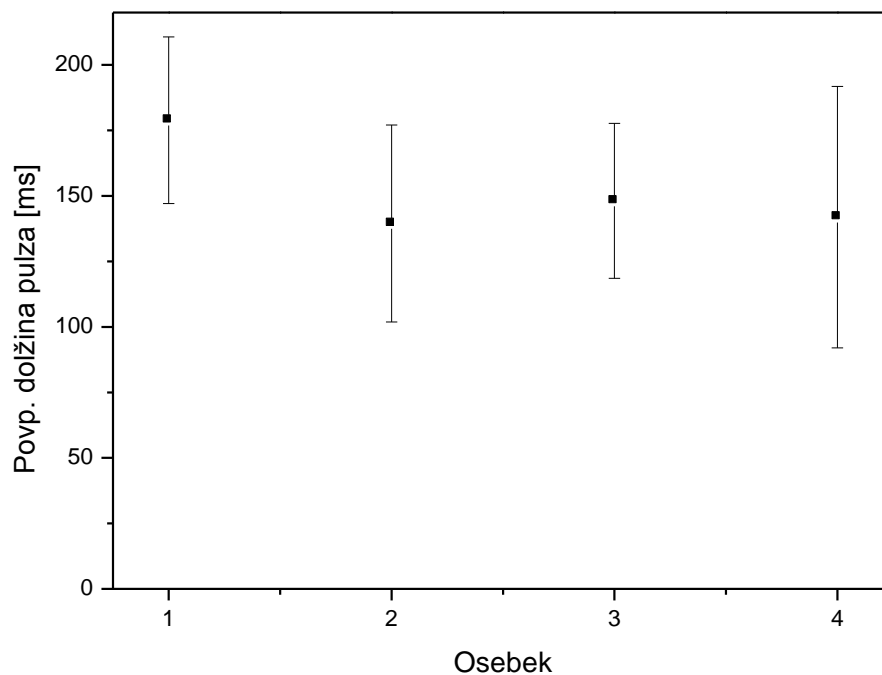
Povprečne vrednosti se gibljejo v območju med  $70,6 \pm 7$  Hz (osebka 4) in  $91,8 \pm 8$  Hz (osebka 3) (Slika 15). Med osebki so razlike statistično signifikantne (One way ANOVA,  $P > 0.001$ ,  $F = 22,99$ ,  $df = 3$ ).

#### 4.1.3 Pozivni napev samca – tip a (Male Calling Song – MCSa)

Pozivni napev samca je vezan na komunikacijo s samico v pozivni fazi paritvenega vedenja in se deli na dva tipa. Za pulze prvega tipa pozivnega napeva (MCSa) je značilno, da niso frekvenčno modulirani, njihov spekter pa ima ozek dominantni vrh. Za ta napev je značilna sekvenca redno se ponavljajočih pulzov (Slika 16), katerih povprečne srednje vrednosti znašajo po podatkih (Čokl A. in sod., 2000b) za dolžino  $263 \pm 96$  ms in za ponavljalni čas  $1202 \pm 467$  ms. Njihova dominantna frekvenca se giblje okoli 96 Hz. Vrednost parametrov, ki smo jih izračunali v naši raziskavi (Tabela 1, Slika 17, Slika 18, Slika 19), so nižje od vrednosti iz predhodnih raziskav.

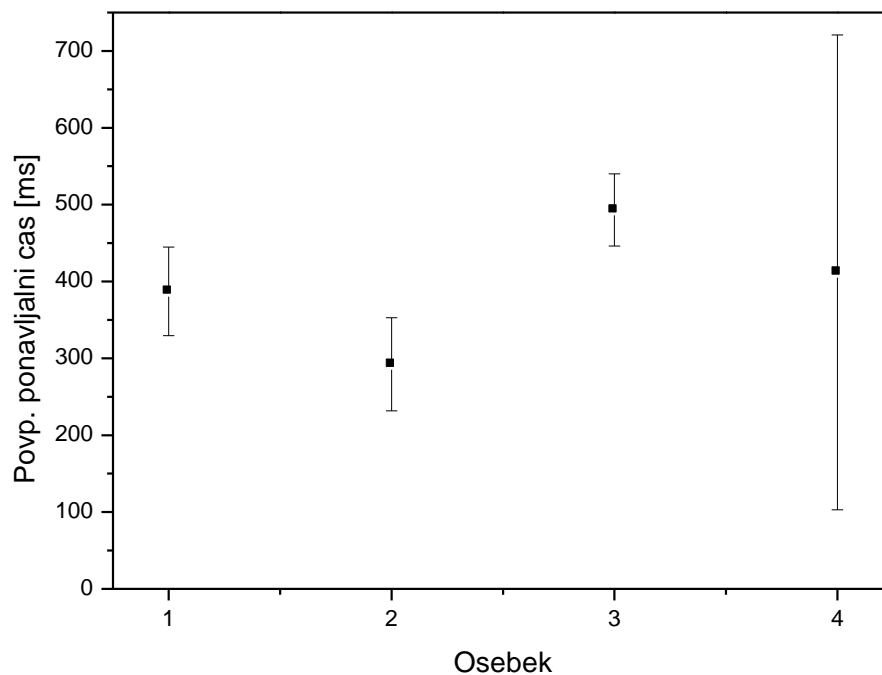


**Slika 16: Oscilogram pozivnega napeva samca (MCSa).**



**Slika 17: Povprečna dolžina pulza in standardni odklon pozitivnega napeva samca (MCSa) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

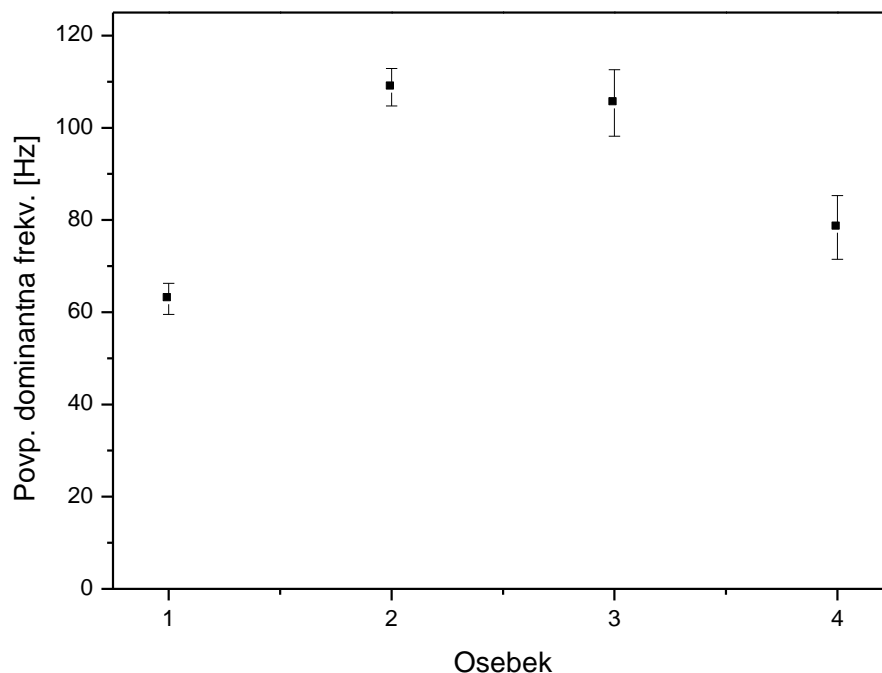
Pri samcih je razvidno, da se vrednosti povprečne dolžine pulza gibljejo med  $139,5 \pm 37$  ms (osebek 2) in  $148,1 \pm 29$  ms (osebek 3) (Slika 17). Med samci ni statistično significantnih razlik (One way ANOVA,  $P = 0.075$ ;  $F = 2.298$ ;  $df = 3$ ).



**Slika 18: Povprečni ponavljalni čas in standardni odklon pozivnega napeva samca (MCSa) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Srednje vrednosti ponavljalnega časa se gibljejo med  $292,2 \pm 60$  ms (osebek 2) in  $493,1 \pm 47$  ms (osebek 3). Največji standardni odklon smo zaznali pri osebku štiri, medtem ko se pri ostalih treh osebkih giblje med 47 in 60. Med osebki ni signifikantnih razlik (One way ANOVA,  $P = 0,06585$ ,  $F = 2,617$ ;  $df = 3$ ).



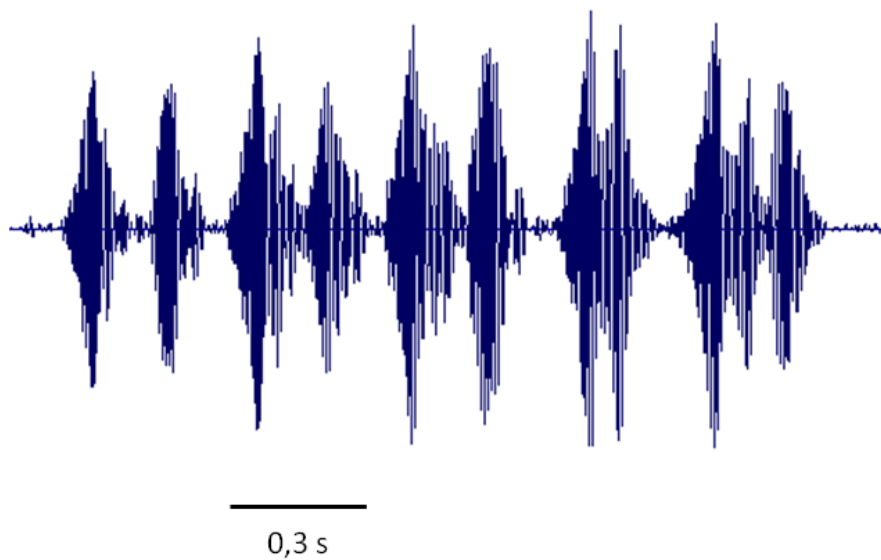


**Slika 19: Povprečna dominantna frekvenca in standardni odklon pozivnega napeva samca (MCSa) pri različnih osebkih. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

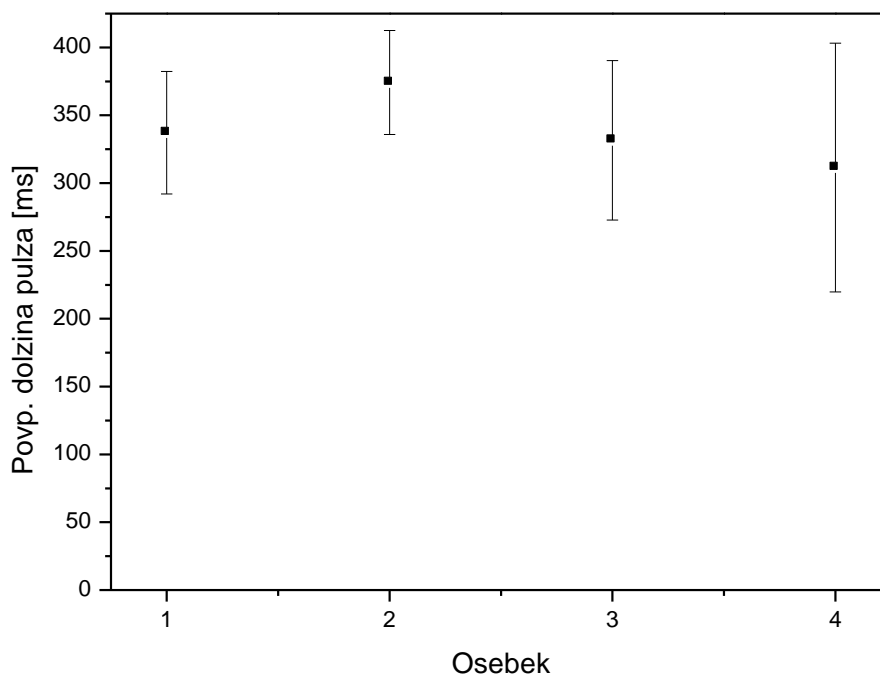
Srednje vrednosti dominantne frekvenca se gibljejo v območju med  $62,9 \pm 3$  Hz (osebek 1) in  $108,8 \pm 4$  Hz (osebek 2). Največji standardni odklon je pri tretjem in četrtem osebku. Med osebki so significantne razlike (One way ANOVA (z vsemi osebki):  $P = < 0,001$ ;  $F = 151,8$ ;  $df = 3$ ).

#### 4.1.4 Pozivni napev samca – tip b (Male Calling Song - MCSb)

Značilnost drugega pozivnega napeva samca MCSb (male calling song) je, da imajo pulzi dobro izraženo frekvenčno modulacijo in širok dominantni frekvenčni vrh. Posamezni pulzi se v veliko primerih združujejo v pulzne pare (Slika 20). Iz literature je znano, da je povprečna srednja vrednost dolžine pulza  $121 \pm 34$  ms, ponavljalnega časa  $445 \pm 222$  ms, dominantna frekvenca pa se giblje okrog 109 Hz (Čokl A. in sod., 2000b). Naše vrednosti (Tabela 1) dolžine in dominantne frekvenca odstopajo od prej omenjenih, ponavljalni čas pa niha v istem območju. Razlike lahko pripišemo razlikam med osebki, za morebitne druge zaključke pa bi morali analizirati signale večjega števila osebkov v standardiziranih pogojih.

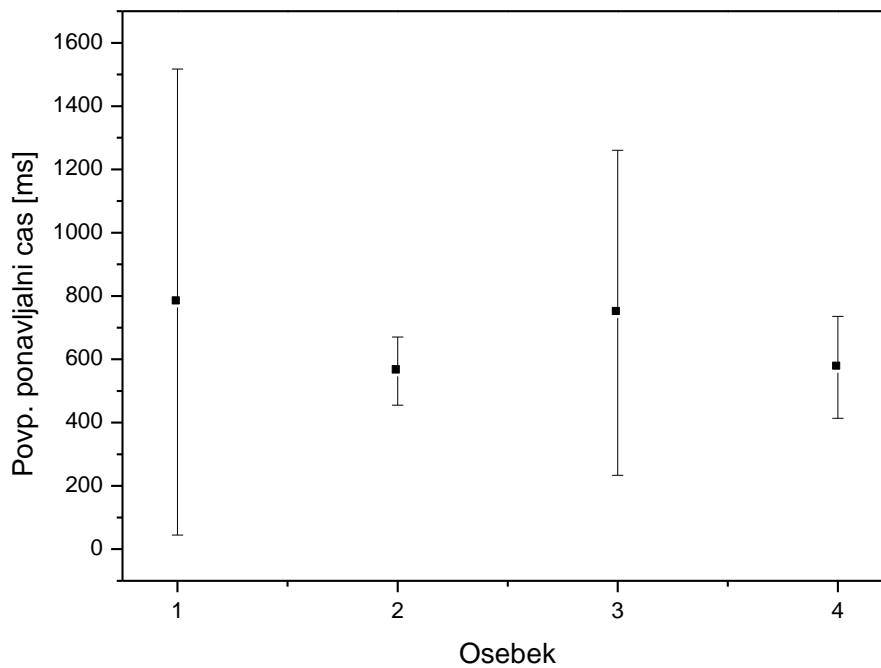


**Slika 20: Oscilogram pozivnega napeva samca (MCSb).**



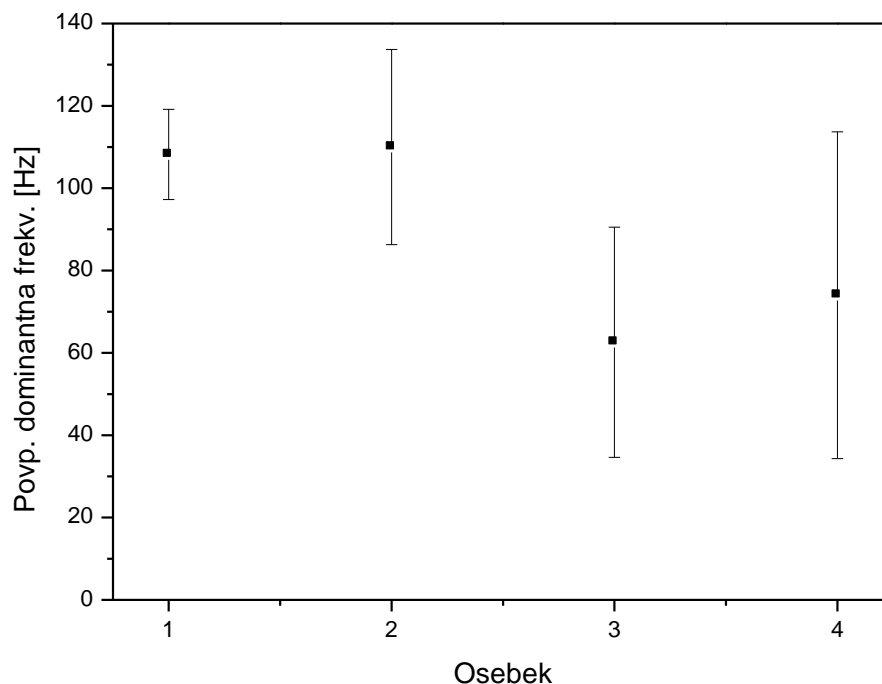
**Slika 21: Povprečna dolžina pulza in standardni odklon pozivnega napeva samca (MCSb) pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Povprečne vrednosti se gibljejo v območju med  $311,5 \pm 91$  ms pri osebku številka 4 in  $374,2 \pm 38$  ms pri osebku številka 2 (Slika 21). Med osebki ni significantnih razlik (One way ANOVA,  $P = 0,1685$ ;  $F = 1,779$ ;  $df = 3$ ).



**Slika 22: Povprečni ponavljalni čas in standardni odklon pozitivnega napeva samca (MCSb, pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Območje srednjih vrednosti se giblje med  $562,8 \pm 107$  ms pri osebkju 2 in  $780,8 \pm 736$  ms pri osebkju 1 (Slika 22). Največji standardni odklon lahko zaznamo pri osebkjih 1 in 3. Med osebkji ni signifikantnih razlik (One way ANOVA,  $P = 0,6111$ ;  $F = 0,6128$ ;  $df = 3$ ).



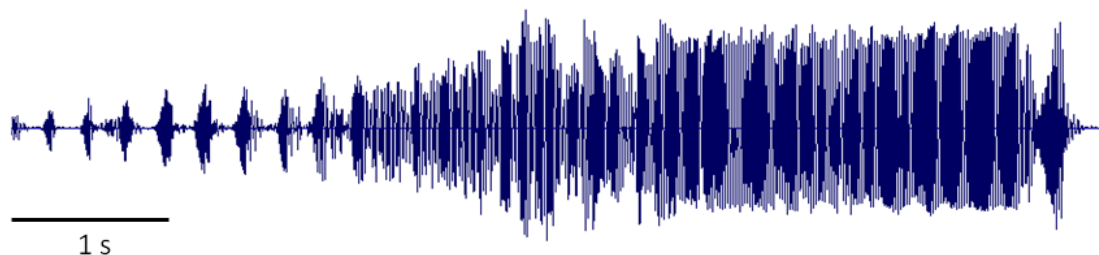
**Slika 23: Povprečna dominantna frekvenca in standardni odklon pozivnega napeva samca (MCSb) pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Iz slike 23 je razvidno, da obstaja razlika v legi dominantne frekvence med divjo in laboratorijsko populacijo. Srednje vrednosti divje generacije (prvi in drugi osebek) se gibljejo v območju med 108 in 110 Hz, s standardnim odklonom v območju 22 - 11. Medtem ko se srednje vrednosti laboratorijske generacije (tretji in četrti osebek) gibljejo v območju od 62 do 74 Hz s standardnim odklonom v območju od 26 do 40. Tudi test One way ANOVA je pokazal, da med osebki obstajajo občutne signifikantne razlike ( $P < 0.001$   $F = 7,596$ ;  $df = 3$ ). Najmanjša posamezna srednja vrednost je  $62,6 \pm 27,9$  Hz pri osebkju številka 3, največja posamezna srednja vrednost pa  $110 \pm 23$  Hz pri osebkju številka 2.

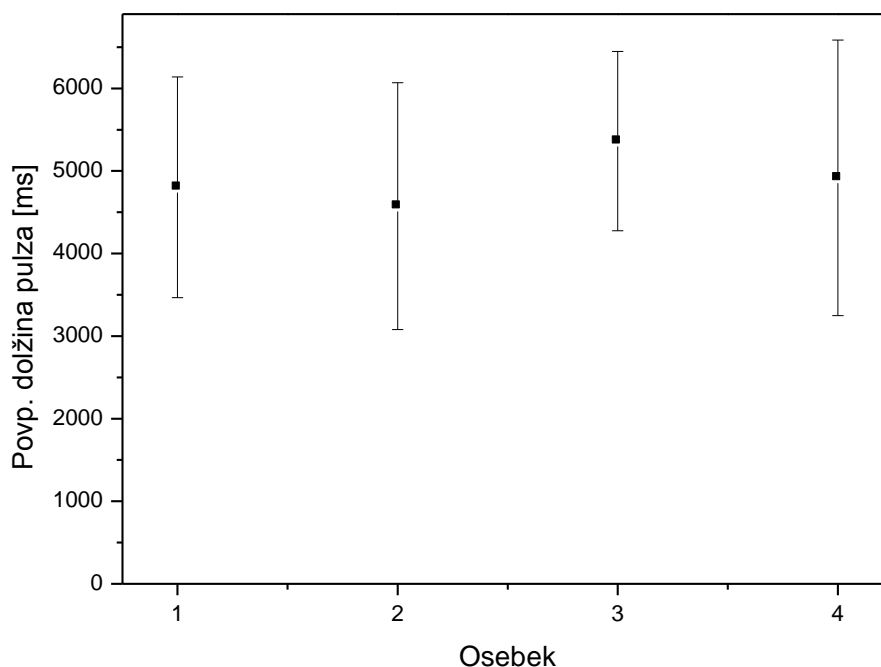
#### 4.1.5 Napev dvorjenja samca (Male Courtship Song – MCrS)

Napev dvorjenja samca je njegov značilni odgovor tako v pozivni fazi, kot tudi v fazi dvorjenja na samičine signale. Izvor ima v pulzih MCS, katerih ponavljalna frekvenca se viša do njihovega zlitja (Slika 24) (Čokl A. in sod., 2000b). Dolžina pulznega vlaka je približno 3 sekunde, temu pa lahko sledi še okrog 100 ms dolg frekvenčno moduliran pulz (Čokl A., 2006). Pomembna funkcija napeva dvorjenja je prepoznavanje vrste partnerja v pozivni fazi, še zlasti v fazi dvorjenja, ter priprava na kopulacijo. Čokl A. in sodelavci (2000b) so izračunali povprečno srednjo vrednost za dolžino signala in sicer  $3110 \pm 749$  ms in za dominantno frekvenco, ki se giblje okrog 90 Hz. Vrednosti za ponavljalni čas niso podane, ker so odvisne od ponavljalnega časa pozivnega napeva samice. Signali FCS namreč prožijo odgovor samca v obliki emisije signalov MCrS

napeva. Naše vrednosti teh parametrov (Tabela 1) odstopajo le pri dominantni frekvenci, ki je nižja. Vzrok za odstopanje so individualne razlike.

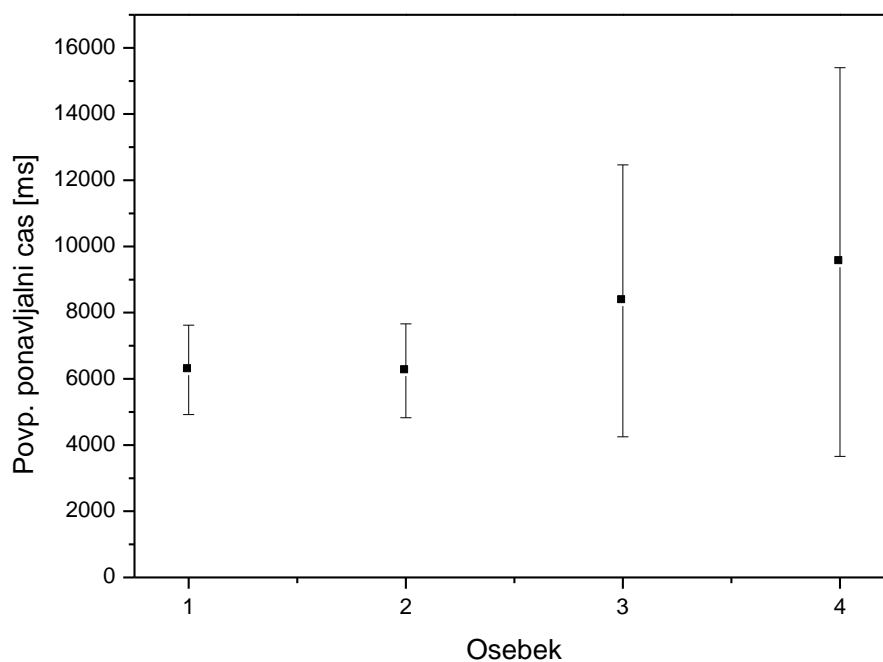


**Slika 24: Oscilogram samčevega napeva dvorjenja (MCRS).**



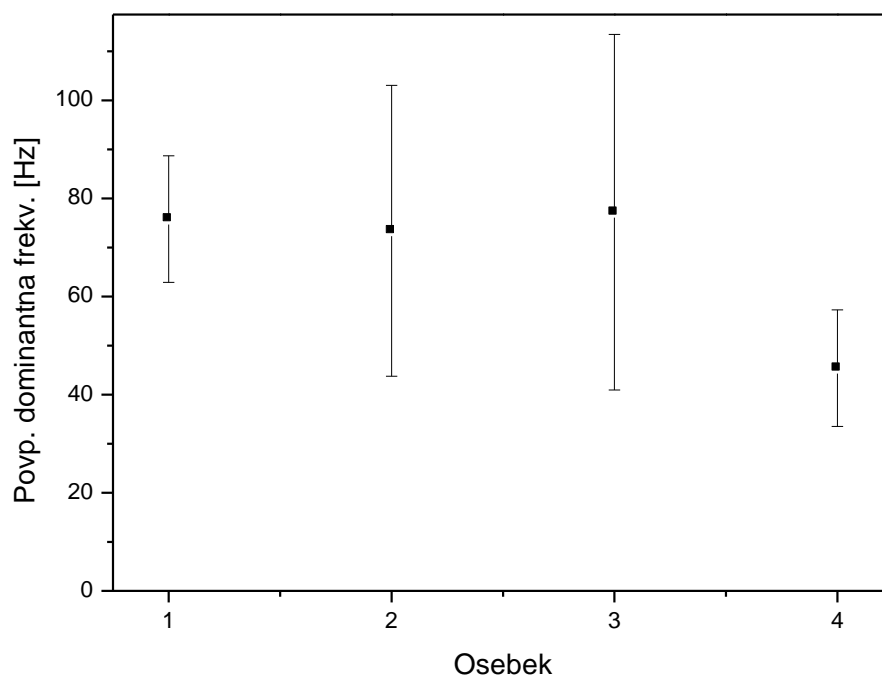
**Slika 25: Povprečna dolžina pulza in standardni odklon napeva dvorjenja pri samcu (MCRS) pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Med posameznimi osebki ni significantnih razlik v dolžini pulznega vlaka (One way ANOVA:  $P = 0,7716$ ;  $F = 0,3749$ ;  $df = 3$ ). Srednje vrednosti se gibljejo med  $4803,3 \pm 1336$  ms pri osebku 1 in  $5361,8 \pm 1085$  ms pri osebku 3 (Slika 25).



**Slika 26: Povprečni ponavljalni čas in standardni odklon napeva MCrS pri različnih osebkih iste vrste. Osebka 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebka 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Srednji vrednosti divje generacije se gibljeta med  $6242,7 \pm 1416$  ms pri drugem osebku in  $6270,2 \pm 1351$  ms pri prvem osebku. Srednje vrednosti laboratorijske generacije se gibljejo med  $8354,8 \pm 4107$  ms pri tretjem osebku in  $9531,7 \pm 5871$  ms pri četrtem osebku (Slika 26). Prav tako so pri laboratorijski generaciji standardni odkloni večji glede na divjo generacijo. Glede na test One way ANOVA ( $P = 0,1451$ ;  $F = 1,912$ ;  $df = 3$ ) vseeno ni signifikantnih razlik.



**Slika 27: Povprečna dominantna frekvenca in standardni odklon samčevega napeva dvorjenja (MCRs) pri različnih osebkih iste vrste. Osebk 1 in 2 sta iz prostoživeče generacije, osebk 3 in 4 pa sta potomca prostoživeče generacije in vzgojena v laboratoriju.**

Za MCRs signale, ki smo jih registrirali v naših testih, je značilna nizka vrednost dominantne frekvence, saj je najmanjša srednja vrednost  $45,4 \pm 11$  Hz pri osebk 4, največja pa  $77,2 \pm 36$  Hz pri osebk 3 (Slika 27). Med osebk 3 in 4 so razlike v dominantni frekvenci statistično značilne (One way ANOVA,  $P = 0,02126$ ;  $F = 3,656$ ;  $df = 3$ ).

## 4.2 Vpliv zavrtnenega napeva samice na samca

V pozivni fazi paritvenega vedenja samec in samica izmenjujeta signale pozivnega napeva v duetu. Samica pri tem ves čas ostaja na istem mestu, samec pa jo išče po rastlini. Samec poišče samico s pomočjo njenih pozivnih signalov, sam pa oddaja pozivni napev, da samico obvešča o svoji prisotnosti in ohranja njeno signaliziranje. Ko se samec približa samici, ona pristopi k njemu in če je pripravljena na parjenje, pride do izmenjave signalov samičinega in samčevega napeva dvorjenja ter do kopulacije (Čokl A. in sod., 2000b).

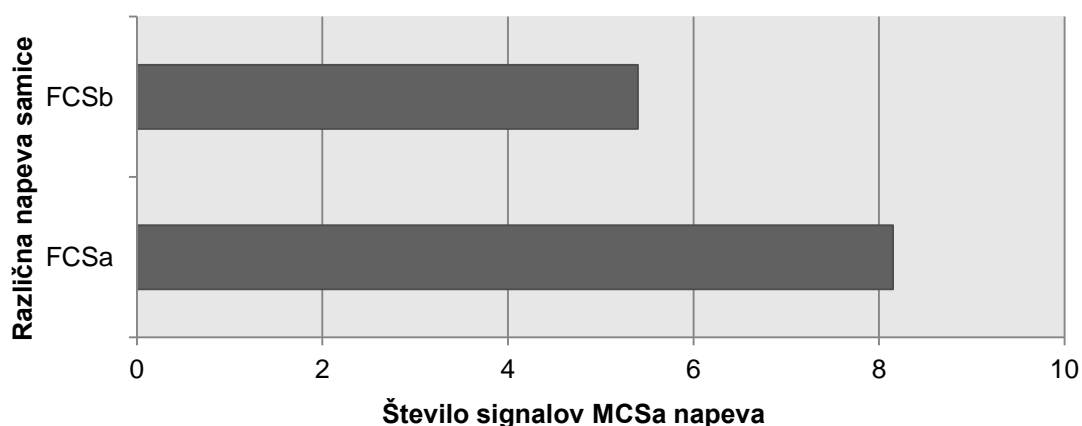
Poskuse smo časovno omejili tako, da smo aktivnost posameznega para registrirali petnajst minut. V tem času se je vzorec vedenja med parjenjem odvijal različno. Nekateri pari stenic so že po nekaj minutah prešli v kopulo, drugi pa so pred kopulacijo dalj časa izmenjevali komunikacijske vibracijske signale. Pri nekaterih parih do kopulacije kljub petju ni prišlo (Tabela 2). Ker so bili poskusi opravljeni v standardiziranih pogojih, je najverjetnejši razlog za te razlike različna motiviranost posameznih samcev ali samic za parjenje. Delovna hipoteza diplomske naloge je bila,

da druga oblika pozivnega napeva samice (FCSb) nosi informacijo o nepripravljenosti samice za kopulacijo in da ona na ta način samcu odda signal, ki nanj vpliva zaviralno.

**Tabela 2: Število parov, ki so prešli v kopulo, in število parov, ki niso kopulirali v obdobju snemanja od 22.1. 2014 do 21.2.2014 (prostoživeča generacija) in od 2.4.2014 do 11.4.2014 (laboratorijska generacija).**

Kopula	Število parov (prostoživ. generacija)	Število parov (lab. generacija)
po 2-5 min	3	5
po 5-10 min	8	8
brez kopule	27	16
<b>vsi</b>	<b>38</b>	<b>29</b>

Pri analizi smo uporabili pozivna napeva samca in samice MCSa in FCSa pri dveh parih (N - število osebkov = 4), pozivni napev samice drugega tipa FCSb ter samčev napev dvorjenja MCrS. Za vsak napev smo s pomočjo računalniškega programa poiskali deset različnih pulznih vlakov pri dveh različnih osebkih iste vrste. V graf smo vključili samo napeve, pri katerih je prišlo do kopulacije.

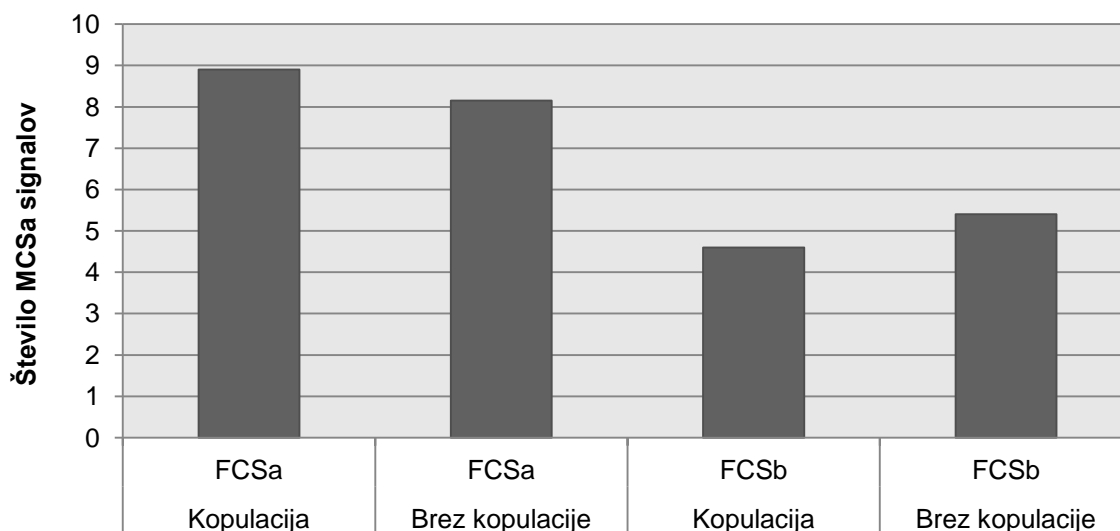


**Slika 28: Prikaz števila vibracijskih signalov MCSa napeva glede na oba pozivna napeva samice (FCSa in FCSb). V analizo so vključeni posentki, kjer je kasneje prišlo do kopulacije. N=4.**

Slika 28 prikazuje odvisnost števila signalov napeva MCSa na en signal pozivnega napeva samice obeh tipov. V primerjavo smo vključili oba tipa pozivnega napeva samice. Iz Slika 28 je razvidno, da je bilo število signalov MCSa večje, kadar je samica oddajala bolj pogost napev FCSa, manjše pa takrat, ko je prišlo do odklonilnega pozivnega napeva samice FCSb. Na podlagi tega lahko zaključimo, da pozivni napev samice tipa FCSb na samca deluje zaviralno (inhibitorno), vendar pa ne preprečuje kopulacije.

Slika 29 prikazuje primerjavo števila signalov MCSa glede na prisotnost napeva FCSa ali FCSb. Razviden je delež napevov v primeru, ko je med registracijo prišlo do kopulacije, in delež napevov, kjer do kopulacije ni prišlo. Glede na zgoraj zastavljeno hipotezo smo pričakovali, da je število pozivnega napeva samca MCSa pri izidu, kjer ni prišlo do kopulacije, še nižje, kot v primeru, kjer je do kopulacije prišlo.



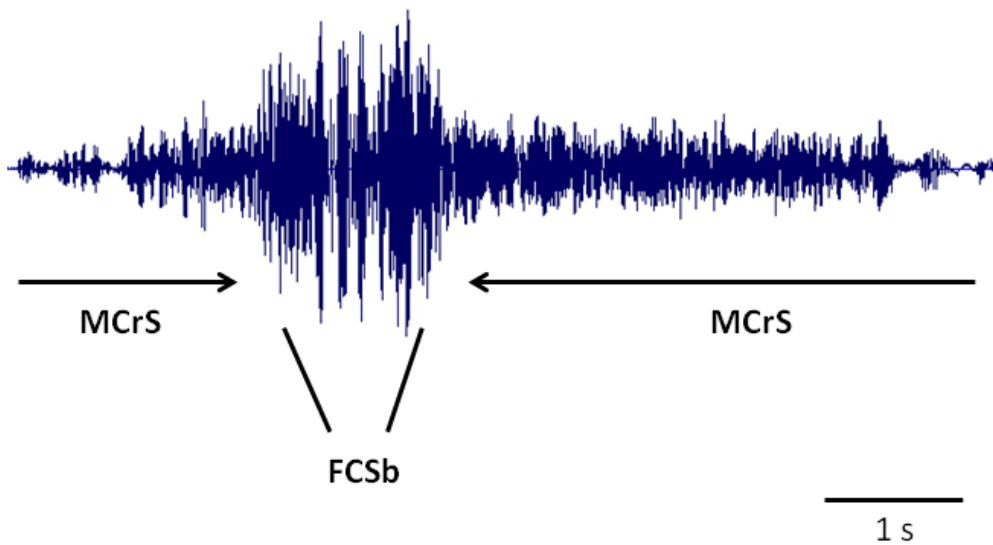


#### Različna pozivna napeva samice glede na končni izid dueta

**Slika 29: Primerjava števila signalov MCSa napeva pri različnih pozivnih napevih samice (FCSa in FCSb) glede na končni izid dueta.**

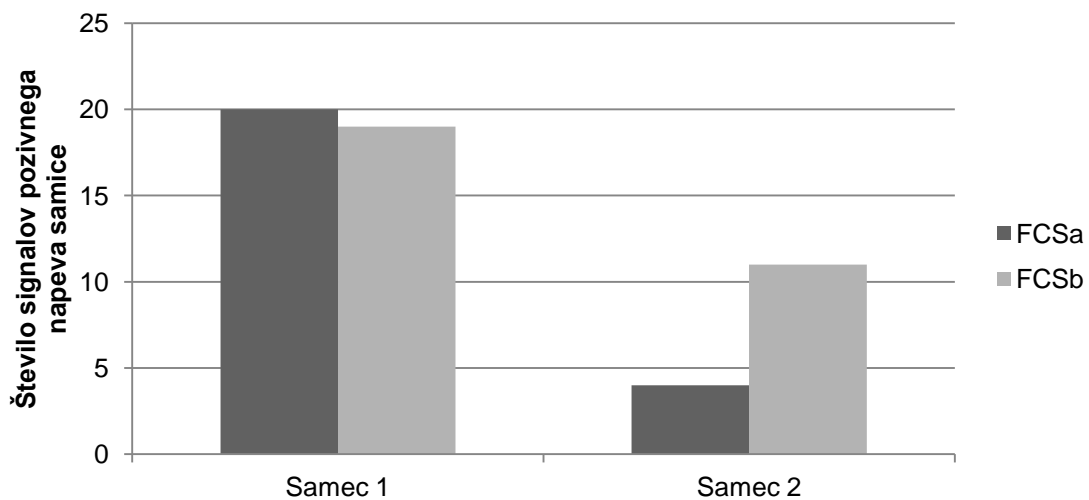
Slika 29 prikazuje primerjavo v številu signalov pozivnega napeva samca MCSa glede na posamezen tip samičinega pozivnega napeva v primeru, da je ali pa da ni prišlo do kopulacije. Vidimo lahko, da je število MCSa signalov v odvisnosti od signalov FCSa, kjer ni prišlo do kopulacije, manjše od števila MCSa signalov, kjer je med poskusom prišlo do kopulacije. Medtem ko je vrednost signalov MCSa v odvisnosti od napeva samice FCSb pri izidu, kjer je do kopulacije prišlo, manjše, v primeru, ko do kopulacije ni prišlo, pa je število MCSa višje. To je zanimivo, saj smo glede na rezultate iz Slika 28 pričakovali, da bo pri izidu, kjer ni prišlo do kopulacije, število signalov pozivnega napeva samca MCSa v odvisnosti od pozivnega napeva FCSb še manjše. V tem primeru lahko hipotezo potrdimo, saj so vrednosti napeva MCSa v odvisnosti od napeva FCSb res nižje kot pri napevu FCSa. Pri tem pa se je odprlo vprašanje vzroka višje vrednosti v primeru, ko ni prišlo do kopulacije.

V naslednjem delu rezultatov smo primerjali pozivna napeva samice FCSa in FCSb ter samčev napev dvorjenja MCrS. V analizo smo vključili komunikacijo dveh parov in si izbrali dvanajst minutni interval posnetka za vsak par. V tem času smo beležili vse signale napeva dvorjenja (MCrS) obeh samcev, ki so bili prekinjeni z enim pozivnim napevom samice.



**Slika 30:** Prikaz primera, ko samica s pozivnim napevom FCSb prekine samčev napev dvorjenja MCrS, vendar pri tem nadaljuje in dokonča svoj napev.

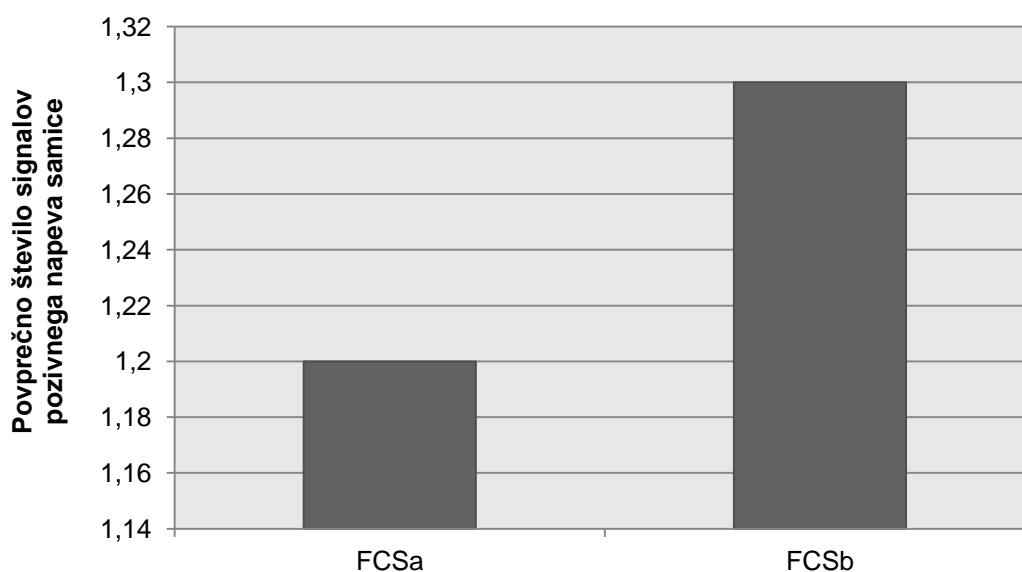
Dejstvo, da je signal samca prekinjen s strani samice, pomeni, da lahko samec med oddajanjem signala dvorjenja in samičino prekinitvijo (a) svoj signal predčasno zaključi, (b) nadaljuje z oddajanjem signala ali (c) oboje.



**Slika 31:** Število signalov pozivnega napeva samice na en signal samčevega napeva dvorjenja MCrS. N=4.

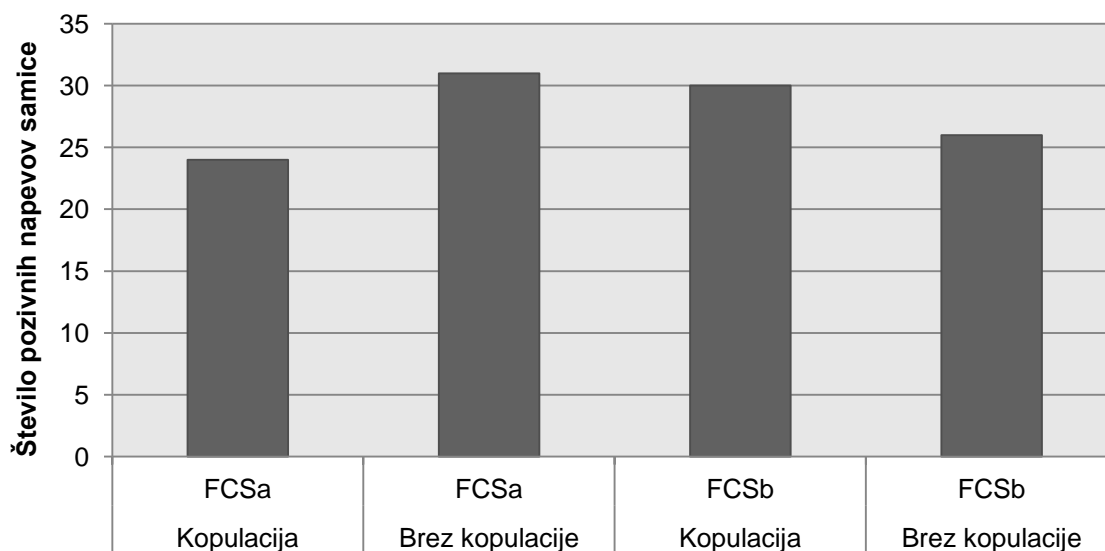
Na Slika 31 lahko vidimo, kateri pozivni napev samice največkrat prekine napev dvorjenja samca v časovnem intervalu dvanajstih minut. Glede na zgornje rezultate vidimo, da je bil samec ena največkrat prekinjen s pozivnim napevom samice FCSa, vendar razlika v številu med obema pozivnima napevoma samice ni velika. Medtem ko je samca 2 največkrat prekinil pozivni napev samice FCSb. Pri drugem samcu je samica pošiljala manjše število signalov, od tega je bilo občutno več napeva FCSb. Iz tega lahko sklepamo, da je bila samica pri samcu ena bolj motivirana za komunikacijo in parjenje, kot samica pri samcu dva.

Pri primerjavi obeh samcev (Slika 32) lahko vidimo, da pozivni napev samice FCSb največkrat prekine samčev napev dvorjenja.



**Slika 32:** Povprečno število signalov pozivnega napeva samice pri obeh samcih. *N* (število osebkov) = 4.

Iz tega lahko sklepamo, da če samica še ni pripravljena, z oddajanjem napeva FCSb odklonilno deluje na samca. Ti rezultati potrjujejo našo osnovno hipotezo o vlogi in pomenu drugega tipa pozivnega napeva samice.



**Različna pozivna napeva samice glede na končni izid dueta**

**Slika 33:** Primerjava v številu signalov pozivnih napevov samic (FCSa in FCSb), ki prekinejo samčev napev dvorjenja, glede na končni izid dueta.

Na Slika 33 lahko vidimo, da je delež odklonilnih pozivnih napevov (FCSb) pri kopulaciji višji od deleža pozivnega napeva samice FCSa. To pomeni, da je samica z odklonilnim

pozivnim napevom večkrat prekinila samčev napev dvorjenja, kot z običajnim pozivnim napevom (FCSa). Glede na primerjavo s posnetki primerov, kjer ni prišlo do kopulacije, lahko vidimo zanimiv preobrat, saj je delež FCSa v tem primeru višji od deleža FCSb. To pomeni, da bi v tem primeru hipotezo lahko ovrgli, saj tako imenovani odklonilni pozivni napev v tem primeru nima vpliva na samca. Zanimivo je tudi, da je delež napevov FCSa pri duetu, kjer ni prišlo do kopulacije, za 4 % višji od vrednosti napeva FCSb tam, kjer je do kopulacije prišlo.

Na podlagi rezultatov pri parih, pri katerih ni prišlo do kopulacije, menimo, da za to obstajajo tudi drugi razlogi. V času oddajanja pozivnega napeva lahko samica spremeni svojo odločitev za parjenje ter s spremenjenim pozivnim napevom to sporoči samcu, ki lahko prav tako iz tega ali drugega razloga spremeni svojo odločitev. Močno motivirani pari redno izmenjujejo signale posameznih napevov in hitro pristopijo h kopulaciji. Pri parih, pri katerih ni prišlo do kopulacije, smo registrirali tudi neredno oddajanje posameznih signalov ter manj stalno obliko alternacije. Hipotezo o zavrnitveni (zaviralni, inhibitorni) vlogi pozivnega napeva tipa FCSb lahko potrdimo, saj so rezultati s posnetkov, kjer je prišlo do kopulacije, jasno pokazali odklonilni vpliv pozivnega napeva na samca. To pomeni, da napev FCSb na samca vpliva odklonilno, vendar pa kopulacije ne prepreči.

V primeru, ko je prišlo do kopulacije pomeni, da sta bila oba osebka med komunikacijo zanjo motivirana. V primerih, kjer do kopulacije ni prišlo, lahko sklepamo, da je motivacija za kopulacijo pri enem in drugem partnerju padla. Posledično so vrednosti pozivnega napeva samice FCSa višje od vrednosti napeva FCSb, saj je samica morda oddajala signale v želji po kopulaciji z drugim samcem. Iz Slika 33 je razvidno, da je v primeru, ko ni prišlo do kopulacije, število napevov MCSa glede na pozivni napev samice FCSb višje, kot v paru, kjer je prišlo do kopulacije. Iz tega lahko sklepamo, da morda samica ni bila dovolj aktivna in je samec oddajal napeve drugim samicam na rastlini.

Med registracijo napevov smo spremljali odzive samca na različne napeve samice. Ob analizi napevov smo zaznali zanimivo vedenje samca ob določenem napevu samice. V večini primerov smo ugotovili, da napev FCSb spremeni vedenje samca.

Ta sprememba vedenja se kaže na sledeče načine:

(1) Obnemelost. Obnemelost samca pomeni, da prekine neprestano (kontinuirano) oddajanje signalov MCSa, ko se oglasi samica. Signali pozivnega napeva samice in samca imajo prilagojeno ponavljalno frekvenco, tako da se ne prekrivajo.

(2) Zmanjšana jakost in pogostost pulzov v pulznem vlaknu. V tem primeru samec kot prvi v duetu enakomerno oddaja signale napeva MCSa, samica pa odgovori s signali napeva FCSb. Slednje pri samcu povzroči oddajanje manj številnih in manj redno ponavljajočih se MCSa signalov nižje amplitude (intenzitete, jakosti).

Zgoraj navedenih opažanj kvantitativno ne moremo prikazati, so pa dobra osnova za prihodnje študije tega dela komunikacije med samcem in samico.

Začetne registracije napevov prve laboratorijske generacije v aprilu so bile izvedene na membrani zvočnika. Teh rezultatov pri analizah zaradi neprimerljivega okolja z naravnimi razmerami na rastlini nismo upoštevali. Ravna površina membrane in omejen prostor sta bila verjetno razloga za to, da samcem ni bilo potrebno iskati samice, torej je bila tudi sama pozivna faza oddajanja vibracijskih signalov nepotrebna.

Iz tega razloga so samci in samice kopulirali hitreje, kot na rastlini. Tudi kasnejši poskusi z osebki prve laboratorijske generacije na rastlini niso dali relevantnih rezultatov, tako da smo v nalogi prikazala samo rezultate analize vedenja in komunikacije prostoživeče populacije stenic. Kljub temu menimo, da bi bila ponovitev poskusov na membrani zvočnika v bolj kontroliranih pogojih koristna tudi zaradi zmanjšanja vpliva medija (neresonančne membrane zvočnika) na časovni ter amplitudni vzorec enega ali drugega tipa pozivnega napeva samice.

Miklas N. in sod. (2000) so v članku preiskovali vpliv medija (zvočnik ali rastlina) na samčev odziv na samičin pozivni napev pri vrsti *N. viridula*. En del raziskave je bil namenjen tudi ugotoviti razlike med obema tipoma pozivnega napeva samice. Ugotovili so, da signali, ki so krajši od 600 ms, zmanjšujejo odgovor samca. V študiji so bile zelo podobne vrednosti pri slovenski populaciji vrste *N. viridula* (500 ms). Pomanjkanje ali zmanjšan odziv na kratke signale so razložili s prisotnostjo podobnih kratkih pulzov v napevu MCS ali v rivalnem napevu, ti pa zavirajo dvorjenje drugih samcev. Ugotovili so tudi, da samci na umetni podlagi (zvočnik) oddajajo več napevov MCrS na odgovor pozivnega napeva samice FCSa, kot na pulzni vlak FCSb, saj je slednji sestavljen iz dobro ločenih kratkih signalov. V isti študiji so tudi potrdili, da razlika v številu napevov MCrS glede na pozivni napev samice FCS na naravni podlagi (fižol) izgine. Dolžina pulznega vlaka FCSa in FCSb je podobna in med prenosom kratkih pulzov napeva FCSb se ti podaljšajo, posledično pa pride do zlitja pulzov v enoten pulzni vlak.

## 5 ZAKLJUČKI

V raziskavi smo odgovorili na nekatera odprta vprašanja, ki so pomembna za razumevanje vedenja rastlinske stenice vrste *N. viridula*. Ugotovili smo, da značilnosti napevov večinoma presegajo vrednosti glede na prejšnje raziskave. Obenem smo opazili tudi razlike v značilnostih med prostoživečo in laboratorijsko generacijo.

Pri večini testiranih parov ni prišlo do kopulacije. V primeru kopulacije je do nje prišlo večinoma že po petih minutah testiranja na rastlini. Za hitrost kopulacije sta pomembna motiviranost partnerjev in razdalja med njima, ki določa dolžino trajanja pozivne faze. Slednja je odvisna tudi od hitrosti gibanja samca ter od uspeha določanja smeri gibanja proti samici na križiščih. Prav tako smo ugotovili, da komunikacija med pari ni vedno uspešna, kar pomeni, da imajo vibracijski napevi tudi odklonilno funkcijo. To smo s poskusi tudi potrdili. Pri parih, pri katerih je prišlo do kopulacije, se je izkazalo, da drugi tip pozivnega napeva samice FCSb zavira signale samčevih napevov in da na samca deluje odklonilno, vendar pa ne prepreči kopulacije.

S poskusom smo potrdili hipotezo, da drugi tip pozivnega napeva samice (FCSb) na samca vpliva odklonilno. Hipotezo, da pozivni napev samice spremeni vedenje samca, ne potrjujemo, saj v nalogi omenjenih opažanj ne moremo kvantitativno prikazati.

### 5.1 Nadaljnje raziskave

Že med samo raziskavo so prihajale na dan nove zamisli, ki pa jih v tako kratkem času raziskave nismo mogli eksperimentalno testirati. Za nadaljnje raziskave bi najprej ponovili poskus na zvočni membrani in pri tem primerjali značilnosti napevov na dveh različnih podlagah (zvočnik in rastlina). Obenem bi primerjali tudi prvo (prostoživečo) in drugo (laboratorijsko) generacijo, saj smo že tekom raziskave zaznali razlike.

Malce bolj nenavadna ideja za nadaljnje raziskave je izboljšanje modelnih rastlin za snemanje. Pri tem bi radi predvsem zmanjšali šume, ki nastajajo med snemanjem, tako da bi lahko tekom celotne raziskave prišli do odličnih posnetkov in posledično morda tudi boljših rezultatov. Seveda bi pri tem pazili, da se obnašanje na "novi" podlagi ne bi spremenilo in bi bilo tako, kot na sveži fižolovi sadiki.

Naslednja želja za nadaljnje raziskave je metoda za reguliranje populacije stenic v rastlinjakih oz. tam, kjer se množično razmnožujejo in pri tem povzročajo ekonomsko škodo. Najprej bi dosedanje delo nadgradili (vpliv pozivnega napeva stenice FCSb), pri tem bi za analizo vzeli večjo populacijo z več zaporednimi generacijami, nato bi zbrali posnetke vseh odklonilnih napevov samic (FCSb) in jih v manjšem prostoru dnevno predvajali odraslim osebkom. Pri tem bi opazovali prirast populacije v prostoru z zavrnitvenim napevom in v prostoru brez napeva. Prirast obeh populacij bi med sabo primerjali.

## 6 VIRI

Barth F.G. 2002. A Spider`s World: Senses and Behavior. Berlin, Germany: *Springer-Verlag*: 387 str.

Bradbury J.W., Vehrencamp S.L. 1998. Principles of animal communication. Sunderland, *Sinauer Associates*: 882 str.

Borges M., Jepson P., Howse P. 1987. Long-range mate location and close-range courtship behaviour of the green stink bug *Nezara viridula* and its mediation by sex pheromones. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 44, 3:205-212

Brennan B.M., Chang F., Mitchell W.C. 1977. Physiological Effects on Sex Pheromone Communication in the Southern Green Stink Bug, *Nezara viridula*. *Environmental Entomology*, 6, 1: 169-173

Broughton W.B. 1963. Method and bio-acoustic terminology V: Acoustic behaviour of animals. Busnel R.G. (ed.). Amsterdam, *Elsevier*: 3-24.

Cocroft R.B., Tieu T.D., Hoy R.R., Miles R.N. 2000. Directionality in the mechanical response to substrate vibration in a treehopper (Hemiptera: Membracidae: *Umberonia crassicornis*). *Journal of Comparative Physiology A*, 186: 195-705

Cocroft R.B., Rodriguez R.L. 2005. The Behavioral Ecology of Insect Vibrational Communication. *BioScience*, 55, 4: 323-334

Čokl A. 1983. Functional properties of vibroreceptors in the legs of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera, Pentatomidae). *Journal of Comparative Physiology* 150:261-269

Čokl A. 2006. Stink bug communication through plants during mating. *Razprave IV. razreda, SAZU*, 200: 7-35

Čokl A. 2008. Stink bug interaction with host plants during communication. *Journal of Insect Physiology*, 54, 7: 1113-1124

Čokl A., Gogala M., Blažević A. 1978. Principles of sound recognition in three Pentatomidae bug species (Heteroptera). *Biološki vestnik* 30: 1-20

Čokl A., Virant-Doberlet M., McDowell A. 1999. Vibrational directionality in the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.), is mediated by female song. *Animal behaviour*, 58, 6: 1277-1283

Čokl A., Virant-Doberlet M., Stritih N. 2000a. Temporal and spectral properties of the songs of the southern green stink bug *Nezara viridula* (L.) from Slovenia. *Pflügers Archiv*, 439, 1: 168-170

Čokl A., Virant-Doberlet M., Stritih N. 2000b. The structure and function of songs emitted by southern green stink bugs from Brazil, Florida, Italy and Slovenia. *Physiological Entomology*, 25, 2: 196-205

Čokl A., Virant-Doberlet M. 2003. Communication With Substrate-Borne Signals In Small Plant-Dwelling Insects. *Annual Review of Entomology*, 48, 1: 29-50

Čokl A., Prešeren J., Virant-Doberlet M., Bagwell G.J., Millar J.G. 2004. Vibratory signals of the harlequin bug and their transmission through plants. *Physiological Entomology*, 29, 4: 372 - 380

Čokl A., Zorović M., Žunič A., Virant-Doberlet M. 2005. Tuning of host plants with vibratory songs of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Experimental Biology*, 208, 8: 1481-1488

Čokl A., Zorović M., Millar J.G. 2007. Vibrational communication along plants by the stink bugs *Nezara viridula* and *Murgantia histrionica*. *Behavioural Processes*, 75, 1: 40-54

Čokl A., Millar J.G. 2009. Manipulation of insect signaling for monitoring and control of pest insects. V: *Biorational control of arthropod pests. Application and resistance management*. Ishaaya I., Horowitz A.R. (ur.). Dordrecht, Heidelberg, London, New York. Springer: 279-316

Čokl A., Žunič A., Virant-Doberlet M. 2011. Predatory bug *Picromerus bidens* communicates at different frequency levels. *Central European Journal of Biology*, 6, 3: 431-439

Devetak D., Gogala M., Čokl A. 1978. Prispevek k fiziologiji vibroreceptorjev stenice iz družine Cydnidae (Heteroptera). *Biološki vestnik*, 26, 2: 131-139

Ewing A.W. 1989. *Arthropod Bioacoustics: Neurobiology and Behaviour*. Edinburgh, Edinburgh University Press: 260 str.

Gogala A., Gogala M. 1989. Stenice Slovenije II. (Insecta: Heteroptera). *Biološki vestnik*, 37, 1: 11-44

Gogala M. 2006. Vibratory Signals Produced by Heteroptera-Pentatomorpha and Cimicomorpha. V: *Insect sounds and communication: physiology, behaviour, ecology and evolution*. Claridge M.F., Drosopolous S. (eds.) Boca Raton: 275-296

Greenfield D., Lonsdale D. 2002. Mortality and growth of juvenile hard clams *Mercenaria mercenaria* during brown tide. *Marine Biology*, 141, 6: 1045-1050

Hill P.S. 2008. *Vibrational Communication in Animals*. Harvard, Harvard University Press: 261 str.

Horowitz A.R., Ellsworth P.C., Ishaaya I. 2009. Biorational pest control - an overview. V: *Biorational control of arthropod pests: application and resistance management*. Ishaaya I., Horowitz A.R. (ur.). Dordrecht, Heidelberg, London, New York. Springer: 1-20

Kavar T., Pavlovčič P., Sušnik S., Meglič V., Virant-Doberlet M. 2006. Genetic differentiation of geographically separated populations of the southern green stink bug *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Bulletin of Entomological Research*, 96, 2: 117-128

Kavčič A. 2014. Prepoznavanje plenilcev na osnovi vibracijskih signalov pri stenici *Nezara viridula* (L.). *Doktorska disertacija*. Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani.



- Kiritani K. 2006. Predicting impacts of global warming on population dynamics and distribution of arthropods in Japan. *Population Ecology*, 48, 1: 5-12
- Kiritani K. 2011. Impacts of global warming on *Nezara viridula* and its native congeneric species. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14, 2: 221-226
- Kuštor V. 1989. Aktivnost mišic pri vibracijskem organu stenice *Nezara viridula* (L.) *Magistrsko delo*. Ljubljana, Univerza v Ljubljani: 68 str.
- Lockwood J.A., Story R.N. 1987. Defensive secretion of the southern green stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) as an alarm pheromone. *Annals of the Entomological Society of America*, 80, 5: 686-691
- Magal C., Schöller M., Tautz J., Casas J. 2000. The role of leaf structure in vibration propagation. *Journal of the Acoustical Societys of America* 108, 5: 2412-2418
- Markl H. 1983. Vibrational Communication. V: Neuroethology and Behavioral Physiology. Huber F., Markl H. (eds.). *Berlin, Springer Berlin Heidelberg*: 332-353
- McLain D.K. 1980. Female choice and the adaptive significance of prolonged copulation in *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Psyche*, 87, 3-4: 325-336
- McPherson J.E., McPherson R.M. 2000. General introduction to stink bugs. In: Stink Bugs of Economic Importance in America North of Mexico. *Boca Raton, CRC Press*: 1-6
- Michelsen A., Fink F., Gogala M., Traue D. 1982. Plants as transmission channels for insect vibrational songs. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 11, 4: 269-281
- Michieli Š., Žener B. 1968. Der Sauerstoffverbrauch verschiedener Farbstadien bei der Wanze *Nezara viridula* (L.). *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, 58, 2: 223-224
- Miklas N., Stritih N., Čokl A., Virant-Doberlet M., Renou M. 2001. The Influence of Substrate on Male Responsiveness to the Female Calling Song in *Nezara viridula*. *Journal of Insect Behavior*, 14, 3: 313-332
- Miklas N., Čokl A., Renou M., Virant-Doberlet M. 2003. Variability of vibratory signals and mate choice in the southern green stink bug. *Behavioural Processes*, 61: 131-142
- Ota D., Čokl A. 1991. Mate location in the southern green stink bug *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae), mediated through substrate-borne signals on ivy. *Journal of Insect Behavior*, 4, 4: 441-447
- Panizzi A.R. 1997. Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status on crops. *Annual Review of Entomology*, 42, 1: 99-122
- Panizzi A.R., Hirose E. 1995. Seasonal body weight, lipid content and impact of starvation and water stress on adult survivorship and longevity of *Nezara viridula* and *Euschistus heros*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 76, 3: 247-253

- Panizzi A.R., McPherson J.E., James D.G., Javahery M., McPherson R.M. 2000. Stink bugs (Pentatomidae). In: Heteroptera of economic Importance. Schaefer C.W., Panizzi A.R. (eds.). *Boca Raton, CRC Press*: 421-747
- Prevorčnik S. 2010. Navodila za vaje iz zoologije nevretenčarjev. *Študijsko gradivo za 2. Letnik študija Biologije na Biotehniški fakulteti*. Scripta.
- Ray J. 1710. *Historia Insectorum*. London, Churchill: 424 str.
- Salini S. 2011. Polymorphism in southern green stink bug *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Current Biotica*, 4, 4: 482-485
- Schaefer C.W., Panizzi A.R. 2000. Economic importance of Heteroptera: a general view. V: Heteroptera of Economic Importance. Schaefer C.W., Panizzi A.R. (eds.). *Boca Raton, CRC Press*: 3-10
- Theiß J. 1982. Generation and radiation of sound by stridulating water insects as exemplified by the corixids. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 10, 3: 225-235
- Todd J.W. 1989. Ecology and Behavior of *Nezara viridula*. *Annual Review of Entomology*, 34, 1: 273-292
- Virant-Doberlet M., Čokl A. 2004. Vibrational communication in insects. *Neotropical Entomology*, 33, 2: 121-134
- Yack J.E. 2004. The structure and function of auditory chordotonal organs in insects. *Microscopy Research and Technique*, 63: 315-337
- Zgonik V., Čokl A. 2014. The role of signals of different modalities in initiating vibratory communication in *Nezara viridula*. *Central European Journal of Biology*, 9, 2: 200-211
- Zgonik V. 2014. Ugotavljanje prožilcev pozivnega in paritvenega napeva samice stenice *Nezara viridula* L. (Heteroptera Pentatomidae). *Doktorska disertacija*. Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani.
- Žunič A., Čokl A., Virant-Doberlet M., Millar J.G. 2008. Communication with signals produced by abdominal vibration, tremulation, and percussion in *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 101, 6: 1169-1178
- Žunič A. 2010. Effects of selected neurotoxic insecticides on vibrational communication of the southern green stink bug (*Nezara viridula*, Heteroptera: Pentatomidae). *Dissertation*, Univerza v Novi Gorici.
- Žunič A., Virant-Doberlet M., Čokl A. 2011. Species Recognition During Substrate-Borne Communication in *Nezara viridula* (L.) (Pentatomidae: Heteroptera). *Journal of Insect Behavior*, 24, 6: 468-487