

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Anka KUHELJ

SPOLNI TEKMECI V STRATEGIJI
SPORAZUMEVANJA ZELENE SMRDLJIVKE
(*Nezara viridula*, Pentatomidae) IN VRST MALIH
ŠKRŽATKOV IZ RODU *Aphrodes* (Cicadellidae)

DOKTORSKA DISERTACIJA

Ljubljana, 2015

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Anka KUHELJ

SPOLNI TEKMECI V STRATEGIJI SPORAZUMEVANJA ZELENE
SMRDLJIVKE (*Nezara viridula*, Pentatomidae) IN VRST MALIH
ŠKRŽATKOV IZ RODU *Aphrodes* (Cicadellidae)

DOKTORSKA DISERTACIJA

SEXUAL COMPETITORS IN THE COMMUNICATION STRATEGY OF
THE SOUTHERN GREEN STINK BUG (*Nezara viridula*, Pentatomidae)
AND THE LEAFHOPPERS OF THE GENUS *Aphrodes* (Cicadellidae)

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana, 2015

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete in sklepa Komisije za doktorski študij Univerze v Ljubljani z dne 23. 2. 2015 je bilo potrjeno, da kandidatka Anka Kuhelj izpolnjuje pogoje za opravljanje doktorata znanosti na Interdisciplinarnem doktorskem študijskem programu Bioznanosti, znanstveno področje Biologija. Doktorsko delo je bilo opravljeno v laboratorijih Oddelka za entomologijo in Oddelka za raziskovanje sladkovodnih in kopenskih ekosistemov Nacionalnega inštituta za biologijo. Za mentorico je bila imenovana doc. dr. Meta Virant-Doberlet.

Komisija za oceno in zagovor:

- Predsednik: prof. dr. Janko BOŽIČ
 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
- Član: prof. dr. Andrej ČOKL
 Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za entomologijo
- Član: prof. dr. Dušan DEVETAK
 Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko,
 Oddelek za biologijo

Datum zagovora: 15. 5. 2015

Podpisana izjavljam, da je disertacija rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Anka Kuhelj

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)

- ŠD Dd
DK 591.18:595.75(043.3)=163.6
KG *Aphrodes/Cicadellidae/Nezara viridula/Pentatomidae/vibracijsko komunikacijsko omrežje/spolni tekmeči*
AV KUHELJ, Anka, univ.dipl. biol.
SA VIRANT-DOBERLET, Meta (mentorica)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Interdisciplinarni doktorski študijski program Bioznanosti, znanstveno področje: biologija
LI 2015
IN SPOLNI TEKMEČI V STRATEGIJI SPORAZUMEVANJA ZELENE SMRDLJIVKE (*Nezara viridula*, Pentatomidae) IN VRST MALIH ŠKRŽATKOV IZ RODU *Aphrodes* (Cicadellidae)
TD Doktorska disertacija
OP XVI, 131 str., 20 pregl., 66 sl., 1 pril., 205 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Raziskovali smo vlogo rivalnega vedenja v vibracijski komunikaciji pri dveh predstavnikih iz skupine polkrilcev (Hemiptera), ki se ločita v interaktivnosti sporazumevanja med samcem in samico. Pri stenici vrste *Nezara viridula* (Pentatomidae), kjer samica nepretrgoma dlje časa oddaja pozivni napev, je v prisotnosti dveh samcev, na rastlini samica sama poiskala partnerja, s katerim se je parila. Pri tej vrsti so samci v vlogi vsiljivca na osnovi informacije, ki so jo pridobili s prisluškovanjem vibracijski interakciji rivala s samico, prilagodili svoj vedenjski odziv (oddajanje rivalnih signalov ali tiho približevanje samici). Pri škržatku vrste *Aphrodes makarovi* (Cicadellidae), kjer si samec in samica izmenjujeta vibracijske signale v natančno koordiniranem duetu, in mora samec s pozivnim napevom vzbuditi vsak odziv samice, samice v prisotnosti dveh samcev odgovarjajo obema in se pariyo s samcem, ki jo prvi najde. Rivalno vedenje je pri škržatku izraženo kot oddajanje rivalnih signalov in kot tiho približevanje samici. Dolžina odzivnega napeva samice vrste *A. makarovi*, ki je ključna za hitro lokalizacijo samice, je izredno variabilna in ni pogojena s preferenco samic za bolj kompleksen ali daljši pozivni napev samca, temveč z individualnimi razlikami samic pri oddajanju odzivnih napevov. Samci škržatka pri oddajanju pozivnih napevov in rivalnih signalov porabijo približno 12,4-krat več energije kot v mirovanju. Več napora samci vložijo v oddajanje pozivnih napevov, večja je verjetnost, da v krajšem času najdejo samico. Samci, ki so v zgodnjem življenjskem obdobju vložili več napora v oddajanje pozivnih napevov, so imeli krajšo življenjsko dobo. Stradani samci sklenejo kompromis med nadomeščanjem kratkotrajnih energetske rezerv in mobilnostjo, kar je pomembno v prisotnosti tekmeča, ko je odločilno, kateri samec prej najde samico.

KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)

ND Dd
DC 591.18:595.75(043.3)=163.6
CX *Aphrodes/Cicadellidae/Nezara viridula/Pentatomidae/vibrational communication network/sexual competitors*
AU KUHELJ, Anka
AA VIRANT-DOBERLET, Meta (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Interdisciplinary Doctoral Programme in Biosciences, Field: Biology
PY 2015
TI SEXUAL COMPETITORS IN THE COMMUNICATION STRATEGY OF THE SOUTHERN GREEN STINK BUG (*Nezara viridula*, Pentatomidae) AND THE LEAFHOPPERS OF THE GENUS *Aphrodes* (Cicadellidae)
DT Doctoral dissertation
NO XVI, 131 p., 20 tab., 66 fig., 1 ann., 205 ref.
LA sl
AL sl/en
AB We investigated the role of rivalry behaviour in vibrational communication of two hemipteran insects which differ fundamentally in regard to interactivity of the male-female communication. In the stink bug *Nezara viridula* (Pentatomidae) in which female is emitting calling song continuously, in the presence of two males, females searched and located their mates. In this species intruding males obtained by eavesdropping on interaction between rival and the female the information that enabled them to adapt their behaviour (emission of rivalry signals or silent approach to the pair). In the leafhopper *Aphrodes makarovi* (Cicadellidae) male and female exchange vibrational signals in a precisely coordinated duet and male has to initiate each exchange by emission of advertisement call, in the presence of two males, female responds to both and mate with the one which locates her first. Rivalry behaviour in leafhopper is expressed as emission of rivalry signals and as silent approach to the female. Duration of female reply in *A. makarovi* that is crucial for quick location of the female, is highly variable and does not reflect female preferences for complex and long male advertisement call and likely results from intrinsic individual differences between females. Vibrational signalling in *A. makarovi* is around 12.4 times energetically more demanding than resting. Higher calling rate significantly increases the probability to locate the female quickly, however, males with higher calling effort in early life die younger. Starved males face a trade-off between replacing (or supplementing) the short-term energy storage and male mobility and such trade-off may be important in the presence of a rival when ability to locate the female is crucial.

KAZALO VSEBINE

Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation.	IV
Kazalo vsebine.	V
Kazalo preglednic.	VIII
Kazalo slik.	X
Priloge.	XV
Okrajšave in simboli.	XVI
1 UVOD.....	1
1.1 SPORAZUMEVANJE Z VIBRACIJSKIMI SIGNALI.....	3
1.1.1 Duet	3
1.1.2 Poraba energije za proizvodnjo vibracijskih signalov	4
1.1.3 Rivalno vedenje	4
1.2 STENICA <i>Nezara viridula</i>	7
1.2.1 Spolno vedenje zelene smrdljivke.....	7
1.2.1.1 Vibracijska komunikacija zelene smrdljivke	8
1.3 ŠKRŽATEK <i>Aphrodes makarovi</i>	9
1.3.1 Spolno vedenje škržatka <i>A. makarovi</i>.....	10
1.3.1.1 Vibracijska komunikacije škržatka vrste <i>A. makarovi</i>	11
1.4 NAMEN DELA IN HIPOTEZE	12
2 MATERIALI IN METODE.....	15
2.1 VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V ENOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU.....	15
2.1.1 Poskusne živali	15
2.1.2 Postavitev vedenjskih poskusov.....	15
2.1.3 Živi trio: 2 samca, 1 samica.....	16
2.1.4 Playback trio: 2 samca, posneta samica.....	17
2.1.5 Odziv samca na simulirane rivalne situacije	17
2.2 VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V DVOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU.....	20
2.2.1 Poskusne živali in postavitev vedenjskih poskusov.....	20
2.2.1.1 Poskusne živali.....	20
2.2.1.2 Postavitev vedenjskih poskusov	20
2.2.2 Živi trio: 2 samca, 1 samica.....	21
2.2.3 Playback trio: 1 samec, posnet samec, posneta samica	22
2.2.3.1 Analize	23
2.2.4 Dinamika interakcij oddajnik-sprejemnik v duetu in njen vpliv na rivalno vedenje	24
2.2.4.1 Vpliv pozivnega napeva samca na odzivni napev samice	24
2.2.4.1.1 Vpliv kompleksnosti pozivnega napeva samca na odzivni napev samice.....	24
2.2.4.1.2 Vpliv dolžine pozivnega napeva samca na dolžino odzivnega napeva samice ..	25
2.2.4.2 Vpliv pozivnega napeva samice na oglašanje in iskalno vedenje samca.....	27
2.2.4.2.1 Analize	28
2.2.5 Odziv partnerjev v duetu na rivalni signal.....	29
2.2.5.1 Odziv samice na rivalni signal	29

2.2.5.2	Odziv samca na rivalni signal	30
2.3	CENA ODDAJANJA VIBRACIJSKIH SIGNALOV PRI ŠKRŽATKU	
	VRSTE <i>A. makarovi</i>	31
2.3.1	Poskusne živali	31
2.3.2	Merjenje energetske porabe med oddajanjem vibracijskih signalov	32
2.3.2.1	Postavitev poskusov	32
2.3.2.2	Kalibracije	35
2.3.2.3	Analize	36
2.3.3	Določanje vpliva napora oddajanja pozivnih napevov na preživetje	37
2.3.3.1	Analize	37
2.3.4	Vpliv telesne kondicije na rivalno vedenje	38
2.3.4.1	Vpliv stradanja na spolno vedenje v dvojici	38
2.3.4.2	Vpliv stradanja na spolno vedenje v triu	39
3	REZULTATI	40
3.1	VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V ENOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU	40
3.1.1	Živi trio: 2 samca, 1 samica	40
3.1.2	Playback trio: 2 samca, posneta samica	40
3.1.3	Odziv samca na simulirane rivalne situacije	41
3.2	VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V DVOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU	44
3.2.1	Osnovne časovne in frekvenčne karakteristike vibracijskih napevov samcev vrste <i>A. makarovi</i>	44
3.2.2	Živi trio: 2 samca, 1 samica	48
3.2.3	Playback trio: 1 samec, posnet samec, posneta samica	51
3.2.4	Dinamika interakcij oddajnik-sprejemnik v duetu in njen vpliv na rivalno vedenje	55
3.2.4.1	Vpliv pozivnega napeva samca na odzivni napev samice	55
3.2.4.1.1	Vpliv kompleksnosti pozivnega napeva samca na odzivni napev samice	56
3.2.4.1.2	Vpliv dolžine pozivnega napeva samca na dolžino odzivnega napeva samice ..	58
3.2.4.2	Vpliv pozivnega napeva samice na oglašanje in iskalno vedenje samca	61
3.2.4.2.1	Vpliv dolžine odzivnega napeva	61
3.2.4.2.2	Vpliv časovne koordinacije med pozovnim in odzivnim napevom	68
3.2.5	Odziv partnerjev v duetu na rivalni signal	70
3.2.5.1	Odziv samice na rivalni signal	70
3.2.5.2	Odziv samca na rivalni signal	73
3.3	CENA ODDAJANJA VIBRACIJSKIH SIGNALOV PRI ŠKRŽATKU	
	VRSTE <i>A. makarovi</i>	76
3.3.1	Merjenje energetske porabe med oddajanjem vibracijskih signalov	76
3.3.2	Vpliv napora oddajanja pozivnih napevov na preživetje	81
3.3.3	Vpliv telesne kondicije na rivalno vedenje	84
3.3.3.1	Vpliv stradanja na spolno vedenje v dvojici	84
3.3.3.2	Vpliv stradanja na spolno vedenje v triu	92
4	RAZPRAVA	100
4.1	VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V ENOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU	100

4.2	VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V DVOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU.....	102
4.2.1	Dinamika interakcij oddajnik-sprejemnik v duetu in njen vpliv na rivalno vedenje	102
4.2.1.1	Vpliv pozivnega napeva samca na odzivni napev samice	103
4.2.1.2	Vpliv pozivnega napeva samice na odzivni napev samca	104
4.3	CENA ODDAJANJA VIBRACIJSKIH SIGNALOV PRI ŠKRŽATKU VRSTE <i>A. makarovi</i>	107
4.3.1	Poraba energije za proizvodnjo vibracijskih signalov	107
4.3.2	Vpliv napora oddajanja pozivnih napevov na preživetje.....	109
4.3.3	Vpliv telesne kondicije na rivalno vedenje	111
5	SKLEPI.....	113
6	POVZETEK (SUMMARY)	115
6.1	POVZETEK.....	115
6.2	SUMMARY.....	117
7	VIRI.....	120

KAZALO PREGLEDNIC

Pregl. 1: Rivalne intrakcije med samci na osnovi vibracijskih signalov pri različnih skupinah členonožcev.	5
Pregl. 2: Rivalne situacije v različnih fazah sporazumevanja med samcem in samico, ki smo jih simulirali z bilateralnim predvajanjem vibracijskih signalov pri stenici vrste <i>Nezara viridula</i>	18
Pregl. 3: Kombinacije predvajanja sekvenc z različnimi dolžinami pozivnih napevov samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	26
Pregl. 4: Časovne karakteristike (dolžina in časovna koordinacija) odzivnih napevov samice <i>A. makarovi</i> , ki smo jih predvajali samcem v poskusih, s katerimi smo preverjali vpliv pozivnega napeva samice na petje in iskalno vedenje samca.	28
Pregl. 5: Časovne karakteristike različnih tipov vibracijskih signalov, ki jih oddajajo samci vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	46
Pregl. 6: Razlike v oglašanju, iskalnem vedenju in teži med samci vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ki so se v živih triih parili s samico (zmagovalci) in tistimi, ki se niso (poraženci).	50
Pregl. 7: Relativni delež, ki sta jo k variabilnosti izmerjenih parametrov odzivnega napeva samice prispevala predvajan dražljaj (elementi Me2, Me3, Me2Me3 in celoten poziv) in identiteta samice.	58
Pregl. 8: Relativni delež, ki sta ga k variabilnosti izmerjenih dolžin neprekritih delov odzivnih napevov samic v treh tretmajih, v katerih smo napeva enakih dolžin izmenoma predvajali iz dveh strani, prispevala dolžina pozivnega napeva samca in identiteta samice.	60
Pregl. 9: Relativni delež, ki sta ga k variabilnosti izmerjenih dolžin neprekritih delov odzivnih napevov samic, prispevala dolžina pozivnega napeva samca in identiteta samice.	61
Pregl. 10: Dolžine elementa Me3 v prvem oddanem pozivnem napevu samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , registriranem v testih za posamezen poskusni tretma.	67
Pregl. 11: Delež pozivnih napevov samca vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , pri katerih je dolžina elementa Me3 krajša kot v prvem oddanem klicu v posameznem testu.	67
Pregl. 12: Delež pozivnih napevov samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , pri katerih je dolžina elementa Me3 krajša, kot v prvem oddanem klicu v posameznem poskusu.	74
Pregl. 13: Podrobni podatki o posameznih samcih vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , vključenih v meritve porabe O ₂ v mirovanju in med hojo.	77
Pregl. 14: Podrobni podatki o posameznih samcih vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , vključenih v merjenje energetske porabe med oglašanjem.	78
Pregl. 15: Primerjava teže ter parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v 1. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali.	85
Pregl. 16: Primerjava teže ter parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v 2. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali.	91

Pregl. 17: Primerjava teže ter parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v 3. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali.	92
Pregl. 18: Primerjava parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v 1. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali.	93
Pregl. 19: Primerjava parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v 2. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali.	98
Pregl. 20: Primerjava parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v 3. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali.	99

KAZALO SLIK

Sl. 1:	Osnovne sestavne komponente sistema sporazumevanja v komunikacijskem omrežju.	2
Sl. 2:	Stenica vrste <i>Nezara viridula</i> . Samec (A) in samica (B).	7
Sl. 3:	Shematska predstavitev paritvenega vedenja stenica vrste <i>Nezara viridula</i>	8
Sl. 4:	Vibracijski signali stenice vrste <i>Nezara viridula</i>	9
Sl. 5:	Škržatka vrste <i>Aphrodes makarovi</i> . Samec (A) in samica (B).	10
Sl. 6:	Shematska predstavitev paritvenega vedenja škržatka vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	11
Sl. 7:	Duet med samcem in samico pri škržatku vrste <i>A. makarovi</i>	12
Sl. 8:	Shematska predstavitev postavitve vedenjskih poskusov s stenico vrste <i>Nezara viridula</i> v (A) poskusih s predvajanjem vibracijskih signalov in (B) v poskusih z živim triom.	15
Sl. 9:	Vibracijski signali, uporabljeni pri simulaciji različnih rivalnih situacij, ki ponazarjajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico pri stenici vrste <i>Nezara viridula</i>	18
Sl. 10:	Shematska predstavitev postavitve vedenjskih poskusov s škržatkom vrste <i>Aphrodes makarovi</i> na koprivi (A) in črni detelji (B).	21
Sl. 11:	Celoten pozivni napev samca vrste <i>Aphrodes makarovi</i> in njegovi sestavni elementi, ki smo jih predvajali samicam v poskusih, v katerih smo preverjali vpliv kompleksnosti pozivnega napeva samca na odzivni napev samice.	25
Sl. 12:	Originalni (M11) in modificirana pozivna napeva samca vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ki smo jih predvajali samicam v poskusih, v katerih smo preverjali vpliv dolžine pozivnega napeva samca na dolžino odzivnega napeva samice.	26
Sl. 13:	Shematska predstavitev postavitve vedenjskih poskusov na črni detelji, v katerih smo preverili vpliv rivalnih signalov na odzivanje samice vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	30
Sl. 14:	Po meri narejena nepredušna komora za merjenje porabe O ₂ pri škržatku vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	33
Sl. 15:	Postavitev poskusa za merjenje energetske porabe pri škržatku <i>Aphrodes makarovi</i>	33
Sl. 16:	Spremembe v izmerjeni koncentraciji O ₂ v povezavi s spremembo temperature v okolju.	35
Sl. 17:	Razlike v oddajanju (A) napevov dvorjenja (MCrS), (B) pozivnih napevov (MCS) in (C) rivalnih signalov (MRS) samcev vrste <i>Nezara viridula</i> v situacijah, ki simulirajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico (za podrobnejšo razlago glej preglednico 2).	42
Sl. 18:	Razlike v (A) latenci prvega odziva in (B) latenci prvega oddanega napeva dvorjenja (MCrS) samcev vrste <i>Nezara viridula</i> v situacijah, ki simulirajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico (za podrobnejšo razlago glej preglednico 2).	43

Sl. 19:	Primerjava deležev (A) išočih samcev, (B) samcev, ki so našli vir predvajanih vibracijskih signalov samice in (C) samcev, ki so locirali vir predvajanih vibracijskih signalov samca, vrste <i>Nezara viridula</i> v situacijah, ki simulirajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico (za podrobnejšo razlago glej preglednico 2).	43
Sl. 20:	Razlike v (A) latenci iskanja in (B) času iskanja vira vibracijskega signala samice samcev vrste <i>Nezara viridula</i> v situacijah, ki simulirajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico (za podrobnejšo razlago glej preglednico 2).	44
Sl. 21:	Reprezentativni primeri vibracijskih signalov, ki jih oddajajo samci vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	45
Sl. 22:	Primerjava aktivnosti oglašanja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v prisotnosti (F ₁₀) in odsotnosti (OF) odgovora samice.	46
Sl. 23:	Razlike v (A) dolžini in (B) ponavljalnem času pulzov v pozivnem napevu in rivalnih signalih, ki jih oddajajo samci vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	47
Sl. 24:	Izmerjene dolžine pozivnih napevov (rumeni krogi) in rivalnih signalov (črne pike), ki so jih oddajali samci vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ki so prikazani v okvirjih z ročaji v sliki 23A.	47
Sl. 25:	Primer rivalnega signala samca vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ki prekriva odzivni napev samice.	49
Sl. 26:	Razlike v oglašanju in iskalnem vedenju samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> med vsiljenem tekmovanjem (rival) in vzbujenim duetom s predvajanim odzivnim napevom samice (F ₁₀).	52
Sl. 27:	Razlike v oglašanju samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> med vsiljenim tekmovanjem (rival) in v vzbujenem duetu s samico (F ₁₀).	52
Sl. 28:	Razlike v dolžini Me3 elementa v pozivnem napevu samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> med vsiljenim tekmovanjem (rival) in v vzbujenem duetu s samico (F ₁₀).	53
Sl. 29:	Razlike v oglašanju samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> med vsiljenim tekmovanjem (rival) in v vzbujenem duetu s samico (duet F ₁₀).	54
Sl. 30:	Razlike v oddajanju rivalnih signalov samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> med vsiljenim tekmovanjem (rival) in v vzbujenem duetu s samico (duet F ₁₀).	55
Sl. 31:	Delež odgovorov samic vrste <i>Aphrodes makarovi</i> na celoten pozivni napev samcev (C) in na izolirane elemente, ki sestavljajo ta napev (Me0, Me1, Me2, Me3, Me2Me3).	56
Sl. 32:	Razlike v (A) latenci, (B) celotni dolžini in (C) neprekriti dolžini odzivnega napeva samice vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v odgovor na draženje s celotnim pozivnim napevom samca - C in izoliranimi elementi, ki sestavljajo ta napev (Me2, Me3, Me2Me3).	57
Sl. 33:	Vpliv različnih dolžin pozivnega napeva samca vrste <i>Aphrodes makarovi</i> na dolžino neprekrtega dela odzivnega napeva samice.	59
Sl. 34:	Vpliv različnih dolžin pozivnega napeva samca vrste <i>Aphrodes makarovi</i> na dolžino neprekrtega dela odzivnega napeva samice.	60
Sl. 35:	Vpliv dolžine in časovne koordinacije odzivnega napeva samice na oglašanje in iskanje partnerja pri samcih vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	64
Sl. 36:	Vpliv dolžine odzivnega napeva samice na stopnjo oglašanja pri išočih samcih vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	65

Sl. 37:	Vpliv dolžine in časovne koordinacije odzivnega napeva samice na čas iskanja vira odzivnega napeva pri samcih vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	65
Sl. 38:	Skupni čas oglašanja, potreben za lokalizacijo vira odzivnega napeva, za samce (A) in samice (B) vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v tretmajih z različnimi dolžinami odzivnega napeva.	66
Sl. 39:	Delež samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ki so oddajali rivalne signale v (A) tretmajih z različnimi dolžinami odzivnega napeva; (B) tretmajih z zamaknjenim odzivnim napevom.	68
Sl. 40:	Primerjava (A) povprečne latence odziva, (B) povprečne celotne dolžine in (C) povprečne dolžine neprekritega dela odzivnega napeva samice vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v kontrolnem tretmaju, kjer smo odziv samic vzbudili s predvajanjem samčevega pozivnega napeva, in v tretmaju, kjer smo samicam poleg vzbujevalnega pozivnega napeva predvajali še samčev rivalni signal (PN+R).	71
Sl. 41:	Primerjava (A) povprečne latence odziva, (B) povprečne celotne dolžine in (C) povprečne dolžine neprekritega dela odzivnega napeva v kontrolnem tretmaju (K), kjer smo odziv samic vzbudili s predvajanjem samčevega pozivnega napeva in v tretmaju, kjer smo samicam poleg vzbujevalnega pozivnega napeva predvajali še samčev rivalni signal (R) za posamezne samice vrste <i>Aphrodes makarovi</i>	73
Sl. 42:	Razlike v oglašanju in iskalnem vedenju samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ko smo jim v odgovor na oddan pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine (F_{10} , belo) ali pa odzivni napev, ki je bil delno prekrit z rivalnim signalom ($F_{10+rival}$, sivo).	74
Sl. 43:	Razlike v iskalnem vedenju samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ko smo jim v odgovor na oddan pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine (F_{10} , belo) ali pa odzivni napev, ki je bil delno prekrit z rivalnim signalom ($F_{10+rival}$, sivo).	75
Sl. 44:	(A) Delež samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ki so oddajali rivalne signale in (B) skupen čas oddajanja rivalnih signalov samcev, ki so našli vir odzivnih napevov, ko smo jim v odgovor na oddan pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine (F_{10} , belo) ali pa odzivni napev, ki je bil delno prekrit z rivalnim signalom ($F_{10+rival}$, sivo).	76
Sl. 45:	Stopnja dihanja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> (1-14) v 30-minutnih meritvah v odnosu do skupne dolžine oglašanja v tem času.	79
Sl. 46:	Primerjava stopnje dihanja v odnosu do skupne dolžine oglašanja v 15-minutnih odsekih s stimulacijo in brez nje.	80
Sl. 47:	Krivulje preživetja za kratkožive in dolgožive samce vrste <i>Aphrodes makarovi</i> (A) in povprečno število oddanih pozivnih napevov v 2. in 3. tednu ter 7. in 8. tednu za kratkožive in dolgožive samce (B).	81
Sl. 48:	Napor, ki so ga kratkoživi (belo) in dolgoživi (sivo) samci vrste <i>Aphrodes makarovi</i> vložili v oddajanje pozivnih napevov, prikazan po starosti.	82
Sl. 49:	Odnos med življenjsko dobo samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> in naporom, vložnim v oddajanje pozivnih napevov v zgodnjem življenjskem obdobju (2-5 teden), izraženim kot (A) povprečno število pozivnih napevov, oddanih tekom poskusa, (B) povprečna stopnja oglašanja na minuto poskusa in (C) povprečni skupni čas oglašanja v poskusu.	83

Sl. 50:	Odnos med življenjsko dobo samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> in naporom vloženim v oddajanje pozivnih napevov v poznem življenjskem obdobju (6-9 teden), izraženim kot (A) povprečno število pozivnih napevov, oddanih tekom poskusa, (B) povprečna stopnja oglašanja na minuto poskusa in (C) povprečni skupni čas oglašanja v poskusu.....	83
Sl. 51:	Napor, ki so ga samci vložili v oddajanje pozivnih napevov v poskusih, v katerih so samci vrste <i>Aphrodes makarovi</i> našli vir predvajanega odzivnega napeva samice v zgodnjem (modro) in poznem (rumeno) življenjskem obdobju ali pa ga niso našli.....	84
Sl. 52:	Teža samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v (A) kontrolni skupini in (B) skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino.	86
Sl. 53:	Primerjava (A) števila pozivajočih in (B) iščočih samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	87
Sl. 54:	Primerjava (A) dolžine poziva in (B) stopnje pozivanja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	87
Sl. 55:	Primerjava v dolžini Me3 elementa v pozivnem napevu samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v (A, rdeče) kontrolni skupini in (B, modro) skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino, v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	88
Sl. 56:	Primerjava števila samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ki so našli vir odzivnega napeva v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	89
Sl. 57:	Primerjava (A) latence iskanja in (B) časa iskanja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	89
Sl. 58:	Primerjava števila pozivnih napevov, ki so jih samci vrste <i>Aphrodes makarovi</i> oddali med iskanjem samice v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	90
Sl. 59:	Primerjava števila samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ki so oddajali rivalne signale v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	90
Sl. 60:	Primerjava (A) števila pozivajočih in (B) iščočih samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	94
Sl. 61:	Primerjava (A) dolžine poziva in (B) stopnje pozivanja samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	94

Sl. 62:	Primerjava v dolžini Me3 elementa v pozivnem napevu samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> v (A, rdeče) kontrolni skupini in (B, modro) skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino, v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	95
Sl. 63:	Primerjava števila samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ki so našli vir (A) odzivnega napeva in (B) pozivnega napeva v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	96
Sl. 64:	Primerjava (A) latence iskanja in (B) časa iskanja samcev vrste <i>A. makarovi</i> v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro) v posameznih dneh tridnevnega poskusa.	96
Sl. 65:	Primerjava števila pozivnih napevov, ki so jih samci vrste <i>A. makarovi</i> oddali med iskanjem samice v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	97
Sl. 66:	Primerjava števila samcev vrste <i>Aphrodes makarovi</i> , ki so oddajali rivalne signale v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa.....	98

KAZALO PRILOG

- PRILOGA A: Primerjave dolžin nepokritega dela odzivnega napeva samice vrste *Aphrodes makarovi* v poskusih, v katerih smo samicam izmenoma predvajali pozivne napeve samca različnih dolžin.

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

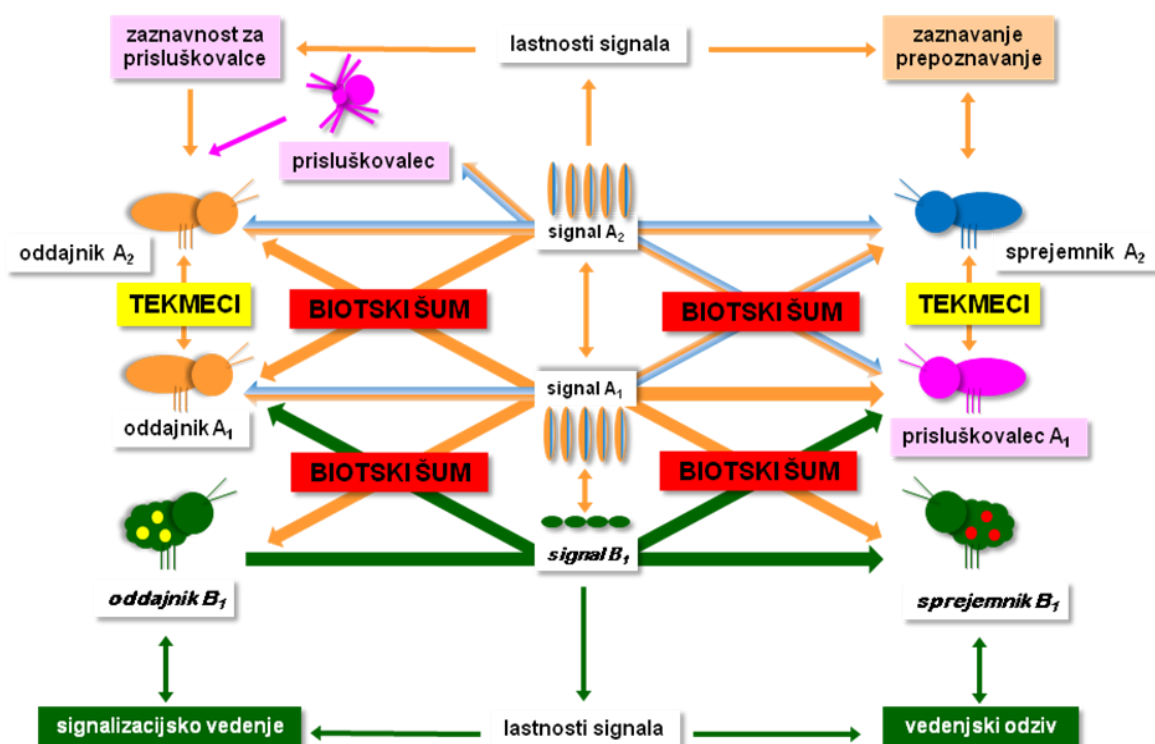
FCS	pozivni napev samice zelene smrdljivke
FCrS	napev dvorjenja samice zelene smrdljivke
MCS	pozivni napev samca zelene smrdljivke
MCrS	napev dvorjenja samca zelene smrdljivke
MRS	samčev rivalni napev

1 UVOD

Prenos informacije med osebki je del vsakega vedenja živali povezanega z razmnoževanjem in preživetjem (Shuster in Wade, 2003; Bradbury in Vehrencamp, 2011). Sporazumevanje v osnovi večinoma razumemo kot prenos informacije oz. signalov od oddajnika k sprejemniku. Signali, ki jih živali uporabljajo pri spolni komunikaciji, posredujejo sprejemniku informacijo o vrsti, spolu, stanju in dovzetnosti oddajnika ter hkrati omogočajo tudi njegovo lokalizacijo v prostoru (Gerhardt in Huber, 2002; Greenfield, 2002; Mendelson in Shaw, 2012; Wilkins in sod., 2013).

Okolje ima pomembno vlogo v evoluciji sistemov sporazumevanja. Le-ti naj bi se razvili tako, da naj bi zagotavljali učinkovit in zanesljiv prenos informacije med oddajnikom in sprejemnikom, ki mu je informacija namenjena. Za uspešno komunikacijo sta pomembna tako vedenje oddajnika in sprejemnika kot tudi struktura signalov (Endler 1993; Wiley, 2006). Reproductivno vedenje in signali, ki jih živali uporabljajo pri spolni komunikaciji, so podvrženi različnim virom selekcijskih pritiskov, ki nastanejo ne-le zaradi fizikalnih lastnosti življenjskega okolja, temveč tudi zaradi medsebojnih vplivov vseh osebkov (iste in drugih vrst) v okolju. Spolna selekcija je različno uspešna reprodukcija osebkov, ki je posledica ali neposredne kompeticije med pripadniki istega spola ali izbire spolnega partnerja (npr. Andersson, 1994; Panhuis in sod., 2001; Safran in sod., 2013). Ekološka selekcija je posledica interakcij osebkov z okoljem in vključuje tako vplive okolja (habitata), kot tudi vplive plenilcev in tekmecev, prisotnih v tem okolju (Rundle in Nosil, 2005). V skladu s hipotezo o vplivu senzoričnega pritiska (ang. sensory drive), se celoten sistem sporazumevanja tudi prilagaja lokalnemu okolju, tako da so signali bolj zaznavni in prepoznavni (npr. prevajanje signalov v okolju, uglašenos sprejemnika). V ta proces pa sta vpleteni tako naravna (ekološka) kot tudi spolna selekcija (Endler in Basolo, 1998; Boughman in sod., 2002).

Dolgo spregledana temeljna značilnost komunikacije je, da se v naravi vsako sporazumevanje odvija v komunikacijskem omrežju. To je v skupini osebkov, ki se nahajajo v dosegu oddanih signalov in ne-le izključno v paru oddajnik-sprejemnik (McGregor in Peake, 2000; McGregor 2005; Peake, 2005). V omrežju vsak oddan signal lahko zazna več sprejemnikov, hkrati pa vsak sprejemnik zazna signale več oddajnikov. Obenem lahko informacijo namenjeno zelenemu sprejemniku prestrežejo in izkoristijo tudi prisluškovalci, ki pri komunikaciji aktivno ne sodelujejo (rivali, plenilci, parazitoidi) (slika 1). Detajlna struktura in kompleksnost komunikacijskega omrežja je lahko različna in je odvisna tudi od tega, ali je komunikacija interaktivna ali ne (oz. ali signali potujejo v obe smeri in se vloga oddajnika in sprejemnika izmenjuje). Interakcije znotraj komunikacijskega omrežja, ki so posledica medsebojnih vplivov vseh osebkov, ki živijo v istem okolju (slika 1), prinašajo za oddajnike in sprejemnike niz prednosti in slabosti, ki imajo temeljne posledice za strategijo sporazumevanja. Oddajniki in sprejemniki imajo večjo možnost izbire partnerja (Otter in Ratcliffe, 2005; referenca žabe), medtem ko imajo prisluškovalci možnost poceni pridobivanja informacij (Zuk in Koluru, 1998; Kiflawi in Gray, 2000; Dabelsteen, 2005). Hkrati pa se v omrežju vzpostavijo rivalni odnosi, saj oddajniki tekmujejo za pozornost sprejemnikov, medtem ko sprejemniki tekmujejo za vire, ki jih predstavljajo oddajniki.



Slika 1: Osnovne sestavne komponente sistema sporazumevanja v komunikacijskem omrežju. Lastnosti signalov in vedenje oddajnika naj bi se razvili v smeri povečevanja verjetnosti pravilnega odgovora želenega sprejemnika in zmanjševanja detekcije s strani neželenih sprejemnikov (prisluskovalce). Selekcija daje prednost tistim signalom, ki se med prevajanjem v okolju manj dušijo in degradirajo. Signali naj bi omogočali razlikovanje od okoljskega biotskega šuma, ki nastane zaradi signalov drugih osebkov (iste ali drugih vrst) v okolju. Mehanizmi sprejema signalov in vedenje sprejemnika naj bi se razvili v smeri razlikovanja relevantnih signalov od biotskega šuma ter zagotavljanja primerne odgovora. Vedenjske strategije oddajnika in sprejemnika so lahko odvisne tudi od prisotnosti spolnih tekmecev. V interaktivni komunikaciji je isti osebek tako oddajnik kot tudi sprejemnik signalov. Prirejeno po Virant-Doberlet in sod., 2014).

Figure 1: Basic components of the design of a sexual communication system within network environment. Signal properties and signalling behaviour should evolve to increase the probability of correct responses from the intended receiver and minimize detection by the unintended receivers (exploiters: predators and parasitoids). Selection favours signals that experience less attenuation and degradation during the transmission through the environment. Signals should also evolve to minimize the effects of biotic noise that arises from signals of other individuals (conspecific or heterospecific) in the same habitat. Receiving mechanisms and receiver's behaviour should evolve to distinguish relevant signals from environmental noise and to respond appropriately. Behavioural strategies of both, the emitter and the receiver may depend on the presence of intrasexual competitors. In interactive communication, the same individual is emitter and the receiver. Adapted from Virant-Doberlet et al., 2014.

Tekmovanje med samci za dostop do samic je del mnogih sistemov razmnoževanja (Andersson, 1994). Ker samci izkazujejo večjo variabilnost v reproduktivnem uspehu kot samice, naj bi na splošno izkazovali tudi večjo plastičnost vedenja, povezanega z razmnoževanjem (Bretman in sod., 2011). Cena spolnih znakov, ki jo osebki plačujejo za povečan reproduktivni uspeh, je osrednjega pomena za razumevanje spolne selekcije, saj so pri izboru partnerja na splošno bolj privlačni kompleksni in pozornost zbujujoči signali (npr. Andersson, 1994; Johnstone, 1995; Kotiaho, 2001; Kokko in sod., 2006). Cena, ki jo samci plačujejo, je lahko takojšnja (direktna) in je posledica izpostavljenosti parazitom in

plenilcem (Kotiaho in sod. 1998b; Zuk in Kolluru, 1998; Woods in sod., 2007) ali pa odložena (indirektna), ki nastane zaradi negativnih posledic visoke porabe energije (Prestwich, 1994; Kotiaho in sod., 1998a) pri iskanju partnerja (ang. mate searching). Slednja vključuje ne-le mobilnost, ki je potrebna za povečanje signalizacijskega prostora (ang. signalling space) in lokalizacijo partnerja, temveč tudi razkazovanje za privabljanje partnerja in/ali oglaševanje (Kokko in Wong, 2007). Samci, ki zaradi visoke cene niso sposobni uspešno tekmovati za dostop do samic, pogosto privzamejo alternativne vedenjske taktike, ki jim omogočajo večji reproduktivni uspeh (Gross, 1996; Oliveira in sod., 2008; Bretman in sod., 2011).

Zvočni signali so še posebej primerni za določanje različnih virov selekcije na strategijo sporazumevanja, saj jih partnerji pogosto uporabljajo tudi kadar niso v neposredni bližini (Wilkins in sod., 2013). Sporazumevanje z zvokom je med živalmi široko razširjeno (Bradbury in Vehrencamp, 2011). Različne vidike sporazumevanja z zvokom, ki se prenaša preko zraka, so temeljito raziskovali pri različnih skupinah živali, kot so npr. žuželke, ribe, dvoživke, ptiči in sesalci (npr. Gerhardt in Huber, 2002; Hall, 2009; Pillay in Rymer, 2012; Bass and McKibben, 2003). Nedavno pa je pričel prevladovati pogled, da je najbolj razširjena oblika zvočne komunikacije pravzaprav sporazumevanje z zvočnimi signali, ki se prenašajo preko podlage (vibracijska komunikacija) (Virant-Doberlet in Čokl, 2004; Cocroft in Rodríguez, 2005; Hill, 2009; Cocroft in sod., 2014).

1.1 SPORAZUMEVANJE Z VIBRACIJSKIMI SIGNALI

Vibracijska komunikacija je najbolj razširjena med členonožci, najdemo pa jo tudi pri vretenčarjih, vključno s sesalci. Najnovejše raziskave kažejo, da se z zvokom, ki se prenaša preko podlage sporazumeva preko 220.000 vrst živali (Virant-Doberlet in Čokl, 2004; Cocroft in Rodríguez, 2005; Hill, 2009). Bolj kot za katerikoli drug način sporazumevanja velja za vibracijsko komunikacijo, da je rezultat medsebojnih vplivov fizikalnih lastnosti okolja (npr. prevajalnih lastnosti podlage), anatomije in fiziologije živali ter posledičnega vedenja (Virant-Doberlet in Čokl, 2004; Cocroft in Rodríguez, 2005). Dva glavna razloga za to, da je vibracijska komunikacija najslabše raziskan in razumljen način sporazumevanja sta, da smo se pomena in razširjenosti tega komunikacijskega kanala zavedli šele nedavno ter prepričanje, da je to privaten komunikacijski kanal, sestavljen izključno iz dvojice oddajnik – sprejemnik.

1.1.1 Duet

Koordinirano izmenjavo zvočnih signalov v spolni komunikaciji med partnerjema imenujemo duet. Takšna oblika sporazumevanja je bila opisana pri mnogih skupinah živali, vključno s členonožci (Bailey, 2003; Uhl in Elias, 2011), dvoživkami (Bush, 1997; Emerson in Boyd, 1999), ptiči (Hall, 2009) in sesalci (Geismann, 2000; Schulz in sod., 2008). Čeprav je komunikacija na osnovi dueta pri ptičih relativno redka, so jo prav pri tej skupini najbolj obširno raziskovali (pregled v Hall, 2004; Hall, 2009). Za duet je značilna predvidljiva in ponovljiva časovna usklajenost signalov. Časovna koordinacija je izražena tako v latenci odgovorov kot tudi v alternaciji ali prekrivanju signalov (Bailey, 2003; Hall, 2009). V komunikaciji različnih vrst ima lahko duet različno vlogo, hkrati pa ima lahko

več funkcij tudi znotraj ene vrste (Bailey, 2003; Mennill in Vehrencamp, 2008; Hall, 2009).

V nasprotju z večino komunikacijskih sistemov, ki temeljijo na zvočnih signalih, ki se prenašajo preko zraka, se partnerja, ki se sporazumevata z vibracijskimi signali, v večini primerov oglašata v duetu. Pri večini vrst se duet priče z oddajanjem pozivnega napeva samca, na katerega se spolno zrela, deviška samica odzove z odzivnim napevom. Slednji pri samcu sproži iskalno vedenje in samec se približa mirujoči samici, ki mu odgovarja (Claridge, 1985; Bailey, 2003; Virant-Doberlet in Čokl, 2004; Virant-Doberlet in sod., 2006; Rodríguez in Barbosa, 2014). Partnerja vzdržujeta duet dokler samec ne najde samice. Zgradbo in funkcijo vibracijskih duetov so le redko sistematično raziskovali. Pri tenčičaricah iz skupine *Chrysoperla carnea* samec in samica oddajata enake, vendar vrstno-specifične vibracijske signale (pregled v Henry in sod., 2013). Partnerja natančno prilagajata latenco odgovora in časovno pravilno usklajeni odgovori so pomembni pri prepoznavanju spola (Henry in Wells, 2009) in ohranjanju reproduktivne izolacije med vrstami (Henry in Wells, 2006). Izmenjava vibracijskih signalov ima ponovljiv, vrstno-specifičen vzorec tudi pri drugih vrstah žuželk, ki se sporazumevajo z zvokom, ki se prenaša preko podlage, čeprav so pri teh vrstah signali razlikujejo tudi med spoloma (npr. Percy in sod., 2006; Rodríguez in Cocroft, 2006; Stewart in Sandberg, 2006; Tishechkin, 2000). V paritvenih sistemih, ki temeljijo na duetu, vrstno- in spolno-specifični signali omogočajo identifikacijo (vrsto in spol) oddajnika ter prispevajo informacijo potrebno za lokalizacijo oddajnika (Bailey, 2003; Legendre in sod., 2012; Virant-Doberlet in sod., 2006; Polajnar in sod., 2014).

1.1.2 Poraba energije za proizvodnjo vibracijskih signalov

Sporazumevanje z zvokom, ki se prenaša preko podlage, je najbolj razširjena (Cocroft in Rodríguez, 2005) in po vsej verjetnosti izvorna oblika sporazumevanja z zvokom pri nevretenčarjih (Stumpner in Helversen, 2001; Greenfield, 2002). Medtem ko so porabo energije pri oddajanju zvočnih signalov pri žuželkah, ki se sporazumevajo z zvokom, ki se prenaša preko zraka, pogosto raziskovali (pregled v: Prestwich, 1994; Reinhold, 1999; Gerhardt in Huber, 2002), so do sedaj iz literature znani le trije primeri raziskav, kjer so pri členonožcih izmerili porabo energije pri oddajanju vibracijskih signalov: pri hrošču *Psammodes striatus* (Lighton, 1987), kobilici *Docidocercus gigliotosi* (Römer in sod., 2010) in pajku *Hygrolycosa rubrofasciata* (Kotiaho in sod., 1998a). Razlog za to ni le v splošnem podcenjevanju pomena vibracijske komunikacije, temveč tudi dejstvo, da je večina členonožcev, ki se sporazumevajo z vibracijskimi signali majhnih, ter da so njihovi signali za ljudi neslišni. Zaradi majhnosti je merjenje porabe energije posameznih osebkov (Lighton in Halsey, 2011) in spremljanje vibracijske aktivnosti težavno. *P. striatus* in *D. gigliotosi* sta veliki žuželki (več cm), bobnanje pri manj kot cm veliki *H. rubrofasciata* pa ima glasno, ljudem slišno zvočno komponento.

1.1.3 Rivalno vedenje

Mnoge rivalne interakcije v spolnem vedenju so možne le v sklopu komunikacijskega omrežja, v katerem signale, ki so namenjeni oglaševanju sprejemniku nasprotnega spola iste vrste, hkrati zazna vsaj še en osebek te vrste. Interakcije med samci na osnovi

vibracijskih signalov so opisali pri številnih členonožcih in tudi znotraj ene vrste, samci pa lahko privzamejo različne rivalne taktike (preglednica 1). Opisali so tudi potencialno rivalstvo med samicami (Percy in Day, 2005).

V sklopu raziskav vibracijske komunikacije pa so bile raziskave rivalnega vedenja kot takega deležne le malo pozornosti, in tudi če so rivalni signali v literaturi omenjeni, je vedenjski kontekst njihove uporabe pogosto nejasen (Virant-Doberlet in sod., 2014). Predvsem ni jasno, ali je rivalno vedenje povezano s prisluškovanjem znotrajvrstnemu sporazumevanju (npr. duetu med samcem in samico) ali za proženje tekmovalnega vedenja zadostuje zgolj prisotnost ali oglašanje potencialnega tekmeca.

Raziskave so pokazale, da je vibracijski duet med samcem in samico slabo zaščiten pred razdiranjem s strani tekmecev, ki temu duetu prisluškujejo. Pri ameriškem škržatku *Scaphoideus titanus* rivalni samci uporabljajo dve različni taktiki (Mazzoni in sod., 2009a, b). Ena je oddajanje motilnih signalov, ki prekrijejo odgovor samice in prekinejo duet, druga pa je satelitsko vedenje, ko se vsiljivci tiho približajo samci, ki se oglašajo v duetu z drugim samcem. Ti alternativni taktiki imata več prednosti in v triu (2 samca, ena samica) je večina parjenj pripadala vsiljivcem. Samci, ki vzdržujejo duet, se ne premikajo medtem, ko oddajajo dolge pozivne napeve. Vsiljivci pa lahko hodijo po rastlini ves čas, in tako lahko hitreje najdejo samico, saj se orientirajo proti odgovarjajoči samici.

Pri grbastem škržatku *Tylopelta gibbera* v trio situaciji samci oddajajo maskirne signale, ki v večini primerov prekrijejo pozivni napev drugega samca, včasih pa tudi odgovor samice (Legendre in sod., 2012). Samica odgovarja obema samcema, vendar redkeje odgovarja na zamaskirane pozivne napeve. Čas iskanja samice je bil v tem primeru daljši za oba samca.

Oddajanje motilnih signalov so opisali tudi pri grbastem škržatku *Ennya chrysur* (Miranda, 2006). Pri tej vrsti so predpostavili, da ti signali zmanjšajo verjetnost, da se bo samica sparila s prvim samcem, ki jo najde, ker posredujejo informacijo, da se na rastlini nahajajo še drugi samci, ki so mogoče lahko bolj privlačni.

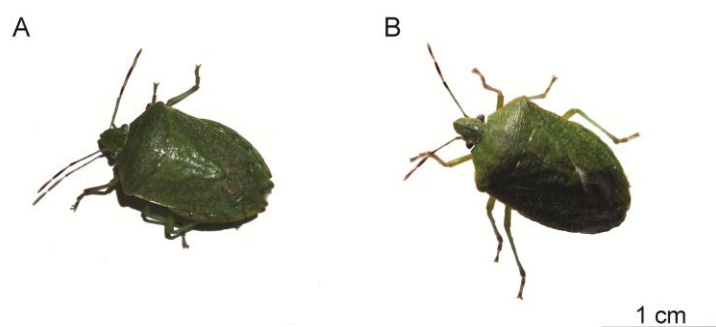
Preglednica 1: Rivalne intrakcije med samci na osnovi vibracijskih signalov pri različnih skupinah členonožcev. Prirejeno po Virant-Doberlet s sod., 2014.

Table 1: Male-male rivalry interactions based on vibrational signals in arthropods. Adapted from Virant-Doberlet et al., 2014.

Skupina	Rivalna interakcija	Referenca
Crustacea		
Ocypodidae	sinhronizirano oglašanje	Popper in sod., 2001; Clayton, 2005
Araneae		
Ctenidae	oddajanje rivalnih signalov vibrokriptično približanje rivalu	Schmitt in sod., 1992 Schmitt in sod., 1992
Lycosidae	oddajanje rivalnih signalov	Fernandez-Montraveta in Schmitt, 1994
Sparasidae	sinhronizirano oglašanje oddajanje rivalnih signalov	Kotiaho in sod., 2004 Henschel, 2002
Insecta		
Tettigoniidae	izmenjava signalov (spopad)	De Souza in sod., 2011
Cercopidae	alternacija pozivnih napevov	Ossiannilson, 1949
Cicadellidae	alternacija pozivnih napevov oddajanje rivalnih signalov razdiranje dueta	Ossiannilson, 1949; Tishechkin, 2000; Hunt and Morton, 2001 Booij, 1982; Heady in sod., 1986; Nuhardiyati in Bailey, 2005 Mazzoni in sod., 2009a, b
Membracidae	satelitsko vedenje oddajanje rivalnih signalov alternacija pozivnih napevov izmenjava signalov (spopad)	Mazzoni in sod., 2009a, b Cocroft in McNett, 2006 Cocroft in Rodriguez, 2005; Legendre in sod., 2012 Sullivan-Beckers in Cocroft, 2010
Delphacidae	razdiranje dueta alternacija pozivnih napevov oddajanje rivalnih signalov oddajanje agresivnih signalov razdiranje dueta	Miranda, 2006; Legendre in sod., 2012 Ossiannilson, 1949; Ichikawa, 1982 Ossiannilson, 1949 Ichikawa, 1982 Claridge in Morgan, 1993 Virant-Doberlet in Žežlina, 2007
Flatidae	alternacija pozivnih napevov	Čokl in sod., 2000; Blasioli Moraes, 2005; Bagwell in sod., 2008; Čokl in sod., 2011
Pentatomidae	oddajanje rivalnih signalov	Kanmiya, 2006
Chloropidae	prekinjanje oglaševanja	Kanmiya, 2006
Cypselosomatidae	prekinjanje oglaševanja	Kanmiya, 2006

1.2 STENICA *Nezara viridula*

Zelena smrdljivka (*Nezara viridula*, Linnaeus, 1758) sodi v družino Pentatomidae, ki je s preko 5000 vrstami ena največjih v redu Heteroptera (Hemiptera). Je kozmopolitska vrsta, ki domnevno izvira iz Afrike (Kavar in sod., 2006). V Sloveniji se pojavlja od obale do Kraškega roba in Nove Gorice, pred kratkim pa so jo našli tudi v okolici Tolmina, V Ljubljani in Kranju (Kuhelj, osebna opažanja). Velika je približno 1 cm (slika 2) in je izrazito polifagna vrsta, ki se prehranjuje s sesanjem rastlinskih sokov. Zaradi tega je prepoznana tudi kot ekonomsko pomemben škodljivec (Panizzi in sod., 2000). V zmernem pasu ima *N. viridula* največ štiri generacije na leto (Kiritani, 2006). Prezimijo kot odrasli osebki v stadiju dormance in se v tem obdobju ne pari (Harris in sod., 1984).

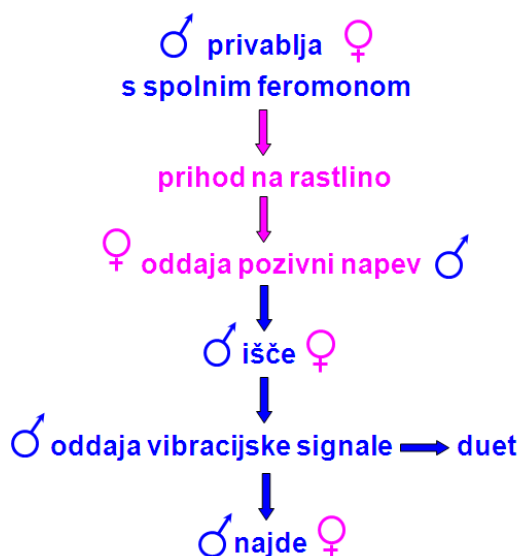


Slika 2: Stenica vrste *Nezara viridula*. Samec (A) in samica (B).
Figure 2: Stinkbug *Nezara viridula*. Male (A) and female (B).

1.2.1 Spolno vedenje zelene smrdljivke

V spolnem vedenju stenice *Nezara viridula* igrajo pomembno vlogo tako kemični (Miklas in sod., 2003b), kot tudi vibracijski signali (Čokl in sod., 1999, 2000) (slika 3).

Vrstno specifičen spolni feromon, ki ga oddajajo samci, privablja na rastlino, na kateri se nahaja spolno aktivni samec, druge osebke (Borges in sod., 1987; Brézot in sod., 1994; Tillman in sod., 2010). Samčev spolni feromon pri samicah sproži oddajanje vibracijskih signalov (Miklas in sod., 2003a; Zgonik in Čokl, 2014), ki pri samcu sprožijo oddajanje vibracijskih signalov in iskalno vedenje (oz. hojo po rastlini). Samec išče stacionarno samico in pri lokalizaciji samice na rastlini igrajo ključno vlogo samičini vibracijski signali (Čokl in sod., 1999).



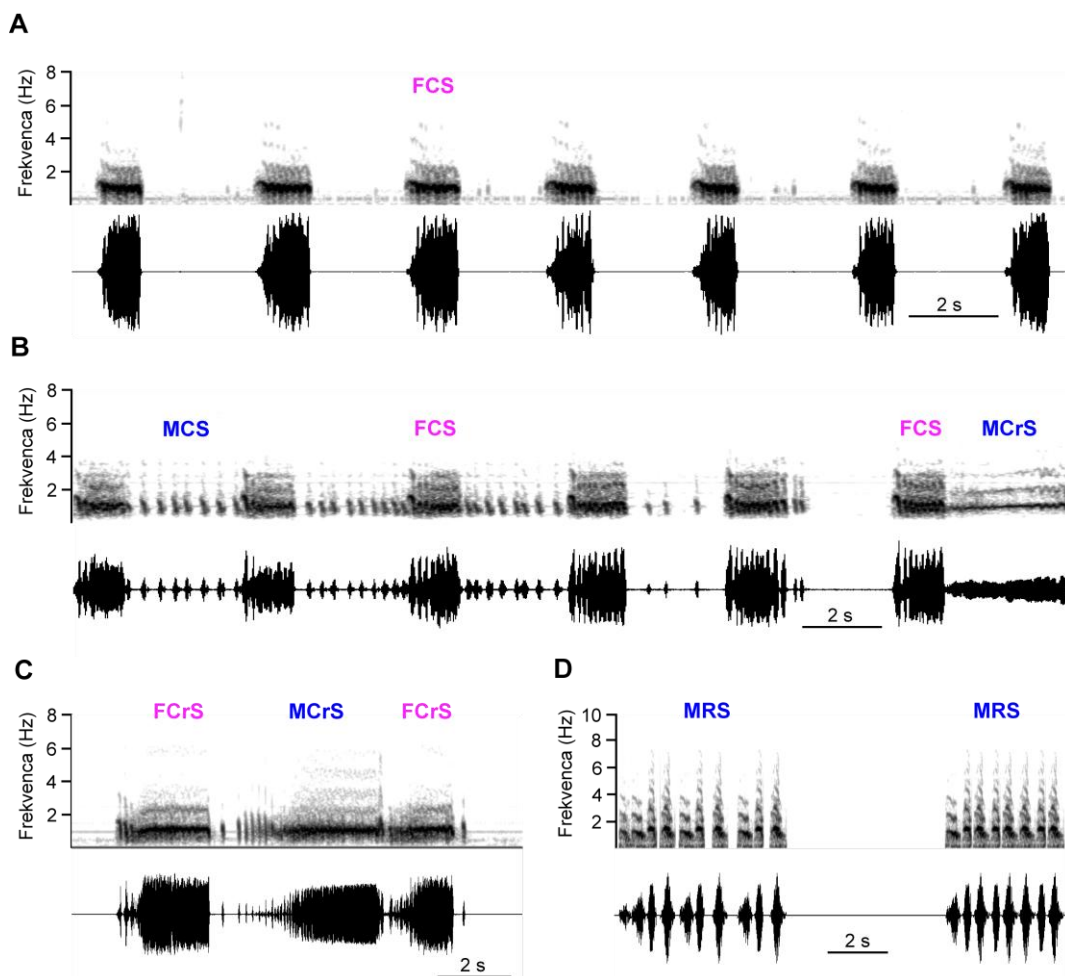
Slika 3: Shematska predstavitev paritvenega vedenja stenica vrste *Nezara viridula*.
Figure 3: Schematic presentation of reproductive behaviour of the stinkbug *Nezara viridula*.

1.2.1.1 Vibracijska komunikacija zelene smrdljivke

Stenica vrste *N. viridula* proizvaja vibracijske signale s tresenjem zadka (Čokl, 2008). Za te signale je značilno, da so nizkofrekvenčni in ozkopasovni z dominantnimi frekvencami okoli 100 Hz in višjimi harmoničnimi komponentami, ki ne presegajo 600 Hz (Čokl, 2008; Čokl in sod., 2000). Osnovni repertoar vibracijskih signalov vrste *N. viridula* vključuje pozivni napev samice (FCS) in samca (MCS), napev dvorjenja samice (FCrS) in samca (MCRs) ter samčev rivalni napev (MRS) (slika 4) (Čokl in sod., 2000). Pozivni napev, ki ga dlje časa neprekinjeno oddaja stacionarna samica, je zaporedje enakomerno ponavljajočih se pulzov oz. pulznih vlakov. Samec med iskanjem oddaja pozivni napev, ki ga sestavljajo krajši, ponavljajoči se pulzi in napev dvorjenja, ki ga tvori posamičen, daljši pulzni vlak (Čokl in sod., 2000a). Ko je samec že v bližini samice, le-ta prične oddajati napev dvorjenja, ki ga tako kot pri samcu sestavlja daljši, posamičen vlak pulzov (slika 4). Rivalni napev, ki ga tekmeči oddajajo v prisotnosti samice, sestavljajo krajši pulzi, ki jih rivali pogosto oddajajo v alternaciji (Čokl in sod., 2000). Čeprav se večina energije pulzov v rivalnih signalih tako kot pri drugih napevih nahaja pod 600 Hz, so ti pulzi izrazito frekvenčno modulirani in imajo bolj širokopasovno frekvenčno strukturo.

Kljub temu, da oba partnerja oddajata vibracijske napeve, vibracijska komunikacija pri zeleni smrdljivki v nekaterih pomembnih značilnosti spominja na enosmerni sistem sporazumevanja, ki je prisoten v sporazumevanju z zračnim zvokom pri murnih in mnogih kobilicah, kjer samec neprekinjeno poje in se neme samice približajo samcem (Gerhardt in Huber, 2002). Pri vrsti *N. viridula* samica neprekinjeno oddaja pozivni napev, ki ga sproži samčev feromon in ne samčevi vibracijski signali (Zgonik in Čokl, 2014). Tudi v odsotnosti samčevih vibracijskih napevov samice neprestano oddajajo svoj pozivni napev več minut. V začetni fazi vibracijske komunikacije se ne vzpostavi koordiniran, stereotipen duet (Žunič in sod., 2011). Pulzi v pozivnem napevu samice in pulzi v samčevem napevu

dvorjenja se pogosto prekrivajo in šele po daljši stimulaciji se vzpostavi ohlapna in nedosledna alternacija samičinih in samčevih pulzov oz. pulznih vlakov. Vloga samčevih vibracijskih signalov ni popolnoma jasna. Po vsej verjetnosti samici z njimi posredujejo informacijo, da se nahajajo na isti rastlini, in samica tako dlje časa oddaja pozivni napev, ki samcu omogoča, da jo na rastlini najde (Čokl in Bogataj, 1982; Čokl, 2008).



Slika 4: Vibracijski signali stenice vrste *Nezara viridula*. A: pozivni napev samice (FCS); B: pozivni napev samice (FCS) in samca (MCS) ter napev dvorjenja samca (MCRs); C: napev dvorjenja samice (FCrS) in samca (MCRs); D: rivalna napeva samcev (MRS).

Figure 4: Vibrational signals of the stinkbug *Nezara viridula*. A: female calling song (FCS); B: female (FCS) and male (MCS) calling song and male courtship song (MCRs); C: female (FCrS) and male (MCRs) courtship song; D: male rival songs (MRS).

1.3 ŠKRŽATEK *Aphrodes makarovi*

Škržatek vrste *Aphrodes makarovi* Zachvatkin, 1948 je predstavnik družine Cicadellidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha), ki je s preko 22.000 vrstami ena najštevilčnejših skupin rastlinojedih žuželk (Dietrich, 2004). Ti škvržatki so relativno veliki (samci 5-6 mm, samice 7-8 mm) (slika 5). So pogosti in splošno razširjeni v Palearktiki (tudi v Sloveniji) ter tudi v S Ameriki, kamor naj bi jih zanesel človek (Hamilton, 1983; Tishechkin, 1998; Holzinger

in Seljak, 2001, Nickel in Remane, 2002; Seljak, 2004). Škržatki se hranijo s sokovi gostiteljskih rastlin in za vrsto *A. makarovi* so v preteklosti predvidevali, da je njena tipična gostiteljska rastlina velika kopriva (*Urtica dioica*) (npr. Tishechkin, 1998). Vendar pa so natančnejše raziskave pokazale, da jih pogosto najdemo tudi na drugih rastlinah kot so npr. lucerna (*Medicago sativa*), črna detelja (*Trifolium pratense*), glavinec (*Centaurea sp.*), osat (*Cirsium sp.*) in regrat (*Taraxacum sp.*) (Nickel in Remane, 2002; Bluemel in sod., 2014; Derlink 2014).



Slika 5: Škržatka vrste *Aphrodes makarovi*. Samec (A) in samica (B).
Figure 5: Leafhopper *Aphrodes makarovi*. Male (A) and female (B).

Škržatek vrste *A. makarovi* ima eno generacijo letno in prezimi v stadiju jajčec (Chiychowski, 1970). V Sloveniji se prvi odrasli osebki pojavijo v drugi polovici maja (na Obali), samice pa v notranjosti najdemo v naravi tudi še v začetku oktobra (Derlink, osebna opažanja). Za življenjski cikel teh škržatkov sta značilni protandrija in reproduktivna asinhronost (Calabrese in Fagan, 2004). Odrasli samci se pojavijo pred samicami ter tudi prej spolno dozori in umrejo. V naravi se številčnost populacije zelo razlikuje tako med posameznimi lokacijami kakor tudi med leti (Kuhelj, osebna opažanja).

1.3.1 Spolno vedenje škržatka *A. makarovi*

Kot pri vseh škržatkih, imajo vlogo pri prepoznavanju in lokalizaciji partnerja pri vrsti *A. makarovi* izključno vibracijski signali (slika 6) (Claridge, 1985; Virant-Doberlet in Čokl, 2004; de Groot in sod., 2011a, 2012). Pri vseh vrstah se sporazumevanje med partnerjema prične z oddajanjem samčevega pozivnega napeva. Samec in samica si nato izmenjujeta signale v duetu (Tishechkin, 1998, 2000; de Groot in sod., 2012). Samice se ne oglašajo spontano in načelno velja, da samcem odgovarjajo le spolno zrele deviške samice škržatkov (Wood in Guttman, 1983; Heady in sod., 1993). Pri iskanju samic samci uporabljajo »let/skok-klic-hoja« strategijo (ang. fly/jump-call-walk strategy) (Hunt in Nault, 1991; De Luca in Cocroft, 2011). V odsotnosti odgovora samice, samci z letom ali skokom na novo rastlino ali drug del rastline povečajo svoj komunikacijski prostor in s tem tudi verjetnost odgovora samice. Odgovor samice sproži pri samcu iskanje samice na rastlini, ki se izrazi kot hoja med odzivom samice ali tik po njem (de Groot in sod. 2011a, 2012).



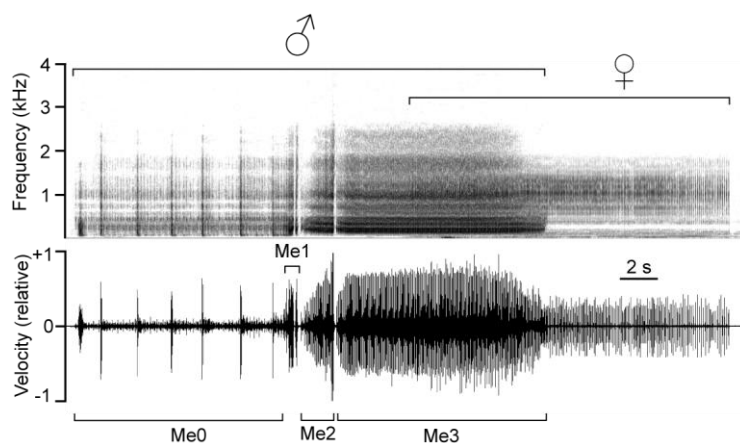
Slika 6: Shematska predstavitev paritvenega vedenja škržatka vrste *Aphrodes makarovi*.
Figure 6: Schematic presentation of reproductive behaviour of the leafhopper *Aphrodes makarovi*.

1.3.1.1 Vibracijska komunikacije škržatka vrste *A. makarovi*

Pri obeh spolih vibracijski signali nastanejo s pomočjo mehanizma, ki je morfološko podoben in mogoče celo homologen timbalnemu mehanizmu pri škržadih in se nahaja na prvem členu zadka (Ossiannilsson, 1949; Pringle, 1957; Claridge, 1985; Wessel in sod., 2014). Pozivni napev samca in odzivni napev samice ter strukturo dueta pri vrsti *A. makarovi* so že podrobno opisali (de Groot in sod., 2012; Bluemel in sod., 2014; Delink in sod., 2014). Vibracijski signale vrste *A. makarovi* sestavljajo pulzi in čiriki, ki imajo širokopasovne frekvenčne karakteristike. Dominantne frekvence izmerjenih signalov se večinoma nahajajo v frekvenčnem pasu pod 500 Hz, hkrati pa se frekvenčni pas razteza do 5000 Hz (de Groot in sod., 2012; Bluemel in sod., 2014; Delink in sod., 2014).

Pozivni napev samca je med 11–24 s dolg, kompleksen signal s stereotipno zgradbo. Lahko ga razdelimo v več ločenih, vrstno-specifičnih elementov (slika 7) (Delink, 2014). Sestavljajo ga ponavljajoči se pulzi in čiriki (de Groot in sod., 2012). Odzivni napev samic *A. makarovi* je lahko dolg več kot 1 min. Ponavljalni čas pulzov je v pozivnem in odzivnem napevu enak (52 ms). Samice pričnejo odgovarjati med samčevim pozivnim napevom. Odgovor se po zaključku pozivnega napeva nadaljuje (de Groot in sod., 2012) (slika 7). Vibracijska komunikacija škržatka vrste *A. makarovi* je tipičen primer dvosmernega sistema sporazumevanja, kjer partnerja vzpostavita natančno koordiniran duet (Bailey, 2003). Tak sistem je značilen za večino predstavnikov iz skupine Auchenorrhyncha (npr. Claridge, 1985; Claridge in de Vrijer, 1994; McNett in Cocroft, 2006; Tishechkin 2006).

Čeprav je odziv samic (latenca odziva in dolžina odgovora) variabilen (de Groot in sod., 2012), je časovna usklajenost signalov samca in samice v duetu predvidljiva in ponovljiva, saj se, glede na konec pozivnega napeva samca, odgovor samice vedno pojavi z največ 50 ms zamikom, ki ustreza ponavljalnemu času pulzov v odzivnem napevu samca.



Slika 7: Duet med samcem in samico pri škržatku vrste *A. makarovi*. Prikazan duet je bil vzbujen s predvajanjem posnetega pozivnega napeva samca živi samici. Spodaj oscilogram, zgoraj spektrogram. Me0-Me3: vrstno-specifični elementi, kot so jih opisali Derlink in sod. (2014).

Figure 7: Representative male-female duet in *A. makarovi* obtained in playback experiments with pre-recorded male advertisement call. Spectrogram (above) and waveform (below) are shown. Me0-Me3: species-specific elements as described in Derlink et al. (2014).

Pri vrsti *A. makarovi* so raziskovali tudi vlogo samičinega odgovora pri prepoznavanju in lokalizaciji samice (de Groot in sod. 2011a). Spremembe v vrstno-specifičnih časovnih parametrih odzivnega napeva samice so imele negativen vpliv tako na prepoznavanje samice kot tudi na lokalizacijo vira (de Groot in sod., 2011a). Samci so tudi hitreje našli vir daljših samičinih odgovorov kot krajših. Tak odnos nakazuje vlogo spolne selekcije v evoluciji pozivnega napeva.

Rezultati raziskav so pokazali tudi, da pajki izkoriščajo pozivne napeve samcev vrste *A. makarovi*, da pridobijo informacijo o prisotnosti plena (Virant-Doberlet in sod., 2011). Nele v naravi, temveč tudi v laboratorijskih pogojih pa smrtnost samcev naraste 3-4 tedne po levitvi v odrasli osebek.

1.4 NAMEN DELA IN HIPOTEZE

Osnova doktorskega dela je glavna hipoteza, da rivalne interakcije v komunikacijskem omrežju vplivajo na strategijo sporazumevanja. Čeprav so v komunikacijskih sistemih, ki temeljijo na vibracijskih signalih, rivalno vedenje pogosto omenili, je vloga rivalnega vedenja v vibracijskih komunikaciji v glavnem neraziskana (Virant-Doberlet in sod., 2014). Raziskave naj bi omogočile boljše razumevanje prednosti, ki jih prinašajo različne rivalne taktike. Nedavno so pokazali, da čeprav igra pri grbastem škržatku vrste *Enchenopa binotata* 'Ptelea' selekcijski pritisk na osnovi preference samic glavno vlogo v evoluciji vibracijskih signalov, ima pomembno vlogo tudi tekmovalnost med samci (Sullivan-Beckers in Coccoft, 2010). Raziskave so tudi pokazale, da se lahko vloge posameznih partnerjev v sistemih, ki temeljijo na vibracijskem duetu, bistveno razlikujejo (npr. de Winter in Rollenhagen, 1990; Čokl, 2008; Noh in Henry, 2010; Rodríguez in sod., 2012) in detajlne študije komunikacijskih sistemov še drugih vrst so nujno potrebne za boljše razumevanje splošnih mehanizmov sporazumevanja. Raziskave so bile osredotočene na stenico vrste *N. viridula* in škržatka vrste *A. makarovi* kot tipična predstavnika dveh

komunikacijskih sistemov polkrilcev (Hemiptera), ki se bistveno ločita v interaktivnosti sporazumevanja med samcem in samico. Škržatki vrste *A. makarovi* predstavljajo tudi idealen sistem za raziskovanje vloge odzivnih napevov samice na vedenje samcev, saj so v nasprotju z večino do sedaj raziskanih vrst ti napevi zelo dolgi in variabilni (Rodríguez in Barbosa, 2014). Delo naj bi prispevalo nujno potrebna nova spoznanja o mehanizmi vpletenih v evolucijo strategije sporazumevanja. Obsega pa tako vedenjski kot tudi ekofiziološki del, ki se med seboj dopolnjujeta.

V sklopu doktorskega dela smo raziskovali sledeče specifične hipoteze:

1. V enosmernem sistemu sporazumevanja samica vrste *N. viridula*, ki neprestano oddaja vibracijske signale, s katerimi privablja partnerja, v prisotnosti dveh samcev ne spremeni svojega vedenja.
2. Samci vrste *N. viridula* v vlogi vsiljivca oz. prisluškovalca na osnovi vibracijske komunikacije med rivalnim samcem in samico lahko razberejo, v kateri fazi parjenja se rival nahaja in temu prilagodijo svoj vedenjski odziv.
3. V dvosmernem sistemu sporazumevanja samica vrste *A. makarovi* v prisotnosti dveh samcev izkazuje preferenco do določenega samca.
4. Samice vrste *A. makarovi* se na bolj kompleksne in daljše pozivne napeve samcev odzivajo z daljšimi odzivnimi napevi.
5. Samci vrste *A. makarovi* v vlogi vsiljivca izrazijo različne vedenjske taktike, ki jim omogočajo večjo možnost uspeha pri razmnoževanju: oddajanje rivalnih signalov, tiho približevanje samici (satelitsko vedenje), prevzem dueta z oddajanjem pozivnih napevov, ki so za samice bolj privlačni.
6. Dolžina in časovna koordinacija odzivnega napeva samice vrste *A. makarovi* vplivata na pozivni napev samca in iskalno vedenje. Preverjali smo sledeče štiri hipoteze: (a) da je napor (oglašanje in samo premikanje po rastlini), ki ga samci vložijo v iskanje partnerice povezan z dolžino odzivnega napeva samice; (b) da morajo za optimizacijo iskalnega vedenja samci prilagajati oddajanje pozivnih napevov prejetim odzivom samice; (c) da samci prepoznajo odzivni napev, če se le-ta pojavi v samčevem senzoričnem oknu; (d) in da samci ne zaznavajo odzivnega napeva samice medtem, ko se oglašajo.
7. Rivalni signali, ki jih oddajajo samci vrste *A. makarovi* vplivajo tako na odzivanje samic kot na vedenjske taktike, ki jih privzamejo samci.
8. Pri oddajanju vibracijskih signalov samci vrste *A. makarovi* porabijo veliko energije in plačujejo indirektno ceno, ki se izrazi v znižanem preživetju.
9. Samci vrste *A. makarovi*, ki so v slabši telesni kondiciji, v različnih rivalnih situacijah privzamejo različne vedenjske taktike.

Najprej smo raziskovali vedenje stenic in škržatkov v triu (dva samca in samica). Vedenje, ki smo ga opisali, nam je služilo kot osnova za nadaljnje poskuse, v katerih smo s predvajanjem posnetih vibracijskih signalov lahko bolj natančno raziskovali vedenje v različnih rivalnih situacijah. Energetsko porabo med oddajanjem vibracijskih signalov smo merili le pri škržatku vrste *A. makarovi*. Ti škržatki so dober sistem za določanje cene oddajanja vibracijskih signalov, saj so relativno veliki pripadniki družine Cicadellidae, njihovi vibracijski signali so relativno dolgi in trenutno ni dokazov, da bi se med parjenjem sporazumevali s kemičnimi signali. Energetske porabo med oddajanjem vibracijskih signalov smo ocenili na osnovi porabe O₂ z metodo zaprte steklenice, za katero smo uporabili po meri narejeno neprodušno komoro. Del rezultatov, ki se nanaša na ceno

oddajanja vibracijskih signalov pri škržatku vrste *A. makarovi* je v tisku (Kuhelj in sod., 2015).

2 MATERIALI IN METODE

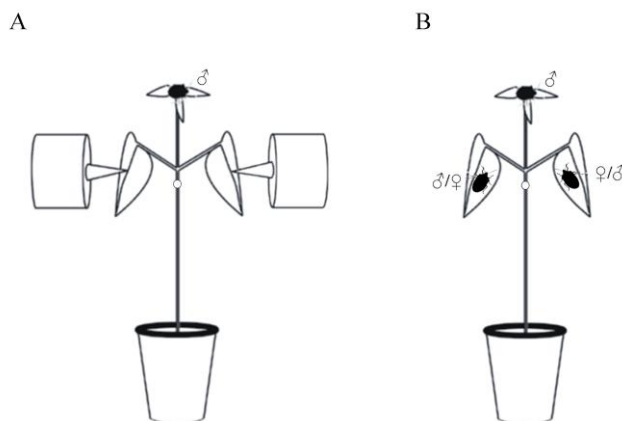
2.1 VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V ENOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU

2.1.1 Poskusne živali

Vse vedenjske poskuse smo opravili na zeleni smrdljivki, ščitasti stenici vrste *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). Odrasle stenice smo nabirali med septembrom in oktobrom v Slovenskem primorju v bližini Kopra. Stenice smo v laboratoriju ločili po spolu in jih najprej vzdrževali v steklenih terarijih (38 × 23 × 23) v hibernacijskih pogojih (tema, temperatura 5–10 °C) 2–4 mesece. Tri tedne pred pričetkom poskusov smo osebke prestavili v terarije na temperaturo 23–28 °C, 50–70 % relativno zračno vlago in dnevno-nočni cikel 16 ur svetlobe in 8 ur teme. Hranili smo jih z arašidi (*Arachis hypogaea*) in sončničnimi semeni (*Helianthus annuus*) ter s stroki in mladimi rastlinami stročjega fižola (*Phaseolus vulgaris*). 3 dni pred poskusi smo posamične osebke prestavili v plastične lončke (14 × 6 cm, volumen 0,5 L) in jih hranili, kot je opisano zgoraj.

2.1.2 Postavitev vedenjskih poskusov

Vse vedenjske poskuse smo opravili pri sobnih pogojih (23–26 °C, 40–50 % relativni zračni vlagi) na rastlinah fižola *P. vulgaris* var. etna, ki smo jih vzgojili iz semena v plastičnih lončkih (volumen 0,5 L) napolnjenih z mešanico prsti in vermikulita. Rastline, ki smo jih uporabili za poskuse, so bile visoke 20–30 cm in so imele na glavnem steblu 2 večja nasproti stoječa lista in zgornji poganjek (slika 8).



Slika 8: Shematska predstavitev postavitve vedenjskih poskusov s stenico vrste *Nezara viridula* v (A) poskusih s predvajanjem vibracijskih signalov in (B) v poskusih z živim triom. Prikazane so začetne pozicije samcev in samic na fižolu in pozicije miniaturnih vzbujevalnikov. Skica ni izrisana v merilu. Prirejeno po de Groot in sod., 2011a.

Figure 8: Schematic presentation of the experimental set-up used for (A) playback behavioural experiments and (B) observation of behaviour in trio situation in *Nezara viridula*, showing the initial position of the male and female on the bean plant and the positions of vibration exciters. Not drawn to scale. Adapted from de Groot et al., 2011a.

Pri nekaterih poskusih smo na rastlinah snemali vedenje živali in beležili oddane vibracijske signale (poglavje 2.1.3), medtem ko smo pri drugih živalim predvajali predhodno posnete vibracijske signale (playback poskusi) (poglavji 2.1.4, 2.1.5).

Oddane vibracijske signale smo registrirali s pomočjo laserskega vibrometra (PDV-100, Polytech GmbH, Waldbroon, Nemčija). 1 cm pod razvejiščem listov smo nalepili odbojno folijo, na katero smo usmerili laserski žarek. Snemanje in shranjevanje signalov je potekalo preko računalniške zvočne kartice (Sound Blaster X-Fi Surround 5.1 pro, Creative, Singapur) s programom Cool Edit Pro 2 (Syntrillium, Software, Phoenix, ZDA) in hitrostjo vzorčenja 48.000 vzorcev/s ter 16-bitno resolucijo. Vedenje smo snemali s 3CCD videokamero Canon DM XM2 (Canon Inc., Tokyo, Japonska). Na video posnetke smo posneli tudi zvok (oz. vibracijske signale). Med samim poskusom smo oddane vibracijske signale spremljali tudi preko slušalk.

Postavitev poskusov je omogočala predvajanje posnetih signalov iz dveh strani (de Groot in sod., 2010; 2011b). S pomočjo dveh miniaturnih vzbujevalnikov vibracij (minishaker tip 4810, Brüel in Kjær, Nærum, Danska) smo tresli vsak list posebej. Kovinski stožec, ki je bil trdno pritrjen v vzbujevalnik, je bil na list pritrjen z majhno količino lepilne mase (Blue-Tac). Vzbujevalnika smo upravljali z računalnikom preko zgoraj omenjen zvočne kartice s programom Cool Edit Pro 2. Amplituda predvajanih vibracijskih signalov (0,2 mm/s) je bila prilagojena amplitudi naravno oddanih vibracijskih signalov registriranih v točki snemanja.

2.1.3 Živi trio: 2 samca, 1 samica

Osebke, ki so sestavljali trojico smo izbrali naključno. Na rastlino fižola smo dali samico in dva samca, ki smo jih pred poskusom tehtali ($\pm 0,1$ mg) (elektronska tehtnica AB304-S, Mettler, Toledo, ZDA). Vsaka stenica je bila individualno označena s številko napisano na oprsje z barvo za modelčke. Enega od samcev smo postavili na vrhnji poganjek, drugega pa na levi ali desni list. Postavitev samcev je bila naključna. Samico smo postavili na preostali, prazen list. Interakcij med osebki nismo vzbudili s predvajanjem vibracijskih signalov ali s filter papirjem, prepojenim s samčevim spolnim feromonom. Čas poskusa je bil določen in opazovanja smo zaključili, ko sta se samec in samica sparila ali pa so stenice zapustile rastlino.

V poskusih smo beležili sledeče vedenjske parametre samcev: kdaj sta se samca pričela oglašati, kdaj sta pričela z iskanjem samice, kateri samec je prvi prišel do samice, tip vibracijskih signalov, ki sta jih oddajala samca, ter ali sta bila samca v fizičnem kontaktu. Za opis vedenja samic smo beležili sledeče parametre: kdaj je pričela z oddajanjem pozivnega napeva, tip vibracijskih signalov, ki jih je oddajala, ali je iskala samca, s katerim samcem se je parila, in katerega samca je zavrnila.

Razlike v oglašanju, iskalnem vedenju in teži med zmagovalci in poraženci smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom ali Wilcoxonovim testom vsote rangov. Vse analize smo opravili s programom R, verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.1.4 Playback trio: 2 samca, posneta samica

Poskusi so bili izvedeni enako, kot je opisano v poglavju 2.1.3, le da smo živo samico nadomestili s predvajanjem predhodno posnetega pozivnega napeva samice. Samca sta bila tehtana pred in po poskusu ($\pm 0,1$ mg) (elektronska tehtnica AB304-S, Mettler, Toledo, ZDA). Z laserskim vibrometrom PDV-100 smo z membrane zvočnika registrirali pozivne napeve 16 samic, ki so bile nabrane istočasno s samci, ki smo jih uporabili v poskusih. Iz 30 signalov dolgih sekvenc smo izračunali povprečne vrednosti dolžine signala ($1,109 \pm 0,02$ s) in ponavljalni čas signalov ($4,13 \pm 0,04$ s). Iz posnetih signalov smo izbrali signal, katerega dolžina se je ujemala s povprečno dolžino ($1,109$ s) in s kopiranjem tega signala s pomočjo programa Cool Edit Pro 2 sestavili sekvenco 10 signalov s povprečnim ponavljalnim časom. Dominantna frekvenca signala je bila 100 Hz. To sekvenco smo v zanki neprestano predvajali tekom celotnega poskusa. Poskusi so trajali največ 15 minut po pričetku predvajanja pozivnega napeva samice oziroma so se končali prej, če je eden samec našel vir napeva.

V poskusih smo spremljali kdaj so samci pričeli z iskanjem samice, kateri samec je prvi prišel do vzbujevalnika, ki je predvajal pozivni napev samice, tip vibracijskih signalov, ki sta jih oddajala samca ter ali sta bila samca v fizičnem kontaktu. Rezultate smo primerjali z eno ali dvostranskim Fisherjevim testom ali z Wilcoxonovim testom vsot rangov. Vse analize smo opravili s programom R, verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.1.5 Odziv samca na simulirane rivalne situacije

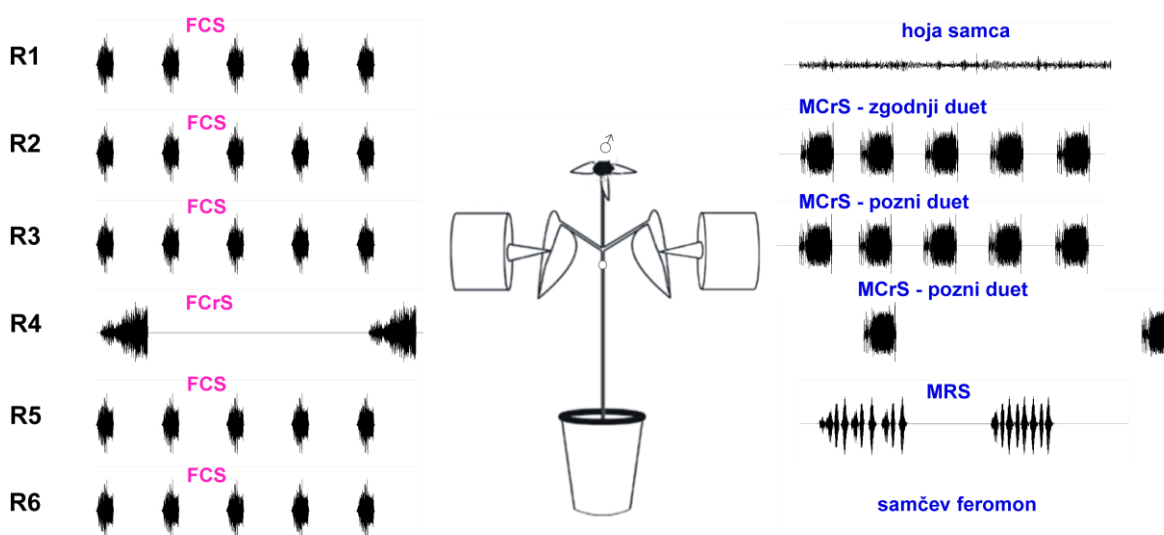
Samca smo postavili na vrh rastline ter z istočasnim predvajanjem posnetih vibracijskih signalov samcev in samic iz dveh smeri simulirali različne situacije, ki predstavljajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico (preglednica 2). Vibracijske signale samice sta predstavljala pozivni napev (kot je opisan v poglavju 2.1.4) ter napev dvorjenja (slika 9). Z laserskim vibrometrom PDV-100 smo z membrane zvočnika registrirali napeve dvorjenja 10 samic, ki so bile nabrane istočasno s samci, ki smo jih uporabili v poskusih. Izračunali smo povprečno dolžino signalov ($3,24 \pm 0,04$ s) in izmed posnetih signalov izbrali napev dvorjenja, ki je ustrezal povprečni dolžini. Kljub temu, da samice napevov dvorjenja ne oddajajo v enakomernem ritmu (Čokl in sod., 2000), smo s kopiranjem tega signala s pomočjo programa Cool Edit Pro 2 sestavili sekvenco 5 signalov s ponavljalnim časom 18,2 s. To sekvenco smo v zanki neprestano predvajali tekom celotnega poskusa.

Prisotnost rivalnega samca so predstavljali samčev napev dvorjenja, naključni vibracijski signali, nastali med hojo samca po rastlini, ter rivalni napev. Z laserskim vibrometrom PDV-100 smo z membrane zvočnika registrirali napeve dvorjenja 10 samcev. Izračunali smo povprečno dolžino signalov ($2,19 \pm 0,3$ s) in izmed posnetih signalov izbrali napev dvorjenja, ki je ustrezal povprečni dolžini. S kopiranjem tega signala s pomočjo programa Cool Edit Pro 2 smo sestavili sekvenco 5 signalov s ponavljalnim časom 18,2 s. To sekvenco smo v zanki neprestano predvajali tekom celotnega poskusa.

Preglednica 2: Rivalne situacije v različnih fazah sporazumevanja med samcem in samico, ki smo jih simulirali z bilateralnim predvajanjem vibracijskih signalov pri stenici vrste *Nezara viridula*. N = število samcev testiranih v posamezni rivalni situaciji.

Table 2: Rivalry situations simulated in *Nezara viridula* during enforced competition in situations that simulate different stages in male-female vibrational communication simulated by bilateral playback of vibrational signals. N = number of males tested in each simulated rivalry situation.

Rivalna situacija	Signal samice	Signal samca	N
R1	FCS	hoja po rastlini	16
R2	FCS	MCrS, zgodnji duet	16
R3	FCS	MCrS, pozni duet	16
R4	FCrS	MCrS, zaključni duet	16
R5	FCS	rivalni napev	16
R6	FCS	samčev feromon	16



Slika 9: Vibracijski signali, uporabljeni pri simulaciji različnih rivalnih situacij, ki ponazarjajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico pri stenici vrste *Nezara viridula*. R1-R6, rivalne situacije (za podrobno razlago glej tekst in preglednico 2). FCS, pozivni napev samice; MCrS, napev dvorjenja samice; MCrS, napev dvorjenja samca; MRS, samčev rivalni napev.

Figure 9: Vibrational signals used in simulation of different rivalry situations in *Nezara viridula* that represent situations that simulate different stages in male-female vibrational communication R1-R6, different simulated rivalry situations (for additional explanation see table 2). FCS, female calling song; FCrS, female courtship song; MCrS, male courtship song; MRS, male rivalry song.

Naključne signale, ki nastanejo med hojo samca vrste *N. viridula* po rastlini, smo naključno izbrali iz posnetkov v zvočni knjižnici Oddelka za entomologijo. Z rastline fižola so bili posneti z laserskim vibrometrom PDV-100.

Rivalne signale smo naključno izbrali iz posnetkov v zvočni knjižnici Oddelka za entomologijo. Signali oddani v rivalni interkciji dveh samcev so bili posneti z laserskim vibrometrom PDV-100 z rastline fižola. V stimulacijski sekvenci smo uporabili dve rivalni sekvenci dolgi 5,5 in 3,9 s.

Prisotnost rivalnega samca smo simulirali tudi tako, da smo na stranski list dali filter papir prepojen s samčevim feromonom (Zgonik in Čokl, 2014). 1 uro pred poskusom smo tri samce dali v petrijevko (premer = 9 cm), v kateri so se nahajali narezani kosi filter papirja velikosti 1×1 cm. Samce smo v petrijevki pustili do konca poskusnega dne. Za vsak vedenjski test smo iz petrijevke vzeli nov kos filter papirja.

Rivalno situacijo 1 (R1) sta predstavljala pozivni napev samice ter hoja samca po rastlini (slika 9) (preglednica 2). Rivalno situacijo 2 (R2) sta predstavljala pozivni napev samice in samčev napev dvorjenja predvajan tako, da sta sestavljala, neurejen duet značilen za začetno fazo vibracijske komunikacije (napev dvorjenja smo pričeli predvajali po osmih signalih v pozivnem napevu samice, prvi štirje napevi dvorjenja so prekrivali signale v pozivnem napevu, preostali napevi dvorjenja so sledili vsakemu signalu v pozivnem napevu z zamikom 0,3 s). Rivalno situacijo 3 (R3) sta predstavljala pozivni napev samice in samčev napev dvorjenja predvajan tako, da sta sestavljala urejen duet značilen za kasnejšo fazo vibracijske komunikacije (napev dvorjenja smo pričeli predvajali že po prvem signalu v pozivnem napevu samice in napevi dvorjenja so sledili vsakemu signalu v pozivnem napevu z zamikom 0,3 s). Rivalno situacijo 4 (R4) sta predstavljala napev dvorjenja samice in samčev napev dvorjenja predvajan tako, da sta sestavljala urejen duet, značilen za zaključno fazo vibracijske komunikacije (napev dvorjenja samca smo pričeli predvajali že po prvem signalu v napevu dvorjenja samice, napevi dvorjenja samca so sledili vsakemu signalu v pozivnem napevu z zamikom 0,3 s). Rivalno situacijo 5 (R5) sta predstavljala pozivni napev samice in rivalni napev, predvajan tako, da je delno prekril tudi večino signalov v pozivnem napevu samice, kar ustreza naravni situaciji. Rivalno situacijo 6 (R6) sta predstavljala pozivni napev samice ter samčev feromon, kar predstavlja fazo pred začetkom vibracijske komunikacije med samcem in samico.

Poskusi so trajali 15 min ali manj, v primeru, da je samec prej našel vir napeva samice. V vseh poskusih smo beležili sledeče parametre: kdaj se je samec pričel oglašati, tip vibracijskih signalov, ki je samec oddajal, kdaj je samec pričel z iskanjem, kdaj je samec našel vzbujevalnik, ki je predvajal pozivni napev samice in ali je samec lokaliziral vzbujevalnik, ki je predvajal vibracijske signale samca.

Primerjali smo oglašanje in vedenje samcev v posameznih simuliranih rivalnih situacijah. v vzbujenem duetu in v prisotnosti rivala. V analizi uspeha pri lokalizaciji vira odzivnega napeva smo upoštevali število samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva. V analizo časa iskanja smo vključili le samce, ki so našli vir odzivnega napeva. Rezultate smo primerjali z enostranskim in dvostranskim Fisherjevim testom ali Wilcoxonovim testom predpisanih rangov. Vse analize smo opravili s programom R, verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.2 VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V DVOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU

2.2.1 Poskusne živali in postavitve vedenjskih poskusov

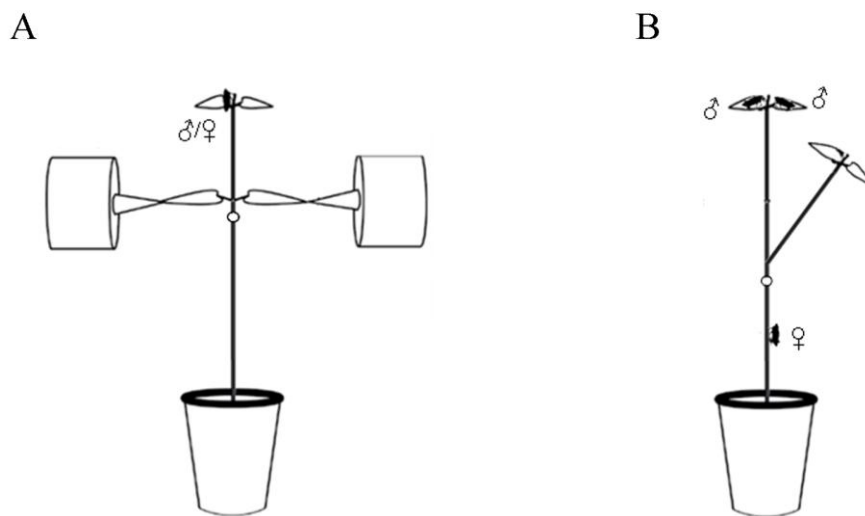
2.2.1.1 Poskusne živali

Vse poskuse smo opravili na škržatku vrste *Aphrodes makarovi* (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cicadellidae). Ličinke in odrasle škržatke smo nabirali na lucerni (*Medicago sativa*) in veliki koprivi (*Urtica dioica*) s pomočjo kečerja in sesalnika od sredine maja do začetka avgusta na različnih lokacijah po Sloveniji. Da bi ulovili tudi deviške samice, smo lokacije obiskali v času, ko se na njih pojavljali prvi odrasli osebki. Odrasle osebke smo že na terenu ločili po spolu. V laboratoriju smo škržatke, ločene po spolu, lokaciji in starosti, do uporabe v vedenjskih in ekofizioloških poskusih vzdrževali v plastičnih škatlah ($38 \times 26 \times 27$ cm) pri temperaturi 23–28 °C, 50–70 % relativni zračni vlagi in dnevno-nočnem ciklu 16 ur svetlobe in 8 ur teme. Škržatke smo hranili z narezano lucerno, ki smo jo postavili v čaše napolnjene z vodo in jo menjavali dvakrat tedensko. Ob menjavi rastlin smo iz škatel odstranjevali tudi izlegle odrasle osebke.

Ker je zaradi njihove morfološke podobnosti žive škržatke iz rodu *Aphrodes* mogoče zanesljivo razločevati le na osnovi njihovih vibracijskih signalov (Bluemel in sod., 2014), smo za vse osebke uporabljene v poskusih predhodno s predvajanjem posnetih vibracijskih signalov določili, da pripadajo vrsti *A. makarovi* (Derlink, 2014). Odrasle osebke, ki smo jih uporabili v vedenjskih poskusih, smo dan pred pričetkom poskusov posamič prestavili v plastične lončke (14×6 cm, volumen 0,5 L) in jih hranili kot je opisano zgoraj.

2.2.1.2 Postavitve vedenjskih poskusov

Vse vedenjske poskuse smo opravili pri sobnih pogojih (20–25 °C, 40–50 % relativni zračni vlagi). Poskuse smo opravili na črni detelji (*Trifolium pratense*), navadnem glavincu (*Centaurea jacea*) ter na veliki koprivi (*U. dioica*). V vseh primerih smo 25–30 cm dolg odrezan zgornji del rastline, nabrane v naravi, postavili v fiolo napolnjeno z vodo, da smo preprečili vodenje, in fiolo stabilizirali v čaši napolnjeni z mokrim vermikulitom (slika 10) (de Groot in sod., 2011a). Pri koprivi smo odstranili vse liste, razen para na vršičku in dveh nasproti ležečih listov na polovici dolžine stebela. Da bi preprečili beg škržatkov med poskusom, smo čez celotno postavitve poveznili kletko iz mreže ($65 \times 65 \times 50$ cm) z odprto sprednjo stranjo. Pri nekaterih poskusih smo na rastlinah le snemali vedenje živali in beležili oddane vibracijske signale (poglavje 2.2.3), medtem ko smo pri drugih živalim predvajali predhodno posnete vibracijske signale (playback poskusi).



Slika 10: Shematska predstavitev postavitve vedenjskih poskusov s škržatkom vrste *Aphrodes makarovi* na koprivi (A) in črni detelji (B). Prikazane so začetne pozicije samcev in samic na rastlini, pozicije miniaturnih vzbujevalnikov ter pozicija odbojne folije (krog), s katere smo z laserskim vibrometrom registrirali vibracijske signale. Skica ni izrisana v merilu. Prirejeno po de Groot in sod., 2011a.

Figure 10: Schematic presentation of the experimental set-up on stinging nettle (A) and clover (B) used for behavioural experiments on *Aphrodes makarovi*. The initial positions of males and females, positions of vibration exciters and position of reflective tape from which we registered vibrational signals are shown. Not drawn to scale. Adapted from de Groot et al., 2011a.

Oddane vibracijske signale smo registrirali s pomočjo laserskega vibrometra PDV-100 kot je opisano v poglavju 2.1.2. Odbojna folija je bila v vseh primerih nameščena na steblo 1 cm pod razvejiščem listov oz. stebel (slika 10). Vedenje smo skupaj z registriranimi vibracijskimi signali snemali s 3CCD videokamero, kot je opisano v poglavju 2.1.2. Kamera je bila opremljena z dodatno zoom lečo 4,2–84 mm. Med samim poskusom smo oddane vibracijske signale spremljali tudi preko slušalk.

Postavitev poskusov je omogočala predvajanje posnetih signalov iz dveh strani (de Groot in sod., 2011a). S pomočjo dveh miniaturnih vzbujevalnikov vibracij smo tresli vsak list posebej. Kovinski stožec, ki je bil trdno privit v vzbujevalnik, je bil pritrjen na list z majhno količino lepilne mase (Blue-Tac). Vzbujevalnika smo upravljali z računalnikom preko zgoraj omenjen zvočne kartice s programom Cool Edit Pro 2. Amplituda predvajanih vibracijskih signalov je bila prilagojena amplitudi naravno oddanih pozivnih napevov samca in odzivnih napevov samice registriranih v točki snemanja (pozivni napev samca: 0,3 mm/s; odzivni napev samice: 0,2 mm/s).

2.2.2 Živi trio: 2 samca, 1 samica

Osebke, ki so sestavljali trojico, smo izbrali naključno. Na rastlino črne detelje (*T. pratense*) smo postavili samico in dva samca. Vse škržatke smo pred in po poskusu stehali ($\pm 0,1$ mg) (elektronska tehtnica AB304-S, Mettler, Toledo, ZDA). Samci so bili na oprsju označeni z barvnimi pikami. Rastlina je bila visoka 30 cm. Samca smo postavili na nasprotna lista na vrhu glavnega stebela veje, na sredino dela glavnega stebela pod odbojno

folijo pa smo postavili samico (slika 10B). Vedenje in vibracijske signale smo registrirali do konca kopulacije.

Videoposnetki s pomočjo povečevalne predleče so nam omogočili, da smo na osnovi opaznega tresenja zadka, ki nastane od oddajanju pozivnih napevov, lahko določili kateri samec je oddajal posamezen pozivni napev. Samce smo razdelili v dve skupini; zmagovalce (tiste, ki so se parili s samico) in poražence (tiste, ki se niso).

V vseh poskusih smo beležili sledeče parametre: kdaj so samci pričeli oddajati pozivne napeve, kateri samec je prvi pričel oddajati pozivni napev, število oddanih pozivnih napevov, dolžino oddanih pozivnih napevov, število oddanih odzivnih napevov samice, dolžina neprikritega dela odzivnega napeva samice, kdaj so samci pričeli z iskanjem (kot iskalno vedenje smo upoštevali, če je samec zapustil vrh koprive in hodil med in/ali takoj po končanem odzivnem napevu), kdaj so samci našli samico, s katerim samcem se je samica sparila, tip vibracijskih signalov, ki sta jih oddajala samca, ter ali sta bila samca v fizičnem kontaktu.

Razlike v oglašanju, iskalnem vedenju in teži med zmagovalci in poraženci smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom ali Wilcoxonovim testom vsote rangov. Vse analize smo opravili s programom R, verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.2.3 Playback trio: 1 samec, posnet samec, posneta samica

Za analizo simulirane rivalne situacije vsiljenega tekmovanja pri škržatkih vrste *A. makarovi* smo uporabili posamične teste izvedene 1. dan tridnevnega poskusa o vplivu stradanja na spolno vedenje v triu (poglavje 2.3.4.2), ki smo jo primerjali s posamičnimi testi izvedenimi 1. dan tridnevnega poskusa o vplivu stradanja na spolno vedenje v dvojici (poglavje 2.3.4.1). Samca smo postavili na vrh koprive. Enega od spodnjih dveh listov smo tresli s pozivnim napevom samca, drugega pa z odzivnim napevom samice, ki je bil časovno usklajen s predvajanim pozivnim napevom tako, da je pričetek odgovora samice prekrival konec pozivnega napeva samca. Na ta način smo simulirali duet. S tem smo živega samca postavili v situacijo vsiljivca. Stran, iz katere smo predvajali odgovor samice, se je naključno izmenjevala. Pozivni in odzivni napev, ki smo ju uporabili za stimulacijo, sta bila registrirana z laserskim vibrometrom PDV-100 ne več kot 3 cm od pojočega osebka. Dolžina pozivnega napeva je bila 18,1 s, medtem ko je bila dolžina odzivnega napeva 10,4 s. Te vrednosti ustrezajo srednjim vrednostim, določenim v predhodnih poskusih (de Groot in sod., 2012). Pričetek odzivnega napeva je prekrival zadnjih 1,9 s pozivnega napeva samca. Duet smo neprestano predvajali vsakih 45,7 s, kar ustreza stopnji oglašanja (ang. calling rate) 1,3 /min. Ta stopnja oglašanja je sicer nižja, kot so jo za duet določili v predhodnih poskusih (1,8–3,7/min) (de Groot in sod., 2011, 2012), vendar je interval dolžine 19,1 s med koncem odzivnega napeva in pričetkom naslednjega pozivnega napeva omogočal, da je živi samec lahko oddal pozivni napev, ne da bi ga prekinili s stimulacijo. Poskusi so se nadaljevali največ 20 minut zatem, ko je živi samec oddal prvi pozivni napev ali pričel z iskanjem, oziroma so se končali prej, če je samec našel vir odzivnega napeva.

Oglašanje in vedenje samcev v zgoraj opisani vsiljeni tekmovalni situaciji smo primerjali z oglašanjem in vedenjem samcev v poskusih, v katerih smo z enkratnim predvajanjem dueta vzbudili oddajanje pozivnih napevov ter zatem samcem v odgovor na njihov lastni pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine. Tip teh poskusov je natančno opisan v poglavju 2.2.6.2. Za primerjalno analizo smo uporabili posamične teste, izvedene 1. dan tridnevnega poskusa o vplivu stradanja na spolno vedenje v dvojici (poglavje 2.3.4.1).

V poskusih smo beležili sledeče parametre: število samcev, ki so se oglašali, latenco oglašanja (čas od začetka prvega predvajanega dueta začetka oglašanja), število oddanih pozivnih napevov, dolžino pozivnih napevov, dolžino Me3 elementa v oddanih pozivnih napevih, stopnjo oglašanja (ang. calling rate) (število pozivnih napevov oddanih v minuti poskusa), število samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva (kot iskalno vedenje smo upoštevali, če je samec zapustil vrh koprive in hodil med in/ali takoj po končanem odzivnem napevu), latenco iskanja (čas od začetka predvajanja dueta do pričetka iskanja), čas iskanja (čas od pričetka iskanja do lokalizacije vira odzivnega napeva), število samcev, ki so našli vir predvajanega odzivnega napeva, število samcev, ki so oddajali rivalne signale, in dolžino rivalnih signalov.

2.2.3.1 Analize

Zaradi lažje primerjave smo pri samcih, testiranih v situaciji vsiljenega tekmovanja, ki so poleg pozivnih napevov oddajali tudi rivalne signale in pulzne signale, izmerili tudi časovne (dolžino vibracijskih signalov, ponavljani čas pulzov) in frekvenčne parametre (dominantna frekvenca) teh signalov. Spektralne parametre registriranih signalov smo določili s Fast Fourier transformacijo (FFT) (širina okna = 1024 vzorcev; 70% prekrivanje). Ponavljalni čas pulzov smo izmerili na desetih zaporednih pulzih v osrednjem delu Me3 elementa v pozivnem napevu ter, odvisno od dolžine, na 10-30 zaporednih pulzih v rivalnih signalih.

V analize oglašanja in iskalnega vedenja samcev v situaciji vsiljenega tekmovanja smo v osnovi vključili vse samce ($N = 53$), saj v vlogi vsiljivca samcem za uspešno lokalizacijo samice oddajanje pozivnih napevov ni ključnega pomena. V analizo dolžine pozivnega napeva smo vključili le samce, ki so oddajali pozivne napeve, medtem ko smo pri izračunu stopnje oglašanja/min poskusa upoštevali vse samce in v izračun vključili tudi vrednosti 0. V analize dolžin Me3 elementa smo vključili le samce, ki so oddali več kot en pozivni napev. V analizo časa iskanja smo vključili le samce, ki so našli vir odzivnega napeva.

V analize oglašanja in iskalnega vedenja samcev v vzbujenem duetu in situaciji vsiljenega tekmovanja smo v osnovi vključili le samce, ki so oddajali pozivne napeve ($N = 34$). V analizi uspeha pri lokalizaciji vira odzivnega napeva smo upoštevali število samcev, ki so tudi iskali vir odzivnega napeva. V analizo časa iskanja in skupnega časa oglašanja smo vključili le samce, ki so našli vir odzivnega napeva.

Razlike v oglašanju in iskalnem vedenju samcev v situaciji vsiljenega tekmovanja in v vzbujenem duetu smo primerjali z dvostranskim Fisherjevim testom ali Wilcoxonovim testom vsote rangov. Za samce v vsaki od teh simuliranih vedenjskih situacij smo z

Wilcoxonovim testom predpisanih rangov primerjali dolžine Me3 elementa v prvem, najkrajšem, najdaljšem in zadnjem oddanem pozivnem napevu v posameznem poskusu za latence in dolžine celotnih ter neprekritih delov odzivnega napeva. P-vrednosti smo zaradi večkratnih primerjav parov popravili z Bonferronijevo korekcijo in za značilne označili razlike, kjer je bil $P < 0,05$. Vse analize smo opravili s programom R, verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.2.4 Dinamika interakcij oddajnik-sprejemnik v duetu in njen vpliv na rivalno vedenje

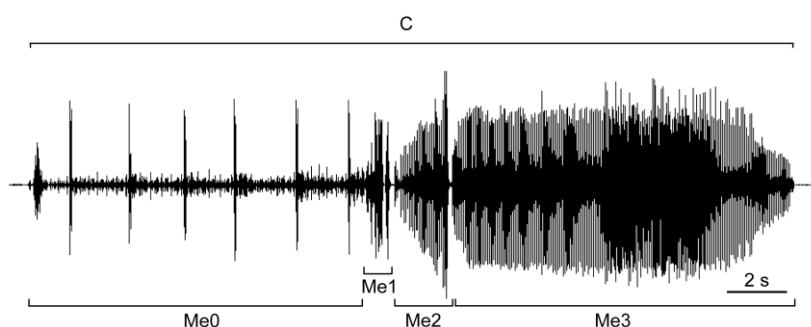
2.2.4.1 Vpliv pozivnega napeva samca na odzivni napev samice

2.2.4.1.1 Vpliv kompleksnosti pozivnega napeva samca na odzivni napev samice

Da bi pridobili podatke o proženju odzivnega napeva samice smo natančno analizirali odzive samic vrste *A. makarovi* v poskusih odzivnosti samic na vrstno-specifične elemente v pozivnih napevih samcev (Derlink, 2014; Derlink in sod., 2014). Poskuse je natančno opisala Derlink (2014), v pričujočem doktorskem delu navajamo le osnovne podatke.

Testiranih je bilo 15 samic vrste *A. makarovi*. Samice so bile testirane na rastlini navadnega glavinca (*C. jacea*). Vsaka samica je bila testirana s petimi stimulacijskimi programi, sestavljenimi iz vrstno-specifičnih elementov v pozivnih napevih samcev vseh vrst v rodu *Aphrodes* (Derlink, 2014). Po en pozivni napev vsake vrste smo razstavili na elemente (slika 11). V vseh petih stimulacijskih sekvencah so bili uporabljeni elementi istih napevov. Vsak stimulacijski program je vseboval en element (ali kombinacijo dveh elementov) vsake vrste, ki so se v sekvenci petkrat naključno ponovili. Stimulacijsko sekvenco je tako sestavljajo 25 vibracijskih signalov med seboj ločenih z 10 s premori, vendar smo zaradi dolžine odgovorov samic vrste *A. makarovi* predvajanje v času odgovora zaustavili. Stimulacijski programi so bili samicam predvajani z vmesnimi 3 minutnimi tihimi premori. Po končanih testih na elemente smo samicam predvajali še kontrolni program. Sestavljen je bil iz pozivnih napevov, iz katerih smo pridobili elemente. Vsak pozivni napev se je naključno ponovil petkrat s 30 s premori (Derlink, 2014).

Ker so se samice vrste *A. makarovi* zanesljivo odzivale le na pozivni napev samca lastne vrste (Derlink 2014; Derlink in sod., 2014), smo analizirali le odgovore na konspecifična elementa Me2 in Me3, na kombinacijo teh dveh elementov (Me2Me3), ter na nerazstavljen kontrolni pozivni napev lastne vrste (C). Pri vsakem odgovoru samice smo izmerili latenco odgovora, celotno dolžino odgovora ter dolžino neprikritega dela. Glede na elemente, vključene v stimulacijo, smo latenco odgovora merili ali od pričetka elementa Me2 (v primeru stimulacije z Me2, Me2Me3 in celotnim pozivnim napevom) ali od pričetka elementa Me3 (v primeru stimulacije Me3).



Slika 11: Celoten pozivni napev samca vrste *Aphrodes makarovi* in njegovi sestavni elementi, ki smo jih predvajali samicam v poskusih, v katerih smo preverjali vpliv kompleksnosti pozivnega napeva samca na odzivni napev samice. Me0-Me3, deli pozivnega napeva, kot so jih opisali Derlink in sod., 2014.

Figure 11: Complete advertisement call of *Aphrodes makarovi* male and individual elements within the call used in playback experiments to determine the effect of male call complexity on female reply. Me0-Me3, structurally different sections of male advertisement call as described by Derlink et al., 2014.

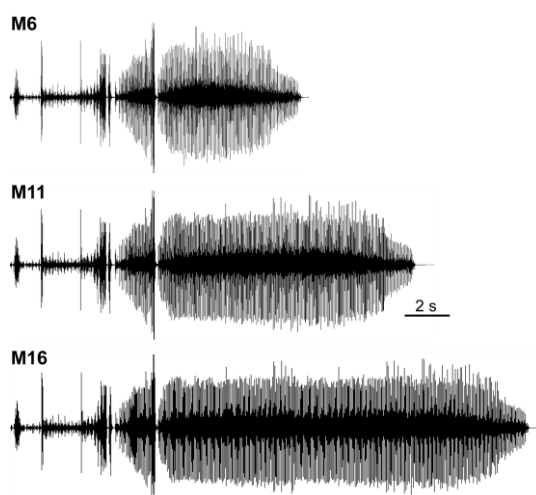
Z Wilcoxonovim testom predpisanih rangov smo primerjali latence in dolžine celotnih ter neprekritih delov odzivnega napeva. P-vrednosti smo, zaradi večkratnih primerjav parov, popravili z Bonferronijevo korekcijo in za značilne označili razlike, kjer je bil $P < 0,05$. Relativni delež, ki so ga k variabilnosti posameznih parametrov prispevali vibracijski signal, s katerim smo vzbudili odziv samice in identiteta samice, smo ocenili z metodo omejene največje zanesljivosti (REML).

Vse analize smo opravili s programom R, verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.2.4.1.2 Vpliv dolžine pozivnega napeva samca na dolžino odzivnega napeva samice

Samico smo postavili na vrh koprive ter vsakega od spodnjih listov tresli s pozivnim napevom samca, v katerem smo spreminjali dolžino Me3 elementa in s tem hkrati tudi dolžino celotnega pozivnega napeva. Kot osnova nam je služil naključno izbran pozivni napev samca iz zvočne knjižnice Oddelka za entomologijo, katerega dolžina je hkrati ustrezala srednji vrednosti, določeni v predhodnih poskusih (de Groot in sod., 2012) (slika 12). Dolžina celotnega pozivnega napeva je bila 18,1 s, medtem ko je bila dolžina Me3 elementa v tem pozivu 11,5 s. Pozivni napev, ki smo ga uporabili za stimulacijo, je bil registriran z laserskim vibrometrom PDV-100 na koprivi, ne več kot 3 cm od pojočega škržatka. S pomočjo programa Cool Edit Pro 2 smo skrajšali oziroma podaljšali Me3 element tako, da smo odstranili ali dodali pulze v osrednjem delu tega elementa ter tako pridobili pozivna napeva dolžin 13,1 in 23,1 s, v katerih je bila dolžina Me3 elementa 6,5 oz. 16,5 s. Pozivni napevi so se razlikovali le v dolžini Me3 elementa. Iz vsakega od teh treh pozivnih napevov smo sestavili stimulacijske sekvence, v katerih so se napevi ponovili desetkrat s 45 s premori. Samicam smo hkrati predvajali dve stimulacijski sekvenci (bilateralni playback) v različnih kombinacijah, glede na to, kako so se napevi različnih dolžin izmenjevali (preglednica 3). Strani, iz katerih smo predvajali posamezno stimulacijsko sekvenco, so se naključno izmenjevale. Stimulacijske sekvence smo samicam predvajali v naključnem vrstnem redu in le eno na dan.

Pri vsakem odgovoru samice smo izmerili dolžino neprikritega dela odzivnega napeva.



Slika 12: Originalni (M11) in modificirana pozivna napeva samca vrste *Aphrodes makarovi*, ki smo jih predvajali samicam v poskusih, v katerih smo preverjali vpliv dolžine pozivnega napeva samca na dolžino odzivnega napeva samice.

Figure 12: Original and modified advertisement calls of *Aphrodes makarovi* male used in playback experiments to determine the effect of male call duration on duration of female reply.

Preglednica 3: Kombinacije predvajanja sekvenc z različnimi dolžinami pozivnih napevov samcev vrste *Aphrodes makarovi*. Prikazana je dolžina Me3 elementov v 1. pozivnem napevu, ki ga je samica v poskusu slišala in v napevu, ki mu je sledil, zatem pa sta se tekom poskusa napeva izmenjavala.

Table 3: Combination of stimulation sequences of *Aphrodes makarovi* composed advertisement calls of different durations. Shown are durations of the 1st call presented to the female in the trial and duration of the following call. Afterwards, advertisement calls were exchanging throughout the trial.

Tretma	Dolžina Me3 v 1. pozivnem napevu (s)	Dolžina Me3 v 2. pozivnem napevu (s)
6-6	6,5	6,5
11-11	11,5	11,5
16-16	16,5	16,5
6-11	6,5	11,5
6-16	6,5	16,5
11-6	11,5	6,5
11-16	11,5	16,5
16-6	16,5	6,5
16-11	16,5	11,5

Pri vsakem odgovoru samice smo izmerili dolžino neprikritega dela odzivnega napeva. Dolžine smo primerjali z Wilcoxonovim testom predpisanih rangov in, v primeru večkratnih primerjav parov, uporabili Bonferronijevo korekcijo. Relativni delež, ki so ga k variabilnosti posameznih parametrov prispevali vibracijski signali, s katerim smo vzbudili odziv samice in identiteta samice, smo ocenili z metodo omejene največje zanesljivosti (REML).

Vse analize smo opravili s programom R, verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.2.4.2 Vpliv pozivnega napeva samice na oglašanje in iskalno vedenje samca

Vedenje samcev smo testirali v poskusih, v katerih smo s predvajanjem posnetih odzivnih napevov simulirali odgovor samice. Samca smo postavili na vrh koprive in mu enkrat predvajali posnet duet, kot je opisano v poglavju 2.2.4, da bi vzbudili oddajanje pozivnih napevov (de Groot in sod., 2011, 2012). Ko je samec oddal pozivni napev, smo mu v odgovor predvajali odzivni napev samice. Stimulacijo smo prožili ročno (de Groot in sod., 2011a). V kontrolnem (F_0) tretmaju smo samcem predvajali samo duet, v nadaljevanju poskusa pa na oddane pozivne napeve samci niso prejeli odgovora samice. Različne odzivne napeve smo samcem predvajali v naključnem vrstnem redu in vsak samec je bil testiran le enkrat v vsakem dnevu. Stran, iz katere smo predvajali odgovor samice, se je naključno izmenjevala. V kontrolnih poskusih smo beležili vedenje in registrirali oddane vibracijske signale 15 minut, medtem ko so se poskusi, v katerih smo simulirali odgovor samice, nadaljevali največ 15 minut po stimulaciji z duetom ali pa so se končali prej, če je samec našel vir odzivnega napeva.

Testirali smo 26 samcev v dveh poskusnih serijah s 13 samci. V obeh serijah smo samce testirali z istimi desetimi stimulacijskimi tretmaji, v katerih smo jim predvajali odzivne napeve različnih dolžin in z različno časovno koordinacijo (preglednica 4). Vsaka serija je vključevala tudi F_0 tretma. Samce smo testirali le enkrat na dan in tekom serije so bili testirani z vsakim poskusnim odzivnim napevom v naključnem zaporedju. Vsi odzivni napevi so bili sintetizirani s pomočjo Cool Edit Pro 2 računalniškega programa iz naravnih pulzov, registriranih z laserskim vibrometrom na stebelu lucerne, 5 cm stran od pojoče samice (de Groot in sod., 2011a). Ponavljalni čas pulzov (52 ms) ustreza srednji vrednosti, ki so jo določili v predhodnih študijah (de Groot in sod., 2012; Bluemel in sod., 2014). Tak sintetiziran odzivni napev sproži pri samcu enako signalizacijsko in iskalno vedenje, kot je bilo opisano pri naravnem duetu (de Groot in sod., 2012).

Da bi določili vpliv dolžine odzivnega napeva na napor, ki ga samec vloži v iskanje partnerja, smo samcem predvajali odzivne napeve štirih dolžin v naravnem razponu (de Groot in sod., 2012) (preglednica 4). Dolžina 10,4 s ustreza povprečni dolžini neprekritega dela odgovora samice in medtem ko je dolžina 5,2 s predstavljala kratek odziv, sta dolge odzive samic predstavljali dolžini 20,8 in 41,6 s. Za simuliranje naravnega dueta smo odgovor samice sprožili ročno ob tipičnem zmanjšanju amplitude na koncu pozivnega napeva samca (de Groot in sod., 2011a, 2012).

Za določitev vpliva časovne koordinacije samičinega odgovora na samčevo vedenje smo samcem predvajali odzivni napev dolžine 10,4 s, ki se pričel 0,4, 0,8, 1,5 ali 2 s po končanem pozivnem napevu samca (preglednica 4). Odgovor samice smo sprožili ob koncu pozivnega napeva in časovni zamik je bil vključen v sam predvajan odzivni napev.

Da bi preverili, ali samci zaznajo odgovor samice tudi medtem, ko oddajajo pozivni napev, smo samcem predvajali odzivni napev dolžine 5,2 in 10,4 s, ki se je popolnoma prekrivali z zadnjim delom pozivnega napeva. Odgovor samice smo sprožili na začetku zadnjega dela poziva (oz. na začetku elementa Me3).

Preglednica 4: Časovne karakteristike (dolžina in časovna koordinacija) odzivnih napevov samice *A. makarovi*, ki smo jih predvajali samcem v poskusih, s katerimi smo preverjali vpliv pozivnega napeva samice na petje in iskalno vedenje samca. Ø: naravna časovna koordinacija samičinega odziva (pričetek odzivnega napeva prekriva konec pozivnega napeva samca). H: odzivni napev samice skrit v pozivnem napevu samca (odziv napev se je popolnoma prekrival z zadnjim delom samčevega pozivnega napeva). +: pričetek odzivnega napeva, zamaknjen za 400-2000 ms (odgovor samice se ne prekriva s pozivnim napevom samca), *: tretma F₁₀ predstavlja odzivni napev povprečne dolžine s časovno koordinacijo, ki ustreza naravnemu duetu.

Table 4: Temporal characteristics (duration and timing) of *A. makarovi* female calls used in playback experiments in which we determined the effect of female reply on male signaling and searching behaviour. Ø: natural timing of female reply (the beginning of male call overlapping the end of male call). H: female reply hidden in the last section of male call (female reply completely overlapping the last section male call). +: onset of female reply delayed for 400-2000 ms (female reply not overlapping male call). *: F₁₀ treatment represents a naturally timed female reply of average duration.

	Dolžina (s)	Časovna koordinacija
F ₅	5,2	Ø
F ₁₀ *	10,4	Ø
F ₂₀	20,8	Ø
F ₄₁	41,6	Ø
F _{5H}	5,2	H
F _{10H}	10,4	H
F ₁₀₊₄₀₀	10,4	+400
F ₁₀₊₈₀₀	10,4	+800
F ₁₀₊₁₅₀₀	10,4	+1500
F ₁₀₊₂₀₀₀	10,4	+2000

V vseh poskusih smo beležili sledeče parametre: število oddanih pozivnih napevov, stopnjo oglašanja (ang. calling rate) (število pozivnih napevov oddanih v minuti poskusa potem, ko smo vzpostavili duet), število samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva (kot iskalno vedenje smo upoštevali, če je samec zapustil vrh koprive in hodil med in/ali takoj po končanem odzivnem napevu), čas iskanja (čas od pričetka iskanja do lokalizacije vira odzivnega napeva), število samcev, ki so našli vir predvajanega odzivnega napeva, in število samcev, ki so oddajali rivalne signale.

Da bi pridobili bolj natančen vpogled v dinamiko izmenjave vibracijskih signalov v duetu, smo izmerili dolžino Me3 elementa v vseh oddanih pozivnih napevih. V poskusih, pri katerih smo določali vpliv dolžine odzivnega napeva na napor, ki ga samce vloži v iskanje partnerja, smo izračunali skupni čas oglašanja samcev tako, da smo sešteli vse dolžine posameznih pozivnih napevov oddanih med poskusom. Odgovarjajoč skupni čas oglašanja samic smo določili tako, da smo sešteli dolžine odzivnih napevov, ki smo jih predvajali med poskusom.

2.2.4.2.1 Analize

V analize smo vključili le aktivne samce, torej tiste, ki so oddajali pozivne napeve. Število samcev, vključenih v posamezne analize, je prikazano na sliki 35A, B in C. V analizi uspeha pri lokalizaciji vira odzivnega napeva smo upoštevali tako število aktivnih samcev (vsi samci, ki so se oglašali) kot število samcev, ki so tudi iskali vir odzivnega napeva. V analizo časa iskanja in skupnega časa oglašanja smo vključili le samce, ki so našli vir

odzivnega napeva. Ker vrednosti vedenjskih odzivov samcev večinoma niso bile normalno razporejene (Shapiro-Wilk test normalnosti, $P < 0,05$), smo rezultate primerjali z neparametričnimi testi.

Vrednosti parametrov, pridobljenih v vsakem od različnih poskusnih pogojev (tretmajev), smo primerjali z vrednostmi v tretmaju F_{10} (odzivni napev povprečne dolžine s časovno koordinacijo, ki ustreza naravnemu duetu) z Wilcoxonovim testom predpisanih rangov. Poleg tega smo s tem testom primerjali tudi dolžine pozivnih napevov in stopnjo oglašanja z vrednostmi, pridobljenimi v kontrolnih poskusih v odsotnosti samičinega odziva (tretma F_0). Vrednosti parametrov v obeh tretmajih z odzivnimi napevi, skritimi v pozivnem napevu samca (tretmaja F_{5H} in F_{10H}), smo primerjali z Wilcoxonovim testom predpisanih rangov. P vrednosti smo zaradi večkratnih primerjav parov skupin popravili z Bonferronijevo korekcijo in za značilne označili razlike, kjer je bil $P < 0,05$. Z eno ali dvostranskim Fisherjevim testom smo primerjali število samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva, kakor tudi število samcev, ki so našli vir odziva.

Z Wilcoxonovim testom vsote rangov smo primerjali skupni čas oglašanja samcev, ki je potreben za lociranje vira odzivnega napeva v tretmajih F_5 , F_{20} in F_{41} z vrednostmi v tretmaju F_{10} ter tudi skupni čas petja samic in samcev v vsakem od teh tretmajev.

V analize dinamike izmenjave pozivnega in odzivnega napeva smo vključili tretmaje z različnimi dolžinami odzivnega napeva, oba tretmaja, kjer je bil odzivni napev samice skrit v napevu samca, in kontrolni tretma F_0 . Aktivne samce smo, glede na izraženo vedenje, razdelili v dve skupini - samce, ki so oddajali pozivne napeve, niso pa iskali (pojoči samci), in samce, ki so iskali vir odzivnega napeva (iščoči samci). V slednji kategoriji nismo razlikovali med samci, ki so vir našli in tistimi, ki ga niso. V F_0 tretmaju smo vse aktivne samce uvrstili v kategorijo pojočih samcev. V vsakem posameznem poskusu nam je dolžina Me3 elementa v prvem oddanem pozivnem napevu v poskusu služila kot referenca, saj ob oddajanju samci še niso imeli priložnosti oceniti dolžine samičinega odzivnega napeva. Ker se dolžina tega elementa med posameznimi tretmaji in skupinami ni značilno razlikovala (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 14,783$; $df = 12$, $P = 0,254$), smo za vsak posamični poskus določili delež pozivnih napevov, v katerih je bila dolžina elementa Me3 krajša kot v prvem oddanem napevu. Za vsako skupino samcev v posameznem tretmaju smo s pomočjo dvostranskega t-testa določili ali delež takih pozivnih napevov značilno odstopa od naključne porazdelitve (0,5).

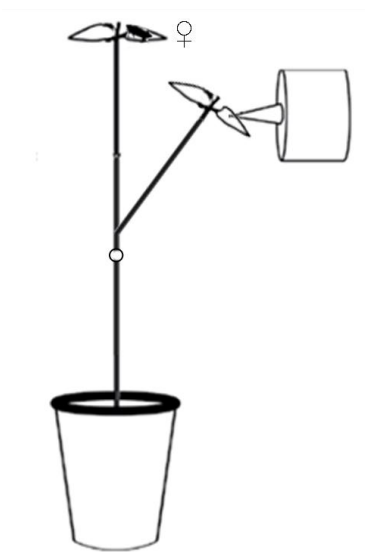
Vse analize smo opravili s programom R, verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.2.5 Odziv partnerjev v duetu na rivalni signal

2.2.5.1 Odziv samice na rivalni signal

Samico vrste *A. makarovi* smo postavili na vrh rastline črne detelje (slika 13). Stransko vejo smo tresli s 18,1 s dolgim pozivnim napevom samca (kontrola) ali pa s pozivnim napevom, kateremu je 4 s po koncu poziva sledil 5 s dolg rivalni signal. Amplituda predvajanih rivalnih signalov je bila prilagojena amplitudi naravno oddanih rivalnih

signalov registriranih v točki snemanja (0,3 mm/s). Stran, iz katere smo predvajali posnete signale, se med poskusom ni spreminjala.



Slika 13: Shematska predstavitev postavitve vedenjskih poskusov na črni detelji, v katerih smo preverili vpliv rivalnih signalov na odzivanje samice vrste *Aphrodes makarovi*. Prikazana je pozicija samice na rastlini, pozicija miniaturnega vzbujevalnika ter pozicija odbojne folije (krog), s katere smo z laserskim vibrometrom registrirali vibracijske signale. Skica ni izrisana v merilu. Prirejeno po de Groot in sod., 2011a.

Figure 13: Schematic presentation of the experimental set-up on a clover in which we investigated the effect of rivalry signals on female reply in *Aphrodes makarovi*. Position of a female, position of vibration exciter and position of reflective tape from which we registered vibrational signals are shown. Not drawn to scale. Adapted from de Groot et al., 2011a.

Testirali smo 20 samic. Kontrolni pozivni napev in pozivni napev z rivalnim signalom smo samicam predvajali v naključnem vrstnem redu in vsaka samica je bil testirana le enkrat v vsakem dnevu. Vsak dan je bila polovica samic testiranih z vsakim tretmajem. Samicam smo predvajali stimulacijsko sekvenco, ki jo je sestavljalo 10 pozivnih napevov med seboj ločenih s 30 s premori. Če so bili odzivni napevi samic daljši, smo predvajanje zaustavili.

V poskusih smo beležili latenco odziva, dolžino celotnega odgovora ter dolžino neprekritega dela odzivnega napeva samice. Z Wilcoxonovim testom predpisanih rangov smo primerjali latence in dolžine celotnih ter neprekritih delov odzivnega napeva. V primeru večkratnih primerjav parov smo P-vrednosti popravili z Bonferronijevo korekcijo in za značilne označili razlike, kjer je bil $P < 0,05$. Vse analize smo opravili s programom R, verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.2.5.2 Odziv samca na rivalni signal

Samca smo postavili na vrh koprive in mu enkrat predvajali posnet duet, kot je opisano v poglavju 2.2.4, da bi vzbudili oddajanje pozivnih napevov, ter mu, ko je oddal pozivni napev, v odgovor predvajali odzivni napev samice, kot je opisano v poglavju 2.2.6.2. V kontrolnem testu smo samcem predvajali le odzivni napev samice, medtem ko smo v rivalnem testu, hkrati z odzivnim napevom samice, drugi list tresli s 5 s dolgim rivalnim

signalom, ki je prekril zadnjih 4,6 s predvajanega odzivnega napeva samice. Amplituda predvajanih rivalnih signalov je bila prilagojena amplitudi naravno oddanih rivalnih signalov, registriranih v točki snemanja (0,3 mm/s). Poskusi so trajali največ 20 minut oziroma so se končali prej, če je samec našel vir odzivnega napeva. Samce smo testirali le enkrat na dan, zaporedje testov je bilo naključno. Prav tako se je stran, iz katere smo predvajali odgovor samice, naključno izmenjevala.

V poskusih smo beležili sledeče parametre: število oddanih pozivnih napevov, dolžino pozivnih napevov, dolžino Me3 elementa v oddanih pozivnih napevih, stopnjo oglašanja (ang. calling rate) (število pozivnih napevov oddanih v minuti poskusa), latenco iskanja (čas od začetka prvega predvajanega dueta do začetka iskanja), število samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva (kot iskalno vedenje smo upoštevali, če je samec zapustil vrh koprive in hodil med in/ali takoj po končanem odzivnem napevu), čas iskanja (čas od pričetka iskanja do lokalizacije vira odzivnega napeva), število samcev, ki so našli vir predvajanega odzivnega napeva, število samcev, ki so oddajali rivalne signale, in dolžino rivalnih signalov.

Primerjali smo oglašanje in vedenje v vzbujenem duetu in v prisotnosti rivala. V analize smo vključili le aktivne samce, torej tiste, ki so oddajali pozivne napeve ($N = 23$). V analizi uspeha pri lokalizaciji vira odzivnega napeva smo upoštevali tako število aktivnih samcev (vsi samci, ki so se oglašali) kot število samcev, ki so tudi iskali vir odzivnega napeva. V analizo časa iskanja in skupnega časa oglašanja smo vključili le samce, ki so našli vir odzivnega napeva. Rezultate smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom in Wilcoxonovim testom predpisanih rangov.

V vsakem tretmaju smo samce razdelili v dve skupini - samce, ki so oddajali pozivne napeve, niso pa iskali (pojoči samci) in samce, ki so iskali vir odzivnega napeva (iščoči samci). V slednji kategoriji nismo razlikovali med samci, ki so našli vir, in tistimi, ki ga niso. V vsakem posameznem poskusu nam je dolžina Me3 elementa v prvem oddanem pozivnem napevu v poskusu služila kot referenca. Ker se dolžina tega elementa med tretmajema in skupinami ni značilno razlikovala (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 3.203$; $df = 3$, $P = 0,361$), smo za vsak posamični poskus določili delež pozivnih napevov, v katerih je bila dolžina elementa Me3 krajša kot v prvem oddanem napevu. Za vsako skupino samcev v posameznem tretmaju smo s pomočjo dvostranskega t-testa določili ali delež takih pozivnih napevov značilno odstopa od naključne porazdelitve (0,5).

Vse analize smo opravili s programom R, verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.3 CENA ODDAJANJA VIBRACIJSKIH SIGNALOV PRI ŠKRŽATKU VRSTE *A. makarovi*

2.3.1 Poskusne živali

Škržatke, nabrane v naravi, smo v laboratoriju vzdrževali, kot je opisano v poglavju 2.2.1. Samce, ki smo jih uporabili v vedenjskih poskusih in ekofizioloških meritvah, smo dan

pred pričetkom poskusov posamič prestavili v plastične lončke (14 × 6 cm, volumen 0,5 L) in jih hranili, kot je opisano v poglavju 2.1.1.

Samce, ki smo jih uporabili za določanje vpliva napora oddajanja pozivnih napevov na preživetje, smo od dneva izleganja do smrti vzdrževali vsakega posebej v plastičnih lončkih (14 × 6 cm, volumen 0,5 L).

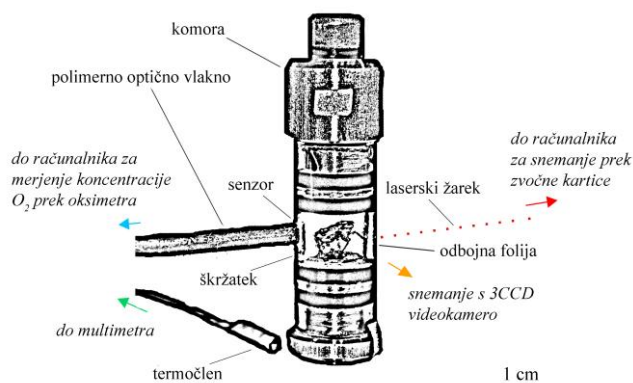
V poskusih, kjer smo telesno kondicijo samcev znižali s pomočjo stradanja (poglavji 2.3.4.1, 2.3.4.2), smo eni skupini samcev 6,5 ur pred vedenjskim testom odstranili rastlino lucerne in jo nadomestili z vato, prepojeno z vodo. Preliminarni poskusi so pokazali, da daljše obdobje brez rastline preživi le malo samcev.

2.3.2 Merjenje energetske porabe med oddajanjem vibracijskih signalov

2.3.2.1 Postavitev poskusov

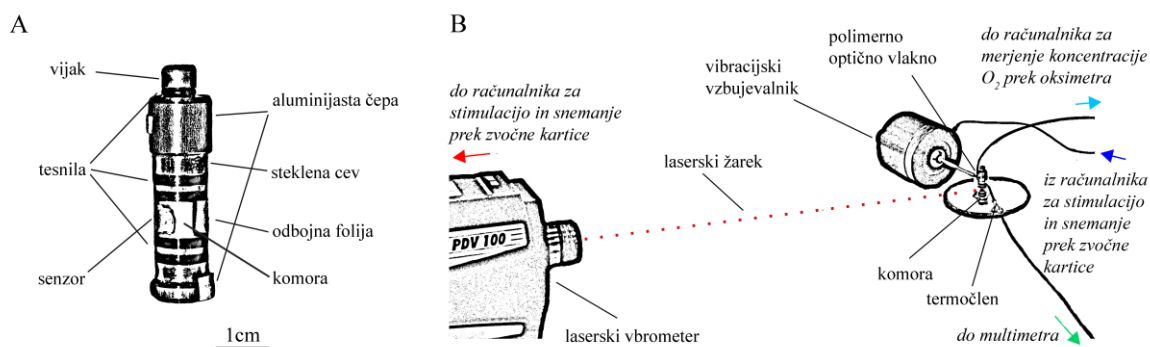
Stopnjo dihanja v mirovanju in energetsko ceno oddajanja vibracijskih signalov smo ocenili na osnovi porabe O₂ z metodo zaprte steklenice (ang. closed-bottle method) (Lampert, 1984; Simčič in sod., 2010). Takšna nepretočna (ang. stop-flow) respirometrija, kjer se živali nahajajo v nepredušno zaprti posodi, v kateri po določenem času določimo koncentracijo O₂, se pogosto uporablja za določanje stopnje dihanja pri majhnih živalih (Lighton in Halsey, 2011). Za merjenje koncentracije O₂ v posodi smo uporabili optični senzor za merjenje koncentracije določene snovi na osnovi kemične reakcije (optoda). Metoda temelji na učinku dinamičnega dušenja luminiscence v odvisnosti od koncentracije O₂ (Valeur, 2001; John in Huber, 2005).

Samce smo stehali neposredno pred merjenjem porabe O₂ (± 0,1 mg natančno) (elektronska tehtnica AB304-S Mettler Toledo, ZDA). Samca smo zatem zaprli v po meri narejeno nepredušno komoro volumna 0,259 mL (slika 14). Komora je bila narejena iz steklene cevke (dolžina 24 mm, notranji premer 8 mm, debelina stene 1 mm), ki se je na obeh koncih zapirala z aluminijastima čepoma, ki sta bila zatesnjena z dvema obročnima tesniloma (notranji premer 4 mm, debelina 2 mm). Tesnili sta bili premazani s silikonsko pasto. V zaprti komori je bil premer prostora, v katerem se je nahajal škržatek, 8 mm in višina 4 mm. V enem od čepov je bila odprtina premera 4 mm, ki je preprečevala, da bi se ob zapiranju komore v njej povečal zračni pritisk. Ko smo komoro zaprli, smo to odprtino zaprli z vijakom zatesnjenim z obročnim tesnilom (notranji premer 3 mm, debelina 1,5 mm) namazanim s silikonsko pasto.



Slika 14: Po meri narejena nepredušna komora za merjenje porabe O₂ pri škržatku vrste *Aphrodes makarovi*.
Figure 14: Custom made air-tight chamber used to measure O₂ consumption in *Aphrodes makarovi*.

Senzorsko piko PSt3 (premer 5 mm, PreSens - Precision Sensing GmbH, Regensburg, Nemčija) za merjenje koncentracije O₂ smo s silikonsko pasto prilepili na notranjo steno komore. Na zunanjo stran komore smo na mestu senzorske pike namestili polimerno optično vlakno (PreSens-Precision Sensing GmbH), ki je bilo povezano z oksimetrom OXY-4 (PreSens-Precision Sensing GmbH), le-ta pa je bil povezan z računalnikom (slika 15). Preden smo pričeli z meritvami, se je merilni sistem 5 minut stabiliziral. Senzor smo vzbudili z UV LED lučjo. Med poskusom smo vsake 2 s odčitali koncentracijo O₂ v komori in podatke shranjevali z računalniškim programom OXY-4s software (PreSens-Precision Sensing GmbH). Tekom poskusa smo na računalnik beležili tudi temperaturo, izmerjeno s pomočjo K-tip termočlena povezanega z DVM1200 multimetrom (Velleman). Povprečna temperatura je bila $24,7 \pm 0,4$ °C, vendar se med posamičnimi meritvami ni spreminjala za več kot 0,2 °C. Podatke o zračnem tlaku na dan meritve ($981,5 \pm 3,5$ hPa) smo pridobili iz javno dostopnih podatkov Agencije Republike Slovenije za okolje.



Slika 15: Postavitve poskusa za merjenje energetske porabe pri škržatku *Aphrodes makarovi*. A: po meri narejena nepredušna komora; B: postavitve poskusa za merjene porabe O₂.

Figure 15: Experimental set-up for metabolic rate measurements in *Aphrodes makarovi*. A: custom made air-tight chamber; B: experimental set-up for measuring O₂ consumption

Da bi pravilno ocenili hitrost dihanja v mirovanju, smo izmerili porabo O₂ pri 10 samcih, ki so bili stari 3–4 tedne. Ker živali med merjenjem stopnje dihanja s pomočjo nepretočne respirometrije v obdobju merjenja lahko izkazujejo različne stopnje aktivnosti, je stopnja

dihanja v mirovanju ob uporabi te metode pogosto precenjena (Lighton in Halsey, 2011). Samci vrste *A. makarovi* se med oddajanjem vibracijskih signalov ne premikajo (de Groot in sod., 2011a), vendar sta hoja in skakanje del tipičnega vedenja samcev škržatkov, povezanega z iskanjem partnerja, ki vključuje »let/skok-klic-hoja« strategijo (ang. fly/jump-call-walk strategy) (Hunt in Nault, 1991; De Luca in Cocroft, 2011). Vibracijske signale, ki so jih oddajali samci v komori, smo registrirali z laserskim vibrometrom PDV-100, ki smo ga usmerili na odbojno folijo, prilepljeno na zunanjo steno komore. Snemanje in shranjevanje na računalnik je potekalo, kot je opisano v poglavju 2.1.2. Hkrati smo samce v komori tudi snemali z 3CCD video kamero z dodatno zoom predlečo 4,2–84 mm. Taka postavitev je omogočala neprekinjeno opazovanje vedenja samca v komori z neposredne bližine. Zvočne posnetke vibracijskih signalov in vedenja škržatkov smo sinhronizirali z meritvami koncentracije O₂. Meritve so trajale 15 minut, porabo O₂ v mirovanju pa smo ocenjevali na 15–30 s dolgih odsekih poskusa, med katerimi se samci niso premikali ali oddajali vibracijskih signalov. Razlika v koncentraciji O₂ na začetku in na koncu tega časovnega odseka je predstavljala količino O₂, ki jo je pri dihanju porabil škržatek. Za vsakega samca smo na enak način ocenili tudi porabo O₂ med hojo. Kot hojo smo upoštevali premikanje nog samca (zaradi majhnega notranjega premera komore (8 mm), se 6–7 mm velik samec škržatka vrste *A. makarovi* sicer ni premaknil z mesta).

Stopnjo dihanja med oddajanjem vibracijskih signalov smo ocenili pri 14 samcih starih 3–4 tedne. Porabo O₂ smo za vsakega samca merili 30 minut. Razlika v koncentraciji O₂ na začetku in na koncu izbranega časovnega odseka (30 min, 15 min ali dolžina posameznega vibracijskega signala) je predstavljala količino O₂, ki jo je pri dihanju porabil škržatek. Samci vrste *A. makarovi* le redko spontano oddajajo vibracijske signale (de Groot in sod., 2012). Z namenom, da bi meritve porabe O₂ lahko povezali z razlikami v vibracijski aktivnosti, smo samcem tekom prvih ali drugih 15 minut merjenja porabe O₂ predvajali predhodno posnet naravni duet med samcem in samico. Za vzbuditev oddajanja vibracijskih signalov, smo komoro tresli preko kovinske palčke, pritrjene z lepilno maso (Blue-tack) na steno komore, ki je bila trdno privita v glavo miniaturnega vzbujevalnika (Minishaker Type 4810). Vzbujevalnik smo upravljali z računalnikom preko zvočne kartice, kot je opisano v poglavju 2.1.2 (slika 15). V izogib stresu, ki bi ga lahko povzročala zaznana bližina tekmeča, ter prekomerni stimulaciji, je bila amplituda stimulacijskih signalov nižja kot amplituda vibracijskih signalov, ki so jih oddajali samci v komori. Stimulacijske duete in vibracijske signale, ki so jih oddali živi samci smo registrirali in shranjevali v računalniku, kot je opisano v poglavju 2.1.2. Posnetke vibracijskih signalov smo sinhronizirali z meritvami koncentracije O₂. Med meritvami smo spremljali vibracijsko aktivnost samca preko slušalk. Za preprečitev prekrivanja s samčevimi oddanimi vibracijskimi signali, smo stimulacijski duet prožili ročno.

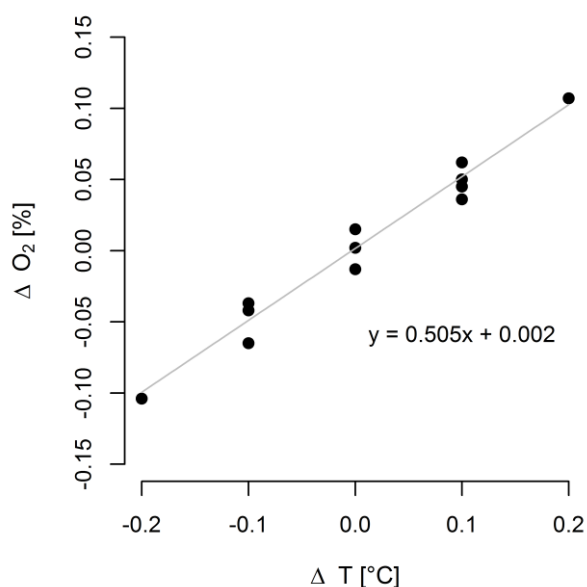
Takoj po vsaki končani meritvi smo samca zmrznili na –30°C. Po končani celotni seriji meritev smo škržatke posušili v sušilniku (Kambič S-50) (24 ur pri 60°C) in ohladili v nepredušno zaprti posodi s silika-gelom. Nato smo škržatke ponovno stehali (± 0,1 mg natančno) na elektronski tehtnici (BP 210 S, Sartorius, Göttingen, Nemčija).

2.3.2.2 Kalibracije

Preden smo izvedli poskuse s škržatki smo preverili, če je komora nepredušna. Komoro smo napolnili z N₂. Nato smo koncentracijo O₂ v komori odčitavali vsako minuto v naslednjih 24 urah pri temperaturi 20 ± 1 °C in tlaku 986 hPa. Razlika med izmerjenimi koncentracijami O₂ v prvi desetih meritvah ($4,335 \pm 0,083$ % O₂) se ni statistično značilno razlikovala od zadnjih desetih meritev po 24 urah ($4,342 \pm 0,012$ % O₂) (Wilcoxonov test vsote rangov, P = 0,322).

Po končani seriji meritev porabe O₂ smo določili vpliv temperature na izmerjene koncentracije O₂. Zaprto komoro smo potopili v vodno kopel (Thermostatic/bath/circulator LAUDA Prolin RP 1845). Koncentracijo O₂ v komori smo odčitavali 2 minuti vsake 2 s pri vsaki temperaturi v temperaturnem območju, ki smo ga zabeležili med poskusi (24,1–25,2 °C). Da bi simulirali spremembe temperature med poskusi, smo temperaturo zniževali ali poviševali za 0,1 in/ali 0,2 °C.

Razlike v začetni temperaturi niso imele vpliva na izmerjeno koncentracijo O₂. V primerih, ko smo komoro vzdrževali na začetni temperaturi, so bila nihanja izmerjene koncentracije O₂ majhna ($0,011 \pm 0,006$ %, n=4). Sprememba temperature v okolju pa je vplivala na izmerjeno koncentracijo O₂. Na splošno je veljalo, da so se koncentracije O₂ s padanjem temperature zniževale in zviševale z njenim naraščanjem (slika 16). Pri absolutni temperaturni razliki 0,2 °C se je koncentracija O₂ spremenila za $0,105 \pm 0,002$ % (n=2), medtem ko se je pri absolutni temperaturni razliki 0,1 °C spremenila za $0,048 \pm 0,012$ % (n=7).



Slika 16: Spremembe v izmerjeni koncentraciji O₂ v povezavi s spremembo temperature v okolju.
Figure 16: Changes in measured O₂ concentrations due to the changes in environmental temperature.

Te podatke smo uporabili pri upoštevanju vpliva temperaturnih sprememb med meritvami na izmerjene koncentracije O₂. V poskusih, pri katerih se je temperatura zvišala ali znižala

za 0,1 °C, smo vrednost 0,048% odšteli oziroma prišteli koncentraciji, izmerjeni na koncu poskusa. V primerih, ko se je temperatura spremenila za 0,2°C, smo od zadnje odčitane koncentracije prišteli ali odšteli 0,105%.

2.3.2.3 Analize

Stopnjo dihanja (ang. respiration rate) (rr) smo izračunali upoštevajoč suho težo samca, temperaturo zraka in zračni tlak po sledečih enačbah (Lampert, 1984):

$$w_{(1)} = \% O_{2(1)} / 100 \dots\dots\dots (1)$$

$$w_{(2)} = \% O_{2(2)} / 100 \dots\dots\dots (2)$$

$$m_{(O_2)} = (P * V * M * w_{(1)}) / (R * T) * 1000 * 1000 \text{ [mg]} \dots\dots\dots (3)$$

$$\rho_{(O_2)} = (P * M) / (R * T) \text{ [mg/ mL]} \dots\dots\dots (4)$$

$$rr = ((w_{(1)} * m_{(O_2)} - w_{(2)} * m_{(O_2)}) / w_{(1)}) / (\rho_{(O_2)} * t * m_{(Aph)}) \text{ [mL } O_2 / (h * g)] \dots\dots\dots (5)$$

kjer je $w_{(1)}$ = delež O_2 v komori na začetku poskusa; $\% O_{2(1)}$ = $\% O_2$ v komori na začetku poskusa [%]; $w_{(2)}$ = delež O_2 v komori na koncu poskusa; $\% O_{2(2)}$ = $\% O_2$ v komori na koncu poskusa [%]; $m_{(O_2)}$ = masa O_2 [mg]; P = zračni tlak [Pa]; V = volumen komore [L]; M = molska masa O_2 [kg/mol]; R = plinska konstanta [J/(mol*K)]; T = temperatura [K]; $\rho_{(O_2)}$ = gostota O_2 pri pogojih poskusa [mg/mL]; rr = stopnja dihanja [mL O_2 /(h*g)]; t = dolžina poskusa oz. izbrani časovni interval [h]; $m_{(Aph)}$ = suha teža samca [g].

Posnetke vibracijskih signalov, oddanih med merjenjem energetske porabe, smo analizirali, kot je opisano v poglavju (2.2.3.1). Izmerili smo dolžine pozivnih napevov, rivalnih signalov ter pulznih signalov. Porabo O_2 pri produkciji posamičnega vibracijskega signala smo določili pri rivalnih signalih in pozivnih napevih podobnih dolžin (11–19s). Slednji so kompleksni signali, sestavljeni iz strukturno različnih delov in zvočnih elementov. Relativni delež posamičnih delov v celotni dolžini signala se lahko zelo razlikuje (de Groot in sod., 2012). Ker je večina samcev tekom merjenja oddajala več kot en tip vibracijskega signala, smo izračunali skupno dolžino oglašanja v 30 ali 15 minutnem obdobju tako, da smo sešteli dolžine vseh vibracijskem signalov, oddanih v tem času. Ker fiziološke osnove načina produkcije vibracijskih signalov pri škržatkih in njihovih sorodnikih niso poznane, nam je skupna dolžina oglašanja predstavljala približno oceno vibracijske aktivnosti, saj relativni prispevek posameznega tipa signala ali zvočnega elementa k ocenjeni porabi O_2 ni znan.

Dolžino pozivnega napeva smo merili od pričetka elementa Me0 do konca Me3. Ker se je tekom rivalnega signala ponavljalni čas pulzov lahko zelo spreminjal, smo take signale razdelili v ločene enote in merili dolžino le-teh. Kriterij za deljenje je bilo nenadno podaljšanje ponavljalnega časa pulzov za več kot 300%. Tihi presledki med posameznimi enotami daljši od 0,5 s niso bili vključeni v dolžino rivalnega signala. Pri pulznih signalih smo v primerih, ko je bil ponavljalni čas pulzov neenakomeren in/ali so bili pulzi ločeni za več kot 150 s, merili dolžino posameznih pulzov. Če so signale sestavljali pulzi, oddani v vlakih z enakomernim ali padajočim ponavljanim časov pulzov krajšim kot 150 ms, smo izmerili dolžina celotnega vlaka.

Vpliv skupne dolžine oglašanja na stopnjo dihanja smo ocenili z uporabo Kendallovega τ koeficienta (Hollander in Wolfe, 1988). Z uporabo nelinearne metode najmanjših kvadratov (nls) (Bates in Chambers, 1992) smo prilagodili model stopnje dihanja v odvisnosti od skupne dolžine oglašanja. Porazdelitev ostankov smo testirali s Shapiro-Wilk testom za normalno porazdelitev in Run testom za naključno distribucijo (Siegel in Castelan, 1988).

Zato da bi preverili vpliv stimulacije na stopnjo dihanja, smo porabo O_2 izmerjeno tekom 30 minutnega poskusa, razdelili na 2 15-minutna dela; s stimulacijo in brez nje. S t -distribucijo (Snedecor in Cochran, 1967) smo primerjali naklone linearnih regresijskih linij, prilagojenih stopnji dihanja v odsekih s stimulacijo in brez nje.

Vse statistične analize vedenjskih in fizioloških podatkov ter tudi modeliranje so bili opravljeni s programom R verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.3.3 Določanje vpliva napora oddajanja pozivnih napevov na preživetje

V poskuse smo vključili 20 samcev vrste *A. makarovi*, ki so se iz ličink razvili v laboratoriju. Napor, ki so ga ti samci vložili v oddajanje pozivnih napevov, smo določali enkrat tedensko do smrti s poskusi, v katerih smo oddajanje pozivnih napevov vzbudili s predvajanjem dueta in nato na oddane pozivne napeve samcem odgovarjali s predhodno posnetimi odzivnimi napevi samic dolžine 10,4 s. Tak poskus simulirala naravno paritveno vedenje. Poskusi so potekali med 8. in 17. uro, saj v predhodnih poskusih nismo zaznali razlik v aktivnosti samcev vrste *A. makarovi* v tem obdobju. Poskusi so bili izvedeni kot je opisano v poglavju (2.2.6.2). Poskusi so se nadaljevali največ 20 minut zatem, ko je samec v odziv na stimulacijo z duetom oddal prvi pozivni napev, ali pa so se končali prej, če je samec našel vir odzivnega napeva. Predhodni poskusi so pokazali, da v takih eksperimentalnih pogojih samci v povprečju potrebujejo 4 minute, da najdejo samico (de Groot in sod., 2012). Če samec 5 minut po stimulaciji ni oddal pozivnega napeva, smo stimulacijo ponovili vsakih nadaljnjih 5 minut. V primeru, če se samec ni pričel oglašati 20 minut po prvi stimulaciji, smo poskus zaključili in kot število oddanih klicev zabeležili 0, kar se zgodilo v treh poskusih.

2.3.3.1 Analize

Glede na povprečno doseženo starost smo samce razdelili v dve skupini; kratko- in dolgožive (oziroma tiste, ki so živeli manj ali dlje od 50 dni). S Kaplan-Meierjevo analizo na osnovi log-rank testa (Klein in Moeschberger, 2003) smo ocenili krivuljo preživetja za ti dve skupini in jih med seboj primerjali. Napor vložen v oddajanje pozivnih napevov smo za vsakega samca izrazili s tremi parametri: s povprečnim številom pozivnih napevov, oddanih tekom poskusa, s povprečno stopnjo oglašanja na minuto poskusa ter s povprečnim skupnim časom oglašanja v poskusu. Ker se je zaradi razlik v času iskanja dolžina posameznih poskusov razlikovala, je povprečna stopnja oglašanja na minuto poskusa predstavljala parameter, ki je neodvisen od dolžine poskusa. S pomočjo logistične regresije smo preverili, ali stopnja oglašanja vpliva na verjetnost, da samec najde vir odzivnega napeva samice.

Stopnjo oglašanja samcev v testih za določanje vpliva napora oddajanja pozivnih napevov na preživetje smo primerjali s stopnjo oglašanja v poskusih, kjer oglašanje samcev ni bilo vzbujeno s predvajanjem dueta in odzivnih napevov samice. V ta namen smo analizirali obstoječe posnetke iz zvočne knjižnice Oddelka za entomologijo. Za izračun stopnje oglašanja na minuto smo uporabili poskuse, pri katerih so samci ostali na rastlini 5 do 20 min (N=122). V analize smo vključili tudi primere, ko samci niso oddali nobenega pozivnega napeva. Stopnji oglašanja smo primerjali z Wilcoxonovim testom vsote rangov.

Napor, vložen v oddajanje pozivnih napevov, smo razdelili na zgodnje (2–5 teden) in pozno (6–9 teden) obdobje. Ker se večina samcev v prvem tednu ni oglašala, smo ta teden izključili iz analize. V poznem obdobju smo v analize vključili le dolgožive samce, saj so se le ti oglašali vsaj v treh posamičnih testih od štirih v tem obdobju. Vse analize smo opravili na netransformiranih podatkih. Korelacijo med naporom, vloženim v oddajanje pozivnih napevov, in preživetjem smo ocenili s pomočjo Pearsonovega korelacijskega koeficienta.

Vse statistične analize so bile opravljene s programom R verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.3.4 Vpliv telesne kondicije na rivalno vedenje

2.3.4.1 Vpliv stradanja na spolno vedenje v dvojici

Vedenjski testi s predvajanjem posnetega odzivnega napeva samice v odgovor oddanemu pozivnemu napevu samca so potekali, kot je opisano v poglavju 2.2.6.2. Testirali smo 34 samcev v dveh poskusnih serijah s 15 in 18 samci. V vsaki seriji smo samce naključno razdelili v dve skupini: hranjene in stradane. Vsaka poskusna serija je trajala 3 dni in vsak samec je bil testiran enkrat v vsakem dnevu. Prvi dan poskusa so vsi samci imeli pred poskusom neomejen dostop do hrane (oz. do rastline lucerne). Drugi dan poskusa smo v skupini stradanih samcev iz gojilnih lončkov odstranili lucerno 6,5 ure pred vedenjskim testom in jo nadomestili z vato, prepojeno z vodo. Po testu smo lucerno vrnili v lončke in vse samce ponovno testirali tretji dan. Pred in po vsakem poskusu smo samce stehali ($\pm 0,1$ mg) (AB304-S Mettler, Toledo, ZDA). Čas poskusa je bil omejen na 20 min po prvem oddanem pozivnem napevu. Če je samec našel vir odzivnega napeva prej, se je poskus zaključil predčasno. Stran, iz katere smo predvajali odgovor samice, se je naključno izmenjevala.

V vseh vedenjskih testih smo beležili sledeče parametre: število samcev, ki so oddajali pozivne napeve, latenco oglašanja (čas od predvajanja dueta do začetka oglašanja), število oddanih pozivnih napevov, dolžino pozivnih napevov, dolžino Me3 elementa v oddanih pozivnih napevih, stopnjo oglašanja (število pozivnih napevov oddanih v minuti poskusa), latenco iskanja (čas od začetka predvajanja dueta do začetka iskanja), število samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva (kot iskalno vedenje smo upoštevali, če je samec zapustil vrh koprive in hodil med in/ali takoj po končanem odzivnem napevu), čas iskanja (čas od pričetka iskanja do lokalizacije vira odzivnega napeva), število samcev, ki so našli vir predvajanja odzivnega napeva, število samcev, ki so oddajali rivalne signale.

Znotraj kontrolne in stradale skupine samcev smo primerjali težo, oglašanje in vedenje v treh dneh poskusa z Wilcoxonovim testom predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo in Fisherjevim testom. Za vsak dan poskusa smo te parametre primerjali tudi med kontrolno in stradano skupino in sicer z Wilcoxonovim testom vsot rangov ter Fisherjevim testom. V obeh skupinah samcev smo iz analiz izločili osebkke, ki so med 3-dnevnim poskusom umrli. V skupini samcev, ki smo jih 2. dan poskusa stradali, smo iz analiz izključili samce, ki v času odvzema hrane niso izgubili teže. V analizo Me3 elementa v pozivnem napevu smo vključili vedenjske teste, v katerih so samci oddali več kot en pozivni napev. V analizo časa iskanja smo vključili le samce, ki so našli vir odzivnega napeva. Rezultate smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom in Wilcoxonovim testom predpisanih rangov.

Vse statistične analize so bile opravljene s programom R verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

2.3.4.2 Vpliv stradanja na spolno vedenje v triu

Vedenjski testi, v katerih smo samcem neprestano predvajali posnet duet, so potekali, kot je opisano v poglavju 2.2.4. Testirali smo 53 samcev v treh poskusnih serijah s 17, 17 in 19 samci. Serije 3-dnevnih poskusov, v katerih smo samce naključno razdelili v skupini hranjenih in stradanih, so potekale po protokolu, ki je opisan v poglavju 2.3.4.1.

V vseh vedenjskih testih smo beležili sledeče parametre: število samcev, ki so oddajali pozivne napeve, latenco oglašanja (čas od prvega predvajanja dueta do začetka oglašanja), število oddanih pozivnih napevov, dolžino pozivnih napevov, dolžino Me3 elementa v oddanih pozivnih napevih, stopnjo oglašanja (število pozivnih napevov oddanih v minuti poskusa), latenco iskanja (čas od začetka prvega predvajanega dueta do začetka iskanja), število samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva (kot iskalno vedenje smo upoštevali, če je samec zapustil vrh koprive in hodil med in/ali takoj po končanem odzivnem napevu), čas iskanja (čas od pričetka iskanja do lokalizacije vira odzivnega napeva), število samcev, ki so našli vir predvajanega odzivnega napeva, število samcev, ki so lokalizirali vir pozivnega napeva, in število samcev, ki so oddajali rivalne signale.

Znotraj kontrolne in stradale skupine samcev smo primerjali težo, oglašanje in vedenje v treh dneh poskusa z Wilcoxonovim testom predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo in Fisherjevim testom. Za vsak dan poskusa smo te parametre primerjali tudi med kontrolno in stradano skupino z Wilcoxonovim testom vsote rangov in Fisherjevim testom. V obeh skupinah samcev smo iz analiz izločili osebkke, ki so med 3-dnevnim poskusom umrli. V analizo Me3 elementa v pozivnem napevu smo vključili vedenjske teste, v katerih so samci oddali več kot en pozivni napev. V analizo časa iskanja smo vključili le samce, ki so našli vir odzivnega napeva. Rezultate smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom in Wilcoxonovim testom predpisanih rangov.

Vse statistične analize so bile opravljene s programom R verzija 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

3 REZULTATI

3.1 VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V ENOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU

3.1.1 Živi trio: 2 samca, 1 samica

Paritveno vedenje stenice vrste *N. viridula* je v nekaterih parametrih potekalo drugače, kot je bilo opisano (Miklas in sod., 2003a; Zgonik in Čokl, 2014). Vibracijsko sporazumevanje se je v vseh 17 poskusih pričelo z oddajanjem pozivnega napeva samice (FCS). Samice so ta napev oddajale v vseh poskusih, medtem ko so napev dvorjenja (FCrS) oddajale le v 64,7% poskusov. V povprečju so samice oddale prvi FCS 37,1 s po pričetku poskusa (najkrajši zabeležen čas = 1 s, najdaljši čas = 117 s, SD = 41,05 s). V vseh poskusih so samci oddajali pozivni napev (MCS) in napev dvorjenja (MCrS). Samci so prvi MCrS v povprečju oddali 103,5 s po pričetku poskusa (najkrajši zabeležen čas = 16 s, najdaljši čas = 265 s, SD = 90,20 s). Samci so poleg MCS in MCrS v 63,6% poskusov oddajali rivalne napeve (MRS). Z rivalnimi napevi, v katerih sta samca izmenjavala pulze, so samci prekrili tudi signale v FCS, ki ga je samica neprestano oddajala. V treh poskusih je med samcema prišlo tudi do fizičnega kontakta in prerivanja. Samica se je sparila z enim od samcev v 70,6% poskusov. V poskusih, kjer se stenice niso sparile, je ali samica ali pa samca zapustila rastlino. Samci so v povprečju začeli iskati po 327,2 s (najkrajši zabeležen čas = 3 s, najdaljši čas = 894 s, SD = 291,61 s).

V 16 poskusih so samice v povprečju po 202,6 s zapustile list, na katerega smo jo postavili in v vseh poskusih, kjer so se stenice sparile, je samica lokalizirala samca. Samica se v 2 poskusih ni parila s tistim, do katerega je prišla najprej. Med premikanjem po rastlini niso prenehale oddajati pozivnih napevov. Večina teh samic (75%) je šla na vrh fižola, medtem ko se 50% premikajočih samic usmerilo proti težjemu samcu. Samci v paru so se po teži razlikovali od 14 do 48 mg. V poskusih, v katerih se je samica sparila, se je v 58,3% poskusov sparila s težjim samcem.

3.1.2 Playback trio: 2 samca, posneta samica

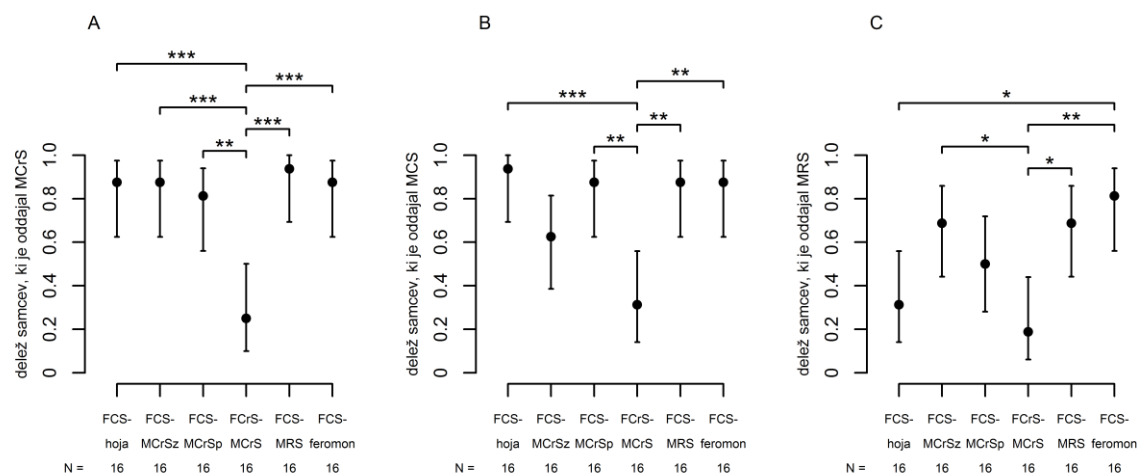
V 13 poskusih so samci našli vir predvajanega FCS, medtem ko v preostalih štirih poskusih noben od samcev v času, določenem za poskus ni našel samice, ali pa sta oba samca odletela z rastline. V vseh 17 poskusih so samci oddajali vse tri tipe vibracijskih signalov: MCS, MCrS in MRS. Samci so prvi MCrS v povprečju oddali 46,2 s po pričetku poskusa (najkrajši zabeležen čas = 7 s, najdaljši čas = 160,7 s, SD = 76,3 s). Z iskanjem so v povprečju pričeli 124,6 s po pričetku poskusa (najkrajši zabeležen čas = 4 s, najdaljši čas = 560 s, SD = 144,9 s) in od 13 samcev, ki so prvi lokalizirali vir FCS, jih je 10 začelo iskati prej kot njihovi tekmeči ($P = 0,009$, enostranski Fisherjev test). Od 13 samcev, ki so prvi lokalizirali vir FCS, se jih je 10 na začetku poskusa nahajalo na listu in le trije na vrhnjem poganjku ($P = 0,017$, dvostranski Fisherjev test). Samci so za lokalizacijo samice v povprečju potrebovali 347,6 s (najkrajši zabeležen čas = 85 s, najdaljši čas = 819 s, SD = 254,8 s). V 47% vseh poskusov so se samci najprej usmerili proti drugemu samcu.

Samci v paru so se po teži razlikovali od 1 do 72 mg. Od 13 samcev, ki so našli samico, jih je bilo 7 težjih od samca v paru. V 41,2% vseh poskusov je med samci prišlo do prerivanja. V poskusih, v katerih sta se samca prerivala, in v katerih so samci tudi našli vir predvajanega FCS, je bil v 43 % poskusov težji samec tisti, ki prvi ali edini našel vir FCS. 27 samcev je med poskusom v povprečju izgubilo težo za 4,5 mg (najmanjša zabeležena sprememba = 0,3 mg, največja sprememba = 17,5 mg, SD = 4,6 mg). Težo pa je med poskusom pridobilo 7 samcev. V povprečju so pridobili 8,2 mg (najmanjša zabeležena sprememba = 0,6 mg, največja sprememba = 18,2 mg, SD = 6,2 mg). Izmed samcev, ki so prvi ali edini našli vir FCS, jih je 10 težo izgubilo ($5 \pm 6,1$ mg, najmanjša zabeležena sprememba = 0,4 mg, največja sprememba = 17,5 mg), medtem ko so jo 3 samci pridobili ($5,8 \pm 5,2$ mg, najmanjša zabeležena sprememba = 0,6 mg, največja sprememba = 11,0 mg). Prerivanje ni vplivalo na večjo izgubo teže ($P = 0,790$, Wilcoxonov test vsote rangov).

3.1.3 Odziv samca na simulirane rivalne situacije

V poskusih smo preverjali katere alternativne vedenjske taktike prevzamejo samci vrste *N. viridula*, ko so postavljeni v vlogo vsiljivca v situacijah, ki simulirajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico - od začetne faze, ko samec in samica šele vzpostavljata duet, do zaključnega koordiniranega dueta na osnovi napevov dvorjenja obeh partnerjev. Predpostavljali smo, da bodo samci razlikovali med temi situacijami, in da bo rivalno vedenje (oz. oddajanje rivalni signalov) bolj izraženo v začetnih fazah vibracijske komunikacije.

Delež samcev, ki so oddajali MCrS, je bil v rivalni situaciji 4 (FCrS+MCrS), ki predstavlja zaključno fazo vibracijske komunikacije med partnerjema, statistično značilno nižji kot v vseh drugih rivalnih situacijah (slika 17A). Delež samcev, ki so oddajali MCrS, se med ostalimi simuliranimi rivalnimi situacijami ni razlikoval. V tej rivalni situaciji delež samcev, ki so oddajali MCS, ni bil statistično značilno nižji le v primerjavi z rivalno situacijo 2 (FCS+MCrS, zgodnji duet) (slika 17B). Delež samcev, ki so oddajali MCS, se med ostalimi simuliranimi rivalnimi situacijami ni razlikoval. Samcev, ki so v rivalni situaciji, ki predstavlja zaključni duet, oddajali rivalne signale, je bilo signifikantno manj (slika 17C), kot v prisotnosti zgodnjega dueta, v prisotnosti agresivnih rivalov (rivalna situacija 5, FCS+MRS) in kot v simulaciji faze pred začetkom vibracijske komunikacije (rivalna situacija 6, FCS+samčev feromon). V rivalni situaciji 6 (FCS+samčev feromon) je bil delež samcev, ki so oddajali rivalne signale tudi statistično značilno višji kot v rivalni situaciji 1 (FCS+hoja samca).



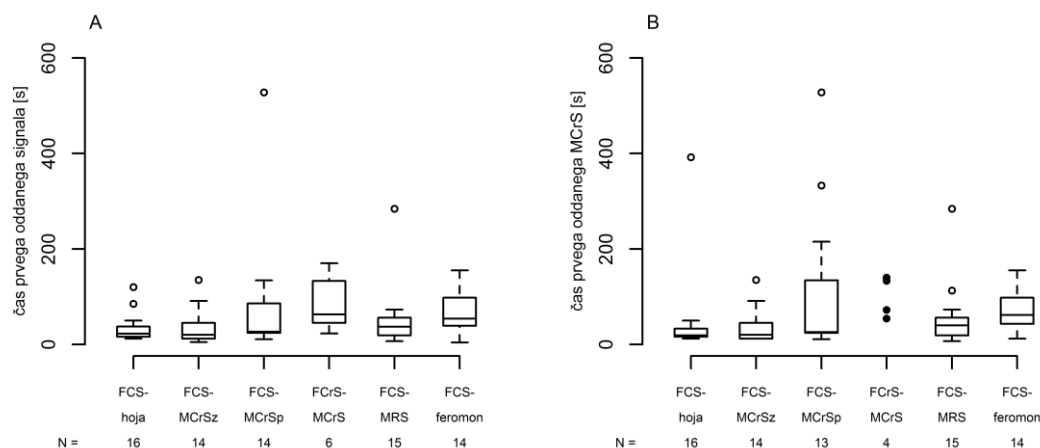
Slika 17: Razlike v oddajanju (A) napevov dvorjenja (MCrS), (B) pozivnih napevov (MCS) in (C) rivalnih signalov (MRS) samcev vrste *Nezara viridula* v situacijah, ki simulirajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico (za podrobnejšo razlago glej preglednico 2). Prikazani so deleži samcev, ki so oddajali posamezen tip napeva. Črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ in *** $P < 0,001$, deleži, ki se statistično značilno razlikujejo, dvostranski Fisherjev test. N = število samcev, vključenih v analize.

Figure 17: Differences in emission of (A) male courtship song (MCrS), (B) male calling song (MCS) and (C) rivalry signals (MRS) in males of *Nezara viridula* during enforced competition in situations that simulate different stages in male-female vibrational communication (for detailed explanation see Table 2). Proportions of males emitting each type of vibrational signal are shown. Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. *, ** and *** indicate values that are significantly different (two-tailed Fisher's exact test, $P < 0,05$, $P < 0,01$ and $P < 0,001$, respectively). N = number of males included in the analyses.

Latenca oglašanja se ni statistično značilno razlikovala med posameznimi rivalnimi situacijami (slika 18A), čeprav je bila latenca prvega oddanega MCrS v rivalni situaciji ob prisotnosti samčevega feromona skoraj signifikantno višja kot v prisotnosti zgodnjega dueta ($P = 0,07$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferroni korekcijo) (slika 18B).

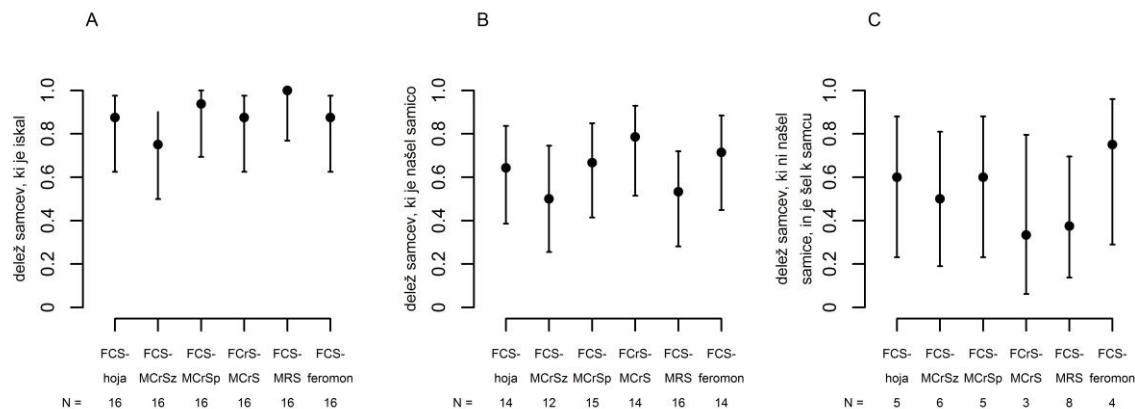
Število samcev, ki so iskali vir predvajanih vibracijskih signalov, število samcev, ki so našli vir samičinih napevov, ter število samcev, ki so namesto samičinih signalov lokalizirali vibracijske signale samca oz. vir samčevega feromona, se med posameznimi rivalnimi situacijami ni statistično značilno razlikovalo (slika 19A, B, C).

Latenca iskanja (slika 20A) in iskalni čas (slika 20B) se med posameznimi rivalnimi situacijami nista statistično značilno razlikovala.



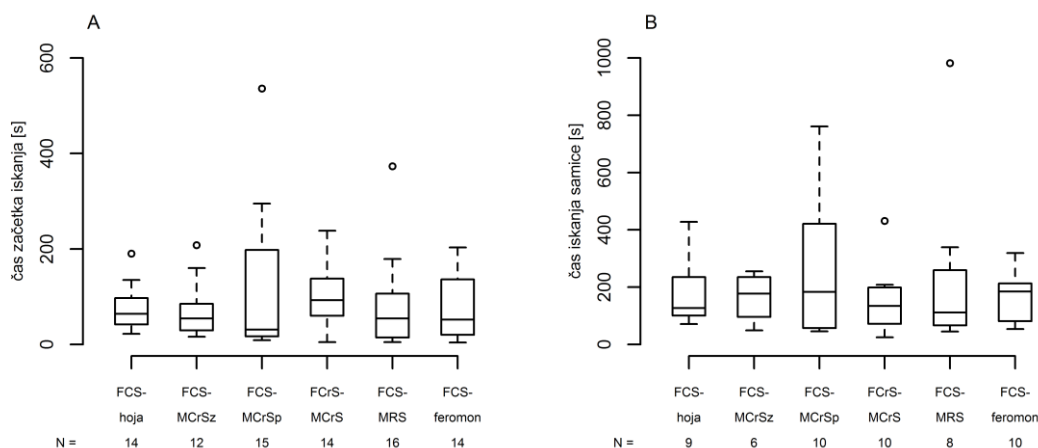
Slika 18: Razlike v (A) latenci prvega odziva in (B) latenci prvega oddanega napeva dvorjenja (MCRS) samcev vrste *Nezara viridula* v situacijah, ki simulirajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico (za podrobnejšo razlago glej preglednico 2). Prikazani so deleži samcev, ki so oddajali posamezen tip napeva. Okvir z ročajmi prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). N = število samcev, vključenih v analize.

Figure 18: Differences in (A) latency of first emitted vibrational signal and (B) latency of male courtship song (MCRS) emission of males of *Nezara viridula* during enforced competition in situations that simulate different stages in male-female vibrational communication (for detailed explanation see Table 2). Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). N = number of males included in the analyses.



Slika 19: Primerjava deležev (A) iščočih samcev, (B) samcev, ki so našli vir predvajanih vibracijskih signalov samice in (C) samcev, ki so locirali vir predvajanih vibracijskih signalov samca, vrste *Nezara viridula* v situacijah, ki simulirajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico (za podrobnejšo razlago glej preglednico 2). Črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. N = število samcev, vključenih v analize.

Figure 19: Comparison of proportions of (A) searching males, (B) males locating the source of female vibrational signals and (C) proportion of *Nezara viridula* males locating the source of male vibrational signals during enforced competition in situations that simulate different stages in male-female vibrational communication. (for detailed explanation see Table 2). Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. N = number of males included in the analyses.



Slika 20: Razlike v (A) latenci iskanja in (B) času iskanja vira vibracijskega signala samice samcev vrste *Nezara viridula* v situacijah, ki simulirajo različne faze vibracijske komunikacije med samcem in samico (za podrobnejšo razlago glej preglednico 2). Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). N = število samcev, vključenih v analize.

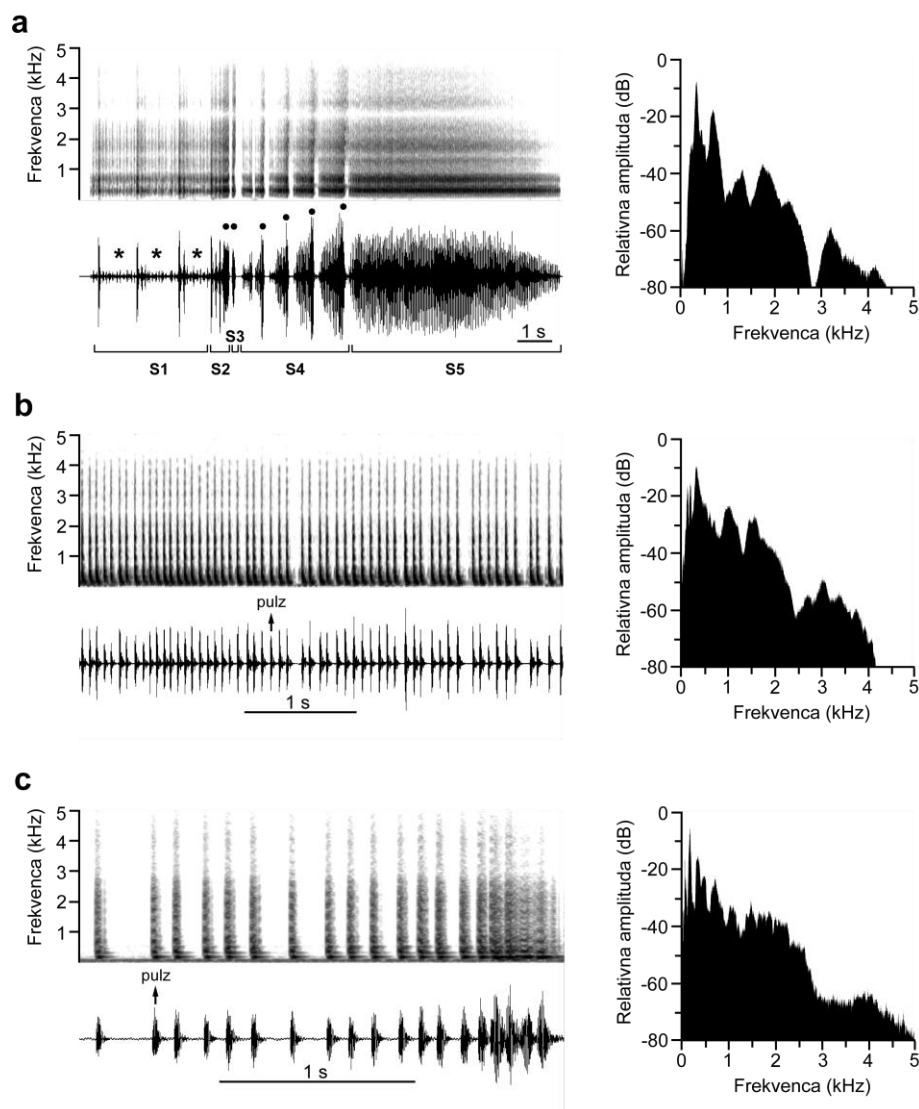
Figure 20: Differences in (A) search latency and (B) searching time needed to locate the source of female vibrational signals of males of *Nezara viridula* during enforced competition in situations that simulate different stages in male-female vibrational communication (for detailed explanation see Table 2). Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1,5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). N = number of males included in the analyses.

3.2 VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V DVOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU

3.2.1 Osnovne časovne in frekvenčne karakteristike vibracijskih napevov samcev vrste *A. makarovi*

Samci, ki smo jih same postavili na rastlino, so oddajali pozivne napeve in pulzne signale, medtem ko so rivalne signale oddajali le v rivalnih situacijah. Pulzne signale oddajajo tako samci kot samice v različnih vedenjskih kontekstih, kot so npr. rivalne situacije, neugodje in oznanjanje prisotnosti na rastlini. Vsi vibracijski signali samcev vrste *A. makarovi* imajo široko-pasovne frekvenčne karakteristike, vendar se dominantne frekvence vseh signalov nahajajo v območju pod 500 Hz (slika 21).

Pozivni napev samcev je kompleksen vibracijski signal s stereotipno zgradbo. Lahko ga razstavimo v posamezne, značilno zgrajene elemente, ki jih sestavljajo drdranje in ponavljajoči se pulzi in čiriki (de Groot in sod., 2012) (slika 21A). Za čirik je značilna šibka frekvenčna modulacija in harmonična struktura, ki je podobna pulznim signalom (slika 21A). Osnovne časovne karakteristike pozivnega napeva so prikazane v preglednici 5. Kot so pokazale že predhodne raziskave (de Groot in sod., 2012), sta se celotna dolžina pozivnega napeva in ponavljalni čas pulzov v zadnjem delu poziva (element Me3) med samci le malo razlikovala (slika 23).



Slika 21: Reprezentativni primeri vibracijskih signalov, ki jih oddajajo samci vrste *Aphrodes makarovi*. A: pozivni napev; B: rivalni signal; C: pulzni signal. Spodaj oscilogram, zgoraj spektrogram, frekvenčni spekter signala je prikazan na desni. S1-S5, strukturno različni deli pozivnega napeva, kot so jih opisali de Groot in sod. (2012). * - drdranje, • - čirik

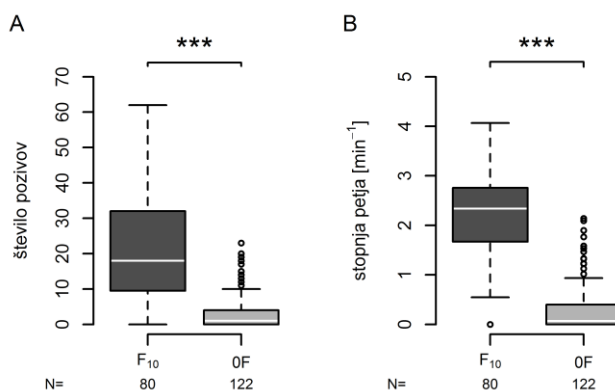
Figure 21: Representative vibrational signals emitted by males of the leafhopper *Aphrodes makarovi*. A: advertisement call; B: rivalry signal; C: pulse signal. The spectrogram is shown above the corresponding waveform, frequency spectra are shown on the right. a: S1-S5, structurally different sections of advertisement call (after de Groot et al., 2012); *- 'rumble', •-chirp.

V odsotnosti začetne stimulacije z duetom in brez predvajanja samičinega odgovora 40 % samcev (N = 155) ni oddalo nobenega pozivnega napeva. Tisti, ki pa so se oglašali, so oddali 1 do 23 pozivov (slika 22A). Po stimulaciji z duetom se ni oglasilo le 7% samcev (N = 80). Število oddanih pozivnih napevov ob predvajanju odzivnega napeva samice je bilo 4 do 62. Povprečna stopnja oglašanja osamljenih samcev je bila $0,32 \pm 0,5$ pozivnih napevov/min, medtem ko je bila stopnja oglašanja ob predvajanju odzivnega napeva samice približno sedemkrat višja ($2,1 \pm 0,97$ pozivnih napevov/min, Wilcoxonov test rangov, $P < 0,001$) (slika 22B).

Preglednica 5: Časovne karakteristike različnih tipov vibracijskih signalov, ki jih oddajajo samci vrste *Aphrodes makarovi*. Časovne karakteristike različnih tipov signalov so določene na signalih, ki so jih oddali isti samci v poskusih vsiljenega tekmovanja (poglavje 3.2.3).

Table 5: Temporal characteristic of different types of vibrational signals emitted by male *Aphrodes makarovi*. Temporal characteristics of different signal types were determined on signals emitted by the same males in enforced competition experiments (chapter 3.2.3).

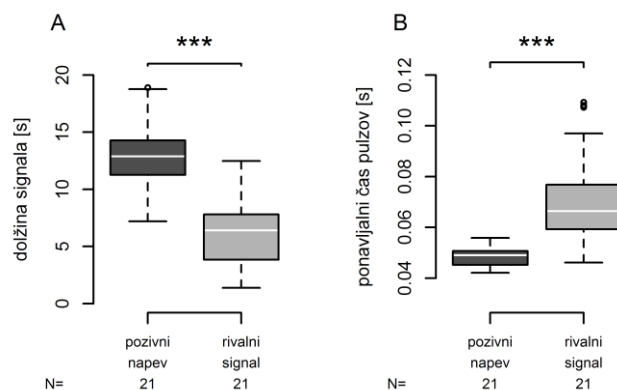
Tip signala	Dolžina signala (s)	Dolžina pulza (ms)	Ponavljalni čas pulzov (ms)
	povprečje ± SD	povprečje ± SD	povprečje ± SD
Pozivni napev	12,58 ± 3,01 (N = 21, n = 154)	36 ± 6 (N = 15, n = 45)	48 ± 6 (N = 21, n = 355)
Rivalni signal	6,11 ± 0,725 (N = 21, n = 352)	28 ± 7 (N = 21, n = 150)	72 ± 19 (N = 21, n = 360)
Pulzni signal	0,471 ± 0,725 (N = 27, n = 73)	227 ± 103 (N = 10, n = 20)	113 ± 72 (N = 27, n = 50)



Slika 22: Primerjava aktivnosti oglašanja samcev vrste *Aphrodes makarovi* v prisotnosti (F₁₀) in odsotnosti (0F) odgovora samice. (A) razlike v številu oddanih pozivnih napevov v poskusu in (B) stopnja oglašanja na minuto poskusa. Okvir z ročaji prikazuje mediano (bela črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Wilcoxonov test vsote rangov, ***P < 0,001. NF₁₀ = 80; N₀ = 122. N = število samcev, vključenih v analize.

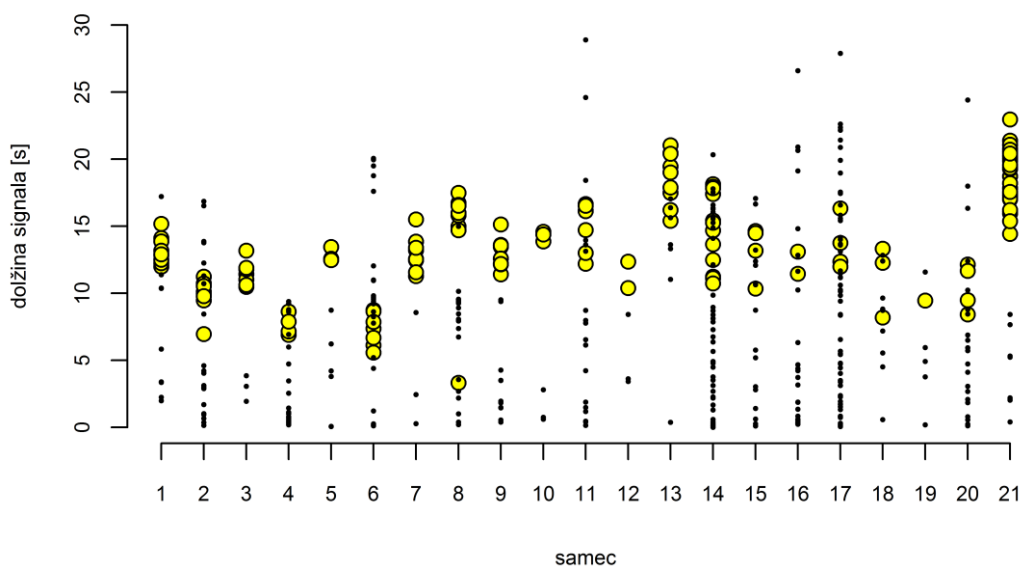
Figure 22: Comparison of signalling activity of *Aphrodes makarovi* male in the presence (F₁₀) and absence (0F) of female reply. Differences in number of emitted advertisement calls during the trial (A) and calling rate per min of trial (B). Box and whisker plots show the median (white line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). *** p < 0.001. N = number of males included in the analyses.

Rivalni signal je sestavljen iz niza enakomerno ponavljajočih se pulzov (slika 21B). V primerjavi s pozivnimi napevi, ki so jih oddali isti samci, je ponavljalni čas pulzov v teh signalih statistično značilno daljši (Wilcoxonov test predpisanih rangov, P < 0,001) (slika 23B), medtem ko je dolžina teh signalov signifikantno krajša (Wilcoxonov test predpisanih rangov, P < 0,001) (preglednica 5) (slika 23A). Oba parametra pa sta zelo variabilna in vrednosti se pogosto niso razlikovale od vrednosti v pozivnih napevih (slika 24). Amplituda rivalnih signalov, s katerimi samci prekrivajo odzivni napev samice, je podobna amplitudi pozivnih napevov.



Slika 23: Razlike v (A) dolžini in (B) ponavljalnem času pulzov v pozivnem napevu in rivalnih signalih, ki jih oddajajo samci vrste *Aphrodes makarovi*. Okvir z ročaji prikazuje mediano (bela črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Wilcoxonov test predpisanih rangov, *** $P < 0,001$. Število samcev, vključenih v analize = 21, število analiziranih pozivnih napevov = 51, 2-32 pozivov na samca, število analiziranih rivalnih signalov = 330, 3-59 pozivov na samca.

Figure 23: Differences in (A) duration and (B) pulse repetition time of advertisement calls and rivalry signals emitted by *Aphrodes makarovi* males. Box and whisker plots show the median (white line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). *** $p < 0.001$, Wilcoxon signed rank test. Number of males (N)=21, number of advertisement calls analysed = 152, 2-32 calls per male, number of rival signals analysed = 330, 3-59 signals per male.



Slika 24: Izmerjene dolžine pozivnih napevov (rumeni krogi) in rivalnih signalov (črne pike), ki so jih oddajali samci vrste *Aphrodes makarovi*, ki so prikazani v okvirjih z ročaji v sliki 23A.

Figure 24: Measured durations of advertisement calls (yellow circles) and rivalry signals (black dots) emitted by *Aphrodes makarovi* males used to obtain box and whiskers plots shown in Fig. 23A.

Pulzni signali, ki so jih oddajali samci, so bili ali posamezni pulzi ali pa serije ponavljajočih se pulzov (slika 21C). Vsi izmerjeni parametri so bili zelo variabilni

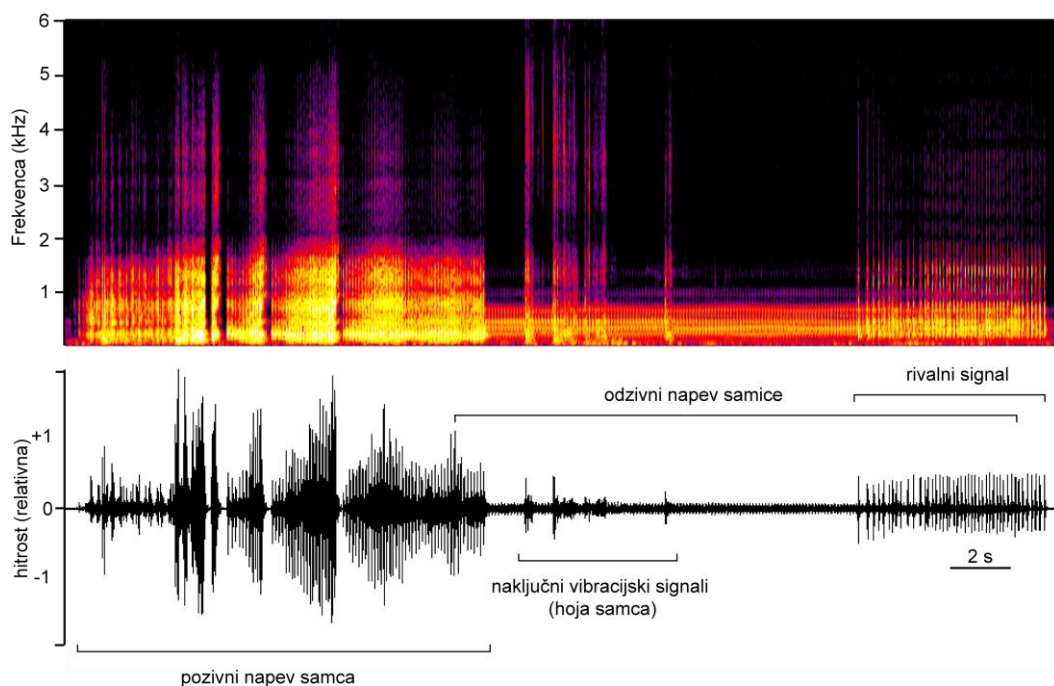
(preglednica 5). Najdaljši izmerjen pulzni signal je trajal 3,37 s. Dolžina pulzov v pulznih signalih je bila statistično značilno daljša kot dolžina pulzov v pozivnih napevih in rivalnih signalih (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 42,734$; $df = 2$, $P < 0,001$).

3.2.2 Živi trio: 2 samca, 1 samica

Paritveno vedenje je v osnovi potekalo tako, kot je bilo že opisano (de Groot in sod., 2012; Derlink, 2014). Sporazumevanje med potencialnima partnerjema se je pričelo s spontanim oddajanjem pozivnega napeva samca. Odzivni napev samice, oddan v odgovor na pozivni napev, je pri samcih sprožilo iskalno vedenje, izraženo kot hoja po rastlini. Ko je samec prispel do samice, se je v večini primerov pričela faza dvorjenja, v kateri samec zleze na hrbet samice in nadaljuje z oddajanjem pozivnih napevov.

V vseh 16 poskusih, v katerih smo opazovali vedenje samcev in samic v triu, se je samica v času največ 742 s po prvem oddanem pozivnem napevu sparila z enim od samcev. V poskusih smo prvi pozivni napev v povprečju registrirali 293,40 s po pričetku poskusa (najkrajši zabeleženi čas = 19 s, najdaljši čas = 1374 s, $SD = 311,06$ s). V 75 % poskusov sta oddajala pozivne napeve oba samca. Samca se v oddajanju pozivnih napevov nista izmenjevala, temveč je posamezen samec oddal več pozivnih napevov zapovrstjo. Samica je v vseh teh poskusih odgovarjala obema samcema. Dolžine registriranih pozivnih napevov so znašale od 3,65 do 27,38 s (srednja vrednost \pm SD: $12,57 \pm 4,04$ s). Samice so v povprečju odgovorile na 81 % vseh oddanih pozivnih napevov v poskusih. Razpon dolžine neprekritega dela odzivnih napevov je bil od 0,29 do 47,74 s (srednja vrednost \pm SD: $6,47 \pm 6,19$ s).

Samci so poleg pozivnih napevov oddajali tudi rivalne in pulzne signale. Rivalne signale so samci oddajali v 14 od 16 poskusov (oz. v 87,5% poskusov). V veliki večini primerov so samci z rivalnimi signali delno prekrili odzivni napev samice (slika 25). Tekom posameznih poskusov so prekrili od 9 do 60% odzivnih napevov. Le v štirih poskusih so samci z rivalnimi signali nekajkrat prekrili tudi del pozivnega napeva. V slednjih je bilo v povprečju prekritih 17,65 % pozivov. V poskusih, v katerih sta se oglašala oba samca, se je samec, ki ni oddal pozivnega napeva, na katerega je samica odgovorila, le redko premikal po rastlini že med tem, ko je drugi samec oddajal pozivni napev. Delež pozivov, med katerimi se je tihi samec premikal, je v posameznih poskusih znašal od 5 do 50%. V polovici poskusov je med samcema prišlo tudi do fizičnega kontakta in prerivanja. Do fizičnega kontakta in prerivanja je prišlo kjerkoli na rastlini. V 13 poskusih se je samica sparila s samcem, ki jo je prvi našel.



Slika 25: Primer rivalnega signala samca vrste *Aphrodes makarovi*, ki prekriva odzivni napev samice. Spodaj oscilogram, zgoraj spektrogram.

Figure 25: An example of a rivalry signal emitted by *Aphrodes makarovi* male overlapping female reply. The spectrogram is shown above the corresponding waveform.

Videoposnetki z uporabo povečevalne predleče so nam omogočili, da smo na osnovi opaznega tresenja zadka, ki nastane od oddajanju pozivnih napevov, lahko določili, kateri samec je oddajal posamezen pozivni napev. Tako tresenje ni opazno pri oddajanju rivalnih signalov, zato za slednje nismo mogli določiti, kateri samec jih je oddajal. Samce smo razdelili v dve skupini: zmagovalce (tiste, ki so se parili s samico) in poražence (tiste, ki se niso) (preglednica 6). Zmagovalec se je prvi oglasil s pozivnim napevom v devetih poskusih. V štirih poskusih poraženci niso oddajali pozivnih napevov, vendar pa tudi zmagovalec v enem poskusu ni oddal nobenega poziva. V večini poskusov je samica odgovorila na prvi oddani pozivni napev in le v dveh primerih je najprej odgovorila poražencu. V poskusih, v katerih sta se oglašala oba samca, tekem posameznega poskusa samica ni odgovorila na od 9 do 67% pozivnih napevov zmagovalca ter na od 11 do 37% pozivnih napevov poraženca. V $\frac{2}{3}$ poskusov, kjer sta se oglašala oba samca, so bili v povprečju neprekriti deli odzivnih napevov v odgovor zmagovalcu daljši (dvostranski Fisherjev test, $P = 0,174$).

Preglednica 6: Razlike v oglašanju, iskalnem vedenju in teži med samci vrste *Aphrodes makarovi*, ki so se v živih triih parili s samico (zmagovalci) in tistimi, ki se niso (poraženci). N = število poskusov, vključenih v analize. V primerjavo parametrov 'število oddanih pozivnih napevov', 'stopnja oglašanja', 'dolžina oddanih pozivov', 'stopnja odgovarjanja samice' in 'čas iskanja' smo vključili le poskuse, v katerih sta oba samca iskala samico. Kot časovno obdobje smo za parametre oglašanja upoštevali čas od oddaje prvega pozivnega napeva v poskusu do lokalizacije samice posameznega samca. Če poraženec ni našel samice, preden se je zmagovalec z njo sparil, smo za poraženca kot čas iskanja upoštevali čas od prvega oddanega poziva v poskusu do konca poskusa. ¹: razlike med zmagovalci in poraženci smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom; ²: razlike med zmagovalci in poraženci smo primerjali z Wilcoxonovim testom vsote rangov.

Table 6: Differences in signalling and searching behaviour and body mass between *Aphrodes makarovi* males that in trio situations mated with the female (winners) or not (losers). N = number of experiments included in the analyses. For parameters 'number of emitted calls', 'calling rate', 'rate of female response' and searching time we included in the analyses only experiments in which both males were searching for the female. We took into account the period from the first emitted male advertisement call in the trial until each male localized the female. When the loser did not find the female before the winner mated with her, the loser's searching time was determined as the time from the first emitted male advertisement call until the end of the experiment. ¹: statistical differences between winners and losers were determined by one-tailed Fisher's exact test; ²: statistical differences between winners and losers were determined by Wilcoxon rank sum test.

Parameter	Zmagovalec	Poraženec	P
Odda prvi poziv (N = 16)	9	7	0,362 ¹
Prvi išče (N = 16)	11	5	0,037 ¹
Prvi najde (N=16)	13	3	< 0,001 ¹
Povprečno število oddanih pozivov (N = 12)	6,25	5,92	0,789 ²
Povprečna stopnja oglašanja na min (N = 12)	0,833	0,949	0,718 ²
Povprečna dolžina oddanih pozivov (N = 12)	14,18	12,52	0,519 ²
Stopnja odgovarjanja samice (N = 12)	79,30%	75,17%	-
Povprečni čas iskanja (N = 12)	268 s	423 s	0,030 ²
Težji (N = 16)	11	5	0,037 ¹

V 11 poskusih je zmagovalec pričel iskati prej kot poraženec (enostranski Fisherjev test, P = 0,037). Tako zmagovalci kot poraženci so našli samico, ne da bi oddali pozivne napeve. Zmagovalec je v času od pričetka oglašanja do lokalizacije samice oddal od 1 do 17, poraženec pa od 3 do 19 pozivnih napevov. Hkrati je bila v tem času stopnja oglašanja zmagovalcev od 0,51 do 1,99 ter poražencev od 0,32 do 3,23 oddanih pozivov/min. Iskalni čas (od pričetka oglašanja do lokalizacije samice) je bil za zmagovalce 286,33 s (najkrajši zabeležen čas = 134 s, najdaljši čas = 500 s) in za poražence 423,17 s (najkrajši čas = 149 s, najdaljši čas = 710 s) (P = 0,030, Wilcoxonov test vsote rangov). V štirih poskusih poraženci niso iskali samice, čeprav se je v enem od teh poskusov poraženec oglašal. V treh poskusih poraženci do konca poskusa niso našli samice, ki so jo iskali. V treh poskusih se je samica odzivala tudi poražencu še v fazi dvorjenja (ko je bil zmagovalec že na hrbtu samice).

Samci v paru so se po teži razlikovali od 0,13 do 4,93 mg. V 10 poskusih je težji samec prvi pričel iskati samico in v 11 poskusih je bil zmagovalec težji od poraženca (enostranski Fisherjev test, P = 0,037). V poskusih, v katerih se je samica sparila s samcem, ki je bil v paru lažji, je bila razlika med samcema od 0,13 do 3,2 mg. Poraženci so bili po končanem poskusu v povprečju 0,1 mg lažji (SD = 0,4 mg) kot na začetku. Štirje poraženci so med poskusom pridobili na teži. Zmagovalci so bili po končanem poskusu v povprečju 1 mg lažji (SD = 0,4 mg), samice pa so bile po kopulaciji v povprečju 0,6 mg težje (SD = 0,4

mg) kot na začetku poskusa. Večji del izgubljene teže zmagovalcev verjetno lahko pripišemo teži prenešenega spermatofora. Tudi rezultati nakazujejo, da naj bi zmagovalci izgubili več teže kot poraženci.

Rezultati opazovanj kažejo, da samci vrste *A. makarovi* v prisotnosti rivala uporabljajo vsaj dve alternativni vedenjski taktiki – oddajanje rivalnih signalov, s katerim prekrivajo odzivni napev samice, in satelitsko vedenje. Hitrost lokalizacije samice je v prisotnosti rivala ključna, saj se samica pari s samcem, ki jo prvi najde. Rezultati tudi nakazujejo, da so pri iskanju samice v prednosti težji samci.

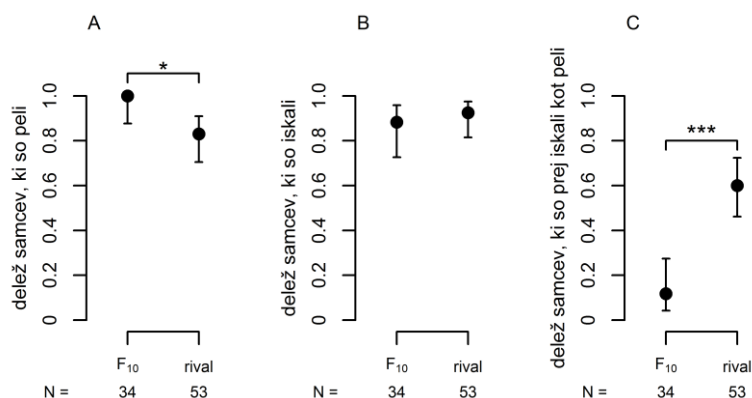
3.2.3 Playback trio: 1 samec, posnet samec, posneta samica

V poskusih smo preverjali, katere alternativne vedenjske taktike prevzamejo samci, ki so postavljeni izključno v vlogo vsiljivca oz. v situacijo vsiljenega tekmovanja. Potencialne taktike, ki bi jih v taki situaciji lahko prevzeli samci, so oddajanje rivalnih signalov, satelitsko vedenje ali poskus prevzema dueta z oddajanjem pozivnih napevov, ki so za samice bolj privlačni.

Ko smo samcem neprestano predvajali duet samca in samice (vsiljeno tekmovanje), se je njihovo oglašanje in vedenje razlikovalo od poskusov, v katerih smo z enkratnim predvajanjem dueta vzbudili oddajanje pozivnih napevov, ter zatem samcem v odgovor na njihov lastni pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine (vzbujen duet, F_{10}).

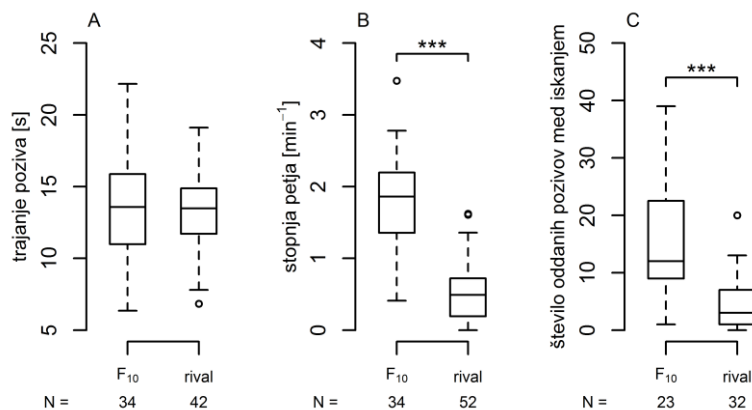
Delež samcev, ki so oddajali pozivni napev, je bil v situaciji vsiljenega tekmovanja značilno nižji (slika 26A). Delež samcev, ki so iskali samico, se med tema dvema tipoma poskusov ni razlikoval (slika 26B), vendar je v vsiljenem tekmovanju večina samcev pričela z iskanjem preden so oddali prvi pozivni napev, medtem ko je pri vzbujenem duetu le manjše število samcev pričelo z iskanjem samice že ob predvajanju vzbujevalnega dueta (dvostranski Fisherjev test, $P < 0,001$) (slika 26C).

Povprečna dolžina oddanih pozivnih napevov se med situacijama vsiljenega tekmovanja in vzbujenega dueta ni razlikovala (slika 27A), medtem ko je bila stopnja oglašanja ob vsiljenem duetu statistično značilno nižja (slika 27B). Število oddanih pozivnih napevov samcev, ki so našli vir odzivnega napeva samice, je bilo ob vsiljenem tekmovanju signifikantno nižje (slika 27C).



Slika 26: Razlike v oglašanju in iskalnem vedenju samcev vrste *Aphrodes makarovi* med vsiljenem tekmovanjem (rival) in vzbujenim duetom s predvajanim odzivnim napevom samice (F_{10}). (A) delež samcev, ki so oddajali pozivne napeve, (B) delež samcev, ki so iskali vir vibracijskih signalov, (C) delež samcev, ki so pričeli z iskanjem preden so oddali prvi pozivni napev. Črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$, deleži, ki se statistično značilno razlikujejo, dvostranski Fisherjev test. N = število samcev, vključenih v analize.

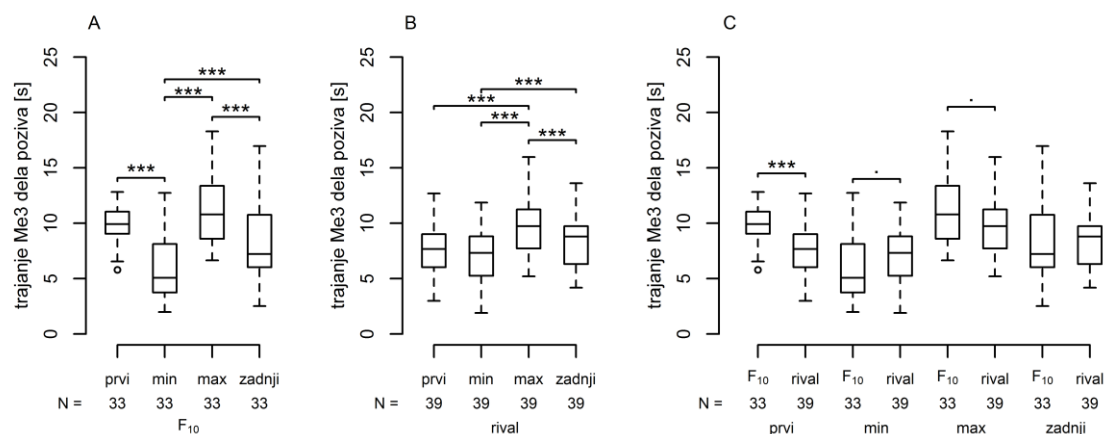
Figure 26: Differences in signalling and searching behaviour of *Aphrodes makarovi* males during enforced competition (rival) and initiated duet with a female (F_{10}). (A) proportion of males emitting advertisement calls, (B) proportion of males searching for the female, (C) proportion of males that started to search before they emitted the first advertisement call. Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. * and *** indicate values that are significantly different (two-tailed Fisher's exact test, $P < 0.05$ and $P < 0.001$, respectively). N = number of males included in the analyses.



Slika 27: Razlike v oglašanju samcev vrste *Aphrodes makarovi* med vsiljenim tekmovanjem (rival) in v vzbujenem duetu s samico (F_{10}). (A) dolžina pozivnega napeva, (B) stopnja oglašanja, (C) skupen čas oglašanja. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). *** $P < 0,001$, Wilcoxonov test vsote rangov. N = število samcev, vključenih v analize.

Figure 27: Differences in signalling behaviour of *Aphrodes makarovi* males during enforced competition (rival) and initiated duet with a female (F_{10}). (A) duration of advertisement call, (B) calling rate, (C) cumulative calling duration. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Box plots with different letters are significantly different (Wilcoxon rank sum test, *** $P < 0.001$). N = number of males included in the analyses.

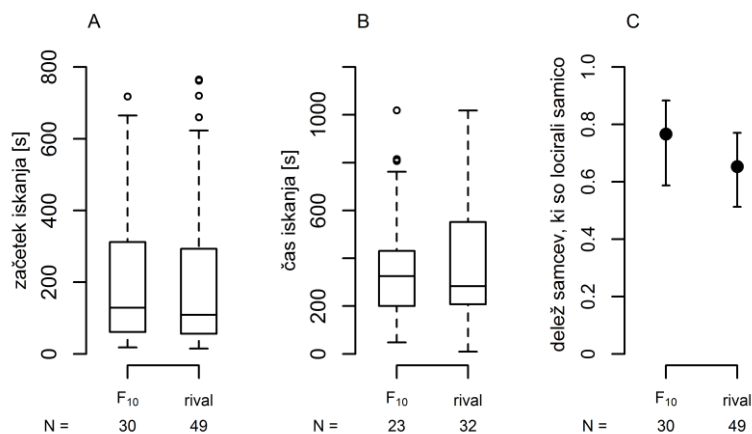
V nasprotju z vsiljenim tekmovanjem, se je v vzbujenem duetu dolžina Me3 elementa v prvem oddanem klicu statistično značilno razlikovala od dolžine najkrajšega Me3 elementa v poskusu, ni se pa razlikovala od dolžine najdaljšega Me3 elementa (sliki 28A in B). Dolžina zadnjega dela pozivnega napeva (element Me3) v prvem oddanem pozivnem napevu v poskusu je bila v vzbujenem duetu signifikantno daljša kot ob vsiljenem tekmovanju ($P < 0,001$, Wilcoxonov test vsote rangov) (slika 28C). Skoraj statistično značilno je bila pri vsiljenem tekmovanju daljša tudi dolžina najdaljšega Me3 elementa v poskusu ($P = 0,053$, Wilcoxonov test vsote rangov), medtem ko je bila dolžina najkrajšega Me3 elementa skoraj signifikantno krajša ($P = 0,052$, Wilcoxonov test vsote rangov).



Slika 28: Razlike v dolžini Me3 elementa v pozivnem napevu samcev vrste *Aphrodes makarovi* med vsiljenim tekmovanjem (rival) in v vzbujenem duetu s samico (F₁₀). Primerjane so dolžine Me3 elementa prvega oddanega pozivnega napeva v poskusu (prvi), najkrajše dolžine Me3elementa v poskusu (min), najdaljše dolžine Me3 elementa v poskusu (max) in dolžine Me3 elementa zadnjega oddanega pozivnega napeva v poskusu (zadnji). (A) vzbujen duet s samico, (B) vsiljeno tekmovanje, (C) primerjava med vzbujenim duetom in vsiljenim tekmovanjem. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škafila), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). (A, B) *** $P < 0,001$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferroni korekcijo, (C) *** $P < 0,001$, • $P \sim 0,05$, Wilcoxonov test vsote rangov. N = število samcev, vključenih v analize.

Figure 28: Differences in duration of Me3 element in advertisement call of *Aphrodes makarovi* males during enforced competition (rival) and initiated duet with a female (duet F₁₀). Compared are duration of Me3 element in the first emitted call in the trial (prvi), duration of the shortest Me3 element in the trial (min), duration of the longest Me3 element (max) and duration of Me3 element in the last emitted call in the trail (zadnji). Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). (A, B) *** $P < 0,001$, Wilcoxon signed rank test with Bonferroni correction, (C) *** $P < 0,001$, • $P \sim 0,05$, Wilcoxon rank sum test. N = number of males included in the analyses.

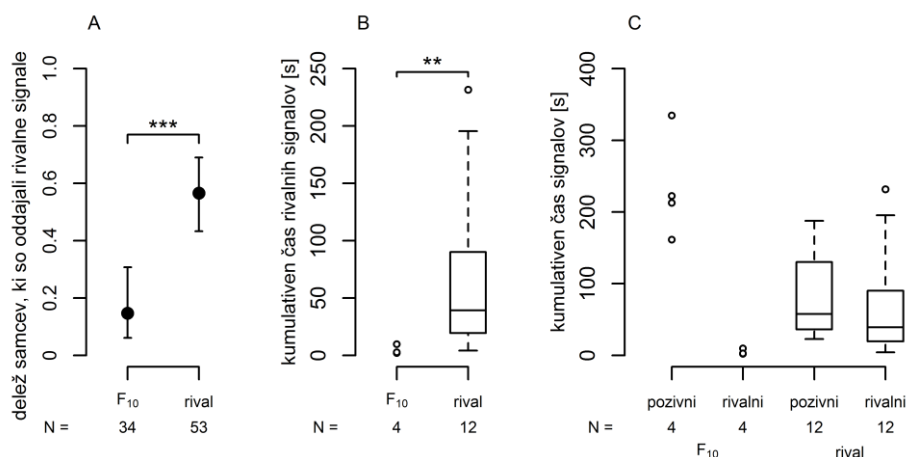
V obeh poskusnih situacijah se latenca iskanja ter čas iskanja nista značilno razlikovala (slika 29A, B). Samci so bili tudi približno enako uspešni pri lokalizaciji samice (slika 29C). Ob vsiljenem tekmovanju se je 11 od 17 iščočih samcev, ki v poskusu niso našli vira odzivnih napevov, usmerila proti predvajanemu pozivnemu napevu samca.



Slika 29: Razlike v oglašanju samcev vrste *Aphrodes makarovi* med vsiljenim tekmovanjem (rival) in v vzbujenem duetu s samico (duet F₁₀). (A) latenca iskanja, (B) čas iskanja, (C) delež samcev, ki so našli vir odzivnega napeva samice. (A, B) Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krog). (C) črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. N=število samcev, vključenih v analize.

Figure 29: Differences in searching behaviour of *Aphrodes makarovi* males during enforced competition (rival) and initiated duet with a female (duet F₁₀). (A) search latency, (B) searching time, (C) proportion of males locating the female. (A, B) Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1,5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). (C) Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. N = number of males included in the analyses.

Delež samcev, ki so oddajali rivalne signale, je bil ob vzbujenem duetu statistično značilno nižji kot v vsiljenem tekmovanju (slika 30A). Pri slednjem so samci z rivalnimi signali v večini primerov prekrili odzivni napev samice, ki je odgovarjala drugemu samcu. Skupna dolžina oddanih rivalnih signalov je bila v situaciji vsiljenega tekmovanja signifikantno višja (slika 30B).



Slika 30: Razlike v oddajanju rivalnih signalov samcev vrste *Aphrodes makarovi* med vsiljenim tekmovanjem (rival) in v vzbujenem duetu s samico (duet F₁₀). (A) delež samcev, ki so oddajali rivalne signale, (B) skupni čas oddajanja rivalnih signalov, (C) skupni čas oddajanja pozivnih in rivalnih napevo pri samcih, ki so oddajali oba tipa signalov in so našli vir odzivnih napevov. (A) črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. (B, C) Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Kjer je N < 5, so prikazani surovi podatki. (A) ***P < 0,001, dvostranski Fisherjev test. (B) **P < 0,01, Wilcoxonov test vsote rangov. N = število samcev, vključenih v analize.

Figure 30: Differences in emission of rivalry signals *Aphrodes makarovi* males during enforced competition (rival) and initiated duet with a female (duet F₁₀). (A) proportion of males emitting rivalry signals, (B) cumulative rivalry signalling, (C) cumulative time of emission of advertisement calls and rivalry signals for males that located the source of female reply. (A) Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. (B, C) Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). When N < 5 raw data are shown. (A) ***P < 0,001, two-tailed Fisher's test. (B) **P < 0,01, Wilcoxon rank sum test. N = number of males included in the analyses.

Pregled vseh rezultatov kaže, da v situaciji vsiljenega tekmovanja samci izrazijo dve alternativni taktiki: oddajanje rivalnih signalov in satelitsko vedenje. Samci z rivalnim signalom prekrivajo tako odzivni napev samice, ki jim odgovarja, kakor tudi odzivni napev samice, ki odgovarja drugemu samcu. Samci so v vlogi vsiljivca prilagajali dolžino oddanega pozivnega napeva dolžini tihega intervala v predvajanem duetu (19,1 s) in niso oddajali pozivnih napevov, daljših od tistih v predvajanem duetu (18,1 s), kar kaže, da niso poskušali prevzeti dueta z oddajanjem daljših pozivnih napevov, ki naj bi bili za samice mogoče bolj privlačni.

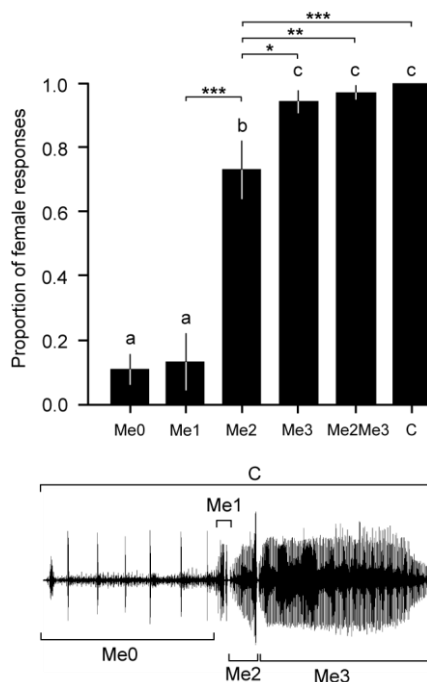
3.2.4 Dinamika interakcij oddajnik-sprejemnik v duetu in njen vpliv na rivalno vedenje

3.2.4.1 Vpliv pozivnega napeva samca na odzivni napev samice

V poskusih smo preverjali, ali kompleksnost in dolžina pozivnega napeva samca vplivata na odzivanje samice. Predpostavljali smo, da bodo samice na bolj kompleksne in daljše pozivne napeve odzivale z daljšimi odzivnimi napevi.

3.2.4.1.1 Vpliv kompleksnosti pozivnega napeva samca na odzivni napev samice

Medtem ko je bilo število odgovorov samice na draženje z izoliranim elementom Me2 statistično značilno nižje kot pri draženju z drugimi elementi, je zgolj element Me3 zadostoval za proženje odzivnosti, ki se ni razlikovala od odziva na celoten, nerazstavljen pozivni napev lastne vrste (sliki 31, 32). Vsi izmerjeni časovni parametri odzivnega napeva so bili zelo variabilni in pri vseh je bila variabilnost odvisna predvsem od identitete samice in ne od tipa elementa v pozivnem napevu samca, s katerim smo sprožili odgovor (preglednica 7).



Slika 31: Delež odgovorov samic vrste *Aphrodes makarovi* na celoten pozivni napev samcev (C) in na izolirane elemente, ki sestavljajo ta napev (Me0, Me1, Me2, Me3, Me2Me3). Podatki so vzeti iz testov odzivnosti samic na vrstno-specifične elemente v pozivnih napevih samcev (Derlink in sod., 2014). N = 15, prikazana so povprečja in standardne napake. Črke označujejo statistično značilne razlike (parna primerjava, test deležev z Bonferronijevo korekcijo). *P < 0.05; **P < 0.01, ***P < 0.001.

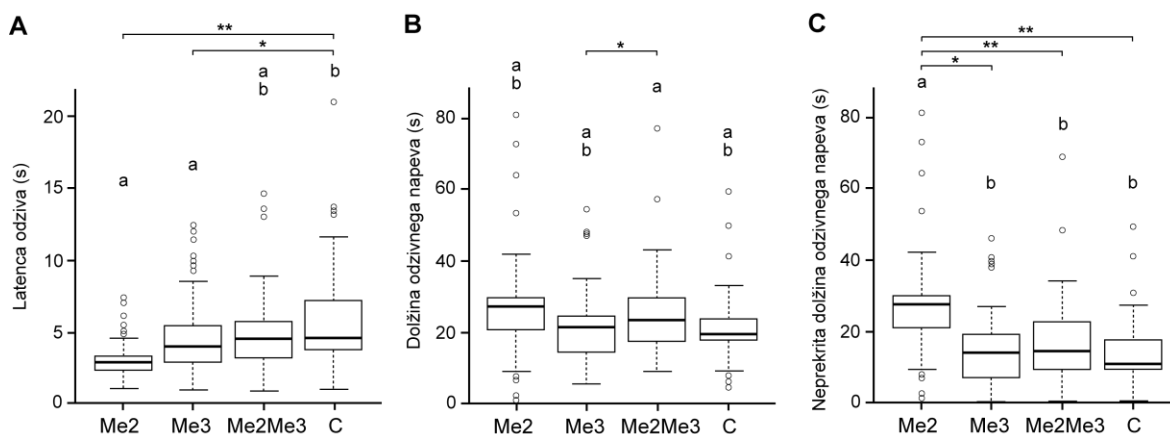
Figure 31: The proportion of responses of *A. makarovi* females to stimulation with isolated elements (Me0, Me1, Me2, Me3, Me2Me3) and complete male advertisement call (C). Raw data are taken from female preference tests for species-specific elements (Derlink et al., 2014). N=15, shown are means \pm SE. Columns with different letters are significantly different (pairwise comparison, test of given proportions with Bonferroni correction; *P < 0.05; **P < 0.01, ***P < 0.001).

Izmerjene vrednosti za latenco odgovora samice so se nahajale med 1–21 s (srednja vrednost \pm SD: $4,7 \pm 2,8$ s) in so bile pri draženju z elementoma Me2 in Me3 statistično značilno krajše kot pri odgovoru na celoten pozivni napev (slika 32A). Ko smo samice dražili z elementom Me2, se odzivni napev ni nikoli prekrival s stimulacijskim vibracijskim signalom. Latenca odgovora na kombiniran element Me2Me3 se ni razlikovala od latence pri odgovoru na celoten pozivni napev.

Izmerjene vrednosti celotne dolžine odzivnega napeva so se nahajale med 1,3 in 81,3 s (srednja vrednost \pm SD: $23,6 \pm 11,8$ s), čeprav so bile vrednosti v odgovor na draženje z

Me2Me3 kombinacijo statistično značilno daljše kot pri draženju z elementom Me3, se vrednosti pri draženju z izoliranimi elementi niso statistično značilno razlikovale od vrednosti v odgovor na celoten pozivni napev (slika 32B).

Če izločimo odzivne napeve v odgovor na element Me2, pri katerih se odgovor samice ni prekrival s signalom samca, so se izmerjene vrednosti neprikrite dolžine odzivnega napeva nahajale med 0,15 in 69,3 s (srednja vrednost \pm SD: $15,4 \pm 10$ s). Neprikrita dolžina odzivnega napeva na draženje s celotnim pozivnim napevom se je nahajala med 0,16 in 49,5 s (srednja vrednost \pm SD: $10,9 \pm 8,4$ s), kar ustreza vrednostim, določenim v predhodnih raziskavah (de Groot in sod., 2012). Če upoštevamo tudi odgovore na izoliran element Me2, je bila neprikrita dolžina odzivnega napeva v tem stimulacijskem tretmaju statistično značilno daljša kot pri drugih (slika 31C). Dolžine neprikritega dela odzivnega napeva se med preostalimi tretmaji niso statistično značilno razlikovale.



Slika 32: Razlike v (A) latenci, (B) celotni dolžini in (C) neprekrivni dolžini odzivnega napeva samice vrste *Aphrodes makarovi* v odgovor na draženje s celotnim pozivnim napevom samca - C in izoliranimi elementi, ki sestavljajo ta napev (Me2, Me3, Me2Me3). Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Črke označujejo statistično značilne razlike (parna primerjava, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo), * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$. Me2: število samic vključenih v analize = 13, število analiziranih odgovorov (n) = 51, 2-5 odzivov na samico; Me3: N = 15, n = 71, 3-5 odzivov na samico; Me2Me3: N = 15, n = 73, 3-5 odzivov na samico; C: N = 15, n = 72, 2-5 odzivov na samico.

Figure 32: Differences in (A) latency, (B) total duration and (C) non-overlapped duration of *Aphrodes makarovi* female reply to stimulation with a complete male advertisement call - C and isolated elements within the call (Me2, Me3, Me2Me3). Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Box plots with different letters are significantly different (pairwise comparisons, Wilcoxon signed rank test with Bonferroni correction), * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Number of females included in the analyses (N): Me2 (N=13), number of replies per stimulation treatment (n)=51, 2-5 replies per female; Me3 (N=15, n= 71, 3-5 per female); Me2Me3: (N=15, n=73, 3-5 per female); C (N=15, n=72, 2-5 per female).

Preglednica 7: Relativni delež, ki sta jo k variabilnosti izmerjenih parametrov odzivnega napeva samice prispevala predvajan dražljaj (elementi Me2, Me3, Me2Me3 in celoten poziv) in identiteta samice. * dolžine neprekritih delov odzivnih napevov na izoliran element Me2 niso bile vključeni v analizo.

Table 7: Relative amount of variability in the measured parameters of female reply associated with playback stimuli (elements Me2, Me3, M2Me3, complete call) and female individual identity. * replies to isolated element Me2 were excluded from the analysis, since in this treatment replies never overlapped with male vibrational signal.

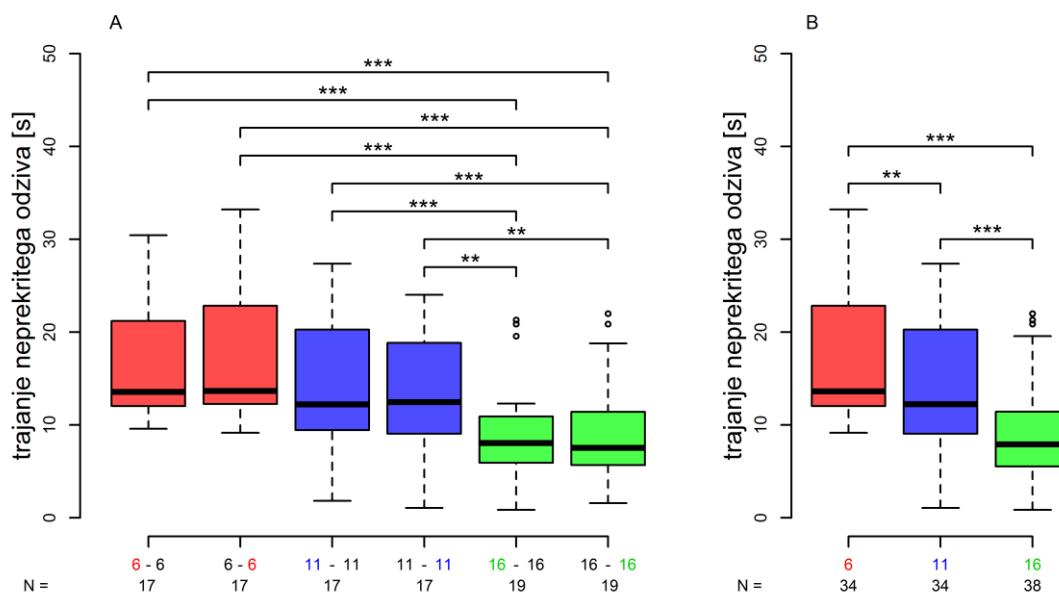
	Latenca odgovora	Celotna dolžina odgovora	Neprekrita dolžina odziva*
Vibracijski signal samca	6%	7%	3%
Identiteta samice	79%	69%	70%
Nerazložena variabilnost	15%	24%	27%

3.2.4.1.2 Vpliv dolžine pozivnega napeva samca na dolžino odzivnega napeva samice

Izmerjene dolžine neprekritega dela odzivnega napeva samice v odgovor na samčeve pozivne napeve, ki so se razlikovali le v dolžini zadnjega dela napeva, so se nahajale med 0,07 in 106,4 s. Ko smo samicam iz obeh strani izmenjujoče predvajali pozivna napeva enakih dolžin, se dolžine neprekritega dela odzivnega napeva na vodilni in sledilni napev za posamezno dolžino odzivnega napeva med seboj niso statistično značilno razlikovale ($P = 1$, $P = 1$ in $P = 1$ za tretmaje 6-6, 11-11 in 16-16, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo) (slika 33A, 34). Ko smo med seboj primerjali dolžine neprekritega dela odzivnega napeva v teh treh tretmajih, so se te dolžine med pozivnimi napevi treh različnih dolžin statistično značilno razlikovale (slika 33B). Dolžina neprekritega dela odzivnega napeva je bila najkrajša pri najdaljšem predvajanju pozivnem napevu ter najdaljša pri najkrajšem pozivu. Variabilnost izmerjenih neprekritih dolžin je bila visoka, in če primerjamo neprekruto dolžino odzivnega napeva med tretmaji, v katerih smo samicam iz obeh strani izmenjujoče predvajali pozivna napeva enakih dolžin, je bila variabilnost odvisna predvsem od identitete samice in ne od dolžine pozivnega napeva s katerim smo sprožili odgovor (preglednica 8).

Ko smo samicam izmenoma predvajali pozivne napeve različnih dolžin, se neprekrute dolžine odzivnih napevov na pozivni napev določene dolžine med seboj niso značilno razlikovale, ne glede na to v kombinaciji s katerim napevom smo posamezen napev predvajali, in kateri je bil vodilni napev (slika 34) (priloga A). V posameznih kombinacijah napevov so se dolžine odzivnih napevov na vodilni in sledilni napev predvidljivo statistično značilno razlikovale (slika 34), vendar pa so se v primerjavi med posameznimi tretmaji statistično značilne razlike v dolžini neprekritega dela odzivnega napeva na pozivne napeve različnih dolžin v nekaterih primerih izgubile. Tako se na primer neprekrita dolžina odziva na vodilni pozivni napev najkrajše dolžine, ki se je izmenjeval z napevom z dolžino Me3 elementa 11,5 s, ni statistično značilno razlikovala od dolžin odziva na najdaljše pozivne napeve v katerikoli kombinaciji. Dolžina odziva na najkrajši vodilni pozivni napev, ko se je le-ta izmenjeval z najdaljšim, pa je bila značilno daljša od dolžin odziva na najdaljše pozivne napeve, razen v kombinaciji, ko je najdaljši poziv sledil pozivnemu napevu z dolžino Me3 elementa 11,5 s (priloga A). Poleg tega so bile najkrajše neprekrute dolžine odzivnih napevov na najkrajši pozivni napev značilno krajše, ko smo ta napev predvajali v kombinaciji z daljšimi pozivi, kot v primeru, ko smo samicam

izmenjujoče predvajali le pozivna napeva te dolžine ($P < 0,001$, Wilcoxonov test predpisanih rangov).



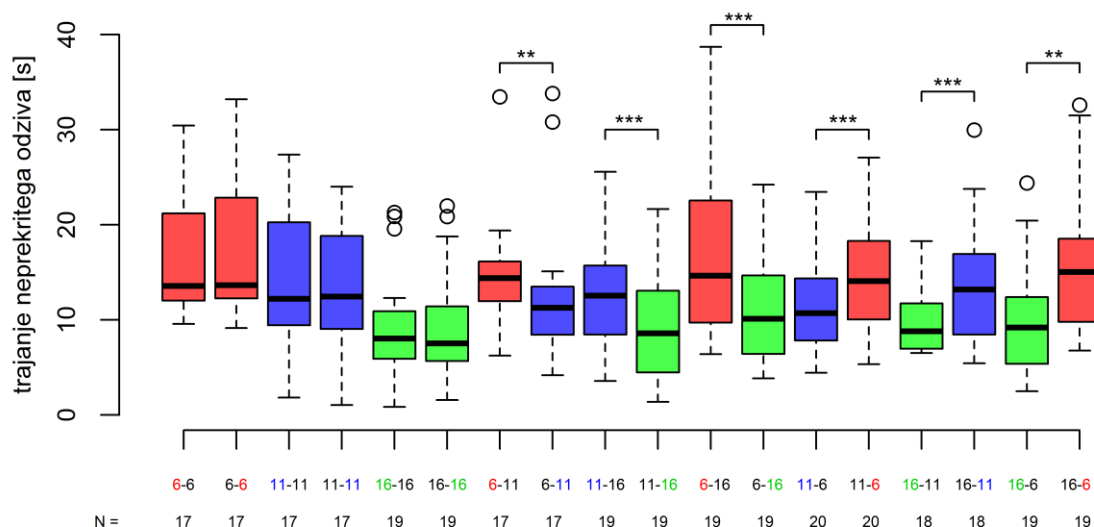
Slika 33: Vpliv različnih dolžin pozivnega napeva samca vrste *Aphrodes makarovi* na dolžino neprekritega dela odzivnega napeva samice. V vsakem od treh prikazanih tretmajev smo napeva enakih dolžin izmenoma predvajali iz dveh strani. (A) primerjava med dolžino neprekritega dela odzivnega napeva na vodilne pozive (vsi pozivni napevi predvajani iz smeri, iz katere je posamezna samica prejela prvi poziv v posameznem testu) in sledilne pozive (vsi pozivni napevi predvajani iz smeri, iz katere je posamezna samica prejela drugi poziv v testu) iste dolžine, (B) primerjava dolžine neprekritega dela odzivnega napeva med tretmaji z različnimi dolžinami pozivnih napevov, v katere smo vključili odzive na vodilne in sledilne pozivne napeve. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Rdeč okvir: dolžina Me3 elementa v pozivnem napevu = 6,5 s; moder okvir: dolžina Me3 elementa = 11,5 s; zelen okvir: dolžina Me3 elementa = 16,5 s. (A) Kot je nakazano z barvnimi številkami, so ločeno prikazane dolžine odzivov na vodilni in sledilni poziv. ** in *** nakazujejo statistično značilno razliko (Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo, $P < 0,01$ in $P < 0,001$). N = število samcev, vključenih v analize.

Figure 33: The effect of different durations of male advertisement calls of *Aphrodes makarovi* males on non-overlapped duration of female reply. In each of the three treatments shown, we played the male calls of the same duration from two side in alternation. (A) comparison of non-overlapped duration of female reply to the leading calls (all calls played from the side from which each female received the first calls in the trial) and the following calls (all calls played from the side from which each female received the second call in the trial). (B) comparison of non-overlapped duration of female reply between treatments with different advertisement call durations in which reply duration to each advertisement call includes replies to both, the leading and the following calls. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Red box: duration of the Me3 element in male call = 6.5 s; blue box: duration of the Me3 element = 11.5 s; green box: duration of the Me3 element = 16.5. (A) As indicated by coloured numbers, reply durations to the leading and the following calls are shown separately. ** and *** indicate durations of female reply that differ significantly between male advertisement call presented in pairs (Wilcoxon signed rank test with Bonferroni correction, $P < 0,01$ and $P < 0,001$ respectively). N = number of males included in the analyses.

Preglednica 8: Relativni delež, ki sta ga k variabilnosti izmerjenih dolžin neprekrutih delov odzivnih napevov samic v treh tretmajih, v katerih smo napeva enakih dolžin izmenoma predvajali iz dveh strani, prispevala dolžina pozivnega napeva samca in identiteta samice.

Table 8: Relative amount of variability in the non-overlapped duration of female reply in three treatments in which we played the male calls of the same duration from two side in alternation associated with the duration of male advertisement call and and female individual identity.

	Neprekruta dolžina odzivnega napeva samice
Dolžina samčevega pozivnega napeva	12%
Identiteta samice	62%
Nerazložena variabilnost	26%



Slika 34: Vpliv različnih dolžin pozivnega napeva samca vrste *Aphrodes makarovi* na dolžino neprekritega dela odzivnega napeva samice. V vseh devetih prikazanih tretmajih smo napeva enakih ali različnih dolžin izmenoma predvajali iz dveh strani. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škafila), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Rdeč okvir: dolžina Me3 elementa v pozivnem napevu = 6,5 s; moder okvir: dolžina Me3 elementa = 11,5 s; zelen okvir: dolžina Me3 elementa = 16,5 s. Kot je nakazano z barvnimi števkami, so ločeno prikazane dolžine odzivov na vodilni poziv (vsi pozivni napevi predvajani iz smeri, iz katere je posamezna samica prejela prvi poziv v posameznem testu) in sledilni poziv (vsi pozivni napevi, predvajani iz smeri, iz katere je posamezna samica prejela drugi poziv v testu). ** in *** nakazujejo statistično značilno razliko (Wilcoxonov test predpisanih rangov, $P < 0,01$ in $P < 0,001$) med neprekruto dolžino odzivnega napeva na pozivne napeve različnih dolžin predvajanih v paru. N = število samcev, vključenih v analize.

Figure 34: The effect of different durations of male advertisement calls of *Aphrodes makarovi* males on non-overlapped duration of female reply. In each of the nine treatments we played the male calls of the same or different duration from two side in alternation. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Red box: duration of the Me3 element in male call = 6.5 s; blue box: duration of the Me3 element = 11.5 s; green box: duration of the Me3 element = 16.5. As indicated by coloured numbers, reply durations to the leading call (all calls played from the side from which each female received the first call in the trial) and the following call (all calls played from the side from which each female received the second call in the trial) are shown separately. ** and *** indicate durations of female reply that differ significantly between male advertisement call presented in pairs (Wilcoxon signed rank test; $p < 0,01$ and $p < 0,001$ respectively). N = number of males included in the analyses.

Da ima kombinacija dolžin napevov, ki jih ima samica na voljo za primerjavo, lahko pomemben vpliv na neprekrto dolžino odzivnega napeva, je posredno razvidno tudi iz analize variabilnosti. Ko smo v analizo vključili vseh devet tretmajev, je večina variabilnosti v dolžini odziva ostala nerazložena (preglednica 9).

Preglednica 9: Relativni delež, ki sta ga k variabilnosti izmerjenih dolžin neprekritih delov odzivnih napevov samic, prispevala dolžina pozivnega napeva samca in identiteta samice. Kot parametre dolžine pozivnega napeva smo vključili tri dolžine (napevi z dolžino Me3 elementa 6,5 s, napevi z dolžino Me3 elementa 11,5 s in napevi z dolžino Me3 elementa 16,5 s) in posamezni dolžini poziva smo pripisali vse odzive na pozivne napeve teh dolžin v katerikoli predvajani kombinaciji.

Table 9: Relative amount of variability in the non-overlapped duration of female reply associated with the duration of male advertisement call and female individual identity. The parameters of duration of male advertisement call include three durations (calls with Me3 duration 6.5 s, calls with Me3 duration, 11.5 s and calls with Me3 duration 16.5 s) and to each male call duration we contributed all female replies to respective calls regardless of combination in which they were presented.

	Neprekrta dolžina odzivnega napeva samice
Dolžina samčevega pozivnega napeva	10%
Identiteta samice	36%
Nerazložena variabilnost	54%

Pregled vseh rezultatov nakazuje, da dolžina odzivnega napeva samice po vsej verjetnosti ni prvenstveno pogojena s preferenco samic za daljši ali bolj kompleksen pozivni napev samca, temveč z individualnimi razlikami samic pri oddajanju odzivnih napevov.

3.2.4.2 Vpliv pozivnega napeva samice na oglašanje in iskalno vedenje samca.

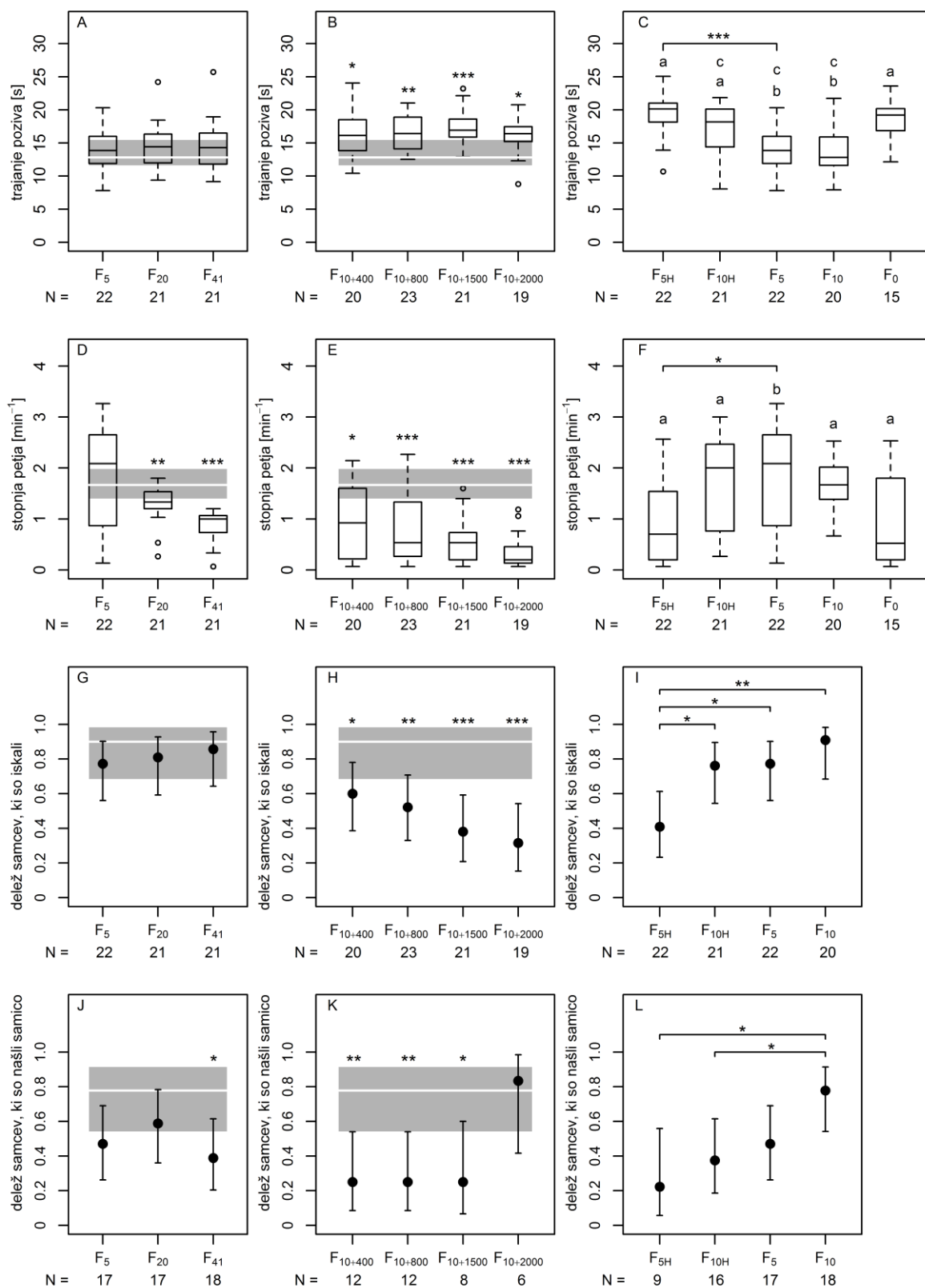
V poskusih smo preverjali, kako dolžina in časovna koordinacija odzivnega napeva samice vplivata na kompleksnost in dolžino pozivnega napeva samca. Preverjali smo sledeče štiri hipoteze: (1) da je napor (oglašanje in samo premikanje po rastlini), ki ga samci vložijo v iskanje partnerice, povezan z dolžino odzivnega napeva samice, in predpostavljali smo, da naj bi bil daljši odgovor samice povezan z nižjim naporom pri oddajanju pozivnih napevov ter krajšim iskalnim časom; (2) da morajo za optimizacijo iskalnega vedenja samci prilagajati oddajanje pozivnih napevov prejetim odzivom samice, kjer smo predpostavili, da morajo v primeru, če so odzivni napevi samice kratki, samci skrajšati dolžino pozivnih napevov, da jim dolžina neprekrtega dela odzivnega napeva zagotavlja hitro in uspešno lokalizacijo samice; (3) da samci prepoznajo odzivni napev, če se le-ta pojavi v samčevem senzoričnem oknu, in predpostavili smo, da če začetek odzivnega napeva samice ne prekriva konca pozivnega napeva samca, samec ne bo iskal samice; (4) in da samci ne zaznavajo odzivnega napeva samice medtem, ko se oglašajo, kjer smo predpostavili, da bo v primeru, ko se odzivni napev samice popolnoma prekriva s pozivnim napevom samca, oglašanje samca enako kot v odsotnosti samičinega odziva, in da samci ne bodo iskali samic.

3.2.4.2.1 Vpliv dolžine odzivnega napeva

Povprečna dolžina pozivnega napeva samca je bila podobna v vseh štirih tretmajih, v katerih smo samcem s časovno koordinacijo, ki ustreza naravnemu duetu, predvajali odzivne napeve različnih dolžin (slika 35A). Medtem ko je bila povprečna dolžina

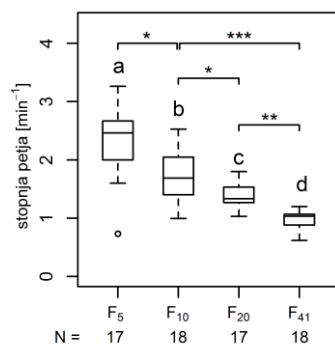
pozivnega napeva vseh štirih tretmajih statistično značilno nižja kot v kontrolnih poskusih v odsotnosti samičinega odziva (F_0 tretma) (Wilcoxonov test predpisanih rangov, $P < 0,001$ za vse štiri tretmaje), je bila stopnja oglašanja signifikantno višja le, ko smo samcem predvajali 5,2 in 10,4 s dolg odgovor samice (Wilcoxonov test predpisanih rangov, $P = 0,004$, $P = 0,045$, $P = 0,138$ in $P = 0,795$ za odzive dolžin 5,2, 10,4, 20,8 in 41,6 s). V primerjavi s tretmajem F_{10} , v katerem smo samcem predvajali odzivni napev povprečne dolžine s časovno koordinacijo, ki ustreza naravnemu duetu, je bila stopnja oglašanja statistično značilno nižja v obeh tretmajih, kjer smo samcem predvajali odzivna napeva, ki sta bila daljša od povprečnega (slika 35D). Ob upoštevanju zgolj samcev, ki so iskali samico, se je stopnja oglašanja zmanjševala v korelaciji s podaljševanjem odzivnega napeva in se je statistično značilno razlikovala med posameznimi tretmaji (slika 36). Delež samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva je bil visok v vseh štirih tretmajih (slika 35G), vendar je ob upoštevanju vseh pojočih samcev, v primerjavi s tretmajem F_{10} statistično značilno manj samcev našlo vir najkrajšega in najdaljšega testiranega odzivnega napeva (enostranski Fisherjev test, $P = 0,030$ in $P = 0,020$ za odziva dolžin 5,2 in 41,6). Tudi ob upoštevanju zgolj iščočih samcev, je statistično značilno manj samcev našlo vir najdaljšega testiranega odzivnega napeva (slika 35J). Samci so v povprečju potrebovali 1,5 min dlje, da so našli vir 5,2 s kot 10,4 s dolgega odzivnega napeva (Wilcoxonov test predpisanih rangov, $P = 0,047$) (slika 37). Medtem ko se čas iskanja vira 41,6 s dolgega odziva ni razlikoval od iskanja vira odzivnega napeva povprečne dolžine, je bil čas iskanja vira 20,8 s dolgega odziva signifikantno daljši (Wilcoxonov test predpisanih rangov, $P = 0,031$).

V primerjavi s predvajanjem odzivnega napeva povprečne dolžine s časovno koordinacijo, ki ustreza naravnemu duetu, je bil skupni čas oglašanja samcev, ki so našli vir krajšega odzivnega napeva, statistično značilno daljši, medtem ko je bil statistično značilno krajši pri samcih, ki so našli vir 41,6 s dolgega odgovora (slika 38A). Nasprotno pa se skupni čas oglašanja samic v testih s kratkimi odzivi, ni statistično razlikoval od tretmaja F_{10} , medtem ko je bil skupni čas oglašanja v obeh tretmajih, kjer smo samcem predvajali odzivna napeva, ki sta bila daljša od povprečnega, signifikantno daljši (slika 38B). Skupni čas oglašanja samcev in samic se v tretmaju F_{10} ni statistično razlikoval (Wilcoxonov test vsot rangov, $P = 0,280$). Skupni čas oglašanja v tretmaju F_5 je bil signifikantno daljši za samce (Wilcoxonov test vsot rangov, $P = 0,002$). V tretmajih F_{20} in F_{41} pa je bil signifikantno daljši za samice (Wilcoxonov test vsot rangov, $P = 0,045$ in $P = 0,002$ za odziva dolžin 20,8 in 41,6 s).



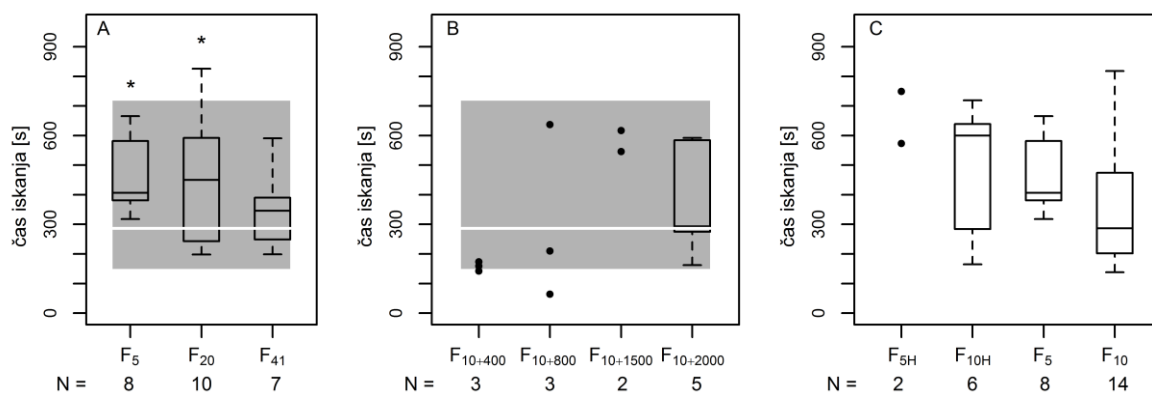
Slika 35: Vpliv dolžine in časovne koordinacije odzivnega napeva samice na oglašanje in iskanje partnerja pri samcih vrste *Aphrodes makarovi*. (A-C) dolžina pozivnega napeva; (D-F) stopnja oglašanja; (G-I) delež samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva; (J-L) delež iščočih samcev, ki so našli vir odzivnega napeva. (A, D, G, J) tretmaji z različnimi dolžinami odzivnega napeva; (B, E, H, K) tretmaji z zamaknjenim odzivnim napevom; (C, F, I, L) tretmaji z odzivnim napevom, skritim v pozivnem napevu. (A-F) Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). (G-L) prikazan je določen delež (črni krog) s 95% intervalom zaupanja za deleže. (A, B, D, E) vrednosti pridobljene v F_{10} tretmaju so prikazane kot mediana (široka bela črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (siva površina). (G, H, J, K) delež pridobljen v F_{10} tretmaju (široka bela črta) je prikazan s 95% intervalom zaupanja za deleže (siva površina). (A, B, D, E), vrednosti, ki se statistično značilno razlikujejo od F_{10} tretmaja, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, Wilcoxonov test predpisanih rangov. (C, F) črke označujejo statistično značilne razlike (Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijev korekcijo, * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$). (G, H, J, K) deleži, ki so signifikantno nižji kot v F_{10} tretmaju, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, enostranski Fisherjev test. (I, L) * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, deleži, ki se statistično značilno razlikujejo, dvostranski Fisherjev test. $N =$ število samcev vključni v analize za posamezen tretma. F_{10} : $N = 20$.

Figure 35: The effect of timing and duration of female reply on signalling and searching behaviour of *Aphrodes makarovi* males. (A-C) male advertisement call duration; (D-F) calling rate; (G-I) proportion of males searching for the source of female reply; (J-L) proportion of searching males locating the source. (A, D, G, J) treatments with different durations of female reply; (B, E, H, K) treatments with delayed female response; (C, F, I, L) treatments with hidden female replies. (A-F) box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). (G-L) determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. (A, B, D, E) values obtained in the F_{10} treatment are shown as median (thick white line) together with 95% confidence interval for median (gray area). (G, H, J, K) proportion obtained in the F_{10} treatment (thick white line) is shown together with 95% confidence interval for proportion (gray area). (A, B, D, E) *, ** and *** indicate significant difference from the F_{10} treatment (Wilcoxon signed rank test, $P < 0,05$, $P < 0,01$ and $P < 0,001$, respectively). (C, F) box plots with different letters are significantly different (Wilcoxon signed rank test for multiple comparisons with Bonferroni correction, * $P < 0,05$; *** $P < 0,001$. (G, H, J, K) *, ** and *** indicate values that are significantly than in the F_{10} treatment (one-tailed Fisher's exact test, $P < 0,05$, $P < 0,01$ and $P < 0,001$, respectively). (I, L) * and ** indicate values that are significantly different (two-tailed Fisher's exact test, $P < 0,05$ and $P < 0,01$, respectively). $N =$ number of males included in the analyses. F_{10} : $N = 20$.



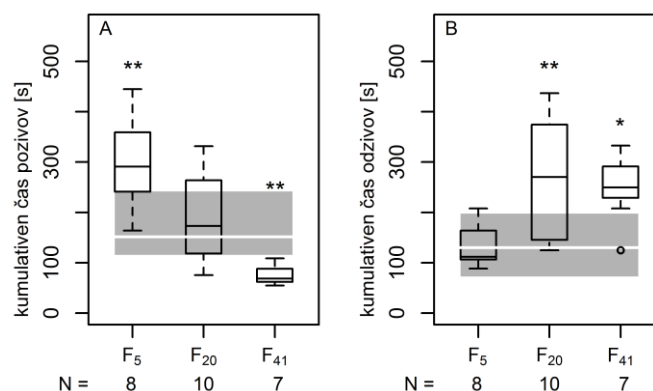
Slika 36: Vpliv dolžine odzivnega napeva samice na stopnjo oglašanja pri iščočih samcih vrste *Aphrodes makarovi*. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Črke označujejo statistično značilne razlike (parna primerjava, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo, *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001). N = število samcev.

Figure 36: The effect of duration of female reply on calling rate in *Aphrodes makarovi* males that started to search. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Box plots with different letters are significantly different (pairwise comparison, Wilcoxon signed rank test for multiple comparisons with Bonferroni correction, *P < 0,05; **P < 0,01; ***P < 0,001). N = number of males.



Slika 37: Vpliv dolžine in časovne koordinacije odzivnega napeva samice na čas iskanja vira odzivnega napeva pri samcih vrste *Aphrodes makarovi*. (A) tretmaji z različnimi dolžinami odzivnega napeva; (B) tretmaji z zamaknjenim odzivnim napevom; (C) tretmaji z odzivnim napevom, skritim v pozivnem napevu. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). V primerih, kjer je bil N < 5, so prikazani surovi podatki. Vrednosti pridobljene v F₁₀ tretmaju so prikazane kot mediana (široka bela črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (siva površina). * označuje vrednosti, ki se statistično značilno razlikujejo od F₁₀ tretmaja, *P < 0,05, Wilcoxonov test predpisanih rangov. N = število samcev.

Figure 37: The effect of timing and duration of female reply on searching time of *Aphrodes makarovi* males. (A) treatments with different durations of female reply; (B) treatments with delayed female response; (C) treatments with hidden female replies. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). When N < 5 raw data are shown. Values obtained in the F₁₀ treatment are shown as median (white line) together with 95% confidence interval for median (gray area). (b) * indicates values that are significantly different from the F₁₀ treatment (Wilcoxon signed rank test, P < 0.05). N = number of trials included in the analyses.



Slika 38: Skupni čas oglašanja, potreben za lokalizacijo vira odzivnega napeva, za samce (A) in samice (B) vrste *Aphrodes makarovi* v tretmajih z različnimi dolžinami odzivnega napeva. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Vrednosti, pridobljene v F₁₀ tretmaju, so prikazane kot mediana (široka bela črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (siva površina). Vrednosti, ki se statistično značilno razlikujejo od F₁₀ tretmaja, *P < 0,05, **P < 0,01, Wilcoxonov test vsote rangov. N = število testov vključenih v analize. F₁₀: N = 14.

Figure 38: Cumulative signalling duration needed to locate the source of female reply for males (A) and females (B) obtained in treatments with different female reply durations. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Values obtained in the F₁₀ treatment are shown as median (thick white line) together with 95% confidence for median (gray area). * and ** indicate box plot values that are significantly different from the F₁₀ treatment (Wilcoxon rank sum test, P < 0,05 and P < 0,01, respectively). N = number of trials included in the analyses. F₁₀: N=14

V kontrolnih poskusih v odsotnosti samičinega odziva je bil delež pozivnih napevov, v katerih je bila dolžina Me3 elementa krajša kot v prvem oddanem pozivu, statistično nižji od naključja (preglednici 10, 11). V zadnjem oddanem pozivnem napevu je bil ta element v povprečju 3 s daljši kot v prvem (Wilcoxonov test predpisanih rangov, P = 0,001). Ko smo samcem predvajali odzivne napeve dolžin 5,2 in 10,4 s, je bil pri samcih, ki so iskali vir odzivnega napeva, delež pozivnih napevov, v katerih je bila dolžina tega elementa krajša kot v prvem oddanem pozivu, statistično višji od naključja (preglednica 11). Nasprotno pa v tretmajih, v katerih smo samcem predvajali odzivna napeva, ki sta bila daljša od povprečnega, le-ti niso dosledno skrajševali zadnjega dela pozivnega napeva. Čeprav v naših poskusnih pogojih, kjer smo predvajanje odzivnega napeva prožili ročno ob tipičnem zmanjšanju amplitude ob zaključku pozivnega napeva samca, v prisotnosti 5,2 in 10,4 s dolgega odziva samice samci niso nikoli presegli daljšega, neprekritega dela samičinega odgovora.

Pregled vseh rezultatov nakazuje, da so samci med iskanjem vira teh odzivnih napevov prilagajali oddajanje pozivnih napevov glede na dolžino prejetega odzivnega napeva samice.

Preglednica 10: Dolžine elementa Me3 v prvem oddanem pozivnem napevu samcev vrste *Aphrodes makarovi*, registriranem v testih za posamezen poskusni tretma. Pojoči samci: samci, ki so oddajali pozivne napeve, niso pa iskali vira predvajanega odzivnega napeva. Iščoči samic: samci, ki so tudi iskali vir predvajanega odzivnega napeva. V to kategorijo so šteti samci, ki so vir našli, in tisti, ki ga v času, odmerjenem za poskus, niso. N = število samcev v vsaki kategoriji. Dolžina tega elementa se med posameznimi tretmaji in skupinami ni značilno razlikovala, Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 14,783$; df = 12, P = 0,254). N = število samcev.

Table 10: Durations of the Me3 section in the first advertisement call emitted by *Aphrodes makarovi* males in the trial for each treatment and male category. Calling males: males that were only signalling, but not searching for the source of female reply. Searching males: males that were also searching for the source of female reply. This category includes males that were searching for, but did not locate the source of female reply in the allotted time, as well as males that located the source. N = number of males in each category. Me3 durations in the first emitted call did not differ significantly between treatments and male categories (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 14,783$; df = 12, P = 0,254). N = number of males.

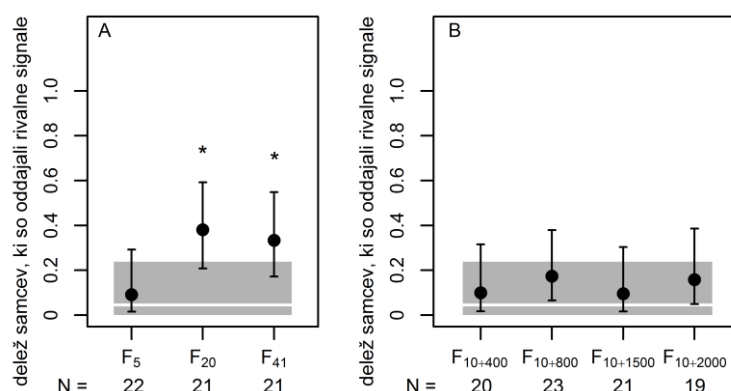
Tretma	Dolžina Me3 elementa v prvem pozivu (s)			
	Pojoči samci		Iščoči samci	
	N	povprečje ± SD	N	povprečje ± SD
F ₀	18	10,6 ± 1,7	-	-
F ₅	5	9,6 ± 1,9	17	10,0 ± 1,8
F ₁₀	2	9,5 ± 0,1	18	9,6 ± 1,9
F ₂₀	4	8,8 ± 1,6	17	10,1 ± 2,4
F ₄₁	3	8,8 ± 3,2	18	9,6 ± 2,1
F _{5H}	13	10,5 ± 2,3	9	11,0 ± 2,4
F _{10H}	5	12,4 ± 2,3	16	11,0 ± 2,5

Preglednica 11: Delež pozivnih napevov samca vrste *Aphrodes makarovi*, pri katerih je dolžina elementa Me3 krajša kot v prvem oddanem klicu v posameznem testu. Pojoči samci: samci, ki so oddajali pozivne napeve, niso pa iskali vira predvajanega odzivnega napeva. Iščoči samic: Samci, ki so tudi iskali vir predvajanega odzivnega napeva. V to kategorijo so šteti samci, ki so vir našli, in tisti, ki ga v času, odmerjenem za poskus, niso. Vrednosti, ki se statistično značilno razlikujejo od naključnih (dvostranski t-test), *P < 0,05; **P < 0,01, ***P < 0,001. N = število samcev v vsaki kategoriji. Vključeni so samo samci, ki so oddali več kot en pozivni napev.

Table 11: Proportion of advertisement calls emitted by *Aphrodes makarovi* males during the trial with Me3 section shorter than in the first emitted call in the trial. Calling males: males that were only signalling, but not searching for the source of female reply. Searching males: males that were also searching for the source of female reply. This category includes males that were searching for, but did not locate the source of female reply in the allotted time, as well as males that located the source. Asterisks indicate values that significantly deviate from random distribution (two-sided, one sample t-test, *P < 0,05, **P < 0,01; ***P < 0,001). N = number of males in each category. Only males that emitted more than one call are included.

Tretma	Delež pozivov s krajšim Me3 elementom			
	Pojoči samci		Iščoči samci	
	N	Srednja vrednost	N	Srednja vrednost
F ₀	15	0,164**	-	-
F ₅	5	0,495	17	0,692*
F ₁₀	2	0,000***	18	0,701*
F ₂₀	4	0,337	17	0,490
F ₄₁	2	0,875	18	0,378
F _{5H}	9	0,048***	9	0,111**
F _{10H}	5	0,800	16	0,412

V vseh štirih tretmajih, v katerih smo samcem s časovno koordinacijo, ki ustreza naravnemu duetu, predvajali odzivne napeve različnih dolžin, so nekateri samci izkazali rivalno vedenje v obliki oddajanja rivalnih signalov, ki so prekrivali del odzivnega napeva samice. Število samcev, ki so oddajali rivalne signale v posameznem tretmaju, je bilo med 1 in 8. V primerjavi z odzivnim napevom povprečne dolžine, je bilo število samcev, ki so oddajali te signale, statistično značilno višje, kot ko smo samcem predvajali odzivna napeva daljša od povprečnega (enostranski Fisherjev test, $P = 0,013$ in $P = 0,027$ za odziva dolžin 20,8 in 41,6 s) (slika 39). V kontrolnih poskusih v odsotnosti samičinega odziva noben samec ni oddajal rivalnih signalov. Ti rezultati nakazujejo, da so samci ohranili informacijo o prisotnosti potencialnega rivala, ki so jo pridobili od predvajanju dueta, s katerim smo na začetku vsakega vedenjskega testa vzbudili oddajanje pozivnih napevov.



Slika 39: Delež samcev vrste *Aphrodes makarovi*, ki so oddajali rivalne signale v (A) tretmajih z različnimi dolžinami odzivnega napeva; (B) tretmajih z zamaknjenim odzivnim napevom. Prikazan je določen delež (črni krog) s 95% intervalom zaupanja za deleže. Delež pridobljen v F₁₀ tretmaju (široka bela črta) je prikazan s 95% intervalom zaupanja za deleže (siva površina). * označuje statistično značilne razlike s F₁₀ (dvostranski Fisherjev test, $P < 0,05$). N = število samcev, vključenih v analize. F₁₀: N = 20.

Figure 39: The proportions of *Aphrodes makarovi* males emitting rivalry signals in (A) treatments with delayed female response and (B) treatments with different durations of female reply. Determined proportion (black dot) together with 95% confidence interval is shown. Proportion obtained in the F₁₀ treatment (thick white line) is shown together with 95% confidence interval for proportion (gray area). * indicates values that are significantly different from the F₁₀ treatment (two-tailed Fisher's exact test, $P < 0,05$). N = number of males included in the analyses. F₁₀: N = 20.

3.2.4.2.2 Vpliv časovne koordinacije med pozivnim in odzivnim napevom

V vseh štirih tretmajih s časovno zamaknjenim odzivnim napevom povprečne dolžine je bila v primerjavi s tretmajem, kjer smo samcem predvajali odzivni napev povprečne dolžine s časovno koordinacijo, ki ustreza naravnemu duetu, dolžina pozivnega napeva samca (F₁₀ tretma) statistično značilno daljša (slika 35B) in stopnja oglašanja signifikantno nižja (slika 35C). V primerjavi s kontrolnimi poskusi v odsotnosti samičinega odziva (F₀ tretma), je bila v tretmajih z odzivom zamaknjenim za 400, 800 in 2000 ms dolžina pozivnih napevov statistično značilno ali skoraj značilno krajša (Wilcoxonov test predpisanih rangov, $P = 0,002$, $P = 0,064$, $P = 0,018$ za odzive zamaknjene za 400, 800 in 2000 ms), medtem ko je bila stopnja oglašanja značilno znižana le, ko smo samcem predvajali odzivni napev, zamaknjen za 2000 ms (Wilcoxonov test predpisanih rangov, $P = 0,925$, $P = 0,379$, $P = 0,234$, $P = 0,003$ za odzive, zamaknjene za 400, 800, 1500 in 2000

ms). Ko smo samcem predvajali odzivni napev samice tako, da ni prekrival zadnjega dela samčevega napeva, se je v primerjavi z F_{10} tretmajem, število samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva, statistično značilno znižalo v korelaciji s podaljšanjem zamika (slika 35H). Ob upoštevanju vseh pojočih samcev je bilo v vseh tretmajih s časovno zamaknjenimi odzivnimi napevi število samcev, ki so našli vir odzivnega napeva signifikantno nižje (enostranski Fisherjev test, $P < 0,001$ za odzive zamaknjene za 400, 800 in 1500 ms, $P = 0,005$ za odziv zamaknjen za 2000 ms). Če pa smo upoštevali le samce, ki so iskali vir odzivnega napeva, število samcev, ki so našli vir odzivnega napeva, zamaknjenega za 2000 ms, ni bilo statistično značilno nižje v primerjavi z F_{10} tretmajem (slika 35K) in je bilo hkrati višje kot v ostalih treh tretmajih (enostranski Fisherjev test, $P = 0,032$, $P = 0,32$, $P = 0,51$ za odzive zamaknjene za 400, 800 in 1500 ms). Zaradi nizkega števila samcev, ki so našli vir zamaknjenih odzivnih napevov, je bila smiselna statistična analiza možna le za odzivni napev zamaknjen za 2000 ms, v katerem se iskalni čas ni razlikoval od F_{10} tretmaja (slika 37). Dobljeni rezultati podpirajo hipotezo o obstoju senzoričnega časovnega okna neposredno po zaključenem pozivnem napevu samca.

V vseh štirih tretmajih s časovno zamaknjenim odzivnim napevom povprečne dolžine so nekateri samci oddajali rivalne signale. Število samcev, ki so oddajali rivalne signale v posameznem tretmaju, je bilo med 2 in 3. Te vrednosti se statistično ne razlikujejo od števila v tretmaju, kjer smo samcem predvajali odzivni napev povprečne dolžine s časovno koordinacijo (Slika 39).

V tretmaju, v katerem smo samcem predvajali odzivni napev 10,4 s, ki naj bi bil skrit v zadnjem delu pozivnega napeva, so vsi samci razen enega včasih skrajšali Me3 element pod 10 s. Nasprotno pa je bil 5,2 s dolg odzivni napev vedno skrit v pozivnem napevu samca. Posledično se je v 47% duetov v F_{10H} tretmaju odgovor samice nadaljeval tudi po zaključku pozivnega napeva. Dolžina neprekritega dela odzivnega napeva je bila med 0,43 in 8,7 s. Ker se v večini duetov v tem tretmaju odzivni napev ni nadaljeval po končanem odzivnem napevu, v analizah nismo razlikovali med poskusi, v katerih so bili odzivni napevi skriti in delno prekriti.

V nasprotju s F_5 in F_{10} tretmajem se v primerih, ko smo samcem predvajali 5,2 in 10,4 s dolg odzivni napev, ki se je popolnoma prekrival s pozivnim napevom, se dolžina pozivnega napeva ni statistično značilno razlikovala od dolžine v kontrolnih poskusih v odsotnosti samičinega odziva (slika 35C). Pozivni napevi so bili značilno daljši, ko smo samcem predvajali 5,2 s dolg skrit odgovor, kot v prisotnosti delno prekritega odgovora te dolžine. Stopnja oglašanja v tretmaju F_{5H} je bila statistično značilno nižja kot v F_5 tretmaju in se ni razlikovala od stopnje oglašanja v kontrolnih poskusih v odsotnosti samičinega odziva (slika 35F). Število samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva, se je med tretmajema s skritimi odgovori samice značilno razlikovalo (slika 35I). Signifikantno manjše število samcev je iskalo vir 5,2 s dolgega skritega odzivnega napeva kot vir 5,2 in 10,4 s dolgega odziva s časovno koordinacijo, ki ustreza naravnemu duetu. V omenjenem tretmaju sta le dva samca prišla na tresen list. V kontrolnih poskusih, v odsotnosti samičinega odziva, je polovica samcev zapustila vrh rastline, vendar je le eden od njih prišel na list. Ker sta le dva samca našla vir 5,2 s dolgega skritega odzivnega napeva statistična analiza iskalnega časa ni bila smiselna. Vzeti v celoti, ti rezultati kažejo, da samci niso zaznali odzivnega napeva, ki se je popolnoma prekrival s pozivnim napevom. Nasprotno pa število samcev,

ki so iskali vir odzivnega napeva v F_{10H} tretmaju, ni bilo nižje kot v primeru, ko smo samcem predvajali odziv enake dolžine, ki je prekrival le zadnji del pozivnega napeva. Vendar je bilo, ne glede na to, ali smo upoštevali vse pojoče ali le iščoče samce, število samcev, ki so našli vir odzivnega napeva, statistično značilno nižje (enostranski Fisherjev test, $P = 0,009$ in $P = 0,020$ za pojoče in iščoče samce) (slika 35L). Čeprav so samci v povprečju potrebovali 2 min dlje, da so našli vir 10,4 s dolgega, skritega odzivnega napeva kot vir enako dolgega odziva s časovno koordinacijo, ki ustreza naravnemu duetu, ta razlika ni statistično značilna (slika 37).

Ko smo samcem predvajali 5,2 s dolg odzivni napev, ki se je popolnoma prekrival s pozivnim napevom, je bil delež pozivnih napevov s krajšo dolžino Me3 elementa kot v prvem oddanem pozivu statistično nižji od naključja (preglednica 11). Tako pri pojočih, kot pri iščočih samcih je bila dolžina zadnjega oddanega pozivnega napeva v posameznem poskusu v povprečju 4-5 s daljša kot v prvem oddanem napevu (Wilcoxonov test predpisanih rangov, $P = 0,004$ in $P = 0,008$ za pojoče in iščoče samce). V F_{10H} tretmaju se delež pozivnih napevov, v katerih je bila dolžina Me3 elementa krajša kot v prvem oddanem pozivu, za obe kategoriji samcev statistično ni razlikoval od naključja (preglednica 11). Dolžina Me3 elementa v zadnjem oddanem pozivnem napevu se pri obeh kategorijah samcev ni statistično značilno razlikovala od prvega oddanega napeva v posamičnem poskusu.

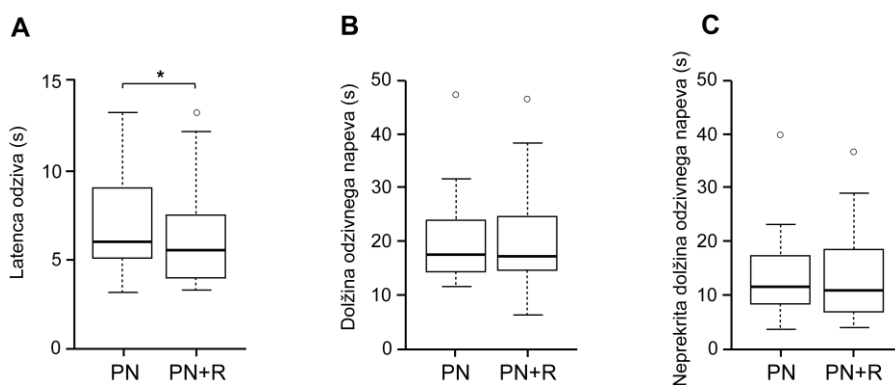
V obeh tretmajih v katerih smo samcem predvajali odzivni napev, ki se je popolnoma prekrival s pozivnim napevom, samci niso oddajali rivalnih signalov.

3.2.5 Odziv partnerjev v duetu na rivalni signal

3.2.5.1 Odziv samice na rivalni signal

V poskusih smo preverjali, ali rivalni signali, ki jih oddajajo samci, vplivajo na odzivanje samic v duetu.

Ko smo samicam 4 s po koncu pozivnega napeva predvajali še rivalni signal, se povprečna dolžina odzivnega napeva ni statistično značilno razlikovala od tretmaja, kjer smo jim predvajali samo vzbujevalni pozivni napev. Latenca odziva pa je bila ob predvajanju rivalnega signala značilno nižja (slika 40).

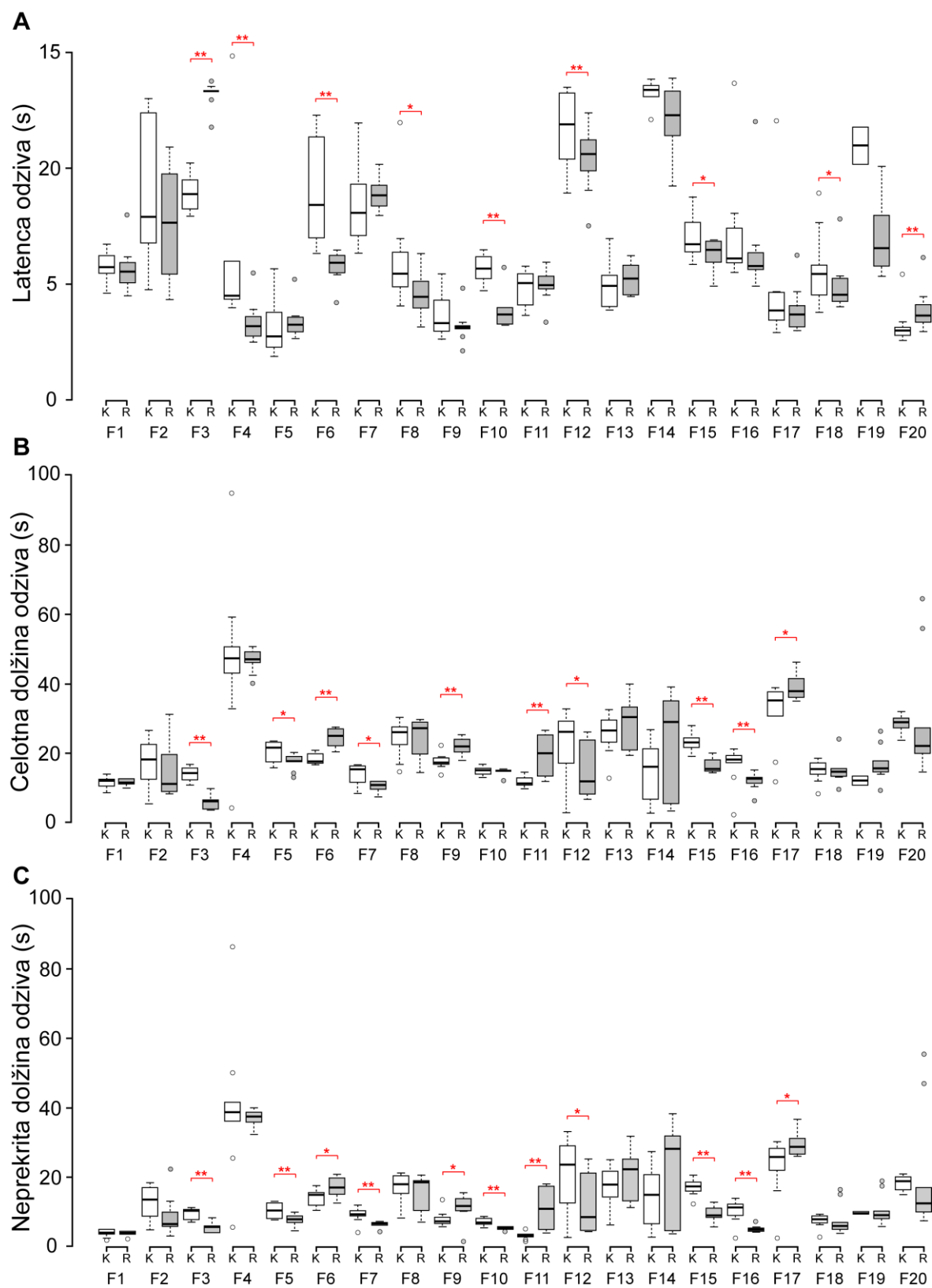


Slika 40: Primerjava (A) povprečne latence odziva, (B) povprečne celotne dolžine in (C) povprečne dolžine neprekrtega dela odzivnega napeva samice vrste *Aphrodes makarovi* v kontrolnem tretmaju, kjer smo odziv samic vzbudili s predvajanjem samčevega pozivnega napeva, in v tretmaju, kjer smo samicam poleg vzbujevalnega pozivnega napeva predvajali še samčev rivalni signal (PN+R). Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). *, vrednosti se statistično značilno razlikujeta, $P < 0,05$, Wilcoxonov test predpisanih rangov. $N = 20$.

Figure 40: Comparison of (A) average reply latency, (B) average complete duration and (C) average nonoverlapped duration of female reply in *Aphrodes makarovi* between control treatment in which females were stimulated with male advertisement call (PN) and treatment in which females received besides advertisement call also rivalry signal. (PN+R). Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). * indicates values that are significantly different, $P < 0.05$, Wilcoxon signed rank test. $N = 20$.

Vpliv rivalnega signala na latenco in dolžino odziva se je med samicami razlikoval (slika 41). Le pri 30% testiranih samic rivalni signal ni imel nobenega vpliva na odzivni napev. Ob prisotnosti rivalnega signala je bila latenca odziva pri 35% testiranih samic statistično značilno krajša in pri 20% signifikantno daljša (slika 41A). Celotna dolžina odzivnega napeva je bila v prisotnosti rivalnega signala signifikantno krajša pri 30% in značilno daljša pri 20% testiranih samic (slika 41B). Pri 35% testiranih samic je bila dolžina neprekrtega dela odzivnega napeva statistično značilno krajša kot v kontrolnem tretmaju in pri 20% samic signifikantno daljša (slika 41C).

V celoti gledano rezultati nakazujejo vpliv samčevega rivalnega signala na odziv samice, vendar je ta vpliv nepredvidljiv.



Slika 41: Primerjava (A) povprečne latence odziva, (B) povprečne celotne dolžine in (C) povprečne dolžine neprekritega dela odzivnega napeva v kontrolnem tretmaju (K), kjer smo odziv samic vzbudili s predvajanjem samčevega pozivnega napeva in v tretmaju, kjer smo samicam poleg vzbujevalnega pozivnega napeva predvajali še samčev rivalni signal (R) za posamezne samice vrste *Aphrodes makarovi*. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). *P < 0,05, **P < 0,01, Wilcoxonov test predpisanih rangov.

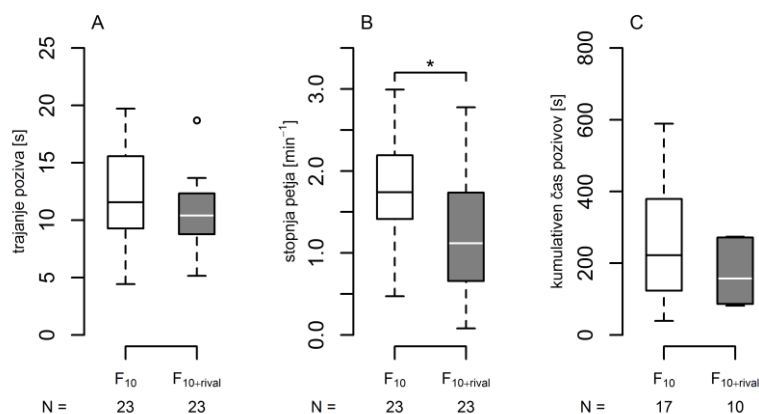
Figure 41: Comparison of (A) average reply latency, (B) average complete duration and (C) average nonoverlapped duration of female reply between control treatment in which females were stimulated with male advertisement call (K) and treatment in which females received besides advertisement call also rivalry signal (R) for each *Aphrodes makarovi* female. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). *P < 0.05; **P < 0.01 Wilcoxon signed rank test.

3.2.5.2 Odziv samca na rivalni signal

V poskusih smo preverjali katere alternativne vedenjske taktike prevzamejo samci, ki so izpostavljeni vsiljivcu, ki oddaja rivalne signale. Potencialne taktike, ki bi jih v taki situaciji lahko prevzeli samci, so povečano rivalstvo (npr. oddajanje rivalnih signalov) ali pa povečan napor, vložen v oddajanje pozivnih napevov (povečana stopnja pozivanja ali oddajanje pozivnih napevov, ki so za samice bolj privlačni).

Ko smo samcem, hkrati z odgovorom samice, predvajali tudi rivalni signal, se je oglašanje in vedenje samcev, v nekaterih parametrih značilno razlikovalo od tretmaja, ko smo oddajanje pozivnih napevov teh samcev vzbudili z enkratnim predvajanjem dueta ter zatem samcem v odgovor na njihov lastni pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine (vzbujen duet F_{10}) (slike 42, 43 in 44). Medtem ko se dolžina celotnega pozivnega napeva med omenjenima tretmajema ni značilno razlikovala, je bila stopnja oddajanja pozivov ob hkratnem predvajanju rivalnih signalov statistično značilno nižja (slika 42A in B). Prav tako je bil skupni čas oddajanja pozivnih napevov ob prisotnosti rivalnega signala, ki je prekrival del odzivnega napeva samice, statistično daljši kot v primeru, kjer je samec v odgovor prejel le odzivni napev samice (slika 42C).

V obeh tretmajih je bil delež pozivnih napevov, v katerih je bila dolžina Me3 elementa krajša kot v prvem oddanem pozivu, statistično višji od naključja (preglednica 12).



Slika 42: Razlike v oglašanju in iskalnem vedenju samcev vrste *Aphrodes makarovi*, ko smo jim v odgovor na oddan pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine (F₁₀, belo) ali pa odzivni napev, ki je bil delno prekrit z rivalnim signalom (F_{10+rival}, sivo). (A) dolžina pozivnega napeva; (B) stopnja oglašanja; (C) skupni čas oddajanja pozivnih napevov samcev, ki so našli vir odzivnih napevov. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna ali bela črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). (B, C) *, vrednosti se statistično značilno razlikujeta, $P < 0,05$, Wilcoxonov test predpisanih rangov. N = število samcev, vključenih v analize.

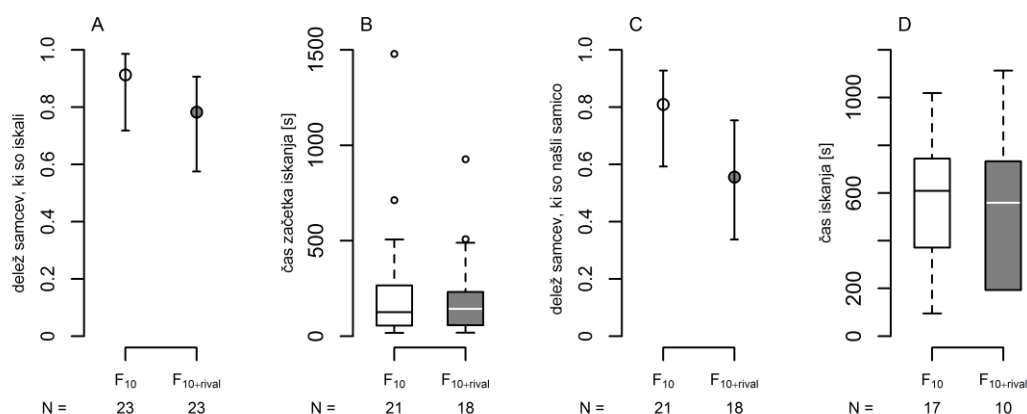
Figure 42: Differences in signalling and searching behaviour when *Aphrodes makarovi* males received in response to emitted advertisement call female reply of average duration (F₁₀, white) or female reply partly overlapped with rivalry signal (F_{10+rival}, gray). (A) male advertisement call duration; (B) calling rate; (C) cumulative calling duration of males locating the source of female reply. Box and whisker plots show the median (black or white line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). (B, C) * indicates values that are significantly different, $P < 0,05$, Wilcoxon signed rank test. N=number of males included in the analyses.

Preglednica 12: Delež pozivnih napevov samcev vrste *Aphrodes makarovi*, pri katerih je dolžina elementa Me3 krajša, kot v prvem oddanem klicu v posameznem poskusu. F₁₀: samcem smo v odgovor na oddan pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine, F_{10+rival}: samcem smo v odgovor na oddan pozivni napev predvajali odzivni napev samice povprečne dolžine delno prekrit z rivalnim signalom. Pojoči samci: samci, ki so oddajali pozivne napeve, niso pa iskali vira predvajanega odzivnega napeva. Iščoči samic: samci, ki so tudi iskali vir predvajanega odzivnega napeva. V to kategorijo so šteli samci, ki so vir našli in tisti, ki ga v času, odmerjenem za poskus, niso. Vrednosti, ki se statistično značilno razlikujejo od naključnih (dvostranski t-test), ** $P < 0,01$. N = število samcev v vsaki kategoriji. Vključeni so samo samci, ki so oddali več kot en pozivni napev.

Table 12: Proportion of advertisement calls emitted during the trial with Me3 section shorter than in the first emitted call in the trial. F₁₀: males received in response to emitted advertisement call only female reply of average duration; F_{10+rival}: males received in response to emitted advertisement call female reply partly overlapped with rival signal. Calling males: males that were only signalling, but not searching for the source of female reply. Searching males: males that were also searching for the source of female reply. This category includes males that were searching for, but did not locate the source of female reply in the allotted time, as well as males that located the source. Asterisks indicate values that significantly deviate from random (0.5) distribution (two-sided, one sample t-test** $P < 0.01$. N = number of males in each category. Only males that emitted more than one call are included.

Tretma	Delež pozivov s krajšim Me3 elementom			
	Pojoči samci		Iščoči samci	
	N	Srednja vrednost	N	Srednja vrednost
F ₁₀	3	0,537	18	0,771**
F _{10+rival}	2	0,409	21	0,730**

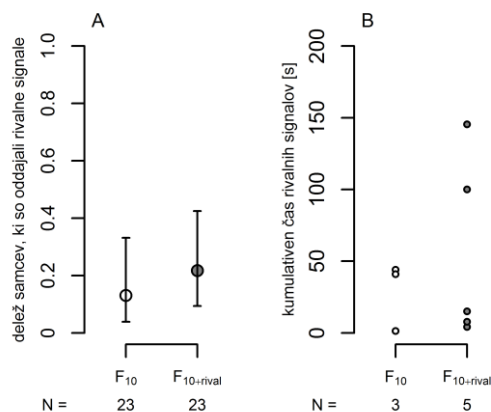
Čprav število samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva, ki je bil delno prekrit z rivalnim signalom, ni bilo statistično značilno nižje (enostranski Fisherjev test, $P = 0,21$) (slika 43A), pa je, ob upoštevanju števila samcev, ki so se oglašali, število samcev, ki so v času poskusa našli vir odzivnih napevov, delno prekrit z rivalnim signalom, statistično značilno nižje (enostranski Fisherjev test, $P = 0,036$). Tudi ob upoštevanju zgolj iščočih samcev, je razlika skoraj signifikantna (enostranski Fisherjev test, $P = 0,086$) (slika 43C). Predvajanje rivalnega signala ni značilno vplivalo na latenco iskanja in čas, ki so ga samci, ki so našli vir odzivnega napeva potrebovali za lokalizacijo.



Slika 43: Razlike v iskalnem vedenju samcev vrste *Aphrodes makarovi*, ko smo jim v odgovor na oddan pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine (F_{10} , belo) ali pa odzivni napev, ki je bil delno prekrit z rivalnim signalom ($F_{10+rival}$, sivo). (A) delež samcev, ki so iskali vir odzivnega napeva, (B) latenca iskanja; (C) delež iščočih samcev, ki so našli vir odzivnega napeva, (D) iskalni čas. (A, C) prikazan je delež (beli ali sivi krogi) s 95% intervalom zaupanja za deleže. (B, D) okvir z ročaji prikazuje mediano (črna ali bela črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). N = število samcev, vključenih v analize za posamezen tretma.

Figure 43: Differences in searching behaviour when *Aphrodes makarovi* males received in response to emitted advertisement call female reply of average duration (F_{10} , white) or female reply partly overlapped with rivalry signal ($F_{10+rival}$, gray). (A) proportion of males searching for the source of female reply, (B) search latency), (C) proportion of searching males locating the source, (D) searching time. (A, C) Determined proportion (white or grey circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. (B, D) Box and whisker plots show the median (black or white line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). N =number of males included in the analyses.

Delež samcev, ki so oddajali rivalne signale, se med obema tretmajema ni statistično značilno razlikoval (slika 44).



Slika 44: (A) Delež samcev vrste *Aphrodes makarovi*, ki so oddajali rivalne signale in (B) skupen čas oddajanja rivalnih signalov samcev, ki so našli vir odzivnih napevov, ko smo jim v odgovor na oddan pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine (F₁₀, belo) ali pa odzivni napev, ki je bil delno prekrit z rivalnim signalom (F_{10+rival}, sivo). Prikazan je delež (beli ali sivi krogi) s 95% intervalom zaupanja za deleže. N = število samcev, vključenih v analize. Kjer je N < 5, so prikazani surovi podatki.

Figure 44: (A) Proportion of *Aphrodes makarovi* males emitting rivalry signals and (B) cumulative duration of rivalry signals in males that located the source of female reply when they received in response to emitted advertisement calls female reply of average duration (F₁₀, white) or female reply partly overlapped with rivalry signal (F_{10+rival}, gray). Determined proportion (white or grey circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. N = number of males included in the analyses. When N ≤ 5, raw data are shown.

Pregled rezultatov kaže, da prisotnost vsiljivca poviša stopnjo rivalnega vedenja, medtem ko se napor, vložen v oddajanje pozivnih napevov, zmanjša.

3.3 CENA ODDAJANJA VIBRACIJSKIH SIGNALOV PRI ŠKRŽATKU VRSTE *A. makarovi*

V tem sklopu poskusov smo preverjali hipotezo, da pri oddajanju vibracijskih signalov škržatki vrste *A. makarovi* porabijo veliko energije, in da samci plačujejo indirektno ceno, ki se izrazi v nižani stopnji preživetja.

3.3.1 Merjenje energetske porabe med oddajanjem vibracijskih signalov

Podrobni podatki o vsakem osebku, vključenem v meritve, so predstavljeni v preglednicah (13 in 14).

Izmerjena stopnja dihanja v mirovanju je bila med 0,698 in 1,129 mL O₂/(h*g) (srednja vrednost ± SD: 0,943 ± 0,128 mL O₂/(h*g)), medtem ko je med premikanjem znašala od 4,229 do 6,391 mL O₂/(h*g) (srednja vrednost ± SD: 5,324 ± 0,64 mL O₂/(h*g)) (Preglednica 13).

Preglednica 13: Podrobni podatki o posameznih samcih vrste *Aphrodes makarovi*, vključenih v meritve porabe O₂ v mirovanju in med hojo. Živa teža: teža živega samca; suha teža: teža po sušenju; povprečna stopnja dihanja v mirovanju: povprečna stopnja dihanja, pridobljena iz stopenj dihanja, izračunanih na osnovi porabe O₂ v 15-20s obdobjih, v katerih se samci niso premikali ali oglašali (število upoštevanih obdobj mirovanja: 2-10 na samca); povprečna stopnja dihanja med premikanjem: povprečna stopnja, pridobljena iz stopenj dihanja, izračunanih na osnovi porabe O₂ v 15-30s obdobjih, v katerih so samci premikali noge (število upoštevanih obdobj premikanja: 2-10 na samca).

Table 13: Detailed information on *Aphrodes makrovi* males used to assess O₂ consumption during resting and moving. body mass: weight of live male; dry weight: body weight after drying; mean respiration rate during resting: average respiration rate obtained from calculated respiration rates based on O₂ consumption in 15-30s periods during which males were not moving or signalling. The number of resting periods varied from 2-10 per male; mean respiration rate during moving: average respiration rate obtained from calculated respiration rates based on O₂ consumption in 15-30s periods during which males were moving their legs. The number of periods of moving varied from 2-10 per male.

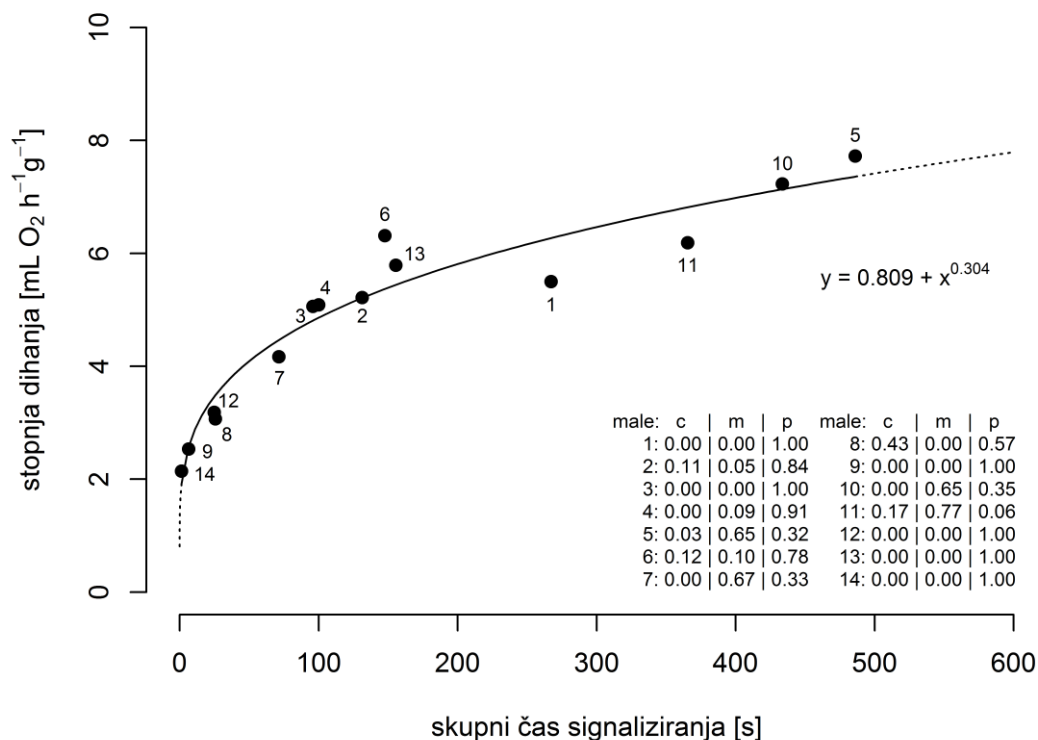
samec	živa teža [mg]	suha teža [mg]	povprečna stopnja dihanja [mL O ₂ h ⁻¹ g ⁻¹] v mirovanju	povprečna stopnja dihanja [mL O ₂ h ⁻¹ g ⁻¹] med premikanjem
1	13,1	4,7	1,085	4,229
2	12,3	4,1	1,006	5,261
3	12,9	5,2	0,698	5,788
4	14,3	4,7	0,851	5,263
5	15,6	5,3	0,925	5,856
6	13,0	5,0	0,986	5,230
7	14,0	5,2	0,813	5,697
8	13,2	4,4	0,930	4,582
9	14,3	5,4	1,129	4,944
10	14,2	4,2	1,055	6,391

Med 30 minutnimi merjenji so vsi samci v komori oddajali vibracijske signale. Stopnja dihanja je bila značilno povezana s skupno dolžino oglašanja (Kendallov τ koeficient = 0,821, $P < 0,001$) (slika 45). Tako kot samci na rastlini, so tudi samci v komori oddajali pozivne napeve ter rivalne in pulzne signale. Večina samcev je tekom merjenja oddajala vsaj dva tipa vibracijskih signalov. Vsi samci so oddajali pulzne signale, polovica samcev je oddajala tudi rivalne signale in tretjina samcev je oddala vsaj en pozivni napev. Najnižja izmerjena stopnja dihanja v 30 min ob skupni dolžini oglašanja 1,4 s je bila 2,141 mL O₂/(h*g), medtem ko je bila v tem času najvišja izmerjena stopnja dihanja 7,720 mL O₂/(h*g) ob skupni dolžini oglašanja 486 s (preglednica 14). Odnos med dolžino oglašanja in stopnjo dihanja ni linearen zaradi relativno nižje porabe O₂ pri osebkih, ki so se oglašali dlje kot 200 s (slika 45). Z uporabo nelinearne metode najmanjših kvadratov smo prilagodili model stopnje dihanja v odvisnosti od skupne dolžine oglašanja. Predlagan model, v katerem so bili ostanki normalno (Shapiro-Wilk test, $P = 0,834$) in naključno (Run test, $P = 0,291$) porazdeljeni, je bil $y = 0,809 + x^{0,304}$. Ta model predpostavlja, da naj bi bila stopnja dihanja v mirovanju 0,809 mL O₂/(h*g), kar je blizu povprečni izmerjeni hitrosti dihanja v mirovanju (0,943 mL O₂/(h*g)).

Preglednica 14: Podrobni podatki o posameznih samcih vrste *Aphrodes makrovi*, vključenih v merjenje energetske porabe med oglašanjem. Živa teža: teža živega samca; suha teža: teža po sušenju; skupni čas oglašanja v obdobju 30 min, pridobljen s seštevanjem dolžin posameznih pozivnih napevov ter rivalnih in pulznih signalov; pozivni napevi: skupni čas oddajanja pozivnih napevov v obdobju 30 min; rivalni signali: skupni čas oddajanja rivalnih signalov v obdobju 30 min; pulzni signali: skupni čas oddajanja pulznih signalov v obdobju 30 min; $\Delta c O_2$: izmerjen padec koncentracije O_2 v obdobju 30 min; stopnja dihanja: stopnja dihanja, izračunana na osnovi porabe O_2 v 30 min.

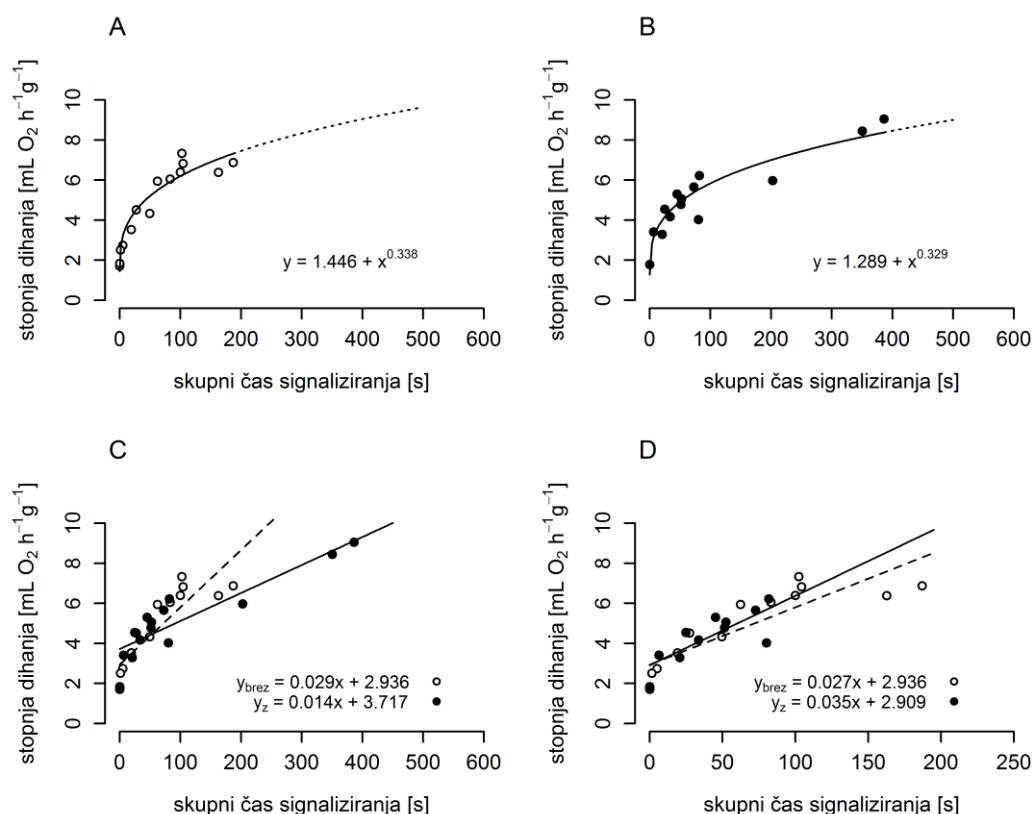
Table 14: Detailed information on *Aphrodes makrovi* males used to assess the energetic cost of signalling. body mass: weight of live male; dry weight: body weight after drying; total signalling time: cumulative time of signalling during 30 min obtained by summing up respective cumulative durations of advertisement calls, rivalry signals and pulses; calls: cumulative duration of advertisement calls emitted in 30 min; rivalry signals: cumulative duration of rivalry signals emitted in 30 min; pulse signals: cumulative duration of pulses emitted in 30 min; $\Delta c O_2$: measured drop in O_2 concentration in 30 min; respiration rate: calculated respiration rate based on O_2 consumption in 30 min.

samec	živa teža [mg]	suha teža [mg]	skupni čas oglašanja [s]	pozivni napevi [s]	rivalni signali [s]	pulzni signali [s]	$\Delta c O_2$ [%]	Stopnja dihanja [mL O_2 h ⁻¹ g ⁻¹]
1	12,8	4,7	267,282	0,000	0,000	267,282	4,843	5,500
2	11,4	3,9	131,350	13,919	7,081	110,350	3,976	5,215
3	14,4	4,7	95,928	0,000	0,000	95,928	4,609	5,060
4	12,9	4,8	100,092	0,000	9,000	91,092	4,731	5,085
5	12,1	4,2	486,022	14,494	316,506	155,022	6,288	7,720
6	11,8	4,2	147,621	18,139	14,861	114,621	5,103	6,313
7	12,3	3,8	71,466	0,000	48,000	23,466	2,791	4,168
8	13,2	3,7	25,728	11,043	0,000	14,685	1,719	3,068
9	14,3	4,5	6,434	0,000	0,000	6,434	2,249	2,534
10	12,9	4,4	433,653	0,000	280,000	153,653	6,136	7,228
11	13,2	4,3	365,526	62,194	281,806	21,526	5,197	6,184
12	12,5	3,8	24,853	0,000	0,000	24,853	2,346	3,184
13	14,7	4,7	155,593	0,000	0,000	155,593	5,287	5,787
14	13,3	4,7	1,427	0,000	0,000	1,427	1,970	2,141



Slika 45: Stopnja dihanja samcev vrste *Aphrodes makarovi* (1-14) v 30-minutnih meritvah v odnosu do skupne dolžine oglašanja v tem času. Najbolje prilegajoč model na osnovi nelinearne metode najmanjših kvadratov je $y = 0,809 + x^{0,304}$. Tabela v grafu prikazuje delež posameznih tipov oddanih vibracijskih signalov v skupni dolžini oglašanja za vsakega samca. c: pozivni napev; m: rivalni signali; p: pulzni signali.
Figure 45: Respiration rates of *Aphrodes makarovi* males (1-14) obtained in 30 min measurements in relation to the total signalling time. The best model fitted by non-linear least square analysis was $y = 0,809 + x^{0,304}$. Inset shows for each individual the proportions of each type of vibrational signals within the total signalling time. c: advertisement calls; m: rival signals; p: pulse signals.

Primerjava stopnje dihanja v 15-minutnih časovnih odsekih s stimulacijo in brez nje je pokazala statistično značilne razlike v stopnji dihanja med odsekoma (t-distribucija, $P = 0,003$) (slika 46), vendar je ta razlika predvsem posledica osebkov, ki so imeli dolg skupen čas oglašanja v obdobju draženja. Če smo upoštevali le skupni čas oglašanja do 200 s, se stopnji dihanja nista razlikovali (t-distribucija, $P = 0,575$).



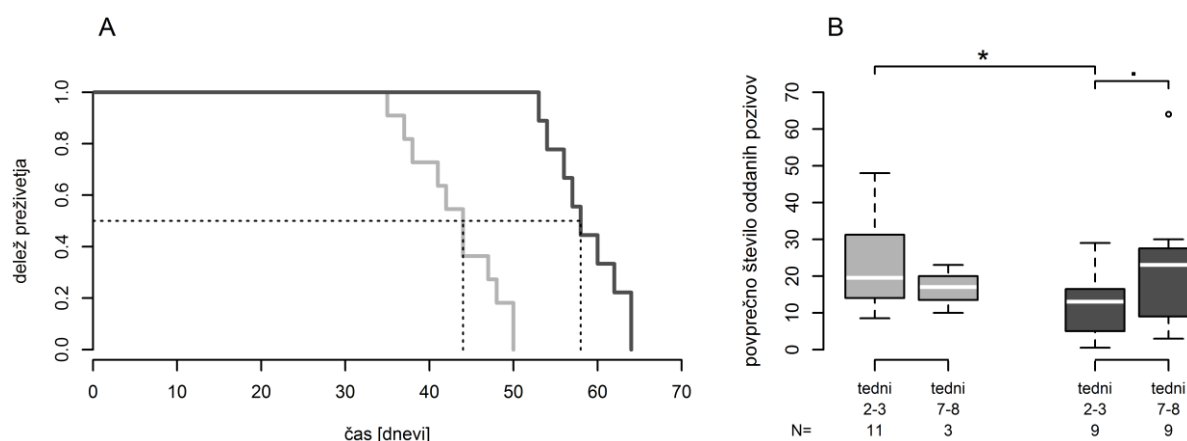
Slika 46: Primerjava stopnje dihanja v odnosu do skupne dolžine oglašanja v 15-minutnih odsekih s stimulacijo in brez nje. A: prilegajoč nelinearni model za 15-minutno obdobje brez stimulacije, B: prilegajoč nelinearni model za 15-minutno obdobje s stimulacijo; C: primerjava linearnih regresijskih premic za celotno skupno dolžino oglašanja, ki se prilegajo vrednostim za stimulirano (beli krogi) in nestimulirano (črni krogi) obdobje; D: primerjava linearnih regresijskih premic za do 200 s dolgo skupno dolžino oglašanja, ki se prilegajo vrednostim za obdobje s stimulacijo (beli krogi) in brez nje (črni krogi).

Figure 46: Comparison of respiration rate as a function of total signalling time in 15 min periods with and without stimulation. A: fitted non-linear model to respiration rate as a function of total signalling time in 15 min period without stimulation; B: fitted non-linear model to respiration rate as a function of total signalling time in 15 min period with stimulation; C: comparison of linear regressions fitted to non stimulated males (white circles) and stimulated males (black circles) over period of maximal signalling time; D: comparison of linear regressions fitted to non stimulated males (white circles) and stimulated males (black circles) over 200s of signalling time.

Povprečno znižanje koncentracije O₂ v komori med oddajanjem posameznega pozivnega napeva je bilo 0,074% ($\pm 0,01\%$, N = 4, n = 7). Ob upoštevanju dolžin posameznih pozivnih napevov je izračunana stopnja dihanja znašala od 8,535 do 18,786 mL O₂/(h*g) (srednja vrednost = 11,712 mL O₂/(h*g)). Ob oddajanju rivalnih signalov podobnih dolžin (11-19 s) je bilo povprečno znižanje koncentracije O₂ v komori podobno kot pri oddajanju pozivnih napevov ($0,080 \pm 0,038 \%$, N = 4, n = 17). Povprečna izračunana stopnja dihanja je bila 11,546 mL O₂/(h*g), medtem ko so se posamezne vrednosti gibale med 5,127 in 17,878 mL O₂/(h*g). Ob upoštevanju stopnje dihanja v mirovanju, rezultati nakazujejo, da so samci porabili 12,4 oziroma 12,2-krat več energije ob oddajanju pozivnih napevov in rivalnih signalov kot v mirovanju.

3.3.2 Vpliva napora oddajanja pozivnih napevov na preživetje

Povprečna življenjska doba samcev vrste *A. makarovi* je bila 50 dni (± 9 dni). Najkrajša in najdaljša zabeležena življenjska doba pa sta bili 25 oziroma 64 dni. V skladu s tem smo samce, ki so živeli manj kot 50 dni, dodelili v skupino kratkoživih ($N = 11$), samce, ki so živeli dlje kot 50 dni ($N = 9$), pa v skupino dolgoživih samcev. Log-rank test krivulj preživetja je pokazal statistično značilne razlike med tema skupinama ($\chi^2 = 19,6$, $df = 1$, $P < 0,001$) (slika 47A). Dolgoživi samci so v povprečju živeli 16 dni dlje kot kratkoživi (Wilcoxonov test vsote rangov, $P < 0,001$).

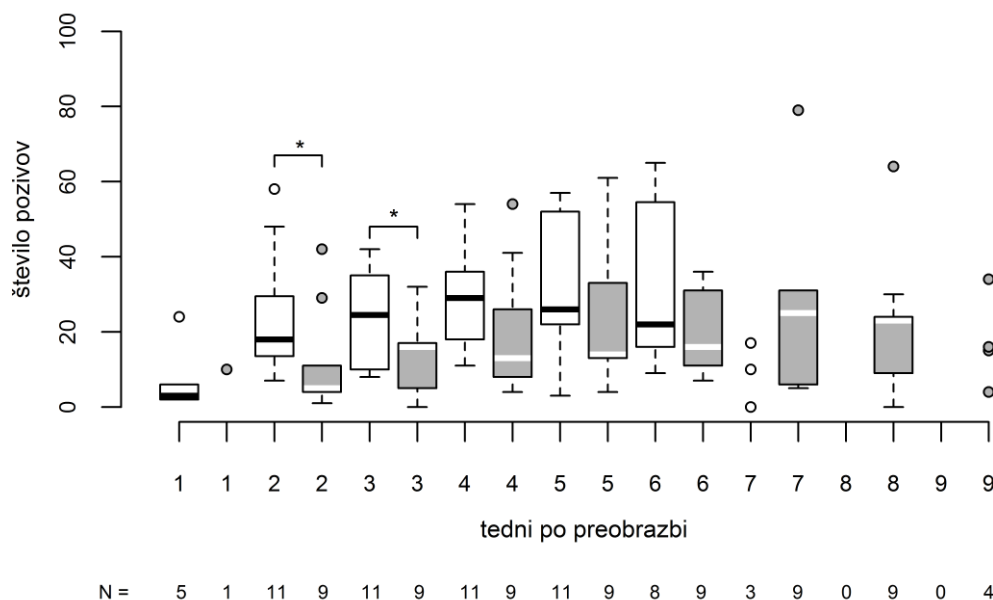


Slika 47: Krivulje preživetja za kratkožive in dolgožive samce vrste *Aphrodes makarovi* (A) in povprečno število oddanih pozivnih napevov v 2. in 3. tednu ter 7. in 8. tednu za kratkožive in dolgožive samce (B). A: Krivulje preživetja za kratkožive (svetlo siva črta) in dolgožive (temno siva črta) samce vrste *Aphrodes makarovi* (log-rank test, $\chi^2 = 19,6$, $df = 1$, $P < 0,001$). Črtkana črta nakazuje mediano preživetja za vsako skupino samcev. B: povprečno število oddanih pozivnih napevov v 2. in 3. tednu ter 7. in 8. tednu za kratkožive (svetlo siva) in dolgožive (temno siva) samce. Okvir z ročaji prikazuje mediano (bela črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilega razpona (ročaji) in izven ležeče vrednosti (krogi). Wilcoxonov test vsote rangov, * $P < 0,05$; • $P = 0,086$. $N =$ število samcev.

Figure 47: Adult survival for short lived and long-lived males of *Aphrodes makarovi* (A) and mean number of calls emitted in weeks 2-3 and 7-8 by short-lived and long lived males (B). A: adult survival for short lived (light gray line) and long-lived (dark gray line) males of *Aphrodes makarovi* (log-rank test, $\chi^2 = 19,6$, $df = 1$, $p < 0,001$). Dashed line indicates the median survival time in each group. B: mean number of calls emitted in weeks 2-3 and 7-8 by short-lived (light gray) and long lived males (dark gray). Box and whisker plots show the median (white line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). $N =$ number of males. Wilcoxon rank sum test, * $P < 0,05$; • $P = 0,086$.

Aktivnost samcev, povezana z oglašanjem, je v splošnem naraščala prvih šest tednov po levitvi v odrasli osebek (slika 48), medtem ko so starejši samci v testih le redko oddali več kot 30 pozivnih napevov. Zaradi zniževanja števila samcev z naraščajočo starostjo neposredne primerjave napora, vloženega v oddajanje pozivnih napevov v zgodnjem in poznem obdobju niso možne, vendar rezultati nakazujejo, da je devet samcev, ki so živeli dlje kot 50 dni vložilo manj napora v oddajanje pozivnih napevov v zgodnjem obdobju kot kratkoživi samci (slika 47A, 48). Povprečno število oddanih pozivnih napevov, ki so jih ti samci oddali v 2. in 3. tednu je bilo statistično značilno nižje kot pri kratkoživih samcih (Wilcoxonov test vsote rangov, $P = 0,020$). Poleg tega se je le eden od dolgoživih samcev

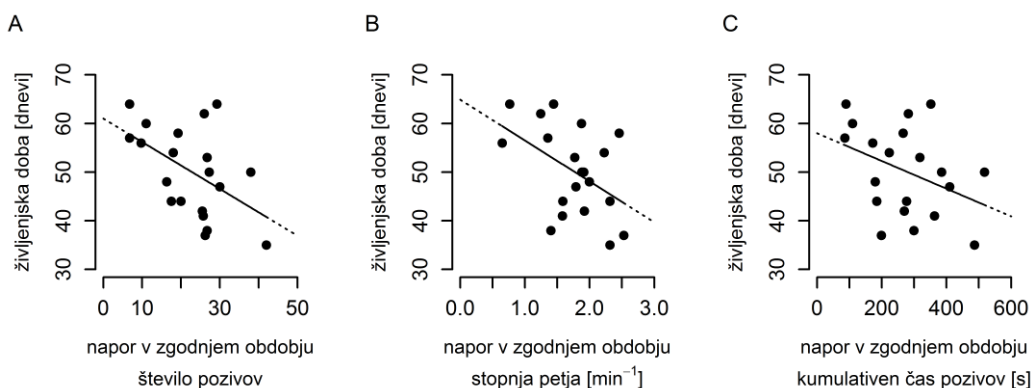
oglašal že v prvem tednu po levitvi. Za dolgožive je bilo tudi povprečno število oddanih pozivnih napevov v 7. in 8. tednu višje kot v 2. in 3. tednu (Wilcoxonov test vsote rangov, $P = 0,086$). Dolgoživi samci so tekom življenja v poskusih oddali statistično značilno manj pozivnih napevov kot kratkoživi samci (19 oziroma 27 pozivnih napevov, t-test, $P = 0,042$).



Slika 48: Napor, ki so ga kratkoživi (belo) in dolgoživi (sivo) samci vrste *Aphrodes makarovi* vložili v oddajanje pozivnih napevov, prikazan po starosti. Prikazano je število oddanih pozivnih napevov v posameznem tednu življenja. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna ali bela črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Wilcoxonov test vsote rangov, * $P < 0,05$. N = število samcev. Kjer je $N < 5$, so prikazani surovi podatki.

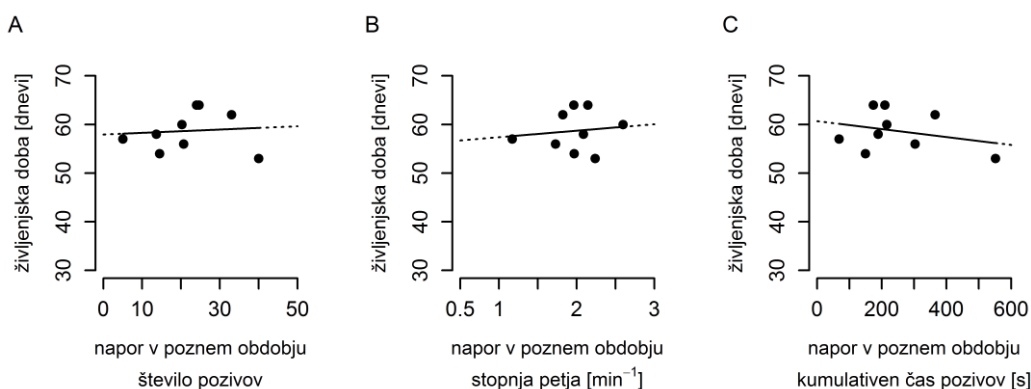
Figure 48: Calling effort of short- (white box) and long-lived (gray box) *Aphrodes makarovi* males by age. The number of emitted advertisement calls in each week of adult life is shown. Box and whisker plots show the median (black or white line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). * indicates significant differences between calling activity of short- and long-lived males in a particular week (Wilcoxon rank sum test, $p < 0.05$). N = number of males included in the analyses. When $N < 5$, raw data are shown.

Življenjska doba samcev je bila negativno povezana z vsemi parametri, s katerimi smo izrazili napor, vložen v oddajanje pozivnih napevov. Samci, ki so se oglašali več v zgodnjem obdobju (2-5 teden), so umrli prej (slika 49) (povprečno število pozivnih napevov oddanih tekom poskusa, Pearsonov korelacijski koeficient ($r = -0,503$, $P = 0,024$); povprečna stopnja oglašanja na minuto poskusa, ($r = -0,427$, $P = 0,036$); povprečni skupni čas oglašanja v poskusu, ($r = -0,382$, $P = 0,096$). Logistična regresija je pokazala, da je imela stopnja oglašanja signifikanten pozitiven učinek na verjetnost, da samec najde vir odzivnega napeva samice ($P < 0,001$) (slika 51). Glede na parameter, s katerim smo izrazili napor vložen v oddajanje pozivnih napevov, je bil napor vložen v oddajanje pozivnih napevov v poznem življenjskem obdobju pozitivno ali negativno povezan s preživetjem, vendar noben od teh parametrov ni pokazal statistično značilne korelacije ($r = 0,087$, $P = 0,825$; povprečna stopnja oglašanja na minuto poskusa, ($r = 0,128$, $P = 0,744$); povprečni skupni čas oglašanja v poskusu, ($r = -0,284$, $P = 0,460$) (slika 50).



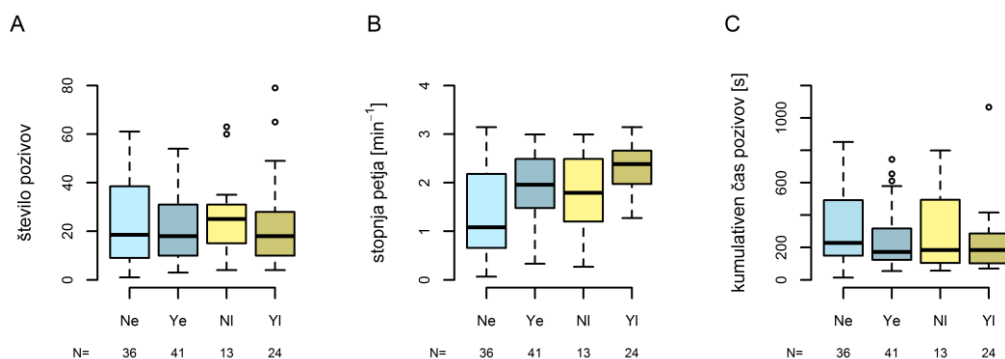
Slika 49: Odnos med življenjsko dobo samcev vrste *Aphrodes makarovi* in naporom, vloženim v oddajanje pozivnih napevov v zgodnjem življenjskem obdobju (2-5 teden), izraženim kot (A) povprečno število pozivnih napevov, oddanih tekom poskusa, (B) povprečna stopnja oglašanja na minuto poskusa in (C) povprečni skupni čas oglašanja v poskusu. Črte prikazujejo regresijske premice. A: Pearsonov korelacijski koeficient ($r = -0,503$, $P = 0,024$); B: ($r = -0,427$, $P = 0,036$); C: ($r = -0,382$, $P = 0,096$).

Figure 49: The relationship between longevity of *Aphrodes makarovi* males and early calling effort (weeks 2-5) expressed as the mean number of calls emitted during the trial (A), as the mean calling rate per minute of trial (B) and as the mean calling time during the trial (C). The lines represent the common regression slopes. A: Pearson's correlation coefficient ($r = -0.503$ ($P = 0.024$); B: ($r = -0.472$ ($P = 0.036$); C: ($r = -0.382$ ($P = 0.096$).



Slika 50: Odnos med življenjsko dobo samcev vrste *Aphrodes makarovi* in naporom vloženim v oddajanje pozivnih napevov v poznem življenjskem obdobju (6-9 teden), izraženim kot (A) povprečno število pozivnih napevov, oddanih tekom poskusa, (B) povprečna stopnja oglašanja na minuto poskusa in (C) povprečni skupni čas oglašanja v poskusu. Črte prikazujejo regresijske premice. A: Pearsonov korelacijski koeficient ($r = 0,087$, $P = 0,825$); B: ($r = 0,128$, $P = 0,744$); C: ($r = -0,2842$, $P = 0,460$).

Figure 50: The relationship between longevity of *Aphrodes makarovi* males and late calling effort (weeks 6-9) expressed as the average number of calls emitted during the trial (A), as the average calling rate per minute of trial (B) and as the average calling time during the trial (C). The lines represent the common regression slopes. A: Pearson's correlation coefficient ($r = 0.087$ ($P = 0.825$); B: ($r = 0.128$ ($P = 0.744$); C: ($r = -0.284$ ($P = 0.460$).



Slika 51: Napor, ki so ga samci vložili v oddajanje pozivnih napevov v poskusih, v katerih so samci vrste *Aphrodes makarovi* našli vir predvajanega odzivnega napeva samice v zgodnjem (modro) in poznem (rumeno) življenjskem obdobju ali pa ga niso našli. (A) število pozivnih napevov, oddanih tekom poskusa, (B) stopnja oglašanja na minuto poskusa in (C) skupni čas oglašanja v poskusu. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škafca), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Ne: poskusi v zgodnjem življenjskem obdobju (2-5 teden), v katerih samci niso našli vira odzivnega napeva; Ye: poskusi v zgodnjem življenjskem obdobju, v katerih so samci našli vir odzivnega napeva; NI: poskusi v poznem življenjskem obdobju (6-9 teden), v katerih samci niso našli vira odzivnega napeva; YI: poskusi v poznem življenjskem obdobju, v katerih so samci našli vir odzivnega napeva. n = število testov

Figure 51: Calling effort parameters in trials in which *Aphrodes makarovi* males located or not the source of female reply in early life (blue) and late life (yellow) period. (A) number of calls emitted during the trial, (B) calling rate per minute of trial, (C) calling time during the trial. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1,5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Ne, not located the source in trials done during early life period (weeks 2-5); Ye, located the source in trials done during early life period; NI, not located the source in trials done during late life period (weeks 6-9); YI, located the source in trials done during late life period; n = number of trials.

3.3.3 Vpliv telesne kondicije na rivalno vedenje

3.3.3.1 Vpliv stradanja na spolno vedenje v dvojici

V poskusih smo preverjali, katere vedenjske taktike za povečanje reproduktivnega uspeha prevzamejo samci, ki so v slabši telesni kondiciji. Predpostavljali smo, da bodo ti samci vložili manj navora v oddajanje pozivnih napevov, ter da bodo dlje časa iskali vir odzivnih napevov samice, ker bodo med vedenjskim poskusom porabljeno energijo nadomestili s hranjenjem.

Med kontrolno skupino, v kateri je bilo 20 samcev, ki so bili ves čas hranjeni, in stradano skupino, v kateri je bilo 14 samcev, ki so jim drugi dan poskusa pred vedenjskim poskusom, v katerem smo z enkratnim predvajanjem dueta vzbudili oddajanje pozivnih napevov ter zatem samcem v odgovor na njihov lastni pozivni napev predvajali le odzivni napev samice povprečne dolžine, za 6,5 ur odstranili hrano, prvi dan poskusa ni bilo statistično značilnih razlik v parametrih, s katerimi smo opisovali oglašanje in iskalno vedenje samcev (preglednica 15).

Preglednica 15: Primerjava teže ter parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste *Aphrodes makarovi* v 1. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali. Kontrolna skupina, N = 20; stradana skupina, N = 14. ¹: parameter smo primerjali z Wilcoxonovim testom vsote rangov; ²: parameter smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom.

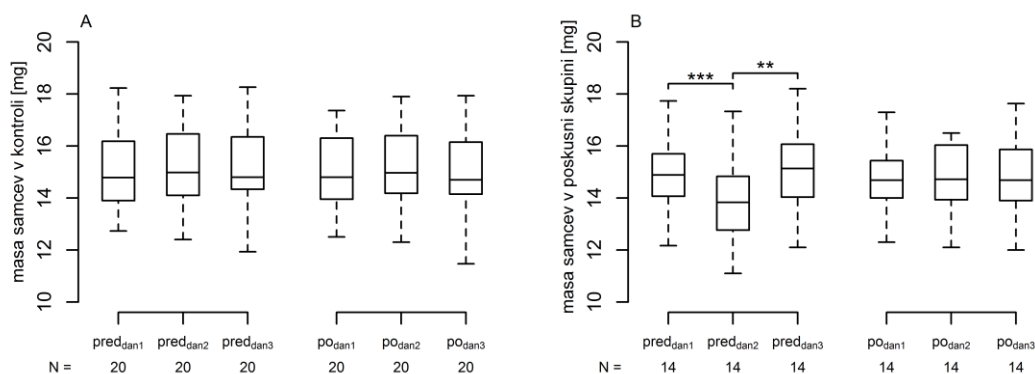
Table 15: Comparison of weight and signalling and searching behaviour on day 1 of the experiment between *Aphrodes makarovi* males in the control group and in the group in which males were starved in the 2nd day. Control group, N = 20, starved group, N = 14. ¹: statistical differences were determined by Wilcoxon rank sum test; ²: statistical differences were determined by one-tailed Fisher's exact test.

Parameter	P
Teža na začetku vedenjskega testa	0,889 ¹
Delež pozivajočih samcev	1 ²
Latenca oglašanja	0,649 ¹
Dolžina poziva	0,231 ¹
Stopnja pozivanja	0,377 ¹
Dolžina Me3 elementa v prvem pozivu	0,397 ¹
Dolžina Me3 elementa v zadnjem pozivu	0,986 ¹
Dolžina najkrajšega Me3 elementa	0,758 ¹
Dolžina najdaljšega Me3 elementa	0,899 ¹
Delež iščočih samcev	0,627 ²
Latenca iskanja	0,503 ¹
Delež samcev, ki so našli vir odzivnega napeva	1 ²
Čas iskanja	0,642 ¹
Število pozivov oddanih med iskanjem	0,368 ¹
Delež samcev, ki so oddajali rivalne signale	0,627 ²
Teža na koncu vedenjskega testa	0,623 ¹

Povprečna teža samcev v kontrolni (15,1 mg) in stradani skupini (14,9 mg) se ob začetku poskusa ni značilno razlikovala (Wilcoxonov test vsote rangov, P = 0,899), medtem ko je bila v slednji 2. dan po stradanju pred vedenjskim poskusom signifikantno nižja (13,8 mg) (Wilcoxonov test vsote rangov, P = 0,027) (slika 52) (preglednica 16). Tretji dan poskusa se povprečna teža ob pričetku poskusa med skupinama samcev ni razlikovala (Wilcoxonov test vsote rangov, P = 0,884) (preglednica 17). Povprečna teža samcev v kontrolni skupini se tekom treh dni ni spreminjala (15,1, 15,2 in 15,1 mg), vendar pa se je teža posameznega samca pred poskusom v dveh zaporednih dneh lahko razlikovala tudi za 1,5 mg. Samci v skupini stradanih so v primerjavi s težo v 1. dnevu med stradanjem v povprečju izgubili 1,1 mg teže (min = 0,4 mg, max = 1,9 mg, SD = 0,4 mg). Pet samcev od začetnih 19 v skupini stradanih, ki po stradanju v primerjavi s težo v 1. dnevu niso izgubili teže, smo izključili iz analiz.

Tehtanje pred in po vedenjskih testih je pokazalo, da so v obeh skupinah nekateri samci med vedenjskimi testi težo izgubili, drugi pa pridobili, medtem ko se manjšemu številu samcev teža ni spremenila. Ker se samci iz teh treh skupin niso razlikovali v aktivnosti predpostavljamo, da so se samci, katerih teža se med vedenjskim poskusom ni spremenila, oziroma so težo celo pridobili, med vedenjskim poskusom na rastlini prehranjevali. Če izvajamo skupino stradanih samcev v 2. in 3. dnevu poskusa, so samci tekom vedenjskega poskusa v povprečju izgubili 0,4 mg (od 0,1 do 0,9 mg) ali v poprečju 0,4 mg pridobili (od 0,1 do 0,9 mg). V 2. dnevu poskusa je med poskusom le en samec izgubil 0,8 mg teže, ostali so v povprečju pridobili 1 mg teže (od 0,1 do 1,7 mg). V 3. dnevu poskusa je tekom vedenjskega poskusa le en samec povečal težo za 0,1 mg, medtem ko so drugi v

povprečju izgubili 0,4 mg (od 0,4 do 1,1 mg). V kontrolni skupini se delež samcev, ki so med poskusom težo obdržali ali povečali, med posameznimi dnevi ni veliko razlikoval (42-47% samcev), medtem ko so bile v skupini stradanih razlike večje. Prvi dan je med vedenjskimi testi težo obdržalo ali povečalo 36% samcev, drugi dan 93% in tretji dan 14%. Čeprav je bila teža samcev v skupini stradanih 2. dan poskusa statistično nižja kot v kontrolni skupini, se po koncu vedenjskega testa med skupinama ni statistično značilno razlikovala (slika 52).



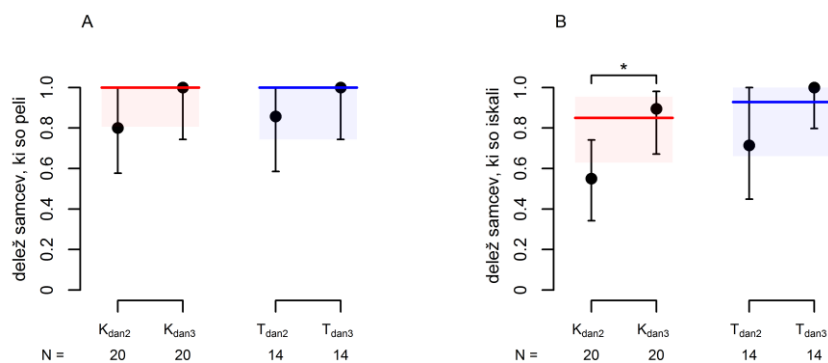
Slika 52: Teža samcev vrste *Aphrodes makarovi* v (A) kontrolni skupini in (B) skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino. Prikazana je teža pred in po vedenjskem testu, v katerem smo samcem v odgovor na oddan pozivni napev predvajali samičin odzivni napev povprečne dolžine. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo. N = število samcev, vključenih v analize.

Figure 52: Weight of *Aphrodes makarovi* males in (A) control group and (B) in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6,5 h. Weight before and after behavioural test in which presented the male with a female reply of average duration. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1,5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, Wilcoxon signed rank test with Bonferroni correction. N = number of males included in the analyses.

V kontrolni skupini samcev sta bila število samcev, ki so iskali vir odzivnih napevov samice, ter število samcev, ki so oddajali rivalne signale, edina parametra, ki sta se značilno razlikovala med posameznimi dnevi poskusa (sliki 53B, slika 59A). Drugi dan poskusa je statistično značilno manj samcev iskalo vir odzivnih napevov ($P = 0,031$, Fisherjev test) in oddajalo statistično manj rivalnih signalov kot tretji dan ($P = 0,020$, Fisherjev test).

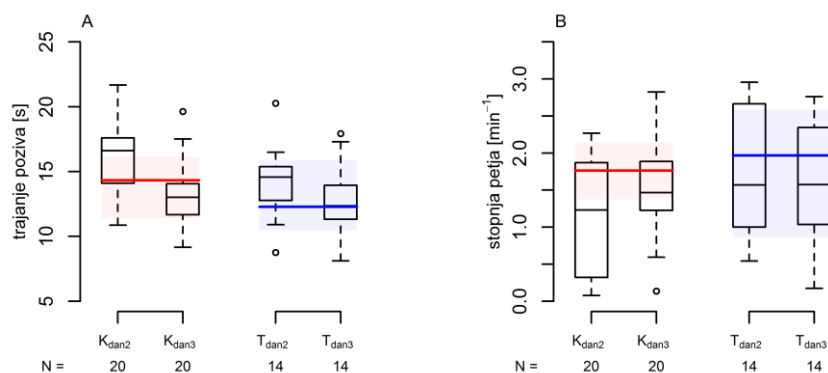
V skupini stradanih samcev se je poleg teže statistično značilno razlikovala le dolžina najdaljšega Me3 elementa v vedenjskem testu ($P = 0,002$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo) (slika 55B).

Čeprav Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo znotraj skupin ni pokazal razlik (preglednica 15, 16 in 17), so spodaj prikazane slike trajanja pozivov in stopnje petja (slika 54), latence iskanja in časa iskanja (slika 57) ter števila oddanih pozivov med iskanjem (slika 58). Prikazan je tudi delež samcev, ki so našli vir odzivnega napeva (slika 56), kljub temu da Fisherjev test ni pokazal razlik (preglednica 15, 16 in 17).



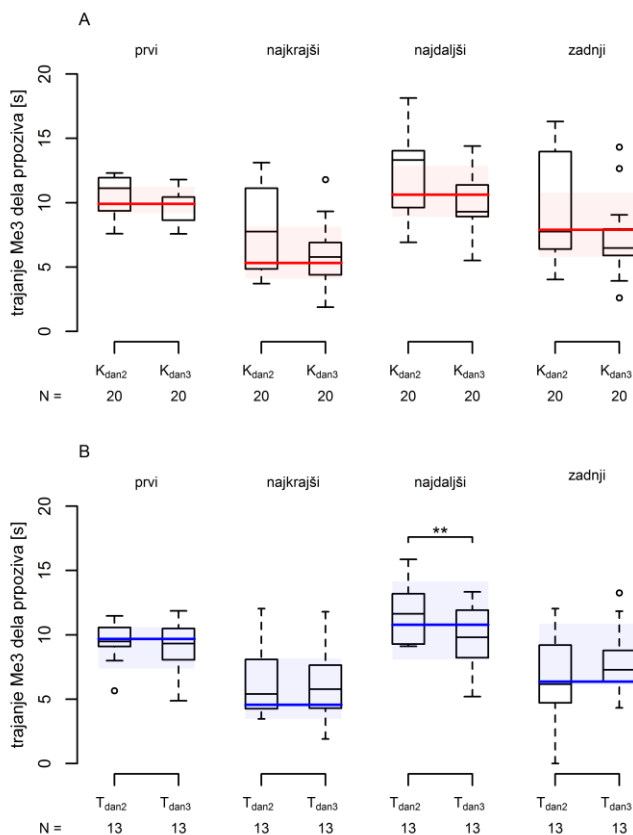
Slika 53: Primerjava (A) števila pozivajočih in (B) išočih samcev vrste *Aphrodes makarovi* v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. (A) delež samceev, ki so oddajali pozivne napeve, (B) delež samceev, ki so iskali vir predvajanega odzivnega napeva samice. Črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. Delež izkazan v 1. dnevu poskusa (rdeča in modra črta) je prikazan s 95% intervalom zaupanja za deleže (rdeča in modra površina). * $P < 0,05$, enostranski Fisherjev test). N = število samcev, vključenih v analize. K: N 1. dan = 21; T: N 1. dan = 14.

Figure 53: Comparison of (A) number of males emitting advertisement calls and (B) number of searching males of *Aphrodes makarovi* in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. (A) proportion of males emitting advertisement calls, (B) proportion of males searching for the source of female reply. Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. Proportion obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). * $P < 0,05$, one-tailed Fisher's exact test). N = number of males included in the analyses. K: N 1st day = 21; T: N 1st day = 14.



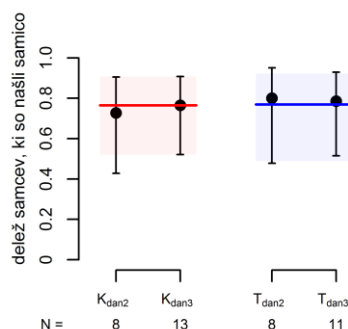
Slika 54: Primerjava (A) dolžine poziva in (B) stopnje pozivanja samcev vrste *Aphrodes makarovi* v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Vrednosti v 1. dnevu poskusa so prikazane kot mediana (rdeča in modra črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (rdeča in modra površina). N = število samcev, vključenih v analize. K: N 1. dan = 21; T: N 1. dan = 14.

Figure 54: Comparison of (A) advertisement call duration and (B) calling rate of *Aphrodes makarovi* males in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. . Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Values obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown as median together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). N = number of males included in the analyses. K: N 1st day = 21; T: N 1st day = 14.



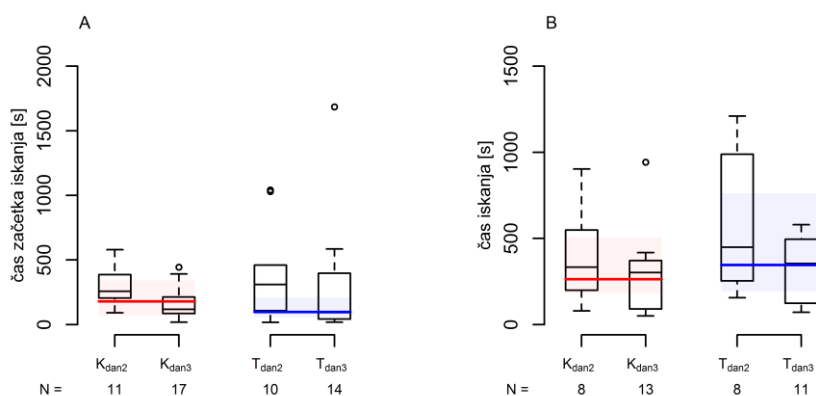
Slika 55: Primerjava v dolžini Me3 elementa v pozivnem napevu samcev vrste *Aphrodes makarovi* v (A, rdeče) kontrolni skupini in (B, modro) skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino, v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Primerjane so dolžine Me3 elementa prvega oddanega pozivnega napeva v vedenjskem testu (prvi), najkrajše dolžina elementa Me3 v testu, najdaljša dolžina Me3 elementa v testu in dolžine Me3 elementa zadnjega oddanega pozivnega napeva v testu (zadnji). Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatlja), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Vrednosti v 1. dnevu poskusa so prikazane kot mediana (rdeča in modra črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (rdeča in modra površina). $**P < 0,01$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo). N = število samcev, vključenih v analize. Samci, ki so v vedenjskem testu oddali le en pozivni napev so izključeni iz analize. K: N 1. dan = 20; T: N 1. dan = 13.

Figure 55: Comparison of duration of Me3 element in advertisement call of *Aphrodes makarovi* males in the (A, red) control group and (B, blue) group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. . Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Values obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown as median together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). $**P < 0,01$, Wilcoxon signed rank test with Bonferroni correction. N = number of males included in the analyses. Males that emitted only one call during the behavioural trial are excluded from the analyses. K: N 1st day = 20; T: N 1st day = 13.



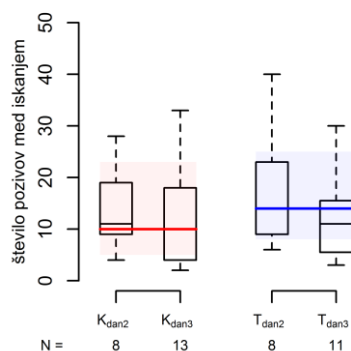
Slika 56: Primerjava števila samcev vrste *Aphrodes makarovi*, ki so našli vir odzivnega napeva v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. Delež izkazan v 1. dnevu poskusa (rdeča in modra črta) je prikazan s 95% intervalom zaupanja za deleže (rdeča in modra površina). K: N 1. dan = 17; T: N 1. dan = 13.

Figure 56: Comparison of number of *Aphrodes makarovi* males locating the source of female reply in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. Proportion obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). K: N 1st day = 17; T: N 1st day = 13.



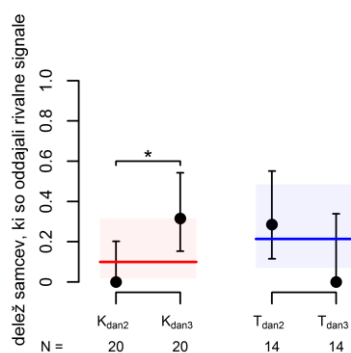
Slika 57: Primerjava (A) latence iskanja in (B) časa iskanja samcev vrste *Aphrodes makarovi* v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Vrednosti v 1. dnevu poskusa so prikazane kot mediana (rdeča in modra črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (rdeča in modra površina). N = število samcev, vključenih v analize. K: N 1. dan = 17; T: N 1. dan = 13.

Figure 57: Comparison of (A) search latency and (B) searching time of *Aphrodes makarovi* males in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Values obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown as median together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). N = number of males included in the analyses. K: N 1st day = 21; T: N 1st day = 14.



Slika 58: Primerjava števila pozivnih napevov, ki so jih samci vrste *Aphrodes makarovi* oddali med iskanjem samice v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Vrednosti v 1. dnevu poskusa so prikazane kot mediana (rdeča in modra črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (rdeča in modra površina. N = število samcev, vključenih v analize. K: N 1. dan = 13; T: N 1. dan = 10.

Figure 58: Comparison of the number of advertisement calls emitted by *Aphrodes makarovi* males during searching in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Values obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown as median together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). N = number of males included in the analyses. K: N 1st day = 13; T: N 1st day = 10.



Slika 59: Primerjava števila samcev vrste *Aphrodes makarovi*, ki so oddajali rivalne signale v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. Delež izkazan v 1. dnevu poskusa (rdeča in modra črta) je prikazan s 95% intervalom zaupanja za deleže (rdeča in modra površina). *P < 0,05, Fisherjev test. K: N 1. dan = 20; T: N 1. dan = 14.

Figure 59: Comparison of the number of *Aphrodes makarovi* males emitting rivalry signals in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. Proportion obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). *P < 0,05, Fisher's exact test. K: N 1st day = 20; T: N 1st day = 14.

V primerjavi s kontrolno skupino so samci, ki smo jih 2. dan poskusa pred vedenjskim testom stradali, oddali statistično značilno več rivalnih signalov (slika 59) (preglednica 16). Skoraj statistično značilno krajši sta bili v skupini stradanih tudi dolžina oddanih pozivih napevov v vedenjskem testu ($P = 0,075$, Wilcoxonov test vsote rangov) in dolžina najdaljšega Me3 elementa v pozivnem napevu ($P = 0,077$, Wilcoxonov test vsote rangov).

Preglednica 16: Primerjava teže ter parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste *Aphrodes makarovi* v 2. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali. Kontrolna skupina, $N = 20$; stradana skupina, $N = 14$. ¹: parameter smo primerjali z Wilcoxonovim testom vsote rangov; ²: parameter smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom.

Table 16: Comparison of weight and signalling and searching behaviour on day 2 of experiment between *Aphrodes makarovi* males in the control group and in the group in which males were starved in the 2nd day. Control group, $N = 20$, starved group, $N = 14$. ¹: statistical differences were determined by Wilcoxon rank sum test; ²: statistical differences were determined by one-tailed Fisher's exact test.

Parameter	P
Teža na začetku vedenjskega testa	0,027 ¹
Delež pozivajočih samcev	1 ²
Latenca oglašanja	0,537 ¹
Dolžina pozivnega napeva	0,075 ¹
Stopnja pozivanja	0,144 ¹
Dolžina Me3 elementa v prvem pozivu	0,077 ¹
Dolžina Me3 elementa v zadnjem pozivu	0,147 ¹
Dolžina najkrajšega Me3 elementa	0,256 ¹
Dolžina najdaljšega Me3 elementa	0,486 ¹
Delež išočih samcev	0,477 ²
Latenca iskanja	1 ¹
Delež samcev, ki so našli vir odzivnega napeva	1 ²
Čas iskanja	0,360 ¹
Število pozivov oddanih med iskanjem	0,560 ¹
Delež samcev, ki so oddajali rivalne signale	0,024 ²
Teža na koncu vedenjskega testa	0,412 ¹

Tretji dan poskusa med skupinama ni bilo statistično značilnih razlik (preglednica 17).

Preglednica 17: Primerjava teže ter parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste *Aphrodes makarovi* v 3. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali. Kontrolna skupina, N = 20; stradana skupina, N = 14. ¹: parameter smo primerjali z Wilcoxonovim testom vsote rangov; ²: parameter smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom.

Table 17: Comparison of weight and signalling and searching behaviour on day 3 of the experiment between *Aphrodes makarovi* males in the control group and in the group in which males were starved in the 2nd day. Control group, N = 20, starved group, N = 14. ¹: statistical differences were determined by Wilcoxon rank sum test; ²: statistical differences were determined by one-tailed Fisher's exact test.

Parameter	P
Teža na začetku vedenjskega testa	0,884 ¹
Delež pozivajočih samcev	1 ²
Latenca oglašanja	0,757 ¹
Dolžina poziva	0,628 ¹
Stopnja pozivanja	0,900 ¹
Dolžina Me3 elementa v prvem pozivu	0,418 ¹
Dolžina Me3 elementa v zadnjem pozivu	0,483 ¹
Dolžina najkrajšega Me3 elementa	0,900 ¹
Dolžina najdaljšega Me3 elementa	0,760 ¹
Delež iščočih samcev	0,469 ²
Latenca iskanja	1 ¹
Delež samcev, ki so našli vir odzivnega napeva	1 ²
Čas iskanja	0,847 ¹
Število pozivov oddanih med iskanjem	0,621 ¹
Skupna dolžina pozivov	0,820 ¹
Delež samcev, ki so oddajali rivalne signale	0,195 ²
Teža na koncu vedenjskega testa	0,489 ¹

Glede na rezultate lahko rečemo, da so samci, ki smo jih pred vedenjskim testom stradali, izgubljeno težo med testom nadomestili, ne da bi se ob tem podaljšal čas iskanja. V nekaterih parametrih je bil napor, vložen v oddajanje pozivnih napevov, nižji. Rezultati tudi nakazujejo, da so ti samci vložili več napora v oddajanje rivalnih signalov.

3.3.3.2 Vpliv stradanja na spolno vedenje v triu

V poskusih smo preverjali, katere alternativne vedenjske taktike za povečanje reproduktivnega uspeha prevzamejo samci v slabši telesni kondiciji, ko so postavljeni v situacijo vsiljivca. Predpostavili smo dve možni vedenjski taktiki: (a) da bodo ti samci vložili manj napora v oddajanje pozivnih napevov in rivalnih signalov, ter da bo pri njih bolj izraženo satelitsko vedenje, saj je poraba energije pri hoji nižja kot ob oglašanju ali (b) da bodo ti samci vložili enak napor v oddajanje vibracijskih signalov pozivnih napevov in rivalnih signalov, vendar za ceno hitre lokalizacije samice.

Med kontrolno skupino, v katero je bilo vključeno 22 samcev, ki so bili ves čas hranjeni in stradano skupino, v kateri je bilo 26 samcev, ki smo jim drugi dan poskusa pred vedenjskim testom, v katerem smo živim samcem neprestano predvajali duet med samcem in samico, za 6,5 ur odstranili hrano, prvi dan poskusa ni bilo statistično značilnih razlik v parametrih, s katerimi smo opisovali oglašanje in iskalno vedenje samcev (preglednica 18).

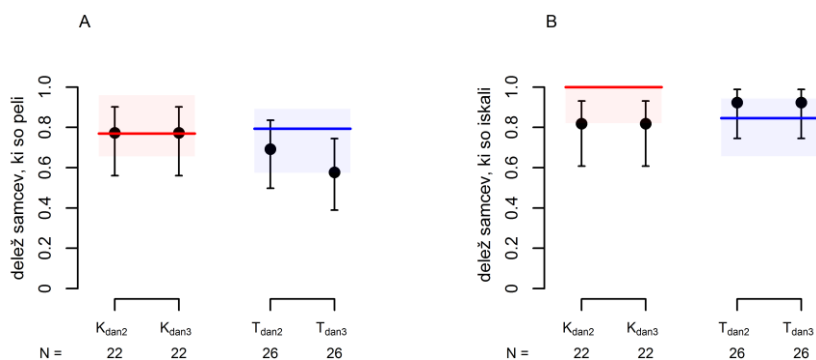
Preglednica 18: Primerjava parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste *Aphrodes makarovi* v 1. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali. Kontrolna skupina, N = 22; stradana skupina, N = 26. ¹: parameter smo primerjali z Wilcoxonovim testom vsote rangov; ²: parameter smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom.

Table 18: Comparison of signalling and searching behaviour on day 1 of the experiment between *Aphrodes makarovi* males in the control group and in the group in which males were starved in the 2nd day. Control group, N = 22, starved group, N = 26. ¹: statistical differences were determined by Wilcoxon rank sum test; ²: statistical differences were determined by one-tailed Fisher's exact test.

Parameter	P
Število pozivajočih samcev	0,478 ²
Latenca oglašanja	0,224 ¹
Dolžina poziva	0,488 ¹
Stopnja pozivanja	0,586 ¹
Dolžina Me3 elementa v prvem pozivu	0,968 ¹
Dolžina Me3 elementa v zadnjem pozivu	0,557 ¹
Dolžina najkrajšega Me3 elementa	0,916 ¹
Dolžina najdaljšega Me3 elementa	0,498 ¹
Število iščočih samcev	0,114 ²
Latenca iskanja	0,733 ¹
Število samcev, ki so našli vir odzivnega napeva	0,348 ²
Čas iskanja	0,693 ¹
Število pozivov med iskanjem	0,467 ¹
Število samcev, ki so locirali vir pozivnega napeva	0,118 ²
Število samcev, ki so oddajali rivalne signale	1 ²

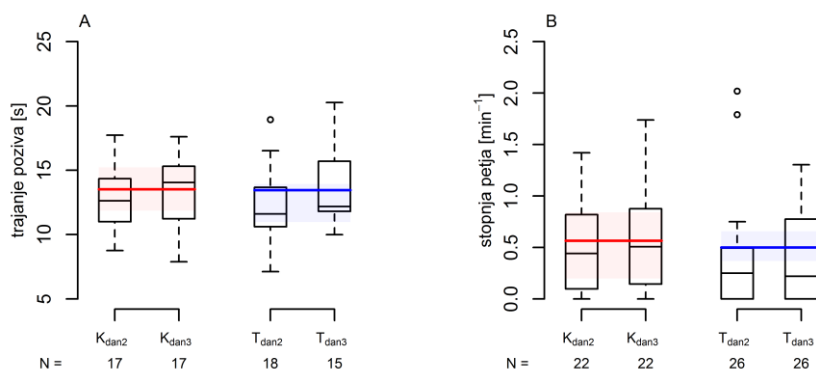
V kontrolni skupini samcev sta bila latenca iskanja in čas iskanja edina parametra, ki sta se značilno razlikovala med posameznimi dnevi poskusa (slike 60-66). Drugi dan poskusa so samci statistično značilno prej pričeli z iskanjem kot 1. dan ($P = 0,029$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo), medtem ko je bil čas iskanja signifikantno daljši ($P = 0,023$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo) (slika 64). Skoraj statistično značilno daljši kot prvi dan je bil iskalni čas tudi 3. dan poskusa ($P = 0,075$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo). Skoraj statistično značilno manj samcev kot v 2. dnevu, je oddajalo rivalne signale 3. dan poskusa ($P = 0,093$, enostranski Fisherjev test) (slika 66).

V primerjavi s kontrolno skupino so samci, ki smo jih 2. dan poskusa pred vedenjskim testom stradali, statistično značilno dlje iskali vir odzivnih napevov samice (slika 64) (preglednica 19). V tej skupini je tudi skoraj statistično značilno manj samcev lociralo vir predvajanega samčevega pozivnega napeva ($P = 0,074$, enostranski Fisherjev test).



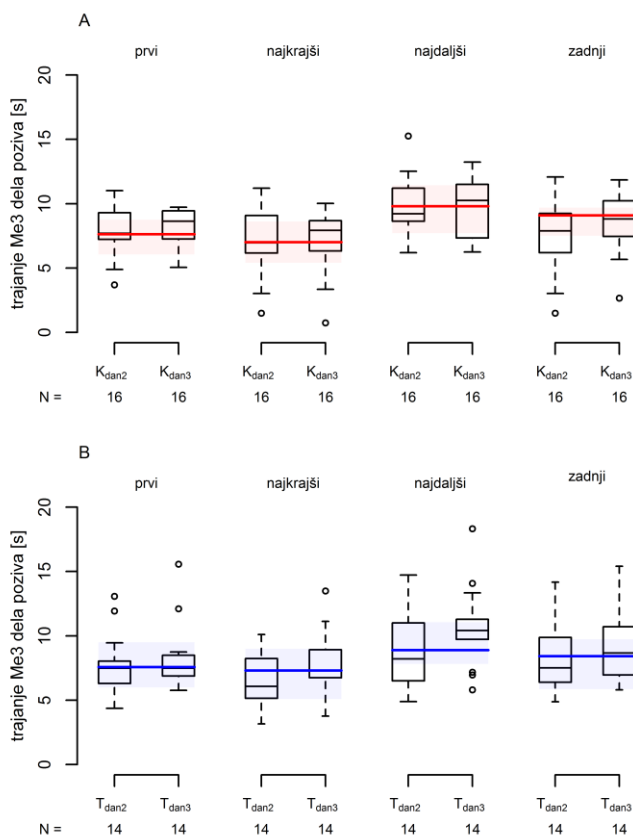
Slika 60: Primerjava (A) števila pozivajočih in (B) iščočih samcev vrste *Aphrodes makarovi* v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. (A) delež samcev, ki so oddajali pozivne napeve, (B) delež samcev, ki so iskali vir predvajanega odzivnega napeva samice. Črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. Delež, izkazan v 1. dnevu poskusa (rdeča in modra črta), je prikazan s 95% intervalom zaupanja za deleže (rdeča in modra površina). N = število samcev, vključenih v analize. K: N 1. dan = 22; T: N 1. dan = 26.

Figure 60: Comparison of (A) number of males emitting advertisement calls and (B) number of searching males of *Aphrodes makarovi* in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. (A) proportion of males emitting advertisement calls, (B) proportion of males searching for the source of female reply. Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. Proportion obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). K: N 1st day = 22; T: N 1st day = 26.



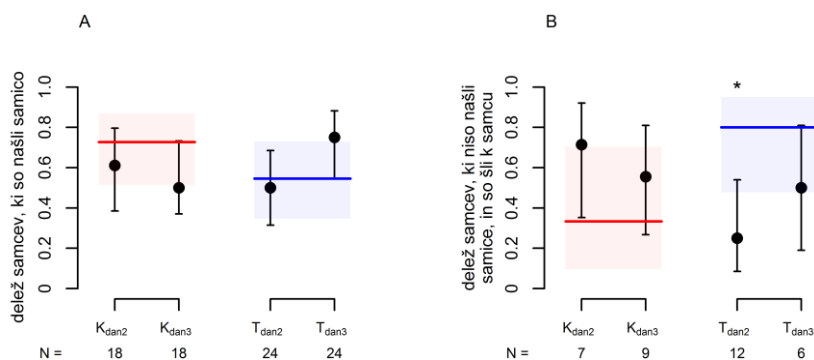
Slika 61: Primerjava (A) dolžine poziva in (B) stopnje pozivanja samcev vrste *Aphrodes makarovi* v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Vrednosti v 1. dnevu poskusa so prikazane kot mediana (rdeča in modra črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (rdeča in modra površina). N = število samcev, vključenih v analize. (A) K: N 1. dan = 22; T: N 1. dan = 19. (B) K: N 1. dan = 26; T: N 1. dan = 22.

Figure 61: Comparison of (A) advertisement call duration and (B) calling rate of *Aphrodes makarovi* males in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Values obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown as median together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). N = number of males included in the analyses. (A) K: N 1st day = 22; T: N 1st day = 19. (B) K: N 1st day = 26; T: N 1st day = 22.



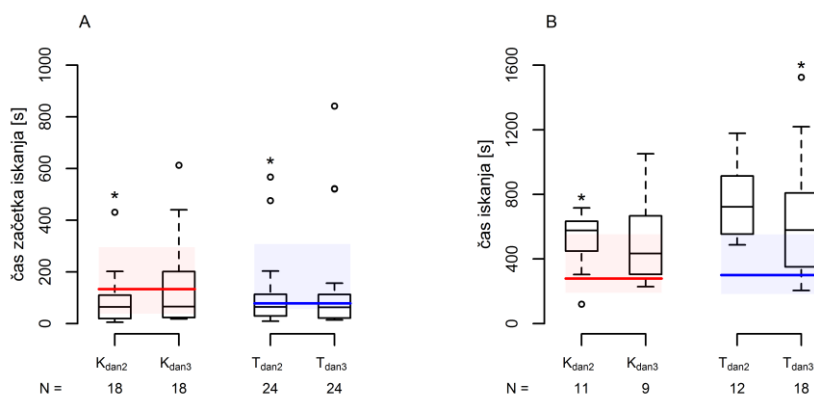
Slika 62: Primerjava v dolžini Me3 elementa v pozivnem napevu samcev vrste *Aphrodes makarovi* v (A, rdeče) kontrolni skupini in (B, modro) skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino, v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Primerjane so dolžine Me3 elementa prvega oddanega pozivnega napeva v vedenjskem testu (prvi), najkrajše dolžina elementa Me3 v testu, najdaljša dolžina Me3 elementa v testu in dolžine Me3 elementa zadnjega oddanega pozivnega napeva v testu (zadnji). Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Vrednosti v 1. dnevu poskusa so prikazane kot mediana (rdeča in modra črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (rdeča in modra površina). N = število samcev, vključenih v analize. Samci, ki so v vedenjskem testu oddali le en pozivni napev, so izključeni iz analize. K: N 1. dan = 16; T: N 1. dan = 14.

Figure 62: Comparison of duration of Me3 element in advertisement call of *Aphrodes makarovi* males in the (A, red) control group and (B, blue) in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. . Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Values obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown as median together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). N = number of males included in the analyses. Males that emitted only one call during the behavioural trial are excluded from the analyses. K: N 1st day = 16; T: N 1st day = 14.



Slika 63: Primerjava števila samcev vrste *Aphrodes makarovi*, ki so našli vir (A) odzivnega napeva in (B) pozivnega napeva v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. Delež, izkazan v 1. dnevu poskusa (rdeča in modra črta) je prikazan s 95% intervalom zaupanja za deleže (rdeča in modra površina). * $P < 0,05$, Fisherjev test. (A) K: N 1. dan = 22; T: N 1. dan = 22. (B) K: N 1. dan = 6; T: N 1. dan = 10.

Figure 63: Comparison of number of *Aphrodes makarovi* males locating (A) the source of female reply and (B) the source of advertisement call in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. Proportion obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). * $P < 0.05$, Fisher's exact test. (A) K: N 1st day = 22; T: N 1st day = 22. (B) K: N 1st day = 6; T: N 1st day = 10.

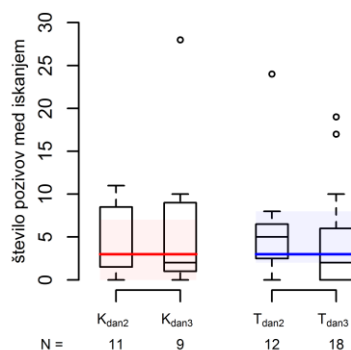


Slika 64: Primerjava (A) latence iskanja in (B) časa iskanja samcev vrste *A. makarovi* v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro) v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilnega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Vrednosti v 1. dnevu poskusa so prikazane kot mediana (rdeča in modra črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (rdeča in modra površina). * $P < 0,05$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo. N = število samcev, vključenih v analize. (A) K: N 1. dan = 22; T: N 1. dan = 22. (B) K: N 1. dan = 16; T: N 1. dan = 12.

Figure 64: Comparison of (A) search latency and (B) searching time of *A. makarovi* males in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Values obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown as median together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). * $P < 0.05$, Wilcoxon signed rank test with Bonferroni korekcijo. N = number of males included in the analyses. (A) K: N 1st day = 22; T: N 1st day = 22. (B) : N 1st day = 16; T: N 1st day = 12.

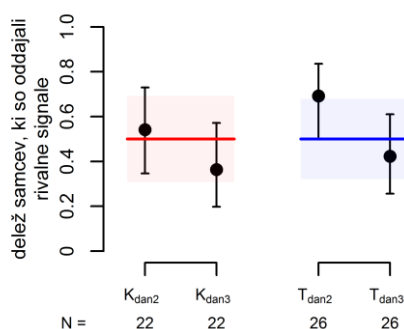
Tudi v skupini stradanih samcev so 2. dan poskusa samci v vedenjskem testu pričeli iskati samico statistično značilno prej kot 1. dan ($P = 0,029$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo) (slika 64). V 2. dnevu poskusa je signifikantno manj samcev, ki niso našli vira odzivnih napevov, ampak so lokalizirali vir pozivnega napeva samca, kot v 1. dnevu ($P = 0,030$, Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferronijevo korekcijo) (slika 63). V primerjavi s 1. dnevom poskusa je bil iskalni čas v 3. dnevu poskusa statistično značilno daljši (slika 64). Skoraj statistično značilno manj samcev kot v 2. dnevu je 3. dan poskusa oddajalo rivalne signale ($P = 0,093$, enostranski Fisherjev test) (slika 66).

Tretji dan poskusa med skupinama ni bilo statistično značilnih razlik (preglednica 20).



Slika 65: Primerjava števila pozivnih napevov, ki so jih samci vrste *A. makarovi* oddali med iskanjem samice v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Okvir z ročaji prikazuje mediano (črna črta), 25-75% interkvartilni razpon (škatla), najnižjo in najvišjo vrednost znotraj 1,5 interkvartilega razpona (ročaji) in osamelce (krogi). Vrednosti v 1. dnevu poskusa so prikazane kot mediana (rdeča in modra črta) s 95% intervalom zaupanja za mediano (rdeča in modra površina). N = število samcev, vključenih v analize. K: N 1. dan = 16; T: N 1. dan = 12.

Figure 65: Comparison of the number of advertisement calls emitted by *A. makarovi* males during searching in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. Box and whisker plots show the median (black line), the 25-75% interquartile range (boxes), the lowest and the highest data points still within 1.5 of interquartile range (whiskers) and outliers (circles). Values obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown as median together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). N = number of males included in the analyses. K: N 1st day = 16; T: N 1st day = 12.



Slika 66: Primerjava števila samcev vrste *Aphrodes makarovi*, ki so oddajali rivalne signale v kontrolni skupini (K, rdeče) in skupni, ki smo ji drugi dan poskusa za 6,5 ur odvzeli rastlino (T, modro), v posameznih dneh tridnevnega poskusa. Črni krogi prikazujejo izračunane deleže s 95% intervalom zaupanja za deleže. Delež, izkazan v 1. dnevu poskusa (rdeča in modra črta) je prikazan s 95% intervalom zaupanja za deleže (rdeča in modra površina). K: N 1. dan = 26; T: N 1. dan = 22.

Figure 66: Comparison of the number of *Aphrodes makarovi* males emitting rivalry signals in the control group (K, red) and in the group in which we on the second day of experiment removed the plant for 6.5 h (T, blue) between days of a 3-day experiment. Determined proportion (black circle) together with 95% confidence interval for proportions is shown. Proportion obtained in the 1st day of the experiment (red or blue line) is shown together with 95% confidence interval for proportions (red or blue area). K: N 1st day = 26; T: N 1st day = 22.

Preglednica 19: Primerjava parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste *Aphrodes makarovi* v 2. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali. Kontrolna skupina, N = 22; stradana skupina, N = 26. ¹: parameter smo primerjali z Wilcoxonovim testom vsote rangov; ²: parameter smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom.

Table 19: Comparison of signalling and searching behaviour on day 2 of the experiment between *Aphrodes makarovi* males in the control group and in the group in which males were starved in the 2nd day. Control group, N = 22, starved group, N = 26. ¹: statistical differences were determined by Wilcoxon rank sum test; ²: statistical differences were determined by one-tailed Fisher's exact test.

Parameter	P
Število pozivajočih samcev	0,746 ²
Latenca oglašanja	0,541 ¹
Dolžina poziva	0,446 ¹
Stopnja pozivanja	0,230 ¹
Dolžina Me3 elementa v prvem pozivu	0,331 ¹
Dolžina Me3 elementa v zadnjem pozivu	0,983 ¹
Dolžina najkrajšega Me3 elementa	0,475 ¹
Dolžina najdaljšega Me3 elementa	0,199 ¹
Število išočih samcev	0,392 ²
Latenca iskanja	0,373 ¹
Število samcev, ki so našli vir odzivnega napeva	0,542 ²
Čas iskanja	0,029 ¹
Število pozivov med iskanjem	0,951 ¹
Število samcev, ki so locirali vir pozivnega napeva	0,074 ²
Število samcev, ki so oddajali rivalne signale	0,375 ²

Preglednica 20: Primerjava parametrov oglašanja in iskalnega vedenja samcev vrste *Aphrodes makarovi* v 3. dnevu poskusa med kontrolno skupino in skupino, ki smo jo 2. dan poskusa stradali. Kontrolna skupina, N = 22; stradana skupina, N = 26. ¹: parameter smo primerjali z Wilcoxonovim testom vsote rangov; ²: parameter smo primerjali z enostranskim Fisherjevim testom.

Table 20: Comparison of signalling and searching behaviour on day 3 of the experiment between *Aphrodes makarovi* males in the control group and in the group in which males were starved in the 2nd day. Control group, N = 22, starved group, N = 26. ¹: statistical differences were determined by Wilcoxon rank sum test; ²: statistical differences were determined by one-tailed Fisher's exact test.

Parameter	P
Število pozivajočih samcev	0,221 ²
Latenca oglašanja	0,620 ¹
Dolžina poziva	0,856 ¹
Stopnja pozivanja	0,230 ¹
Dolžina Me3 elementa v prvem pozivu	0,294 ¹
Dolžina Me3 elementa v zadnjem pozivu	0,751 ¹
Dolžina najkrajšega Me3 elementa	0,695 ¹
Dolžina najdaljšega Me3 elementa	0,964 ¹
Število iščočih samcev	0,392 ²
Latenca iskanja	0,567 ¹
Število samcev, ki so našli vir odzivnega napeva	0,147 ²
Čas iskanja	0,357 ¹
Število pozivov med iskanjem	0,617 ¹
Število samcev, ki so locirali vir pozivnega napeva	1 ²
Število samcev, ki so oddajali rivalne signale	0,771 ²

Pregled rezultatov kaže, da so v vlogi vsiljivca samci, ki smo jih pred vedenjskim testom stradali, vložili enak napor v oddajanje vibracijskih signalov kot normalno hranjeni samci. Predvidevamo, da so visoko porabo energije pri oddajanju pozivnih napevov in rivalnih signalov nadomestili s hranjenjem med vedenjskim testom, kar se je izrazilo v daljšem času potrebnem za lokalizacijo samice.

4 RAZPRAVA

4.1 VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V ENOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU

Paritveno vedenje stenice vrste *N. viridula* so opisali v številnih študijah (npr. Borges in sod., 1987; Čokl in sod., 1999; Miklas in sod., 2003a, b; de Groot in sod., 2011a; Zgonik in Čokl, 2014). Rezultati opazovanj živih triov v pričujočem doktorskem delu se od rezultatov predhodnih objav prvenstveno ločijo v tem, da so na rastlini ob prisotnosti dveh samcev samice poiskale partnerja. Čeprav je splošno sprejeto, da vrstno specifičen spolni feromon, ki ga oddajajo samci, na rastlino, na kateri se nahaja spolno aktivni samec, privablja druge osebkke (Harris in Todd, 1980; Borges in sod., 1987; Aldrich, 1988), naj bi bila lokalizacija partnerja na rastlini izključno v domeni samca (Čokl in sod., 1999; Miklas in sod., 2003a). Medtem ko so vse dosedanje študije pokazale, da samci zanesljivo in hitro najdejo vir samičinega pozivnega napeva (FCS) (Ota in Čokl, 1991; Čokl in sod., 1999; Miklas in sod., 2003a; de Groot in sod., 2011a), samice niso iskale vira vibracijskih signalov, ko so jim predvajali samčev napev dvorjenja (MCrs) (Čokl in sod., 1999; Miklas in sod., 2003a). Čeprav so v laboratorijskih poskusih pokazali, da se samice premikajo (hodijo in letijo) v smer, v kateri se nahaja vir samčevega spolnega feromona (Brézot in sod., 1994), naj bi bila lokalizacija vira hlapnega feromona na rastlini težavna, saj v primerjavi z vetrnim tunelom, v katerem so opravljali vedenjske poskuse, na rastlini ni kontinuiranega koncentracijskega gradienta feromona. FCS stimulira oddajanje samčevega feromona in vloga povišanega oddajanja naj bi bila omejena na dvig dovzetnosti samic (Miklas in sod., 2003b). Naši rezultati nakazujejo, da samčev feromon lahko pri samici sproži tudi iskanje.

Iz rezultatov ne moremo sklepati, ali je samičino iskanje sprožila zgolj prisotnost samčevega feromona (ali povišanje oddajanja feromona), ali pa je hkrati tudi posledica prisotnosti dveh samcev. Predpostavljali so, da naj bi povišano oddajanja feromona v prisotnosti FCS samici omogočilo izbiro samca na osnovi količine proizvedenega feromona (Miklas in sod., 2003b). Naši rezultati poskusov, v katerih smo dvema samcema predvajali FCS, so pokazali, da so vir vibracijskih signalov v večini primerov prej našli samci, ki so se ob pričetku vedenjskega testa nahajali bližje viru. Ker so v prisotnosti dveh samcev partnerja poiskale samice, iz naših rezultatov ne moremo sklepati ali se samice tudi pariyo s samcem, ki jo prvi najde. Naša opazovanja kažejo, da se samice v nekaterih primerih niso parile s prvim samcem, ki so ga našle. V naravi naj bi se večji samci vrste *N. viridula* parili pogosteje kot manjši (McLain, 1980). Tudi v naših poskusnih pogojih so se samice pogosteje parile s težjim samcem, vendar ne v živih triih, ne v poskusih s predvajanjem FCS težji samci niso bili v značilni prednosti. Med vedenjskim testom so samci izgubili težo, kar kaže da je iskanje partnerja in tekmovanje energetsko zahtevno. Energetska poraba pri samcih vrste *N. viridula* vključuje tudi sintezo feromona, delež energetske porabe, ki odpade na produkcijo vibracijskih signalov, ni znan. Možno je, da v prisotnosti dveh samcev samica prevzame aktivnejšo vlogo pri izbiri partnerja, ki naj bi zagotavljal večjo plodnost in boljše preživetje potomcev (Jennions in Petrie, 1997). To bi bilo še posebej pomembno v primeru, če zmagovalec neposredne tekme med samcema, ni nujno tisti, ki samici in potomcem zagotavlja višji reproduktivni uspeh (Brooks, 2000). Nadaljnje raziskave, ki bodo vključevale poskuse s predvajanjem vibracijskih signalov

samicam v prisotnosti in odsotnosti samčevega feromona, naj bi pokazale, kakšen je kombiniran vpliv vibracijskih in kemičnih signalov na vedenje samice vrste *N. viridula*, ter kakšna je interakcija med signali različnih modalitet.

Vloga vibracijskih rivalnih signalov pri stenici vrste *N. viridula* je lahko prekinjanje sporazumevanja med samcem in samico (Čokl, 2008) ali pa spopad med samci, kot so izmenjavo rivalnih vibracijskih signalov opisali pri koblicah (de Souza in sod., 2011) in grbastih škržatkih (Sullivan-Beckers in Coccoft, 2010). Na osnovi opazovanj živih triov ni možno potrditi ali zavreči predpostavke, da rivalni signali prekinejo sporazumevanje med samcem in samico. Čeprav sta samca v določenih obdobjih izmenjevala zgolj rivalne signale in se nista sporazumevala s samico, je samica medtem nepretrgoma oddajala FCS. Rivalni signali niso imeli nobenega vpliva na oddajanje samčevega feromona (Miklas in sod., 2003b), vendar ni podatka o potencialnem zaviralnem vplivu MRS na povišanje oddajanja feromona v prisotnosti FCS.

Samci naj bi v splošnem pogosteje kot samice izkazovali plastičnost v vedenju, ker naj bi izkazovali tudi večjo variabilnost v reproduktivnem uspehu (Bretman in sod., 2011). Plastičnost naj bi bila še posebej pomembna, ko se socialno okolje (npr. prisotnost tekmecev in spolnih partnerjev) hitro in nepredvidljivo spreminja. Samci vrste *N. viridula* so oglašanje in vedenje prilagajali ne-le zgolj prisotnosti tekmeča, temveč tudi fazi, v kateri se je nahajala vibracijska komunikacija med samico in rivalom. V enosmernem sistemu sporazumevanja, kot je prisoten pri stenici vrste *N. viridula*, imajo vsi prisotni samci načeloma enake možnosti, da najdejo samico, saj samica nepretrgoma oddaja FCS, ki samcem omogoča lokalizacijo samice na rastlini. Ker se vibracijski signali, ki jih samci in samice oddajajo v različnih fazah paritvene sekvence, razlikujejo, lahko samci na osnovi tipa zaznanih konsecificnih signalov in koordinacije samčevih in samičinih signalov razberejo, ali je rivalni samec že v neposredni bližini samice. Ker samčev feromon privablja tudi druge samce (Harris in Todt, 1980), ni presenetljivo, da je ob predvajanju FCS zgolj prisotnost feromona drugih samcev zadostovala za proženje rivalnega vedenja. Pri nekaterih samcih so tudi naključni vibracijski signali ob hoji samca sprožili oddajanje MRS. Ker rastlin fižola med vsakim posameznim vedenjskim testom nismo menjavali, ne moremo izključiti vpliva feromona, ki so ga izločali testirani samci, čeprav je bil delež samcev, ki so oddajali MRS ob hoji samca značilno nižji kot v situaciji, ko smo na rastlino dodajali filter papir prepojen s feromonom. Simuliranje različnih faz vibracijske komunikacije tekmeča s samico je pokazalo, da samci vrste *N. viridula* razločujejo med zgodnjimi in poznimi fazami paritvene sekvence. Samec in samica izmenjujeta napeve dvorjenja, ko sta v neposredni bližini (Zgonik in Čokl, 2014), in v situaciji, ko smo samcem predvajali zaključni duet, se je, v nasprotju z drugimi simuliranimi situacijami, večina samcev tiho približala samici. Predvidevali smo, da v enosmernem sistemu sporazumevanja, v katerem se samica neprestano oglašča, tiho približevanje ne prinaša očitne prednosti vsiljivcu, saj je napev samice, ki omogoča njeno hitro in zanesljivo lokalizacijo nepretrgoma prisoten in ga zaznajo vsi samci na rastlini. Poleg tega se pri stenici vrste *N. viridula* samci premikajo tudi med oddajanjem vibracijskih signalov (Miklas in sod., 2003a; de Groot in sod., 2011a). Prednost tihega približevanja paru, ki se že nahaja v neposredni bližini, je mogoče varčevanje z energijo, ki jo samci potrošijo za proizvodnjo vibracijskih signalov. Vloga samčevih vibracijskih signalov pri stenici *N. viridula* ni jasna (Čokl, 2008) in predvidevajo, da je vloga MCrS predvsem posredovanje

informacije samici, da se nahaja na isti rastlini kot samec in vzdrževanje enakomernega oddajanja FCS, ki samcu služi za lokalizacijo samice. Ko sta partnerja že v neposredni bližini, kjer imajo vlogo tudi vidni in taktilni signali (Zgonik in Čokl, 2014), vsiljivcu ni več potrebno vzdrževati oglašanja samice. Poleg tega samica napev dvorjenja (FCrS), ki ga oddaja v tej situaciji, ne proizvaja v pravilnem, neprekinjenem ritmu. Možno je, da je prednost tihega približevanja paru v tem, da tekmecc, ki je v prednosti, ne zazna prisotnosti vsiljivca, saj tekmecc lahko v tem primeru vsiljivca prehitijo s kopulacijo.

Ne glede na to, da so v živih triih samice našle samce, so v poskusih, v katerih smo samcem predvajali vibracijske signale, le-ti hitro in zanesljivo lokalizirali vir samičinih napevov. Za majhne žuželke, ki živijo na rastlinah je lokalizacija vira vibracijskih signalov zahtevna naloga (Virant-Doberlet in sod., 2006; Legendre in sod., 2012; Polajnar in sod., 2014). Med iskanjem po rastlini fižola se samci ustavijo na razvejišču listov in čakajo na naslednji signal v FCS, medtem ko noge položijo na različna stebela in peclje (Ota in Čokl, 1990; Čokl in sod., 1999). Čas, ki ga samci porabijo za iskanje, je torej odvisen tudi od ponavljalnega časa posameznih signalov v napevu (Mikals in sod., 2003a). Čeprav je bil v vedenjskih testih ponavljalni čas FCrS približno 4,5 krat daljši kot ponavljalni čas signalov v FCS, so samci potrebovali približno enako časa, da so našli vir FCS in FCrS. V nasprotju z naravno situacijo, kjer se vira FCrS in MCrS nahajata v neposredni bližini, smo v naših vedenjskih testih ta dva vibracijska signala predvajali iz dveh različnih smeri. Čeprav sta si FCrS in MCrS podobna tako v časovnih, kot v frekvenčnih parametrih, se je večina samcev orientirala proti viru FCrS. Na osnovi naših poskusov ne moremo zaključiti, ali je to posledica prepoznavanja ali tega, da se je FCrS vedno pojavil kot prvi v paru.

Zaključimo lahko, da v enosmernem sistemu, v katerem stacionarna samica z neprestanim oddajanjem vibracijskih signalov privablja samca, v prisotnosti dveh samcev samica prevzame aktivnejšo vlogo pri izbiri partnerja in sama poišče primerne samca. Samci vrste *N. viridula* zgolj na osnovi zaznanih vibracijskih signalov lahko pridobijo informacijo o tem, v kateri fazi parjenja se nahajata tekmecc in samica, in tej informaciji prilagodijo svoje vedenje. Rivalno vedenje se izrazi v oddajanju rivalnih signalov in v tistem približevanju samici, kar samci uporabijo v primeru, ko sta rival in samica že v neposredni bližini.

4.2 VLOGA SPOLNIH TEKMECEV V DVOSMERNEM VIBRACIJSKEM KOMUNIKACIJSKEM SISTEMU

4.2.1 Dinamika interakcij oddajnik-sprejemnik v duetu in njen vpliv na rivalno vedenje

Sporazumevanje med samcem in samico je rezultat močnih selekcijskih pritiskov, ki izvirajo iz ekološke in spolne selekcije (Maan in Seehausen, 2011; Mendelson in Shaw, 2012; Rodríguez in sod., 2013) in pri tem oglašanje v duetu ni izjema (Bailey, 2003; Hall, 2009; Rodríguez in Barbosa, 2014). Izmenjava signalov samice in samca v duetu je kompleksna in dinamična interakcija, pri kateri oba partnerja prilagajata svoje signale in vedenje v skladu s partnerjevim odzivom (Hall, 2009; Rodríguez in Barbosa, 2014; Todt in Naguib, 2000). V skladu z našimi hipotezami sta imeli dolžina in časovna usklajenost samičinega odziva pomemben vpliv tako na oglašanje in iskalno vedenje, kot na verjetnost,

da bo samec našel samico. Pregled naših rezultatov kaže pomembnost odzivov samic v strukturi dueta ter v dinamiki interakcij med oddajnikom in sprejemnikom, ki v končni fazi vplivajo tudi na samčev reproduktivni uspeh.

4.2.1.1 Vpliv pozivnega napeva samca na odzivni napev samice

V komunikacijskih sistemih, kakršen je pri škržatku vrste *A. makarovi*, morajo v duetu samci vzbuditi vsak odziv samice z oddajanjem lastnih vibracijskih signalov. Spolno selekcijo na fenotipske lastnosti samcev pogosto vodi preferenca samic za bolj kompleksne signale (Ryan in Keddy-Hector, 1992). Raziskave so pokazale, da je preferenca samic najmočnejši vir, ki vpliva na izoblikovanje samčevih pozivnih vibracijskih signalov (Rodríguez in sod., 2006; Sullivan-Beckers in Coccoft, 2010). Samice lahko izrazijo svojo preferenco ne-le s tem, da se oglašajo le v duetu z določenimi samci (Rodríguez in sod, 2004, 2006; Bailey, 2003), temveč tudi z daljšimi odgovori, ki naj bi samcem omogočali lažjo in hitrejšo lokalizacijo samice (Rodríguez in sod, 2012). Naši rezultati kažejo, da samicam vrste *A. makarovi* za proženje odzivnega napeva služi ali pričetek elementa Me2 ali pričetek elementa Me3 v pozivnem napevu samca. V splošnem se je latenca odziva podaljševala s povečevanjem kompleksnosti vibracijskega signala samca, kar je v skladu s predpostavko, da je rezultat vrednotenja dolgih in kompleksnih samčevih signalov dolga latenca samičinih odgovorov (Bailey in Hammond, 2003). Samice so najslabše odgovarjale na izoliran Me2 element, ki je najkrajši element v pozivnem napevu samca, ki relativno zanesljivo sproži odziv samice (Derlink in sod., 2014). Vendar je bil vpliv zmanjšane kompleksnosti pozivnega napeva na odzivnost samic relativno majhen, medtem ko dolžina odgovora v osnovi ni bila prizadeta. Preferenca se med posameznimi samicami razlikuje (Jennions in Petrie, 1997; Fowler-Finn in Rodríguez, 2013). Naši rezultati pa kažejo, da je bolj verjetno, da se morajo samci vrste *A. makarovi* prilagajati velikim razlikam v latenci in dolžini odgovora, ki so posledice notranjih, individualnih razlik pri oddajanju odzivnih napevov med samicami, in ne razlikam v preferenci samic za kompleksnost ali dolžino samčevega pozivnega napeva.

Naši rezultati nakazujejo, da se samice vrste *A. makarovi* vedno odzovejo z odgovorom relativno konstantne dolžine, kadar zaznani vibracijski signal zadovolji nekatere odločilne vrstno-specifične parametre (ponavljalni čas pulzov, dolžina poziva). Tak brezpogojen odziv pa je lahko posledica zasnove poskusov, v katerih so se v stimulacijskih sekvencah elementi in pozivni napevi vrste *A. makarovi* naključno in neprestano izmenjevali z elementi in napevi drugih vrst iz rodu *Aphrodes*. Če na preference samic vpliva tudi socialno okolje, v katerem samica ocenjuje določenega samca (Bateson in Healy, 2005), je vsak vibracijski signal, ki zadovolji te odločilne parametre, privlačnejši od signalov drugih vrst (Mendelson in Shaw, 2012) in lahko pri vsaki samici sproži najdaljši možni odgovor. Tako razlago podpira tudi rezultat, da na dolžino odziva vplivajo tudi pozivni napevi, ki jih ima samica na voljo za primerjavo. Druga možna razlaga za majhen vpliv dolžine pozivnega napeva samca na dolžino odgovora samice je ta, da je preferenca samic prvenstveno odvisna od drugih parametrov in ne od dolžine, na primer od frekvenčne strukture pozivnega napeva, kot so na primer opisali pri grbastem škržatku *Enchenopa binotata* (Rodríguez in sod, 2006). Pri žuželkah ni na voljo praktično nobenih podatkov o procesiranju dolgih signalov, ki trajajo več kot nekaj sekund (Hartbauer in Römer, 2014) in predpostavljajo, da so samice zaradi težav pri kodiranju zvočnih signalov v centralnem

živčnem mogoče manj selektivne pri razlikovanju dolgih zvočnih signalov (Reinhold, 2011). Čeprav se dominantna frekvenca pozivnih napevov samcev vrste *A. makarovi* nahaja pod 200 Hz (de Groot in sod., 2012; Bluemel in sod., 2014; Derlink in sod., 2014), ima sam napev široko-frekvenčne karakteristike in privlačnost je lahko odvisna od prisotnosti (ali odsotnosti) višje frekvenčnih komponent, kot so na primer pokazali pri škrlatku vrste *Hyalesthes obsoletus* (Mazzoni in sod., poslano v tisk). Frekvenčni parametri naključno izbranih pozivnih napevov, ki smo jih predvajali v poskusih lahko ustrezajo zelo privlačnim signalom. Da bi določili jakost preference samic za posamezne časovne in frekvenčne parametre in njen pomen v evoluciji pozivnega napeva pri vrsti *A. makarovi*, so potrebne dodatne, bolj detajlne raziskave.

Interakcija med vzbujevalnim pozivnim napevom samca in odzivnim napevom samice je lahko tudi bolj kompleksna in natančna, kot je možno določiti s standardiziranimi, relativno kratkimi testi preferenc samic. Predhodne raziskave so nakazale, da je v naravni sekvenci duetov med živim samcem in samico, dolžina odzivnega napeva pozitivno povezana z dolžino vzbujevalnega pozivnega napeva (de Groot in sod., 2012), vendar so bile razlike v dolžini odgovora v rangu varibilnosti znotraj osebka, ki smo jo v pričujočih poskusih zabeležili v odgovorih na draženje s celotnim pozivnim napevom. Poleg tega lahko v naravni sekvenci duetov tekom parjenja, ki traja več minut, samice ocenjujejo tudi druge parametre, ki lahko posredujejo dodatne informacije o samčevi aktivnosti in njegovi motivaciji, npr. dolžino intervala med koncem odzivnega napeva in pričetkom naslednjega pozivnega napeva in razlike v amplitudi prejetega pozivnega napeva, ki so posledica oglašanja samca z različnih pozicij na rastlini med iskanjem. Po zaključku pozivnega napeva bi samice na osnovi naključnih vibracijskih signalov, ki nastanejo pri gibanju, lahko potencialno tudi ocenile aktivnost hoje samca (Larsson, 2012).

4.2.1.2 Vpliv pozivnega napeva samice na odzivni napev samca

Kot pri mnogih sistemih sporazumevanja, ki temeljijo na vibracijskih signalih, in pri katerih so iskanje partnerice do sedaj detajlno raziskovali (De Luca in Coccoft, 2011; de Winter in Rollenhagen, 1990; Hunt in Nault, 1991; Legendre in sod., 2013; Polajnar in sod., 2014), je pri škrlatku vrste *A. makarovi* odziv samice nujno potreben za proženje iskalnega vedenja ter za uspešno in hitro lokalizacijo samice, vendar mora samec z oddajem pozivnega napeva vzbuditi vsak odziv samice. Naši rezultati so pri samcih vrste *A. makarovi* pokazali presenetljivo visoko prilagodljivost pri oddajanju pozivnih napevov. Čeprav se odzivni napevi samic v latenci in dolžini odziva zelo razlikujejo (ali zaradi visoke notranje variabilnosti ali razlik v preferenci), pa odgovor samice, ki se prične izven samčevega senzoričnega časovnega okna zmanjša verjetnost, da jo bo samec našel (in s tem zmanjša tudi verjetnost parjenja), medtem ko daljši neprekriti del odgovora samcu posreduje boljšo informacijo o smeri lokaciji samice. Samci se pri iskanju samice torej soočajo s številnimi težavami, še posebej, ker se med oddajanjem pozivnih napevov ne premikajo. Naši rezultati tudi kažejo, da samci ne zaznavajo odzivnega napeva samice medtem, ko oddajajo vzbujevalni pozivni napev. Posledično samci lahko zaznajo in ocenijo le neprekriti del odzivnega napeva, katerega dolžina pa ni odvisna le od latence in dolžine odzivnega napeva, temveč tudi od dolžine vzbujevalnega pozivnega napeva. Rezultati nakazujejo, da pozivni napev pri vrsti *A. makarovi* ne vsebuje prožilnega elementa, ki bi zagotavljal predvidljivo in zanesljivo časovno koordinacijo med pozivnim

in odzivnim napevom in s tem omogočal optimizacijo dolžine pozivnega napeva. Ena od možnih strategij, ki samcem omogoča, da povečajo možnost, da se odgovor samic pojavi v samčevem senzoričnem oknu takoj po koncu pozivnega napeva in optimizacijo iskanja samice, je ta, da samec na začetku oddaja daljše pozivne napeve (in s tem poveča verjetnost, da se tudi odziv z daljšo latenco nadaljuje po koncu odziva) ter potem, ko zazna samičin odgovor, prilagodi dolžino vzbujevalnega pozivnega napeva tako, da mu dolžina neprekritega dela odzivnega napeva zadostuje za učinkovito lokalizacijo samice. Uporaba take strategije pa zahteva, da samci ohranijo informacijo vsaj o dolžini zadnjega oddanega pozivnega napeva in o dolžini neprekritega dela odzivnega napeva, ki so ga prejeli v odgovor. Na osnovi te informacije prilagodijo dolžino naslednjega oddanega poziva. Rezultati naših raziskav podpirajo možnost, da samci vrste *A. makarovi* uporabljajo omenjeno strategijo, saj so le ob predvajanju krajših odzivnih napevov dosledno skrajševali dolžino zadnjega dela pozivnega napeva. Taka plastičnost v vedenju je lahko zgolj rezultat zapletenega procesiranja informacije v centralnem živčnem sistemu ali pa posledica učenja. Vloga učenja in spomina žuželk povezana z različnimi vedenjskimi situacijami je že dobro poznana (npr. Dukas, 2008; Mery 2013). V pogojih, ko ima visoka in nepredvidljiva variabilnost v dolžini neprekritega dela samičinega odzivnega napeva hkrati tudi odločilen vpliv na samčev reproduktivni uspeh, lahko sposobnost učenja zagotavlja pomembno prednost (Dukas, 2006). Da bi potrdili vlogo učenja pri iskanju partnerice pri škrlatku vrste *A. makarovi*, so potrebe dodatne raziskave. Ne glede na to pa oddajanje rivalnih signalov v nekaterih tretmajih kaže, da so samci ohranili informacijo o prisotnosti potencialnega rivala, ki so jo pridobili ob predvajanju posnetega dueta, s katerim smo ob pričetku vsakega testa vzbudili oddajanje pozivnih napevov.

Za majhne žuželke, ki živijo na rastlinah, je lokalizacija vira vibracijskih signalov zahtevna naloga (Virant-Doberlet in sod., 2006; Legendre in sod., 2012; Polajnar in sod., 2014). V tistih komunikacijskih sistemih, ki temeljijo na duetu, in pri katerih je odziv samice, ki ga mora vedno z oddajanjem pozivnega napeva vzbuditi samec, nujno potreben za njeno uspešno in hitro lokalizacijo, ima stopnja oglašanja samca pozitivni učinek na verjetnost, da samec najde samico (in s tem posledično tudi na verjetnost parjenja) (Legendre in sod., 2012; Rodríguez in Barbosa, 2014; Rodríguez in sod., 2004). Samci škrlatka vrste *A. makrovi* ob oddajanju pozivnih napevov plačujejo tako direktno ceno zaradi izpostavljenosti prisluškujočim plenilcem (Virant in sod., 2011), kot tudi indirektno ceno, povezano z negativnimi posledicami visoke porabe energije ob oddajanju vibracijskih signalov. Samci, ki vložijo večji napor v oddajanje pozivnih napevov, prej umrejo (glej poglavje 3.3.2). V skladu z našo hipotezo rezultati kažejo, da ob daljšem neprekritem delu odzivnega napeva samice, samci vložijo manj napora v oddajanje pozivnih napevov, kar se kaže tako v nižji stopnji oglašanja kot tudi v krajšem skupnem času oglašanja. Čeprav so ob kratkem odzivnem napevu samci dlje časa iskali samico, pa v nasprotju z našimi pričakovanji samci niso hitreje našli vira odzivnih napevov, ki so bili daljši od povprečnega. Poleg tega je bilo proti pričakovanju število samcev, ki so našli vir najdaljšega predvajanega odzivnega napeva signifikantno znižano. Medtem ko naši rezultati kažejo, da s podaljšanjem kratkega odzivnega napeva do dolžine povprečnega poziva samice lahko, brez povišanja osebne cene, pomembno znižajo ceno oddajanja pozivnih napevov, ki jo plačuje samec, pa se nasprotno ob oddajanju odzivnih napevov, ki so daljši od povprečnih, morajo samice oglašati dlje ob tem, da jih hkrati najde manjše število samcev. Ti rezultati nakazujejo, da sta dolžini pozivnega in odzivnega napeva

verjetno tesno povezani. Nevronalni mehanizmi določanja smeri izvora vibracij so slabo raziskani (Virant-Doberlet in sod., 2006) in lahko le ugibamo, da je tudi v kontekstu lokalizacije vira kodiranje in procesiranje dolgih zvočnih signalov težavno (Reinhold, 2011; Hartbauer in Römer, 2014). Slab uspeh pri lokalizaciji vira dolgih odzivnih napevov v času, določenem za izvedbo poskusa, je lahko tudi posledica izražanja rivalnega vedenja v teh dveh tretmajih, vendar pa trenutni rezultati ne zadoščajo za določanje povezav med oddajanjem rivalnih signalov, iskalnim časom in uspehom pri lokalizaciji vira vibracijskih signalov.

Nepričakovano so naši rezultati omogočili tudi vpogled v vedenje, ki je osnova kompleksnim rivalnim interakcijam. Rivalne interakcije so opisali v številnih sistemih sporazumevanja, ki temeljijo na vibracijskih signalih (Virant-Doberlet in sod., 2014). Tekmovalnost med samci je visoka pri grbastih škržatkih (Miranda, 2006; Legendre in sod., 2012) ter ameriških škržatkih. Pri slednjih se tekmovalnost izraža v dveh alternativnih vedenjskih taktikah, prekinjanju dueta z oddajanjem motilnih vibracijskih signalov ter tistem približevanju samici, ki se oglašča v duetu z drugim samcem (satelitsko vedenje) (Mazzoni in sod., 2009a, b). Tako v naravnih kot v playback triih so samci vrste *A. makarovi* oddajali rivalne signale, ki so prekrivali odzivni napev samice ali v redkih primerih pozivni napev drugega samca. Pri grbastem škržatku vrste *Tylopetta gibbera* so z rivalnimi signali, ki prekrivajo pozivni napev rivala, znižali število odgovorov samice na te pozive in s tem posledično podaljšali čas, ki ga rival potrebuje, da najde samico (Legendre in sod., 2012). Rivalni signali pri vrsti *A. makarovi* imajo mogoče podobno funkcijo, saj je oddajanje teh signalov pogostejše ob daljšem odzivu samice, ki so za rivalnega samcu lahko ugodnejši. Naši rezultati tudi kažejo, da v prisotnosti rivalnih signalov slaba tretjina samic signifikatno skrajša dolžino odzivov. Prednost, ki jo rivalni signali prinesejo samcu, ki jih oddaja, ni jasna. Naši rezultati kažejo, da se samice pariyo s samcem, ki jo prvi najde. Samci z rivalnimi signali prekrivajo tako odzive samic na njihov lastni pozivni napev, kot odzive na pozive napeve tekmeca, vendar oddajanje teh signalov ni podaljšalo časa, ki so ga samci potrebovali, da so našli samico. Pri grbastem škržatku vrste *Ennya chrysur*a so predpostavili, da vibracijski signali, ki prekrijejo napeve dvorjenja tekmeca, zmanjšajo verjetnost, da se bo samica parila s samcem, ki ji dvori, ker ji posredujejo informacijo o prisotnosti drugega samca, ki je potencialno bolj privlačen (Miranda, 2006).

Čeprav bi predvidevali, da je v sistemu sporazumevanja, kjer iskanje samice sproži njen odgovor, ki ga mora samec prejeti v določenem senzoričnem časovnem oknu, pojav satelitskega vedenja manj verjeten, so bili tisti samci, ki so iskali vir najdlje časovno zamaknjene odziva pri lokalizaciji vira zelo uspešni. Tak vedenjski odziv kaže, da vsaj nekateri samci lahko uspešno sledijo tudi odzivnim napevom, ki niso neposredno povezani z njihovim lastnim pozivnim napevom in so oddani v odgovor na poziv rivalnega samca. V prihodnjih raziskavah naj bi preverili, ali imajo ob uporabi satelitske taktike rivalni samci prednost pri lokalizaciji vira dolgih odzivnih napevov. Uspeh pri lokalizaciji vira časovno zamaknjenih odzivnih napevov bi lahko pripisali visoki motivaciji teh samcev, boljši vedenjski plastičnosti v preklopu na alternativne vedenjske taktike ali pa boljši sposobnosti lokalizacije (Kokko in Rankin, 2006).

Če povzamemo, naši rezultati kažejo, da kljub temu, da se na prvi pogled zdi, da je oglašanje v duetu pri žuželkah preprosta oblika sporazumevanja, je tako, kot pri pticah,

kompleksna (Hall, 2009; Kovach in sod., 2014; Templeton in sod., 2013). Duet pri žuželkah, ki se sporazumevajo z vibracijskimi signali, vključuje ne-le zgolj časovno koordinacijo, temveč tudi bolj kompleksne interakcije. Naši rezultati kažejo, da je izmenjava vibracijskih signalov v duetu zelo zapleten proces, v katerem igra odgovor samice pomembno vlogo, ne-le pri oglašanju in iskalnem vedenju samca, temveč tudi pri izražanju rivalnih taktik. Poleg tega je iskalno vedenje samcev vrste *A. makarovi* izjemno plastično in samci prilagajajo oddajanje pozivnih napevov prejetim odzivnim napevom samice. Tako natančno sledenje signalom partnerja večinoma povezujejo z oglašanjem v duetu pri ptičih (npr. Hall, 2009; Kovach in sod., 2014). Seleksijski pritiski, ki vodijo evolucijo sporazumevanja v duetu, so po vsej verjetnosti odvisni od različnih ekoloških in socialnih interakcij (Hall, 2009; Bailey, 2003) ter hkrati povezani tudi s procesi, vpletenimi v spolno selekcijo in nastanek reproduktivne izolacije (Rodríguez in Barbosa, 2014; Derlink in sod., 2014, Wilkins in sod., 2013). Ker je sporazumevanje z vibracijskimi signali najbolj razširjena oblika zvočne komunikacije (Cocroft in sod., 2014), in ker je sporazumevanje v duetu v vibracijskih komunikacijskih sistemih prevladujoče (Rodríguez in Barbosa, 2014; Virant-Doberlet in Čokl, 2004), lahko raziskave raznolikih skupin žuželk kot so škržatki, osvetlijo procese, ki so osrednjega pomena za splošno razumevanje komunikacije.

4.3 CENA ODDAJANJA VIBRACIJSKIH SIGNALOV PRI ŠKRŽATKU VRSTE *A. makarovi*

Rezultati so pokazali, da je oddajanje vibracijskih signalov pri škržatku vrste *A. makarovi* energetsko potratno. Samci, ki v zgodnjem odraslem obdobju vložijo več navora v oddajanje pozivnih napevov, umrejo mlajši. To kaže, da ima produkcija vibracijskih signalov, povezana z iskanjem partnerja, negativni vpliv na samčev fitnes, ki se kaže kot znižanje preživetja (Kotiaho, 2001). Medtem ko sta v večini primerov življenjska doba samca in izraženost spolnih znakov pozitivno korelirani (Jennions in sod., 2001; Judge in sod., 2008), so negativno korelacijo med življenjsko dobo in naporom vloženim v oddajanje zvočnih signalov opisali pri murnu vrste *Teleogryllus commodus* (Hunt in sod., 2004; 2006) in pajku *H. rubrofasciata* (Mappes in sod., 1996; Kotiaho, 2000).

4.3.1 Poraba energije za proizvodnjo vibracijskih signalov

Naš rezultat, da je oddajanje vibracijskih signalov pri škržatku vrste *A. makarovi* približno 12,4 krat energetsko bolj potratno kot mirovanje, odgovarja razmerju $rr_{O_2\text{call}}/rr_{O_2\text{rest}}$, opisanem pri mnogih žuželkah, ki se sporazumevajo z zračnim zvokom, nastalem s pomočjo stridulacije (Ryan, 1988; Prestwich, 1994; Prestwich in O'Sullivan, 2005). V nasprotju s tem, za kobilico vrste *D. gigliotosi*, ki proizvaja vibracijske signale s pomočjo tremulacije, navajajo, da je produkcija teh tremulacijskih signalov 6,7 krat bolj energetsko potratna kot oddajanje stridulacijskih zvočnih signalov, ki se prenašajo preko zraka (Römer in sod., 2010). V primerjavi z mirovanjem je bila ob bobnanju pri hrošču *P. striatus* energetska poraba 2,7 krat večja (Lighton, 1987) in pri pajku *H. rubrofasciata* 22 krat (Kotiaho in sod., 1998a). Tako kot pri škržatku, je bila pri obeh teh vrstah hoja energetsko manj potratna od produkcije vibracijskih signalov (Lighton, 1985; Lighton, 1987; Kotiaho in sod., 1998a). Ker pri vrsti *A. makarovi* vibracijski signali nastanejo s pomočjo

timbalnega mehanizma, neposredna primerjava porabe energije pri teh treh vrstah ni možna.

Opažena sprememba v stopnji porabe kisika pri daljšem skupnem času oglašanja je lahko posledica preklopa na drug dihalni substrat (npr. izmenjava med ogljikovimi hidrati in lipidi) (Lee in Loher, 1993; Prestwich, 1994). Druga možnost za opažen hitri začetni porast porabe O₂ je lahko zgodnja aktivacija encimov, potrebnih za pretvorbo ogljikovih hidratov v trehalozo, ki v hemolimfi žuželk služi kot rezerva energije (Thomson, 2003). Kot drugi škržatki, *A. makarovi* srka floem, ki vsebuje veliko sladkorjev in le malo beljakovin (Douglas, 2006). Energetsko zahtevne aktivnosti so večinoma povezane s porabo rezerv, ki jih tvorijo glikogen in trigliceridi (Arrese in Soulages, 2010), vendar ni o shranjevanju energetskih zalog v telesu škržatka vrste *A. makarovi* nič znanega. Večina samcev te vrste umre, če se nekaj ur ne more prehranjevati. Na rastlinah tudi pogosto sesajo sok medtem, ko oddajajo pozivne napeve. Zanimivo je, da je povprečni skupni čas oddajanja pozivnih napevov, ki so ga samci potrebovali, da so našli vir odzivnega napeva povprečne dolžine, predvajan s časovno koordinacijo, ki ustreza naravnemu duetu, znašal 110-150 s (de Groot in sod., 2011, pričujoče doktorsko delo poglavje 3.2.4.2.1). Te vrednosti ustrezajo predelu strmega naraščanja stopnje dihanja v odnosu do skupne dolžine oglašanja, kar lahko nakazuje zgornjo mejo energetskih rezerv, ki so samcem škržatkov vrste *A. makarovi* na voljo za takojšnjo porabo ob oglašanju.

Ker so v naših meritvah k skupnemu času oglašanja največ prispevali rivalni in pulzini signali, je druga možna razlaga za relativno nižjo porabo O₂ pri osebkih, ki so se oglašali dlje kot 200 s ta, da je produkcija teh vibracijskih signalov, zaradi daljšega ponavljalnega časa pulzov v teh signalih, sama po sebi energetsko manj zahtevna. Pri murnih je poraba O₂ med petjem višja pri tistih vrstah, ki oddajajo napeve, sestavljene iz enakomerno ponavljajočih se pulzi, kot pri vrstah, ki se oglašajo s čiriki, v katerih so skupki pulzov ločeni pz daljšimi pavzami (Prestwich in Walker, 1981; Lee in Loher, 1993). Nasprotno, je bila pri škržatku vrste *A. makarovi* poraba energije pri oddajanju pozivnih napevov in rivalnih signalov enako visoka ne glede na razlike v časovnih parametrih in kompleksnosti signalov. Ponavljalni čas pulzov v rivalnih signalih je zelo variabilen in je lahko enak kot v pozivnih napevih, hkrati pa so slednji sestavljeni ne-le iz pulzov, temveč tudi iz čirikov in drdranja in njihov relativni delež ter delež vsakega posameznega dela v skupni dolžini posameznega pozivnega napeva je prav tako variabilen (de Groot in sod., 2012; Bluemel in sod., 2014). Napevi so pri vseh vrstah murnov sestavljeni iz pulzov, ki nastanejo ob stridulaciji. Proces produkcije zvočnih signalov so pri murnih temeljito raziskovali (Prestwich in Walker, 1981; Gerhardt in Huber, 2002; Robinson in Hall, 2002). V skupini Auchenorhyncha (škržadi, škržatki, slinarice) zvočni signali (zračni zvok in vibracije podlage) nastanejo v glavnem s pomočjo timbala ali timbalu podobnega mehanizma (Ossianilsson 1949; Pringle 1957; Wessel in sod., 2014) in njihovi zvočni signali so pogosto sestavljeni iz več delov, ki vsebujejo strukturno različne zvočne elemente (npr. de Vrijer, 1986; Gogala, 1995; Cocroft in McNett, 2006; Mazzoni in sod., 2009a). Medtem ko so mehanizem produkcije zračnega zvoka pri škržadih detajlno raziskovali (Gerhardt in Huber, 2002; Nahirney in sod., 2006), za produkcijo vibracijskih signalov pri škržatkih ni, razen morfološkega opisa timbala in z njim povezanih mišic, na voljo nobenih drugih podatkov. Tako ni možno sklepati o relativnem doprinosu drdranja, čirikov in pulzov k energetski porabi. Poleg tega je potrebno omeniti, da zaradi frekvenčno-odvisnega prevajanja po podlagi (npr. Michelsen in sod., 1982; McNett in sod., 2006; Polajnar in

sod., 2012) ter filtriranja in dušenja vibracijskih signalov med prenosom s telesa (oz. timbala) preko nog na podlago (Čokl in sod., 2005), amplituda vibracijskih signalov oz. amplituda posameznih zvočnih elementov registriranih na podlagi, ne odraža dejanske amplitude proizvedenega signala.

4.3.2 Vpliv napora oddajanja pozivnih napevov na preživetje

Komunikacijski sistem škržatka vrste *A. makarovi*, ki temelji na vibracijskih signalih (de Groot in sod., 2011a,b; 2012; Derlink in sod., 2014), se v več značilnostih pomembno razlikuje od do sedaj raziskovanih komunikacijskih sistemov pri ravnokrilcih, ki temeljijo na zračnem zvoku. Kot v večini sistemov sporazumevanja, ki temeljijo na vibracijskih signalih, samci vrste *A. makarovi* povečujejo svoj komunikacijski prostor z uporabo »let/skok/hoja-klic« strategije (Hunt in Nault, 1991; De Luca in Cocroft, 2011). Partnerja vzpostavita duet, v katerem odgovor samice sledi samčevemu pozivnemu napevu in samec išče stacionarno samico (Bailey, 2003; Virant-Doberlet in sod., 2006). V teh komunikacijskih sistemih samci v začetni fazi iskanja partnerice pogosto oddajajo le posamezne pozivne napeve. Stopnja oglašanja se poviša šele, ko vzpostavijo duet s samico (npr. Mazzoni s sod., 2009a, de Groot in sod., 2012; Rodríguez in sod., 2012). Nasprotno pa pri večini ravnokrilcev stacionarni samci nepretrgano oddajajo pozivni napev in tihe samice se približajo pojočim samcem (Robinson in Hall, 2002). Komunikacijski sistem škržatka vrste *A. makarovi* je podoben sistemu, ki so ga opisali pri pajku vrste *H. rubrofasciata* (Kronestedt, 1996). Samci pajke te vrste uporabljajo »hoja-klic« strategijo, vibracijski duet med samcem in samico se vzpostavi na pobudo samca. Stopnja oglašanja samcev se poviša v prisotnosti spolno zrele samice (Mappes in sod., 1996). Čeprav se pri tej vrsti samec in samica približata drug drugemu, samice preferirajo samce, ki oddajajo daljše vibracijske signale in imajo višjo stopnjo oglašanja (Parri in sod., 1997; 2002). Tako kot pri škržatku vrste *A. makarovi*, imajo samci z višjo stopnjo oglašanja krajšo življenjsko dobo (Mappes in sod., 1996; Kotiaho, 2000).

Potrebno je omeniti, da je bil zaradi razlik v strategijah iskanja partnerice in oglašanja, napor, ki ga samci vložijo v oddajanje vibracijskih signalov, pri pajku vrste *H. rubrofasciata* in škržatku vrste *A. makarovi*, določen drugače kot pri petju murnov. Medtem ko so pri murnih napor določali na osnovi nepretrganega večurnega snemanja spontanega oglašanja (Hunt in sod., 2004; 2006; Judge in sod., 2008; Okada in sod., 2011), je bil pri obeh vrstah, pri katerih sporazumevanje temelji na vibracijskih signalih, napor določen v krajših časovnih obdobjih, v katerih je bila povišana stopnja oglašanja pri pajku inducirana s prisotnostjo žive samice (Mappes in sod., 1996; Kotiaho 2000) in pri škržatku s predvajanjem odzivnega napeva samice. Potencialna slaba stran takega pristopa je pomanjkanje informacije o spontani stopnji oglašanja posameznih samcev v času izven poskusov. Idealno bi bilo, če bi v teh sistemih sporazumevanja določanje kratkoročne, inducirane, povišane stopnje oglašanja združili z nepretrganim snemanjem spontanega oglašanja v daljšem časovnem obdobju. Napor, vložen v oglašanje tekom celotnega življenja posameznih samcev so do zdaj določili le pri eni vrsti murnov (Fitzsimmons in Bertram, 2011). Iz tehničnih razlogov pa bi bile take študije v vibracijskih komunikacijskih sistemih neprimerno zahtevnejše. Obstoječe raziskave kažejo, da je odnos med naporom, vloženim v oglašanje, in življenjsko dobo po vsej verjetnosti vrstno-specifičen in dinamičen. Pri murnu vrste *Gryllus pennsylvanicus* sta bila napor in preživetje pozitivno

povezana (Judge in sod., 2008). Pri vrst *T. commodus* so samci, ki so več peli v zgodnjem življenjskem obdobju, umrli mlajši (Hunt in sod., 2004; 2006). Medtem ko pri vrstah *G. veletis* (Fitzsimmons in Bertram, 2011) in *Grylloides sigilattus* (Okada in sod., 2011) ni bilo povezave med aktivnostjo oglašanja in življenjsko dobo samca. Čeprav so rezultati obeh do sedaj opravljenih raziskav na komunikacijskih sistemih, ki temeljijo na vibracijskih signalih, pokazali, da ima indirektna cena, povezana z oglašanjem, negativen vpliv na preživetje samca (Mappes in sod., 1996; Kotiaho 2000, 2001, pričujoče doktorsko delo), zaradi pomanjkanja informacije o kompromisu med odloženo ceno oglašanja in življenjsko dobo v drugih vibracijskih sistemih sporazumevanja, ni mogoče na splošno primerjati cene porabe energije pri oddajanju zvočnih signalov, ki se prenašajo preko zraka in preko podlage. Poleg tega je potrebno omeniti, da so vedenjski poskusi, v katerih smo določali napor, ki ga samci vrste *A. makarovi* vložijo v oddajanje pozivnih napevov, vključeval tudi napor, ki ga samci vložijo v samo iskanje, oziroma energetske porabo med hojo po rastlini. Naši rezultati kažejo, da naj bi bila pri tej vrsti hoja energetske približno pol manj zahtevna kot oglašanje in da med procesom iskanja in lokalizacije samice samci več časa pojejo kot hodijo. Potrebno je tudi omeniti, da sta stopnja oglašanja in življenjska doba lahko povezani tudi s stopnjo dihanja v mirovanju (Reinhold, 1999; Biro in Stamps, 2010; Okada in sod., 2011). Čeprav se pri vrsti *A. makarovi* izmerjena stopnja dihanja v mirovanju med samci ni bistveno razlikovala, bodo šele nadaljnje raziskave pokazale, ali samci škržatkov, ki živijo hitro, umrejo mladi.

Naši rezultati kažejo, da je produkcija rivalnih signalov, ki jih samci oddajajo v rivalnih situacijah, enako energetske zahtevna kot oddajanje pozivnih napevov, ki jih samci oddajajo pri sporazumevanju s samico. V primerih, ko se socialno okolje lahko hitro spreminja (npr. nivo kompeticije in število priložnosti za parjenje), plastičnost v vedenju samcev prinaša določene prednosti (Bretman in sod., 2011; Callander in sod., 2013). Vibracijski signali, ki jih samci oddajajo v rivalnih situacijah, so poznani pri številnih členonožcih (pregled v Virant-Doberlet in sod., 2014). Posebni vibracijski signali, ki prekrivajo odgovor samice ali rivalov pozivni napev, so bili pri škržatkih že opisani (Miranda, 2006; Mazzoni in sod., 2009a, b; Legendre in sod., 2012). Medtem ko so v teh raziskavah upoštevali neposredne prednosti take rivalne taktike (npr. preprečevanje hitre lokalizacije samice), niso hkrati upoštevali tudi potencialne indirektno cene, povezane z oddajanjem teh signalov. V nadaljnjih raziskavah bo potrebno določiti, ali imajo rivalne interakcije, ki temeljijo na oddajanju vibracijskih signalov, negativen vpliv na življenjsko kondicijo samca.

Druga alternativna vedenjska taktika, ki jo v rivalnih situacijah izrazijo samci škržatkov, je tiho približanje samici, ki se oglašča v duetu z drugim samcem (Mazzoni in sod., 2009a, b). Uporaba različnih alternativnih vedenjskih taktik, ki v rivalnih situacijah samcem omogočajo večji reproduktivni uspeh, je lahko pogojena s stanjem oz. fizično kondicijo posameznega samca. Pri tem pa je potrebno upoštevati, da je tudi tiho približevanje energetske bolj zahtevno kot mirovanje (glej poglavje 4.3.3). Ob tem je potrebno omeniti, da se samci škržatka vrste *A. makarovi* razlikujejo od drugih, do sedaj raziskovanih vrst v tem, da lahko, če je potrebno, v naravni situaciji na rastlini, nadomestijo porabljeno energijo, ne da bi pri tem prekinili oglašanje v duetu s samico. Vendar pa gre v tem primeru lahko za kompromis med nadomeščanjem kratkotrajnih energetskih rezerv in mobilnostjo, katerega rezultat je lahko daljši čas, potreben za lokalizacijo samice, saj se

med hranjenjem ne morejo premikati. Tehtanje prednosti in slabosti takega kompromisa, je lahko še posebej pomembno v prisotnosti tekmeča, ko je odločilno, kateri samec prej najde samico (glej poglavje 4.3.3).

Čeprav so za neposreden dokaz, da je napor, ki ga samci škržatkov vrste *A. makarovi* vložijo v oddajanje pozivnih napevov, neposreden vzrok za povečano umrljivost, potrebne še dodatne raziskave, naši rezultati predstavljajo prvi dokaz, da je produkcija vibracijskih signalov pri škržatkih energetsko zahtevna in ima svojo indirektno ceno. Nadaljnje raziskave naj bi tudi osvetlile mehanizme, ki so osnova ne-le za spolno selekcijo in alternativne vedenjske taktike (Irschik in sod., 2007; Scharf in sod., 2013), temveč zaradi potencialne hranilne vloge rastlin pri aktivnosti oglašanja (Awmack in Leather, 2002; Morehouse in sod., 2010). Številne vrste škržatkov so ekonomsko pomembni škodljivci, predvsem kot prenašalci rastlinskih bolezni (Weintraub in Beanland, 2006). Prihodnje raziskave o pomenu kvalitete gostiteljskih rastlin na reproduktivno strategijo žuželk bi lahko vključevale tudi vpliv prehrane na sposobnost sporazumevanja z drugimi osebki. Potrebno je tudi izpostaviti, da v komunikacijskih sistemih, ki temeljijo na vibracijskih signalih, partnerja ponavadi vzpostavita duet (Bailey 2003; Virant-Doberlet in sod., 2006), kar pomeni, da v teh sistemih, tudi samice po vsej verjetnosti plačujejo indirektno ceno oglašanja. Odzivni napevi samic vrste *A. makarovi* so 1-80 s dolge serije, enakomerno ponavljajočih se pulzov. Struktura teh vibracijskih signalov je podobna kot pri rivalnih signalih. Pomena signalov samic v procesu prepoznavanja spolnih partnerjev se čedalje bolj zavedamo (Willkins in sod., 2013; Derlink in sod., 2014). Prispevek vsakega partnerja k spolni izolaciji je po vsej verjetnosti odvisen od številnih faktorjev, vključno z direktno in direktno ceno oglašanja. Nadaljnje raziskave komunikacijskih sistemov, ki temeljijo na duetu in bi vključevale tudi fiziološke procese povezane z oglašanjem samcev in samic, bi lahko prispevale nov pogled na procese, ki vodijo spolno selekcijo.

4.3.3 Vpliv telesne kondicije na rivalno vedenje

Alternativne vedenjske taktike, ki naj bi jih samci prevzeli v tekmovanju za samico, naj bi bile odvisne tudi od njihove telesne kondicije, oz. primerjave njihovih sposobnosti s tekmeči (Oliveira in sod., 2008; Brepson in sod., 2012; Humfeld, 2014). Pošteni signali (Zahavi, 1977), ki jih samci oddajajo ob iskanju partnerja, in za katere samci plačujejo visoko ceno, naj bi samicam omogočili, da za partnerja izberejo le najboljšega samca, saj le samci v dobri kondiciji lahko plačujejo njihovo ceno. Naši rezultati sicer kažejo, da se v naravni tekmovalni situaciji samice vrste *A. makarovi* večkrat pari s težjim samcem, vendar kažejo tudi, da se pari s prvim samcem, ki jih najde, ter da samice v svojem odzivu kažejo nizko selektivnost. Samci morajo z oddajanjem pozivnega napeva vzbuditi vsak odziv samice, ki je nujno potreben za hitro in uspešno lokalizacijo. Produkcija vibracijskih signalov je energetsko zahtevna in ima svojo indirektno ceno. S stališča opazovalca bi bila, v odsotnosti neposrednih tekmecev, za samce v slabši telesni kondiciji optimalna vedenjska taktika kompromis na račun mobilnosti - manjši vložek v oddajanje pozivnih napevov ob hkratnem sprotnem nadomeščanju porabljenih energetskih rezerv s hranjenjem, kar se odraža na daljšem času iskanja samice. V prisotnosti neposrednega tekmeča bi bila optimalna taktika kompromis v prid mobilnosti - tiho približanje samici brez nadomeščanja energetskih rezerv, saj pri hoji porabijo manj energije kot pri oddajanju vibracijskih signalov.

Naši rezultati so pokazali, da samci lahko nadomestijo izgubljeno težo in s tem verjetno tudi pomemben del energetskih rezerv, ne da bi se pri tem podaljšal čas iskanja samice. Iz tega lahko sklepamo, da za nadomeščanje porabljene energije zadostuje že hranjenje med oglašanjem, ko se samci ob oddajanju vibracijskih signalov ne premikajo. Na osnovi trenutnih rezultatov ne moremo predvideti, ali so se v vlogi vsiljivca stradani samci hranili med oddajanjem lastnih pozivnih napevov in tudi med pozivnimi napevi tekmeča. V tej situaciji so stradani samci, v nasprotju z našimi predvidevanji, potrebovali dlje časa, da so našli vir odzivnih napevov samice, kar nakazuje, da so ali izgubili čas pri hranjenju ali pa so bili zaradi slabše kondicije počasnejši.

Težava, ki se je pokazala pri izvedbi poskusov stradanja, je, da vedenje posameznih samcev tekom 3-dnevnega poskusa ni bilo predvidljivo in zanesljivo. Čeprav je bil delež samcev, ki so se oglašali in iskali, med posameznimi dnevi primerljiv, je v obeh skupinah, kontrolni in stradani, le manjšina samcev oddajala pozivne napeve in iskala vir v vseh treh dneh poskusa, kar otežuje statistične primerjave. Z izvedbo dodatnih poskusnih serij bi verjetno izluščili več statistično značilnih razlik.

Ob tem se seveda poraja vprašanje, ali so žuželke, ki energijo, porabljeno ob oddajanju vibracijskih signalov, lahko sproti nadomestijo s hranjenjem, ne da bi pri tem prekinile komunikacijo s samico, relevanten model za raziskave cene spolnih znakov. Znižana življenjska doba samcev, ki so vložili večji napor v oddajanje pozivnih napevov, kaže, da je indirektna cena, ki jo samci škržatka plačujejo zaradi negativnih posledic visoke porabe energije, verjetno povezana s pospešenim staranjem zaradi oksidativnega stresa (Dowling in Simmons, 2009; Archer in sod., 2013). Polkrilci (Hemiptera), kamor se uvrščata stenica vrste *N. viridula* in škržatek vrste *A. makarovi*, vključujejo približno 94,000 vrst (Dietrich, 2009; Schaefer, 2009; Gullan in Martin, 2009). V tej skupini je sporazumevanje z vibracijskimi signali splošno razširjeno (Virant-Doberlet in Čokl, 2004). Z izjemo predatorskih stenic vsi njeni pripadniki sesajo sokove rastlin na katerih živijo. Raziskave cene oddajanja vibracijskih signalov v tako pestri skupini žuželk lahko nedvomno prispevajo nova spoznanja o temeljnih procesih, ki so osnova za naše razumevanje spolne selekcije.

5 SKLEPI

Pričujoča raziskava vloge spolnih tekmecev v strategiji sporazumevanja v skupini polkričev (Hemiptera) obsega vedenjski in ekofiziološki sklop, ki se med seboj dopolnjujeta. Delo je bilo osredotočeno na dve modelni vrsti, stenico vrste *Nezara viridula* (Pentatomidae) kot predstavnika enosmernega sistema sporazumevanja, v katerem se eden od partnerjev neprestano oglašča, in škržatka vrste *Aphrodes makarovi* (Cicadellidae) kot predstavnika dvosmernega sistema sporazumevanja, v katerem partnerja vzpostavita koordiniran duet. Izbrani pristop je omogočil kompleksno interpretacijo mehanizmov, ki so osnova za spolno selekcijo in alternativne vedenjske taktike. Zaključimo lahko, da je tekmovalnost med samci pomemben del intraspecifičnega sporazumevanja, ter da samci v različnih rivalnih situacijah prevzamejo različne vedenjske taktike.

Glede na zastavljene hipoteze lahko rezultate doktorskega dela povzamemo v naslednjih sklepih:

1. V enosmernem sistemu sporazumevanja, v katerem samica vrste *N. viridula* neprestano oddaja pozivne napeve, s katerimi privablja partnerja, v prisotnosti dveh samcev, sama prevzame aktivnejšo vlogo pri izbiri partnerja in poišče primerne samca. Težji samci niso imeli očitne prednosti.

2. Samci vrste *N. viridula* v vlogi vsiljivca na osnovi prejetih vibracijskih signalov prilagajajo oglašanje in vedenje prejeti informaciji, ki jim omogoča razbrati v kateri fazi paritvene sekvence se rival nahaja. V simulirani situaciji, ki je samcem posredovala informacijo, da je rival v neposredni bližini samice, se je večina samcev tiho približala samici. Samci so tudi v odsotnosti vibracijskih signalov tekmecca in le ob prisotnosti samčevega feromona izkazali rivalno vedenje, ki se je izrazilo v obliki oddajanja rivalnih signalov, katerih vloga je po vsej verjetnosti spopad samcev.

3. V dvosmernem sistemu sporazumevanja, v katerem samica vrste *A. makarovi* s samcem vzpostavi natančno koordiniran duet, samice v prisotnosti dveh samcev odgovarjajo obema in se parijo samcem, ki jo prvi najde, pri čemer so v prednosti težji samci. Zmagovalci in poraženci se niso razlikovali v naporu, ki so ga vložili v oddajanje pozivnih napevov. Večina samcev je ob iskanju partnerice izgubila težo.

4. Dolžina odzivnega napeva samice vrste *A. makarovi*, ki je ključna za njeno hitro in zanesljivo lokalizacijo, je izredno variabilna in ni prvenstveno pogojena s preferenco samic za bolj kompleksen ali daljši pozivni napev samca, temveč z individualnimi razlikami samic pri oddajanju odzivnih napevov. Vendar lahko samica, ki oddaja kratke odzivne napeve zgolj z relativno kratkim podaljšanjem odziva, samcu pomembno zniža ceno oddajanja pozivnih napevov.

5. Dolžina in časovna usklajenost odzivnega napeva samice vrste *A. makarovi* s pozivnim napevom samca imata pomemben vpliv tako na samčevo oglašanje in iskalno vedenje, kot na verjetnost, da bo samcev našel samico.

(a) Daljši odzivni napev samice je povezan z manjšim naporom, ki ga samci vložijo v oglašanje in iskanje partnerice.

(b) Če je odzivni napev samice krajši, samci skrajšujejo dolžino pozivnih napevov, da pridobijo daljši, neprekriti del odzivnega napeva, ki jim omogoča hitro in zanesljivo lokalizacijo samice.

(c) Optimalno senzorično časovno okno samca se nahaja neposredno po koncu pozivnega napeva in odzivni napev, katerega začetek ne prekriva zadnjega dela pozivnega napeva samca, samec sicer slabo prepozna, vendar iščoč samci vir odzivov z dolgim zamikom letega z lahkoto najdejo. Samci brez težav tudi lokalizirajo vir odzivnih napevov, ki se pojavljajo zgolj v odgovor na pozivne napeve tekmeca.

(d) Samci med oddajanjem pozivnih napevov ne zaznajo odzivnega napeva, s katerim mu samica odgovarja.

6. Samci vrste *A. makarovi* ohranijo informacijo o prisotnosti potencialnega rivala na rastlini tudi, če pozivni napev tekmeca ni več prisoten. V prisotnosti vsiljivca, ki oddaja rivalne signale, samci povišajo stopnjo rivalnega vedenja in ne napora vloženega v oddajanje pozivnih napevov. V vlogi vsiljivca samci izrazijo dve alternativni taktiki: oddajanje rivalnih signalov, ki prekrivajo tako odzivni napev samice na lasten pozivni napev kot na poziv tekmeca, in tiho približevanje samici. Rivalni signal samca, ki delno prekrije odzivni napev samice, vpliva tako na latenco kot na dolžino odziva, vendar je vpliv tega signala nepredvidljiv in le pri tretjini samic rivalni signal signifikatno zniža dolžino neprekritega dela odzivnega napeva.

7. Samci vrste *A. makarovi* pri oddajanju pozivnih napevov in rivalnih signalov porabijo približno 12,4-krat več energije kot v mirovanju. Več napora samci vložijo v oddajanje pozivnih napevov, večja je verjetnost, da v krajšem času najdejo samico. Samci, ki so v zgodnjem življenjskem obdobju vložili več napora v oddajanje pozivnih napevov, so imeli krajšo življenjsko dobo.

8. Samci vrste *A. makarovi*, ki so bili pred vedenjskim testom stradani (oz. so bili v slabši telesni kondiciji), so v odsotnosti tekmeca izgubljeno težo med vedenjskim testom nadomestili s hranjenjem, ne da bi pri tem prekinili sporazumevanje v duetu s samico, in ne da bi sklenili kompromis na račun mobilnosti. Po nekaterih merjenih parametrih so ti samci vložili manj napora v oddajanje pozivnih napevov. Stradani samci, postavljeni v vlogo vsiljivca, so vložili enak napor v oddajanje pozivnih napevov kot normalno hranjeni samci, vendar so pri tem sklenili kompromis na račun mobilnosti.

6 POVZETEK (SUMMARY)

6.1 POVZETEK

Dolgo spregledana temeljna značilnost sporazumevanje je, da se v naravi vsako sporazumevanje odvija v komunikacijskem omrežju, to je v skupini osebkov, ki se nahajajo v dosegu oddanih signalov in ne-le izključno v paru oddajnik-sprejemnik. Mnoge rivalne interakcije v spolnem vedenju so možne le v sklopu omrežja, v katerem signale, ki so namenjeni sprejemniku nasprotnega spola iste vrste, zazna vsaj še en osebek te vrste. V omrežju se vzpostavijo rivalni odnosi, saj oddajniki tekmujejo za pozornost sprejemnikov, medtem ko sprejemniki tekmujejo za vire, ki jih predstavljajo oddajniki. Tekmovanje med samci za dostop do samic je del mnogih sistemov razmnoževanja in cena, ki jo samci plačujejo za povečan reproduktivni uspeh, je osrednjega pomena za razumevanje spolne selekcije, saj so pri izboru partnerja na splošno bolj privlačni kompleksni in pozornost vzbujajoči signali. Samci, ki zaradi visoke cene niso sposobni uspešno tekmovati za dostop do samic, pogosto privzamejo alternativne vedenjske taktike, ki jim omogočajo večji reproduktivni uspeh.

Zvočni signali so še posebej primerni za določanje različnih virov selekcije na strategijo sporazumevanja, saj jih partnerji pogosto uporabljajo tudi, kadar niso v neposredni bližini. Najbolj razširjena oblika zvočne komunikacije je sporazumevanje z vibracijskimi signali, ki se prenašajo preko podlage. Vloga rivalnega vedenja v vibracijskih komunikaciji je v glavnem neraziskana, saj je do nedavnega veljajo prepričanje, da je to privaten komunikacijski kanal, omejen izključno na dvojico oddajnik-sprejemnik. Raziskave so bile osredotočene na vibracijsko komunikacijo dveh predstavnikov iz skupine polkrilcev (Hemiptera), ki se ločita v interaktivnosti sporazumevanja med samcem in samico. Pri stenici vrste *Nezara viridula* (Pentatomidae) samica nepretrgoma dlje časa oddaja pozivni napev, katerega oddajanje sproži samčev feromon in ne vibracijski signali samca. Pri škržatku vrste *Aphrodes makarovi* (Cicadellidae) si samec in samica izmenjujeta vibracijske signale v natančno koordiniranem duetu. Samec mora s pozivnim napevom vzbuditi vsak odziv samice. V obeh sistemih sporazumevanja samci iščejo stacionarno samico. Pričujoče delo prispeva nov vpogled v procese, ki so osrednjega pomena ne-le za evolucijo vibracijske komunikacije, temveč tudi za razumevanje splošnih osnovnih procesov sporazumevanja. Obsega vedenjski in ekofiziološki del, ki se med seboj dopolnjujeta.

Vedenjski poskusi, v katerih smo opazovali vedenje stenice vrste *N. viridula* v situaciji, ko sta bila na rastlini prisotna dva samca in ena samica (trio), so pokazali, da je v nasprotju z opazovanji parov, v vseh poskusih, v katerih so se stenice sparile, samica našla samca. V poskusih kjer smo dvema samcema te vrste nepretrgoma predvajali pozivni napev samice, so vir vibracijskih signalov prej našli samci, ki so se na začetku vedenjskega testa nahajali bližje viru. Večina samcev je med vedenjskim testom izgubila težo, vednar težji samci niso bili v očitni prednosti. Ko smo samca stenice postavili v vlogo vsiljivca in mu s predvajanjem vibracijskih signalov simulirali različne faze vibracijske komunikacije med rivalom in samico – od začetne faze v kateri samec in samica šele vzpostavljata vibracijski kontakt do zaključnega koordiniranega dueta na osnovi napevov dvorjenja – so samci na osnovi informacije, ki so jo pridobili s prisluškovanjem, prilagodili svoj vedenjski odziv. V

nasprotju z drugimi simuliranimi situacijami, kjer se je tekmovalno vedenje izrazilo v obliki oddajanja rivalnih signalov, katerih vloga je po vsej verjetnosti spopad samcev, se je v situaciji, ko smo samcem predvajali zaključni duet, večina samcev tiho približala samici. Za proženje rivalnega vedenja je zadostovala že zgolj prisotnost samčevega feromona.

Vedenjski poskusi, v katerih smo opazovali vedenje škržatka vrste *A. makarovi* v triu, so pokazali, da samice v prisotnosti dveh samcev odgovarjajo obema in se pariyo s samcem, ki jo prvi najde, pri čemer so v prednosti težji samci. Večina samcev je v poskusu izgubila težo. Zmagovalci in poraženci se niso razlikovali v naporu, ki so ga vložili v oddajanje pozivnih napevov. Samci so izrazili rivalno vedenje z oddajanjem rivalnih signalov, s katerim prekrijejo del odgovora samice (tako odzivni napev samice na lasten pozivni napev kot na poziv tekmeča) in tihim približevanjem samici, ki se je oglašala v duetu z rivalom (satelitsko vedenje).

Dolžina odzivnega napeva samice vrste *A. makarovi* je izredno variabilna. Čeprav je dolžina neprekritega dela odzivnega napeva samice ključna za to, da jo samcev hitro najde, le-ta ne odraža preference samic za bolj kompleksen ali daljši pozivni napev samca, temveč je rezultat individualnih razlik med samicami pri oddajanju odzivnih napevov. Daljši odzivni napev samice je povezan z manjšim naporom, ki ga samci vložijo v oglašanje in iskanje partnerice. Samica, ki oddaja kratke odzivne napeve, lahko zgolj z relativno kratkim podaljšanjem odziva, samcu pomembno zniža ceno oddajanja pozivnih napevov. Samci škržatka so pokazali presenetljivo visoko prilagodljivost pri oddajanju pozivnih napevov. V primeru kratkih odzivov samice so skrajševali dolžino pozivnih napevov, s katerimi so vzbujali odgovor samic, s čimer naj bi pridobili daljši neprekriti del samičinega odziva, ki jim omogoča hitro in zanesljivo lokalizacijo samice. Časovna koordinacija med vzbujevalnim pozivom in odzivnim napevom ima pomemben vpliv tako na samčevo oglašanje in iskalno vedenje, kot verjetnost, da bo samec našel samico. Čeprav samec slabo prepozna odzivni napev, katerega začetek ne prekriva zadnjega dela vzbujevalnega poziva, nima težav z lokalizacijo vira odzivnih napevov, ki se pojavljajo zgolj v odgovor na pozivne napeve tekmeča.

Samci vrste *A. makarovi* ohranijo informacijo o prisotnosti potencialnega rivala na rastlini tudi, ko vibracijski signali tekmeča niso več prisotni. V prisotnosti vsiljivca, ki oddaja rivalne signale, samci povišajo stopnjo rivalnega vedenja. Rivalni signal samca, ki delno prekrije odzivni napev samice, vpliva tako na latenco kot na dolžino odziva, vendar je vpliv tega signala nepredvidljiv in le pri tretjini samic rivalni signal signifikatno skrajša dolžino neprekritega dela odzivnega napeva.

Oddajanje vibracijskih signalov tako pozivnih napevov kot rivalnih signalov je za samce vrste *A. makarovi* energetsko potratno. Več napora samci vložijo v oddajanje pozivnih napevov, večja je verjetnost, da v krajšem času najdejo samico. Samci, ki v zgodnjem odraslem življenjskem obdobju vložijo več napora v oddajanje pozivnih napevov, umrejo mlajši. Škržatki se od drugih vrst, na katerih so do sedaj raziskovali ceno oddajanja zvočnih signalov, razlikujejo v tem, da če je potrebno, na rastlini s hranjenjem lahko nadomestijo porabljeno energijo, ne da bi pri tem prekinili oglašanje v duetu s samico. Vendar pa gre v tem primeru za kompromis med nadomeščanjem kratkotrajnih energetskih rezerv in mobilnostjo, katerega rezultat je lahko daljši čas, potreben za lokalizacijo samice,

saj se med hranjenjem ne morejo premikati. Tehtanje prednosti in slabosti takega kompromisa, je lahko še posebej pomembno v prisotnosti tekmeča, ko je odločilno, kateri samec prej najde samico. Samci, ki so bili pred vedenjskim testom stradani, so v odsotnosti tekmeča izgubljeno težo med vedenjskim testom nadomestili s hranjenjem, ne da bi pri tem prekinili sporazumevanje v duetu s samico in ne da bi tem sklenili kompromis na račun mobilnosti. Po nekaterih merjenih parametrih so ti samci vložili manj navora v oddajanje pozivnih napevov. Stradani samci v vlogi vsiljivca pa so vložili enak napor v oddajanje pozivnih napevov kot normalno hranjeni samci, vendar so pri tem sklenili kompromis na račun mobilnosti.

6.2 SUMMARY

A crucial aspect of communication, that was long overlooked, is that in nature all communication occurs in a network environment, i.e. in a group of several animals within signalling and receiving range of each other and not only in the emitter-receiver dyad. Many rival interactions are possible only in a network environment where advertising signals aimed at the opposite sex of the same species, are received also by at least by one other conspecific individual of either sex. Important effects of communication network on conspecifics are competition between the emitter for the receiver's attention, while the receivers compete for resources represented by the emitter. Competition between males to gain the access to females is an important element of many mating systems and the costs of male sexual traits are central to our understanding of sexual selection, since selection is often driven by female preference for more complex and conspicuous signals. Due to high costs males in poor condition are not able to successfully compete for females and therefore they increase their reproductive success by adopting alternative behavioural tactics.

Acoustic signals are particularly well suited to investigate various sources of selection on evolution of communication strategies, since they are often used also if individuals are not close to each other. The most widespread form of acoustic communication is signalling by substrate-borne vibrations and the role of rivalry behaviour in vibrational communication is largely unexplored, primarily due to prevailing common perception that vibrational signalling is exclusively private mode of communication composed solely of an emitter-receiver dyad. Current work was focused on vibrational communication in two hemipteran insects which differ fundamentally in regard to interactivity of the male-female communication. In the stink bug *Nezara viridula* (Pentatomidae) female is emitting calling song continuously and emission of this song is triggered by male pheromone and not male vibrational signals. In the leafhopper *Aphrodes makarovi* (Cicadellidae) male and female exchange vibrational signals in a precisely coordinated duet and male has to initiate each exchange by emission of advertisement call. In both communication systems males search for a stationary female. The aim of this work was to provide new insights into processes which are central not only to the evolution of vibrational communication but also to our understanding of communication in general. It includes behavioural and ecophysiological parts that complement each other.

Behavioural experiments in which we observed behaviour of *N. viridula* on a plant in trio situation (2 males and 1 female) showed that in contrast to previous observation on pairs,

in all trials that resulted in mating, females searched and located their mates. In playback trials in which two males were continuously stimulated by female calling song, the source of female song was first located by the male that was at the start of the trial positioned closer to the source. Most males lost weight during the trial, however, in trials heavier males had no obvious advantage. In bilateral playback experiments the male was placed as an intruder into position of enforced competition in situations that simulated different stages of vibrational communication between a rival male and a female – from the starting phase in which male and a female were still establishing a vibrational contact to the final coordinated duet based on exchange of courtship songs. Information obtained by eavesdropping enabled males to adapt their behaviour. In most situations, rivalry behaviour was expressed as emission of rivalry signals that is most probably a form of a contest between males. In contrast, in the presence of a final duet most males silently approached the female. The presence of male sexual pheromone in absence of male vibrational signals was sufficient to trigger rivalry behaviour.

Behavioural experiments in which we observed behaviour of *A. makarovi* on a plant in trio situation showed that in the presence of two males female responds to both and mate with the one which locates her first and that winners are usually heavier males. Most males lost weight during the trial, however, winner and losers did not differ in their calling effort. Males expressed their rivalry behaviour by emission of rivalry signals that overlap part of female reply (reply to their own initiating advertisement call, as well as reply to advertisement call of another male) and by silently approaching female that was duetting with a rival (satellite behaviour).

Duration of female reply in *A. makarovi* is highly variable. Although duration of non-overlapped part of female reply is crucial for successful and quick location of the female, reply duration does not reflect female preferences for complex and long male advertisement call and more likely results from intrinsic individual differences between females. Longer female reply is associated with lower male calling and searching effort. Female that emits short replies can by relatively small increase in reply duration significantly reduce male's signalling and searching costs. Leafhopper males showed a surprisingly high adaptability in signalling behaviour and when female reply was short, searching males were shortening the last section of advertisement call by which they should achieve longer non-overlapped duration of female reply that is essential for successful location. Precise temporal coordination between initiating male call and female reply has profound effects on male signalling and searching behaviour and influences the likelihood of finding the female. Although males don't recognize female reply that does not overlap the end of their initiating call, they are able to localize the source of female reply emitted exclusively to rival's advertisement calls.

Males of *A. makarovi* retain the information about the presence of a rival after rival stops signalling. In the presence of an intruder that emits rivalry signals, males increase the level rivalry behaviour. Rivalry signals that partly overlap female reply affects the latency as well as duration of female reply, however, the effect is unpredictable and only one third of females significantly shortened the duration of their replies.

Emission of advertisement call and rivalry signals in the leafhopper *A. makarovi* is energetically demanding. Higher calling rate significantly increases the probability to locate the female quickly, however, males with higher calling effort in early life die younger. Leafhoppers differ from other species included in the studies of costs of acoustic signalling so far, since they can replace the used energy by feeding without interrupting communication with the female. However, the result is a trade-off between replacing (or supplementing) the short-term energy storage and male mobility, which under some circumstances may lead to a longer time needed to localize the replying female. In particular such trade-off may be important in the presence of a rival when ability to locate the female is crucial. Males that were starved before behavioural trial were in the absence of a rival during the trial replaced the lost weight without compromising the mobility. By some measured parameters these males also had lower calling effort. Starved males that were placed into a position traded high calling effort for lower mobility.

7 VIRI

- Aldrich J. R. 1988. Chemical ecology of the Heteroptera. *Annual Review of Entomology*, 33: 21–238
- Andersson M. 1994. Sexual selection. Princeton, Princeton University Press: 624 str.
- Archer C. R., Sakaluk S. K., Selman C., Royle N. J., Hunt J. 2013. Oxidative stress and the evolution of sex differences in life span and ageing in the decorated cricket, *Gryllodes sigillatus*. *Evolution*, 67, 3: 620–633
- Arrese E. L., Soulages J. L. 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annual Review Entomology*, 55: 207–225
- Awmack C. S., Leather S. R. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 47: 817–844
- Bagwell G. J., Čokl A., Millar J. G. 2008. Characterization and comparison of substrate-borne vibrational signals of *Chlorochroa uhleri*, *Chlorochroa ligata* and *Chlorochroa sayi* (Heteroptera: pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 101: 235–246
- Bailey W. J. 2003. Insect duets: underlying mechanisms and their evolution. *Physiological Entomology* 28, 3: 157–174
- Bailey W. J., Hammond T. J. 2003. Duetting in insects – does call length influence reply latency. *Journal of Zoology London*, 260, 3: 267–274
- Bass A. H., McKibben J. R. 2003. Neural mechanisms and behaviors for acoustic communication in teleost fish. *Progress in Neurobiology*, 69, 1: 1–26
- Bates D. M., Chambers J. M. 1992. Nonlinear models. V: Statistical models in S. Chambers J. M., Hastie T. J. (eds.). Pacific Grove, Wadsworth & Brooks/Cole: 421–454
- Bateson M., Healy S. D. 2005. Comparative evolution and its implication for mate choice. *Trends in Ecology and Evolution*, 20, 12: 659–664
- Biro P. A., Stamps J. A. 2010. Do consistent individual differences in metabolic rate promote consistent individual differences in behavior? *Trends in Ecology and Evolution*, 25, 11: 653–659
- Blassioli Moraes M. C., Laumann R. A., Čokl A., Borges M. 2005. Vibratory signals of four Neotropical stink bug species. *Physiological Entomology*, 30: 175–188
- Bluemel J. K., Derlink M., Pavlovčič P. et al. 2014. Integrating vibrational signals, mitochondrial DNA and morphology for species determination in the genus *Aphrodes* (Hemiptera: Cicadellidae). *Systematic Entomology*, 39, 2: 304–324
- Booij C. J. H. 1982. Biosystematics of the *Muellerianella* complex (Homoptera, Delphacidae), interspecific and geographic variation in acoustic behaviour. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 58: 31–52
- Borges M., Jepson P. C., Howse P. E. 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
- Boughman J. W. 2002. How sensory drive can promote speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 12: 571–577
- Bradbury J. W., Vehrencamp S. L. 2011. Principles of Animal Communication. 2nd ed. Sunderland, Sinauer Associates, Inc.: 697 str.
- Brepson L., Trojtanowski M., Voituron Y., Lengagne T. 2012. Cheating for sex: inherent disadvantage or energetic constraint? *Animal Behaviour*, 84, 5: 1253–1260

- Bretman A., Gage M. J. G., Chapman T. 2011a. Quick-change artists: male plastic behavioural responses to rivals. *Trends in Ecology and Evolution*, 26, 9: 467–473
- Bretman A., Westmancoat J. D., Gage M. J. G., Chapman T. 2011b. Males use multiple, redundant cues to detect mating rivals. *Current Biology*. 21, 7: 617–622
- Brézot P., Malosse C., Mori K., Renou M. 1994. Bisaboolene epoxides in sex pheromone of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae): Role of *cis* isomer and relation to specificity of pheromone. *Journal of Chemical Ecology* 20, 12: 3133–3147
- Brooks R. 2000. Negative genetic correlation between male sexual attractiveness and survival. *Nature*, 406, 6791: 67–70
- Bush S. L. 1997. Vocal behavior of males and females in the Majorcan midwife toad. *Journal of Herpetology*, 31, 2: 251–257
- Calabrese J. M., Fagan W. F. 2004. Lost in time, lonely, and single: reproductive asynchrony and the Allee effect. *The American Naturalist*, 164,1: 25–37
- Callander S., Kahn A. T., Hunt J., Backwell P. R. Y., Jennions M. D. 2013. The effects of competitors on calling effort and life-span in male field crickets. *Behavioral Ecology*, 24, 5: 1251–1259
- Chiykowski I. N. 1970. Notes on the biology of the leafhopper *Aphrodes bicincta* (Homoptera: Cicadellidae) in the Ottawa area. *The Canadian Entomologist*, 102, 6: 750–758
- Claridge M. F. 1985. Acoustic signals in the homoptera: behavior, taxonomy, and evolution. *Annual Review of Entomology*, 30: 297–317
- Claridge M. F., de Vrijer P. W. F. 1993. Reproductive behavior: the role of acoustic signals in species recognition and speciation. V: *Planthoppers, their ecology and management*. Denno R. F., Perfect T. J. (eds.). New York, Chapman & Hall: 216–233
- Claridge M. F., Morgan J. C. 1993. Geographical variation in acoustic signals of the planthopper *Nilaparvata bakeri* (Muir) in Asia: species recognition and sexual selection. *Biological Journal of the Linnean Society*, 48: 267–281
- Clayton D. 2005. Substrate (acoustic/vibrational) communication and ecology of the ghost crab *Ocypode jousseaumei* (Brachyura: Ocypodidae). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 38, 1: 53–70
- Cocroft R. B., Gogala M., Hill, P. S. M., Wessel A. 2014. Fostering research progress in a rapidly growing field. V: *Studying vibrational communication*. Cocroft R. B., Gogala M., Hill P. S. M., Wessel A. (eds.). Berlin, Heidelberg, Springer: 3–12
- Cocroft R. B., McNett G. D. 2006. Vibratory communication in treehoppers (Hemiptera: Membracidae). V: *Insect sounds and communication: physiology, behaviour, ecology and evolution*. Drosopoulos S., Claridge M. F. (eds.). Boca Raton, Taylor & Francis: 305–317
- Cocroft R. B., Rodríguez R. L. 2005. The Behavioral Ecology of Insect Vibrational Communication. *BioScience*, 55, 4: 323–334
- Čokl A. 2008. Stink bug interaction with host plants during communication. *Journal of Insect Physiology*, 54, 7: 1113–1124
- Čokl A., Bogataj E. 1982. Factors affecting vibrational communication in *Nezara viridula* L. (Heteroptera, Pentatomidae). *Biološki vestnik*, 30, 1: 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 – European Journal of Physiology*, 439, 7: 313–332
- 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., Zorović M., Žunič A., Virant-Doberlet M. 2005. Tuning of host plants with vibratory songs of *Nezara viridula* (L.) Heteroptera: Pentatomidae). *The Journal of Experimental Biology*, 208, 8: 1481–1488
- 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
- Dabelsteen T. 2005. Public, private or anonymous? Facilitating and countering eavesdropping. V: *Animal Communication networks*. McGregor P. K. (ed.). Cambridge, Cambridge University Press: 38–62
- de Groot M., Čokl A., Virant-Doberlet M. 2011a. Search behaviour of two hemipteran species using vibrational communication. *Central European Journal of Biology*, 6, 5: 756–769
- de Groot M., Čokl A., Virant-Doberlet M. 2011b. Species identity cues: possibilities for errors during vibrational communication on plant stems. *Behavioral Ecology*, 22, 6: 1209–1217
- de Groot M., Derlink M., Pavlovčič P., Prešern J., Čokl A., Virant-Doberlet M. 2012. Duetting behaviour in the leafhopper *Aphrodes makarovi* (Hemiptera: Cicadellidae). *Journal of Insect Behavior* 25, 5: 419–440
- De Luca P. A., Cocroft R. B. 2011. The influence of age on male mate-searching behaviour in thornbug treehoppers. *Ethology* 117, 5: 440–450
- Derlink M. 2014. Vibracijski signali, reproduktivna izolacija in nastanek vrst v rodu *Aphrodes* Curtis, 1883 (Hemiptera: Cicadellidae). Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 115 str.
- Derlink M., Pavlovčič P., Stewart A. J. A., Virant-Doberlet M. 2014. Mate recognition in duetting species : the role of male and female vibrational signals. *Animal Behaviour*, 90: 181–193
- De Souza L. R., Kasumovic M. K., Judge K. A., Morris G. K. 2011. Communicating male size by tremulatory vibration in a Columbian rainforest katydid *Gnathoclitia sodalis* (Orthoptera, Tettigoniidae). *Behaviour* 148, 3: 341–357
- de Vrijer P. W. F. 1986. Species distinctiveness and variability of acoustic calling signals in the planthopper genus *Javesella* (Homoptera: Delphacidae). *Netherlands Journal of Zoology*, 36, 1: 162–175
- de Winter A. J., Rollenhagen T. 1990. The importance of male and female acoustic behaviour for reproductive isolation in *Ribautodelphax* planthoppers (Homoptera: Delphacidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 40, 2: 191–206
- Dietrich C. H. 2004. Phylogeny of the leafhopper subfamily Evacanthinae with a review of Neotropical species and notes on related groups (Hemiptera: Membracoidea: Cicadellidae). *Systematic Entomology*, 29, 4: 455–487
- Douglas A. E. 2006. Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. *Journal of Experimental Botany*, 57, 4: 747–754

- Dowling D. K., Simmons L. W. 2009. Reactive oxygen species as universal constraints in life-history evolution. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 276, 1663: 1737–1745
- Dukas R. 2006. Learning in the context of sexual behaviour in insects. *Animal Biology*, 56, 2: 125–141
- Dukas R. 2008. Evolutionary biology of insect learning. *Annual Review of Entomology*, 53: 145–160
- Emerson S. B., Boyd S. K. 1999. Mating vocalizations of female frogs: control and evolutionary mechanisms. *Brain, Behaviour and Evolution*, 53, 4: 187–197.
- Endler J. A. 1993. Some general comments on the evolution and design of animal communication systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological sciences*, 340, 1292: 215–225
- Endler J. A., Basolo A. L. 1998. Sensory ecology, receiver biases and sexual selection. *Trends in Ecology and Evolution*, 13, 10: 415–420
- Fernandez-Montraveta C., Schmitt A. 1994. Substrate-borne vibrations produced by male *Lycosa tarentula fasciiventris* (Araneae, Lycosidae) during courtship and agonistic interactions. *Ethology*, 97, 1–2: 81–93
- Fitzsimmons L. P., Bertram S. M. 2011. The calling songs of male spring field crickets (*Gryllus veletis*) change as males age. *Behaviour*, 148: 1045–1065
- Fowler-Finn K. D., Rodríguez R. L. 2013. Repeatability of mate preference functions in *Enchenopa* treehoppers (Hemiptera: Membracidae). *Animal Behaviour*, 85, 2: 493–499
- Geissmann T. 2000. Duet songs of the siamang *Hylobates syndactylus*. I. Structure and organisation. *Primate Report*, 56: 33–60
- Gerhardt H. C., Huber F. 2002. Acoustic communication in Insects and Anurans. 1st ed. Chicago, The University of Chicago Press: 542 str.
- Gogala M. 1995. Songs of four cicada species from Thailand. *Bioacoustics*, 6, 2: 101–116
- Greenfield, M. D. 2002. Signalers and Receivers: Mechanisms and Evolution of Arthropod Communication. Oxford, Oxford University Press: 432 str.
- Gross M. R. 1996. Alternative reproductive strategies and tactics: diversity within sexes. *Trends in Ecology and Evolution*. 11, 2: 92–98
- Gullan P. J., Martin J. H. 2009. Sternorrhyncha (jumping plant-lice, whiteflies, aphids, and scale insects). V: *Encyclopedia of Insects*. Resh V. H., Cardé R. T. (eds.). 2nd ed. San Diego, Elsevier: 957–967
- Hall M. L. 2004. A review of hypotheses for the functions of avian duetting. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 55, 5: 415–430
- Hall M. L. 2009. A review of vocal duetting in birds. *Advances in the Study of Behavior*, 40, 67–121
- Hamilton K. G. A. 1983. Introduced and native leafhoppers common to the old and new worlds (Rhynchota: Homoptera: Cicadellidae). *Canadian Entomologist*, 115, 5: 473–511
- Harris V. E., Todd J.W., Mullinix B. G. 1984. Color change as an indicator of adult diapause in the soujtjern green stink bug *Nezara viridula*. *Journal of Agricultural Entomology* 1, 1: 82–91
- Hartbauer M., Römer H. 2014. From microseconds to seconds and minutes – time computation in insect hearing. *Frontiers in Physiology*, 5: 138

- Heady S. E. 1993. Factors affecting female sexual receptivity in the planthopper, *Prokelisia dolus*. *Physiological Entomology*, 18, 3: 263–270
- Heady S. E., Nault L. R., Shambaugh G. F., Fairchild L. 1986. Acoustic and mating behavior of *Dalbulus leafhoppers* (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 79, 4: 727–736
- Henry C. S., Wells M. L. M. 2006. Testing the ability of males and females to respond to altered songs in the duetting green lacewing *Chrysoperla plorabunda* (Neuroptera: Chrysopidae). *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 61, 1: 39–51.
- Henry C. S., Wells M. L. M. 2009. Sexually dimorphic intrasexual duetting in an otherwise monomorphic green lacewing (Neuroptera, Chrysopidae, *Chrysoperla plorabunda*): sexual selection or sex recognition. *Journal of Insect Behaviour*, 22, 4: 289–312
- Henschel J. R. 2002. Long-distance wandering and mating by the dancing white lady spider (*Leucorchestris arenicola*) (Araneae, Sparassidae) across Namib dunes. *Journal of Arachnology*, 30: 321–330
- Hill, P. S. M. 2008. *Vibrational Communication in Animals*. 1st ed. Cambridge, Harvard University Press: 272 str.
- Hollander M., Wolfe D. A. 1973. *Nonparametric statistical methods*. 2nd ed. New York, Wiley: 503 str.
- Holzinger W. E., Seljak G. 2001. New records of planthoppers and leafhoppers from Slovenia, with a checklist of hitherto recorded species (Hemiptera: Auchenorrhyncha). *Acta Entomologica Slovenica*, 9, 1: 39–66
- Humfeld S. C. 2013. Condition-dependent signaling and adoption of mating tactics in an amphibian with energetic display. *Behavioral Ecology* 24, 4: 859–870
- Hunt J., Brooks R., Jennions M. D., Smith M. J., Bentsen C. L., Bussière L. F. 2004. High-quality male field crickets invest heavily in sexual display but die young. *Nature*, 432, 7020: 1024–1027
- Hunt J., Jennions M. D., Spyrou N., Brooks R. 2006. Artificial selection on male longevity influences age-dependent reproductive effort in the black field cricket *Teleogryllus commodus*. *The American Naturalist*, 168, 3: E72–E86
- Hunt R. E., Morton T. L. 2001. Regulation of chorusing in the vibrational communication system of the leafhopper *Graminella nigrifrons*. *American Zoologist*, 41: 1222–1228
- Hunt R. E., Nault, L. R. 1991. Roles of interplant movement, acoustic communication and phototaxis in mate-location behavior of the leafhopper *Graminella nigrifrons*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 28, 5: 315–320
- Ichikawa T. 1982. Density-related changes in male-male competitive behavior in the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae). *Applied Entomology and Zoology*, 17: 439–452
- Irschick D. J., Herrel A., Vanhooydonck B., van Damme R. 2007. A functional approach to sexual selection. *Functional Ecology*, 21: 621–626
- Jennions M. D., Møller A. P., Petrie M. 2001. Sexually selected traits and adult survival: a meta-analysis. *The Quarterly Review of Biology*, 76, 1: 3–36
- Jennions M. D., Petrie M. 1997. Variations in mate choice and mating preferences: a review of causes and consequences. *Biological Reviews*, 72, 2: 283–327
- John G. T., Huber C. 2005. *Instruction manual OXY-4; 4-channel Fiber-Optic Oxygen Meter*. Regensburg, PreSens - Precision Sensing GmbH: 44 str.

- Johnstone R. A. 1995. Sexual selection, honest advertisement and the handicap principle: reviewing the evidence. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 70, 1: 1–65
- Judge K. A., Ting J. J., Gwynne D. T. 2008. Condition dependence of male life span and calling effort in a field cricket. *Evolution*, 62, 4: 868–878
- Kanmiya K. 2006. Communication by vibratory signals in Diptera. V: *Insect sounds and communication: physiology, behaviour, ecology and evolution*. Drosopoulos S., Claridge M. F. (ur.). Boca Raton, Taylor & Francis: 381–396
- 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
- Kiflawi M., Gray D. A. 2000. Size-dependent response to conspecific mating calls by male crickets. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 267, 1458: 2157–2161
- Kiritani K. 2006. Predicting impacts of global warming population dynamics and distribution of arthropods in Japan. *Population Ecology*, 48, 1: 5–12
- Klein J. P., Moeschberger M. L. 2003. *Survival analysis: techniques for censored and truncated data*. 2nd ed. New York, Springer: 538 str.
- Kokko H., Jennions M. D., Brooks R. 2006. Unifying and testing models of sexual selection. *Annual Review of Ecology and Systematics* 37, 1: 43–66
- Kokko H., Rankin D. J. 2006. Lonely hearts or sex in the city? Density dependent effects in mating systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 361: 319–334
- Kokko H., Wong B. B. M. 2007. What determines sex roles in mate searching? *Evolution*, 61, 5: 1162–1175
- Kotiaho J. S. 2000. Testing the assumptions of condition handicap theory: costs and condition dependence of a sexually selected trait. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 48, 3: 188–194
- Kotiaho J. S. 2001. Costs of sexual traits: a mismatch between theoretical considerations and empirical evidence. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 76, 3: 365–376
- Kotiaho J. S., Alatalo R. V., Mappes J., Parri S. 2004. Adaptive significance of synchronous chorusing in an acoustically signalling wolf spider. *Proceedings of the Royal Society B*, 271, 1550: 1847–1850
- Kotiaho J. S., Alatalo R. V., Mappes J., Nielsen M. G., Parri S., Rivero A. 1998a. Energetic costs of size and sexual signalling in a wolf spider. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 265, 1411: 2203–2209
- Kotiaho J. S., Alatalo R. V., Mappes J., Parri S., Rivero A. 1998b. Male mating success and risk of predation in a wolf spider: a balance between sexual and natural selection. *Journal of Animal Ecology*, 67, 2: 287–291
- Kovach K. A., Hall M. L., Vehrencamp, S. L., & Mennill, D. J. 2014. Timing isn't everything: responses of tropical wrens to coordinated duets, uncoordinated duets and alternating solos. *Animal Behaviour*, 95: 101–109
- Kronstedt T. 1996. Vibratory communication in the wolf spider *Hygrolycosa rubrofasciata* (Araneae, Lycosidae). *Revue Suisse de Zoologie*, 1: 341–354

- Kuhelj A., de Groot M., Pajk F., Simčič T., Virant-Doberlet M. 2015. Energetic cost of vibrational signalling in a leafhopper. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 69, 5: 815–828
- Lampert W. 1984. The measurement of respiration. V: A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. Downing J. A., Rigler F. H. (eds.). 2nd ed. Oxford, Blackwell: 413–468
- Larsson M. 2012. Incidental sounds of locomotion in animal cognition. *Animal Cognition*, 15, 1: 1–13
- Lee H.-J., Loher W., 1993. The mating strategy of the male short-tailed cricket *Anurogryllus muticus* de Geer. *Ethology*, 95, 4: 327–344
- Legendre F., Marting P. R., Cocroft R. B. 2012. Competitive masking of vibrational signals during mate searching in a treehopper. *Animal Behaviour*, 83, 2: 361–368
- Lighton J. R. B. 1985. Minimum cost of transport and ventilatory patterns in three African beetles. *Physiol Zoology*, 58, 4: 390–399
- Lighton J. R. B. 1987. Cost of tokking: the energetics of substrate communication in the tok-tok beetle, *Psammodes striatus*. *Journal of Comparative Physiology B*, 157, 1: 11–20
- Lighton J. R. B., Halsey L. G. 2011. Flow-through respirometry applied to chamber systems: pros and cons, hints and tips. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 158, 3: 265–275
- Maan M. E., Seehausen O. 2011. Ecology, sexual selection and speciation. *Ecology Letters*, 14, 6: 591–602
- Mappes J., Alatalo R. V., Kotiaho J., Parri S. 1996. Viability costs of condition-dependent sexual male display in a drumming wolf spider. *Proceedings of the Royal Society B*, 263, 1371: 785–789
- Mazzoni V., Lucchi A., Čokl A., Prešern J., Virant-Doberlet M. 2009a: Disruption of the reproductive behaviour of *Scaphoideus titanus* by playback of vibrational signals. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 133, 2: 174–185
- Mazzoni V., Polajnar J., Virant-Doberlet M. 2015. Signal quality and mate choice: secondary spectral components of substrate borne vibrational signals affect male preference. *Behavioural Processes*, 115: 53–60
- Mazzoni V., Prešern J., Lucchi A., Virant-Doberlet M. 2009b: Reproductive strategy of the Nearctic leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae). *Bulletin of Entomological Research*, 99, 4: 401–413
- McGregor P. K. (ed.). 2005: *Animal Communication Networks*. Cambridge, Cambridge University Press. 672 str.
- McGregor P. K., Peake T. M. 2000: Communication networks: social environments for receiving and signalling behavior. *Acta Ethologica*, 2, 2: 71–81
- McLain D. K. 1980. Female choice and the adaptive significance of prolonged copulation in *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Psyche: A Journal of Entomology*, 87, 3–4: 325–336
- McNett G. D., Miles R. N., Homentcovschi D., Cocroft R. B. 2006. A method for two-dimensional characterization of animal vibrational signals transmitted along plant stems. *Journal of Comparative Physiology A*, 192, 12: 1245–1251
- Mendelson T. C., Shaw K. L. 2012. The (mis)conception of species recognition. *Trends in Ecology and Evolution*, 27, 8: 421–427

- Mennill D. J., Vehrencamp, S. L. 2008. Context-dependent functions of avian duets revealed by microphone-array recordings and multispeaker playback. *Current Biology*, 18, 17: 1314–1319
- Mery F. 2013. Natural variation in learning and memory. *Current Opinion in Neurobiology*, 23, 1: 52–56
- Michelsen A., Fink F., Gogala M., Traue D. 1982. Plants as transmission channels for insect vibrational songs. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 11, 1: 269–281
- Miklas N., Čokl A., Renou M., Virant-Doberlet M. 2003a. Variability of vibratory signals and mate choice selectivity in the southern green stink bug. *Behavioural Processes*, 61, 3: 131–142
- Miklas N., Lasnier T., Renou M. 2003b. Male bugs modulate pheromone emission in response to vibratory signals from conspecifics. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 3: 561–574
- Miranda X. 2006: Substrate-Borne Signal Repertoire and Courtship Jamming by Adults of *Ennya chrysur* (Hemiptera: Membracidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 99, 2: 374–386
- Morehouse N. I., Nakazawa T., Booher C.M., Jeyasingh P., Hall M. D. 2010. Sex in material world: why the study of sexual reproduction and sex-specific traits should become more nutritionally explicit. *Oikos*, 119, 5: 766–768
- Nahirney P. C., Forbes J. G., Morris H. D., Chock S. C., Wang K. 2006. What the buzz was all about: superfast song muscles rattle tymbals of male periodical cicadas. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 20, 12: 2017–2026
- Nickel H., Remane R. 2002. Check list of the planthoppers and leafhoppers of Germany, with notes on food plants, diet width, life cycles, geographic range and conservation status. *Beiträge zur Zikadenkunde*, 5: 27–67
- Noh S. Henry C. S. 2010. Sexually monomorphic mating preferences contribute to premating isolation based on song in European green lacewings. *Evolution*, 64, 1: 261–270
- Nuhardiyati M., Bailey W. 2005. Calling and duetting behavior in the leafhopper *Balclutha incisa* (Hemiptera: Cicadellidae: Deltocephalinae): opportunity for female choice? *Journal of Insect Behavior*, 18, 2: 259–280
- Okada K., Pitchers W. R., Sharma M. D., Hunt J., Hosken D. J. 2011. Longevity, calling effort, and metabolic rate in two populations of cricket. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65,9: 1773–1778
- Oliveira R. F., Taborsky M., Brockmann H. J. 2008. *Alternative Reproductive Tactics: an Integrative Approach*. 1st ed. Cambridge, Cambridge University Press: 507 str.
- Ossiannilsson, F. 1949. Insect drummers. A study on the morphology and function of the sound-producing organ of Swedish Homoptera Auchenorrhyncha with notes on their sound-production. *Opuscula Entomologica Supplementum*, X: 1–145
- 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
- Otter K. A., Ratcliffe L. 2005. Enlightened decisions: female perspectives on communication networks. V: *Communication Networks*. McGregor P. K. (ed.). Cambridge, Cambridge University Press: 133–151

- Panhuis T. M., Butlin R., Zuk M., Tregenza T. 2001. Sexual selection and speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, 7: 364–371
- Panizzi A. R., Parra J. R. P., Santos C. H., Carvalho D. R. 2000. Rearing the southern green stink bug using an artificial dry diet and an artificial plant. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 35, 9: 1709–1715
- Parri S., Alatalo R. V., Kotiaho J., Mappes J. 1997. Female choice for male drumming in the wolf spider *Hygrolycosa rubrofasciata*. *Animal Behaviour*, 53: 305–312
- Parri S., Alatalo R. V., Kotiaho J., Mappes J., Rivero A. 2002. Sexual selection in the wolf spider *Hygrolycosa rubrofasciata*: female preference for drum duration and pulse rate. *Behavioral Ecology*, 13, 5: 615–621
- Percy D. M., Day M. F. 2005. Observations of unusual acoustic behaviour in two Australian leafhoppers (Hemiptera, Cicadellidae). *Journal of Natural History*, 39, 38: 3407–3417
- Percy D. M., Taylor G. S., Kennedy M. 2006. Psyllid communication: acoustic diversity, mate recognition and phylogenetic signal. *Invertebrate Systematics*, 20, 4: 431–445
- Pillay N., Rymer T. L. 2012. Behavioural divergence, interfertility and speciation: A review. *Behavioural Processes*, 91, 3: 223–235
- Polajnar J., Eriksson A., Stacconi Rossi M. V., Lucchi A., Anfora G. et al. 2014. The process of pair formation mediated by substrate-born vibrations in small insect. *Behavioral Processes*, 201, 107: 68–78
- Polajnar J., Svenšek D., Čokl A. 2012. Resonance in herbaceous plant stems as a factor in vibrational communication of pentatomid bugs (Heteroptera; Pentatomidae). *Journal of the Royal Society Interface*, 9, 73: 1898–1907
- Popper A. N., Salmon M., Horch K. W. 2001. Acoustic detection and communication by decapod crustaceans. *Journal of Comparative Physiology A*, 187, 2: 83–89
- Prestwich K. N. 1994. The energetics of acoustic signaling in anurans and insects. *American Zoologist* 34, 6: 625–643
- Prestwich K. N., O'Sullivan K. 2005. Simultaneous measurement of metabolic and acoustic power and the efficiency of sound production in two mole cricket species (Orthoptera: Gryllotalpidae). *The Journal of Experimental Biology*, 208, 8: 1495–1512
- Prestwich K. N., Walker T. J. 1981. Energetics of singing in crickets: effects of temperature in three trilling species (Orthoptera: Gryllidae). *Journal of comparative physiology*, 143, 2: 199–212
- Pringle J. W. S. 1957. The structure and evolution of the organs sound-production in cicadas. *Proceedings of the Linnean Society of London*, 167, 2: 144–159
- Reinhold K. 1999. Energetically costly behaviour and the evolution of resting metabolic rate in insects. *Functional Ecology*, 13, 2: 217–224
- Reinhold K. 2011. Variation in acoustic signalling traits exhibits footprints of sexual selection. *Evolution*, 65, 3: 738–745
- Robinson D. J., Hall M. J. 2002. Sound Signalling in Orthoptera. V: *Advances in Insect Physiology*. Evans P. (ed.). Elsevier Ltd., 29, str.: 151–278
- Rodríguez R. L., Barbosa F. 2014. Mutual behavioral adjustment in vibrational duetting. V: *Studying vibrational communication*. Cocroft R. B., Gogala M., Hill P. S. M., Wessel A. (eds.). Berlin, Heidelberg, Springer: 147–169

- Rodríguez R. L., Boughman J. W., Gray D. A., Hebets E. A., Höbel G., Symes L. B. 2013. Diversification under sexual selection, the relative roles of mate preference strength and the degree of divergence in mate preferences. *Ecology Letters*, 16, 8: 964–974
- Rodríguez R. L., Cocroft R. B. 2006. Divergence in Female Duetting Signals in the *Enchenopa binotata* Species Complex of Treehoppers (Hemiptera: Membracidae). *Ethology*, 112, 12: 1231–1238
- Rodríguez R. L., Haen C., Cocroft R. B., Fowler-Finn K. D. 2012. Males adjust signalling effort based on female mate-preference cues. *Behavioral Ecology*, 23, 6: 1218–1225
- Rodríguez R. L., Ramaswamy K., Cocroft R. B. 2006. Evidence that female preferences have shaped male signal evolution in a clade of specialized plant-feeding insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273, 1601: 2585–2593
- Rodríguez R. L., Sullivan L. E., Cocroft R. B. 2004. Vibrational communication and reproductive isolation in the *Enchenopa binotata* species complex of treehoppers (Hemiptera: Membracidae). *Evolution* 58, 3: 571–578
- Römer H., Lang A., Hartbauer M. 2010. The signaller's dilemma: a cost–benefit analysis of public and private communication. *PLoS ONE* 5: e13325
- Rundle H. D., Nosil P. 2005: Ecological speciation. *Ecology Letters*, 8, 3: 336–352
- Ryan M. J. 1988. Energy, calling, and selection. *American Zoologist*, 28: 885–898
- Ryan M. J., Keddy-Hector A. 1992. Directional patterns of female mate choice and the role of sensory biases. *American Naturalist*, 139: S4–S35
- Safran R. J., Scordato E. S. C., Symes L. B., Rodríguez R. L., Mendelson T. C. 2013. Contributions of natural and sexual selection to the evolution of premating reproductive isolation: a research agenda. *Trends in Ecology and Evolution*, 28, 11: 643–650
- Schaefer S. W. 2009. Prosorrhyncha (Heteroptera and Coleorrhyncha). V: *Encyclopedia of Insects*. Resh V. H., Cardee R. T. (eds.). 2nd ed. New York, Academic Press: 839–855
- Scharf I., Peter F., Martin O. Y. 2013. Reproductive trade-offs and direct costs for males in arthropods. *Evolutionary Biology*, 40, 2: 169–184
- Schmitt A., Schuster M., Barth F. G. 1992. Male competition in a wandering spider (*Cupiennius getazi*, Ctenidae). *Ethology*, 90, 4: 293–306
- Seljak G. 2004 Contribution to the knowledge of planthoppers and leafhoppers of Slovenia (Hemiptera, Auchenorrhyncha). *Acta Entomologica Slovenica*, 12, 2: 189–216
- Shulz T. M., Whitehead H., Gero S., Rendell L. 2008. Overlapping and matching of codas in vocal interactions between sperm whales: insights into communication function. *Animal Behaviour*, 76, 6: 1977–1988
- Shuster, S. M., Wade, M. J. 2003. *Mating Systems and Mating Strategies*. Princeton, Princeton University Press: 533 str.
- Siegel S., Castellan N. J. 1988. *Non-parametric statistics for the behavioural sciences*. 2nd ed. New York, McGraw-Hill Humanities/Social Sciences/Languages, 399 str.
- Simčič T., Pajk F., Brancelj A. 2010. Electron transport activity and oxygen consumption of two amphibious isopods, epigeal *Ligia italica* Fabricius and hypogean *Titanethes albus* (Koch) in air and water. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 43, 2: 149–156
- Snedecor G. W., Cochran W. G. 1967. *Statistical methods*. 6th ed. Iowa, Iowa State University Press, 593 str.

- Stewart K. W., Sandberg J. B. 2006. Vibratory communication and mate searching behaviour in stoneflies. V *Insect sounds and communication: physiology, behaviour, ecology and evolution*. Drosopoulos S., Claridge M. F. (eds.). Boca Raton, Florida, Taylor & Francis: 179–186
- Stumpner A., von Helversen D. 2001. Evolution and function of auditory systems in insects. *Naturwissenschaften*, 88, 4: 159–170
- Sullivan-Beckers, L., Cocroft R. B. 2010. The importance of female choice, male-male competition and signal transmission as causes of selection on male mating signals. *Evolution*, 64, 11: 3158–3171
- Templeton C. N., Mann N. I., Ríos-Chelén A. A., Quiros-Guerrero E., Macías Garcia C., Slater P. J. B. 2013. An experimental study of duet integration in the happy wren *Pheigopedius felix*. *Animal Behaviour*, 86: 821–827
- Thompson S. N. 2003. Trehalose – the insect ‘blood’ sugar. *Advances in Insect Physiology*, 31: 205–285
- Tillman P. G., Aldrich J. R., Khrimian A., Cottrell T. E. 2010. Pheromone attraction and cross-attraction of *Nezara*, *Acrosternum* and *Euschistus* spp. Stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) in the field. *Environmental Entomology* 39, 2: 610–617
- Tishechkin D. Y. 1998: Acoustic signals and morphological characters of leafhoppers belonging to *Aphrodes bicinctus* group (Homoptera: Cicadellidae) from European Russia. *Entomological Review*, 78, 3: 370–377
- Tishechkin D. Y. 2000. Vibrational communication in Aphrodinae leafhoppers (Deltocephalinae auct., Homoptera: Cicadellidae). *Russian Entomological Journal*, 9, 1: 1–66
- Todt D., Naguib M. 2000. Vocal interactions in birds; the use of song as a model in communication. *Advances in the Study of Behavior*, 29: 247–296
- Uhl G., Elias D. O. 2011. Communication. V: *Spider Behaviour: Flexibility and Versatility*. Heberstein M. E. (ed.). 1st ed. Cambridge, Cambridge University Press: 128–189
- Valeur B. 2001. *Molecular fluorescence: principles and applications*. 1st ed. Weinheim, Wiley-VCH: 250 str.
- Virant-Doberlet M., Čokl A. 2004: Vibrational communication in insects. *Neotropical Entomology*. 33, 2: 121–134
- Virant-Doberlet M., Čokl A., Zorović M. 2006. Use of substrate vibrations for orientation: from behaviour to physiology. V: *Insect sounds and communication: physiology, behaviour, ecology and evolution*. Drosopoulos S., Claridge M. F. (ed.). Boca Raton, Taylor & Francis: 81–97
- Virant-Doberlet M., King R. A. Polajnar J., Symondson W. O. C. 2011. Molecular diagnostics reveal spiders that exploit vibrational signals used in sexual communication. *Molecular Ecology*, 20, 10: 2204–2216
- Virant-Doberlet M., Mazzoni V., de Groot M., Polajnar J., Lucchi A., Symondson W. O. C., Čokl A. 2014. Vibrational communication networks: eavesdropping and biotic noise. V: *Studying vibrational communication*. Cocroft R. B., Gogala M., Hill P. S. M., Wessel A. (eds.). Berlin, Heidelberg, Springer: 93–123
- Virant-Doberlet M., Žežlina I. 2007. Vibrational communication of *Metcalfa pruinosa* (Say) (Hemiptera: Fulgoroidea: Flatidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 100, 1: 73–82

- Weintraub P. G., Beanland L. 2006. Insect vectors of phytoplasmas. *Annual Review of Entomology*, 51: 91–111
- Wessel A., Mühlenthaler R., Hartung V., Kuštor C., Gogala M. 2014. The tymbal: evolution of a complex vibration-producing organ in *Tymbalia* (Hemiptera exl. Sternorrhyncha). V: *Studying vibrational communication*. Coccoft R. B., Gogala M., Hill P. S. M., Wessel A. (eds.). Berlin, Heidelberg, Springer: 147–149
- Wiley H. R. 2006. Signal detection in animal communication. *Advances in the Study of Behavior*, 36: 217–247
- Wilkins, M. R., Seddon, N., Safran, R. J. 2013. Evolutionary divergence in acoustic signals: causes and consequences. *Trends in Ecology and Evolution*, 28, 3: 156–166
- Wood T. K., Guttman, S. I. 1983. *Enchenopa binotata* complex: sympatric speciation? *Science*, 220, 4594: 310–312
- Woods W. A., Hendrickson H., Mason J., Lewis S. M. 2007. Energy and predation costs of firefly courtship signals. *The American Naturalist*, 170, 5: 702–708
- Zahavi A. 1977. The cost of honesty (further remarks on the handicap principle). *Journal of Theoretical Biology*, 67, 3: 603–605
- Zgonik V., Čokl A. 2014. The roles of signals of different modalities in initiating vibratory communication in *Nezara viridula*. *Central European Journal of Biology* 9, 2: 200–211
- Zuk M., Kolluru G. R., 1998. Exploitation of Sexual Signals by Predators and Parasitoids. *The Quarterly Review of Biology* 73, 4: 415–438
- 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

ZAHVALA

Zahvalila bi se mentorici doc. dr. Meti Virant-Doberlet za raziskovalno svobodo in nasvete pri delu. Hvala prof. dr. Andreju Blejcu za pomoč in napotke pri statistični obdelavi podatkov.

Tatjani Simčič in Franji Pajk z Oddelka za raziskovanje sladkovodnih in kopenskih ekosistemov bi se zahvalila za usmerjanje pri meritvah porabe kisika. Hvala Alenki, Andreji, Andreju, Danilu, Jerneju, Maartenu, Maji D., Maji Z., Nataši in Veri z Oddelka za entomologijo za zanimive službene dni. Zahvala gre tudi Roku Šturmu za družbo in pomoč pri terenskem delu in na poletni šoli ter dragoceno pomoč pri oskrbi škržatkov.

Hvala članom komisije, prof. dr. Janku Božiču, prof. dr. Andreju Čoklu in prof. dr. Dušanu Devetaku, za sodelovanje.

Hvala Živi Ramšak aka Anki Kuhelj (NIB, 2013) tako za strokovne kot tudi trivialne debate ob jutranji kavi.

Zahvalila bi se še Kristini M., Blažu D. in Luki M. za blaženje stresa.

Hvala staršem, Janezu in prijateljem za pozitivne misli in potrpežljivo prenašanje retoričnih vprašanj. Zahvala pa gre tudi mojim trem papigam za glasno bodrenje ob nastajanju te naloge.

Hvala.

PRILOGA A

Primerjave dolžin neprekritega dela odzivnega napeva samice vrste *Aphrodes makarovi* v poskusih, v katerih smo samicam izmenoma predvajali pozivne napeve samca različnih dolžin. Prikazane so P vrednosti posameznih primerjav (Wilcoxonov test predpisanih rangov z Bonferroni korekcijo).

Comparison of non-overlapped duration of *Aphrodes makarovi* female replies in trials in which females were in alternation stimulated with male advertisement calls of different durations. P values are shown (Wilcoxon signed rank test with Bonferroni correction).

	11 - 11	11 - 16	11 - 6	16 - 11	16 - 16	16 - 6	6 - 11	6 - 16	6 - 6	11 - 11	11 - 16	11 - 6	16 - 11	16 - 16	16 - 6	6 - 11	6 - 16
11 - 16	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11 - 6	1	0,434	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16 - 11	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16 - 16	0,016	1	0,001	0,613	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16 - 6	1	1	1	1	0,064	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 - 11	1	1	1	1	1	0,962	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 - 16	1	1	0,367	1	1	0,082	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 - 6	1	0,005	1	0,033	0,002	1	0,205	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11 - 11	1	1	1	1	0,002	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
11 - 16	1	0,004	1	1	0,160	1	1	0,100	1	-	-	-	-	-	-	-	-
11 - 6	1	1	0,006	1	1	0,259	1	0,128	1	1	-	-	-	-	-	-	-
16 - 11	1	1	0,082	0,016	1	0,588	1	0,005	1	0,320	1	-	-	-	-	-	-
16 - 16	0,058	1	0,001	0,613	1	0,012	1	0,002	0,005	0,242	0,815	1	-	-	-	-	-
16 - 6	1	1	0,051	1	1	0,179	1	0,005	0,411	1	1	1	1	1	-	-	-
6 - 11	1	0,852	1	1	0,710	1	0,588	0,710	1	1	1	1	1	0,058	1	-	-
6 - 16	0,852	0,128	1	1	0,001	1	1	0,019	1	0,852	1	0,099	0,029	0,001	0,008	1	-
6 - 6	1	0,012	1	0,023	0,002	1	1	0,007	1	1	0,163	0,128	0,005	0,002	0,014	1	1