

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Jernej POLAJNAR

**VPLIV IZBRANIH DEJAVNIKOV OKOLJA NA
VIBRACIJSKO KOMUNIKACIJO STENICE ZELENE
SMRDLJIVKE (*Nezara viridula* L.)**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Jernej POLAJNAR

**VPLIV IZBRANIH DEJAVNIKOV OKOLJA NA VIBRACIJSKO
KOMUNIKACIJO STENICE ZELENE SMRDLJIVKE (*Nezara viridula* L.)**

DOKTORSKA DISERTACIJA

**INFLUENCE OF SELECTED ENVIRONMENT FACTORS ON VIBRATIONAL
COMMUNICATION OF THE SOUTHERN GREEN STINK BUG (*Nezara
viridula* L.)**

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana, 2013

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete in sklepa Komisije za doktorski študij Univerze v Ljubljani z dne 7. 12. 2011 je bilo potrjeno, da kandidat izpolnjuje pogoje za opravljanje doktorata znanosti na Interdisciplinarnem doktorskem študijskem programu Bioznanosti, znanstveno področje biologija. Za mentorja je bil imenovan prof. dr. Andrej Čokl. Naloga je bila v celoti opravljena na Oddelku za entomologijo Nacionalnega inštituta za biologijo.

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. Marko KREFT
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora: 29. 3. 2013

Doktorsko delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisani se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddal v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Jernej Polajnar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dd
DK	UDK 595.7:591.18(043.2)=163.6
KG	vibracijska komunikacija / spolna komunikacija / okoljski dejavniki / medij / ščitaste stenice / zelena smrdljivka / <i>Nezara viridula</i>
AV	POLAJNAR, Jernej, univ. dipl. biolog
SA	ČOKL, Andrej (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Doktorski študij Bioznanosti, področje biologija
LI	2013
IN	VPLIV IZBRANIH DEJAVNIKOV OKOLJA NA VIBRACIJSKO KOMUNIKACIJO STENICE ZELENE SMRDLJIVKE (<i>Nezara viridula</i> L.)
TD	doktorska disertacija
OP	IX, 87 str., 12 pregl., 31 sl., 135 vir.
IJ	sl
Jl	sl/en
AB	Okolje, predvsem medij za prenos informacij, je ključen dejavnik v komunikaciji živih organizmov. Preučevali smo vpliv lastnosti specifičnega akustičnega okolja (zelenih rastlin), ki ga uporabljajo samice zelene smrdljivke <i>Nezara viridula</i>, na vibracijsko komunikacijo, hkrati pa nas je zanimal pomen drugih osebkov, ki uporabljajo isti komunikacijski kanal in so torej vir šuma. S predvajanjem vibracij v steblo modelne rastline in fizikalnim modeliranjem tega stebila smo dokazali, da je resonanca vzrok za nemonotono spreminjanje amplitude signalov z razdaljo od oddajnika. Nato smo potrdili, da je časovni zamik primernejši parameter signalov od razlike amplitud med senzoričnimi vhodi samca, ki te signale uporablja za orientacijo. Z vedenjskimi poskusi smo dokazali, da je hkratno oglašanje več kot ene samice na isti rastlini običajno, vendar kasneje s poskusi z umetno stimulacijo nismo zaznali diferencialnega odziva na posamezne kombinacije parametrov stimulacije, le splošen odziv na prisotnost stimulacije. Ta se je odražal predvsem v kratkoročnih spremembah ritma oddajanja signalov, s katerimi so samice preprečile natančno usklajenost s časovnimi parametri stimulacije, v manjši meri pa tudi v frekvenčnih spremembah, ki niso bile nujno odziv na stimulacijo. Rezultate smo ovrednotili v kontekstu lastnosti komunikacijskega kanala in vloge spolov pri spolni komunikaciji zelene smrdljivke.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dd

DC UDC 595.7:591.18(043.2)=163.6

CX vibrational communication / sexual communication / environment factors / medium / Pentatomidae / southern green stinkbug / *Nezara viridula*

AU POLAJNAR, Jernej

AA ČOKL, Andrej (supervisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate study of Biosciences, Field: Biology

PY 2013

TI INFLUENCE OF SELECTED ENVIRONMENT FACTORS ON VIBRATIONAL COMMUNICATION OF THE SOUTHERN GREEN STINK BUG (*Nezara viridula* L.)

DT Doctoral dissertation

NO IX, 87 p., 12 tab., 31 fig., 135 ref.

LA sl

AL sl/en

AB The environment, especially the medium for information transfer, is a key factor in communication of living organisms. We studied properties of a specific acoustic environment (herbaceous plant substrate) used by the southern green stink bugs (*Nezara viridula*) for vibrational communication. Additionally, we were interested in the influence of other signallers that use the same communication channel, therefore representing a source of noise. By comparing the properties of vibration excited in a model plant's stem with a physical model of the same stem, we proved that resonance is the cause of non-monotonous changing of signal amplitude with distance from the emitter. We then confirmed that time delay between sensory inputs of a searching male is more reliable than amplitude difference as a parameter used for orientation towards vibration source. Using behavioural experiments, we proved that simultaneous signalling on the same plant by more than one female occurs normally, but we did not manage to show different response to specific combinations of parameters of artificial stimulation, only general response to stimulation. This was observable in short-term changes of signalling rhythm with which the females avoided matching temporal parameters of stimulation. Frequency changes were mostly general and represented response to the stimulation to a lesser degree. The results are discussed in the context of communication channel properties and the role of gender in sexual communication of *N. viridula*.

KAZALO

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
1 UVOD	1
1.1 KOMUNIKACIJA Z VIBRACIJAMI PODLAGE PRI ŽUŽELKAH	1
1.2 PRODUKCIJA VIBRACIJSKIH SIGNALOV	2
1.4 ZAZNAVANJE VIBRACIJ	6
1.5 DRUGI OKOLJSKI DEJAVNIKI	8
1.6 MODELNI ORGANIZEM – ZELENA SMRDLJIVKA	10
1.7 NAMEN RAZISKAVE IN HIPOTEZE	13
2 MATERIAL IN METODE	15
2.1 RESONANČNE LASTNOSTI RASTLINSKEGA TKIVA	15
2.1.1 Rastline	15
2.1.2 Vzbujanje vibracij	17
2.1.3 Modeliranje	19
2.1.4 Zajem in analiza podatkov	21
2.2 PREVAJANJE VIBRACIJSKIH SIGNALOV PREKO RASTLINSKEGA RAZVEJIŠČA	22
2.2.1 Poskusne rastline in živali	22
2.2.2 Potek poskusa	23
2.2.3 Zajem in analiza podatkov	23
2.2.3.1 Modeliranje odziva samca, ki išče samico	24
2.3 HKRATNO OGLAŠANJE DVEH SAMIC ZELENE SMRDLJIVKE NA RASTLINI	25
2.3.1 Poskusne rastline in živali	25
2.3.2 Potek poskusa	25
2.3.3 Zajem in analiza podatkov	26
2.4 ODZIV SAMIC ZELENE SMRDLJIVKE NA SINTETIZIRAN SAMIČIN NAPEV	26
2.4.1 Poskusne živali	26
2.4.2 Stimulacija	26
2.4.3 Potek poskusa	27
2.4.4 Zajem in analiza podatkov	28

3 REZULTATI.....	31
3.1 RESONANČNE LASTNOSTI RASTLINSKEGA TKIVA.....	31
3.1.1 Steblo ciperusa – lastnosti materiala	31
3.1.2 Karakterističen ekvilibracijski čas.....	31
3.1.4 Spreminjanje amplitude vzdolž stebla ciperusa.....	33
3.1.5 Frekvenčni profil sadik fižola.....	40
3.2 PREVAJANJE VIBRACIJSKIH SIGNALOV PREKO RASTLINSKEGA RAZVEJIŠČA	44
3.2.1 »Metoda prvih vrhov«	45
3.2.2 »Metoda vseh vrhov«	48
3.2.3 Korelacija amplitudne ovojnice.....	51
3.3 HKRATNO OGLAŠANJE DVEH SAMIC ZELENE SMRDLJIVKE NA RASTLINI.....	52
3.4 ODZIV SAMIC ZELENE SMRDLJIVKE NA SINTETIZIRAN SAMIČIN NAPEV	54
3.4.1 Analiza posameznih parametrov	55
3.4.1.1 Dominantna frekvenca.....	55
3.4.1.2 Amplituda	58
3.4.1.3 Ponavljalni čas in dolžina pulzov	59
3.4.2 Analiza ritma	60
4 RAZPRAVA.....	63
4.1 FREKVENCA IN AMPLITUDA SIGNALOV S STALIŠČA ODDAJNIKA	63
4.2 FREKVENCA IN AMPLITUDA SIGNALOV S STALIŠČA SPREJEMNIKA	67
4.2.1 Lokalizacija oddajnika.....	68
4.3 VLOGA RITMA V LUČI STRATEGIJE PARJENJA.....	69
5 SKLEPI	71
6 POVZETEK/SUMMARY	72
6.1 POVZETEK	72
6.2 SUMMARY	74
7 VIRI	77

ZAHVALA

KAZALO PREGLEDNIC

Pregl. 1: mere vseh desetih fižolov, pri katerih smo preučevali prenašanje vibracij.	16
Pregl. 2: lastnosti pulzov, s katerimi smo umetno vzbujali steblo ciperusa.	18
Pregl. 3: vrednosti parametrov sintetiziranega samičinega napeva v poskusih.	27
Pregl. 4: kombinacije vrednosti parametrov sintetiziranega samičinega napeva v poskusih.	27
Pregl. 5: primerjava med izračunanimi in izmerjenimi resonančnimi lastnostmi obeh stebel ciperusa.	33
Pregl. 6: absolutna maksimalna hitrost nihanja celotnega frekvenčno moduliranega pulza in v območju 70 – 130 Hz.	43
Pregl. 7: pregled rastlin, živali in napevov v poskusu.	44
Pregl. 8: celokupen delež zanesljivih in nezanesljivih signalov glede na hipotetične vrednosti praga zaznave zamika in razlike amplitud prvega vala vseh posnetih signalov med ipsi- in kontralateralnim pecljem.	46
Pregl. 9: deleži zanesljivih, nezanesljivih in nedoločljivih zamikov ter amplitudnih razlik prvih valov vseh posnetih signalov na posamezni lokaciji, pri praznih vrednostih 0,5 ms in 1 dB.	47
Pregl. 10: delež pravilnih oz. napačnih odločitev hipotetičnega samca, ki se ravna po informaciji dveh zaporednih signalov oz. nadaljnjih, če je informacija izhodiščnega položaja bralnega okvirja konfliktna ali nedoločljiva.	48
Pregl. 11: zanesljivi in nezanesljivi signali glede na delež vrhov, katerih zamik in amplitudna razlika kažeta v ipsi- oz. kontralateralno smer ter povprečje vsakega parametra.	49
Pregl. 12: korelacija amplitudnih ovojníc vseh podrobneje analiziranih signalov samic. ..	51

KAZALO SLIK

Sl. 1: shematski prikaz upogibnega valovanja na prerezu listne ploskve.....	3
Sl. 2: samica zelene smrdljivke (f. <i>smaragdula</i>) na listu srobot, fotografirana južno od Kopra.	11
Sl. 3: shema geometrije sadik fižolov, pri katerih smo preučevali prenašanje vibracij, s točkami registracije in vzbujevalnikom, pritrjenim na konico enega od listov.	16
Sl. 4: shema sintetiziranega čistotonskega pulza za vzbujanje vibracij v stebelu ciperusa...	17
Sl. 5: poskusna postavitve za prevajanje vibracij preko razvejišča stebela in pecljev na fižolu.....	22
Sl. 6: zgledi položajev drsečega bralnega okvirja, pri katerih iščeči samec sprejme bodisi pravilno, bodisi napačno odločitev za nadaljevanje poti.	25
Sl. 7: shema kategorij signalov samičinega pozivnega napeva glede na prekrivanje s pulzi stimulacije.....	30
Sl. 8: oscilogram sinusoidnega pulza s pravokotno pulzno ovojnico in frekvenco, ki se ujema z eno od lastnih frekvenc stebela ciperusa, posnet 10 cm pod točko vzbujanja. ..	31
Sl. 9: oscilogram, ki prikazuje resonančni profil 89,5 cm visokega ciperusa z odrezano listno rozeto, posnet 5 cm od mesta vzbujanja.	32
Sl. 10: Profil amplitude predvajanih pulzov z razdaljo vzdolž obeh stebel ciperusa.	34
Sl. 11: primerjava med spreminjanjem maksimalne amplitude šestega resonančnega vrha pri 109,9 Hz na različnih točkah vzdolž stebela 84 cm visokega ciperusa in vrednostmi, izračunanimi z enačbo (11).	35
Sl. 12: grafa odvisnosti frekvence resonančnih vrhov od dolžine stebela za oba ciperusa v poskusu.....	36
Sl. 13: vrednosti Youngovega modula, izračunane iz trendne funkcije $y=a/L^2$ izmerjene odvisnosti zaporednih lastnih frekvenc od dolžine stebela, za oba premerjena ciperusa.....	37
Sl. 14: primerjava izmerjenega spreminjanja amplitude pulzov pri neresonančnih frekvencah in izmerjenih vrednosti vzdolž stebela 89,5 cm visokega ciperusa.	38
Sl. 15: primerjava frekvenčnih spektrov signala s širokim frekvenčnim vrhom, <i>P. maculiventris</i> MS-T _{irr} z dominantno frekvenco 90 Hz, posnetih pri viru vibracij in 10 cm nižje vzdolž stebela.	39
Sl. 16: kombinirani resonančni profili vseh fižolov.	41
Sl. 17: kombinirani resonančni profili vseh točk.....	42
Sl. 18: maksimalna hitrost (amplituda) frekvenčno moduliranega pulza v celotnem frekvenčnem območju in v območju 70 – 130 Hz, posnetega na različnih točkah vseh desetih fižolov.	43
Sl. 19: vsi pari vrednosti zamik/razlika amplitud pri meritvah prvih valov vseh signalov.....	45
Sl. 20: spreminjanje deleža zanesljivih, nezanesljivih in nedoločljivih signalov glede na prazno vrednost parametra prvega izmerjenega vala.....	46
Sl. 21: število poskusov brez oglašanja in z oglašanjem ene ali obeh samic.	52
Sl. 22: zgled za simultano oddajani sekvenci pozivnega napeva dveh samic zelene smrdljivke, posnetih na sadiki fižola, v delu, kjer je prišlo do alternacije	53

Sl. 23: zgled za simultano oddajani sekvenci pozivnega napeva dveh samic zelene smrdljivke, posnetih na sadiki fižola, v delu, kjer sta bila ritma obeh različna.....	53
Sl. 24: trajanje prve neprekinjene sekvence FCS, dolge vsaj 10 signalov, pri kontroli in stimulaciji.	54
Sl. 25: zgledi štirih variant spreminjanja frekvence med poskusom, tu na primeru poskusov, kjer so bili vsi parametri usklajeni s samičinim oglašanjem.	55
Sl. 26: delež samic, ki so spremenile frekvenco na različne načine ob predvajanju simuliranih napevov z različnimi kombinacijami parametrov.	57
Sl. 27: odvisnost korelacije od frekvence samičinega oglašanja pred začetkom stimulacije.	58
Sl. 28: nekaj primerov spreminjanja amplitude samičinega oglašanja med poskusi.....	59
Sl. 29: število poskusov, v katerih so se analizirani časovni parametri spremenili ali ostali nespremenjeni.....	60
Sl. 30: razlika med napovedanim in dejanskim deležem vsakega od štirih tipov prekrivanja samičinih signalov s pulzi stimulacije v različnih serijah poskusov.	61
Sl. 31: zgled nihanja ponavljalnega časa med zaporednimi signali samičinega pozivnega napeva med stimulacijo.	62

1 UVOD

Preučevanje komunikacije živali je ožje področje etologije, ki se navezuje na več drugih področij naravoslovja, kot so teorija informacij, fizika, kemija in nevroznanost. Definicija njegovega osrednjega subjekta, to je komunikacije živali, ni jasna in splošno sprejeta, tako da slednje predstavlja pomembno konceptualno oviro za napredek področja. Kompleksnost pojava je botrovala temu, da obstaja danes praktično toliko definicij kot je pristopov h preučevanju (Bradbury in Vehrencamp, 1998; Scott-Phillips, 2008). Pričujoče delo se ukvarja z ožjimi vprašanji in ni poskus razreševanja terminoloških ter konceptualnih zagat. Avtorja uvodoma le pojasnjujeta, na katero od definicij se opirata oz. kakšno ogrodje imata zasnova in interpretacija dela.

Po izbrani adaptacionistični definiciji so signali dejanja ali strukture, ki jih lahko označimo kot prilagoditve, katerih funkcija je spremeniti vedenje sprejemnika (Bradbury in Vehrencamp, 1998). Definicija predpostavlja, da ima v povprečju oddajnik korist od izmenjave signala (v smislu naravne selekcije) in da vsebuje signal dovolj zanesljivo informacijo o njegovem stanju, prihodnjih dejanjih ali zunanjem svetu. Na tej podlagi Maynard Smith in Harper (2004) ter drugi avtorji (npr. Bradbury in Vehrencamp, 1998; Greenfield, 2002; Dall in sod., 2005) ločujejo signale od nenamerno izmenjanih informacij, od katerih ima v povprečju korist samo sprejemnik; ne zlahka prevedljiv angleški izraz za ta pojem je *cue*, sem denimo spada zvok, ki ga žival povzroča s premikanjem in ga plenilec izkoristi da jo najde ter upleni. Znotraj okvira »prave« komunikacije ločujemo glede na korist sprejemnika »pošteno« komunikacijo od »manipulativne«.

1.1 KOMUNIKACIJA Z VIBRACIJAMI PODLAGE PRI ŽUŽELKAH

Pri preučevanju vibracijske komunikacije žuželk je poleg nedorečene definicije komunikacije še en pomemben omejujoč dejavnik – dejstvo, da jo ljudje s svojimi čutili zelo težko zaznamo. Za zanesljivo registracijo signalov moramo uporabljati občutljive naprave, širše dostopne šele v sodobnem času, zato je vibracijska komunikacija v primerjavi z zvočno manj poznana. Kljub temu se je v zadnjih nekaj desetletjih nabralo dovolj spoznanj, da ni dvoma o tem, da je vibracijska komunikacija med žuželkami evolucijsko izvirnejša od zvočne in da je za razliko od slednje splošno razširjena (Stumpner in von Helversen, 2001; Virant-Doberlet in Čokl, 2004; Cocco in Rodríguez, 2005; Hill, 2008). Razlogi za to so predvsem funkcionalni: žuželke imajo zaradi majhne telesne velikosti bistvene omejitve pri produkciji in zaznavi akustičnih signalov, ki morajo vsebovati zanesljive informacije o identiteti, lokaciji ter namenu oddajnika. Za učinkovito oddajanje kinetične energije v medij mora imeti vir zvoka polmer najmanj $1/6$ do $1/4$ valovne dolžine (Markl, 1983), kar pomeni, da žuželke ne morejo učinkovito oddajati zvoka nizkih frekvenc (Michelsen in Nocke, 1974), visoke frekvence pa so manj uporabne zaradi drugih fizikalnih in fizioloških omejitev, kot so povečano sipanje od objektov v

akustičnem polju in najvišja frekvenca krčenja mišic pri žuželkah (Michelsen in Nocke, 1974; Römer, 1993; Bennet-Clark, 1998). To je verjeten razlog, da se je komuniciranje z zvokom v daljnem zvočnem polju med členonožci razvilo le pri peščici nesorodnih skupin, kot so kobilice in škržadi, tako da je filogenetsko gledano izjema (Cocroft in Rodríguez, 2005; Wessel, 2006). Pri vidnih signalih je omejitev predvsem na strani sprejemnika, saj imajo žuželke zaradi majhne velikosti težave z zadostno prostorsko ločljivostjo zaznave, zaradi česar ta kanal ni uporaben za natančno identifikacijo oddajnika na daljše razdalje (Greenfield, 2002), dodaten omejujoč dejavnik pa je še gosto rastje, ki predstavlja habitat številnim vrstam žuželk in deluje kot prepreka v vidnem polju. Kemični signali so po drugi strani energetsko in funkcionalno nezahteven način prenosa informacij na daljše razdalje, a pri njih oddajnik nima nadzora nad smerjo in hitrostjo prenosa (Greenfield, 2002). Omejitve posameznih modalitet žuželke zaobidejo tako, da pri kompleksnih interakcijah med osebki, kakršna sta vzdrževanje skupine socialnih žuželk in spolno vedenje, kombinirajo več modalitet dražljajev oz. je modaliteta odvisna od faze vedenjskega vzorca, komunikacijske razdalje in od razmer v mediju.

V splošnem je komunikacija med partnerji ključna komponenta spolnega vedenja, ki ima vlogo pri prepoznavanju in lokalizaciji partnerja, pomembna pa je lahko tudi v procesu spolne selekcije kot indikator kvalitete osebka (npr. Bradbury in Vehrencamp, 1998; Gerhardt in Huber, 2002). Ščitaste stenice za spolno komunikacijo na dolge razdalje uporabljajo agregacijske feromone, ki služijo kot vrstno specifičen atraktant za osebke, da se zberejo v bližini (običajno na isti gostiteljski rastlini) (Aldrich, 1988; Millar, 2005), na krajših razdaljah – torej od razdalje v rangi nekaj metrov neprekinjene podlage do neposrednega fizičnega stika – pa imajo glavno vlogo vibracijski signali, ki so prav tako vrstno specifični (Gogala, 1984; Čokl in Virant-Doberlet, 2003).

1.2 PRODUKCIJA VIBRACIJSKIH SIGNALOV

Za produkcijo pogosto vrstno specifičnih komunikacijskih signalov pri členonožcih je odgovorno specifično gibanje telesa ali specializiranih struktur (Ewing, 1989; Virant-Doberlet in Čokl, 2004). Štirje glavni načini vzbujanja vibracij v podlagi so trkanje, stridulacija, tremulacija in vibriranje (Virant-Doberlet in Čokl, 2004). Specializirane strukture, kot sta stridulum in timbal, imajo običajno vlogo pri zvočni komunikaciji, a so lahko udeležene tudi pri bimodalni komunikaciji, kjer so vibracije »stranski produkt« produkcije zvoka, a kljub temu pomembne pri lokalizaciji oddajnika (Latimer in Schatral, 1983). Obratno situacijo poznamo pri stenicah, kjer imajo predstavniki več družin razvit stridulum, a za znotrajvrstno komunikacijo uporabljajo predvsem vibracije podlage, zvočna komponenta signala pa je praktično neslišna, le pri nekaterih od njih visokofrekvenčna komponenta, ki se razširja po zraku, deluje kot aposematični signal v medvrstni komunikaciji (Gogala M., 2006). Pri predstavnikih poddružine ščitastih stenic Pentatominae je pri produkciji vibracijskih signalov udeležena tudi struktura, nekoliko konfuzno imenovana »timbal«, a ne analogna timbalu pri žuželkah, ki se sporazumevajo z

zvokom (predvsem pojočih ali pravih škržadih). Gre za zraščena prvi in drugi abdominalni tergiti, ki tvorita ogrodje, na katerega se pripenjajo mišice, udeležene pri produkciji signalov (Čokl in Virant-Doberlet, 2003; Gogala, 2006; Čokl, 2008). Nasprotno vpete mišice s sinhronim krčenjem nihajo zadek gor in dol, to nihanje pa se potem preko nog prenese na podlago. Krčenje je v fazi z oddanim nihanjem (Amon, 1990). Tremulacijo oz. tresenje celega telesa uporabljajo predvsem žuželke, ki nimajo specializiranih struktur za vzbujanje vibracij. Zgled jamskih kobilic nakazuje, da je vsaj pri kobilicah to izvoren način mehanske komunikacije (Stritih in Čokl, 2012).

Repertoar vibracijskih napevov je med žuželkami izjemno raznolik. Opisano je kombiniranje signalov, proizvedenih z različnimi mehanizmi (npr. trkanje in vibriranje), različni vzorci frekvenčne in amplitudne modulacije ter različni vzorci dolžine in hitrosti ponavljanja signalov (Čokl in Virant-Doberlet, 2003). Z vibriranjem nastanejo ozkopasovni signali z ostrimi frekvenčnimi vrhovi nizkih frekvenc (pod 200 Hz) (Čokl in Virant-Doberlet, 2003), s stridulacijo in trkanjem pa širokopasovni, z večino spektralne energije v frekvenčnem območju nad 500 Hz (Čokl in sod., 2006a).

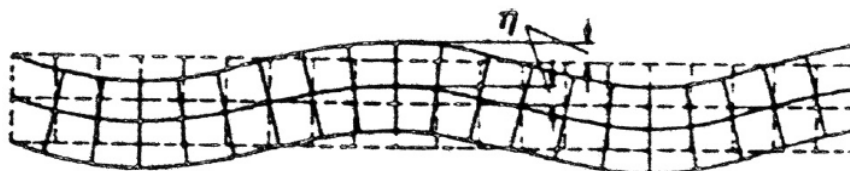
Žuželke proizvajajo vibracijske signale amplitud med 10^{-5} in 10^{-3} m/s (Michelsen in sod., 1982; Čokl in sod., 2007, 2011; Žunič in sod., 2008). Podobne amplitude imajo tremulacijski signali jamskih kobilic, oddani na lubju ali mahu (Stritih in Čokl, 2012). Če velja zveza

$$V = 2 \cdot \pi \cdot f \cdot \delta, \quad \dots (1)$$

kjer je V hitrost, f frekvenca in δ odmik, dobimo pri frekvenci 100 Hz in maksimalni hitrosti 10^{-4} m/s maksimalni odmik $1,59 \times 10^{-7}$ m oz. 0,16 μm .

1.3 PRENOS VIBRACIJ PO RASTLINAH

Rastline, posebej njihove paličaste strukture, kot so stebela in peclji, predstavljajo žuželkam medij za komunikacijo z vibracijami podlage na daljše razdalje. Sodeč po hitrosti prevajanja in frekvenčnih karakteristikah, proizvajajo žuželke upogibno valovanje (Michelsen in sod., 1982; Keuper in Kühne, 1983; Cocroft in sod., 2000; Cremer in sod., 2005). To je tip valovanja, pri katerem podlaga niha v ravnini vzbujanja, valovanje pa se širi pravokotno na ravnino vzbujanja (Sl. 1).



Slika 1: shematski prikaz upogibnega valovanja na prerezu listne ploskve (iz Barth, 1986).
Figure 1: schematic drawing of bending waves on a cross-section of a leaf plate (from Barth, 1986).

Upogibno valovanje je delno disperzno, kar pomeni, da je hitrost prevajanja v določenem frekvenčnem območju odvisna od frekvence – nihanje nižjih frekvenc se razširja z nižjo hitrostjo kot nihanje višjih frekvenc (Michelsen in sod., 1982). Casas in sod. (2007) so z valčno transformacijo posnetkov tranzientov, kakršni nastanejo ob udarcu kovinske kroglice ob steblo ločja (*Juncus effusus*), ugotovili, da je hitrost upogibnega valovanja naraščajoča funkcija kvadratnega korena frekvence pri nizkih frekvencah, pri visokih pa ni zveze, torej nad frekvenčno mejo prevajanje ni več disperzno. Mejo določa razmerje med premerom substrata in valovno dolžino – prehod med disperznim in nedisperznim prevajanjem se zgodi pri $r/\lambda = 0,03$, kar je v študiji Casasa in sod. (2007) ustrezalo 5 KHz. Hitrost razširjanja po steblih predstavnikov različnih skupin rastlin je kljub različni zgradbi v istem velikostnem razredu in je v primerjavi z drugimi načini valovanja nizka. Vibracije s frekvenco 200 Hz se po steblu boba (*Vicia faba*) razširjajo s hitrostjo 36 m/s, po steblu navadnega trsta (*Phragmites communis*) pa 75 m/s (Michelsen in sod., 1982). Šele na trdih, olesenelih vejah belega javorja (*Acer pseudoplatanus*) in bukve (*Fagus* sp.) doseže pri tej frekvenci hitrost prevajanja 100 m/s in več (Michelsen in sod., 1982; Keuper in Kühne, 1983).

Atenuacija (dušenje) med prenosom vibracij po rastlinskih steblih je nelinearna. Z meritvami naravno ali umetno vzbujenih vibracij na različnih rastlinah so različni avtorji dokazali, da amplituda nihanja ne pada monotono z oddaljenostjo od vira vibracij, poleg tega pa je atenuacija frekvenčno odvisna (Michelsen in sod., 1982; Stritih in sod., 2000; Zorović, 2005; Čokl in sod., 2004, 2007).

V splošnem delujejo zeleni deli rastlin kot t.i. »low-pass filter«, kar pomeni, da so visoke frekvence bistveno močnejše atenuirane; v grobem je meja med 500 in 1000 Hz (Čokl, 2008). V primerih, ko je imel poskusni substrat enostavno geometrijo, torej vzdolž dolgih, ravnih in homogenih stebel, se je poleg tega izkazalo, da maksimalna amplituda z razdaljo dokaj enakomerno niha – na steblu med vibriranjem nastane serija lokalnih amplitudnih minimumov in maksimumov, ki se ne spreminjajo s časom, razdalja med njimi pa je konstantna (npr. Čokl, 1988; Zorović, 2005; Čokl in sod., 2007). Domnevajo, da so vzrok nelinearnosti odboji valovanja od konic stebel – valovanje, ki se širi od vira, se na meji odbije in potuje nazaj. Če traja vzbujanje dovolj dolgo, naj bi prišlo do interference (seštevanja) med valovanjem, ki še potuje proti konici, in valovanjem, ki je nastalo prej in se je že odbilo. Če je frekvenca konstantna, se bi torej vzpostavilo stoječe valovanje. V idealnem fizikalnem sistemu brez atenuacije sta na točno določenih točkah fazi odbitega in neodbitega valovanja nasprotni – tem točkam pravimo vozli, amplituda v njih znaša 0. Na polovici razdalje med pari vozlov pa sta si fazi enaki in amplituda je dvakratnik vhodne – take točke so antivozli. Stoječe valovanje zaradi atenuacije in nehomogenosti rastlinskih struktur v praksi ne more biti tako izrazito, kljub temu pa se lahko tudi na steblu rastline zgodi, da amplituda antivozla preseže vhodno amplitudo (Čokl in sod., 2007). Stoječe valovanje kot predpostavko omenja več avtorjev (npr. Michelsen in sod., 1982;

Barth in sod., 1988; Čokl in sod., 2007), vendar nobena od omenjenih študij tega pojava ni raziskala sistematično, zato ne moremo z gotovostjo trditi, da je opažena nelinearnost res posledica stoječega valovanja. Za nastanek stoječega valovanja sta namreč pomembna dva faktorja: atenuacija različnih lastnih nihajnih načinov in trajanje vzbujanja, ki mora biti dovolj dolgo, da se zadušijo nevzbujane komponente kaotičnega nihanja, kakršno nastane v stebli. Stoječe valovanje nastane samo v primeru, da je atenuacija dovolj močna, da zaduši ostale nihajne načine v danem trajanju vzbujanja.

V ravnini vzporedno na ravnino vzbujanja in pravokotno na daljšo stranico stebela bi v idealnem sistemu (popolnoma raven in homogen valj) pričakovali, da bo detektor zaznal največji odmik, če bo postavljen vzporedno z vzbujevalnikom (torej 0 ali 180°), s spreminjanjem kota proti 90 oz. 270° pa se bo amplituda približevala ničli (McNett in sod., 2006). Rastlinska stebela se tudi v tem pogledu idealnemu sistemu samo približajo. S hkratnim snemanjem pri 0 in 90° glede na smer vzbujanja so McNett in sod. (2006) dobili eliptično obliko maksimalnih amplitud, pri čemer je bila ekscentričnost elipse velika tik ob žuželki in 10 cm dlje na isti veji, bistveno manjša pa na stranskem odrastku 5 cm od žuželke. V praksi to pomeni, da bo detektor vibracijskih signalov brez upoštevanja položaja oddajnika skoraj gotovo zaznal nižjo amplitudo od maksimalne, naj si bo to laserski vibrometer v poskusu ali sprejemnik – žuželka, ki se drži stebela pod naključnim kotom. Razlika, kot so jo izmerili McNett in sod. (2006) na stebli svilnate albicije (*Albizia julibrissin*), lahko presega 10 dB.

Lastnosti prenosa po drugih zelenih delih rastlin so znane samo v grobem. Raziskave Magala in sod. (2000) so pokazale, da nedeljeni listi predstavljajo low-pass filter, torej prepuščajo nizke frekvence, pri čemer so najpomembnejši dejavnik stranske žile – atenuacija je največja ob prenosu med sosednjima laminama preko stranske listne žile prvega reda, znotraj lamine pa je bistveno manjša. Do enakega rezultata so prišli Čokl in sod. (2004), ki so umetno vzbujali vibracije v listih zeljnih glav. Nasprotno je bila atenuacija preko lamine bistveno višja od atenuacije vzdolž glavne in stranskih žil (približno 4 dB/cm preko lamine in 0,5 dB/cm vzdolž žil), pri čemer je bilo tudi med prenosom vzdolž listnih žil opazno, da je atenuacija nelinearna. Tudi listni peclji imajo lahko drugačen vpliv na prenos vibracij kot stebela. Za primer, v biološko relevantnem frekvenčnem območju peclji kanadskega jedikovca (*Cercis canadensis* L.) prepuščajo visoke frekvence (so t.i. »high-pass filter«), peclji krilatca (*Ptelea trifoliata* L.) pa srednje frekvence (»band-pass filter«) (McNett in Cocroft, 2008). Pomemben element so še prehodi med listi in stebлом ali peclji, kjer lahko atenuacija doseže 20 dB (Čokl in sod., 2007).

1.4 ZAZNAVANJE VIBRACIJ

Akustični čut pri žuželkah največkrat povezujejo s posebno vrsto čutilnega organa, imenovanega hordotonalni organ. Hordotonalni organ je skupno ime za več tipov organov, ki so sestavljeni iz mehanoreceptivnih celic in pomožnih struktur, združenih v funkcionalnih enotah, ki jim pravimo skolopidiji (Field in Matheson, 1998). Gledano v celoti ima dvojno funkcijo: proprioreceptivno in slušno, posamezni tipi pa so ožje specializirani: ločimo vezivni hordotonalni organ (propriorecepcija), subgenualni organ (zaznavanje vibracij podlage), timpanalni organ (sluh v ožjem pomenu besede) in Johnstonov organ (zaznavanje premikanja, zvoka in gravitacije) (Field in Matheson, 1998). Hordotonalne organe sestavljajo izjemno občutljive mehanoreceptivne celice, ki se v nekaterih primerih odzivajo že na odmik senzoričnih cilij v velikostnem razredu 1 nm (French, 1988).

Čutilni sistem za zaznavanje vibracij pri rastlinojedih stenicah je najbolj opisan prav pri zeleni smrdljivki (Čokl in sod., 2006b). V vsaki od šestih nog ima ta žuželka štiri organe, ki lahko zaznavajo vibracije: femoralni hordotonalni organ, subgenualni organ, tibialni distalni hordotonalni organ in tarzo-pretarzalni hordotonalni organ (Michel in sod., 1983). Poleg tega so lahko pri zaznavi vibracij udeležene še kampaniformne senzile in Johnstonovi organi v tipalnicah (Jeram & Čokl, 1996). V subgenualnem organu sta dva skolopidija, vsak s po eno receptorsko celico – srednjefrekvenčno (MFR) in visokofrekvenčno (HFR) (Čokl, 1983). Obe sta zelo občutljivi na vibracije ustreznih frekvenc; MFR ima najnižji vzdražni prag pri 200 Hz in hitrosti nihanja 10^{-5} m/s, HFR pa med 750 in 1000 Hz in hitrosti rahlo nad 10^{-6} m/s. Pražne krivulje pod frekvenco največje občutljivosti sledijo linijam enakega pospeška, nad njo pa linijam enakega odmika. Območji občutljivosti teh dveh celic se nad 100 Hz delno prekrivata. MFR receptor se do frekvence 200 Hz odziva tonično, nad njo pa fazično/tonično (Čokl, 1983). V hordotonalnih organih in kampaniformnih senzilah so nizkofrekvenčne receptorske celice (LFR), ki se odzivajo fazno vezano na vibracije s frekvenco pod 120 Hz z največjo občutljivostjo okrog 5×10^{-5} m/s med 50 in 70 Hz in v celotnem izmerjenem frekvenčnem območju manj občutljivo od MFR (Čokl, 1983). Tudi receptorske celice v tipalnicah se odzivajo na vibracije nizkih frekvenc, z največjo občutljivostjo 2×10^{-3} m/s pri 50 Hz (Jeram in Čokl, 1996). Centralne projekcije LFR in MFR iz srednjega in zadnjega para nog potekajo v ipsilateralno stran medialne regije centralnega ganglija (Zorović in sod., 2004), kjer tvorijo povezave z vibracijskimi internevroni različnih funkcionalnih in morfoloških tipov (Zorović in sod., 2008).

Pomembna naloga čutilnega sistema je tudi dekodiranje informacije o smeri izvora signala, ki omogoča usmerjeno premikanje proti oddajniku. V kontekstu spolnega vedenja s tem omogoči lokalizacijo spolnega partnerja, ki je pogoj za začetek parjenja. Trije možni parametri, ki jih lahko čutilni sistem uporabi za določitev smeri izvora akustičnega signala, so razlika v amplitudi med prostorsko ločenimi senzoričnimi vhodi, razlika v času

aktivacije različnih vhodov in razlika v fazi valovanja med vhodi. Za žuželke danes vemo, da so se sposobne orientirati po vibracijah podlage v odsotnosti signalov drugih modalitet (glej pregled v Čokl in Virant-Doberlet, 2003; Virant-Doberlet in sod., 2006), vendar glede ključnega parametra pri posameznih modelnih organizmih še ni enotnega mnenja. Členonožci imajo vibracijske receptorje v vsaki nogi, torej so senzorični vhodi razporejeni v prostorski mreži v stiku s podlago, ki jo lahko žival s premikanjem nog prilagaja trenutni situaciji. Za tipe valovanja, ki ga te živali vzbuja v pesku (Aicher in Tautz, 1990), vodi (Wiese, 1974) in rastlinskih steblih (Michelsen in sod., 1982), je namreč značilno razmeroma počasno razširjanje. Sposobnost lokalizacije vira vibracij so različni avtorji demonstrirali na dvodimenzionalni površini (npr. Wiese, 1974; Goulson in sod., 1994), na ozkem rastlinskem stebelu v eni dimenziji (razločevanje spredaj/zadaj; Čokl in sod., 1985, 1999; De Groot in sod., 2011a) in na razvejišču stebel ali pecljev (npr. Ota in Čokl, 1991; Čokl in sod., 1999; Roces in sod., 1993; Pfannenstiel in sod., 1995; De Groot in sod., 2011a), vendar mehanizem, odgovoren za to sposobnost, še ni povsem razjasnjen. Kratkoroška kobilica travniška zelenka (*Tettigonia cantans*) se bistveno učinkoviteje orientira proti viru zvoka, kadar hkrati zazna tudi vibracijsko komponento signala (Latimer in Schatral, 1983), in internevroni, ki prenašajo informacije o akustičnih dražljajih proti možganom, so bimodalni (Čokl in sod., 1977). Pri škorpionu vrste *Paruroctonus mesaensis*, kjer je z vedenjskimi poskusi dokazano, da zaznajo razliko v času aktivacije vhodov, znaša prazna vrednost 0,2 ms, razpon nog pa je v rangi 5 cm (Brownell in Farley, 1979). Podoben zamik ob razponu nog okrog 10 cm so izmerili pri potujočem pajku vrste *Cupiennius salei*, ki se ravna tudi po razliki v amplitudi (Barth, 1993). Mnoge žuželke take velikosti ne dosežejo, kljub temu pa ostaja razlika v času aktivacije vhodov tudi pri njih obetaven kandidat za ključni parameter. Prešern (2007) je pri zeleni smrdljivki identificiral več tipov internevronov, ki kodirajo informacijo o smeri kadar je časovna razlika med draženjem vhodov 0,5 ms ali več, pri čemer ima pomembno vlogo kontralateralna inhibicija, vendar območja med 0 in 0,5 ms ni podrobneje preučil, tako da o pragu ni točnih podatkov. Še manj vemo o sposobnosti orientacije po amplitudnem gradientu. Najmanjša znana amplitudna razlika je 10 dB, ki povzroči orientiran odziv v smeri močnejše dražene noge pri pajku vrste *C. salei* (Barth, 1993), vendar manjše razlike še niso bile testirane.

Za zelo majhne žuželke je tudi ob razmeroma počasnem prevajanju vibracij časovna razlika med senzoričnimi vhodi verjetno nezaznavna, zato domnevajo, da so se pri njih razvile posredne rešitve. Cocroft in sod. (2000) so pri grbastemu škržatku vrste *Umbonia crassicornis* demonstrirali, da je mehanski odziv telesa zaradi resonance odvisen od smeri razširjanja vibracij vzdolž enodimenzionalne podlage, kar bi lahko predstavljalo osnovo za diferencialen odziv živčevja. Analogen zgled je sluh pri parazitoidni muhi vrste *Ormia ochracea* iz družine čopičark, s katerim zaznavajo signale gostiteljskih škržadov (Robert, 2001). Na račun mehanske sklopitve timpanalnih membran in posebnega sistema kodiranja vhodov v živčnem sistemu lahko te muhe iz signalov izluščijo informacijo o smeri

oddajnika z ločljivostjo, podobno človekovi, čeprav sta vhoda le 0,5 mm narazen (Mason in sod., 2001). Mehanizem orientacije po vibracijah podlage pri zelo majhnih žuželkah, kot so ščitkarji (Kanmiya, 1996) in parazitoidne osice (Sokolowski in Turlings, 1987), ki preko nog prav tako merijo manj kot milimeter, je še popolna neznanka.

1.5 DRUGI OKOLJSKI DEJAVNIKI

Na sistem oddajnik—medij—sprejemnik poleg lastnosti vsakega od elementov vplivajo še zunanji deležniki. Eden najprepoznavnejših takih deležnikov je šum: to je v splošnem vsak pojav, ki otežuje sprejemnikovo zaznavo komunikacijskih signalov oz. njegovo sposobnost ločiti signale med seboj (Brumm in Slabbekoorn, 2005). Lahko je zunanji ali notranji – zunanji šum povzročajo pojavi v okolju, ki vzbujajo iste receptorje kot signali, notranjega pa žival sama, bodisi s premikanjem, bodisi s spontano aktivnostjo živčevja, ki ne odraža zunanjih dogodkov (Greenfield, 2002; Brumm in Slabbekoorn, 2005). Zunanji šum delimo po izvoru na abiotski (neživi pojavi, kot sta veter in dež) in biotski (druge živali), v obeh primerih je lahko predvidljiv ali nepredvidljiv, v vsakem primeru pa povzroča degradacijo strukture hkrati oddanega signala, ki ga sprejemnik zato težje prepozna. Ključen koncept je razmerje signal-šum oz. razmerje amplitud signala in motnje v relevantnem frekvenčnem območju, ki ga po navadi izražamo v dB.

Ker je v akustičnem okolju določena stopnja šuma neizbežna, hkrati pa je to dejavnik, ki pomembno omejuje doseg komunikacijskih signalov, je pričakovati, da se bodo pri živalih razvile fiziološke ali vedenjske prilagoditve za zmanjšanje vpliva šuma na komunikacijo z mehanskimi vibracijami. Take prilagoditve so opisane pri številnih živalskih taksonih, ki se sporazumevajo z zvokom (Brumm in Slabbekoorn, 2005). V grobem jih na ravni oddajnika delimo na dolgoročne in kratkoročne prilagoditve: med dolgoročne prilagoditve spadajo trajne spremembe lastnosti signalov in prehod na multimodalnost, med kratkoročne pa sprotne in začasne spremembe lastnosti signalov ter prilagoditev časa oglašanja. Kratkoročne spremembe signalov so lahko povečanje amplitude (t.i. Lombardov učinek), regulacija dolžine signalov, serijska redundančnost in regulacija frekvenčnih lastnosti (Brumm in Slabbekoorn, 2005). To so univerzalne rešitve, ki jih najdemo pri vrsti nesorodnih živalskih taksonov. Za primer, serijska redundančnost oz. povečevanje števila signalov ali njihovih komponent v prisotnosti šuma, je bila opisana pri tako različnih živalih, kot so kobilice (Ronacher in sod., 2000) in pingvini (Aubin in Jouventin, 2002).

Sprejemnik lahko izboljša razmerje med signalom in šumom tako, da se premakne bližje viru signalov in dlje od vira šuma, ki sta pogosto prostorsko ločena (Brumm in Slabbekoorn, 2005). Ključne značilnosti signalov razloči od šuma tudi uglasitev receptorskega organa, kot je to na primer slušni aparat, katerega območje najvišje občutljivosti je omejeno na frekvenčne karakteristike signalov. Ta značilnost ima v kombinaciji s t.i. detektorji značilnosti (*feature detectors*), ki so uglaseni na trajanje ali hitrost ponavljanja komponent signalov, ključno vlogo pri zmanjševanju vpliva šuma.

Kljub temu se v naravi dogaja, da je s povečevanjem stopnje šuma najprej preprečeno razločevanje oddajnikov, nazadnje pa še zaznavanje v celoti (Wollerman in Wiley, 2002). Po drugi strani lahko šum nizke intenzitete zaradi pojava stohastične resonance omogoči zaznavo signalov, katerih amplituda je tik pod vzdražnim pragom (Spezia in sod., 2008).

Pomemben vir biotskega šuma so drugi predstavniki iste vrste, ki privzeto vsi uporabljajo isti komunikacijski kanal na enak način. Če je populacijska gostota velika, kar se pogosto dogaja pri roječih žuželkah, je lahko en sprejemnik v aktivnem signalnem območju mnogo oddajnikov hkrati, poleg tega pa se oddajniki zaznavajo tudi med seboj. Tovrstne množične interakcije oddajnikov ritmičnih signalov so skozi evolucijo privedle do različnih načinov usklajevanja, bodisi kooperativnega, bodisi kompetitivnega, v vseh primerih pa je cilj posameznega osebkova povečati verjetnost, da ga bo sprejemnik (potencialni spolni partner) zaznal, prepoznal in izbral (Greenfield, 1994).

O vplivu šuma na vibracijsko komunikacijo je, skladno z njeno slabšo raziskanostjo, ustrezno manj podatkov kot pri zvočni. Barth in sod. (1988) so v temeljnem delu s tega področja okarakterizirali abiotski šum na listu bananovca v kontekstu iskanja plena pri tropskih potujočih pajkih. Šum, ki ga povzroča premikanje in udarjanje listov zaradi vetra, je skoraj izključno nizkofrekvenčen, vibracije, ki jih vzbujajo dežne kaplje, pa imajo glavno frekvenčno komponento pod 100 Hz. Udarec v začetku vzbudi v rastlini kaotično nihanje, ki zavzema celoten frekvenčni spekter do 25 kHz, temu pa sledi dolg nizkofrekvenčni »rep«, v času trajanja katerega rastlina izniha (Casas in sod., 1998). Veter velja za posebej pomemben dejavnik šuma v akustični komunikaciji (vključno z vibracijsko); prilagoditev časa oglašanja pojavnosti vetra je bila med drugim dokazana v sistemu vibracijske komunikacije grbastih škržatkov iz kompleksa vrst *Enchenopa binotata* (Say, 1824) (McNett in sod., 2010).

Pričakovati je, da bodo omejitve, ki jih živalim narekuje medij, bistveno vplivale na strategijo izogibanja vpliva šuma na komunikacijo: resonančne lastnosti podlage omejujejo možnost spreminjanja frekvence (Čokl in sod., 2005). Rastline so na daljše razdalje enodimenzionalno akustično okolje, kjer lahko sprejemnik razloči kvečjemu razliko spredaj/zadaj. Vsak način časovnega usklajevanja oddajanja signalov torej predstavlja bistveno tveganje za oddajnika, da sprejemnik ne bo razločil med njim in hkratnim oddajnikom. Če so časovne karakteristike napevov pomembne za prepoznavo, lahko tako »kombinirani« napevi padejo izven vrstno specifičnega območja in jih torej sprejemnik sploh ne bo prepoznal (De Groot in sod. 2010, 2011b; Polajnar & Čokl 2008). Zaradi zgoraj opisanega cikličnega spreminjanja amplitude z razdaljo od oddajnika je tudi povečevanje amplitude signalov nezanesljiva rešitev, a za razliko od prejšnjih dveh ne more imeti negativnih posledic na zaznavo signalov.

Pri sestavljenih pozivnih signalih, ki se ponavljajo z dolgimi in nerednimi presledki, kakršne uporabljajo mali škržatki, je lahko alternacija vendarle uporabna strategija, saj že en signal zadošča za prepoznavo. Hunt in Morton (2001) sta na primeru vrste *Graminella nigrifrons* pokazala, da samčev signal dejansko inhibira oglašanje drugega samca, zato ne pride do časovnega prekrivanja. Drugačen primer je stenica zelena smrdljivka: samice imajo ritmične pozivne signale z enostavno zgradbo in aktivno fazo okrog tretjine celotnega ponavljalnega cikla (Čokl in sod., 2000), kar bistveno omeji možnost alternacije. Preliminarne raziskave na zeleni smrdljivki so pokazale, da se samci slabše odzivajo na vibracijske signale samic in težje orientirajo proti viru signalov, kadar le-te spremlja monotona vibracija enake frekvence in amplitude, ki simulira hkratno oglašanje mnogih samic (Polajnar in Čokl, 2008). Hkrati so nakazale, da lahko samice ob prisotnosti takega simuliranega biotskega šuma nekoliko spremenijo frekvenco oglašanja. Bolj razdelano situacijo so testirali De Groot in sod. (2010, 2011b), ki so samcem zelene smrdljivke predvajali različne kombinacije napevov iz dveh virov, obeh na isti strani prvotne lokacije oddajnika na rastlini. Pri tem so spreminjali časovne parametre in amplitudo. Z merjenjem samčevega odziva so dokazali, da ima alternacija močno negativen vpliv na prepoznavanje oddajnika, enako kot predvajanje dveh normalno dolgih signalov enega za drugim, ki jih sprejemnik verjetno zazna kot en dvakratno podaljšan signal. Po drugi strani lahko dva nekarakteristično kratka signala, predvajana eden za drugim z različnih lokacij, izboljšata odziv v primerjavi s predvajanjem samo kratkega signala. Odziv izboljša tudi delno prekrivanje, ki samo nekoliko podaljša »kombiniran« signal, tudi, če eden od signalov pripada drugi vrsti stenice.

Po некоč uveljavljenem mnenju imajo drugi dejavniki, kot so neželeni poslušalci, pri vibracijski komunikaciji v primerjavi z drugimi modalitetami zanemarljiv vpliv, kar temelji na omejenosti dosega signalov. Ideja, da so vibracije podlage takorekoč »zaseben« komunikacijski kanal, se še vedno pojavlja tudi v novejših delih (npr. Römer in sod., 2010). Vendar usmerjene raziskave (npr. Mazzoni in sod., 2009; Virant-Doberlet in sod., 2011) že nakazujejo, da je tudi v sistemu vibracijske komunikacije ustrežnejše govoriti o komunikacijski mreži, splet interakcij med organizmi na tej ravni pa pridobiva na veljavi kot obetaven subjekt za nadaljnje raziskave (Cocroft, 2011).

1.6 MODELNI ORGANIZEM – ZELENA SMRDLJIVKA

Zelena smrdljivka (*Nezara viridula* [Linnaeus, 1758]) (Sl. 2) je rastlinojeda stenica iz poddružine ščitastih stenic Pentatominae. Vrsta je kozmopolitska, pojavlja se po vsem svetu v tropskih in subtropskih predelih med 45 stopinj severne in 45 stopinj južne zemljepisne širine (Todd, 1989) in tudi recentno naseljuje nova območja. V tropskih in subtropskih okoljih se je vrsta sposobna razmnoževati skozi vse leto, v območjih z mrzlimi zimami pa mrzli del leta preživi v stanju dormance, skrita med rastlinskim opadom, pod lubjem, med kamni ali v človekovih bivališčih. V ugodnih razmerah se tako na leto zvrsti do šest rodov, v hladnejših območjih pa dva do štirje. Vrsta je izrazito polifagna;

gostiteljske rastline, s katerimi se lahko hrani, pripadajo več kot 30 družinam eno- in dvokaličnic (Todd, 1989; Panizzi, 1997). Zaradi izrazite preference do stročnic, ki jih za svojo prehrano goji človek, kot sta fižol in soja, je gospodarsko pomemben škodljivec v vseh območjih sveta, kjer se množično pojavlja (Panizzi in sod., 2000). V Sloveniji je zelena smrdljivka razširjena v pasu od obale do Kraškega roba ter na območju Nove Gorice in Tolmina (Gogala A. in Gogala M., 1989; Gogala A., 2008).



Slika 2: samica zelene smrdljivke (f. *smaragdula*) na listu srobota, fotografirana južno od Kopra.
Figure 2: female *Nezara viridula* f. *smaragdula* on a *Clematis* sp. leaf, photographed south of Koper.

Zaradi gospodarskega pomena, razširjenosti in razmeroma enostavnega gojenja v umetnih pogojih so različni vidiki biologije zelene smrdljivke predmet intenzivnih raziskav. Tako predstavlja modelni organizem za vso družino ščitastih stenic pri raziskavah komunikacije z vibracijami podlage (Virant-Doberlet in Čokl, 2004) in embrionalnega razvoja (Lockwood in Story, 1986), veliko pozornosti pa je namenjene tudi ekologiji vrste, predvsem izbiri gostiteljskih rastlin in pomenu parazitoidov, ki predstavljajo možnost za okolju prijaznejši biološki nadzor (Walker, 1988). Pričakovati je namreč, da se bo zaradi globalnih podnebnih sprememb in spreminjanja kmetijske prakse njen areal tudi v prihodnosti širil, kot nakazujejo dosednji trendi (Tougou in sod., 2009).

Spolno vedenje teh živali je predmet intenzivnih raziskav v zadnjih desetletjih. V celoti je raziskana vedenjska sekvenca, ki pripelje od prve zaznave spolnega partnerja do samega parjenja, ki je sestavljena iz dveh glavnih delov: pozivnega na daljše razdalje in dvorjenja na krajše razdalje. V začetku sekvence imajo ključno vlogo feromoni, kasneje pa nujen del komunikacije predstavljajo tudi vibracijski, vidni in taktilni signali (odvisno od konkretne

faze spolnega vedenja; Borges in sod., 1987). Spolno zreli samci (ne pa tudi samice) izločajo hlapno mešanico ogljikovodikov (Aldritch, 1993), ki deluje kot agregacijski feromon in privablja samce, samice in ličinke zadnjega stadija v bližino oddajnika (Mitchell in Mau, 1971; Harris in Todd, 1980). Receptivne samice ob stimulaciji s samčevim feromonom začnejo oddajati vibracijske signale – t.i. samičin pozivni napev (*female calling song* oz. FCS). Ta pri samcu, ki je signale zaznal, poveča izločanje feromona oz. lahko izločanje tudi sproži (Miklas in sod., 2003b). Samec se poleg tega odzove z oddajanjem dveh tipov signalov: pozivni napev (*male calling song* ali FCS) in napev dvorjenja (*male courtship song*, MCrS) (Čokl in sod., 2000; Čokl in Virant-Doberlet, 2003). Po nekaj minutah prične z usmerjenim premikanjem proti viru samičinega napeva (Ota in Čokl, 1991; Čokl in sod., 1999; De Groot in sod., 2011a): na križiščih med glavno in stranskimi vejami ali listnimi peclji se ustavi, razporedi noge in tipalnice po različnih točkah razvejišča in počaka naslednjih nekaj vibracijskih signalov, na podlagi katerih se odloči o smeri (Ota in Čokl, 1991; Čokl in sod., 1999). Med iskanjem nadaljuje z oddajanjem svojih signalov, katerih funkcija v tej fazi ni povsem jasna, verjetno pa je signal samici, da je samec na isti rastlini, torej je zanjo koristno, da nadaljuje z oglašanjem (Čokl in sod., 1999). Ko sta živali v neposredni bližini, začne z oddajanjem napeva dvorjenja tudi samica, parametri napeva so podobni tistim pri samčevemu (Čokl in sod., 2000b). Poleg tega komunikacija odtlej vključuje tudi vid in tip (Borges in sod., 1987; Kon in sod., 1988). Živali se otipavata s tipalnicami (antenacija), čemur sledi samčevo trkanje z glavo ob spodnji del zadka. Če samica sprejme samca, dvigne zadek, samec pa se obrne s svojim zadkom proti njenemu in prične s parjenjem. Tudi v tej fazi imajo vlogo vibracijski signali: samica, ki zavrne samca, včasih oddaja »odvračalni napev« (*female repelling song*), ki ga utiša, tretji tip samčevih signalov pa je »rivalni napev« (*male rivalry song*, MRS), s katerim lahko drugi samec ovira dvorjenje para (Čokl in sod., 2000b).

Odziv zelenih smrdljivk na kemične in/ali vibracijske dražljaje je primer fiksnega vzorca vedenja, ki poteka enako na naravni in umetni podlagi. To omogoča registriranje oglašanja na neresonančni membrani zvočnika in analizo oddanih signalov brez mehanskega vpliva rastlinske podlage na časovne in frekvenčne parametre (npr. Čokl in sod. 2000a, 2000b, 2001). Pozivni napevi in napevi dvorjenja obeh spolov imajo podobne frekvenčne karakteristike, z ozkim dominantnim frekvenčnim vrhom med 70 in 130 Hz, kar se ujema s frekvenčnimi karakteristikami sorodnih simpatričnih vrst (Čokl in Virant-Doberlet, 2003; Blassoli Moraes in sod., 2005). Prisotni pa so harmonični vrhovi z višjimi frekvencami in subdominantni vrhovi, občasno tudi frekvenčna modulacija (Čokl in sod., 2000a; 2005). Samičin pozivni napev je po časovnih parametrih najbolj stabilen in ima ključno vlogo v fazi lokalizacije spolnih partnerjev pri tej vrsti. Gre za sekvenco približno eno sekundo dolgih pulzov s ponavljalnim časom okrog tri sekunde, ob tem pa se napevi geografsko ločenih populacij malenkostno, a značilno razlikujejo (Kon in sod., 1988; Jeraj in Walter, 1998; Ryan in sod., 1996; Čokl in sod. 1999, 2000a, 2001; Miklas in sod., 2001, 2003a; Virant-Doberlet in Čokl, 2004; Žunič in sod., 2011). Samci preferirajo razmeroma ozek

razpon časovnih parametrov samičinega pozivnega napeva (Žunič in sod., 2011), po čemer razlikujejo konspecifične od heterospecifičnih signalov (Hrabar in sod., 2004). Kadar so izpostavljeni napevom samic iz dveh geografsko ločenih populacij hkrati, pa preferirajo napev samice iz lastne populacije (Miklas in sod., 2001, 2003a). Po drugi strani se njihov odziv ne zmanjša, če naravni napev nadomestimo z umetno sintetiziranim napevom z enakimi časovnimi karakteristikami in enako dominantno frekvenco, brez ostalih frekvenčnih komponent – torej čistotonskim sinusoidnim nihanjem (Žunič in sod., 2011).

1.7 NAMEN RAZISKAVE IN HIPOTEZE

Namen doktorskega dela je najprej testirati nekaj predpostavk, ki do sedaj v raziskavah vibracijske komunikacije stenic na čelu z modelnim organizmom – zeleno smrdljivko – niso bile deležne dovoljšnje pozornosti in so izpostavljene v zgornjem pregledu. Vprašanje o pojavu resonance je pomembno za razumevanje interakcije med živalmi in medijem, ki ga uporabljajo za prenos informacij, a je bilo do zdaj obravnavano le posredno (npr. Michelsen in sod., 1982; Barth in sod., 1988; Čokl in sod., 2007). Eden od razlogov je kompleksna geometrija večine rastlin, ki onemogoča fizikalno modeliranje z enostavnimi metodami, ta problem pa bi omilila uporaba modelnega subjekta z manj kompleksno zgradbo. Ta del raziskave je bil v celoti objavljen v članku Polajnarja in sod. (2012). Iz pojava resonance izhaja vprašanje o parametrih vibracij, ki so iščočemu partnerju v spolni komunikaciji (samec v primeru zelene smrdljivke) na voljo za lokalizacijo oddajnika. Tovrstne meritve so v kontekstu iskanja spolnega partnerja pri zeleni smrdljivki že opravljali različni avtorji (npr. Stritih, 2000; Zorović, 2005), vendar ne sistematično z večjim vzorcem.

V drugem delu naloge se ukvarjamo z vprašanjem medsebojnih interakcij živali, ki uporabljajo isti medij ob istem času z istim ciljem – natančneje samic zelene smrdljivke, ki z oddajanjem pozivnih napevov privabljajo samca na isti rastlini. Glede na opisane omejitve medija je možno pričakovati, da morajo samice prilagajati oglašanje druga drugi, sicer tvegajo, da se bodo njihovi signali kombinirali na tak način, da jih sprejemnik ne bo več prepoznal (De Groot in sod., 2010, 2011b) – to pomeni, da hkrati oddani signali predstavnikov iste vrste ustrezajo definiciji šuma. Pojav je zaenkrat še popolnoma neraziskan, saj v pregledani literaturi ni nobenih podatkov niti o tem, ali se samice stenic sploh oglašajo v času trajanja napeva druge stenice v istem akustičnem okolju, torej kakšna je narava interakcije. Na podlagi znanih dejstev o spolnem vedenju zelenih smrdljivk (Mitchell in Mau, 1971; Harris in Todd, 1980) je možno predvideti le, da ne prihaja do preprostega izključevanja vseh potencialnih oddajnikov razen enega.

Doktorsko delo ima naslednje konkretne cilje:

1. izmeriti resonančne lastnosti rastlinskega stebela in testirati hipotezo, da je stoječe valovanje vzrok cikličnega spreminjanja amplitude vibracij s prenosom po rastlini. Pojav ni povsem samoumeven, a je zelo verjetno res pravi vzrok, glede na enakomerno razdaljo med vozli, o kateri so poročali različni avtorji.
2. izmeriti časovni zamik in razliko v amplitudi pri prenosu vibracij prek razvejišča sadike fižola in ju ovrednotiti v smislu ustreznosti za parameter, po katerem se lahko samec zelene smrdljivke orientira pri iskanju samice. Na podlagi nelinearnega spreminjanja amplitude predvidevamo, da bo časovni zamik zanesljivejši od razlike v amplitudi, hkrati pa na podlagi podatkov o hitrosti prevajanja vibracij po rastlinskih tkivih dovolj velik za znano sposobnost vibracijskih internevronov zelene smrdljivke kodirati časovni zamik 0,5 ms.
3. testirati hipotezo, da med samicami zelene smrdljivke, ki se oglašajo na isti rastlini, ne pride do kompeticije za ekskluzivno rabo komunikacijskega kanala ene od njih.
4. v kontroliranih pogojih brez vpliva mehanskega odziva rastlinske podlage preučiti odziv samice zelene smrdljivke na prisotnost vibracijskega napeva druge samice in ga interpretirati v luči omejitev komunikacijskega kanala.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 RESONANČNE LASTNOSTI RASTLINSKEGA TKIVA

2.1.1 Rastline

Za modeliranje osnovnih fizikalnih pojavov pri prenosu vibracij po zelenih delih rastlin smo izbrali premenjalnolistno ostrico ali ciperus (*Cyperus alternifolius* L.). Poskusne rastline smo gojili v mešanici prsti za lončnice in vermita v keramičnem loncu s premerom 25 in višino 20 cm.

Vsi poskusi so bili opravljeni pri sobni temperaturi (19–24 °C) v laboratoriju Oddelka za entomologijo Nacionalnega inštituta za biologijo v Ljubljani. Rastlina in oprema za snemanje ter vzbujanje vibracij je bila položena na protitresno železno mizo tako, da je bila maksimalna hitrost vibracijskega šuma iz okolice zmanjšana na manj kot 10^{-4} m/s. Poskuse smo izvajali na posameznih steblih brez nadzemeljskega stika z ostalimi stebli v šopu in z odrezanimi listnimi rozetami. Meritve so bile opravljene na dveh steblih istega šopa s premerom približno 4,5 mm. Prvo steblo je bilo visoko 84 cm, drugo pa 89,5 cm. Tretje steblo s primerljivim premerom smo odrezali za določitev lastnosti materiala – gostote in elastičnosti.

Lastnosti materiala, vključno s statičnim Youngovim modulom, smo določili na odrezanih kosih tretjega stebela s premerom 4,36 mm. Geometrijski moment inercije prereza, ki ga opisuje enačba

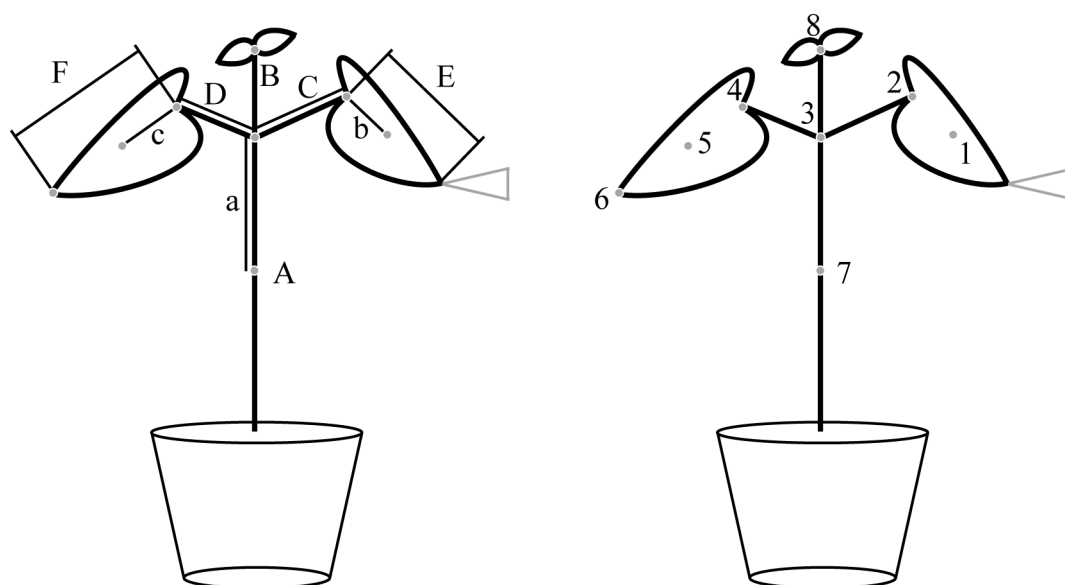
$$I = \frac{\pi \cdot r^4}{4}, \quad \dots (2)$$

je znašal $1,77 \text{ m}^4$. Odrezan konec stebela smo na eni strani vpeli v vodoravnem položaju, pri čemer je prosti del meril 17,3 cm v dolžino. Potem smo ga na koncu dela, ki ni bil vpet, postopoma obteževali z utežmi in merili odmik v navpični smeri. Iz odmika in drugih parametrov se Youngov modul izračuna z enačbo

$$E = \frac{F \cdot L^3}{3 \cdot \delta \cdot I}, \quad \dots (3)$$

kjer je δ odmik, F sila in L dolžina.

Za primerjavo smo izmerili prenos vibracij po sadikah fižola, ki se pogosto uporablja kot podlaga pri preučevanju spolnega vedenja zelenih smrdljivk. Vključili smo deset sadik fižola (*Phaseolus vulgaris* Etna) z enako osnovno obliko: fižoli so bili stari približno en teden od kalitve, z razvitim enim parom listov in zgornjim poganjkom. Mere in točke vzbujanja ter registracije vibracij so prikazane na sliki 3 in v preglednici 1.



Slika 3: shema geometrije sadik fižolov, pri katerih smo preučevali prenašanje vibracij, s točkami registracije (sivi krogi) in vzbujevalnikom, pritrjenim na konico enega od listov. Levo: mere (podane v Pregl. 1), desno: oznake točk.

Figure 3: diagram of geometry of bean plants in which we studied propagation of vibrations, with registration points (grey circles) and the vibration exciter fixed to one of the leaf tips. Left: measurements (given in Tab. 1), right: recording point labels.

Preglednica 1: mere vseh desetih fižolov, pri katerih smo preučevali prenašanje vibracij. Razdalje na rastlini so shematsko prikazane na sliki 3.

Table 1: dimensions of all 10 bean plants in which we studied propagation of vibrations. Measured dimensions are schematically shown on figure 3.

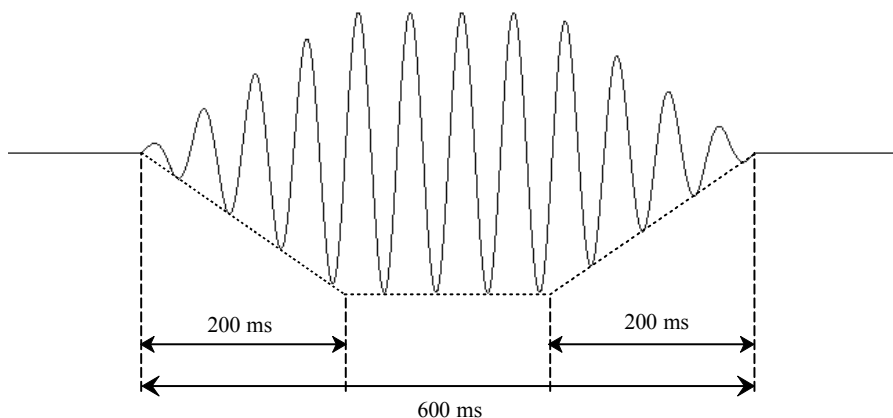
Fižol	Mera [mm]								
	A	B	C	D	E	F	a	b	c
1	114	51	45	44	80	84	44	30	29
2	228	58	37	36	82	85	84	31	27
3	199	70	46	57	91	83	78	35	28
4	173	33	34	32	63	62	85	23	23
5	150	40	40	40	62	60	62	25	23
6	197	94	38	44	95	85	87	32	34
7	172	38	34	39	57	57	77	23	20
8	182	92	46	45	61	69	74	25	30
9	154	58	39	39	59	61	62	28	23
10	154	76	44	53	75	92	67	30	33

2.1.2 Vzbujanje vibracij

Vibracije smo v rastlinah vzbujaali s konico kovinskega stožca (premer pri bazi 15 mm, višina 45 mm), trdno privitega v glavo miniaturnega vzbujevalnika (Type 4810 10N, Brüel & Kjær, Danska) in pritrjenega na rastlino z modelirno maso Blu-Tac (50-60 mg teže). Vibracije smo predvajali neposredno na steblo, 2 cm pod njegovim vrhom pravokotno na daljšo os stebela. Miniaturni vzbujevalnik smo upravljali z računalnikom preko zvočne kartice (24-bit, 96 kHz, razmerje signal-šum 100 dB, Sound Blaster Audigy 4, Creative laboratories Inc., Milpitas, CA, ZDA). Program vzbujanja je bil sestavljen iz treh delov:

1. 3 serije po 10 sintetiziranih pulzov frekvenc 20, 100 in 200 Hz
2. 4 serije naravnih vibracijskih signalov stenice zelene smrdljivke in vrste *Podisus maculiventris* in sicer: (1) tremulacijski signali samca vrste *P. maculiventris* z redno ponavljalno frekvenco (MS- T_r) in (2) z neredno ponavljalno frekvenco (MS- T_{irr}) ter (3) vibracijski signali samčevega (MCS) in (4) samičinega pozivnega napeva (FCS) zelene smrdljivke.
3. amplitudno moduliran signal z naraščanjem frekvence od 10 do 500 Hz

Pulze s čistimi toni smo sintetizirali z računalniškim programom CoolEdit PRO (Syntrillium Software, 2003). Vsi sintetizirani pulzi so imeli 200 ms dolgo fazo naraščanja amplitude na začetku ter 200 ms dolgo fazo upadanja na koncu (Sl. 4).



Slika 4: shema sintetiziranega čistotonskega pulza za vzbujanje vibracij v stebelu ciperusa.
Figure 4: diagram of a synthesized pure-tone vibrational pulse for excitation of the Cyperus stem.

Naravni signali so bili predhodno posneti z živalmi na neresonančni membrani nizko- do srednje-tonskega zvočnika (40-6000 Hz frekvenčni odziv, 8 Ω upora, RadioShack, Tajvan) z laserskim vibrometrom in shranjeni kot nestisnjeni zvočni posnetki na računalniku. Za program vzbujanja iz predhodno posnetih ali sintetiziranih pulzov in normalizacijo amplitude na najvišjo hitrost nihanja 10^{-3} m/s, izmerjeno na konici kovinskega stožca, smo uporabili računalniški program CoolEdit PRO. Slednja vrednost je znotraj območja hitrosti signalov, izmerjenih tako pri preučevani kot tudi drugih vrstah ščitastih stenice (Čokl in

sod., 2007, 2011; Žunič in sod., 2008). Za kalibracijo amplitude smo uporabili vibracijski vzbujevalnik z znanimi parametri nihanja (VE-10, Rion Co., Ltd., Japonska). Pulze so ločevali vsaj 0,5 s dolgi odseki tišine. Časovne in spektralne karakteristike vseh pulzov prikazuje Pregl. 2.

Preglednica 2: lastnosti pulzov, s katerimi smo umetno vzbujali steblo ciperusa.
Table 2: Signals used for artificial excitation of the stem.

Tip pulza*	Dominantna frekvenca [Hz]	Dolžina [s]	Pasovna širina** [Hz]
Sin200	200	0.600	26
Sin100	100	0.600	8
Sin20	20	0.600	8
MS-A-hi	145	0.214	61
MS-A-med	127	0.188	44
MS-A-lo	87	0.148	26
MS-T _r -hi	23	0.130	
MS-T _r -med	13	0.127	
MS-T _r -lo	5	0.188	
MS-T _{irr} -hi	90	0.989	75
MS-T _{irr} -med	50	0.847	63
MS-T _{irr} -lo	31	0.766	113
Nez-FCS	89	1.232	7
Nez-MCS	40	0.240	29

* Sin: čistotonsko sinusoidno nihanje; MS-A: vibracijski napev samca stenice *P. maculiventris*; MS-T_r: tremulacijski napev samca stenice *P. maculiventris*, redno oddajani pulzi; MS-T_{irr}: tremulacijski napev samca stenice *P. maculiventris*, neredno oddajani pulzi; Nez-FCS: pozivni napev samice zelene smrdljivke (*N. viridula*), vibracijski signali; Nez-MCS: pozivni napev samca zelene smrdljivke, vibracijski signali. Vsak tip pulza je v treh frekvencah – visoki (»hi«), srednji (»med«) in nizki (»lo«).

** Pasovna širina je bila izmerjena v frekvenčnem spektru 20 dB pod vrhom dominantne frekvence (glej Sl. 10), razen pri pulzih MS-T_r, kjer določitev ni bila možna zaradi nizkih frekvenc in izjemno širokega frekvenčnega vrha.

Z namenskim računalniškim algoritmom smo generirali 50 s dolg frekvenčno moduliran signal, v katerem je zvezno naraščala frekvenca od 10 do 500 Hz, s pomočjo katerega smo analizirali resonančni profil rastlinskih stebel. Slednji signal smo predvajali po obeh serijah pulzov. Produkt algoritma s konstantnim odmikom smo s programom Cool Edit PRO prilagodili tako, da smo kompenzirali nelinearni frekvenčni odziv opreme za predvajanje ter dobili konstantno hitrost 10^{-3} m/s v okviru celotnega frekvenčno moduliranega signala.

Za analizo resonančnih lastnosti fižolov smo predvajali samo frekvenčno moduliran signal z enako maksimalno hitrostjo kot pri ciperusu.

2.1.3 Modeliranje

Izmerjene frekvence vrhov resonance pri ciperusu – lastne frekvence preučevanega sistema – smo primerjali z vrednostmi, izračunanimi s formulo za resonanco na eni strani vpetega tankega elastičnega droga (Young in Budynas, 2002). Gre za poenostavitev dejanskega stanja, ki predpostavlja, da je drog homogen in popolnoma raven, torej je približek rastlinskega stebila. V formulo smo vnesli vrednosti, pridobljene z meritvami odrezanega kosa stebila.

Upogibanje tankega elastičnega droga opisuje dinamična enačba

$$EI \frac{\partial^4 u}{\partial x^4} + \rho_l \frac{\partial^2 u}{\partial t^2} = 0, \quad \dots (4)$$

kjer je E Youngov modul, I geometrijski moment inercije preseka in ρ_l gostota mase na enoto dolžine. Za dano frekvenco vibriranja $v = \omega / 2\pi$ je rešitev enačbe oblike

$$u(x, t) = (A \sinh(kx) + B \cosh(kx) + C \sin(kx) + D \cos(kx)) e^{-i\omega t}, \quad \dots (5)$$

kjer

$$k^4 = \omega^2 \rho_l / EI, \quad \dots (6)$$

in so A , B , C in D konstante, odvisne od robnih pogojev. Netrivialna rešitev obstaja, kadar velja

$$\sin(kL) \cdot \cos(kL) = -1, \quad \dots (7)$$

pri čemer je L dolžina droga. Prvih 16 rešitev te enačbe je $\xi_n = k_n L \approx 1,88, 4,69, 7,85, 11,00, 14,14, 17,28, 20,42, 23,56, 26,70, 29,85, 32,99, 36,13, 39,27, 42,41, 45,55$ in $48,69$. Frekvence v_n lastnih nihajnih načinov so torej

$$v_n = \frac{\xi_n^2}{2\pi L^2} \sqrt{\frac{EI}{\rho_l}}. \quad \dots (8)$$

Priročna metoda za preverjanje, ali se model zares ujema z dejanskim stanjem, je krajšanje stebila in ponovitev frekvenčno moduliranega signala pri nižji vrednosti L . S trendno funkcijo

$$y = a / L^2 \quad \dots (9)$$

izmerjene odvisnosti lastne frekvence ν_n od dolžine stebra L lahko izpeljemo koeficient a in preko njega Youngov modul:

$$E = \left(\frac{2\pi a}{\xi_n^2} \right)^2 \frac{\rho_l}{I}. \quad \dots (10)$$

Prostorski profil lastnega nihajnega načina za frekvenco ν_n opisuje enačba

$$u_n(x) = A \left[\sinh(k_n x) - \sin(k_n x) - \frac{\sinh(k_n L) + \sin(k_n L)}{\cosh(k_n L) + \cos(k_n L)} (\cosh(k_n x) - \cos(k_n x)) \right] \dots (11)$$

V primeru, da se frekvenca vzburjanja v točki x' ne ujema s katero od lastnih frekvenc preučevanega sistema, lahko amplitudo v točki x dobimo z odzivno funkcijo

$$G(x, x', k) = \sum_n \frac{u_n(x) u_n(x')}{k_n^2 - k^2}, \quad \dots (12)$$

kjer je k valovno število vzburjanja (enačba (7)). Upoštevati je treba, da je to funkcija za nedušene nihajne načine in s tem samo približek realne situacije. Poleg tega morajo biti lastne funkcije u_n , ki jih vnašamo v enačbo (12), normalizirane. Izkaže se, da je norma za vse u_n razen najnižje skoraj enaka 1, torej jo lahko zanemarimo. V praksi je treba sešteti samo dva nihajna načina s k_n najbližje k :

$$G(x, x', k) = \sum_n \frac{u_n(x) u_n(x')}{k_n^2 - k^2}, \quad \dots (13)$$

pri čemer so ničle te funkcije vozli, vrhovi pa antivozli. Pri meritvah vibracij smo izmerili najvišjo amplitudo, neupoštevajoč predznak, zato mora biti za primerjavo izrisana absolutna vrednost lastne funkcije.

2.1.4 Zajem in analiza podatkov

Vibracije smo registrirali z laserskim vibrometrom OFV 5000/505 (Polytec GmbH, Waldbronn), katerega žarek smo usmerili pravokotno na steblo. Okoli stebela smo v razmiku 5 cm na razdalji med 2 in 50 cm od vrha nalepili 3 mm široke pasove odbojne folije. Prva točka registriranja, ki je služila kot referenca za ostale, je bila nasproti točke, na kateri smo tresli steblo z miniaturnim vzbujevalnikom. Po tem, ko smo na eni točki registrirali celoten program vzbujanja, smo premaknili laserski žarek na 5 cm nižjo točko in ponovili program. Ista zvočna kartica je služila tako za predvajanje kot za snemanje. Izhodni signal vibrometra smo digitalizirali z računalniško zvočno kartico SB Audigy 4 (Creative Labs, Milpitas, ZDA) pri 16.000 vzorcev/s in ga shranili v nestisnjenem zvočnem formatu.

Frekvenčne karakteristike so opisane z dominantno frekvenco, to je frekvenco najvišjega vrha v frekvenčnem spektru in pasovno širino tega vrha, ki je bila merjena 20 dB pod vrhom. Amplituda je izražena s hitrostjo gibanja delcev v ravnini pravokotno na površino, ki je pri sinusnem nihanju sorazmerna z odmikom delcev (enačba (1)). Amplituda vibracijskega pulza na dani točki je torej enaka maksimalni hitrosti celotne pulzne ovojnice. Omeniti velja, da to nekoliko spremeni razmerje amplitud izračuna lastnih nihajnih načinov, ker model opisuje odmik namesto hitrosti, vendar slednje ne vpliva na položaj resonančnih vrhov. Tudi vsota dveh nihajnih načinov po enačbi (13) ni bistveno spremenjena, saj sta si vrhova blizu skupaj.

Analizo podatkov in izračune smo opravili v programskem okolju R, različice 2.9.2 (R development core team, 2009) s paketom Seewave (Sueur in sod., 2008) za analizo zvoka. Amplituda pri danih razdalji, tipu pulza in frekvenci je predstavljena kot povprečje 3 do 10 ponovitev. Posamezne ponovitve so bile izključene, če je njihova amplituda odstopala zaradi zunanega (akustičnega) ali notranjega (elektronskega) šuma. Frekvenčni spektri so izračunani iz celih pulzov s hitro Fourierjevo transformacijo (FFT; Hanningovo okno, velikost okna 512 točk) v paketu Seewave.

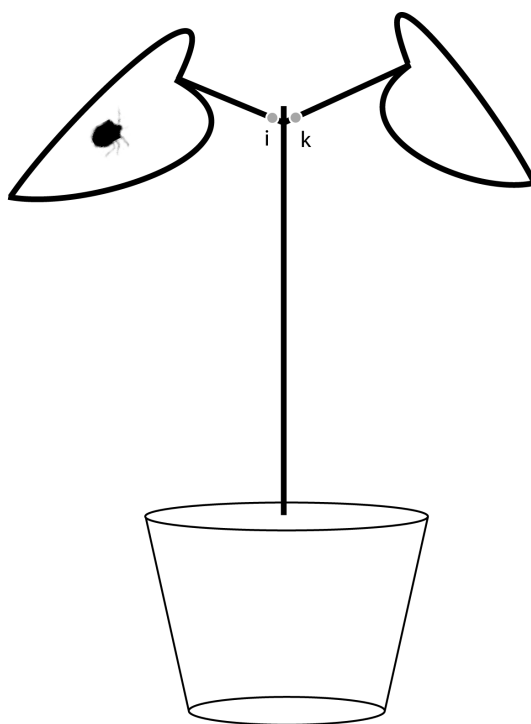
Resonančni profil sadik fižola smo analizirali samo grafično v isti sliki s kombiniranjem resonančnih profilov, posnetih na isti točki na vseh fižolih. Dobljene profile smo normalizirali tako, da je amplituda najvišjega vrha v oscilogramu predstavljala vrednost 1, amplituda ostalih pa je bila sorazmerno nižja. Potem smo zajeli zaslonske slike oscilogramov s programom za obdelavo bitnih slik (Adobe Photoshop CS) in jih kombinirali kot plasti v isto datoteko, pri čemer smo za vsako plast nastavili delno prosojnost. Na ta način smo dobili kombiniran oscilogram, obarvan z odtenki sivine s temnejšo barvo tam, kjer se prekrivajo oscilogrami dobljeni na več točkah. Kjer so v takem oscilogramu vidna temnejša območja ali temnejši ožji vrhovi, je možno sklepati na splošne resonančne lastnosti, neodvisne od dimenzij posamezne sadike fižola. Za ta območja smo

nato odčitati položaje v frekvenčno moduliranem signalu in tako določili odgovarjajoče frekvence.

2.2 PREVAJANJE VIBRACIJSKIH SIGNALOV PREKO RASTLINSKEGA RAZVEJŠČA

2.2.1 Poskusne rastline in živali

Za poskus smo uporabili sadike fižola, posajene v pollitrške plastične lončke z mešanico prsti za lončnice in vermita. Fižoli v poskusu so bili stari dva tedna od kalitve, višine približno 15 cm, s polno razvitim prvim nodusom (dva nasprotna lista). Morebiten zgornji poganjek smo pred poskusom odrezali (Sl. 5).



Slika 5: poskusna postavitve za prevajanje vibracij preko razvejišča stebela in pecljev na fižolu. S sivimi pikami sta označeni točki registracije vibracij, odvisno od položaja samice (v tem primeru na levem listu) ipsilateralna (i) in kontralateralna (k).

Figure 5: test setup for measuring transmission of vibrations across a stem-stalk crossing on a bean plant. Grey points denote where vibrations were registered, depending on position of the female (in this example on the left leaf) they were ipsilateral (i) or contralateral (k).

Za poskuse smo uporabili potomce stenic, ki smo jih v jeseni nabrali na slovenski obali ter jih gojili v laboratoriju. Zelene smrdljivke se v pripravi na hibernacijo prenehajo razmnoževati, zato smo umetno vzbudili hibernacijo tako, da smo jih najmanj za dva meseca postavili na temno v hladilnik. Po tem obdobju smo jih dali v parjenje in zbrali

odložene jajčne mase za nadaljnje gojenje. Testirali smo samice prve generacije potomcev na terenu nabranih stenice. Odrasle osebkke smo takoj po zadnji levitvi ločili po spolu in jih gojili v pollitrskih plastičnih lončkih na prehrani fižola (*Phaseolus vulgaris* L.), oluščenih surovih arašidov (*Arachis hypogaea* L.) in sončničnih semen (*Helianthus annuus* L.) pri sobni temperaturi ter dnevno-nočnem ciklu svetlobe 16h/8h. Živali smo redno vlažili z razpršilnikom in jim dvakrat tedensko menjali gojišče. Uporabili smo spolno zrele osebkke, vsaj dva tedna od zadnje levitve, ko se pričnejo oglašati.

2.2.2 Potek poskusa

Vsako samico smo položili na list fižola in vzbudili njeno oglašanje tako, da smo ji približali spolno zrelega samca. Med oglašanjem smo beležili njen položaj ter morebitno premikanje po rastlini med oglašanjem. Poskus je trajal, dokler ni samica z istega mesta na listu fižola oddala sekvence pozivnih signalov (FCS). Če v desetih minutah samica ni pričela z oglašanjem, smo poskus prekinili in ga nadaljevali z drugo samico.

2.2.3 Zajem in analiza podatkov

Samičin napev smo registrirali hkrati z dvema laserskima vibrometroma (Polytec OFV 2200/353 in OFV 5000/505), ki sta bila usmerjena pravokotno na peclja razvejišča 4-6 mm stran od stebela. Točka na peclju lista, na katerem je stala samica, je predstavljala ipsilateralno, druga pa njej nasprotno (kontralateralno) lego (Sl. 5). Na obe točki je bil za boljši odboj laserskega žarka prilepljen košček odbojne folije. Izhodna signala vibrometrov smo digitalizirali z računalniško zvočno kartico SB Audigy 4 (Creative Labs, Milpitas, ZDA) pri 48.000 vzorcev/s in shranili v stereo načinu in nestisnjenem zvočnem formatu. Pred izvajanjem poskusov smo z obema laserjema, usmerjenima v pobudno glavo istega vzbujevalnika vibracij, preverili sinhroniziranost kanalov.

Pred analizo smo iz posnetkov odstranili šum z uporabo funkcije redukcije šuma (Noise reduction) programa CoolEdit Pro 2.0 (Syntrillium Software, Phoenix, ZDA), ki iz posnetka odšteje ustrezne jakosti vseh frekvenčnih komponent v izbranem delu posnetka. Za vsak posnetek smo v ta namen izbrali del posnetka brez signalov živali in drugih prehodnih dogodkov. Analizo smo opravili z računalniškim programom Raven Pro 1.4 (Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, ZDA) in programskim jezikom R (R Foundation for Statistical Computing, Dunaj, Avstrija).

Za vse pulze napevov smo določili »prvi val«, to je najzgodnejši val v oscilogramu, ki je po amplitudi občutno presegal šum v ozadju in ki se je nahajal znotraj pulzne ovojnice. Zanj smo v oscilogramih obeh kanalov izmerili amplitudo vrhov in časovni zamik. Podrobneje smo analizirali zaporedje petih vibracijskih signalov pozivnega napeva (FCS) z vsake lokacije, ali vse, če je napev sestavljalo pet signalov ali manj. Pri njih smo po isti metodi primerjali vse vrhove valovanja, ki so bili določljivi v obeh kanalih in pri katerih zamik ni presegal četrtno valovne dolžine. Za istih pet signalov smo s funkcijo `corenv`

iz paketa Seewave (Sueur in sod., 2008) za programski jezik R izračunali tudi korelacijo, to je primerjavo pulznih ovojníc med kanaloma, ki vrne maksimalno »podobnost« v arbitrarnih enotah med 0 in 1 ter časovni zamik med točkama maksimalne podobnosti. Zaradi računske zahtevnosti operacije smo posnetkom znižali hitrost vzorčenja (*sample rate*) z 48.000 na 18.000 vzorcev/s z uporabo programa CoolEdit Pro.

Če povzamemo, obstajajo tri možnosti in sicer da je pri merjenem parametru razlika med kanaloma (a) v prid ipsilateralne strani (v smer izvora vibracij), (b) v prid kontralateralne strani (nasprotno od smeri izvora vibracij) ali pa (c), da je smer nedoločljiva zaradi premajhne razlike med vrednostima na obeh straneh. V primeru, ko je za konkreten pulz parameter nakazoval ipsilateralno stran, smo ga označili za »zanesljivega« in mu pripisali pozitiven predznak, v nasprotnem primeru pa za »nezanesljivega« z negativnim predznakom. Pri amplitudi to pomeni, da je vrh vala zanesljiv parameter, če je v ipsilateralnem kanalu močnejši kot v kontralateralnem, pri zamiku pa, da val doseže vrh prej v ipsilateralnem kot v kontralateralnem kanalu posnetka. Prag zaznave pri zeleni smrdljivki ni natančno znan, zato smo preskusili več vrednosti, ki so določale mejo med določljivo in nedoločljivo razliko.

Bartlettov test je pri obeh parametrih pokazal nehomogenost varianc, zato smo srednje vrednosti primerjali z neparametričnim Kruskal-Wallisovim testom. Za primerjave parov srednjih vrednosti smo uporabili T-test ali, po potrebi, Aspin-Welchev T-test za neenake variance.

2.2.3.1 Modeliranje odziva samca, ki išče samico

Hipotetični samec, ki med iskanjem samice pride na razvejišče, ima na izbiro dve smeri nadaljevanja iskanja. Smer lahko določi na podlagi prvega signala z določljivim ključnim parametrom. V tem primeru bo delež odločitev, ki ga bodo pripeljale bližje samici, enak razmerju med zanesljivimi in nezanesljivimi izmerki. Če pa upoštevamo dejstvo, da samec na razvejišču počaka nekaj signalov samice (Ota in Čokl, 1991; Čokl in sod., 1999), lahko predpostavimo, da zaradi večje zanesljivosti sešteva informacije, ki jih daje več zaporednih signalov. Verjetnost za izbiro ene ali druge strani v razvejišču lahko ponazorimo z drsečim bralnim okvirjem, kjer vsak položaj predstavlja točko v sekvenci samičinega napeva, v kateri samec pride do razvejišča in prične zbirati informacije (Sl. 6).

# pulza	1	2	3	4	5	6	7
zanesljivost			-	+			0
# pulza	8	9	10	11	12	13	14
zanesljivost		-	0		-	-	+

Slika 6: zgledi položajev drsečega bralnega okvirja, pri katerih iščoči samec sprejme bodisi pravilno, bodisi napačno odločitev za nadaljevanje poti. Plus označuje »zanesljiv« signal, torej signal, katerega ključni parameter favorizira ipsilateralno stran razvejišča, minus »nezanesljiv« signal, ničla pa nedoločljiv signal. V zgornji polovici je predstavljena enostavna situacija z dvema zaporednimi signali enakega predznaka, v spodnji pa situacija, v kateri se bralni okvir raztegne dokler ne zaobjame dveh signalov z enakim predznakom.

Figure 6: three examples of a sliding reading frame positions at which the searching male comes to either correct or wrong decision for continuing the search. Plus sign denotes an "accurate" signal, i.e. a signal whose key parameter favours ipsilateral side of the crossing, while minus denotes an "inaccurate" signal and zero denotes an indeterminable signal. Upper half shows a straightforward situation where two successive signals have the same sign. Lower half shows a situation in which the reading frame stretches until it encompasses two signals with the same sign.

Pri velikosti okvirja 2 lahko pride do konfliktne situacije, kjer dva zaporedna signala favorizirata drugačni strani ali pa je vsaj eden od njiju nedoločljiv. V tem primeru smo predpostavili, da samec raztegne bralni okvir – počaka prvi naslednji signal, ki razreši konflikt tako, da eno smer v razvejišču favorizira več signalov kot drugo.

2.3 HKRATNO OGLAŠANJE DVEH SAMIC ZELENE SMRDLJIVKE NA RASTLINI

2.3.1 Poskusne rastline in živali

Za poskus smo uporabili sadike fižola, posajene v pollitrške plastične lončke z mešanico prsti za lončnice in vermita. Rastline v poskusu so bile stare dva tedna od kalitve, višine približno 15 cm, s polno razvitima nasprotnima listoma.

Poskusne živali so bile pridobljene in gojene na enak način kot tiste, ki smo jih uporabili testiranje prevajanja signalov preko rastlinskega razvejišča.

2.3.2 Potek poskusa

Na vsak list fižola smo položili eno samico in vzbudili oglašanje tako, da smo jima približali spolno zrelega samca. Hkrati smo zabeležili njun položaj oz. morebitno premikanje po rastlini med oglašanjem. Oglašanje vsakega para samic smo registrirali približno 15 minut od začetka oglašanja ali dokler ni ena od samic zapustila rastline. Če v desetih minutah ni nobena od njiju pričela z oglašanjem, smo poskus prekinili in ga ponovili z drugim parom.

2.3.3 Zajem in analiza podatkov

Napev samic smo posneli z laserskim vibrometrom (Polytec OFV 5000/505), usmerjenim pravokotno na steblo tik pod razvejiščem. Na to točko smo zaradi boljšega odboja laserskega žarka prilepili košček odbojne folije. Izhodni signal vibrometra smo digitalizirali z računalniško zvočno kartico SB Audigy 4 (Creative Labs, Milpitas, ZDA) pri 16.000 smpl/s in ga shranili v stereo načinu in nestisnjenem zvočnem formatu. Pred analizo smo iz posnetkov odstranili šum po prej opisanem postopku.

V analizi smo kvalitativno ocenili oglašanje samic in način morebitnega prekrivanja sekvenc signalov. Kvantitativno smo analizirali samo aktivnost samic, s čemer smo ugotavljali, ali prisotnost samičinega napeva zavre ali spodbudi napev druge samice. Primerjali smo delež poskusov, v katerih se je oglašala samo ena samica, z deležem poskusov, v katerih sta se oglašali obe.

2.4 ODZIV SAMIC ZELENE SMRDLJIVKE NA SINTETIZIRAN SAMIČIN NAPEV

2.4.1 Poskusne živali

Poskusne živali so bile pridobljene in gojene na enak način kot za poskus prevajanja signalov preko rastlinskega razvejišča. Da bi zagotovili dovolj velik numerus, smo zaradi težav z laboratorijsko populacijo stenic uporabili tudi na terenu nabrane živali; v tem primeru smo osebkne ločili po spolu takoj po koncu umetno vzbujenega obdobja hibernacije in jih vključili v poskuse 14 dni kasneje.

2.4.2 Stimulacija

Za predvajanje vibracijskih pulzov živalim je služila membrana srednje-tonskega zvočnika s premerom 73 mm, ki je hkrati predstavljala tudi podlago za prenos vibracij do točke registracije v sredini.

Program stimulacije so sestavljali sintetizirani čisto-tonski vibracijski pulzi z ovojnico podobne zgradbe kot čisto-tonski pulzi za vzbujanje vibracij v stebelu ciperusa (Sl. 4), ki so simulirali samičin pozivni napev (FCS). Dolgi so bili 1 sekundo, s časom naraščanja in padanja amplitude po 0,25 s. Za usklajevanje s frekvenco oglašanja samic smo pripravili serijo pulzov s frekvencami med 70 in 135 Hz, v korakih po 5 Hz.

Testirali smo vpliv frekvence, amplitude in ponavljalnega časa (časa od začetka signala do začetka naslednjega signala) dražljaja na odziv samic. Ob tem smo pri frekvenci in amplitudi kot izhodiščni položaj (referenco) vzeli parametre samičinega oglašanja pred začetkom stimulacije. Za ponavljalni čas smo izbrali vrednost 3,5 s kot reprezentativno vrednost samičinega pozivnega napeva (Čokl in sod., 2000). Slednja vrednost tudi leži v območju najučinkovitejše kombinacije dolžine signalov in pavze pri vzbujanju odziva samcev slovenske populacije (Žunič in sod., 2011). V vsakem poskusu smo testirali odziv

na draženje z dvema parametroma na izhodiščni vrednosti in enim spremenjenim nad (»visoko«) ali pod (»nizko«) to vrednost (Pregl. 3). To predstavlja šest različnih kombinacij, vključno s kombinacijo z vsemi tremi parametri na izhodiščni vrednosti pa skupaj sedem kombinacij parametrov (Pregl. 4).

Preglednica 3: vrednosti parametrov sintetiziranega samičinega napeva v poskusih. Izhodiščna vrednost je bila določena dinamično glede na oglašanje samice tik pred začetkom stimulacije, razen ponavljalnega časa, kjer je bila za izhodišče izbrana reprezentativna vrednost (Čokl in sod., 2000; Žunič in sod., 2011). Pri dolžini pulza 1 s predstavljata »visoka« vrednost ponavljalnega časa 1,5× dolžino, »nizka« pa 0,5× dolžino izhodiščne pavze.

Table 3: values of parameters of the synthesized female song used for experiments. The default value was determined dynamically using the parameters of test female song before the onset of stimulation, except for repetition time, where representative value (Čokl in sod., 2000; Žunič in sod., 2011) was used as default. With pulse duration of 1 s, »high« and »low« values of repetition time are 1.5× and 0.5× the length of default pause, respectively.

	frekvenca [Hz] (glede na samičino)	amplituda [dB] (glede na samičino)	ponavljalni čas [s]
visoko	+10	+6	4,75
izhodiščno	0	0	3,50
nizko	-10	-6	2,25

Preglednica 4: kombinacije vrednosti parametrov sintetiziranega samičinega napeva v poskusih (frekvenca [Hz] / amplituda [dB] / ponavljalni čas [s]). Pod vsako kombinacijo je navedena oznaka.

Table 4: combinations of values of parameters of the synthesized female song used for experiments (frequency [Hz] / amplitude [dB] / repetition time [s]). Label for each combination is listed below.

spremenjeni parameter	visoko	nizko
/	0 / 0 / 3,50	
oznaka	==	
frekvenca	+10 / 0 / 3,50	-10 / 0 / 3,50
oznaka	+10 ==	-10 ==
amplituda	0 / +6 / 3,50	0 / -6 / 3,50
oznaka	= +6 =	= -6 =
pon. čas	0 / 0 / 4,75	0 / 0 / 2,25
oznaka	= = 1,5x	= = 0,5x

2.4.3 Potek poskusa

Samico smo položili na membrano zvočnika in ji omejili gibanje s plastičnim pokrovom, ki se ni dotikal roba membrane. Žarek laserja smo usmerili na površino membrane skozi luknjo na sredi pokrova. Oglašanje samice smo spodbudili tako, da smo tik pred namestitvijo pokrova samici približali spolno zrelega samca. Ko se je samica začela oglašati, smo v frekvenčnem spektru (velikost okna: 5008 smpl., velikost DFT: 8129 smpl.), ki ga je sproti izrisoval program za analizo Raven Pro 1.4, izmerili najmočnejšo frekvenčno komponento signalov, z oscilograma pa odčitali amplitudo. Na osnovi tega smo izbrali stimulacijski pulz z ustrezno frekvenco in naravnali glasnost predvajanja glede na amplitudo samičinih signalov.

Ko je samica neprekinjeno oddala vsaj 10 signalov pozivnega napeva (FCS), smo pričeli s predvajanjem simuliranega napeva z izbrano kombinacijo parametrov. Cikel stimulacije je trajal 10 minut. Če je samica nadaljevala z oglašanjem ves ta čas, smo njen napev registrirali še nekaj minut po končanju stimulacije. Parametrov stimulacije med poskusom nismo spreminjali, tudi če je samica spremenila svoje oglašanje.

Za vsako žival v poskusih smo najprej posneli kontrolo, ki je pomenila 10 minut registriranja signalov po začetku oglašanja na membrani zvočnika brez stimulacije. Vsako samico smo potem testirali s kombinacijami parametrov iz Pregl. 4. Ista žival je bila testirana največ dvakrat na dan, enkrat v dopoldanski in enkrat v popoldanski seriji poskusov, znotraj vsake serije pa je bil vrstni red samic naključen. Če samica v desetih minutah od začetka snemanja ni pričela z rednim oglašanjem, smo poskus obravnavali kot neveljaven in ga poskušali ponoviti v naslednji seriji.

2.4.4 Zajem in analiza podatkov

Napev samic in stimulacijo smo posneli z laserskim vibrometrom (Polytec OFV 5000/505), usmerjenim navpično v točko na sredini membrane zvočnika. Nanjo je bil za boljši odboj laserskega žarka prilepljen košček odbojne folije. Izhodni signal vibrometra smo digitalizirali z računalniško zvočno kartico SB Audigy 4 (Creative Labs, Milpitas, ZDA) pri 16.000 smpl/s in shranili v nestisnjenem zvočnem formatu.

Pred analizo smo iz posnetkov odstranili šum po prej opisanem postopku. Podatke smo analizirali z računalniškim programom Raven Pro 1.4 in z v ta namen napisanimi algoritmi v programskem okolju R. Izmerili smo naslednje parametre samičinih signalov: dominantno frekvenco, dolžino signalov, ponavljalni čas in amplitudo. Pri tem smo dominantno frekvenco in amplitudo izmerili samo pri signalih, ki se niso prekrivali s pulzi stimulacije, časovna parametra pa pri vseh. Kadar je bila določitev začetka ali konca samičinega signala otežena zaradi prekrivanja, smo se ravnali po spektrogramu, iz katerega sta bila začetek ali konec zanesljiveje razvidna zaradi drugačnih spektralnih karakteristik signala. Preliminarna analiza je pokazala, da se dominantna frekvenca in amplituda signalov pri mnogo samicah tekom poskusa počasi spreminjata navzgor ali navzdol, zato smo za ta dva parametra računali koeficient korelacije namesto srednjih vrednosti. Uporabili smo neparametričen Spearmanov test korelacije, ki ne predpostavlja distribucije (vir).

Da bi primerjali stopnjo aktivnosti med kontrolo in stimulacijo smo izmerili dolžino prve neprekinjene sekvence samičinega pozivnega napeva, dolge 10 pulzov ali dlje (to je bila namreč meja za začetek predvajanja stimulacije v poskusih). Kot prekinitev pozivnega napeva smo obravnavali signale dvorjenja ali premore, daljše od dvakratne vrednosti normalnih premorov znotraj pozivnega napeva. Pri tem smo v isti razred združili primere, ko je samica oddajala neprekinjen pozivni napev dlje od 10 minut, in ta razred obravnavali

kot trajanje 10 minut (600 sekund). Samice zelene smrdljivke lahko namreč oddajajo neprekinjen napev več deset minut hkrati in smo zaradi časovnih omejitev v takem primeru prekinili snemanje po 10 minutah neprekinjenega napeva.

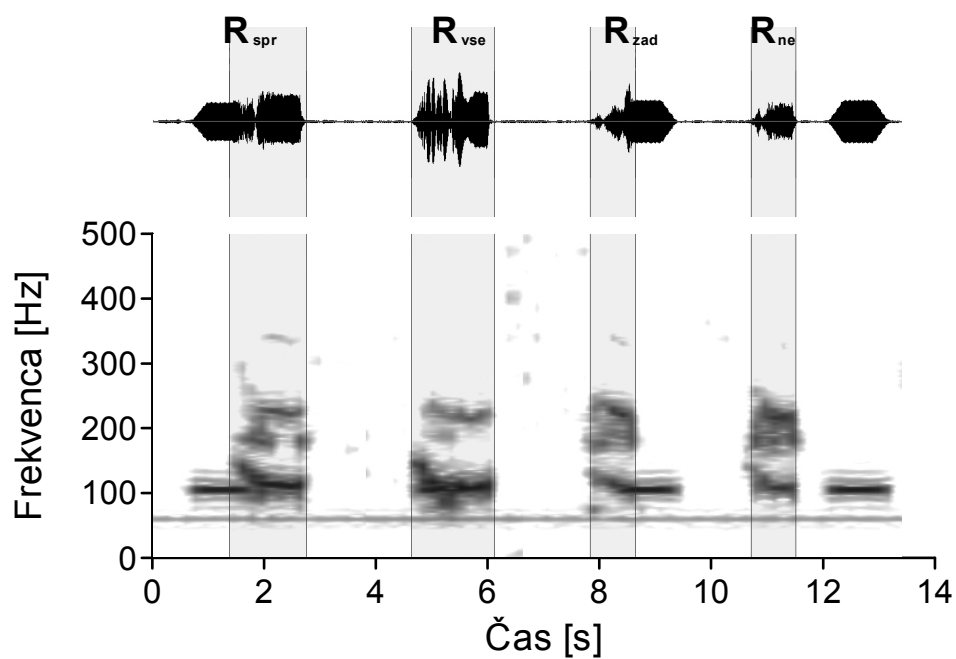
Za podrobnejšo analizo smo primerjali osnovne parametre napeva pred začetkom stimulacije in po njem, med kontrolo in poskusom ter med poskusi z različnimi parametri. Poleg osnovnih parametrov smo podrobneje preučili še ritem oddajanja signalov. Spremljali smo ponavljalni čas in dolžino signalov skozi celotno trajanje vsakega poskusa in preučili kombiniranje zaporedja napeva z zaporedjem stimulacije da bi odkrili morebitno prilagajanje. V ta namen smo izračunali delež signalov, oddanih v različnih fazah zaporedja pulzov stimulacije. Samičine signale smo razvrstili v štiri kategorije, glede na fazo zaporedja pulzov stimulacije, v katerih so bili oddani: »spr« – začetek samičinega signala prekriva konec pulza stimulacije; »zad« – konec samičinega signala prekriva začetek pulza stimulacije; »vse« – samičin signal v celoti prekriva pulz stimulacije, ali obratno (odvisno od tega, kateri je bil daljši); »ne« – samičin signal je oddan v pavzi med sosednjima pulzoma stimulacije in se v nobenem delu ne prekriva z njima (Sl. 7). Ta metoda bi nedvoumno razkrila prilagajanje stimulaciji. Za primer, delež signalov v kategoriji R_{ne} bi pri alternaciji znašal blizu 100 %, pri namernem prekrivanju pa blizu 0 %. Za primerjavo med samicami in med poskusnimi postavitvami smo izračunali pričakovan delež signalov v vsaki kategoriji R_{kat} glede na dejanske vrednosti časovnih parametrov napevov (dolžine pulza in ponavljalnega časa) po naslednjem načelu:

$$R_{ne} = \frac{\text{ponavljalni čas stimulacije} - \text{povprečna dolžina signala samice}}{\text{povprečni ponavljalni čas samičinega napeva}} \quad \dots (14)$$

$$R_{vse} = \frac{|\text{dolžina pulza stimulacije} - \text{povprečna dolžina signala samice}|}{\text{povprečni ponavljalni čas samičinega napeva}} \quad \dots (15)$$

$$R_{spr} = R_{zad} = \frac{1 - R_{ne} - R_{vse}}{2} \quad \dots (16)$$

Pri izračunu enačb (14) in (15) smo upoštevali samo ponavljalne čase med signali v rednem zaporedju, brez ponavljalnih časov na mestih, kjer je bilo zaporedje prekinjeno.



Slika 7: shema kategorij signalov samičinega pozivnega napeva glede na prekrivanje s pulzi stimulacije.

Zgoraj: oscilogram, spodaj: spektrogram.

Figure 7: diagram of female calling signal categories according to overlap with stimulation pulses. Above: oscillogram, below: spectrogram.

3 REZULTATI

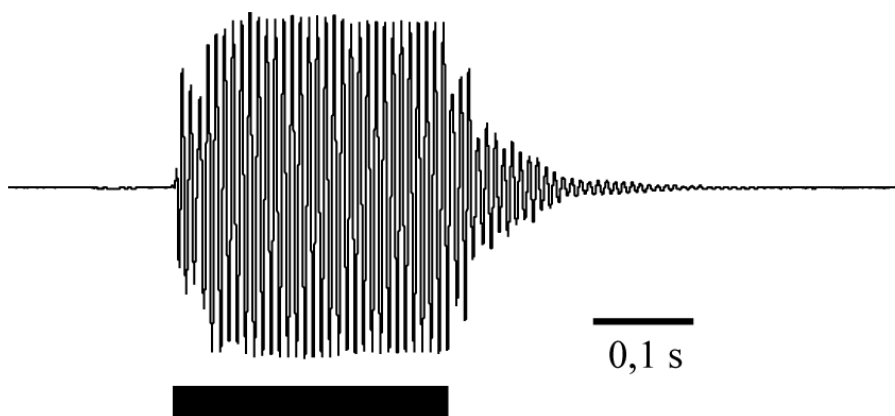
3.1 REZONANČNE LASTNOSTI RASTLINSKEGA TKIVA

3.1.1 Steblo ciperusa – lastnosti materiala

Najprej smo določili mehanske lastnosti materiala, ki vplivajo na njegove resonančne lastnosti. 9-gramska utež je povzročila 6 mm odmika 17,3 cm dolgega kosa stebela ciperusa s premerom 4,36 mm. S serijo uteži smo potrdili, da je razmerje teža/odmik v tem območju linearno. Za dane vrednosti sile, odmika, dolžine in geometrijskega momenta je Youngov modul znašal $1,42 \times 10^9 \text{ N/m}^2$. 10 cm dolg kos istega stebela je tehtal 0,989 g, kar dá gostoto $7,49 \times 10^5 \text{ g/m}^3$ in 9,89 g/m teže na enoto dolžine.

3.1.2 Karakterističen ekvibracijski čas

Tudi pri čistem sinusoidnem vzburjanju so v fizikalnem sistemu ob začetku nihanja vzburjeni vsi lastni nihajni načini hkrati, kar se odraža v kaotičnem nihanju. V prehodnem času, ki sledi, prihaja do dušenja vzburjenih nihajnih načinov, pri čemer se povečuje samo amplituda tistih blizu frekvence vzburjanja, katerim se dovaja energija. Ta prehodni čas, v katerem se vzpostavi konstantno nihanje pri frekvenci vzburjanja, je obratno sorazmeren z dušenjem: močnejše kot je dušenje, krajši je prehodni čas. V preučevanem sistemu je enakomerno stanje doseženo v približno desetinki sekunde (Sl. 8). To pomeni, da nastane stoječe valovanje vedno, kadar vzburjanje s konstantno frekvenco traja dlje od delčka sekunde.

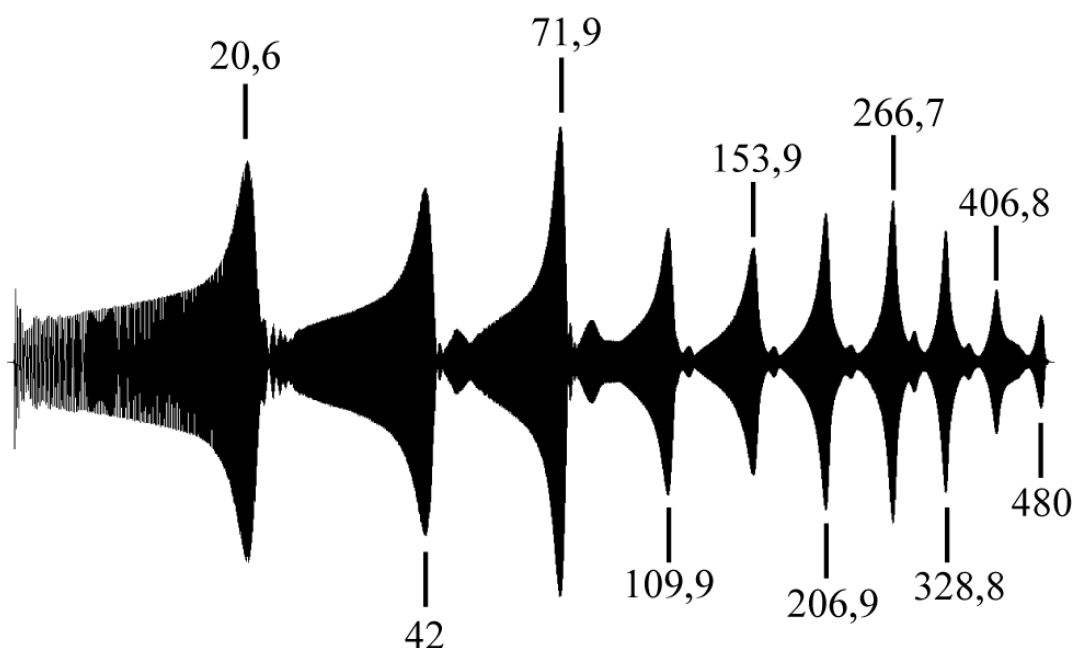


Slika 8: oscilogram sinusoidnega pulza s pravokotno pulzno ovojnico in frekvenco, ki se ujema z eno od lastnih frekvenc stebela ciperusa (109 Hz na ciperusu 1), posnet 10 cm pod točko vzburjanja. Črta pod njim ponazarja trajanje vzburjanja, stoječe valovanje se vzpostavi v približno desetinki sekunde.

Figure 8: An oscillogram of a sine pulse with rectangular pulse envelope and the frequency corresponding to one of the eigenmodes of a cyperus plant (109 Hz on Cyperus 1), recorded 10 cm below the source of vibration. The line below represents duration of stimulation, steady state is reached after approximately one tenth of a second.

3.1.3 Lastne frekvence in resonanca

Frekvenčno moduliran pulz smo predvajali v dve stebli ciperusa z miniaturnim vzbujevalnikom, pritrjenim tik pod vrhom stebela. Ta metoda je razkrila več resonančnih frekvenc med 10 in 500 Hz (Sl. 9). Natančen položaj vrhov se je razlikoval med rastlinama, razmerja med njimi pa so bila konstantna.



Slika 9: oscilogram, ki prikazuje resonančni profil 84 cm visokega ciperusa (ciperus 1) z odrezano listno rozeto, posnet 5 cm od mesta vzbujanja. Frekvenčni sweep se začne pri 10 Hz na levi in konča pri 500 Hz na desni strani (naraščanje frekvence ni linearno). Jasno je vidnih 10 resonančnih vrhov – na začetku je tretji pri 20,62 Hz, na koncu pa dvanajsti pri 480 Hz (glej Pregl. 5 za podrobnosti).

Figure 9: An oscillogram showing the resonance profile of the 89.5 cm tall sedge plant (Cyperus 2) with leaf rosette cut off, recorded at 5 cm away from the source of vibration. The frequency sweep starts at 10 Hz on the left and ends at 500 Hz on the right (note that the increase in frequency is not linear). 10 resonance peaks are clearly visible, starting with the third one at 20.62 Hz and ending with the 12th one at 480 Hz (see Tab. 5 for details).

Primerjali smo izračunane in izmerjene resonančne lasnosti obeh stebel (Pregl. 5). Frekvenca prvih dveh vrhov je prenizka za zaznavanje s frekvenčno modulacijo nad 10 Hz, ostali izmerjeni vrhovi pa se dobro ujemajo z izračunanimi. Razlika je v tem, da zaporedne frekvence izmerjenih vrhov naraščajo rahlo hitreje od frekvenc izračunanih.

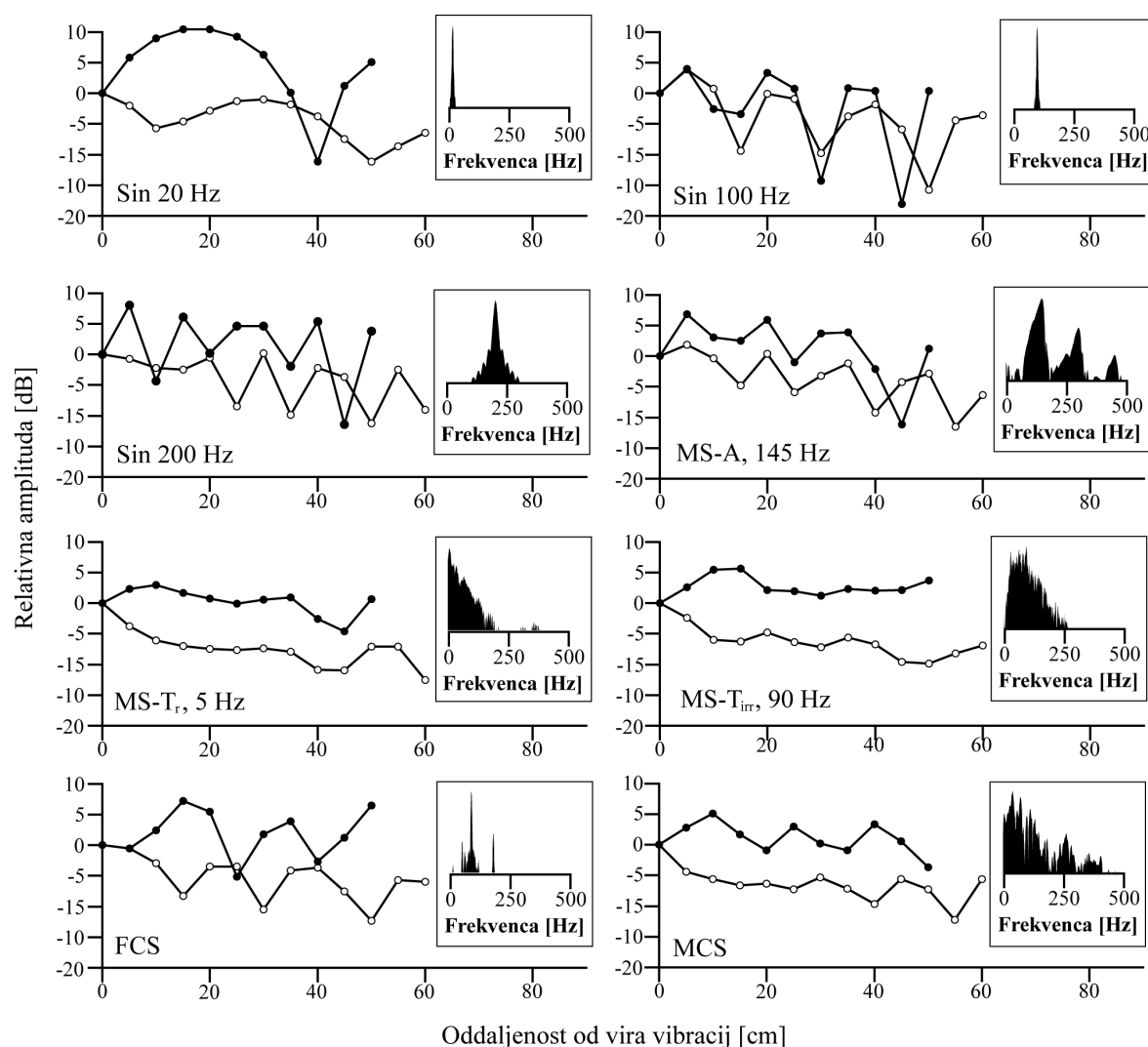
Preglednica 5: primerjava med izračunanimi in izmerjenimi resonančnimi lastnostmi obeh stebel ciperusa.
Table 5: comparison between calculated and measured resonant properties of both sedge stems.

Rastlina		ciperus 1		ciperus 2	
Višina		84 cm		89,5 cm	
Res. vrhovi do 500 Hz		izračunan	izmerjen	izračunan	izmerjen
#	K_n	[Hz]	[Hz]	[Hz]	[Hz]
1.	3,52	1,23	/	1,12	/
2.	22,03	7,94	/	6,99	/
3.	61,70	22,22	20,62	19,58	15,13
4.	120,90	43,55	42,02	38,36	31,06
5.	199,86	71,99	71,94	63,41	68,49
6.	298,56	107,54	109,89	94,73	103,09
7.	416,99	150,20	153,85	132,30	145,45
8.	555,16	199,97	206,90	176,14	190,48
9.	713,08	256,85	266,67	226,25	250
10.	890,73	320,83	328,77	282,61	307,69
11.	1088,12	391,93	406,78	345,24	372,09
12.	1305,25	470,14	480,00	414,14	438,36

Preverili smo tudi resonančne lastnosti neodrezanega stebela. Vse izmerjene resonančne frekvence se razlikujejo za 4 % ali manj od resonančnih frekvenc stebela brez listne rozete. To pomeni, da je razlika v prevajanju vibracij na stiku steblo-listna rozeta dovolj velika, da se tisti del obnaša kot prost konec. Prisotnost listne rozete tako ne vpliva bistveno na resonančne lastnosti stebela.

3.1.4 Spreminjanje amplitude vzdolž stebela ciperusa

Največji pravokotni odmik površine stebela se je spreminjal z razdaljo od mesta vzbujanja pri vseh testiranih frekvencah umetno sintetiziranih pulzov. Opazen je bil enakomeren vzorec lokalnih minimumov in maksimumov amplitude, kar se ujema z modelom interference zaradi odboja valovanja (Sl. 10). Isti pojav smo opazili pri merjenju amplitud posameznih frekvenčnih vrhov med frekvenčno moduliranim signalom vzdolž stebela.

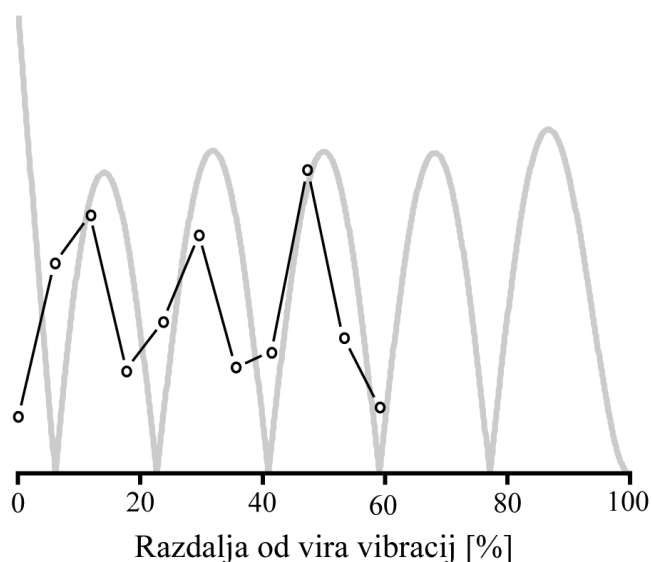


Slika 10: Profil amplitude predvajanih pulzov z razdaljo vzdolž obeh stebel ciperusa (polni krogi: ciperus 1, prazni krogi: ciperus 2). Prikazana je samo ena frekvenčna različica vsakega tipa signala stenice *P. maculiventris*. Amplitude so v decibelih glede na amplitude pri viru vibracij, ki znaša približno 1 mm/s maksimalne hitrosti nihanja. Frekvenčni spekter vsakega pulza je prikazan v okencu ob grafu. Amplitudna lestvica tega je prav tako v decibelih, glede na amplitude najmočnejšega vrha (0 dB) in -60 dB na dnu.

Parametri so v Pregl. 1.

Figure 10: Distance/amplitude profiles of studied pulses on the two sedge plants (filled circles: Cyperus 1, empty circles: Cyperus 2). One frequency variant of each *P. maculiventris* signal type is shown. Amplitudes are given in decibels relative to the amplitude at the source, which is approximately 1 mm/s peak-to-peak velocity. Each pulse's frequency spectrum is shown in the graph's inset. Amplitude scale is in dB relative to the strongest peak's amplitude (0 dB) and -60 dB at the bottom. Parameters are listed in Table 1.

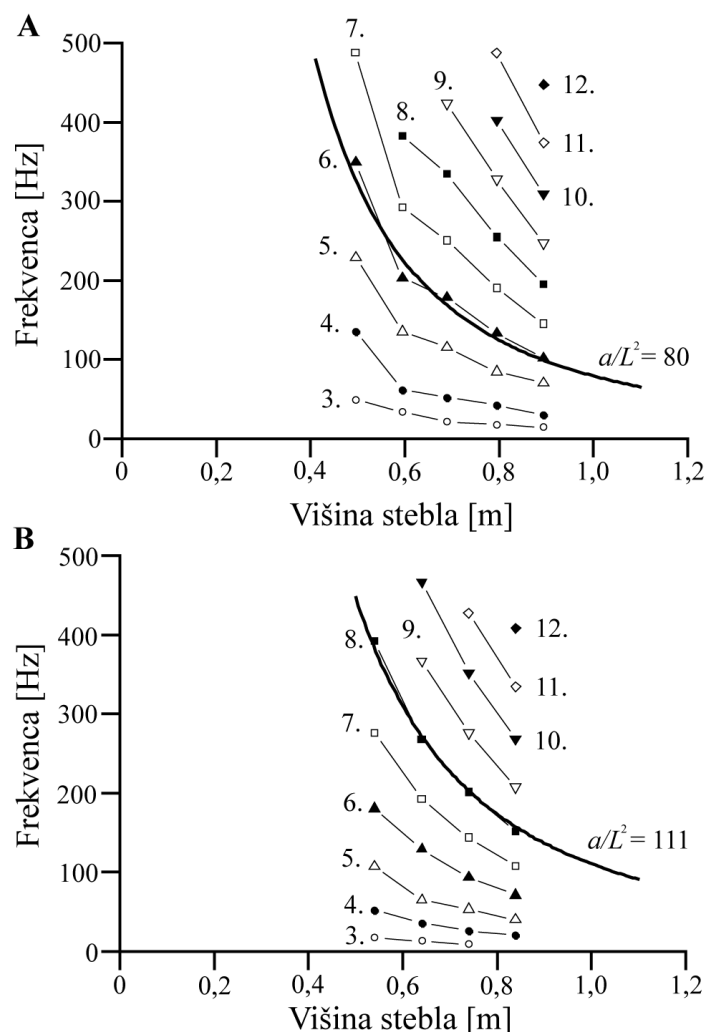
Prostorski profil lastnih nihajnih načinov (enačba (11)) predstavlja prostorsko odvisnost amplitude stoječega valovanja. Izmerjene valovne dolžine oscilacije maksimalnih amplitud se ujemajo z izračunanimi vrednostmi vzdolž stebila (Sl. 11).



Slika 11: primerjava med spreminjanjem maksimalne amplitude šestega resonančnega vrha pri 109,9 Hz na različnih točkah vzdolž stebila 84 cm visokega ciperusa (črni krogi) in vrednostmi, izračunanimi z enačbo (11) (siva črta). Vrednosti na ordinatni osi so arbitrarne.

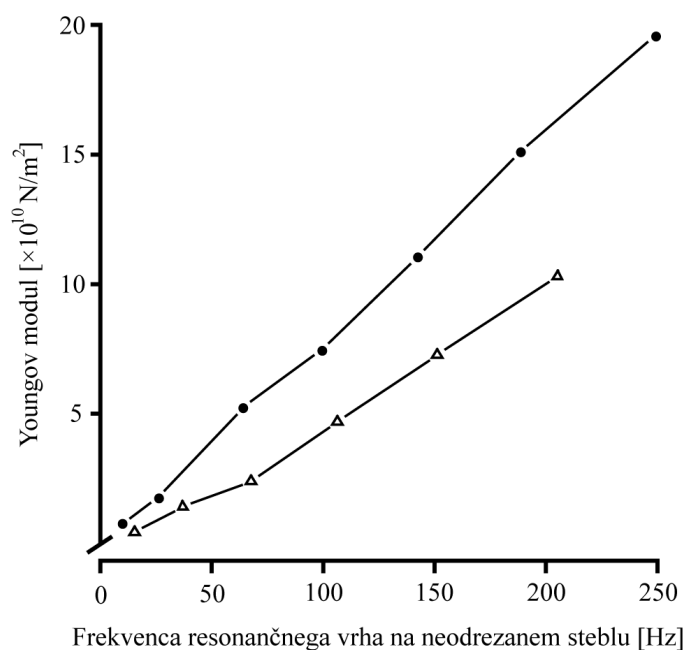
Figure 11: comparison between peak amplitude variation of the sixth resonant peak with 109.9 Hz frequency at different points along the stem of the 84 cm high Cyperus plant (black circles) and values calculated with equation (11) (grey line). Values on the Y axis are arbitrary.

Enačba (8) napoveduje recipročno kvadratno odvisnost resonančne frekvence od dolžine stebila, kar je jasno vidno na grafu odvisnosti izmerjenih resonančnih frekvenc od dolžine stebila (Sl. 12). Od drugega resonančnega vrha navzgor (prvi je bil prenizko da bi ga lahko zaznali s frekvenčno modulacijo od 10 Hz navzgor) dajo trendne funkcije vrednosti E iz enačbe (9), ki naraščajo z višjimi resonančnimi frekvencami, od $4,81 \times 10^9 \text{ N/m}^2$ (približno trikratna vrednost izmerjenega E) do $1,97 \times 10^{11} \text{ N/m}^2$ za deveti resonančni vrh, kar je stokratna vrednosti izmerjenega E (Sl. 13).



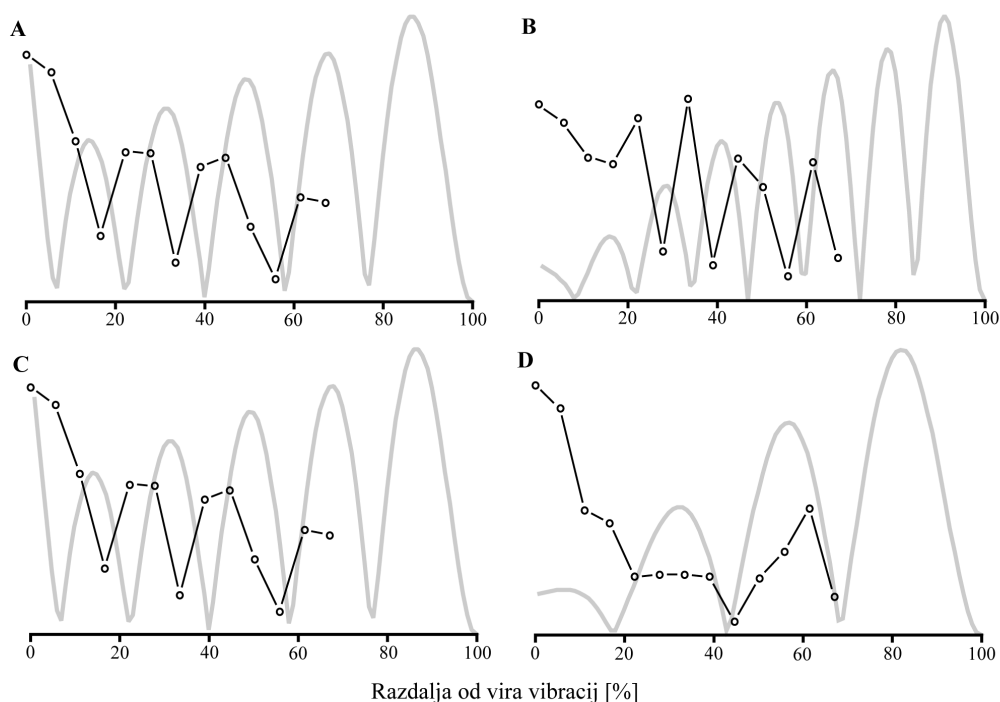
Slika 12: grafa odvisnosti frekvence resonančnih vrhov od dolžine stebila za oba ciperusa v poskusu (A: ciperus 1, B: ciperus 2). Vsak set s črtami povezanih simbolov v grafu predstavlja en resonančni vrh, od tretjega na dnu (prazni krogi; približno 20 Hz pri neodrezanem stebelu) do dvanajstega na vrhu (polni karo); 480 Hz pri ciperusu 1 in 438,36 Hz pri ciperusu 2). Za vsak ciperus je prikazan zgled trendne funkcije $y=a/L^2$ (glej enačbo (9)).

Figure 12: plots of resonant peaks' frequency vs. stem length for the two sedges tested (A: Cyperus 1, B: Cyperus 2). Each set of symbols connected with lines within a plot represents one resonance peak, from the third at the bottom (empty circles; around 20 Hz on an intact stem) to the 12th at the top (filled diamond; Cyperus 1: 480 Hz, Cyperus 2: 438.36 Hz). An example of the $y=a/L^2$ fit (see Equation (9)) is given for each sedge.



Slika 13: vrednosti Youngovega modula, izračunane iz trendne funkcije $y=a/L^2$ izmerjene odvisnosti zaporednih lastnih frekvenc od dolžine stebila (Enačba (10), Sl. 12), za oba premerjena ciperusa.
Figure 13: values of Young's modulus calculated by fitting the function $y=a/L^2$ to the measured dependence of successive eigenfrequencies on the stem length (Eq. (10), Fig. 12), shown for the two *Cyperus* plants tested.

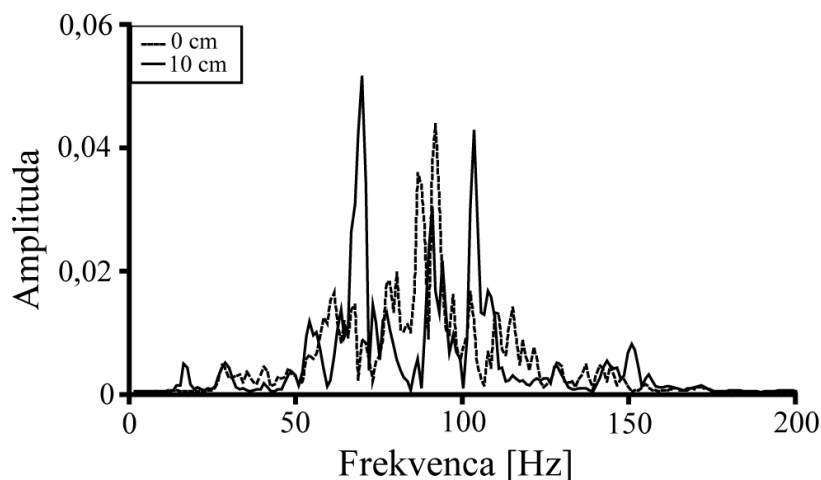
Razdalja med vozli izmerjenega vzorca amplitud vzdolž stebila se ujema s teoretično napovedjo, tako za sinusoidne vibracije čistih tonov, kot za signale stenic. Na Sl. 14 so prikazani primeri prostorskih profilov vibracij pri neresonančnih frekvencah.



Slika 14: primerjava izmerjenega spreminjanja amplitude pulzov pri neresonančnih frekvencah (prazni krogci) in izmerjenih vrednosti (sive črte; enačba (13)) vzdolž stebra 89,5 cm visokega ciperusa (ciperus 2). Vrednosti na ordinatnih oseh so arbitrarne, prikazana je po ena frekvenčna različica vsakega tipa signala stenic. **A:** 20 Hz sinusoidno valovanje; **B:** 200 Hz sinusoidno valovanje; **C:** *N. viridula* FCS, 89 Hz; **D:** *P. maculiventris* T_{irr} , 50 Hz.

Figure 14: comparison between observed amplitude variation of pulses with non-resonant frequencies (empty circles) and calculated values (grey lines; eq. 13) for the 89.5 cm high sedge (*Cyperus* 2). Y axes are arbitrary, and one frequency variant for each bug signal type is shown. **A:** 20 Hz sine wave; **B:** 200 Hz sine wave; **C:** *N. viridula* FCS, 89 Hz; **D:** *P. maculiventris* T_{irr} , 50 Hz.

Vzorec ozkopasovnih naravnih signalov z močno izraženo dominantno frekvenco, kot je to značilno za pozivne napeve samice zelene smrdljivke (FCS), je primerljiv z vzorcem pulzov sinusoidne vibracije. Drugi tipi signalov stenic, kot sta neredno ponavljajoči se tremulacijski signal vrste *P. maculiventris* (MS- T_{irr}) in samčev pozivni signal zelene smrdljivke (MCS), pa imajo v glavnem široke dominantne vrhove frekvenčnega spektra (Čokl in sod., 2000; 2009), kar velja tudi za signale, uporabljene v tej raziskavi (Sl. 10, Pregl. 2). Različne frekvenčne komponente znotraj signala so zmanjšale variacijo amplitude, ki je na daljših razdaljah praktično izginila. Analizirali smo razmerja amplitud sosednjih vozlov in antivozlov (v dB, oboje relativno glede na referenčno amplitudo) v prostorskem profilu. Korelacija med razmerjem amplitude vozela/antivozela in pasovno širino pulzov je bila značilno negativna, s korelacijskim koeficientom -0,56 ($P < 0,001$, $N = 105$). Lastni nihajni načini so kljub temu ostali razpoznavni tudi v kaotičnem nihanju kadar smo rastlino vibrirali s posnetkom širokopasovnega pulza. V frekvenčnem spektru, pridobljenem s Fourierjevo transformacijo so bili dobro vidni ustrezni vrhovi, pri čemer so se razmerja njihovih amplitud spreminjala z razdaljo od vira (Sl. 15).



Slika 15: primerjava frekvenčnih spektrov signala s širokim frekvenčnim vrhom, *P. maculiventris* MS-T_{irr} z dominantno frekvenco 90 Hz (glej Pregl. 2 in Sl. 10), posnetih pri viru vibracij (črtkana črta) in 10 cm nižje vzdolž stebila (neprekinjena črta). Amplituda je izražena linearno – ne v decibelih kot na ostalih slikah – in enako za oba spektra, vrednosti pa so arbitrarne.

Figure 15: comparison of frequency spectra of a signal with a wide frequency peak, the *P. maculiventris* MS-T_{irr}, with the dominant frequency 90 Hz (see Tab. 2, Fig. 10), recorded at the source of vibration (dashed line) and 10 cm lower on the stem (unbroken line). The amplitude scale is linear – not expressed in dB units as elsewhere – and the same for both spectra, however, values are arbitrary.

Največje zmanjšanje amplitude pri ozkopasovnih naravnih signalih smo opazili pri pulzih FCS: na enem od stebel je na razdalji 85 cm od vira znašalo 13 dB, kar pomeni maksimalno hitrost 0,22 mm/s pri referenčni vrednosti 1 mm/s. Kljub temu, da je bil vrh rastline pritrjen z miniaturnim vzbujevalnikom, se je lahko amplituda bodisi povečala, bodisi zmanjšala na naslednji točki snemanja odvisno od položaja vozlov in antivozlov. V večini primerov je maksimalna amplituda nihala okrog 0 dB glede na referenčno vrednost po celotni merjeni dolžini, pri čemer je bilo opazno rahlo dušenje v smeri dna stebila. Kljub temu dušenju se je amplituda znižala za manj kot je znašala amplitudna razlika med vozli in antivozli pri vseh tipih pulzov, razen MCS zelene smrdljivke. Posledično je bilo lahko nihanje, posneto na zadnjem antivozlu 60 cm od mesta vzbujanja, še vedno močnejše od referenčne vrednosti. Zgoraj predstavljeni modeli stoječega valovanja ne upoštevajo dušenja. Za grobo oceno smo izmerili amplitudo prvega in zadnjega antivozla, kjer je bilo to možno. Dušenje sinusoidnega nihanja je pri 100 Hz znašalo 2,98 dB na razdalji 30 cm oz. 0,1 dB/cm, padec amplitude 200-Hz pulzev pa je znašal 0,06 dB/cm. Najnižji izmerjeni padec je znašal 0,02 dB/cm (FCS zelene smrdljivke z dominantno frekvenco 89 Hz), največji pa 0,1 dB/cm (100-Hz sinusoidno nihanje in MS-1 signali stenice *P. maculiventris* z dominantno frekvenco 145 Hz). Dušenje ni koreliralo niti z razliko v frekvenci od najbližjega resonančnega vrha, niti s pasovno širino pulzov. Upoštevati pa je treba, da so vse vrednosti atenuacije približne, saj smo lahko dejanski položaj antivozla zgrešili za do 2,5 cm zaradi dane prostorske ločljivosti merjenja.

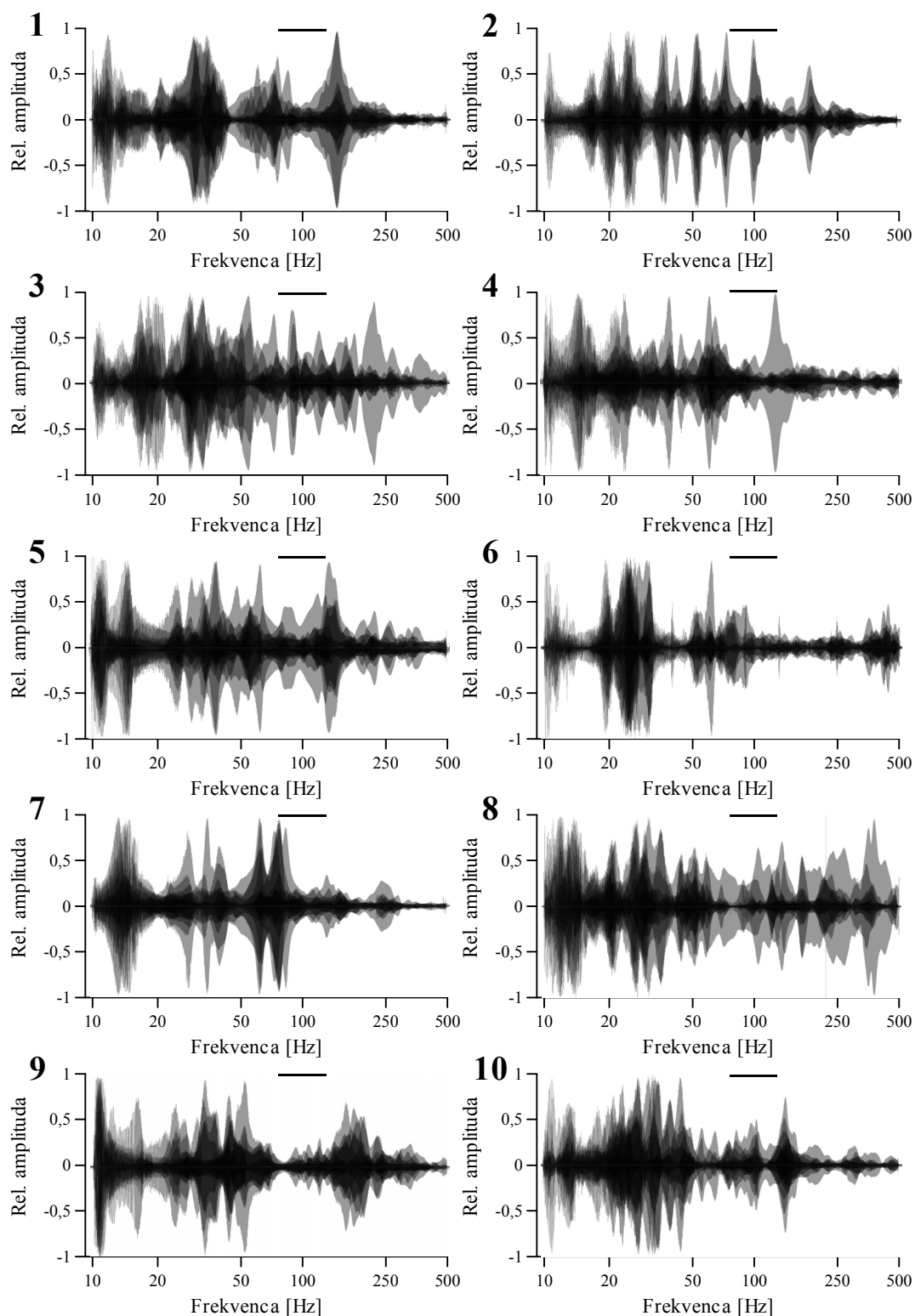
3.1.5 Frekvenčni profil sadik fižola

Geometrija uporabljenih sadik fižola je bila bistveno kompleksnejša, z razvejiščem, dvema listoma in vrhnjim poganjkom (Sl. 3), zato ni bil možen pristop z razmeroma enostavnim matematičnim modeliranjem, ki smo ga uporabili za ravno steblo ciperusa. Rezultati so zato predstavljeni samo sumarično, v obliki oscilogramov celega frekvenčno moduliranega signala, naloženih eden na drugega.

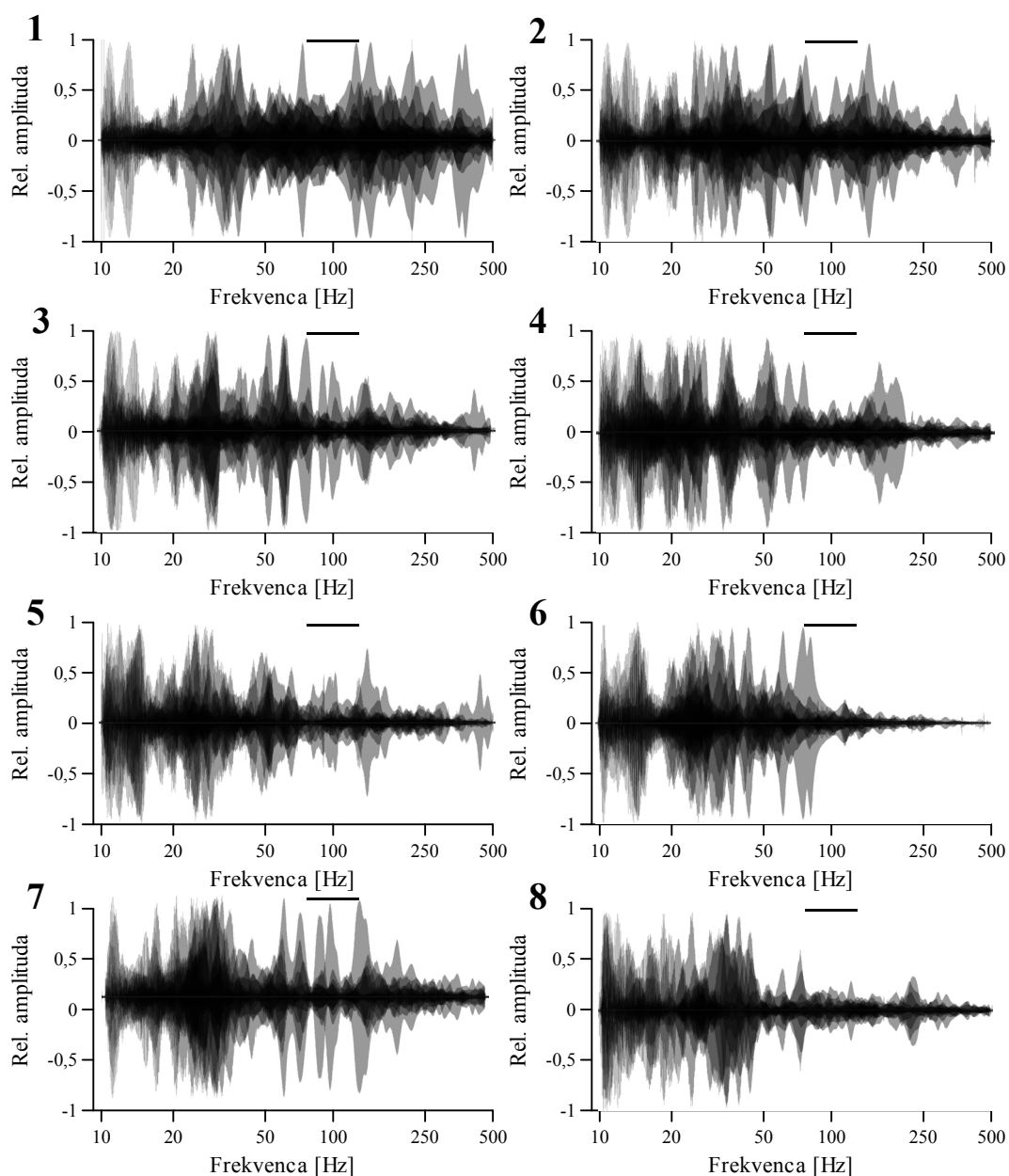
Rezultati so prikazani kot (a) sumarični oscilogram frekvenčno moduliranega signala posnetega na isti točki na vseh fižolih in kot (b) sumarični oscilogram frekvenčno moduliranega signala posnetega na vseh točkah istega fižola. Iz obeh prikazov so razvidne nekatere splošne značilnosti prenosa: na skoraj vseh točkah in skoraj vseh fižolih je bila najmočnejša najnižja frekvenčna komponenta (10 Hz), nad njo pa so bili razvidni ostri vrhovi s primerljivo relativno amplitudo samo v posamičnih posnetkih (v eni plasti sumaričnega oscilograma). Redko so se točno prekrivali z vrhovi v drugih plasteh sumaričnega oscilograma, zato so skupaj tvorili širša frekvenčna območja ojačitve. Praviloma so bila ta območja omejena na frekvence pod 50 Hz. Opazno je, da so kombinirani frekvenčni profili z vseh točk na istem fižolu (Sl. 16) tvorili ostrejšje vrhove od kombiniranih profilov z iste točke na vseh fižolih (Sl. 17).

Na sredini in bazi vibriranega lista (točki 1 in 2) nobeno frekvenčno območje ni izstopalo po relativni amplitudi, na ostalih točkah, predvsem na konici kontralateralnega lista in zgornjem poganjku, pa je bilo frekvenčno območje nad 50 Hz skoraj povsem zadušeno (Sl. 17). Na ravni posameznih fižolov je izstopal fižol 2 (glej Pregl. 1), pri katerem se je v sumaričnem oscilogramu pokazalo več ostrih resonančnih vrhov med 15 in 200 Hz, ki so imeli na vsaj treh točkah primerljivo relativno amplitudo. Pri ostalih fižolih so bili resonančni profili podobni resonančnim profilom po točkah – torej z relativno močnim območjem do 50 Hz, nad njim pa je bilo relativno šibko območje, kjer se je nihanje zadušilo. Za razliko od sumaričnega profila na posameznih točkah pa je izstopalo še eno območje, med 110 in 180 Hz, ki je bilo ojačano pri nadaljnjih šestih fižolih od desetih.

Gledano v absolutnem merilu je maksimalna hitrost na večini točk padla pod 0,5 mm/s, maksimalna hitrost v območju 70 – 130 Hz pa še nižje (Pregl. 6, Sl. 18), čeprav je bil na posameznih, navidez naključnih fižolih, najvišji vrh ravno v tem območju. To se je zgodilo na 7 točkah od skupno 80. Maksimalna amplituda na sredini ipsilateralnega lista se je v povprečju ujemala z referenčno. Izstopala je točka 6 na konici kontralateralnega lista, na kateri je maksimalna hitrost dosegala trikratno vrednost izhodiščne. Med fižoli je izstopal tisti s številko 7, na katerem smo praviloma posneli najvišjo maksimalno amplitudo, bodisi celotnega frekvenčno moduliranega pulza, bodisi v območju 70 – 130 Hz, posebej na bazi kontralateralnega lista, kjer je celokupna maksimalna amplituda dosegla štirikratno vrednost izhodiščne.

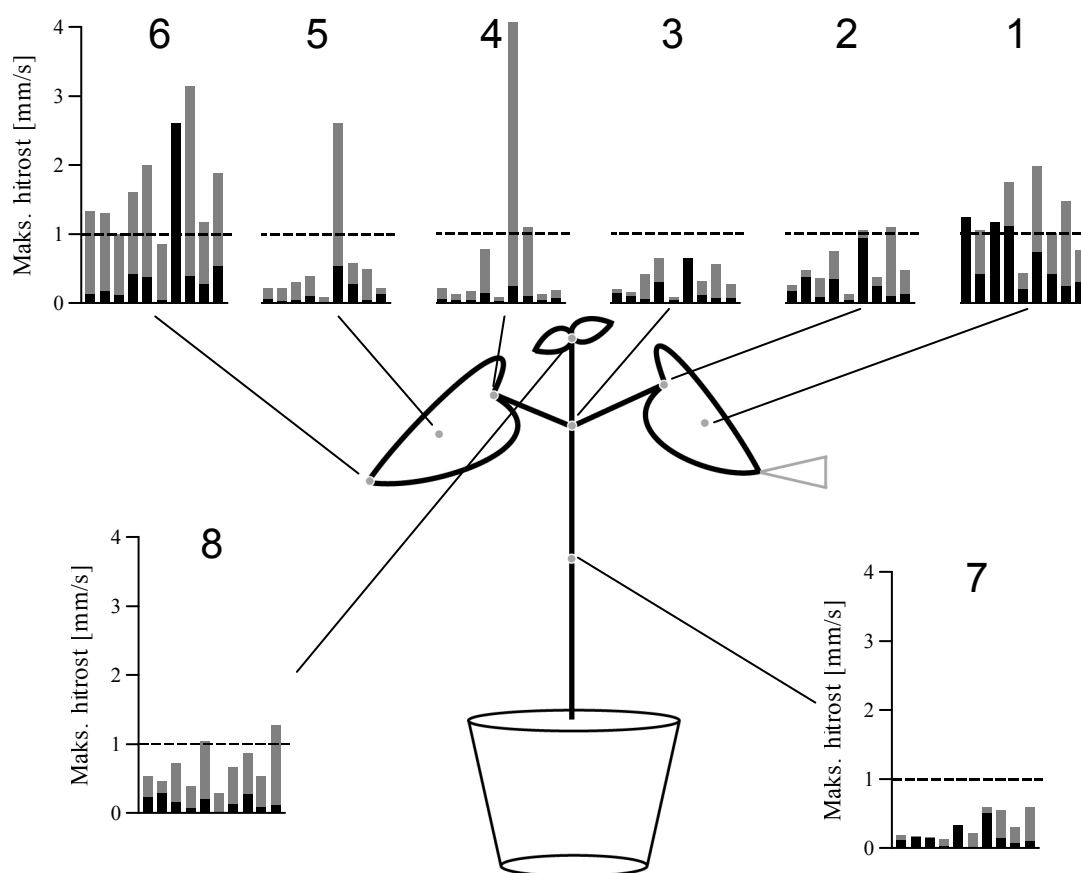


Slika 16: kombinirani resonančni profili vseh fižolov. Črte nad grafi označujejo območje dominantne frekvence naravnih pozivnih napevov zelene smrdljivke (70-130 Hz). Za razlago oznak glej Sl. 3.
Figure 16: combined resonant profiles of each bean plant. Lines above the graphs denote the natural dominant frequency range of female calling song (70-130 Hz). See Fig. 3 for explanation of labels.



Slika 17: kombinirani resonančni profili vseh točk. Črte nad grafi označujejo območje dominantne frekvence naravnih pozivnih napevov zelene smrdljivke (70-130 Hz). Za razlago oznak glej Sl. 3.

Figure 17: combined resonant profiles of each registration point. Lines above the graphs denote the natural dominant frequency range of female calling song (70-130 Hz). See Fig. 3 for explanation of labels.



Slika 18: maksimalna hitrost (amplituda) frekvenčno moduliranega pulza v celotnem frekvenčnem območju (sivo) in v območju 70 – 130 Hz (črni del stolpcev), posnetega na različnih točkah vseh desetih fižolov.

Črtkana črta označuje referenčno vrednost 1 mm/s.

Figure 18: peak velocity (amplitude) of the frequency sweep in the whole frequency range (grey) and in the range 70 – 130 Hz (black areas of bars), recorded on various point on all ten bean plants. Dashed line denotes the reference value 1 mm/s.

Preglednica 6: absolutna maksimalna hitrost nihanja [mm/s] celotnega frekvenčno moduliranega pulza ("vse") in v območju 70 – 130 Hz.

Table 6: absolute peak velocity [mm/s] of the whole frequency sweep and the part between 70 – 130 Hz.

Točka Fižol	1		2		3		4		5		6		7		8	
	vse	70-130	vse	70-130	vse	70-130	vse	70-130	vse	70-130	vse	70-130	vse	70-130	vse	70-130
1	2,46	1,46	0,59	0,34	0,22	0,07	0,11	0,08	0,35	0,04	1,34	0,12	0,19	0,11	0,53	0,23
2	1,24	1,24	0,25	0,17	0,20	0,14	0,21	0,05	0,23	0,05	1,30	0,17	0,17	0,16	0,46	0,29
3	1,06	0,41	0,49	0,37	0,15	0,10	0,13	0,04	0,21	0,03	1,00	0,11	0,16	0,14	0,73	0,16
4	1,17	1,17	0,36	0,08	0,43	0,05	0,17	0,05	0,30	0,04	1,60	0,41	0,11	0,03	0,39	0,07
5	1,75	1,11	0,75	0,34	0,64	0,30	0,77	0,15	0,39	0,10	2,00	0,37	0,33	0,33	1,04	0,20
6	0,43	0,20	0,12	0,04	0,08	0,04	0,08	0,02	0,08	0,01	0,84	0,05	0,21	0,01	0,29	0,01
7	1,98	0,73	1,06	0,94	0,65	0,65	4,07	0,25	2,61	0,53	2,60	2,60	0,59	0,50	0,66	0,13
8	1,00	0,42	0,38	0,24	0,31	0,11	1,10	0,09	0,58	0,27	3,14	0,38	0,55	0,14	0,87	0,27
9	1,47	0,24	1,10	0,10	0,57	0,07	0,12	0,04	0,49	0,04	1,17	0,27	0,30	0,05	0,53	0,08
10	0,77	0,30	0,48	0,13	0,28	0,06	0,19	0,07	0,22	0,12	1,88	0,53	0,60	0,09	1,27	0,11

3.2 PREVAJANJE VIBRACIJSKIH SIGNALOV PREKO RASTLINSKEGA RAZVEJŠČA

Registrirali smo vibracijske signale 14 samic na 17 mestih (lokacijah) na skupno 4 poskusnih rastlinah. Samice so med oglašanjem mirovale, le tri samice so se po koncu oglašanja premaknile na drugo mesto in ponovno pričele z oglašanjem. Od tega je ena samica v premoru med petjem zlezla z enega na drug list, torej je kanal, ki je bil prej ipsilateralen, postal kontralateralen in obratno. Napeve z novih lokacij smo obravnavali ločeno od napevov oddanih pred tem, torej je ključna spremenljivka »lokacija samice«, ki je razen v treh primerih enaka spremenljivki »osebek«. Pregled poskusnih rastlin, živali in oddanih napevov prikazuje Pregl. 7.

Preglednica 7: pregled rastlin, živali in napevov v poskusu. Kjer je število posnetih signalov dvodelno, je samica oddajala svoj napev z dveh lokacij.

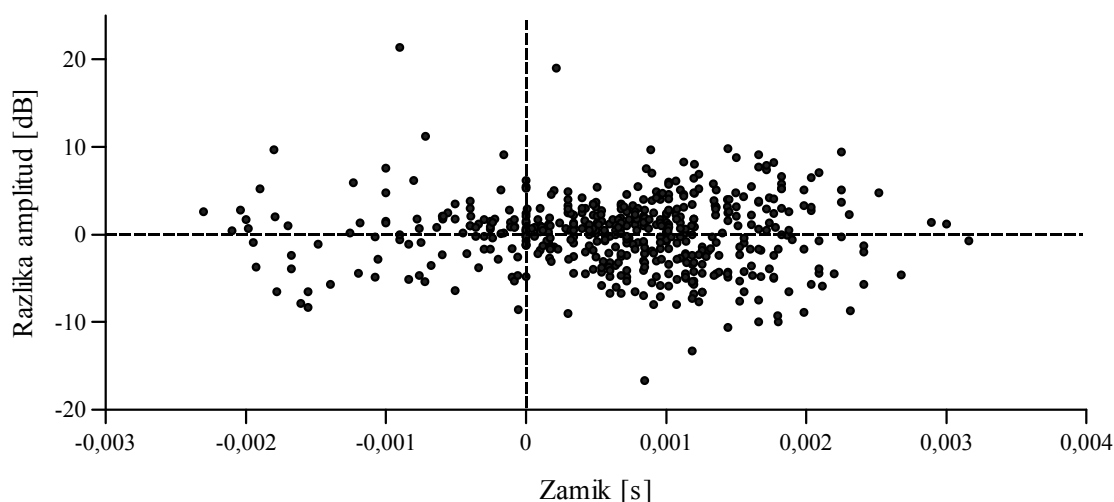
Table 7: overview of test plants, animals and songs. Where the number of recorded signals is two-part, the female sang from two locations.

rastlina	osebek	število signalov
1	F1	23
	F2	10
	F3	7+11
	F4	19
2	F5	3
3	F6	8
	F7	55+5
	F8	37+31
4	F9	84
	F10	36
	F11	57
	F12	97
	F13	17
	F14	5
Σ		505

Z metodo prvih vrhov smo analizirali vseh 505 posnetih signalov, z metodo vseh vrhov pa po pet z vsake lokacije oz. po tri pri samici F5 na rastlini 2 in samici F7 na drugi lokaciji rastline 3. Samica F5 je oddala samo te tri signale, pri drugi pa dva signala nista bila uporabna zaradi šuma (uporaben je bil samo začetek, zato je bila kljub temu možna analiza po metodi prvih vrhov). Število analiziranih signalov z metodo vseh vrhov je bilo torej 81.

3.2.1 »Metoda prvih vrhov«

Za grobo oceno smo združili meritve z vseh lokacij na vseh rastlinah in izračunali odstotek izmerkov, višjih od praga oz. nižjih od negativne vrednosti praga. Iz grafa razpršenih podatkov je razvidno, da so vrednosti zbrane na pozitivnem delu osi zamika in približno okrog ničle na osi razlike amplitud (Sl. 19) – celokupno povprečje je znašalo $0,66 \pm 0,91$ ms za zamik in $0,07 \pm 4,10$ dB za razliko amplitud ($N=505$).



Slika 19: vsi pari vrednosti zamik/razlika amplitud pri meritvah prvih valov vseh signalov ($N=505$).
Figure 19: all delay/amplitude difference pairs from first wave measurements of all recorded signals ($N=505$).

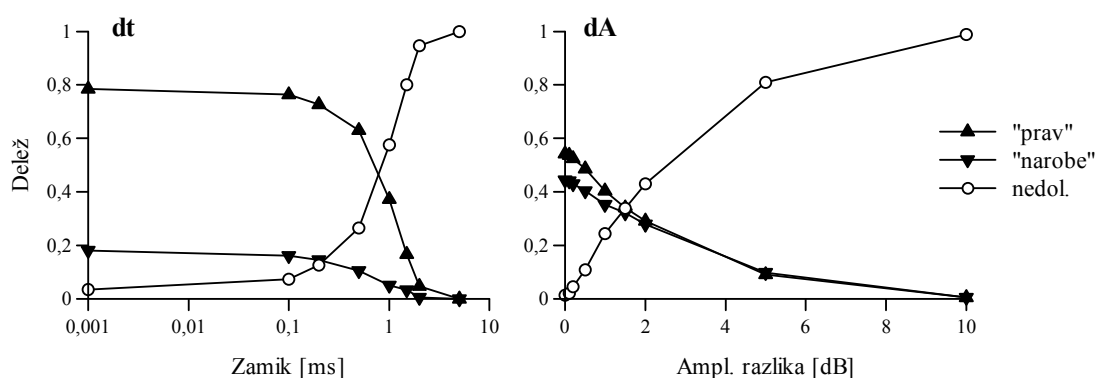
Če predpostavimo prag 0 ms in 0 dB (torej popolno občutljivost), dobimo pri dani ločljivosti merjenja razmerje zanesljivi : nezanesljivi : nedoločljivi 78 : 18 : 4 za zamik in 55 : 44 : 1 za razliko amplitud (Pregl. 8, Sl. 20). Z višanjem praga se povečuje delež nedoločljivih, razmerje med zanesljivimi in nezanesljivimi izmerki pa ostaja podobno: med 4,3 in 8 : 1 pri zamiku ter med 1,2 in 0,9 : 1 pri razliki amplitud. Če nadalje predpostavimo, da se žival odloči za smer na podlagi enega samega signala in pri nedoločljivem izmerku izbere naključno stran, se z višanjem praga zmanjšuje verjetnost za pravilno odločitev, vendar ta še pri vrednosti praga 1 ms znaša dve tretjini. Pri razliki amplitud se verjetnost za pravilno odločitev preko preučenega območja zniža od 54,9 % (prag 0 dB) do 49,6 % (prag 5 dB).

Preglednica 8: celokupen delež zanesljivih (»prav«) in nezanesljivih (»narobe«) signalov glede na hipotetične vrednosti praga zaznave zamika in razlike amplitud prvega vala vseh posnetih signalov med ipsi- in kontralateralnim pecljem (N = 505). Pražne vrednosti so izbrane arbitrarno, v velikostnem razredu, v katerem predvidevamo, da se dogaja raločevanje.

Table 8: total proportion of reliable (»correct«) and unreliable (»wrong«) signals, according to hypothetical values of delay and amplitude difference threshold, measured for first waves of all recorded signals on ipsi- and contralateral stalks (N = 505). Thresholds are arbitrary, on magnitude scale where discrimination is likely to occur.

Zamik								
prag [s]	0	0,0001	0,0002	0,0005	0,001	0,0015	0,002	0,005
»prav«	0,784	0,764	0,727	0,630	0,372	0,166	0,048	0,000
»narobe«	0,180	0,162	0,147	0,105	0,052	0,034	0,060	0,000
nedoločljiv	0,036	0,073	0,127	0,265	0,576	0,800	0,947	1,000
prav+nedol/2	0,802	0,801	0,790	0,762	0,660	0,566	0,521	0,500
narobe+nedol/2	0,198	0,199	0,210	0,238	0,340	0,434	0,479	0,500

Razlika amplitud								
prag [dB]	0	0,1	0,2	0,5	1	1,5	2	5
»prav«	0,543	0,537	0,525	0,487	0,404	0,341	0,291	0,091
»narobe«	0,444	0,442	0,430	0,404	0,353	0,321	0,279	0,099
nedoločljiva	0,014	0,022	0,046	0,109	0,244	0,339	0,430	0,810
prav+nedol/2	0,550	0,548	0,548	0,542	0,526	0,510	0,506	0,496
narobe+nedol/2	0,450	0,452	0,452	0,458	0,474	0,490	0,494	0,504



Slika 20: spreminjanje deleža zanesljivih (»prav«), nezanesljivih (»narobe«) in nedoločljivih signalov glede na prazno vrednost parametra prvega izmerjenega vala. dt: zamik, dA: razlika amplitud med kanaloma.
Figure 20: changing of reliable (»correct«) vs. unreliable (»wrong«) vs. undetectable signals ratio with changing the threshold value for both parameters of the first measured wave. dt: delay, dA: amplitude difference between channels.

V realni situaciji so pomembnejši podatki o vsaki lokaciji posebej. Za nadaljnje analize smo izbrali konkretne prazne vrednosti obeh parametrov. Prag za časovni zamik smo postavili pri 0,5 ms, kar je vrednost, pri kateri je dokazan diferencialen odziv živčevja zelene smrdljivke (Prešern, 2007). Nad to prazno vrednostjo je približno 75 % izmerkov, kar smo uporabili kot posreden kriterij za določitev praga razlike amplitud, saj o dejanskem pragu ni podatkov. Prazna vrednost, nad katero je 75 % izmerkov razlike amplitud, znaša 1 dB. Delež zanesljivih in nezanesljivih izmerkov prikazuje pregl. 9. Pri zamiku delež na eni od 17 lokacij daje prednost kontralateralni (»napačni«) strani, na drugi pa noben signal ne preseže praga. Pri razliki amplitud daje delež prednost kontralateralni strani na sedmih lokacijah, na desetih pa favorizira ipsilateralno (»pravilno«).

Preglednica 9: deleži zanesljivih, nezanesljivih in nedoločljivih zamikov ter amplitudnih razlik prvih valov vseh posnetih signalov na posamezni lokaciji, pri praznih vrednostih 0,5 ms in 1 dB. Za vsak parameter na vsaki lokaciji je s krepko označen tisti, ki prevladuje.

Table 9: proportions of reliable, unreliable and undiscernible delays and amplitude differences of first waves of all the recorded signals on each location, assuming the thresholds of 0.5 ms and 1 dB. On each location, predominant side according to this is bolded.

lokacija	Zamiki [%]			Amplitudne razlike [%]			N
	zanesljivi	nezanesljivi	nedoločljivi	zanesljive	nezanesljive	nedoločljive	
1-1	26,1	60,9	13,0	56,5	30,4	13,0	23
1-2	34,8	0,0	65,2	4,3	8,7	87,8	10
1-3	57,1	0,0	42,9	57,1	0,0	42,9	7
1-4	45,5	0,0	54,5	36,4	45,5	18,2	11
1-5	17,4	4,3	78,3	65,2	4,3	30,4	19
2-1	33,3	0,0	66,7	100	0,0	0,0	3
3-1	100	0,0	0,0	87,5	12,5	0,0	8
3-2	90,9	1,8	7,3	58,2	23,6	18,2	55
3-3	40,0	0,0	60,0	80,0	0,0	20,0	5
3-4	94,6	0,0	5,4	0,0	83,8	16,2	37
3-5	67,7	25,8	6,5	0,0	87,1	12,9	31
4-1	45,2	3,5	51,2	42,9	8,3	48,8	84
4-2	55,6	19,4	25,0	80,6	5,6	13,9	36
4-3	47,4	22,8	29,8	14,0	75,4	10,5	57
4-4	91,8	4,1	4,1	58,8	32,0	9,3	97
4-5	29,4	11,8	58,8	23,5	47,1	29,4	17
4-6	0,0	0,0	100	20,0	40,0	40,0	5

Če modeliramo proces samčeve izbire z raztegljivim drsečim okvirjem dolžine najmanj 2 (pregl. 10), je delež pravih oz. napačnih odločitev podoben kot pri izbiri na podlagi prvega določljivega izmerka. Znova pri zamiku delež na eni lokaciji od sedemnajstih favorizira kontralateralno (»napačno«) stran, na drugi pa noben signal ne preseže praga. Tudi pri amplitudni razliki so razmerja pravih in napačnih odločitev hipotetičnega samca podobna, kot če bi se ta samec ravnal samo po prvem določljivem signalu. Opazno pa je, da je prednostna stran bistveno bolj favorizirana, v večini primerov kar v 100 % položajev bralnega okvirja.

Preglednica 10: delež pravih oz. napačnih odločitev hipotetičnega samca, ki se ravna po informaciji dveh zaporednih signalov oz. nadaljnjih, če je informacija izhodiščnega položaja bralnega okvirja konfliktna ali nedoločljiva. Velikosti vzorca za oba parametra se lahko razlikujeta, saj je število možnih odločitev na osnovi teh predpostavk manjše, kadar so na koncu sekvence signali z nedoločljivo ali konfliktno informacijo o smeri. Znova so predpostavljene prazne vrednosti 0,5 ms in 1 dB.

Table 10: proportion of correct or wrong decisions of the hypothetical male that uses information of two successive signals, or further ones if the information from the initial position of the reading frame is conflicting or undiscernible. Sample size can differ between location if the sequence ends with signals with conflicting or undiscernible information, thereby lowering the number of possible decisions about direction. Again, thresholds of 0.5 ms and 1 dB are assumed.

lokacija	Zamiki [%]			Amplitudne razlike [%]		
	pravilno	narobe	N	pravilno	narobe	N
1-1	18,2	81,8	22	66,7	33,3	21
1-2	100	0,0	9	0,0	100	9
1-3	100	0,0	5	100	0,0	6
1-4	100	0,0	7	0,0	100	9
1-5	100	0,0	16	100	0,0	15
2-1	100	0,0	2	100	0,0	2
3-1	100	0,0	7	100	0,0	7
3-2	100	0,0	54	72,2	27,8	54
3-3	100	0,0	1	100	0,0	3
3-4	100	0,0	36	0,0	100	36
3-5	66,7	33,3	30	0,0	100	30
4-1	100	0,0	81	93,7	6,3	79
4-2	79,4	20,6	34	100	0,0	35
4-3	66,1	33,9	56	16,1	83,9	56
4-4	99,0	1,0	96	64,6	35,4	96
4-5	66,7	33,3	15	15,4	84,6	14
4-6	0,0	0,0	0	0,0	100	3

3.2.2 »Metoda vseh vrhov«

Z metodo primerjave vseh vrhov signala v ipsi- in kontralateralnem kanalu smo analizirali po pet signalov na vsaki lokaciji, razen lokacije 1 na drugem fižolu (2-1) in lokacije 3 na tretjem (3-3), kjer so sekvenco napeva sestavljali samo po trije signali. To predstavlja skupno 81 signalov na 17 lokacijah na štirih različnih rastlinah, katerim smo skupno izmerili 12340 parov zamikov in razlik amplitud oz. povprečno 152 ± 64 na signal.

Podatki so predstavljeni v dveh oblikah: deležu zanesljivih, nezanesljivih in nedoločljivih izmerkov po istem kriteriju kot pri »metodi prvih vrhov« (vsaj 0,5 ms razlike pri zamiku in vsaj 1 dB razlike pri amplitudi) in povprečju vsakega parametra preko celega signala (pregl. 11).

Preglednica 11: zanesljivi in nezanesljivi signali glede na delež vrhov, katerih zamik in amplitudna razlika kažeta v ipsi- oz. kontralateralno smer (pri praznih vrednostih 0,5 ms in 1 dB) ter povprečje vsakega parametra. Pozitivno povprečje pomeni, da vrednost kaže v ipsilateralno smer in obratno.

Table 11: reliable and unreliable signals according to proportion of peaks whose amplitude difference or time delay pointed to ipsi- or contralateral side (with thresholds 0.5 ms and 1 dB), and average of each parameter. Positive average means that the value points to the ipsilateral side and vice versa.

lokacija - pulz	Zanesljivi / nezanesljivi / nedoločljivi vrhovi [%]						Povprečje signala				n
	Amplituda			Zamik			Amplituda		Zamik		
	Zanes.	Nezan.	Nedol.	Zanes.	Nezan.	Nedol.	[dB]	SD	[ms]	SD	
1-1-1	38,3	44,0	17,7	50,4	29,1	20,6	-0,4	5,1	0,42	1,98	141
1-1-2	44,5	39,1	16,4	43,8	25,8	30,5	0,2	5,1	0,25	1,46	128
1-1-3	40,0	39,3	20,7	50,4	16,3	33,3	0,1	4,6	0,53	1,12	135
1-1-4	54,6	25,9	19,4	51,9	21,3	26,9	1,3	4,2	0,4	1,4	108
1-1-5	57,0	29,8	13,2	50,0	13,2	36,8	1,9	5,3	0,37	0,94	114
1-2-1	47,7	23,1	29,2	43,1	15,4	41,5	0,9	3,1	0,46	1,3	65
1-2-2	44,0	34,0	22,0	52,2	22,0	25,8	0,7	4,5	0,61	1,66	209
1-2-3	43,3	38,2	18,5	52,9	21,4	25,6	0,8	4,8	0,57	1,51	238
1-2-4	43,0	37,2	19,8	58,1	15,7	26,2	1	4,4	0,69	1,28	172
1-2-5	29,5	44,6	25,9	59,0	18,0	23,0	0	4,5	0,63	1,13	139
1-3-1	68,4	16,3	15,3	61,6	14,2	24,2	2,9	4,1	0,57	1,03	190
1-3-2	67,4	10,9	21,7	43,5	8,7	47,8	2,9	4,6	0,48	0,7	45
1-3-3	65,3	18,4	16,3	46,4	11,7	41,8	2,6	3,9	0,4	0,77	196
1-3-4	63,6	7,6	28,8	37,9	8,3	53,8	2,3	2,9	0,3	0,68	132
1-3-5	94,5	1,8	3,6	43,6	9,1	47,3	3,4	2,1	0,28	0,66	55
1-4-1	22,4	51,3	26,3	44,0	20,3	35,8	-1,2	3,3	0,38	1,08	232
1-4-2	32,5	40,4	27,1	48,3	23,8	27,9	-0,1	3,5	0,4	1,3	240
1-4-3	50,5	34,7	14,8	43,5	18,1	38,4	0,4	4,8	0,4	1,08	216
1-4-4	37,5	37,5	25,0	44,8	18,2	37,0	0,4	4,3	0,39	1,13	192
1-4-5	27,0	46,1	27,0	46,1	17,8	36,1	-1	3,2	0,4	1,25	241
1-5-1	77,1	3,7	19,3	48,6	9,2	42,2	4,3	3,9	0,36	0,76	109
1-5-2	72,7	8,6	18,7	41,7	12,9	45,3	3,7	4,2	0,32	0,73	139
1-5-3	58,9	9,4	31,8	50,0	12,0	38,0	2,6	3,5	0,44	0,88	192
1-5-4	58,8	12,7	28,6	53,1	5,3	41,6	2,6	3,9	0,58	0,66	245
1-5-5	72,3	1,7	26,1	47,1	4,2	48,7	3,4	3,2	0,45	0,54	119
2-1-1	75,0	10,0	15,0	45,0	25,0	30,0	2,3	2,3	0,26	0,81	20
2-1-2	67,8	11,9	20,3	57,6	18,6	23,7	2	3	0,61	1,26	59
2-1-3	61,2	18,4	20,4	57,1	26,5	16,3	1,8	5,6	0,69	1,7	49
3-1-1	31,6	15,8	52,6	10,5	0,0	89,5	0,6	2	0,12	0,34	19
3-1-2	54,5	18,2	27,3	18,2	9,1	72,7	0,2	5,6	0,09	0,53	11
3-1-3	36,4	45,5	18,2	9,1	0,0	90,9	0,2	3,4	0,13	0,29	11
3-1-4	52,9	35,3	11,8	5,9	0,0	94,1	0,4	2,4	0,04	0,31	17
3-1-5	60,0	10,0	30,0	10,0	0,0	90,0	0,9	2,6	0,15	0,3	10
3-2-1	56,6	20,4	23,0	50,4	15,0	34,5	2,1	4,5	0,4	0,81	113
3-2-2	62,1	17,9	20,0	51,6	8,4	40,0	2,2	4,3	0,51	0,65	95
3-2-3	39,2	35,4	25,3	40,5	3,8	55,7	0,9	3,8	0,42	0,6	79
3-2-4	48,8	36,4	14,7	48,8	7,0	44,2	1,4	5,1	0,36	0,62	129
3-2-5	47,5	34,7	17,8	49,2	6,8	44,1	0,8	4,8	0,45	0,72	118
3-3-1	83,9	6,8	9,3	46,0	5,0	49,1	4,1	4,1	0,47	0,57	161
3-3-2	67,9	19,6	12,4	43,1	2,4	54,5	3	5,4	0,46	0,49	209
3-3-3	70,8	16,2	13,0	44,7	4,3	51,0	3,4	4,7	0,45	0,55	253
3-4-1	39,2	44,2	16,7	37,5	18,3	44,2	0,5	4,5	0,19	0,95	120
3-4-2	49,0	42,7	8,3	41,7	15,6	42,7	0,8	5,3	0,34	0,85	96
3-4-3	32,5	59,0	8,4	30,1	8,4	61,4	-0,9	5	0,3	0,79	83
3-4-4	36,7	48,3	15,0	44,2	10,8	45,0	0	4,4	0,36	0,76	120
3-4-5	57,7	29,2	13,1	46,9	13,1	40,0	2	5,3	0,41	0,82	130

se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice 11: zanesljivi in nezanesljivi signali glede na delež vrhov, katerih zamik in amplitudna razlika kažeta v ipsi- oz. kontralateralno smer ter povprečje vsakega parametra

lokacija - pulz	Zanesljivi / nezanesljivi / nedoločljivi vrhovi [%]						Povprečje signala				n
	Amplituda			Zamik			Amplituda		Zamik		
	Zanes.	Nezan.	Nedol.	Zanes.	Nezan.	Nedol.	[dB]	SD	[ms]	SD	
3-5-1	64,3	14,1	21,6	18,4	22,2	59,5	2,2	3,8	-0,05	0,68	185
3-5-2	64,2	11,9	23,8	17,9	21,9	60,3	2	2,7	-0,05	0,66	151
3-5-3	49,7	27,4	22,9	25,1	17,1	57,7	1,8	4,5	0,07	0,68	175
3-5-4	57,0	17,4	25,6	17,4	23,1	59,5	1,3	3,8	-0,06	0,68	121
3-5-5	76,6	7,3	16,1	18,2	22,6	59,1	2,9	4,1	-0,02	0,65	137
4-1-1	52,4	14,3	33,3	55,2	7,1	37,6	0,9	1,8	0,42	0,57	210
4-1-2	44,7	10,6	44,7	44,2	4,3	51,4	0,8	1,8	0,43	0,5	208
4-1-3	56,3	8,9	34,7	42,7	6,1	51,2	1,2	1,8	0,39	0,55	213
4-1-4	48,5	9,2	42,3	37,8	7,7	54,6	1,1	1,7	0,28	0,64	196
4-1-5	51,2	9,6	39,2	38,8	6,7	54,5	0,9	1,6	0,31	0,57	209
4-2-1	30,4	17,0	52,6	28,7	13,5	57,9	0,3	1,7	0,18	0,62	171
4-2-2	32,7	14,5	52,8	23,3	5,7	71,1	0,3	1,8	0,21	0,46	159
4-2-3	30,1	16,4	53,6	27,9	12,6	59,6	0,5	1,8	0,11	0,61	183
4-2-4	39,0	10,2	50,8	27,8	8,6	63,6	0,8	1,8	0,22	0,55	187
4-2-5	32,4	17,9	49,7	26,3	12,3	61,5	0,5	2,3	0,15	0,6	179
4-3-1	14,6	72,7	12,6	14,6	37,4	48,0	-2,8	4,5	-0,31	0,83	198
4-3-2	7,7	72,2	20,1	11,8	46,7	41,4	-3,1	3	-0,38	0,73	169
4-3-3	4,0	78,3	17,7	13,6	53,5	32,8	-3,1	2,8	-0,44	0,8	198
4-3-4	2,6	76,6	20,8	11,5	44,8	43,8	-3,3	3	-0,42	0,74	192
4-3-5	4,9	76,5	18,6	7,7	47,5	44,8	-3,3	2,9	-0,46	0,68	183
4-4-1	18,1	72,5	9,3	80,2	6,6	13,2	-3,2	5,4	0,86	0,71	182
4-4-2	25,9	55,1	18,9	59,5	11,9	28,6	-2	5,3	0,47	0,83	185
4-4-3	23,7	61,6	14,7	56,5	11,3	32,2	-2,3	4,7	0,52	0,92	177
4-4-4	21,5	59,9	18,6	64,4	9,0	26,6	-2,7	4,9	0,63	0,87	177
4-4-5	21,5	66,3	12,2	69,6	8,8	21,5	-2,7	4,7	0,65	0,78	181
4-5-1	15,2	55,9	28,9	43,1	17,2	39,7	-1,4	2,9	0,28	0,95	204
4-5-2	30,7	39,1	30,2	37,4	20,1	42,5	-0,7	3,5	0,2	0,97	179
4-5-3	28,5	38,2	33,3	48,6	8,3	43,1	-0,3	3,1	0,41	1,04	144
4-5-4	28,3	41,0	30,6	34,1	17,9	48,0	-0,9	3,5	0,16	0,79	173
4-5-5	22,4	51,7	25,9	53,0	13,2	33,8	-1,2	3,7	0,47	0,91	317
4-6-1	7,5	29,9	62,6	17,2	6,9	75,9	-0,6	1,4	0,14	0,43	174
4-6-2	14,7	23,0	62,3	13,2	0,0	86,8	-0,1	1,4	0,2	0,32	204
4-6-3	9,7	22,1	68,2	19,5	2,6	77,9	-0,2	1,1	0,22	0,38	195
4-6-4	11,3	23,8	64,9	10,6	0,7	88,7	-0,3	1,2	0,2	0,28	151
4-6-5	15,1	12,8	72,1	16,2	1,1	82,7	0,1	1,2	0,25	0,29	179

Če kot kriterij za izbiro predpostavimo delež zamikov in amplitudnih razlik, ki kažejo v eno ali drugo stran, preko celotnega signala, so prevladovali zanesljivi signali. V primeru zamikov je bilo več zanesljivih od nezanesljivih na 15 lokacijah, več nezanesljivih pa na dveh. V primeru amplitudnih razlik je bilo več zanesljivih signalov na 11 lokacijah, več nezanesljivih pa na šestih. Skoraj enaka situacija je bila v primeru povprečenja obeh parametrov.

Izstopa fižol 4, na katerem so samo na dveh lokacijah od štirih prevladovali pulzi z zanesljivimi amplitudnimi razlikami, na eni lokaciji pa sta celo oba parametra kazala v kontralateralno stran, ne glede na način sumarizacije. Na eni od lokacij fižola 3 so, nasprotno, prevladovali pulzi z nezanesljivim zamikom, medtem ko je bila amplitudna razlika pri njih zanesljiv parameter.

Med obema parametroma znotraj signalov v večini primerov ni bilo signifikantne korelacije (63 signalov; $P > 0,05$). Pri 18 signalih, kjer je bila korelacija signifikantna ($P \leq 0,05$), je bil koeficient korelacije nizek in bodisi pozitiven (13 signalov), bodisi negativen (5 signalov).

3.2.3 Korelacija amplitudne ovojnice

S korelacijo smo primerjali iste pulze kot z metodo vseh vrhov. Po tej metodi prevladujejo zanesljivi signali na 10 lokacijah od 17, na štirih lokacijah prevladujejo nezanesljivi, na treh pa je algoritem vrnil več kot polovico »nesmiselnih« zamikov, večjih od 5 ms (pregl. 12).

Preglednica 12: korelacija amplitudnih ovojnic vseh podrobneje analiziranih signalov samic. Za vsak signal je prikazan zamik (zgornja vrstica) s pripadajočim koeficientom podobnosti (spodnja vrstica). Po tem kriteriju zanesljivi signali so poudarjeni, s sivo pa so označeni »nesmiselni« zamiki z vrednostjo nad 5 ms.

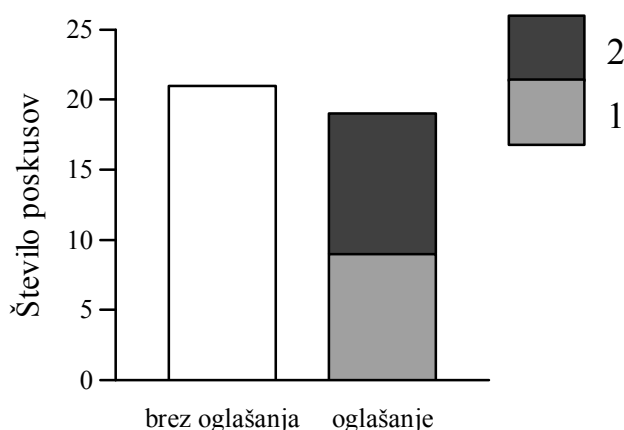
Table 12: correlation of amplitude envelopes of all signals analyzed in detail. For each signal, delay (upper line) and the corresponding coefficient of similarity (lower line) is shown. Reliable signals according to this criterion are bolded, while "nonsense" delays over 5 ms are shown in grey.

lokacija	pulz	1	2	3	4	5
1-1	zamik [ms]	0,313	0,125	0,125	1,563	164,125
	podobnost	0,438	0,363	0,523	0,383	0,227
1-2	zamik [ms]	0,250	3,375	2,000	2,750	2,313
	podobnost	0,888	0,584	0,594	0,500	0,617
1-3	zamik [ms]	0,875	0,063	-831,875	0,563	0,438
	podobnost	0,463	0,636	0,478	0,730	0,821
1-4	zamik [ms]	2,563	2,313	3,250	3,188	2,750
	podobnost	0,586	0,766	0,544	0,460	0,706
1-5	zamik [ms]	0,563	0,750	1,125	1,250	1,000
	podobnost	0,891	0,843	0,685	0,782	0,894
2-1	zamik [ms]	0,063	-0,188	-0,563		
	podobnost	0,745	0,737	0,658		
3-1	zamik [ms]	0,063	-0,188	-0,125	-0,313	-0,188
	podobnost	0,953	0,870	0,840	0,879	0,787
3-2	zamik [ms]	0,063	0,438	0,938	1,063	0,563
	podobnost	0,526	0,678	0,674	0,531	0,545
3-3	zamik [ms]	-0,625	-0,313	-0,563		
	podobnost	0,726	0,706	0,737		
3-4	zamik [ms]	-17,313	0,813	-17,750	0,563	-19,313
	podobnost	0,413	0,391	0,357	0,681	0,363
3-5	zamik [ms]	0,188	0,063	0,063	-0,125	0,000
	podobnost	0,727	0,818	0,743	0,860	0,754
4-1	zamik [ms]	1,250	1,125	1,000	1,375	0,813
	podobnost	0,972	0,979	0,981	0,975	0,980
4-2	zamik [ms]	0,625	0,938	0,563	0,813	1,125
	podobnost	0,968	0,980	0,960	0,956	0,945
4-3	zamik [ms]	-800,563	0,313	0,688	1356,375	-269,125
	podobnost	0,319	0,840	0,936	0,337	0,141
4-4	zamik [ms]	-1,125	-1,063	-1,313	-1,000	-0,750
	podobnost	0,556	0,724	0,756	0,648	0,680
4-5	zamik [ms]	2163,500	2025,063	-757,313	1295,375	1539,625
	podobnost	0,591	0,663	0,789	0,732	0,538
4-6	zamik [ms]	0,375	0,688	0,813	0,625	0,813
	podobnost	0,979	0,982	0,980	0,988	0,982

»Nesmiseln« zamik je pogosto spremljal nizek koeficient podobnosti, vendar ta ni bil nujno nižji od koeficienta podobnosti zamikov, ki smo jih obravnavali kot »smislne«. V enem primeru je bil »nesmiseln« zamik z nizkim koeficientom podobnosti posledica deformiranih valov zaradi nizkofrekvenčnih komponent v kontralateralnem kanalu, v ostalih pa vzrok ni bil očiten.

3.3 HKRATNO OGLAŠANJE DVEH SAMIC ZELENE SMRDLJIVKE NA RASTLINI

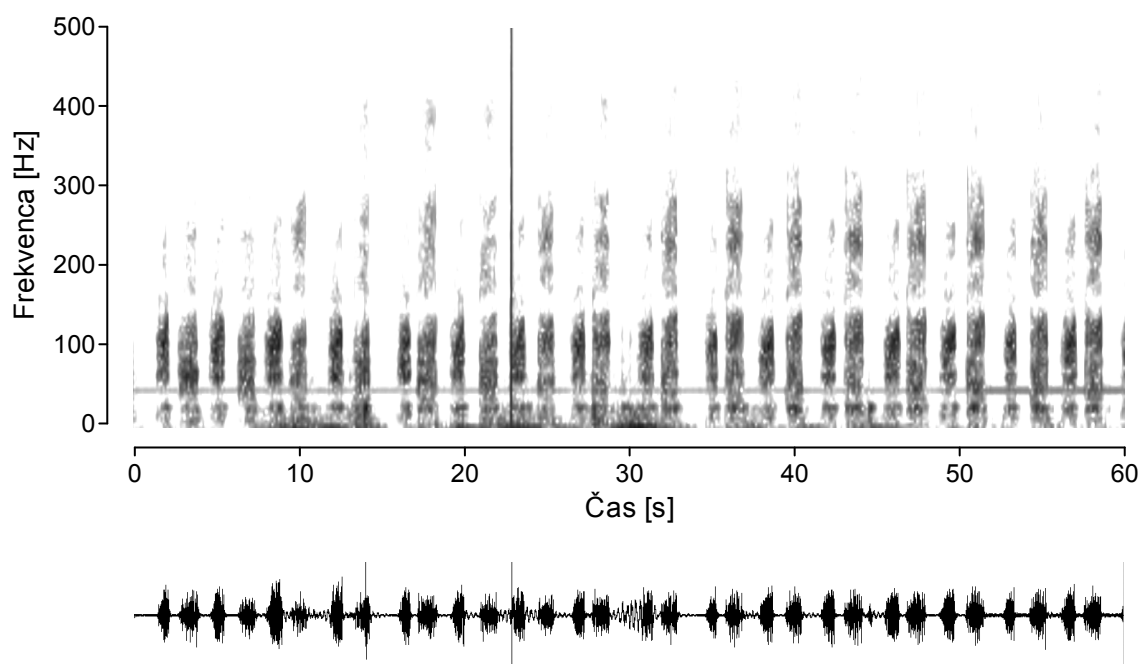
S to serijo poskusov smo želeli ugotoviti predvsem, ali se samice zelene smrdljivke sploh oglašajo ob prisotnosti oglašanja druge samice v istem akustičnem okolju (na isti rastlini), ali morebiti prihaja do izključevanja. Posneli smo 63 kombinacij 31 različnih samic na 5 različnih sadikah fižola, od tega je bilo 23 kombinacij iz različnih razlogov po enkrat ponovljenih. Ponovitev nismo upoštevali pri analizi števila. Ostane torej 40 različnih kombinacij, iz katerih smo pridobili število samic, ki so oddajale napeve. Od teh 40 kombinacij v 21 primerih ni nobena od samic oddajala napevov, v devetih primerih se je oglašala samo ena, v desetih pa obe hkrati (Sl. 21).



Slika 21: število poskusov brez oglašanja in z oglašanjem ene ali obeh samic (N=40).
Figure 21: number of trials without signalling and with signalling by one or both females (N=40).

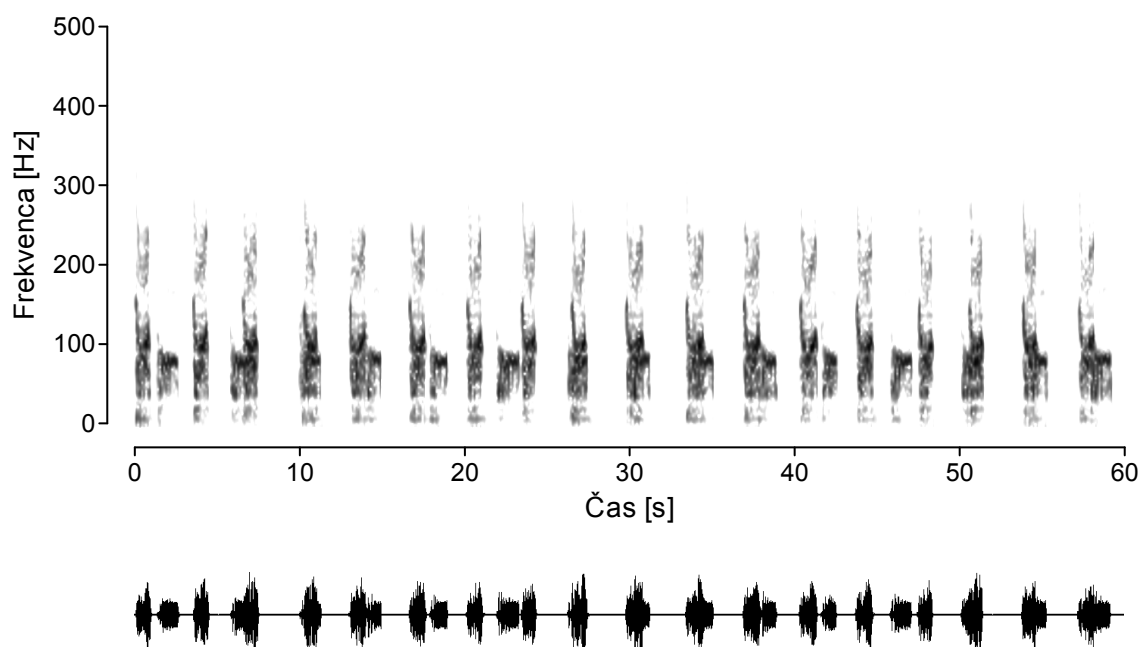
Število poskusov, v katerih se je oglašala vsaj ena samica, je približno polovica celotnega števila poskusov, število poskusov s hkratnim oglašanjem obeh samic pa je bilo polovico manjše od števila poskusov z oglašanjem vsaj ene samice.

Od desetih poskusov z oglašanjem obeh samic so bili štirje primeri, ko sta samici oddajali približno enakovredna napeva, torej reden FCS s signali primerljive amplitude na točki registriranja. V vseh štirih primerih se je kombinacija začela z alterniranjem – oddajanjem signalov ene samice v premorih med signali druge (Sl. 22). Po največ nekaj minutah pa je bodisi ena od obeh samic prenehala z oglašanjem, bodisi nadaljevala z drugačnim ritmom signalov. V slednjem primeru se je njun ponavljalni čas malenkostno razlikoval, zato so se v sekvenci izmenjevala obdobja alternacije, popolnega in delnega prekrivanja signalov (Sl. 23).



Slika 22: zgled za simultano oddajani sekvenci pozivnega napeva dveh samic zelene smrdljivke, posnetih na sadiki fižola, v delu, kjer je prišlo do alternacije (drug par kot na Sl. 23). Zgoraj: spektrogram, spodaj: oscilogram. Dogodek pri 23. sekundi je elektronski šum zaradi hipne izgube signala vibrometra.

Figure 22: example of simultaneously emitted calling song sequences of two *N. viridula* females, recorded on a bean plant, where the both songs alternated (different pair than in Fig. 23). Above: spectrogram, below: oscillogram. The event at 23'' is electronic noise due to momental loss of signal by the vibrometer.



Slika 23: zgled za simultano oddajani sekvenci pozivnega napeva dveh samic zelene smrdljivke, posnetih na sadiki fižola, v delu, kjer sta bila ritma obeh različna. Zgoraj: spektrogram, spodaj: oscilogram.

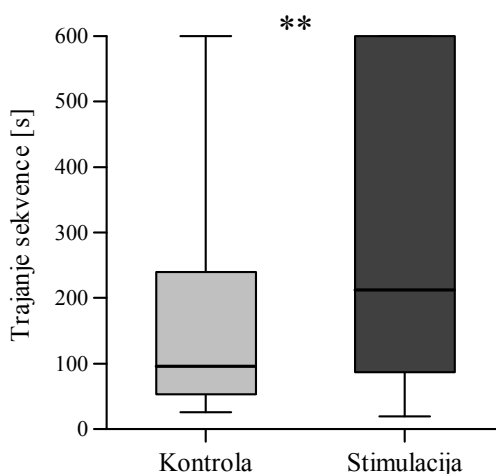
Figure 23: example of simultaneously emitted calling song sequences of two *N. viridula* females, recorded on a bean plant, where the rhythms of both songs were different. Above: spectrogram, below: oscillogram.

Iz slike 23 je poleg razlik v ritmu opazna tudi frekvenčna razlika: signali ene samice s frekvenčno moduliranim začetkom imajo glavno frekvenčno komponento višje od signalov druge samice. Lastnosti signalov nismo podrobneje preučili zaradi majhnega vzorca in manj očitnega razločevanja signalov v drugih posnetkih.

3.4 ODZIV SAMIC ZELENE SMRDLJIVKE NA SINTETIZIRAN SAMIČIN NAPEV

Za testiranje odziva samic na sintetiziran samičin napev na membrani zvočnika smo uporabili skupno 52 samic, pri katerih smo uspešno posneli kontrolo brez stimulacije. Zaradi težav z odzivnostjo in kratkoživostjo samic je bilo le pri manjšem delu te populacije možno testirati odziv na vseh sedem kombinacij parametrov, zato je pri večini kombinacij število »mešano« – iz dela samic, ki so bile uporabljene za test vseh kombinacij, in dela samic, ki so bile uporabljene za test nekaj kombinacij ali celo samo ene.

V vsakem poskusu smo izmerili trajanje prve neprekinjene sekvence samičinega pozivnega napeva, daljše od 10 signalov (torej sekvence, znotraj katere smo začeli predvajati stimulacijo). Povprečno trajanje teh se ni razlikovalo med serijami poskusov z različnimi kombinacijami parametrov stimulacije (Kruskal-Wallis, $H=5,92$, $N=85$, H_0 : ni razlike med medianama, $p=NS$), bilo pa je značilno daljše od kontrolnih poskusov (Mann-Whitney, $Z=2,82$, $N=117$, H_0 : ni razlike med medianama, $p=0,005$) (Sl. 24). Primerov, ko se je samica oglašala neprekinjeno 10 minut ali dlje, je bilo 12 % v kontroli in 33 % v poskusih s stimulacijo.



Slika 24: trajanje prve neprekinjene sekvence FCS, dolge vsaj 10 signalov, pri kontroli in stimulaciji. Razlika je statistično značilna (MW, $N=117$, $p=0,005$).

Figure 24: duration of the first uninterrupted FCS sequence of 10 signals or more, in control and stimulation. The difference is statistically significant (MW, $N=117$, $p=0,005$).

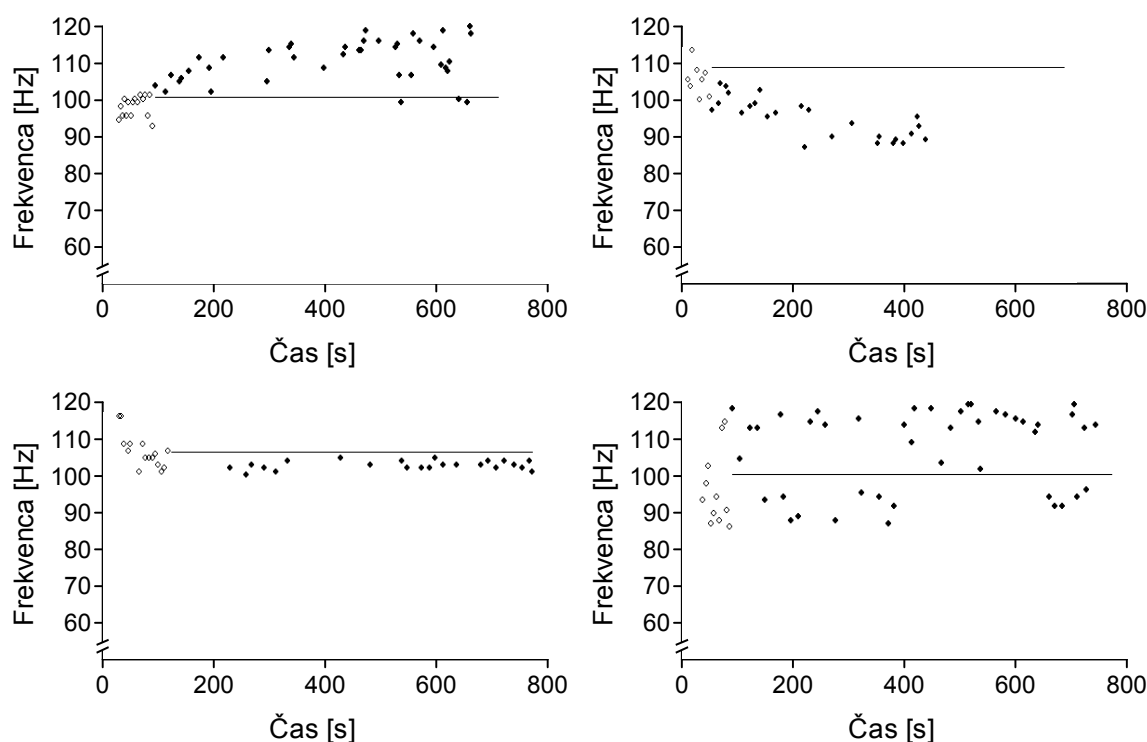
Število prekinitev sekvence na minuto se ni razlikovalo med kontrolo in poskusi z različnimi kombinacijami parametrov (Mann-Whitneyjev test z Bonferronijevo korekcijo, $N=160$, $p>0,007$), pri posameznih živalih je segalo od 0 do 5,8.

3.4.1 Analiza posameznih parametrov

Analizo frekvence, amplitude in dveh časovnih parametrov napevov – dolžine signalov in ponavljalnega časa – smo izvedli za vsako kombinacijo parametrov stimulacije posebej.

3.4.1.1 Dominantna frekvenca

Dominantna frekvenca določljivih signalov (tistih, ki se niso prekrivali s pulzi stimulacije) se je lahko med poskusom spreminjala na dva načina: s stopničasto spremembo navzgor ali navzdol tik po začetku stimulacije ali s počasnim »drsenjem« frekvence, prav tako navzgor ali navzdol. Zgleda vseh štirih variant prikazuje slika 25.



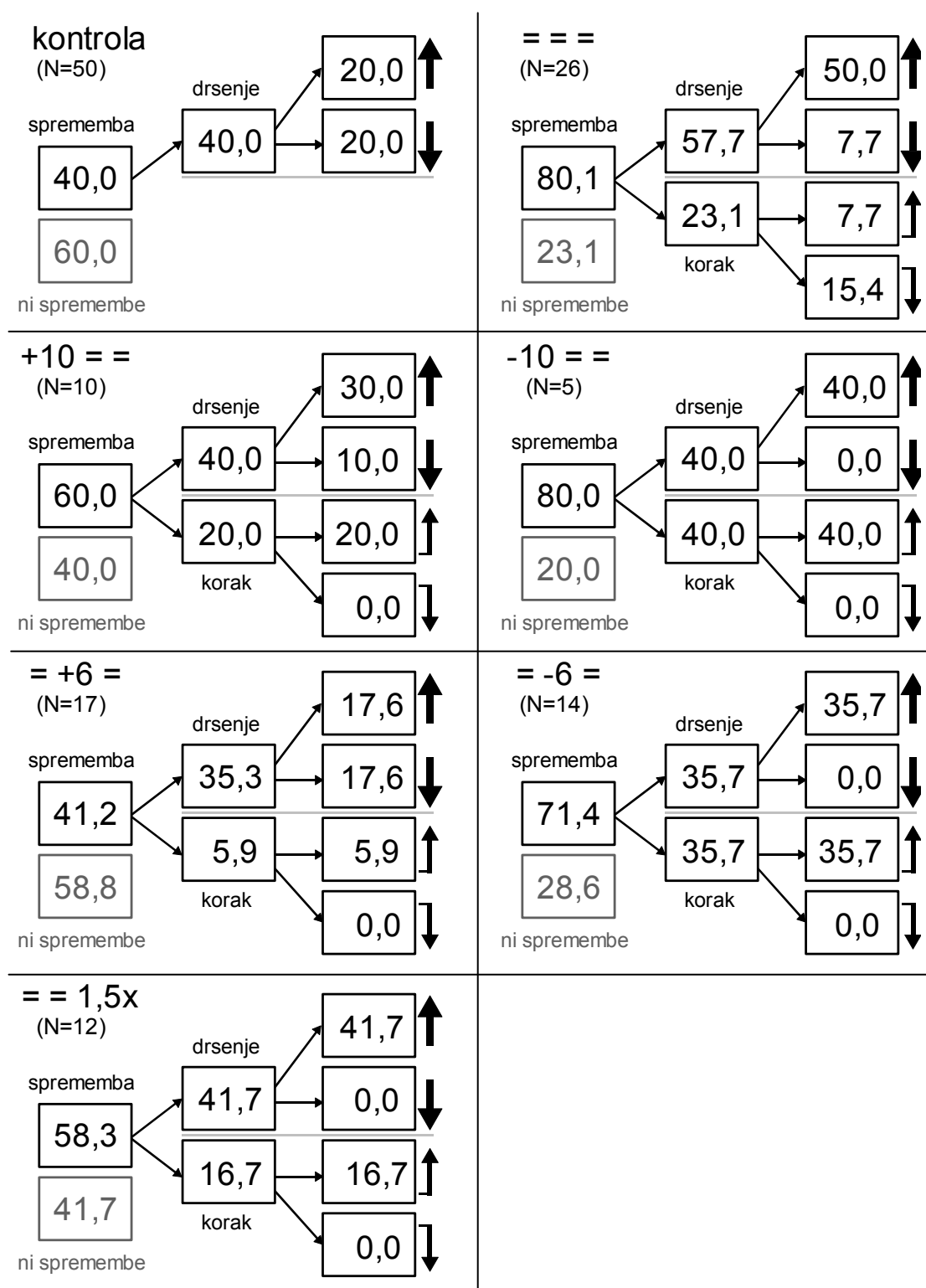
Slika 25: zgledi štirih variant spreminjanja frekvence med poskusom, tu na primeru poskusov, kjer so bili vsi parametri usklajeni s samičinim oglašanjem (oznaka »= =« iz Pregl. 4). A: drsenje navzgor; B: drsenje navzdol; C: stopničasta sprememba navzgor; D: stopničasta sprememba navzdol. Krogci predstavljajo posamezne samičine signale, v času brez stimulacije so prazni, med stimulacijo pa polni. Črta označuje trajanje in frekvenco stimulacije.

Figure 25: examples of the four variants of frequency change during an experiment, here in experiments where all parameters were matched with the female's song (label »= =« in Tab. 4). A: upwards drift; B: downwards drift; C: stepwise change up; D: stepwise change down. Circles represent individual signals, empty when emitted without stimulation and full when emitted during stimulation. The line denotes duration and frequency of the stimulation.

Stopničasta sprememba je bila očiten odziv na začetek stimulacije in občasno tudi na konec, do takšne nenadne spremembe pa nikoli ni prišlo med kontrolnimi poskusi ali kasneje med trajanjem stimulacije. Iz kratke začetne sekvence v poskusih s stimulacijo ni bilo možno nedvoumno razložiti drsenja da bi lahko ugotovili ali gre za odziv na stimulacijo ali ne, vendar je bilo drsenje frekvence opazno tudi v delu kontrolnih posnetkov, kjer se je praviloma začelo že s samim začetkom oglašanja.

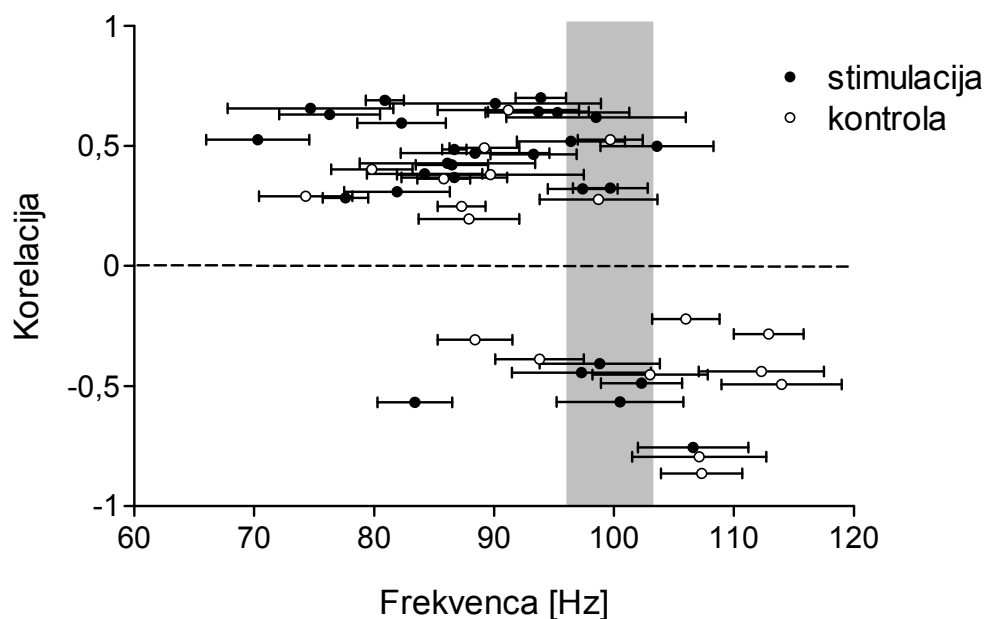
Delež samic, ki so spremenile frekvenco na različne načine ob stimulaciji z različnimi kombinacijami parametrov prikazuje slika 26. Na sliki ne prikazujemo deleža pri seriji poskusov s pol krajšim premorom, saj so samice v taki situaciji oddale premalo signalov v premorih med pulzi stimulacije da bi bilo možno izračunati korelacijo. V dveh kontrolnih poskusih so bili pulzi prekratki za frekvenčno analizo po uporabljeni metodi, zato je numerus manjši. Deleži so bili pri vseh kombinacijah podobni, pri čemer je največji del samic spremenil frekvenco v primeru, ko so bili vsi trije parametri na izhodiščnih vrednostih (torej frekvenca in amplituda enaka kot pri samici pred začetkom stimulacije in normalna dolžina pavze).

Odzivi na stimulacijo so bili neodvisni od uporabljenih kombinacij parametrov. Tudi v primeru, ko je bila frekvenca stimulacije 10 Hz višja od izhodiščne frekvence oglašanja samic, so le-te v večini primerov spremenile frekvenco navzgor. Smer spremembe je bila namesto tega odvisna od drugega ključnega dejavnika: izhodiščne frekvence samičinega oglašanja pred začetkom stimulacije. Iz pregleda vseh poskusov je razvidno, da je do prehoda prišlo pri frekvenci okrog 100 Hz (Sl. 27). V skupno 136 poskusih (vključno s kontrolo) smo posneli 57 primerov, ko je frekvenca signalov »drsela« v eno ali drugo smer. V 12 primerih je bila povprečna izhodiščna frekvenca višja od 100 Hz, od tega smo v 9 primerih izmerili signifikantno negativno korelacijo oz. padanje frekvence s časom. V ostalih 45 primerih je bila povprečna izhodiščna frekvenca nižja od 100 Hz, od tega smo v 39 primerih izmerili signifikantno pozitivno korelacijo oz. naraščanje frekvence s časom. V območju prehoda med 96 in 103 Hz je bila korelacija bodisi pozitivna, bodisi negativna.



Slika 26. delež samic, ki so spremenile frekvenco na različne načine ob predvajanju simuliranih napevov z različnimi kombinacijami parametrov. Vsaka številka predstavlja delež celotnega uporabljenega numerusa. Razlaga oznak kombinacij je v Pregl. 4.

Figure 26: proportion of females that changed frequency during simulated song playback with different combinations of parameters. Each value represents the proportion the total numerus. Parameter combination labels are described in Tab. 4.



Slika 27: odvisnost korelacije od frekvence samičinega oglašanja pred začetkom stimulacije. Vsaka točka predstavlja povprečje enega poskusa, črte so območje standardne deviacije. S sivo je označeno »prehodno« območje med 96 in 103 Hz, kjer je bila korelacija v enaki meri bodisi pozitivna, bodisi negativna.

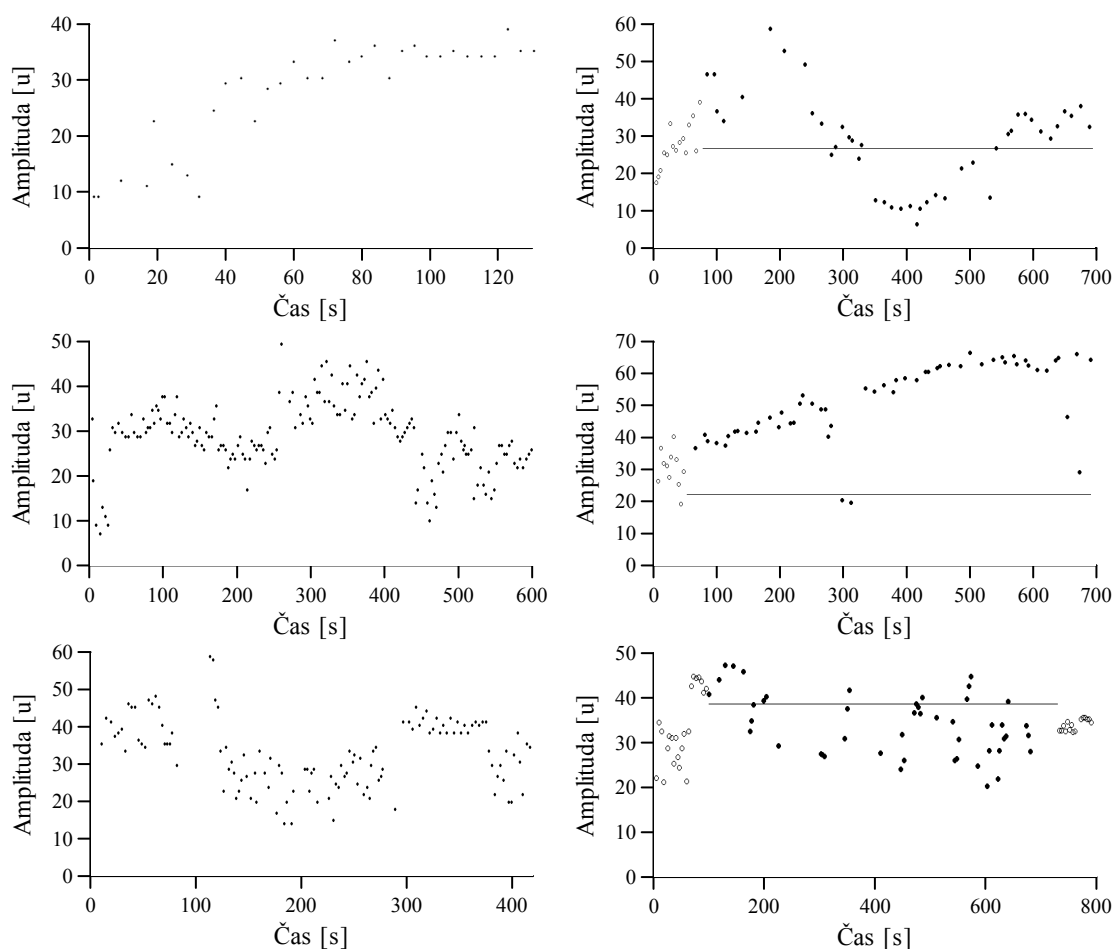
Figure 27: relation between correlation and female song frequency before the onset of stimulation. Each point represents the average of one trial, error bars denote standard deviation. »Transitory« range between 96 and 103 Hz where correlation was to the same extent either positive or negative is marked with grey.

Živali, pri katerih smo posneli odziv na več kombinacij parametrov, se niso vsakič odzvale enako. Spremenil se je lahko bodisi tip, bodisi smer spremembe frekvence ali oba.

3.4.1.2 Amplituda

Amplituda določljivih signalov (tistih, ki se niso prekrivali s pulzi stimulacije) se je v nekaterih poskusih bistveno spreminjala. Razlika med najšibkejšim in najmočnejšim signalom je znašala največ okrog 20 dB, vendar se amplituda v času trajanja stimulacije ni nujno spreminjala monotono, temveč je lahko nihala. Nekaj zgledov spreminjanja amplitude s časom je prikazanih na sliki 28 (desno). Konstantnega vzorca spreminjanja nismo opazili niti znotraj serije poskusov z enako kombinacijo parametrov stimulacije, niti med serijami.

Na enak način in v enaki meri (največja razlika okrog 20 dB) se je spreminjala amplituda v nekaterih kontrolnih poskusih (Sl. 28 levo). Spreminjanja zato ni mogoče enoznačno pripisati odzivu na stimulacijo, temveč je verjetno tudi posledica premikanja živali po membrani zvočnika bližje točki registracije oz. dlje od nje.

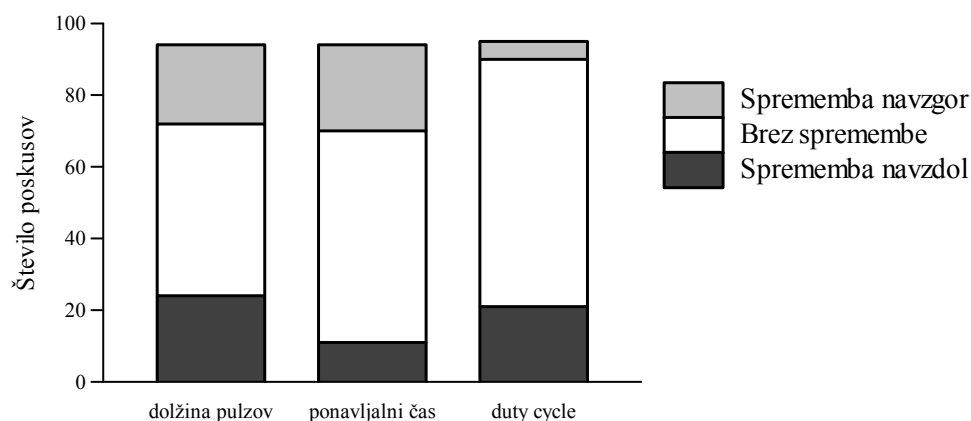


Slika 28: nekaj primerov spreminjanja amplitude samičinega oglašanja med poskusi. Levo: kontrola, desno: stimulacija (črta ponazarja amplitudo in trajanje stimulacije). Vsi trije primeri iz poskusov s stimulacijo so iz serije z vsemi tremi parametri na izhodiščni vrednosti (oznaka “= = =”, glej Pregl. 3 in 4).
Figure 28: a few examples of changing amplitude of female song during experiments. Left: control trials, right: stimulation trials (the line represents amplitude and duration of stimulation). All three examples from stimulation trials are from the series with all three parameters on initial values (label “= = =”, see Tabs. 3 & 4).

3.4.1.3 Ponavljalni čas in dolžina pulzov

Oba izmerjena časovna parametra – ponavljalni čas in dolžina pulzov – se med poskusi nista bistveno spreminjala. Občasno smo zaznali spremembo enega ali obeh parametrov med trajanjem stimulacije proti vrednosti pred začetkom stimulacije v posameznih poskusih (t-test, H_0 : ni razlike v srednjih vrednostih, $p < 0,05$), vendar so bile te spremembe lahko bodisi pozitivne, bodisi negativne. Prav tako ni bilo očitnih razlik med serijami poskusov z različnimi kombinacijami parametrov. Rezultati so zato združeni na isti sliki (Sl. 29).

Izpeljan časovni parameter je t.i. »duty cycle«, definiran kot razmerje med dolžino signala in ponavljalnega časa med začetkom istega ter začetkom naslednjega signala. Ta se je prav tako lahko spreminjal navzgor ali navzdol po začetku stimulacije, je pa v največjem številu poskusov ostal enak.

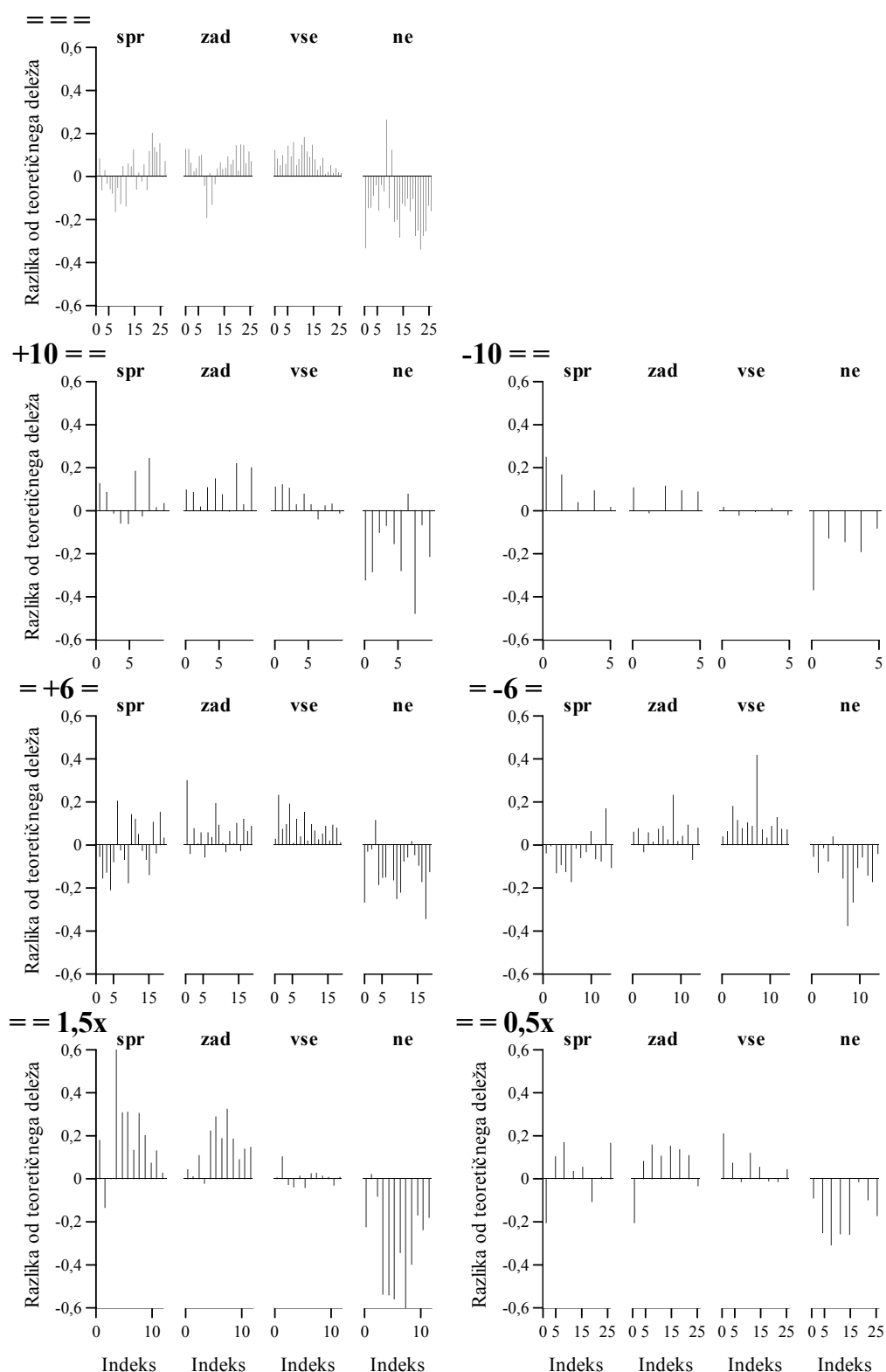


Slika 29: število poskusov, v katerih so se analizirani časovni parametri spremenili ali ostali nespremenjeni.
Figure 29: number of trials in which the analyzed temporal parameters either changed or remained the same.

3.4.2 Analiza ritma

Samice zelenih smrdljivk niso usklajevale ritma oddajanja FCS signalov z ritmom pulzev stimulacije v razmerju 1:1. Podobno kot v poskusu z oglašanjem dveh samic na istem fižolu, so samice največkrat oddajale signale z rahlo drugačnim ponavljalnim časom, tako da so se izmenjevala obdobja popolnega prekrivanja z obdobji delnega prekrivanja in obdobji alternacije. Daljša obdobja alternacije ali popolnega prekrivanja pulzov so bila redka. To je jasno razvidno iz slike 30, ki prikazuje razliko med teoretično napovedanimi in dejanskimi deleži vseh štirih tipov prekrivanja samičinih signalov s pulzi stimulacije.

V primeru alternacije bi bil močno povečan delež signalov v kategoriji »ne«, v primeru simultane oglašanja pa delež signalov v kategoriji »vse«. Namesto tega je opazen konstantno nižji delež od pričakovanega v kategoriji »ne«, na ta račun pa so povišani deleži v ostalih treh kategorijah. Razlika od teoretično napovedanega deleža je bila največja v seriji z 1,5-kratno dolžino pavze, kjer je v enem poskusu dosegla 60 odstotnih točk. Vendar je neparametrični Wilcoxonov test pokazal značilno odstopanje od teoretičnega deleža samo v kategorijah »vse« v seriji z vsemi parametri na izhodiščni vrednosti ($\gg = = \ll$) ($W=26$, $p=0,04$, $H_1: \bar{x} > 0$) in »vse« v seriji z dvakratno amplitudo ($\gg = +6 = \ll$) ($W=19$, $p=0,05$, $H_1: \bar{x} > 0$), pri čemer sta obe odstopali v pozitivno smer.

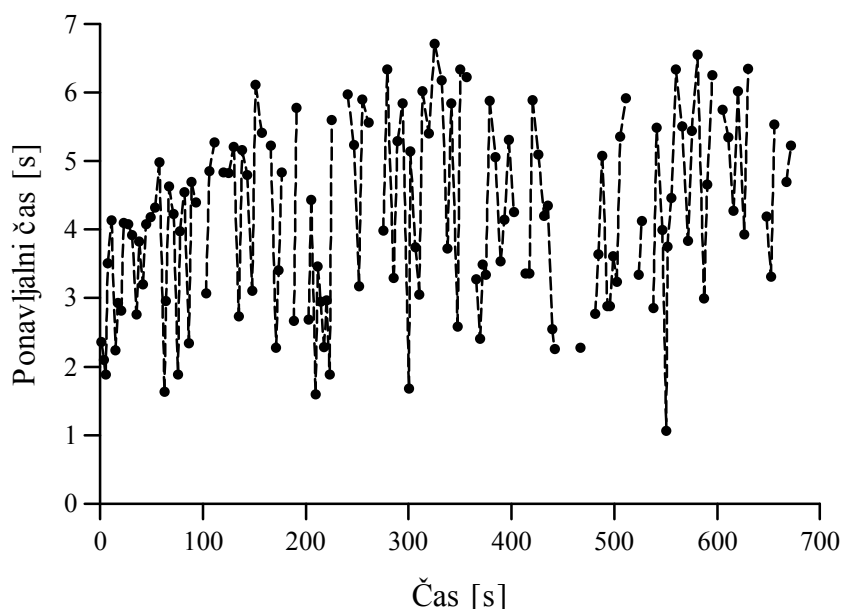


Slika 30: razlika med napovedanim in dejanskim deležem vsakega od štirih tipov prekrivanja samičnih signalov s pulzi stimulacije v različnih serijah poskusov. Za razlago kategorij glej Sl. 7.

Figure 30: difference between predicted and actual proportions of the four types of female signal overlap with stimulation pulses in different experiment series. See Fig. 7 for explanation of categories.

Kruskal-Wallisov test je znotraj vsake serije pokazal značilno razliko med kategorijami ($p < 0,05$). V skoraj vseh serijah je bila razlika deležev v razredu »ne« značilno manjša od razlik v ostalih treh razredih (Wilcoxonov test z Bonferronijevo korekcijo, $p < 0,017$), izjema sta bili le seriji z dvakrat večjo ($\gg = +6 = \ll$) in pol manjšo amplitudo ($\gg = -6 = \ll$), kjer ni bilo značilne razlike med razredoma »ne« in »spr«.

Pri analizi ponavljalnih časov smo po naključju opazili izrazito nihanje ponavljalnega časa med pari signalov. V sekvenci signalov samičinega pozivnega napeva se je pri večini samic dogajalo, da je signalu s kratkim ponavljalnim časom sledil signal z dolgim ponavljalnim časom (zgled prikazuje Sl. 31). V oscilogramu je bilo to opazno kot združevanje signalov v pare, s krajšo pavzo znotraj para kot med pari.



Slika 31: zgled nihanja ponavljalnega časa med zaporednimi signali samičinega pozivnega napeva med stimulacijo.

Slika 31: example of oscillating repetition times of the female calling song during stimulation.

Razlika med ponavljalnimi časi sosednjih pulzov je lahko presegala faktor 2, vendar pojav ni bil posledica stimulacije; nihanje je bilo opazno tako v kontrolnih poskusih kot v poskusih s stimulacijo, poleg tega t-testi niso pokazali praviloma večje povprečne razlike v poskusih s stimulacijo kot v kontrolnem poskusu z isto samico.

4 RAZPRAVA

4.1 FREKVENCA IN AMPLITUDA SIGNALOV S STALIŠČA ODDAJNIKA

Rastline, posebno njihove valjaste strukture, kot so stebila in peclji, predstavljajo medij za vibracijsko komunikacijo žuželk na dolge razdalje. Sodeč po hitrosti razširjanja in frekvenčnih karakteristikah signalov, žuželke uporabljajo za komunikacijo preko podlage upogibno valovanje (Michelsen in sod. 1982; Markl, 1983; Cremer in sod., 2005; Gogala, 2006).

Od frekvence odvisno ciklično spreminjanje amplitude z razdaljo od vira vibracij, kot je prikazano v tem delu, je bilo izmerjeno pri različnih vrstah rastlin, tako za umetno (Čokl in sod., 2004) kot za naravno vzbujejene vibracije (Čokl, 1988). Tudi spektralna analiza širokopasovnih signalov stenice *P. maculiventris* ob prenosu po sadiki fižola in lesnati sadiki kapskega svinčevca (*Plumbago auriculata*) (Čokl s sod., 2009) se ujema z izsledki naše raziskave. V frekvenčnem spektru signalov registriranih na posameznih točkah vzdolž pecljev in stebel so prevladovale različne frekvenčne komponente med 4 in 30 Hz, pri čemer pa celotna amplituda izražena z oscilogramom ni opazno nihala. O drugačnih rezultatih je poročal Bell (1980), ki je izmeril monotono padanje amplitude z razdaljo od vzbujevalnika, vendar je vzbujal vibracije v vejah različnih rastlinskih vrst s pulzi dolgimi le 5 ms, kar je premalo, da bi se vzpostavilo stoječe valovanje. Tudi razdalja največ 20 cm od vzbujevalnika do vpetega ali prostega konca je bila premalo, da bi bil opazen morebiten vzorec amplitudnega nihanja pri 100 Hz.

Po drugi strani je le malo znanega o prevajanju vibracij po drugih zelnatih tkivih, kjer so raziskave zaenkrat omejene na posplošeno opisovanje lastnosti prevajanja. Poskusi nakazujejo, da nestrukturirani listi prepuščajo le nizke frekvence (*low-pass filter*) (Magal in sod., 2000), v listnih pecljih pa je situacija kompleksnejša, kot nakazuje že omenjeni zgled kanadskega jadicovca in krilatca (McNett in Cocroft, 2008). Da zelene rastline močnejše dušijo frekvence nad 400 Hz (*low-pass filter*) so dokazali tudi pri prevajanju vibracijskih signalov različnih vrst talnih stenic (Cydnidae) (Čokl in sod., 2006) in ščitastih stenic (Pentatomidae) (Čokl in sod., 2005, 2007).

Izmerjena periodičnost spreminjanja amplitude z razdaljo v steblu ciperusa se razmeroma dobro ujema z matematičnim modelom resonance, kar potrjuje hipotezo, da je resonanca vzrok tega spreminjanja. Na tem mestu velja omeniti, da se zgradba merjenega sistema razlikuje od predpostavk modela: prerez stebila ni popolnoma homogen, »prosti« konec pa je bil pritrjen na vzbujevalnik, kar je vplivalo na položaj vozlov. Zaključek kljub temu potrjuje tudi dejstvo, da se je izmerjena razdalja med vozli ujemala z izračuni za vibracije različnih frekvenc, in resonančni profil, dobljen z frekvenčno moduliranim signalom, ki se ujema z izračunom lastnih nihajnih načinov preučevanega sistema. Rahle razlike tudi tu niso presenetljive zaradi nehomogene zgradbe preučevanega sistema in razlik med

stebлом, na katerem smo izmerili lastnost materiala, ter vibriranimi stebli. Najočitnejša razlika je v Youngovem modulu, izračunanem iz krivulj odvisnosti med resonančnimi frekvencami in dolžino stebela, posebej pri višjih frekvencah. Ravno tako je frekvenca višjih resonančnih vrhov bolj odstopala od izračunov kot frekvenca nižjih resonančnih vrhov. Ta rezultat je zanimiv sam po sebi, saj je lahko posledica razlik med statičnimi in dinamičnimi lastnostmi stebela kot viskoelastičnega objekta, vendar ti pojavi niso bili predmet preučevanja. Neposredno izmerjene vrednosti Youngovega modula so primerljive z vrednostmi, ki so jih izmerili drugi raziskovalci, na primer 3×10^8 N/m² pri navadnem trsu (*Phragmites communis*) (Michelsen in sod., 1982).

Rezultati niso neposredno primerljivi s starejšimi študijami, saj nam ni uspelo posneti stenic, ki bi se oglašale na odrezanem koncu ciperusa brez listov. V podobnem poskusu so Čokl in sod. (2007) registrirali širjenje signalov samic zelene smrdljivke, ki so stale na vrhu listne rozete ciperusa, z referenčno točko na stebelu 5 mm pod njo. Profil spreminjanja amplitude z razdaljo na 50–60 cm dolgih steblih se ujema s tu predstavljenim profilom, s 14 cm razdalje med vozli in približno 0,14 dB/cm celokupnim dušenjem. Zaradi tega sklepamo, da je možno rezultate kljub umetni metodi vzbujanja posplošiti na dogajanje v naravnih pogojih. V principu robni pogoji ne vplivajo niti na naravo valovanja, niti na sam obstoj resonance. Razlika pri vzbujanju s strani žuželk je tako zgolj kvantitativna v smislu točnih vrednosti resonančnih frekvenc in položaja vozlov vzdolž stebela.

Če so živali sposobne zaznati lastne signale, je možno predvidevati, da bodo resonančne lastnosti določene rastline vplivale na izbiro mesta signaliziranja in frekvence signalov. Študija na neresonančni podlagi je nakazala, da so samice zelene smrdljivke sposobne dinamično prilagajati frekvenco oglašanja spremenjenim pogojem v akustičnem okolju (Polajnar in Čokl, 2008). Podobno prilagajanje so opisali pri grbastih škržatkih iz kompleksa vrst *Enchenopa binotata*, katerih frekvenčne in časovne karakteristike vibracijskih signalov se razlikujejo med predstavniki, ki zajedajo na različnih gostiteljih; avtorji to razlagajo celo kot možen mehanizem nastanka vrst (Cocroft in sod., 2010). Razlike v prenosu vibracijskih signalov med posameznimi gostiteljskimi vrstami imajo namreč dokazan vpliv na komunikacijo (Cocroft in sod., 2006). Vendar pa je verjetno v primeru večjih rastlinojedih stenic z močnejšo sposobnostjo disperzije in širokim naborom gostiteljskih rastlin (Panizzi, 1997), variabilnost znotraj populacije verjetno večja od variabilnosti med populacijami.

Kljub temu, da so bili resonančni profili fižolov po pričakovanju kompleksnejši in manj predvidljivi od resonančnega profila stebel ciperusa, so bile nekatere lastnosti podobne, zlasti izrazito dušenje visokofrekvenčnih komponent. Frekvenčno območje učinkovitega prevajanja vibracij se je ožalo z oddaljenostjo od vira vibracij, spreminjalo pa se je tudi z zgradbo dela rastline, kjer smo registrirali vibracije. Na najoddaljenejši točki kontralateralnega lista in na vrhu zgornjega poganjka je rastlina zadušila praktično vse frekvenčne komponente nad 50 Hz, kar je nižje od območja variacije dominantnih

frekvenc signalov zelene smrdljivke, registriranih na neresonančni podlagi (Čokl in Virant-Doberlet, 2003). Na podlagi tega lahko sklepamo, da imajo nizkofrekvenčne komponente signalov večji pomen v vibracijski komunikaciji kot bi pričakovali po rezultatih raziskav odzivnosti na umetne signale čeprav niso ne nujen, ne zadosten pogoj za prepoznavo (Žunič in sod., 2011).

Na podlagi amplitudnih profilov signalov z različnimi pasovnimi širinami (Sl. 10) in sprememb spektralne sestave signalov s širokimi frekvenčnimi vrhovi (Sl. 15) sklepamo, da se naravni signali s kompleksnimi frekvenčnimi lastnostmi med prenosom po podlagi vedejo v skladu z pričakovanji v linearnem sistemu kot vsota frekvenčnih komponent. Različni frekvenčni vrhovi prispevajo k zmanjšanju nihanja maksimalne amplitude, ki je pri tremulacijskih signalih praktično neopazno. Ta pojav bi lahko bil vzrok za obstoj signalov z različnimi pasovnimi širinami v repertoarju ene vrste (npr. Čokl in sod., 2000a). Signali s frekvenčnimi komponentami, ki pokrivajo več kot en resonančni vrh, lahko po tej hipotezi posredujejo splošno informacijo o prisotnosti oddajnika na rastlini, vloga ozkopasovnih signalov pa je verjetno bolj specifična. Upogibni valovi se prenašajo disperzno, kar pomeni, da je hitrost prevajanja frekvenčno odvisna (Barth in sod., 1988; Casas in sod., 2007; Cremer in sod., 2005; Michelsen in sod., 1982). Manjše število frekvenčnih komponent bo potemtakem pomenilo manjšo degradacijo amplitudne ovojnice, s čemer se bo ohranila informacija o časovnih karakteristikah signalov, ki je pri polkrilcih pomembna za prepoznavanje spolnega partnerja (De Groot in sod., 2011b; Žunič in sod., 2011).

V zvezi z opisanimi lastnostmi sistema je treba upoštevati še energetiko vibracijske komunikacije. V splošnem je za oddajnika koristno, da oddaja signale s frekvenco, ki se ujema s katero od resonančnih frekvenc stebela. Vhodna upornost je najnižja ko je nihanje resonančno, zato je za vzbujanje sistema pri dani hitrosti treba uporabiti najmanj sile in s tem tudi najmanj mehanske moči ter najmanj energije. Nihajni načini so torej poleg položaja vozlov in antivozlov tista lastnost stebela, ki je verjetno najpomembnejša za žuželke, ki se sporazumevajo preko njega. Pomembna lastnost mehanskih sistemov je tudi ta, da je pri nižjih frekvencah za vzbujanje potrebno manj energije kot pri višjih (Fletcher in Rossing, 1998). Kljub temu frekvenčno območje, ki ga za komunikacijo uporabljajo stenice, ne pokriva najnižjih nihajnih načinov modelnega sistema. Za to sta dve možni razlagi. Po prvi so najnižji nihajni načini pogostejše vzbujeni zaradi šuma v okolju in vetra ter so tako manj primerni za komunikacijo (Barth in sod., 1988). Po drugi razlagi pa lahko frekvenca da informacijo o fitnesu pri spolni selekciji, zaradi česar bi se frekvenčno območje pomikalo navzgor, vendar je to manj verjetno zaradi lastnosti zelenih rastlin, ki močneje dušijo visoke frekvence.

Dinamično spreminjanje frekvence ob prisotnosti signalov drugih osebkov je bilo pri različnih skupinah živali opisano kot stereotipen odziv za preprečevanje medsebojnega blokiranja (t.i. *jamming avoidance response*). Tak pojav je že dolgo znan v sistemu

elektrolokacije pri električnih ribah (Heiligenberg, 1977), kasneje pa je bil dokazan tudi v sistemu ehelokacije pri netopirjih (Ulanovsky in sod., 2004) in spolne komunikacije z zvokom v bližnjem zvočnem polju pri komarjih (Gibson in Russell, 2006). Slednji primer je tu še posebej relevanten, saj je znotraj razreda žuželk poskus generaliziranja mehanizmov bolj smiseln kot med žuželkami in ribami ali sesalci. Vendar se, tako kot pričujoče doktorsko delo, tudi študija Gibson in Russell (2006) ne posveča fiziološkim mehanizmom interakcije frekvenc. V razpravi avtorja zgolj podata predpostavko, da gre za negativno povratno zanko na osnovi frekvenčne razlike. Ker se občutljivost in s tem hitrost povratne zanke med spoloma razlikuje, naj bi prišlo do stabilizacije utripanja s krili na isti frekvenci pri interakciji osebkov različnih spolov, pri interakciji osebkov istega spola pa do destabilizacije in nihanja frekvenčne razlike. Mehanizem usklajevanja obravnava natančneje šele študija Warrena in sod. (2009). V njej so avtorji uporabili drugo modelno vrsto komarja, *Culex quinquefasciatus*, pri kateri živali nasprotnega spola usklajujeta frekvence višjih harmoničnih vrhov, ki so previsoko za sposobnost fazičnega odziva receptorjev v tipalnicah. Ugotovili so, da nelinearen fizični odziv tipalnic na frekvenčno razliko višjih harmoničnih vrhov generira novo, nizkofrekvenčno komponento, ki je po njihovem sklepanju preko fazičnega odziva receptorjev osnova za prej omenjeno negativno povratno zanko. S to razlago se skladajo izsledki raziskave Catorja in sod. (2009), v kateri so sprožili usklajevanje frekvence pri komarju ščitarju (*Aedes aegypti*) samo z umetno sintetizirano višjo harmonično komponento, brez osnovne.

V pričujočem doktorskem delu nismo opazili predvidljivega odziva samic na umeten samičin napev v smislu sprememb frekvence ali ritma. Rezultati so v nasprotju s preliminarnimi rezultati iz študije Polajnar & Čokl (2008), ki so nakazali usmerjeno spremembo frekvence samičinega napeva stran od frekvence stimulacije. V tokratni seriji poskusov se je frekvenca napevov spreminjala neodvisno od podobnosti s frekvenco stimulacije; ob začetku predvajanja stimulacije je bil pri delu samic ravno tako opazen »korak« oz. stopničasta sprememba frekvence, vendar je bila sprememba praviloma navzgor, tudi če je bila frekvenca stimulacije višja od izhodiščne frekvence oglašanja samice. S poskusi na komarjih ni povsem primerljiva, saj nismo simulirali višjih harmoničnih frekvenc, bi bil pa tak poskus smiseln v naslednjem koraku. Dejstvo je namreč, da so srednjefrekvenčni receptorji zelene smrdljivke (MFR) uglašeni na frekvence okrog 200 Hz (Čokl, 1983), kar se ujema s prvim harmoničnim vrhom napevov pri tej in sorodnih vrstah (Čokl in Virant-Doberlet, 2003; Blassioli Moraes in sod., 2005). Poleg tega so lahko seveda za razločevanje frekvenc odgovorni sicer manj občutljivi nizkofrekvenčni receptorji (LFR), ki se odzivajo fazno vezanov območju pod 120 Hz (Čokl, 1983). Drug zanimiv pojav, ki smo ga opazili pri tretjini do polovici testiranih samic pa je počasno »drsenje« frekvence, katerega smer je odvisna od izhodiščne frekvence oglašanja in ne od prisotnosti oz. odsotnosti stimulacije. To si lahko razložimo z dejstvom, da smo signale živali registrirali na neresonančni membrani zvočnika, na kateri je odsotna povratna informacija o nihanju podlage. Sklepamo, da so živali mogoče »iskale« resonančni vrh, pri

katerem bi bilo oglašanje ojačano, saj smo z vzbujanjem vibracij v rastlinah pokazali, da je v območju variacije dominantne frekvence napevov vsaj en tak vrh. Območje variacije pa je omejujoč dejavnik za smer spremembe, saj ima žival, ki začne z oglašanjem pri ali nad 110 Hz, manj prostora za spreminjanje frekvence navzgor, kot tista, ki začne z oglašanjem pri ali pod 90 Hz (ter obratno). Po pričakovanju so samice, ki so začele z oglašanjem blizu zgornje meje območja variacije počasi spuščale frekvenco in obratno. Na podlagi spreminjanja frekvence samičinih pozivnih napevov v poskusih s stimulacijo in simetričnega območja preferenc samcev za ta parameter (Žunič, 2011) je možno ovreči hipotezo o frekvenci kot indeksu fitnesa v spolni selekciji.

4.2 FREKVENCA IN AMPLITUDA SIGNALOV S STALIŠČA SPREJEMNIKA

Posledice pojavov, ki smo jih opisali v disertaciji je potrebno s stališča vibracijske komunikacije žuželk še eksperimentalno preveriti. Najočitnejši je vzorec vozlov in antivozlov, ki verjetno vpliva na zaznavanje signalov. Absolutna hitrost v vozlih na modelni rastlini v tej raziskavi ni padla pod prazne vrednosti vibracijskih receptorjev kot so jih določili pri zeleni smrdljivki (Čokl, 1983), vendar na signale v naravi vplivajo tudi šum iz okolja, kamor med drugim spadajo signali drugih živali, ki uporabljajo isto frekvenčno območje tega komunikacijskega kanala. Zaradi tega domnevamo, da se samec pogosteje ustavlja na antivozlih ali v njihovi bližini ko išče samico in na ta način poveča razmerje signal:šum.

Hordotonalni organi, udeleženi pri sluhu žuželk, so lahko zgrajeni iz enega do več tisoč receptorjev, ki pošiljajo signale v odgovarjajoči torakalni oz. sub- ali supraezofagealni ganglij. Vendar tudi pri najkompleksnejših ne kaže, da bi bili sposobni zanesljivo kodirati gradient frekvenc signalov, kakršnemu so žuželke izpostavljene denimo pri frekvenčno moduliranih signalih (Field in Matheson, 1998; Stumpner in von Helversen, 2001). Živčevje pravih cvrčalk (Ensifera: Tettigoniidae) je sposobno na ravni slušnih internevronov razločevati deviantne zvočne signale z nosilno frekvenco, ki se razlikuje od nosilne frekvence serije signalov, vendar samo, če je frekvenčna razlika v rangi več KHz, saj v tem primeru posredujejo informacije različno uglaseni tipi receptorskih celic po ločenih kanalih (Schul in sod., 2012). Podobno situacijo lahko pričakujemo pri vibracijskem čutu stenic: modelna vrsta zelena smrdljivka ima več tipov vibracijskih receptorjev v subgenuialnih organih ter hordotonalnih organih nožnih sklepov in v tipalnicah. Slednji se odzivajo fazno vezano na nihanje nizkih frekvenc, pri čemer so različni tipi uglaseni na smer nihanja. Receptorske celice sklepnih hordotonalnih organov in kampaniformnih senzil so uglasene na frekvence pod 120 Hz, ena celica v subgenuialnem organu odgovarja z najvišjo občutljivostjo na dražljaje frekvencokrog 200 Hz, druga pa pa v območju med 750 in 1000 Hz (Čokl, 1983). O delovanju senzoričnega sistema za zaznavanje vibracij pri drugih vrstah stenic še ni podatkov.

Prej omenjeni mehanizem negativne povratne zanke na podlagi fazno-vezanega odziva bi lahko imel vlogo tudi pri samčevem razločevanju signalov dveh samic v sistemu vibracijske komunikacije zelene smrdljivke, vendar lahko o tej vlogi zaenkrat razpravljamo zgolj posredno. Vemo, da imajo samci težave s prepoznavanjem samičinega napeva, če se signali iz dveh virov delno prekrivajo in padejo časovni parametri tako »kombiniranih« signalov izven vrstno specifičnega območja (De Groot in sod. 2010, 2011b), vendar so bile do zdaj preučene samo različne kombinacije signalov z isto frekvenco. O tem, ali bi razlika frekvenc v rangi do 10 % pripomogla k razločevanju signalov, pa z nam znanimi podatki ne moremo sklepati.

4.2.1 Lokalizacija oddajnika

Učinkovita sposobnost lokalizacije je v spolni komunikaciji pomembna zaradi dolžine faze iskanja partnerja kot dejavnika spolne selekcije (Parker, 1978). Poleg tega predstavlja dolgotrajna izmenjava signalov celo v sistemu vibracijske komunikacije, ki jo nekateri avtorji (npr. Bell, 1980; Henry, 1994; Markl, 1983; Römer in sod., 2010) še vedno obravnavajo kot »zaseben« komunikacijski kanal, tveganje za detekcijo s strani plenilcev (Roberts in sod., 2007; Virant-Doberlet in sod., 2010) in parazitoidov (Laumann in sod., 2007).

Za parameter vibracij, ki ga samec zelene smrdljivke uporablja pri odločanju o smeri iskanja samice na razvejišču, se v literaturi navajata dva glavna kandidata: amplitudna razlika in časovni zamik (Virant-Doberlet in sod., 2006). Sodeč po fizikalnih karakteristikah signalov in načinu njihovega prevajanja preko podlage je sposobnost lokalizacije za žuželke blizu meje biološko možnega. Hitrost prevajanja upogibnega valovanja s frekvenco 200 Hz po različnih zelnatih delih rastlin je v razredu nekaj deset m/s, kar pomeni, da val prepotuje razdaljo enega centimetra, kolikor znaša razpon nog srednje velike žuželke, kakršna je zelena smrdljivka, v času 0,15 do 0,30 ms (Barth 1993, 1998; Michelsen in sod., 1983). Samec lahko ta razpon nekoliko poveča, ko med iskanjem naleti na razvejišče in se razkorači preko njega. Prešern (2007) je dokazal usmerjen odziv živčevja na časovni zamik 0,5 ms med različnimi kontralateralnimi pari senzoričnih vhodov, kar podpirajo tudi tu predstavljeni rezultati prevajanja samičinih signalov preko razvejišča stebela in listnih pecljev fižola. Ker natančen kriterij, ki ga samec uporablja pri »merjenju« smeri signala, ni znan, smo preskusili zanesljivost 0,5-milisekundnega praga na več načinov: z merjenjem zamikov prvega vala v vseh posnetih signalih, s povprečenjem zamikov vseh valov znotraj vsakega signala in s štetjem »zanesljivih« oz. »nezanestljivih« zamikov znotraj vsakega signala, poleg tega pa še z računanjem zamika amplitudnih ovojníc. Slednji predstavlja mero skupinske hitrosti vibracijskega pulza (*group velocity*), za razliko od ostalih, ki merijo fazno hitrost nihanja (*phase velocity*). Kljub temu, da se lahko ti dve hitrosti bistveno razlikujeta (Kremer in Heckl, 1973), smo v uporabljenem modelnem sistemu z obema metodama dobili podobne rezultate.

Z vsako od teh metod se je izkazalo, da velika večina zamikov, ne glede na položaj oddajnika na gostiteljski rastlini, zanesljivo usmerja sprejemnika proti izvoru signalov. Model samca, ki se ravna po drsečem bralnem okvirju dolžine 2 je še dodatno pripomogel k razreševanju dvoumnih situacij in bi ga v veliki večini primerov zanesljivo pripeljal do izvora signalov – samice. Nasprotno se je amplitudna razlika, ne glede na uporabljeno metodo sumarizacije, izkazala za bistveno manj zanesljivo in bi skoraj v polovici primerov botrovala napačni odločitvi. Tak rezultat je pričakovan glede na poročila različnih avtorjev o neliarnostih v prenosu vibracij preko zelenih delov rastlin (Michelsen in sod., 1982; Stritih in sod., 2000; Zorović, 2005; Čokl in sod., 2004, 2007), katerim smo v tej raziskavi odkrili vsaj delen vzrok.

Problem lokalizacije je lahko tudi dodatna razlaga preference za frekvenčno območje, ki je simetrična (Žunič in sod., 2011) namesto odprta navzgor kot bi pričakovali pri pojavu spolne selekcije. Poleg manj učinkovitega prevajanja višjih frekvenc, ki omejuje akustično polje (Michelsen in sod., 1982), je pri iskanju spolnega partnerja pomembna disperzna narava upogibnega valovanja (Casas in sod., 2007): če se višje frekvence prevajajo hitreje, bo to pomenilo manjši časovni zamik med prihodom vala na ipsi- in kontralateralni senzorični vhod, s tem pa povečanje števila signalov z nedoločljivo smerjo pri dani prazni vrednosti (Pregl. 7, Sl. 19).

4.3 VLOGA RITMA V LUČI STRATEGIJE PARJENJA

Alternacija ali hkratno oddajanje signalov (ang. *chorusing*) sta značilna za nekatere druge vedenjske kontekste, predvsem antagonistične interakcije predstavnikov istega spola, ki tekmujejo za pozornost spolnega partnerja, in fazo dvorjenja v spolni komunikaciji. Antagonistične interakcije so značilne za samce. Tekmovanje za pozornost samic je skozi proces naravne selekcije privedlo do občudovanja vrednih pojavov množičnih zborov s sinhronim ali alternirajočim oddajanjem signalov raznih modalitet, npr. zvoka (koblice, škržadi, žabe, ptiči) in svetlobnih bliskov (kresnice) (Wilson, 1975). Tak pojav nekateri avtorji razlagajo s sinergističnimi učinki, kot sta zmanjšanje tveganja za predacijo in večjim dosegom skupinskega signaliziranja (pregled hipotez navaja Greenfield, 1994), Greenfield in sod. (1997) pa sklepajo, da so zbori zgolj epifenomen kompeticije, ki je posledica t.i. precedenčnega učinka na samice: samice se preferenčno orientirajo proti prvemu signalu v sekvenci, s tem pa samcu, ki je oddal ta signal. Razlike v načinu teh antagonističnih interakcij so po mnenju Greenfielda in sod. (1997) zgolj posledica razlik v delovanju živčnih mrež, odgovornih za vzdrževanje ritma signaliziranja pri posamezni vrsti.

Samice so v splošnem tisti partner v spolnih interakcijah, ki prispeva večji vložek v produkcijo potomstva, zato je selekcijski pritisk nanje v kontekstu spolne selekcije manjši. Samec ima od vsakega uspešnega parjenja več koristi kot samica, hkrati pa je tudi samici v interesu dobiti partnerja s čim boljšim fitnessom, zato se pri večini vrst spolna kompeticija

dogaja med samci (Greenfield, 2002). V skladu s tem so se znotraj mnogih taksonov razvili izstopajoči morfološki in/ali vedenjski »dodatki« za privabljanje samic ali pomerjanje fitnesa med samci (Maynard Smith in Harper, 2003). V situacijah, kjer je samica stacionarna in jo samec išče, pa je značilno, da mora samec vložiti bistveno več truda v lokalizacijo – tudi to naj bi bila potrditev njegovega fitnesa. Ekstremen zgled so nočni metulji, pri katerih samica odda izjemno majhno količino hlapnega feromona v zrak, samec pa mora zaznati to snov in lokalizirati njen vir na razdalji tudi do več kilometrov (Greenfield, 2002).

Samec prispeva manj k razvoju potomstva, zato ima običajno v predparitvenem vedenju večji vložek od samice, tako v smislu energije, kot časa in tveganja. Strategija formiranja parov pa je v konkretnem primeru odvisna od selekcijskih pritiskov v specifičnem okolju posamezne vrste; tako recimo pri eni vrsti znotraj rodu kobilic *Poecilimon* (Tettigoniidea, Phaneropteridae) samica tisti partner, ki lokalizira samca in s premikanjem tvega predacijo, pri drugi pa tudi to vlogo prevzame signalizirajoči samec, ki se ravna po zelo kratkih in šibkih samičinih odgovorih (Heller, 1992). To se jasno odraža v stopnji predacije osebkov različnih spolov. Tudi v sistemu vibracijske komunikacije so samice »izbirčni« del para (McLain, 1980), ki pogosto prekinajo paritveno sekvenco v fazi, ko sta s samcem že v neposredni bližini (Kon in sod., 1988). Razlika je v tem, da so pozivni del predparitvene sekvence prevzele samice, spolno zreli samci pa se skoraj v 100 % odzivajo na prisotnost samičinih signalov z vrstno specifičnimi parametri (Žunič in sod., 2011). Tako je možno dolge sekvence monotonih signalov samičinega napeva razumeti kot serijsko redundantčnost *sensu* Brumm in Slabbekoorn (2005), ki daje samcu informacije o lokaciji na vseh razvejiščih na poti do nje.

Zaradi že omenjenih omejitev medija je za samice manj koristno, da prilagajajo ritem svojega oglašanja tako, da se ujema z ritmom drugih samic v istem akustičnem okolju, kar potrjuje tudi pričujoča raziskava. Samice ne v pol-naravnih pogojih (na sadiki fižola), ne ob prisotnosti umetne stimulacije niso uskladile svoje sekvence z zaznano. Nasprotno – praviloma so se aktivno izogibale oddajanju svojih signalov v pavzi med pulzi stimulacije, na ta račun pa je bil povečan delež signalov v ostalih fazah *duty cycle* stimulacije. Pri tem se celokupno povprečje dolžin pulzov in ponavljalnih časov napevov samic ni spremenilo, zato predvidevamo, da do sprememb prihaja v krajšem časovnem obdobju, na ravni *duty cycle*ov. Na tej ravni smo opazili razmeroma pravilno nihanje ponavljalnega časa od enega signala do naslednjega, vendar pomena le-tega za interakcijo ne moremo pojasniti z do sedaj zbranimi podatki. Generalen vtis ob spremljanju poskusov je bil, da samica uporabi *rahlo* različen ponavljalni čas od ponavljalnega časa stimulacije, kar povzroči, da se ciklično menjajo obdobja alternacije z obdobji delnega in popolnega prekrivanja pulzov. To pa bi lahko pomenilo za samca, da lahko vsaj periodično zanesljivo zazna kratko serijo signalov »prave« samice, tudi ob hkratnem napevu druge.

Ob odsotnosti jasnega odziva na ravni posameznih frekvenčnih in časovnih parametrov je zato možno sklepati, da je dinamično kombiniranje časovnih parametrov (čemur pravimo ritem) pomembnejše za zmanjševanje vpliva biotskega šuma na prepoznavnost pozivnega napeva samic od frekvence, kot je kazalo na podlagi preliminarne serije poskusov (Polajnar & Čokl, 2008). Razliko lahko mogoče pripišemo drugačni stimulaciji, saj je bila tokratna stimulacija s sekvenco pulzov bolj podobna napevu samice kot neprekinjeno sinusoidno valovanje. Slednja oblika stimulacije, ki simulira hkratno oddajanje signalov mnogih samic, namreč ne omogoča izkoriščanja kratkih obdobij tišine v pavzah med pulzi. Vendar zaenkrat le dejstvo, da ne ena ne druga oblika stimulacije ne prekineta oglašanja samice, nakazuje, da je pojav, ki ga simulirata, v naravi običajen. Za vrednotenje odziva pa bo treba preučiti, do kakšnih interakcij v akustičnem okolju prihaja v naravnih pogojih. Feromoni spolno zrelih samcev sprožijo agregacijo osebkov različnih spolov v bližini (Aldrich, 1988; Borges in sod., 1988; Millar, 2005), zato je možno hkratno oglašanje dveh in več samic tudi predvideti, vendar o dejanski gostoti znotraj istega akustičnega okolja ni podatkov, prav tako ne o aktivnosti. Sodeč po gostoti osebkov, ki se zbirajo pred prezimovanjem, se lahko na isti rastlini znajde tudi po deset ali več spolno zrelih živali, od tega približno polovica samic (osebno opažanje). Če so akustično aktivne vse, potem je situacija v naravi bližje tisti v študiji Polajnarja in Čokla (2008), če pa so zaradi kateregakoli razloga običajno aktivne največ dve ali tri, je situacija bolj podobna tisti v tokratni študiji. Za odgovor na to vprašanje bodo potrebne terenske raziskave.

5 SKLEPI

S sklopom raziskav vibracijske komunikacije zelene smrdljivke smo odgovorili na več odprtih vprašanj, ki so pomembna za razumevanje tega dela spolnega vedenja vrste in širše gledano spolnega vedenja ščitastih stenic. Dokazali smo, da je resonanca vzrok nemonotonega spreminjanja amplitude vibracijskih signalov z razdaljo, kar je pomembno za zaznavnost signalov in uporabnost amplitude pri lokalizaciji oddajnika. Po pričakovanjih se je izkazalo, da je časovni zamik bistveno zanesljivejši parameter od razlike amplitud med senzoričnimi vhodi in dovolj velik za znano sposobnost živčevja zelene smrdljivke razločiti zamik med senzoričnimi vhodi.

Rezultati vedenjskih poskusov v pol-naravnih pogojih in z umetno stimulacijo so pokazali, da medamicami zelene smrdljivke ne prihaja do kompeticije za ekskluzivno rabo komunikacijskega kanala, temveč samici izboljšata prepoznavnost lastnih signalov tako, da se aktivno, v okviru posameznih ponovitev signalov, izogibata prekrivanju cikla signalov in pavz. Frekvenca napevov samic se je ob prisotnosti stimulacije spreminjala v manjši meri in neodvisno od frekvence stimulacije, zato sklepamo, da je povezana predvsem z resonančnimi lastnostmi substrata.

6 POVZETEK/SUMMARY

6.1 POVZETEK

Vibracijska komunikacija je slabo poznan način komunikacije z mehanskimi signali, pri katerem žival vzbuja vibracije v elastičnem trdnem mediju, na katerem stoji, te pa se potem prenašajo vzdolž površine do sprejemnika. Mehanske vibracije (vključno z zvokom) imajo pred drugimi modalitetami prednost, da so hiter in zanesljiv način prenosa informacij na daljše razdalje, vibracije podlage pa so za žuželke še posebej ugodne, saj so le-te zaradi fizikalnih omejitev neučinkovit vir zvoka. Vendar fizikalne lastnosti trdnih struktur predstavljajo omejujoč dejavnik za uporabo tudi tega komunikacijskega kanala.

Zelena smrdljivka (*Nezara viridula*) je dobro raziskan modelni organizem na področju vibracijske komunikacije ščitastih stenic, ki smo ga izbrali za preučevanje vpliva lastnosti medija na strategijo komuniciranja, posebej odziva na pojav biotskega šuma v akustičnem okolju. Znano je, da zeleni deli rastlin, ki so habitat teh živali, predstavljajo frekvenčno odvisen filter za vibracije, ki se prevajajo po njih, vendar so bile lastnosti tega filtriranja do sedaj opisane samo v grobem. Predparitveno vedenje zelenih smrdljivk je sestavljeno iz več faz, od agregacije osebkov v bližini (na isti rastlini), pozivne faze v kateri samica oddaja redno ponavljajoče se signale, samec pa jo išče, in faze dvorjenja. Osredotočili smo se na pozivno fazo in prenos informacij v obliki vibracijskih signalov na daljše razdalje.

V prvem delu raziskave smo iskali vzrok cikličnega spreminjanja amplitude signalov teh živali z razdaljo od oddajnika, o kateri poroča več avtorjev, in lastnost signala, ki ga lahko samec izkoristi za ugotavljanje smeri izvora vibracij med iskanjem po rastlini. Testirali smo hipotezo, da je vzrok nemonotonega spreminjanja amplitude z razdaljo resonanca oz. pojav stoječega valovanja zaradi odbojev valov od konic. Izmerili smo amplitudo nihanja vzdolž modelnega sistema – dolgega in ravnega stebela ciperusa in meritve primerjali s fizikalnim modelom resonance na enem koncu vpetega elastičnega droga z enakimi lastnostmi materiala. Ključni rezultati izračunov – frekvenca resonančnih vrhov in valovna dolžina stoječega valovanja pri dani frekvenci – so se ujemali z meritvami, kar potrjuje našo hipotezo. S frekvenčno moduliranim signalom smo nato vzbudili nihanje v sadikah fižola, ki so preveč kompleksne za modeliranje z omenjeno metodo, zato smo frekvenčno odvisne lastnosti prenosa opisali samo sumarično na podlagi celotnega vzorca. Potrdili smo dušenje frekvenc nad 200 Hz v takem sistemu, ki postaja izrazitejši z oddaljenostjo od vira vibracij. Za vibracijsko komunikacijo stenic pa je relevantno, da se kljub kompleksnejši zgradbi v območju do 150 Hz ohranjajo posamezni resonančni vrhovi, kjer je relativna amplituda vibracij višja.

Parameter nihanja, uporaben za lokalizacijo vira vibracij, smo ugotavljali s snemanjem signalov samic zelene smrdljivke na ipsi- in kontralateralni strani razvejišča fižola, kar ponazarja položaj senzoričnih vhodov samca, ki pride do razvejišča in prične zbirati

informacije za odločitev o nadaljevanju poti. Primerjali smo »zanesljivost« dveh parametrov: časovnega zamika in amplitudne razlike med kanaloma. Ni znano, kateri del signala samec uporabi za določanje teh parametrov, zato smo uporabili več različnih kriterijev za določanje »zanesljivosti« obeh parametrov: razliko pri vrhu prvega vala znotraj signala, razliko pri vrhovih vseh valov znotraj signala in korelacijo amplitudnih ovojníc. Razlike pri vrhovih vseh valov smo sumarizirali na dva načina, kot delež »zanesljivih« oz. »nezanesljivih« in kot povprečje vseh izmerkov enega signala. Ne glede na uporabljen metodo določanja »zanesljivosti« enega ali drugega parametra in ne glede na natančno lokacijo oddajnika se je izkazalo, da velika večina signalov zanesljivo kaže ipsilaterelalno (proti izvoru vibracij) če se samec orientira po časovnem zamiku. Možnost napačne odločitve še zmanjša model drsečega bralnega okvirja dolžine dva, ki predpostavlja, da samec sprejme odločitev na podlagi dveh signalov z enako smerno informacijo, kar temelji na vedenju iščočega samca na razvejišču. Po pričakovanju se je razlika amplitud izkazala za bistveno manj zanesljivo, saj bi približno polovica signalov samca usmerila proti kontralateralni strani razvejišča, znova ne glede na metodo določanja. Okrog dve tretjini zanesljivih zamikov je vrnila tudi metoda s korelacijo amplitudne ovojnice, čeprav ta predstavlja mero skupinske hitrosti vibracijskega pulza, za razliko od ostalih, ki merijo fazno hitrost nihanja.

Z vedenjskimi poskusi smo želeli najprej potrditi, da ne prihaja do izključevalne kompeticije med samicami za rabo istega komunikacijskega kanala. Snemali smo pare samic na isti gostiteljski rastlini (fižolu) in ugotovili, da je razmerje med številom poskusov, ko sta se oglašali obe samici in številom poskusov, ko se je oglašala samo ena, enako razmerju med številom poskusov, ko se je oglašala vsaj ena samica in številom poskusov, ko nismo posneli oglašanja. Iz tega sklepamo, da pri samicah ne prihaja niti do izključevanja niti do sprožitve oglašanja ob prisotnosti signalov druge samice. Je bila pa pozitivna povratna zanka opazna na drugi ravni, v poskusih z umetno stimulacijo na umetni podlagi (membrani zvočnika): samice so dlje vzdrževale reden ritem oglašanja ob prisotnosti stimulacije kot v kontroli brez stimulacije.

Med poskusi s stimulacijo na zvočniku smo preskusili vpliv umetno sintetiziranih napevov z različnimi kombinacijami parametrov na oglašanje samic. Po pričakovanju samice niso natančno uskladile ritma svojega oglašanja z ritmom stimulacije, temveč se je ponavljalni čas nekoliko razlikoval, tako da so se izmenjevala obdobja alternacije z obdobji delnega in popolnega prekrivanja pulzov. V primerjavi z obdobjem pred začetkom stimulacije so povprečne vrednosti časovnih parametrov ostale enake, kar razlagamo s pomembnostjo teh parametrov pri razločevanju vrst. Na ravni posameznih ciklov signalov in pavz pa smo izmerili nekoliko nižji delež signalov, oddanih v pavzi med pulzoma stimulacije od pričakovanega, kar nakazuje na to, da se samice aktivno izogibajo alternaciji.

Frekvenca se je po drugi strani spreminjala na dva načina: kot počasno »drsenje« navzgor ali navzdol ali kot nenaden »korak« ob začetku predvajanja stimulacije. Obe spremembi

sta bili neodvisni od razlike med izhodiščno frekvenco napeva in frekvenco stimulacije. Smer »drsenja« je bila namesto tega odvisna samo od izhodiščne frekvence – če je bila slednja blizu zgornje meje variabilnosti dominantne frekvence pri zeleni smrdljivki, je »drsel« navzdol in obratno. Enak pojav smo opazili v kontrolnih poskusih, zato sklepamo, da samica s tem išče frekvenco resonančnega vrha podlage, pri kateri bi bili njeni signali ojačani, vendar bi bili za potrditev te hipoteze nujni poskusi na rastlinah.

6.2 SUMMARY

Vibrational communication is a poorly understood mean of animal communication with mechanical signals during which a signaller emits vibrations through elastic solid medium on which it stands. The vibrations then travel along the surface towards the receiver. Mechanical vibrations, such as sound, are quick and reliable mean of long-distance information transfer compared with other signal modalities, and substrate vibration is especially suited to insects which are ineffective sound source due to physical constraints. However, the use of this communication channel is also limited because of physical properties of solid structures.

The southern green stink bug (*Nezara viridula*) is a much researched model organism in the field of substrate-borne vibrational communication of stink bugs. We used it for the study of influence of physical properties of the medium on the communication strategy, especially the response to the presence of noise in the acoustic environment. It has been known that the habitat and communication medium of these animals – herbaceous parts of plants – functions as a frequency-dependent filter for vibrations it transmits. However, the filtering properties have been described only in general terms. Pre-mating behaviour of *N. viridula* consists of several phases, from pheromone-mediated aggregation in vicinity of a focal male, through a calling phase in which the female emits regularly repeated signals used by males for searching, to the courtship phase. We focused on the calling phase and the long-distance information transfer in the form of vibrational signals.

In the first phase of our research, we wanted to find the reason for cyclical amplitude of signal amplitude with distance from the emitter mentioned in various older reports, and the signal property which enables mate localization during searching by the male. We first tested the hypothesis that resonance, or the emergence of standing waves because of wave reflection, is the reason for non-monotonic amplitude change with distance. We measured amplitude of vibrations along a model system – a long and straight *Cyperus* stem, and compared the relative values to the physical model of resonance of a narrow elastic beam fixed on one side. The main results – frequency of resonant peaks and wavelength of standing waves – matched our measurements, thereby confirming the hypothesis. We then vibrated bean plants which are too complicated to model using the mentioned method, so we described frequency-dependent properties of vibration transfer only generally. We confirmed strong attenuation of frequencies above 200 Hz in such a system, with lowering

of cutoff frequency with distance from the emitter. More importantly for vibrational communication of stink bugs, in frequency range up to 150 Hz, there remained resonant peaks, albeit wider, at which relative amplitude was increased.

The key parameter for localization was determined by recording signals of live *N. viridula* females at ipsi- or contralateral side of a branching point of a bean plant, which represents the position of male's sensory inputs at a crossing. We compared »reliability« of two parameters: delay and amplitude difference between channels. The part of the signal used for measuring either parameter by the male is not known, so we used several different criteria for determining »reliability« of both parameters: difference at the peak of the first wave within a signal, differences of all the waves within a signal and the correlation of amplitude envelopes. The differences of all waves within a signal were summarized in two ways: as a proportion of »reliable« vs. »unreliable« and as the average of all measurements within a signal. Regardless of the method used or the exact location of the emitter on a plant, it turned out that the majority of signals reliably points to the ipsilateral side (towards the source of vibrations) if the male orients using delay. The probability of a wrong decision was further lowered by the model of a sliding reading frame with the length 2, which assumes the male to decide using information of two signals with the same directionality. This model is based on the behaviour of a searching male when it comes to a crossing. As expected, amplitude difference proved to be far less reliable, since around half of the signals would point the male to the wrong side of the crossing, again regardless of the determination method used. Amplitude envelope correlation returned around two thirds of reliable delays, even though this method measures group velocity, not phase velocity as the other methods.

Behavioural experiments were first used to determine whether exclusion of one potential signaller in the same communication channel occurs. We recorded pairs of females on the same host plant (bean) and found out that in half of experiments, at least one female emitted calling song, and in half of those, both females emitted calling songs. We therefore argue that no exclusion occurs between females, nor does signalling of a female trigger signalling of other females. However, positive feedback was observed on a different scale, in experiments with synthesised stimulation on an artificial substrate (a loudspeaker membrane): females maintained regular rhythm longer in the presence of stimulation than in silent control.

During stimulation trials on a loudspeaker, we tested the influence of synthesized songs with different combinations of parameters on female signalling. As expected, females did not match their rhythm to the stimulation's rhythm, but proceeded to sing with a slightly different signal repetition time. Consequently, periods of signal alternation were followed by periods of partial overlap and periods of full overlap, and again periods of alternation. Compared to the period before the onset of stimulation, average temporal parameters remained stable, which is explained by the importance of these parameters for species

recognition. However, on the level of individual duty cycles, we counted less signals emitted in the silent phase between stimulation pulses than expected, which indicates active avoidance of alternation by the female.

Frequency, on the other hand, changed in two ways: either it slowly »drifted« upwards or downwards, or as a sudden »step« at the onset of the stimulation. Both types of change were independent of the difference between initial song frequency and the frequency of stimulation. The direction of the »drift« depended only on initial song frequency instead: it drifted downwards if the initial frequency was close to the upper limit of frequency range of *N. viridula* and vice versa. The same phenomenon was apparent in the control trials. We therefore argue that this represents the female searching for the frequency of the substrate's resonant peak at which her signals would be amplified, however, this hypothesis needs to be tested experimentally on natural substrate.

7 VIRI

- Aicher B., Tautz J. 1990. Vibrational communication in the fiddler crab, *Uca pugilator*. 1. Signal transmission through the substratum. *Journal of Comparative Physiology A- Sensory Neural and Behavioral Physiology* 166(3): 345–353
- Aldrich J.R. 1988. Chemical ecology of the Heteroptera. *Annual Review of Entomology* 33: 211–238
- Aldrich J.R., Numata H., Borges M., Bin F., Waite G.K., Lusby W.R. 1993. Artifacts and pheromone blends from *Nezara* spp. and other stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). *Zeitschrift für Naturforschung* 48C: 73–79
- Amon T. 1981. Histologija skolopalnih organov in živčevja v nogah stenice *Nezara viridula* L. (Heteroptera, Insecta). Magistrska naloga. Ljubljana, VTO za biologijo Biotehniške fakultete, Univerza Edvarda Kardelja v Ljubljani.
- Amon T. 1990. Electrical brain stimulation elicits singing in the bug *Nezara viridula*. *Naturwissenschaften* 77: 291–292
- Aubin T., Jouventin P. 2002. Localisation of an acoustic signal in a noisy environment: the display call of the king penguin *Aptenodytes patagonicus*. *Journal of Experimental Biology* 205: 3793–3798
- Barth F.G. 1986. Vibrationssinn und vibratorische Umwelt von Spinnen. *Naturwissenschaften* 73: 519–530
- Barth F.G., Bleckmann H., Bohnenberger J., Seyfarth E.-A. 1988. Spiders of the genus *Cupiennius* Simon 1891 (Araneae, Ctenidae) II. On the vibratory environment of a wandering spider. *Oecologia* 77: 194–201
- Barth F.G. 1993. Sensory guidance in spider pre-copulatory behaviour. *Comparative Biochemistry and Physiology A - Physiology* 104A(4): 717–733
- Barth F.G. 1998. The vibrational sense of spiders: adaptation and compromise at many levels. V: *Orientation and communication in arthropods*. Lehrer M. (ed.). Basel, Birkhauser Verlag: 247–272.
- Bell P.D. 1980. Transmission of vibrations along plant stems: implications for insect communication. *Journal of the New York Entomological Society* 88(3): 210–216
- Bennet-Clark H.C. 1998. Size and scale effects as constraints in insect sound communication. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 353(1367): 407–419

- 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
- 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: 205–212
- Bradbury J.W., Vehrencamp S.L. 1998. Principles of animal communication. Sunderland, Sinauer Associates.
- Brownell P.H., Farley R.D. 1979. Orientation to vibrations in sand by nocturnal scorpion *Paruroctonus mesaensis*: mechanism of target localization. *Journal of Comparative Physiology* 131: 31–38
- Brumm H., Slabbekoorn H. 2005. Acoustic communication in noise. *Advances in the Study of Behavior* 35: 151–209
- Casas J., Magal C., Sueur J. 2007. Dispersive and non-dispersive waves through plants: implications for arthropod vibratory communication. *Proceedings of the Royal Society B* 274(1613): 1087–1092
- Cator L.J., Arthur B.J., Hoy R.R. 2009. Harmonic convergence in the love songs of the dengue vector mosquito. *Science* 323(5917): 1077–1079
- Cocroft R.B., Tieu T.D., Hoy R.R., Miles R.N. 2000. Directionality in the mechanical response to substrate vibration in a treehopper (Hemiptera: Membracidae: *Umbonia crassicornis*). *Journal of Comparative Physiology A* 186: 695–705
- Cocroft R.B., Rodríguez R.L. 2005. The behavioral ecology of insect vibrational communication. *BioScience* 55(4): 323–334
- Cocroft R.B., Shugart H.J., Konrad K.T., Tibbs K. 2006. Variation in plant substrates and its consequences for insect vibrational communication. *Ethology* 112: 779–789
- Cocroft R.B., Rodriguez R.L., Hunt R.E. 2010. Host shifts and signal divergence: mating signals covary with host use in a complex of specialized plant-feeding insects. *Biological Journal of the Linnean Society* 99: 60–72
- Cocroft R.B. 2011. The public world of insect vibrational communication. *Molecular Ecology* 20(10): 2041–2043
- Cremer L., Heckl M., Petersson B.A.T. 2005. Structure-borne sound: Structural vibrations and sound radiation at audio frequencies, 3rd. ed. Berlin, Springer.

- Čokl A., Kalmring K., Wittig H. 1977. The responses of auditory ventral cord neurons of *Locusta migratoria* to vibration stimuli. *Journal of Comparative Physiology* 120: 161–172
- Čokl A., Bogataj E. 1982. Factors affecting vibrational communication in *Nezara viridula* L. (Heteroptera, Pentatomidae). *Biološki vestnik* 30(1): 1–20
- Čokl A. 1983. Functional properties of vibroreceptors in the legs of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Comparative Physiology A* 186: 695–705
- Čokl A., Otto C., Kalmring K. 1985. The processing of directional vibratory signals in the ventral nerve cord of *Locusta migratoria*. *Journal of Comparative Physiology A* 156(1): 45–52
- Čokl A. 1988. Vibratory signal transmission in plants as measured by laser vibrometry. *Periodicum Biologorum* 90(2): 193–196
- 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. *Pflugers Archiv – European Journal of Physiology* 439 (suppl.): R168–R170
- Čokl A., Virant-Doberlet M., Stritih N. 2000b. Structure and function of songs emitted by southern green stink bugs from Brazil, Florida, Italy and Slovenia. *Physiological Entomology* 25: 196–205
- Čokl A., McBrien H.L., Millar J.G. 2001. Comparison of substrate-borne vibrational signals of two stink bug species, *Acrosternum hilare* and *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America* 94(3): 471–479
- Čokl A., Virant-Doberlet M. 2003. Communication with substrate-borne signals in small plant-dwelling insects. *Annual Review of Entomology* 48: 29–50
- Čokl A., Prešern J., Virant-Doberlet M., Bagwell G. J., Millar J.G. 2004. Vibratory signals of the harlequin bug and their transmission through plants. *Physiological Entomology* 29: 372–380
- Čokl A., Zorović M., Žunič A., Virant-Doberlet M. 2005. Tuning of host plants with vibratory songs of *Nezara viridula* L. (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Experimental Biology* 208: 1481–1488

- Čokl A., Nardi C., Simoes Bento J.M., Hirose E., Panizzi A.R. 2006a. Transmission of stridulatory signals of the burrower bugs, *Scaptocoris castanea* and *Scaptocoris carvalhoi* (Heteroptera: Cydnidae) through the soil and soybean. *Physiological Entomology* 31: 371–381
- Čokl A., Virant-Doberlet M., Zorović M. 2006b. Sense organs involved in the vibratory communication of bugs. V: *Insect sounds and communication: Physiology, behaviour, ecology and evolution*. Drosopoulos S., Claridge M.F. (eds.). Boca Raton, Taylor Francis: 71–80
- Čokl A., Zorović M., Millar J. G. 2007. Vibrational communication along plants by the stink bugs *Nezara viridula* and *Murgantia histrionica*. *Behavioral Processes* 75: 40–54
- Čokl A. 2008. Stink bug interaction with host plants during communication. *Journal of Insect Physiology* 54: 1113–1124
- Čokl A., Žunič A., Millar, J. G. 2009. Transmission of *Podisus maculiventris* tremulatory signals through plants. *Central European Journal of Biology* 4: 585–594
- Čokl A., Žunič A., Virant-Doberlet M. 2011. Predatory bug *Picromerus bidens* communicates at different frequency levels. *Central European Journal of Biology*, 6: 431–439
- Dall S.R.X., Giraldeau L.-A., Olsson O., McNamara J.M., Stephens D.W. 2005. Information and its use by animals in evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 20(4): 187–193
- De Groot M., Čokl A., Virant-Doberlet M. 2010. Effects of heterospecific and conspecific vibrational signal overlap and signal-to-noise ratio on male responsiveness in *Nezara viridula* (L.). *Journal of Experimental Biology* 213: 3213–3222
- 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
- Ewing A.W. 1989. *Arthropod bioacoustics: neurobiology and behaviour*. Ithaca, Cornell University Press.
- Field L.H., Matheson T. 1998. Chordotonal organs of insects. *Advances in Insect Physiology* 27: 1–230

- Fletcher N.H., Rossing T.D. 1998. The physics of musical instruments, 2nd edn. New York, NY, Springer.
- French A.S. 1988. Transduction mechanisms of mechanosensilla. *Annual Review of Entomology* 33: 39–58
- Gerhardt H.C., Huber F. 2002. Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions. Chicago, University of Chicago Press.
- Gibson G., Russell I. 2006. Flying in tune: sexual recognition in mosquitoes. *Current Biology* 16: 1311–1316
- Gogala A., Gogala M. 1989. Stenice Slovenije II. (Insecta: Heteroptera). *Biološki vestnik* 37(1): 11–44
- Gogala A. 2008. Heteroptera of Slovenia, V: Pentatomomorpha II and additions to the previous parts. *Annales, Annals for Istrian and Mediterranean Studies, Series historia naturalis* 18(1): 91–126
- Gogala M. 1984. Vibration producing structures and songs of terrestrial Heteroptera as systematic character. *Biološki vestnik* 32(1): 19–36
- Gogala M. 2006. Vibratory signals produced by Heteroptera – Pentatomomorpha and Cimicomorpha. V: *Insect sounds and communication: Physiology, behaviour, ecology and evolution*. Drosopoulos S., Claridge M.F. (eds.). Boca Raton, Taylor Francis: 275–295
- Goulson D., Birch M.C., Wyatt T.D. 1994. Mate location in the deathwatch beetle, *Xestobium rufovillosum* De Geer (Anobiidae): orientation to substrate vibrations. *Animal Behaviour* 47(4): 899–907
- Greenfield M.D. 1994. Cooperation and conflict in the evolution of signal interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25: 97–126
- Greenfield M.D., Tourtellot M.K., Snedden W.A. 1997. Precedence effects and the evolution of chorusing. *Proceedings of the Royal Society B* 264: 1355–1361
- Greenfield M.D. 2002. *Signalers and receivers*. Oxford, Oxford University Press.
- Harris V.E., Todd J.W. 1980. Male-mediated aggregation of male, female and 5th instar southern green stink bug and concomitant attraction of a tachinid parasite, *Trichopoda pennipes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 27(2): 117–126
- Heiligenberg W. 1977. *Principles of Electrolocation and Jamming Avoidance in Electric Fish*. Berlin, Springer

- Heller K.-G. 1992. Risk shift between males and females in the pair-forming behavior. *Naturwissenschaften* 79: 89–91
- Henry C.S. 1994. Singing and cryptic speciation insects. *Trends in Ecology & Evolution* 10(9): 388–392
- Hill P.S.M. 2008. Vibration communication in animals. Harvard, Harvard University Press.
- Hrabar N., Virant-Doberlet M., Čokl A. 2004. Species specificity of male southern green stink bug *Nezara viridula* (L.) reactions to the female calling song. *Acta Zoologica Sinica* 50: 566–575
- 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
- Jeraj M., Walter G.H. 1998. Vibrational communication in *Nezara viridula*: response of Slovenian and Australian bugs to one another. *Behavioral Processes* 44: 51–58
- Jeram S., Čokl A. 1996. Mechanoreceptors in insects: Johnston's organ in *Nezara viridula* (L.) (Pentatomidae, Heteroptera). *Pflugers Archiv – European Journal of Physiology* 431(suppl.): R281–R282
- Jones W. 1988. World review of the parasitoids of the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America* 81(2): 262–273
- Kanmiya K. 1996. Discovery of male acoustic signals in the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae). *Applied Entomology and Zoology* 31(2): 255–262
- Keuper A., Kühne R. 1983. The acoustic behaviour of the bushcricket *Tettigonia cantans* II. Transmission of airborne-sound and vibrational signals in the biotope. *Behavioural Processes* 8: 125–145
- Kon M., Oe A., Numata H., Hidaka T. 1988. Comparison of the mating behaviour between two sympatric species, *Nezara antennata* and *N. viridula* (Heteroptera: Pentatomidae), with special reference to sound emission. *Journal of Ethology* 6: 91–98
- Kremer L., Heckl M. 1973. Structure-borne sound. Berlin, Heidelberg, New York, Springer Verlag: 103–115
- Laumann R.A., Blassoli Moraes M.C., Čokl A., Borges M. 2007. Eavesdropping on sexual vibratory signals of stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) by the egg parasitoid *Telenomus podisi*. *Animal Behaviour* 73(4): 637–649

- Latimer W., Schatral A. 1983. The acoustic behaviour of the bushcricket *Tettigonia cantans* I. Behavioural responses to sound and vibration. *Behavioural Processes* 8: 113–124
- Lockwood J.A., Story R.N. 1986. Embryonic orientation in Pentatomids: its mechanism and function in southern green stink bug (Hemiptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America* 79(6): 963–970
- Magal C., Schöller M., Tautz J., Casas J. 2000 The role of leaf structure in vibration propagation. *Journal of the Acoustical Society of America* 108(5): 2412–2418
- Markl H. 1983. Vibrational communication. V: *Neuroethology and behavioral physiology*. Huber F., Markl H. (eds.). Berlin, Springer-Verlag: 332–354
- Mason A.C., Oshinsky M.L., Hoy R.R. 2001. Hyperacute directional hearing in a microscale auditory system. *Nature* 410: 686–690
- Maynard Smith J., Harper D. 2003. *Animal Signals*. Oxford, Oxford University Press.
- Mazzoni V., Prešern J., Lucchi A., Virant-Doberlet M. 2009. Reproductive strategy of the Nearctic leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae). *Bulletin of Entomological Research* 99(4): 401–413
- McLain D.K. 1980. Female choice and the adaptive significance of prolonged copulation in *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Psyche* 87: 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
- McNett G.D., Cocroft R.B. 2008. Host shifts favor vibrational signal divergence in *Enchenopa binotata* treehoppers. *Behavioral Ecology* 19(3): 650–656
- McNett G.D., Luan L.H., Cocroft R.B. 2010. Wind-induced noise alters signaler and receiver behavior in vibrational communication. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64(12): 2043–2051
- Michel K., Amon T., Čokl A. 1983. The morphology of the leg scolopidial organs in *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Revue Canadienne de Biologie Experimentale* 42: 139–150
- Michelsen A., Nocke H. 1974. Biophysical aspects of sound communication in insects. *Advances in insect physiology* 10: 247–296

- Michelsen A., Flemming F., Gogala M., Traue D. 1982. Plants as transmission channels for insect vibrational songs. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 11: 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. *Behavioral Processes* 61: 1–12
- 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
- Millar J.G. 2005. Pheromones of true bugs. *Topics in Current Chemistry* 240: 37–84
- Mitchell W.C., Mau R.F.L. 1971. Response of the female southern green stink bug and its parasite, *Trichopoda pennipes*, to male stink bug pheromones. *Journal of Economic Entomology* 64(4): 856–859
- 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 Behaviour* 4: 441–447
- Panizzi A.R. 1997. Wild hosts of Pentatomids: Ecological Significance and Role in Their Pest Status on Crops. *Annual Review of Entomology*, 42: 99–122
- Panizzi A.R., McPherson J.E., James D.G., Javahery M. 2000. Stink Bugs (Pentatomidae). V: Heteroptera of economic importance. Schaefer C.W., Panizzi A R. (eds.). Boca Raton, CRC Press: 436–439
- Parker G.A. 1978. Evolution of Competitive Mate Searching. *Annual Review of Entomology* 23: 173–196
- Pfannenstiel R.S., Hunt R.E., Yeargan K.V. 1995. Orientation of a hemipteran predator to vibrations produced by feeding caterpillars. *Journal of Insect Behavior* 8(1): 1–9
- Polajnar J., Čokl A. 2008. The effect of vibratory disturbance on sexual behaviour of the southern green stink bug *Nezara viridula* (Heteroptera, Pentatomidae). *Central European Journal of Biology* 3(2): 189–197
- 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
- Prešern J. 2007. Nevrobiološka osnova orientacije stenice vrste *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) proti viru vibracijskega signala. Dokt. disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta.

- Robert D. 2001. Innovative biomechanics for directional hearing in small flies. *Biological Bulletin* 200(2): 190–194
- Roberts J.A., Taylor P.W., Uetz G.W. 2007. Consequences of complex signalling: predator detection of multimodal cues. *Behavioral Ecology* 18: 236–240
- Roces F., Tautz J., Hölldobler B. 1993. Stridulation in leaf-cutting ants: short-range recruitment through plant-borne vibrations. *Naturwissenschaften* 80: 521–524
- Römer H. 1993. Environmental and biological constraints for the evolution of long-range signalling and hearing in acoustic insects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 340(1292): 179–185
- Römer H., Lang A., Hartbauer M. 2010. The signaller's dilemma: a cost–benefit analysis of public and private communication. *PloS ONE* 5(10): e13325
- Ronacher B., Krahe R., Hennig R.M. 2000. Effects of signal duration on the recognition of masked communication signals by the grasshopper *Chortippus biguttulus*. *Journal of Comparative Physiology A* 186: 1065–1072
- Ryan M.A., Čokl A., Walter G.H. 1996. Differences in vibratory sound communication between a Slovenian and an Australian population of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Behavioral Processes* 36: 183–193
- Schul J., Mayo A.M., Triplehorn J.D. 2012. Auditory change detection by a single neuron in an insect. *Journal of Comparative Physiology A* 198: 695–704
- Scott-Phillips T.C. 2008. Defining biological communication. *Journal of Evolutionary Biology*, 21: 387–395
- Sokolowski M.B., Turlings T.C.J. 1987. *Drosophila* parasitoid-host interactions: vibrotaxis and ovipositor searching from the host's perspective. *Canadian Journal of Zoology* 65: 461–464
- Spezia S., Curcio L., Fiasconaro A., Pizzolato N., Valenti D., Spagnolo B., Lo Bue P., Peri E., Colazza S. 2008. Evidence of stochastic resonance in the mating behavior of *Nezara viridula* (L.). *European Physical Journal B* 65: 453–458
- Stritih N., Virant-Doberlet M., Čokl A. 2000. Green stink bug *Nezara viridula* detects differences in amplitude between courtship song vibrations at stem and petiolus. *Pflugers Archiv – European Journal of Physiology* 439(suppl.): R190–192
- Stritih N., Čokl A. 2012. Mating behaviour and vibratory signalling in non-hearing cave crickets reflect primitive communication of Ensifera. *PLoS ONE* 7(10): e47646

- Stumpner A., von Helversen D. 2001. Evolution and function of auditory systems in insects. *Naturwissenschaften* 88: 159–170
- Sueur J., Aubin T., Simonis C. 2008. Seewave: a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics* 18: 213–226
- Todd J.W. 1989. Ecology and behavior of *Nezara viridula*. *Annual Review of Entomology* 34: 273–292
- Tougou D., Musolin D.L., Fujisaki K. 2009. Some like it hot! Rapid climate change promotes changes in distribution ranges of *Nezara viridula* and *Nezara antennata* in Japan. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 130(3): 249–258
- Ulanovsky N., Fenton N.B., Tsoar A., Korine C. 2004. Dynamics of jamming avoidance in echolocating bats. *Proceedings of the Royal Society B* 271: 1467–1475
- 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. (eds.). 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 prey vibrational signals used in sexual communication. *Molecular Ecology* 20(10): 2204–2216
- Walker J. 1988. World review of the parasitoids of the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America* 81(2): 262–273
- Warren B., Gibson G., Russell I.J. 2009. Sex recognition through midflight mating duets in *Culex* mosquitoes is mediated by acoustic distortion. *Current Biology* 19(6): 485–491
- Wessel A. 2006. Stridulation in the Coleoptera – an overview. V: *Insect sounds and communication: Physiology, behaviour, ecology and evolution*. Drosopoulos S., Claridge M.F. (eds.). Boca Raton, Taylor Francis: 397–405
- Wiese K. 1974. Mechanoreceptive system of prey localization in *Notonecta*. 2. Principle of prey localization. *Journal of Comparative Physiology* 92(3): 317–325
- Wilson E.O. 1975. *Sociobiology*. Cambridge, Mass., Harvard University Press.

- Wollerman L., Wiley, R.H. 2002. Background noise from a natural chorus alters female discrimination of male calls in a neotropical frog. *Animal Behaviour* 63: 15–22
- Young W.C., Budynas R.G. 2002. Roark's formulas for stress and strain, 7th edn. New York, NY: McGraw-Hill
- Zorović M., Čokl A., Virant-Doberlet M. 2004. The interneural network underlying vibrational communication in the green stinkbug *Nezara viridula* (L): processing of the female calling song with applications for orientation and species recognition. V: Program and abstracts. The 7th congress of the International Society for Neuroethology, Nyborg, 18.-13. Avgust 2004. Nyborg, International society for neuroethology: PO201
- Zorović M. 2005. Strukturne in funkcionalne značilnosti vibracijskih nevronov v torakalnih ganglijih stenice *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae). Dokt. disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta.
- Zorović M., Prešern J., Čokl A. 2008. Morphology and physiology of vibratory interneurons in the thoracic ganglia of the southern green stinkbug *Nezara viridula* (L.). *The Journal of Comparative Neurology* 508: 365–381
- Žunič A., Čokl A., Virant-Doberlet M., Millar J. G. 2008. Communication with signals produced by abdominal vibration, tremulation, and percussion in *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 101: 1169–1178
- Žunič A., Virant-Doberlet M., Čokl A. 2011. Species recognition during substrate-borne communication in *Nezara viridula* (L.) (Pentatomidae: Heteroptera). *Journal of Insect Behaviour* 24(6): 468–487

ZAHVALA

Najprej gre zahvala prof. dr. Andreju Čoklu, za mentorstvo v najširšem pomenu besede, večni optimizem, potrpežljivo prizemljevanje mojih predivjih miselnih preskokov in spodbujanje ostalih.

Iskreno se zahvaljujem tudi vsem članom komisij in drugih služb na Biotehniški fakulteti ter Nacionalnem inštitutu za biologijo za razumevanje in podporo v času, ko se je mudilo z dokončanjem tega dela. H končni obliki sta s konstruktivnimi pripombami prispevala prof. dr. Marko Kreft in prof. dr. Janko Božič, v fazi načrtovanja in izvedbe pa so konkretnije pripomogli predvsem doc. dr. Daniel Svenšek s Fakultete za matematiko in fiziko v Ljubljani ter sodelavca dr. Janez Prešern in dr. Maarten de Groot.

Hvala tudi ostalim sodelavkam in sodelavcem, sedanjim in nekdanjim, za nenadkriljivo delovno vzdušje, modrovanja o strokovnih ter občečloveških problemih, bug partyje, delovne izlete na Obalo in vso pomoč. Vseh prijateljev in kolegov, ki so tudi izven najožjega delovnega okolja zaznamovali in oblikovali mojo pot, je preveč, da bi jih vse našteval, zato ne bom poskušal. Kdor bere tole in se mu je zazdelo, da bi utegnil spadati v to skupino, mu sporočam, da ima prav.

Seveda v položaju, ko lahko pišem te vrstice, ne bi bil brez spodbudnega vpliva staršev, ki sta mi vedno nudila podporo na izbrani življenjski poti in mi dala temelje, da sem postal, kar sem. Na koncu po vrsti, še zdaleč pa ne po pomenu, hvala še Jeleni, ker mi je stala ob strani.