

RAZŠIRJENOST STENICE VRSTE *Nezara viridula* V SLOVENIJI IN PRIMERJAVA S TUJIMI POPULACIJAMI

Meta VIRANT-DOBERLET¹, Vladimir MEGLIČ², Jelka ŠUŠTAR-VOZLIČ³

¹ Nacionalni inštitut za biologijo,

^{2,3} Kmetijski inštitut Slovenije

IZVLEČEK

Stenica vrste *Nezara viridula* (L.) (zelena smrdljivka) (Heteroptera: Pentatomidae) je v svetu eden ekološko in ekonomsko pomembnejših rastlinskih škodljivcev. V Sloveniji je stenica te vrste zelo pogosta v pasu od obale do obronkov Kraškega roba in v predelih pod vplivom mediteranskega podnebja (Nova Gorica, Tolmin). Analizirali smo časovne parametre vibracijskih napevov poleg tega pa tudi genetsko variabilnost zelenih smrdljivk iz Slovenije, Francije, Zahodne Indije (Guadeloupe) in Brazilije na osnovi biokemičnih markerjev. Rezultati kažejo, da obstajajo značilne razlike med populacijami.

Ključne besede: diverziteteta, izoencimi, *Nezara viridula*, Pentatomidae, vedenje

ABSTRACT

DISTRIBUTION OF THE SOUTHERN GREEN STINK BUG *Nezara viridula* IN SLOVENIA AND COMPARISON WITH FOREIGN POPULATIONS

The southern green stink bug *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) is a global pest of considerable ecological, agricultural and economical interest. This species is very common along the Slovenian coast of Adriatic sea and spreads up to the edge of Kraški rob and to the parts influenced by Mediterranean climate (Nova Gorica, Tolmin). Populations from Slovenia, France, French West Indies (Guadeloupe) and Brazil were assayed for temporal parameters of their vibrational songs and for biochemical genetic variation. Results indicate that there are consistent differences among populations.

Key words: behaviour, diversity, isozymes, *Nezara viridula*, Pentatomidae

1. UVOD

Rastlinojede stenice iz družine Pentatomidae z več kot 4000 do sedaj opisanimi vrstami predstavljajo eno najštevilčnejših družin v skupini stenic (Heteroptera). Med mnogimi rastlinskimi škodljivci iz te družine je zelena smrdljivka (*Nezara viridula*) zaradi zmožnosti preseljevanja, množičnega pojavljanja in velike polifagije po vsej verjetnosti najbolj pomembna (Panizzi in Slansky, 1991; Panizzi, 1997) in je v svetu eden ekološko in ekonomsko pomembnejših škodljivcev.

¹ dr., univ. dipl. biol., SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111

² dr., univ. dipl. ing. agr., SI-1000 Ljubljana, Hacquetova 17

³ dr., univ. dipl. ing. agr., prav tam

Ličinke zelene smrdljivke in odrasle stenice sesajo rastlinske sokove. Škodo povzročajo na vseh delih rastlin, tako na listih, steblih in poganjkih, kot tudi na socvetjih ter na plodovih in semenih. Posledice se kažejo v zakrneli rasti, odpadanju nedozorelih plodov in bistveno zmanjšani kalivosti semen. Poleg tega se na vbodna mesta naselijo bakterije in plesni. Zelena smrdljivka se hrani na rastlinah iz preko tridesetih družin (Panizzi, 1997). Med ekonomsko najpomembnejše gostiteljske rastline se uvrščajo soja, fižol, riž, jajčevac, paradižnik, citrusi, breskev, pekan in makadamia oreški ter arašid.

Zelena smrdljivka naseljuje vsa tropska in subtropska območja v pasu od 45S in 45J (Todd, 1989). Njen geografski izvor je še vedno nejasen, kot najbolj verjetni območji se omenjata vzhodna Afrika in/ali mediteranska regija (Hokkanen, 1986; Jones, 1988). Šele v zadnjih 250 letih naj bi jo s trgovanjem in širjenjem kmetijstva razširili po vsem svetu. Slovenija se po svojem geografskem položaju uvršča v območje, v katerem se po vsej verjetnosti nahaja prvotna domovina zelene smrdljivke. Stenica te vrste je pogosta v pasu od obale do Kraškega roba (Gogala in Gogala, 1989), redno pa se pojavlja tudi v drugih predelih pod vplivom mediteranskega podnebja (Nova Gorica, Tolmin).

Razumevanje ekoloških in vedenjskih značilnosti ter genetske sestave lokalnih populacij je pomembno za učinkovito zatiranje škodljivcev (Claridge, 1996). Najnovejše raziskave ekologije in paritvenega vedenja zelene smrdljivke so pokazale, da obstajajo med populacijami na različnih kontinentih očitne razlike. Med njenim paritvenim vedenjem se prepletata dve vrsti signalov, kemični in vibracijski. Spolni feromon, ki ga izločajo samo samci, pripomore k temu, da se samci in samice zberejo na isti rastlini. Iz različnih delov sveta so opisali več feromonskih ras, ki se razlikujejo v razmerju med *trans*- in *cis*-(Z)—bisabolen epoksidom v feromonski mešanici (Aldrich *et al.*, 1987). Oba, samec in samica se v času parjenja oglašata in med seboj sporazumevata z vrstno in spolno specifičnimi vibracijskimi signali, ki jim pravimo napevi (Čokl *et al.*, 1972). Ugotovljeno je bilo, da se alopatrične populacije stenice vrste *N. viridula* razlikujejo v zvočni komunikaciji (Ryan *et al.*, 1996).

Namen našega dela je primerjati paritveno vedenje zelene smrdljivke iz Slovenije z vedenjem stenic iz drugih populacij in določiti obseg genske raznovrstnosti med geografsko ločenimi populacijami.

2. MATERIAL IN METODE

2. 1. Poskusne živali

Poskuse smo opravili na odraslih stenica vrste *Nezara viridula* (Linne) (Heteroptera: Pentatomidae) iz Slovenije, Italije, Francije, Zahodne Indije (Guadeloupe) in Brazilije, ki smo jih vzdrževali v laboratorijski kulturi. V Sloveniji smo odrasle stenice nabirali v okolici Pirana in Izole v času od septembra do novembra, ko se v naravi že prebarvajo v rjavo barvo, kar je znak priprave na zimsko diapavzo. Stenice smo ločili po spolu in jih obdržali v temi pri 9C do januarja, ko smo jih izpostavili 16:8 urnemu dnevno-nočnemu ciklu na 25 C. Zelene smrdljivke iz Francije in Zahodne Indije izvirajo iz kolonij, ki jih vzdržujejo na INRA inštitutu v Versaillesu, stenice iz Brazilije pa iz kolonije, ki jo vzdržujejo na CNPSo, EMBRAPA v Londrini. Ličinke in odrasle stenice smo hranili z listi in zelenimi stroki fižola ter zemeljskimi oreški in sončničnimi semeni.

2. 2. Vibracijski signali

Za vedenjske poskuse smo vedno uporabili spolno zrele žuželke stare najmanj 10 dni. Spektralne in časovne karakteristike vibracijskih napevov smo analizirali na posnetk-

ih vibracijske komunikacije raznospolnih parov, ki smo jih snemali na membrani zvočnika v zvočno izolirani komori (Čokl *et al.*, 2000).

2. 3. Analiza genske raznolikosti

Genetsko raznolikost med populacijami in znotraj njih smo analizirali na osnovi biokemičnih markerjev s pomočjo vodoravne škrobne elektroforeze (Pasteur *et al.*, 1988). Iz vsake od omenjenih populacij smo testirali 50 samcev in 50 samic. Izolirali smo oprsne mišice in jih takoj po izolaciji shranili na -70 C do začetka analize. Analizirali smo mišice iz vsake stenice posebej in vedno smo hkrati analizirali stenice iz dveh populacij, ker je to olajšalo primerjavo. Testirali smo več kombinacij pufrov in encimskih sistemov in glede na aktivnost encimov in polimorfizem alelov smo za analizo izbrali naslednjih šest encimskih sistemov: GPI, IDH, MDH, ME, MPI, PGM.

3. REZULTATI IN DISKUSIJA

3. 1. Vibracijski napevi

V predkopulacijskem obdobju se pri zelenih smrdljivkah izmenjajo 4 osnovni napevi: pozivni napev samice, pozivni napev samca, napev dvorjenja samca in napev dvorjenja samice. Napevi testiranih geografsko ločenih populacij se med seboj razlikujejo v njihovih časovnih karakteristikah kot sta dolžina signalov in njihova ponavljalna frekvenca (preglednica 1).

Preglednica 1: Časovne karakteristike (ms, srednja vrednost standardna deviacija) štirih osnovnih vibracijskih napevov zelene smrdljivke iz geografsko ločenih populacij.

Table 1: Temporal characteristics (ms, average \pm standard deviation) of *Nezara viridula* songs from geographically isolated populations.

Tip napeva	Časovni parameter	Slovenija	Francija	Zahodna Indija	Brazilijska
pozivni napev samca	dolžina signala	263 \pm 96	122 \pm 41	128 \pm 28	171 \pm 41
	ponavljalni čas	1201 \pm 467	611 \pm 193	304 \pm 115	410 \pm 216
pozivni napev samice	dolžina signala	1667 \pm 365	962 \pm 134	2078 \pm 698	1144 \pm 141
	ponavljalni čas	5060 \pm 787	4134 \pm 813	0	4424 \pm 549
samčev napev dvorjenja	dolžina signala	3110 \pm 749	4120 \pm 1004	2662 \pm 608	2867 \pm 703
samičin napev dvorjenja	dolžina signala	3904 \pm 1179	3 490 \pm 521	2078 \pm 34	3137 \pm 924

Videti je, da so razlike v napevih zelene smrdljivke genetsko določene in da je dedovanje časovnih parametrov pri nekaterih napevih spolno vezano (Virant-Doberlet *et al.*, 2000). Napevi žuželk so stereotipni in genetsko določeni in obstoj prikritih vrst dvojčič je bil mnogokrat dokazan na osnovi razlik v napevih (Ewing, 1989; Wells in Henry, 1992). Obstoj časovnih parametrov, katerih dedovanje je spolno vezano, ponuja možnost za hitre evolucijske spremembe, npr. za hitro adaptacijo paritvenih signalov na novo okolje po geografski izolaciji (prenosu v novo okolje).

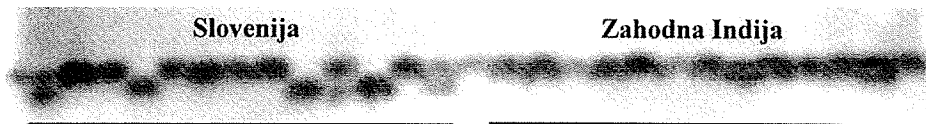
3. 2. Analiza genske raznolikosti

Izoencimski vzorci pri šestih omenjenih encimskih sistemih omogočajo primerjavo med pripadniki različnih populacij. Za populacije, za katere predvidevamo, da so se

preselile iz enega kontinenta na drugega, smo pri nekaterih sistemih opazili izgubo enega alela. V primeru encima PGM so bile vse testirane stenice iz Zahodne Indije in Brazilije homozigoti za en sam alel (slika 1).

Slika 1: Razlike v izoencimskem vzorcu za encimski sistem PGM med zelenimi smrdljivkami iz Slovenije in Zahodne Indije.

Figure 1: Starch gel electrophoretic patterns of PGM of individual *N. viridula* bugs from Slovenia and French West Indies.



Napredek v aplikativni entomologiji pogosto ovirajo težave v taksonomiji žuželk (Fernando in Walter, 1997). Čeprav se zelene smrdljivke z različnih kontinentov med seboj morfološko ne razlikujejo, se je v zadnjem času pojavila potreba po razjasnitvi taksonomskega statusa geografsko ločenih populacij zelene smrdljivke, saj je možno, da takson *N. viridula* vsebuje kompleks prikritih vrst dvojčic. Podoben primer je rjavi škržatek *Nilaparvata lugens*, ki je v Jv Aziji in S Avstraliji pomemben škodljivec na rižu (Jones *et al.*, 1996). Raziskave paritvenega vedenja zelene smrdljivke iz različnih populacij kljub očitnim razlikam niso dale dokončnega dokaza v podporo hipotezi o obstoju vrst dvojčic (Ryan *et al.*, 1996, Jeraj in Walter, 1998). Čeprav je načeloma težko definirati alopatrične populacije kot ločene vrste, bomo s kompleksnim, multidisciplinarnim pristopom in povezovanjem podatkov o vedenjskih in genetskih razlikah ter vključitvijo še večjega števila geografsko ločenih populacij v naše raziskave lahko sklepali najmanj na potek kolonizacije in preseljevanja populacij.

4. ZAHVALA

Zahvaljujemo se prof. dr. Andreju Čoklu za podporo našemu delu, Viktorju Trilerju za tehnično pomoč. Dr. Michel Renou in Nadege Miklas z INRA inštituta v Versaillesu sta sodelovala pri raziskavah vedenja francoske populacije zelene smrdljivke. Zahvalo smo dolžni tudi dr. Antoniu Ricardu Panizziju, ki nam je poslal stenice iz Brazilije.

5. VIRI

- Aldrich J. R., Oliver J. E., Lusby W. R., Kochansky J. P., Lockwood J. A. 1987. Pheromone strains of the cosmopolitan pest, *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae). *J Exp Zool*, 244: 171-175
- Claridge M. F. 1996. Biochemical approaches to understanding agricultural pests. V: *The Ecology of Agricultural Pests*, Chapman & Hall, 1-5
- Čokl A., Gogala M., Jež M. 1972. The analysis of the acoustic signals of the bug *Nezara viridula* (L.). *Biolški vestnik*, XX, 47-53
- Čokl A., Virant-Doberlet M., Stritih N. 2000. The structure and function of songs emitted by southern green stink bugs from Brazil, Florida, Italy and Slovenia. *Physiol Entomol*, 25: 196-205
- Ewing A. W. 1989. *Arthropod Bioacoustics: Neurobiology and Behaviour*. Edinburgh University Press, str. 203-216

- Fernando L. C. P., Walter G.H. 1997. Species status of two host-associated populations of *Aphytis lingnanensis* (Hymenoptera: Aphelinidae) in citrus. *Bull Entomol Res*, 87: 137-144
- Gogala A., Gogala M. 1989. True bugs of Slovenia (Insecta: Heteroptera). *Biol Vestn* 37, 1: 11-44.
- Hokkanen H. 1986. Polymorphism, parasites and the native area of *Nezara viridula* (Hemiptera, Pentatomidae). *Ann Entomol Fennici*, 52: 28-31
- Jeraj M., Walter G. H. 1998. Vibrational communication in *Nezara viridula*: response of Slovenian and Australian bugs to one another. *Behav Process*, 4: 51-58
- Jones P. L., Gacesa P., Butlin R.K. 1996. Systematics of brown planthopper and related species using nuclear and mitochondrial DNA. V: *The Ecology of Agricultural Pests*, Chapman & Hall, 133-148
- Jones W.A. 1988. World review of the parasitoids of the southern green stink bug *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Ann Entomol Soc Am*, 81, 1: 262-273
- Kon M., Akemi O.E., Numata H., Hidaka T. 1988. Comparison of the mating behaviour between two sympatric species *Nezara antennata* and *N. viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *J Ethol*, 2: 91-98
- Panizzi A. R. 1997. Wild hosts of Pentatomids: Ecological significance and role in their pest status on crops. *Annu Rev Entomol*, 42: 99-122
- Panizzi A. R., Slansky F. 1991. Suitability of selected legumes and the effect of nymphal and adult nutrition in the southern green stink bug (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Economic Entomology*, 84, 1: 103-113
- Pasteur N., Pasteur G., Bonhomme J., Catalan J., Britton-Davidian J. 1988. *Practical Isozyme Genetics*. Ellis Horwood Limited, UK
- 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). *Behav Process*, 36: 183-193
- Todd J. W. 1989. Ecology and behavior of *Nezara viridula*. *Ann Rev Entomol*, 34: 273-292
- Virant-Doberlet M., Čokl A., Stritih N. 2000. Vibratory songs of hybrids from Brazilian and Slovenian populations of the green stink bug *Nezara viridula*. *Pflügers Arch-Eur J Physiol*, 439, No. 3 Suppl: R196-R198
- Wells M.A., Henry C.S. 1992. The role of courtship songs in the reproductive isolation among populations of green lacewings of the genus *Chrysoperla* (Neuroptera: Chrysopidae). *Evolution*, 46: 31-42