

Adaptivni potencijal pasuljevog žiška za invaziju novih biljaka domaćina: obrasci reproduktivnog ponašanja populacija koje koriste različite biljke

Dragana Milanović, Ivana Glikšman i Ivan Aleksić

*Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Beograd, Srbija
(draganam@ibiss.bg.ac.yu)*

REZIME

Cilj ovog eksperimenta je bio da se u populacijama pasuljevog žiška (*Acanthoscelides obtectus* Say; Coleoptera: Bruchidae) koje su imale različit nivo specijalizacije na prirodnog domaćina – pasulj (*Phaseolus vulgaris* L.) i novog domaćina – naut (*Cicer arietinum* Thorn), ispituju obrasci reproduktivnog ponašanja u njihovom međusobnom ukrštanju.

Dobijeni obrazac ukrštanja izgledao je tačno kao da su mužjaci iz populacije sa nauta vremenom razvili specifičan miris, i/ili ritual, pri parenju koji je za ženke iz populacija sa pasulja bio odbojan. Za razliku od ženki, mužjaci iz populacija sa pasulja bili su jednako voljni da se pare, kako sa ženkama iz svojih, tako i sa ženkama iz populacije sa nauta. Ovakav, asimetrični obrazac reproduktivnog ponašanja različitih populacija jedne vrste često se smatra početnom fazom u procesu nastanka novih vrsta.

Stoga, naši rezultati mogu biti značajni kao polazna osnova za dalja, temeljna ispitivanja, kako uloge nivoa specijalizacije na biljku domaćina kod ženki, tako i uloge biohemijskih karakteristika muškog seksualnog feromona (ili kutikularnih hidrokarbona) u procesu evolucije pre-reproduktivnih mehanizama reproduktivne izolacije kod insekata. Takođe, s obzirom da ovi i rezultati prethodnih studija sprovedenih na *A. obtectus* govore u prilog velikog evolucionog potencijala ovog insekta za invaziju i brzu specijalizaciju na nove biljke domaćine, oni mogu poslužiti kao vredna informacija pri razvoju dugoročnih strategija u okviru programa integrativne borbe protiv štetočina.

Gljučne reči: Pasuljev žižak; leguminoze; invazije novih staništa; reproduktivno ponašanje; asimetrična reproduktivna izolacija; integrativna borba protiv štetočina

UVOD

Pasuljev žižak, *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) je štetočina koja prevashodno

napada pasulje (*Phaseolus* spp.), a njegovi larveni stupnjevi se svi razvijaju unutar semena (Crowson, 1981). U poljima, ženke lociraju zrele mahune, legalicom buše njihov zid i polažu jaja, pojedinačno ili u grupama,

direktno na seme ili u semenu šupljinu (Howe i Currie, 1964). Prvi larveni stupanj buši semenjaču i ulazi u seme gde se hrani kotiledonom i embrionalnim tkivom. Larva se dalje razvija kroz tri stupnja, a zatim ulutkava u komori koju dubi odmah ispod semenjače („okce“). Lutka se izleže u samoj komori, a kao potpuno funkcionalan adult, insekt napušta seme progrizajući kružni otvor na semenjači (Pfaffenberger, 1985). Adulti se ne hrane suvim semenom (u skladištima), a ženka nije potrebna ni hrana ni voda da bi proizvele vijabilna jaja (Vukasović, 1949).

Ovako oblikovan životni ciklus pasuljevog žiška je rezultat dugotrajne evolucije tokom koje se on visoko specijalizovao na pasulj; fiziološki, da uspešno detoksifikuje odbranu pasulja i preživljava na njemu, a ponašanjem, da ga efikasno nalazi i zaražava, nanoseći veliku štetu, kako tokom proizvodnje ove biljke na poljima, tako i pri njenom skladištenju. Iz samog opisa životnog ciklusa jasno je da kod *A. obtectus* selekciju biljke domaćina obavljaju pre svega ženke, tražeći i birajući mesto za ovipoziciju. Takođe, za ovu vrstu se zna da su mužjaci ti koji emituju seksualni feromon (Halstead, 1973), a pretpostavlja se da su ženke te koje odgovaraju na signal i odabiraju partnera za ukrštanje. Zbog toga, validna procena potencijalne štete od pasuljevog žiška, uključujući opasnost od kolonizacije drugih sličnih biljaka, podrazumeva dobro poznavanje evolucionog potencijala populacija *A. obtectus* za promenu ponašanja ženki. Pri tome, od značaja su, kako potencijal za promenu ponašanja ženki pri izboru domaćina za polaganje jaja, tako i potencijal za promenu njihovog ponašanja pri izboru partnera za ukrštanje (Rice, 1984; Rice i Hostert, 1993; Bush, 1994; Feder, 1998; West-Eberhard, 2003).

Cilj ovog eksperimenta bio je da se dobiju osnovne informacije o obrascu reproduktivnog ponašanja kod *A. obtectus*. Preciznije, da se vidi da li se, i kako, tokom procesa adaptacije na novu biljku – naut (*Cicer arietinum* Thorn), koja, kao i pasulj (*Phaseolus vulgaris* L.) pripada familiji leguminoza (*Fabaceae*), menja ponašanje pri ukrštanju, bilo ženki, bilo mužjaka. S obzirom na evolucionu istoriju ovde korišćenih populacija i na prethodne rezultate dobijene analizama tih istih populacija (Milanović i sar., 1991; Tucić i sar., 1995; Milanović i Gliksmann, 2004), pozitivan nalaz bi mogao da ukaže na postojanje inherentne veze između fizioloških osobina, preferencije biljke za ovipoziciju i preferencije partnera za ukrštanje, a tako i na veliki adaptivni potencijal ove vrste za trajnu kolonizaciju drugih biljnih vrsta.

MATERIJAL I METODE

U eksperimentu su korišćene tri laboratorijske populacije inicirane istovremeno, slučajnim uzorkovanjem po 100 mladih jedinki iz iste osnovne laboratorijske populacije gajene na pasulju. Osnovna laboratorijska populacija ustanovljena je sredinom 80-tih godina mešanjem tri uzorka žižaka izleženih iz zaraženog pasulja sakupljenog u okolini Beograda, gde se naut ne gaji i ne skladišti. Nakon nekoliko meseci gajenja u laboratoriji, kada je njena brojnost premašila 5000 jedinki, dve od tri korišćene populacije izvedene su iz osnovne populacije i ostavljene da žive na pasulju (P₁ i P₂ populacija), dok je treća zasejana na naut (C populacija). Sve tri su gajene u laboratoriji na isti način (u masi od preko 1000 jedinki, sa nepreklapajućim generacijama), pod istim optimalnim uslovima za ovu vrstu – na 30°C i oko 70% vlažnosti u mračnom inkubatoru. Zbog toga, populacije ostavljene na pasulju (originalnom domaćinu) mogu da se tretiraju kao kontrolne populacije u odnosu na populaciju premeštenu na naut. Takođe, razlike između njih u ponašanju mogu da se smatraju razlikama koje su nastale kao posledica, pre svega, procesa adaptacije na novu biljku domaćina. Više detalja o samoj proceduri u oba selekciona režima objavljeno je u radovima Tucić i sar. (1995) i Milanović i Gliksmann (2004).

Analiza reproduktivnog ponašanja oba pola kod *A. obtectus* urađena je nakon više od 50 generacija laboratorijske selekcije kao deo dugotrajnog i sveobuhvatnog eksperimenta koji se bavio analizama osobina važnih za proces specijalizacije kod herbivornih insekata. U eksperimentu je praćeno reproduktivno ponašanje jedinki iz svake od populacija, sakupljenih po principu slučajnosti. Jedinke su sakupljane tokom nekoliko dana, odmah po izleganju (izleganje je praćeno u intervalima od po sat vremena) i odvajane po polovima. Da bi se tokom testiranja kod svih jedinki postigao visok nivo motivacije za ukrštanje, sakupljeni mužjaci i ženke su držani odvojeno prvih 48 sati svog adultnog života, u inkubatoru, u petri-šoljama (100 mm dijametar), u kojima su bili snabdeveni vodom (tj., kvadratom filter-papira, površine 1 cm², natopljenog vodom). Nakon isteka 24 sata od izleganja, sve jedinke koje će se koristiti u testovima su markirane. Svaka jedinka je obeležena jednom od četiri dodeljene boje, po principu slučajnosti (crvenom, plavom, zelenom ili žutom) i vraćena u inkubator da čeka testiranje još 24 sata. Bojenje je vršeno nanošenjem male kapi vodene bojice (marke Aero®) na pokriličnu, tankom slikarskom četkicom.

Po isteku 48 sati od izleganja pojedine grupe jedinki, testiranje preferencije partnera za ukrštanje je vršeno u praznim petri-šoljama, na sobnoj temperaturi, pri dnevnom svetlu, uvek u isto doba dana (13⁰⁰), a u trajanju od 60 minuta. Testiranja su vršena u kombinacijama od po dve populacije: C x P₁, C x P₂ i P₁ x P₂. Testovi su vršeni po metodi višestrukog izbora (engl. multiple choice trial; Abrahamson i sar., 2001). U svakom pojedinačnom testu učestvovalo je po 10-20 ženki i 10-20 mužjaka iz dve različite populacije, prisutnih u jednakim proporcijama.

U svakoj kombinaciji populacija, testovi su ponavljeni četiri puta sa slučajnim kombinacijama boja, kako bi eventualni efekat markirne boje na preferenciju partnera mogao da se zanemari. Parovi u kopoluciji su vađeni iz petri-šolja pincetom, vodeći računa da se ne uznemiravaju drugi, a kombinacija njihovih boja je beležena. Na kraju svakog testa beleženi su, takođe, broj i boja nesparenih jedinki. Radi objektivnosti, markiranje jedinki i posmatranje ukrštanja uvek su radile različite osobe.

Statistička značajnost odstupanja od slučajnog načina ukrštanja ženki i mužjaka iz sve tri populacije testirana je χ^2 -testom.

REZULTATI

Veličine uzoraka testiranih jedinki iz tri populacije prikazani su u tabeli 1. Podaci na koje treba obratiti posebnu pažnju su oni koji pokazuju da su, u ukrštanju C i P₂ populacije, svi mužjaci iz P₂ populacije uspeli da se ukrste, dok čak osam mužjaka iz C populacije nisu bili prihvatljivi partneri za šest nesparenih ženki iz P₂ i dve nesparene ženke iz C populacije.

U tabeli 2 su prikazani rezultati testiranja načina ukrštanja jedinki iz sve tri populacije. Ono što se jasno zapaža jeste da su se jedinke iz svake od populacija radije ukrštale sa jedinkama iz svoje (homo-gametno ukrštanje) nego iz druge dve populacije (hetero-gametno ukrštanje). Takav trend je statistički verifikovan poređenjem procenata homo- i hetero-gametnih ukrštanja u sve tri kombinacije populacija: C x P₁ - $\chi^2 = 5.2$ (P < 0.05), C x P₂ - $\chi^2 = 4.1$ (P < 0.05), P₁ x P₂ - $\chi^2 = 4.37$ (P < 0.05). Ovi rezultati jasno pokazuju da jedinke *A. obtectus*, kao i jedinke drugih vrsta insekata za koje su dobijeni slični rezultati (e.g., kod mušice, *Eurosta solidaginis*; Craig i sar., 1993), imaju mehanizam pomoću koga mogu relativno dobro da razlikuju i diskriminiraju jedinke iz drugih populacija svoje vrste.

Tabela 1. Uzorci ženki ($\varphi\varphi$) i mužjaka ($\delta\delta$) korišćeni u analizi međupopulacionih obrazaca ukrštanja tri laboratorijske populacije *A. obtectus*, koje su koristile prirodnog (P₁ i P₂) i novog biljnog domaćina (C)
Table 1. Samples of females ($\varphi\varphi$) and males ($\delta\delta$) used in analysis of interpopulation mating patterns of three laboratory populations of *A. obtectus* using the native (P₁ and P₂) and novel host plant (C)

Međupopulaciono ukrštanje Interpopulation cross		N	N1	N2
C x P ₁	C $\varphi\varphi$	40	40	0
	C $\delta\delta$	40	40	0
	P ₁ $\varphi\varphi$	40	36	4
	P ₁ $\delta\delta$	40	36	4
C x P ₂	C $\varphi\varphi$	40	38	2
	C $\delta\delta$	40	32	8
	P ₂ $\varphi\varphi$	40	34	6
	P ₂ $\delta\delta$	40	40	0
P ₁ x P ₂	P ₁ $\varphi\varphi$	35	29	6
	P ₁ $\delta\delta$	35	30	5
	P ₂ $\varphi\varphi$	35	32	3
	P ₂ $\delta\delta$	35	31	4

N = Ukupan broj jedinki koje su učestvovala u testovima/Total number of individuals participating in tests

N1 = Broj ukrštenih jedinki/Number of mated individuals

N2 = Broj jedinki koje se nisu ukrstile tokom trajanja testa (60 minuta)/Number of individuals that did not mate during the test (60 minutes)

U tabeli 2 jasno se zapažaju i dva važna trenda u reproduktivnom ponašanju mužjaka i ženki iz populacije na nautu, statistički potkrepljena značajnošću χ^2 -

Tabela 2. Unutarpopulacioni i međupopulacioni obrasci ukrštanja ženki i mužjaka iz C, P₁ i P₂ populacija. Statistička značajnost odstupanja od slučajnog ukrštanja testirana je χ^2 -testom sa brojem stepeni slobode = 1.

Table 2. Intrapopulation and interpopulation mating patterns for females and males in C, P₁ and P₂ populations. Deviation from random mating was tested by the χ^2 -test with one df.

	C $\varphi\varphi$	P ₁ $\varphi\varphi$	P ₂ $\varphi\varphi$	χ^2 (za mužjake) (males)
C $\delta\delta$	46	14	12	5.56*
P ₁ $\delta\delta$	14	40	12	3.7
P ₂ $\delta\delta$	18	11	42	2.47
χ^2 (za ženke) (females)	2.51	4.33*	5.4*	

* P < 0.05

testova urađenih za svaki pol posebno. Prvi je da, za razliku od ženki iz obe P populacije koje su jasno diskriminisale mužjake iz drugih populacija, ženke iz C populacije nisu bile izbirljive. Drugi, takođe važan nalaz ovog eksperimenta je da su C mužjaci bili diskriminirani od strane ženki iz drugih populacija, dok mužjaci ni iz jedne P populacije nisu. Ovakav obrazac seksualnog ponašanja sugerise da kod *A. obtectus* postoji asimetrični obrazac reproduktivne izolacije populacija koje koriste različita staništa, po kome samo mužjaci iz „čerke” populacije koja je zaposela novo stanište bivaju diskriminirani pri ukrštanju nakon ponovnog uspostavljanja kontakta sa populacijama koje su ostale u originalnom staništu.

DISKUSIJA

Po teoriji koja se bavi interakcijama između insekata i biljaka kao njihovih staništa, postojanje genetičke i/ili razvojne pozitivne veze između dvaju ponašanja: 1) preferencije biljke domaćina za ishranu i/ili ovipoziciju i 2) preferencije partnera za ukrštanje, jedan je od predulova za širenje ekološke niše, a zatim i za nastanak nove podvrste i vrste insekta vezane za neku novu biljku (Rice i Hostert, 1993; Bush, 1994; West-Eberhard, 2003). Rezultati prethodnih istraživanja na *A. obtectus* (Milanović i sar., 1991; Tucić i sar., 1995) su pokazali da kod ove vrste postoji pozitivna genetička korelisanost adultnih osobina ponašanja sa fiziološkim osobinama važnim za korišćenje novih biljaka za ishranu tokom larvenih stupnjeva. Takođe, prethodno je već nađeno da prirodne populacije pasuljevog žiška sa ovog područja, iako koriste prevashodno pasulj, poseduju veliku genetičku varijansu osobina značajnih za povećanje fiziološke adaptiranosti na novu biljku domaćina (Milanović i Gliksmann, 2004). Dobijeni obrasci reproduktivnog ponašanja ženki P i C populacija u ovom eksperimentu identični su onim već nađenim obrascima njihovog ponašanja pri izboru biljke za ovipoziciju. Naime, oni sugerisu da kod C ženki, paralelno sa padom nivoa diskriminacije nauta kao biljke za ovipoziciju (Tucić i sar., 1995), pada i nivo njihove diskriminativnosti u pogledu populacionog porekla partnera za ukrštanje.

Kada se posmatraju promene seksualnog ponašanja u celini, obrazac opisan našim rezultatima potkrepljuje scenario koji je Kaneshiro (1980) predložio kao mehanizam nastanka pre-reproduktivnih mehanizama izolacije između predačkih i izvedenih populacija u procesu specijacije: on izgleda tačno kao da su mužjaci iz C populacije vremenom razvili, bilo specifičan hemij-

ski signal, bilo specifičnu promenu rituala (ili i jedno i drugo), koji su samo za ženke iz kontrolnih (P) populacija odbojni. Asimetrični obrazac reproduktivne izolacije populacija otkriven je i kod *D. melanogaster* (Kaneshiro, 1976; Ohta, 1978) i beskrilinih skakavaca iz roda *Laupala* (Shaw i Lugo, 2001). Zanimljivo je da je kod *D. melanogaster*, asimetrični obrazac reproduktivne izolacije populacija nedavno uspešno povezan sa međupopulacionim razlikama u ekspresiji gena koji utiču na osobine značajne u prepoznavanju hemijskih signala, koje mogu da emituju, kako biljke koje insekt koristi za ishranu ili ovipoziciju, tako i partner za ukrštanje (e.g., *Odorant receptor 63* gen; Michalak i sar., 2007).

Zbog svega toga, rezultati ovog eksperimenta mogu biti značajni, ne samo kao oni koji idu u prilog polaznoj pretpostaci da su kod pasuljevog žiška ženke te koje biraju i diskriminiraju partnera za ukrštanje (engl. female choice), nego i kao rezultati koji ukazuju na postojanje inherentne veze između nivoa specijalizacije na biljku domaćina i preferencije ženki za seksualnog partnera. Eksperimentalnih podataka, koji potkrepljuju teorijski očekivanu spregu između nivoa specijalizacije na biljku domaćina i reproduktivnog ponašanja kod insekata, za sada je još uvek malo (Feder i sar., 1994; Caillaud i Via, 2000; Abrahamson i sar., 2001).

Takođe, s obzirom da je dobro poznato da su mnogi insekti sposobni da izvuku iz biljaka njihove biološki aktivne supstance i ugrade ih u svoja tkiva i žlezde da bi ih koristili za odbranu od parazita i predatora (Duffey, 1980), nije nerealno pretpostaviti da su za to sposobni i mužjaci pasuljevog žiška. Međutim, da li mužjaci *A. obtectus* zaista sekvistiraju i ugrađuju aktivne supstance biljaka u svoje žlezde (i/ili kutikularne hidrokarbone), pa tako, prelaskom na ishranu nautom, menjaju svoj miris, te da li je baš to razlog da oni postaju manje prihvatljivi partneri za ženke koje žive na pasulju, imaju visok nivo specifičnosti za svoju biljku domaćina i mužjake iz svoje populacije, ne možemo tačno da znamo, jer to tek treba da se ispita. Obrasci ukrštanja između populacija *A. obtectus* opisani ovde, međutim, ni na koji način nisu u suprotnosti sa Kaneshiro modelom. Stoga, naši rezultati svakako mogu da posluže kao polazna osnova za dalja, temeljna istraživanja, kako uloge nivoa specijalizacije ženki, tako i uloge biohemijskih karakteristika muškog seksualnog feromona (i/ili kutikularnih hidrokarbona) u evoluciji pre-reproduktivnih mehanizama izolacije između populacija pasuljevog žiška i u evoluciji njegovih podvrsta koje koriste druge biljke domaćine.

ZAHVALNICA

Ovaj rad je finansiran sredstvima Ministarstva nauke Vlade Republike Srbije, odobrenih projektu br. 143040.

LITERATURA

- Abrahamson, W.G., Eubanks, M.D., Blair, C.P. and Whipple, A.V.:** Gall flies, inquilines, and goldenrods: A model for host-race formation and sympatric speciation. *Amer. Zool.*, 41: 928-938, 2001.
- Bush, G.L.:** Sympatric speciation in animals: New wine in old bottles. *Tree*, 9: 285-288, 1994.
- Caillaud, M.C. and Via, S.:** Specialized feeding behavior influences both ecological specialization and assortative mating in sympatric host races of pea aphids. *Amer. Nat.*, 156: 606-621, 2000.
- Craig, T.P., Itami, J.K., Abrahamson, W.G. and Horner, J.D.:** Behavioral evidence for host-race formation in *Eurosta solidaginis*. *Evolution*, 47: 1696-1710, 1993.
- Crowson, R.A.:** The Biology of the Coleoptera. Academic Press, London, UK, 1981.
- Duffey, S.S.:** Sequestration of plant natural products by insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 25: 447-477, 1980.
- Feder, J.L., Opp, S.B., Wlazole, B., Reynolds, K., Go, W. and Spisak, S.:** Host fidelity is an effective premating barrier between sympatric races of the apple maggot fly. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 91: 7990-7994, 1994.
- Feder, J.L.:** The apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella*: Flies in the face of conventional wisdom about speciation? In: Endless forms: Species and speciation (D.J. Howard and S.H. Berlocher, eds.), Oxford University Press, Oxford, pp. 130-144, 1998.
- Halstead, D.G.H.:** Preliminary biological studies on the pheromone produced by males *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.*, 9: 109-117, 1973.
- Howe, R.W. and Currie, J.E.:** Some laboratory observations on the rates of development, mortality and oviposition of several species of Bruchidae breeding in stored pulses. *Bull. Entom. Res.*, 55: 437-477, 1964.
- Kaneshiro, K.Y.:** Ethological isolation and phylogeny in the *planitibia* subgroup of Hawaiian *Drosophila*. *Evolution*, 30: 740-745, 1976.
- Kaneshiro, K.Y.:** Sexual isolation, speciation and the direction of evolution. *Evolution*, 34: 437-444, 1980.
- Michalak, P., Malone, J.H., Lee, I.T., Hoshino, D. and Ma, D.:** Gene expression polymorphism in *Drosophila* populations. *Mol. Ecol.*, doi: 10.1111/j.1365-294X.2006.03201.x, 2007.
- Milanović, D. and Gliksman, I.:** Selection responses and quantitative genetic analysis of preadult performance on two host plants in the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus*. *Entomol. Exp. App.*, 113: 125-133, 2004.
- Milanović, D., Aleksić, I. and Tucić, N.:** Non-random association between host choice and fitness in bean weevil (*Acanthoscelides obtectus*). *Z. Zool. Syst. Evolut-forsch.*, 29: 108-114, 1991.
- Obta, A.T.:** Ethological isolation and phylogeny in the *grimsbaw* species complex of the Hawaiian *Drosophila*. *Evolution*, 32: 485-492, 1978.
- Pfaffengerger, G.S.:** Description, differentiation and biology of the four larval instars of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Coleopt. Bull.*, 39: 239-256, 1985.
- Rice, W.R.:** Disruptive selection on habitat preference and the evolution of reproductive isolation: a simulation study. *Evolution*, 38: 1251-1260, 1984.
- Rice, W.R. and Hostert, E.E.:** Laboratory experiments on speciation: What have we learned in 40 years? *Evolution*, 47: 1637-1653, 1993.
- Shaw, K.L. and Lugo, E.:** Mating asymmetry and the direction of evolution in the Hawaiian cricket genus *Laupala*. *Mol. Ecol.*, 10: 751-759, 2001.
- Tucić, N., Milanović, D. and Mikuljanac, S.:** Laboratory evolution of host plant utilization in the bean weevil (*Acanthoscelides obtectus*). *Gen. Sel. Evol.*, 27: 491-502, 1995.
- Vukasović, P.:** Facteurs conditionnels de la ponte chez *Acanthoscelides obtectus* Say. *Bull. Mus. Hist. Natl. Belgrade*, B(1-2): 224-234, 1949.
- West-Eberhard, M.J.:** Developmental plasticity and evolution. Oxford University Press, New York, 2003.

Adaptive Potential for the Invasion of Novel Host Plants in the Bean Weevil: Patterns of the Reproductive Behavior in Populations That Used Different Host Plants

SUMMARY

The goal of this work was to examine interpopulation patterns in the reproductive behavior of populations of bean weevil (*Acanthoscelides obtectus* Say; Coleoptera: Bruchidae) that had different levels of specialization on their native host plant – the bean (*Phaseolus vulgaris* L.), as well as on a novel host plant – the chickpea (*Cicer arietinum* Thorn). The obtained pattern of interpopulation mating behavior seemed exactly as if the males on chickpea had evolved a specific odor and/or a courtship ritual that females of populations on bean found repulsive. Unlike females, the males of bean populations seemed to be willing to mate with females from the population on chickpea equally as with their own females. Such an asymmetric pattern of reproductive isolation between populations of a species has been often considered an initial phase of a process of speciation. Thus, our results could be a good starting point for further, thorough examination of both the role of the level of host specialization in females and the role of biochemical characteristics of male pheromone (and/or their cuticular hydrocarbones) in the evolution of pre-reproductive isolation between insect populations.

As the results of this study, together those of previous studies on *A. obtectus*, suggest great evolutionary potential for invasions of and fast specialization on novel host plants, they could provide valuable information for the development of long-term strategies under the programmes of Integrated Pest Management.

Keywords: Bean weevil; Legumes; Invasion of novel habitats; Mating behavior; Asymmetric reproductive isolation; Integrated Pest Management