

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie



Jan Mengr

Fyziologická podstata variability v pigmentaci ptačí skořápky
Physiological aspects of the variability in eggshell pimentation

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Veronika Javůrková, Ph.D.

Praha, 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně, a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 22.08.2014

Podpis

Poděkování

Rád bych poděkoval zejména své školitelce Mgr. Veronice Javůrkové, Ph.D. za trpělivost a vstřícnost a dále všem, kteří mě při psaní této práce podporovali.

Obsah

Seznam zkratk.....	4
Abstrakt.....	5
Klíčová slova.....	5
Abstract.....	6
Keywords	6
1. Úvod.....	7
2. Skořápkové pigmenty	8
2.1 Typy skořápkových pigmentů.....	8
2.2 Původ a syntéza skořápkových pigmentů a jejich další funkce v organismu.....	9
2.3 Mechanismy deponace pigmentů do skořáčky.....	10
3. Význam a funkce zbarvení skořáčky u ptáků	14
3.1 Sexuálně signální hypotéza	14
3.1.1 Faktory omezující samici v deponaci skořápkových pigmentů	15
3.1.2 Vliv kvality samice na rozsah zbarvení vejce	16
3.1.3 Odraz kvality potomstva ve zbarvení vajec	17
3.1.4 Vliv zbarvení na investici samce do snůšky	19
3.2 Mechanická hypotéza	20
4. Variabilita v pigmentaci ptačí skořáčky.....	22
4.1 Dostupnost vápníku v prostředí	22
4.2 Dostupnost potravy v prostředí.....	24
4.3 Teplota a vlhkost prostředí.....	25
5. Fyziologická podstata variability v pigmentaci ptačí skořáčky	27
5.1 Vliv oxidativního stresu	27
5.2 Vliv pohlavních steroidních hormonů a vitamínu D ₃	28
5.3 Efekt fotoperiody	30
6. Závěr	34
Použitá literatura	35
Seznam obrázků	42
Seznam tabulek.....	42

Seznam zkratek

AVT	arginin-vasotocin
CaBP	calcium-binding protein
DES	diethylstilbesterol
H/L poměr	poměr heterophilů a lymphocytů
HSP	"heat-shock" protein

Abstrakt

Zbarvení vajec u ptáků je způsobeno skořápkovými pigmenty uloženými ve skořápce vejce. Tyto pigmenty se liší barvou, chemickou strukturou a místem deponace ve skořápce. Funkce pigmentace vejce je z tradičního hlediska posuzována především jako kryptická či termoregulační. Novější hypotézy však poskytují nový úhel pohledu na funkci pigmentace skořápky. Skořápky mají odlišnou pigmentaci jak mezi různými druhy, což je dáno primárně geneticky, tak mezi populacemi jednotlivých druhů, kde se do velké míry uplatňují environmentálními vlivy působící na samici. Tato práce se zaměřuje jednak na popis charakteristiky jednotlivých skořápkových pigmentů, jejich syntézu, deponaci do skořápky, tak také na význam variability v pigmentaci ptačího vejce a její fyziologickou podstatu.

Klíčová slova

biliverdin, protoporphyrin, skořápka, skořápková žláza, vápník, termální stres, skořápkové pigmenty, hormony

Abstract

The avian eggshell colouration is caused by specific pigments deposited into the eggshell. These pigments differ in colour, chemical structure and the eggshell deposition place. The function of the eggshell pigmentation is traditionally considered to have cryptic or thermoregulatory role. However, most recent hypotheses provide a new perspective on the function of eggshell pigmentation. As between species variability in the eggshell pigmentation is under strong genetic control, within species variability is considered to be a result of adaptation to environmental factors affecting physiology of female bird. This work focuses on the description and characteristics of particular eggshell pigments, their synthesis, deposition process and also the importance of variability in the avian eggshell pigmentation and its physiological aspects.

Keywords

biliverdin, protoporphyrin, eggshell, shell gland, calcium, thermal stress, eggshell pigments, hormones

1. Úvod

Jedním ze společných znaků všech ptáků je vejcorodost. Všechna ptačí vejce jsou opatřena skořápkou. To v čem se však vejce jednotlivých druhů na první pohled, kromě tvaru a velikosti, liší je právě jejich barva. Barevná škála ptačích vajec je poměrně široká. Přechází od bílé přes modrou a zelenou až do hnědých odstínů. Dále může být skořápka jednolitě barvy nebo může být poseta skvrnami. Účel tohoto zbarvení se zdál být neznámý, dokud se neobjevily myšlenky o evoluci a selekčních tlacích působících tuto variabilitu ve zbarvení ptačích vajec.

Až daleko později bylo zjištěno, že barva ptačích vajec je způsobena přítomností, nebo absencí pouze dvou pigmentů nebo jejich kombinacemi. Vystaly otázky, kde se tyto pigmenty vzaly, jak se do skořápky dostaly a co způsobuje tak velké mezidruhové i vnitrodruhové rozdíly v pigmentaci vajec.

V poměrně nedávné době daly revoluční myšlenky o tom, že skořápkový pigment nemusí nutně plnit jen jednu funkci, vzniknout novým hypotézám. Tyto hypotézy nahlíží na zbarvení vejce z úplně odlišného úhlu, než tomu bylo dříve. Nepopírají dosavadní předpoklady funkce pigmentace skořápky, spíše doplňují, že jeden znak může být společný pro více funkcí. Například skvrny na vejcích mohou mít vedle maskování i funkci jakési náhrady za vápník, jehož je v místě skvrny nedostatek (Mägi et al. 2012).

V této práci jsem shrnul právě nové hypotézy týkající se pigmentace vajec a dosavadní poznatky o vztahu mezi pigmentací vaječné skořápky a environmentálními vlivy působícími na samici v době snášení vajec. Je zřejmé, že podněty z prostředí vyvolávají v samici fyziologickou odpověď, majíc tak za následek variabilitu v pigmentaci vajec.

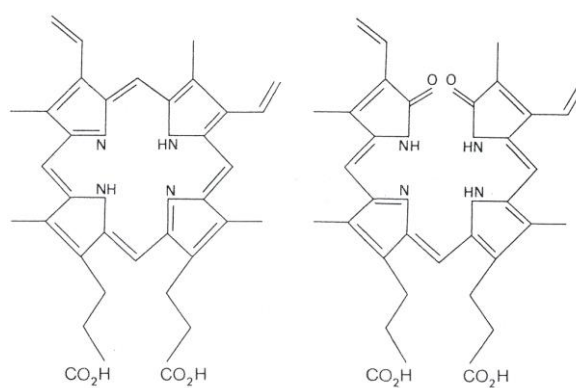
2. Skořápkové pigmenty

Barva vaječné skořáčky závisí na depozici pigmentů během tvorby vejce uvnitř vejcovodu. Typy použitých pigmentů se odvíjejí převážně od druhu ptáka a jsou geneticky kódovány (Liu and Cheng 2010; Van Brummelen and Bissbort 1993; Kenedy and Vevers 1973).

Skořáčky vajec nejpůvodnějších druhů ptáků byly pravděpodobně bílé a bez jakýchkoli „ozdob“, tak jako dnešní skořáčky pštrosích vajec (Kilner 2006). Evoluční tlaky, zejména tlak predátorů, přinutily ptáky vyvinout různé hnízdní strategie, jejichž část zahrnuje také maskování vajec. Kryptické zbarvení skořáčky přidáním pigmentů snižuje šanci na objevení vejce predátorem v nepřítomnosti rodičů (Sparks 2011). Existuje totiž tvrzení, že bílá vejce snášejí druhy, jejichž hnízda jsou v bezpečí před predátory, nebo jsou rodiče schopni vejce před predátory bránit jako například pštros dvouprstý (*Struthio camelus*). Další možností je, že rodič sám dokáže vejce v hnízdě maskovat svým tělem, jako například někteří zástupci čeledi Columbidae. Všichni ostatní ptáci mají skořáčky vajec s jednobarevným pozadím, tzv. „background colour“ (od modré přes zelenou až po hnědou), nebo mají na bílé skořápce skvrny tzv. „maculation“ nebo „specklings“ a nebo mají kombinaci obojího, tzn. skořáčku s barevným pozadím a tmavými skvrnami (Sparks 2011; Wallace 1889).

2.1 Typy skořápkových pigmentů

Jedním ze základních skořápkových pigmentů je biliverdin. V roce 1973 Kennedy a Vevers zjistili, že skořáčky modrých slepičích vajec obsahují biliverdin IX, zinečnaté cheláty biliverdinu a protoporphyrin IX. Další výzkumy ukázaly, že se v zelených nebo modrých vaječných skořápkách domestikovaných slepic nacházejí pouze biliverdin IX a zinečnaté cheláty biliverdinu. Hnědé skořáčky obsahují velké množství protoporphyrinu (Zhao et al. 2006).



(a) Protoporphyrin IX

(b) Biliverdin IX

Obrázek 1: Strukturní vzorec protoporphyrinu IX a biliverdinu IX (Liu and Cheng 2010; Lang and Wells 1987).

O zeleném pigmentu obsaženém ve vaječných skořápkách mnoha druhů ptáků panoval dříve názor, že je identický se žlučovým pigmentem, biliverdinem. V roce 1934, Lemberg potvrdil tuto domněnku izolací této sloučeniny v krystalické formě (viz také Liu and Cheng 2010).

Biliverdin je zelené žlučové barvivo, vznikající při katabolismu hemoglobinu, který je u většiny obratlovců dále zpracováván v játrech na bilirubin (Vodrážka 2002).

Výjimkou jsou ale ptáci, kteří nemají bilirubin reduktázu a vylučují biliverdin přímo do žluči, proto lze malé množství bilirubinu nalézt také v plazmě ptáků. Biliverdin je nekonjugovaný a nehromadí se v tkáních (Zhao et al. 2006; Lang and Wells 1987).

Biliverdin-IX je derivátem hemu, který vzniká při jeho oxidaci, přerušením porphyrinového cyklu a hraje důležitou roli v biochemii všech živých organismů (Zhao et al. 2006; Lang and Wells 1987).

Na rozdíl od biliverdinu, je protoporphyrin bezprostředním prekurzorem molekuly hemu a propůjčuje skořápce načervenalou až hnědou barvu (Mikšík et al. 1996; Kennedy and Vevers 1976).

Protoporphyrin je majoritní pigment hnědých ptačích skořápek. Pigment získaný z hnědých skořápek byl nejprve nazván "Oorhodein", pozdějšími výzkumy byl analyzován jako sloučenina porphyrinu. Při dalších analýzách "Oorhodeinu", byla provedena krystalizace a na jejím základě byl identifikován jako hemoglobinový porphirin - protoporphyrin-IX (Liu and Cheng 2010).

2.2 Původ a syntéza skořápkových pigmentů a jejich další funkce v organismu

Protoporphyrin a biliverdin jsou součástí metabolismu hemu, buď jako prekurzor (protoporphyrin) nebo látka vznikající při jeho odbourávání (biliverdin). Hem je červenohnědý komplex patřící do skupiny tetrapyrrolů, jedná se o cyklickou strukturu porphyrinu s iontem železa. Velmi podobná molekula je základem chlorofylu. Pro syntézu porphyrinů je zásadní přítomnost glycinu, dalším zdrojem uhlíku jsou methyly a karboxyly molekul acetátu (Vodrážka 2002).

První reakce syntézy probíhají v mitochondriích za vzniku porphobilinogenu. Čtyři molekuly této látky pak kondenzují za vzniku lineárního tetrapyrrolu. V této struktuře dojde k zacyklení a vznikne tak porphyrinogen III. Následně dochází ke změnám postranních řetězců a stupně nasycenosti porphyrinu a přes koproporphyrinogen III se dostaneme až k protoporphyrinu IX. Do této reakce je syntéza chlorofylu a hemu stejná. Hem z protoporphyrinu IX vzniká chelatací iontů železa (Vodrážka 2002).

Protože erythrocyty mají omezenou životnost, jsou staré buňky z krve odstaněny a odbourány ve slezině. Hem z hemoglobinu je oxidačně odbourán na tzv. žlučová barviva.

Prvním stupněm odbourávání hemu je štěpení α -methinového můstku za přítomnosti hemooxygenázy, tím dojde k rozvinutí cyklické molekuly za vzniku lineárního biliverdinu a oxidu uhelnatého. Následuje redukce střední methinové skupiny a vznikne bilirubin (Vodrážka 2002).

O skořápkovém pigmentu biliverdinu se ví, že působí v těle jako antioxidant (Soler et al. 2005). Antioxidační účinek látky spočívá přednostně v tom, že poskytuje atomový vodík ke zneškodňování peroxidových nebo jiných (např. tukových) radikálů, které vznikají jako meziproduct oxidačních procesů (Vodrážka 2002).

Skořápková žláza v uteru syntetizuje pigmenty, které jsou následně distribuovány do okolních buněk epitelu a poté zakomponovány do skořápky (Zhao et al. 2006; Solomon 2002).

Stanovení místa biosyntézy biliverdinu je nezbytné pro pochopení biochemických procesů pigmentace skořápky (Zhao et al. 2006).

Biliverdin-IX je syntetizován uvnitř skořápkové žlázy v uteru z proteinů pocházejících z rozkládaných červených krvinek. Červené krvinky jsou schopné zastávat svou funkci pouze po určitý čas. Poté musí být tělem ptáka recyklovány. Ptáci dokáží protein červených krvinek, zvaný hem, přeměnit na biliverdin-IX (Zhao et al. 2006; Kennedy and Vevers 1973; Punnet and Bailey 1920).

Stejně jako u biliverdinu je protoporphyrin-IX syntetizován uvnitř skořápkové žlázy v uteru samice. Uvnitř epitelových buněk je protein zvaný hem, jenž býval předtím součástí červených krvinek, přeměněn na protoporphyrin-IX (Adkerson 2014; Wand et al. 2009).

2.3 Mechanismy deponace pigmentů do skořápky

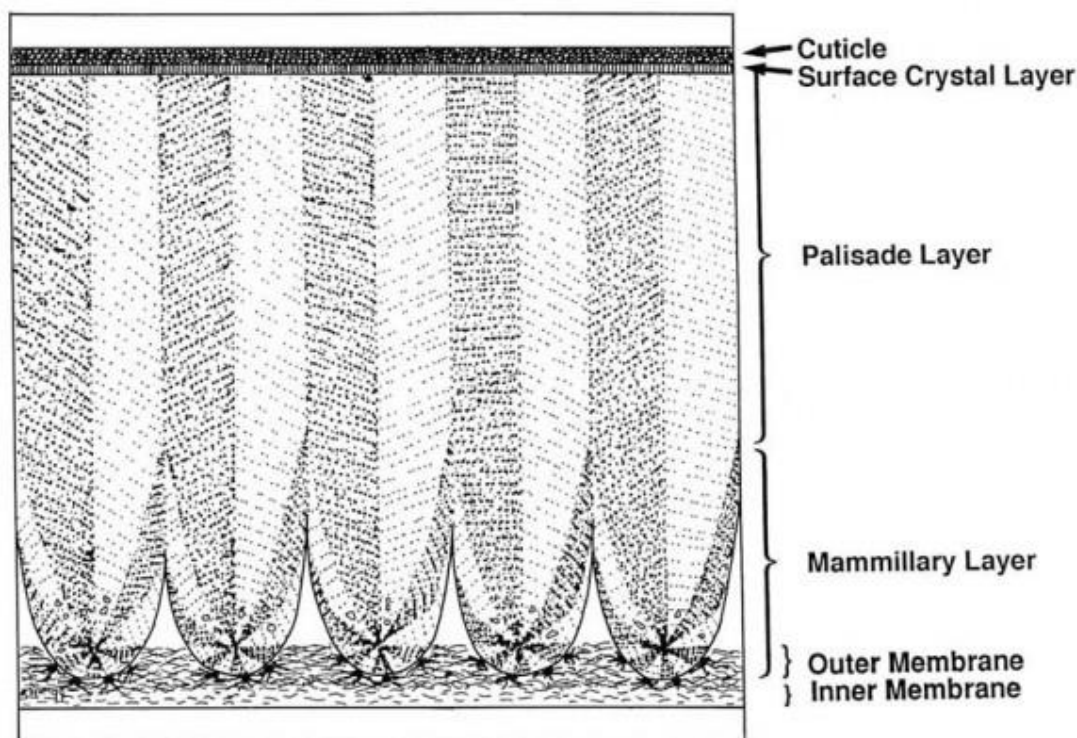
Abychom mohli porozumět mechanismům deponace skořápkových pigmentů do vaječné skořápky, je nejprve třeba si ujasnit, co to vlastně vaječná skořápka je, z čeho se skládá a jakým způsobem je syntetizována. Jako model poslouží slepičí vejce.

Skořápka slepičího vejce je vápenatá struktura, která plní funkci ochranné bariéry pro obsah vejce a umožňuje mimoděložní vývoj embrya (Hernández-Hernández et al. 2008; Nyls et al. 2004; Fink 1992). Skořápka sestává převážně z minerálů (>95%) zastoupených vápenatými krystaly, které prostupují organickou matrix (1– 3.5%), tvoří tak kombinovaný materiál s výbornými mechanickými vlastnostmi, jako je například dostatečná odolnost, nutná k udržení váhy samice sedící na vejcích, a zároveň křehkost, díky které se mládě dokáže z vejce vylíhnout (Hernández-Hernández et al. 2008; Nyls et al. 2004; Arias et al. 1993; Simkiss and Wilbur 1989). Skořápka je deponována v poměrně krátkém čase (méně než 20 hodin), během něhož vejce prochází skrze uterus samice. Vytváření vaječné skořápky je velmi dobře časově a prostorově regulovaný proces, jehož výsledkem je materiál s velice přesně definovanými kompozičními a strukturními vlastnostmi, které jsou typické pro skořápky všech druhů ptáků.

Tvorbu skořápky můžeme rozdělit na tři fáze, a to na: (I) počáteční, (II) aktivní–rychle růstová, (III) ukončovací (Hernández-Hernández et al. 2008).

Skutečnost, že se skořápka skládá ze šesti vrstev, je všeobecně známý předpoklad, založený na morfologických vlastnostech. Ze zmíněných šesti vrstev jsou pouze u dvou nejnvnitřnějších nekalcifikovaných vrstev (vnitřní a vnější skořápkové membrány tvořené sítí organických vláken) rozeznatelné hranice, zatímco v kalcifikované části skořápky na sebe jednotlivé vrstvy hladce navazují. Vnitřní vrstva skořápky je tvořena nestejnými kužely tzv. „mammillary knob layer“, jejichž špičkami pronikají vnější membránová vlákna. Během počáteční fáze tvorby skořápky (fáze I) probíhá ukládání tzv. „mammillary knobs“ na vnější skořápkovou membránu a následovaná tvorbou kalcitových sferulitů (tenkých jehliček z CaCO_3). Růst skořápky pokračuje dokud sousední sferulity nesplynou. Protože je boční růst krystalů omezen, vznikají sloupcovité kalcitové jednotky. Tento typ procesu v omezeném prostoru se nazývá konkurenční růst krystalů podle toho, že krystaly spolu soutěží o omezené volné místo (Hernández-Hernández et al. 2008; Rodriguez-Navarro and Garcia-Ruiz 2000). Sloupcovité krystaly kalcitu přesáhnou základny kuželů během rychlé fáze růstu skořápky (fáze II), čímž vytvářejí palisádovou vrstvu. Sloupcovitý růst krystalů pokračuje až do zastavení kalcifikace, která se vyznačuje uložením tenké vrstvy svislých krystalů a kutikuly (fáze III). Vrstva svislých krystalů je složena z malých tenkých krystalů, vyrovnaných ve svislé poloze na povrchu skořápky. Kutikula je na organické látce bohatý povlak, který ve své vnitřní části obsahuje hydroxyapatit a především pigmenty (Hernández-Hernández et al. 2008; Nyls et al. 2004; Nyls et al. 1999; Dennis et al. 1996).

Souhrnem lze tedy říci, že se ptačí skořápka skládá ze šesti vrstev (viz Obrázek 2), z toho pouze tři jsou kalcifikované (tzv. „mammillary layer, palisade layer a surface crystal layer“) a tři nekalcifikované (tzv. „inner membrane, outer membrane a cuticle“) (Hernández-Hernández et al. 2008).



Obrázek 2: Schéma vrstev ptačí skořápky (převzato z: <http://www.poultryhub.org/2010/10/new-research-explores-links-between-eggshell-quality-and-food-safety/>, 12. 8. 2014)

2.2.1 Deponace biliverdinu a protoporphyrinu

Biliverdin je derivován z erytrocytů (Zhao et al. 2006; Lang and Wells 1987; Kennedy and Vevers 1973) nebo je přímo syntetizován ve skořápkové žláze tzv. “shell gland” (Zhao et al. 2006).

Vejcovod je podle struktury a funkce členěn na *infundibulum*, *tuba*, *isthmus* a *uterus*. Uterus je tlustostěnná část vejcovodu, v jejíž stěně je umístěna skořápková žláza (Gaisler and Zima 2007).

Při syntéze biliverdinu se jedná o oxidativní otevření kruhové molekuly prostetické skupiny hemu (Zhao et al. 2006; Hudson and Smith 1975), kdy je u ptáků, obojživelníků a ryb produkován biliverdin-IX, u savců je ale konečným produktem odbourávání hemu až bilirubin (Zhao et al. 2006; Cornelius 1991).

V průběhu tvorby vaječné skořápky buňky epitelu vystylající uterus přidají modrý pigment biliverdin a tvoří tak skořápku, která je stejně modrá na vnější i na vnitřní straně skořápky (Zhao et al. 2006; Kennedy and Vevers 1973; Punnet and Bailey 1920).

Na rozdíl od modrého biliverdinu je hnědý pigment protoporphyrin obsažen pouze v kutikule obklopující vaječnou skořápku. Příkladem tohoto jevu může být zelené vejce. Pták produkuje modrou skořápku, která je pokryta hnědým pigmentem. Pokud je povrch takovéto skořápky obroušen, může být hnědý pigment odstraněn a potom zůstane pouze modrá

skořápka. Ptáci snášející zelená vejce tak do skořápky deponují oba pigmenty; biliverdin IX, jenž je součástí skořápky a protoporphyrin IX, který pokrývá vnější povrch skořápky. To, jak moc je vejce zelené, závisí na množství hnědého pigmentu, který je deponován do kutikuly. Modravě zelená vejce jsou pokryta malým množstvím protoporphyrinu, zatímco tmavě zelená nebo olivová vejce jsou pokryta silnější vrstvou hnědého pigmentu (Adkerson 2014; Punnet and Bailey 1920).

Některé studie odhalily, že protoporphyrin se nejdříve syntetizuje ve skořápkové žláze stejně jako biliverdin, a poté je sekretován a deponován do vaječné skořápky (Zhao et al. 2006; Baird et al. 1975).

Skvrny zvané „maculation“, „spottiness“ nebo „speckling“ které se vyskytují na barevném pozadí tzv. „background coloration“, jsou tvořeny protoporphyrinem (De Coster et al. 2013).

3. Význam a funkce zbarvení skořápky u ptáků

Vědci stále vedou debaty o tom, z jakého důvodu mají různá vejce různou barvu a kresbu, popřípadě pod jakým evolučním tlakem se daný typ zbarvení u konkrétních druhů vyvinul.

Jako první je nasnadě hypotéza kryptická, předpokládající evoluční výhodu ve skrytí vejce před zraky predátorů. Kdysi dávno byla vejce pravděpodobně bílá a beze skvrn. Rozlišením typů hnízd a jejich umístění, spolu se zranitelností při napadení predátorem v této dávné minulosti, můžeme vysvětlit rozdíly mezi vzhledem vajec jednotlivých ptačích druhů. Jedním z předpokladů je, že bílá vejce se zachovala u druhů, jejichž hnízda jsou v bezpečí před dravci, zatímco u druhů, jenž svá hnízda začaly stavět na rizikovějších místech, se objevila hnědá a různě skvrnitá vejce, jak už před více než sto lety předpokládal Wallace (Sparks 2011; Wallace 1889). Dokonce i modrá vejce mohou být považována za krypticky zbarvená, pokud je hnízdo umístěno v husté vegetaci. Je možné, že některé druhy tyto staré adaptace využily, a přiřadili jim nové funkce, například pro signalizaci samičích kvalit, k ochraně vejce před škodlivým slunečním zářením nebo ke zlepšení strukturální pevnosti v době nedostatku vápníku. Hrozba predace, spolu s měnicími se hnízdišti, zdá se zvýšila rozmanitost pigmentace vajec viditelnou mezi druhy v rámci dané skupiny a mezi snůškami v rámci druhu (Kilner 2006).

Sekundární vliv na rozmanitost v pigmentaci vajec mají i hnízdní parazité a jejich hostitelé. Každý z nich pohání evoluci zbarvení a skvrnitosti vajec toho druhého. Jako když se hostitel snaží zabránit parazitování, tím že odmítá podivná vejce v hnízdě a naopak parazit se snaží přizpůsobit svá vejce tak, aby je hostitel nerozeznal od vlastních. Tyto koevoluční závody ve zbrojení zapříčiňují nárůst rozdílů ve vzhledu vajec, jak uvnitř, tak vně druhů hostitele a parazita a někdy vyústily ve vývoj vaječných barevných polymorfismů. To také snížilo rozdíly ve vzhledu vajec uvnitř snůšky hostitele, i když výhoda, která z toho pro hostitele plyne, není zatím objasněna (Kilner 2006).

Tato práce by však měla, spíše než starší kryptickou a mimetickou hypotézu, detailněji zmínit hlavně novější hypotézy týkající se pigmentace vejce, jako je sexuálně signální hypotéza a mechanická hypotéza.

3.1 Sexuálně signální hypotéza

Ačkoli se mnoho ptačích vajec zdá být krypticky zbarveno, existuje také významná část vajec, která jsou zářivě modrá až zelená. Toto zdánlivě nápadné zbarvení mate biology již od dob Wallace. Vždyť přírodní výběr by měl upřednostňovat sníženou viditelnost vejce, aby tak byl snížen predací tlak.

Moreno a Osorno (2003) navrhli novelu hypotézy o evoluci modré a zelené ptačí skořápky. V ní uvádějí, že modro-zelená barva je kondicí podmíněný sexuálně selektivní signál, značící

kvalitu samice. Usoudili, že za předpokladu, že byly u biliverdinu prokázány antioxidační vlastnosti (Kaur et al. 2003), jsou samice nuceny vyvažovat použití biliverdinu jako ochranu proti volným radikálům a pro uložení do vaječné skořápky. Hypotéza sexuální signalizace navrhuje, že pouze vysoce kvalitní samice si mohou dovolit ukládat biliverdin do vaječné skořápky během snůšky, v době vysokého oxidačního stresu. Samci by zase měli na tento signál reagovat zvýšením investované energie do snůšky se sytější zbarvenými modro zelenými vejci (Moreno and Osorno 2003).

Další studií bylo zjištěno, že intenzita modro-zelené pigmentace vaječné skořápky se významně liší způsobem hnízdění a rozmnožování jednotlivých druhů. Například polygamní druhy mají celkově sytější zbarvená vejce než monogamní. Tuto skutečnost připisují tomu, že samce v polygamním společenstvu je nutné mnohem více zaujmout, aby preferoval konkrétní snůšku a více do ní investoval (Soler et al. 2005).

Protože se vejce různých druhů liší v závislosti na hnízdních strategiích, je potřeba se při testování sexuální hypotézy zaměřit na jeden ptačí druh.

Další studie sexuálně-signální hypotézy byla provedena v hnízdní kolonii racků delawerských (*Larus delawarensis*), ve které mají samci dostatek příležitostí k posouzení barvy vajec jednotlivých samic vzhledem k vejcům ostatních samic, na rozdíl od dřívějších studií, které byly prováděny na druzích nehnízdících v koloniích, ale v dutinách (Hanley and Doucet 2009).

Ve studii byla použita korelační data a experimentální manipulace k otestování čtyř předpokladů. Prvním předpokladem bylo, že modro-zelená pigmentace by měla být pro samice limitující. To studie neprokázala. Druhý předpoklad udával, že rozsah zbarvení modro zeleného vejce by měl znázorňovat samičí kvality. Tento vztah nebyl ve studii prokázán. Třetí předpoklad říkal, že rozsah zbarvení modro-zelené skořápky ukazuje kvalitu potomstva. Ani tady nebyl vztah nalezen. Čtvrtým předpokladem bylo, že samci by měli poskytovat více péče snůškám se sytější modro-zeleným zbarvením. Tento předpoklad se ve studii nepodařilo prokázat (Hanley and Doucet 2009).

3.1.1 Faktory omezující samici v deponaci skořápkových pigmentů

Předpoklad že modro zelená pigmentace ptačí skořápky je pro samice limitující, by měl být potvrzen tím, že jednotlivá vejce v jedné snůšce by měla být tím tmavší, čím dříve byla snesena. Tento jev je způsoben stresovou zátěží samic při snášení vajec. Je tedy jasné, že antioxidačně působícím biliverdinem může samice „plýtvat“ více u prvního vejce, než u posledního ve snůšce. Výzkumem byla prokázána souvislost mezi intenzitou pigmentace a pořadím ve snůšce. Co ovšem nepředpokládali byla skutečnost, že druhé vejce ve snůšce bylo sytější zbarvené než první, zatímco třetí bylo stejně zbarvené jako první (Hanley and Doucet 2009).

Někdo by mohl namítat, že sexuálně signální hypotéza upřednostňuje homogenní depozici pigmentu napříč snůškou. I když zbarvení vajec bylo podobnější v rámci snůšky než mezi jednotlivými snůškami, analýza Hanleyho a Douceta ukazuje, že depozice pigmentu nebyla homogenní napříč pořadím vejce ve snůšce (Hanley and Doucet 2009).

Ve třech dalších studiích byl zdokumentován vliv pořadí vejce ve snůšce na intenzitu modro-zelené pigmentace skořápky u více druhů. Byl zdokumentován nárůst v pigmentaci s pořadím ve snůšce (Siefferman et al. 2006), blednutí vejce s pořadím ve snůšce (Moreno et al. 2005) a nelineární pokles v modro-zelené pigmentaci (Krist and Grim 2007).

Podle zmíněných studií tedy napříč druhy neexistuje souvislost mezi pořadím vejce ve snůšce a modro-zelenou pigmentací (viz Tabulka 1). Tento fakt může souviset s tím, že zatímco ve studii prováděné na kuru domácím plemene *Araukana* se hladina biliverdinu v krevním séru a excrementech nosnic téměř nelišila, hladina pigmentu v uteru byla v době snůšky velmi nestabilní. Tato skutečnost naznačuje, že biliverdin použitý na pigmentaci vejce je syntetizován přímo v uteru samice, a že je pravděpodobně z velké části nezávislý na cirkulacích hladin biliverdinu v plazmě samice. Toto pak může vysvětlit nelineární změnu zbarvení vajec během snůšky (Zhao et al. 2006).

Tabulka 1: Shrnující tabulka ke kapitole 3.1.1 Faktory omezující samici v deponaci skořápkových pigmentů (vlastní zdroj)

předpoklad	autor, rok	název článku	studovaný druh	výsledek
modrozelená pigmentace je pro samice limitující	Henley and Doucet, 2009	Egg coloration in ring-billed gulls (<i>Larus delawarensis</i>): a test of the sexual signaling hypothesis	<i>Larus delawarensis</i>	nelineární změny pigmentace ve snůšce
	Siefferman et al., 2006	Egg coloration is correlated with female condition in eastern bluebirds (<i>Sialia sialis</i>)	<i>Sialia sialis</i>	nárůst pigmentace s pořadím ve snůšce
	Moreno et al., 2005	Evidence for the signaling function of egg color in the pied flycatcher <i>Ficedula hypoleuca</i>	<i>Ficedula hypoleuca</i>	snížení pigmentace s pořadím ve snůšce
	Krist and Grim, 2007	Are blue eggs a sexually selected signal of female collared flycatchers? A cross-fostering experiment	<i>Ficedula albicollis</i>	nelineární pokles pigmentace ve snůšce

3.1.2 Vliv kvality samice na rozsah zbarvení vejce

Pokud se samičí kvality odrážejí v intenzitě pigmentace vaječné skořápky, je možné předpokládat pozitivní vztahy mezi kondicí samice a intenzitou zbarvení skořápky. To by bylo v souladu s názorem, že se modro-zelená pigmentace vyvinula jako znak sexuální kvality samice. Při výzkumu této skutečnosti byl použit index tělesné kondice samice jako měřítko kvality samice a poměr heterophilů a lymfocytů (H/L poměr) jako měřítko imunitního stresu samice. Nebyl však nalezen žádný vztah mezi indexem tělesné kondice

samice a intenzitou pigmentace skořápky, ani vztah mezi poměrem H/L a intenzitou pigmentace skořápky (Hanley and Doucet 2009).

I zde je na místě srovnání s dalšími výzkumy zabývajícími se vztahem mezi pigmentací vejce a kondicí samice. Různé studie totiž potvrzují vztah mezi kvalitou samice a pigmentací skořápky. Například bylo zjištěno, že modro-zelené zbarvení vejce koreluje s věkem, kondicí nebo imunokompetencí u řady ptačích druhů (Krist and Grim 2007; Siefferman et al. 2006; Morales et al. 2006; Moreno et al. 2005), a dvě další experimentální studie dokázaly, že manipulace s kondicí samice ovlivňuje barvu vejce (Soler et al. 2008; Moreno et al. 2006a) (viz Tabulka 2).

Přes to, že některé studie nepotvrzují vliv kondice samice na pigmentaci vejce, se jedná v současnosti o nejpodporovanější předpoklad sexuálně signální hypotézy (Hanley and Doucet 2009).

Tabulka 2: Shrnující tabulka ke kapitole 3.1.2 Vliv kvality samice na rozsah zbarvení vejce (vlastní zdroj)

předpoklad	autor, rok	název článku	studovaný druh	výsledek	sledovaný ukazatel kvality samice
vliv kvality samice na intenzitu pigmentace vajec	Hanley and Doucet, 2009	Egg coloration in ring-billed gulls (<i>Larus delawarensis</i>): a test of the sexual signaling hypothesis	<i>Larus delawarensis</i>	vztah mezi indexem tělesné kondice a pigmentací vajec neprokázán	H/L poměr
	Krist and Grim, 2007	Are blue eggs a sexually selected signal of female collared flycatchers? A cross-fostering experiment	<i>Ficedula albicollis</i>	pigmentace koreluje s kondicí	délka tarsu a kondice
	Siefferman et al., 2006	Egg coloration is correlated with female condition in eastern bluebirds (<i>Sialia sialis</i>)	<i>Sialia sialis</i>	pigmentace reflektuje kondici samice	poměr mezi bodymass a délkou tarsu
	Morales et al., 2006	Egg colour reflects the amount of yolk maternal antibodies and fledging success in a songbird	<i>Ficedula hypoleuca</i>	samice s lepší kondicí snáší více pigmentovaná vejce	poměr mezi hmotností a délkou tarsu
	Moreno et al., 2005	Evidence for the signaling function of egg color in the pied flycatcher <i>Ficedula hypoleuca</i>	<i>Ficedula hypoleuca</i>	pigmentace koreluje s kondicí	množství imunoglobulinu v krvi
	Moreno et al., 2006	Experimental evidence that egg color indicates female condition at laying in a songbird	<i>Ficedula hypoleuca</i>	manipulace s kondicí ovlivňuje sytost pigmentace	kondice
	Soler et al., 2008	Sexually Selected Egg Coloration in Spotless Starlings	<i>Sturnus unicolor</i>	manipulace s kondicí ovlivňuje sytost pigmentace	váha samice

3.1.3 Odras kvality potomstva ve zbarvení vajec

Třetí předpoklad Hanleyho a Douceta hovoří o vztahu mezi intenzitou zbarvení skořápky a kvalitou potomstva. Tento jev by měl v samci evokovat zvýšení péče o sytěji vybarvenou snůšku, protože by se z ní mělo vylíhnout kvalitní potomstvo. V rámci výzkumu provedeného na rackovi delawarském byla kontrolována hnízda a nebylo zjištěno, že by

obsah biliverdinu nebo protoporphyrinu byl predikcí hmotnosti vejce. V podobném modelu byl ale obsah protoporphyrinu významným prediktorem počáteční váhy kuřat. Čili větší kuřata se líhla z vajec s větším množstvím protoporphyrinu. Naopak Hanley a Doucet (2009) nenalezli důkazy o tom, že modro-zelená barva významně predikuje hmotnost vejce nebo hmotnost čerstvě vylíhnutého mláděte.

Existuje tedy předpoklad, že vztah mezi kvalitou potomstva a zbarvením skořápky sám o sobě nestačí, aby podpořil sexuálně signální hypotézu (Cassey et al. 2008).

Studie o kvalitě potomstva v závislosti na modro-zelené barvě vejce přinesly smíšené výsledky, z čehož lze jen obtížně vyvodit obecné závěry, protože různí autoři mají tendenci používat vejce různé kvality a různá měřítka co se barevnosti skořápek týče. Kupříkladu byl nalezen vztah mezi modro-zelenou barvou vejce a délkou tarsu mláděte, ale ne hmotností nebo T-buněčnou imunitou (Krist and Grim 2007). Délka tarsu mláděte je také možným ukazatelem množství vápníku ve skořápce. Pro tuto možnost existuje důkaz ve studii Sanz and García-Navas (2009), kde bylo nerovnoměrné rozložení skvrn prediktorem kratšího tarsu mláděte než u srovnávací skupiny. Také bylo zjištěno, že mláďata měla vyšší hladiny imunoglobulinu, který je bránil před ektoparazity, pokud se vylíhla z vajec, která se odkláněla od modro-zeleného zbarvení (Morales et al. 2006).

Podobně ani v dalších studiích nebyl potvrzen vztah mezi zbarvením vejce a charakteristikou mláďat (viz Tabulka 3). Tato zjištění naznačují, že tento předpoklad sexuálně signální hypotézy může těžit pouze z dalších výzkumů (López-Rull et al. 2007; Siefferman et al. 2006).

Tabulka 3: Shrnující tabulka ke kapitole 3.1.3 Odras kvality potomstva ve zbarvení vajec (vlastní zdroj)

předpoklad	autor, rok	název článku	studovaný druh	výsledek	sledovaný znak
kvalita potomstva se odráží v barvě vejce	Henley and Doucet, 2009	Egg coloration in ring-billed gulls (<i>Larus delawarensis</i>): a test of the sexual signaling hypothesis	<i>Larus delawarensis</i>	pigmentace nekoreluje s hmotností mláděte, ale signalizuje délku tarsu mláděte	délka tarsu
	Sanz and García-Navas, 2009	Eggshell pigmentation pattern in relation to breeding performance of blue tits (<i>Cyanistes caeruleus</i>)	<i>Cyanistes caeruleus</i>	nerovnoměrná skvrnitost skořápky predikuje kratší tarsus mláděte	délka tarsu
	Morales et al., 2006	Egg colour reflects the amount of yolk maternal antibodies and fledging success in a songbird	<i>Ficedula hypoleuca</i>	větší odklon od modrozeleného zbarvení signalizoval vyšší hladiny imunoglobulinu v krvi mláděte	hladina imunoglobulinu
	López - Rull et al., 2007	Egg Colour Covaries with Female Expression of a Male Ornament in the Spotless Starling (<i>Sturnus unicolor</i>): Egg Colouration in the Spotless Starling	<i>Sturnus unicolor</i>	nebyl nalezen vztah mezi barvou vajec a charakteristikou mláďat	váha mláďat
	Siefferman et al., 2006	Egg coloration is correlated with female condition in eastern bluebirds (<i>Sialia sialis</i>)	<i>Sialia sialis</i>	nebyl nalezen vztah mezi barvou vajec a charakteristikou mláďat	váha mláďat a délka tarsu

3.1.4 Vliv zbarvení na investici samce do snůšky

Čtvrtý předpoklad studie Hanleyho a Douceta byl, že by samci měli věnovat více péče snůškám, které mají sytější modro-zelené zbarvení. Zkoumali tento klíčový předpoklad pomocí koleračních dat a tzv. „cross-fostering” experimentu. Samci neposkytovali větší rodičovskou péči snůškám se sytějším modro-zeleným zbarvením v kontrolních snůškách ani v experimentálních snůškách. Kromě toho samčí péče nekorelovala s původním zbarvením vajec. Při posuzování přiměřené samčí péče byl zjištěn pozitivní vztah mezi modro-zelenou barvou a samčí frekvencí krmení u kontrolních hnízd, ale ne u experimentálních hnízd. Žádné další proměnné, charakterizující investice samců do snůšky, nekorelovaly s barevnými proměnnými vajec. Data získaná při tomto experimentu ale naznačují, že samci racka delawarského (*Larus delawarensis*) přednostně nepečují o sytěji modro-zeleně zbarvené snůšky (Hanley and Doucet 2009).

Naopak tomu bylo u lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*), kde samci poskytovali více péče snůškám se sytějším modro-zeleným zbarvením (Moreno et al. 2004). Následný “cross-fostering” experiment odhalil, že samci nepřizpůsobují frekvenci krmení průměrné barvě vajec ve snůšce, ale spíše upravují frekvenci krmení podle směrodatné odchylky neboli variability v sytosti barvy vajec a podle maximální sytosti barvy vejce uvnitř hnízda (Moreno et al. 2006).

Ve studii, kde bylo se zbarvením vajec experimentálně manipulováno, samec špačka černého (*Sturnus unicolor*) vynakládal více péče na umělé vejce nabarvené tmavou modro-zelenou barvou, než na vejce, které bylo nabarveno světlou modro-zelenou (Soler et al. 2008). Naproti tomu v experimentální studii na lejskovi bělokrkém (*Ficedula albicollis*) bylo zjištěno, že samci neposkytovali více péče snůškám se sytějším zbarvením (Krist and Grim 2007). Další studie prováděna na špačcích (*Sturnus unicolor*) nepodpořila tento předpoklad a ukázala, že samci posuzovali kvalitu samic podle kresby peří, ne podle barvy vajec, a vynakládali více úsilí na péči o snůšky s bledším modro zeleným zbarvením (López-Rull et al. 2007).

V jiné studii, zaměřené na střízlíka domácího (*Troglodytes aedon*), byla srovnávána péče rodičů o vejce světlejších odstínů oproti normálu. Byla pozorována zvýšená péče ze strany samice o vejce světlejší barvy a o mláďata z nich vylíhnutých. Samec nebyl tímto faktorem ovlivněn (Walters and Getty 2010).

Smíšené výsledky ukazují, že modro zelená barva vejce se pravděpodobně vyvinula u různých ptačích druhů z různých důvodů (Kilner 2006) (viz Tabulka 4). Vzhledem k tomu, že sexuálně signální hypotéza získává u různých druhů jen smíšenou podporu, je nutné, aby budoucí studie i nadále zvažovaly několik hypotéz pro vývoj zbarvení vejce ptáků (Hanley and Doucet 2009).

Tabulka 4: Shrnující tabulka ke kapitole 3.1.4 Vliv zbarvení na investici samce do snůšky (vlastní zdroj)

předpoklad	autor, rok	název článku	studovaný druh	výsledek
vliv zbarvení skořápky vajec na investici samce do snůšky	Henley and Doucet, 2009	Egg coloration in ring-billed gulls (<i>Larus delawarensis</i>): a test of the sexual signaling hypothesis	<i>Larus delawarensis</i>	samec nepečuje o sytější zbarvené snůšky
	Moreno et al., 2004	Egg colouration and male parental effort in the pied flycatcher <i>Ficedula hypoleuca</i>	<i>Ficedula hypoleuca</i>	samec poskytuje více péče snůškám se sytější zbarvením
	Moreno et al., 2006	More colourful eggs induce a higher relative paternal investment in the pied flycatcher <i>Ficedula hypoleuca</i> : a cross-fostering experiment	<i>Ficedula hypoleuca</i>	samec se orientuje dle nejvíce pigmentovaného vejce a ne dle průměrné pigmentace ve snůšce
	Soler et al., 2008	Sexually Selected Egg Coloration in Spotless Starlings	<i>Sturnus unicolor</i>	samec dává přednost vejci s tmavší modrou barvou před světlejším
	Krist and Grim, 2007	Are blue eggs a sexually selected signal of female collared flycatchers? A cross-fostering experiment	<i>Ficedula albicollis</i>	samec neposkytuje snůškám se sytější zbarvenými vejci větší péči
	Lopéz - Rull et al., 2007	Egg Colour Covaries with Female Expression of a Male Ornament in the Spotless Starling (<i>Sturnus unicolor</i>): Egg Colouration in the Spotless Starling	<i>Sturnus unicolor</i>	samec posuzuje kvalitu samice dle kresby peří a investuje do snůšek se světlejším modrozeleným zbarvením
	Walters and Getty, 2010	Are brighter eggs better? Egg color and parental investment by House Wrens: Wren Egg Color and Parental Investment	<i>Troglodytes aedon</i>	samec nebyl barvou vajec ovlivněn, ale u samic pozorována větší péče o světlejší vejce a mláďata z nich vylíhnutá

3.2 Mechanická hypotéza

Skořápka není pigmentována pouze pomocí biliverdinu. Také protoporphyrin se velkou měrou podílí na jejím zbarvení. Různé tečky, skvrny a odstíny hnědé na skořápce daly vzniknout hypotézám o maskování, mající za úkol chránit vejce před predátorem nebo znemožnit rozeznání vejce parazita od vajec hostitele. V poslední době se však objevuje i jiný náhled na funkci protoporphyrinu ve skořápce vejce.

Podle nedávno navržené strukturně funkční hypotézy, jinak známé jako mechanická hypotéza, používají ptáci pigment protoporphyrin, aby posílili vaječnou skořápku, v závislosti na nedostatku vápníku (Ca) v potravě (Mägi et al. 2012).

Vápník je totiž klíčovou složkou potravy ptáků hlavně v období hnízdění, konkrétně v době, kdy dochází k formaci vaječné skořápky (Mägi et al. 2012; Reynolds and Perrins 2010).

Před dvěma lety byla vypracována studie, jejímž cílem bylo po dobu dvou let testovat mechanickou hypotézu v experimentu manipulujícím s dostupností vápníku na populacích

sýkory koňadry (*Parus major*), hnízdící v na vápník chudých jehličnatých lesích a v naopak na vápník bohatých listnatých lesích Estonska (Mägi et al. 2012).

Experiment přinesl nečekané výsledky. Vápníkem zásobení ptáci totiž snesli tmavší vejce než ptáci z nezásobené kontrolní skupiny. To je ovšem v rozporu s mechanickou hypotézou. I když byla vejce v na vápník chudém prostředí menší a jejich skořápka byla tenčí, skvrnitost vajec se mezi habitaty nelišila. Skořápky byly více pigmentované v roce, kdy byly také tenčí, ale jejich tloušťka se skvrnitostí nejevila, v rámci daného roku, spojitost. Ačkoli výsledky této studie nepotvrzují ani nevyvrací mechanickou hypotézu, naznačují, že vztah mezi dostatkem vápníku a pigmentací skořápky nemůže být vysvětlen pouze skrze mechanickou hypotézu (Mägi et al. 2012).

Podobných výsledků bylo dosaženo ve studii na mexickém druhu sojky (*Aphelocoma wollweberi*), když nebyla nalezena žádná souvislost mezi obsahem vápníku v půdě a skvrnitostí vajec (Berg et al. 2009).

Další výzkum naproti tomu zjistil, že intenzita pigmentace pozitivně koreluje s rozdílem tloušťky vaječné skořápky sýkory koňadry (*Parus major*) v porovnávaných pigmentovaných a nepigmentovaných místech (Gosler et al. 2005). Také studie Sanz and García-Navas (2009) odhalila, že intenzita pigmentace negativně koreluje s tloušťkou a váhou skořápky.

Jiná studie předpokládala, že je skvrnitost vejce rovněž ovlivněna samičí tělesnou kondicí, a že by tento faktor měl být brán v úvahu při dalším výzkumu mechanické hypotézy (viz Tabulka 5). Například by zvýšená pigmentace vaječných skořápek mohla být rozhodující pro posílení vaječných skořápek v podmínkách s akutním nedostatkem vápníku, zatímco samičí tělesná kondice by mohla ovlivňovat pigmentaci skořápky ve chvíli, kdy není vápníku nedostatek. Takovéto možnosti by měly být v budoucnu experimentálně zkoumány při manipulaci se samičí tělesnou kondicí a dostupností vápníku v hnízdním prostředí. Navíc by, s ohledem na možnost lokálních adaptací, měly budoucí výzkumy zahrnovat populace z různých geografických a ekologických oblastí (Mägi et al. 2012).

Tabulka 5: Shrnující tabulka ke kapitole 3.2 Mechanická hypotéza (vlastní zdroj)

předpoklad	autor, rok	název článku	studovaný druh	výsledek
vliv dostupnosti Ca na barvu skořápky	Mägi et al., 2012	Testing the structural–function hypothesis of eggshell maculation in the Great Tit: an experimental approach	<i>Parus major</i>	vápníkem zásobení ptáci snášeli tmavší vejce, než vápníkem nezásobení
	Berg et al., 2009	Test of an adaptive hypothesis for egg speckling along an elevational gradient in a population of Mexican jays (<i>Aphelocoma ultramarine</i>)	<i>Aphelocoma wollweberi</i>	nenalezena souvislost mezi obsahem Ca v půdě a pigmentací skořápky
	Sanz and García Navas, 2009	Eggshell pigmentation pattern in relation to breeding performance of blue tits (<i>Cyanistes caeruleus</i>)	<i>Cyanistes caeruleus</i>	intenzita pigmentace negativně koreluje s tloušťkou a hmotností skořápky

4. Variabilita v pigmentaci ptačí skořápky

Variabilita v pigmentaci ptačí skořápky je tradičně vysvětlována jako odpověď na selekční tlaky, jakými jsou hnízdní predátoři nebo hnízdní parazité, ačkoli byly později navrženy i další funkce (Reynolds et al. 2009). Pochopení příčiny variability v pigmentaci ptačí skořápky je klíčové k porozumění funkci zbarvení ptačí skořápky (Hargitai et al. 2013). Je zřejmé, že pro zbarvení vejce existuje genetický základ (Gosler et al. 2000), který je dále ovlivněn environmentálními faktory, jako jsou dostupnost vápníku a potravy v prostředí nebo teplota a vlhkost prostředí (Gosler et al. 2005; Moreno et al. 2006a; Avilés et al. 2006).

Zmiňovaný genetický základ pro zbarvení vejce udává základní zbarvení vaječných skořápek v rámci druhu (Gosler et al. 2000). To znamená, že pokud by byly dvěma jedincům stejného druhu, kteří díky rozdílnému prostředí nekladou vejce se stejným zbarvením skořápky, poskytnuty stejné podmínky, neměla by se teoreticky projevit vnitrodruhová variabilita a zbarvení by tedy mělo ztratit na odlišnosti.

Ať už se jedná o pigmentaci biliverdinem nebo protoporphyrinem, různé podmínky, ve kterých druh žije, donutily populace z daných lokalit, aby se jim přizpůsobily. Různé podmínky ekosystému, jako dostatek vápníku, minimální teplota v hnízdním období, dostatek potravy nebo četnost srážek, který daný druh obývá, totiž ovlivňují vedle jiného i pigmentaci vajec, což je podstata vnitrodruhové variability v pigmentaci skořápky ptačích vajec (Gosler et al. 2005).

4.1 Dostupnost vápníku v prostředí

Mnoho ptačích druhů klade vejce se skvrnami na bázi protoporphyrinu, ale u mnoha ptačích druhů je funkce skvrn neznámá. Přítomnost skvrn na vejci pravděpodobně vysvětluje již zmíněná mechanická hypotéza tím, že protoporphyrin ve skořápce plní funkci výstuže a je proto ukládán do skořápky při nedostatku vápníku v prostředí (Hargitai et al. 2013).

Protoporphyrinové skvrny jsou často zkoumány na čeledi sýkorovitých (Paridae). Jejich přednost tkví v rozšíření a ve způsobu hnízdění. Sýkorovití totiž sekundárně hnízdí v dutinách. To znamená, že skvrny na jejich vejcích s nejvyšší pravděpodobností neslouží k maskování. Navíc se u sýkorovitých zřejmě nevyskytuje vnitrodruhový hnízdní parazitismus (Kempnaers et al. 1995; Griffith et al. 2009). Bohužel nelze vyloučit, že se u sýkorovitých nevyvinuly skvrnitá skořápky někdy v minulosti jako obrana před predátory a hnízdními parazity. Otázkou zůstává, proč snášejí sýkorovití skvrnitá vejce, když hnízdí v dutinách?

Touto otázkou se, v závislosti na dostupnosti vápníku v prostředí zkoumaného druhu, zabývá hned několik studií. Například studie vlivu obsahu vápníku v půdě na hnízdící populace sýkory koňadry (*Parus major*) v Británii odhalila, že sytost protoporphyrinových skvrn na ptačích vejcích negativně korelovala s tloušťkou skořápky, jenž závisí na dostupnosti vápníku (Gosler et al. 2005). S klesající dostupností vápníku se skořápka stávala

méně uniformní a protoporphyrinové skvrny se objevily přesně tam, kde byla skořápka tenčí a i množství pigmentu ve skvrně se odvíjelo od toho, jak moc byla skořápka ztenčená (Gosler et al. 2005). V jiných studiích se však lze setkat s odlišnými výsledky. Například studie na sýkoře modřince (*Cyanistes caeruleus*) uvádí, že sytost skvrn na skořápce pozitivně koreluje s její tloušťkou (García-Navas et al. 2011). V jiné studii na sýkoře modřince nemělo experimentální dodávání vápníku vliv na sytost pigmentace, ale rozmístění skvrn bylo stejnoměrnější u experimentální skupiny s nadbytkem vápníku (García-Navas et al. 2011). Obdobně nejevily tloušťka skořápky a sytost skvrn žádný vztah u sýkory koňadry (*Parus major*) v Estonsku. A ani hladina vápníku v půdě neměla vliv na skvrnitost vajec (Mägi et al. 2012).

Z příkladů studií a jejich výsledků je patrné, že vliv dostupnosti vápníku v hnízdním prostředí úzce souvisí s dříve zmíněnou mechanickou hypotézou. Není tedy divu, že různé studie vykazují smíšené výsledky.

Všechny tyto studie však spojuje jeden základní předpoklad, že během snášení vajec potřebuje samice velké množství materiálu bohatého na vápník, protože běžná potrava mnoho vápníku neobsahuje (viz Tabulka 6). Samice pěvců nedokáží skladovat metabolizovatelný vápník v kostech a musí si jej obstarávat denně během období kladení vajec. Nedostatek vápníku v průběhu tvorby vaječné skořápky by totiž mohl mít za následek snášení vajec s tenčí skořápkou, což by mělo neblahý vliv na líhivost v důsledku rozbití vejce nebo nadměrné ztráty vody (Graveland and Van Gijzen 1994).

Experimentální manipulace s dostupností vápníku však nese i svá úskalí. Hlavním zdrojem vápníku pro sýkory koňadry (*Parus major*) jsou suchozemští plži a jejich ulity. Ti pak tvoří limitující faktor pro dostupnost vápníku. Problém nastává ve chvíli, kdy kontrolní skupina začne získávat vápník jiným způsobem. Například požíváním na vápník bohatších arthropod jako jsou stonožky (Bureš and Weidinger 2003; Graveland and Van Gijzen 1994). To by mohlo být vysvětlení pro výsledky studií sýkorek, které nemohou potvrdit vliv vápníku na pigmentaci skořápky (Hargitai et al. 2013).

Tabulka 6: Shrnující tabulka ke kapitole 4.1 Dostupnost vápníku v prostředí (vlastní zdroj)

předpoklad	autor, rok	název článku	studovaný druh	výsledek
vliv dostupnosti Ca v prostředí na pigmentaci skořápky	Gosler et al., 2005	Why are birds' eggs speckled?	<i>Parus major</i>	sytost protoporphyrinových skvrn na skořápce negativně koreluje s tloušťkou skořápky, která závisí na dostupnosti Ca
	García-Navas et al., 2011	Experimental evidence for the role of calcium in eggshell pigmentation pattern and breeding performance in Blue Tits <i>Cyanistes caeruleus</i>	<i>Cyanistes caeruleus</i>	sytost skvrn na skořápce pozitivně koreluje s její tloušťkou
	Mägi et al., 2012	Testing the structural–function hypothesis of eggshell maculation in the Great Tit: an experimental approach	<i>Parus major</i>	hladina vápníku v půdě neměla vliv na skvrnitost vajec
	Bureš and Weindinger, 2003	Sources and timing of calcium intake during reproduction in flycatchers	<i>Ficedula albicollis</i> <i>Ficedula hypoleuca</i>	při nedostatku běžných zdrojů získávají ptáci Ca z jiných zdrojů
	Moreno et al., 2006	Experimental evidence that egg color indicates female condition at laying in a songbird	<i>Ficedula hypoleuca</i>	zvýšení pigmentace u samic s nadbytkem potravy

4.2 Dostupnost potravy v prostředí

Jak již bylo zmíněno v popisu předpokladů sexuálně signální hypotézy, intenzita pigmentace biliverdinem je obrazem kvality samice, což většinou souvisí s tím, jak dobře je živena. Při experimentální studii, kdy byl samicím zajištěn nadbytek potravy, bylo možné zvýšit kvality samic a pozorovat odezvu v pigmentaci skořápky jejich vajec oproti vejcím z kontrolní skupiny (Moreno et al. 2006a).

V jednom z takovýchto experimentů bylo šestnáct samic lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*) zásobováno moučnými červy před a během snášení vajec, následně byla porovnána hmotnost a barva vajec těchto samic s vejci šestnácti kontrolních samic. Dokrmované samice snášely oproti kontrolním samicím větší a intenzivněji modro-zeleně pigmentovaná vejce. Oba tyto efekty mohou být vztaženy k lepší kondici dokrmovaných samic (Moreno et al. 2006a). Několik dalších experimentálních studií vlivu množství potravy na velikost vejce tyto výsledky potvrzuje (Reynolds et al. 2003; Ramsay and Houston 1997). Zlepšená tělesná kondice samic byla také jinou studií potvrzena jako následek dokrmování (Schoech 1996). Také to, že vejce dokrmovaných samic jsou více pigmentována biliverdinem, je potvrzeno v podobné studii salašníka modrého (*Sialia sialis*) (Siefferman et al. 2006). Také barva vajec dokrmovaných samic se nelišila od přírodní škály barev vajec v

populaci, což značí, že efekt pigmentace vajec byl vyvolán spíše zlepšením kondice samice, než aby to byl důsledek přímého působení pigmentů obsažených v potravě (Moreno et al. 2006a).

Tyto studie potvrzují, že dostupnost potravy ovlivňuje pigmentaci ptačí skořápky, jelikož v podmínkách, kdy má samice dostatek potravy jsou skořápky více pigmentované biliverdinem (Moreno et al. 2006a) (viz Tabulka 7).

Naproti tomu existuje experimentální studie prováděná na křepelce japonské (*Coturnix japonica*), kde nebyla pigmentace vaječné skořápky nijak ovlivněna nedostatkem potravy. To bylo vysvětleno tak, že samice i přes sníženou tělesnou kondici, způsobenou nedostatkem potravy, investovala stejné množství zdrojů do vejce jako samice s dostatkem potravy (Duval et al. 2013).

Tabulka 7: Shrnující tabulka ke kapitole 4.2 Dostupnost potravy v prostředí (vlastní zdroj)

předpoklad	autor, rok	název článku	studovaný druh	výsledek
vliv dostupnosti potravy v prostředí na pigmentaci skořápky	Reynolds et al., 2003	Nutritional quality of prebreeding diet influences breeding performance of the Florida scrub-jay	<i>Aphelocoma coerulescens</i>	zvýšení pigmentace u samic s nadbytkem potravy
	Ramsay and Houston, 1999	Nutritional constraints on egg production in the blue tit: a supplementary feeding study	<i>Parus caeruleus</i>	zvýšení pigmentace u samic s nadbytkem potravy
	Schoech, 1996	The effect of supplemental food on body condition and the timing of reproduction in a cooperative breeder, the Florida scrub-jay	<i>Aphelocoma coerulescens</i>	zlepšení kondice dokrmovaných samic
	Siefferman et al., 2006	Egg coloration is correlated with female condition in eastern bluebirds (<i>Sialia sialis</i>)	<i>Sialia sialis</i>	vejce dokrmovaných samic více pigmentovaná biliverdinem
	Moreno et al., 2006	Experimental evidence that egg color indicates female condition at laying in a songbird	<i>Ficedula hypoleuca</i>	pigmentace závislá na kondici samice zvýšené dokrmováním
	Duval et al., 20013	Condition-dependent strategies of eggshell pigmentation: an experimental study of Japanese quail (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)	<i>Coturnix coturnix japonica</i>	pigmentace neovlivněna nedostatkem potravy

4.3 Teplota a vlhkost prostředí

Dalšími faktory ovlivňujícími pigmentaci vajec jsou teplota a vlhkost prostředí. Zaměříme-li se na teplotu, je důležitá zejména minimální teplota vzduchu během doby snášení vajec. Samice snášející vejce za nízkých teplot totiž musí vynaložit dvojnásobek energie potřebné pro tvorbu vejce jen na regulaci tělesné teploty (Morales et al. 2013; Ojanen 1983). Ve studii

sledující vliv teploty na pigmentaci a tloušťku skořápky vajec lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*) bylo zjištěno, že pigmentace skořápky pozitivně koreluje s její tloušťkou, jenž se odvíjela od minimální teploty vzduchu během snášení vajec. Minimální teplota okolního vzduchu totiž měla pozitivní vliv na tloušťku skořápky (Morales et al. 2013). Tento výsledek souhlasí s výsledky experimentální studie u drůběže, prováděné při teplotách nižších než 6°C (Sahin et al. 2003; Sahin et al. 2002) a může znamenat, že ukládání maternálních zdrojů do skořápky je omezeno vzhledem k vysokým energetickým ztrátám v důsledku chladného počasí (Morales et al. 2013). Z jiného úhlu pohledu může chladné počasí ovlivňovat strukturu skořápky i nepřímo. Ztenčení skořápek v důsledku chladného počasí může být zapříčiněno snížením výskytu plžů sloužících jako zdroj vápníku pro samice kladoucí vejce (Morales et al. 2013). Při vyšších teplotách vzduchu sice pak samice snášely vajíčka se silnější skořápkou což, jak již bylo zmíněno, pozitivně koreluje s jejich pigmentací, ale to může být důsledek snahy zabránit přílišným ztrátám vody skrze skořápku (Morales et al. 2013; Davis and Ackerman 1985).

Stejně jako teplota, tak i vlhkost, ve smyslu množství srážek, ovlivňuje vzhled ptačí skořápky. Byla uskutečněna studie vlivu vlhkosti, ale i teploty, na vejce rákosníka obecného (*Acrocephalus scirpaceus*) a jeho hnízdního parazita kukačky obecné (*Cuculus canorus*). Studie porovnávala skvrny a zbarvení skořápky vajec u obou druhů pomocí spektrofotometrie a fotografií nasbíraných během čtyřadvaceti let v Zoologickém muzeu v dánském Copenhagenu. Studie ukázala, že vejce rákosníka byla světlejší pokud byla snesena na jaře s vyššími srážkami, ale byla modřejší a zelenější v letech, kdy byly jarní teploty nižší. Na druhou stranu vejce kukaček byla modřejší a zelenější v roce s vyššími jarními srážkami. Proto tyto výsledky nabízejí podporu pro předpoklad environmentálního vlivu na barvu ptačích vajec (Avilés et al. 2006). (Shrnutí viz Tabulka 8.)

Tabulka 8: Shrnutí tabulka ke kapitole 4.3 Teplota a vlhkost prostředí (vlastní zdroj)

předpoklad	autor, rok	název článku	studovaný druh	výsledek	sledovaný vliv
vliv teploty a vlhkosti prostředí	Morales et al., 2013	Variation in eggshell traits between geographically distant populations of pied flycatchers <i>Ficedula hypoleuca</i>	<i>Ficedula hypoleuca</i>	pigmentace pozitivně koreluje s tloušťkou skořápky, která pozitivně koreluje s minimální teplotou při snášení	teplota prostředí při snášení
	Sahin et al., 2003	Vitamin E and selenium supplementation to alleviate cold-stress-associated deterioration in egg quality and egg yolk mineral concentrations of Japanese quails	<i>Coturnix coturnix japonica</i>	pigmentace skořápky ovlivněna minimální teplotou při snášení	teplota prostředí při snášení
	Sahin et al., 2002	Effects of dietary chromium and zinc on egg production, egg quality, and some blood metabolites of laying hens reared under low ambient temperature	<i>neuveđeno</i>	pigmentace skořápky ovlivněna minimální teplotou při snášení	teplota prostředí při snášení
	Avilés et al., 2006	Variation in eggshell traits between geographically distant populations of pied flycatchers <i>Ficedula hypoleuca</i>	<i>Acrocephalus scirpaceus</i> , <i>Cuculus canorus</i>	vejce rákosníka světlejší pokud na jaře více srážek, tmavší pokud srážek méně, u kukačky vejce tmavší v roce s více srážkami	vlhkost prostředí při snášení

5. Fyziologická podstata variability v pigmentaci ptačích skořápky

Na sytost pigmentace skořápky mají vliv děje, které jsou fyziologickou odpovědí na podněty okolního prostředí. Kvalitu a barevnost skořápky tedy pravděpodobně ovlivňují například stres, teplota prostředí či délka fotoperiody skrze hladiny steroidních hormonů v krvi samice. V této kapitole se budu zabývat právě těmito vlivy.

5.1 Vliv oxidativního stresu

V mezibuněčných drahách poskytujících ochranu proti oxidativnímu stresu hrají významnou roli tzv. „Heat-shock“ proteiny (dále jen HSP), zejména HSP70 (Moreno et al. 2013). Rozdílná syntéza HSP je stále častěji využívána jako indikátor stresu u populací divokých zvířat (Herring and Gawlik 2007). Tradičně je v literatuře kladen důraz na environmentální stres v důsledku vystavení vysokým teplotním extrémům, radiaci, toxickým látkám apod. (Moreno et al. 2013; Lindquist 1986). Za takových podmínek mohou nastat chyby ve struktuře a funkci proteinů, jež vyžadují „systém pro kontrolu kvality proteinů“, aby byl omezen jejich vliv na buněčnou homeostázi. HSP představují klíčový komponent v tomto systému a jejich syntéza zaručuje funkčnost buněk i v nejdůležitějších environmentálních podmínkách, jež leží na hranici organické tolerance (Feder and Hofmann 1999). Klíčový aspekt funkce HSP je viditelný v jejich přítomnosti v organismech tak odlišných jako jsou bakterie a obratlovci a při ohromujícím evolučním konzervatismu v chemické struktuře a kompozici HSP (Schlesinger et al. 1990).

Nejčastěji studovanými HSP ptáků jsou HSP60 a HSP70 (Herring and Gawlik 2007). HSP70 je v některých studiích ptáků spojován s vystavením stresorům (Morales et al. 2004; Morales et al. 2006). Většina stresových faktorů vedoucích k syntéze HSP indukuje v buňkách oxidativní stres. V mezibuněčných drahách hraje tudíž klíčovou roli HSP, jež je základem pro ochranu proti oxidativnímu stresu, zejména HSP70 (Calabrese et al. 2012). Hladina HSP70 v krvi by tedy mohla být vztažena k míře oxidativního stresu (Moreno et al. 2013).

Předpokládá se, že samice ptačích druhů kladoucí modro zelená vejce ukazují svou kapacitu antioxidantů skrze antioxidant a skořápkový pigment biliverdin (Moreno and Osorno 2003). Navíc by intenzita modro zeleného zbarvení měla odrážet náklady z hlediska oxidativního stresu v důsledku použití antioxidantu na pigmentaci vaječné skořápky. Proto lze očekávat souvislost mezi antioxidační kapacitou organismu samice a pigmentací skořápky u druhů s modro zelenými vaječnými skořápkami (Moreno et al. 2013).

Moreno et al. (2013) ve své studii provedli experiment, při kterém pokusné skupině lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*) odstranili hnízda, aby byli ptáci nuceni postavit je znovu. Jejich studie ukázala, že HSP70 pozitivně, i když slabě, koreluje s kapacitou antioxidantů v krevní plasmě, a že vykazuje silný pozitivní vztah s intenzitou modro zeleného zbarvení skořápky. Zjištění, že modro-zelená pigmentace pozitivně koreluje s množstvím HSP70 v krvi samice, je v souladu s předchozí studií Morales et al. (2008). Alternativní vysvětlení by mohlo být založeno na regulaci v transportu pigmentů skrze skořápkovou žlázu (Zhao et al. 2006). Aktivace transportu biliverdinu ve skořápkové žláze může být regulována antioxidantním potenciálem snášející samice. Vysoký antioxidantní potenciál vyjádřen aktivovanou syntézou HSP70 v krvinkách může dovolit zvýšenou pigmentaci vaječné skořápky. Vyšší hladina HSP70 je také pozitivně vztažena k množství pigmentu skvrnitých skořápek, i když se v tomto případě jedná o protoporphyrin, jenž naopak oxidativní stres indukuje (Martínez-de la Puente et al. 2007). U sýkory modřinky (*Cyanistes caeruleus*) může tedy být zbavování se protoporphyrinu skrze vejce vztaženo k silné antioxidantní obraně vyjádřené hladinou HSP70 v krevních buňkách nebo naopak signálem pro zvýšenou oxidativní zátěž samice (Moreno et al. 2013).

Podobně intenzivně modře zbarvená vejce tedy mohou indikovat aktivovanou antioxidantní obranu samice (Moreno et al. 2013).

5.2 Vliv pohlavních steroidních hormonů a vitamínu D₃

„Calcium-binding protein“ (CaBP) je zřejmě rozdělující a/nebo transportující protein vápníku, který je přítomný ve střevech, ledvinách, mozku, kostech a skořápkové žláze slepice domácí (Navickis et al. 1979; Christakos and Norman 1978; Wasserman et al. 1974). Ve střevech vitamín D₃ (cholecalciferol) převážně, pokud ne výhradně, indukuje syntézu CaBP (Navickis et al. 1979; Wasserman et al. 1974). V ostatních orgánech obsahujících tento protein nebyla regulace CaBP plně definována (Navickis et al. 1979; Friedlander et al. 1978; Antillon et al. 1977; Bar et al. 1975; Wasserman et al. 1974; Bar and Hurwitz 1973; Taylor and Wasserman 1972). Další výzkum se zaměřil na faktory regulující hladinu CaBP ve skořápkové žláze, orgánu jenž v těle slepice vykazuje nejvyšší míru transportu vápníku (Navickis et al. 1979; Taylor and Stringer 1965). Dodávání vitamínu D₃ vitamín D-deficientním snášejícím samicím mělo za následek zvýšení hladiny CaBP ve skořápkové žláze (Navickis et al. 1979; Corradino et al. 1968; Antillon et al. 1977), ale žádné další faktory nevykázaly vliv na hladinu CaBP ve skořápkové žláze (Navickis et al. 1979). Je pravděpodobné a v mnoha studiích i prokázané, že pohlavní steroidní hormony mohou hrát roli v modifikaci aktivity vitamínu D (Navickis et al. 1979; Baski and Kenny 1978; Nicholson et al. 1976), nebo přímo ovlivňovat skořápkovou žlázu, jelikož je tato žláza známa jako cílová tkáň působení estrogenu (Navickis et al. 1979; Ljungkvist 1967). Navickis et al.

(1979) při testování hypotézy o přímém a nepřímém vlivu pohlavních steroidních hormonů na CaBP ve skořápkové žláze sedmi až desetitýdenních kuřat měřil po *in vivo* injekcích diethylstilbesterolu (DES), progesteronu, testosteronu a vitamínu D, zvlášť a nebo jejich kombinacích, imunoreaktivní vápník vázající protein.

Výsledky studie ukázaly, že diethylstilbesterol zvyšuje hladinu CaBP ve skořápkové žláze vitamín D-deficientních i vitamín D-nedeficientních kuřat, potvrzující tak nezávislost svého vlivu na vitamínu D₃. Zbývá už jen otázka, zda DES působí přímo nebo nepřímo. Pokud by působil přímo, mohl by stimulovat syntézu CaBP nebo pozměnit konfiguraci již existujících molekul CaBP do imunoreaktivní formy (Navickis et al. 1979). DES by také mohl zvyšovat CaBP nepřímo tím, že by zvětšoval relativní proporce buněk skořápkové žlázy, ve kterých je CaBP vyráběno, nebo stimulací produkce dalších hormonů nebo faktorů, v důsledku čehož dojde ke stimulaci produkce CaBP (Navickis et al. 1979). Naproti tomu DES sám o sobě nevykazoval žádný vliv na malé až neexistující hladiny CaBP ve střevech vitamín D-deficientních kuřat, přestože působil synergicky s vitamínem D₃ na zvýšení hladiny CaBP v této tkáni (Navickis et al. 1979, Navickis 1978). Neschopnost zvýšit hladinu CaBP ve střevech vitamín D-deficientních kuřat indikuje, že DES nezvyšuje hladiny CaBP v „shell gland“ pouze podpořením vlivu nízkých hladin vitamínu D₃. Kdyby tomu tak bylo, střevní hladiny CaBP by se u vitamín D-deficientních kuřat po podání DES také zvýšily (Navickis et al. 1979).

Progesteron inhiboval diethylstilbesterolem stimulované zvýšení hladiny CaBP ve skořápkové žláze v každém testovaném případě (Navickis et al. 1979). Zbývá vysvětlit mechanismus jeho antagonismu. Literatura uvádí bezpočet případů progesteronního antagonismu k vlivu estrogenu (Navickis et al. 1979; Bhakoo and Katzenellenbogen 1977; West et al. 1976; Pavlik and Coulson 1976; Tseng and Grupide 1975; Huesh et al. 1975; Brenner and West 1975) pravděpodobně inhibicí *de novo* syntézy estrogenových receptorů (Navickis et al. 1979; Bhakoo and Katzenellenbogen 1977; Huesh et al. 1976). Progesteron se také mění s typem buněčné odpovědi na estrogen. V tělech myši a krys podání progesteronu podpořilo estrogenem vyvolanou mitozu epitelárních buněk uteru a způsobilo mitotickou odpověď na estradiol ve stromatu uretu (Navickis et al. 1979; Clark 1973; Tachi et al. 1972; Martin et al. 1970). V kontrastu k antagonismu progesteronu na zvýšení koncentrace CaBP, zvýšení hmotnosti skořápkové žlázy (v mokřém stavu) a hypertrofie buněk tubulární žlázy vlivem DES, nebylo ovlivněno kodominantní progesteronovou administrací. Ať již pod vlivem DES nebo pod vlivem DES a progesteronu, histologie skořápkové žlázy kuřat se pod světelným mikroskopem nelišila (Navickis et al. 1979).

Nejvíce překvapující bylo zjištění, že vitamín D₃ není schopen znatelně zvýšit hladinu CaBP. U všech slepic bez podání DES byla redukována populace buněk tubulární žlázy tak, že CaBP by nebylo možné detekovat použitými testovacími metodami i kdyby byl přítomen.

Každopádně měl vitamín D₃ jen malý, pokud vůbec nějaký vliv na DES-stimulované skořápkové žlázy, které mají výtečnou proliferaci buněk tubulární žlázy. V kontrastu k tomu Vitamín D₃ stimuloval znatelné navýšení CaBP ve střevech oněch kuřat (Navickis et al. 1979; Navickis et al. 1978). S ohledem na další výzkumy ukazující, že vitamín D může zvýšit hladinu CaBP ve skořápkové žláze snášející slepice, je možné, že neschopnost vitamínu D₃ působit ve slepici indikuje nekompetenci DES-diferencovaných buněk tubulární žlázy odpovědět na stimulaci vitamínem D (Navickis et al. 1979; Antillon et al. 1977; Corradino et al. 1968).

Testosteron sám o sobě neevokoval žádný nárůst CaBP ve skořápkové žláze. V jednom případě, kdy působil synergicky s DES, aby zvýšil hladinu CaBP, je možné že to je reflexe synergismu s DES k disproporčnímu zvýšení populace buněk tubulární žlázy, která obsahuje CaBP (Navickis et al. 1979).

Důležitým zjištěním bylo, že navzdory stálému dodávání byla maximální koncentrace CaBP indukovaná ve skořápkové žláze, pouze šestinová oproti koncentraci naměřené ve skořápkové žláze snášející slepice. Každopádně tato kalkulace nebere v úvahu, že procento buněk tubulární žlázy se může lišit ve skořápkové žláze slepice snášející vejce a DES-stimulovaného kuřete (Navickis et al. 1979).

Estrogen se ukázal jako stimulant produkce CaBP ve skořápkové žláze kuřete. Vztahy mezi tímto efektem a efektem způsobeným ostatními hormony nebo regulačními faktory a/ nebo vývojovými změnami poskytnou důležitý náhled do fyziologie vejce v dospělé slepici (Navickis et al. 1979).

5.3 Efekt fotoperiody

Skoro u všech druhů ptáků je reprodukční aktivita sezónní a fotoperioda je klíčová k určení, zda se ptáci budou rozmnožovat (Srivastava et al. 2007; Dawson et al. 2001; Farner and Follett 1966). Například u křepelky japonské (*Coturnix coturnix japonica*), stejně tak jako u většiny druhů, dlouhé dny působí gonado-stimulačně a krátké dny působí gonado-inhibičně. Nicméně, reprodukční aktivitu japonské křepelky lze udržovat libovolně dlouho, pokud je „délka dne“ udržována umělým osvětlením, jako je tomu v laboratořích nebo v drůbežárnách (Srivastava et al. 2007). Křepelky japonské vykazují tzv. „fotorefraktorii“ po uplynutí dvanácti týdnů, jenž se projevuje (v podobě regrese pohlavních žláz) pouze v případě, že jsou křepelky převedeny na relativně krátký/ střední den. Navíc, pokud je tento druh ponechán v přírodních světelných podmínkách, projeví se roční gonádový cyklus reprodukce během dlouhých letních dnů a gonádový klid během krátkých dnů v zimě, stejně jako tomu je u ostatních sezónně hnízdících fotoperiodických druhů. Nicméně, na rozdíl od většiny fotoperiodických druhů mírného podnebného pásma, jenž vykazují absolutní „fotorefraktorii“, křepelky japonské vykazují pouze relativní „fotorefraktorii“ (Srivastava et

al. 2007; Chaturvedi et al. 1993; Nicholls et al. 1988; Robinson and Follett 1982).

Arginin-vasotocin (AVT) je ptačí neurohypofýzní peptid, syntetizovaný hypothalamickými magnocelulárními neurony a sekretovaný z hypofýzy. AVT plní několik důležitých regulačních funkcí u nesavčích obratlovců (Srivastava et al. 2007; Wheatley et al. 1997). AVT u ptáků reguluje rovnováhu tekutin (Srivastava et al. 2007; Chaturvedi et al. 1994; Koike et al. 1977), tlak krve (Srivastava et al. 2007; Jacoby et al. 1997; Szczepanska-Sadowska et al. 1985) a odpověď na stres (Srivastava et al. 2007; Romero et al. 1998; Castro et al. 1986). Kromě toho má AVT vliv na reprodukční chování (Grossmann et al. 2002) a stimulační účinky na kontraktilitu skořápkové žlázy a kladení vajíček (Srivastava et al. 2007; Koike et al. 1988; Shimada et al. 1986; Rice et al. 1985; Sturkey and Lin 1966). Zajímavé je, že AVT a AVT-genový transkript byly zdokumentovány v ovariu slepic, potvrzující tak parakrinní vliv AVT na reprodukční orgány. V ovariu se hladina AVT mění během ovipozičního cyklu (Srivastava et al. 2007; Saito and Grossmann 1999).

Vliv AVT je zprostředkován receptory na povrchu buněk, které patří do G-protein receptorové skupiny. Pro výzkumné účely byly ze slepice (*Gallus gallus*) naklonovány tři AVT receptory (Baeyens and Cornett 2006). Vliv AVT na kontraktilitu skořápkové žlázy se zdá být zprostředkován dvěma AVT receptory, a to VT1 a VT3 subtipy (Tan et al. 2000). U slepic je exprese VT3 receptoru pravděpodobně vázána na myometrium (Gubrij et al. 2005), zatímco exprese VT1 je pravděpodobně omezena na endometrium (Srivastava et al. 2007). Zaznamenané poznatky naznačují, že projev receptoru AVT ve skořápkové žláze slepic je regulován v průběhu ovulačního/ovipozičního cyklu. Použitím radioligandových testů bylo zjištěno, že hladiny AVT receptorů dosahují vrcholu asi tři hodiny před ovipozicí (Srivastava et al. 2007; Takahashi et al. 1994). Novější studie však ukázala, že hladiny VT1 receptoru mRNA dosahují maxima při ovipozici (Seth et al. 2004).

Většina důkazů podporujících hypotézu, že AVT je oxitocinový hormon ptáků, pochází ze studií prováděných na slepicích (*G. gallus*) (Jurkevich and Grossmann 2003). Podpůrná pozorování pro tuto hypotézu jsou přechodná zvýšení hladiny AVT v plasmě během ovipozice (Srivastava et al. 2007; Arad and Skadhauge 1984; Nouwen et al. 1984; Rice et al. 1985; Shimada et al., 1986; Tanaka et al. 1984), stimulace kontraktility uteru *in vitro* pomocí AVT (Srivastava et al. 2007; Koike et al. 1988) a přítomnost AVT vazebných míst ve skořápkové žláze (Srivastava et al. 2007; Takahashi et al. 1994; Koike et al. 1988). Existuje relativně málo záznamů, potvrzujících že AVT hraje podobnou roli u jiných ptačích druhů. Jeden takovýto druh, křepelka japonská (*Coturnix coturnix japonica*) je široce využíván jako laboratorní zvíře (Chaturvedi et al. 2000; Balthazart et al. 2003; Le Douarin 2004; Singh and Chaturvedi 2006). Z fylogenetického hlediska je japonská křepelka blízce příbuzná se slepicí (Srivastava et al. 2007; Stock and Bunch 1982) a pozdější studie odhalily vysoce konzervovanou homologii chromosomů mezi slepicí a japonskou křepelkou (Shibusawa et al.

2001; Kayang et al. 2004; Kayang et al. 2006).

Šetrná analýza všech členů vasopressin / oxitocinové receptorové skupiny ukázala, že VT3 receptor je nejpříbuznější se savčími oxitocinovými receptory a mesotocinovými receptory nesavčích obratlovců (Gubrij et al. 2005). Proto naznačuje přítomnost VT3 mRNA receptoru v myometriu skořápkové žlázy japonské křepelky, jak je stanoveno *in situ* hybridizací, že AVT je oxitocinový hormon u těchto druhů stejně jako u slepic (Gubrij et al. 2005).

Podle Srivastava et al. (2007) je možné, že genová exprese AVT a VT3 receptoru ve skořápkové žláze je regulována estrogenem a jeho antagonistou tamoxifenem. Tělesná hmotnost i aktivita skořápkové žlázy (hmotnost a délka slizničních záhybů) se zvýšily po podání estrogenu a snížily po podání tamoxifenu fotorefraktní a fotosenzitivní křepelce. Aktivita skořápkové žlázy byla také vyšší u fotosenzitivních ptáků v reprodukční fázi, kdy jsou hladiny estrogenu vysoké, v porovnání s fotorefraktními ptáky v reprodukční fázi, kdy jsou hladiny estrogenu nízké. Imunohistochemií bylo stanoveno, že hladiny imunoreaktivního AVT (ir-AVT) se zvýšily s exogenním estrogenem u fotorefraktních jedinců, ale snížily se po podání tamoxifenu fotosenzitivním ptákům (Srivastava et al. 2007). Pozdější *in situ* hybridizační analýza ukázala, že podání estrogenu fotorefraktním ptákům mělo také za následek zvýšení hladiny VT3 receptoru genového transkriptu, zatímco podání tamoxifenu, antagonisty receptoru estrogenu, fotosenzitivním ptákům mělo za následek snížení hladiny VT3 (Srivastava et al. 2007). U několika druhů savců se hladina děložních oxitocinových receptorů zvyšuje pozdě v březosti, v době kdy se hladiny estrogenu zvyšují (Srivastava et al. 2007; Zingg et al. 1995). Ukázalo se, že estrogen zvyšuje počet oxitocinových receptorů a genový transkript v děložním myometriu některých savců (Srivastava et al. 2007; Larcher et al. 1995; Stevenson et al. 1994). U ovcí zvyšuje estrogen transkripci genu oxitocinového receptoru α pomocí GC bohatého SP1 ENHANCER ELEMENT (Fleming et al. 2006). Vzhledem k blízkému fylogenetickému vztahu ptačího VT3 receptoru se savčími oxitocinovými receptory, následuje po podání estrogenu zvýšení počtu VT3 receptorů a po podání tamoxifenu naopak následuje snížení počtu VT3 receptorů. Není proto překvapením, že exprese genu receptoru VT3 ve skořápkové žláze by mohla být řízena estrogenem (Srivastava et al. 2007).

Výsledky Srivastava et al. (2007) potvrzují, že receptorový subtyp VT3 je obsažen ve skořápkové žláze křepelky japonské. Vzhledem k tomu, že je obsažen v myometriu, existuje předpoklad, že VT3 může zprostředkovávat myometrální kontrakci při kladení vajíček. Dále jejich studie demonstrovala přítomnost AVT ve skořápkové žláze a je pravděpodobné, že AVT je produkován lokálně, jako je tomu u slepice domácí, i když toto tvrzení nebylo potvrzeno. Nakonec Srivastava et al. (2007) uvádí, že estrogen reguluje nejen předpokládanou aktivitu skořápkové žlázy, ale také může regulovat expresi receptorů AVT a VT3 ve skořápkové žláze. Podobnost mezi funkcí AVT-VT3 receptorů s oxitocinovými

receptorovými systémy savců naznačuje, že mechanismy regulace skořápkové žlázy nebo děložní aktivity při kladení vajec u nižších obratlovců mohou být evolučně konzervovány u savců (Srivastava et al. 2007).

6. Závěr

Cílem této práce bylo popsat skořápkové pigmenty, jejich syntézu a způsob deponace do skořápky. Dále popsat strukturu skořápky ptačího vejce a postup její tvorby v uteru samice. Neméně důležitým cílem bylo nastínit tradiční hypotézy vysvětlující evoluci a funkci zbarvení skořápky, jako je kryptická, popřípadě mimetická hypotéza. Neopomenutelnou součástí práce byly hlavně novější hypotézy, které nabízejí zcela nový pohled na funkci zbarvení vajec. Ať už je to funkce signální, kdy samice dává pomocí většího množství biliverdinu najevo, že ač je biliverdin antioxidant, je její tělesná kondice na tak dobré úrovni, že jí může „plýtvat“ na pigmentaci vaječné skořápky a tím lákat a stimulovat samce ke zvýšeným investicím do snůšky, nebo funkce podpurná, kdy je protoporphyrin využíván jako materiál pro zpevnění skořápky v místech, kde je vrstva vápníku tenká v důsledku nedostatku vápníku.

Tyto základy pak poslouží k pochopení dalších hlavních částí práce, zabývajících se samotnou variabilitou v pigmentaci ptačí skořápky. Variabilita v pigmentaci ptačích skořápek se pak dále dělí na mezidruhovou, která je dána primárně geneticky a vnitrodruhovou, kde hrají důležitou roli především environmentální vlivy působící na samici během hnízdního období, jako je dostupnost vápníku v prostředí, dostupnost potravy nebo teplota a vlhkost během doby snášení vajec. Takovéto vlivy pak vyvolají fyziologickou reakci, kdy je působením hormonů ovlivňována skořápková žláza a tím i pigmentace skořápky vejce.

Mnohé studie, ze kterých jsem čerpal, pracovaly až na výjimky s příbuznými nebo stejnými druhy, a to japonská křepelka (*Coturnix coturnix japonica*), kur domácí (*Gallus gallus* f. *Domestica*) plemene araukana, lejsek černohlavý (*Ficedula hypoleuca*), špaček černý (*Sturnus unicolor*), sýkora koňadra (*Parus major*) nebo sýkora modřinka (*Cyanistes caeruleus*). Jak již bylo naznačeno v textu, ne u všech druhů bylo dosaženo stejných výsledků. Je tedy zřejmé, že bude zapotřebí dalších studií, porovnávajících jedince v rámci různých populací nebo zkoumajících více druhů ptáků, které by poskytly nové poznatky, důležité pro podporu nebo vyvrácení nových hypotéz.

Použitá literatura

- Adkerson, Tim. 2014. "A Review of Egg Color in Chickens." Accessed March 17. <http://maranschickenclubusa.com/files/eggreview.pdf>.
- Avilés, Jesús M., Bård G. Stokke, Arne Moksnes, Eivinv Røskoft, and Anders P. Møller. 2006. "Environmental Conditions Influence Egg Color of Reed Warblers *Acrocephalus Scirpaceus* and Their Parasite, the Common Cuckoo *Cuculus Canorus*." *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61 (3): 475–85. doi:10.1007/s00265-006-0275-0.
- Baeyens, Dennis A., and Lawrence E. Cornett. 2006. "The Cloned Avian Neurohypophysial Hormone Receptors." *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 143 (1): 12–19. doi:10.1016/j.cbpb.2005.09.012.
- Balthazart, J., M. Baillien, T.D. Charlier, C.A. Cornil, and G.F. Ball. 2003. "The Neuroendocrinology of Reproductive Behavior in Japanese Quail." *Domestic Animal Endocrinology* 25 (1): 69–82. doi:10.1016/S0739-7240(03)00046-8.
- Berg, Elena C., John E. McCormack, and Thomas B. Smith. 2009. "Test of an Adaptive Hypothesis for Egg Speckling along an Elevational Gradient in a Population of Mexican Jays *Aphelocoma Ultramarina*." *Journal of Avian Biology* 40 (4): 448–52. doi:10.1111/j.1600-048X.2008.04632.x.
- Bureš, Stanislav, and Karel Weidinger. 2003. "Sources and Timing of Calcium Intake during Reproduction in Flycatchers." *Oecologia* 137 (4): 634–41. doi:10.1007/s00442-003-1380-7.
- Calabrese, Vittorio, Carolin Cornelius, Albena T. Dinkova-Kostova, Ivo Iavicoli, Rosanna Di Paola, Aleardo Koverech, Salvatore Cuzzocrea, Enrico Rizzarelli, and Edward J. Calabrese. 2012. "Cellular Stress Responses, Hormetic Phytochemicals and Vitagenes in Aging and Longevity." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1822 (5): 753–83. doi:10.1016/j.bbadis.2011.11.002.
- Cassey, Phillip, John G. Ewen, Tim M. Blackburn, Mark E. Hauber, Misha Vorobyev, and N. Justin Marshall. 2008. "Eggshell Colour Does Not Predict Measures of Maternal Investment in Eggs of *Turdus Thrushes*." *Naturwissenschaften* 95 (8): 713–21. doi:10.1007/s00114-008-0376-x.
- Chaturvedi, Chandra Mohini, Aditya Chowdhary, P. Timothy Wall, Thomas I. Koike, and Lawrence E. Cornett. 2000. "A Sexual Dimorphism in Hypothalamic Arginine Vasotocin (AVT) Gene Expression and AVT Plasma Levels in the Japanese Quail (*Coturnix Coturnix Japonica*) in Response to Water Deprivation." *General and Comparative Endocrinology* 117 (1): 129–37. doi:10.1006/gcen.1999.7400.

- De Coster, Greet, Liesbeth De Neve, and Luc Lens. 2013. "Intra-Clutch Variation in Avian Eggshell Pigmentation Covaries with Female Quality." *Journal of Ornithology* 154 (4): 1057–65. doi:10.1007/s10336-013-0974-z.
- Duval, C., P. Cassey, I. Miksik, S. J. Reynolds, and K. A. Spencer. 2013. "Condition-Dependent Strategies of Eggshell Pigmentation: An Experimental Study of Japanese Quail (*Coturnix Coturnix Japonica*)." *Journal of Experimental Biology* 216 (4): 700–708. doi:10.1242/jeb.077370.
- Feder, Martin E., and Gretchen E. Hofmann. 1999. "Heat-Shock Proteins, Molecular Chaperones, and the Stress Response: Evolutionary and Ecological Physiology." *Annual Review of Physiology* 61 (1): 243–82.
- Fleming, JoAnn G. W., Thomas E. Spencer, Stephen H. Safe, and Fuller W. Bazer. 2006. "Estrogen Regulates Transcription of the Ovine Oxytocin Receptor Gene through GC-Rich SP1 Promoter Elements." *Endocrinology* 147 (2): 899–911. doi:10.1210/en.2005-1120.
- Gaisler Jiří, and Zima Jan. 2007. *Zoologie Obratlovců*. 2. vydání. Praha: Academia.
- García-Navas, Vicente, Juan José Sanz, Santiago Merino, Josué Martínez-de la Puente, Elisa Lobato, Sara Cerro, Juan Rivero, Rafael Ruiz de Castañeda, and Juan Moreno. 2011. "Experimental Evidence for the Role of Calcium in Eggshell Pigmentation Pattern and Breeding Performance in Blue Tits *Cyanistes Caeruleus*." *Journal of Ornithology* 152 (1): 71–82. doi:10.1007/s10336-010-0551-7.
- Gosler, A. G., P. R. Barnett, and S. James Reynolds. 2000. "Inheritance and Variation in Eggshell Patterning in the Great Tit *Parus Major*." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267 (1461): 2469–73. doi:10.1098/rspb.2000.1307.
- Gosler, Andrew G., James P. Higham, and S. James Reynolds. 2005. "Why Are Birds' Eggs Speckled?: Why Are Birds' Eggs Speckled?" *Ecology Letters* 8 (10): 1105–13. doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00816.x.
- Graveland, JAAP, and TEUN Van Gijzen. 1994. "Arthropods and Seeds Are Not Sufficient as Calcium Sources for Shell Formation and Skeletal Growth in Passerines." *ARDEA-WAGENINGEN*- 82: 299–299.
- Griffith, Simon C., Iain Barr, Ben C. Sheldon, Louise V. Rowe, and Terry Burke. 2009. "Egg Patterning Is Not a Reliable Indicator of Intraspecific Brood Parasitism in the Blue Tit *Cyanistes Caeruleus*." *Journal of Avian Biology* 40 (3): 337–41. doi:10.1111/j.1600-048X.2009.04671.x.
- Grossmann, Roland, Aleksandr Jurkevich, and Almut Köhler. 2002. "Sex Dimorphism in the Avian Arginine Vasotocin System with Special Emphasis to the Bed Nucleus of the Stria Terminalis." *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 131 (4): 833–37.

- Gubrij, Konstantin I., Chandra M. Chaturvedi, Nawab. Ali, Lawrence E. Cornett, John D. Kirby, James Wilkerson, Marina Mikhailova, Michael L. Turner, and Dennis A. Baeyens. 2005. "Molecular Cloning of an Oxytocin-like Receptor Expressed in the Chicken Shell Gland." *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 142 (1): 37–45.
doi:10.1016/j.cbpc.2005.05.011.
- Hanley, Daniel, and Stéphanie M. Doucet. 2009. "Egg Coloration in Ring-Billed Gulls (Larus Delawarensis): A Test of the Sexual Signaling Hypothesis." *Behavioral Ecology and Sociobiology* 63 (5): 719–29. doi:10.1007/s00265-008-0705-2.
- Hargitai, Rita, Gergely Nagy, Márton Herényi, and János Török. 2013. "Effects of Experimental Calcium Availability, Egg Parameters and Laying Order on Great Tit Parus Major Eggshell Pigmentation Patterns." *Ibis* 155 (3): 561–70.
- Hernández-Hernández, A., J. Gómez-Morales, A. B. Rodríguez-Navarro, J. Gautron, Y. Nys, and J. M. García-Ruiz. 2008. "Identification of Some Active Proteins in the Process of Hen Eggshell Formation †." *Crystal Growth & Design* 8 (12): 4330–39.
doi:10.1021/cg800786s.
- Herring, Garth, and Dale E. Gawlik. 2007. "The Role of Stress Proteins in the Study of Allostatic Overload in Birds: Use and Applicability to Current Studies in Avian Ecology." *The Scientific World JOURNAL* 7: 1596–1602. doi:10.1100/tsw.2007.242.
- J. Moreno and Lobato E, Merino S, Tomas G, Martinez-de la Puente J. 2005. "Evidence for the Signaling Function of Egg Color in the Pied Flycatcher Ficedula Hypoleuca." *Behavioral Ecology* 16 (5): 931–37. doi:10.1093/beheco/ari072.
- Jurkevich, A., and R. Grossmann. 2003. "Vasotocin and Reproductive Functions of the Domestic Chicken." *Domestic Animal Endocrinology* 25 (1): 93–99.
doi:10.1016/S0739-7240(03)00048-1.
- Kaur, Harparkash, Martin N. Hughes, Colin J. Green, Patrick Naughton, Roberta Foresti, and Roberto Motterlini. 2003. "Interaction of Bilirubin and Biliverdin with Reactive Nitrogen Species." *FEBS Letters* 543 (1-3): 113–19. doi:10.1016/S0014-5793(03)00420-4.
- Kayang, B. B., A. Vignal, M. Inoue-Murayama, M. Miwa, J. L. Monvoisin, S. Ito, and F. Minvielle. 2004. "A First-Generation Microsatellite Linkage Map of the Japanese Quail." *Animal Genetics* 35 (3): 195–200. doi:10.1111/j.1365-2052.2004.01135.x.
- Kayang, Boniface B., Valérie Fillon, Miho Inoue-Murayama, Mitsuru Miwa, Sophie Leroux, Katia Fève, Jean-Louis Monvoisin, et al. 2006. "Integrated Maps in Quail (Coturnix Japonica) Confirm the High Degree of Synteny Conservation with Chicken (Gallus Gallus) despite 35 Million Years of Divergence." *BMC Genomics* 7 (1): 101.

- Kilner, R. M. 2006. "The Evolution of Egg Colour and Patterning in Birds." *Biological Reviews* 81 (03): 383. doi:10.1017/S1464793106007044.
- Krist, Miloš, and Tomáš Grim. 2007. "Are Blue Eggs a Sexually Selected Signal of Female Collared Flycatchers? A Cross-Fostering Experiment." *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61 (6): 863–76. doi:10.1007/s00265-006-0315-9.
- Le Douarin, Nicole M. 2004. "The Avian Embryo as a Model to Study the Development of the Neural Crest: A Long and Still Ongoing Story." *Mechanisms of Development* 121 (9): 1089–1102. doi:10.1016/j.mod.2004.06.003.
- Liu, Hsiu-Chou, and Winston Teng-Kuei Cheng. 2010. "Eggshell Pigmentation: A Review." *J. Chin. Soc. Anim. Sci* 39 (2): 75–89.
- López-Rull, Isabel, Patricia Celis, and Diego Gil. 2007. "Egg Colour Covaries with Female Expression of a Male Ornament in the Spotless Starling (*Sturnus Unicolor*): Egg Colouration in the Spotless Starling." *Ethology* 113 (10): 926–33. doi:10.1111/j.1439-0310.2007.01400.x.
- Mägi, M., R. Mänd, A. Konovalov, V. Tilgar, and S. J. Reynolds. 2012. "Testing the Structural–function Hypothesis of Eggshell Maculation in the Great Tit: An Experimental Approach." *Journal of Ornithology* 153 (3): 645–52. doi:10.1007/s10336-011-0782-2.
- Martínez-de la Puente, Josué, Santiago Merino, Juan Moreno, Gustavo Tomás, Judith Morales, Elisa Lobato, Sonia García-Fraile, and Javier Martínez. 2007. "Are Eggshell Spottiness and Colour Indicators of Health and Condition in Blue Tits *Cyanistes Caeruleus*?" *Journal of Avian Biology* 38 (3): 377–84.
- Mikšík, I., V. Holáň, and Z. Deyl. 1996. "Avian Eggshell Pigments and Their Variability." *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 113 (3): 607–12. doi:10.1016/0305-0491(95)02073-X.
- Morales, J., J. Moreno, E. Lobato, S. Merino, G. Tomas, J. Martinez De La Puente, and J. Martinez. 2006. "Higher Stress Protein Levels Are Associated with Lower Humoral and Cell-Mediated Immune Responses in Pied Flycatcher Females." *Functional Ecology* 20 (4): 647–55. doi:10.1111/j.1365-2435.2006.01139.x.
- Morales, J., J. J. Sanz, and J. Moreno. 2006. "Egg Colour Reflects the Amount of Yolk Maternal Antibodies and Fledging Success in a Songbird." *Biology Letters* 2 (3): 334–36. doi:10.1098/rsbl.2006.0471.
- Morales, Judith, Juan Moreno, Santiago Merino, Gustavo Tomás, Javier Martínez, and Laszlo Zsolt Garamszegi. 2004. "Associations between Immune Parameters, Parasitism, and Stress in Breeding Pied Flycatcher (*Ficedula Hypoleuca*) Females." *Canadian Journal of Zoology* 82 (9): 1484–92. doi:10.1139/z04-132.

- Morales, Judith, Suvi Ruuskanen, Toni Laaksonen, Tapio Eeva, Rafael Mateo, Eugen Belskii, Elena V. Ivankina, et al. 2013. "Variation in Eggshell Traits between Geographically Distant Populations of Pied Flycatchers *Ficedula Hypoleuca*." *Journal of Avian Biology* 44 (2): 111–20. doi:10.1111/j.1600-048X.2012.05782.x.
- Morales, Judith, Alberto Velando, and Juan Moreno. 2008. "Pigment Allocation to Eggs Decreases Plasma Antioxidants in a Songbird." *Behavioral Ecology and Sociobiology* 63 (2): 227–33. doi:10.1007/s00265-008-0653-x.
- Moreno et al. 2006a. "Experimental Evidence That Egg Color Indicates Female Condition at Laying in a Songbird." *Behavioral Ecology* 17 (4): 651–55. doi:10.1093/beheco/ark014.
- Moreno, Juan, Judith Morales, Elisa Lobato, Santiago Merino, Gustavo Tomás, and Josué Martínez-de la Puente. 2006b. "More Colourful Eggs Induce a Higher Relative Paternal Investment in the Pied Flycatcher *Ficedula Hypoleuca*: A Cross-Fostering Experiment." *Journal of Avian Biology* 37 (6): 555–60.
- Moreno, Juan, Judith Morales, and Javier Martínez. 2013. "HSP70 Level in Blood Is Associated with Eggshell Blue-Green Colouration the Pied Flycatcher." *Avian Biology Research* 6 (4): 297–301. doi:10.3184/175815513X13805559244972.
- Moreno, Juan, José L. Osorno, Judith Morales, Santiago Merino, and Gustavo Tomás. 2004. "Egg Colouration and Male Parental Effort in the Pied Flycatcher *Ficedula Hypoleuca*." *Journal of Avian Biology* 35 (4): 300–304.
- Moreno, Juan, and Jose Luis Osorno. 2003. "Avian Egg Colour and Sexual Selection: Does Eggshell Pigmentation Reflect Female Condition and Genetic Quality?" *Ecology Letters* 6 (9): 803–6. doi:10.1046/j.1461-0248.2003.00505.x.
- Navickis, R. J., B. S. Katzenellenbogen, and A. V. Nalbandov. 1979. "Effects of the Sex Steroid Hormones and Vitamin D3 on Calcium-Binding Proteins in the Chick Shell Gland." *Biology of Reproduction* 21 (5): 1153–62.
- Ramsay, Scot L., and David C. Houston. 1997. "Nutritional Constraints on Egg Production in the Blue Tit: A Supplementary Feeding Study." *Journal of Animal Ecology*, 649–57.
- Reynolds, S. James, Graham R. Martin, and Phillip Cassey. 2009. "Is Sexual Selection Blurring the Functional Significance of Eggshell Coloration Hypotheses?" *Animal Behaviour* 78 (1): 209–15. doi:10.1016/j.anbehav.2009.03.003.
- Reynolds, S. James, Stephan J. Schoech, and Reed Bowman. 2003. "Nutritional Quality of Prebreeding Diet Influences Breeding Performance of the Florida Scrub-Jay." *Oecologia* 134 (3): 308–16.
- Sahin, Nurhan, Muhittin Onderci, and Kazim Sahin. 2002. "Effects of Dietary Chromium and Zinc on Egg Production, Egg Quality, and Some Blood Metabolites of Laying Hens

- Reared under Low Ambient Temperature.” *Biological Trace Element Research* 85 (1): 47–58.
- Sahin, Nurhan, Kazim Sahin, and Muhittin Onderci. 2003. “Vitamin E and Selenium Supplementation to Alleviate Cold-Stress-Associated Deterioration in Egg Quality and Egg Yolk Mineral Concentrations of Japanese Quails.” *Biological Trace Element Research* 96 (1-3): 179–89.
- Sanz, Juan José, and Vicente García-Navas. 2009. “Eggshell Pigmentation Pattern in Relation to Breeding Performance of Blue Tits *Cyanistes Caeruleus*.” *Journal of Animal Ecology* 78 (1): 31–41. doi:10.1111/j.1365-2656.2008.01465.x.
- Schlesinger, Milton J., and others. 1990. “Heat Shock Proteins.” *J Biol Chem* 265 (21): 12111–14.
- Schoech, Stephan J. 1996. “The Effect of Supplemental Food on Body Condition and the Timing of Reproduction in a Cooperative Breeder, the Florida Scrub-Jay.” *Condor*, 234–44.
- Seth, R., Y.X. Xu, R. Grossmann, and C.M. Chaturvedi. 2004. “Changes in Expression of AVT and AVT Receptor (VT1) Gene in Hypothalamus and Shell Gland in Relation to Egg Laying in White Leghorn Hen.” *General and Comparative Endocrinology* 137 (2): 177–86. doi:10.1016/j.ygcen.2004.03.003.
- Shibusawa, M., S. Minai, C. Nishida-Umehara, T. Suzuki, T. Mano, K. Yamada, T. Namikawa, and Y. Matsuda. 2001. “A Comparative Cytogenetic Study of Chromosome Homology between Chicken and Japanese Quail.” *Cytogenetic and Genome Research* 95 (1-2): 103–9. doi:10.1159/000057026.
- Siefferman, Lynn, Kristen J. Navara, and Geoffrey E. Hill. 2006. “Egg Coloration Is Correlated with Female Condition in Eastern Bluebirds (*Sialia Sialis*).” *Behavioral Ecology and Sociobiology* 59 (5): 651–56. doi:10.1007/s00265-005-0092-x.
- Singh, Sajla, and Chandra Mohini Chaturvedi. 2006. “Effect of Long and Short Photoperiod on Vasotocin Neurons of Paraventricular Nuclei and Adrenal Function of Water Deprived Japanese Quail.” *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 143 (2): 202–10. doi:10.1016/j.cbpa.2005.11.022.
- Soler, Juan J., Juan Moreno, JesusM Aviles, and Anders P. Moller. 2005. “BLUE AND GREEN EGG-COLOR INTENSITY IS ASSOCIATED WITH PARENTAL EFFORT AND MATING SYSTEM IN PASSERINES: SUPPORT FOR THE SEXUAL SELECTION HYPOTHESIS.” *Evolution* 59 (3): 636–44.
- Soler, Juan J., Carlos Navarro, Tomás Pérez Contreras, Jesús M. Avilés, and José J. Cuervo. 2008. “Sexually Selected Egg Coloration in Spotless Starlings.” *The American Naturalist* 171 (2): 183–94. doi:10.1086/524958.

- Sparks, Nicholas H.C. 2011. "Eggshell Pigments – from Formation to Deposition." *Avian Biology Research* 4 (4): 162–67. doi:10.3184/175815511X13228269481875.
- Srivastava, Rashmi, Lawrence E. Cornett, and Chandra Mohini Chaturvedi. 2007. "Effect of Photoperiod and Estrogen on Expression of Arginine Vasotocin and Its Oxytocic-like Receptor in the Shell Gland of the Japanese Quail." *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 148 (2): 451–57. doi:10.1016/j.cbpa.2007.06.004.
- Tan, Fen-lai, Stephen J. Lolait, Michael J. Brownstein, Noboru Saito, Veronica MacLeod, Dennis A. Baeyens, Philip R. Mayeux, Stacie M. Jones, and Lawrence E. Cornett. 2000. "Molecular Cloning and Functional Characterization of a Vasotocin Receptor Subtype That Is Expressed in the Shell Gland and Brain of the Domestic Chicken." *Biology of Reproduction* 62 (1): 8–15.
- Vodrážka Zdeněk. 2002. *Biochemie*. Praha: Academia.
- Walters, Lindsey A., and Thomas Getty. 2010. "Are Brighter Eggs Better? Egg Color and Parental Investment by House Wrens: Wren Egg Color and Parental Investment." *Journal of Field Ornithology* 81 (2): 155–66. doi:10.1111/j.1557-9263.2010.00273.x.
- Zhao, R., G. Y. Xu, Z. Z. Liu, J. Y. Li, and N. Yang. 2006. "A Study on Eggshell Pigmentation." *Poultry Science* 85 (3): 546–49.

Seznam obrázků

Obrázek 1: Strukturní vzorec protoporphyrinu IX a biliverdinu IX (Liu and Cheng 2010; Lang and Wells 1987).	8
Obrázek 2: Schéma vrstev ptačí skořápky (převzato z: http://www.poultryhub.org/2010/10/new-research-explores-links-between-eggshell-quality-and-food-safety/ , 12. 8. 2014)	12

Seznam tabulek

Tabulka 1: Shrnující tabulka ke kapitole 3.1.1 Faktory omezující samici v deponaci skořápkových pigmentů (vlastní zdroj)	16
Tabulka 2: Shrnující tabulka ke kapitole 3.1.2 Vliv kvality samice na rozsah zbarvení vejce (vlastní zdroj)	17
Tabulka 3: Shrnující tabulka ke kapitole 3.1.3 Odraz kvality potomstva ve zbarvení vajec (vlastní zdroj)	18
Tabulka 4: Shrnující tabulka ke kapitole 3.1.4 Vliv zbarvení na investici samce do snůšky (vlastní zdroj)	20
Tabulka 5: Shrnující tabulka ke kapitole 3.2 Mechanická hypotéza (vlastní zdroj) ..	21
Tabulka 6: Shrnující tabulka ke kapitole 4.1 Dostupnost vápníku v prostředí (vlastní zdroj)	24
Tabulka 7: Shrnující tabulka ke kapitole 4.2 Dostupnost potravy v prostředí (vlastní zdroj)	25
Tabulka 8: Shrnující tabulka ke kapitole 4.3 Teplota a vlhkost prostředí (vlastní zdroj)	26