

# Autoreferát k disertační práci

Multi-component signalling in turtles and squamate reptiles  
Multikomponentní signalizace u želv a šupinatých plazů



Mgr. Jindřich Brejcha

*Katedra filosofie a dějin přírodních věd*

*Department of Philosophy and history of science*

2019

**Charles University/Karlova Univerzita**

**Faculty of Science/ Přírodovědecká fakulta**

Department of Philosophy and History of Science/ Katedra filosofie a dějin přírodních věd

Theoretical and Evolutionary Biology/ Teoretická a evoluční biologie



**Mgr. Jindřich Brejcha**

Multi-component signalling in turtles and squamate reptiles

Multikomponentní signalizace u želv a šupinatých plazů

Doctoral thesis

Supervisor:

doc. Mgr. Karel Kleisner PhD.

Prague, 2019

## *Abstrakt*

Multikomponentní signály jsou komplexní podněty, sestávající se z mnoha součástí, vnímané pouze jedním smyslovým orgánem. Barevné vzory na tělech živočichů mohou fungovat právě jako multikomponentní signály. Tato práce zahrnuje výsledky studií zabývajících se způsoby produkce barvy na povrchu těl želv a šupinatých plazů společně s poznámkami o relativistickém pojetí funkce takových barevných povrchů těl živočichů. Výsledky ukazují, že zbarvení želv, kterému byla do současnosti věnována pouze malá pozornost, je pod vlivem působení pohlavního výběru. Zbarvení želv je stejně jako zbarvení šupinatých plazů výsledkem upořádání různých typů pigmentových buněk v kůži. Želvy však mohou produkovat barvu svých těl také pomocí uspořádání vláken kolagenu v kůži, což je jev známý pouze u ptáků a savců. Mezi zkoumanými druhy se mechanismy produkce barvy povrchu těla výrazně liší, přestože jsou jednotlivé složky utvářející zbarvení mezi těmito druhy sdílené. Na příkladu polymorfních ještěrek je ukázáno, že kategorické rozdíly v barvě jednotlivých morf vznikají ve skutečnosti na základě kvantitativních rozdílů v obsahu jednotlivých pigmentů. Kvantita těchto pigmentů je však regulována dvěma konzervativními úseky DNA, které jsou sdílené mezi barevnými morfami napříč různými druhy. Želvy a plazi nabízejí užitečný pohled na evoluci multikomponentní signalizace, právě díky názornému a zajímavému složení jejich kůže. V rámci teoretického pojetí signalizace mezi živočichy se jeví přechod od chápání barevných povrchů jako jednoznačných signálů kvality ke konceptu multikomponentních dynamických procesů, které nabývají význam skrze interakce jedinců, jako slibným krokem pro lepší uchopení podstaty zvířecí komunikace

## *Abstract*

Multicomponent signals are complex stimuli directed to receptors of only single modality. Colourful ornaments of animals are multicomponent signals. In this thesis I present results of studies on the origin of coloration in turtles and squamate reptiles together with notes on relativistic view of the functionality of animal coloration. The results show that turtle coloration, which have been studied only marginally until now, is shaped by sexual selection. It is shown that turtles share mechanisms of coloration by vertical organization of different pigment cell types together with squamate reptiles. Turtles also produce colour by organization of collagen fibres which share trait with birds and mammals. Mechanisms of body coloration differ dramatically between closely related turtle species studied even though the individual constituting components are shared among these species. On the example of polymorphic lizards, it is shown that qualitative categorical difference between groups of individuals of the same population are maintained based on quantitative changes in pigment contents regulated by ancient loci shared by different species. The turtles and reptiles are valuable source of our knowledge on the evolution of multicomponent visual signalling due to their intriguing composition of skin. Transition from monocomponent-like understanding of colour signals as indicators, to study of multicomponent signalling as dynamical relativistic processes may represent promising direction in study of animal communication in the future.

## 1. Úvod

Zbarvení živočichů je multikomponentní znak, sestávající se z mnoha úrovní organizace. Jednotlivé složky zbarvení se mohou v evoluci vyvinout pro různé účely, ale teprve ko-opce těchto povrchů pro komunikační účely jim udílí jejich signalizační nebo i další funkce (Maran and Kleisner 2010; Kleisner 2011, 2015). Multikomponentní signál je komplexní vjem určený pouze pro jedinou smyslovou modalitu (těmi jsou zrak, sluch, čich a hmat). Naopak multimodální či polymodální signály jsou zpracovávány mnoha smysly najednou (Rowe 1999; Candolin 2003). Přestože toto rozdělení bylo dobře definováno již před dvěma desetiletími, v literatuře panuje okolo obojích pojmů stále zmatek a tyto pojmy jsou libovolně zaměňovány. V této práci používám pojem multikomponentní jako označení pro souhrn mnoha úrovní organizace (od molekulární, přes buněčnou až po ekologickou), které utvářejí signály určené pouze jedné smyslové modalitě. Funkce zbarvení jako signálu v období zvířecích námluv, varovných signálů, mimetického zbarvení či zbarvení kryptického, je určovaná právě vnímáním ostatních organismů (Chittka and Brockmann 2005; Ryan 2011; Prum 2012; Endler and Mappes 2017). Zbarvení je tak zajímavým a fascinujícím modelem pro studium podob jež živočichové nabývají a jejich vnímáním.

Vnitrodruhová komunikace, jako je například soupeření mezi členy jednoho pohlaví mezi sebou nebo výběr partnera k páření, často zahrnuje signalizaci pomocí barevných částí těla. Pokud k výběru partnera na základě nějakého znaku trvá mnoho generací, tzn. Na populaci působí pohlavní výběr, mohou vzniknout u tohoto znaku rozdíly mezi pohlavími. Rozdíl mezi pohlavími

## 1. Introduction

Animal colouration is a complex multicomponent morphological trait that exists on multiple levels of organisation, its component subunits evolve for various roles and may later be co-opted for communication or other functions (Maran and Kleisner 2010; Kleisner 2011, 2015). Multicomponent signals consist of complex inputs to single-modality receptors (i.e. vision, hearing, smell, or touch). Multimodal or polymodal signals, on the other hand, simultaneously activate multiple receptors belonging to different modalities (Rowe 1999; Candolin 2003). Yet although the distinction between multicomponent and multimodal signals has been clearly spelled out almost twenty years ago, many scholars still use the terms interchangeably. I understand multicomponency to mean a multilevel interplay of various levels of organisation of signals directed at receptors of just one modality. Functionality of colouration in epigamic displays, warning signals, mimicry, or cryptic colouration, is significantly co-determined by the relevant organisms' perception and cognition (Chittka and Brockmann 2005; Ryan 2011; Prum 2012; Endler and Mappes 2017). Animal colouration is an interesting and intriguing model to investigate if we want to better understand the interface between complementary processes, appearance, and perception.

Intraspecific communication involving colouration includes intrasexual signalling during aggressive behaviour or intersexual mate choice based on signalling during courtship. The evolutionary result of persistent mate choice, i.e. sexual selection, are differences between the sexes in the trait subject to such choice. In case of colour, the

v zbarvení se nazývá pohlavní dichromatismus. K odhadům vlivu působení pohlavního výběru na nějaký znak se často používá jako proxy korelace hodnot tohoto znaku s hodnotami rozdílu mezi pohlavími ve velikosti těla. U ještěřů (Pérez I de Lanuza et al. 2013, Ord et al. 2001) hodnoty dimorfismu ve velikosti těla pozitivně korelují s velikostí pohlavního dichromatismu. U většiny ještěřů jsou však samci větší než samice (Cox et al. 2007). Samice si mohou snadno vybírat mezi samci, pokud ti jsou menší nebo srovnatelně velcí a nemohou je ke kopulaci nutit, a tak spíše, než na roli výběru samic by trend u ještěřů mohl ukazovat na roli zbarvení v soubojích mezi samci. Pokud bychom tedy chtěli porozumět roli samic v utváření zbarvení samců, měli bychom se zaměřit na skupiny, kde jsou samice větší než samci. U většiny druhů želv jsou samice větší než samci (Ceballos et al. 2013). Želvy tak představují ideální modelovou skupinu pro studium vlivu pohlavního výběru na proměny zbarvení v kontextu kovariace s pohlavním velikostním dimorfismem. To je také téma studie zahrnuté v této disertační práci. Studie se zabývá vztahem mezi pohlavním velikostním dimorfismem, způsoby namluvního chování a přítomností pestrého zbarvení u mnoha druhů sladkovodních želv.

Ektotermní obratlovci (ryby, obojživelníci, hatérie, šupinatí plazi, želvy a krokodýli) vytvářejí zbarvení povrchu svých těl pomocí uspořádání mnoha typů pigmentových buněk ve škáře, od kterých se odráží neabsorbované světlo. Želvy, krokodýli a ptáci tvoří skupinu Archelosauria, která je sesterská ke skupině Lepidosauria, jenž zahrnuje všechny šupinaté plazi a hatérie (Crawford et al. 2015). Archelosauri prodělali v průběhu své evoluce dramatické změny ve své fyziologii, které vedli k endotermii u ptáků, a které ovlivnili i způsob

result is thus sexual dichromatism. To illustrate the role of sexual selection, sexual size dimorphism is often used as a proxy. In lacertids, the magnitude of sexual size dimorphism positively covaries with magnitude of sexual dichromatism (Pérez I de Lanuza et al. 2013) and the same correlation has also been found in iguanids (Ord et al. 2001). In most lizards, including lacertids and iguanidids, the males are larger than females (Cox et al. 2007). It may be that females can effectively choose mates only when the males are smaller or equal in size, because when the males are larger, females simply mate with winners of the male-male competition. To better understand the relation between sexual size dimorphism and sexual dichromatism in relation to intersexual selection, we need to compare taxa where female-biased and male-biased sexual size dimorphism are either balanced or females are mostly larger than males. Most turtle species exhibit female-biased sexual size dimorphism (Ceballos et al. 2013). Thus, turtles may represent ideal model to study the influence of intrasexual selection by testing covariance between sexual size dimorphism and colour traits. One of the works included in this thesis focuses on relation between courtship behaviour, sexual size dimorphism and presence of conspicuous body coloration among various species of freshwater turtles.

In ectothermic vertebrates, i.e. in fish, amphibians, tuatara, squamate reptiles, turtles, and crocodiles, colour is produced by interaction between the incident light and optic properties of different pigment cell types, which can be organised vertically in superimposed layers composed of various pigment cell types, xanthophores, iridophores, melanocytes, and melanophores, present in the dermis. In Archelosauria, a sister clade to

utváření barvy na povrchu jejich těl (Li et al. 2014; Eliason et al. 2016; Eliason and Clarke 2018). Ptáci produkují pouze jeden typ pigmentových buněk (Kelsh et al. 2009) a pro pestré zbarvení kůže museli podobně jako savci vytvořit nový způsob utváření barvy. Tím způsobem je speciální uspořádání vnitrobuněčných a extrabuněčných proteinů jako jsou keratiny nebo kolageny. Třetím novým způsobem určujícím paletu barev ptáků a savců je zvýšená tvarová diverzita organel v pigmentových buňkách. Ptáci jsou známí svou barevností a podobně tomu tak je i u ještěřů. Proto by mohlo být zajímavé tyto dvě nápadně zbarvené skupiny živočichů srovnat mezi sebou. Při takovém srovnání je ale třeba zahrnout i želvy a krokodýly, protože ti tvoří s ptáky monofyletickou linii (Shaffer et al. 2013; Wang et al. 2013; Crawford et al. 2015). Krokodýly však nepředstavují ideální skupinu pro studium pestrého zbarvení, protože nejsou pestrě zbarvení a jsou schopni pestré zbarvení vnímat pouze v omezené míře (Emerling 2017). Želvy proto představují ideální skupiny pro studium evoluce zbarvení v rámci Archelosaurů, protože jsou pestrobarevné a jejich zrak dokáže barvy dobře rozeznávat. Ve studii zahrnuté v této práci jsme se proto věnovali mechanismům utváření barvy u dvou druhů sladkovodních želv.

Některé barevné fenotypy vzniklé mutací se v populaci nemusí dlouhodobě projevit a představují tak pouze individuální variabilitu. Jiné fenotypy, vzniklé zejména změnami v genetické regulaci zbarvení však mohou mít výrazný vliv na populační variabilitu. Ukazuje se, že právě osvědčené kombinace regulačních sekvencí s funkčními lokusy zajišťují dlouhodobou funkčnost fenotypových znaků. Diverzita ve zbarvení tak může nově vznikat právě díky výměně těchto

Lepidosauria (containing the tuatara and squamate reptiles) (Crawford et al. 2015) which includes turtles, crocodiles, and birds, we find that dramatic evolutionary changes affecting colour production mechanisms have taken place during evolution (Li et al. 2014; Eliason et al. 2016; Eliason and Clarke 2018). Birds do not produce any additional pigment cell types other than epidermal melanocytes (Kelsh et al. 2009). Moreover, birds seem to share colour-production mechanisms with mammals rather than with reptiles, including keratin-based colour production in feathers and hair, reflection by dermal collagen fibres, and increased diversity of melanosomes. Given that among tetrapods, both birds and squamate reptiles developed a vast array of colours, it may be useful to compare these two groups to better understand the dynamics of colour evolution in these two lineages with high colour variability and elaboration. To do that, one would also have to consider turtles and crocodiles, because they form a monophylum with birds. Existing results suggest that after their divergence from the lineage leading to birds, crocodiles may have passed through a nocturnal bottleneck, which led to a reduction in their capacity to discriminate colours (Emerling 2017). For this reason, they may be not well-suited for the study of colour evolution in the archelosaurian clade. Turtles, however, the closest relatives of birds and crocodiles (Shaffer et al. 2013; Wang et al. 2013; Crawford et al. 2015), seem to be more a promising candidate and although some studies did address the presence of pigment cell types in both crocodiles and turtles (Alibardi 2011, 2013), we still lack detailed information on the mechanisms of colour production in both of the extant non-avian lineages of archelosaurs. A thorough

osvědčených kombinací mezi různými druhy (Dasmahapatra et al. 2012). Přestože naš znanosti neustále narůstají jsme stále na počátku porozumění toho, jak změny úseků genetické informace ovlivňují evoluci zbarvení. Jedním ze čtyř Timbergenových pravidel pro porozumění zvířecího chování je právě porozumět mechanismům, které vedou k produkci funkčních fenotypových znaků (Bateson and Laland 2013). Než tedy začneme dělat závěry o signální funkci zbarvení, je potřeba se zaměřit na mechanismy, které k tomuto zbarvení vedou. Udržování barevného polymorfismu v populaci nemusí být nutně spojené se vznikem reprodukčních bariér mezi morfami (Ng et al. 2017). Dva stejné barevné fenotypy jedné evoluční linie mohou mít naprosto odlišné mechanismy produkce (Iwanishi et al. 2018) a nesou tak i naprosto odlišnou zprávu o jejich nositeli. Snad nejnámějším a nejvíce prostudovaným příkladem role zbarvení pro signalizaci je populační dynamika leguánků pestrých (*Uta stansburiana*). V populaci leguánků se vyskytují tři barevné morfy, které mezi sebou hrají evoluční hru kámen nůžky papír (Sinervo and Lively 1996), kdy jednotlivé barvy reprezentují odlišnou strategii samců pro dosažení úspěchu u samic. Právě zbarvení samců je dááno za příklad jednoznačného signálu kvality samců (Sinervo et al. 2006). Tyto tři morfy se liší ve svých fyziologických charakteristikách, agresivitě i výkonnosti (Sinervo et al. 2000). Jejich zbarvení však nelze připsat jednoznačnému mechanismu. Tyto morfy se liší v komplexních způsobech utváření barvy, z nichž některé jsou mezi morfami sdílené a jiné jsou kvantitativního rázu (Haisten et al. 2015). Vysvětlit signál, který samci leguánků vysílají směrem k samicím tak nemusí být zcela jednoduché, a to jak samice signál rozluští

examination of colour-producing mechanisms in turtles may thus yield valuable comparative insights on the evolution of colour-producing mechanisms and colour as multicomponent trait. One of the works included in this thesis focuses on colour producing mechanisms in two freshwater turtle species.

Some mutations which give rise to differently coloured phenotypes may represent just individual variability that does not spread further into the population. In some cases, however, changes in the genetic regulation of colour may have a significant impact on population variability and combinations of genetic variants can be shared even across different species, thus ensuring established functionality (Dasmahapatra et al. 2012). We are only beginning to understand how mutations in the genetic loci involved in pigment synthesis influence the evolution of colour. One of the four Timbergen's rules for the study animal behaviour states that one ought to understand the mechanisms on which trait functionality is based (Bateson and Laland 2013). Before concluding that colouration has a signalling role, it is thus necessary to first investigate the relation between variability of colouration and the mechanisms that underlie its production. Animals with different phenotypes may show no differences in neutral molecular markers, such as microsatellites, and yet form two different colour morphs within an interbreeding population where the functional role of colouration is unknown (Ng et al. 2017). Two apparently identical phenotypes within a taxon can be due to different molecular mechanisms (Iwanishi et al. 2018) and therefore have a different signalling potential. The best-known example of the role of colouration in visual signalling of reptiles are side-blotched lizards

zůstává vzhledem k jeho složitosti záhadou. Dvě studie zahrnuté v této práci se zabývají polymorfními evropskými ještěrkami zedními (*Podarcis muralis*). První práce řeší objevení vzácného modrého fenotypu v populaci a druhá se zabývá mechanismy vzniku polymorfního zbarvení na genetické, chemické i buněčné úrovni.

V minulém desetiletí došlo k výraznému posunu v interpretaci významu zbarvení pro evoluci intersexuální komunikace živočichů. Původní přesvědčení, že zbarvení představuje jednoznačný signál o schopnosti jedince přežít v prostředí ustupuje novému pohledu na komunikaci jako na komplexní proces zahrnující preadaptaci smyslového ústrojí na jisté kvality signálů a roli samostatného chování jednotlivců jako ústřední utvářející vlivy pro evoluci zbarvení (Kirckpatrick et al. 2006; Ryan et al. 2007; Prum 2017; Ryan 2019). Tento konceptuální posun v porozumění role zbarvení živočichů si žádá naše důkladné porozumění mechanismů produkce barvy jako multikomponentních signálů napříč mnoha organismy (Cuthill et al. 2017; Eliason 2018). Navíc s koncem dvacátého století začalo být nápadné, že ne pouze znaky, jež sdílí molekulární aparát se mohou v evoluci vyvíjet v úzkém spojení, ale že i znaky jejichž vztah je daný například sdílenou ekologií ba dokonce sdílenými zájmy jedinců mohou v průběhu evoluce následovat společné trajektorie, což platí zejména pro chování zvířat (Ryan 1998). Další výzkum v oblasti zbarvení živočišných těl je tedy žádoucí a plazi představují v tomto ohledu jedinečnou možnost k novým objevům, vzhledem k jejich barevnosti a také způsobu utváření barev jako potenciálního multikomponentního signálu (Grether et al. 2004).

(*Uta stansburiana*), where colouration within the population seems to follow the rock-paper-scissors game (Sinervo and Lively 1996). It has been claimed that male *U. stansburiana* use their orange, yellow, or blue colour to signal their mating strategy (Sinervo et al. 2006). The three morphs differ substantially in their physiological characteristics, aggressiveness, and endurance (Sinervo et al. 2000), but colour polymorphism in this species cannot be explained by differences in pigment types or structural reflectance alone (Haisten et al. 2015). In short an explanation of encoding of the functional role in a signal involving as many components as colour remains elusive. One of the works included in this thesis focuses on description of rare blue phenotype of polymorphic lizard *Podarcis muralis* and the other work included in this thesis focuses on colour producing mechanisms and underlying genetic mechanisms in *Podarcis muralis*.

In the past decade, our understanding of the role of colouration in the evolution of intersexual visual signalling in animals shifted away from the previously dominant view that it is a case of honest signalling of individuals' ability to fit within their environment towards a rather more comprehensive view, according to which communication is based on a preadaptation of the perceptive apparatus of signal receivers and on responses to visual cues based on the agency of individual receivers (KIRKPATRICK et al. 2006; Ryan et al. 2007; Prum 2017; Ryan 2019). New conceptual approaches to studies in animal colouration emphasise the need to understand the proximate mechanisms of colour production as multicomponent signals across a broad range of taxa (Cuthill et al. 2017; Eliason 2018). Moreover, with the end of the twentieth century, the bottom-up genocentric view of life

V této práci jsou přiloženy dvě teoretické studie zabývající se relativistickým pojetím zbarvení jako multikomponentního signálu. Práce zdůrazňují potřebu nahlížet preference pro znak a význam tohoto znaku ne jako vždy platné universální jevy, ale jako jevy všešlé z podstaty interakcí mezi jedinci. Interakce jedinců vedou k sebe ustanovujícím rovnováhám hodnot preferencí i znaků, a tudíž i k nevyhnutelné dynamické povaze preferencí i znaků. Tato dynamika je pak to, co dává znakům jejich význam. Rozlišení procesů na úrovni jedinců je zásadní, protože nižší úrovně organizace nemají přímou soběstačnost. Znaky a preference pro ně jsou dynamické, mnohoúrovňové entity, které povstávají skrze ustanovení rovnováhy v procesech na jiných úrovních organizace. Tak například zbarvení, které vzniká díky sebeorganizačním vztahům mezi jednotlivými pigmentovými buňkami, vstupuje jako rovnovážný stav, jako jednotlivost, do interakčních sebeorganizujících vztahů mezi jedinci. Tyto vztahy pak jako rovnovážný vztah utvářejí jednotlivost druhu a druhý dále vstupují do dalších interakcí a utvářejí prostředí. Prostor pak naopak utváří zpětně druhý, druhová příslušnost determinuje vztahy mezi jedinci a jedinci určují, které z uspořádání pigmentových buněk přejde do další generace. Interakce mezi jedinci tak ale zpětně ovlivňuje právě procesy probíhající na různých úrovních organizace, které jedince utváří, skrze vzájemnou percepci a interpretaci.

processes started to be substituted by a more comprehensive approach, which assumes that not only genetically linked traits can co-evolve and that this is the case especially with respect to behaviour and animal communication (Ryan 1998). More research is needed to clarify the existence of variegated surfaces of animals. Reptile colouration is an excellent example of multicomponent signalling because of the complexity of organisation and diversity of colour-producing elements involved (Grether et al. 2004).

Two theoretical works are included in this thesis, both focusing on relativistic view of coloration as multicomponent signal. One perhaps ought to view preference for a trait and its meaning not as universal entities but rather as essentially interactive entities which appear on the level of individuals. Interaction between individuals leads to selforganisation and a dynamic nature of traits, in this case the evolution of colouration pattern and some quality. Interaction between individuals is in this context essential because neither traits nor preferences are the result of a straightforward agency of gene loci. Traits and preferences are dynamic, multilocal interactions which emerge from the scaffolding of a multitude of processes involved on other levels of organisation and amount to an individual's overall setup. Thus, for instance colouration, which emerged by self-organising processes related to the evolution of pigmentation, appears as one of the interaction hubs located within a network of links between individuals in virtue of being a compatible substrate for preferences of other individuals. On the other hand, however, it also influences via a feedback those processes which take place on levels of organisation that contribute to the formation of an individual via mutual perception and interpretation

## 2. Cíle práce

Hlavním cílem této práce bylo důkladně prostudovat proximální mechanismy sbarvení u plazů. Až do dnešní doby se většina studií o zbarvení zaměřuje pouze na jednotlivé složky mechanismů zbarvení a důkladné studie zahrnující celou širší komplexitu produkce zbarvení jsou pouze ojedinělé. Protože je zbarvení žel téměř neprozkoumané, bylo prvním cílem zjistit jaké mechanismy využívají želvy k utváření svého barevného povrchu. Mechanismy želvího zbarvení byly studovány na buněčné, nanostrukturální i chemické úrovni. Dále bylo otázkou, jestli je želví zbarvení ovlivňováno pohlavním výběrem. Dalším cílem bylo srovnat produkci želvího zbarvení se produkcí zbarvení u šupinatých plazů a vysvětlit vznik barevného polymorfismu u ještěrů. Na teoretické úrovni bylo cílem poskytnout ucelený přehled o vlivech působících na evoluci zbarvení plazů obecně.

## 2. Aims of the study

The main aim of this work was to analyse comprehensively and in detail the proximate mechanisms of colour production in reptiles. Until recently, most studies on colour production tended to deal with the individual mechanisms of colour production separately and comprehensive research on the interplay of the various mechanisms which participate in colour production was rare. Since turtle coloration is not a well-understood phenomenon, our first goal was to describe the colour-producing mechanisms in turtles as such. We started by investigating the cellular, nanostructural, and chemical basis of the production of yellow-red colour in turtles. At the same time, we tried to see whether coloration plays a role in their mate choice. To trace the influence of sexual selection on the evolutionary patterns of distribution of conspicuous coloration in a wide range of turtle taxa, we tested covariance between sexual size dimorphism, courtship behaviour, and the presence of conspicuous coloration. To have a suitable foundation for a comparison with turtle coloration, we also studied the mechanisms of production of the yellow-red colour in polymorphic lizards. The emergence of new phenotypes in population, discovered during field work, raises a question of stability of novel phenotypes in populations. Most generally, the main theoretical aim of this study was to provide an insight into the factors which influence the dynamics of colour phenotypes in reptile populations in the course of their evolution.

## 3. Materiál a metodika

V práci bylo využíváno širokého spektra metod a to zejména mnohorozměrných statistických metod, metod elektronové mikroskopie, a chromatografických metod.

## 3. Material and methods

In this thesis broad range of methods were used. Statistical methods involved above all multivariate analyses. Microscopical analyses were conducted mostly using transmission electron microscopy. Chemical analyses involved High-performance Liquid Chromatography.

#### 4. Výsledky a diskuse

Bylo ukázáno, že zbarvení želv nejspíše podléhá pohlavnímu výběru. Výsledky ukázali, že zbarvení plazů je multikomponentní signál na mnoha úrovních organizace. Na příkladu kolagenových vláken bylo ukázáno, že jejich funkce je primárně ochrana před infračerveným zářením, ale že v některých případech může být jejich nanostruktura dostačující k produkci barev povrchu těla. Mechanismy produkce zbarvení se liší výrazně i mezi blízkými příbuznými druhy, avšak jednotlivé složky jsou mezi druhy sdílené a liší se pouze jejich uspořádáním. Polymorfismus, tedy podle definice kategoričké rozdíly mezi jedinci, vzniká u ještěrky zední na základě kvantitativních rozdílů v zastoupení jednotlivých chemických komponent. Jednotlivé chemické komponenty jsou mezi morfami sdílené a je to genetická regulace, která je zodpovědná za kategoričké rozdíly ve fenotypu. Tyto kategorie fenotypu, stejně jako jejich molekulární mechanismy, jsou navíc sdílené mezi různými druhy ještěrek. Výsledky podtrhují relativní povahu zbarvení jako signálu. I přesto, že jednotlivé složky zbarvení mohou mít vztah ke konkrétnímu fyziologickému stavu organismu, jejich kombinace, které vedou k obdobným fenotypům napříč evolučními liniemi plazů jsou jedinečné.

Ukazuje se, že evoluce zbarvení může být tažena „agencí“ jedinců. Tato „agence“ je omezena možnostmi smyslového ústrojí pozorovatelů stejně tak jako morfologickými vlastnostmi a fyziologií těch jež signalizují. Díky sdíleným složkám zraku a barevných povrchů, se barva i zrak v evoluci vyvíjejí společně. Sociální a evoluční důsledky interakcí mezi jedinci závisí na historické, ekologické i

#### 4. Results and discussion

We had shown that turtle colouration may be shaped by sexual selection. Results also shown that reptile colouration is a multicomponent signal on a number of distinct levels of organisation. The example of collagen fibre arrays shows that the nano-organisation of collagen fibres may have a primarily thermoprotective function in the skin of turtles but when suitably organised, collagen fibre arrays can also produce colour. Mechanisms of body colouration differ dramatically even between closely related turtle species but these species share the individual constituent components of colouration. The example of lizards shows that a similar sharing of components of body colouration may apply even to molecular mechanisms. Polymorphism in lizards, i.e. qualitative categorical differences between groups of individuals within one population, is maintained based on quantitative changes in pigment contents. The individual pigment types are shared among morphs and two genetic loci responsible for the variation in pigment types are shared as modules among different species. These results highlight the dynamic rather than absolute functioning of colour-producing components. If the function of colour in visual signalling were absolute, colour should represent an unambiguously specific physiological state universally. It seems however, that any single component of body colouration represents different qualities of the physiological state, and that components combine to produce colour in different regions or different lineages in a unique way.

It has been shown in that the evolution of colouration may be driven by the agency of interacting individuals. This agency is

aktuálním kontextu chování. Pro biologii je však kontext příliš vágní, přestože zásadní koncept, protože se neustále mění v závislosti k tomu, k čemu se zrovna vztahujeme. Tato vlastnost, která popisuje relativitu hodnot sdílených mezi jedinci v průběhu jejich interakcí, vlastnost, která jedincům umožňuje interpretovat vjemy však potřebuje konceptualizovat, aby s ní mohlo být nakládáno pro vědu přínosným způsobem. Koncept Biologického významu se v tomto ohledu jeví jako slibný počátek

## 5. Závěry

Souhrnem lze říci, že multikomponentnost (multicomponency) je klíčovým faktorem pro pochopení signalizace pomocí barevných povrchů nejen u plazů. Projevuje se na mnoha úrovních organizace. Díky názornému složení kůže šupinatých plazů a želvy je zbarvení želv a šupinatých plazů vhodným modelem pro studium multikomponentních signálů. Díky jejich pozici na fylogenetickém stromě představují želvy a šupinatí plazi vhodné skupiny organizmů pro srovnávací studium se savci a ptáky, jejichž chování je daleko bližší lidskému. Přejít od uchopení barevných signálů jako jednoznačných zpráv o stavu jedince, k porozumění dynamické a relativní povahy významu těchto signálů je stěžejní krok pro budoucí výzkum zbarvení živočichů

constrained by the receptor apparatus of observers as well as the morphology and physiology of signallers. Due to the multiple shared nodes of constituting processes as well as the intrinsic complementarity of seeing and appearing, the receptor apparatus may co-evolve with colour-producing mechanisms. The social and evolutionary results of interactions between individuals depend on the historical, ecological, social, as well as behavioural context. In biology, context is a crucial but vague concept because it changes together with all other living systems which coproduce a context and are affected by it. Biological meaning is a possible candidate for a notion that would capture what is shared among the agents that co-create contexts, secure the functioning of an organic closure, and influence evolutionary trajectories

## 5. Conclusions

To conclude, multicomponency is a key factor that manifests itself on various levels of organisation of reptile signalling by colouration, from mechanisms of production to functions that single ornament can have. Thanks to their skin composition, turtles and reptiles are a valuable source of our knowledge of the evolution of multicomponent visual signalling. Because of their evolutionary origin, reptiles and turtles may be the ideal groups to compare with birds and mammals, where our understanding of their behaviour and communication may be more burdened by our own, human, perception of reality. Moving away from an understanding of colour signals as monocomponent indicators, a focus on multicomponent signalling as dynamic and relative processes seems to represent the future direction in the study of animal communication.

## 6. Použitá literatura/References

- Alibardi L (2011) Histology, ultrastructure, and pigmentation in the horny scales of growing crocodylians. *Acta Zool* 92:187–200.
- Alibardi L (2013) Observations on the ultrastructure and distribution of chromatophores in the skin of chelonians. *Acta Zool* 94:222–232.
- Bateson P, Laland KN (2013) Tinbergen's four questions: an appreciation and an update. *Trends Ecol Evol* 28:712–718.
- Candolin U (2003) The use of multiple cues in mate choice. *Biol Rev* 78:575–595.
- Ceballos CP, Adams DC, Iverson JB, Valenzuela N (2013) Phylogenetic patterns of sexual size dimorphism in turtles and their implications for Rensch's rule. *Evol Biol* 40:194–208.
- Chittka L, Brockmann A (2005) Perception space—the final frontier. *PLoS Biol* 3:e137.
- Cox RM, Butler MA, John-Alder HB (2007) The evolution of sexual size dimorphism in reptiles. Sex, size Gen roles *Evol Stud Sex size dimorphism* 38–49.
- Crawford NG, Parham JF, Sellas AB, et al (2015) A phylogenomic analysis of turtles. *Mol Phylogenet Evol* 83:250–257.
- Cuthill IC, Allen WL, Arbuckle K, et al (2017) The biology of color. *Science* (80- ) 357:eaan0221.
- Dasmahapatra KK, Walters JR, Briscoe AD, et al (2012) Butterfly genome reveals promiscuous exchange of mimicry adaptations among species. *Nature* 487:94.
- Eliason CM (2018) How do complex animal signals evolve? *PLoS Biol* 16:e3000093.
- Eliason CM, Clarke JA (2018) Metabolic physiology explains macroevolutionary trends in the melanic colour system across amniotes. *Proc R Soc B* 285:20182014.
- Eliason CM, Shawkey MD, Clarke JA (2016) Evolutionary shifts in the melanin-based color system of birds. *Evolution* (N Y) 70:445–455.
- Emerling CA (2017) Archelosaurian color vision, parietal eye loss, and the crocodylian nocturnal bottleneck. *Mol Biol Evol* 34:666–676.
- Endler JA, Mappes J (2017) The current and future state of animal coloration research. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 372:20160352.
- Grether GF, Kolluru GR, Nersissian K (2004) Individual colour patches as multicomponent signals. *Biol Rev* 79:583–610.
- Haisten DC, Paranjpe D, Loveridge S, Sinervo B (2015) The cellular basis of polymorphic coloration in common side-blotched lizards, *Uta stansburiana*. *Herpetologica* 71:125–135.
- Iwanishi S, Zaitso S, Shibata H, Nitasaka E (2018) An albino mutant of the Japanese rat snake (*Elaphe climacophora*) carries a nonsense mutation in the tyrosinase gene. *Genes Genet Syst* 18–21.
- Kelsh RN, Harris ML, Colanesi S, Erickson CA (2009) Stripes and belly-spots—a review of pigment cell morphogenesis in vertebrates. In: *Seminars in cell & developmental biology*. Elsevier, pp 90–104
- Kirkpatrick M, Rand AS, Ryan MJ (2006) Mate choice rules in animals. *Anim Behav* 71:1215–1225.

- Kleisner K (2011) Perceive, co-opt, modify, and live! Organism as a centre of experience. *Biosemiotics* 4:223–241.
- Kleisner K (2015) Semantic organs: the concept and its theoretical ramifications. *Biosemiotics* 8:367–379.
- Li Q, Clarke JA, Gao K-Q, et al (2014) Melanosome evolution indicates a key physiological shift within feathered dinosaurs. *Nature* 507:350.
- Maran T, Kleisner K (2010) Towards an evolutionary biosemiotics: semiotic selection and semiotic co-option. *Biosemiotics* 3:189–200.
- Ng J, Geneva AJ, Noll S, Glor RE (2017) Signals and speciation: *Anolis dewlap* color as a reproductive barrier. *J Herpetol* 51:437–447.
- Ord TJ, Blumstein DT, Evans CS (2001) Intrasexual selection predicts the evolution of signal complexity in lizards. *Proc R Soc London Ser B Biol Sci* 268:737–744.
- Pérez I de Lanuza G, Font E, Monterde JL (2013) Using visual modelling to study the evolution of lizard coloration: sexual selection drives the evolution of sexual dichromatism in lacertids. *J Evol Biol* 26:1826–1835.
- Prum RO (2012) Aesthetic evolution by mate choice: Darwin's really dangerous idea. *Philos Trans R Soc London B Biol Sci* 367:2253–2265.
- Prum RO (2017) *The Evolution of Beauty: How Darwin's Forgotten Theory of Mate Choice Shapes the Animal World-and Us*. Doubleday
- Rowe C (1999) Receiver psychology and the evolution of multicomponent signals. *Anim Behav* 58:921–931.
- Ryan M (2019) *A taste for the beautiful: the evolution of attraction*. Princeton University Press
- Ryan MJ (2011) The brain as a source of selection on the social niche: examples from the psychophysics of mate choice in tungara frogs. *Integr Comp Biol* 51:756–770.
- Ryan MJ (1998) Sexual selection, receiver biases, and the evolution of sex differences. *Science* (80- ) 281:1999–2003.
- Ryan MJ, Akre KL, Kirkpatrick M (2007) Mate choice. *Curr Biol* 17:R313–R316.
- Shaffer HB, Minx P, Warren DE, et al (2013) The western painted turtle genome, a model for the evolution of extreme physiological adaptations in a slowly evolving lineage. *Genome Biol* 14:R28.
- Sinervo B, Chaine A, Clobert J, et al (2006) Self-recognition, color signals, and cycles of greenbeard mutualism and altruism. *Proc Natl Acad Sci* 103:7372–7377.
- Sinervo B, Lively CM (1996) The rock–paper–scissors game and the evolution of alternative male strategies. *Nature* 380:240.
- Sinervo B, Miles DB, Frankino WA, et al (2000) Testosterone, endurance, and Darwinian fitness: natural and sexual selection on the physiological bases of alternative male behaviors in side-blotched lizards. *Horm Behav* 38:222–233.

Wang Z, Pascual-Anaya J, Zadissa A, et al (2013) The draft genomes of soft-shell turtle and green sea turtle yield insights into the development and evolution of the turtle-specific body plan. *Nat Genet* 45:701.

## Curriculum vitae

**Jindřich Brejcha**, 12.3. 1986, Praha, Czech Republic

e-mail: brejcha@natur.cuni.cz

web: <http://jindrichbrejcha.wixsite.com/kurmachakra>

### Education:

*Completed (type of education, institution, thesis title):*

- High school – Natural sciences programme, Gymnázium Arabská 16, Prague
- Bachelor's degree in General Biology - Faculty of Science, Charles University, Prague – „*Distribution and invasiveness of *Trachemys scripta* in the Czech Republic*“
- Master's degree in Zoology - Department of Zoology, Faculty of Science, Charles University, Prague – „*Naturalization of the pond slider (*Trachemys scripta*) in the Czech Republic*“



*Current:*

- Postgraduate in Theoretical and Evolutionary Biology – Department of Philosophy and History of Sciences, Faculty of Science, Charles University, Prague – „*Multicomponent signalling in turtles and squamate reptiles*“

### Employment:

*Former:*

- Direct dialog Teamleader – Greenpeace
- Office Assistant – O2, Real properties department
- Office Assistant, - Koneko Marketing s.r.o., Ing. Vladimír Neužil Csc.
- Surveyor of herpetofauna – Nature Conservation Agency of the Czech Republic (NCA CR)
- Laboratory technician – Department of Botany, Faculty of Science, Charles University, Prague
- Researcher – Ethology Lab, Institute Cavanilles, University of Valencia, Spain

*Current:*

- Researcher – Department of Zoology, Natural History Museum, National Museum, Czech Republic

### Grant support:

- British herpetological symposium, NHM, London
- P17/01IG-BR (National Museum of the Czech Republic) – Genetic diversity of *Salamandra salamandra* in the Czech Republic.

### Academic activity:

- Member of The Academic Senate of Faculty of Science
- Supervisor – Diploma thesis – „*Postnatal ontogenesis of the skull of the pond slider turtle (Trachemys scripta)*“
- Teaching – Practical course of Evolutionary biology (Environmental niche modelling part teacher); Mathematical-Biology seminar (co-organizer)
- Department web administrator

### Workshops:

2013 - LIFE Trachemys - Demonstration strategy and techniques for the eradication of invasive freshwater turtles – Valencia, Spain

2017 – EMBO Multilevel Modelling of Morphogenesis – Norwich, UK

2017 – Evo-Devo summer school: Process Thinking – Venice, Italy

### Seznam publikací / Selected publications

*In prep.:*

POSPISILOVA A., BREJCHA J., MILLER V., HOLCMAN R., ŠANDA R., STUNDL J.: *Embryonic and larval development of the Northern pike: A new emerging fish model system for Evo-devo. (submitted Journal of Morphology - major revision)*

BREJCHA, J., BATALLER, J. V., BOSÁKOVÁ, Z., GERYK, J., HAVLÍKOVÁ, M., KLEISNER, K., MARŠÍK P., FONT, E. (2019). *Body coloration and mechanisms of colour production in Archelosauria: The case of deirocheline turtles. bioRxiv, 556670. (submitted Royal Society Open Science - revisions)*

ANDRADE P., PINHO C., i de LANUZA G. P., AFONSO S., BREJCHA J., RUBIN C. J., ... & CARNEIRO M. (2019). Regulatory changes in pterin and carotenoid genes underlie balanced color polymorphisms in the wall lizard. PNAS, 116(12), 5633-5642.

BREJCHA J. (2019): Viper as a Batesian Model – Its Role in an Ecological Community. Biosemiotics, <https://doi.org/10.1007/s12304-019-09347-x>

BREJCHA J., PECHÁČEK P., KLEISNER K. (2019): Complementarity of seeing and appearing In: Aldinhas Ferreira MI, Silva Sequeira J, Ventura R: Cognitive Architectures. Intelligent Systems, Control and Automation: Science and Engineering Series, Springer.

ÁBALOS J., PÉREZ I DE LANUZA G., REGUERA S., BADIANE A., BREJCHA J., FONT E. (2017): First record of blue Podarcis muralis from eastern Pyrenees. Herpetozoa 29: 218-223.

BREJCHA J., KLEISNER K. (2016): Turtles Are Not Just Walking Stones: Conspicuous Coloration and Sexual Selection in Freshwater Turtles. Biosemiotics, DOI 10.1007/s12304-015-9249-9.

KLEISNER K., BREJCHA J., PECHÁČEK P.: Evoluce a zdroje proměnlivosti sémantických orgánů. In Ondřej Dadejík, Filip Jaroš, Martin Kaplický (eds.): Krása a zvíře: studie o vztahu estetických a etických hodnot zvířat. Dokořán, Praha, 2015.

BREJCHA J., 2015: Želva nádherná – aktuální status druhu v České republice. In MORAVEC J. (ed.) Fauna ČR. Plazí. Academia, Praha, 2015.

BREJCHA J., KREISINGER J., 2014: Predace snůšek sladkovodních želv ve středním Polabí za použití náhradních vajec. Práce muzea v Kolíně, řada přírodovědná.

BREJCHA J., CIZELJ I., MARIĆ D., ŠMÍD J., VAMBERGER M. & ŠANDA R., 2014: First records of the soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis* (Wiegmann, 1834), in the Balkans. *Herpetozoa* 26(3/4):189-192

BREJCHA J., 2013: Naturalizace želvy nádherné (*Trachemys scripta*) v České republice. Naturalization of the pond slider (*Trachemys scripta*) in the Czech Republic. PŘF UK v Praze. 55 pp.

BREJCHA J., 2013: Ein Bericht über einen Workshop und ein Symposium im Rahmen des LIFE + Projekts der EU zum Thema *Trachemys*. *Sacalia* 40 (11): 21 – 36.

MILLER V., BREJCHA J., JEŘÁBKOVÁ L., ŠANDERA M., 2011: Zaznamenávání výskytu nepůvodních druhů sladkovodních želv na území ČR v roce 2011. *Herpetologické informace* 10(2).

MILLER V., BREJCHA J., ŠANDERA M., 2010: Současný výskyt a nabídka nepůvodních druhů sladkovodních želv na území ČR. *Herpetologické informace* 9: 25-32.

BREJCHA J., JEŘÁBKOVÁ L., MILLER V., ŠANDERA M., 2010: Zaznamenávání výskytu želvy nádherné (*Trachemys scripta*) na území ČR v roce 2010. *Herpetologické informace* 9: 17 – 24.

BREJCHA J., 2010: Rozšíření a invazivnost *Trachemys scripta* v České republice. Distribution and invasiveness of *Trachemys scripta* in the Czech Republic. PŘF UK v Praze. 44pp.

BREJCHA J., MILLER V., JEŘÁBKOVÁ L., ŠANDERA M., 2009: Výskyt *Trachemys scripta* na území České republiky. *Herpetologické informace* 8: 14 – 29.