

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



**Heterozygotnost, genetická komplementarita
a fitness u hýla rudého
(*Carpodacus erythrinus*)**

Heterozygosity, genetic complementarity, and fitness
in the Scarlet rosenfinches
(*Carpodacus erythrinus*)

Diplomová práce

Olga Baudysová

Školitel: RNDr. Pavel Munclinger, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Tomáš Albrecht Ph.D.

PRAHA 2008

Prohlášení

Předkládám tímto k posouzení a obhajobě diplomovou práci zpracovanou na závěr studia na Fakultě přírodovědecké Karlovy univerzity v Praze.

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně s použitím odborné literatury a pramenů, uvedených v seznamu, který je součástí této diplomové práce.

Poděkování

Chtěla bych tímto poděkovat všem pedagogům Karlovy univerzity v Praze, hlavně svému školiteli RNDr. Pavlu Munclingerovi PhD. a konzultantovi Mgr. Tomáši Albrechtovi PhD. a pracovníkům v AVČR Studenec, Mgr. Radce Polákové, Mgr. Josefu Bryjovi PhD., Mgr. Janu Schnitzerovi za získání odborných znalostí, za poskytování rad k mé diplomové práci, ale samozřejmě také rodině za jejich podporu při studiu.

Abstrakt

V první části mé diplomové práce se zabývám vztahem heterozygotnosti a fitness hýlů rudých (*Carpodacus erythrinus*). Na zkoumání tohoto vztahu u mnoha druhů se v minulých letech a hlavně nyní zaměřuje bezpočet prací. Toto téma však stále zůstává předmětem diskuzí.

Testovala jsem hypotézu, zda heterozygotní jedinci v mikrosatelitových lokusech mají větší fitness než jedinci homozygotní. K dispozici jsem měla 118 jedinců (z toho 65 samců a 53 samic) a 6 mikrosatelitových lokusů (EABL1 (CM001E); HOFI14 (CM014); HOFI5, HOFI7; LOX6; CE150). Heterozygotnost určenou mírami H_o , IR, SH, standardizovaným mean d^2 a HL jsem korelovala s fitness znaky a to s váhou, délkou tarsu, barvou (odstín, sytost, jas) a reprodukčním úspěchem.

Zjistila jsem, že míry heterozygotnosti spolu navzájem korelují (H_o , IR, SH, standardizované mean d^2 , HL). S heterozygotností ale ani jeden fitness znak nekoreluje. Zkoušela jsem také korelovat heterozygotnost s váhou a délkou tarsu zvlášť u samic a samců, ale obojí vyšlo stejně – heterozygotnost a fitness spolu nekorelují.

Dále jsem testovala hypotézy, zda fitness znaky nejsou ovlivněny jedním nebo několika mikrosatelitovými lokusy. Výsledky ukazují, že ani jeden lokus ze šesti mikrosatelitových lokusů není zodpovědný za fitness jedince (popřípadě není ve vazbě s fitness lokusy).

V další části mé diplomové práce se zabývám pohlavním výběrem hýlů rudých (*Carpodacus erythrinus*). Testovala jsem hypotézu dobrých genů (good genes hypothesis) a komplementární hypotézu (complementary genes hypothesis) tak, že při platnosti těchto hypotéz by mělo platit následující - pokud se samice páruje s heterozygotnějším nebo alternativně komplementárnějším sociálním partnerem, tento samec méně ztrácí paternitu ve svém hnízdě. Nevyskytuje se tedy EPP (extra-pair paternity neboli mimopárové otcovství) určená podle výskytu EPY v hnízdě (extra-pair young neboli mimopároví potomci). Vyšlo mi, že samy o sobě heterozygotnost a ani komplementarita nevysvětlují výskyt EPP v hnízdě, ale je zde interakce, tzn. efekty heterozygotnosti a komplementarity na EPP jsou odlišné v různých úrovních druhé proměnné.



Foto: J. Stenlund

Obsah:

Prohlášení.....	2
Poděkování.....	3
Abstrakt.....	4
1. Teoretická část.....	8
1.1 Obecný úvod.....	8
1.2 Inbreeding, korelace heterozygotnosti s fitness.....	10
1.3 Mikrosatelity.....	15
1.4 Hypotézy mechanismu korelace heterozygotnosti a fitness.....	19
1.4.1 Přímá hypotéza (functional overdominance)	19
1.4.2 Lokální hypotéza (local effect hypothesis)	19
1.4.3 Hypotéza celkové heterozygotnosti (general effect hypothesis)	20
1.5 Pohlavní výběr.....	22
2. Praktická část.....	27
2.1 Hýl rudý (Carpodacus erythrinus).....	27
2.2 Metodika.....	30
2.2.1 Sběr dat.....	30
2.2.2 Měření barvy.....	32
2.2.3 Analýza paternity.....	34
2.2.4 Izolace DNA.....	34
2.2.5 Mikrosatelity a primery.....	34
3. Výpočty.....	38
3.1 Určení velikostí mikrosatelitových alel.....	38
3.2 Výpočet měř heterozygotnosti.....	38
3.3 Korelace měř heterozygotnosti.....	39
3.4 Korelace fitness znaků.....	39
3.5 Výpočet nulových alel, očekávané a pozorované heterozygotnosti, odchylky od Hardy - Weinbergovy rovnováhy, linkage disequilibrium.....	40
3.6 Korelace heterozygotnosti a fitness v jednotlivých lokusech.....	40
3.7 Korelace celkové heterozygotnosti a fitness.....	40
3.8 Komplementarita párů, hypotéza dobrých genů, komplementární hypotéza.....	40
4. Výsledky.....	42
4.1 Korelace měř heterozygotnosti.....	42
4.2 Korelace fitness znaků.....	42
4.3 Nulové alely, očekávané a pozorované heterozygotnosti, odchylky od Hardy - Weinbergovy rovnováhy, linkage disequilibrium.....	43
4.4 Korelace heterozygotnosti a fitness v jednotlivých lokusech.....	46

4.5	Korelace celkové heterozygotnosti a fitness	49
4.6	Komplementarita párů, hypotéza dobrých genů, komplementární hypotéza	49
5.	Diskuze	52
6.	Literatura	60
7.	Příloha	71

1. Teoretická část

1.1 Obecný úvod

V první části mé diplomové práce se zabývám vlivem heterozygotnosti na fitness hýlů rudých (*Carpodacus erythrinus*), v další části jejich pohlavním výběrem.

Mnoho studií se v dnešní době zabývá vlivem inbreedingu na jedince a možnostmi jeho studia. Pokud neznáme rodokmen jedinců studované populace, jako je to v mém případě, odhaduji inbreeding pomocí heterozygotnosti s použitím mikrosatelitové analýzy a koreluji s fitness jedince. Můžeme uvažovat o tom, zda je heterozygotnost dobrý odhadce inbreedingu, což je velmi diskutabilní. Existuje totiž mnoho aspektů, které musíme mít na vědomí, pokud chceme tyto dvě proměnné korelovat. Testuji tedy, zda heterozygotnost určená mikrosatelitovou analýzou koreluje s fitness hýlů rudých. Tento vztah byl zkoumán zvláště u savců, ale mnoho studií se zabývá také ptáky. U hýlů rudých (*Carpodacus erythrinus*) tato studie dosud provedena nebyla.

V další části mé diplomové práce se zabývám pohlavním výběrem, přesněji řečeno aplikací hypotézy dobrých genů (good genes hypothesis) a komplementární hypotézy (complementary genes hypothesis) v pohlavním výběru. Hýly rudými se zabývá výzkumná skupina naší laboratoře na Univerzitě Karlově a AVČR Studenec, kdy každý zkoumá některou část mechanismu selektivního výběru partnera nebo jiné aspekty v životě hýlů rudých – například vlivy patogenů na zbarvení jedince, testování hypotéz dobrých a komplementárních genů, vliv paternity na kvalitu potomků, atd. Spojením těchto studií by měl vzniknout celkový obraz o životě hýlů rudých. Tyto informace mohou být zajímavé i pro ostatní biology, kteří zkoumají další druhy ptáků, případně jiné organismy.

Mnoho informací, které můžeme použít nebo navzájem porovnávat s našimi výsledky, máme například od vědců, kteří zkoumají příbuzný druh hýla (*Carpodacus mexicanus*) (i když při porovnávání výsledků musíme zohlednit odlišnější způsob života tohoto druhu) a můžeme je použít i do našich výzkumů. Do mé práce jsem například použila primery vyvinuté pro tento druh hýlů.

Hýl rudý je sociálně monogamní druh, žijící v párech. U hýlů si partnera pravděpodobně selektivně vybírá samice. Velice zajímavé je sledovat, na jakém

mechanismu je založen tento výběr. Samice také vyhledává mimopárové EP samice (extra – pair neboli mimopárové). Důkazy, že některá mláďata v hnízdě nejsou zplozena sociálním samcem, jsou nyní s používáním molekulárních technik stále průkaznější u mnoha druhů ptáků. EPC (extra-pair copulation neboli mimopárové kopulace) jsou totiž zaznamenány u 90 % druhů ptáků, ačkoliv stupeň EPP (extra-pair paternity neboli mimopárová paternita) se mění mezi druhy (Griffith et al. 2002).

Otázkou je, co při selektivním výběru partnera a provozování EPC samice nebo potomci získávají. Problémem pohlavního výběru nejen ptáků se zabývá mnoho výzkumných skupin, a proto existuje řada studií a teorií, které nám takové chování mohou vysvětlit.

V mé diplomové práci se zabývám jedním předpokladem pro komplementární hypotézu nebo hypotézu dobrých genů, který nám říká, že v hnízdě, kde se samice párují s heterozygotnějšími nebo alternativně komplementárnějšími sociálními samci, se méně vyskytuje EPP (tedy že se nevyskytují EPY).

1.2 Inbreeding, korelace heterozygotnosti s fitness

K pochopení vztahu heterozygotnosti a fitness musíme brát v úvahu následující aspekty a osvětlit si základní teoretické stránky tohoto problému.

Je prokázáno, že potomci narození blízce příbuzným jedincům mají sníženou fitness (jako důsledek zvyšování homozygotnosti v genomu) (Saccheri et al. 1996; Keller 1998). Tento jev je nazvaný inbrední deprese (Charlesworth & Charlesworth 1987). Inbrední deprese je obvykle vyjádřena jako průměrná redukce znaků nebo míry fitness vzhledem k neinbredním jedincům či populaci. S výskytem homozygotnosti lze totiž očekávat výskyt většího zastoupení recesivních škodlivých mutací (Edwards & Hoy 1993 ex. Flegr 2005), jejichž exprese může být pro jedince škodlivá až letální. Tato exprese může být úplně maskovaná u heterozygotů, ale ne u homozygotů. Další výhoda pro heterozygoty může být ta, že mají (např. v MHC lokusu) dvakrát tak mnoho rezistentních variant alel k parazitům od daného genu než homozygoti (Penn et al. 2002), a proto jsou homozygoti méně rezistentní k parazitům než heterozygotní jedinci.

Inbrední deprese je hlavní faktor ovlivňující přežívání populací po projití hrdlem láhve, ohrožených nebo zmenšujících se populací (Keller et al. 1994). Ke ztrátě genetické diverzity dochází hlavně nedostatkem vhodných (nepříbuzných) partnerů a v delším časovém měřítku dochází ke ztrátám genetické diverzity působením genetického driftu a fixací škodlivých genotypů (Hedrick and Kalinowski 2000). Inbrední deprese má vliv na behaviorální, morfologické a fyziologické znaky, a tedy na celý životní cyklus všech jednoduchých a komplexních organismů. Selektce inbreedingu je velmi významná síla ovlivňující například rozptyl organismů nebo výběr partnera (Charpentier 2007).

K tomu, abychom se mohli zabývat vlivem inbreedingu na fitness, je nejlépe znát inbrední koeficient. Wright (1922) definoval inbrední koeficient jako pravděpodobnost, že dvě alely jedince v daném lokusu budou stejné svým původem. Jednoduchý postup je použití rodokmenu k určení f pro všechny jedince v populaci. Studie vlivu inbreedingu na fitness v přirozené populaci však zůstávají relativně vzácné, protože k získání inbredního koeficientu potřebujeme dlouhotrvající pozorování, zvláště u dlouhožijících živočichů (např. Keller 1998; Amos et al. 2001). Můžeme však také k výpočtu inbredního koeficientu použít molekulární parentage analysis (určení rodičovství přes molekulární markery, například pomo-

cí mikrosatelitů), což je však náročné a často dostáváme spíše nedokonalé ro-
dokmeny (například vlivem imigrace jedinců neznámého původu a výskytem EPC)
(Coltman and Slate 2003). Inbreeding také můžeme odhadnout bez výpočtu in-
bredního koeficientu přes výpočet heterozygotnosti nejlépe mikrosatelitovou ana-
lýzou (dříve se používala analýza alozymová). Tímto alternativním přístupem se
v mé diplomové práci zabývám. Odhad inbreedingu s použitím výpočtu heterozy-
gotnosti a výsledky korelací v mnoha studiích však zůstávají diskutabilní.

Důležité studie jsou ty, kde koreluje fitness s inbredním koeficientem. Tento
výzkum je důležitý k tomu, abychom bezpečně věděli, které znaky a v jaké míře
jsou pod vlivem inbrední deprese, a tak mohli korelovat odpovídající fitness
s heterozygotností. Dalšími zajímavými studiemi jsou ty, kde autoři korelují inbred-
ní koeficient a heterozygotnost a zabývají se jejich vlivem na fitness znaky. Zkou-
mání vztahu je důležité pro určení, zda heterozygotnost určená mikrosatelitovými
markery je spolehlivá alternativa inbredního koeficientu (Hansson and Westen-
berrg 2002). Bohužel takových studií mnoho není (právě pro nelehké určení in-
bredního koeficientu).

Přesné výzkumy vlivu inbreedingu na fitness s použitím inbredního koefici-
entu pocházejí z laboratorních experimentů, protože zde můžeme určovat ro-
dokmen. Inbrední deprese se zkoumala hlavně na drosofilách (*Drosophila mela-
nogaster*) (García et al. 1994) a dalších bezobratlých (Fernández et al. 1995), ha-
dech (Chen 1993), myších (Bowman and Falconer 1960) a rostlinách (Willis
1993). Někteří experimentátoři s inbreedingem a inbrední depresí se u drosofil
(*Drosophila melanogaster*) snažili o vytvoření kompletního homozygotního geno-
mu u některých jedinců a poté porovnávali tyto homozygotní jedince s jedinci hete-
rozygotními. Inbrední deprese zde negativně ovlivnila například životaschopnost
(Mukai and Yamaguchi 1974) nebo sterilitu (Simmons and Crow 1977). Saccheri
et al. (1996) při výzkumu inbredních linií motýlů (*Bicyclus anynana*) zjistili, že se
zvyšováním inbredního koeficientu se snižuje počet vyprodukovaných vajíček
motýlů a také se snižuje počet vylíhnutých vajíček.

Jak jsem se zmínila výše, studování inbrední deprese v přírodních populací
je obtížné. Nejznámější studii v přirozené populaci udělal Keller et al. (1998) na
strnadech (*Melospiza melodia*). Vyzkoumal, že v této populaci, inbrední jedinci
mají menší životaschopnost než jedinci outbrední. Samice, pocházející z těchto
páření, produkovaly až o 48 % méně potomků.

Cassinello et al. (2001) porovnávali inbrední koeficient a odolnost proti parazitismu. Vyšlo jim, že existuje pozitivní korelace mezi inbredním koeficientem a gastrointestinální parazitní infekcí (*Trichuris* sp.) v populaci gazel (*Gazella cuvieri*).

Za zmínku také stojí to, že nejen při inbrední depresi dochází ke snižování fitness, ale naopak i při křížení hodně odlišných jedinců. Tento jev se nazývá outbrední deprese. Například při křížení dvou geneticky a geograficky vzdálených populací okouna (*Micropterus salmonides*) F1 generace vykázala nakažení více jedinců virem LMBV a snížení počtu jejich potomků než při křížení více příbuzných jedinců okouna (přibližně o 14 %). I potomci F1 generace při vzájemném páření vykazovali sníženou fitness (přežívání) (Goldberg et al. 2004).

Ve studiích je používáno průměrně 5 až 10 mikrosatelitových lokusů, nyní nastává spíše tendence ve zvyšování počtu lokusů. Dříve byly jako markery používány alozymy, nyní jsou většinou používány mikrosatelitové markery. Bohužel při korelování heterozygotnosti a fitness existuje stále mnoho nezodpovězených otázek (například mechanismus, který je zodpovědný za korelace heterozygotnosti a fitness je stále nejasný. (Viz. níže hypotézy korelace heterozygotnosti a fitness)).

Velmi významné pro určování vztahu mezi heterozygotností a fitness je korelování inbredního koeficientu s heterozygotností a zkoumání jejich vlivu na fitness. Je obecně předpokládáno, že pokud heterozygotnost a inbrední koeficient jsou nekorelované, tak heterozygotnost není vhodný odhadce inbreedingu a heterozygotnost má málo co dělat s inbrední depresí. Navíc pokud je s fitness korelovaný inbrední koeficient, měla by s fitness korelovat i heterozygotnost (Balloux et al. 2004).

Ve studiích ale většinou heterozygotnost s inbredním koeficientem korelována není nebo jen velmi slabě. To však může být způsobeno nepřesnostmi v určení rodokmenu nebo malým počtem mikrosatelitových markerů, popřípadě jinými důvody. Samozřejmě může být důvodem i to, že míry heterozygotnosti, což je IR, SH, mean d^2 , HL a Individuální heterozygotnost nejsou zas tak vhodné míry pro určování tohoto vztahu. Markert et al. (2004) například našli u jednoho druhu pěnkavky (*Geospiza fortis*) (použití 13 lokusů), že i když heterozygotnost koreluje s inbredním koeficientem, inbrední koeficient koreluje s fitness, koreluje Individuální heterozygotnost s fitness, nekoreluje však fitness s d^2 . Při tomto zjištění můžeme uvažovat o tom, že d^2 není tak dobrá informační míra inbreedingu. Overall et al. (2005) korelovali heterozygotní míry SH, IR, d^2 s inbredním koeficientem u ovcí (*Ovis aries*) (použili 14 mikrosatelitů). Korelace však byla velmi slabá. Korelace

heterozygotnosti s fitness (váha při narození, přežívání mláďat) nebyla nalezena, ale nebyla nalezena ani korelace inbredního koeficientu s fitness (příčina toho, že nekorelovaly může být ten, že tyto znaky nemusí podléhat inbrední depresi, nebo že zde bylo zahrnuto málo generací do rodokmenu či kvůli nízkému stupni inbreedingu u jedinců).

Ve studii Slate and Pemberton (2002) zkoumající jeleny (*Cervus elaphus*) se 71 mikrosatelitovými lokusy zjistili, že heterozygotnost koreluje s inbredním koeficientem a heterozygotnost i inbrední koeficient koreluje s porodní váhou telat. Z toho by mohlo vyplývat, že při použití mnoha lokusů jsou korelace průkazné. Dobrý přístup zvolili Hoffman et al. (2006), kteří zkoušeli korelovat příbuznost r (Queller and Goodnight 1989) rodičů s SH, IR a d^2 potomků. Korelace byla velmi silná. Znamená to tedy, že by tyto míry mohly inbreeding dobře odhadovat. Ale s fitness heterozygotnost bohužel nekorelovala.

Nicméně ve výzkumu Pemberton (2004) je vztah mezi dvěma proměnnými (f a Individuální heterozygotností) uveden na genomu ovcí (*Ovis aries*) s použitím velkého počtu mikrosatelitů 101 mikrosatelitů a mnoha jedinců. Heterozygotnost byla jen slabě korelována s inbredním koeficientem a míry heterozygotnosti spolu dokonce také nekorelovali. Inbrední koeficient s fitness (váha těla a tělních orgánů) koreloval, ale heterozygotnost ne. Proč nedošlo ke korelaci heterozygotnosti a fitness? Slate a Pemberton se domnívají, že heterozygotnost určená těmito mírami nemusí dobře odhadovat inbreeding, a nebo že markerové lokusy mohou být ve fyzickém spojení s lokusy, které kódují určitý fitness znak jedince. Proto je jasné, že celogenomová heterozygotnost nebude korelovat s fitness, pokud je za fitness odpovědný jen určitý lokus. Je totiž třeba odlišit vliv celogenomové heterozygotnosti od vlivu jednotlivých genů (vysvětlení v kapitole hypotézy mechanismu heterozygotnosti a fitness).

Korelacemi mezi heterozygotností určených mikrosatelitovými markery a fitness se zabývá mnoho studií, bohužel ale většina studií, kde nebyly žádné korelace nalezeny, nejsou publikovány (proto při tvoření metaanalýz může vycházet zkreselný výsledek) (Britten 1996).

U savců byla pozitivní korelace prokázána v populaci jelenů (*Cervus elaphus*) mezi Individuální heterozygotností, SH, d^2 a samčím a samičím reprodukčním úspěchem (počet vyprodukovaných potomků za celý život) (Slate et al. 2000). Lachtani (*Arctocephalus gazela*) také vykazovali korelaci mezi heterozygotností

(Individuální heterozygotností, IR, SH) a samčím reprodukčním úspěchem. Méně korelováno bylo s d^2 . SH, IR a d^2 spolu silně korelují (Hoffman et al. 2004).

U ptáků byla nalezena pozitivní korelace mezi heterozygotností měřenou jako d^2 a reprodukčním úspěchem samce, dobou života a dřívějším dospíváním u lejska (*Ficedula albicollis*) (Merila et al. 2003). Korelace mezi sezónním reprodukčním úspěchem samců a samic a heterozygotností byla zaznamenána i u mesitů (*Monias benschi*). Při srovnání velikosti teritoria, kvality zpěvu a heterozygotnosti vyšlo, že heterozygotnost pozitivně koreluje s velikostí teritoria i kvalitou zpěvu u samců, ale ne u samic, což naznačuje, že tyto znaky jsou pohlavně selekované samičím výběrem a/nebo samčí kompeticí. Tedy že inbrední deprese na tyto znaky působí rozdílně podle pohlaví (Seddon et al. 2004). V populaci tetřívka (*Tetrao tetrix*) jedinci s větší heterozygotností vykazovali větší reprodukční úspěch (pozitivní korelace mezi d^2 a pářicím úspěchem jedinců, ale ne s Individuální heterozygotností). Samci, kteří nikdy neměli vlastní tokaniště jsou méně heterozygotní než jedinci s vlastním tokaništěm (Hoglund et al. 2002). Heterozygotnější samice sýkor (*Parus caeruleus*) v době od začátku páření do doby další sezóny lépe přeživaly než méně heterozygotní samice (Individuální heterozygotnost, SH, IR, d^2). Také mláďata, která se vracela další rok na místo narození byla více heterozygotní než nevracející se jedinci a heterozygotnější samci byli výrazněji zbarvení (Foerster et al. 2003). S návratností jedinců také pozitivně korelovala heterozygotnost měřená jako d^2 v populaci rákosníků (*Acrocephalus arundinaceus*) (Hansson et al. 2001).

Zajímá mě to, zda fitness s heterozygotností u hýlů rudých bude korelovat stejně jako u výše zmíněných studií. Jako komponenty fitness do mé diplomové práce mám k dispozici barvu samců, reprodukční úspěch, váhu a velikost tarsu samců i samic.

Hypotéza A

A.1. Heterozygotnost určená mikrosatelity pozitivně koreluje s fitness hýlů rudých (*Cardpodacus erythrinus*).

1.3 Mikrosatelity

Je vhodné, napsat několik základních informací o mikrosatelitech. Mikrosatelity jsou pro svou variabilitu, celogenomovou distribuci, velké množství v genomu a pro možnost rychlého screeningu vhodné například jako markery pro populačně - genetické studie, v odvětví forenzní genetiky, testování paternity, odhadování vztahu mezi jedinci, molekulární antropologii, ochranářskou genetiku, stanovení inbreedingu v populaci, identifikaci jedinců nebo informací o genovém toku (migracích) (Chambers and MacAvoy 2000). Pro mikrosatelity běžně používáme zkratky: VNTR (variable number repeats), STR (short tandem repeats), SSR (simple sequence repeats), SSLP (simple sequence length polymorphisms).

Díky vysoké mutační rychlosti jsou mikrosatelity velmi polymorfní (Tautz 1989). Při studiích se nejvíce používá polymorfismus ve velikosti mikrosatelitů. Mikrosatelity jsou tandemově opakující se sekvence DNA, které jsou složené z krátkých opakujících se jednotek (repeticí) o délce nejčastěji 2-6 bp. Repetice jsou vytvářeny obvykle dinukleotidy až hexanukleotidy (Toth et al. 2000). Mikrosatelit překonávající délku 30 repetic je velmi vzácný (Bell and Jurka 97). Bylo totiž potvrzeno, že když se repetice prodlužují, stávají se pravděpodobně náchylnějším k bodovým mutacím, při čemž dochází k narušení perfektní repetice na dvě malé a méně mutabilní (Calabrese et al. 2001). Hustoty různých repetic v genomu se značně liší v závislosti na zkoumaných druzích (Toth et al. 2000). Savci například mají větší hustotu mikrosatelitů v genomu než ptáci a rostliny (Primmer et al. 1997).

Vědci spekulují, zda mikrosatelity hrají nebo nehrají v genomu nějakou funkční roli. Většina mikrosatelitů je považovaná za selekčně neutrální a nejčastěji se nachází v nekódujících oblastech, ale některé studie ukázaly, že jsou pod selekcí a mají vliv například na regulaci proteinů (viz. přímá hypotéza v další kapitole) (Li et al. 2002). Zatímco většina mikrosatových mutací není považovaná za příčinu genotypických změn, nějaké repetiční lokusy přiléhající ke genům mohou prodělat extrémní mutační expanzi a mohou provádět změny v proteinové expresi (hlavně CAG, CGG a GAA). Trinukleotidové repetice a změněná proteinová exprese může způsobit neurodegenerativní poruchy (demence, Huntingtonovou nemoc, Kennedyho nemoc, myotonickou distrofii, syndrom fragilního X, mentální retardaci a další) (Cummings and Zoghbi 2000).

Mikrosatelity můžeme rozdělit podle několika kritérií. Například podle délky repetice (Jarne and Lagoda 1996).

Dinukleotidy – např. CACACACACA... Nejčastěji se v genomech organismů vyskytují dinukleotidové repetice (30-60%). Zatímco GA převažuje u hlístic (*Caenorhabditis elegans*) (Schlötterer 2000), v genomu obratlovců se nejčastěji vyskytují motivy AC nebo AT (Toth et al. 2000). Rostliny jsou bohaté buď na TA nebo GA opakování (Morgante et al. 2002). Trinukleotidy – např. GTCGTCGTC-GTC... Trinukleotidové repetice se vyskytují v rostlinné i živočišné říši. Nejčastěji se vyskytují sekvence AAT a CAG (Hancock 1996). Jsou často nacházeny v exonech, avšak neporušují čtecí rámec (Toth et al. 2000). Mnoho studií je zaměřeno právě na trinukleotidy, při zkoumání závislosti trinukleotidů s lidských chorobami a rakovinami (Cummings and Zoghbi 2000). Tetranukleotidy – Např. GATA-GATAGATAGATA... Nejobvyklejšími tetranukleotidy jsou GATA a GACA (Jarne and Lagoda 96). Dalším typem jsou *Pentanukleotidy* a *Hexanukleotidy*.

Mikrosatelity také můžeme dělit podle typu: (Goldstein and Pollock 1997; Li et al. 2002). *Perfect microsatellites (perfektní mikrosatelity)* – Tyto mikrosatelity se skládají z identických repetic, které nejsou přerušeny žádnou jinou sekvencí. *Interrupted microsatellites (přerušované mikrosatelity)* – Je to perfektní mikrosatelit, který je přerušován několika bodovými mutacemi. *Compound microsatellites (Složené mikrosatelity)* – Mikrosatelit se skládá ze dvou perfektních sousedících mikrosatelitů s různými repeticemi. *Interrupted compound microsatellites (přerušované-složené mikrosatelity)* – Dvě repetitivní sekvence složených mikrosatelitů mohou být přerušeny krátkou nerepetitivní sekvencí. *Complex microsatellites (komplexní mikrosatelity)* – Komplexní mikrosatelity mohou obsahovat několik rozdílných perfektních repetitivních sekvencí. *Interrupted complex microsatellites (přerušované-komplexní mikrosatelity)* - Komplexní mikrosatelity mohou být přerušeny nerepetitivní sekvencí.

Porozuměním mechanismů, které jsou zodpovědné za mikrosatelitovou mutaci, je nezbytné pro vytvoření si modelu, pod kterým mikrosatelity mutují (Brohede 2003).

Model nazvaný **step-wise mutation model (SMM)**, byl nejprve vyvinut pro alozymová data, nyní se používá na popsání procesů mikrosatelitové evoluce, ve kterém je při mutaci jedna opakovací jednotka buď přidána, mající za následek prodloužení mikrosatelitového lokusu nebo odebrána, mající za následek zkrácení mikrosatelitového lokusu (Ohta and Kimura 1973). Pravděpodobnost prodloužení

či zmenšení mikrosatelitu je v tomto modelu stejná a mutační rychlost je nezávislá na velikosti alel (Valdes 1993). Při používání mikrosatelitových metod se většinou právě předpokládá platnost SMM. Procesy vytvářející mikrosatelitovou variabilitu jsou však velice složité a nejspíš jednoduchý SMM není úplně dostatečný a snadno aplikovatelný (Colson & Goldstain 1999). Di Rienzo et al. (1994) modifikoval tento jednoduchý stepwise mutační model jako dvoufázový model, který se mu zdá být vhodnější. V tomto modelu jsou dovolené vícenásobné mutace i když v malé míře. Dalším modelem mikrosatelitové evoluce je **infinite allele model (IAM)**. Při mutaci dochází ke ztrátě nebo k získání libovolného počtu opakování. Mutace vždy tvoří nové alely (Jarne and Lagoda 1996). Další model je například **two phase model (TPM)**, který je kombinací SMM a IAM. Když si však uvědomíme, jak velká existuje heterogenita mikrosatelitových mutací detekovaných mezi druhy, je nepravděpodobné, že nějaký určitý mutační model by mohl přesně popsat mikrosatelitovou evoluci pro druhy všechny. Na druhou stranu, dvoufázový model navržený Di Rienzem a spolupracovníky může být dost přesný pro většinu účelů populační genetiky. Bohužel nevíme přesně, jaký model je správný, každý model má své pro a proti.

Mutační rychlosti se mění mezi druhy, průměrná mutační rychlost mikrosatelitových lokusů je přibližně $10^{-2} - 10^{-6}$ na lokus za generaci (Schlötterer et al. 1998). Dalším znakem mutací mikrosatelitů je, že alely s mnoha repeticemi mutují mnohem častěji a nejčastější mutace je prodloužení či zkrácení o jednu repetici (Primmer et al. 1996).

Dva hlavní mutační procesy, které můžou změnit počet repetic mikrosatelitů:

Polymerase slippage (sklouznutí polymerázy)

Hlavní mechanismus stojící za vysokou mutační rychlostí mikrosatelitů je považováno sklouznutí (slippage DNA polymerázy také nazývána jako *slipped strand mispairing*) (Levinson and Gutman 1987). Během replikace, templátový řetězec a nově syntetizovaný řetězec se od sebe dočasně oddělují, a protože dvojitá šroubovice DNA ještě není extrémně stabilní a podléhá významným termálním fluktuacím, může takto dojít k tzv. "slip-strand mispairing errors". Jestliže tato situace nastane, zatímco je replikována repetiční oblast, repetice se na vznikajícím řetězci může spojit s nesprávnou repeticí na templátovém řetězci, vytvářející jednořetězcovou

smyčku. Tato klička na vznikajícím řetězci, má za následek prodloužení mikrosatelitu. Pokud se vytvoří klička na templátovém řetězci bude mít za následek zkrácení mikrosatelitu. Většina mikrosatelitových mutací polymerázového sklouznutí je prodloužení nebo zkrácení o jednu repetiční jednotku. Sklouznutí je považováno jako nejdůležitější proces mikrosatelitové variability (Schlötterer and Tautz 1992).

Rekombinační procesy

Tyto procesy zahrnují nerovnoměrný crossing – over a genovou konverzi (Garza et al. 1995). Mutační procesy jsou spojené i s reparačním mechanismem. Nejvýznamnější proces oprav je mismatch repair, který pomáhá udržovat stabilitu mikrosatelitů (Strand et al. 1993).

1.4 Hypotézy mechanismu korelace heterozygotnosti a fitness

Co je stále nejasné, je určení mechanismu korelace heterozygotnosti a fitness. Existují tři možné hypotézy. Přímá a lokální hypotéza a hypotéza celkové heterozygotnosti.

1.4.1 Přímá hypotéza (functional overdominance)

Přímá hypotéza říká, že lokusy přímo působí na fitness znaky. Tato hypotéza je důležitá při studování alozymů a je spíše předpokládáno, že u mikrosatelitů má malý význam (Thelen and Allendorf 2001). Mikrosatelity jsou totiž obecně považované jako neutrální (Queller et al. 1993). Na rozdíl od mikrosatelitů u alozymů se předpokládá, že enzymové lokusy, které kontrolují metabolické reakce, mají přímý vliv na fitness, a že existuje vztah mezi fitness a alozymovou heterozygotností, protože enzymová heterozygotnost zvyšuje fyziologickou výkonnost snížením energetických nákladů organismu kvůli kombinované katalycké schopnosti rozdílných enzymů u heterozygotů (Mitton 1997 ex. Thelen and Allendorf 2001). Nyní se ale ukazuje, že některé mikrosatelity slouží jako kódující nebo regulační elementy, v chromatinové organizaci, buněčném cyklu a DNA metabolických procesech a jsou evidentně pod selekcí (Li et. al. 2002), a proto by také mohly přímo ovlivňovat fitness.

1.4.2 Lokální hypotéza (local effect hypothesis)

Podle lokální hypotézy a hypotézy celkové heterozygotnosti, korelace heterozygotnosti a fitness vyplývá z "asociative overdominance", což je zjevná heterozygotní výhoda jako důsledek genetického vztahu mezi neutrálními markery a lokusy pod selekcí (David 1998). Lokální hypotéza vyžaduje linkage disequilibrium (vazebná nerovnováha alel v rozdílných lokusech v gametách) (Hansson and Westerberg 2002).

Při srovnání s přímou hypotézou, platnost pro tyto dvě další hypotézy potřebuje zvláštní populační strukturu a neurčuje vztah heterozygotnosti a fitness v populaci, která byla po dlouhý čas velká a panmiktická (David 1998). Vztah mezi markery a fitness lokusy v lokálním chromosomovém sousedství může způsobit

významná hladina linkage disequilibria, která nejpravděpodobněji vzniká hlavně v populaci, která projde hrdlem láhve (bottleneckem) a znovu expanduje nebo když se smíchají geneticky rozdílné populace. Linkage disequilibrium může také vzniknout následkem genetického driftu v malých populacích (Houle 1989) nebo jako důsledek selekce (Ford-Lloyd et al. 2001). Populace, které prošly hrdlem láhve a následně expandovaly budou nalezeny například mezi populacemi kolonizovaných oblastí ovlivněné člověkem, které následně podstoupily záchranné programy a zvýšila se tak její populační hustota a tedy i množství linkage disequilibria (Hansson and Westerberg 2002).

Hansson et al. (2001) nejspíše zachytili lokální efekt u rákosníků (*Acrocephalus arundinaceus*), kde je korelována heterozygotnost s návratností. Jde nejspíše o lokální efekt, protože jde o populaci, která prošla hrdlem láhve s následnou expanzí. Individuální heterozygotnost a d^2 zde byla velmi silně korelována ve dvou lokusech z pěti s návratností jedinců. Může jít ale také o přímou hypotézu, protože mikrosatelity nemusí být selekčně neutrální.

1.4.3 Hypotéza celkové heterozygotnosti (general effect hypothesis)

Při platnosti této hypotézy uvažujeme o celkové heterozygotnosti na mnoha různých lokusech v genomu a jejím vlivu na fitness. V částečně inbrední populaci, heterozygotnost v markerech může odrážet variaci inbreedingu v inbredním koeficientu a může asociovat s fitness jako důsledek efektu homozygotnosti v celogenomově rozmístěných lokusech (Hansson and Westenberg 2002).

O hypotézu celkové heterozygotnosti nejspíše jde ve studii Slate and Pemberton al. (2002) zkoumající jeleny (*Cervus elaphus*). Heterozygotnost určená více než 71 polymorfními mikrosatelitovými lokusy koreluje s porodní váhou telat a navíc heterozygotnost koreluje s inbredním koeficientem. Nevylučuje se ale ani přímá hypotéza, protože mikrosatelity nemusejí být selekčně neutrální a ani lokální hypotéza, protože ta je očekávána u populace, která prošla hrdlem láhve a znovu expandované, což tato populace je.

Při korelaci heterozygotnosti a fitness, musíme brát na vědomí, že pokud korelace nevyjde, musíme zkoušet jednotlivé lokusy, protože je zde možnost, že korelovat s fitness bude jen náhodně vybraný lokus, potom tedy půjde o přímou nebo lokální hypotézu.

Hypotézy B

B. 1. Na fitness hýlů rudých má vliv jeden nebo více mikrosatelitových lokusů či lokusy ve vazbě s fitness lokusy, což podporuje přímou nebo lokální hypotézu.

B. 2. Na fitness hýlů rudých mají vliv všechny lokusy, což podporuje hypotézu celkové heterozygotnosti.

1.5 Pohlavní výběr

Je stále nejasné, jaký mechanismus stojí za pohlavním výběrem ptáků. U ptáků si samice nejspíše selektivně vybírá partnera, ale jsou hypotézy, které říkají, že role samce a samice ve výběru není tak jednoznačná, může jít o vzájemnou „hru“ mezi samcem a samicí (na výběr má vliv samec i samice) nebo si může samice selektivně vybírat samec. Nejpravděpodobnější hypotéza je však ta, že si samce jako svého partnera vybírá samice sama, jelikož snášení vajec a péče o potomstvo je náročnější pro samice. Existují hypotézy mechanismů výběru samce, podle kterých si samice vybírá sociálního partnera, popřípadě EP partnera.

Už Darwin (1871) byl přesvědčený, že pohlavní výběr může vysvětlovat evoluci samčích ornamentů, například zbarvení peří nebo určitý vizuální či hlasový projev na základě rozdílů v reprodukčních úspěších samců způsobený jejich vzájemnou kompeticí. Složitě ornamentální znaky by měly znamenat při vytváření či udržování velkou nákladnost pro samce, a proto jenom jedinci s nejvyšší kvalitou mohou dosáhnout maximální exprese takovýchto znaků. U savců to mohou být například rohy a parohy a u ptáků je to například barevné peří a dlouhý ocas (Andersson 1994). Samčí ornamente by proto měly sloužit jako skutečný signál kvality, podle kterých si samice vybírají partnera či ukazují svou kvalitu svým soupeřům (Kodric-Brown and Brown 1984). Zbarvení hýlů je výsledkem karotenoidních pigmentů uložených v rostoucím peří. Získání karotenoidního zbarvení je zvláště nákladné, jelikož si ptáci musí shánět potravu, která karotenoidy obsahuje (Brush 1981 ex. Hill 2002). Karotenoidy jsou velice zajímavé jako biologické barvivo, protože ho živočichové neumějí sami syntetizovat (Goodwin 1984 ex. Hill 2002). Někteří živočichové ho však mohou modifikovat, jako třeba přidávat funkční skupiny, které mohou měnit jejich barvu. Důležitá metabolická cesta je změna žlutého β -kryptofanu na červený 3-hydroxy-echinone, žlutého β -karotenu na červený cathaxanthin, žlutého rubixanthin na červený 4 – oxo - rubixanthin a žlutého zeaxanthinu na červený astaxanthin, ale opět záleží na tom, zda je jedinec kvalitní (u kvalitního jedince budou probíhat metabolické procesy efektivněji) (Inouye 2001).

Karotenoidy jsou vysoce hydrofóbní molekuly. Každá karotenoidní molekula je řetězec 40 uhlíkových atomů, spojených střídavě jednoduchými a dvojitými vazbami, s šestiuhlíkovým cyklem na obou koncích. Karoteny jsou nejjednodušší karotenoidy, obsahující jenom uhlíkaté a vodíkové atomy. Xantofyly, které jsou oxidované deriváty karotenů, mají jeden nebo více keto- nebo hydroxyl- funkční

skupiny na terminálních cyklohexenech. Složité procesy metabolismu karotenoidů ovlivňují celkové chování živočicha. Živočich, například, musí vybírat vhodné lokality a místa k získávání potravy s karotenoidy, rozpoznávat a vybírat vhodné potravní položky, být schopen soupeřit o tuto potravu s ostatními, což znamená, že když je jedinec zbarvenější, vypovídá to o jeho schopnosti hledat si efektivně specifickou potravu, a tedy o jeho kvalitnosti (Hill 1999 ex. Hill 2002).

Je však doložené, že ne vždy tyto signály (například barva, váha, velikost, velikost ocasu) mohou znamenat vyšší kvalitu jedince. Dokonce je to ještě složitější, existují teorie, že si samice nevybírají samce s nejvíce vyvinutými pohlavními sekundárními znaky, ale například podle toho, jak jsou jejich geny navzájem komplementární.

Hlavní hypotézy, které mohou vysvětlovat výběr partnera jsou tyto:

Samice si mohou vybírat partnera, který samici nebo potomkům zajišťuje nějakou přímou výhodu, což se nazývá **přímá hypotéza** (direct hypothesis): například samec samici a potomkům může zajistit kvalitu samčího teritoria, přinesenou potravu a schopnost ubránit hnízdo (Hill 1991; Andersson 1994). Co se týká přímých výhod při EPC, samice si například pojišťuje kopulacemi s jiným samcem to, že by byl její sociální samec náhodou neplodný (Griffith 2007) nebo si může zajišťovat to, že bude mít příští sezónu s kým založit hnízdo (Cézilly and Nager 1995). Jennions and Petrie (2000) si všimli, že samice mohou při získávání přímé výhody, obdržovat i nepřímou výhodu, a proto je někdy těžké rozlišit mezi těmito strategiemi.

Podle dalších hypotéz, samice může pro potomky získávat nepřímou výhodu (genetickou výhodu). To je například **hypotéza dobrých genů** (*good genes hypothesis*) a **komplementární hypotéza** (*complementary genes hypothesis*). O těchto hypotézách můžeme uvažovat zvláště tehdy a u těch druhů, kde samice a potomci od sociálního partnera nedostávají žádnou nebo minimální přímou výhodu nebo u migrujících druhů, kde musí páry pro nedostatek času rychle zahnízdit. Samice si vybírá nevhodného partnera, a proto provozuje EPC, aby zajistila svým potomkům nepřímé výhody na základě těchto hypotéz (k takovým druhům patří právě hýl rudý) (Albrecht et al. 2007).

Hypotéza dobrých genů: Samice si vybírá samce, podle „dobrých“ genů, kterými zvyšuje fitness svých potomků. Pod hypotézou dobrých genů si samice v nějakém specifickém prostředí bude vybírat nějakého specifického samce. Sa-

mičí volba se proto bude soustředit na nějaký specifický samčí fenotyp, například sekundární pohlavní znaky, které by jí měla signalizovat, že samec je kvalitní.

Tento model zdůrazňuje samičí preferenci pro samčí ornamenty jako indikátory potencionální genetické kvality partnera (Andersson 1994).

Tato hypotéza může znamenat i fakt, že si samice vybírají samce, s nejvyšším stupněm heterozygotnosti (tuto teorii odmítá Aparicio et al. 2001), protože je zde větší pravděpodobnost, že samec předá potomkům své dobré geny. Mitton (1993) ex. Smith et al. (2005), říkají, že by tak samice měla produkovat potomky, které jsou v průměru heterozygotnější a tedy kvalitnější. EPY by tak měli být heterozygotnější a tedy kvalitnější než WPY. Co se však týká „předání heterozygotnosti“ potomkům, skutečnost je nejpíše taková, že v diploidním organismu, rodiče nemohou potomkům předat své genotypy, a tak i při výběru heterozygotnějšího partnera, potomci heterozygotnější nebudou. Samice, která by si totiž vybírala více heterozygotnějšího jedince, by produkovala různé genotypy zahrnující i homozygotní genotypy (Mays and Hill 2004, Lehmann et al. 2007). Heterozygotní samec však může přinášet samici a potomkům i přímé výhody.

EP samec by měl být více heterozygotní (a také s více vyvinutými sekundárně pohlavními znaky) a tedy kvalitnější než sociální samec. Čím je sociální samec heterozygotnější, tím méně by se mělo vyskytovat EPP v hnízdě. To zkoumali Smith et al. (2005), ale tento předpoklad nepotvrdili. Hypotézu nepodložili svými výsledky ani Weatherhead et al. (1999); Aparicio et al. (2001) a Foerster et al. (2003). Tyto teorie nepotvrzují teorii založenou na heterozygotnosti, kterou potvrzuje například Brown (1997).

Komplementární hypotéza: Komplementární hypotéza znamená páření založené na optimální hladině genetické komplementarity. Fitness výhoda pro potomky by tedy měla být založena na příspěvku genů od samice i samce (Neff and Pitcher 2005). Samičí výběr v tomto modelu je proto závislý i na samičím genotypu a tak by neměl být zaujat jenom jediným samčím fenotypem (Colegrave et al. 2002; Mays and Hill 2004).

Model genetické komplementarity může být předpokladem pro to, že fitness potomků bude souviset s heterozygotností. Tedy že samice, vybírající si partnery geneticky komplementární, budou produkovat více heterozygotnější potomstvo než samice, které tyto preference nemají (Neff and Pitcher 2005; Lehmann et al. 2007). EPY by tak měly být heterozygotnější (a tedy i více kvalitní než jejich WPY

sourozenci). Johnsen et al. (2000) vyzkoumali, že potomci slavíka (*Luscinia svecica*) zplozené EP samci mají vyšší imunitu než WPY, ale zase to nebylo nalezeno u strnadů (*Emberiza schoeniclus*) (Kleven and Lifjeld 2004). U sýkor (*Parus caeruleus*) byli EPY více heterozygotní než jejich WPY sourozenci (Foerster et al. 2003). I když nemusí být potřeba celogenomové heterozygotnosti potomků v případě, že komplementarita je potřebná jenom v jednom lokusu. Například MHC lokusy jsou nejlepší příklad komplementární hypotézy. Samice se páří se samci tak, aby potomci byli heterozygotní v tomto lokusu a tak více imunní proti patogenům (Tregenza and Wedell 2000). Freeman-Gallant et al. (2003) také našli, že strnavec (*Passerculus sandwichensis*) si hledá geneticky komplementárního partnera v lokusu MHC. Marshall et al. (2003) našli u rákosníků (*Acrocephalus schoenobaenus*), že se také páří častěji s geneticky komplementárními samci. Foerster et al. (2006) však zjistili, že sýkory (*Parus caeruleus*) si nevybírají partnera podle genetické komplementarity.

Oh and Badayev (2006) našli, že samice hýlů (*Carpodacus mexicanus*) se páří s geneticky komplementárními samci, ale až později v sezóně, ze začátku sezóny se páří se samci s nejvíce vyvinutými sekundárně pohlavními znaky.

Další předpoklad pro komplementární hypotézu je ten, že si samice vybírá EP samce více komplementárnějšího než je její vlastní sociální partner. Může to být proto, že sociální partner je při zakládání hnízda spojený s některými dalšími věcmi pro samici důležitými, například s teritoriem, takže komplementarita zůstává stranou (Griffith 2002).

Další předpoklad zkoumali Blomquist et al. (2002): vliv komplementarity sociálního páru na výskyt EPP v hnízdě. Nalezli, že u třech druhů roste s genetickou nekomplementaritou sociálních párů EPP v hnízdě u jespáků (*Calidris mauri*), písíků (*Actitis hypoleuca*) a kulíků (*Charadrius alexandrinus*). Také další výzkumy se stejnými výsledky provedli Eimes et al. (2005) u sojek (*Aphelocoma ultramarina*), Tarvin et al. (2005) u modropláštníků (*Malurus splendens*), strnadců (*Passerculus sandwichensis*) Freeman-Gallant et al. (2006) a u hýlů (*Carpodacus mexicanus*) Oh and Badyaev (2006). Oproti tomu, Kleven et al. (2005) však našli u vlaštovek (*Hirundo rustica*), že si samice hledala nekomplementárního EP samce. Také Rätti et al. (1995) našli, že pokud se samice páří s geneticky komplementárními sociálními samci mají více EPY v hnízdě.

Několik dalších studií nenalezlo žádný efekt genetické komplementarity mezi sociálními partnery a výskytem EPP v hnízdě (Charmantier et al. 2004; Ri-

chardson et al. 2004; Kleven and Lifjeld 2005; Richardson et al. 2005; Edly-Wright et al. 2007; Stapleton et al. 2007).

Je vidět, že výsledky nevycházejí jednoznačně. V review Mays et al. (2007) shrnuli informace o platnosti komplementární hypotézy u ptáků. Zjistili, že komplementární hypotéza spíše neplatí. Může to být kvůli neschopnosti ptáků rozlišit partnera dle komplementárních genů nebo může být ptačí výběr založen na jiných hypotézách.

Existují samozřejmě i další hypotézy, například hypotéza „sexy synů“ dle Fischera říká, že samice si vybírají samce s nejvíce vyvinutými sekundárními pohlavními znaky proto, aby jejich potomci tyto znaky zdělili po otci a poté byli úspěšnější v pohlavním výběru. Selektce by proto upřednostňovala samce s nejvyvinutějšími znaky. Další možná hypotéza je hypotéza genetické diverzity, což znamená, že se samice bude pářit s více samci proto, aby snůška potomků získala genetickou variabilitu a tak, aby byli potomci lépe adaptovaní na okolní prostředí (Westneat et al. 1990). To by také znamenalo, že mezi EPY a WPY nebudou žádné rozdíly ve fitness či heterozygotnosti. Je důležité si také povšimnout, že většina prací se zabývá samičí preferencí pro samce, ale tak to nemusí být ve všech případech a samec si může vybírat samice.

Hypotézy C

C.1. U hýlů, při výběru partnera, platí hypotéza genetické komplementarity. To znamená, že si samice vybírá samce podle genotypu, který je vzhledem k samičímu genotypu komplementární. Zabývám se hypotézou, že čím je sociální pár komplementárnější, tím sociální samec méně často ztrácí paternitu v hnízdě (v hnízdě se nevyskytuje EPP).

C.2. U hýlů při výběru partnera platí hypotéza dobrých genů. To znamená, že čím je sociální samec heterozygotnější, tím méně často ztrácí paternitu v hnízdě (v hnízdě se nevyskytuje EPP).

2. Praktická část

2.1 Hýl rudý (*Carpodacus erythrinus*)

Hýl rudý patří do řádu pěvců Passeriformes a rodu *Carpodacus*. Je podobné velikosti jako vrabec. Samec má do karmínova zbarvenou hlavu, hrud' a kostrč, samice a mláďata jsou olivově hnědá, mají hnědě proužkovanou hrud' a křídla se dvěma světlými pásky (Hudec et al. 1983). Barva samců přechází od zářivě červené do světle oranžové (Schnitzer 2003).

Hýl rudý je rozšířený po palearktické oblasti. Hlavně v Evropě a na Sibiři, ale jeho areál se posouvá stále více do západní Evropy. V Severní Americe se vyskytují druhy hýlů (*Carpodacus mexicanus*) a (*Carpodacus purpureus*). Další tři druhy žijí v asijské části areálu. Některé populace žijí v nížinách a ty co žijí na jihu ve vysokohorských pásmech (Hudec et al. 1983).

Je to tažný druh. Zimoviště mají v severní a střední části Indie, zřídka zaletují až na jih Přední nebo Zadní Indie (Hudec et al. 1983).

Žijí v otevřené krajině s lučními porosty a roztroušenými keři. U nás nejčastěji v lučinatých nížinách nebo v horských údolích, řidčeji nad hranicí lesa (Hudec et al. 1983).

První zastižení na Slovensku bylo datováno z roku 1846 (Hudec et al. 1983). V České Republice byl poprvé zastižen roku 1962 (Šťastný et al. 2006). Počet jedinců v evropské populaci hýlů rudých je nyní odhadován na 6 až 12 miliónů (BirdLife International 2004).

Hýl rudý je sociálně monogamní druh, který provozuje EPC (Albrecht et al. 2007). Nebylo nalezeno, že by se samice párovaly s červenějšími samci, pravděpodobně proto, že mají samice málo času na výběr partnera (Björklund 1990). Schnitzer (2003) ale vyzkoumal, že pokud má samice červenějšího samce, méně provozuje EPC.

Přílet na hnízdiště je velmi pozdní, nejčastěji 13. 5. Poslední přílet je 12. 6. Odlet z hnízdišť byl zaznamenán již koncem července nebo koncem srpna (Hudec et al. 1983). Místo hnízda vybírá nejspíš samice. Tok probíhá na větvi nebo na balvanu. Samec se za zpěvu blíží k samici, má vztyčený ocas, dozadu vyvrácenou hlavu a spuštěná chvějící se křídla. Hnízdo si staví obvykle v křovinách. Je postaveno ze suchých trav, někdy i větviček, kořínků, srsti, atd. Staví je samice (Hudec et al. 1983). Hnízdí jedenkrát ročně, ale po zničení hnízda hnízdí znovu (Albrecht 2004). Průměrně mají čtyři vejce ve snůšce. Vejce jsou modré s nepravidelným tmavým tečkováním. Na vejcích sedí samice, samec ji přináší potravu jen výji-

mečně. O mláďata pečují oba rodiče. Potrava je přinášena ve voleti a postupně vydavována. Mláďata opouštějí hnízdo ve stáří 11-12 (10-13) dnů. Pohlavní dospělosti dosahují již v příštím roce (Hudec et al. 1983).

Živí se výhradně rostlinnou potravou (např. semena bylin a stromů, pupeny, lístečky, výjimečně živočišnou (brouky a housenky) (Hudec et al. 1983).

Samec

Foto (O. Hlásek)



Hnízdo se snůškou 5 vajec

Foto (O.Hlásek)



2.2 Metodika

2.2.1 Sběr dat

Studování hýli rudí (*Carpodacus erythrinus*) pocházejí z Národního parku Šumavy, z říčních niv Vltavy, lokality Želnavy (jižní Čechy; Česká Republika; N 48°48'–48°50', E 13°55'–13°57', ~730 m nad mořem). Ptáci byli odchytáváni v lokalitě velké zhruba 200 ha. Vzorky do mé diplomové práce se shromažďovaly od roku 2000-2005. Celkem mám k dispozici 118 jedinců.

Jedinci byli chytáni po přeletu. Někteří jedinci byli chytáni později, po vylíhnutí mláďat. Jedinci byli chyceni do sítě (v některých případech byla použita hlasová nahrávka nebo figurína samce). Po chycení jim byla odebrána krev z brachiální žíly (okolo 50 mikrolitrů). Dále byli jedinci zváženi a změřeni.

Mapa a pohled na lokalitu:



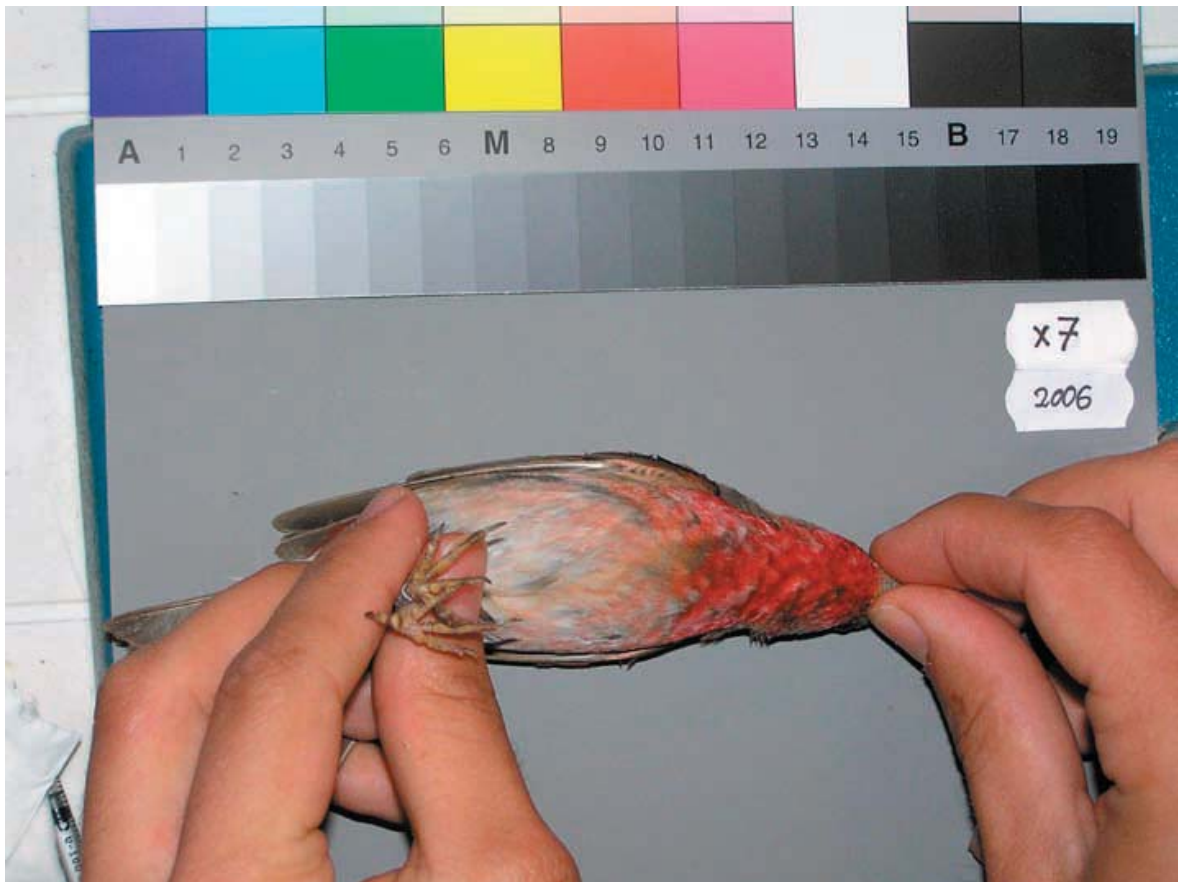


2.2.2 Měření barvy

Samec (možnosti zbarvení)

foto: J. Schnitzer





Zbarvení břišní části bylo zdokumentováno digitálním fotoaparátem. Data samčího zbarvení byla vzata z dizertační práce J. Schnitzera (práce: Signalization of parent investments in socially monogamous passerines). Všechny fotografie byly udělány digitálním fotoaparátem Olympus C -765 za standardních podmínek (blesk, vzdálenost a nastavení kamery) proti standardnímu šedému podkladu s barevným standardem firmy Kodak. Navíc, fotografie byly později barevně sjednoceny v Adobe Photoshopu verzi 10.0 CS.3 podle barevných standardů. Z fotografií byla analyzována barva hrudi. Hodnoty barev byly zaznamenány z rovnoměrně rozmístěných 12 bodů v ústřední části hrudní ornamentace. Těchto 12 hodnot představovalo průměry barvy obdržené z 5 x 5 pixelové oblasti. Výstup těchto hodnot byl zapsán jako průměrné hodnoty v barevném prostoru HSB (odstín, sytost, jas). Všechny měření byly dělány Janem Schnitzerem.

2.2.3 Analýza paternity

Paternita potomků v hnízdě byla zhodnocena J. Schnitzerem třemi vysoce variabilními mikrosatelity (LOX 2, LOX 7, LOX8) originálně vyvinutými pro křivky (*Loxia scotica*) ze studie Piertney et al. (1998).

2.2.4 Izolace DNA

Krev (50 mikrolitrů) byla uchována v ethanolu při -20 °C. DNA jsem získala užitím kitu DNeasy®Tissue Kit (50) (Qiagen, No. 69504).

2.2.5 Mikrosatelity a primery

Použila jsem primery vyvinuté screenováním genomické knihovny dvou rodů hýlů *Carpodacus* a primery z příbuzných druhů (hýla (*Carpodacus mexicanus*) (Hawley 2005) a křivky (*Loxia scotica*) (Piertney et al. 1998).

Nejdříve jsem zkoušela při jaké teplotě se amplifikují při PCR jednotlivé primery (při použití gradientu teplot cca 55-66°C).

Výsledný PCR produkt jsem dala na elektroforézu na 2% gel a zjišťovala, při jaké teplotě se primery amplifikovaly a určovala přibližnou délku mikrosatelitů podle výsledků z gelové elektroforézy (mikrosatelity se rozdělily podle velikosti). Určovala jsem, které primery jsou polymorfní a vhodné pro vytvoření multiplexů, tak aby se mikrosatelity daly rozeznat (podle barvy a délky lokusů). Do mé diplomové práce jsem použila multiplex po 6 mikrosatelitových lokusech. Protože byly jednotlivé mikrosatelity označeny různými fluorochromy, mohla fragmentační analýza probíhat současně se všemi 6 lokusy. Vždy jeden primer z každého páru (forward) byl totiž označen některým z fluorochromů – FAM, HEX, NED. Viz tabulka č.1. Dále jsem zkoušela, jaká koncentrace primerů bude nejvhodnější a upravovala, pokud byl výsledek z fragmentační analýzy slabý nebo nedetektabilní.

Tabulka č. 1: Použité mikrosatelity v mé diplomové práci

Mikro-satelit	Opakování	Primer	Bar-va	Vytvořeno
HOFI7	(AC)5AT (AC)28	F: AGTACCATCCTTCT- CTGTCTGC R: ATTCTTGCTCCTAT- TTTATTCTCC	FAM	<i>C.mexicanus</i> (Hawley 05)
HOFI 5	(TG)12	F: ACTGCAGAAAGCG- ATCACATTACG R: GGCCCTCATTCTC- CTGCTTAC	HEX	<i>C.mexicanus</i> (Hawley 05)
LOX 6	(CTTT)19	F: ACAATAACATAG- GTCAGAAGC R: GCTCTATAACTTTG- TGATTTTGC	HEX	<i>Loxia scotica</i> (Piertney et al. 1998).
CE150	(GA)8	F: CCTTCAATCACTCC- TTCC R: GCACCTGCAGCTG- TAAAT	FAM	<i>C. erythrinus</i> (vytvořeno skupinou T. Albrechta (Polakova et al. 2007))
EABL1 (CM001E)	(GAAA)16G AT(GATA)11	F: TATAAGGTCCTCACCGAGC C R: CACTGCATCTTTCCAAAGC TAA	NED	<i>C. mexicanus</i> (vytvořeno skupinou H.E.Hilla) (Polakova et al. 2007)
HOFI 14 (CM014)	(TG)7	F: GGAGGAAGGAAACTGTTTT GC R: CCCATGGCACATGTTGACT A	NED	<i>C. mexicanus</i> (vytvořeno skupinou G.E.Hilla) (Polakova et al. 2007)

Do mé diplomové práce jsem vytvořila multiplex šesti mikrosatelitových lokusů: EABL1(CM001E); HOFI14(CM014); HOFI5, HOFI7, LOX6, CE 150 a vytvořila protokol. Viz tabulka č. 2.

Tabulka č. 2: Multiplex – vytvořený protokol

	objem (μ l)	koncentrace zásobního roztoku (μ M)
PCR pufr	5,00	
HOFI 7-F	0,20	10
HOFI 7-R	0,20	10
HOFI 14-F	0,10	10
HOFI 14-R	0,10	10
HOFI 5-F	0,25	10
HOFI 5-R	0,25	10
LOX6-F	0,20	10
LOX 6-R	0,20	10
EABL1-F	0,30	10
EABL1-R	0,30	10
CE150-F	0,20	10
CE150-R	0,20	10
ddH2O	1,50	
DNA	1,00	

Směs jsem připravovala na ledu a použila jsem QIAGEN Multiplex PCR Kit. Voda se doplňovala tak, aby výsledný objem byl na jeden vzorek 10 mikrolitrů. Reakční směs jsem zvortexovala v mikrozkuhavce. Do připraveného platíčka jsem pipetovala po 1 mikrolitru DNA a 9 mikrolitrech zvortexované směsi na jeden vzorek. Poté jsem platíčko zcentrifugovala.

PCR proběhla na Mastercycleru ep gradient S (Eppendorf) s nastavenými teplotami:

- 1) počáteční fáze denaturace: 95°C-15 min
- 2) denaturace: 94°C-30s
- 3) annealing: 56°C-90 s (krok 2-4: 35 cyklů)
- 4) extenze: 72°C-60s
- 5) finální extenze: 60°C-30 minut

Do mikrozkušavky jsem pipetovala 0,3 mikrolitrů velikostního standardu 500 ROX Size Standard (Applied Biosystem) a 12 mikrolitrů formamidu (Applied Biosystem). Do platíčka jsem pipetovala 12 mikrolitrů smíchaného standardu a formamidu a 1 mikrolitr PCR produktu. Opět jsem zcentrifugovala. Denaturace probíhala při 95°C 5 minut, poté byl vzorek vložen na led. Pomocí fragmentační analýzy byly stanoveny velikosti alel mikrosatelitů na automatickém sekvenátoru ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems), ve kterém probíhá kapilární elektroforéza fluorescenčně značených DNA fragmentů.

Fragmenty DNA jsou elektroforézou v kapiláře rozděleny podle délky a při průchodu laserovým paprskem, dojde k zachycení signálu zbarvených fragmentů, což je zaznamenáno detektorem. Pokud se jednotlivé lokusy výrazně liší délkou nebo typem fluorescenčního značení, můžeme jich analyzovat několik současně. Spolu s každým vzorkem je v analyzované směsi i velikostní standard (v tomto případě 500 ROX Size Standard), což je směs fragmentů o známé délce, který umožní přepočet elektroforetické rychlosti na délku jednotlivých fragmentů. Velikost alel jsme poté určovali na PC pomocí programu GENEMAPPER 3.7 (Applied Biosystems).

3. Výpočty

3.1 Určení velikostí mikrosatelitových alel

Celkem jsem měla k dispozici 118 jedinců a 6 mikrosatelitových lokusů. Po fragmentační analýze jsem určila velikosti alel v programu GENEMAPPER 3.7 (Applied Biosystems). Viz. tabulka č.3 v příloze.

3.2 Výpočet měř heterozygotnosti

Dále jsem v programu Macro IR (Amos et al. 2001) počítala míry heterozygotnosti (H_o , IR, SH, standardizované mean d^2 , HL). Viz. tabulka č. 4 v příloze. Zde jsou informace o použitých mírách:

1. Mean d^2
2. Standardizovaná heterozygotnost (SH)
3. Internal relatedness (IR)
4. Heterozygosity weighted by locus (HL)
5. Pozorovaná heterozygotnost H_o

Add 1. Mean d^2

Je měření závislé na mutačních rozdílech mezi dvěma mikrosatelitovými alelami a je počítáno jako průměr druhé mocniny rozdílu délek. Mean d^2 by měl zaznamenávat události hlouběji v rodokmenu. Větší rozdíl v délce alel svědčí o menší příbuznosti předků jedince (Coulson et al. 1998). Nutným předpokladem při výpočtu d^2 je platnost SMM (Weber et al. 1993)

Výpočet mean d^2 :

$$mean_d^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(i_a - i_b)^2}{n}$$

- i_a a i_b jsou délky alel a a b na lokusu i , n je celkový počet lokusů, ve kterých byl jedinec posuzován.

- Amos et al. (2001) v programu IR Macro používají standardizované mean d^2

Add 2. SH – standardizovaná heterozygotnost

SH je metoda počítající heterozygotnost, kdy je významnost každého lokusu vážena přes průměrnou heterozygotnost na tomto lokusu (Coltman et al. 1999).

Add 3. IR – internal relatedness

Amos et al. (2001) určuje IR, jako „příbuznost“ alel na daném lokusu. Je to shoda alel vážená přes frekvenci alely, tedy všímá si vzácnějších alel od obou rodičů. Vzácnější alely mají větší váhu. IR je ovlivněna nedávnou historií (recentní výběr partnerů v populaci) (Queller & Goodnight et al. 1989).

$$IR = \frac{2H - \sum f_i}{2N - \sum f_i}$$

- H je počet lokusů, které jsou homozygotní, N je počet lokusů a f_i je frekvence i -té alely

Add 4. HL – nová míra, heterozygotnost vážená přes lokusy (Aparicio et al. 2006)

3.3 Korelace měř heterozygotnosti

Míry heterozygotnosti jsem navzájem korelovala pomocí neparametrické regrese Spearmanova korelačního koeficientu v programu Statistica 8.0. Výsledek byl signifikantní při $p < 0,05$.

3.4 Korelace fitness znaků

Fitness znaky jsem spolu navzájem korelovala, opět pomocí neparametrické regrese Spearmanova korelačního koeficientu v programu Statistica 8.0. Výsledek byl signifikantní při $p < 0,05$. Tabulka s fitness znaky viz. tabulka č. 5.

3.5 Výpočet nulových alel, očekávané a pozorované heterozygotnosti, odchylky od Hardy - Weinbergovy rovnováhy, linkage disequilibrium

Vypočítala jsem frekvenci nulových alel, očekávanou a pozorovanou heterozygotnost, odchylky od Hardy - Weinbergovy rovnováhy v programu CERVUS 3.0. Dalším testem jsem počítala, zda jsou lokusy ve vazbě (linkage disequilibrium) s použitím programu GENEPOP 3.3 (Raymond and Rousset 1995). Výsledky byly upravovány Bonferroniho korekci.

3.6 Korelace heterozygotnosti a fitness v jednotlivých lokusech

Počítala jsem vliv heterozygotnosti v jednotlivých lokusech na fitness pomocí neparametrické regrese Spearmanova korelačního koeficientu v programu Statistica 8.0. Výsledek byl signifikantní při $p < 0,05$. Jako fitness znaky jsem použila váhu jedince, délku tarsu, barvu (odstín (H), sytost (S), jas (B)) a reprodukční úspěch.

3.7 Korelace celkové heterozygotnosti a fitness

Testovala jsem korelace celkové heterozygotnosti a fitness. Ke korelaci jsem použila neparametrickou regresi Spearmanova korelačního koeficientu v Programu Statistica 8.0. Výsledek byl signifikantní při $p < 0,05$. Protože jsem zjistila, že míry spolu korelují, stačilo, když jsem spočítala korelace mezi SHobs a fitness znaky. Počítala jsem tyto korelace se všemi jedinci dohromady, a také zvlášť pro samce a samice.

3.8 Komplementarita párů, hypotéza dobrých genů, komplementární hypotéza

V druhé části mé diplomové práce jsem počítala komplementaritu párů v programu MER 3.0 software (komplementaritu počítám jako příbuznost (Wang 2002). Sledovala jsem, zda má heterozygotnost sociálních samců (good genes hypothesis) nebo komplementarita sociálních párů (complementary genes hypothesis) vliv na výskyt EPP v hnízdě (určené jako výskyt EPY v hnízdě). Použila jsem

logistickou regresi (logit link funkce) s výskytem mimopárových mláďat jako binární závislou proměnnou a heterozygotnost samců a komplementaritou párů jako vysvětlujícími proměnnými v programu SPlus 4.0

4. Výsledky

4.1 Korelace měř heterozygotnosti

Výsledek korelací měř heterozygotnosti byl signifikantní, míry spolu navzájem korelovaly, p vyšlo ve všech případech $p < 0,05$. Spearmanův korelační koeficient r vycházel od $-0,95$ (negativně korelované) do 1 (pozitivně korelované). Viz tabulka č. 6.

Tabulka č. 6: Korelace měř heterozygotnosti, Spearmanův korelační koeficient, p je signifikantní při $<0,05$, Statistica 8.0.

	IR	Shexp	Shobs	d^2	HL
SHexp	$p=0.00$, $r=-0,950858$, $t(N-2)=-32,9325$				
SHobs	$p=0.00$, $r=-0,950858$, $t(N-2)=-32,9325$	$p=0,00$, $r=1$			
d^2	$p=0.000001$, $r=0,441921$, $t(N-2)=-5,28292$	$p=0,00$, $r=0,510280$, $t(N-2)=6,362902$	$p=0,0$, $r=0,510280$, $t(N-2)=6,362902$		
HL	$p=0.00$, $r=0,919882$, $t(N-2)=25,15239$	$p=-0.00$, $r=-0,957167$, $t(N-2)=-35,4513$	$p=0,0$, $r=-0,957167$, $t(N-2)=-36,4513$	$p=0,00$, $r=-0,463355$, $t(N-2)=-5,60718$	
Hobs	$p=0.00$, $r=-0,908551$, $t(N-2)=-23,3215$	$p=0,00$, $r=0,965275$, $t(N-2)=39,62479$	$p=0,00$, $r=0,965275$, $t(N-2)=39,62479$	$p=0,00$, $r=0,477632$, $t(N-2)=5,830034$	$p=0,00$, $r=-0,928603$, $t(N-2)=-26,8360$

4.2 Korelace fitness znaků

Při korelaci znaků fitness vyšlo, že spolu korelují váha a tarsus ($p=0,00229$), dále váha a barva (sytost) ($p=0,01854$). Ostatní znaky spolu nekorelují. Viz tabulka č. 7 a tabulka č.8.

Tabulka č. 7: Korelace mezi mírami fitness, Spearmanův korelační koeficient, p je signifikantní při $<0,05$, Statistica 8.0.

	n	Spearman R	p
Váha a tarsus	106	0,29311	0,00229
Váha a barva sytost	56	0,31947	0,01854
Váha a barva odstín	54	0,010692	0,938838
Váha a barva jas	54	-0,06655	0,632541
Tarsus a barva odstín	58	-0,19744	0,137381
Tarsus a barva sytost	58	0,110318	0,40972
Tarsus a barva jas	58	-0,00759	0,954934
Barva sytost a barva odstín	58	0,039807	0,766709
Barva sytost a barva jas	58	0,031562	0,814058
Barva odstín a barva jas	58	0,182305	0,170788

Tabulka č. 8: Korelace mezi reprodukčním úspěchem a dalšími znaky fitness, Spearmanův korelační koeficient, p je signifikantní při $<0,05$, Statistica 8.0.

	n	Spearman R	p
váha a reproúspěch	45	0,169955	0,264357
tarsus a reproúspěch	48	-0,012683	0,931816
odstín a reproúspěch	41	-0,053446	0,739982
sytost a reproúspěch	41	-0,207908	0,192097
jas a reproúspěch	41	-0,017902	0,911544

4.3 Nulové alely, očekávané a pozorované heterozygotnosti, odchylky od Hardy - Weinbergovy rovnováhy, linkage disequilibrium

Při výpočtu frekvence nulových alel, očekávané a pozorované heterozygotnosti, odchylky od Hardy - Weinbergovy rovnováhy programem CERVUS 3.0. je zřejmé že vysoká frekvence nulových alel vyšla u lokusů HOFI14 (CM014); HOFI7 a LOX 6. Viz tabulka č. 9.

Tabulka č. 9: Výstup z programu CERVUS 3.0.

Locus	počet alel	jedinců	Hobs	Hexp	HW	F(Null)
HOFI7	19	118	0.517	0.896	***	+0.2670
HOFI14	5	118	0.169	0.383	***	+0.3751
HOFI 5	21	118	0.873	0.908	NS	+0.0191
EABL1	55	118	0.949	0.971	ND	+0.0093
CE150	13	118	0.864	0.839	NS	-0.0183
LOX6	88	118	0.534	0.975	ND	+0.2936

Testem vazby lokusů (linkage disequilibrium) s použitím programu GENE-POP version 3.3 (Raymond and Rousset 1995) jsem zjistila i po použití Bonferro-niho korekce, že lokusy 4 a 6 (tedy EABL1 (CM001E) a LOX6) jsou spolu ve vazbě. Viz. tabulka č. 10. Vysvětlivky: Lokus 1: HOFI7; Lokus 2: HOFI14(CM014); Lokus 3: HOFI5, Lokus 4: EABL1(CM001E); Lokus 5: CE150, Lokus 6: LOX6.

Tabulka č. 10: Určení vazby; program GENEPOP 3.3

Markov chain parametrs			
DemomORIZATION: 1000			
Batche: 100			
Iteritaion per batches: 1000			
lokus		p	S.E.
Loc1	Loc2	0.02267	0.01023
Loc1	Loc3	0.39818	0.04880
Loc2	Loc3	0.69159	0.03766
Loc1	Loc4	1.00000	0.00000
Loc2	Loc4	0.10473	0.02750
Loc3	Loc5	1.00000	0.00000
Loc1	Loc5	0.07110	0.02674
Loc2	Loc5	0.45360	0.03799
Loc3	Loc5	0.63752	0.04696
Loc4	Loc6	0.11111	0.03143
Loc1	Loc6	1.00000	0.00000
Loc2	Loc6	0.15929	0.03176
Loc3	Loc6	0.94324	0.02277
Loc4	Loc6	0.00000	0.00000
Loc5	Locž	0.09334	0.02885
Fisherš method			
P-value for each locus pair across all populations	Chi2	p	df
Lokus1 a Lokus2	7,573	0,023	2
Lokus1 a Lokus3	1,842	0,393	2
Lokus2 a Lokus3	0,738	0,692	2
Lokus1 a Lokus4	0,000	1,000	2
Lokus2 a Lokus4	4,513	0,105	2
Lokus3 a Lokus4	0.000	1,000	2
Lokus1 a Lokus5	5,287	0,071	2
Lokus2 a Lokus5	1.581	0,454	2
Lokus3 a Lokus5	0,009	0,638	2
Lokus4 a Lokus6	4,394	0,111	2
Lokus1 a Lokus6	0,000	1,000	2
Lokus2 a Lokus6	3,674	0,159	2
Lokus3 a Lokus6	0,117	0,943	2
Lokus4 a Lokus6	infinity	higly sign.	2
Lokus5 a Lokus6	4,743	0,093	2

4.4 Korelace heterozygotnosti a fitness v jednotlivých lokusech

Při výpočtu vlivu heterozygotnosti v jednotlivých lokusech na fitness po Bonferroniho korekci vyšlo, že ani jeden lokus nemá vliv na fitness jedince (popřípadě, není ve vazbě s fitness lokusy). Viz tabulka č. 11

Tabulka č.11: Spearmanův korelační koeficient, p je signifikantní při <0,05, Statistica 8.0.

Tarsus samice 1. lokus	n	Spearman R	p
Tarsus & Shobs	51	-0,03809	0,790741
Tarsus samice 2.lokus			
Tarsus & Shobs	51	0,08061	0,573922
Tarsus samice 3.lokus			
Tarsus & Shobs	51	-0,10546	0,461421
Tarsus samice 4.lokus			
Tarsus & Shobs	51	0,10903	0,446277
Tarsus samice 5.lokus			
Tarsus & Shobs	51	0,0579	0,686531
Tarsus samice 6.lokus			
Tarsus & Shobs	51	0,08878	0,535562
Tarsus samec 1.lokus			
Tarsus & Shobs	84	-0,18368	0,442792
Tarsus samec 2.lokus			
Tarsus & Shobs	84	0,0579	0,686531
Tarsus samec 3.lokus			
Tarsus & Shobs	84	-0,02807	0,799916
Tarsus samec 4.lokus			
Tarsus & Shobs	84	-0,04151	0,707726
Tarsus samec 5.lokus			
Tarsus & Shobs	84	0,08878	0,535562
Tarsus samec 6.lokus			
Tarsus & Shobs	84	0,03287	0,766578
Váha samice 1. lokus			
Váha & Shobs	49	0,14853	0,308419
Váha samice 2. lokus			
Váha & Shobs	49	-0,10386	0,477592
Váha samice 3. lokus			
Váha & Shobs	49	0,09059	0,535888
Váha samice 4. lokus			
Váha & Shobs	49	-0,01813	0,901614
Váha samice 5. lokus			
Váha & Shobs	49	0,09059	0,535888
Váha samice 6. lokus			
Váha & Shobs	49	0,14853	0,308419
Váha samec 1.lokus			

Váha & Shobs	49	0,04273	0,750117
Váha samec 2.lokus			
Váha & Shobs	49	0,00263	0,984362
Váha samec 3.lokus			
Váha & Shobs	49	0,14956	0,262499
Váha samec 4.lokus			
Váha & Shobs	49	0,09059	0,535888
Váha samec 5.lokus			
Váha & Shobs	49	0,17797	0,181359
Váha samec 6.lokus			
Váha & Shobs	49	-0,02696	0,840777
Váha samec i samice			
Váha 1.lokus			
Váha & Shobs	107	-0,1571	0,106089
Váha 2.lokus			
Váha & Shobs	107	-0,03134	0,748657
Váha 3.lokus			
Váha & Shobs	107	-0,03201	0,743401
Váha 4.lokus			
Váha & Shobs	107	-0,0158	0,871675
Váha 5.lokus			
Váha & Shobs	107	-0,03365	0,730808
Váha 6.lokus			
Váha & Shobs	107	0,01091	0,911159
Tarsus samec i samice			
Tarsus 1.lokus			
Tarsus & Shobs	114	-0,09665	0,306305
Tarsus 2.lokus			
Tarsus & Shobs	114	0,18065	0,54429
Tarsus 3.lokus			
Tarsus & Shobs	114	0,0138	0,884108
Tarsus 4.lokus			
Tarsus & Shobs	114	-0,0197	0,835181
Tarsus 5.lokus			
Tarsus & Shobs	114	-0,09665	0,306305
Tarsus 6.lokus			
Tarsus & Shobs	114	0,05309	0,574787
Reprodukční úspěch samců			
1.lokus			
repro & Shobs	48	0,13907	0,345833
2. lokus			
repro & Shobs	48	0,06091	0,680874
3. lokus			
repro & Shobs	48	0,1043	0,480492
4.lokus			
repro & Shobs	48	0,06091	0,680874
5.lokus			

repro & Shobs	48	0,06091	0,680874
6.lokus			
repro & Shobs	48	0,0077	0,958596
Barva (HSB) odstín, sytost, jas			
1.lokus			
Odstín			
H & Shobs	58	-0,03952	0,76834
Sytost			
S & Shobs	58	-0,16914	0,204341
Jas			
B & Shobs	58	-0,18811	0,157328
2.lokus			
Odstín			
H & Shobs	58	-0,20341	0,125653
Sytost			
S & Shobs	58	0,11696	0,381941
Jas			
B & Shobs	58	0,13984	0,295115
3.lokus			
Odstín			
H & Shobs	58	0,06426	0,631782
Sytost			
S & Shobs	58	-0,00338	0,979899
Jas			
B & Shobs	58	0,0186	0,889777
4.lokus			
Odstín			
H & Shobs	58	0,17216	0,196253
Sytost			
S & Shobs	58	-0,03134	0,748657
Jas			
B & Shobs	58	0,16934	0,203814
5.lokus			
Odstín			
H & Shobs	58	-0,04978	0,710559
Sytost			
S & Shobs	58	-0,02987	0,823874
Jas			
B & Shobs	58	0,02845	0,832134
6.lokus			
Odstín			
H & Shobs	58	-0,04978	0,710559
Sytost			
S & Shobs	58	-0,01255	0,925523
Jas			
B & Shobs	58	-0,00338	0,203814

4.5 Korelace celkové heterozygotnosti a fitness

Při zjišťování korelace celkové heterozygotnosti a fitness vyšlo, že zde ani jeden znak fitness nekoreluje s heterozygotností v 6 mikrosatelitových lokusech (ve všech případech je $p > 0.05$). Stejný výsledek vyšel i při korelování heterozygotnosti a fitness zvlášť u samců a samic. Viz. tabulka č. 12.

Tabulka č. 12: Korelace heterozygotnosti a fitness; Spearmanův korelační koeficient, p je signifikantní při $< 0,05$, Statistica 8.0.

	n	Spearman R	p
SH a tarsus všech jedinců	114	0,069875	0,460064
SH a váha všech jedinců	114	-0,086577	0,359707
SH a barva H samců	56	-0,141857	0,296993
SH a barva S samců	56	-0,045545	0,738895
SH a barva B samců	56	0,181414	0,180866
SH a reproúspěch samců	56	-0,045545	0,738895
SH a tarsus samců	64	0,190293	0,132032
SH a tarsus samic	50	0,026868	0,853063
SH a váha samců	59	0,099369	0,453981
SH a váha samic	48	-0,099499	0,501043

4.6 Komplementarita párů, hypotéza dobrých genů, komplementární hypotéza

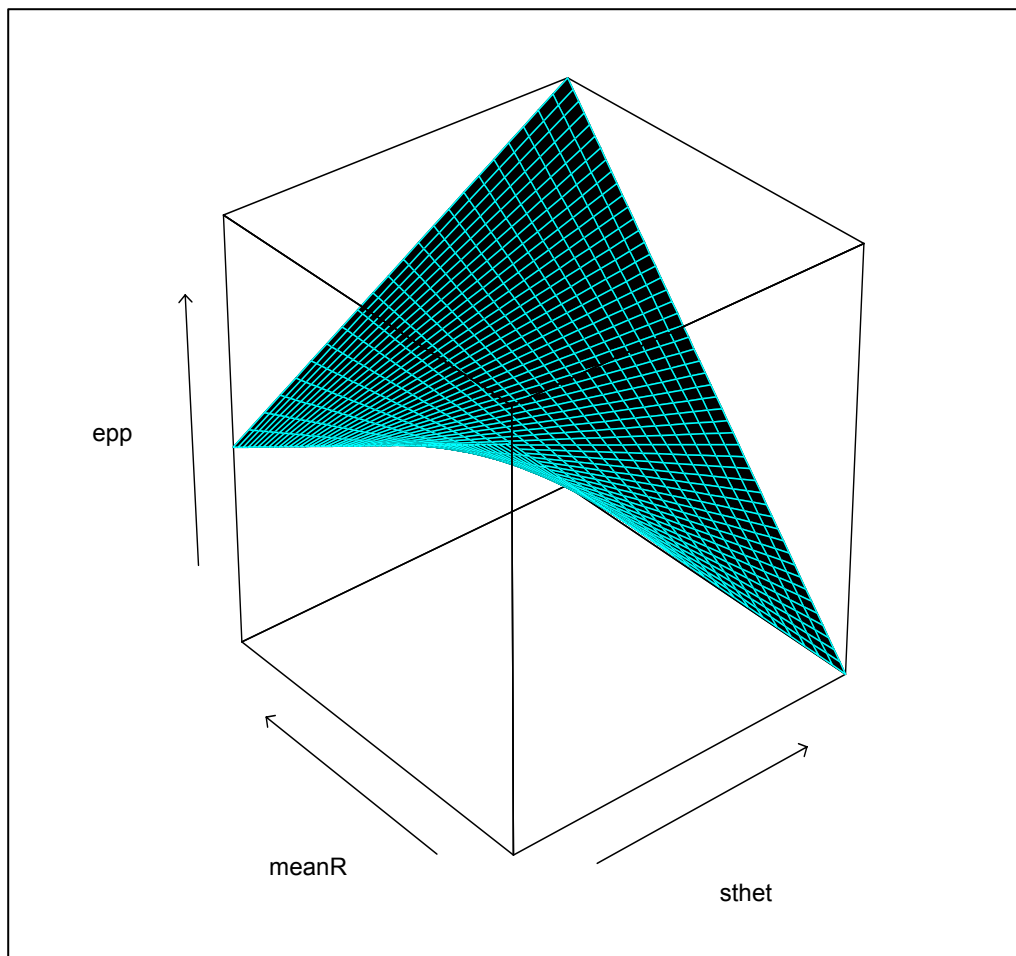
V druhé části mé diplomové práce nejdříve počítám komplementaritu (počítanou jako příbuznost meanR) párů v programu MER 3.0 software (Wang 2002). Výsledky jsou v tabulce č. 12 v příloze. Zjistila jsem, že samy o sobě heterozygotnost a ani komplementarita nevysvětlují výskyt EPP v hnízdě, vztah heterozygotnosti samce a komplementarity párů na výskyt EPP je totiž složitější. Je zde průkazná interakce, tzn. efekty heterozygotnosti a komplementarity jsou odlišné v různých úrovních druhé proměnné. Viz. Tabulka č. 13. a graf č. 1.

Z grafu je zřejmé, že očekávaný vztah mezi heterozygotností a výskytem EPP (tedy negativní vztah) je patrný u komplementárních párů (to je vidět hlavně v extrémních případech na stěnách grafu krychle, kde je nejmenší $\text{meanR} = -0.65$). V tomto případě, pokud je samec heterozygotnější, tím méně se vyskytuje EPP v hnízdě. Pokud se ale podíváme na druhou stranu (kde $\text{meanR} = 0,31$), zjistíme, že když jsou jedinci nekomplementární, situace se téměř obrací (není zde ale patrný takový sklon jako u komplementárních párů). Musíme si také uvědomit, že se zde jedná o extrémní situace. Při pohledu na plochu je jasné, že je zde kontinuum a vztahy jsou při extrémních hodnotách průkaznější. Když je samec hodně heterozygotní ($\text{SH} = 1.56$), hraje komplementarita a EPP roli, jakou bychom očekávali (pozitivní vztah). Tedy čím větší je nekomplementarita, tím více se zvyšuje výskyt EPP (v grafu až k zadnímu rohu krychle, kde je predikovaná míra EPP rovna 1 (tedy všechna hnízda těchto párů s EPP)). Pokud je samec heterozygotní málo ($\text{SH} = 0,26$), situace se obrací (ale opět zde není patrný takový sklon jako při vysokém stupni heterozygotnosti).

Tabulka č. 13: Vliv heterozygotnosti samce a komplementarity páru na výskyt mimopárových mláďat v hnízdě (logistická regrese, binární závislá proměnná, S-Plus 4.0)

proměnná	Chi2	Df	P
heterozygotnost	2,419	1	0,119
komplementarita	0,286	1	0,593
Heterozygotnost x Komplementarita	3,93	1	0,047

Graf 1: Vztah mezi heterozygotností, mean R, a EPP



5. Diskuze

Heterozygotnost a fitness v mé diplomové práci spolu korelovány nebyly, i když míry heterozygotnosti jsou vzájemně korelovány. Můžeme se zamýšlet nad tím, proč zde korelace nenastala.

Nejzávažnější důvod může být ten, že jsem nejspíš měla malý počet mikrosatelitů. Ve studiích, kde se autoři zabývají tímto vztahem je však také použito průměrně 5 - 10 mikrosatelitů. Dnes je ale tendence zkoušet korelovat proměnné spíše s více mikrosatelitovými lokusy. Nicméně v mnoha studiích fitness s heterozygotností koreluje i s malým počtem mikrosatelitů. Musíme brát ale také v úvahu, že spousta prací, kde korelace nevyšly, publikovány nebyly, proto vycházejí metaanalýzy zkresleně a korelace jsou spíše pozitivní (Britten 1996). Použitelnost mikrosatelitové heterozygotnosti však zůstává stále diskutabilní, protože i Balloux et al. (2004) zjistili, že i při použití 200 mikrosatelitových lokusů výsledek nemusí být průkazný.

Pozitivní korelace vycházejí například u Slate et al. (2000); Amos et al. (2001); Hansson et al. (2001); Hoglund et al. (2002); Slate and Pemberton (2002); Foerster et al. (2003); Merila et al. (2003); Hoffman et al. (2004); Lesbarreres et al. (2005) a Seddon et al. (2004).

Musíme mít na také vědomí, že i když autoři korelují inbreeding pomocí inbreedního koeficientu s fitness, tak ani zde nemusí vždy tyto proměnné korelovat. Inbreeding totiž neovlivňuje všechny fitness znaky rovnoměrně v rozdílných populacích stejných druhů nebo dokonce ve stejné populaci. Intenzita inbreední deprese se také může měnit v závislosti na stádiu životní historie, měřeném znaku, experimentálních podmínkách nebo přírodních podmínkách. U mandrilů (*Mandrillus sphinx*) reprodukční úspěch samic i alfa samců byl ovlivněn inbreední depresí. Reprodukční úspěch u podřízených samců však ovlivněn inbreední depresí nebyl (Charpentier et al. 2005). Citlivost k inbreedigu může také souviset s pohlavím, což je nejspíš dáno nestejnou fyziologickou trajektorií vývoje, rozdílnou selekcí znaků nebo rozdílnou životní historií samců a samic (v některých studiích si tedy můžeme povšimnout, že fitness samic s heterozygotností nekoreluje, ale u samců je pozitivní korelace prokázána (nebo i naopak). V populaci jelenů (*Cervus elaphus*) samice s vyšším d^2 více přežívají přes zimu než samice s nižší hodnotou d^2 . U samců tato korelace průkazná není. Je to nejspíše proto, že samci mají více svalů a méně tuku než samice (větší a silnější samec má více reprodukčních

úspěchů). Proto jsou samice lépe adaptované na zimu než samci (Coulson et al. 1999). Zkoušela jsem, zda bude korelovat fitness s heterozygotností zvláště u samic a samců. Ale pozitivní korelaci jsem však nezjistila u samců ani u samic.

V těchto studiích je také diskutabilní určení správných znaků fitness. Fitness jako takové, což je počet vyprodukovaných potomků za život, je obtížné měřit, hlavně u dlouhožijících živočichů. Mnoho studií proto spíše zkoumá fitness znaky než samotné fitness. Při výběru těchto fitness znaků bychom si měli vybírat takové, které podléhají inbrední depresi a ty znaky fitness, které korelují s reprodukčním úspěchem jedinců. Korelovala jsem s reprodukčním úspěchem tarsus, barvu a váhu, bohužel ale tyto znaky s reprodukčním úspěchem nekorelují. I to může být důvod, proč mi nevyšla korelace heterozygotnosti s fitness znaky. Korelace heterozygotnosti s reprodukčním úspěchem samotným by vyjít měla (i když samozřejmě nemáme údaje o tom, kolik jedinci vyprodukovali potomků za celý život), což se v mém případě nestalo. Je však také možné, že jsem měla nedostatek jedinců se známých reprodukčním úspěchem. De Rose et al. (1999) potvrdili fakt, že znaky blízké k fitness (life – history znaky) (například reprodukční úspěch a např. i přežívání) ukazují větší inbrední depresi než morfologická data (méně blízké k fitness). Tyto znaky blízké k fitness vykazují větší inbrední depresi při stejném inbredním koeficientu než znaky morfologické. Pokud si vybereme fitness znaky, které nepodléhají inbrední depresi, korelace heterozygotnosti a fitness nevychází dobře.

Také další aspekt, který musíme brát na vědomí je ten, jak předpokládá Coltman et al. (1999), že korelace mezi heterozygotností a fitness znaky je silnější u mladých jedinců než u dospělých, protože průměrná heterozygotnost populace se zvyšuje s věkem (méně zdatní (inbrední, homozygotní) jedinci zemřou jako první). David (1998) také říká, že se korelace snižuje nebo mizí s věkem, protože maximální rozdíly v růstu a přežívání nastávají v raném životě. Bohužel v mé studii nemám informace o věku jedinců.

Korelace heterozygotnosti a fitness může být silnější, například, když jsou jedinci či populace ovlivněni vysokým stupeň polygynie, výraznou strukturovaností populace, stresovými situacemi populace, drsnými podmínkami. Samozřejmě je dobré brát v úvahu i historii populace, například zda populace prošla hrdlem láhve. V populaci s nízkou variací v inbreedingu může být korelace heterozygotnosti a fitness slabá až nedetektabilní.

Detekování vztahu je limitováno několika dalšími faktory například nulovými alelami. V mém případě se vyskytují nulové alely dle programu CERVUS u lokusů HOF17; HOF14(CM014) a LOX6. Tyto lokusy by měly být vyřazeny ze studie, tím se ale snižuje počet mikrosatelitů ve studii.

Je tedy mnoho aspektů, které ovlivňují korelace. Když korelujeme tyto proměnné, měli bychom mít i přehled o celkové stavbě populace, její historii, i o behaviorálních aspektech daného druhu.

Hoffman et al. (2006) provedli studii u lachtanů (*Arctocephalus gazela*). Obdobně jak v mé diplomové práci spolu korelovaly míry heterozygotnosti (standardizované d^2 , SH, IR). Korelovala zde dokonce i příbuznost r rodičů a IR, SH a standardizované d^2 potomků. Což je dobré zjištění, protože je zde důkaz, že IR, SH a standardizované d^2 potomků odrážejí míru příbuznosti rodičů. Bohužel ale, korelace s fitness zde nalezena nebyla (bylo zde korelováno přežívání potomků i reprodukční úspěch dospělých). Proč ani zde nebyla nalezena korelace? Nejspíše proto, že použili jen 9 mikrosatelitů a je tu možnost, že heterozygotnost jen v jednom nebo více lokusech ovlivňuje fitness. Při použití více mikrosatelitů je tedy větší šance (za předpokladu platnosti lokální či přímé hypotézy), že nám vyjde korelace pozitivní.

Jednotlivé lokusy mohou být ve spojení s fitness. Také například u lososů (*Oncorhynchus tshawytscha*) zjistili, že jenom jeden mikrosatelitový lokus je korelován s reprodukčním úspěchem jedince (Heath et al. 2001). Zde vidíme, podobně jako předpokládá Hoffman et al. (2006), že za fitness mohou být zodpovědné jen jednotlivé lokusy. To nám potvrzuje přímou či lokální hypotézu, ale na druhou stranu nám to přináší další nepříjemnosti do studia korelace. Pokud je za fitness zodpovědný jen určitý lokus, poté je náhoda, když ho objevíme. Celogenomová heterozygotnost totiž nebude korelovat s fitness, pokud jsou za fitness zodpovědné jen určité lokusy přímo nebo lokusy ve vazbě. Je tedy třeba odlišit vliv celogenomové heterozygotnosti od vlivu jednotlivých genů. To by také znamenalo, že pokud budeme mít více mikrosatelitů k dispozici, máme větší šanci objevit lokus ovlivňující fitness.

Proto jsem také testovala, zda platí lokální hypotéza (popřípadě hypotéza přímá), tedy že jeden nebo více mikrosatelitových lokusů ovlivňuje fitness, popřípadě, že jsou ve spojení s fitness lokusy. Pokud jsem totiž zjistila, že nekoreluje fitness s heterozygotností pomocí 6 mikrosatelitů (tedy neplatí hypotéza celkové heterozygotnosti), může platit lokální či přímá hypotéza. Bohužel i po Bonferrono-

vě korekci mi vyšlo, že ani jeden lokus nemá vliv na fitness jedince (popřípadě, není ve vazbě s fitness lokusy).

V některých studiích se stalo to, že fitness korelovalo s alozymovou analýzou, ale ne s heterozygotností mikrosatelitovou, například v práci Thelena and Allendorfa (2001) a práci Borrela et al. (2004). Můžeme uvažovat o tom, že buď míry mikrosatelitové heterozygotnosti nejsou tak dobrý odhadce inbreedingu nebo oproti mikrosatelitům, alozymy přímo ovlivňují fitness znaky, a nebo jsou alozymy spojeny s fitness lokusy. Mají k tomu nejspíš větší náklonnost, jelikož leží v genově bohatých oblastech. Například u mravenců (*Solenopsis invicta*) alozymový lokus PGM 3 je ve vazbě s GP9 fitness lokusem (Ross 1992).

Další otázka je, zda míry heterozygotnosti adekvátně odhadují inbreeding. Co se týká použitelnosti měr heterozygotnosti, nejvhodnější mírou se zdá být IR. Nejméně informativní a v průměru ve studiích nejméně korelovaná s fitness je překvapivě míra d^2 (Amos et al. 2001).

Při korelaci fitness znaků (reprodukční úspěch, délka tarsu, váha, barva) mi vyšlo, že spolu koreluje váha s barvou (sytností) a váha s délkou tarsu. To by tedy znamenalo, že těžší jedinci mají větší sytnost a délku tarsu. Zajímavé je, že složky barev (odstín, sytnost, jas) spolu nekorelují. Může to tedy znamenat, že každá složka může představovat jiný druh informace pro samici (například jas může korelovat s parazitní obranou, jak vyzkoumal Vinkler (2007)).

Otázkou je, zda znamená, že jedinci, kteří jsou zbarvenější, těžší a mají větší tarsus, jsou kvalitnější. Míra zbarvení samců by totiž měla indukovat celkovou kvalitu jedince. Například zbarvení samců hýlů (*Carpodacus mexicanus*) je pozitivně korelováno se zimním přežíváním (Hill 1991). McGraw (2001) zjistil, že červenější samci začínají hnízdit dříve. Časnější hnízdění vede k více hnízděním za rok a tedy k více potomkům. McGraw and Hill (2000) vyzkoumali, že větší a tedy červenější jedinci jsou dominantnější, tedy větší červenost může znamenat lepší sociální status samce.

Hypotéza, že paraziti mají vliv na zbarvení peří byla poprvé navržena Hamiltonem a Zukem (1982) a je známá jako Hamilton - Zukova hypotéza. Navrhli, že méně napadení samci by měli mít výraznější ornamenty než samci, kteří jsou více parazitováni a samci, kteří jsou více zbarveni a tedy méně parazitováni by měli být atraktivnější pro samice. Hýli (*Carpodacus mexicanus*) vykázali ten samý výsledek. Ptáci infikovaní kokcidií byli méně červení, než zdraví samci (Brawner et al. 2000). Vinkler (2007) ve stejné populaci jako jsem zkoumala já, také zjistil, že

červenější jedinci jsou více odolní vůči parazitům. Některé výzkumy a hypotézy však tuto teorii nepotvrzují, například Shawkey et al. (2007) doložili, že vysoký stupeň barevnosti byl způsoben aktivitou bakterií při rozkladu peří.

Další důležitá otázka je, zda samci hýlů rudých s vyvinutějšími sekundárními pohlavními znaky jsou více preferovány samičím výběrem. Je zvláštní, že mi vyšlo, že žádný fitness znak nekoreluje spolu s reprodukčním úspěchem samce (to by nepodporovalo hypotézu, založenou na tom, že si samice vybírají samce podle zbarvení (popřípadě podle váhy jedince nebo délky tarsu). Důvodem pro tento výsledek však může být fakt, že jsem neměla tolik dat o reprodukčním úspěchu samců. Také by to ale mohlo znamenat, že by si samice hýlů rudých vybíraly partnera na jiném principu než na výběru založeném na preferenci sekundárních pohlavních znaků, například podle toho jak jsou jejich geny vzájemně komplementární.

Ve studiích hýlů (*Carpodacus mexicanus*) přišli na to, že si samice vyhledává červenější samce (tedy v tomto případě by výsledky mohly podporovat výběr na bázi hypotézy dobrých genů). Ostatně stejný výsledek zaznamenal u hýlů (*Carpodacus erythrinus*) Schnitzer (2003). Hill (1990), Hill (1991), Hill (1994) zjistil, že zbarvení hýlů (*Carpodacus mexicanus*) je základní kritérium, podle čeho si samice vybírá partnera. Při experimentu s použitím „mate choice boxu“ stejně tak jako ve volné přírodě pozoroval, že samice upřednostňují kontakt a páření s červenějšími samci. Také ve volné přírodě byli spárovaní samci červenější než samci, kteří spárovaní nebyli. Více zbarvený samec má tedy mnohem vyšší šanci přitahovat samičku a být jejích sociálním partnerem než méně zbarvený samec. Hypoteticky by také znamenalo, že samice, které vyhledávají EPC budou hledat červenějšího samce než je jejich sociální samec. Hill (1994) však vyzkoumal, že EP samci hýlů (*Carpodacus mexicanus*) a sociální samci se v poměru červenosti mezi sebou neliší.

U dalších druhů ptáků by autoři také mohli potvrzovat hypotézu dobrých genů. Zjistili totiž, že zbarvení sociálního samce negativně koreluje s výskytem EPP v hnízdě (Yezerinac and Weatherhead 1997; Møller and Ninni 1998; Krebs et al. 2004). Tedy, čím více je sociální partner červenější, tím méně se v hnízdě vykytuje EPP. To samé vyšlo ve stejné populaci hýlů rudých, jako zkoumám já, i Schnitzerovi (2003). Stejný výsledek však už nevyšel Vinklerovi (2007) u stejné populace, který koreloval barevnost (dále i velikost, váhu a odolnost proti parazitům) sociálního samce s výskytem EPP v hnízdě. Je však také možné, že výsledek nebyl průkazný kvůli menšímu počtu jedinců ve

studii. U vlivu intenzity infekce *Haemoproteus* sociálního samce na výskyt EPP v hnízdě vyšla nesignifikantní korelace ($p=0,081$). Neplatnost tohoto předpokladu by tedy hypotézu dobrých genů v populaci hýlů rudých nepotvrzovala.

Co se týká předpokladu výběru partnera na základě heterozygotnosti (patří do hypotézy dobrých genů), samice by si měly vybírat samce s nejvyšším stupněm heterozygotnosti (Mitton 1993 ex. Smith et al. 2005). Je zde totiž větší pravděpodobnost předání dobrých genů potomkům. Také čím je sociální samec heterozygotnější, tím méně by se mělo vyskytovat EPP v hnízdě (tento předpoklad jsem testovala ve své diplomové práci). To zkoumali Smith et al. (2005), ale tento předpoklad nepotvrdili. Jak zjistili Aparicio et al. (2001) samice si vybírá samce na základě heterozygotnosti, ale jen ty, kteří jsou středně heterozygotní (odmítají hodně nebo málo heterozygotní samce). Tyto výsledky nepotvrzují teorii založenou na heterozygotnosti, kterou potvrzuje například Brown (1997).

Poláková (2007) našla u hýlů rudých stejné populace, jako zkoumám já, že si samice hledají heterozygotnější EP samce než jsou ony samy a než je jejich sociální samec. Což by hypotézu dobrých genů potvrzovalo.

U některých druhů ptáků autoři potvrzují předpoklad pro komplementární hypotézu, který zkoumám také já (zda u sociálních párů, které jsou komplementární, se méně vyskytuje EPP v hnízdě). Například ve studiích u Eimes et al. (2005); Tarvin et al. (2005); Freeman-Gallant et al. (2006); Oh and Badyaev (2006). Ratti et al. (1995) však našli opačný vztah. Pokud se samice párují s geneticky komplementárnějšími samci, v hnízdě bylo nalezeno více EPY. Žádný vztah nenalezli Charmantier et al. 2004, Richardson et al. (2004); Kleven et al. (2005); Foerster et al. (2006); Edly-Wright et al. (2007). Poláková et al. (2007b) také v populaci hýlů rudých zjistili, že pokud je sociální samec a samice komplementární v MHC lokusech, vyskytuje se v hnízdě méně EPP, což podporuje komplementární hypotézu. Zjistilo se ale také, že v určité situaci může být lepší si vybírat partnera tak, aby počet alel v potomcích byl optimalizovaný lépe než maximalizovaný a je zde možnost, že si samice s mnoha alelami může vybírat samce s málo nebo podobnými alelami. To je například průkazné v lokusu MHC (Milinski 2006).

Při mém testování hypotéz dobrých a komplementárních genů mi vyšel zajímavý výsledek. Zjistila jsem, že vztah heterozygotnosti samce a komplementarity párů na výskyt EPP je složitější. Je zde totiž průkazná interakce, tzn. efekty heterozygot-

nosti a komplementarity jsou odlišné v různých úrovních druhé proměnné. Tedy u hodně komplementárních párů (mean $R = -0.65$), čím je samec heterozygotnější, tím méně se vyskytuje EPP v hnízdě. Pokud jsou páry nekomplementární ($R = 0.31$), situace se téměř obrací (není zde ale patrný takový sklon jako u komplementárních párů). Když je samec hodně heterozygotní ($SH = 1.56$), hraje komplementarita a EPP roli, jakou bychom očekávali (pozitivní vztah). Tedy čím větší nekomplementarita, tím více se zvyšuje výskyt EPP. Pokud je samec heterozygotní málo ($SH = 0.26$), situace se obrací (ale opět zde není patrný takový sklon jako u velké heterozygotnosti). Nemůžu tedy potvrdit hypotézu genetické komplementarity a hypotézu dobrých genů jako takovou. Jen to, že samice sledují heterozygotnost i komplementaritu samce a podle úrovně jedné proměnné posuzují proměnnou druhou proto, aby se mohly rozhodnout zda provozovat či neprovozovat EPP. Otázka je, jak samice poznají heterozygotnějšího samce, pokud mi vyšlo, že heterozygotnost nekoreluje s fitness. Mohla by je například poznávat podle znaků, které jsem netestovala (například podle kvality zpěvu) nebo jsem opravdu měla málo mikrosatelitů, proto mi korelace nevyšla průkazně nebo jsem neměla ve studii zahrnutý lokus, který by byl za fitness zodpovědný.

V mechanismu pohlavního výběru se liší druh od druhu a populace od populace nebo dokonce dochází k „přepínání strategií“. Podobně jako v mé práci (i když nevyšla interakce), v některých studiích autoři zjistili, že si samice vybírají partnery někdy podle hypotézy dobrých genů a jindy podle komplementární hypotézy. Například Oh and Badyev (2006) sledovali dobu preference a zjistili, že samice si vybírá podle barevnosti na začátku hnízdění, ale na konci hnízdění si samice vybírá samce spíše podle komplementarity. Nebo samice „přepíná“ tyto strategie podle toho, jak se jí to momentálně hodí. Toto přepínání strategií tedy může být důvod, proč ve studiích vycházejí tak nejednoznačné výsledky.

Další zvláštností je, že samice si vybírá v populaci koljušek (*Gasterosteus aculeatus*) komplementární samce v inbrední populaci, ale v outbrední populaci si vybírá nekomplementární samce (Milinski 2003). To samé může platit i u ptáků, ale hladina inbreedingu v populaci je často neznámá.

Stále však není jasné, jak komplementarita funguje (pokud vůbec funguje). Při platnosti hypotézy dobrých genů, si totiž samice mohou vybírat samce podle fenotypických znaků, ale jak by samice mohly rozpoznat komplementárního samce, zůstává stále diskutované téma. Ostatní živočichové kromě ptáků nejspíše poznávají komplementárního partnera pomocí čichu. Ptáci čich nemají tak vyvinutý,

proto je možnost, že se komplementaritou neřídí, nebo jenom částečně (Zelano and Edwards 2002). Samice také mohou komplementárnější jedince upřednostňovat tím, že se páří s imigranty (Masters et al. 2003). Není ovšem vyloučeno (ba spíše upřednostňováno), že u ptáků může komplementární výběr fungovat postkopulačně v samičím reprodukčním traktu jako „cryptic choice“ nebo jako sperm competition. Například u kurů (*Gallus gallus*) Pizzari et al. (2004) našli, že samice zadržuje méně spermatu od svých bratrů než od ostatních samců.

Dále nesmíme zapomenout na to, že nemusí fungovat výběr závislý na samici, ale že si partnerku může podle určitých znaků vybírat samec, a tak zvyšovat svůj reprodukční úspěch (Arnqvist & Kirkpatrick 2005), ale tato teorie je hodně kritizována, protože u mnoho ptačích druhů bylo prokázáno, že samice sama aktivně vyhledává EPC (Kempnaers et al. 1992).

6. Literatura

- Albrecht, T. 2004: Edge effect in wetland-arable land boundary determines nesting success of scarlet rosefinches (*Carpodacus erythrinus*) in the Czech Republic. *Auk* 121:361-371
- Albrecht., T., Schnitzer, J., Kreisinger, J., Exnerová, A., Bryja, J., Munclinger, P., 2007: Extrapair paternity and the opportunity for sexual selection in long-distant migratory passerines. *Beh. Ecol.* 18: 477-486
- Amos, W., Wilmer, J.W., Fullard, K., Burg, T.M., Croxall, J.P., Bloch, D., Coulson, T. 2001: The influence of parental relatedness on reproductive success. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 268, 2021 – 2027
- Andersson, M. 1994: Sexual selection. Princeton University Press, Princeton
- Aparicio, J.M., Cordero, P. J., Veiga, J. P. 2001: A test of the hypothesis of mate choice based on heterozygosity in the spotless starling, *Anim. Beh.*, 62, 1001 – 1006.
- Aparicio, J. M., Ortego, J., Cordero, P. J., 2006: What should we weigh to estimate heterozygosity, alleles or loci? *Mol. Ecol.* 15, 4659-4665.
- Arnqvist, G., Kirkpatrick, M., 2005: The evolution of infidelity in socially monogamous passerines: The strength of direct and indirect selection on extrapair copulation behavior in females. *Amer. Natur.* 165: 26-37
- Balloux, F., Amos, W., Coulson, T. 2004: Does heterozygosity estimate inbreeding in real populations? *Mol. Ecol.*, 13, 3021–3031.
- Bell, G. I., Jurka, J., 1997: The length distribution of perfect dimer repetitive DNA is consistent with its evolution by an unbiased single-step mutation process. *J. Mol. Evol.* 44: 414-421.
- BirdLife International, 2004: Threatened birds of the world 2004. Cambridge, UK, BirdLife International.
- Björklund, M. 1990: Mate choice is not important for female reproductive success in the common rosefinch (*Carpodacus erythrinus*). *Auk* 107: 35-44
- Blomqvist, D., Andersson, M., Kupper, C., 2002: Genetic similarity between mates and extra-pair parentage in three species of shorebirds. *Nature* 419: 613–615
- Borrel, Y. J., Pineda, H., McCarthy, I., Vázquez, E., Sánchez, J. A., Lizana, G. B. 2004: Correlations between fitness and heterozygosity at allozyme and microsatellite loci in the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Heredity* 92, 585–593

- Bowman, J. C., Falconer D. S. 1960: Inbreeding depression and heterosis of litter size in mice. *Genet. Res. Camb.* 1: 262-274
- Brawner, W. R., Hill, G. E., Sundermann, C. A., 2000: Effects of coccidial and mycoplasmal infections on carotenoid-based plumage pigmentation in male house finches. *Auk* 117: 952-963
- Britten, H. B. 1996: Meta - analysis of the association between multilocus heterozygosity and fitness, *Evolution* 50 (6), 2158-2164
- Brohede, J., 2003: Rates and patterns of mutation in microsatellite DNA, Dissertation for the Degree of Doctor of Philosophy in Evolutionary genetics presented at Uppsala University in 2003
- Brown, J. L., 1997: A theory of mate choice based on heterozygosity. *Beh. Ecol.* 8:60-65
- *Brush, A. H., 1981: Carotenoids in wild and captive birds. In J.C.Bauernfeind (ed.), *Carotenoids as colorants and vitamins A precursors*, Academic Press, London, 539-562.
- Calabrese, P. P., Durrett, R. T., Aquadro, C. F., 2001: Dynamics of microsatellite divergence under stepwise mutation and proportional slippage/point mutation models. *Genetics* 159: 839-852.
- Cassinello, J., Gomendio, M., Roldan, E. R. S. 2001: Relation between coefficient of inbreeding and parasite burden in endangered gazelles, *Cons. Biol.*, 15, No.4, 1171-1174
- Cézilly, F., Nager, R. 1995: Comparative evidence for a positive association between divorce and extra-pair paternity in birds, *Proc. R. P. Lon.* 262, 7-12
- Colson, I., Goldstein, D. B. 1999: Evidence for complex mutations at microsatellite loci in *Drosophila*. *Genetics* 152, 617-627
- Coltman D., Pilkington, J.G., Smith, J.H., Pemberton, J. M. 1999: Parasite mediated selection against inbred Soay sheep in a free-living, island population. *Evolution*, 53, 1259-1267.
- Coltman, D. W., Slate, J. 2003: Microsatellite measures of inbreeding: A meta-analysis. *Evolution* 57: 971-983.
- Coulson, T. N., Pemberton, J. M., Albon, S. D., Beament, M., Marshall, T. C., Slate, J., Guinness, E., Clutton-Brock, T. H. 1998: Microsatellites reveal heterosis in red deer. *Proc. R. Soc. Lond. B* 265: 489-495.

- Coulson, T., Albon, S., Slate, J., Pemberton, J. 1999: Microsatellite loci reveal sex-dependent responses to inbreeding and outbreeding in red deer calves. *Evolution*, 53, 1951–1960.
- Cummings, C. J., Zoghbi, H. Y., 2000: Fourteen and counting: unraveling trinucleotide repeat diseases. *Hum. Mol. Genet.* 9: 909-916
- David P. 1998: Heterozygosity – fitness correlations: new perspectives on old problems, *Heredity* 80, 531 – 537
- Darwin C (1871) *The Descent of man and selection in relation to sex*. John Murray, London
- De Rose, M. A., Roff, D. A., 1999: A comparison of inbreeding depression in life-history and morphological traits in animals, *Evolution*, 53 (4), 1288-1294
- Di Rienzo, A., Peterson, A. C., Garza, J. C., Valdes, A. M., Slatkin, M., Freimer, N. B. 1994: Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 91: 3166-3170
- Edly-Wright, C., Schwagmeyer, P. L., Parker, P. G., 2007: Genetic similarity of mates, offspring health and extrapair fertilization in house sparrows. *Anim. Behav.* 73: 367–378
- *Edwards, O.R., Hoy, M. A. 1993: Polymorphism in two parasitoids detected using random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. *Biol. Control* 3, 243 - 257
- Eimes, J. A., Parker, P.G., Brown, J.L., 2005: Extrapair fertilization and genetic similarity of social mates in the Mexican jay. *Behav. Ecol.* 16:456–460
- Fernández, A., Toro, M. A., López-Fanjul, C. 1995: The effect of inbreeding on the redistribution of genetic variance of fecundity and viability in *Tribolium castaneum*. *Heredity* 75: 376-381
- Flegr, 2005: *Evoluční biologie*, Academia, nakladatelství Akademie věd České republiky
- Foerster, K., Delhey, K., Johnsen, A., Lifjeld, J. T., Kempenaers, B. 2003: Females increase offspring heterozygosity and fitness through extra-pair matings. *Nature* 425: 714–717.
- Foerster, K., Valcu, M., Johnsen, A. 2006: A spatial genetic structure and effects of relatedness on mate choice in a wild bird population. *Mol. Ecol.* 15:4555–4567
- Ford-Lloyd, B. V., Newbury, H.J., Jackson, M.T., Virk, P. S. 2001: Genetic basis for co-adaptive gene complexes in rice (*Oryza sativa* L.) landraces. *Heredity*, 87, 530-536.

- Freeman - Gallant, C.R., Meguerdichian, M., Wheelwright, N.T., 2003: Social pairing and female mating fidelity predicted by restriction fragment length polymorphism similarity at the major histocompatibility complex in a songbird. *Mol. Ecol.* 12: 3077–3083
- Freeman-Gallant, C. R., Wheelwright, N. T., Meiklejohn, K. E., 2006: Genetic similarity, extrapair paternity, and offspring quality in Savannah sparrows (*Passerculus sandwichensis*). *Behav. Ecol.* 17:952–958
- García, N., López-Fanjul, C., García-Dorado, A. 1994: The genetics of viability on *Drosophila melanogaster*: Effects of inbreeding and artificial selection. *Evolution* 48: 1277-1285
- Garza, J.C., Slatkin, M., Freimer, N.B. 1995: Microsatellite allele frequencies in humans and chimpanzees, with implications for constraints on allele size, *Mol. Bio. Evol.* 12,594-603
- Goldberg, T. L., Grant, E.C., Inendino, K. R., Kassler, T.W., Claussen, J. E., Philipp, D. J. 2004: Increased infectious disease susceptibility resulting from outbreeding depression, *Cons. Biol.*, 19 (2), 455-462
- Goldstein, D. B., Pollock, D. D., 1997: Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic interference. *J. Hered.* 88: 335 -342.
- *Goodwin, T. W., Britton, G., 1984: The biochemistry of carotenoids. Volume 2, Animals, 2nd edn. Chapman and Hall, New York
- Griffith, S. C., Owens, I. P. F., Thuman K. A., 2002: Extra-pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function, *Molecular Ecology* 11, 2195-2212
- Griffith, S. C., 2007: The evolution of infidelity in socially monogamous passerines: Neglected components of direct and indirect selection. *Amer. Natur.* 169: 274-281
- Hamilton, W. D., Zuk, M., 1982: Heritable true fitness and bright birds - A role for parasites. *Science* 218:384-387
- Hancock, J. M., 1996: Simple sequences in a "minimal" genome. *Nat. Genet.* 13: 14-15.
- Hansson, B., Bensch, S., Hasselquist, D., Akesson, M. 2001: Microsatellite diversity predicts recruitment of sibling great reed warblers, *Proc. R. Soc. Lond. B.* 1287-1291
- Hansson, B., Westerberg, L., 2002: On the correlation between heterozygosity and fitness in natural populations. *Mol. Ecol.*, 11, 2467–2474.

- Hawley, D. M., 2005: Isolation and characterization of eight microsatellite loci from the house finch (*Carpodacus mexicanus*). *Molecular Ecology Notes*, 5, 443–445.
- Heath, D. D., Bryden, C. A., Shrimpton, M. J., Iwama, G. I., Kelly, J., Heath, J. W. 2001: Relationships between heterozygosity, allelic distance (d^2), and reproductive traits in chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 59: 77–84
- Hedrick, P.W., Kalinowski, S.T. 2000: Inbreeding depression in conservation biology. *A. Rev. Ecol. Syst.* 31, 139 – 162
- Hill, G. E., 1990: Female house finches prefer colourful males. Sexual selection for a condition-dependent trait. *Anim. Behav.* 40: 563-572
- Hill, G. E., 1991: Plumage coloration is a sexually selected indicator of male quality. *Nature* 350:337-339
- Hill, G. E., 1994: Geographic variation in male ornamentation and female mate preference in the house finches: a comparative test of models of sexual selection. *Behav. Ecol.* 5: 64 -73
- *Hill, G. E., 1999: Mate choice, male quality, and carotenoid-based plumage coloration. In N. Adams and R. Slotow (eds.), *Proceedng of the 22nd International Ornithological Congress*, University of Natal, Durban, 1654-1668
- Hill, G. E., 2002: *A red bird in a brown bag: the function and evolution of colorful plumage in the house finch*. Oxford University Press, New York
- Hoffman, J.I., Boyd, I. L., Amos, W. 2004: Exploring the relationship between parental relatedness and male reproductive success in the antartic fur seal *Arctocephalus gazella*, *Evolution*, 58(9), pp. 2087–2099
- Hoffman, J. I., Forcada, J., Amos, W. 2006: No relationship between microsatellite variation and neonatal fitness in Antarctic fur seals, *Arctocephalus gazella*, *Mol. Ecol.* 15, 1995–2005
- Hoglund, J., Piertney, S. B., Alatalo, R. V., Lindell, J., Lundberg, A., Rintmaki, P. T. 2002: Inbreeding depression and male fitness in black grouse, *Proc. R. Soc. Lond. B* 269, 711 – 715
- Houle., D., 1989: Allozyme-associated heterosis in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 123, 789-801.
- Hudec, K., 1983: *Ptáci 3/II*, Academia, Nakladatelství československé akademie věd
- Chambers, G. K., MacAvoy, E. S. 2000: Microsatellites: consensus and controversy. *Comp. Bioch. and Phys. B.* 126: 455-476

- Charlesworth, D., Charlesworth, B., 1987: Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Rev. of Ecol. and Syst.* 18, 237–268.
- Charmantier, A., Blondel, J., Perret, P., 2004: Do extra-pair paternities provide genetic benefits for female blue tits *Parus caeruleus*? *J Avian Biol.* 35:524–532
- Charpentier, M. J. E., Setchell, J. M., Prugnolle, F., Knapp, L. A., Wickings, E. J., Peignot, P., Hossaert-McKey, M., 2005: Genetic diversity and reproductive success in mandrills (*Mandrillus sphinx*), *PNAS*, 102 (46), 16723–16728
- Charpentier M. J. E., Widdig, A., Alberts, S. C., 2007: Inbreeding Depression in Non-Human Primates: A Historical Review of Methods Used and Empirical Data, *American Journal of Primatology* 69:1370–1386
- Chen, X., 1993: Comparison of inbreeding and outbreeding in hermaphroditic *Arianta arbustorum* (L.) (land snail). *Heredity* 71: 456-461
- Inouye, C.Y., Hill, G. H., Stradi, R. S., Montgomerie, R., 2001: Carotenoid pigments in male house finch plumage in relation to age, subspecies, and ornamental coloration, *The Auk* 118(4):900–915
- Jarne, P., Lagoda, P. J. L. , 1996: Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol. Evol.* 11: 424-429.
- Jennions, M.D., Petrie, M., 2000: Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biolog. Rev.* 75:21-64
- Johnsen, A., Andersen, V., Sunding, C. 2000: Female bluethroats enhance offspring immunocompetence through extra-pair copulations. *Nature* 406:296–299
- Keller, L. F., Arcese, P., Smith, J. N. M., Hochachka, W. M., Stearns, S. C. 1994: Selection against inbred song sparrows during a natural population bottleneck. *Nature* 372, 356-357
- Keller, L. 1998: Inbreeding and its fitness effects in an insular population of song sparrows (*Melospiza melodia*). *Evolution* 52, No.1, 240 – 250
- Kempnaers, B., Verheyen, G. R., Vandenbroeck, M., Burke, T., Vanbroeckhoven, C., Dhondt, A. A., 1992: Extra-pair paternity results from female preference for high-quality males in the blue tit. *Nature* 357: 494-496
- Kleven, O., Lifjeld, J.T., 2004: Extrapair paternity and offspring immunocompetence in the reed bunting, *Emberiza schoeniclus*. *Anim. Behav.* 68:283-289
- Kleven, O., Lifjeld, J.T. 2005: No evidence for increased offspring heterozygosity from extrapair mating in the reed bunting (*Emberiza schoeniclus*). *Behav. Ecol.* 16:561–565

- Kodric - Brown, A., Brown, J. H. 1984: Truth in advertising: the kinds of traits favored by sexual selection. *Amer. Natur.* 124: 309-323
- Krebs, E. A., Hunte, W., Green, D. J., 2004: Plume variation, breeding performance and extra-pair copulations in the cattle egret. *Behaviour* 141:479-499
- Levinson, G., Gutman, G. A., 1987: High frequencies of short frameshifts in poly-CATG tandem repeats borne by bacteriophage M13 in *Escherichia coli* K-12. *Nucleic Acids Res.* 15: 5323-5338.
- Li, Y. C., A. B. Korol, T. Fahima, A. Beiles, Nevo, E. 2002: Microsatellites: Genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Mol. Ecol.* 11:2453–2465.
- Lehmann, L., Keller, L. F., Kokko, H., 2007: Mate choice evolution, dominance effects, and the maintenance of genetic variation. *J. Theor. Biol.* 244:282–295
- Lesbarreres, D., Primmer, C. R., Laurila, A., Merila, J. 2005: Environmental and population dependency of genetic variability-fitness correlations in *Rana temporaria*, *Mol. Ecol.* 14, 311–323
- Markert, J. A., Grant, P.R., Grant, B. R., Keller, L. F., Petren, K. 2004: Neutral locus heterozygosity, inbreeding, and survival in Darwin's ground finches (*Geospiza fortis* and *G. scandens*), *Heredity* 92, 306–315
- Marshall, R. C., Buchanan, K. L., Catchpole, C. K., 2003: Sexual selection and individual genetic diversity in a songbird. *Proc. Roy. Soc. Lond. B. (Suppl.)* 270:S 248–250
- Masters, B. S., Hicks, B. G., Johnson, L. S., 2003: Genotype and extrapair paternity in the house wren: a rare-male effect? *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 270:1393–1397
- Mays, H. L., Hill, G. E., 2004: Choosing mates: good genes versus genes that are a good fit. *Trends Ecol. Evol.* 19: 554–559
- Mays, H. L., Albrecht, T., Liu M., Hill, G. E., 2007: Female choice for genetic complementarity in birds: a review, *Genetica*, 134 (1), 147-158
- McGraw, K. J., Hill, G. E., 2001: Carotenoid-based ornamentation and status signalling in the house finch. *Behav. Ecol.* 11: 520-527
- McGraw, K. J., Hill, G.E., 2000: Plumage brightness and breeding-season dominance in the house finch: A negatively correlated handicap? *Condor* 102:456-461
- Merila, J., Sheldon, B. C., Griffith, S. C., 2003: Heterotic effects on fitness in a wild bird population, *Ann. Zool. Fennici* 40, 269-280
- Milinski, M., 2003: The function of mate choice in sticklebacks: optimizing Mhc genetics. *J. Fish Biol.* 63:1–16

- Milinski, M., 2006: The major histocompatibility complex, sexual selection, and mate choice. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37:159–186
- *Mitton, J. B. 1993: Theory and data pertinent to the relationship between heterozygosity and fitness. In: *The Natural History of Inbreeding and Outbreeding* (Ed. by N. Thornhill), 17–41
- *Mitton, J. B., 1997: *Selection in natural populations*. Oxford Univ. Press, New York
- Møller, A. P., Ninni, P., 1998: Sperm competition and sexual selection: a meta-analysis of paternity studies of birds. *Behav. Ecol. and Sociobiol.* 43:345-358
- Morgante, M., Hanafey M., Powell, W., 2002: Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nat. Genet.* 30: 194 - 200.
- Mukai, T., Yamaguchi O., 1974: The genetic structure of natural populations of *Drosophila melanogaster*. Genetic variability in local population. *Genetics* 76: 339 - 366
- Neff, B. D., Pitcher, T.E., 2005: Genetic quality and sexual selection: an integrated framework for good genes and compatible genes. *Mol. Ecol.* 14:19–38
- Oh, K. P., Badyaev, A. V., 2006: Adaptive genetic complementarity in mate choice coexists with selection for elaborate sexual traits. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 273:1913–1919
- Ohta, T., Kimura, M., 1973: A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a genetic population. *Genet. Res.* 22: 201-204.
- Overall, A.D. J., Byrne, K. A., Pilkington, J. G., Pemberton, J. M. 2005: Heterozygosity, inbreeding and neonatal traits in Soay sheep on St Kilda, *Mol. Ecol.* 14, 3383–3393
- Pemberton, J., 2004: Measuring inbreeding depression in the wild: the old way are the best, *Trends in eco. evol.*, 19(12), 613-615
- Penn, D.J, Damjanovich, K., Potts, W. K. 2002: MHC heterozygosity confers a selective advantage against multiple-strain infections, *Evolution* 99, No.17, 11260-11264
- Piertney, S. B., Marquis, M., Summers, R., 1998: Characterization of tetranucleotide microsatellite markers in the Scottish crossbill (*Loxia scotica*). *Molecular Ecology*, 7, 1247–1263.
- Pizzari, T., Lovlie, H., Cornwallis, C. K., 2004: Sex-specific, counteracting responses to inbreeding in a bird. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 271:2115–2121

- Poláková, R., Vyskočilová, M., Martin, J. F., Mays, H. L., Hill, G. E., Bryja, J., Albrecht, T., 2007a: A multiplex set of microsatellite markers for the scarlet rosefinch (*Carpodacus erythrinus*). *Mol. Ecol. Notes*. 7, 1375-1378
- Poláková, R., Promerová, M., Vinkler, M., Schnitzer, J., Bryja, J., Albrecht, T., 2007b: Genetic effects on mate choice in the socially monogamous scarlet rosefinch (*Carpodacus erythrinus*). *Conference Proceeding: ESEB 2007*.
- Primmer, C. R., Saino, N., Møller, A. P., Ellegren, H., 1996: Directional evolution in germline microsatellite mutations. *Nat. Genet.* 13: 391-393.
- Primmer, C. R., Raudsepp, T., Chowdhary, B. P., Møller, A. P., Ellegren, H., 1997: Low frequency of microsatellites in the avian genome. *Genome Res.* 7: 471-482.
- Queller, D.C., Goodnight, K. F., 1989: Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution*, 43, 258–275.
- Queller, D. C. , Strassmann, J.E., Hughes, C.R. 1993: Microsatellites and kinship. *Trends in Ecol. and Evol.*, 8, 285 - 288.
- Rätti, O., Hovi, M., Lundberg, A., 1995: Extra-pair paternity and male characteristics in the Pied Flycatcher. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 37: 419–425
- Raymond, M., Roussetm, F., 1995: genepop version 1.2: population genetics software for exact tests and ecumenism. *Journal of Heredity*, 86, 248–249.
- Richardson, D. S., Komdeur, J., Burke, T. , 2004: Inbreeding in the Seychelles warbler: Environment-dependent maternal effects. *Evolution* 58:2037–2048
- Richardson, D. S., Komdeur, J., Burke, T. 2005: MHC-based patterns of social and extra-pair mate choice in the Seychelles warbler. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 272: 759–767
- Ross, K. G, 1992: Strong selection on a gene that influences reproductive competition in a social insect, *Nature* 355, 347–349
- Saccheri, I. J., Brakefield, P.M., Nichols, R.A., 1996: Severe inbreeding depression and rapid fitness rebound in the butterfly *Bicyclus anynana*. *Evolution* 50, No.5, 2000-2013.
- Seddon, N., Amos, W., Mulder, R. A., Tobias, J., 2004: Male heterozygosity predicts territory size, song structure and reproductive success in a cooperatively breeding bird, *Proc. R. Soc. Lond. B* 271, 1823–1829
- Shawkey, M. D., Pillai, S. R., Hill, G. E., Siefferman, L. M., Roberts, S. R. 2007: Bacteria as an agent for change in structural plumage color: Correlational and experimental evidence. *Amer. Natur.* 169: 112-121

- Schlötterer, C., Tautz, D., 1992: Slippage synthesis of simple sequence DNA, *Nucleic Acids Res.* 20,211-215
- Schlötterer, C., Ritter, R., Harr, B., Brem, G. 1998: High mutation rate of a long microsatellite allele in *Drosophila melanogaster* provides evidence for allelespecific mutation rates. *Mol. Biol. Evol.* 15: 1269-1274.
- Schlötterer, C., 2000: Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma* 109 : 365-371.
- Schnitzer, J., 2003: Karotenoidní zbarvení a reprodukční úspěšnost hýla rudého *Carpodacus erythrinus*. Master's thesis. Charles University in Prague, Faculty of Science, Department of Zoology
- Simmons, M. J., Crow, J. F., 1977: Mutations affecting fitnesss in *Drosiphila* populations. *Annu. Rev. Genet.* 11: 49-78
- Slate, J., Kruuk, L. E. B., Marshall, T. C., Pemberton, J. M., Clutton-Brock, T. H. 2000: Inbreeding depression influences lifetime breeding success in the wild population of red deer (*Cervus elaphus*), *Proc. R. Soc. Lond.* 267, 1657-1662
- Slate, J. Pemberton, J.M., 2002: Comparing molecular measures for detecting inbreeding depression, *Evol. Biol.* 15 20-31
- Smith, S.B., Webster, M. S., Holmes, R. T., 2005: The heterozygosity theory of extra-pair mate choice in birds:a test and a cautionary note.*J.Avian Biol.* 36:146–154
- Stapleton, M. K., Kleven, O., Lifjeld, J. T., Robertson, R. J., 2007: Female tree swallows (*Tachycineta bicolor*) increase offspring heterozygosity through extrapair mating. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 61:1725–1733
- Strand, M., Prolla, T. A, Liskay, R. M., Petes, T. D. 1993: Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. *Nature* 365,274-276.
- Šťastný, K., Bejček, V., Hudec, K., 2006: Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice. Aventinum, Praha
- Tarvin, K. A., Webster, M. S., Tuttle, E. M., 2005: Genetic similarity of social mates predicts the level of extrapair paternity in splendid fairy-wrens. *Anim. Behav.* 70:945–955
- Tautz, D.,1989: Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* 17: 6463-6471

- Thelen, G.C., Allendorf, F.W. 2001: Heterozygosity–fitness correlation in rainbow trout: effects of allozyme loci or associative overdominance? *Evolution* 55: 1180–1187
- Toth, G., Gaspari, Z., Jurka, D., 2000: Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Res.* 10: 967-981.
- Tregenza, T., Wedell, N., 2000: Genetic compatibility, mate choice and patterns of parentage: invited review. *Mol. Ecol.* 9:1013–1027
- Yezerinac, S. M., Weatherhead, P. J., 1997: Extra-pair mating, male plumage coloration and sexual selection in yellow warblers (*Dendroica petechia*). *Proc. Roy. Soc. Lond. B. -Biological Sciences* 264: 527-532
- Valdes, A. M., Slatkin, M., Freimer, N. B. 1993: Allele Frequencies at Microsatellite Loci: The Stepwise Mutation Model Revisited, *Genetics* 133: 737-749
- Vinkler, M., 2007: Mate Choice in Scarlet Rosefinch *Carpodacus erythrinus*: Test of ‘Good Genes’ and ‘Complementary Genes’ Hypotheses Master’s Thesis, Praha
- Wang, J., 2002 An estimator for pairwise relatedness using molecular markers. *Genetics* 160, 1203–1215.
- Weatherhead, P. J., Dufour, K.W., Loughheed, S. C., 1999: A test of the good-genes-as-heterozygosity hypothesis using red-winged blackbirds. *Behav. Ecol.* 10: 619–625
- Weber, J. L., Wong, C. 1993: Mutation of human short tandem repeats. *Hum. Molec. Genet.* 2, 1123-1128
- Westneat DF, Sherman PW, Morton ML (1990) The Ecology and Evolution of Extra-Pair Copulations in Birds. *Current Ornithology*, 331-369
- Willis, J. H. 1993: Effects of different levels of inbreeding on fitness components in *Kumulus guttatus*. *Evolution* 47: 864-876
- Wright, S. 1922: Coefficients of inbreeding and relationship. *Amer. Nat.*, 56, 330–338.
- Zelano, B., Edwards, S. V. 2002: A Mhc component to kin recognition and mate choice in birds: Predictions, progress, and prospects. *Am. Nat. (Suppl.)* 160:225–237

* Použití sekundární citace

7. Příloha

Tabulka č.3: Určení velikostí alel v programu GENEMAPPER 3.7 (Applied Biosystems).

ind	HOFI7		HOFI14	HOFI5		EABL1	CE150	LOX6				
12	238	262	156	156	350	356	200	219	163	168	300	300
18	252	252	156	156	346	354	176	243	168	172	314	314
19	238	250	155	155	358	368	223	253	172	176	179	179
24	252	252	156	156	356	356	210	231	166	166	218	218
25	250	250	156	156	356	356	223	238	166	170	218	256
31	258	258	156	156	358	380	200	256	166	172	164	164
37	256	264	156	156	356	374	219	259	163	169	302	302
43	254	254	154	156	354	356	223	288	164	174	192	192
49	256	256	156	156	356	368	227	250	168	172	218	300
55	248	260	156	156	360	360	242	245	168	172	160	215
56	256	256	156	156	368	374	222	234	168	170	222	222
61	252	258	156	156	352	380	210	227	166	170	200	290
62	256	256	156	156	360	372	227	259	164	166	186	186
69	258	258	156	156	356	366	210	238	168	174	183	183
73	246	262	154	156	356	358	246	246	163	172	227	268
80	246	252	154	156	354	368	235	250	163	166	292	308
81	252	252	156	156	380	380	239	239	166	172	365	365
86	236	248	156	156	350	358	226	231	168	172	214	246
87	248	248	156	156	356	358	231	241	163	166	175	175
94	242	248	156	156	358	368	231	231	163	172	175	175
95	260	260	156	156	352	354	223	256	166	172	188	202
101	242	264	156	156	354	356	226	239	169	176	202	244
102	250	250	154	156	356	372	227	238	172	176	282	286
108	258	258	156	156	360	374	219	244	166	176	202	350
115	242	252	156	156	354	360	237	243	163	172	160	185
116	252	252	158	158	352	358	238	248	163	166	179	218
121	248	256	156	156	356	374	230	234	163	170	222	222
122	244	244	156	156	352	360	223	247	163	170	247	286
127	248	248	156	156	358	364	200	219	163	178	162	190
128	248	248	156	156	356	374	242	242	166	172	192	192
131	242	244	156	156	358	360	222	239	163	163	223	223
132	248	252	156	156	354	356	218	239	166	166	301	301
144	250	250	156	156	356	380	241	256	176	176	192	192
149	250	260	156	156	354	354	217	235	168	172	251	266
150	250	250	156	156	356	356	206	314	166	172	240	272
156	248	256	156	156	356	362	226	270	170	172	164	164
157	236	236	156	156	362	366	235	237	170	172	202	286
179	254	268	154	156	352	356	246	251	166	168	256	321
185	250	250	156	156	354	388	231	242	168	172	186	186
198	248	266	156	156	348	360	226	256	168	170	286	317
199	262	262	154	156	358	378	247	256	168	168	218	218
204	252	256	156	156	370	372	239	242	166	168	194	278
205	256	256	156	156	352	354	210	274	172	172	234	320

211	248	256	156	156	356	366	235	244	163	166	179	179
219	250	250	156	156	356	370	235	235	166	168	250	371
225	252	252	154	156	376	388	226	241	163	168	183	334
232	240	248	154	156	366	374	256	264	170	172	174	276
233	252	252	156	156	370	376	222	238	168	170	222	222
240	252	258	156	156	354	360	176	244	166	168	266	350
241	256	256	156	158	352	354	243	259	166	172	175	175
246	248	274	156	156	356	376	214	227	170	175	167	167
247	250	250	156	156	348	356	238	340	166	172	179	179
253	252	258	154	156	352	356	238	244	166	170	168	168
254	250	250	156	156	358	372	221	230	172	176	192	192
260	252	256	156	156	354	360	223	256	166	166	179	179
261	244	244	156	156	356	372	221	228	169	176	243	262
279	238	252	154	156	354	376	202	241	168	170	183	192
280	248	248	156	156	352	370	235	243	166	172	165	167
287	262	262	154	156	356	376	229	248	166	176	164	164
294	256	256	156	156	356	356	244	264	165	172	164	164
300	242	254	156	156	354	354	235	237	166	168	270	303
301	258	258	154	156	354	360	217	238	163	170	282	282
306	250	252	154	154	354	354	238	250	163	172	278	314
307	254	254	156	156	356	358	228	235	163	176	243	262
312	250	252	156	156	354	354	226	239	168	172	186	186
313	248	248	156	156	368	374	210	235	172	172	168	168
318	242	252	156	156	352	356	206	248	163	170	214	214
319	244	244	156	156	352	372	219	247	163	174	350	350
325	240	260	156	156	366	372	231	241	164	166	190	190
331	252	260	156	156	356	374	218	231	170	178	164	164
332	248	260	156	156	362	380	238	260	166	172	206	274
333	254	256	156	156	370	378	229	231	166	176	233	258
334	250	256	156	156	358	370	223	226	163	166	346	375
335	240	252	158	158	354	366	228	231	163	166	251	346
350	248	252	156	156	354	354	219	234	176	176	179	179
351	230	230	154	156	354	386	227	231	166	168	355	355
369	242	242	156	156	366	380	219	243	166	170	237	264
374	242	256	156	156	354	380	231	235	172	172	158	158
375	250	250	154	156	350	366	222	277	166	172	179	179
392	242	250	158	158	354	356	235	238	163	168	262	312
393	256	256	158	158	354	364	244	247	163	172	206	282
410	250	250	158	158	356	378	223	231	163	168	183	192
422	250	250	158	158	350	362	218	235	166	170	193	218
434	248	254	156	156	354	376	205	239	166	166	168	168
435	254	254	156	156	356	372	227	230	166	176	175	175
440	250	252	158	158	352	374	188	250	161	166	232	368
441	238	258	158	158	356	368	212	226	163	172	183	183
462	250	254	156	156	308	362	223	292	163	172	164	174
463	256	256	156	156	354	378	229	243	163	166	202	258
469	238	238	150	156	352	354	223	238	172	174	270	359
470	252	252	156	156	360	362	226	256	166	172	228	324
475	250	260	156	156	350	362	219	222	168	168	179	179
476	256	256	156	156	358	372	242	266	163	170	179	179

481	252	258	154	156	360	376	227	235	166	174	164	214
489	242	256	158	158	354	380	231	235	172	172	158	158
496	254	254	156	156	380	380	219	239	166	168	243	256
504	254	260	158	158	356	356	267	270	168	172	272	310
505	264	264	154	154	348	354	202	214	166	172	164	272
509	248	252	156	156	354	360	249	249	163	166	192	192
510	240	240	154	156	352	378	242	256	166	168	218	299
514	236	254	158	158	356	374	229	251	166	168	206	214
515	252	252	158	158	352	374	239	249	165	172	192	218
527	248	252	156	156	350	362	227	231	166	172	175	175
528	250	260	158	158	358	386	235	238	166	166	198	266
534	248	254	156	156	356	358	247	254	164	172	316	316
535	250	250	156	156	354	356	214	238	168	172	273	282
541	248	256	156	156	358	374	188	230	166	172	253	298
549	256	256	156	156	358	380	227	240	172	174	164	179
1002	248	250	154	156	354	354	217	298	161	172	245	346
1003	256	256	156	156	370	374	238	252	163	163	210	210
1004	248	252	156	156	354	354	219	234	166	166	280	287
1005	254	256	156	156	360	366	226	250	166	172	254	296
1006	256	258	154	156	364	386	222	243	168	178	202	259
1007	244	254	156	156	358	372	218	228	163	169	175	175
1009	252	254	156	156	356	374	217	250	166	172	218	218
1010	254	260	156	156	356	360	202	251	168	176	258	317

Tabulka číslo 4: Vypočítané míry heterozygotnosti v IR Macru (Amos et al. 2001).

ind	het_Obs (pozorovaná heterozygotnost)	IR (internal relatedness)	st. het_Exp (Standardizovaná heterozygotnost Coltman)	st. het_Obs	st. d-sqd (standardizované mean d ²)	HL (heterozygotity weighted by locus)
12	0,666666667	0,184297562	0,80972755	1,0373443	0,1674534	0,273174852
18	0,5	0,363505095	0,607295632	0,7780083	0,0795939	0,453284532
19	0,666666667	0,287420124	0,80972755	1,0373443	0,0658225	0,273174852
24	0,166666667	0,777775288	0,202431887	0,2593361	0,0063009	0,804395497
25	0,5	0,350780249	0,607295632	0,7780083	0,0255688	0,438455999
31	0,5	0,37395671	0,607295632	0,7780083	0,0990091	0,453284532
37	0,666666667	0,184216514	0,80972755	1,0373443	0,083677	0,273174852
43	0,666666667	0,230659291	0,80972755	1,0373443	0,1523586	0,377987117
49	0,666666667	0,150703922	0,80972755	1,0373443	0,076733	0,255407095
55	0,666666667	0,175400391	0,80972755	1,0373443	0,0694892	0,258346319
56	0,5	0,385916591	0,607295632	0,7780083	0,0070642	0,453284532
61	0,833333333	0,031896356	1,012159467	1,2966805	0,1287914	0,075297415
62	0,5	0,380254835	0,607295632	0,7780083	0,0258081	0,453284532
69	0,5	0,386902869	0,607295632	0,7780083	0,0434639	0,453284532
73	0,833333333	0,036927857	1,012159467	1,2966805	0,1532912	0,195604548
80	1	0,172758877	1,214591265	1,5560166	0,0498025	0
81	0,166666667	0,787882507	0,202431887	0,2593361	0,0265487	0,831938028
86	0,833333333	0,034636732	1,012159467	1,2966805	0,0587486	0,075297415
87	0,5	0,358788908	0,607295632	0,7780083	0,0082945	0,453284532

94	0,5	0,372648954	0,607295632	0,7780083	0,0743108	0,468779385
95	0,666666667	0,158278272	0,80972755	1,0373443	0,0437692	0,255407095
101	0,833333333	0,017781217	1,012159467	1,2966805	0,1708256	0,075297415
102	0,833333333	0,009584324	1,012159467	1,2966805	0,0462901	0,18010968
108	0,666666667	0,182992592	0,80972755	1,0373443	0,2539778	0,255407095
115	0,833333333	0,048585478	1,012159467	1,2966805	0,0914925	0,075297415
116	0,666666667	0,253354371	0,80972755	1,0373443	0,0212403	0,255407095
121	0,666666667	0,169623047	0,80972755	1,0373443	0,0706323	0,273174852
122	0,666666667	0,195036992	0,80972755	1,0373443	0,0591396	0,255407095
127	0,666666667	0,188805208	0,80972755	1,0373443	0,1788745	0,255407095
128	0,333333333	0,57016027	0,404863775	0,5186722	0,0450608	0,648889065
131	0,5	0,3918612	0,607295632	0,7780083	0,0053424	0,441236854
132	0,5	0,348947883	0,607295632	0,7780083	0,0104684	0,441236854
144	0,333333333	0,585495055	0,404863775	0,5186722	0,0361253	0,621346533
149	0,666666667	0,151232317	0,80972755	1,0373443	0,0426917	0,258346319
150	0,5	0,350996226	0,607295632	0,7780083	0,2006858	0,438455999
156	0,666666667	0,156305209	0,80972755	1,0373443	0,0484236	0,273174852
157	0,666666667	0,191218689	0,80972755	1,0373443	0,0554956	0,255407095
179	1	0,164180115	1,214591265	1,5560166	0,1013731	0
185	0,5	0,365123272	0,607295632	0,7780083	0,0795778	0,453284532
198	0,833333333	0,012179377	1,012159467	1,2966805	0,1108244	0,075297415
199	0,5	0,427992314	0,607295632	0,7780083	0,0420299	0,546049118
204	0,833333333	0,045522314	1,012159467	1,2966805	0,0588204	0,075297415
205	0,5	0,362883776	0,607295632	0,7780083	0,1128108	0,423469067
211	0,666666667	0,143450692	0,80972755	1,0373443	0,0292639	0,273174852
219	0,5	0,361426711	0,607295632	0,7780083	0,121164	0,451011598
225	0,833333333	0,030546298	1,012159467	1,2966805	0,2145563	0,18010968
232	1	0,145508543	1,214591265	1,5560166	0,1173408	0
233	0,5	0,3791475	0,607295632	0,7780083	0,0086644	0,453284532
240	0,833333333	0,051099211	1,012159467	1,2966805	0,1315104	0,075297415
241	0,666666667	0,200146362	0,80972755	1,0373443	0,0484529	0,377987117
246	0,666666667	0,193645447	0,80972755	1,0373443	0,2101262	0,273174852
247	0,5	0,351248682	0,607295632	0,7780083	0,1788552	0,453284532
253	0,833333333	0,014716239	1,012159467	1,2966805	0,0401086	0,197877422
254	0,5	0,375513822	0,607295632	0,7780083	0,0241554	0,453284532
260	0,5	0,347020864	0,607295632	0,7780083	0,0215552	0,441236854
261	0,666666667	0,201182738	0,80972755	1,0373443	0,0541014	0,255407095
279	1	0,157379031	1,214591265	1,5560166	0,1191977	0
280	0,666666667	0,15658091	0,80972755	1,0373443	0,0460045	0,255407095
287	0,666666667	0,231168434	0,80972755	1,0373443	0,1197767	0,377987117
294	0,333333333	0,574475765	0,404863775	0,5186722	0,0418508	0,636333406
300	0,666666667	0,157146245	0,80972755	1,0373443	0,0464173	0,258346319
301	0,666666667	0,231324539	0,80972755	1,0373443	0,0625115	0,377987117
306	0,666666667	0,245170623	0,80972755	1,0373443	0,0722495	0,258346319
307	0,666666667	0,173868969	0,80972755	1,0373443	0,1281986	0,255407095
312	0,5	0,353484154	0,607295632	0,7780083	0,0151988	0,456223786
313	0,333333333	0,579177558	0,404863775	0,5186722	0,0109868	0,621346533
318	0,666666667	0,172151744	0,80972755	1,0373443	0,0868719	0,273174852
319	0,5	0,400565028	0,607295632	0,7780083	0,1232892	0,453284532

325	0,66666667	0,192917764	0,80972755	1,0373443	0,1049092	0,273174852
331	0,66666667	0,17385897	0,80972755	1,0373443	0,0838802	0,273174852
332	0,833333333	0,040859405	1,012159467	1,2966805	0,1212248	0,075297415
333	0,833333333	0,024967622	1,012159467	1,2966805	0,0830132	0,075297415
334	0,833333333	0,047380287	1,012159467	1,2966805	0,0300031	0,075297415
335	0,833333333	0,084105253	1,012159467	1,2966805	0,1164103	0,075297415
350	0,333333333	0,578565955	0,404863775	0,5186722	0,0071537	0,624285758
351	0,66666667	0,230539307	0,80972755	1,0373443	0,0797041	0,377987117
369	0,66666667	0,186498612	0,80972755	1,0373443	0,0365564	0,255407095
374	0,5	0,36313045	0,607295632	0,7780083	0,0871049	0,441236854
375	0,66666667	0,208025262	0,80972755	1,0373443	0,1024141	0,377987117
392	0,833333333	0,075586304	1,012159467	1,2966805	0,0528227	0,075297415
393	0,66666667	0,265530586	0,80972755	1,0373443	0,1077953	0,255407095
410	0,66666667	0,262039065	0,80972755	1,0373443	0,047597	0,255407095
422	0,66666667	0,272139966	0,80972755	1,0373443	0,0287245	0,255407095
434	0,5	0,366378129	0,607295632	0,7780083	0,0530333	0,441236854
435	0,5	0,374077022	0,607295632	0,7780083	0,0885018	0,453284532
440	0,833333333	0,096241958	1,012159467	1,2966805	0,2371902	0,075297415
441	0,66666667	0,275560677	0,80972755	1,0373443	0,1692362	0,273174852
462	0,833333333	-0,03187678	1,012159467	1,2966805	0,2990379	0,075297415
463	0,66666667	0,156580269	0,80972755	1,0373443	0,0652701	0,255407095
469	0,833333333	0,051225759	1,012159467	1,2966805	0,2264523	0,18010968
470	0,66666667	0,149974108	0,80972755	1,0373443	0,1069987	0,255407095
475	0,5	0,380611271	0,607295632	0,7780083	0,0329746	0,441236854
476	0,5	0,377561063	0,607295632	0,7780083	0,0555642	0,453284532
481	1	0,161946729	1,214591265	1,5560166	0,1078929	0
489	0,5	0,444219053	0,607295632	0,7780083	0,0871049	0,441236854
496	0,5	0,37989831	0,607295632	0,7780083	0,0099002	0,438455999
504	0,66666667	0,264307588	0,80972755	1,0373443	0,0313453	0,258346319
505	0,66666667	0,270896405	0,80972755	1,0373443	0,1159187	0,255407095
509	0,5	0,362851173	0,607295632	0,7780083	0,012633	0,468779385
510	0,833333333	0,043309558	1,012159467	1,2966805	0,1103487	0,18010968
514	0,833333333	0,091245838	1,012159467	1,2966805	0,1086088	0,075297415
515	0,66666667	0,268912822	0,80972755	1,0373443	0,0701595	0,255407095
527	0,66666667	0,148980215	0,80972755	1,0373443	0,0389439	0,273174852
528	0,66666667	0,264256746	0,80972755	1,0373443	0,1033401	0,243359417
534	0,66666667	0,171323851	0,80972755	1,0373443	0,0569889	0,273174852
535	0,66666667	0,138975129	0,80972755	1,0373443	0,0208498	0,255407095
541	0,833333333	0,051460341	1,012159467	1,2966805	0,0969363	0,075297415
549	0,66666667	0,167769566	0,80972755	1,0373443	0,0346631	0,255407095
1002	0,833333333	0,02057218	1,012159467	1,2966805	0,2765399	0,183048919
1003	0,333333333	0,588016629	0,404863775	0,5186722	0,0037146	0,621346533
1004	0,5	0,350453734	0,607295632	0,7780083	0,0075118	0,426408321
1005	0,833333333	0,046290215	1,012159467	1,2966805	0,0507137	0,075297415
1006	1	0,129919916	1,214591265	1,5560166	0,1504519	0
1007	0,66666667	0,194794029	0,80972755	1,0373443	0,0637946	0,273174852
1009	0,66666667	0,139151454	0,80972755	1,0373443	0,0616049	0,273174852
1010	0,833333333	0,021583488	1,012159467	1,2966805	0,116723	0,075297415

Tabulka č. 5. znaky fitness (váha, tarsus, reprodukční úspěch, barva (H odstín, S sytost, B jas)

Jedinec	samec 0 /samice 1	roky vážení a měření	váha prů- měr	tarsus prů- měr	roky mě- ření barvy	H odstín prů- měr	S sytost prů- měr	B jas prů- měr	rok reproúspěch	repro- úspěch samců - průměr
12	0	2000	24,6	22,1					2000	5
18	1	2000, 2001, 2002	22,9	20,74						
19	0	2000	23,4	21,2					2000	4
24	1	2000, 2003	23,4	21,75						
25	0	2000, 2001	23,8	21,3					2000,2001	4,5
31	1	2000	23	21,2						
37	0	2000	23	20,62					2000	5
43	1	2000	22,7	21,5						
49	1	2000	23,4	21,8						
55	0	2001	21,1	22,28	2001	-0,8	60,3	70,5	2001	3
56	1	2001	23	20,12						
61	0	2001	20	22	2001, 2003	-3,285	47,99	59,52	2001	1
62	1	2001	22	21,3						
69	1	2001	24,2	21,7						
73	0	2001	20,9	21,3	2001	-3,08	62,17	55,92	2001	6
80	0	2001	21,7	21,2	2001	-3,08	55,33	35,08	2001	4
81	1	2001		21,4						
86	0	2001, 2002,2003, 2005	19,4	22,1	2002,2	-2,93	51,82	58,48	2001, 2002, 2003, 2005	4
87	1	2002	22	22,1						
94	0	2000,2001,200 2, 2003,2004	23,1	21,86	2001, 2002, 2003,200 4, 2005	-1,126	59,54	49,82	2000,2001,2002, 2003,2004	5,4
95	1	2001	22,2	21,3						
101	0	2000,2001	22,4	20,96					2000,2001	5
102	1	2000,2001,200 3	23,9	21,93	2002	-1,75	63,17	67,08		
108	0	2000,2001,200 2	20,2	20,72					2000,2001	5
115	0	2001	21,7	21,4	2002	2,64	51,36	65,18	2001	4
116	1	2001								
121	0	2001	21,7	20,9	2001	2	69	47,25	2001	4
122	1	2001	22,6	23						
127	0	2001	21,4	21,2	2002	0,42	60,5	93,42	2001	3
128	1	2001	23,5	20,72						
131	0	2001	20,9	20,8	2001,2	13,22	63,75	65,01	2001	2
132	1	2000, 2001	21,7	22						
144	1	2002	22,4	21,1						
149	0	2002	19,2	19,64	2002,2	-3	50,37	55,91	2002	5
150	1	2002	24	20,92						
156	0	2002	19,8	21,22	2002	4,7	55,7	57,4	2002	4
157	1	2002	21							
179	0	2002	23,9	21	2003	1,17	63,83	72,83	2002	3
185	1	2002	23,5	21						
198	0	2002	23,5	21,82	2002,2	1,46	55,08	58,25	2002	4
199	1	2002	22	20,8						
204	0	2002		20,12					2002	3

205	1	2002	19,5	20,92						
211	0	2003,2005	22,5	21,52	2002,2003,2004,2005	1,185	62,98	58,29	2003	3
219	1	2002	23,5	21,62						
225	0	2002,2003	19,2	21	2002	8,2	61,4	94,3	2002,2003	3,5
232	0	2002	25	22,18	2004,201	-0,82	65,78	53,09	2002	2
233	1	2002	22	21,6						
240	0	2003	23,4	18,98	2003	-1,83	54,67	58,58	2003	4
241	1	2003,2005	21,5	20,83						
246	0	2003	22,2	20,34	2003,2	0,905	57,42	61,15	2003	5
247	1	2003	24,8	22						
253	0	2003	21,5	21,92	2003	-2,4	48,7	62,8	2003	5
254	1	2003	22,5	18,82						
260	0	2003		20,42	2003	0,83	59,42	68,83	2003	4
261	1	2003	20,6	20,22						
279	0	2003,2004	22	21,36	2003	-0,67	57,67	66,17	2003, 2004	7
280	1	2003,2005	22	21,23						
287	1	2003	22	20,8						
294	1	2003	23,6	19,12						
300	0	2003	23,5	21,74	2003	3,17	59,58	73	2003	4
301	1	2003	22	21,34						
306	0	2003		20,3	2003	7,75	63,67	79,5	2003	2
307	1	2003	19	20,4						
312	0	2003,2004	21,5	21,3	2004	-0,83	72,83	62,08	2003, 2004	3,5
313	1	2003								
318	0	2003	23	21,24	2003, 2004	-0,75	56,42	57,46	2003	5
319	1	2003	22,5	21,32						
325	0	2003	20,8	20,42	2004	0,5	52,58	47,33	2003	0
326	1	2003	23,2	21						
331	0	2003	22,3	21,8	2003	0,83	59,33	70,33		
332	0	2003	20,9	21,2	2003	11,42	60,33	77,93		
333	0	2003		20,68	2003	2,92	59,58	77,25		
334	0	2003		20,02	2003	-4,17	54,25	63,83		
335	0	2003	21,5	20,94	2003	-0,64	58,27	53,18		
350	0	2004	21	20,62	2004	-0,82	64,36	53,45	2004	2
351	1	2004	23	22,1						
369	1	2004	21,5	20,78						
374	0	2004	20	20,75	2004	0,75	65,75	53,08	2004	0
375	1	2004	23	21,59						
392	0	2004	24	21,29	2004	1,17	62,25	49,42	2004	4
393	1	2004	24	20,29						
410	1	2004	25	21,84						
422	1	2004	25	21,15						
434	0	2004	23,5	22	2005	-3,33	63,42	48,17	2004	0
435	1	2004	21,5	21,38						
440	0	2004	21,5	20,22	2004	-2,58	57,92	53,08		
441	0	2004	22,5	20,93	2004	-2,5	65,67	62,67		
462	0	2005	23	21,35	2005	-5,67	66,58	52,08	2005	5
463	1	2005	22	21,3						
469	0	2005	23,5	21,85	2005	0,8	74,1	64,6	2005	4
470	1	2005	22,5	22,11						
475	0	2005	22	20,45	2005	1,36	51	78,45	2005	3
476	1	2005	20	21,34						

481	0	2005	21,5	22,22	2005	-4,67	78,92	67,75	2005	2
489	0	2005	22,5	20	2005	4,67	62,67	49,56	2005	5
496	1	2005	23,5	22,22						
504	0	2005	22	21,24	2005	17,1	68,4	51,3	2005	1
505	1	2005	23,5	21,75						
509	0	2005	23	21,8	2005	-6,25	64	56,75	2005	1
510	1	2005	20,5	20,09						
514	0	2005	23	21,64	2005	-5,3	59,5	67,9	2005	5
515	1	2005	23	21,24						
527	0	2005	25,5	22,26	2005	2,5	77,17	63,33	2005	5
528	1	2005	25,5	20,65						
534	0	2005	21,5	20,62	2005	2,55	76	53,18	2005	5
535	1	2005		21,74						
541	0	2005	24	21,29	2005	0,44	76,88	55		
549	1	2005		21,02						
1002	0	2001	20,6	21,22	2001	-3,73	63,27	64,18		
1003	0	2001	19,5	20,92	2001	-0,33	52,5	64,67		
1004	0	2002	20,9	19,2	2002	-2,92	59,67	62,83		
1005	0	2002	21	20	2002	0,08	67,08	83,92		
1006	0	2002	22,4	21,22	2002	1,27	55,82	62		
1007	0	2002	21,7	21,48	2002	2,18	48,27	48,55		
1009	0	2002	20,8	21,11	2002	3,5	47,7	47		
1010	0	2002	22	21,22	2002	26,5	61,25	74,5		

Tabulka č. 12: Výskyt EPY v hnízdě, výpočet komplementarity mezi sociálními páry, MER 3.0

páry	hnízdo	hnízdo skutečné	rok párování	samec0/samice1	mean R	celkem v hnízdě	v hnízdě - cizí (skutečná)	cizí v hnízdě	mláďat v cizím	Repro-úspěch	nevěrná /ztráta paternity (ne0/ano1)
12	1	8	2000	0	0,0518	5	5	0	0	5	0
102	1	8	2000	1	0,0518	5	5	0	0	5	0
18	2	4	2000	1	0,0902	4	4	0	0	4	0
19	2	4	2000	0	0,0902	4	4	0	0	4	0
24	3	5	2000	1	0,194	5	5	0	0	5	0
25	3	5	2000	0	0,194	5	5	0	0	5	0
31	4	6	2000	1	0,0114	5	2	3	0	2	1
94	4	6	2000	0	0,0114	5	2	3	0	2	1
37	5	12	2000	0	0,0319	5	5	0	0	5	0
132	5	12	2000	1	0,0319	5	5	0	0	5	0
43	6	9	2000	1	0,007	5	5	0	0	5	0
101	6	9	2000	0	0,007	5	5	0	0	5	0
49	7	1	2000	1	0,1034	5	5	0	0	5	0
108	7	1	2000	0	0,1034	5	5	0	0	5	0
55	8	5	2001	0	0,0601	5	3	2	0	3	1
56	8	5	2001	1	0,0601	5	3	2	0	3	1

61	9	16	2001	0	0,1395	5	1	4	0	1	1
62	9	16	2001	1	0,1395	5	1	4	0	1	1
69	10	19	2001	1	0,1403	3	3	0	1	4	0
25	10	19	2001	0	0,1403	3	3	0	1	4	0
80	11	20	2001	0	0,0411	4	4	0	0	4	0
81	11	20	2001	1	0,0411	4	4	0	0	4	0
86	12	13	2001	0	0,2067	6	3	3	0	3	1
87	12	13	2001	1	0,2067	6	3	3	0	3	1
94	13	10	2001	0	0,0601	5	5	0	4	9	0
95	13	10	2001	1	0,0601	5	5	0	4	9	0
101	14	8	2001	0	0,0085	5	5	0	0	5	0
102	14	8	2001	1	0,0085	5	5	0	0	5	0
108	15	17	2001	0	0,1034	5	5	0	0	5	0
18	15	17	2001	1	0,1034	5	5	0	0	5	0
115	16	6	2001	0	0,0513	4	4	0	0	4	0
116	16	6	2001	1	0,0513	4	4	0	0	4	0
121	17	3	2001	0	0,0246	4	4	0	0	4	0
122	17	3	2001	1	0,0246	4	4	0	0	4	0
127	18	18	2001	0	0,0117	2	2	0	1	3	0
128	18	18	2001	1	0,0117	2	2	0	1	3	0
131	19	11	2001	0	0,0962	3	2	1	0	2	0
132	19	11	2001	1	0,0962	3	2	1	0	2	0
144	20	1	2002	1	0,0768	5	5	0	0	5	0
108	20	1	2002	0	0,0768	5	5	0	0	5	0
149	21	3	2002	0	0,0212	5	5	0	0	5	0
150	21	3	2002	1	0,0212	5	5	0	0	5	0
156	22	4	2002	0	0,047	4	4	0	0	4	0
157	22	4	2002	1	0,047	4	4	0	0	4	0
179	23	6	2002	0	-0,08	3	3	0	0	3	0
18	23	6	2002	1	-0,08	3	3	0	0	3	0
185	24	7	2002	1	0,0628	10	10	0	0	10	0
94	24	7	2002	0	0,0628	10	10	0	0	10	0
198	25	9	2002	0	0,103	4	4	0	0	4	0
199	25	9	2002	1	0,103	4	4	0	0	4	0
204	26	10	2002	0	-0,645	5	3	2	0	3	0
205	26	10	2002	1	-0,645	5	3	2	0	3	0
219	27	12	2002	1	0,0601	5	4	1	0	4	1
86	27	12	2002	0	0,0601	5	4	1	0	4	1
225	28	13	2002	0	0,1196	5	3	2	0	3	1
87	28	13	2002	1	0,1196	5	3	2	0	3	1
232	29	14	2002	0	-0,08	2	2	0	0	2	0
233	29	14	2002	1	-0,08	2	2	0	0	2	0
240	30	2	2003	0	0,0085	4	4	0	0	4	0

241	30	2	2003	1	0,0085	4	4	0	0	4	0
246	31	3	2003	0	0,0319	5	5	0	0	5	0
247	31	3	2003	1	0,0319	5	5	0	0	5	0
253	32	5	2003	0	0,1233	5	5	0	0	5	0
254	32	5	2003	1	0,1233	5	5	0	0	5	0
260	33	6	2003	0	0,1034	4	4	0	0	4	0
261	33	6	2003	1	0,1034	4	4	0	0	4	0
24	34	7	2003	1	0,0196	4	4	0	1	5	0
94	34	7	2003	0	0,0196	4	4	0	1	5	0
102	35	8	2003	1	0,0518	5	3	2	0	3	1
211	35	8	2003	0	0,0518	5	3	2	0	3	1
279	36	9	2003	0	0,1335	5	5	0	2	7	0
280	36	9	2003	1	0,1335	5	5	0	2	7	0
287	37	10	2003	1	0,1233	5	5	0	3	8	0
86	37	10	2003	0	0,1233	5	5	0	3	8	0
294	38	11	2003	1	0,1233	5	4	1	0	4	1
225	38	11	2003	0	0,1233	5	4	1	0	4	1
300	39	13	2003	0	0,0793	4	4	0	0	4	0
301	39	13	2003	1	0,0793	4	4	0	0	4	0
306	40	14	2003	0	0,0902	4	2	2	0	2	1
307	40	14	2003	1	0,0902	4	2	2	0	2	1
312	41	15	2003	0	0,0768	4	2	2	0	2	1
313	41	15	2003	1	0,0768	4	2	2	0	2	1
318	42	17	2003	0	0,0114	5	5	0	0	5	0
319	42	17	2003	1	0,0114	5	5	0	0	5	0
325	43	18	2003	0	0,0962	4	0	4	0	0	1
326	43	18	2003	1	0,0962	4	0	4	0	0	1
350	44	1	2004	0	0,0793	2	2	0	0	2	0
351	44	1	2004	1	0,0793	2	2	0	0	2	0
369	45	4	2004	1	-0,08	4	4	0	3	7	0
279	45	4	2004	0	-0,08	4	4	0	3	7	0
374	46	5	2004	0	0,0967	3	0	3	0	0	1
375	46	5	2004	1	0,0967	3	0	3	0	0	1
392	47	8	2004	0	0,0114	5	4	1	0	4	1
393	47	8	2004	1	0,0114	5	4	1	0	4	1
410	48	11	2004	1	0,0513	5	5	0	0	5	0
312	48	11	2004	0	0,0513	5	5	0	0	5	0
422	49	13	2004	1	0,1335	4	1	3	0	1	1

94	49	13	2004	0	0,1335	4	1	3	0	1	1
434	50	15	2004	0	0,0378	3	0	3	0	0	1
435	50	15	2004	1	0,0378	3	0	3	0	0	1
462	51	3	2005	0	0,0601	5	5	0	0	5	0
463	51	3	2005	1	0,0601	5	5	0	0	5	0
469	52	4	2005	0	-0,08	4	4	0	0	4	0
470	52	4	2005	1	-0,08	4	4	0	0	4	0
475	53	5	2005	0	0,312	4	3	1	0	3	1
476	53	5	2005	1	0,312	4	3	1	0	3	1
481	54	6	2005	0	0,0601	4	2	2	0	2	1
375	54	6	2005	1	0,0601	4	2	2	0	2	1
489	55	8	2005	0	0,0928	5	5	0	0	5	0
280	55	8	2005	1	0,0928	5	5	0	0	5	0
496	56	9	2005	1	0,0601	5	1	4	0	1	1
86	56	9	2005	0	0,0601	5	1	4	0	1	1
241	57	10	2005	1	0,0411	5	chybí	chybí	chybí	chybí	chybí údaje
211	57	10	2005	0	0,0411	5	chybí	chybí	chybí	chybí	chybí údaje
504	58	13	2005	0	0,1378	3	1	2	0	1	1
505	58	13	2005	1	0,1378	3	1	2	0	1	1
509	59	14	2005	0	-0,08	2	1	1	0	1	1
510	59	14	2005	1	-0,08	2	1	1	0	1	1
514	60	15	2005	0	-0,062	5	5	0	0	5	0
515	60	15	2005	1	-0,062	5	5	0	0	5	0
527	61	19	2005	0	0,1068	5	5	0	0	5	0
528	61	19	2005	1	0,1068	5	5	0	0	5	0
534	62	20	2005	0	0,0114	5	5	0	0	5	0
535	62	20	2005	1	0,0114	5	5	0	0	5	0