

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta
Katedra zoologie



Vybrané faktory ovlivňující reprodukční úspěch samců
hýla rudého *Carpodacus erythrinus*

Factors affecting reproductive success of male Scarlet Rosefinches
Carpodacus erythrinus

Diplomová práce

Hana Mrkvičková

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

V Praze dne 4.září 2009



.....
Hana Mrkvičková

Poděkování

Zde bych chtěla poděkovat svému vedoucímu práce Mgr. Tomáši Albrechtovi Ph.D. za vedení práce, pomoc při terénním výzkumu a věcné připomínky při sepisování práce.

Dále bych chtěla poděkovat Janu Rajmanovi za pomoc s technickým zpracováním dat, Mgr. Jakubu Kreisingerovi za pomoc se statistickým zpracováním dat, Mgr. Michalu Vinklerovi a Mgr. Janu Schnitzerovi za spolupráci při terénním výzkumu.

Abstrakt

Reprodukční úspěch závisí na počtu a kvalitě zplozených mláďat. U sociálně monogamních ptáků přispívají mimopárové paternity k varianci v reprodukčním úspěchu mezi samci. Schopnost ubránit paternitu ve vlastním hnízdě pomocí mate guardingu může ovlivnit reprodukční úspěch samce. Kvalita spermií může ovlivňovat reprodukční úspěch samce v prostředí, kde dochází ke kompetici spermií. Kvalita spermií je charakterizována jejich délkou, variabilitou v délce a motilitou. U samců hýla rudého souvisí reprodukční úspěch se zbarvením sekundárního ornamentu. Výzkum vztahů mezi zbarvením, kvalitou spermií a mate guardingem je předmětem této práce. Součástí práce je i mezidruhové srovnání znaků spermií. Z výsledků vyplývá, že hýla rudý má nejdelší spermie z dosud zkoumaných druhů čeledi Fringillidae. Výsledky naznačují vztah mezi morfologií spermií a karotenoidním ornamentem samců. Nebyl však nalezen jednoznačný vztah mezi ornamentací samce, kvalitou spermií a intenzitou mate guardingu. Složka barvy “hue” (hlavní korelát reprodukčního úspěchu samců hýla rudého) nebyla korelována ani se znaky spermií, ani s intenzitou mate guardingu.

Abstract

Reproductive success of an individual depends on the number of sired young. In socially monogamous birds the extra-pair paternity contributes to variance in male reproductive success. Mate-guarding may increase the ability of males to protect paternity in own nests and hence affect individual reproductive success. Sperm quality can also influence male reproductive success particularly if the sperm competition is present. Sperm quality is characterized by their length, variability in length and motility. Male reproductive success in the Scarlet Rosefinch is affected by the expression of secondary carotenoid-based ornaments. Research of relations between male ornamentation, sperm quality and mate guarding is a subject of this thesis. The results indicate that Rosefinches have the longest ever reported sperm cells within the family Fringillidae. I found only slight relationships between the sperm morphology and carotenoid ornamentation in Scarlet Rosefinche males. Generally there is no consistent pattern between male ornamentation, sperm traits and the intensity of mate guarding in this species. Hue (the main correlate of male reproductive success in Scarlet Rosefinch) was neither correlated with sperm traits nor with the intensity of mate guarding.

Obsah

1 Úvod	6
1.1 Faktory ovlivňující reprodukční úspěch samce	7
1.1.1 Hypotéza dobrých genů.....	8
1.1.2 Karotenoidní sekundární ornament	8
1.1.3 Kompetice spermií.....	10
1.1.4 Mate guarding.....	10
2 Materiál a metodika	12
2.1 Modelový druh- Hýl rudý	12
2.2 Výzkumná lokalita	13
2.3 Statistické metody.....	15
3 Morfologie spermií	16
3.1 Úvod.....	16
3.2 Cíle.....	20
3.3 Metodika	20
3.3.1 Obecné metody.....	20
3.3.2 Zbarvení	21
3.3.3 Morfologie spermií.....	21
3.3.4 Motilita spermií.....	23
3.3.5 Určení heterozygotnosti a paternity.....	24
3.4 Výsledky	24
3.4.1 Morfologie spermií.....	25
3.4.2 Motilita spermií.....	29
4 Mate guarding	31
4.1 Úvod.....	31
4.2 Cíle.....	33
4.3 Metodika	33
4.4 Výsledky	34
5 Diskuze	37
5.1 Morfologie a motilita spermií	37
5.2 Mate guarding	39
6 Závěr	42
7 Použitá literatura	43

1 Úvod

Reprodukční úspěch samce i samice odpovídá počtu zplozených mláďat, jejich kvalitě a životaschopnosti (Andersson 1994). U samců závisí reprodukční úspěch na množství, kvalitě a plodnosti partnerek (Webster et al. 1995, Albrecht et al. 2007). Samice sociálně monogamních ptáků mohou při omezeném počtu snesených vajec ovlivňovat svůj reprodukční úspěch hlavně kvalitou mláďat (Jennions & Petrie 1997, Yasui 1997, Bouwman et al. 2006). Samci mohou prostřednictvím mimopárových paternit dramaticky zvýšit svůj reprodukční úspěch na úkor energetických výdajů jiného samce (Bouwman et al. 2006, Marthinsen et al. 2005).

Mezi samci pěvců jsou obecně velké rozdíly v získané a ztracené paternitě. U některých sociálně monogamních druhů ptáků je variance v reprodukčním úspěchu samců poměrně vysoká, protože někteří samci jsou schopni si ubránit paternitu ve vlastním hnízdě (mate guarding) a zároveň úspěšně získávat mimopárové paternity (EPP). Naopak jiní samci paternitu ztrácejí a mimopárové partnery nezískávají. EPP tak může být zdrojem variability v reprodukčním úspěchu samců sociálně monogamních druhů (Whittingham & Dunn 2005, Albrecht et al. 2007). EPP se skutečně podílí z 10%-60% na varianci v reprodukčním úspěchu samců u sociálně monogamních druhů pěvců (Griffith 2007). V případě některých druhů sociálně monogamních ptáků je variance v reprodukčním úspěchu naopak nízká (Whittingham & Dunn 2005, Albrecht et al. 2007). EPP tak může přispívat k evoluci sekundárního ornamentu u sociálně monogamních ptáků, kde je jinak variabilita v počtu sociálních partnerek malá (Møller & Birkhead 1994, Jennions & Petrie 2000, Dunn et al. 2001).

Přestože většina pěvců je sociálně monogamních, kompetice spermií je u nich velmi rozšířená (Birkhead & Møller 1992). Vyplývá z promiskuity samic, která vede k mimopárovým paternitám (Birkhead 1998). Samci se mohou pokusit samotné kompetici zabránit hlídáním partnerky (mate guarding), nebo se mohou snažit uspět v kompetici s jiným samcem zvýšením množství a kvality spermií (Birkhead 1998). Motilita a délka spermií jsou faktory silně ovlivňující reprodukční úspěch samce (Mossman et al. 2009). Velikost varlat a délka spermií bývá právě u promiskuitních druhů ptáků vyšší (Møller & Briskie 1995). Kompetice spermií je tak důležitým faktorem pohlavního výběru (Birkhead 1998).

Hýl rudý je sociálně monogamní pěvec s výrazným pohlavním dichromatismem. U tohoto druhu EPP silně přispívají k reprodukčnímu úspěchu samců (Albrecht et al.

2007). Reprodukční úspěch samců hýla rudého souvisí s jejich sekundárním ornamentem (Albrecht et al. 2009 in press).

Nalezený vztah mezi reprodukčním úspěchem samců a ornamentálním zbarvením může být zprostředkován kvalitou spermií či specifickým chováním v kritické fázi reprodukce, kdy je samice fertilní. Hlavním cílem práce je testování vztahu (1) kvality spermií a (2) mate guardingu s expresí sekundárního ornamentu samců hýla rudého. Má práce je rozdělena do dvou částí, ve kterých se zabývám otázkami:

- *Jaký je vztah mezi kvalitou samce a kvalitou jeho ejakulátu (morfologie spermií, motilita)?*
- *Existuje vztah mezi expresí ornamentu a intenzitou mate guardingu, mění se intenzita mate guardingu v průběhu času?*

1.1 Faktory ovlivňující reprodukční úspěch samce

Přestože u většiny sociálně monogamních druhů investují do výchovy mláďat oba rodiče, je to většinou samice, kdo si vybírá partnera, neboť investuje více (Birkhead 1998). Výběr optimálního partnera je nákladný, ale tyto náklady jsou vyváženy výhodami výběru. Samice mohou od svého sociálního partnera získat přímé výhody, jako jsou kvalita teritoria, péče o mláďata a obrana hnízda. Výběr partnera tedy přímo ovlivňuje kondici samice. (Jennions & Petrie 2000, Neff & Pitcher 2005). Od mimopárového partnera ale samice většinou takovéto výhody nezískává (Jennions & Petrie 2000), i když existují některé doklady o přímých výhodách pro samici od jejích mimopárových partnerů (Gray 1997, Tryjanowski & Hromada 2005, Mougeot et al. 2006). Jednou z přímých výhod je například pojištění oplodnění v případě, že její sociální partner byl neplodný (Birkhead 1998, Lifjeld et al. 2007).

Spárování s kvalitním samcem, případně výběrem vhodného mimopárového partnera, může samice získat i nepřímé výhody ve formě zvýšené genetické kvality svých mláďat (Birkhead 1998, Mays & Hill 2004). Nepřímými výhodami pro samice se zabývá hypotéza dobrých genů (Møller 1988, Cordero et al. 1999) a hypotéza komplementarity (Kempnaers et al. 1999, Mays et al. 2008). Hypotézou komplementarity se nebudu dále zabývat, protože není předmětem této práce.

1.1.1 Hypotéza dobrých genů

Samice může zvýšit genetickou kvalitu svých potomků výběrem samce s nejlepšími geny a to výběrem sociálního i mimopárového partnera. Dobrymi geny jsou v tomto případě myšleny alely, které zvyšují fitness nezávisle na zbytku genomu a mají aditivní efekt (Whittingham et al. 2006). Jako „dobrý gen“ může sloužit i vysoká genomová heterozygotnost samce, která pozitivně ovlivňuje ostatní kvalitativní znaky samce (Sedon et al. 2004) a souvisí s expresí sekundárních pohlavních znaků (Foester et al. 2003). Heterozygotnost však musí být dědičná (Fromhage et al. 2009). Samci s dobrými geny jsou samicemi preferováni oproti ostatním samcům (Freeman-Gallant et al. 2003). Tito samci pak zplodí více mláďat a mohou si tak podstatně zvýšit reprodukční úspěch (Neff & Pitcher 2005).

Samci nesoucí dobré geny zdůrazňují svoji kvalitu pomocí sekundárních pohlavních znaků. Samice si pak podle těchto projevů vybírají nejvhodnějšího partnera (Mays & Hill 2004). Aby takový znak dobře vypovídal o kvalitě samce, musí být jeho exprese pro samce nákladná. Zároveň ho musí zvýhodňovat oproti jiným samcům. Za předpokladu, že je v těchto fenotypových znacích dostatečná variabilita, může samice podle nich vybírat nejkvalitnějšího samce (nositele dobrých genů). Tato diskriminace by měla vyústit ve velký reprodukční úspěch pouze některých samců v populaci (Neff & Pitcher 2005). Indikátory kvality samců mohou být například zbarvení sekundárního ornamentu (Johnsen et al. 1998a, Badyaev & Qvarnstrom 2002, Ballentine & Hill 2003, Estep et al. 2005), velikost (Charmantier et al. 2004), délka letek (Bouwman & Komdeur 2005), délka ocasu (Petrie 1994, Neff & Pitcher 2005), délka a složitost zpěvu (Martín-Vivaldi 2002, Ballentine et al. 2003) a mnoho dalších. V této práci se budu dále zabývat pouze karotenoidním sekundárním ornamentem, který je dobrým indikátorem reprodukční úspěšnosti u hýla rudého (Albrecht et al. in press).

1.1.2 Karotenoidní sekundární ornament

Sexuální dimorfismus v barvě peří se vyskytuje u velké části pěvců. Sekundární ornamenty jsou tvořeny pigmenty ukládanými v průběhu tvorby pera, nebo samotnou strukturou peří, která různým způsobem odráží nebo pohlcuje určité vlnové délky světla (Badyaev & Hill 2000). Pigmenty v peří jsou melaniny, karotenoidy a porfyriny. Karotenoidy slouží jako nejčestnější signál samčí kvality, neboť si je tělo nedokáže samo vyrobit a jejich depozice do peří je nákladná. Melaniny jsou relativně špatným

indikátorem kvality, neboť jsou pouze zbytkovým produktem metabolismu a jejich depozice do pera není nákladná (Badyaev & Hill 2000).

Pohlavním dimorfismem ve zbarvení a preferencích samic pro karotenoidní ornament se zabývá několik hypotéz, které v podstatě rozvíjejí hypotézu dobrých genů. Sekundární ornament je podle této hypotézy dobrým ukazatelem kvality samce (Jennions & Petrie 2000). Zbarvení samce, které je velmi dobře viditelné pro možné predátory, může sloužit jako handicap (hypotéza handicapu, Zahavi 1975), který je pro samice dobrým ukazatelem životaschopnosti samce (Jennions & Petrie 2000)

Dalším odůvodněním preferencí samic pro lépe vybarvené samce je hypotéza sexy synů (Fisher 1930). Samčí znak podle této teorie nemusí vypovídat o přímé kvalitě samce, ale je preferován většinou samic v populaci. Preference pro znak, ale i znak samotný, jsou dědičné a jsou přenášeny do další generace (Jennions & Petrie 2000). Stejně jako v případě handicapové teorie mohou některé znaky dospět až do intenzity ohrožující daného jedince na životě. Zde pak dále působí přirozený výběr, který selektuje jedince s přehnaně vyvinutým znakem, kteří se dále na reprodukci nepodílejí (Arnold 1983).

Zásadní v pochopení evoluce nákladných ornamentů je myšlenka, že výrazné zbarvení má schopnost indikovat samcovu odolnost vůči parazitům (Hamilton a Zuk 1982). Parazit se ovšem vyvíjí, a proto geny pro rezistenci k tomuto parazitovi se musí vyvíjet také. Rezistence k parazitovi tak není v průběhu času neměnná a samec, který je jejím nositelem v danou chvíli, může prokázat svou atraktivitu právě expresí sekundárního ornamentu. Naopak samci (genotypy), kteří neudrželi s vývojem parazita tempo, jsou z reprodukce vyloučeni zdravějšími samci (Jamieson 2007). V další generaci se situace může změnit a nositelé jiných alel budou schopni jednak rezistence vůči parazitům a zároveň investic do nákladných, kondičně závislých ornamentů. Tato hypotéza vysvětluje udržení aditivní genetické variability, předpokládá ovšem vztah mezi imunitními geny a expresí ornamentu (Zelano & Edwards 2002).

Sekundární ornament může také sloužit jako signál dominance v kompetici samců mezi sebou (Quanstrom 1997). Vyšší reprodukční úspěch lépe vybarvených samců nemusí být pouze výsledkem samičí preference pro tyto samce, ale zároveň výsledkem kompeticeschopnosti spermií těchto samců (Pizzari et al. 2008). Zdravotní stav může ovlivňovat nejen vybarvení samce (Alonso-Alvarez et al. 2004), ale i kvalitu ejakulátu (Tremellen 2008). Zdravější samci jsou tak nejen atraktivnější pro samice, ale zároveň jsou v lepší kondici a mají kvalitnější spermie (Zelano & Edwards 2002).

V posledně jmenovaných případech nemusí být vyšší reprodukční úspěch ornamentovaných samců být dílem samičího výběru, ale výsledkem kompetice mezi samci (mechanismy pohlavního výběru, Darwin 1871).

1.1.3 Kompetice spermií

Spermie jsou nejvariabilnější buňky živočišného těla (Laskemoen et al. 2007). V živočišné říši jich existuje nespočetné množství tvarů a velikostí (Briskie et al. 1997, Kleven et al. 2008). U ptáků (ani většiny jiných živočišných skupin) jejich délka neodpovídá velikosti těla (Briskie & Mongomerie 1993, Birkhead et al. 2008). Přestože v posledních desetiletích se věnuje výzkumu jejich variability mnoho pozornosti, není zatím úplně jasné, nakolik přispívá různorodost spermií jednoho samce k jeho reprodukčnímu úspěchu, jak ovlivňují jednotlivé části spermie její vlastnosti (motilitu, dlouhověkost, mechanismy kompetice spermií a skrytého samičího výběru) a jaké selekční tlaky jsou odpovědné za evoluci spermií (Birkhead et al. 2008).

Kompetice spermií se vyskytuje u těch druhů, kde samice kopuluje s více než jedním samcem (Parker 1970). Tyto kopulace mohou být dobrovolné, ale i vynucené samcem (Albrecht et al. 2006). U sociálně monogamních druhů se až do 70.let 20.století předpokládalo, že ke kompetici spermií nedochází (Griffith et al. 2002). Poznatky o výskytu mimopárových páření však probudily zájem o výzkum kompetice spermií i u ptáků, kteří byli považováni do té doby za monogamní (Birkhead & Møller 1992, Birkhead & Pizzari 2002, Snook 2005).

Kompetice spermií je výsledkem promiskuity samic, kdy jsou spermie dvou nebo více samců nuceny mezi sebou soupeřit o možnost oplození vajíčka (Parker 1970). Tento proces je částečně ovlivňován skrytým samičím výběrem, kterým je myšlena nenáhodná selekce spermií samičím reprodukčním traktem (Pizzari & Birkhead 2002, Denk et al. 2005). Oba procesy vedou k varianci v reprodukčním úspěchu samců (Snook 2005).

1.1.4 Mate guarding

Mate guarding blízkým sledováním je velmi častou strategií obrany před kompeticí spermií, která u sociálně monogamních ptáků vzniká v důsledku mimopárových kopulací (Birkhead 1998). Mate guarding blízkým sledováním charakterizuje malá vzdálenost udržovaná samcem od samice v době, kdy je samice nejplodnější (Birkhead

& Møller 1992). Pokud samec zůstává poblíž partnerky, může zabránit jiným samcům v pokusu o spáření s ní (Birkhead 1998, Low 2005).

Intenzita mate guardingu se liší jak mezidruhově, tak vnitrodruhově. Mate guarding je velmi časově náročný, proto musí samci volit mezi ním a získáváním případných mimopárových paternit. Intenzita a účinnost mate guardingu silně závisí na hnízdní synchronizaci, denzitě hnízd a zároveň na kvalitě samce a jeho atraktivitě pro samici. Svou roli tak hrají právě sekundární ornamenty (Johnsen et al. 2003). Pokud je samec úspěšný v hlídání partnerky a zároveň v získávání mimopárových mláďat, zvýší si podstatně svůj reprodukční úspěch.

2 Materiál a metodika

Tato kapitola obsahuje obecnou metodiku celé práce. Metodické postupy specifické pro jednotlivé části práce jsou popsány v příslušných kapitolách.

2.1 Modelový druh- Hýl rudý

Hýl rudý (*Carpodacus erythrinus*) je malý (cca 22 g), sociálně monogamní, neteritoriální pěvec řadící se do čeledi Fringillidae, podčeledi Carduelinae (Cramp 1994). Mladí samci jsou zbarveni stejně jako samice olivově hnědě (Björklund 1990). Dospělí samci (dvou a více letí) mají červený ornament na hrudi, hlavě a kostřci (Obr. 1).

Obr. 1 Dospělý samec hýla rudého (foto Dana Rymešová).



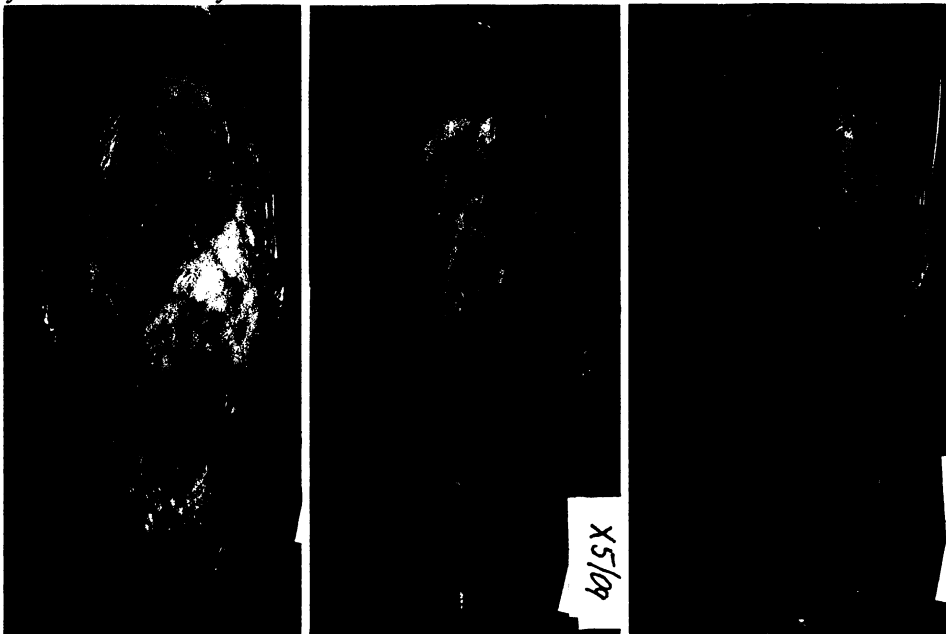
Hýl rudý je tažný pták přilétající na naše území přibližně v polovině května jako jeden z posledních tažných pěvců. Zimuje pravděpodobně v Indii (Cramp et al. 1994). Samci přilétají na hnízdiště o několik dní dříve než samice. Po přiletu obsazují příhodná vyvýšená místa na stromech a začínají intenzivně zpívat. Jejich zpěv sestává z krátkých strof (Björklund 1990).

Hnízdní sezona je velmi krátká a hnízdění je velmi synchronizované. Samci hájí pouze blízké okolí hnízda (Björklund 1990). Hnízda jsou nejčastěji umístěna na vyšších

místech tavolníků, neboť hnízdiště na Šumavě jsou periodicky zaplavována. V hnízdě bývá 4-6 modrých vajec. Samice sedí na vejcích přibližně 13 dní. Hýli krmí svá mláďata na rozdíl od většiny pěvců semeny, pupeny, občas drobnými členovci (Stjernberg 1979).

Dospělí samci hýlů rudých se mezi sebou liší intenzitou zbarvení (Obr. 2). Ta kolísá od žluté, přes oranžovou až po sytě karmínově červenou a není patrně ovlivněna stářím jedince (Albrecht et al. in press).

Obr. 2 Vybarvení samců hýla rudého.

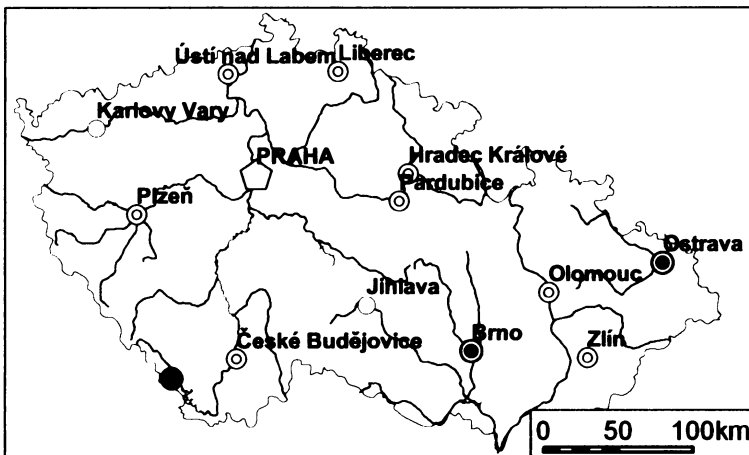


EPP se vyskytují přibližně v 33 % hnízd a 19 % z celkového počtu mláďat je mimopárových (Albrecht et al. 2007, Albrecht et al. in press). Samci s intenzivnějším zbarvením jsou úspěšnější v získávání mimopárových paternit (Albrecht et al. in press).

2.2 Výzkumná lokalita

Výzkum probíhal v oblasti Vltavského luhu v Národním parku Šumava. Samci byli odchytáváni v oblastech Želnavské tůně, pod Želnavským vrchem a v okolí Pěkné (Obr 3-6, zdroje DMÚ25, ArcČR 500). Vltavský Luh spadá většinou svého území do I. zóny NP Šumava (Skuhřavý 2005).

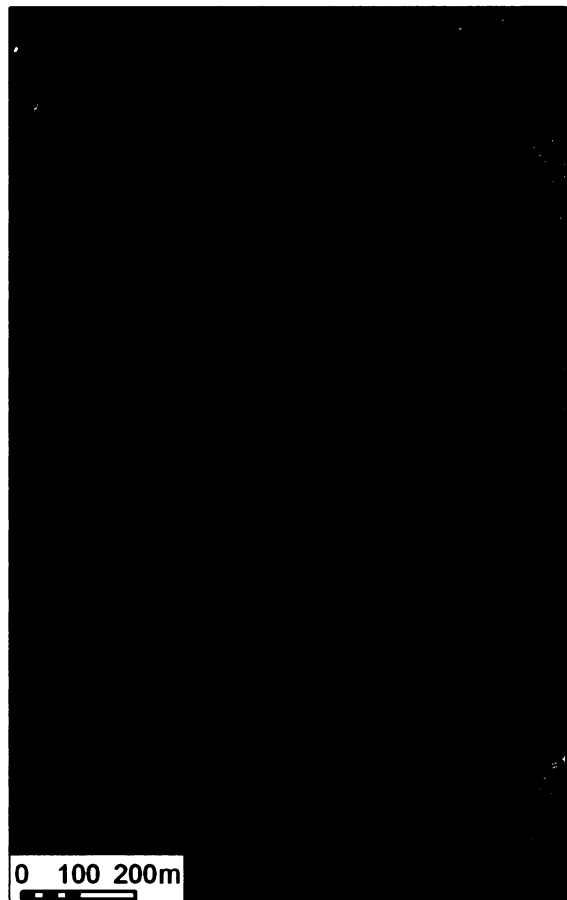
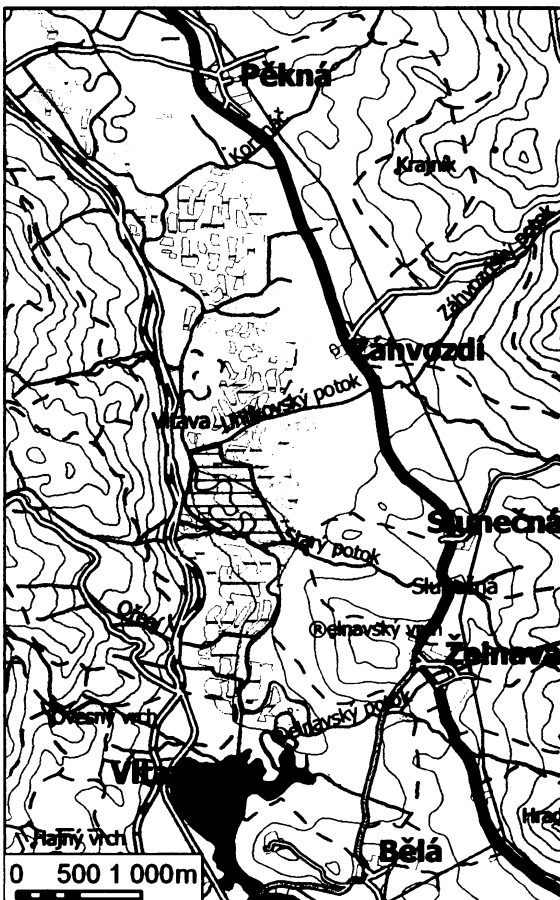
Výzkum mate guardingu probíhal pouze na lokalitě pod Želnavským vrchem. Lokalita má rozlohu přibližně 1 km². Terén je zde rovinatý, jedná se o nivní biotop, který je periodicky zaplavován. Z křovin, které tvoří asi 15 % plochy, se nejčastěji vyskytuje tavolník *Spiraea salicifolia* a vrba *Salix sp.* Hranice lokality jsou vymezeny okolními pastvinami a jehličnatými lesy.



Obr. 3: Umístění výzkumné lokality v ČR

Obr. 4 (vlevo): Vltavský luh-část, výzkumná lokalita vyznačena červeně

Obr. 5 (vpravo): Výzkumná lokalita - detail



Obr. 6: Pohled na výzkumnou lokalitu z Želnavského Vrchu

2.3 Statistické metody

Pro výpočet analýz byly použity programy Statistica 8 CZ, R 2.9.1 a COMPARE 4.6. Pro většinu prováděných analýz byly použity obecné (ANOVA, regrese) či zobecněné lineární modely (GLM). V určitých případech bylo nutno použít mixované modely (GLMM), a to tam, kde bylo více údajů opakovaně pro jedince či časovou periodu (v analýze mate-guardingu). V modelech bylo předpokládáno normální nebo binomické rozložení závislé proměnné. Analýza započala vždy vystavěním plného modelu. Pro získání minimálního adekvátního modelu (Crawley 2007) byly postupně v programu R pomocí funkce `drop1` odstraňovány nesignifikantní proměnné porovnáváním modelů mezi sebou. Zjednodušeně řečeno, funkce `drop1` zobrazuje hodnotu AIC pro model, ze kterého je odstraněna právě jedna proměnná, a udává i hodnotu AIC pro model nulový (Crawley 2007). V každém kroku byly proměnné, jejichž odstranění vedlo k nejnižší hodnotě AIC z modelu eliminovány, čímž vznikl redukovaný model až případně minimální adekvátní model (se všemi členy průkaznými, Crawley 2007). Opodstatněnost odstranění proměnné bylo verifikováno standardními testy (F statistik v případě obecných lineárních modelů, nebo chí-kvadrát test v případě mixovaných a zobecněných lineárních modelů). V případě interkorelace proměnných byla použita PCA analýza. Ta je používána pro zjednodušení korelovaných dat za minimální ztráty informace. Pro další výpočty byly dále uvažovány pouze faktory s eigenvalue vyšší než 1. Pro všechny analýzy byly za signifikantní považovány výsledky s $p < 0,05$, průměry jsou prezentovány $\pm SE$.

3 Morfologie spermíí

3.1 Úvod

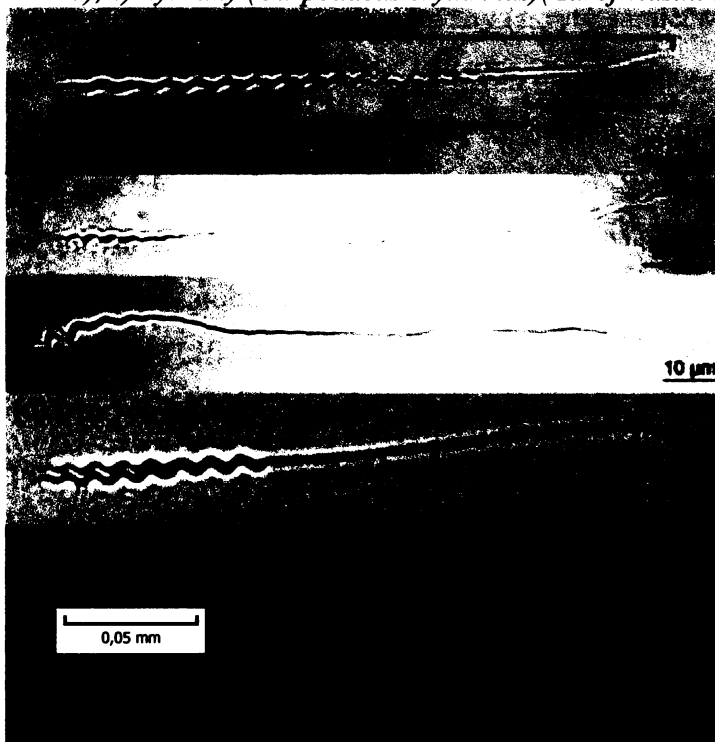
Ptačí spermie se skládají ze dvou částí, hlavičky a bičíku (flagellum). Oblast bičíku lze dále dělit na střední část (midpiece), ve kterém se nacházejí mitochondrie, a na samotný bičík (tail), který je zúženou koncovou částí flagella (Obr. 7).

Obr. 7 Části spermie hýla rudého (zdroj vlastní data).



Velikost a struktura ptačích spermíí se liší mezi druhy (Obr. 8), ale i mezi jedinci v rámci druhu (Briskie & Montgomerie 1993). Největší rozdíly jsou ovšem mezi skupinou pěvců a nepěvců. Spermie nepěvců se spíše podobají spermíím plazů a jsou rovné, zatímco spermie pěvců mají šroubovicovitou hlavičku a midpiece a mohou na sobě mít útvar podobný undulující membráně (Briskie & Montgomerie 2007). Jedinou zatím doloženou výjimkou ve tvaru spermíí mezi pěvci je hýl obecný (*Pyrrhula pyrrhula*), jehož spermie jsou pro pěvce velmi neobvyklé, neboť mají oblou hlavičku (Birkhead et al. 2006).

Obr. 8 Spermie různých druhů pěvců se od sebe liší tvarem i velikostí: a) kos černý (*Turdus merula*), b) rákosník proužkovaný (*Acrocephalus schoenobaenus*), c) červenka obecná (*Erithacus rubecula*), d) cvrčilka slavíková (*Locustella luscinioides*) (převzato z Immler & Birkhead 2005), e) hýl rudý (*Carpodacus erythrinus*) (zdroj vlastní data).



Produkce spermií je pro samce velmi náročná (Laskemoen et al. 2008) a samci alespoň některých druhů ptáků (např. kur domácí) jsou schopni manipulovat kvalitou (motilitou) a množstvím spermií v ejakulátu podle kvality partnerky (Cornwallis et al. 2009). Migrující ptáci tvoří spermie pouze v době páření, mimo sezónu se varlata zmenšují a spermie neprodukují (Birkhead & Møller 1992). Délka spermie je výsledkem kompromisu mezi množstvím a velikostí spermií, které se ještě vyplatí samci vyprodukovat (Hollman & Snook 2006).

Z teoretických studií vyplývá, že rychlost spermií může být ovlivněna jejich morfologií (Humphries et al. 2008, Lupold et al. 2009c). Hypotéza předpokládá, že delší flagellum umožňuje spermii rychlejší pohyb (Calhim et al. 2009). Delší midpiece, v kterém jsou umístěny mitochondrie, umožňuje spermii vydat více energie (Cardullo & Baltz 1991). Srovnávací studie provedené u savců a ptáků dokazují, že druhy, které mají dlouhé spermie, mají zároveň rychlé spermie. Předpokládá se, že evoluce směřující k rychlosti spermií předcházela evoluci dlouhých spermií (Mossman et al. 2009).

Pokud dochází ke kompetici spermií, jsou rychlejší spermie úspěšnější v proniknutí do samičího reprodukčního traktu (Lupold et al. 2009c). V oblasti mezi dělohou a pochvou se nacházejí kanálky na přechovávání spermií, ve kterých spermie

přežijí několik dní až týdnů, a poté mohou oplodnit zralé vajíčko (Briskie et al. 1997). Do těchto kanálků se ale dostanou pouze nejrychlejší spermie a zbylé jsou postupně samičím reprodukčním traktem zlikvidovány (skrytý samičí výběr). Kanálky jsou slepě zakončené, proto spermie, které do kanálku dorazily poslední, vyrážejí jako první oplodnit zralé vajíčko. Setkáváme se zde s výhodou spermie posledního samce (last male sperm precedence) (Birkhead & Møller 1992). Samec, který se spáril se samicí jako poslední, nejčastěji úspěšně oplodní vajíčko. V tomto případě velmi záleží na načasování páření. V době snášení vajec se snižuje pravděpodobnost, že páření vyústí v oplození vajíčka (Lifjeld et al. 1997). Není to však pravda u všech promiskuitních druhů. U některých mohou i spermie, které do kanálků nevstoupí, přežít až do setkání se zralým vajíčkem a oplodnit ho (Birkhead 1998).

Morfologie spermií souvisí s mírou kompetice spermií. Druhy ptáků s vyšší mírou kompetice spermií mají vyšší celkovou délku spermií a vyšší relativní délku midpiece než druhy s nízkou mírou kompetice spermií (Lupold et al. 2009b). Míra kompetice spermií je velmi často odvozována z relativní velikosti varlat (Parker 1970). Relativní velikost varlat je dobrým prediktorem míry EPP (Pitcher et al. 2005). Délka a množství spermií je na velikosti a struktuře varlat silně závislá (Lupold et al. 2009a).

Se zvyšující se délkou spermií se snižuje variabilita spermií mezi samci na mezidruhovém úrovní (Lupold et al. 2009b). Variabilita v délce spermií mezi samci je nižší u druhů s vyšší mírou kompetice spermií (Kleven et al. 2008). Tento vztah je prokazatelnější, pokud jsou data sbírána od samců ze stejné populace jako údaje o EPP, protože míra EPP se může mezi populacemi jednoho druhu lišit (Kleven et al. 2008). Variabilita v délce spermií v rámci samce je také nižší u druhů s vyšší mírou kompetice spermií (Immler et al. 2008). Tyto závěry jsou důkazem vlivu pokopulačního pohlavního výběru na morfologii spermií v rámci druhu i jednotlivce a mohou být příčinou rozdílné morfologie spermií jak na úrovni populací, tak na úrovni druhů (Kleven et al. 2008, Immler et al. 2008). Variabilita spermií je tak dalším důležitým faktorem, který může souviset s reprodukčním úspěchem samce (Birkhead et al. 2005).

Teorie předpokládá, že kompetice spermií udržuje silný selekční tlak na kvalitu spermií a morfologie spermií je tak udržována v optimálním stavu. Variabilita v délce spermií může být výsledkem konfliktu mezi odlišnými typy mutací haploidní spermie a diploidního organismu (Parker & Begon 1993). Pokud je selekční tlak na daný znak vysoký, bude působit stabilizačně na optimální projev znaku (Kleven et al. 2008). Všechny morfologické znaky spermií jsou dědičné (Birkhead et al. 2005). Pokud se

v rámci druhu vyskytuje vysoká míra kompetice spermií, může vést pomocí přímé selekce k produkci spermií s optimálními znaky a snížení výskytu nekvalitních chybových spermií (Kleven et al. 2008).

Samci, kteří nesou výhodné geny ve smyslu hypotézy dobrých genů, mají vyšší reprodukční úspěch. Znamená to tedy, že jsou úspěšnější v oplození samice. Jak už bylo řečeno, výsledek oplození v prostředí kompetice spermií je zásadně určen rychlostí a tedy i kvalitou spermií. Pohlavní výběr zvyhodňuje ty znaky, které pozitivně přispívají k reprodukčnímu úspěchu v předkopulačním i pokopulačním procesu. Sekundární pohlavní znaky mohou signalizovat kvalitu primárních pohlavních znaků. Těmi mohou být i kvalita spermií a připravenost k páření (Calhim et al. 2009).

Hypotéza dobrých genů a hypotéza dobrých spermií (good sperm hypothesis) spolu úzce souvisejí. Pokud je samec nositelem dobrých genů, vyplatí se mu investovat do produkce kvalitních kompeticeschopných spermií (Yasui 1997). Hypotéza dobrých spermií předpokládá, že sekundární pohlavní znaky vypovídají o kvalitě spermatu a zaručují tak samici úspěšné oplození (Evans & Rutstein 2008). Neplodnost samců u ptáků je sice nízká, ale vyskytuje se (Lifjeld et al. 2007). Kvalita spermií může záviset na kondici samců. Dobrým kvalitativním znakem kondice samce je heterozygotnost (Seddon et al. 2004), která může ovlivňovat výslednou kvalitu spermií. Hypotéza sexy spermií (sexy sperm hypothesis, Keller & Reeve 1995), která vychází z hypotézy sexy synů, předpokládá vysokou dědičnost znaků spermií a tím i přenesení tohoto pokopulačně výhodného znaku do další generace (Pizzari & Birkhead 2002, Evans & Simmons 2008, Calhim et al. 2009).

Samice mohou podle fenotypových znaků rozpoznat fertilního samce s kvalitními spermiemi (phenotype-linked fertility hypothesis, Sheldon 1994). Jak bylo potvrzeno v práci Calhim et al. (2009), míra exprese sekundárních pohlavních znaků pozitivně koreluje s délkou spermií a je tak dobrým prediktorem reprodukčního úspěchu. Zároveň byl v této práci nalezen vztah mezi délkou spermií a načasováním hnízdění, které vypovídá o celkové kvalitě samce a ovlivňuje reprodukční úspěch samců lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*) (Calhim et al. 2009). Nicméně v dříve publikovaných pracích nebyla tato hypotéza potvrzena (Birkhead & Fletcher 1995, Birkhead et al. 1997).

Dosavadní výzkum hýla rudého prokázal vztah mezi sekundárním ornamentem a reprodukčním úspěchem samce (Albrecht et al. in press). Není však známo, jaký mechanismus zaručuje barevnějším samcům vyšší mimopárový a vnitropárový

reprodukční úspěch. Kromě samičího výběru to může být i rozdíl v kvalitě spermií a tedy kompetice mezi samci (spermiemi).

3.2 Cíle

V této části práce bylo cílem zjistit, jestli spolu souvisí kondičně závislé znaky samců a znaky spermií. Protože u hýla rudého souvisí reprodukční úspěch s barvou, zaměřila jsem se hlavně na tento sekundární pohlavní znak. Dále bylo cílem zjistit, jestli nějaký ze znaků spermií souvisí přímo s reprodukčním úspěchem samce. Cílem bylo také objasnit, zda variabilita a délka spermií u hýla rudého odpovídá míře mimopárových paternit, migrační vzdálenosti a délce hnízdní sezony, jak bylo zjištěno u jiných druhů pěvců.

Hlavními otázkami jsou:

- Vypovídá sekundární ornamentace nebo jiné fenotypové znaky (váha, kondice, věk) samců hýla rudého o délce nebo variabilitě jejich spermií?
- Jakým způsobem spolu souvisejí délka a variabilita spermií?
- Mají heterozygotnější samci delší spermie?
- Existuje vztah mezi reprodukčním úspěchem samce a délkou, či variabilitou v délce jeho spermií?
- Jaký je vztah mezi jednotlivými částmi spermie a motilitou spermií?
- Existuje vztah mezi zbarvením samce a motilitou spermií?

Předpokládám delší a méně variabilní spermie u lépe vybarvených samců, u samců heterozygotnějších a samců s vyšším reprodukčním úspěchem. Dále předpokládám vyšší motilitu spermií u lépe vybarvených samců. V rámci práce je též poprvé popsána morfologie spermií hýla rudého a data srovnána s ostatními příslušníky čeledi Fringillidae. Migrující hýl rudý se v rámci této čeledi vymyká krátkou hnízdní sezónou. V rámci práce byl testován vztah mezi délkou hnízdní sezóny (korelát míry EPP) a délkou a variabilitou spermií u 10 zástupců čeledi, včetně hýla rudého.

3.3 Metodika

3.3.1 Obecné metody

Výzkum morfologie a motility spermií hýla rudého probíhal v letech 2007-2009 vždy v období od poloviny května do konce června. Samci chycení na různých lokalitách

Vltavského luhu v okolí obce Želnavá (Želnavské tůně, Želnavský vrch) a Pěkná byli po odchytu označeni kroužkem Národního Muzea, aby bylo možné již jednou odchycené samce rozpoznat. Dále byl změřen levý tarsus a váha. Krev (cca 50 μ l) byla odebrána z loketní žíly *vena ulnaris* a uchovávána v 96% ethanolu v 1,5ml mikrozkušnicích pro pozdější využití k analýzám paternity a heterozygotnosti.

3.3.2 Zbarvení

Dospělí, vybarvení samci byli vyfotografováni za standardních podmínek fotoaparátem Olympus Camedia s použitím blesku. Pozadí tvořila standardní šedá tabulka Kodak. Vyfotografována byla hrud' každého samce. Vybarvení hrudi se zdá být nejdůležitějším znakem samce při samičím výběru u hýla rudého (Stjenberg 1979), proto bývá nejčastěji využíváno při určování ornamentace u tohoto druhu (Albrecht et al. in press). Fotografie byly zpracovávány v programu Adobe Photoshop CS.3. Na hrudi každého samce bylo vybráno 12 rovnoměrně rozmístěných bodů, u kterých byly změřeny hodnoty HSB (hue, saturation, brightness). Hue odpovídá zbarvení, naměřené hodnoty v našem případě stoupají od červené po žlutou (cca -1 až 40). Saturation určuje sytost barvy, vyšší hodnoty znamenají sytější odstín. Brightness určuje jas barvy, vyšší hodnoty odpovídají světlejší barvě. Měřené body byly pravidelně rozmístěny pomocí mřížky 3×4. Hodnota každého měřeného bodu vznikla jako průměr hodnot z plochy 11×11 pixelů. Výsledné hodnoty hue, saturation a brightness byly pro každého samce určeny jako aritmetický průměr z 12 naměřených bodů. Zatímco hue a saturation určují obsah karotenoidů v peří (Saks et al. 2003), brightness souvisí se strukturou povrchu pera (Shawkey et al. 2007).

3.3.3 Morfologie spermií

Neinvazivních metod na získání spermatu ptáků je několik (Immler & Birkhead 2005). Pro získání vzorku živých spermií je nejvhodnější masáž kloakální protuberance, při které je získáno čisté sperma (Kleven et al. 2008). Takto získané sperma má u hýla rudého nahnědlou barvu. Sperma bylo uchováváno v 5% formalínu, část byla použita pro analýzu motility spermií (viz níže).

Pro další zpracování je vhodné zředit potřebnou část vzorku spermií roztokem PBS (phosphate-buffered saline), aby se shluky spermií rozvolnily. Vzorky byly nanášeny na sklíčka a ponechány oschnout, aby se spermie přichytily na sklíčko. Zaschlé vzorky byly omyty destilovanou vodou, čímž byl odstraněn vysrážený formalín

a PBS. Optickým mikroskopem Olympus CX41 byly pořízeny digitální fotografie v rozlišení 3648 × 2736. Mikroskop byl kalibrován pro zvětšení ×200 a ×400. Pro pořízení fotografií bylo vždy používáno zvětšení ×400. Důležité bylo kvalitní zaostření na bičík spermie, protože je na fotografiích špatně rozeznatelný. Do každé fotografie byla vložena kalibrační přímka. Ze vzorku každého samce bylo vyfoceno 10 nepoškozených spermií. Tento vzorek je dostatečný pro určení morfologie spermií pro jednotlivé samce i pro určení jejich variability (Immler et al. 2008, Kleven et al. 2008, Calhim et al. 2009).

Spermie byly měřeny v programu UTHSCSA Image Tool for Windows verze 3.00. Program byl kalibrován podle měřítka na fotografiích.

Změřena byla vždy délka hlavičky, midpiece a bičíku spermie v mikrometrech. Celková délka spermie pak byla součtem těchto hodnot. Další použitá hodnota byla délka flagella, která je součtem midpiece a bičíku.

Z těchto hodnot byly dále vypočítány koeficienty variance (CV, Sokal and Rohlf 1981).

$CV = SD / \text{průměr} \times 100$, kde

CV ... koeficient variance

SD ... směrodatná odchylka

průměr ... průměr z naměřených hodnot

Tento koeficient vyjadřuje míru variability spermií. Dalším možným vyjádřením vlastností spermie je relativní délka midpiece, která je podílem délky midpiece k celkové délce spermie.

Pro mezidruhové srovnání morfologických znaků spermií a délky hnízdni sezóny pro jednotlivé druhy je třeba získat informace o fylogenetických vztazích v rámci celé srovnávané skupiny. Hýl rudý patří do čeledi Fringillidae. Pro určení fylogenetických vztahů byl použit aktuální systém celé podčeledi z práce Nguembock et al. (2009). Údaje o morfologických znacích spermií a délce hnízdni sezóny pro jednotlivé druhy pocházejí ze zdrojů uvedených v tabulce (Tab. 1). Celkem byly získány údaje pro 10 druhů čeledi Fringillidae, jejichž fylofenetický strom je zobrazen v následujícím schématu (Obr. 9).

Tab. 1 Přehled druhů použitých do analýzy mezidruhového srovnání morfologie spermií

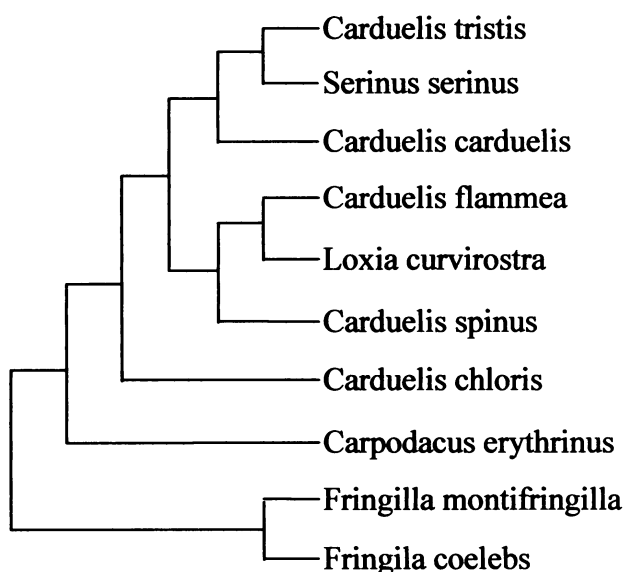
druh	délka spermie	CV mezi samci	CV v rámci samce	počet samců	zdroj	délka hn. sezóny
<i>Carduelis carduelis</i>	136.0	3.08	1.87	4	Albrecht	8
<i>Carduelis chloris</i>	195.5	1.46	1.36	5	Kleven et al.	5
<i>Carduelis flammea</i>	198.4	2.72	1.44	5	Kleven et al.	7
<i>Carduelis spinus</i>	220.8	2.36	1.13	5	Kleven et al.	9
<i>Carduelis tristis</i>	197.3	1.67	1.16	4	Kleven et al.	3
<i>Carpodacus erythrinus</i>	275.4	1.76	1.14	11	Albrecht	4
<i>Fringilla coelebs</i>	259.0	1.90	1.20	10	Kleven et al.	4
<i>Fringilla montifringilla</i>	209.9	1.37	1.42	5	Kleven et al.	4
<i>Loxia curvirostra</i>	99.2	5.12	3.64	7	Kleven et al.	12
<i>Serinus serinus</i>	248.0	2.25	0.97	5	Albrecht	10

Zdroj: délka hnízdní sezóny: Cramp et al. 1977-1994, McGraw & Middleton 2009

Kleven et al. : Kleven, Laskemoen, Liffeld- nepublikovaná data

Albrecht- nepublikovaná data

Obr. 9 Fylogenetický strom čeledi Fringillidae pro druhy použité do analýzy mezidruhového srovnání morfologie spermií.



3.3.4 Motilita spermií

Vzorek spermií byl okamžitě po odebrání přenesen do media D-mem (Dulbecco's Modified Eagle Medium) které bylo předehřáto na 40°C. Vzorek byl nanesen na podložní sklíčko s počítacími komůrkami o hloubce 20 µm (Leja products BV, Nieuw-Venep, Netherlands). Motilita spermií byla nahrávána pomocí programu Quick Photo

Camera mikroskopem Olympus C-40 nastaveným na negativní kontrast při použití objektivu $\times 10$.

Nahráná videa byla později převedena na kvalitu 50 Hz a zpracována za pomoci počítačového programu na analýzu spermií (HTM-CEROS sperm tracker, CEROS 12, Hamilton Thorne Research, Beverly, MA, USA). Program na analýzu videa byl nastaven na 50 Hz a na počet snímků 25. Detekce buněk byla nastavena na minimální kontrast 21 a minimální velikost buněk 8 pixelů. Pro každého samce byly spočítány na záznamech trvajících minimálně 0,5 s různé parametry motility spermií. Motilita byla vyjádřena průměrnou celkovou vzdáleností, kterou spermie urazila, čili celkovou kurvilineární trajektorií (VCL), neboť v našem případě spermie nebyly atrahovány vajíčkem. K dispozici byla též průměrná celková vzdálenost po trajektorii (VAP) a hodnota pohybu spermie do stran (zig-zag, VSP). Obě proměnné byly ovšem silně korelovány s VCL. Hodnoty VCL, VSP a VAP byly před počítáním zlogaritmovány, aby odpovídaly normálnímu rozložení. Při počítání byl průměr změřených hodnot vážen počtem spermií. V modelu byl celkový počet spermií měřený na individuálního samce zahrnut jako váha. Vyloučen byl jedinec s pouhými 4 změřenými spermii. Spermie s VAP menším než $5 \mu\text{m s}^{-1}$ byly vyloučeny. Celkově byla motilita změřena u 1250 spermií od 16 samců z roku 2009.

3.3.5 Určení heterozygotnosti a paternity

Míra heterozygotnosti a paternita byla určena ze vzorků DNA z krve odchycených ptáků. Údaje o heterozygotnosti a paternitě byly zpracovány Radkou Polákovou a poskytnuty pro tuto práci.

Heterozygotnost i paternita byla určena na základě souboru 17 polymorfních mikrosatelitů (konkrétně CE207, CE165, CE31, CE150, CETC215, CE152, CE67, CE147, CM026, CM014, CM001, CM008, Hofi 17, Hofi 52, Hofi 24, Hofi 5, LOX1), které byly optimalizovány pro hýla rudého (Poláková et al. 2007). Detailní metodika určení paternity je popsána v Albrecht et al. (in press).

3.4 Výsledky

V letech 2007-2009 bylo chyceno celkem 67 samců, kterým byl odebrán vzorek spermií. Někteří samci byli za jeden rok chyceni dvakrát a pokaždé jim byl odebrán

vzorek spermií. U těchto samců byly výsledné hodnoty spočítány jako průměr naměřených hodnot z jednotlivých odchytů. Celkem byla získána data pro 63 samců.

3.4.1 Morfologie spermií

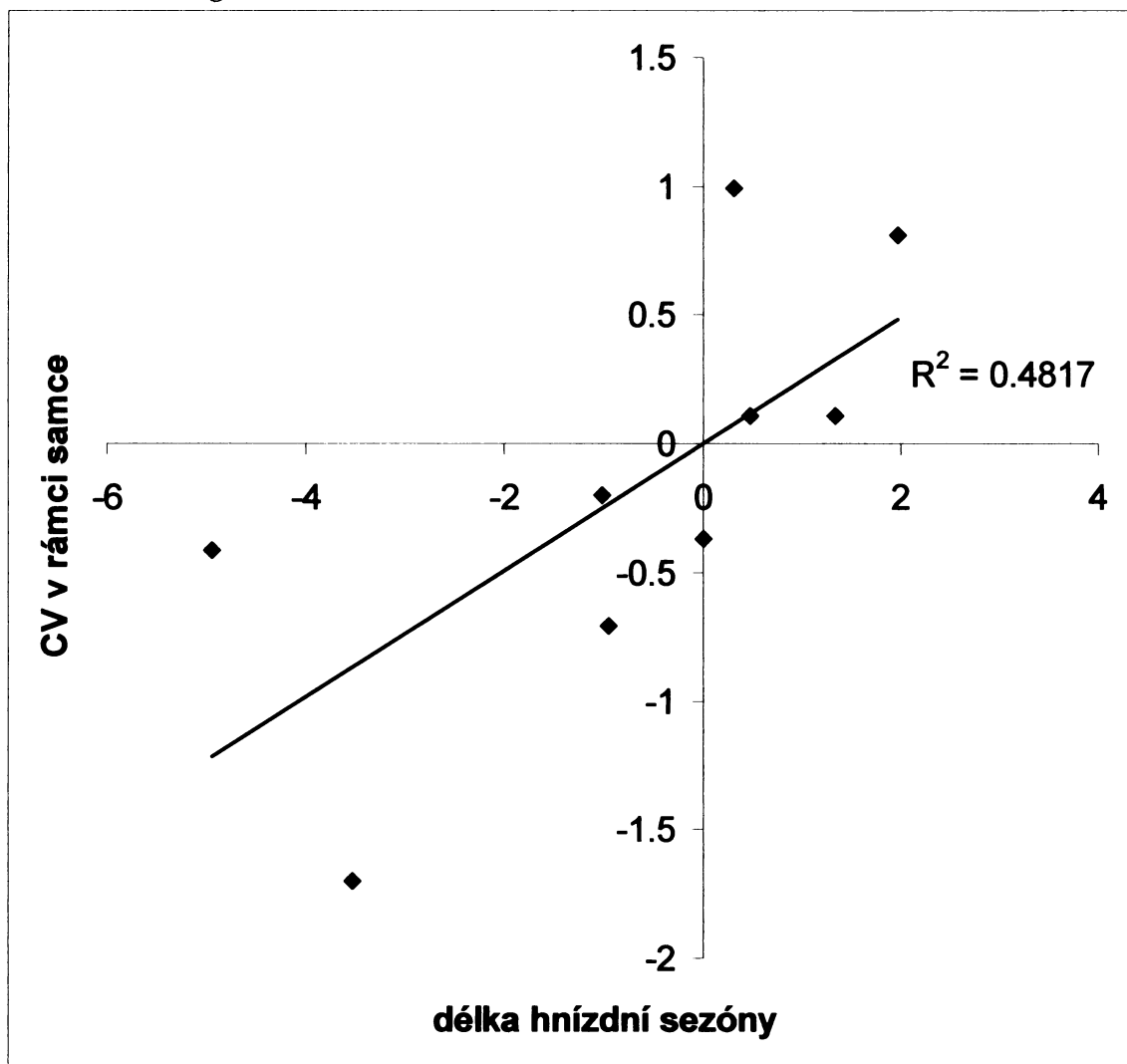
Celková délka spermie je nejčastěji užívaný morfologický znak spermie. Korelační matice ukazuje, že délka spermie je velmi dobře korelována se všemi ostatními znaky spermie (Tab. 2). Jediná část spermie, která není s žádnou další částí spermie korelována, je hlavička.

Tab. 2 Korelační matice částí spermií: hlavička, midpiece, bičík, celková délka, flagellum, relativní velikost midpiece (tučně označené korelace jsou významné na hladině $p < 0,05$)

proměnná	head	midpiece	tail	total	flagellum	rel. vel. midpiece
head	1.00	0.02	-0.06	0.05	-0.07	0.01
midpiece		1.00	-0.93	0.65	0.51	0.95
tail			1.00	-0.32	-0.24	-1.00
total				1.00	0.81	0.39
flagellum					1.00	0.30
rel. vel. midpiece						1.00

Pro komparativní studii závislosti morfologie spermií na délce hnízdní sezóny u vybraných zástupců čeledi Fringillidae byly použity jednorozměrné regrese pro každou nezávislou proměnnou (celková délka spermií, variabilita spermií v rámci samce a variabilita spermií mezi samci). Průkazný pozitivní vztah byl nalezen pro variabilitu spermií v rámci samce ($Slope \pm SE = 0,245 \pm 0,086$; $F = 8,055$; $df = 1/8$; $p = 0,022$; Obr. 10). Pro variabilitu spermií mezi samci byl vztah neprůkazný ($Slope \pm SE = 0,140 \pm 0,087$; $F = 2,585$; $df = 1/8$; $p = 0,14$), stejně tak neprůkazný byl pro celkovou délku spermií ($Slope \pm SE = -4,667 \pm 6,345$; $F = 0,541$; $df = 1/8$; $p = 0,483$). Samci hýlů rudých mají nejdelší spermie v rámci čeledi Fringillidae a variabilita spermií je u nich naopak jedna z nejnižších (Tab. 1)

Obr. 10 Graf závislosti variability spermií v rámci samce na délce hnízdní sezóny u vybraných druhů čeledi Fringillidae



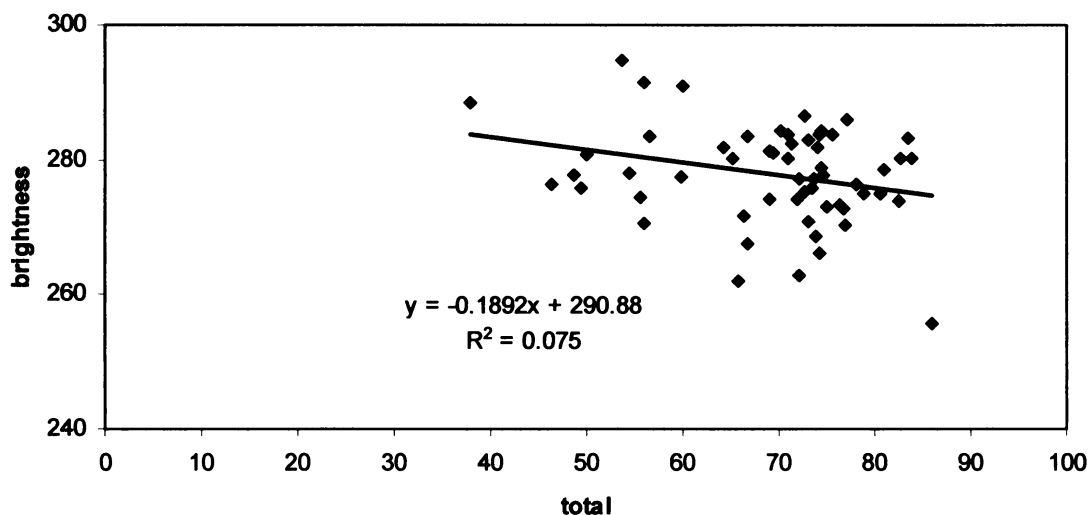
Zelení (nedospělí) samci byli vyřazeni ze všech analýz týkajících se barvy, neboť nejsou zabarveni jako dospělí samci. Mezi skupinami zelených a červených samců nebyl nalezen rozdíl v délce spermií (ANOVA: $F=0,008$; $df=1/60$; $p=0,928$). Vzorek zelených samců byl však velmi malý (zelení: $N=5$; červení: $N=58$).

Vztah celkové délky spermií a jednotlivých složek barvy byl testován pomocí samostatných jednorozměrných regresí. Jednotlivé proměnné tvořily samostatné modely, neboť měly odlišnou velikost vzorku (pro hue $N=56$, pro saturation a brightness $N=57$), kvůli vyřazení samce s odlehlou hodnotou pro hue (Cook's distance, Crawley 2007). Pro saturation a brightness tato hodnota nebyla určena jako odlehlá. Jak ukazuje tabulka (Tab. 3) a graf (Obr. 11), koreluje brightness prokazatelně s celkovou délkou spermií ($F=4,465$; $df=1/56$; $p=0,039$). Samci s nižšími hodnotami brightness mají prokazatelně delší spermie. U ostatních složek barvy nebyla závislost prokázána.

Tab. 3 Výsledky samostatných jednorozměrných regresí: celková délka spermie (total) jako závislá proměnná, hue, saturation a brightness jako nezávislé proměnné.

proměnná	Slope±SE	df	F	p
total				
hue	-0,012±0,236	1/55	0,003	0,959
saturation	0,033±0,146	1/56	0,051	0,823
brightness	-0,189±0,090	1/56	4,465	0,039

Obr. 11 Graf závislosti celkové délky spermie na brightness s přímkou regrese.



Pro vyjádření celkového zbarvení byla použita PCA analýza, která naznačila nízkou míru korelace jednotlivých komponent zbarvení. Korelace faktorů analýzy a složek barvy jsou uvedeny v Tab. 4. První osa (faktor 1) vysvětluje 59,38% variability a její eigenvalue je 1,78, druhá osa (faktor 2) vysvětluje 23,16% variability, avšak její eigenvalue je menší než jedna. Faktor 1 byl dále použit jako proměnná “zbarvení”.

Tab. 4 Korelace faktorů PCA analýzy a jednotlivých proměnných.

proměnná	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3
hue	0.755	0.547	0.361
saturation	-0.733	0.626	-0.265
brightness	0.821	0.056	-0.569

Pro určení vztahu celkové délky spermie a zbarvení byl použit obecný lineární model (GLM) pro mnohonásobnou regresi. Jako další nezávislé proměnné byly do modelu přidány váha a kondice (počítána jako podíl váhy a délky tarsu). Závislost celkové délky spermie na žádné z těchto proměnných nebyla prokázána (Tab. 5).

Tab. 5 Minimální adekvátní model mnohonásobné regrese závislosti celkové délky spermie (total) na kvalitativních znacích samce.

proměnná	Slope±SE	df	F	p
total				
váha	1,376±1,935	1/55	0,507	0,480
kondice	-20,476±43,456	1/53	0,222	0,640
zbarvení	-0,594±0,697	1/53	1,069	0,306

Vztah mezi heterozygotností, vnitřní příbuzností (IR) a celkovou délkou spermie byl testován mnohonásobnou regresí obecného lineárního modelu. Tyto proměnné nebyly zahrnuty do modelu, který sledoval vliv zbarvení a kondice, protože měly menší velikost vzorku (N= 47). Vliv těchto proměnných na morfologii spermií nebyl prokázán (Tab. 6).

Tab. 6 Minimální adekvátní model mnohonásobné regrese závislosti celkové délky spermie na standardní heterozygotnosti (St. Het) a vnitřní příbuznosti (IR).

proměnná	Slope±SE	df	F	p
total				
IR	-8,384±9,938	1/45	0,332	0,568
St. Het.	-3,831±5,985	1/45	0,410	0,525

Důležitým morfologickým znakem spermií nemusí být pouze samotná celková délka, proto byla pro lepší vystižení celkové morfologie spermií použita PCA analýza, do které byly zahrnuty všechny naměřené znaky spermie (délka hlavičky, midpiece, bičíku, flagella a relativní délky midpiece). Faktor 1 vysvětluje 58,3% variability a jeho eigenvalue je 3,5.

Pro další výpočty vztahu barvy a ostatních proměnných byl použit právě faktor 1. Vztah jednotlivých složek barvy a faktoru 1 byl opět počítán oddělenými jednorozměrnými regresemi. Tento vztah se ukázal jako méně průkazný, než tomu bylo s celkovou délkou spermie (Tab. 7). Závislost brightness a faktoru 1 je nesignifikantní, ale vychází na hranici průkaznosti (GLM: F=3,30; df=1/55; p=0,075).

Tab. 7 Výsledky samostatných jednorozměrných regresí: faktor 1 spermie jako závislá proměnná, hue, saturation a brightness jako nezávislé proměnné.

proměnná	Slope±SE	df	F	p
faktor1				
hue	0,0302±0,060	1/54	0,251	0,619
saturation	-0,033±0,037	1/55	0,766	0,385
brightness	0,042±0,0233	1/55	3,300	0,075

Stejně jako v případě celkové délky spermií, nebyl potvrzen vztah mezi zbarvením a faktorem 1 (Tab. 8).

Tab. 8 Minimální adekvátní model mnohonásobné regrese závislosti faktoru 1 spermie na kvalitativních znacích samce.

proměnná	Slope±SE	df	F	p
faktor 1				
zbarvení	-0,225±0,199	1/55	2,143	0,149
kondice	12,139±10,926	1/53	1,234	0,272
váha	-0,679±0,487	1/53	0,896	0,348

Variabilita spermií je dalším důležitým ukazatelem kvality spermií a koeficient variance celkové délky spermií je nejčastěji používaným faktorem. Koeficient variance

délky spermie u samců velmi silně negativně koreluje s průměrnou délkou spermií ($r=-0,46$; $N=62$, $p<0,05$).

Pro analýzy vztahu s barvou a kondicí byl využit koeficient variance celkové délky spermií (total CV).

Nejdříve byly použity samostatné jednorozměrné regrese pro posouzení závislosti variability spermií na jednotlivých složkách barvy. Jakákoliv závislost však nebyla potvrzena (Tab. 9).

Tab. 9 Výsledky samostatných jednorozměrných regresí: variabilita celkové délky spermie (total CV) jako závislá proměnná, hue, saturation a brightness jako nezávislé proměnné.

proměnná	Slope±SE	df	F	p
total CV				
hue	-0,003±0,027	1/54	0,016	0,899
saturation	0,012±0,015	1/55	0,601	0,441
brightness	0,005±0,010	1/55	0,228	0,635

Do celkového modelu vztahu variability spermií byly použity jako nezávislé proměnné hodnoty zbarvení, kondice a váhy. Ani zde nebyla žádná souvislost nalezena (Tab. 10).

Tab. 10 Minimální adekvátní model mnohonásobné regrese závislosti variability celkové délky spermie (total CV) na kvalitativních znacích samce.

proměnná	Slope±SE	df	F	p
total CV				
zbarvení	-0,026±0,079	1/52	0,110	0,741
váha	-0,209±0,219	1/54	0,840	0,364
kondice	6,242±4,919	1/54	1,027	0,316

V celkovém modelu, kde byl reprodukční úspěch závislou proměnnou a celková délka spermie, variabilita celkové délky spermie a načasování hnízdění byly nezávislými proměnnými, nebyl potvrzen žádný vztah (Tab. 11).

Tab. 11 Minimální adekvátní model mnohonásobné regrese závislosti reprodukčního úspěchu samce na načasování hnízdění a znacích spermií.

proměnná	Slope±SE	df	Chi	p
reprodukční úspěch				
total	-0,003±0,020	1/19	0,020	0,886
total CV	-0,078±0,211	1/19	0,116	0,733
načasování	-0,051±0,077	1/21	0,346	0,556

3.4.2 Motilita spermií

Proměnné lnVCL, lnVAP a lnVSP jsou silně korelované ($N=15$; $r=1,00$; $p<0,05$), proto byla pro další výpočet použita pouze lnVCL.

V modelu, kde $\ln VCL$ byla vysvětlována proměnná a celková délka spermie, délka hlavičky a délka midpiece jako vysvětlující proměnné, byla pouze délka hlavičky negativně korelována s $\ln VCL$ ($Slope \pm SE = -0,235 \pm 0,093$; $F = 6,408$; $df = 1/14$, $p = 0,025$).

V následné analýze bylo VCL vysvětlováno fenotypovými projevy samce, především barevností ornamentu. Nebyl ovšem nalezen žádný vztah mezi motilitou spermií a hue, saturation či brightness. Po zjednodušení modelu se pouze saturation ukázala mírně pozitivně korelovaná s $\ln VCL$ ($Slope \pm SE = 0,016 \pm 0,008$; $F = 3,774$; $p = 0,074$).

4 Mate guarding

4.1 Úvod

Mate guarding blízkým následováním je strategií samců, která má zabránit mimopárovým kopulacím samic, a tedy kompetici spermií a ztrátám paternity (Birkhead & Møller 1992). Mate guarding je však zároveň pro samce velmi náročný, proto je samcem provozován pouze v období, kdy se může samci tato časově i energeticky náročná investice do obrany paternity vyplatit (Birkhead 1998). Alternativním způsobem obrany paternity je zvýšená frekvence kopulací, která naopak podporuje kompetici spermií a vyskytuje se spíše u těch druhů ptáků, kde není možné mate guarding úspěšně využívat (Birkhead & Møller 1992).

Předpokládá se, že intenzita mate guardingu se v průběhu hnízdění mění vzhledem k načasování snesení prvního vejce. Nejvyšší šance na oplození vajíčka je přibližně 24 hodin před jeho snesením (Birkhead & Møller 1992), proto většina studií předpokládá, že nejintenzivnější je kompetice spermií několik dní před snesením prvního vejce (Birkhead & Møller 1992, Smith et al. 1996, Lifjeld et al. 1997). V té době by měl být mate guarding nejintenzivnější. Nicméně mezi druhy se počátek a konec intenzivního mate guardingu může lišit. U některých druhů probíhá mate guarding i v době snášení vajec (Davies et al. 1992, Briskie et al. 1998), u jiných naopak končí se snesením prvního vejce (Ardvinson 1992).

Intenzita a hlavně účinnost mate guardingu je velmi rozdílná mezi druhy, u nichž samec hlídá samici v průběhu fertilního období. Výzkumy zabývající se vztahem mezi intenzitou mate guardingu a kvalitou samců stejně tak studie zabývající se účinností mate guardingu poskytují dva zcela rozdílné soubory výsledků (Johnsen et al. 2003, Brylawski & Whittingham 2004).

Například u slavíků modráčků (*Luscinia s. svecica*) hlídají starší samci své samice s menší intenzitou než samci mladší (Johnsen et al. 2003). Naopak u vrabce domácího (*Passer domesticus*) (Møller 1987) a pěnkavky kuželozobé (*Geospiza conirostris*) (Grant & Grant 1989) byla zjištěna nižší intenzita mate guardingu u méně kvalitních samců. Samci těchto druhů jsou pravděpodobně schopni hlídat své samice pouze, pokud jsou v dobré kondici a mohou si tak dovolit část své energie věnovat na intenzivnější mate guarding (Johnsen et al. 2003). Intenzita mate guardingu může také záviset na množství samců, kteří se snaží o kontakt se samicí nebo překračují hranice

teritoria. Samci mohou svoji snahu měnit na základě aktuálního rizika ztráty paternity (Zharikov & Nol 2000, Low 2005).

Stejně nesourodých výsledků bylo dosaženo ve výzkumu účinnosti mate guardingu (Brylawski & Whittingham 2004, Marthinsen et al 2005). Ta závisí buď přímo na intenzitě mate guardingu, nebo na kvalitě samce. Pokud by platila hypotéza dobrých genů, je pro samici výhodné se mimopárově pářit pouze s kvalitnějšími samci, než je její sociální partner.

Například u lesňáčka modrohřbetého (*Dendroica caerulescens*) mají samci, kteří stráví více času hlídáním své partnerky, méně mimopárových mláďat v hnízdě, což ukazuje, že mate guarding je zde dobrým způsobem zajištění si paternity ve vlastním hnízdě (Chuang-Dobbs et al. 2001). Naopak u bělořita šedého (*Oenanthe oenanthe*) počet mimopárových mláďat ve vlastním hnízdě nezávisí na intenzitě mate guardingu (Currie et al. 1999). U slavíků modráčků (*Luscinia s. svecica*) samci s uměle sníženou UV reflektancí ornamentu hlídali své partnerky s vyšší intenzitou než samci s nepozměněným ornamentem a přesto měli ve svých hnízdech více mimopárových mláďat (Johnsen et al. 1998a). Starší samci, kteří u tohoto druhu hlídají méně, mají stejné ztráty paternity v hnízdech jako mladší, intenzivněji hlídající samci. Starší samci jsou navíc úspěšnější v získávání mimopárových paternit (Johnsen et al. 2003). V práci Brylawski & Whittingham (2004) byli pokusní samci střízlíka zahradního (*Troglodytes aedon*) krátkodobě odchyceni v období intenzivního mate guardingu, a tím jim bylo zabráněno v hlídání své partnerky. Tito samci pak měli vyšší počet mimopárových mláďat ve svých hnízdech.

Mate guarding může být v některých případech spíše strategií „best of a bad job“, kdy neatraktivní samci jsou nuceni hlídat své samice, protože by vzhledem ke své nízké atraktivitě nejspíše ztratili veškerou paternitu v hnízdě. To naznačuje, že samice jsou schopny uniknout samčím obranným strategiím a pářit se úspěšně s jinými samci (Kempnaers et al. 1995, Johnsen et al. 1998b).

Reprodukční úspěch samce závisí na určitém trade off mezi úsilím vynaloženým na mate guarding a úsilím vynaloženým na získávání mimopárových paternit. Aby si samec zvýšil co nejvíce svůj reprodukční úspěch, musel by rozložit svoji snahu ideálně mezi tyto dvě činnosti (Kokko & Morrel 2005, Marthinsen et al. 2005). Závisí ale velmi na synchronizaci hnízdění v dané populaci. Pokud je v populaci hnízdní synchronizace velmi nízká, mohou samci vyhledávat EPP mimo fertilní období své partnerky a zároveň si pohlídat paternitu ve svém hnízdě (Stutchbury 1998, Kokko & Morrel 2005).

U hýla rudého je hnízdní synchronizace velmi vysoká (Albrecht et al. 2007). Lze tedy předpokládat silné trade off mezi mate guardingem a získáváním EPP. Intenzita mate guardingu se může měnit se zbarvením samce. To může pomoci vysvětlit vztah mezi úspěšností samce v EPP či vnitropárovou paternitou a ornamentací. Dále je předpokládána měnící se intenzita mate guardingu v období hnízdění a to s vrcholem v den snesení prvního vejce.

4.2 Cíle

Detailnímu výzkumu mate guardingu u hýla rudého bylo zatím věnováno méně pozornosti. Cílem této práce byl komplexní výzkum mate guardingu. Zaměřila jsem se zvláště na změny intenzity v průběhu párování a hnízdění, vztahem zbarvení samce jako korelátu reprodukčního úspěchu a intenzity mate guardingu. Otázky tedy zní:

- Liší se samci s různě vybarveným ornamentem v intenzitě hlídání partnerky (mate guardingu)?
- Mění se intenzita mate guardingu v průběhu období hnízdění?

4.3 Metodika

Sledování mate guardingu u hýla rudého probíhalo v letech 2007-2009 na Šumavě ve Vltavském Luhu na lokalitě v blízkosti obce Želnavá. Celkem bylo úspěšně odsledováno 13 párů. Sledování probíhalo v roce 2007 od 23.května, v roce 2008 od 25.května a v roce 2009 od 23.května. V tu dobu přilétají na lokalitu samice, samci jsou zde již několik dní před nimi. Vždy několik samců a samic bylo odchyceno již před hnízděním. Samcům byla odebrána krev, byli vyfoceni, změřeny morfologické znaky a okroužkováni barevnými kroužky, kvůli možnosti individuálního rozlišení. Někteří chycení samci byli již barevně okroužkováni z předešlých let, přesto jim byla odebrána krev a byli vyfotografováni. Zbarvení samců se v průběhu let může měnit (Schnitzer 2003), ale tyto změny nesouvisí se stářím (Albrecht et al., in press)..

Sledování probíhalo vždy v ranních hodinách od 5.30 do 10.30. Za deštivého počasí sledování neprobíhalo, neboť ptáci jsou v tu dobu schovaní a není možné je pozorovat. Sledování končilo většinou v době, kdy pár odletěl z lokality krmít se na přilehlé louky.

Zaznamenávány byly aktuální vzdálenosti samce od samice, všechny přelety delší než 1 metr, počet zpěvů samce a pokusy o páření. Tento způsob záznamu se liší od běžně používaných metodik, kde jsou události zaznamenávány v intervalu 2 minut

(Johnsen et al. 2003, Brylawski & Whittingham 2004, Marthinsen et al. 2005). Pro poměrně pohyblivé a hlavně neteritoriální ptáky, jakými hýlové jsou, je tento způsob záznamu vhodnější. Tímto způsobem je možno lépe zaznamenat přesné údaje o mate guardingu. Délka záznamu jednoho páru v jeden den se pohybovala v rozmezí 2-28 minut. Pro záznam byl použit digitální diktafon. Nahrávky byly kódovány pomocí speciální aplikace do tabulek MS Excel. Aplikace byla vytvořena pomocí makro programování. Data byla dále zpracovávána pomocí filtrů, kontingenčních tabulek a funkcí do přehledných tabulek MS Excel, aby byla vhodná k dalšímu statistickému zpracování.

4.4 Výsledky

Intenzita mate guardingu byla hodnocena pomocí několika odlišných faktorů:

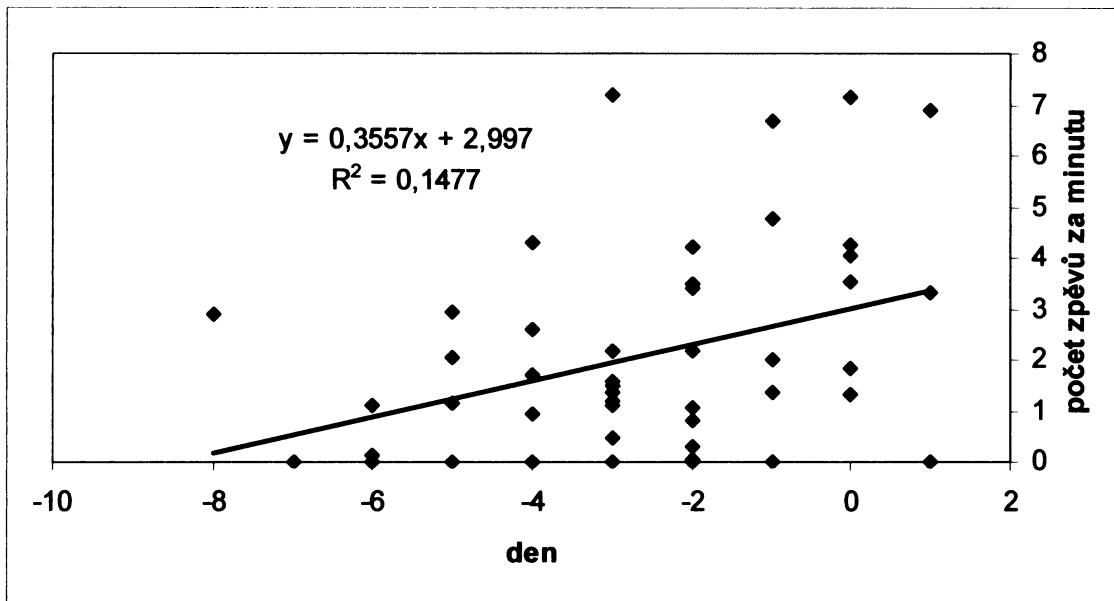
- vzdálenost samce od samice po dobu sledování
- počet zpěvů samce za minutu
- poměr přeletů samice následovaných samcem
- poměr přeletů samce následovaných samicí
- poměr přeletů samce a samice

Počet zpěvů za minutu a vzdálenost jsou spolu korelovány ($r=0,5$; $N=49$; $p<0,05$). Právě vzdálenost a počet zpěvů se výrazně měnily v průběhu hnízdění (Tab. 12). Změny měly pozitivní trend (Obr. 12 a Obr. 13).

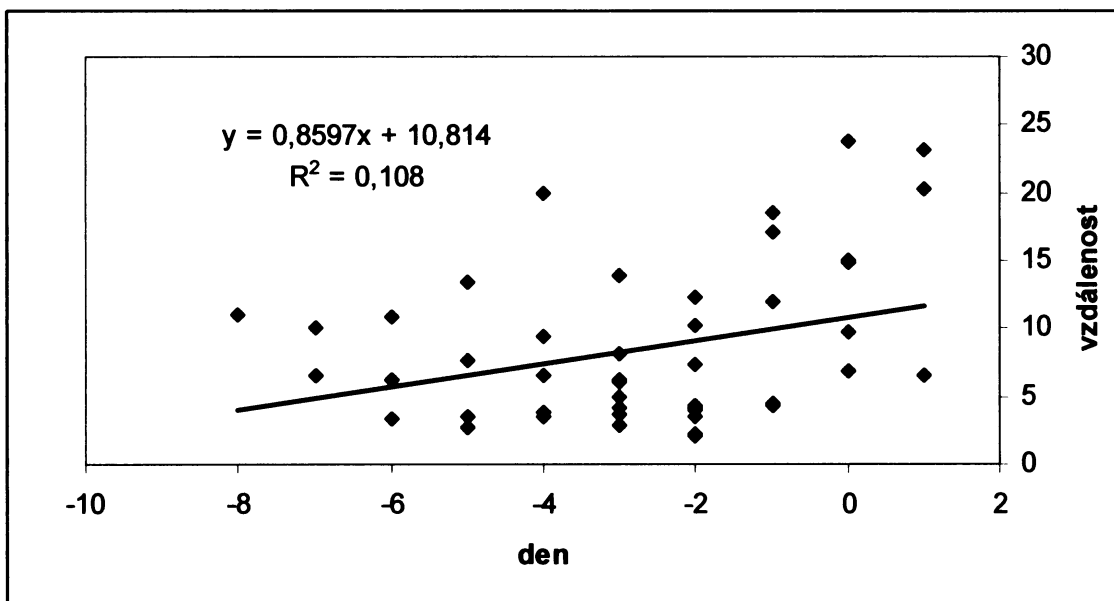
Tab. 12 Výsledky změn různých faktorů mate guardingu v průběhu dní (počet skupin 13, počet pozorování 49).

proměnná	Slope±SE	df	Chi	p
den				
vzdálenost	0,870±0,116	1	4,783	0,029
zpěv	0,418±0,125	1	9,90	0,0017
následování přeletů samice samcem	-0,124±0,101	1	1.45	0,227
následování přeletů samce samicí	0,090±0,179	1	0.261	0.61
podíl přeletů samec/samice	-0,013±0,064	1	0.038	0.845

Obr. 12 Graf závislosti frekvence zpěvů na dni v průběhu hnízdění (den 0=den snesení prvního vejce).

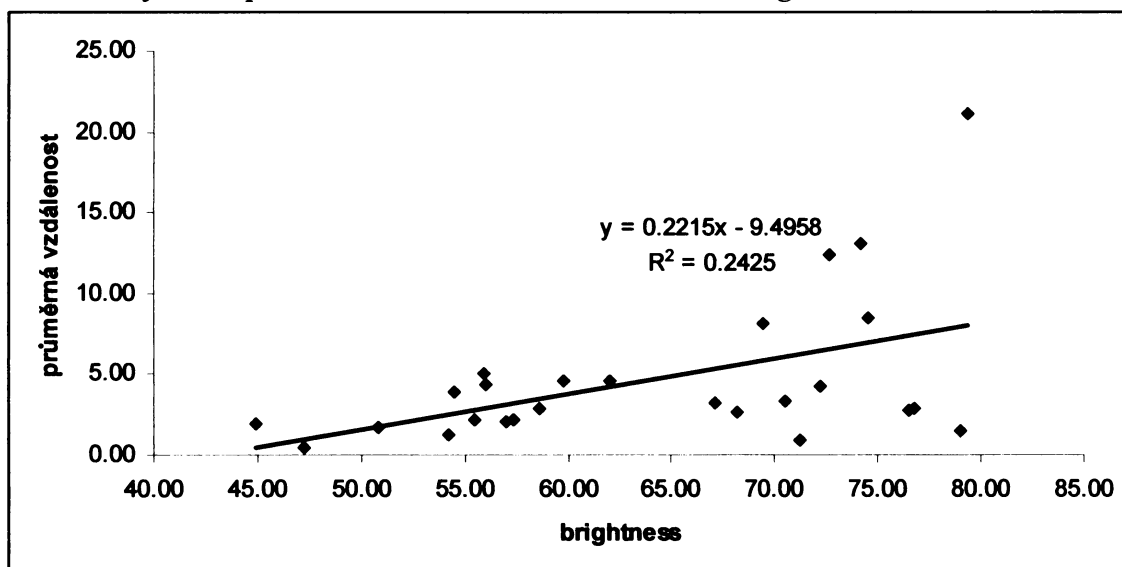


Obr. 13 Graf závislosti průměrné vzdálenosti na pozorování na dni v průběhu hnízdění (den 0=den snesení prvního vejce).



Vztah barvy a intenzity mate guarding u jednotlivých samců byl neprůkazný patrně kvůli nedostatku dat ($N=7$) z let 2007-2009. Byla proto použita srovnatelná data (průměrná vzdálenost) z předchozího výzkumu mate guardingu na stejné lokalitě z let 2001-2003 prováděného Janem Schnitzerem. Pro výpočet byly použity průměry hodnot pro dny -3 až -1, u kterých byly údaje pro nejvíce samců a barva samců v modelu HSB. Za použití samostatných jednorozměrných regresí byl nalezen průkazný pozitivní vztah mezi brightness a průměrnou vzdáleností (Obr. 14). Pro ostatní složky barvy nebyl vztah nalezen (Tab. 13).

Obr. 14 Graf vztahu průměrné vzdálenosti ve dnech -3 až -1 a brightness.



Tab. 13 Výsledky samostatných jednorozměrných regresí průměrné vzdálenosti ve dnech -3 až -1 a jednotlivých složek barvy samce.

proměnná	Slope±SE	df	F	p
vzdálenost				
hue	-0,074±0,327	1/22	0,051	0,823
saturation	0,060±0,124	1/24	0,207	0,654
brightness	0,225±0,093	1/24	7,687	0,0106

5 Diskuze

Účelem mate guardingu je zabránit kompetici spermií a zajistit maximální paternitu ve vlastním hnízdě. Motilita a morfologie spermií samce mohou ovlivňovat jak jeho paternitu ve vlastním hnízdě, tak úspěšnost získávání paternit mimo sociální pár. Motilita spermií, morfologie spermií a mate guarding jsou faktory, které mohou mít vliv na reprodukční úspěch samce.

U hýla rudého byla již dříve nalezena souvislost mezi celkovým reprodukčním úspěchem a jeho zbarvením. Lépe vybarvení samci jsou úspěšnější v získávání mimopárových paternit a jejich ztráty paternit v hnízdě nejsou přitom vyšší než ztráty paternit hůře zbarvených samců (Albrecht et al. in press). Reprodukční úspěch samce tak může být ovlivňován samičí preferencí pro určitý znak, nebo přímo kvalitou samce, který je schopen vyhledávat EPP a být zároveň fertilizačně úspěšný. Tato práce nepotvrdila těsný vztah mezi zbarvením a kvalitou spermií, který byl nalezen v práci Calhim et al. (2009) na mnohem menším vzorku jedinců lejska černočelého.

Stejně jako kvalita spermií může být i intenzita mate guardingu závislá na kondici a kvalitě samce. U hýla rudého byl nalezen zcela opačný vztah mezi zbarvením samce a intenzitou mate guardingu, než se předpokládalo. Intenzita mate guardingu se u hýla rudého mění v průběhu hnízdění. Všechny zjištěné skutečnosti jsou dále diskutovány.

5.1 Morfologie a motilita spermií

U hýla rudého byla nalezena silná negativní korelace mezi délkou a variabilitou spermií v rámci jednotlivce. Tento vztah byl dosud předpokládán pouze na mezidruhové úrovni. Druhy s vysokou mírou kompetice spermií mají zároveň delší a méně variabilní spermie (Kleven et al. 2008). Nalezená negativní korelace poukazuje na silnou selekci k optimálnímu projevu znaku i na úrovni jednotlivců. Předpokládá se, že vysoká variabilita spermií je způsobena chybami během spermatogeneze a variabilnější spermie tak mohou ukazovat nízkou kvalitu ejakulátu (Birkhead et al. 2005). Samci s méně variabilními spermii by měli být proto kvalitnější. Vztah mezi variabilitou spermií a kondičně závislými znaky u hýla rudého však nebyl potvrzen.

Dále byl potvrzen na mezidruhové úrovni pozitivní vztah mezi délkou hnízdění sezóny (jako korelátem míry kompetice spermií) a variabilitou celkové délky spermií v rámci samce. Podobný vztah, i když statisticky nesignifikantní, byl nalezen v práci

Kleven et al. (2008) a potvrzen byl Immler et al. (2008). V práci Kleven et al. (2008) byl také nalezen silný vztah variability spermií mezi samci a míry EPP. Podobný vztah však nebyl v této studii potvrzen. Důvodem rozdílnosti výsledků mezi těmito dvěma pracemi může být odlišná velikost vzorků, výběr druhů nebo korelátů míry kompetice spermií. Zatímco Kleven et al (2008) pracoval se vzorkem 22 druhů ptáků z různých čeledí, tato práce se zabývala 10 druhy z jedné čeledi Fringillidae. Navíc délka hnízdní sezóny nemusí být dobrým ukazatelem míry kompetice spermií, data o EPP pro mnohé druhy čeledi Fringillidae se známou morfologií spermií však nejsou k dispozici. Pro celkové pochopení vztahů mezi znaky spermií a kompeticí spermií by byla potřeba daleko rozsáhlejší studie s dostatečným počtem druhů a srovnatelným určením míry kompetice spermií. Nicméně v rámci čeledi Fringillidae má hýl rudý nejdelší spermie a velmi nízkou variabilitu spermií, což je v souladu s krátkou hnízdní sezónou druhu.

Mezi délkou spermií a znaky vypovídajícími o kvalitě samce (zbarvení, kondice, načasování hnízdění) nebyl v této práci nalezen žádný vztah, zatímco v práci Calhim et al. (2009) byl prokázán vztah mezi celkovým zbarvením ornamentu, načasováním hnízdění a délkou spermií u lejska černostravého (*Ficedula hypoleuca*). Důvodů, proč nebyly potvrzeny podobné závěry u hýla rudého, může být několik. Jedním z důvodů může být velmi rozdílná velikost vzorku a rozdíly v metodice určování zbarvení. Zatímco v této práci bylo použito přesné měření jednotlivých složek barvy (HSB), v práci Calhim et al. (2009) je hodnocení vybarvení založeno na subjektivním vnímání skupiny hodnotitelů. Tento způsob měření může být zavádějící, proto bylo zvoleno přesné měření zbarvení (Johnsen et al. 1998a, Badyaev & Hill 2000). V práci Calhim et al. (2009) bylo měřeno pouze 5 spermií pro každého samce a celkový vzorek byl 17 samců, zatímco v této práci bylo měřeno 10 spermií pro každého samce a celkový vzorek byl 56 samců. Lze se proto domnívat, že v uvedené práci mohou být odlišné závěry způsobeny malým vzorkem. Průkazná síla výsledků této práce je díky robustnějšímu vzorku větší.

Zkoumané druhy ptáků mají rozdílný typ ornamentace, což může být také důvodem nesourodosti výsledků těchto dvou studií. Samci lejska černostravého mají melaninový ornament, který je u nich silně dědičný, není kondičně závislý a v průběhu let je tedy v podstatě neměnný. U hýla rudého je ornamentace založena na karotenoidním ornamentu, který je silně kondičně závislý. Jeho vybarvenost se u stejných samců každoročně mění, i když nesouvisí s věkem (Albrecht et al. in press). Velikost spermií vykazuje u ptáků silnou dědičnost (Birkhead et al. 2005). U lejska

černohlavého je proto vztah ornament – délka spermie nejspíš založen na dědičném základě. U hýla rudého jsou znaky založeny na odlišných základech, a proto mezi nimi nemusí existovat souvislost.

Průkazný negativní vztah byl nalezen pouze mezi celkovou délkou spermií a brightness. Vztah délky spermií a ostatních složek barvy (hue a saturation) nebyl prokázán. V práci Albrecht et al. (in press) byl nalezen silný negativní vztah mezi brightness a úspěšností v EPP. To znamená, že samci s nižší hodnotou brightness (tmavěji vybarvení samci) jsou úspěšnější v získávání EPP a mají zároveň delší spermie. Tento vztah napovídá, že brightness by mohlo být samicemi preferovaným znakem, který signalizuje samici jistotu oplodnění kvalitními spermii. Zároveň mohou být samci s delšími spermii úspěšnější v oplození vajíčka v prostředí, kde dochází ke kompetici spermií. Tento vztah je nepřímým důkazem silné pokopulační kompetice mezi samci, která zvyšuje reprodukční úspěch samců s kvalitnějšími spermii nezávisle na samičím předkopulačním výběru (Pizzari et al. 2008). Nesmíme však pominout ani skrytý samičí výběr, který může také ovlivnit výsledek kompetice spermií (Jennions & Petrie 2000).

Kvalita spermií je dána také jejich motilitou. Morfologie a motilita spermií spolu úzce souvisejí (Mossman et al. 2009). U hýla rudého byl testován vztah mezi morfologickými znaky spermií a jejich motilitou. Průkazná negativní korelace byla nalezena pouze pro hlavičku spermie. Tento výsledek odpovídá předpokladu, že hlavička omezuje pohyblivost spermie, protože zvyšuje odpor (Humpries et al. 2008). Dále byl testován vztah motility spermií a zbarvení samce, avšak pro žádnou ze složek barvy nebyl výsledek signifikantní, pouze pro saturation byl nalezen slabý vztah. Výzkum motility spermií u hýla rudého je však prozatím na počátku a pro definitivní závěry bylo zatím získáno málo dat.

5.2 Mate guarding

Hýl rudý je prvním neteritoriálním druhem pěvce, u něhož byl mate guarding zkoumán. Právě neteritorialita tohoto pěvce se v průběhu výzkumu ukázala jako velmi problematická, neboť tyto ptáky je možné při mate guardingu sledovat pouze v krátkém období stavby hnízda, kdy se zdržuje pár v jeho okolí. Přesto bylo možno najít určité vztahy mezi intenzitou mate guardingu, fází hnízdění a sekundárním ornamentem samce.

Blízké sledování samice je nejčastějším projevem intenzivního mate guardingu (Birkhead & Møller 1992). Z výsledků pozorování hýla rudého vyplývá, že samci postupně zvyšují vzdálenost od samice směrem ke snesení prvního vejce. Tento trend částečně odpovídá výsledku několika studií prováděných na jiných druzích pěvců, ze kterých vyplynulo, že intenzita mate guardingu se snižuje před nebo těsně se snesením prvního vejce (Smith et al. 1996, Lifjeld et al. 1997). V tu dobu je už velmi nízká pravděpodobnost, že oplození vajíčka sociální partnerky bude úspěšné a samec si může dovolit vyhledávat mimopárové kopulace. U některých druhů ptáků byl však pozorován intenzivní mate guarding i v době snášení vajíček (Davies et al. 1992, Briskie et al. 1998). Pro pozorování mate guardingu hýla rudého ve fázi snášení vajec by bylo nezbytné použít jinou techniku sledování, neboť pár je v tomto období již velmi obtížně dohledatelný.

Intenzita zpěvu může být dalším projevem mate guardingu. Samci dávají zpěvem najevo svou přítomnost, a to jak ostatním samcům, tak samicím. Intenzita zpěvu pozitivně koreluje se vzdáleností a průkazně se zvyšuje směrem ke snesení prvního vejce. Nejpravděpodobnějším vysvětlením se zdá být použití intenzivnějšího zpěvu jako alternativní strategie hlídání partnerky. Samec tak na sebe může lépe upozorňovat jiné samice a zároveň dává svojí partnerce i ostatním samcům najevo svoji přítomnost. Dalším možným vysvětlením je snížení nebezpečí predace hnízda. Pokud je v době nejintenzivnějšího mate guardingu samec blízko samice a tedy i hnízda, snaží se co nejméně upozorňovat možné predátory na jeho polohu svým zpěvem. V době, kdy je hnízdo téměř hotovo a samice začíná snášet vajíčka, je samec už většinu času více vzdálen od samice a svým zpěvem pozici hnízda neprozrazuje. Jak bylo zjištěno předchozím výzkumem zpěvu hýla rudého, samci zpívají častěji na vyvýšených místech a mají tak přehled o dění v okolí hnízda (Schnitzer 2003).

Byl nalezen vztah mezi zbarvením samců hýla rudého a intenzitou mate guardingu. Tento vztah byl prokázán pouze u brightness a byl oproti předpokladu pozitivně korelován. Znamená to, že hůře zbarvení samci hlídají méně. Stejný vztah byl nalezen také v prácích zabývajících se vrabcem domácím (*Passer domesticus*) (Møller 1987) a pěnkavkou kuželozobou (*Geospiza conirostris*) (Grant & Grant 1989). Vysvětlením této závislosti může být, že lépe vybarvení samci (kteří jsou v lepší kondici) mají dostatek sil na intenzivní mate guarding, díky kterému ubrání paternitu ve vlastním hnízdě, zatímco hůře vybarvení samci nemají dostatek sil na intenzivní mate guarding. Méně vybarvení, slabě hlídající samci by měli mít více mimopárových mláďat

v hnízdě a tedy nižší reprodukční úspěch. U samců hýla rudého byl prokázán vztah mezi brightness a schopností získat mimopárová mláďata, takovýto vztah však nebyl nalezen pro schopnost uhlídat paternitu ve vlastním hnízdě. Což je velmi překvapující, neboť u hůře zbarvených samců byla předpokládána nižší paternita ve vlastním hnízdě. Na prokázání přímého vztahu mezi reprodukčním úspěchem, sestávajícím z vnitropárového a mimopárového reprodukčního úspěchu, a intenzitou mate guardingu by bylo zapotřebí většího vzorku dat.

6 Závěr

Hlavním cílem této práce bylo nalezení vztahů mezi ornamentem samců hýla rudého, kvalitou jejich spermií a intenzitou mate guardingu. Dále byl zkoumán vývoj intenzity mate guardingu v průběhu hnízdění.

Hýl rudý má nejdelší spermie v rámci čeledi Fringillidae a jedny z nejdelších v rámci pěvců. Též variabilita délky spermií u hýla rudého je nízká v porovnání s ostatními příslušníky čeledi. Na mezidruhové úrovni byl nalezen pozitivní vztah mezi délkou hnízdní sezóny a variabilitou spermií v rámci samce, což naznačuje, že míra kompetice spermií ovlivňuje design spermií i v rámci čeledi Fringillidae. Dlouhé a málo variabilní spermie lze očekávat u druhů s vysokou mírou EPP. U hýla byla prokázána vysoká míra EPP a je zároveň dálkovým migrantem s extrémně krátkou hnízdní sezónou.

U hýla rudého byl nalezen negativní vztah mezi délkou a variabilitou spermií. Znamená to tedy, že samci s delšími spermii mají zároveň méně variabilní spermie, což jsou předpokládané znaky kvalitních spermií. Mezi celkovým zbarvením a kvalitou spermií (délka a variabilita) nebyla nalezena souvislost. Pouze jedna ze složek barvy (brightness) byla negativně korelována s celkovou délkou spermie. Tento vztah naznačuje souvislost mezi fertilizačním úspěchem samce a délkou jeho spermií, protože hodnota brightness je u samců hýla rudého koreluje se schopností získávat EPP. Avšak mezi reprodukčním úspěchem samce a délkou či variabilitou jeho spermií nebyl nalezen žádný vztah. Také nebyla nalezena závislost délky spermií na heterozygotnosti samce. Motilita spermií negativně koreluje s délkou hlavičky spermií, pro ostatní části spermie nebyl nejspíše v důsledku nedostatku dat nalezen žádný vztah. Stejně tak nebyl potvrzen vztah mezi motilitou spermií a zbarvením samce.

Intenzita mate guardingu se u hýla rudého v průběhu hnízdění mění. Průměrná vzdálenost samce od samice se směrem ke dni snesení prvního vejce zvyšuje a klesá tak intenzita mate guardingu blízkým sledováním. Úměrně s klesající intenzitou mate guardingu blízkým sledováním se ale zvyšuje intenzita zpěvu, která nejspíš funguje jako alternativní způsob hlídání samice. Mezi zbarvením samce a intenzitou mate guardingu byla nalezena pozitivní korelace pro složku zbarvení brightness. Samci světleji zbarvení hlídají méně. Ostatní složky zbarvení nebyly s intenzitou mate guardingu korelovány.

7 Použitá literatura

Albrecht, T., J. Kreisinger & J. Pialek (2006) The strength of direct selection against female promiscuity is associated with rates of extrapair fertilizations in socially monogamous songbirds. *American Naturalist*, **167**, 739.

Albrecht, T., J. Schnitzer, J. Kreisinger, A. Exnerova, J. Bryja & P. Munclinger (2007) Extrapair paternity and the opportunity for sexual selection in long-distant migratory passerines. *Behavioral Ecology*, **18**, 477.

Albrecht T., Vinkler M., Schnitzer J., Poláková R., Munclinger P. & Bryja J. (2009) Extra-pair fertilizations contribute to selection on secondary male ornamentation in a socially monogamous passerine. *Journal of Evolutionary Biology* (published online: August 2009); DOI 10.1111/j.1420-9101.2009.01815.x

Alonso-Alvarez, C., S. Bertrand, G. Devevey, M. Gaillard, J. Prost, B. Faivre & G. Sorci (2004) An experimental test of the dose-dependent effect of carotenoids and immune activation on sexual signals and antioxidant activity. *American Naturalist*, **164**, 651.

Andersson, M. (1994) *Sexual Selection*. Princeton: Princeton University Press.

Arnold, S. J. (1983) Morphology, performance and fitness. *American Zoologist*, **23**, 347.

Arvidsson, B. L. (1992) Copulation and mate guarding in the willow warbler. *Animal Behaviour*, **43**, 501.

Badyaev, A. V. & G. E. Hill (2000) Evolution of sexual dichromatism: contribution of carotenoid- versus melanin-based coloration. *Biological Journal of the Linnean Society*, **69**, 153.

Badyaev, A. V. & A. Qvarnstrom (2002) Putting sexual traits into the context of an organism: A life-history perspective in studies of sexual selection. *Auk*, **119**, 301.

Ballentine, B., A. Badyaev & G. E. Hill (2003) Changes in song complexity correspond to periods of female fertility in blue grosbeaks (*Guiraca caerulea*). *Ethology*, **109**, 55.

Ballentine, B. & G. E. Hill (2003) Female mate choice in relation to structural plumage coloration in Blue Grosbeaks. *Condor*, **105**, 593.

Birkhead, T. R. (1998) Sperm competition in birds. *Reviews of Reproduction*, **3**, 123.

Birkhead, T. R., K. L. Buchanan, T. J. Devoogd, E. J. Pellatt, T. Szekely & C. K. Catchpole (1997) Song, sperm quality and testes asymmetry in the sedge warbler. *Animal Behaviour*, **53**, 965.

Birkhead, T. R. & F. Fletcher (1995) Male phenotype and ejaculate quality in the zebra finch *Taeniopygia guttata*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **262**, 329.

Birkhead, T. R., D. J. Hosken & S. Pitnick (2008) *Sperm Biology*. London: Academic Press.

Birkhead, T. R., S. Immler, E. J. Pellatt & R. Freckleton (2006) Unusual sperm morphology in the Eurasian Bullfinch (*Pyrrhula pyrrhula*). *Auk*, **123**, 383.

Birkhead, T. R. & A. P. Møller (1992) *Sperm Competition in Birds*. London: Academic Press.

Birkhead, T. R., E. J. Pellatt, P. Brekke, R. Yeates & H. Castillo-Juarez (2005) Genetic effects on sperm design in the zebra finch. *Nature*, **434**, 383.

Birkhead, T. R. & T. Pizzari (2002) Postcopulatory sexual selection. *Nature Reviews Genetics*, **3**, 262.

Bjorklund, M. (1990) Mate choice is not important for female reproductive success in the common rosefinch (*Carpodacus erythrinus*). *Auk*, **107**, 35.

Bouwman, K. M., T. Burke & J. Komdeur (2006) How female reed buntings benefit from extra-pair mating behaviour: testing hypotheses through patterns of paternity in sequential broods. *Molecular Ecology*, **15**, 2589.

Bouwman, K. M. & J. Komdeur (2005) Old female reed buntings (*Emberiza schoeniclus*) increase extra-pair paternity in their broods when mated to young males. *Behaviour*, **142**, 1449.

Briskie, J. V. & R. Montgomerie (1993) Patterns of sperm storage in relation to sperm competition in passerine birds. *Condor*, **95**, 442.

Briskie, J. V. & R. Montgomerie (2007) *Testis Size, Sperm Size and Sperm Competition*. In Jamieson G.M. 2007. Reproductive Biology and Phylogeny of Birds, Part A. Science publishers.

Briskie, J. V., R. Montgomerie & T. R. Birkhead (1997) The evolution of sperm size in birds. *Evolution*, **51**, 937.

Briskie, J. V., R. Montgomerie, T. Poldmaa & P. T. Boag (1998) Paternity and paternal care in the polygynandrous Smith's longspur. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **43**, 181.

Brylawski, A. M. Z. & L. A. Whittingham (2004) An experimental study of mate guarding and paternity in house wrens. *Animal Behaviour*, **68**, 1417.

Calhim, S., H. M. Lampe, T. Slagsvold & T. R. Birkhead (2009) Selection on sperm morphology under relaxed sperm competition in a wild passerine bird. *Biology Letters*, **5**, 58.

Cardullo, R. A. & J. M. Baltz (1991) Metabolic-regulation in mammalian sperm-mitochondrial volume determines sperm length and flagellar beat frequency. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, **19**, 180.

Charmantier, A., J. Blondel, P. Perret & M. M. Lambrechts (2004) Do extra-pair paternities provide genetic benefits for female blue tits *Parus caeruleus*? *Journal of Avian Biology*, **35**, 524.

Chuang-Dobbs, H. C., M. S. Webster & R. T. Holmes (2001) The effectiveness of mate guarding by male black-throated blue warblers. *Behavioral Ecology*, **12**, 541.

Cordero, P. J., J. H. Wetton & D. T. Parkin (1999) Extra-pair paternity and male badge size in the House Sparrow. *Journal of Avian Biology*, **30**, 97.

Cornwallis, C. K. & E. A. O'Connor (2009) Sperm: seminal fluid interactions and the adjustment of sperm quality in relation to female attractiveness. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **276**, 3467.

Cramp, S., C. M. Perrins & D. J. Brooks (1994) *The birds of the Western Palearctic*. Oxford University Press.

Crawley, J. M. (2007) *The R Book*. Wiley.

Currie, D., A. P. Krupa, T. Burke & D. B. A. Thompson (1999) The effect of experimental male removals on extrapair paternity in the wheatear, *Oenanthe oenanthe*. *Animal Behaviour*, **57**, 145.

Darwin, C. (1871) *The descent of man and selection in relation to sex*. John Murray, London.

Davies, N. B., B. J. Hatchwell, T. Robson & T. Burke (1992) Paternity and parental effort in dunnocks *Prunella modularis* - How good are male chick-feeding rules. *Animal Behaviour*, **43**, 729.

Denk, A. G., A. Holzmann, A. Peters, E. L. M. Vermeirssen & B. Kempenaers (2005) Paternity in mallards: effects of sperm quality and female sperm selection for inbreeding avoidance. *Behavioral Ecology*, **16**, 825.

Dunn, P. O., L. A. Whittingham & T. E. Pitcher (2001) Mating systems, sperm competition, and the evolution of sexual dimorphism in birds. *Evolution*, **55**, 161.

Estep, L. K., H. Mays, A. J. Keyser, B. Ballentine & G. E. Hill (2005) Effects of breeding density and plumage coloration on mate guarding and cuckoldry in blue grosbeaks (*Passerina caerulea*). *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **83**, 1143.

Evans, J. P. & A. N. Rutstein (2008) Postcopulatory sexual selection favours intrinsically good sperm competitors. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **62**, 1167.

Evans, J. P. & L. W. Simmons, (2006) The genetic basis of traits regulating sperm competition and polyandry: can selection favour the evolution of good- and sexy-sperm? In: *Symposium on the Evolutionary Ecology of Genetic Quality*: 5. Tours, FRANCE.

Fisher (1930) *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford University Press.

Foerster, K., K. Delhey, A. Johnsen, J. T. Lifjeld & B. Kempenaers (2003) Females increase offspring heterozygosity and fitness through extra-pair matings. *Nature*, **425**, 714.

Freeman-Gallant, C. R., M. Meguerdichian, N. T. Wheelwright & S. V. Sollecito (2003) Social pairing and female mating fidelity predicted by restriction fragment length polymorphism similarity at the major histocompatibility complex in a songbird. *Molecular Ecology*, **12**, 3077.

Fromhage, L., H. Kokko & J. M. Reid (2009) Evolution of mate choice for genome-wide heterozygosity. *Evolution*, **63**, 684.

Grant, R. B. & P. R. Grant *Evolutionary dynamics of a natural population: the large cactus finch of the Galapagos*. Chicago: University of Chicago Press.

Gray, E. M. (1997) Do female red-winged blackbirds benefit genetically from seeking extra-pair copulations? *Animal Behaviour*, **53**, 605.

Griffith, S. C. (2007) The evolution of infidelity in socially monogamous passerines: Neglected components of direct and indirect selection. *American Naturalist*, **169**, 274.

Griffith, S. C., I. P. F. Owens & K. A. Thuman (2002) Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. *Molecular Ecology*, **11**, 2195.

Hamilton, W. D. & M. Zuk (1982) Heritable true fitness and bright birds - A role for parasites. *Science*, **218**, 384.

Holman, L. & R. R. Snook (2006) Spermicide, cryptic female choice and the evolution of sperm form and function. *Journal of Evolutionary Biology*, **19**, 1660.

Humphries, S., J. P. Evans & L. W. Simmons (2008) Sperm competition: linking form to function. *Bmc Evolutionary Biology*, **8**.

Immler, S. & T. R. Birkhead (2005) A non-invasive method for obtaining spermatozoa from birds. *Ibis*, **147**, 827.

Immler, S., S. Calhim & T. R. Birkhead (2008) Increased postcopulatory sexual selection reduces the intramale variation in sperm design. *Evolution*, **62**, 1538.

Jennions, M. D. & M. Petrie (1997) Variation in mate choice and mating preferences: A review of causes and consequences. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **72**, 283.

Jennions, M. D. & M. Petrie (2000) Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biological Reviews*, **75**, 21.

Johnsen, A., S. Andersson, J. Ornborg & J. T. Lifjeld (1998a) Ultraviolet plumage ornamentation affects social mate choice and sperm competition in bluethroats (Aves : *Luscinia s. svecica*): a field experiment. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **265**, 1313.

Johnsen, A., J. T. Lifjeld & C. Krokene (2003) Age-related variation in mate-guarding intensity in the bluethroat (*Luscinia s. svecica*). *Ethology*, **109**, 147.

Johnsen, A., J. T. Lifjeld, P. A. Rohde, C. R. Primmer & H. Ellegren (1998b) Sexual conflict over fertilizations: female bluethroats escape male paternity guards. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **43**, 401.

Keller, L. & H. K. Reeve, (1995) Why do females mate with multiple males - The sexually selected sperm hypothesis. In: *Advances in the Study of Behavior*, Vol 24: 291. Academic Press Inc, San Diego.

Kempnaers, B., B. Congdon, P. Boag & R. J. Robertson (1999) Extrapair paternity and egg hatchability in tree swallows: evidence for the genetic compatibility hypothesis? *Behavioral Ecology*, **10**, 304.

Kempnaers, B., G. R. Verheyen & A. A. Dhondt (1995) Mate guarding and copulation behavior in monogamous and polygynous blue tits - Do males follow a Best-of-bad-job strategy. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **36**, 33.

Kleven, O., T. Laskemoen, F. Fossoy, R. J. Robertson & J. T. Lifjeld (2008) Intraspecific variation in sperm length is negatively related to sperm competition in passerine birds. *Evolution*, **62**, 494.

Kokko, H. & L. J. Morrell (2005) Mate guarding, male attractiveness, and paternity under social monogamy. *Behavioral Ecology*, **16**, 724.

Laskemoen, T., F. Fossoy, G. Rudolfson & J. T. Lifjeld (2008) Age-related variation in primary sexual characters in a passerine with male age-related fertilization success, the bluethroat *Luscinia svecica*. *Journal of Avian Biology*, **39**, 322.

Laskemoen, T., O. Kleven, F. Fossoy & J. T. Lifjeld (2007) Intraspecific variation in sperm length in two passerine species, the Bluethroat *Luscinia svecica* and the Willow Warbler *Phylloscopus trochilus*. *Ornis Fennica*, **84**, 131.

Lifjeld, J. T., T. Laskemoen, F. Fossoy, A. Johnsen & O. Kleven (2007) Functional infertility among territorial males in two passerine species, the willow warbler *Phylloscopus trochilus* and the bluethroat *Luscinia svecica*. *Journal of Avian Biology*, **38**, 267.

Lifjeld, J. T., T. Slagsvold & H. Ellegren (1997) Experimental mate switching in pied flycatchers: Male copulatory access and fertilization success. *Animal Behaviour*, **53**, 1225.

Low, M. (2005) Factors influencing mate guarding and territory defence in the stitchbird (hihi) *Notiomystis cincta*. *New Zealand Journal of Ecology*, **29**, 231.

Lupold, S., S. Calhim, S. Immler & T. R. Birkhead (2009c) Sperm morphology and sperm velocity in passerine birds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **276**, 1175.

Lupold, S., G. M. Linz & T. R. Birkhead (2009b) Sperm design and variation in the New World blackbirds (Icteridae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **63**, 899.

Lupold, S., G. M. Linz, J. W. Rivers, D. F. Westneat & T. R. Birkhead (2009a) Sperm competition selects beyond relative testis size in birds. *Evolution*, **63**, 391.

Marthinsen, G., O. Kleven, E. Brenna & J. T. Lifjeld (2005) Part-time mate guarding affects paternity in male reed buntings (*Emberiza schoeniclus*). *Ethology*, **111**, 397.

Martin-Vivaldi, M., J. G. Martinez, J. J. Palomino & M. Soler (2002) Extrapair paternity in the Hoopoe *Upupa epops*: an exploration of the influence of interactions between breeding pairs, non-pair males and strophe length. *Ibis*, **144**, 236.

Mays, H. L., T. Albrecht, M. Liu & G. E. Hill (2008) Female choice for genetic

complementarity in birds: a review. *Genetica*, **134**, 147.

Mays, H. L. & G. E. Hill (2004) Choosing mates: good genes versus genes that are a good fit. *Trends in Ecology & Evolution*, **19**, 554.

McGraw, K. J. & A. L. Middleton (2009) American Goldfinch (*Carduelis tristis*), *The Birds of North America Online* (A. Poole, Ed.). Ithaca: Cornell Lab of Ornithology. Dostupné z: <http://bna.birds.cornell.edu/bna/species/080> ; DOI:10.2173/bna.80

Moller, A. P. (1987) House sparrow, *Passer domesticus*, communal displays. *Animal Behaviour*, **35**, 203.

Moller, A. P. (1988) Badge size in the house sparrow *Passer domesticus* - effects of intrasexual and intersexual selection. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **22**, 373.

Moller, A. P. & T. R. Birkhead (1994) The evolution of plumage brightness in birds is related to extrapair paternity. *Evolution*, **48**, 1089.

Moller, A. P. & J. V. Briskie (1995) Extra-pair paternity, sperm competition and the evolution of testis size in birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **36**, 357.

Mossman, J., J. Slate, S. Humphries & T. Birkhead (2009) Sperm morphology and velocity are genetically codetermined in the zebra finch morphology and velocity are genetically codetermined in the zebra finch. *Evolution*, **63**.

Mougeot, F., B. E. Arroyo & V. Bretagnolle (2006) Paternity assurance responses to first-year and adult male territorial intrusions in a courtship-feeding raptor. *Animal Behaviour*, **71**, 101.

Neff, B. D. & T. E. Pitcher (2005) Genetic quality and sexual selection: an integrated framework for good genes and compatible genes. *Molecular Ecology*, **14**, 19.

Nguembock, B., J. Fjeldsa, A. Couloux & E. Pasquet (2009) Molecular phylogeny of *Carduelinae* (Aves, Passeriformes, Fringillidae) proves polyphyletic origin of the genera *Serinus* and *Carduelis* and suggests redefined generic limits. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **51**, 169.

Parker, G. A. (1970) Sperm competition and its evolutionary consequences in insects.

Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, **45**, 525.

Parker, G. A. & M. E. Begon (1993) Sperm competition games - Sperm size and number under gametic control. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **253**, 255.

Petrie, M. (1994) Improved growth and survival of offspring of peacocks with more elaborate traits. *Nature*, **371**, 598.

Pitcher, T. E., P. O. Dunn & L. A. Whittingham (2005) Sperm competition and the evolution of testes size in birds. *Journal of Evolutionary Biology*, **18**, 557.

Pizzari, T. & T. R. Birkhead (2002) The sexually-selected sperm hypothesis: sex-biased inheritance and sexual antagonism. *Biological Reviews*, **77**, 183.

Pizzari, T., K. Worley, T. Burke & D. P. Froman (2008) Sperm competition dynamics: ejaculate fertilising efficiency changes differentially with time. *Bmc Evolutionary Biology*, **8**.

Polakova, R., M. Vyskocilova, J. F. Martin, H. L. Mays, G. E. Hill, J. Bryja & T. Albrecht (2007) A multiplex set of microsatellite markers for the scarlet rosefinch (*Carpodacus erythrinus*). *Molecular Ecology Notes*, **7**, 1375.

Qvarnstrom, A. (1997) Experimentally increased badge size increases male competition and reduces male parental care in the collared flycatcher. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **264**, 1225.

Saks, L., K. McGraw & P. Horak (2003) How feather colour reflects its carotenoid content. *Functional Ecology*, **17**, 555.

Schnitzer, J. (2003) *Karotenoidní zbarvení a reprodukční úspěšnost hýla rudého *Carpodacus erythrinus**. PřF UK v Praze: Diplomová práce.

Seddon, N., W. Amos, R. A. Mulder & J. A. Tobias (2004) Male heterozygosity predicts territory size, song structure and reproductive success in a cooperatively breeding bird. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **271**, 1823.

Shawkey, M. D., S. R. Pillai, G. E. Hill, L. M. Siefferman & S. R. Roberts (2007) Bacteria as an agent for change in structural plumage color: Correlational and experimental evidence. *American Naturalist*, **169**, S112.

Sheldon, B. C. (1994) Male phenotype, fertility, and the pursuit of extra-pair copulations by female birds. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **257**, 25.

Skuhrový, V. (2005) Návrh jádrových zón NP Šumava. *Lesnická práce*, **84**.

Smith, H. G., L. Wennerberg & T. VonSchantz (1996) Sperm competition in the European starling (*Sturnus vulgaris*): An experimental study of mate switching. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **263**, 797.

Snook, R. R. (2005) Sperm in competition: not playing by the numbers. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 46.

Sokal, R. R. & F. J. Rohlf (1981) *Biometry*. New York: W.H. Freeman and Company.

Stjernberg, T. (1979) Breeding biology and population dynamics of the scarlet rosefinch *Carpodacus erythrinus*. *Acta Zoologica*, **157**, 1.

Stutchbury, B. J. M. (1998) Female mate choice of extra-pair males: breeding synchrony is important. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **43**, 213.

Tremellen, K. (2008) Oxidative stress and male infertility - a clinical perspective. *Human Reproduction Update*, **14**, 243.

Tryjanowski, P. & M. Hromada (2005) Do males of the great grey shrike, *Lanius excubitor*, trade food for extrapair copulations? *Animal Behaviour*, **69**, 529.

Webster, M. S., S. PruettJones, D. F. Westneat & S. J. Arnold (1995) Measuring the effects of pairing success, extra-pair copulations and mate quality on the opportunity for sexual selection. *Evolution*, **49**, 1147.

Whittingham, L. A. & P. O. Dunn (2005) Effects of extra-pair and within-pair reproductive success on the opportunity for selection in birds. *Behavioral Ecology*, **16**, 138.

Whittingham, L. A., P. O. Dunn & M. K. Stapleton (2006) Repeatability of extra-pair mating in tree swallows. *Molecular Ecology*, **15**, 841.

Yasui, Y. (1997) A "good-sperm" model can explain the evolution of costly multiple mating by females. *American Naturalist*, **149**, 573.

Zahavi, A. (1975) Mate selection - Selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology*, **53**, 205.

Zelano, B. & S. V. Edwards (2002) An Mhc component to kin recognition and mate choice in birds: Predictions, progress, and prospects. *American Naturalist*, **160**, S225.

Zharikov, Y. & E. Nol (2000) Copulation behavior, mate guarding, and paternity in the Semipalmated Plover. *Condor*, **102**, 231.