

**Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program Biologie
Studijní obor Zoologie



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Druhotné ornamenty samců a fenotyp spermií
u vlaštovky obecné**

Secondary male ornamentation and sperm phenotype
in barn swallows

Bc. Martina Soudková

Školitel: doc. Mgr. Tomáš Albrecht, Ph.D.

Praha 2011

Prohlášení

Prohlašuji, že práce „Druhotné ornamenty samců a fenotyp spermií u vlaštovky obecné“ byla vypracována samostatně, pod vedením školitele práce. V práci jsou uvedeny všechny použité informační zdroje a literatura. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 29. 8. 2011

Martina Soudková

.....

Poděkování

Můj největší dík patří mému školiteli, Tomovi Albrechtovi, za nápady, rady, pomoc se statistikou, korektury práce a v neposlední řadě za sponzorování výzkumu. Chtěla bych tímto poděkovat také celému vlaštovkářskému týmu, jmenovitě Jardovi Cepákovi, Janče Albrechtové a Romče Michálkové za pomoc v terénu při odchycích a měření a dále také Kotrbům, Pulcům a Kunešům za „poskytnutí vlaštovek“ a prostoru pro laborování v terénu. Za pomoc s analýzami morfologie a motility spermií v Norsku děkuji Terjemu a Lars-Erikovi, “Takk!” Za zasvěcení do tajů spektrometrie vděčím Honzovi Schnitzerovi. Mé závěrečné poděkování patří Zvonkovi za podporu při práci a tisk.

Obsah

ABSTRAKT	6
ABSTRACT	7
1. ÚVOD	8
1.1. POHLAVNÍ VÝBĚR, ORNAMENTY A SPERMIE	9
1.2. VARIABILITA SPERMÍÍ U PĚVCŮ	10
1.3. KOMPETICE SPERMÍÍ A REPRODUKČNÍ ÚSPĚCH SAMCE	11
1.3.1. MORFOLOGIE SPERMÍÍ	12
1.3.2. MOTILITA SPERMÍÍ	13
1.3.3. MNOŽSTVÍ SPERMÍÍ	14
1.4. SEKUNDÁRNÍ ORNAMENTY SAMCŮ A SPERMIE	15
1.4.1. ZBARVENÍ	16
1.4.2. FLUKTUAČNÍ ASYMETRIE	17
1.4.3. KVALITA SPERMÍÍ A SEKUNDÁRNÍ ORNAMENTY SAMCŮ	17
1.5. MODELOVÝ DRUH	19
1.5.1. VLAŠTOVKA OBECNÁ	19
1.5.2. STUDIE PROVEDENÉ NA DRUHU VLAŠTOVKA OBECNÁ	21
1.6. HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE	24
2. METODIKA	25
2.1. MATERIÁL	25
2.1.1. VÝZKUMNÉ LOKALITY	25
2.1.2. ODCHYTY	27
2.1.3. MĚŘENÍ	27
2.1.4. SBĚR VZORKŮ A DAT	28
2.2. EXPERIMENTÁLNÍ DESIGN	29
2.3. ANALÝZA DAT	30
2.3.1. MORFOLOGIE SPERMÍÍ	30
2.3.2. MOTILITA SPERMÍÍ	32
2.3.3. VELIKOST VÝČNĚLKU KLOAKY	32
2.3.4. ORNAMENTY	33
2.3.5. ZBARVENÍ	33
2.3.6. STATISTICKÉ METODY	34
3. VÝSLEDKY	36
3.1. FENOTYP SPERMÍÍ	36
3.1.1. MORFOLOGIE SPERMÍÍ	37
3.1.2. OPAKOVATELNOST V MORFOLOGII SPERMÍÍ	38
3.1.3. MOTILITA SPERMÍÍ	39
3.1.4. VELIKOST VÝČNĚLKU KLOAKY	40
3.1.5. MOTILITA SPERMÍÍ A VELIKOST VÝČNĚLKU KLOAKY	42

3.1.6. VZTAH MEZI MORFOLOGIÍ A MOTILITOU SPERMIÍ	42
3.2. DRUHOTNÝ ORNAMENT SAMCŮ	44
3.2.1. VZTAH MEZI ORNAMENTEM A MORFOLOGIÍ	45
3.2.2. VZTAH MEZI ORNAMENTEM A MOTILITOU	48
3.3. MANIPULATIVNÍ EXPERIMENT	49
3.3.1. VLIV MANIPULACE NA MORFOLOGII SPERMIÍ	50
3.3.2. VLIV MANIPULACE NA MOTILITU SPERMIÍ	52
4. DISKUZE	53
4.1. MORFOLOGIE SPERMIÍ	53
4.2. MOTILITA SPERMIÍ	55
4.3. MNOŽSTVÍ SPERMIÍ	56
4.4. DRUHOTNÝ ORNAMENT SAMCŮ	57
4.5. ORNAMENT A FENOTYP SPERMIÍ	58
4.6. VLIV MANIPULACE NA FENOTYP SPERMIÍ	60
5. ZÁVĚR	63
6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	64
7. SEZNAM PŘÍLOH	78

Abstrakt

U sociálně monogamních druhů ptáků je všeobecně rozšířena promiskuita, stav kdy samice kopuluje s více samci. Základním předpokladem reprodukčního úspěchu samce je nejen jeho schopnost zúčastnit se těchto kopulací (uplatnit se jako mimopárový partner), ale následnou kompetici spermií vyhrát a oplodnit vajíčko. Sledovali jsme dva parametry ejakulátu samců vlaštovky obecné, morfologii spermií (délku jednotlivých komponent spermie) a motilitu spermií, opakovaně v průběhu hnízdní sezóny. Morfologie spermií je stálý znak, který vykazuje značnou stabilitu v rámci samce jak vnitrosezónně tak mezi sezónami. Motilita spermií naproti tomu vykazuje nižší stupeň opakovatelnosti v rámci sezóny. V práci dokládám vztah mezi motilitou a morfologií spermií, ale ne mezi motilitou a množstvím spermií. V rámci našeho výzkumu jsme chtěli ověřit předpoklad, že samci s lépe vyvinutým ornamentem mají kvalitnější ejakulát, což by vysvětlovalo jejich úspěch při plození mimopárových potomků. Výsledky naznačují, že samci s barevnějším hrdlem a většími skvrnami na ocasních perech mají rychlejší spermie, takže tyto ornamenty mohou sloužit jako indikátory kvality spermií samce. Motilita spermií však nesouvisela s pohlavně selektovaným znakem, délkou ocasních per. Proces spermatogeneze může ovšem být ovlivněn okolním prostředím a kvalitou jedince. Plastičnost fenotypu spermií byla zkoumána pomocí maniulace s velikostí ornamentu (délkou ocasních per), nebyl však dokumentován žádný efekt manipulace.

Klíčová slova: morfologie spermií, motilita spermií, druhotné ornamenty, opakovatelnost, vlaštovka obecná

Abstract

Promiscuity is a widespread evolutionary strategy of many socially monogamous bird species. A prerequisite for male reproductive success is not only to participate in within- and extra-pair copulations, but also to win the sperm competition and fertilise the egg. Two ejaculate parameters were studied repeatedly during a breeding season in barn swallows, sperm morphology (size of sperm components) and sperm motility. Sperm morphology is a highly repeatable trait within males either within season or among seasons. Sperm motility is medium repeatable within season. We found a relationship between sperm motility and sperm morphology, but not sperm numbers. In our study we tested the relationship between male ornamentation and the quality of his ejaculate traits, which could explain male reproductive success. The results suggest more colourful throat and larger tail spots to indicate an ejaculate of better quality, however, sperm motility was not related to the sexually selected trait – the tail streamers. Admittedly, the environment and male condition can influence the process of spermatogenesis. Sperm phenotype plasticity was tested by the means of manipulation with the ornament size (tail streamer length), nevertheless, no effect of manipulation was documented.

Key words: sperm morphology, sperm motility, ornamentation, repeatability, barn swallow

1. Úvod

Pohlavní výběr (též sexuální výběr, sexuální selekce) má dvě složky: kompetice mezi samci a samičí výběr (Andersson 1994). Jeho prostřednictvím jsou upřednostňovány fenotypy rozmnožujících se jedinců na základě prekopulačních (tj. na úrovni výběru mezi jedinci, somatická linie) anebo i postkopulačních (tj. na úrovni pohlavních buněk – vajíček a spermií, germinální linie) procesů (Birkhead & Pizzari 2002; Andersson & Simmons 2006, Birkhead 2010). Díky pohlavnímu výběru se může z jinak pro přežití nevýznamného fenotypu stát fenotyp neobyčejně výhodný. Pohlavní výběr může dokonce působit proti přírodnímu výběru a vytvořit struktury, jejichž existence by bez jeho působení byla nemyslitelná (Andersson 1994). Těmto strukturám říkáme druhotné pohlavní znaky neboli ornamente (Ligon 1990).

Primární funkcí spermií, samčích pohlavních buněk, je oplození vajíčka. Navzdory tomuto univerzálnímu účelu existuje mezi živočichy obrovská různorodost ve fenotypu spermií (Pitnick et al. 2009), které teprve začínáme rozumět. Spermatické buňky se liší ve tvaru i velikosti nejen mezi taxony, ale i v rámci jednotlivých druhů a také až na úrovni každého jedince. Mohla by tato rozdílnost být odpovědí na otázku, proč jsou někteří samci v reprodukci úspěšnější než jiní? Pokud o oplodnění vajíčka soutěží spermie od více samců (tzv. kompetice spermií), předpokládáme, že díky selekci budou upřednostněny takové znaky spermií, které zvyšují fertilizační úspěch daného samce (Evans et al. 2003, Snook 2005).

V poslední době byl zkoumán fenomén ornamentace samců a spermatogeneze v závislosti na kondici (Helfenstein et al. 2010a, Blount et al. 2001, Velando et al. 2008). Je prokázáno, že u některých druhů samci s výraznějším druhotným pohlavním ornamentem mají i větší reprodukční úspěch (např. Møller 1988; Møller 1990; McGraw et al. 2001; Kleven et al. 2006). Je příčinou pouhá oblíbenost ornamentovanějších samců mezi samicemi či jejich vyšší agresivita a schopnost monopolizovat samice anebo by se tento fenomén dal vysvětlit tím, že větší exprese ornamentu signalizuje kvalitnější spermie svého nositele (tzv. hypotéza sexy spermií, Keller & Reeve 1995), které snáze uspějí v kompetici ostatních spermií?

Prvním krokem k porozumění vztahu mezi fertilizačním úspěchem samců a jejich ornamentací u promiskuitních druhů je analýza vztahu mezi kondičně závislou ornamentací a kvalitou spermií, neboť ony determinují fertilizační úspěch samce

v procesu kompetice spermií. Právě tento vztah jsem se snažila ověřit na modelovém druhu vlaštovka obecná (*Hirundo rustica*), u kterého byla zevrubně studována a prokázána role pohlavního výběru, včetně post-kopulačních procesů, při evoluci druhotných ornamentů (Møller 1994, viz též níže).

1.1. Pohlavní výběr, ornamenty a spermie

Darwin zavedl výraz přirozený výběr (natural selection) jako protiklad termínu umělý výběr (tzn. prováděný člověkem). Přirozený výběr se skládá ze dvou složek, z výběru prováděného prostředím, tj. z přírodního výběru, a z výběru, k němuž dochází při soupeření příslušníků stejného pohlaví o partnery pro rozmnožování, tj. z výběru pohlavního (Darwin 1871, česká terminologie viz Flegr 2005). Při sexuální selekci rozlišujeme intrasexuální a intersexuální neboli epigamní výběr. Intrasexuální výběr spočívá v přímém konkurování nejčastěji mnoha samečků o samici (kompetice samců), jen výjimečně je tomu naopak, a při epigamním výběru si jedinci jednoho pohlaví vybírají mezi jedinci druhého pohlaví (Andersson 1994).

Síla pohlavního výběru působícího na obě pohlaví se může lišit, což vede ke vzniku pohlavního dimorfismu (Owens & Hartley 1998). Vybíravějším pohlavím jsou obvykle samice a samci jsou tak vystaveni intenzivnějšímu pohlavnímu výběru a tedy právě u nich se vyvíjejí nápadnější sekundární pohlavní znaky. Samice musí dobře rozlišovat v kvalitě samců, se kterými se budou rozmnožovat, protože nemohou zvýšit počet potomků častějšími kopulacemi (Andersson & Iwasa 1996). Vzhledem k tomu, že vybírání partnera je pro samice nákladné z hlediska času, energie nebo rizika predace (Pomianovski 1987), je pro ně výhodné rozhodovat se na základě určitých čestných signálů samcovy kvality, jako jsou například různé ornamenty. Pokud si samice vybírají na základě těchto signálů, je pro samce výhodné tyto znaky co nejnápadněji vystavovat. Samčí ornamenty se mohou měnit v průběhu života samce (Brooks & Kemp 2001). Starší samci mají typicky vyvinutější ornamenty nežli samci mladší (Manning 1985).

Mimopárové kopulace (EPC – extra pair copulation) jsou rozšířenou reprodukční strategií mnohých sociálně monogamních druhů (Griffith et al. 2002, Wolff & Macdonald 2004). Některé úspěchy při mimopárových kopulacích spojené s kondičně závislými ornamenty, interpretované jako prekopulační samičí preference dokonalejších

samců, mohou být ve skutečnosti zprostředkovány kvalitnějšími spermii v procesu kompetice spermií (Immler et al. 2010) čili být důsledkem interakcí mezi spermii. Ornamenty mohou signalizovat kompetitivní schopnosti samce (Trivers 1972), tzn., že předpokládáme pozitivní asociaci mezi druhotnými (somatickými anebo behaviorálními) a primárními (gametickými a gonádovými) pohlavně selektovanými znaky (Birkhead & Pizzari 2002; Andersson & Simmons 2006).

Byly navrženy dvě prolínající se hypotézy popisující pozitivní vztah mezi primárním a sekundárním fenotypem samce, které vysvětlují, proč samice kopulují s více než jedním samcem. Hypotéza „fenotypu spojeného s plodností“ (phenotype-linked fertility hypothesis) říká, že EPC u ptáků poskytuje mechanismus, jak předcházet třeba jen dočasné neplodnosti partnera (např. kvůli nedostatku spermií nebo suboptimálním spermii, Sheldon 1994). Hypotéza pohlavně selektovaných spermií (sexually selected sperm hypothesis, Pizzari & Birkhead 2002) říká, že samice se páří s více samci, aby zvýšily pravděpodobnost, že jejich potomci zdědí po svém otci nadprůměrnou úspěšnost při oplození (hypotéza sexy spermií) anebo více životaschopné potomky (hypotéza dobrých spermií).

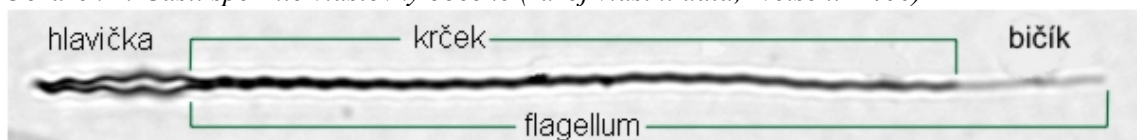
1.2. Variabilita spermií u pěvců

Spermie patří mezi nejvíce diverzifikované buňky v živočišné říši (Cohen 1977, Pitnick et al. 2009). U ptáků se celková průměrná délka spermií pohybuje v rozmezí od 42,7 μm u ťuhýka obecného (*Lanius collurio*) (Briskie et al. 1997) do 291 μm u strnada rákosního (*Emberiza schoeniclus*) (Dixon & Birkhead 1997). Tato vysoká mezidruhá variabilita v délce spermií je popsána nejen u pěvců, ale i u mnoha dalších taxonů (např. Briskie & Montgomerie 2007). Velikost a struktura ptačích spermií se liší mezi druhy, ale i mezi jedinci v rámci jednoho druhu. Délka spermie je výsledkem kompromisu mezi množstvím a velikostí spermií, které se ještě vyplatí samci vyprodukovat (Holman & Snook 2006, Immler et al. 2011).

Ptačí spermie se skládají ze dvou částí - hlavičky a bičíku (flagellum). Oblast flagella je dále dělitelná na střední část - krček (midpiece), ve kterém se nacházejí mitochondrie, a na samotný bičík (tail), který je zúženou koncovou částí flagella (Koehler 1995). Abych předešla nedorozumění v terminologii, používám v této práci

termín bičík jen ve smyslu vlastního koncového segmentu, v anglické literatuře synonymum pro tail, a pro celý bičík se držím latinského termínu flagellum. Viz také popis na obrázku (Obrázek 1). Spermie pěvců mají zřetelně odlišnou morfologii od ostatních taxonů. Spermie nepěvců se spíše podobají spermii plazů a jsou rovné, zatímco pro pěvce je charakteristická šroubovicovitá hlavička, obsahující akrozóm a jádro, a krček spirálovitě obtočený okolo flagella (Koehler 1995).

Obrázek 1: Části spermie vlaštovky obecné (zdroj vlastní data, zvětšení $\times 400$)



Způsob pohybu spermii pěvců je značně odlišný od ostatních taxonů, ať už vzdáleně či blízce příbuzných. Spermie plavou pomocí šroubovitého otáčení se okolo své osy ve směru pohybu (Vernon & Wooley 1999), na rozdíl třeba od savčích spermii, které se pohybují pomocí mrskání bičíkem. Výsledný dojem je přímý lineární pohyb a spermie pěvců se vlastně „provrtávají“ svým okolním prostředím.

1.3. Kompetice spermii a reprodukční úspěch samce

Kompetice spermii je výsledkem promiskuity samců a samic (Forstmeier et al. 2011), kdy jsou spermie dvou nebo více samců nuceny mezi sebou soupeřit o možnost oplození vajíčka (Parker 1970) a může vést k mimopárovým paternitám (EPP – extra pair paternity, Birkhead 1998, Griffith et al. 2002). Značná pozornost je v tomto směru věnována taxonomické skupině ptáků, a to především skupině pěvců. Ti představují modelovou skupinu při výzkumu pohlavního výběru (např. Møller 1994, Hill 2002). Přestože většina pěvců je sociálně monogamních, kompetice spermii je u nich velmi rozšířená (Birkhead & Møller 1992). Kompetice spermii je zásadní součástí pohlavního výběru, protože z ní vyplývá rozdílný reprodukční úspěch mezi samci (Birkhead 1998). Reprodukční úspěch samce může být v kompetitivním prostředí ovlivněn tvarem spermii (morfologií, Laskemoen et al. 2010), rychlostí spermii (motilitou, Gage et al. 2004; Malo et al. 2005; Birkhead et al. 1999, Donoghue et al. 1999) a množstvím vyprodukovaných spermii (Gage & Morrow 2003, Laskemoen et al. 2010). Každý z těchto aspektů bude detailněji rozebrán v následujících kapitolách.

1.3.1. Morfologie spermií

Morfologie spermií souvisí s mírou kompetice spermií (Snook 2005, Immler & Birkhead 2007). Druhy ptáků s vyšší mírou kompetice spermií mají vyšší celkovou délku spermií (Kleven et al. 2009; Lüpold et al. 2009b), menší variabilitu v délce spermií mezi samci (Kleven et al. 2008; Lüpold et al. 2009b) a vyšší relativní délku krčku než druhy s nízkou mírou kompetice spermií (Lüpold et al. 2009b). 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, Lifjeld et al. 2010). 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 postkopulačního 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 (Immler et al. 2008; Kleven et al. 2008). Variabilita spermií je tak dalším důležitým faktorem, který může souviset s reprodukčním úspěchem samce (Birkhead et al. 2005).

Kompetice spermií teoreticky udržuje silný selekční tlak na kvalitu spermií (Immler et al. 2008) a morfologie spermií je tak udržována v optimálním stavu díky tzv. stabilizující selekci (Calhim et al. 2007). Variabilita v délce spermií může být výsledkem konfliktu mezi odlišnými typy mutací haploidní spermie a diploidního organismu (Parker & Begon 1993). Jestliže je selekční tlak na daný znak vysoký, bude působit stabilizačně na optimální projev znaku (Kleven et al. 2008). Pokud se v rámci druhu vyskytuje vysoká míra kompetice spermií, může vést pomocí přímé selekce k produkci spermií s optimálními znaky, zvyšujícími příležitost oplodnit vajíčko, a snížení výskytu nekvalitních chybových spermií (Parker 1993; Parker & Begon 1993).

Ačkoli velká mezidruhová variabilita ve fenotypu spermií je popsána u mnoha druhů (Briskie & Montgomerie 2007) a je dávana do souvislosti s mírou kompetice spermií (Kleven et al. 2008; Lifjeld et al. 2010, viz také výše), úroveň vnitrodruhoví variability je často zanedbávána (Ward 1998). U slavíka modráčka (*Luscinia svecica*) a budníčka většího (*Phylloscopus trochilus*) bylo zjištěno, že vnitrodruhoví variabilita v délce spermií je vyšší mezi jednotlivými samci než v rámci jednoho samce (Laskemoen et al. 2007). Z toho vyplývá vysoká opakovatelnost celkové délky spermie v rámci samce. Všechny morfologické znaky spermií jsou dědičné (Wooley & Beatty 1967;

Morrow & Gage 2001; Simmons & Kotiaho 2002; Birkhead et al. 2005), ale morfologie spermií nemusí být neměnný znak a naopak se objevují důkazy, že se jedná o fenotypový znak alespoň částečně plastický (Crean & Marshall 2008; Morrow et al. 2008). Morfologie spermií se může měnit v závislosti na sociálním postavení jedince (Immler et al. 2010) nebo i v závislosti na hustotě populace odpovídající potenciální míře kompetice spermií (Crean & Marshall 2008).

1.3.2. Motilita spermií

Rychlost spermií je jedním z hlavních rozhodujících činitelů ve výsledku kompetice spermií (Birkhead et al. 1999; Donoghue et al. 1999; Pizzari & Parker 2009). Rozdílná frekvence mimopárových paternit mezi druhy, která odpovídá riziku kompetice spermií, pozitivně souvisí s motilitou (hemživostí) spermií (Kleven et al. 2009). Pokud dochází ke kompetici spermií, jsou rychlejší spermie úspěšnější v proniknutí do samičího reprodukčního traktu (Lüpold et al. 2009a). Zde se u ptáků nacházejí kanálky sloužící k uchovávání spermií (SST – sperm storage tubules), ve kterých spermie přežijí několik dnů 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 odstraněny (Lorenz 1966)

Základní evoluční procesy, které ovlivňují rychlost a motilitu spermií, jsou navzdory jejich základnímu biologickému významu doposud málo známy. Protože morfologie spermií se výrazně liší mezi druhy i v rámci druhů (viz výše), je pravděpodobné, že morfologie spermií je spjata s jejich rychlostí (Humphries et al. 2008; Lüpold et al. 2009b). Teoreticky předpokládáme, že budou rychlejší spermie s delším krčkem působícím jako energetická složka (Cardullo & Baltz 1991) anebo s delším flagellem působícím jako kinetická složka (Katz & Drobnis 1990) anebo ty spermie s určitými poměry mezi jednotlivými částmi, jako například poměr hlavičky k bičíku či krčku k celkové délce spermie apod. V praxi jsou však výsledky výzkumů nekonzistentní. Některé srovnávací studie provedené u ryb (Fitzpatrick et al. 2009), savců (Gomendio & Roldan 1991; 2008) a ptáků (Lüpold et al. 2009a) dokazují, že druhy, které mají dlouhé spermie, mají zároveň rychlé spermie, ale jiné práce zde žádnou přímou souvislost nenacházejí (Kleven et al. 2009; Helfenstein et al. 2010b). Na

vnitrodruhové úrovni tento vztah podporují studie zabývající se vlastnostmi spermií u jelenů (Malo et al. 2006) a zebříček (Mossman et al. 2009), ale na druhou stranu u břehule říční (*Riparia riparia*) bylo zjištěno, že kratší spermie jsou rychlejší (Helfenstein et al. 2008). U vrabce domácího (*Passer domesticus*) byla zjištěna závislost motility na poměru délky hlavičky k flagellu (Helfenstein et al. 2010b), celková délka spermií zde nesouvisela s rychlostí plavání spermií, ale odpovídala jejich životaschopnosti (longevitě, Helfenstein et al. 2010b).

Samci alespoň některých druhů ptáků, např. kura domácího (*Gallus gallus*), jsou schopni manipulovat kvalitou (motilitou) a množstvím spermií v ejakulátu podle kvality partnerky (Cornwallis & O'Connor 2009). Motilita se může měnit v závislosti na sociálním postavení samce. Podřízení samci kura domácího produkují rychlejší spermie než dominantní samci a pokud se z podřízeného samce stane dominantní, jeho motilita se sníží (Cornwallis & Birkhead 2007). Motilita může být ovlivněna i věkem samce, kdy staří samci mají zhoršenou výkonnost pohybu spermií (Møller et al. 2009). Není však známo, zda změna motility je způsobena změnou v morfologii. Uměle zvýšené energetické zátížení u sýkor (*Parus major*) způsobuje snížení motility, a to především u méně ornamentovaných samců (Helfenstein et al. 2010a). Kondice samců tedy ovlivňuje fenotyp spermií. Pokud je kondice samce signalizována ornamentací, i vlastnosti spermií mohou souviset s ornamenty.

1.3.3. Množství spermií

Výsledek kompetice spermií je u některých druhů zprostředkován především relativním počtem spermií od konkurujících si samců. (Martin et al. 1974, Briskie & Montgomerie 1992, Gomendio et al. 1998, Gage & Morrow 2003). Produkce spermií je pro samce velmi náročná (Olsson et al. 1997; Wedell et al. 2002; Skau & Folstad 2005). Migrující ptáci vytváří spermie pouze v době páření, mimo sezónu se varlata zmenšují a spermie neprodukují (Birkhead & Møller 1992). Spermatogeneze (tvorba spermií) je u ptáků poměrně rychlá, trvá přibližně dva týdny (Clulow & Jones 1982; Jones & Lin 1993).

Množství spermií je silně závislé na velikosti a struktuře varlat (Lüpold et al. 2009c) a může souviset s velikostí výčnělku kloaky (kloakální protuberance, CP, Rowe

& Pruett-Jones 2006). U mnoha ptáků se u samců během hnízdní sezóny zvětšuje kloakální výčnělek. Zvětšený výčnělek kloaky mnoha druhů pěvců je pravděpodobně evolučním výsledkem kompetice spermií (Birkhead & Møller 1992; Briskie & Montgomerie 1993). Velikost výčnělku kloaky odráží počet spermií, jak na vnitrodruhové úrovni (Tuttle et al. 1996; Peer et al. 2000; Tuttle & Pruett-Jones 2004), tak i mezi druhy pěvců (Birkhead et al. 1993; Rowe & Pruett-Jones 2006), takže velikost kloaky se zdá být důvěryhodným ukazatelem pro množství vytvořených spermií.

Velikost kloakální protuberance samců je ovšem velice variabilní znak (Laskemoen et al. 2008; Laskemoen et al. 2010) a liší se mezi mladými a starými ptáky (Laskemoen et al. 2008). Tento znak výrazně kolísá v průběhu roku, v souvislosti s nástupem či koncem hnízdní sezóny (Newton & Dawson 2011). Objem kloaky v období hnízdění je korelován s reprodukčním úspěchem u vlaštovek stromových (*Tachycineta bicolor*) (Laskemoen et al. 2010). Zároveň vyšší motilita spermií predikuje vyšší reprodukční úspěch samce (Birkhead et al. 1999; Froman et al. 2002; Gage et al. 2004). Podle výsledků studie Laskemoen et al. (2010) může existovat souvislost velikosti výčnělku kloaky s motilitou spermií.

1.4. Sekundární ornamenty samců a spermie

U ptáků jsou druhotné pohlavní znaky nápadnější než u jiných živočišných tříd (Darwin 1871), proto jim bylo věnováno hodně pozornosti. Samčí sekundární pohlavní struktury můžeme rozdělit na znaky morfologické, u nichž je rozhodující vlastností tvar, velikost či symetrie struktury, a na znaky pigmentózní, u kterých je rozhodující vlastností jejich barva nebo jiná charakteristika ornamentálního opeření (např. velikost plochy peří určité barvy, Andersson 1994; Hill & McGraw 2006). V detailu bude vybraným ornamentům věnována pozornost v následujících kapitolách.

1.4.1. Zbarvení

Ptáci jsou skupinou, u níž se mimořádně rozvinulo využívání barev povrchu těla (opeření) jako signálu, především vůči sexuálnímu partnerovi či kompetitorovi. Je to podmíněno jejich podstatně dokonalejším viděním barev. Ptáci vnímají světlo v intervalu 320 – 700 nm (Hart 2001) a mají takzvané tetrachromatické vidění. Ptáci rozlišují dvojnásobek barevných odstínů než člověk a čtyřnásobek než většina ostatních savců (Hastad 2003).

Sexuální dimorfismus v barvě peří se vyskytuje u velké části pěvců (Eaton 2005), takže zbarvení může hrát důležitou roli v pohlavním výběru. Zbarvení peří může být buďto strukturální, založené na interferenci a lomu světla od mikrostruktur keratinových vrstev per, nebo způsobené pigmenty (Badyaev & Hill 2000). Pigmenty v peří jsou melaniny, karotenoidy a porfyriny. Každý způsob tvorby zbarvení ukazuje na jinou složku kvality jedince. Melaninové ornamenty mohou signalizovat dominanci a agresivitu jedince (Senar 1999; McGraw et al. 2003; Ducrest et al. 2008). Karotenoidy mohou sloužit jako čestný signál samčí kvality, neboť si je tělo nedokáže samo vyrobit (Gray 1996) a jejich depozice do peří je nákladná (Hill 2000). Dokonce i bílá barva, která je podle všeho nejméně náročná na vytvoření (neobsahuje žádný pigment), může být u některých druhů signálem kvality (Kose et al. 1999; Török et al. 2003). Ačkoli zde není nákladná produkce znaku, je náročné jeho udržování v bezvadném stavu (Bortolotti 2006).

Jelikož ptáci vnímají barvy jinak než lidé, není vhodné při studiích ornamentálního zbarvení používat subjektivní metody posuzování barev (Bennett et al. 1994). Objektivní metodou pro hodnocení barvy, kdy není opomenuta UV složka spektra, je použití měřicího přístroje - spektrometru. Z naměřených hodnot odrazivosti (reflektance) v jednotlivých intervalech vlnových délek barevného spektra může být určen tón (H, hue), sytost (S, saturation) a jas (B, brightness) barvy, tzv. HSB model (shrnutí v Andersson & Prager 2006). Tón, sytost i jas barvy peří se může lišit u jednotlivých ptáků v rámci druhu v závislosti na kondici (McGraw et al. 2002), ale také se může měnit během roku v závislosti na stáří pera (Örnberg et al. 2002).

1.4.2. Flukтуаční asymetrie

Ornamenty a jiné pohlavní znaky se často vyznačují bilaterální symetrií a složitým designem. Flukтуаční asymetrie představuje odchylku od perfektní morfologické symetrie struktur, které jsou v ideálním stavu dvoustranně souměrné (Van Valen 1962). Zvyšující se úroveň flukтуаční asymetrie je u mnoha druhů spojována jednak s genetickými stresovými faktory a jednak se stresovými faktory prostředí (Parsons 1990; 1992), jako je např. snížená dostupnost potravy (Swaddle & Witter 1994). Míra flukтуаční asymetrie tedy odráží kondici jedince během doby, kdy se ten který znak vyvíjel (Swaddle et al. 1994). Plná exprese takového ornamentu se zdá být poměrně nákladná, a proto je flukтуаční asymetrie jednou z možností posouzení kvality jedince (Møller 1991a).

Klasickým příkladem výskytu flukтуаční asymetrie jsou zbraně samců, jako je rozdílná velikost pravé a levé ostruhy ptáků nebo pravého a levého rohu brouků (Møller 1992a), anebo samicemi preferované ornamenty, jako např. prodloužená ocasní pera ptáků. Samci s více vyvinutým ornamentem mají obecně tento znak méně asymetrický než samci s méně vyvinutým ornamentem (Møller 1991a; Møller & Hoglund 1991). Samice se při výběru partnera mohou spoléhat také na flukтуаční asymetrii samčího ornamentu (Swaddle & Cuthill 1994), protože právě tato signalizuje kvalitu jedince.

Flukтуаční asymetrie ornamentu by teoreticky mohla odrážet míru variability ve fenotypu spermií, protože usměrňující selekce působí na morfologii spermií ve prospěch optimálního fenotypu (Calhim et al. 2007), avšak vyšší stresová zátěž v době tvorby spermií by pravděpodobně měla za následek vyšší variabilitu mezi jednotlivými spermiiemi v rámci jedince a zároveň nižší míru symetrie jeho ornamentu.

1.4.3. Kvalita spermií a sekundární ornamenty samců

U spermií obratlovců probíhá vysoký stupeň metabolické aktivity a současně i produkce volných radikálů. Spermatické buňky jsou bohaté na polynenasycené mastné kyseliny a to je dělá náchylné k oxidaci volnými radikály (Wishart 1984; Surai et al. 1998). Volné radikály mohou pozměnit spermatický cytoskelet a axonem, čímž způsobují snížení motility (de Lamirande & Gagnon 1992). Samci, kteří utrpěli vysoký

stupeň poškození způsobený volnými radikály, mohou být neplodní či zplodit méně schopné potomky. Potom samice, které dokáží takové samce rozlišovat, budou selekcí zvýhodněny. Ale jaký mechanismus může spojovat kvalitu spermií a atraktivitu samce?

Karotenoidy a nebarevné vitamíny sloužící jako přirozené antioxidanty jsou v přirozených podmínkách dostupné pouze v omezeném množství (Olsson & Owens 1998; Hartley & Kennedy 2004). To způsobuje trade-off mezi jejich využitím do ornamentu anebo imunitní funkce a tím se z ornamentu sává čestný signál. Expze karotenoidních ornamentů signalizuje vystavení jedince oxidativnímu stresu a závisí na jeho schopnosti bojovat s volnými radikály (von Schantz et al. 1999). Pokud by nebyl v krevním oběhu dostatečný přísun antioxidantů (např. v podmínkách oxidativního stresu), zhoršila by se tak kvalita spermií a zároveň kvalita ornamentace (Blount et al. 2001; Velando et al. 2008). To potvrzuje práce Peters et al. 2004) srovnávající vztah mezi karotenoidním ornamentem, imunokompetencí a motilitou spermií. Samice kachen (*Anas platyrhynchos*) mohou podle intenzity zbarvení zobáku odhadnout motilitu, a tudíž plodnost, svého případného partnera. Podobně další korelační studie provedené u ryb ukazují, že samci s relativně většími oblastmi oranžové pigmentace mají signifikantně rychlejší a více životaschopné spermie než méně ornamentovaní samci (Locatello et al. 2006; Pitcher et al. 2007). To naznačuje možný vztah mezi příjmem karotenoidů a kvalitou spermií. Experimentálně bylo zjištěno, že fenotyp spermií a ornamentace samců mohou být dány do souvislosti díky společné reakci na oxidativní stres (Helfenstein et al. 2010a).

Nejenom u karotenoidních, ale i u melaninových ornamentů byla nalezena souvislost s fenotypem spermií. Tmavší samci lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*) nejenže hnízili na lepších teritoriích, ale zároveň měli i delší spermie (Calhim et al. 2009). Tyto výsledky jsou v souladu s hypotézou fenotypu spojeného s plodností (Sheldon 1994), která tvrdí, že druhotné pohlavní znaky mohou samicím poskytnout informace o fertilizačních schopnostech samců (Trivers 1972). Samci lejska černohlavého mají melaninový ornament, který je u nich dědičný (Lundberg & Alatalo 1992; Slagsvold & Lifjeld 1992), ale zároveň kondičně závislý (Slagsvold & Lifjeld 1992) a také závisí na věku samce. Zde je jistá paralela s ornamenty vlaštovky obecné, (viz kapitola 1.5.2.). Vzhled samce může souviset s fenotypem spermií (Calhim et al. 2009), pokud jsou ornamentovanější samci úspěšnější v EPP. Souvislost ornamentu s fertilizačním úspěchem pak může vést k selekci na fenotyp spermií, takže variabilita spermií v rámci samce či tvar a délka spermie může souviset s jeho ornamentací.

1.5. Modelový druh

Díky celkem vysoké početnosti a snadné dosažitelnosti jak hnízd s mláďaty, tak i dospělých ptáků, a také vzhledem k přítomnosti nápadných ornamentů je vlaštovka cílem mnoha studií zabývajících se pohlavním výběrem a jeho rolí v evoluci druhotných ornamentů a pohlavního dimorfismu. V následujících kapitolách bude tento druh představen podrobněji.

1.5.1. Vlaštovka obecná

Vlaštovka obecná (*Hirundo rustica*) patří mezi pěvce (*Passerines*), čeleď vlaštovkovití (*Hirundinidae*). Tento hmyzožravý pták, vážící okolo 20 g, u nás hnízdí od května do srpna a protahuje od dubna do října (Svensson & Grant 2004). Na zimoviště odlétá do subsaharské Afriky. Hmyz loví v letu, takže k tomu má uzpůsobený krátký, ale široký zobák, dlouhá a poměrně úzká křídla umožňující rychlé manévrování ve vzduchu a dlouhý, vidličnatě vykrojený ocas. Znaky charakteristické pro peří vlaštovek zahrnují kovově lesklé černé peří na dorzální straně těla, kaštanově červené čelo a hrdlo, jehož zbarvení není tvořeno karotenoidy, jak se myslelo dříve (Stradi 1998, Saino et al. 1999), ale melaniny (McGraw et al. 2004), a prodloužená vnější rýdovací pera ve tvaru písmene „V“. Blízko konců rýdovacích per jsou nápadné bílé skvrny, které se stávají dobře viditelnými při roztažení ocasu do vějíře, například během namlouvacích rituálů (Møller 1994). Tyto bílé skvrny slouží pravděpodobně k vizuální komunikaci na tmavých hnízdištích, jako jsou dutiny stromů, jeskyně anebo v současnosti především lidská obydlí (Møller 1994). Ventrální zbarvení těla může být od čistě bílé přes béžovou až po téměř rezavou barvu, přičemž toto zbarvení se liší také geograficky – v Evropě (*Hirundo rustica rustica*) jsou vlaštovky bělejší (Obrázek 2), zatímco v severní Americe (*H. rustica erythrogaster*) spíše rezavější (Safran & McGraw 2004).

Obrázek 2: Vlaštovka obecná. Foto MS.

Juvenilní mláďata se od dospělců liší kratšími křídly a tupými a krátkými ocasními pery a také světleji zbarveným čelem a hrdlem. V tomto stadiu zatím nelze odlišit samce od samice. To je možné až po prvním celkovém přepelichání. Dospělý samec se od samice liší nápadně delšími krajními rýdovacími pery. Samice mají v době hnízdění zvýrazněnou břišní nažinu.

Sociální monogamie je typickým uspořádáním pro více než 90% všech ptačích druhů (Lack 1968) a toto uspořádání platí i pro vlaštovky. Páry hnízdí nejčastěji v koloniích, kde si každý samec svým zpěvem obhájí malé teritorium v blízkosti hnízda. Svou partnerku si brání a hlídá ji před ostatními samci. K mimopárovým kopulacím však někdy dochází a to především se sousedícími samci. U různých populací vlaštovek bylo zjištěno 18% - 33% mimopárových mláďat (EPY – extra-pair youngs, Smith et al. 1991; Møller & Tegelström 1997; Saino et al. 1997; Møller 2003; Kleven et al. 2006). Samice klade vždy jen jedno vejce denně do miskovitého hnízda z bláta a rostlinného materiálu. Snůška obsahuje od jednoho do šesti vajec, většinou však 4-5 ($p = 0,78$, $N = 64$, vlastní pozorování). V jedné sezóně může pár odchovat i 2 až 3 snůšky.

1.5.2. Studie provedené na druhu vlaštovka obecná

V této kapitole se pokusím shrnout alespoň ty nejdůležitější studie provedené na vlaštovkách, a to samozřejmě především ty práce, které se týkají druhotných pohlavních znaků, pohlavního výběru a kvality spermií.

Základní údaje o **fenotypu spermií** vlaštovky obecné byly publikovány ve studii zkoumající vliv radiace na znaky spermií (Møller et al. 2008a). Detailnější informace však zatím nejsou k dispozici. Avšak vliv radiace se stal předmětem rozsáhlejšího výzkumu (Møller et al. 2005a; Møller et al. 2005b; Bonisoli-Alquati et al. 2011). Ochránění některých znaků spermií před radiací pomocí antioxidantů funguje pravděpodobně výměnou za zhoršení jiných vlastností. Samci vystavení radiaci produkovali buď menší množství rychlejších spermií anebo naopak větší množství pomalejších spermií (Bonisoli-Alquati et al. 2011).

Dalším tématem zkoumaným na vlaštovkách je **motilita** spermií a zjišťování toho, co ji ovlivňuje. Způsob plavání spermií ve fyziologicky neutrálním roztoku se může lišit od způsobu plavání v tekutině ze samičího reprodukčního traktu (Møller et al. 2008b). Také s přibývajícím věkem se zhoršují některé parametry motility spermií (Møller et al. 2009), ale spermie starších samců jsou úspěšnější v plavání v samičí tekutině než spermie mladých samců (Møller et al. 2009).

Druhotnými pohlavními znaky u ptáků jsou často **prodloužená pera** anebo jiné podobné, někdy až obskurní struktury (Ligon 1990). U vlaštovky je velikost tohoto ornamentu dědičná (Møller 1991b; Saino et al. 2003), ale délka ocasních per se může měnit s věkem samce, a to především po prvním roce života (Møller 1994; Balbontín et al. 2010; Lifjeld et al. 2011). Důležitost délky ocasních per pro reprodukční úspěch byla demonstrována v několika pracech. V jedné z nich měli samci, kteří nedokázali získat partnera, prokazatelně kratší ocasní pera než zadaní samci (Møller 1992b). Dlouhá ocasní pera jsou také spojována se zvýšenou pravděpodobností získání EPP (Møller & Tegelström 1997; Saino et al. 1997; Møller 2003; Kleven et al. 2006). Navíc samci s delšími ocasními pery dokáží získat kvalitnější samice, které mají vyšší hmotnost a plodnost v porovnání se samicemi, které mají za partnery samce s kratšími ocasními pery (Møller 1992b). Jedním z dalších signálů ukazujících na kvalitu samce je i **symetrie ocasu** (Møller 1991a). Stupeň asymetrie negativně ovlivňuje schopnost manévrovat

během letu (Møller 1991a). Samice si vybírají raději ty samce, kteří mají stejně dlouhá krajní rýdovací pera (Møller 1993).

Vlaštovky mají na periferii černých ocasních per **bílé skvrny**. Tyto skvrny vykazují pohlavní dvojtvárnost - jsou větší u samců než u samic a také u dospělců než u nedospělých jedinců (Kose & Møller 1999). Bílá pera neobsahují žádné pigmenty, takže jejich struktura není zpevněná tak jako u ostatních per. To má za následek nejenom snažší opotřebenování, ale i hojnější výskyt parazitů (Kose & Møller 1999). Velikost bílých skvrn tak může být pro samice čestný signál o kvalitě samce (Kose 1999).

Schopnost vnímat světlo a barvy i v ultrafialovém spektru (320-400 nm) byla prokázána u mnoha ptáků, vlaštovku nevyjímaje (Chen et al. 1984). Iridescentní peří na dorzální straně těla vlaštovky vykazuje rozdílnou **odrazivost v UV** spektru u obou pohlaví (Perrier et al. 2002). U dospělých samců je odrazivost vyšší než u samic, ale síla reflektance se ve studii neliší mezi spárovanými a nespárovanými samci. Z toho autoři usuzují, že v současnosti je síla pohlavního výběru na černé dorzální zbarvení přinejlepším velmi slabá.

Pigmenty zbarvená břišní strana těla je pohlavně selektovaný znak u amerického poddruhu vlaštovky obecné (*Hirundo rustica erythrogaster*). Samci s tmavším ornamentem mají vyšší reprodukční úspěch, protože tvoří páry s dříve hnízdícími samicemi (Safran & McGraw 2004), a samice, které mají atraktivněji zbarveného partnera, více investují do krmení mláďat (Maguire & Safran 2010).

Vlaštovky jsou používány i jako modelový druh při manipulativních pokusech s ornamente. **Experimentální manipulace** s krajními rýdovacími pery ukázala, že delší pera zvyšují u samců jejich reprodukční úspěch (Saino et al. 1997). Prodloužení per vyústilo ve zvýšenou pravděpodobnost získání (Møller 1988) a udržení (Møller 1990) partnera, časnější páření v hnízdní sezóně (Møller 1990) a pravděpodobnější produkci druhé snůšky (Møller 1992b).

Navzdory tomu, že si samice přednostně vybírají samce s delším ocasem, nezdá se, že by tito samci poskytovali svým partnerkám nějaké přímé výhody. Samice, které měly za partnery samce s uměle prodlouženým ocasem, krmily svá mláďata více než ty samice, které měly partnery se zkráceným ocasem (de Lope & Møller 1993). Není ale jasné, jestli bylo toto zvýšené úsilí způsobeno tím, že samice očekávají ve svém hnízdě „dobré geny“ anebo sníženou efektivitou krmení jejich dlouhoocasých partnerů (de Lope & Møller 1993; Cuervo & Møller 2006).

Přehnaně zvětšené znaky jsou podle mnoha teorií pohlavního výběru signály kondice a kvality jejich nositele. Zřejmou nevýhodou prodloužených per je jejich **vliv na létání**. Vlaštovky s **uměle prodlouženými** ocasními pery loví menší a tudíž méně výhodnou kořist (Møller & de Lope 1994; Møller et al. 1995). Tyto výsledky podporují teorii, že prodloužená ocasní pera fungují pro samce jako nákladný handicap při letu. Naopak umělé **zkrácení** ocasních per o 10 až 12 mm maximalizovalo schopnost manévrovat v letu, ale další zkrácování už tuto schopnost opět zhoršovalo (Buchnan & Evans 2000; Rowe et al. 2001).

Přírozeně prodloužená ocasní pera umožňují vlaštovkám lépe **manévrovat** v letu díky změnám vlastností náběžné strany a umožňují tak kratší rádius (Norberg 1994), což naznačuje evoluci prodloužených ocasních per působící i mimo pohlavní výběr (Evans 1998, Rowe et al. 2001).

1.6. Hypotézy a cíle práce

Tato práce se snaží odpovědět na čtyři základní otázky: 1) Jaká je opakovatelnost (repeatabilita) v morfologii a v motilitě spermií v rámci samce během jedné sezóny a mezi sezónami? Čili jak jsou znaky spermií stabilní a zda je lze použít pro charakterizaci kvality jednotlivých samců v populaci. 2) Jaký je vztah mezi morfologií spermií a jejich motilitou? 3) Signalizuje druhotný ornament samců (délka ocasních per, zbarvení) kvalitu spermií? 4) Má manipulace ornamentu (snížení atraktivity/kondice samce) vliv na fenotyp spermií?

Jednotlivé cíle práce byly:

- A. prozkoumání variability v morfologii a v motilitě (hemživosti) spermií mezi samci volně žijící jihočeské populace vlaštovek
- B. zjišťování variability a opakovatelnosti znaků spermií v rámci jednotlivých samců v průběhu jedné hnízdní sezóny a mezi dvěma následujícími roky
- C. sledování vztahu mezi motilitou spermií a jejich morfologií
- D. stanovení vztahu mezi množstvím spermií (velikostí výčnělku kloaky samce) a motilitou spermií
- E. ověření předpokladu, že ornamentace samce (délka a symetrie rýdovacích per, velikost bílých skvrn na ocase, zbarvení) indikuje kvalitu jeho ejakulátu (morfologie spermií, motilita)
- F. stanovení vlivu manipulace na fenotyp spermií

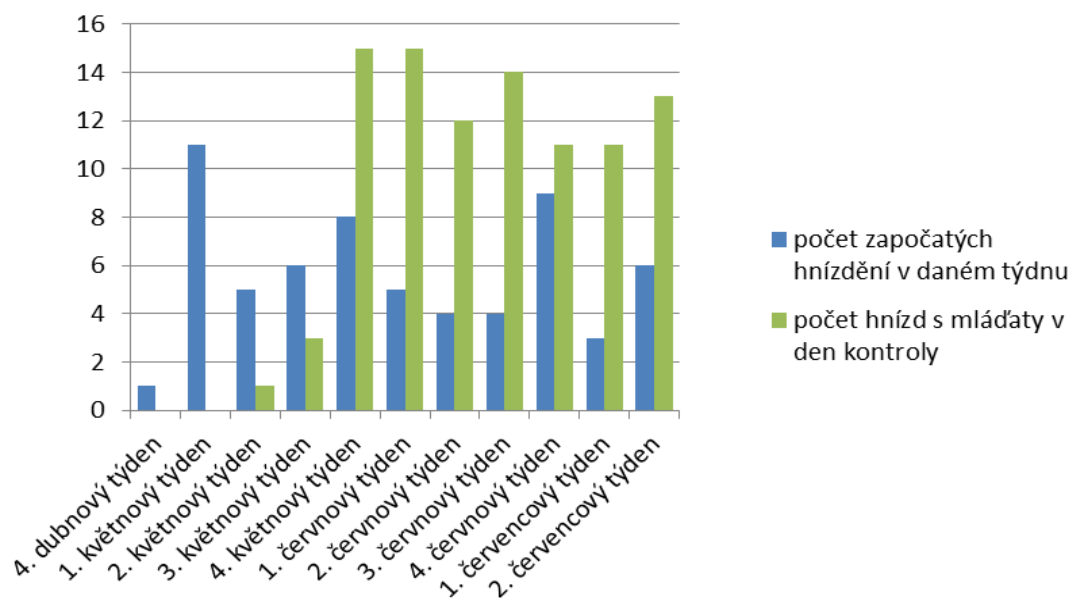
2. Metodika

2.1. Materiál

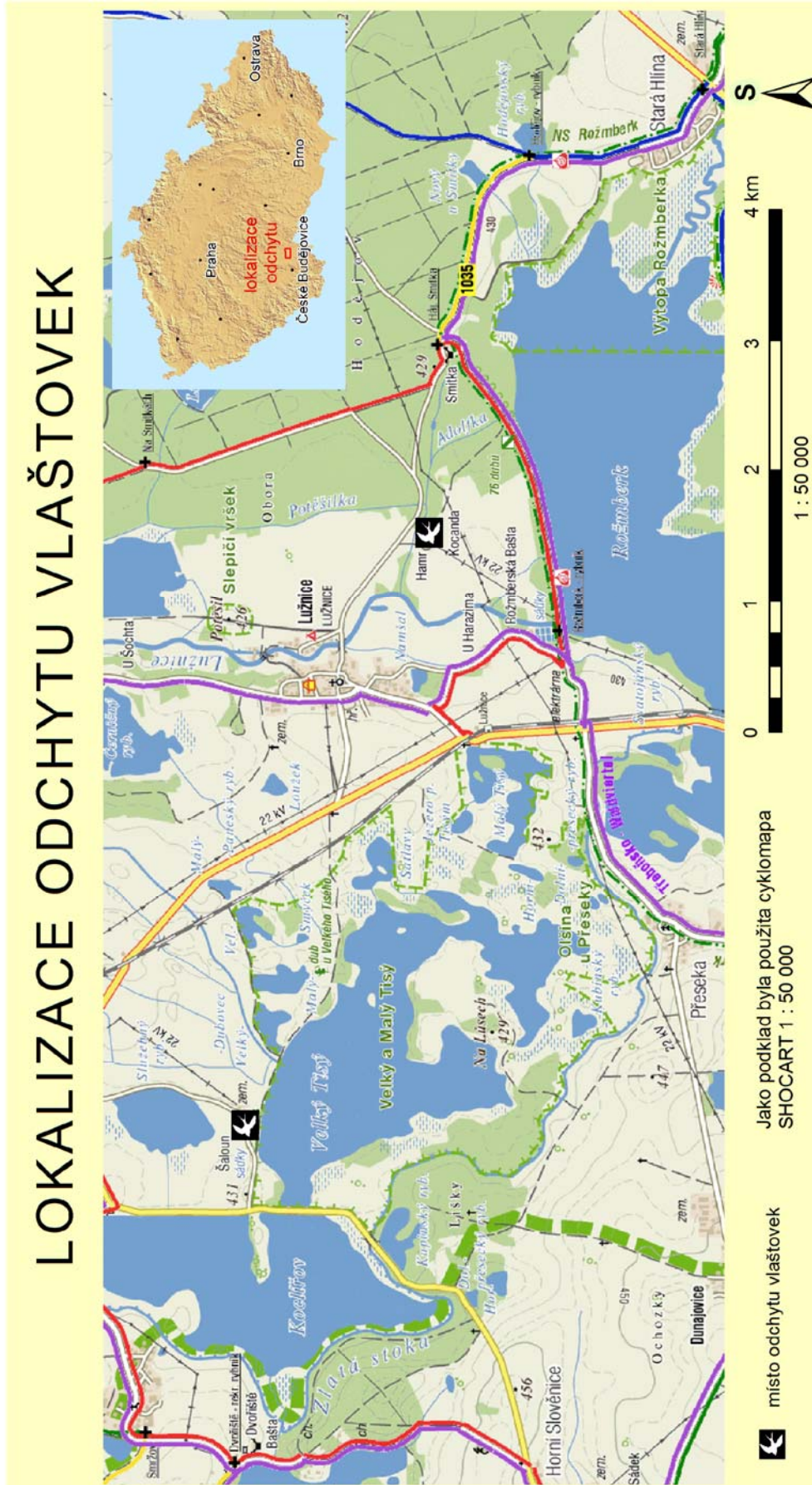
2.1.1. Výzkumné lokality

Terénní práce probíhaly na dvou blízce ležících, ale izolovaných lokalitách v jižních Čechách v blízkosti CHKO Třeboňsko – Šaloun (49°4'7.762"N, 14°42'36.521"E) a Lužnice (49°3'25.288"N, 14°46'10.82"E), okres Jindřichův Hradec, Česká Republika (viz Obrázek 4). Na obou lokalitách vlaštovky hnízdí uvnitř zemědělských budov (stájí a chlévů), což umožňuje odchyt všech hnízdících jedinců. V rámci jiné související práce byl v roce 2010 sledován průběh hnízdění vlaštovek na sledovaných populacích, který je pro ilustraci znázorněn i zde (Obrázek 3). V grafu na ose x je uveden datum kontroly, na ose y je počet aktivních hnízd. Modrá barva znázorňuje součet nově započatých hnízdění v daném týdnu a zelená barva znázorňuje počet hnízd s mláďaty v době kontroly.

Obrázek 3: Průběh hnízdění na sledovaných lokalitách



Obrázek 4: Mapa studijních lokalit



2.1.2. Odchyty

Vlaštovky z volně žijící populace byly chytány v letech 2009 a 2010. Druhý rok (2010) byly odchyty prováděny opakovaně během celé hnízdní sezóny od května do července v pěti odchyťových akcích (označení S1- S5). Odchyty byly prováděny do nárazových sítí umístěných většinou před vletovým otvorem do budovy, kde ptáci hnízdí, anebo přímo uvnitř budovy. Odchyceni byli v průběhu sezóny všichni hnízdicí ptáci - samci i samice z dané lokality, ne však v průběhu jedné odchyťové akce. Všichni jedinci byli označeni hliníkovými kroužky s unikátním kódem Národního muzea v Praze. Samci byli navíc označeni kombinací barevných kroužků umožňující pozdější identifikaci sociálních partnerů na jednotlivých hnízdech. Samice byly po okroužkování a odebrání vzorku krve následovně ihned vypouštěny. Samce jsme měli po dobu manipulace v plátěných, prodyšných sáčkích, určených speciálně pro přenos ptáků. Takto byli ptáci přeneseni do improvizované laboratoře v těsné blízkosti odchyťové lokality, kde byla prováděna měření a odběry vzorků.

2.1.3. Měření

Po skončení odchyťů jsme provedli nejrůznější morfometrická měření – hmotnost byla stanovena pomocí digitální váhy (Pesola, MS500, 0 – 500 g, $d = 0,1$ g), byla změřena délka křídla (pravítko se zarážkou s přesností na 0,1 cm), délka tarsu (digitální posuvné měřítko o rozsahu 0 - 150 mm, rozlišení 0,01cm, chyba $\pm 0,03$ mm), délka pravého a levého krajního rýdovacího pera (měřítko s hřebíčkem sloužícím jako zarážka k přesnému určení báze pera). Velikost výčnělku kloaky byla měřena jako délka (d_1) \times šířka (d_2) \times výška (digitální posuvné měřítko). Rozměry d_1 a d_2 byly měřeny při bázi kloaky, výška od báze ke špičce. Každé měření jednotlivých veličin bylo prováděno vždy pouze jedním člověkem, aby nedošlo ke zkreslení dat rozdílnou chybou měření.

2.1.4. Sběr vzorků a dat

Vzorky spermií byly odebrány neinvazivní metodou jemné masáže kloakální protuberance (Wolfson 1952). Část ejakulátu byla ihned po odběru přenesena pomocí mikrokapiláry (50 mm/40 μ l, Keraglass, Czech Republic) do média DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Advanced D-MEM, Invitrogen, Carlsbad, CA) vyhřátého na 40°C. Kapka (cca 2 μ l) této směsi byla okamžitě (během cca 30 sekund od odběru) aplikována na predehřátá mikroskopická Leja sklíčka (20 μ m hluboká, čtyř komorová, Leja, Nieuw-Venep, The Netherlands) a pohyb spermií byl natáčen pomocí mikroskopického setu (mikroskop CX41 s fázovým kontrastem, digitální kamera UI-1540-C, program QuickPhoto Industrial 12.3, Olympus) při 100 násobném zvětšení. V jedné komůrce bylo postupně po dobu asi dvou až pěti vteřin natáčeno vždy několik míst, díky čemuž byl zaznamenán větší počet spermií. Na mikroskopickém setu byla nainstalována průhledná výhřevná destička (ThermoPlate, MATS-U55S Tokai Hit, Olympus) udržující konstantní teplotu 40°C.

Zbylá část spermatu byla smíchána s 10% formalínem a později byla použita k analýze morfologie. Krev (cca 50 μ l) byla odebrána z loketní žíly vena ulnaris a uchovávána v 96% ethanolu v 1,5 ml mikrozkušnicích (Ependorf) pro pozdější využití k analýzám paternity.

Samci byli vyfotografováni za standardních podmínek digitálním fotoaparátem Nikon D40. Pozadí tvořila standardní šedá tabulka Kodak a přiložené měřítko s milimetrovou přesností. Vyfotografována byla hrud' každého samce a také jeho svrchní strana pravé poloviny rýdovacích per roztažených tak, aby bílé skvrny nebyly v zákrytu a bylo tak možné změřit jejich plochu (Obrázek 5).

Poté bylo každému samci odebráno vždy cca 6 až 10 per, což je dostatečný počet k analýze barevnosti pomocí spektrometru (Quesada & Senar 2006), ze tří různě barevných oblastí na těle – cihlově červeného hrdla, bělavého břicha a černých zad. Tato pera byla uložena do uzavíratelného igelitového sáčku popsaného kódem samce a později byla uchovávána až do doby analýzy na tmavém místě za nepřístupu světla.

Obrázek 5: Ornament samce na svrchní straně ocasu, foto MS

2.2. Experimentální design

Cílem experimentu bylo sledování vlivu manipulace s velikostí ornamentu na charakteristiky spermií. Konce rýdovacích per samců byly po prvním odchyty zastřiženy vždy o 2 cm. Každý lichý odchycený samec byl kontrolní, každý sudý byl manipulovaný. Zkracování bylo prováděno pouze na začátku sezóny, v odchycích S1 a S2, kdy byla odchycena většina populace. Zkrácení ocasu o 2 cm by mělo snížit atraktivitu samce (Møller 1988) a zároveň zhoršit jeho manévrovací schopnosti (Evans 1998; Buchnan & Evans 2000; Rowe et al. 2001) a tudíž i ztížit dosažitelnost potravy a tak snížit kondici manipulovaného samce. Jelikož tvorba spermií je pro samce nákladná, chtěli jsme otestovat, zda se snížená kondice projeví na spermatogenezi. Tvorba spermií od počátečního dělení prvotní zárodečné samčí pohlavní buňky do stádia zralé spermie u ptáků trvá přibližně 11 dní (Clulow & Jones 1982; Jones & Lin 1993), takže vliv manipulace na fenotyp spermií by se měl pravděpodobně nejvíce projevit po této době. Spermie byly znovu odebrány a měřeny po cca 3 až 4 týdnech, aby se s jistotou stihnul dokončit celý cyklus spermatogeneze. Zkrácení ocasu může mít dopad na reprodukční úspěch samce. Snížený reprodukční úspěch manipulovaného samce může být zapříčiněn na dvou různých úrovních pohlavního výběru: sociální (intersexual, female mate choice) anebo fyziologické (intrasexual competition). Buďto se samicím nemusí líbit partner

s krátkým ocasem a tím pádem s ním nebudou chtít kopulovat (méně EPC) anebo kvůli horší kondici bude mít samec méně kvalitní spermie v kompetici s ostatními samci, tudíž oplodní méně vajíček (méně vlastních mlád'at i EPY). Sledování reprodukčního úspěchu samců však nebylo cílem této práce.

2.3. Analýza dat

Po skončení hnízdní sezóny byly analyzovány morfologické parametry ze získaných vzorků spermií z roku 2009 i 2010. Z videozáznamů byla vyhodnocena motilita spermií jednotlivých samců z průběhu sezóny 2010. Velikost ornamentů byla určena z fotografií a ze vzorků peří bylo měřeno jejich zbarvení za pomoci spektrometru. Podrobněji viz níže.

2.3.1. Morfologie spermií

Kapka (cca 3 μ l) ze vzorku spermií uchovávaných ve formalínovém roztoku byla nanášena na sklíčko, kde byla opatrně rozetřena a ponechána přes noc oschnout. Tím bylo zajištěno přichycení spermií ke sklíčku. Druhý den byly zaschlé vzorky omyty destilovanou vodou a tak byl odstraněn vysrážený formalín. Optickým světelným mikroskopem AxioPlan2 (Zeiss) s kamerou AxioPhot2 (Zeiss) byly pořízeny digitální fotografie nejvyšší možné kvality (4080 \times 3072). Pro pořízení fotografií bylo vždy používáno zvětšení \times 400. Pro měření vyfotografovaných spermií byl použit software AxioVision rel. 4.8. Abnormální spermatické buňky, které měly například zlomený bičík, poničený anebo chybějící akrozóm, nebyly do měření zahrnuty. Pro vyhodnocení morfologie bylo změřeno 30 spermií od každého jedince z každého odchytu. Tento vzorek je více než dostatečný pro určení morfologie spermií pro jednotlivé samce i pro zaznamenání případných změn během sezóny a i pro určení jejich variability (Laskemoen et al. 2007). Rozlišovala jsem tři snadno rozpoznatelné komponenty - hlavičku, krček a bičík. Změřena byla délka jednotlivých částí spermie v mikrometrech (μ m). Celková délka spermie pak byla součtem těchto hodnot. Délka flagella je součtem délky krčku a

bičíku. Dalším možným vyjádřením vlastností spermie je relativní délka krčku, která je podílem délky krčku k celkové délce spermie.

Pro vyjádření míry variability hodnot v souboru dat byly použity koeficienty variace, CV (Sokal & Rohlf 1981), které byly spočítány podle následujícího vzorce:

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

Kde: CV... variační koeficient

SD... směrodatná odchylka

\bar{x} ... aritmetický průměr z naměřených hodnot

Tento koeficient se udává v procentech. V dalších analýzách bude rozlišován koeficient variace mezi samci (CV_{ms}), tzn. variabilita znaku v populaci, a koeficient variace v rámci samce (CV_{vs}), tzn. proměnlivost znaku u jednotlivých samců v sezóně.

Odhady opakovatelnosti byly získány pomocí komponent rozptylu jednosměrné ANOVY (Becker 1984). Pro spočítání opakovatelnosti byl použit vzorec:

$$r = \frac{c}{c + MS_e} \quad \text{kde:} \quad c = \frac{MS_g - MS_e}{n}$$

Kde: c ... koeficient

MS_e ... variabilita uvnitř výběru (mean squared variation due to error)

MS_g ... variabilita mezi výběry (mean squared variation due to groups)

n ... počet měření

Pokud se opakovatelnost rovná nule, znamená to, že ve vzorku není žádný konzistentní odhad parametrů mezi měřeními anebo mezi odběry od stejného jedince, a pokud se opakovatelnost rovná jedné, znamená to úplnou identitu odhadu parametrů mezi vzorky od stejného jedince.

2.3.2. Motilita spermií

Videozáznamy pohybujících se spermií byly převedeny na kvalitu 50 Hz a poté vyhodnoceny za použití počítačového programu pro analýzu pohybu spermií CASA (Computer Assisted Sperm Analysis, CEROS, Hamilton Thorne, Inc. USA). Program byl nastaven na 50 Hz a na počet snímků 25, což znamená, že spermie byly sledovány 0,5 s. Detekce buněk byla nastavena na minimální kontrast 40 a minimální velikost buněk 20 pixelů. Zvětšení bylo nastaveno podle měřítka přiloženého na mikroskopu ($\times 2,04$). Pro každého samce byly spočítány různé parametry motility spermií na několika záznamech.

Výstupem programu CASA jsou mimo jiné také údaje VAP (velocity average path, [$\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$]), udávající rychlost po upravené, mírně vyrovnané trajektorii, VCL (velocity curvilinear, [$\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$]), popisující rychlost na celkové trajektorii, skládající se ze všech jednotlivých bodů, kterými spermie proplavala, a VSL (velocity straight line, [$\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$]), což je rychlost spočítaná na přímé trajektorii od výchozího bodu měření k nejvzdálenějšímu bodu, kam až se spermie dostala v dané měřené časové periodě. Tyto proměnné spolu vysoce korelují (Fitzpatrick et al. 2007), takže pro popis motility byly použity pouze hodnoty jednoho parametru. Motilitu spermií plavajících na sklíčku; bez přítomnosti vajíčka, schopného atrahovat spermie určitým směrem; nejlépe reprezentuje parametr VCL (Kleven et al. 2009) a také u této hodnoty dochází k nejmenšímu zkreslení dat při vyhodnocování programem (Lars Eric Johannessen osobní konzultace), takže daná hodnota by měla nejdříve popisovat motilitu měřených spermií.

Spermie s VAP menším než $30 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ anebo VSL menším než $25 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ byly označeny jako pomalé a byly vyloučeny z dalších analýz. Hodnoty VCL byly před statistickými analýzami zlogaritmovány ($\ln\text{VCL}$), aby odpovídaly normálnímu rozložení. Při počítání byl průměr změřených hodnot vážen počtem zaznamenaných spermií. Celkově byla motilita změřena ze 153 ejakulátů od 69 samců z roku 2010.

2.3.3. Velikost výčnělku kloaky

Velikost výčnělku kloaky může být spočítána podle vzorce pro objem elipsoidního válce jako $\text{výška} \times \pi \times 0,5d_1 \times 0,5d_2$ (Laskemoen et al. 2008; Laskemoen et al. 2010) anebo jako $\text{výška} \times \text{délka}$ (Newton & Dawson 2011). Ale protože výška

kloakálního výčnělku je našimi dostupnými metodami velice těžko přesně změřitelná proměnná, je přesnější změření pouze obsahu a tedy použití pouze rozměrů měřených při bázy kloaky, šířky a délky, $d_1 \times d_2$. Takto získané údaje o velikosti kloaky byly použity pro další analýzy v této práci.

2.3.4. Ornamenty

Jako míra velikosti ornamentu byl použit průměr naměřených hodnot délky obou krajních rýdovacích per, jejich symetrie (relativní hodnota rozdílu délky pravého a levého rýdovacího pera vztahovaná k celkové délce ocasu) a velikost plochy bílých skvrn na svrchní straně rýdovacích per. Plochu jsem měřila za pomoci programu AutoCad 2010. Program byl kalibrován podle měřítka na fotografiích. Celková velikost plochy skvrn byla spočítána jako součet obsahů skvrn na všech pěti rýdovacích perech.

2.3.5. Zbarvení

K určení barevného spektra z odebraných peříček byl použit spektrometr Avantes Avaspec 2048 se světelným zdrojem Avalight XE (Avantes BV, Eerbeek, The Netherlands). Peříčka z jednotlivých barevných oblastí (kovově lesklé černé peří na dorzální straně těla, kaštanově červené hrdlo a bělavé břicho) byla na sebe srovnána tak, aby se co možná nejvíce překrývala a utvořila tak souvislou, jednobarevnou vrstvu. Takto byly připevněny k podkladu izolační páskou, aby nedocházelo k nechtěnému zpřeházení při měření. Spektrální křivky byly získávány opakovaným přikládáním sondy vždy do stejné vzdálenosti od povrchu peříček (cca 2 mm) pod fixním úhlem 45°, a to vždy 3× z pravé strany a 3× z levé strany. Měření bylo relativní, vztahované ke tmavému standardu s minimální odrazivostí a k bílému standardu (WS-2), které byly načteny před každým používáním spektrometru. Ze šesti měření byly spočítány průměry odrazivosti v jednotlivých intervalech vlnových délek a z těchto průměrných hodnot pak byly spočítány jednotlivé komponenty barvy.

Při použití spektrometru dostaneme velké množství dat, ze kterých se různými metodami dají vypočítat jednotlivé proměnné, jako například celková odrazivost, průměrná odrazivost či intenzita, spektrální nasycení, jas a sytost barvy anebo barevný odstín. Já jsem k objektivnímu určení barvy použila popisné hodnoty tón (hue, H), sytost (saturation, S) a jas (brightness, B). K výpočtu HSB jsem použila těchto rovnic (Endler 1990; Andersson & Prager 2006):

$$H = \arctan \left[\frac{(B_y - B_b) / B_t}{(B_r - B_g) / B_t} \right]$$

$$S = \sqrt{(B_r - B_g)^2 + (B_y - B_b)^2}$$

$$B = \sum_{\lambda_{320}}^{\lambda_{700}} R_i / n_w$$

Kde: B_t ... celkový jas (v rozsahu 320 – 700 nm)

B_b ... jas v rozsahu modrého spektra (400 – 475 nm)

B_g ... jas v rozsahu zeleného spektra (475 – 550 nm)

B_r ... jas v rozsahu červeného spektra (625 – 700 nm)

B_y ... jas v rozsahu žlutého spektra (550 – 625 nm)

R_i ... odrazivost v dané vlnové délce

n_w ... počet intervalů vlnové délky použitých k výpočtu celkového jasu

2.3.6. Statistické metody

K vyhodnocení statistických údajů byly použity programy STATISTICA 8 a R 2.13.1. (R_Development_Core_Team 2011). Data v mnoha případech nesplňovala podmínky normálního rozložení (Kolmogorov-Smirnovův test normality), proto musela být logaritmicky transformována, aby mohly být použity parametrické testy. Pro většinu prováděných analýz byly použity obecné lineární modely (ANOVA, regrese). V modelech, kde ani po transformaci dat nebylo dosaženo normálního rozložení dat, byly použity neparametrické testy (Spearmanův korelační test).

Pro analýzu změn morfologie spermií (celkové délky), motility spermií a velikosti kloaky v průběhu sezóny byly použity obecné mixované modely (GLMM v balíčku lme4

v programu R). V těchto analýzách byli využiti všichni samci odchyceni v průběhu sezóny alespoň dvakrát. Analýza zahrnuje identitu samce jako náhodný intercept a datum odchytu jako náhodný sklon (slope, Faraway 2006).

Analýza v R započala vždy vystavením plného modelu. Pro získání minimálního adekvátního modelu (Crawley 2007) byly v případě lineárních modelů postupně pomocí funkce `drop1` v programu R odstraňovány nesignifikantní proměnné porovnáváním modelů mezi sebou. Zjednodušeně řečeno, funkce `drop1` zobrazuje hodnotu AIC (Akaike's information criterion, zahrnující komplexnost a vysvětlující hodnotu modelu) pro model, ze kterého je odstraněna právě jedna proměnná, a udává i hodnotu AIC pro nulový model (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 (srovnání kandidátních modelů) bylo verifikováno standardními testy (F statistika v případě lineárních modelů či χ^2 v případě GLMM).

V případě interkorelace proměnných byla použita analýza hlavních komponent (PCA) pro zjednodušení korelovaných dat za minimální ztráty informace. Pro další výpočty byly dále uvažovány pouze faktory nejlépe vystihující variabilitu proměnných, ale vždy s eigenvalue vyšší než 1. Pro všechny analýzy byly za signifikantní považovány výsledky s $p < 0,05$. Průměry jsou prezentovány se směrodatnou chybou odhadu \pm SE.

Nebylo možné použít vždy pro každou analýzu data od všech samců z důvodů možného ovlivnění výsledků manipulací. Pro analýzy variability a opakovatelnosti morfologie a motility spermií byla proto používána pouze data od nemanipulovaných samců. Pro analýzy vztahu ornamentu a morfologie spermií byla použita data z prvního odběru, kdy ještě nebyl žádný samec manipulovaný. Ne všichni samci byli chyceni při všech odchytových akcích, proto se u nich liší časový rozestup v porovnávaných vzorcích. K analýzám vlivu manipulace byli proto použiti pouze samci chycení na začátku sezóny a pak znovu v odstupu 3 až 4 týdnů.

3. Výsledky

Celkem 19 samců bylo odchyceno zároveň v obou hnízdních sezónách (2009 a 2010). Pro rok 2009 jsou k dispozici údaje o morfologii spermií, ale ne o motilitě. V roce 2010 bylo chyceno celkem 73 samců, kterým byl alespoň jednou odebrán vzorek spermií na analýzu morfologie. Většina samců byla za tento rok chycena dvakrát a vícekrát a pokaždé jim byl odebrán vzorek spermií. Celkem byla na morfologii získána data pro 70 samců a na motilitu pro 69 samců. Opakovaně byla data na motilitu získána od 44 samců. Z pěti odchytových akcí v roce 2010 (označení S1 – S5) nebyla získána data pro motilitu z první akce, kvůli technickým problémům s udržení konstantní teploty. Odchytové akce probíhaly vždy po 14 dnech, od poloviny května do poloviny července.

3.1. Fenotyp spermií

Z prvního odběru v roce 2010, kde bylo od každého samce změřeno 30 spermií, byla získána data pro obecnou morfologii spermií vlaštovky obecné (Tabulka 1).

Tabulka 1: Popisná statistika morfologie spermií vlaštovky obecné na Třeboňsku v roce 2010

proměnná	průměr ± SE	minimum	maximum	N
hlavička (μm)	13,03 ± 0,02	7,42	15,25	2100
krček (μm)	60,61 ± 0,08	39,96	69,75	2100
bičík (μm)	16,54 ± 0,10	5,98	41,08	2100
délka spermie (μm)	90,18 ± 0,06	79,86	99,56	2100
CV _{ms}	2,96	-	-	2100
CV _{vs}	1,93 ± 0,06	1,27	3,35	70

Průměrná motilita byla spočítána pro samce neovlivněné manipulací (Tabulka 2).

Tabulka 2: Motilita a velikost výčnělku kloaky samců vlaštovky obecné na Třeboňsku v roce 2010

proměnná	průměr±SE	minimum	maximum	CV _{ms}	N
VCL (μm.s ⁻¹)	80,33±1,16	57,99	112,69	14,48	54
objem v.k. (mm ³)	136,03±2,79	66,60	254,39	28,15	73
obsah v.k. (mm ²)	36,12±0,50	21,15	54,83	18,95	73

Velikost výčnělku kloaky, odpovídající množství vyprodukovaných spermií, je velice variabilní během sezóny (Tabulka 2), a to jak mezi samci ($CV_{ms} = 18,95$; $N = 73$), tak i v rámci samce (průměrný $CV_{vs} = 13,12$; $N = 48$).

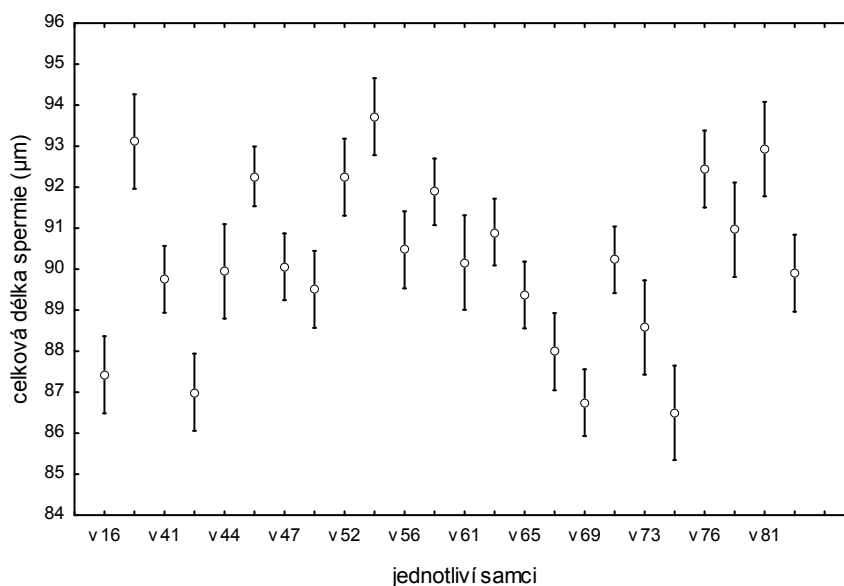
3.1.1. Morfologie spermií

Celková délka spermie je nejčastěji užívaný morfologický znak spermie. Dalším možným vyjádřením vlastností spermie je relativní délka krčku, která je podílem délky krčku k celkové délce spermie. Korelační matice prokazuje, že délka spermie je velmi dobře korelována se všemi ostatními znaky spermie (Tabulka 3).

Tabulka 3: Korelační matice částí spermie: hlavička, krček, bičík, flagellum, relativní délka krčku a celková délka spermie (uveden je Spearmanův korelační koeficient, tučně označené korelační koeficienty jsou významné na hladině $p < 0,05$)

proměnná	krček	bičík	flagellum	rel_krček	celková délka
hlavička	-0,03	-0,01	-0,04	-0,14	0,23
krček	—	-0,70	0,14	0,82	0,13
bičík		—	0,55	-0,97	0,53
flagellum			—	-0,37	0,95
relativní_krček				—	-0,40

Obrázek 6: Variabilita v délce spermií mezi samci



Celková délka spermie se mezi samci signifikantně liší (ANOVA: $F_{23,50} = 19,016$; $p < 0,001$). To je také zřejmé z grafu (Obrázek 6), kde je zobrazena průměrná délka spermie a 95% konfidenční interval pro délku spermie každého nemanipulovaného a opakovaně chyceného samce, ze všech odběrů v sezóně.

Pomocí lineární regrese byl zkoumán vztah mezi délkou spermie a variabilitou spermií v rámci ejakulátu (CV_{vs}). Průměrná celková délka spermie nekoreluje s CV_{vs} u jednotlivých samců ($F_{1,65} = 2,853$; $p = 0,096$; $N = 67$).

3.1.2. Opakovatelnost v morfologii spermií

Variabilita spermií v rámci samce je dalším důležitým ukazatelem kvality spermií a koeficient variace (CV) celkové délky spermií je nejčastěji používaným faktorem. CV_{vs} se v našem datovém souboru neliší mezi jednotlivými samci ($F_{23,50} = 1,490$; $p = 0,119$) ani zde není žádná opakovatelnost v rámci samce v průběhu sezóny (Tabulka 5). Koeficient variace celkové délky spermie u samců vlaštoky obecné nekoreluje s průměrnou délkou spermií (sklon = $-0,007 \pm 0,024$; $F_{1,64} = 0,077$; $p = 0,783$; $N = 66$).

Průměrný CV_{vs} délky spermie je výrazně nižší než CV_{ms} délky spermie (Tabulka 1). Z toho vyplývá statisticky významná variabilita v průměrné délce spermie mezi samci (Obrázek 6) a poměrně vysoká opakovatelnost v délce spermie pro jednotlivé samce ($r = 0,56$; $F_{69,2030} = 38,898$; $p < 0,001$). Pomocí výpočtů z analýzy rozptylu bylo zjištěno, že morfologie spermií vykazuje opakovatelnost v rámci ejakulátu od jednotlivých samců (Tabulka 4). Pro hlavičku $r = 0,44$; krček $r = 0,44$; bičík $r = 0,53$ a celkovou délku spermie $r = 0,56$. Do analýzy byla zahrnuta data z prvního odběru v roce 2010.

Tabulka 4: Opakovatelnost jednotlivých komponent spermie z prvního odběru v rámci samce

proměnná	r	df	F	p
hlavička	0,44	69/2030	24,290	0,000
krček	0,44	69/2030	24,811	0,000
bičík	0,53	69/2030	34,258	0,000
celková délka	0,56	69/2030	38,898	0,000

Při hodnocení opakovatelnosti mezi odběry v průběhu jedné sezóny v rámci jednotlivých samců byla použita pouze data od nemanipulovaných samců. K výpočtu

byly použity průměry ze 30 změřených spermií a to vždy ze 3 odběrů ke každému samci (N = 17, Tabulka 5).

Tabulka 5: Opakovatelnost jednotlivých komponent spermie mezi odběry v rámci samce

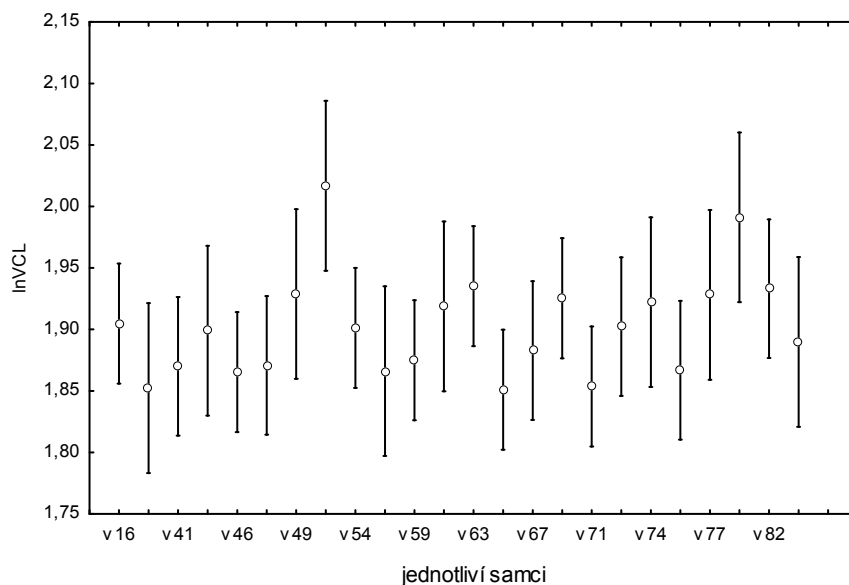
proměnná	r	df	F	p
hlavička	0,66	16/34	6,884	0,000
krček	0,80	16/34	13,288	0,000
bičík	0,84	16/34	17,086	0,000
celková délka	0,85	16/34	17,417	0,000
CV _{total}	0,02	16/34	1,054	0,431

Meziroční opakovatelnost celkové délky spermie počítaná ze dvou odběrů je 0,68 ($F_{17,18} = 5,197$; $p < 0,001$; $N = 18$). Analýza GLMM využívající všech samců, včetně manipulovaných, a zahrnující variabilitu celkové délky spermií (CV_{total}) jako vysvětlovanou proměnnou naznačila absenci jakéhokoliv vztahu této proměnné a data odchyty (srovnání nulového modelu a modelu zahrnujícího lineární efekt data odchyty: $\chi^2 = 0,258$; $\Delta df = 1$; $p = 0,61$; srovnání modelu zahrnujícího lineární efekt data odchyty a kvadratický efekt data odchyty: $\chi^2 = 0,363$; $\Delta df = 1$; $p = 0,54$; $N = 137$ pozorování, 48 jedinců), a také model s délkou spermie jako vysvětlovanou proměnnou potvrdil předchozí závěr – nebyl nalezen žádný průkazný vztah mezi datem odchyty a délkou spermie (srovnání nulového modelu a modelu zahrnujícího lineární efekt data odchyty: $\chi^2 = 3,03$; $\Delta df = 1$; $p = 0,08$; sklon přímky $-0,11 \pm 0,061$; srovnání modelu zahrnujícího lineární efekt data odchyty a kvadratický efekt data odchyty: $\chi^2 = 0,499$; $\Delta df = 1$; $p = 0,480$; $N = 137$ pozorování, 48 jedinců). Morfologie spermií je tak stabilním znakem v průběhu sezóny a délka spermie se nezměnila ani mezi jednotlivými roky v rámci jednotlivých samců (párový t-test: $N = 18$; $df = 17$; $t = -1,518$; $p = 0,147$).

3.1.3. Motilita spermií

Motilita se mezi samci signifikantně liší (ANOVA: $F_{23,46} = 1,877$; $p = 0,034$). To je také zřejmé z grafu (Obrázek 7), kde je zobrazena průměrná motilita spermií a 95% konfidenční interval pro každého nemanipulovaného samce.

Obrázek 7: Variabilita v motilitě spermií mezi samci



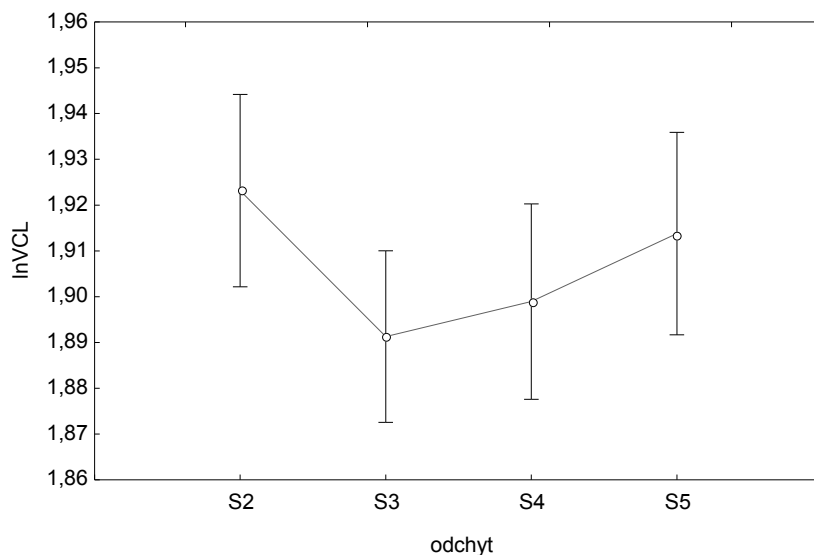
Při hodnocení opakovatelnosti mezi odběry v rámci jednotlivých samců byla použita pouze data od nemanipulovaných samců. K výpočtu byla použita měření vždy ze dvou odběrů ke každému samci, $N = 24$. Mezi dvěma odběry v průběhu jedné sezóny je opakovatelnost v rámci samců $r = 0,44$. Analýza GLMM zahrnující všechny samce a motilitu jako vysvětlovanou proměnnou naznačila absenci vztahu mezi datem odchyty a motilitou (srovnání nulového modelu a modelu zahrnujícího lineární efekt data odchyty: $\text{Chi}^2 = 0,148$; $\Delta\text{df} = 1$; $p = 0,700$), avšak zřejmý pokles v motilitě spermií ve středu námi sledovaného období sezóny (Obrázek 8, srovnání modelu zahrnujícího lineární efekt data odchyty a kvadratický efekt data odchyty: $\text{Chi}^2 = 5,78$; $\Delta\text{df} = 1$; $p = 0,016$; 128 pozorování, 44 jedinců, sklon kvadratického členu: $0,012 \pm 0,005$).

3.1.4. Velikost výčnělku kloaky

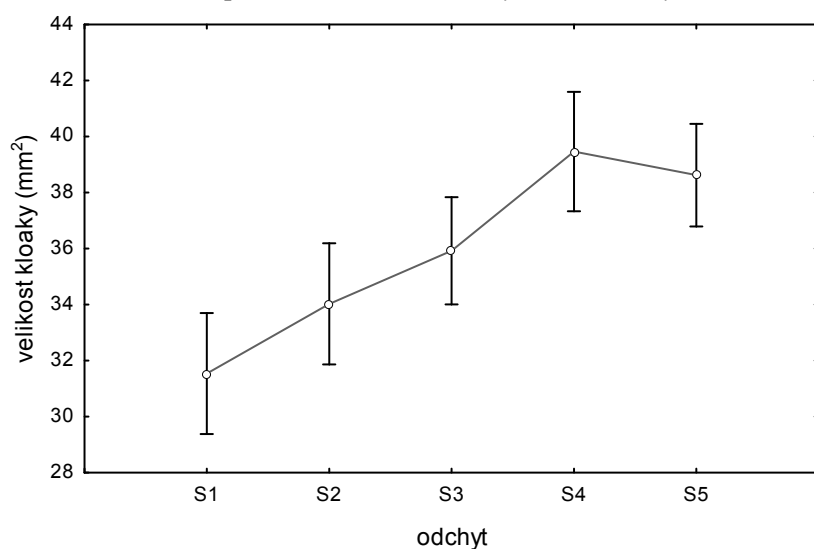
V následujících analýzách byl jako zástupná hodnota velikosti výčnělku kloaky používán jen obsah jeho základny (viz metodika, kapitola 2.3.3.). V průměru za celou sezónu se ve velikosti výčnělku kloaky jednotliví samci mezi sebou neliší (ANOVA: pouze pro nemanipulované samce: $F_{60,62} = 1,027$; $p = 0,458$ a pro všechny samce: $F_{70,117} = 1,260$; $p = 0,135$). Velikost kloakální protuberance samců se ovšem jednoznačně mění v průběhu hnízdní sezóny (Obrázek 9). Analýza GLMM zahrnující velikost kloaky jako vysvětlovanou proměnnou naznačila vztah mezi datem odchyty a tímto parametrem

(srovnání nulového modelu a modelu zahrnujícího lineární efekt data odchyty: $\chi^2 = 12,83$; $\Delta df = 1$; $p < 0,001$; sklon: $2,067 \pm 0,52$; $N = 91$ pozorování a 21 samců), nikoliv však nelineární vztah (srovnání modelu zahrnujícího lineární efekt data odchyty a kvadratický efekt data odchyty: $\chi^2 = 0,277$; $\Delta df = 1$; $p = 0,598$).

Obrázek 8: Sezónní proměnlivost motility spermií. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé odchytové akce. Prezentována jsou data neošetřená na individualitu jednotlivých samců



Obrázek 9: Sezónní proměnlivost velikosti výčnělku kloaky



3.1.5. Motilita spermií a velikost výčnělku kloaky

Na základě předchozích prací (Fitzpatrick et al. 2007) a vlastních preliminárních studií je zřejmé, že proměnné lnVCL, lnVAP a lnVSL jsou silně korelované ($N = 32$; $r = 0,97$; $p < 0,05$), proto byla pro další výpočty použita pouze lnVCL.

Pomocí lineární regrese, kde byla závislá proměnná lnVCL a nezávislá proměnná velikost kloaky, byl ověřen vztah těchto dvou charakteristik (Tabulka 6). Z prvního odběru (S1) nejsou k dispozici data pro motilitu, proto S1 není ve výsledcích zahrnuto. Nebyla prokázána závislost motility na velikosti výčnělku kloaky.

Tabulka 6: Závislost motility na velikosti výčnělku kloaky podle času v sezóně

čas v sezóně	sklon \pm SE	F	df	p
S2	0,001 \pm 0,002	0,216	1/18	0,648
S3	0,002 \pm 0,002	0,887	1/21	0,357
S4	-0,001 \pm 0,004	0,030	1/16	0,866
S5	0,001 \pm 0,002	0,094	1/27	0,762
S2-S5	0,001 \pm 0,001	0,313	1/88	0,577

3.1.6. Vztah mezi morfologií a motilitou spermií

Pro zjištění vztahu mezi morfologií a motilitou spermií byl nejprve sestaven plný model s motilitou jako vysvětlovanou proměnnou a délkou hlavičky, relativní délkou hlavičky, poměrem hlavičky k flagellu, délkou krčku, relativní délkou bičíku, délkou flagella, relativní délkou flagella, poměrem krčku k bičíku a celkovou délkou spermie jako vysvětlujícími proměnnými. Pomocí funkce drop1 (Tabulka 7) byly určeny charakteristiky spermií, které ovlivňují motilitu.

Po odebrání nesignifikantních proměnných byl získán minimální adekvátní model pro motilitu spermií (Tabulka 8). Signifikance jednotlivých proměnných v modelu jsou ošetřeny na efekt ostatních proměnných (Type III Sum of Squares). Model mnohonásobné lineární regrese, kde lnVCL byla vysvětlovaná proměnná a celková délka spermie, hlavičky, krčku a relativní délka flagella jako vysvětlující proměnné, byl vysoce průkazný ($F_{4,61}=4,769$; $p=0,002$; $N = 66$).

Tabulka 7: Počáteční plný model pro motilitu ($\ln VCL$)

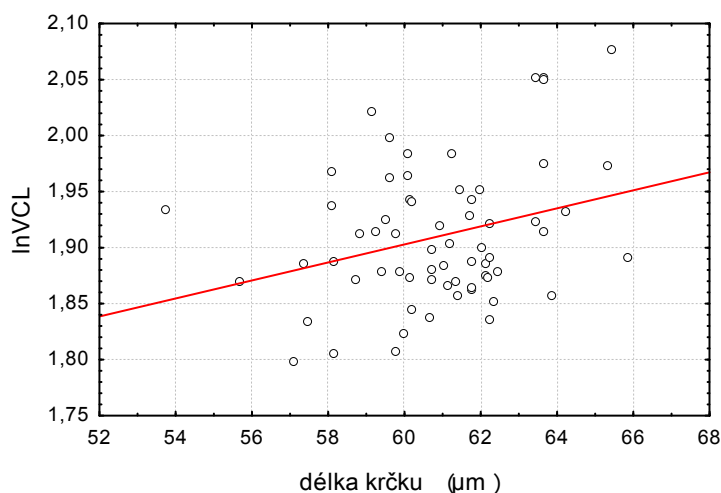
proměnná	AIC	F	p
nulový model	-366,04		
hlavička	-366,97	0,937	0,337
rel_hlavička	-366,04	0,030	0,314
hlavička/flagellum	-367,40	0,559	0,458
krček	-368,03	0,013	0,910
rel_bičík	-368,04	0,002	0,962
flagellum	-367,58	0,401	0,529
rel_flagellum	-366,04	0,030	0,314
krček/bičík	-368,04	0,000	0,996
celková délka spermie	-367,51	0,462	0,499

Tabulka 8: Minimální adekvátní model pro motilitu, $N = 66$; $F_{4,61}=4,769$; $p=0,002$

proměnná	AIC	sklon \pm SE	F	p
nulový model	-373,06			
hlavička	-369,90	-1,304 \pm 0,590	4,959	0,030 *
krček	-361,98	0,010 \pm 0,003	13,372	0,001 ***
rel_flagellum	-369,97	-115,606 \pm 52,676	4,884	0,031 *
celk. délka spermie	-369,75	0,190 \pm 0,085	5,106	0,027 *

Z výsledků v tabulce (Tabulka 8) vyplývá, že všechny tyto proměnné jsou statisticky průkazné pro vysvětlovanou proměnnou $\ln VCL$. Rychlejší spermie mají kratší hlavičku, delší krček (Obrázek 10), menší relativní délku flegella a větší celkovou délku spermie. Model vysvětluje 24% z celkové variability v motilitě spermíí.

Obrázek 10: Graf závislosti motility na délce krčku spermie



Výsledky samostatných regresí, kde jako vysvětlovaná proměnná byla motilita spermií, byly průkazné pouze pro délku krčku ($F_{1,64} = 11,900$; $p = 0,001$; $N = 66$), ale nebyly průkazné pro délku hlavičky ($F_{1,64} = 0,305$; $p = 0,583$; $N = 66$), relativní délku flagella ($F_{1,64} = 1,030$; $p = 0,314$; $N = 66$) ani celkovou délku spermie ($F_{1,64} = 0,924$; $p = 0,340$; $N = 66$).

3.2. Druhotný ornament samců

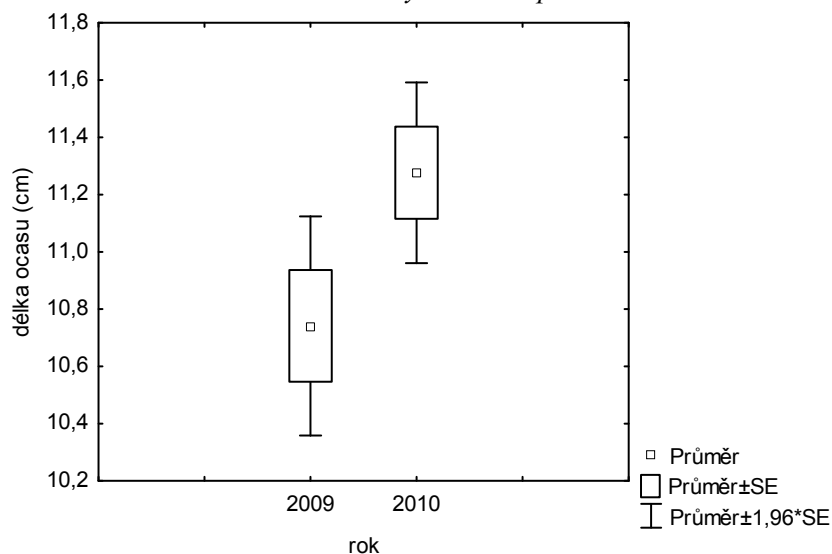
Obecné charakteristiky druhotného ornamentu samců pro rok 2010 jsou shrnuty v tabulce (Tabulka 9). Do statistiky byli zahrnuti pouze samci s nepoškozenými konci rýdovacích per ($N = 64$). Při zjišťování vztahu délky rýdovacích per a jejich asymetrie byl použit neparametrický test, protože hodnoty asymetrie rýdovacích per neodpovídaly normálnímu rozložení. Nebyla nalezena průkazná korelace asymetrie ocasních per s jejich délkou (Spearmanův koeficient korelace $R = 0,216$; $p = 0,087$; $N = 64$). Velikost plochy bílých skvrn na ocase nekorelovala s délkou rýdovacích per ($F_{1,62} = 0,117$; $p = 0,733$; $N = 64$).

Tabulka 9: Obecné charakteristiky druhotného ornamentu samců pro rok 2010

proměnná	průměr \pm SE	minimum	maximum	CV _{ms}
délka ocasních per (cm)	10,93 \pm 0,10	8,95	13,05	7,46
asymetrie (cm)	0,18 \pm 0,02	0,00	0,90	93,03
plocha skvrn (mm ²)	294,33 \pm 6,30	194,71	475,14	16,97

Délka ocasu samců se mezi roky signifikantně změnila (párový t-test: $N = 17$; $df = 16$; $t = -3,908$; $p = 0,001$). O rok starší samci měli průměrně o 0,54 cm delší ocasní pera (Obrázek 11). Symetrie ocasních per zůstala nezměněná (párový t-test: $N = 17$; $df = 16$; $t = -0,298$; $p = 0,770$). Informace o zbarvení a velikosti skvrn nejsou pro rok 2009 k dispozici. Délka tarsu se nezměnila (párový t-test: $N = 19$; $df = 18$; $t = 1,657$; $p = 0,115$) a stejně tak délka křídla zůstala stejná ($N = 19$; $df = 18$; $t = -0,609$; $p = 0,550$).

Obrázek 11: Meziroční změna délky ocasních per



3.2.1. Vztah mezi ornamentem a morfologií

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, krček, flagella, bičíku a celková délka spermie). Použita byla měření z prvního odběru ejakulátu, kdy ještě žádný ze samců nebyl ovlivněn manipulací. Faktor 1 vysvětluje 50,8% variability a jeho eigenvalue je 2,54 a faktor 2 vysvětluje 28,8% variability a jeho eigenvalue je 1,10 a faktor 3 vysvětluje 20,4% variability a jeho eigenvalue je 1,02.

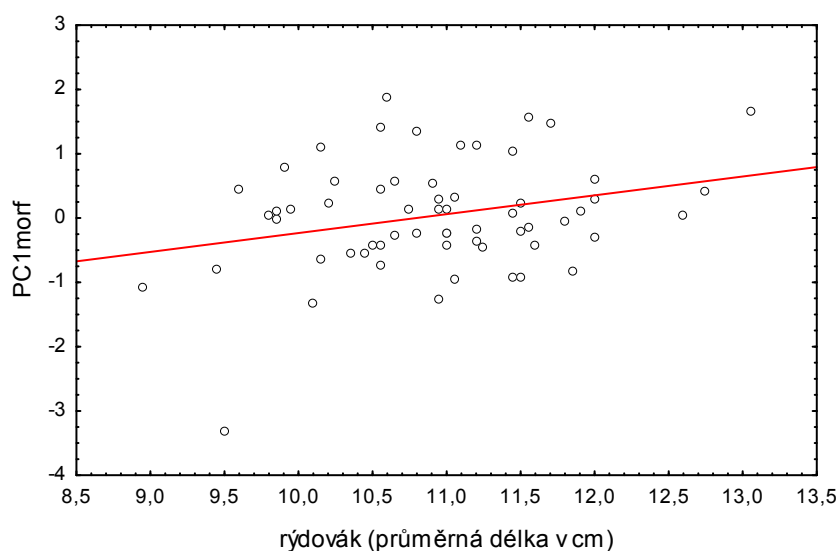
Tabulka 10: Korelace faktorů PCA analýzy a jednotlivých proměnných charakteristik spermie

proměnná	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3
eigenvalue	2,54	1,44	1,02
vysvětlená variabilita %	50,8	28,8	20,4
hlavička	-0,103	0,215	0,971
krček	0,467	0,871	-0,152
bičík	-0,885	-0,466	-0,008
flagellum	-0,872	0,432	-0,230
celková délka spermie	-0,877	0,479	0,041

Z tabulky (Tabulka 10) vyplývá, že ptáci s nižšími hodnotami faktoru 1 (PC1) mají delší flagellum, bičík a celkovou délku spermie, ale kratší krček. Naopak samci s vyššími hodnotami PC1 mají kratší spermie.

Pro další analýzy vztahu ornamentu a ostatních proměnných byl použit pouze faktor 1 ($PC1_{\text{morf}}$). Vztah jednotlivých ornamentů a faktoru 1 byl počítán pomocí mnohonásobné regrese, kde byla PC1 pro morfologii spermií jako závislá proměnná, plocha ocasních skvrn (skvrny), průměrná délka rýdovacích per (ocas), a flukuační asymetrie ocasu (symetrie) jako nezávislé proměnné. Po odstranění nesignifikantních proměnných z plého modelu zbyla v minimálním adekvátním modelu pouze jedna průkazná proměnná - délka ocasních per. Délka ocasu predikuje morfologii spermie (sklon = $0,293 \pm 0,131$; $F_{1,59} = 4,992$; $p = 0,029$; $N = 61$, Obrázek 12).

Obrázek 12: Vztah morfologie spermie a délky ocasních per



Čím větší je délka rýdovacích per, tím vyšší je $PC1_{\text{morf}}$, což znamená kratší spermie, flagellum a bičík (negativní korelace těchto charakteristik s PC1, Tabulka 10). Pokud je ale do modelu zahrnuta jako vysvětlovaná proměnná celková délka spermie namísto $PC1_{\text{morf}}$, není možno dosáhnout minimálního adekvátního modelu, takže žádný vztah ornamentu a celkové délky spermie není průkazný ($F_{3,57} = 0,718$; $p = 0,546$; $N = 61$). Byla testována i nelinearita vztahu mezi délkou spermie a délkou ocasních per porovnáváním lineárního a kvadratického vztahu, avšak ani tento vztah není průkazný ($F_{1,63} = 0,015$; $p = 0,902$; $N = 65$).

Zbarvení bylo měřeno na třech různě barevných oblastech – zádech, hrdle a břiše. Byly spočítány korelace pro jednotlivé složky barvy a pro jednotlivé oblasti (Tabulka

11). Většina komponent zbarvení spolu korelují, jen odstín barvy zad a břicha není korelován s žádnou další proměnnou.

Tabulka 11: Korelační matice zbarvení jednotlivých barevných oblastí (uveden je Spearmanův korelační koeficient, tučně označené korelační koeficienty jsou významné na hladině $p < 0,05$)

proměnná	sytost_z	odstín_z	jas_h	sytost_h	odstín_h	jas_b	sytost_b	odstín_b
jas_z	0,55	-0,15	0,50	0,43	0,15	0,32	-0,10	0,06
sytost_z	—	-0,21	0,43	0,28	0,07	0,32	-0,34	0,08
odstín_z		—	0,04	-0,04	0,05	-0,16	0,17	-0,15
jas_h			—	0,74	0,41	0,31	-0,20	-0,01
sytost_h				—	0,35	0,41	0,03	0,05
odstín_h					—	0,14	-0,17	-0,04
jas_b						—	-0,19	0,14
sytost_b							—	-0,02

Pomocí Spearmanovo korelačního testu byl zjišťován vztah mezi všemi jednotlivými složkami zbarvení a morfologií spermií. Celková délka spermie ani $PC1_{\text{morf}}$ nekorelovala s žádnou složkou zbarvení (všechny korelace byly nad hladinou průkaznosti, $p > 0,05$).

Pro zjednodušení analýzy byla pro každou z barevných oblastí z hodnot HSB spočítána analýza PCA. Faktor 1, označen jako $PC1_{\text{záda}}$ pro dorzální zbarvení, $PC1_{\text{břicho}}$ pro barvu břicha a $PC1_{\text{hrdlo}}$ pro zbarvení hrdla, vysvětluje jednotlivě 53%, 41% a 67% variability a byl použit jako zástupná hodnota pro každou barevnou oblast (Tabulka 12).

Tabulka 12: Korelace faktoru 1 tří PCA analýz a jednotlivých proměnných charakteristik barvy

proměnná	$PC1_{\text{záda}}$	$PC1_{\text{břicho}}$	$PC1_{\text{hrdlo}}$
eigenvalue	1,58	1,24	2,01
vysvětlená variabilita %	0,53	0,41	0,67
tón	0,405	-0,699	0,727
sytost	-0,855	-0,778	0,812
jas	-0,827	-0,385	0,909

Z tabulky (Tabulka 12) vyplývá, že ptáci s nižším $PC1_{\text{záda}}$ mají sytější a jasnější dorzální opeření. Ptáci s nižším $PC1_{\text{břicho}}$ mají sytější břicho a jedinci s nižším $PC1_{\text{hrdlo}}$ mají více červené, ale méně syté a jasné hrdlo. Zbarvení hrdla a dorzální zbarvení jsou vzájemně korelované, zbarvení břicha nekoreluje s ostatními barevnými oblastmi (Tabulka 13).

Tabulka 13: Korelační matice zbarvení jednotlivých barevných oblastí (uveden je Spearmanův korelační koeficient, tučně označené korelační koeficienty jsou významné na hladině $p < 0,05$)

proměnná	PC1 _{záda}	PC1 _{břicho}	PC1 _{hrdlo}
PC1 _{záda}	—	0,009	-0,420
PC1 _{břicho}		—	-0,014

Ke zjištění vztahu ornamentálního zbarvení k morfologii spermií byla použita mnohonásobná regrese, kde byla PC1_{morf} jako závislá proměnná, PC1_{záda}, PC1_{břicho} a PC1_{hrdlo} jako nezávislé proměnné. Odebírání proměnných nevedlo ke zjednodušení modelu. Výsledky plného modelu ($N = 64$; $F_{3/60} = 0,739$; $p = 0,533$) jsou shrnuty v tabulce (Tabulka 14).

Tabulka 14: Výsledky plného modelu mnohonásobné regrese pro morfologii

proměnná	sklon \pm SE	F	p
PC1 _{morf}			
PC1 _{záda}	-0,155 \pm 0,131	1,401	0,241
PC1 _{břicho}	0,127 \pm 0,128	0,989	0,324
PC1 _{hrdlo}	-0,020 \pm 0,127	0,021	0,884

Mezi zbarvením a morfologií spermií nebyl žádný vztah prokázán. Stejně tak pro mnohonásobnou regresi, kde jako vysvětlovaná proměnná byla použita celková délka spermie a vysvětlujícími proměnnými byly jednotlivé složky zbarvení (PC), nebyla prokázána jakákoli závislost ($F_{3,60} = 0,583$; $p = 0,629$; $N = 64$). Variabilita spermií nekoreluje s ornamenty ($F_{3,57} = 0,324$; $p = 0,808$; $N = 61$), ani se zbarvením ($F_{3,60} = 0,771$; $p = 0,515$; $N = 64$). Ve všech případech nebylo dosaženo průkazného minimálního adekvátního modelu.

3.2.2. Vztah mezi ornamentem a motilitou

Motilita byla počítána jako průměr ze všech odběrů v sezóně, proto byli do analýzy zahrnuti jen nemanipulovaní samci, a tím pádem byl nižší počet pozorování v souboru dat. Jako jednotlivé složky ornamentu byly do plného modelu zahrnuty plocha ocasních skvrn (skvrny), délka rýdovacích per (ocas), fluktuální asymetrie ocasu (symetrie), zbarvení zad (PC1_{záda}), zbarvení břicha (PC1_{břicho}) a zbarvení hrdla (PC1_{hrdlo}). Jako váha byl zahrnut počet odběrů, ze kterých byla spočítána průměrná motilita.

Postupné odebrání nesignifikantních proměnných nevedlo k průkaznému minimálnímu adekvátnímu modelu. Výsledky plného modelu ($N = 35$; $F_{6,28} = 0,940$; $p = 0,483$) jsou shrnuty v tabulce (Tabulka 15).

Tabulka 15: Výsledky plného modelu mnohonásobné regrese pro motilitu

proměnná	sklon \pm SE	F	p
lnVCL			
skvrny	$3 \times 10^{-4} \pm 1 \times 10^{-4}$	1,403	0,246
ocas	$-0,014 \pm 0,011$	1,474	0,235
symetrie	$-0,003 \pm 0,010$	0,075	0,787
PC1 _{záda}	$-0,007 \pm 0,009$	0,584	0,451
PC1 _{hrdlo}	$-0,016 \pm 0,010$	2,661	0,114
PC1 _{břicho}	$0,007 \pm 0,010$	0,459	0,504

Protože v pozdějších analýzách (viz kapitola 3.3.2.) nebyl potvrzen vliv manipulace na motilitu spermií, byla spočítána stejná mnohonásobná regrese, avšak se zahrnutím dat od všech samců (manipulovaných i nemanipulovaných). Bylo dosaženo minimálního adekvátního modelu se dvěma členy průkaznými (Tabulka 16).

Tabulka 16: Minimální adekvátní model pro motilitu, $N = 54$; $F_{2,51} = 5,482$; $p = 0,007$

proměnná	sklon \pm SE	F	p
lnVCL			
skvrny	$3 \times 10^{-4} \pm 1 \times 10^{-4}$	6,070	0,017
PC1 _{hrdlo}	$-0,014 \pm 0,006$	4,530	0,038

Výsledky samostatných regresí, kde jako vysvětlovaná proměnná byla motilita spermií, byly průkazné pro obě proměnné: zbarvení hrdla ($F_{1,52} = 4,458$; $p = 0,040$) a velikost skvrn ($F_{1,52} = 6,025$; $p = 0,018$). Samci s větší plochou bílých skvrn na ocase a s méně sytým a méně jasným hrdlem mají rychlejší spermie.

3.3. Manipulativní experiment

Na začátku experimentu byla porovnána morfologie samců a fenotyp spermií skupiny manipulovaných a skupiny nemanipulovaných samců. Samci z obou skupin se mezi sebou prokazatelně nelišili (ANOVA, Tabulka 17).

Tabulka 17: Srovnání manipulovaných a nemanipulovaných samců na začátku sezóny

proměnná	df	F	p
křídlo	1/68	0,002	0,962
tarsus	1/68	0,134	0,715
hmotnost	1/65	0,101	0,751
ocas	1/67	1,103	0,297
délka spermie	1/60	0,225	0,637
CV _{vs}	1/60	0,943	0,335
motilita	1/32	0,001	0,982
kloaka	1/67	2,086	0,153

3.3.1. Vliv manipulace na morfologii spermií

Vliv manipulace - zkrácení o 2 cm - nemusí být na všechny samce stejný. Na samce s původně kratším ocasem bude mít pravděpodobně větší vliv než na původně dlouhoocasé samce. Na skupině samců, u kterých byla změřena morfologie spermií před manipulací a poté znovu po 3 až 4 týdnech od manipulace byl testován tento vliv určením vztahu délky ocasních per a změny v délce spermie a změny CV. Tento předpoklad se však neukázal průkazný ani pro celkovou délku spermie ($N = 17$; $F_{1,15} = 0,082$; $p = 0,779$), ani pro změnu CV ($N = 17$; $F_{1,15} = 0,017$; $p = 0,898$). Původní délka ocasních per proto nebyla dále uvažována.

Pomocí faktoriální ANOVY byla zkoumána interakce mezi prvním a druhým odběrem a mezi manipulovanými a nemanipulovanými samci. Změna celkové délky spermie nebyla prokázána ($F_{1,74} = 0,024$; $p = 0,878$). Vliv interakce byl zjišťován i srovnáním dvou modelů lineární regrese. Vliv interakce nebyl průkazný ani v případě celkové délky spermie (Tabulka 18), alni v případě koeficientu variace celkové délky spermie (CV_{total}, Tabulka 19).

Tabulka 18: Vliv interakce manipulace a odchyty na délku spermie

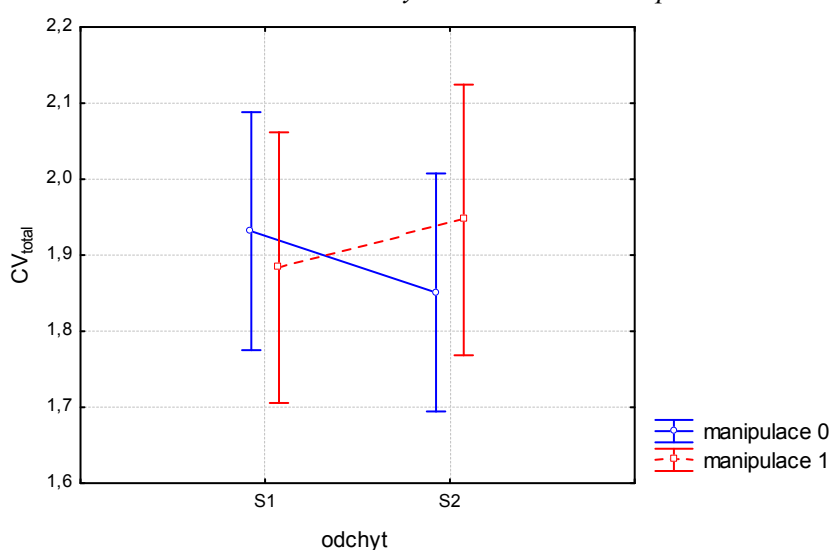
proměnná	sklon ± SE	t	p
délka spermie			
manipulace	-0,107 ± 0,634	-0,169	0,866
odchyt	-0,509 ± 0,625	-0,816	0,418
odchyt:manipulace	0,394 ± 0,896	0,443	0,659

Tabulka 19: Vliv interakce manipulace a odchytku na variabilitu spermií (CV_{total})

proměnná	sklon \pm SE	t	p
CV_{total}			
manipulace	-0,022 \pm 0,036	-0,625	0,534
odchyt	-0,006 \pm 0,035	-0,171	0,864
odchyt:manipulace	0,065 \pm 0,051	1,290	0,202

Ačkoliv graf (Obrázek 13) ukazuje, že variabilita v morfologii se snížila u nemanipulovaných samců (manipulace 0) a naopak se zvýšila u manipulovaných samců (manipulace 1), tato změna CV nebyla signifikantní ($F_{1,74} = 0,725$; $p = 0,397$).

Obrázek 13: Změna CV mezi odběry v závislosti na manipulaci ornamentu

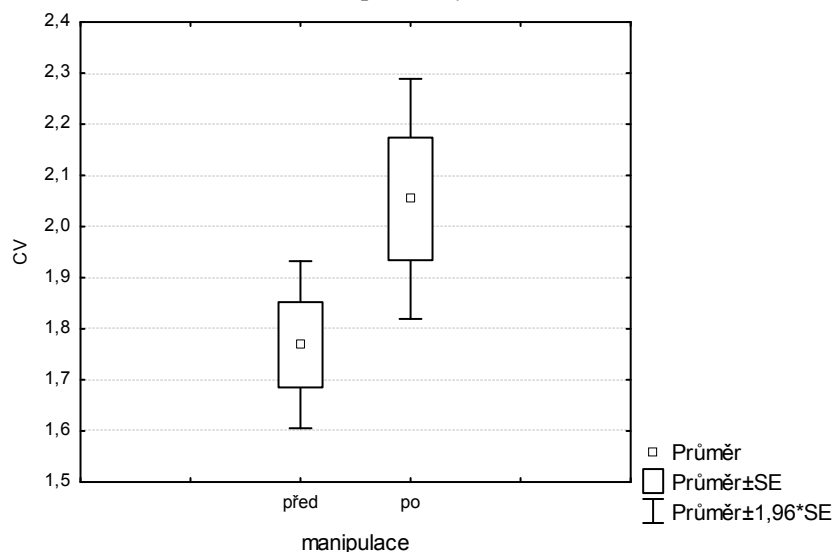


Na skupině 17 manipulovaných samců, u kterých byla změřena morfologie spermií před manipulací a poté znovu po 3 až 4 týdnech od manipulace, byla testována změna jednotlivých charakteristik spermií. Výsledky párového t-testu jsou shrnuty v tabulce (Tabulka 20). Manipulace neměla prokazatelný vliv na žádnou z charakteristik spermií. Pouze variabilita spermií v rámci ejakulátu vzrostla (Obrázek 14), ale ani tato změna nebyla průkazná ($p = 0,072$).

Tabulka 20: Vliv manipulace na morfologii spermií (výsledky párových t-testů)

proměnná	df	t	p
hlavička	16	-0,216	0,832
krček	16	0,573	0,574
bičík	16	-0,284	0,780
celková délka spermie	16	0,452	0,657
CV_{total}	16	-1,927	0,072

Obrázek 14: Změna CV u manipulovaných samců



3.3.2. Vliv manipulace na motilitu spermií

Ke zjištění změny motility byl použit párový t-test. Bohužel data o motilitě z prvního odchyty nemohla být zahrnuta do analýzy, proto je k dispozici pouze omezené množství dat pro srovnání motility párovým testem před manipulací a po manipulaci. U nemanipulovaných samců se motilita spermií mezi prvním a druhým odchytem v sezóně nezměnila ($N = 9$; $df = 8$; $t = -0,137$; $p = 0,894$) a ani u manipulovaných samců se motilita spermií nezměnila ($N = 8$; $df = 7$; $t = -0,105$; $p = 0,919$).

Pomocí faktoriální ANOVY byla zkoumána interakce mezi prvním a druhým odběrem a mezi manipulovanými a nemanipulovanými samci. Manipulace neměla vliv na motilitu spermií ($F_{1,30} = 0,036$; $p = 0,850$; $N = 17$).

Manipulace neměla průkazný vliv na velikost kloaky, čili na množství vyprodukovaných spermií, po celou dobu sezóny ($F_{4,178} = 0,338$; $p = 0,852$).

4. Diskuze

Fenotyp spermií se zdá být charakteristickým znakem nejenom pro jednotlivé druhy (Briskie & Montgomerie 2007), ale i pro každého samce v rámci jednoho druhu (Birkhead & Fletcher 1995; Laskemoen et al. 2007; Møller et al. 2008a). Všechny komponenty spermie v prezentované práci vykazovaly dobrou opakovatelnost mezi jednotlivými odběry během sezóny. Pouze u koeficientu variace nebyla ve studované populaci prokázána opakovatelnost mezi odběry.

U vlaštovky obecné byla již dříve nalezena souvislost mezi celkovým reprodukčním úspěchem samce a jeho druhotnými ornamenty (Møller 1988; 1993; 1994; Saino et al. 1997; Kose et al. 1999; Safran & McGraw 2004). Vysoké procento mimopárových paternit naznačuje, že u tohoto druhu je poměrně vysoká míra kompetice spermií (Saino et al. 1997; Kleven et al. 2006). Reprodukční úspěch samce tak může být ovlivňován samičí preferencí pro určitý znak nebo přímo kvalitou spermií samce, které jsou úspěšnější v kompetici spermií od ostatních samců. V předložené práci je ukázáno, že ornament samce ukazuje na určité znaky morfologie spermií, ale ne na motilitu.

Manipulativní experimenty mohou pomoci odhalit příčinné souvislosti určitých vztahů či vlastností. Fenotyp spermií může souviset s kondicí samce (Helfenstein et al. 2010a) a s jeho sociálním postavením (Cornwallis & Birkhead 2007). V naší studii se však fenotyp spermií po snížení atraktivity a kondice samce prokazatelně nezměnil. Všechny zjištěné skutečnosti jsou dále diskutovány.

4.1. *Morfologie spermií*

Snadnost a rychlost odběru spermií u pěvců pomocí masáže kloaky umožňuje poměrně jednoduché a časté odebírání ejakulátů samců, a potažmo i sledování opakovatelnosti a stability znaků spermií v průběhu hnízdní sezóny a mezisezónně. V této práci byla u vlaštovky obecné nalezena podstatná vnitrodruhová variabilita v morfologii spermií a bylo zjištěno, že spermie jsou více proměnlivé mezi samci než v rámci samce. Existují záznamy o variabilitě v délce spermií mezi samci (Birkhead &

Fletcher 1995; Tuttle et al. 1996; Birkhead et al. 2005; Birkhead et al. 2006; Helfenstein et al. 2008; Kleven et al. 2008; Helfenstein et al. 2010b; Laskemoen et al. 2010). Ale pouze několik studií uvádí informace o variabilitě mezi samci a zároveň v rámci samce (Dixon & Birkhead 1997; Laskemoen et al. 2007). Laskemoen et al. (2007) došli ve své studii na dvou druhích pěvců k závěru, že CV mezi samci je vyšší než CV v rámci samce, stejně jako ukazuje předložená práce. Ale z práce Dixon and Birkhead (1997) vyplývá, že u strnada rákosního je vyšší variabilita v morfologii spermií v rámci samce než variabilita mezi samci, což je opačný trend, než který je prezentován zde na vlaštovkách. Je možné, že důvod opačného výsledku v této studii (Dixon a Birkhead 1997) je pouze artefaktem malé velikosti vzorku. Údaje byly známy pouze pro 4 samce, což může vést k nepřesnému odhadu CV (Laskemoen et al. 2007). Pokud je CV_{ms} větší než CV_{vs} , můžeme říci, že z toho vyplývá vysoká konzistence čili opakovatelnost morfologie spermií v rámci samce, která byla už dříve nalezena také u zebřiček (Birkhead & Fletcher 1995), strnadů a budníčků (Laskemoen et al. 2007), a vlaštovek (Møller et al. 2008a).

U samců chycených opakovaně v roce 2009 a 2010 se průměrná délka spermie mezi jednotlivými roky nezměnila. I v tomto znaku byla nalezena poměrně vysoká meziroční opakovatelnost. Ta byla u vlaštovky obecné již dříve pozorována (Møller et al. 2008a). Na rozdíl od velikosti ornamentu je tak morfologie spermií stabilní znak mezi jednotlivými sezónami.

Ačkoli morfologické znaky spermií jsou u pěvců v čase poměrně stabilní (Birkhead & Fletcher 1995; Laskemoen et al. 2007; Møller et al. 2008a) a v rámci samce se během sezóny ani mezi roky příliš nemění (viz níže), některé studie naznačují, že se může jednat do určité míry o plastický znak, ovlivnitelný fází hnízdního cyklu (Laskemoen, nepubl.) nebo sociálním postavením samce (Immler et al. 2010). Důvodem jsou patrně změny v hladině testosteronu a s tím související ovlivnění mechanismu spermatogeneze.

U vlaštovky byla v rámci jednoho ejakulátu nelezena nižší opakovatelnost délky spermie než mezi průměry z různých odběrů ejakulátu od jednoho samce. To znamená, že průměrná délka spermie se u jednotlivých samců nemění, ale CV_{vs} kolísá. Proto také nebyla zjištěna žádná opakovatelnost pro CV_{vs} mezi jednotlivými odběry. CV bylo určováno na základě 30 změřených spermií, což by mělo být dostatečné množství k dosti přesnému určení variability (Laskemoen et al. 2007) a nestejný CV mezi odběry není tedy způsoben nepřesností odhadu. Pokud by byl CV_{vs} v průběhu sezóny náhodně proměnlivý, pak by tato charakteristika nemohla být vypovídajícím parametrem kvality

samce. Naopak může souviset se subtilními změnami v hladinách hormonů a rychlostí spermatogeneze.

Průměrná celková délka spermie nekoreluje s CV_{vs} u jednotlivých samců vlaštovky obecné. Negativní spojitost byla prokázána na mezidruhové úrovni (Kleven et al. 2008). V této práci byl sice nalezen také negativní vztah, ale pouze nad hladinou průkaznosti ($p = 0,096$). 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 proto měli být kvalitnější, ačkoli empirické studie tento předpoklad nepotvrzují: mezi variabilitou spermií a reprodukčním úspěchem nebyl u vlaštovky stromové pozorován žádný vztah (Laskemoen et al. 2010). Jaká je spojitost morfologických znaků spermií a samčí fitness není doposud známo.

4.2. Motilita spermií

Kvalita spermií je dána mimo jiné také jejich motilitou. Motilita byla hodnocena jako rychlost na celkové trajektorii, kterou spermie proplavala (VCL). Průměrná rychlost spermií vlaštovky obecné na Třeboňsku v roce 2010 byla $81,8 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ a opakovatelnost mezi dvěma odběry byla 0,44. To přibližně odpovídá rychlosti spermií naměřené u vlaštovek na Ukrajině ($VCL = 78,8 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, Møller et al. 2008b) a také ve Španělsku ($VCL = 96,1 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, Møller et al. 2009). Opakovatelnost mezi dvěma odběry byla v ukrajinské studii dvakrát nižší ($r = 0,21$; $N = 10$) než ve zde prezentovaných výsledcích ($r = 0,44$; $N = 24$). To může být způsobeno nepřesností odhadu kvůli malému vzorku v publikované studii, protože metodika měření motility byla v obou pracech v podstatě shodná. Způsob získávání odhadu opakovatelnosti byl navíc odlišný v časovém odstupu odebrání ejakulátu – Møller et al. (2008a) srovnávali motilitu pro ejakuláty odebrané v jeden den, zatímco my jsme srovnávali ejakuláty odebrané po několika týdnech. Tím více by se výsledky mohly zdát překvapivé oproti očekávání a je tím spíše možné, že nízká opakovatelnost motility nalezená v ukrajinské populaci je způsobena nepřesností odhadu. Je také teoreticky možné, že samci jsou omezeni množstvím vyprodukovaných spermií a druhý odběr ejakulátu v krátkém časovém úseku už nemusí být stejně kvalitní jako ten první.

Motilita může být ovlivněna morfologií spermií. Nejčastěji uvažovanými korelátory rychlosti spermií u obratlovců jsou délka krčku, délka bičíku, poměr hlavičky k flagellu a celková délka spermie (Gomendio and Roldan 2008; Fitzpatrick et al. 2009; Lüpold et al. 2009c, Mossman et al. 2009, Helfenstein et al. 2010b, Laskemoen et al. 2010). Výsledky naší studie ukazují, že rychlejší spermie mají kratší hlavičku, delší krček, menší relativní délku flegella a větší celkovou délku spermie. Především délka krčku silně pozitivně koreluje s motilitou spermií a v samostatných jednorozměrných regresích to byla jediná proměnná vysvětlující rychlost plavání spermií. Potvrdili jsme tak jeden z teoretických předpokladů, že krček obsahující mitochondrie je energetickým pohonem spermie (Cardullo & Baltz 1991). Tento vztah byl u ptáků prokázán již dříve na mezidruhové úrovni (Lüpold et al. 2009a, ale viz Kleven et al. 2009) a později také na vnitrodruhové úrovni u vlaštovky stromové (Laskemoen et al. 2010). Nebyl však nalezen vztah mezi motilitou spermií a poměrem hlavičky k flagellu, jak je diskutováno v Humphires et al. (2008) a dokumentováno u vrabců (Helfenstein et al. 2010b), zebřiček (Mossman et al. 2009) a komparativně mezi druhy pěvců (Lüpold et al. 2009a). Ale u některých jiných druhů také nebyl vztah mezi motilitou a poměrem hlavičky k flagellu nalezen (Kleven et al. 2009; Lüpold et al. 2009a; Laskemoen et al. 2010; tato práce), což může dokládat rozdílné evoluční strategie mezi různými druhy ptáků. Obecně výsledky naznačují, že rychlost plavání spermií a morfologie spermií nejsou úzce spojené vlastnosti a vyvíjejí se nezávisle v reakci na kompetici spermií u pěvců.

4.3. Množství spermií

Velikost výčnělku kloaky, odpovídající množství vyprodukovaných spermií (Tuttle et al. 1996; Peer et al. 2000; Tuttle & Pruett-Jones 2004) je velice variabilní znak a to jak mezi samci ($CV_{ms} = 18\%$), tak v rámci samce ($CV_{vs} = 13\%$). Vysoká variabilita v tomto znaku byla zjištěna i u jiných druhů (Laskemoen et al. 2010). V průměru za celou sezónu se ve velikosti výčnělku kloaky jednotliví samci mezi sebou neliší, což je zřejmě způsobeno tím, že velikost kloakální protuberance samců se mění v průběhu hnízdní sezóny a tato změna je větší než rozdíly mezi samci.

Ve výsledcích práce je ukázáno, že velikost výčnělku kloaky se mění během hnízdní sezóny tak, že od května do počátku července se zvětšuje a poté už tato velikost

opět pomalu začíná klesat. Tato pozorování se shodují s pozorováním u jiného druhu pěvce, čížka lesního (*Carduelis spinus*) (Newton & Dawson 2011). Z roku 2010 však máme údaje o velikosti výčnělku kloaky pouze do poloviny července, přičemž vlaštovky mohou hnízdit až do začátku září. V příštích letech by bylo dobré měřit tento znak až do úplného konce sezóny. Předpoklad je, že po vrcholu sezóny je velikost výčnělku kloaky celkově menší a více kolísavá, jak bylo ukázáno u čížků (Newton & Dawson 2011).

V této práci byl také zkoumán vztah motility spermií a velikosti výčnělku kloaky, který teoreticky ukazuje na množství vyprodukovaných spermií (Tuttle et al. 1996; Peer et al. 2000; Tuttle & Pruett-Jones 2004). Ačkoliv objem kloaky v období hnízdění je korelován s reprodukčním úspěchem u vlaštovek stromových (Laskemoen et al. 2010) a zároveň vyšší motilita spermií predikuje vyšší reprodukční úspěch samce (Birkhead et al. 1999, Froman et al. 2002, Gage et al. 2004), tak těsný vztah těchto dvou parametrů nebyl potvrzen. Na rozdíl od těchto výsledků byla nedávno nalezena pozitivní korelace těchto dvou prediktorů reprodukčního úspěchu (Laskemoen et al. 2010). Nicméně přímo ve studované populaci motilita nesouvisela s reprodukčním úspěchem, takže u vlaštovek stromových může být v kompetici spermií rozhodující množství a ne rychlost spermií, ačkoli jsou tyto vlastnosti korelovány. U vlaštovky obecné nemusejí být tyto vlastnosti pro reprodukční úspěch tak důležité, protože se zde vyskytuje značně nižší míra kompetice spermií. Zatímco u vlaštovky stromové je přibližně polovina mlád'at zplozena mimopárovým otcem (Delmore et al. 2008; Laskemoen et al. 2010), u vlaštovky obecné je to necelá třetina (Smith et al. 1991, Møller a Tegelström 1997, Saino et al. 1997, Møller et al. 2003, Kleven et al. 2006). Rozdílné výsledky mohou signalizovat odlišné evoluční strategie i mezi příbuznými druhy.

4.4. Druhotný ornament samců

Asymetrie ocasních per nekorelovala s jejich délkou. Toto je překvapivé zjištění oproti výsledkům z předchozích studií, kde byla nalezena pozitivní souvislost velikosti ornamentu a jeho symetrie (Møller 1990; Møller 1992a). Neshoda výsledků může ukazovat na to, že jsme neznali a tudíž nemohli ošetřit stáří samců. Tento nedostatek lze napravit až v příštích letech, kdy bude znám věk většiny odchycených samců. Velikost plochy bílých skvrn nekorelovala s délkou rýdovacích per, ačkoli tento vztah byl již dříve

prokázán (Kose & Møller 1999) a to na vyšším počtu pozorovaných samců ($N = 108$) než v této práci ($N = 64$). Nemyslím si, že by výsledky mohly být ovlivněny jiným způsobem měření velikosti skvrn v této práci a v práci Kose & Møller (1999). Zatímco zde byla určována velikost plochy z fotografií, přímým změřením obsahu bílé plochy počítačovým programem, ve zmiňované studii byla změřena pouze délka a šířka každé skvrny a z těchto hodnot byl spočítán přibližný obsah skvrn. Avšak toto určení obsahu by mělo být silně korelováno s reálnou velikostí bílé plochy (Kose et al. 1999; Kose & Møller 1999). Je možné, že nesourodost výsledků je způsobena rozdílností mezi populacemi a pozitivní souvislost plochy skvrn a délky ocasu není obecně platným pravidlem pro všechny populace vlaštovek. K potvrzení této hypotézy by však byl nutný větší vzorek srovnávaných populací z různých evropských či světových lokalit.

Délka ocasu samců se mezi roky změnila tak, že o rok starší samci měli průměrně o 0,54 cm delší ocasní pera. Je známo, že u vlaštovky se délka ocasních per mění s věkem samce (Balbontín et al. 2010; Lifjeld et al. 2011) a tomu odpovídá i prokázaná změna v délce ocasních per. Ostatní morfologické charakteristiky se mezi roky podle předpokladu nezměnily, protože se jednalo o dospělé jedince. Bohužel jsme neznali přesné stáří samců, které by zřejmě mělo vliv na meziroční přírůstek, protože po prvním roce by měla být změna délky ocasních per největší (Balbontín et al. 2010).

4.5. Ornament a fenotyp spermií

Mezi celkovou délkou spermií a znaky vypovídajícími o kvalitě samce (délka ocasních per, symetrie, velikost skvrn na ocase, zbarvení) nebyl v této práci nalezen přímý vztah, nicméně určitý vztah mezi fenotypem spermií a délkou ocasních per nalezen byl. Vztah mezi délkou spermií a celkovým zbarvením ornamentu byl naproti tomu jasně prokázán u lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*) ve studii Calhim et al. (2009). Jak u lejska, tak u vlaštovky obecné byly k parametrům spermií vztaženy znaky samců související s reprodukčním úspěchem a atraktivitou samce. Důvodů, proč nebyly potvrzeny stejné závěry jako u lejsků, může být více.

Jedním z důvodů může být velmi rozdílná velikost vzorku. 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 30 spermií pro každého samce a celkový vzorek byl 64

samců. Lze se proto domnívat, že v uvedené práci mohou být odlišné závěry způsobeny malým vzorkem a určitou chybou měření.

Navíc v obou pracích byly použity rozdílné metody v určování zbarvení. Zatímco u vlaštovek 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 (Bennett et al. 1994), proto bylo zvoleno měření zbarvení spektrometrem. Tato metoda má však také svá úskalí. Při měření barvy z peří je nutné dodržovat vždy stejnou vzálenost a úhel přikládané sondy, což není kvůli struktuře per vždy stoprocentně možné, a tak může vzniknout chyba měření. Při hodnocení zbarvení je nutné uvažovat možnost poměnlivosti zbarvení v rámci sezóny (Örnborg et al. 2002). Z publikace Calhim et al. (2009) není zřejmé, po jakou dobu sezóny probíhaly odchytové akce lejsků. My jsme získali pera pro hodnocení zbarvení od většiny samců už na začátku sezóny, ale několik jedinců bylo poprvé odchyceno až v červenci. V tomto časovém rozpětí by se však opotřebování pera a s tím související změna zbarvení neměla projevit (Örnborg et al. 2002).

Dalším důvodem nesourodosti výsledků těchto dvou studií může být, že zkoumané druhy ptáků mají rozdílný typ ornamentace. Samice lejsků mají silnou preferenci pro tmavě zbarvené samce (Slagsvold & Drevon 1999), zatímco dorzální zbarvení u vlaštovek je pohlavním výběrem ovlivněno pouze slabě (Perrier et al. 2002) a zbarvení břicha a hrdla koreluje s reprodukčním úspěchem samce pouze u některých populací vlaštovek (Safran & McGraw 2004). V prezentované práci nebyl prokázán vztah morfologie spermií a zbarvení samce. Nicméně nezbytným předpokladem pro testování hypotézy fenotypu spojeného s plodností je pozitivní důkaz o tom, že konkrétní znak samce je opravdu atraktivní pro samice. Délka ocasních per je pohlavně selektovaný znak a samice preferují samce s delšími ocasními pery (Møller & Tegelström 1997; Saino et al. 1997). Naše výsledky ukazují, že délka ocasních per samců vlaštovky obecné koreluje s morfologií spermií vyjádřenou hodnotami PCA. Samci s delšími ocasními pery mají celkově kratší spermie s kratším bičíkem a flagellem, ale delším krčkem. To by mohlo naznačovat, že samci s delšími ocanými pery mají vyšší motilitu díky spermii s delším krčkem (energetická složka), protože jak bylo ukázáno výše, délka krčku odpovídá rychlosti spermií. Proti tomuto trendu však působí délka spermie tak, že samci s delšími rýdovacími pery mají kratší spermie, které v modelu mnohonásobné regrese korelovaly s nižší motilitou. Navíc vztah mezi délkou ocasu samce a motilitou spermií v následné analýze nebyl průkazný. Samice vlaštovek se při vybírání partnera podle

délky jeho ocasních per nemohou spolehnout na lepší motilitu partnerovo spermií, ale pouze na jisté parametry morfologie jeho spermií. Z toho lze usoudit, že neexistuje příčinná souvislost mezi délkou ocasních per samců a kvalitou jejich spermií, ač nelze vyloučit určitou roli fenotypu spermií pro fertilizaci. Definitivní závěry bude možno učinit až po analýze paternit, protože pak teprve bude možné úplně pochopit vliv morfologie spermií na jejich funkci.

Nebyla nalezena žádná souvislost mezi jinými ornamenty a morfologií spermií. Symetrie ocasních per nevypovídala nic o fenotypu spermií, ačkoli bylo dříve dokázáno, že samice si nazákladě symetrie vybírají své partnery (Møller 1993). Velikost plochy bílých ocasních skvrn, která podle výsledků práce Kose et al. (1999) odpovídá reprodukčnímu úspěchu, sice nesouvisela v naší práci s morfologií spermií, ale zato byla nalezena souvislost s motilitou spermií. Při zahrnutí většího počtu samců do analýzy bylo zjištěno, že samci s větší plochou bílých skvrn na ocase mají vyšší rychlost plavání spermií. Stejně tak zbarvení hrdla, ale ne zad ani břicha, samců vlaštovek souvisí s motilitou jejich spermií. U ryb byl prokázán pozitivní vztah mezi karotenoidním ornamentálním zbarvením a rychlejšími a kvalitnějšími spermiemi. Původně se myslelo, že zbarvení hrdla vlaštovek je také tvořeno karotenoidy (Saino et al. 1999; Stradi 1998), ale později byla prokázána v ornamentu pouze přítomnost melaninů (McGraw et al. 2003). Jak bylo zmíněno výše, melaninové zbarvení může signalizovat kvalitu spermií (Calhim et al. 2009) a přímo na vlaštovkách bylo zjištěno, že zbarvení odpovídá reprodukčnímu úspěchu samců (Safran & McGraw 2004). Detailnější výzkum síly pohlavního výběru na zbarvení u evropských vlaštovek by mohl odhalit podrobnější souvislosti, protože zatím nebylo zjištěno, zda zbarvení hrdla a břicha je či není pohlavně selektovaný znak.

4.6. *Vliv manipulace na fenotyp spermií*

Předpoklad selekce na optimální fenotyp spermií (Calhim et al. 2007) potvrzuje nalezená tendence k vyšší variabilitě spermií u manipulovaných samců, nicméně tento trend není v prezentované práci průkazný. Navíc pro nepřilíš těsný vztah mezi délkou ocasních per a morfologií spermií hovoří fakt, že zatímco ocasní pera samců se z roku na

rok prodloužila, tato změna v ornamentu nebyla asociována se změnou ve fenotypu spermií.

Motilita se může měnit v závislosti na sociálním postavení samce (Cornwallis & Birkhead 2007). Manipulace zastřížením ocasních per mohla v našem případě vést ke snížení atraktivity samce a s tím související změně sociálního postavení. Manipulovaní samci měli sice vyšší motilitu spermií, ale rozdíl v našem souboru dat nebyl průkazný ($p = 0,19$). Rychlejší spermie byly nalezeny u méně dominantních samců kura domácího (Cornwallis & Birkhead 2007). Podobný trend byl prokázán na sýkorách (Helfenstein et al. 2010a).

V této práci nebyla prokázána změna v motilitě spermií po manipulaci ocasních per. Pro srovnání motility jednotlivých samců před manipulací a po manipulaci bylo ovšem k dispozici pouze velice omezené množství dat kvůli technickým problémům s udržení konstantní teploty na počátku sezóny. Navíc časový odstup mezi měřeními motility před manipulací a po manipulaci nebyl u této skupinky ptáků konstantní (rozmezí 21 až 43 dní). Tyto nedostatky mohly ovlivnit výsledky pokusu, ačkoliv změny ve fenotypu spermií by se měly projevit již 10 – 15 dní po manipulaci (délka procesu spermatogeneze, Jones & Lin 1993).

Bohužel, chybí data o vlivu manipulace na zdravotní stav jedinců a jejich hormonální prostředí. Podle předpokladu manipulace měla snížit kondici samce a v experimentálních podmínkách vede zkrácení ocasních per vlaštovek o 2 centimetry ke zhoršení manévrovacích schopností (Rowe et al. 2001). Je důležité tento vliv ověřit přímo na zkoumané populaci. V blízké budoucnosti by měly být k dispozici výsledky vlivu manipulace na hematokrit, plasmu a hladinu hormonů, které nám pomohou přesněji pochopit důsledky zastřížení ocasních per.

Kvalita samců a jejich spermií byla porovnávána podle standardních metod pouze *in vitro* a ne v přirozených podmínkách samčího pohlavního traktu, což by vyžadovalo oběti na životech samic a navíc by stejně pravděpodobně nebylo dosaženo kýženého efektu. Nedostatkem metody určování motility v umělém prostředí neutrálního roztoku na sklíčku může být pozměněné chování spermií v těchto podmínkách, jak bylo poukázáno v práci Møller et al. (2008b). Alternativní možností je získání tekutiny z kloaky samice a v tomto roztoku pak spermie samců pozorovat (Møller et al. 2008b). V samčím prostředí mohou být spermie ovlivněny imunitní odpovědí samice, která může mít významný dopad na pohyb spermií (Parker 1979; Rowe & Arnqvist 2005; Møller et al. 2008b). Nesmíme proto při utváření obecných závěrů opominout skrytý samčí výběr,

který může také ovlivnit výsledek kompetice spermií (Jennions & Petrie 2000). Nicméně neutrální prostředí zůstává tradiční a nejpoužívanější metodou ke stanovení kompetitivních schopností spermií nejen u ptáků, ale i u savců (např. Gomendio & Roldan 1991; 2008; Malo et al. 2006; Kleven et al. 2009; Møller et al. 2009; Helfenstein et al. 2010a; 2010b; Laskemoen et al. 2010).

5. Závěr

Předložená práce demonstruje konzistentní vlastnosti morfologie spermií, vztah morfologie spermií a motility a vztah fenotypu spermií a druhotných ornamentů u vlaštovky obecné.

1) Morfologie spermií v rámci jednoho ejakulátu vykazuje středně velkou opakovatelnost a morfologie spermií mezi ejakuláty v rámci samce vysokou opakovatelnost. Motilita spermií vykazuje středně velkou opakovatelnost. Délka spermií se nemění v průběhu sezóny ani mezi dvěma následujícími roky čili tento znak je možné použít pro charakterizaci kvality jednotlivých samců v populaci. Motilita v průběhu sezóny mírně klesá a naopak velikost výčnělku kloaky stoupá, což může souviset s načasováním hnízdění.

2) Motilita spermií je ovlivněna morfologií spermií. Rychlost pohybu spermií pozitivně koreluje s délkou krčku, který zde pravděpodobně může sloužit jako energetický pohon spermie.

3) Ornament může signalizovat kvalitu spermií. Délka ocasních per u vlaštovky obecné koreluje s morfologií spermií: samci s delším ocasem mají celkově kratší spermie, flagellum a bičík, ale delší krček. Velikost bílých skvrn na ocase a intenzita zbarvení hrdla samců koreluje s motilitou spermií.

4) Manipulace s velikostí ornamentu nemá vliv na fenotyp spermií, a to ani na morfologii, ani na motilitu a ani na množství spermií.

Další výzkum vnitrodruhové variability fenotypu spermií v kontextu postkopulačního pohlavního výběru a závislosti na kondici může poskytnout cenné informace o mechanismu evoluce a vzájemných vztahů pohlavně selektovaných znaků.

6. Seznam použité literatury

- ANDERSSON, M. (1994) "Sexual selection." Princeton University Press, Princeton
- ANDERSSON, M. & IWASA, Y. (1996) "Sexual selection." *Trends in Ecology & Evolution* 11, (2), 53-58
- ANDERSSON, M. & SIMMONS, L. W. (2006) "Sexual selection and mate choice." *Trends in ecology & evolution*, 21, (6), 296-302
- ANDERSSON, S. & PRAGER, M. (2006) "Quantifying colors." *Bird Coloration, Vol. 1 – Mechanisms and measurements*, 41-89
- BADYAEV, A. V. & HILL, G. E. (2000) "Evolution of sexual dichromatism: contribution of carotenoid- versus melanin-based coloration." *Biological Journal of the Linnean Society*, (63), 153-172
- BALBONTÍN, J., DE LOPE, F., HERMOSELL, I. G., MOUSSEAU, T. A. & MØLLER, A. P. (2010) "Determinants of age-dependent change in a secondary sexual character." *Journal of evolutionary biology*, 24, (2), 440-448
- BECKER, W. A. (1984) "Manual of Quantitative Genetics." Academic Enterprises, Pullman, WA
- BENNETT, A. T. D., CUTHILL, I. C. & NORRIS, K. J. (1994) "Sexual Selection and the Mismeasure of Color." *The American Naturalist*, 144, (5), 848-860
- BIRKHEAD, T. R. (1998) "Sperm competition in birds." *Reviews of Reproduction*, 3, 123-129
- BIRKHEAD, T. R. (2010) "How stupid not to have thought of that: post-copulatory sexual selection." *Journal of Zoology*, 281, (2), 78-93
- BIRKHEAD, T. R., BRISKIE, J. V. & MØLLER, A. P. (1993) "Male Sperm Reserves and Copulation Frequency in Birds." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 32, 85-93
- BIRKHEAD, T. R. & FLETCHER, F. (1995) "Male phenotype and ejaculate quality in the zebra finch *Taeniopygia guttata*." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 262, (1365), 329-34
- BIRKHEAD, T. R., IMMLER, S., PELLATT, E. J. & FRECKLETON, R. (2006) "Unusual sperm morphology in the Eurasian Bullfinch (*Pyrrhula pyrrhula*)." *Auk*, 132, (2), 383-392
- BIRKHEAD, T. R., MARTÍNEZ, J. G., BURKE, T. & FROMAN, D. P. (1999) "Sperm mobility determines the outcome of sperm competition in the domestic fowl." *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 266, 1759-1764

- BIRKHEAD, T. R. & MØLLER, A. P. (1992) "Sperm Competition in Birds: Evolutionary causes and Consequences." Academic Press, London, 282
- BIRKHEAD, T. R., PELLATT, E. J., BREKKE, P., YEATES, R. & CASTILLO-JUAREZ, H. (2005) "Genetic effects on sperm design in the zebra finch." *Nature*, 434, (7031), 383-7
- BIRKHEAD, T. R. & PIZZARI, T. (2002) "Postcopulatory sexual selection." *Nature Reviews Genetics*, 3, (4), 262-73
- BLOUNT, J. D., MØLLER, A. P. & HOUSTON, D. C. (2001) "Antioxidants, showy males and sperm quality." *Ecology letters*, 4, 393-396
- BONISOLI-ALQUATI, A., MØLLER, A. P., RUDOLFSEN, G., SAINO, N., CAPRIOLI, M., OSTERMILLER, S. & MOUSSEAU, T. A. (2011) "The effects of radiation on sperm swimming behavior depend on plasma oxidative status in the barn swallow (*Hirundo rustica*)." *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 159, (2), 105-112
- BORTOLOTTI, G. R. (2006) "Natural selection and coloration: Protection, Concealment, Advertisement, or Deception?" *Bird Coloration, Vol. 2 – Function and evolution*, 3-35
- BRISKIE, J. V. & MONTGOMERIE, R. (1992) "Sperm Size and Sperm Competition in Birds." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 247, (1319), 89-95
- BRISKIE, J. V. & MONTGOMERIE, R. (1993) "Patterns of sperm storage in relation to sperm competition in passerine birds." *The Condor*, 95, 442-454
- BRISKIE, J. V. & MONTGOMERIE, R. (2007) "Testis size, sperm size and sperm competition." *Reproductive biology and phylogeny of birds*, Science Publishers, Enfield, New Hampshire, USA
- BRISKIE, J. V., MONTGOMERIE, R. & BIRKHEAD, T. R. (1997) "The evolution of sperm size in birds." *Evolution*, 51, (3), 937-945
- BROOKS, R. & KEMP, D. J. (2001) "Can older males deliver the good genes?" *Trends in ecology & evolution*, 16, (6), 308-313
- BUCHANAN, K. & EVANS, M. R. (2000) "The effect of tail streamer length on aerodynamic performance in the barn swallow." *Behavioral Ecology*, 11, (2), 228-238
- CALHIM, S., IMMLER, S. & BIRKHEAD, T. R. (2007) "Postcopulatory Sexual Selection Is Associated with Reduced Variation in Sperm Morphology." *PLoS ONE* 2, (5), e413
- CALHIM, S., LAMPE, H. M., SLAGSVOLD, T. & BIRKHEAD, T. R. (2009) "Selection on sperm morphology under relaxed sperm competition in a wild passerine bird." *Biology letters*, 5, (1), 58-61

- CARDULLO, R. A. & BALTZ, J. M. (1991) "Metabolic regulation in mammalian sperm: mitochondrial volume determines sperm length and flagellar beat frequency." *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 19, 180-188
- CLULOW, J. & JONES, R. C. (1982) "Production, transport, maturation, storage and survival of spermatozoa in the male Japanese quail, *Coturnix coturnix*." *Journal of reproduction and fertility*, 64, 259-266
- COHEN, J. (1977) "Reproduction." Butterworths, London
- CORNWALLIS, C. K. & BIRKHEAD, T. R. (2007) "Experimental evidence that female ornamentation increases the acquisition of sperm and signals fecundity." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, (1609), 583-590
- CORNWALLIS, C. K. & O'CONNOR, E. A. (2009) "Sperm: seminal fluid interactions and the adjustment of sperm quality in relation to female attractiveness." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276, (1672), 3467-75
- CRAWLEY, M. J. (2007) "The R Book." John Willey & Sons, Chichester
- CREAN, A. J. & MARSHALL, D. J. (2008) "Gamete plasticity in a broadcast spawning marine invertebrate." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, (36), 13508-13513
- CUERVO, J. J. & MØLLER, A. P. (2006) "Experimental tail elongation in male Barn Swallows *Hirundo rustica* reduces provisioning of young, but only in second broods." *Ibis*, 148, 449-458
- DARWIN, C. R. (1871) "The descent of man, and selection in relation to sex." London
- DE LAMIRANDE, E. & GAGNON, C. (1992) "Reactive oxygen species and human spermatozoa. I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes." *Jornal of Andrology*, 13, (5), 368-378
- DE LOPE, F. & MØLLER, A. P. (1993) "Female Reproductive Effort Depends on the Degree of Ornamentation of Their Mates." *Evolution*, 47, (4), 1152-1160
- DELMORE, K. E., KLEVEN, O., LASKEMOEN, T., CROWE, S. A., LIFJELD, J. T. & ROBERTSON, R. J. (2008) "Sex allocation and parental quality in tree swallows." *Behavioral Ecology*, 19, (6), 1243-1249
- DIXON, A. & BIRKHEAD, T. R. (1997) "Reproductive anatomy of the reed bunting: a species which exhibits a high degree of sperm competition through extra-pair copulations." *Condor*, 99, 966-969
- DONOGHUE, A. M., SONSTEGARD, T. S., KING, L. M., SMITH, E. J. & BURT, D. W. (1999) "Turkey Sperm Mobility Influences Paternity in the Context of Competitive Fertilization." *Biology of reproduction*, 61, 422-427

- DUCREST, A. L., KELLER, L. & ROULIN, A. (2008) "Pleiotropy in the melanocortin system, coloration and behavioural syndromes." *Trends in ecology & evolution*, 23, (9), 502-510
- EATON, M. D. (2005) "Human vision fails to distinguish widespread sexual dichromatism among sexually "monochromatic" birds." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, (31), 10942-10946
- ENDLER, J. A. (1990) "On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns." *Biological Journal of the Linnean Society*, 41, 315-352
- EVANS, J. P., ZANE, L., FRANCESCATO, S. & PILASTRO, A. (2003) "Directional postcopulatory sexual selection revealed by artificial insemination." *Nature*, 421, 360-363
- EVANS, M. R. (1998) "Selection on swallow tail streamers." *Nature*, 394, (6690), 233-234
- FARAWAY, J. J. (2006) "Extending the linear model with R." Chapman & Hall, London
- FITZPATRICK, J. L., DESJARDINS, J. K., MILLIGAN, N., MONTGOMERIE, R. & BALSHINE, S. (2007) "Reproductive-tactic-specific variation in sperm swimming speeds in a shell-brooding cichlid." *Biology of reproduction*, 77, (2), 280-284
- FITZPATRICK, J. L., MONTGOMERIE, R., DESJARDINS, J. K., STIVER, K. A., KOLM, N. & BALSHINE, S. (2009) "Female promiscuity promotes the evolution of faster sperm in cichlid fishes." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, (4), 1128-1132
- FLEGR, J. (2005) "Evoluční biologie." Academia, Praha
- FORSTMEIER, W., MARTIN, K., BLOUND, E., SCHIELZETH, H. & KEMPENAERS, B. (2011) "Female extrapair mating behavior can evolve via indirect selection on males." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, (26), 10608-10613
- FROMAN, D. P., PIZZARI, T., FELTMANN, A. J., CASTILLO-JUAREZ, H. & BIRKHEAD, T. R. (2002) "Sperm mobility: mechanisms of fertilizing efficiency, genetic variation and phenotypic relationship with male status in the domestic fowl, *Gallus gallus domesticus*." *proceedings of Royal Society London B*, 269, 607-612
- GAGE, M. J. G., MACFARLANE, C. P., YEATES, S., WARD, R. G., SEARLE, J. B. & PARKER, G. A. (2004) "Spermatozoal Traits and Sperm Competition in Atlantic Salmon." *Current Biology*, 14, (1), 44-47
- GAGE, M. J. G. & MORROW, E. H. (2003) "Experimental Evidence for the Evolution of Numerous, Tiny Sperm via Sperm Competition." *Current Biology*, 13, (9), 754-757
- GOMENDIO, M., HARCOURT, A. H. & ROLDAN, E. R. S. (1998) "Sperm competition in mammals." *Sperm Competition and Sexual Selection*, Academic Press, London, 667-751

- GOMENDIO, M. & ROLDAN, E. R. S. (1991) "Sperm competition influences sperm size in mammals." *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 243, (1308), 181-185
- GOMENDIO, M. & ROLDAN, E. R. S. (2008) "Implications of diversity in sperm size and function for sperm competition and fertility." *The International Journal of Developmental Biology*, 52, (5-6), 439-447
- GRAY, D. A. (1996) "Carotenoids and Sexual Dichromatism in North American Passerine Birds." *The American Naturalist*, 148, (3), 453-480
- GRIFFITH, S. C., OWENS, I. P. F. & THUMAN, K. A. (2002) "Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function." *Molecular Ecology*, 11, 2195-2212
- HART, N. S. (2001) "The Visual Ecology of Avian Photoreceptors." *Progress in Retinal and Eye Research*, 20, (5), 675-703
- HARTLEY, R. C. & KENNEDY, M. W. (2004) "Are carotenoids a red herring in sexual display?" *Trends in ecology & evolution*, 19, (7), 353-354
- HASTAD, O. (2003) "Plumage Colours and the Eye of the Beholder: The Ecology of Colour and its Perception in Birds." Uppsala Universitet, Acta Universitatis Upsaliensis
- HELFENSTEIN, F., LOSDAT, S., MØLLER, A. P., BLOUNT, J. D. & RICHNER, H. (2010a) "Sperm of colourful males are better protected against oxidative stress." *Ecology letters*, 13, (2), 213-222
- HELFENSTEIN, F., PODEVIN, M. & RICHNER, H. (2010b) "Sperm morphology, swimming velocity, and longevity in the house sparrow *Passer domesticus*." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64, (4), 557-565
- HELFENSTEIN, F., SZÉP, T., NAGY, Z., KEMPENAERS, B. & WAGNER, R. H. (2008) "Between-male variation in sperm size, velocity and longevity in sand martins *Riparia riparia*." *JOURNAL OF AVIAN BIOLOGY*, 39, 647-652
- HILL, G. E. (2000) "Energetic constraints on expression of carotenoid-based plumage coloration." *JOURNAL OF AVIAN BIOLOGY*, 31, 559-566
- HILL, G. E. (2002) "A red bird in a brown bag: the function and evolution of colorful plumage in the House finch." Oxford University Press, New York
- HILL, G. E. & MCGRAW, K. J. (2006) *Bird coloration*, Harvard University Press, London,
- HOLMAN, L. & SNOOK, R. R. (2006) "Spermicide, cryptic female choice and the evolution of sperm form and function." *Journal of evolutionary biology*, 19, (5), 1660-1670

- HUMPHRIES, S., EVANS, J. P. & SIMMONS, L. W. (2008) "Sperm competition: linking form to function." *BMC Evol Biol*, 8, 319
- CHEN, D. M., COLLINS, J. S. & GOLDSMITH, T. H. (1984) "The ultraviolet receptor of bird retinas." *Science*, 225, (4659), 337-340
- IMMLER, S. & BIRKHEAD, T. R. (2007) "Sperm competition and sperm midpiece size: no consistent pattern in passerine birds." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, (1609), 561-568
- IMMLER, S., CALHIM, S. & BIRKHEAD, T. R. (2008) "Increased postcopulatory sexual selection reduces the intramale variation in sperm design." *Evolution*, 62, (6), 1538-43
- IMMLER, S., PITNICK, S., PARKER, G. A., DURRANT, K. L., LUPOLD, S., CALHIM, S. & BIRKHEAD, T. R. (2011) "Resolving variation in the reproductive tradeoff between sperm size and number." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, (13), 5325-5330
- IMMLER, S., PRYKE, S. R., BIRKHEAD, T. R. & GRIFFITH, S. C. (2010) "Pronounced within-individual plasticity in sperm morphometry across social environments." *Evolution*, 64, (6), 1634-43
- JONES, R. C. & LIN, M. (1993) "Spermatogenesis in Birds." *Oxford reviews of reproductive biology*, 15, 233-264
- KATZ, D. F. & DROBNIS, E. Z. (1990) "Analysis and interpretation of the forces generated by spermatozoa." *Fertilization in mammals, Serono Symposia*, Norwell, MA, 125-137
- KELLER, L. & REEVE, H. K. (1995) "Why do females mate with multiple males? The sexually selected sperm hypothesis." *Advances in the study of behavior*, 24, 291-315
- KLEVEN, O., FOSSOY, F., LASKEMOEN, T., ROBERTSON, R. J., RUDOLFSEN, G. & LIFJELD, J. T. (2009) "Comparative evidence for the evolution of sperm swimming speed by sperm competition and female sperm storage duration in passerine birds." *Evolution*, 63, (9), 2466-2473
- KLEVEN, O., JACOBSEN, F., IZADNEGAHDAR, R., ROBERTSON, R. J. & LIFJELD, J. T. (2006) "Male tail streamer length predicts fertilization success in the North American barn swallow (*Hirundo rustica erythrogaster*)." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 59, (3), 412-418
- KLEVEN, O., LASKEMOEN, T., FOSSOY, F., ROBERTSON, R. J. & LIFJELD, J. T. (2008) "Intraspecific variation in sperm length is negatively related to sperm competition in passerine birds." *Evolution*, 62, (2), 494-9

- KOEHLER, L. D. (1995) "Diversity of avian spermatozoa ultrastructure with emphasis on the members of the order Passeriformes." *Mémoires du Muséum National d'Historie Naturelle*, 166, 437-444
- KOSE, M., MÄND, R. & MØLLER, A. P. (1999) "Sexual selection for white tail spots in the barn swallow in relation to habitat choice by feather lice." *Animal behaviour*, 58, 1201–1205
- KOSE, M. & MØLLER, A. P. (1999) "Sexual selection, feather breakage and parasites: the importance of white spots in the tail of the barn swallow (*Hirundo rustica*)." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 45, 430-436
- LACK, D. (1968) "Ecological Adaptations for Breeding in Birds." Methuen Ltd, London
- LASKEMOEN, T., FOSSØY, F., RUDOLFSEN, G. & LIFJELD, J. T. (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, 322-328
- LASKEMOEN, T., KLEVEN, O., FOSSØY, F. & LIFJELD, J. (2007) "Intraspecific variation in sperm length in two passerine species, the Bluethroat *Luscinia svecica* and the Willow Warbler *Phylloscopus trochilus*." *Ornis Fennica*, 84, 131-139
- LASKEMOEN, T., KLEVEN, O., FOSSØY, F., ROBERTSON, R. J., RUDOLFSEN, G. & LIFJELD, J. T. (2010) "Sperm quantity and quality effects on fertilization success in a highly promiscuous passerine, the tree swallow *Tachycineta bicolor*." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64, (9), 1473-1483
- LIFJELD, J. T., KLEVEN, O., JACOBSEN, F., MCGRAW, K. J., SAFRAN, R. J. & ROBERTSON, R. J. (2011) "Age before beauty? Relationships between fertilization success and age-dependent ornaments in barn swallows." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65, (9), 1687-1697
- LIFJELD, J. T., LASKEMOEN, T., KLEVEN, O., ALBRECHT, T. & ROBERTSON, R. J. (2010) "Sperm length variation as a predictor of extrapair paternity in passerine birds." *PLoS ONE*, 5, (10), e13456
- LIGON, J. D. (1990) "Evolution of avian breeding systems." Oxford University Press
- LOCATELLO, L., RASOTTO, M. B., EVANS, J. P. & PILASTRO, A. (2006) "Colourful male guppies produce faster and more viable sperm." *Journal of evolutionary biology*, 19, (5), 1595-1602
- LORENZ, F. W. (1966) "Behavior of spermatozoa in the oviduct in relation to fertility." *Physiology of the domestic fowl*, Oliver and Boyd, Edinburgh
- LUNDBERG, A. & ALATALO, R. V. (1992) "The Pied Flycatcher." T. & A. D. Poyser, London, UK

- LÜPOLD, S., CALHIM, S., IMMLER, S. & BIRKHEAD, T. R. (2009a) "Sperm morphology and sperm velocity in passerine birds." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276, (1659), 1175-81
- LÜPOLD, S., LINZ, G. M. & BIRKHEAD, T. R. (2009b) "Sperm design and variation in the New World blackbirds (Icteridae)." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 63, (6), 899-909
- LÜPOLD, S., LINZ, G. M., RIVERS, J. W., WESTNEAT, D. F. & BIRKHEAD, T. R. (2009c) "Sperm competition selects beyond relative testes size in birds." *Evolution*, 63, (2), 391-402
- MAGUIRE, S. E. & SAFRAN, R. J. (2010) "Morphological and genetic predictors of parental care in the North American barn swallow *Hirundo rustica erythrogaster*." *JOURNAL OF AVIAN BIOLOGY*, 41, 74-82
- MALO, A. F., GARDE, J. J., SOLER, A. J., GARCIA, A. J., GOMENDIO, M. & ROLDAN, E. R. (2005) "Male fertility in natural populations of red deer is determined by sperm velocity and the proportion of normal spermatozoa." *Biology of reproduction*, 72, (4), 822-9
- MALO, A. F., GOMENDIO, M., GARDE, J., LANG-LENTON, B., SOLER, A. J. & ROLDAN, E. R. (2006) "Sperm design and sperm function." *Biology letters*, 2, (2), 246-249
- MANNING, J. T. (1985) "Choosy females and correlates of male age." *Journal of theoretical Biology*, 116, 349-354
- MARTIN, P. A., REIMERS, T. J., LODGE, J. R. & DZIUK, P. J. (1974) "The Effect of Ratios and Numbers of Spermatozoa Mixed from Two Males on Proportions of Offspring." *Journal of reproduction and fertility*, 39, 251-258
- MCGRAW, K. J., DALE, J. & MACKILLOP, E. A. (2003) "Social environment during molt and the expression of melanin-based plumage pigmentation in male house sparrows (*Passer domesticus*)." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 53, 116-122
- MCGRAW, K. J., MACKILLOP, E. A., DALE, J. & HAUBER, M. E. (2002) "Different colors reveal different information: how nutritional stress affects the expression of melanin- and structurally based ornamental plumage." *The Journal of Experimental Biology*, 205, 3747-3755
- MCGRAW, K. J., STOEHR, M. A., NOLAN, P. M. & HILL, G. E. (2001) "Plumage redness predicts breeding onset and reproductive success in the House Finch: a validation of Darwin's theory." *Journal of avian biology*, 32, 90-94
- MCGRAW, K. J., WAKAMATSU, K., ITO, S., NOLAN, M., JOUVENTIN, P., DOBSON, F. S., AUSTIC, R. E., SAFRAN, R. J., SIEFFERMAN, L. M., HILL, G. E. & PARKER, R. S. (2004) "You can't judge a pigment by its color: Carotenoid and melanin content of yellow and brown feathers in swallows, bluebirds, penguins, and domestic chickens." *The Condor*, 106, 390-395

- MØLLER, A. P. (1988) "Female choice selects for male sexual tail ornaments in the monogamous swallow." *Nature*, 322, 640-642
- MØLLER, A. P. (1990) "Male tail length and female mate choice in the monogamous swallow *Hirundo rustica*." *Animal behaviour*, 39, 458-465
- MØLLER, A. P. (1991a) "Sexual ornament size and the cost of fluctuating asymmetry." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 243, (1306), 59-62
- MØLLER, A. P. (1991b) "Sexual selection in the monogamous barn swallow (*Hirundo rustica*) 1. Determinants of tail ornament size." *Evolution*, 45, 1823-1836
- MØLLER, A. P. (1992a) "Patterns of Fluctuating Asymmetry in Weapons: Evidence for Reliable Signalling of Quality in Beetle Horns and Bird Spurs." *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 248, (1322), 199-206
- MØLLER, A. P. (1992b) "Sexual selection in the monogamous Barn Swallow (*Hirundo rustica*). II. Mechanisms of sexual selection." *Journal of evolutionary biology*, 5, 603-624
- MØLLER, A. P. (1993) "Female Preference for Apparently Symmetrical Male Sexual Ornaments in the Barn Swallow *Hirundo rustica*." *Behavioral Ecology*, 32, (6), 371-376
- MØLLER, A. P. (1994) "Sexual selection and the barn swallow." Oxford University Press, Oxford,
- MØLLER, A. P. (2003) "Extrapair paternity in relation to sexual ornamentation, arrival date, and condition in a migratory bird." *Behavioral Ecology*, 14, (5), 707-712
- MØLLER, A. P. & DE LOPE, F. (1994) "Differential Costs of a Secondary Sexual Character: An Experimental Test of the Handicap Principle." *Evolution*, 48, (5), 1676-1683
- MØLLER, A. P., DE LOPE, F. & CABALLERO, J. M. L. (1995) "Foraging Costs of a Tail Ornament: Experimental Evidence from Two Populations of Barn Swallows *Hirundo rustica* with Different Degrees of Sexual Size Dimorphism." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 37, (5), 289-295
- MØLLER, A. P. & HOGLUND, J. (1991) "Patterns of Fluctuating Asymmetry in Avian Feather Ornaments: Implications for Models of Sexual Selection." *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 245, (1312), 1-5
- MØLLER, A. P., MOUSSEAU, T. A., LYNN, C., OSTERMILLER, S. & RUDOLFFSEN, G. (2008a) "Impaired swimming behaviour and morphology of sperm from barn swallows *Hirundo rustica* in Chernobyl." *Mutat Res*, 650, (2), 210-216
- MØLLER, A. P., MOUSSEAU, T. A., MILINEVSKY, G., PEKLO, A., PYSANETS, E. & SZEP, T. (2005a) "Condition, reproduction and survival of barn swallows from Chernobyl." *Journal of Animal Ecology*, 74, (6), 1102-1111

- MØLLER, A. P., MOUSSEAU, T. A. & RUDOLFSEN, G. (2008b) "Females affect sperm swimming performance: a field experiment with barn swallows *Hirundo rustica*." *Behavioral Ecology*, 19, (6), 1343-1350
- MØLLER, A. P., MOUSSEAU, T. A., RUDOLFSEN, G., BALBONTÍN, J., MARZAL, A., HERMOSELL, I. & DE LOPE, F. (2009) "Senescent sperm performance in old male birds." *Journal of evolutionary biology*, 22, (2), 334-344
- MØLLER, A. P., SURAI, P. & MOUSSEAU, T. A. (2005b) "Antioxidants, radiation and mutation as revealed by sperm abnormality in barn swallows from Chernobyl." *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 272, (1560), 247-253
- MØLLER, A. P. & TEGELSTRÖM, H. (1997) "Extra-Pair Paternity and Tail Ornamentation in the Barn Swallow *Hirundo rustica*." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 41, (5), 353-360
- MORROW, E. H. & GAGE, M. J. (2001) "Sperm competition experiments between lines of crickets producing different sperm lengths." *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 268, (1482), 2281-2286
- MORROW, E. H., LEIJON, A. & MEERUPATI, A. (2008) "Hemiclonal analysis reveals significant genetic, environmental and genotype x environment effects on sperm size in *Drosophila melanogaster*." *Journal of evolutionary biology*, 21, (6), 1692-1702
- MOSSMAN, J., SLATE, J., HUMPHRIES, S. & BIRKHEAD, T. (2009) "Sperm morphology and velocity are genetically codetermined in the zebra finch." *Evolution*, 63, (10), 2730-2737
- NEWTON, I. & DAWSON, A. (2011) "Seasonal changes in moult, body mass and reproductive condition in siskins *Carduelis spinus* exposed to daylength regimes simulating different latitudes." *Journal of Avian Biology*, 42, (1), 22-28
- OLSSON, M., MADSEN, T. & SHINE, R. (1997) "Is sperm really so cheap? Costs of production in male adders, *Vipera berus*." *Proceedings of Royal Society London B*, 264, 455-459
- OLSSON, M. & OWENS, I. P. E. (1998) "Costly sexual signals: are carotenoids rare, risky or required?" *Trends in ecology & evolution*, 13, (12), 510-514
- ÖRNBORG, J., ANDERSSON, S., GRIFFITH, S. C. & SHELDON, B. C. (2002) "Seasonal changes in a ultraviolet structural colour signal in blue tits, *Parus caeruleus*." *Biological Journal of the Linnean Society*, 76, 237-245
- OWENS, I. P. F. & HARTLEY, I. R. (1998) "Sexual dimorphism in birds: Why are there so many different forms of dimorphism? ." *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 265, 397-407

- PARKER, G. A. (1970) "Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects " *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 45, 525-567
- PARKER, G. A. (1979) "Sexual selection and sexual conflict." *Sexual selection and reproductive competition in insects*, Academic Press, New York, 123–166
- PARKER, G. A. (1993) "Sperm Competition Games: Sperm Size and Sperm Number under Adult Control." *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 253, (1338), 145-254
- PARKER, G. A. & BEGON, M. E. (1993) "Sperm Competition Games: Sperm Size and Number under Gametic Control." *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 253, (1338), 255-262
- PARSONS, P. A. (1990) "Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress." *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 65, (2), 131-145
- PARSONS, P. A. (1992) "Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress." *Heredity*, 68, 361-364
- PEER, K., ROBERTSON, R. J. & KEMPENAERS, B. (2000) "Reproductive anatomy and indices of quality in male tree swallows: the potential reproductive role of floaters." *Auk*, 117, 74-81
- PERRIER, C., LOPE, F. D., MØLLER, A. P. & NINNIA, P. (2002) "Structural coloration and sexual selection in the barn swallow *Hirundo rustica*." *Behavioral Ecology*, 13, (6), 728–736
- PETERS, A., DENK, A. G., DELHEY, K. & KEMPENAERS, B. (2004) "Carotenoid-based bill colour as an indicator of immunocompetence and sperm performance in male mallards." *Journal of evolutionary biology*, 17, (5), 1111-1120
- PITCHER, T. E., RODD, F. H. & ROWE, L. (2007) "Sexual colouration and sperm traits in guppies." *Journal of Fish Biology*, 70, (1), 165-177
- PITNICK, S., HOSKEN, D. J. & BIRKHEAD, T. R. (2009) "Sperm morphological diversity." *Sperm Biology: An Evolutionary Perspective*, Academic, Burlington, MA, 69–149
- PIZZARI, T. & BIRKHEAD, T. R. (2002) "The sexually-selected sperm hypothesis: sex-biased inheritance and sexual antagonism." *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 77, (2), 183-209
- PIZZARI, T. & PARKER, G. A. (2009) "Sperm competition and sperm phenotype." *Sperm biology: an evolutionary perspective*, Academic, San Diego, 207–245
- POMIANOVSKI, A. (1987) "The costs of choice in sexual selection." *Journal of Theoretical Biology*, 128, 195-218
- R_DEVELOPMENT_CORE_TEAM (2011) "R: A language and environment for statistical computing." *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria

- ROWE, L. & ARNQVIST, G. (2005) "Sexual Conflict." Princeton University Press, Princeton
- ROWE, L. V., EVANS, M. R. & BUCHNAN, K. (2001) "The function and evolution of the tail streamer in hirundines." *Behavioral Ecology*, 12, (2), 157-163
- ROWE, M. & PRUETT-JONES, S. (2006) "Reproductive biology and sperm competition in Australian fairy-wrens." *Avian and Poultry Biology Reviews*, 17, (1), 21-37
- SAFRAN, R. J. & MCGRAW, K. J. (2004) "Plumage coloration, not length or symmetry of tail-streamers, is a sexually selected trait in North American barn swallows." *Behavioral Ecology*, 15, (3), 455-461
- SAINO, N., CUERVO, J. J., KRIVACEK, M., LOPE, F. D. & MØLLER, A. P. (1997) "Experimental manipulation of tail ornament size affects the hematocrit of male barn swallows (*Hirundo rustica*)." *Oecologia*, 110, 186-190
- SAINO, N., MARTINELLI, R., ROMANO, M. & MØLLER, A. P. (2003) "High heritable variation of a male secondary sexual character revealed by extra-pair fertilization in the barn swallow." *Italian Journal of Zoology*, 70, (2), 167-174
- SAINO, N., STRADI, R., NINNI, P., PINI, E. & MØLLER, A. P. (1999) "Carotenoid Plasma Concentration, Immune Profile, and Plumage Ornamentation of Male Barn Swallows (*Hirundo rustica*)." *The American Naturalist*, 154, (4), 441-448
- SEAR, J. C. (1999) "Plumage coloration as a signal of social status." *Proceedings of the 22nd International Ornithological Congress, Johannesburg: BirdLife South Africa, Durban*
- SHELDON, B. C. (1994) "Male Phenotype, Fertility, and the Pursuit of Extra-Pair Copulations by Female Birds." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 257, (1348), 25-30
- SIMMONS, L. W. & KOTIAHO, J. S. (2002) "Evolution of Ejaculates: Patterns of Phenotypic and Genotypic Variation and Condition-Dependence in Sperm Competition Traits." *Author." Evolution*, 56, (8), 1622-1631
- SKAU, P. A. & FOLSTAD, I. (2005) "Does immunity regulate ejaculate quality and fertility in humans?" *Behavioral Ecology*, 16, (2), 410-416
- SLAGSVOLD, T. & DREVON, T. (1999) "Female pied flycatchers trade between male quality and mating status in mate choice." *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 266, 917-921
- SLAGSVOLD, T. & LIFJELD, J. T. (1992) "Plumage colour is a condition-dependent sexual trait in male pied flycatchers." *Evolution*, 46, (3), 825-828

- SMITH, H. G., MONTGOMERIE, R., POLDMAA, T., WHITE, B. N. & BOAG, P. (1991) "DNA fingerprinting reveals relation between tail ornaments and cuckoldry in barn swallows, *Hirundo rustica*." Behavioral Ecology, 2, 90-98
- SNOOK, R. R. (2005) "Sperm in competition: not playing by the numbers." Trends in ecology & evolution, 20, (1), 46-53
- SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. (1981) "Biometry." W.H. Freeman and Company, New York
- STRADI, R. (1998) "The colour of flight: carotenoids in bird plumage." Solei Gruppo Editoriale Informatico, Milan, Italy
- SURAI, P. F., BLESBOIS, E., GRASSEAU, I., CHALAH, T., BRILLARD, J.-P., WISHART, G. J., CEROLINI, S. & SPARKS, N. H. C. (1998) "Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen." Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 120, 527-533
- SVENSSON, L. & GRANT, P. J. (2004) "Ptáci Evropy, Severní Afriky a Blízkého východu."
- SWADDLE, J. P. & CUTHILL, I. C. (1994) "Female zebra finches prefer males with symmetric chest plumage." Proceedings of Royal Society London B, 258, 267-271
- SWADDLE, J. P. & WITTER, M. S. (1994) "Food, feathers and fluctuating asymmetries." Proceedings of Royal Society London B, 255, 147-152
- SWADDLE, J. P., WITTER, M. S. & CUTHILL, I. C. (1994) "The analysis of fluctuating asymmetry." Animal behaviour, 48, 986-989
- TÖRÖK, J., HEGYI, G. & GARAMSZEGI, L. Z. (2003) "Depigmented wing patch size is a condition-dependent indicator of viability in male collared flycatchers." Behavioral Ecology, 14, (3), 382-388
- TRIVERS, R. L. (1972) "Parental investment and sexual selection." Sexual Selection and the Descent of Man 1871–1971 Aldine Publishing Company, Chicago, 136-179
- TUTTLE, E. M. & PRUETT-JONES, S. (2004) "Estimates of extreme sperm production: morphological and experimental evidence from reproductively promiscuous fairy-wrens (*Malurus*)." Animal behaviour, 68, 541-550
- TUTTLE, E. M., PRUETT-JONES, S. & WEBSTER, M. S. (1996) "Cloacal Protuberances and Extreme Sperm Production in Australian Fairy-Wrens." Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences, 263, (1375), 1359-1364
- VAN VALEN, L. (1962) "A study of fluctuating asymmetry." Evolution, 16, (2), 125-142
- VELANDO, A., TORRES, R. & ALONSO-ALVAREZ, C. (2008) "Avoiding bad genes: oxidatively damaged DNA in germ line and mate choice." BioEssays, 30, (11-12), 1212-1219

- VERNON, G. G. & WOOLEY, D. M. (1999) " Three-Dimensional Motion of Avian Spermatozoa." *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 42, 149-161
- VON SCHANTZ, T., BENSCH, S., GRAHN, M., HASSELQUIST, D. & WITZELL, H. (1999) "Good genes oxidative stress and condition-dependent sexual signals." *Proceedings of Royal Society London B*, 266, 1-12
- WARD, P. I. (1998) "Intraspecific variation in sperm size characters." *Heredity*, 80, 655-659
- WEDELL, N., GAGE, M. J. G. & PARKER, G. A. (2002) "Sperm competition, male prudence and sperm-limited females." *Trends in ecology & evolution*, 17, 313-320
- WISHART, G. J. (1984) "Effects of lipid peroxide formation in fowl semen on sperm motility, ATP content and fertilizing ability." *Journal of reproduction and fertility*, 71, 113-118
- WOLFF, J. O. & MACDONALD, D. W. (2004) "Promiscuous females protect their offspring." *Trends in ecology & evolution*, 19, (3), 127-34
- WOLFSON, A. (1952) "The Cloacal Protuberance: A Means for Determining Breeding Condition in Live Male Passerines." *Bird-Banding*, 23, (4), 159-165
- WOOLEY, D. M. & BEATTY, R. A. (1967) "Inheritance of Midpiece Length in Mouse Spermatozoa." *Nature*, 215, 94-95

7. Seznam příloh

Tabulka 1: Popisná statistika morfologie spermií vlašťovky obecné	36
Tabulka 2: Motilita a velikost výčnělku kloaky samců vlašťovky obecné	36
Tabulka 3: Korelační matice částí spermie.....	37
Tabulka 4: Opakovatelnost jednotlivých komponent spermie z prvního odběru	38
Tabulka 5: Opakovatelnost jednotlivých komponent spermie mezi odběry	39
Tabulka 6: Závislost motility na velikosti výčnělku kloaky podle času v sezóně.....	42
Tabulka 7: Počáteční plný model pro motilitu (lnVCL).....	43
Tabulka 8: Minimální adekvátní model pro motilitu.....	43
Tabulka 9: Obecné charakteristiky druhotného ornamentu samců pro rok 2010.....	44
Tabulka 10: Korelace faktorů PCA analýzy a jednotlivých charakteristik spermie.....	45
Tabulka 11: Korelační matice zbarvení jednotlivých barevných oblastí.....	47
Tabulka 12: Korelace faktoru 1 tří PCA analýz a jednotlivých charakteristik barvy.....	47
Tabulka 13: Korelační matice zbarvení jednotlivých barevných oblastí.....	48
Tabulka 14: Výsledky plného modelu mnohonásobné regrese pro morfologii.....	48
Tabulka 15: Výsledky plného modelu mnohonásobné regrese pro motilitu	49
Tabulka 16: Minimální adekvátní model pro motilitu.....	49
Tabulka 17: Srovnání manipulovaných a nemanipulovaných samců na začátku sezóny	50
Tabulka 18: Vliv interakce manipulace a odchytu na délku spermie	50
Tabulka 19: Vliv interakce manipulace a odchytu na variabilitu spermií (CV_{total})	51
Tabulka 20: Vliv manipulace na morfologii spermií (výsledky párových t-testů).....	51
Obrázek 1: Části spermie vlašťovky obecné	11
Obrázek 2: Vlašťovka obecná.	20
Obrázek 3: Průběh hnízdění na sledovaných lokalitách	25
Obrázek 4: Mapa studijních lokalit.....	26
Obrázek 5: Ornament samce na svrchní straně ocasu	29
Obrázek 6: Variabilita v délce spermií mezi samci	37
Obrázek 7: Variabilita v motilitě spermií mezi samci	40
Obrázek 8: Sezónní proměnlivost motility spermií	41
Obrázek 9: Sezónní proměnlivost velikosti výčnělku kloaky	41
Obrázek 10: Graf závislosti motility na délce krčku spermie.....	43
Obrázek 11: Meziroční změna délky ocasních per	45
Obrázek 12: Vztah morfologie spermie a délky ocasních per	46
Obrázek 13: Změna CV mezi odběry v závislosti na manipulaci ornamentu	51
Obrázek 14: Změna CV u manipulovaných samců	52