

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Hana Bednářová

Antipredační funkce multimodálních výstražných signálů

Antipredatory function of multimodal warning signals

Bakalářská práce

Školitel: doc. Mgr. Alice Exnerová, Ph.D.

Praha 2013

Poděkování:

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala především své školitelce doc. Mgr. Alici Exnerové, Ph.D. za její trpělivost, čas a rady, které mi poskytla při zpracovávání této bakalářské práce. Velký dík patří také mým rodičům za jejich obrovskou podporu během celého mého studia.

Prohlášení:

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

V Praze dne:

Podpis:

1. Úvod	1
2. Multimodální vs. multikomponentální signalizace	2
2.1. Multimodální signalizace	2
2.2. Multikomponentální signalizace	3
3. Multimodální výstražná signalizace	4
4. Metodické aspekty studia	6
4.1. Typy kořisti	6
4.2. Testované signály	7
4.3. Predátoři	9
4.4. Typy experimentů	11
5. Akustická a optická signalizace	13
5.1. Funkce vůči různým predátorům.....	13
5.2. Funkce vůči stejným predátorům	17
6. Chemická a optická signalizace	20
6.1. Kombinace čichové a optické signalizace.....	20
6.2. Kombinace chuťové a optické signalizace	26
6.3. Práce kombinující čichovo-optické a chuťovo-optické experimenty	32
7. Závěr	35
8. Seznam použité literatury	37

Abstrakt

Mnoho druhů kořisti se brání útokům predátora multimodální výstražnou signalizací. Signalizace mezi organismy je multimodální, jestliže se na ní podílí více smyslových modalit, tedy například zároveň zrak a sluch (optická a akustická signalizace) či zrak a čich nebo chuť (optická a chemická signalizace). Tyto dvě zmíněné kombinace modalit jsou kořisti používány nejčastěji a mohou ji chránit dvěma způsoby. Buď jde o účinnou obranu proti několika různým predátorům, nebo jednotlivé modalitě interagují a zesilují svůj účinek vůči jedinému predátorovi. Multimodální výstražná signalizace může zvyšovat iniciální opatrnost predátora, který k takto signalizující kořisti přistupuje, může mít také efekt na jeho schopnost učení a paměť.

Klíčová slova: Multimodální signály, multimodalita, multikomponentální signály, varovné signály, aposematické signály

Abstract

Many kinds of prey are defended against predator attacks by multimodal warning signals. Signalling is multimodal if it concerns more than one sensory modality, for example sight and simultaneously audition (visual and acoustic signalling) or sight and olfaction or taste (visual and chemical signalling). Those two mentioned modality combinations are used by prey most frequently and are able to protect it in two ways. It can be an effective protection against multiple predators or these modalities cooperate and enhance their impact on one single predator. Multimodal warning signals are able to enhance initial aversion in predators, it can also influence learning process and predator's memory.

Key words: Multimodal signals, multimodality, multicomponental signals, warning signals, aposematic signals

1. Úvod

Multimodální výstražné projevy nejčastěji kombinují optické signály s odpudivými pachy, hořkými tekutinami nebo nepříjemnými zvuky, tedy se signály z jiných smyslových modalit (Rowe & Guilford 1999b). Kořist nemusí používat vždy jen kombinaci dvou modalit, známe druhy bránící se třemi nebo čtyřmi modalitami zároveň (Rowe & Halpin 2013). Kořist buď signalizuje všemi dostupnými modalitami zároveň, ty spolu interagují a zesilují obranný účinek vůči jednomu predátorovi, nebo volí modalitu v závislosti na druhu přítomného predátora. Může se stát, že na jeden typ signálu reagují například pouze savci a na druhý typ pouze ptáci.

Cílem této bakalářské práce je shrnout dosavadní poznatky o antipredační funkci multimodálních výstražných signálů. Prostudováním literatury bych ráda zjistila, co v současnosti víme o těchto otázkách:

- Jak kořist používá multimodální výstražnou signalizaci na svoji obranu?
- Jak predátoři na multimodální signalizaci reagují ve srovnání se signalizací unimodální?
- Jsou některé signály účinnější a důležitější než jiné?
- Které aspekty chování predátora multimodální výstražná signalizace ovlivňuje?
- Jak vypadá experimentální design prací na toto téma?
- Lze testovat multimodální výstražnou signalizaci i v přirozených podmínkách?
- Které druhy kořisti a predátorů jsou v souvislosti s touto problematikou testovány?

Nejvíce prostudované jsou kombinace akusticko-optické signalizace a chemicko-optické signalizace, proto jsem se ve své bakalářské práci zaměřila právě na tyto dva tématické okruhy.

2. Multimodální vs. multikomponentální signalizace

Termín „modalita“ se používá k označení smyslu, kterým signalizující jedinec vysílá signál, který je přijat stejným či jiným smyslem přijímajícího jedince (Smith & Evans 2013). Komunikace mezi organismy je multimodální, jestliže se na ní podílí více smyslových modalit, tedy například zároveň zrak a sluch (optická a akustická signalizace) či zrak a čich nebo chuť (optická a chemická signalizace). Tato signalizace se uplatňuje v široké škále životních situací organismů - při námluvách (Grafe et al. 2012; Taylor et al. 2011), péči o mláďata (Jacob et al. 2011), při lákání opylovačů rostlinami (Kulahci et al. 2008) a konečně i při výstražném signalizování od kořisti k predátorovi (Marples & Roper 1996; Skelhorn & Rowe 2005a; Barnea et al. 2004). Za multikomponentální signalizaci se obvykle považuje signalizování několikanásobnými signály v rámci jedné modality, které jsou rozpoznávány pouze jedním smyslem (Rowe 1999), někdy se ale v literatuře můžeme setkat i s odlišným pojetím. Zároveň existují i multikomponentální multimodální signály, které kombinují násobné signály v rámci jedné modality se signály ostatních modalit (Smith & Evans 2013).

2.1. Multimodální signalizace

Multimodalita může pro signalizujícího i přijímajícího přinášet množství výhod. Jaké to jsou, záleží především na typu signálu. Multimodální signály můžeme dělit na redundantní a neredundantní (Partan & Marler 2005). Redundantní signál prezentovaný jednotlivě má stejný význam jako více redundantních signálů prezentovaných najednou. Velký počet redundantních (nadbytečných, zástupných) signálů zajišťuje spolehlivé doručení zprávy příjemci a snižuje pravděpodobnost chyby během detekce a identifikace komunikace. Jednotlivé komponenty neredundantního signálu mají různé účinky a jejich spojením v multimodální signál vznikne nový význam. Pokud jsou signály neredundantní, může mít každý z nich odlišnou funkci a dohromady dají mnohem komplexnější a lépe rozpoznatelnou informaci než signál unimodální (Partan & Marler 2005).

Nejlépe se fungování multimodálních signálů ilustruje na příkladech. Multimodalitu lze dobře využít v hlučném prostředí. V případě skokana rodu *Staurois* je hluk způsoben vodopády a proto žába používá při komunikaci během námluv jak speciálně přizpůsobené akustické tak optické signály. Signály zde nejsou vydávány zároveň, ale postupně. Samec skokana na sebe nejprve upozorní akusticky krátkým zvukem, který díky své vysoké frekvenci nezanikne v hlučném prostředí, a až poté použije signály optické (roztažení chodidla, mávání končetinou či přikrčení), kterými lépe informuje samici o svých kvalitách (Grafe et al. 2012).

Při námluvách jiné žáby - hvězdalky pěnodějně (*Physalaemus pustulosus*) lákají samci samice voláním a současně nafukují hrdelní vak vzduchem. Taylor et al. (2011) testovali, jak se liší reakce samic na multimodální signalizaci a samostatné unimodální prvky (pouze volání / pouze nafukování hrdla). Zjistili, že samotný optický signál pro zaujetí samice vůbec nestačí, nejvíce je pro ně atraktivní synchronní multimodální signalizace.

Svoji fitness mohou pomoci multimodální signalizace zvyšovat i rostliny, své opylovače mohou lákat opticky i chemicky. Kulašci et al. (2008) testováním čmeláků (*Bombus impatiens*) dokázali, že se tyto opylovači rychleji učí rozeznávat správné květiny pro opylování, pokud mají k dispozici signál multimodální. Jestliže měli během experimentu informaci pouze optickou či pouze chemickou, učili se pomaleji a s menší přesností.

Organismy často používají multimodální signalizaci v prostředí, které se mění a každá změna dává výhodu jiné modalitě (Grafe et al. 2012). Multimodální komunikace však nese pouze výhody, ale i nevýhody. Nevýhodou multimodality může být energeticky nákladnější produkce, koordinace a recepce signálů. S komplexnější signalizací se také zvyšuje riziko predace - jak pro signalizujícího jedince, který se stává nápadnějším pro predátora, tak pro přijímajícího, který si věnuje pozornost složité komunikaci predátora nemusí všimnout (Partan & Marler 2005).

2.2. Multikomponentální signalizace

Multikomponentální signály jsou vícečetné signály rozpoznávané pouze jedním smyslem, například zrakem můžeme zároveň sledovat barvu, kontrast, pohyb i tvar. Multikomponentalita zlepšuje odhalitelnost, rozpoznatelnost, přesnost a zapamatovatelnost signálu přijímajícím jedincem (Rowe 1999).

Tato signalizace se samozřejmě týká nejen zraku ale i dalších modalit, což opět ilustrují na několika příkladech. Z hmyzu se multikomponentálně dorozumívají mimo jiné mravenci, kteří sekretují specifické chemické látky skládající se z množství nezávislých komponent (Hölldobler 1995), a cvrčci (Scheuber et al. 2003).

Samci pavouků *Schizocosa stridulans* produkují multikomponentální signály během námluv (Elias et al. 2006). Pavouci vydávají dva typy signálů – tzv. „rev“ a „idle“ signály. Rev se skládá z vysokofrekvenční části produkované ohýbáním makadel (stridulace) a nízkofrekvenční části vzniklé pohyby zadečku (tremulace). Idle signály jsou složeny z hlasitého bubnování předních nohou do podkladu (perkuse) a opět stridulace. Během rev signálu pavouk striduluje a tremuluje zároveň (paralelní signalizace), naopak během idle signálu nejdříve bubnuje do podkladu a až poté striduluje (seriální signalizace). Pro správné dorozumění samce a samice je důležité nejen správné použití jednotlivých komponent, ale také jejich vhodné načasování.

Za multikomponentální signál považujeme i dva rozdílné harmonické zvuky, které někteří pěvci (Oscines) dokáží produkovat současně dvěma nezávislými částmi syringu (Suthers 1990). Mezi ptáky nacházíme i další ukázky multikomponentality, například samičky lemčika hedvábného (*Ptilonorhynchus violaceus*) si vybírají samečky podle barvy peří, která vypovídá o kondici samečka, a podle kvality jeho loubí. Loubí je stavba, kterou sameček buduje a zdobí právě za účelem nalákání samičky k páření. Oba znaky samička vnímá zrakem, jde tudíž o multikomponentální optickou signalizaci (Doucet & Montgomerie 2003).

3. Multimodální výstražná signalizace

Multimodální výstražné projevy kombinují optické signály se signály z jiných smyslových modalit, aposematicky zbarvená kořist může při napadení produkovat odpudivé pachy, hořké tekutiny nebo nepříjemné zvuky (Rowe & Guilford 1999b). Jakékoliv výstražné signály by měly být především snadno rozpoznatelné, nápadné, dlouhotrvající, samy o sobě neškodné, ale snadno zapamatovatelné (Guilford et al. 1987).

Obranu proti predátorovi rozčlenil Edmunds (Edmunds 1974 ex Olofsson 2011) na primární obranu, která snižuje pravděpodobnost napadení kořisti, a sekundární obranu, která slouží ke zvýšení pravděpodobnosti přežití kořisti po napadení predátorem. Kořist chrání se primárně je buď nepoživatelná a pak tuto informaci signalizuje predátorovi například aposematickým zbarvením, nebo je jedlá a jejím cílem je, aby ji predátor vůbec neobjevil a proto používá maskování a krypsi. Sekundární obrana může vypadat různě, příkladem mohou být některé chemikálie produkované některými druhy kořisti, které po pozření vyvolávají nevolnost, mohou být hořké, nepříjemné a predátorovi způsobit bolest či nemoc (Rowe & Halpin 2013). Toto nelze zobecnit na všechny nepříjemné chemikálie produkované kořistí, existují práce, ve kterých bylo zjištěno, že samotná nepříjemná chuť nezabrání napadení predátorem a může tedy plnit funkci signálu (Marples et al. 1994).

Rowe & Halpin (2013) striktně rozlišují tzv. „multimodální obranné projevy“ (angl. multimodal defensive displays) a „multimodální výstražné signály“ (multimodal warning signals). U multimodálních obranných projevů není možné rozlišit, zda daná komponenta plní funkci signálu nebo je přímo součástí samotné obrany, zatímco termín multimodální výstražná signalizace může popisovat pouze ty případy, kdy víme, že má daná komponenta signalizační funkci.

Otázkou, jak tak komplexní a často nákladná multimodální výstražná signalizace mohla vzniknout, se zabývali Rowe & Guilford (1999b). Vícečetné signály představují spolehlivější informaci pro přijímajícího, jsou rozpoznány rychleji než jeden a vůbec zvyšují šanci na detekování signálu (Rowe 1999). Nevizuální komponenty, tedy chemické či akustické, zvyšují psychologický účinek optických signálů a mohou vyvolávat skrytou averzi vůči optickému stimulu (Rowe & Guilford 1996). Multimodální výstražná signalizace může fungovat jako obrana proti různým predátorům (Vallin et al. 2005; Vallin et al. 2006; Wiklund et al. 2008) nebo jednotlivé modalities interagují a zesilují svůj účinek na jediného predátora (Rowe & Skelhorn 2005; Rowland et al. 2013; Avery & Nelms 1990).

Obrana hmyzu může být velmi složitá a zapojovat až čtyři různé modalities zároveň. Rowe & Halpin (2013) z komplexního vyhodnocení řady prací studujících celkem 99 druhů hmyzu zjistili, že používat čtyři různé modalities není zcela běžné, hmyz se takto bránil v 8 % zdokumentovaných případech. Se zvyšujícím se počtem využívaných modalit se snižuje počet druhů, které se takto brání. 61 druhů hmyzu z 99 se bránilo dvěma typy signálů, 20 třemi a 8 čtyřmi. Z článku dále plyne, že u řádů

Diptera a Hymenoptera převládá obrana ve formě kombinace akustické a optické signalizace, zatímco u řádů Orthoptera, Hemiptera, Coleoptera a Lepidoptera dominují druhy s chemicko-optickou multimodální signalizací.

Kořist signalizující multimodálně má větší šanci na zaregistrování a rozpoznání této signalizace predátorem. Také bylo zjištěno, že predátor na multimodální signál reaguje rychleji než na jednotlivé složky signálu (Rowe 1999). Nejen naivní predátoři se s větší pravděpodobností vyhnou asposematicky zbarvené kořisti, produkuje-li další výstražný signál (Jetz et al. 2001). Je-li optická signalizace kořisti doprovázena signalizací určenou dalšímu smyslu, může se predátor signalizované informace (například nepoživatelnost kořisti) naučit lépe a rychleji, než když je mu signalizováno pouze unimodálně (Siddall & Marples 2008; Roper & Marples 1997). V neposlední řadě zůstávají informace získané multimodální signalizací v paměti predátora déle, než když mu kořist signalizuje pouze jednou modalitou (Roper & Marples 1997).

4. Metodické aspekty studia

Experimentální design prací, které se zabývají výstražnými multimodálními signály, se velmi různí především v závislosti na typu studované modality. Liší se od sebe typem použité kořisti, modelovým predátorem i prostředím, ve kterém experiment probíhá.

4.1. Typy kořisti

V pokusech se používá kořist dvou druhů – kořist přirozená a umělá. U přirozené kořisti autoři experimentů využívají její vlastní signalizace, která patří k normálnímu vybavení daného druhu. Ostatní kořist se může označit jako kořist umělá, protože ji při pokusu autoři upravují a přidávají signály, které původně nenesla. Oba typy mají své výhody a nevýhody. S umělou kořistí (např. s granulemi) se snadno manipuluje, ale není jisté, že na ní predátor reaguje stejně, jako by reagoval na přirozenou kořist. Nevýhodou přirozené kořisti může být její špatná dostupnost, obvykle musí být konkrétní druh hmyzu odchycen z přírody ve velkém množství a v zajetí ještě namnožen, také se u ní hůře manipuluje s jednotlivými signály. Na druhou stranu je u této kořisti velmi pravěpodobné, že na ní predátor reaguje přesně tak, jak by tomu bylo v přirozených podmínkách.

4.1.1. Přirozená kořist

Používání přirozené kořisti není z důvodů zmíněných výše úplně jednoduché, přesto se k němu ve svých experimentech někteří autoři přiklonili. Nejčastěji se s přirozenou kořistí setkáváme v pracích o akustických signálech, existuje ale i práce z oblasti chemicko-optické.

Vallin et al. (2005) použili ve svém experimentu jako kořist babočku paví oko (*Inachis io*). Nejprve odchytily několik fertálních samic, jejichž potomstvo odchovali na hostitelské rostlině kopřivě dvoudomé (*Urtica dioica*). Stejně odchovali autoři motýly v dalším svém experimentu (Vallin et al. 2006), nyní i babočky kopřivové (*Aglais urticae*) a babočky meruzalkové (*Polygonia c-album*). Babočky paví oko jsou schopné akustické signalizace produkcí několika typů zvuků včetně ultrazvuků (Mohl & Miller 1976). Babočky meruzalkové zvuky nepoužívají a jsou kryptické, babočky paví oko se naopak brání predátorům výstražným optickým signálem, kterým je specifická kresba jejich křídel. Babočky kopřivové používají jak akustickou tak optickou signalizaci, i když jejich kresba na křídlech nemá na predátory tak silný averzivní účinek jako je tomu v případě baboček paví oko (Vallin et al. 2006). Modelovou kořistí jsou babočky také například v experimentech Olofsson et al. (2011), Olofsson et al. (2012) a Wiklund et al. (2008).

Přástevníci (*Arctiinae*) jsou motýli, z nichž někteří umí produkovat ultrazvuky, někteří jsou výstražně zbarvení a všichni slyší echolokující netopýry. Jejich životní strategie jsou zajímavé a zabývali se jimi Ratcliffe & Nydam (2008), Fullard et al. (1979), Hristov & Conner (2005) a další. Ratcliffe & Fullard (2005) se zabývali druhem *Cycnia tenera*, který je nepoživatelný a proti predaci netopýry se brání akusticky i chemicky.

Dalším druhem hmyzu, který přirozeně signalizuje multimodálně je slunéčko sedmítečné (*Coccinella septempunctata*). Tento druh je výstražně černo-červeně zbarvený a také je chráněn chemicky. Tělo slunéčka obsahuje hořké alkaloidy kokcinelin a prekokcinelin, které jsou pro predátory odpudivé. Slunéčka navíc tyto látky při napadení predátorem vypuzují ven z těla rozpuštěné v hemolymfě, která vytéká z končetin na rozhraní tibie a femuru (Marples et al. 1994). Kromě odpudivé chuti je hemolymfa navíc cítit pyraziny (Rothschild & Moore 1987 ex Marples et al. 1994). Slunéčka byla v experimentu Marples et al. (1994) chována na kyjatce hrachové (*Acyrtosiphon pisum*). Jako nechráněnou variantu kořisti zde použili autoři dospělce potemníka stájového (*Alphitobius diaperinus*), což jsou tmavě hnědí požitelní brouci velikostí srovnatelní se slunéčkem sedmítečným.

4.1.2. Umělá kořist

Při studiu chemicko-optické kombinace modalit je běžnější použití umělé kořisti. Nejčastěji se setkáváme s krmnými granulemi (tzv. „starter crumbs“), které mohou být podávány čerstvě vylíhnutým mláďatům kura domácího. S těmito granulemi se velmi snadno manipuluje, mohou být podle potřeby jednoduše obarvené, ochucené nebo namočené do roztoku nějaké aromatické látky (Rowe & Guilford 1996; Roper & Marples 1997; Skelhorn et al. 2008). Avery & Nelms (1990) podobně upravovali rýži konzumovanou vlvovci červenými, Kelly & Marples (2004) zase nabízeli zebříčkám pestrým pastu z vody a zrní.

Jako kořist se v experimentech používají i larvy potemníka moučného (*Tenebrio molitor*), tzv. mouční červi, kteří sice nejsou proti predátorovi přirozeně nijak chráněni, ale může s nimi být zacházeno podobně jako s granulemi. Do moučných červů je navíc možné ústním otvorem vstříknout jakýkoliv roztok, aniž by se při konzumaci červa predátor setkal s jeho chutí. Do jednoho moučného červa lze aplikovat dávku 0,02 ml vody či například roztoku chininu (Skelhorn & Rowe 2006a; Skelhorn & Rowe 2010).

Méně časté je použití vody namísto kořisti, kterou lze také podle potřeby barvit a ochucovat (Marples & Roper 1996). Výsledky experimentů studující podobný problém na tekuté a pevné potravě se však mohou lišit, protože ptáci reagují jinak na pevnou potravu a jinak na tekutiny, averze u nich vznikne snadněji vůči pevné potravě než tekutině. (Gillette et al. 1980).

4.2. Testované signály

Testované signály můžeme rozdělit podle modality, pro kterou jsou určeny. Tato rešerše se týká především optických, akustických, chuťových a čichových signálů.

4.2.1. Optické signály

Autoři využívají jak umělých optických signálů, tak přirozených, které mohou navíc podle potřeby upravovat. Například Vallin et al. (2005) zabarvili výstražné oční skvrny na křídlech babočky paví oko (*Inachis io*) černou barvou, aby odhalili princip jejich fungování v obraně proti predátorovi. Umělá kořist, jako granule nebo mouční červi, je obvykle barvena ve vodě rozpustnými potravinářskými barvivy a poté usušena. Pokud jsou součástí experimentu granule, které nepotřebují barvit, jsou i tak někdy nastříkány čistou vodou. Nasáknutí granulí vodou může totiž změnit jejich strukturu a i po usušení by rozdíl mezi ošetřenými a neošetřenými granulemi mohl ovlivnit rozhodování sledovaného predátora (Halpin et al. 2008a), což je nežádoucí. V některých experimentech není obarvena přímo potrava nebo voda. V práci Barnea et al. (2004) byla optickým signálem barva hadice, kterou byla podávána kuřatům voda. Za výstražné aposematické se považují žlutá, oranžová a červená barva, aposematicky nevýznamné jsou například zelená a fialová (Rowe & Halpin 2013). Další optický signál studovaný v souvislosti s multimodální signalizací je kontrast vůči podkladu. Lindström et al. (2001) podávali kuřatům zelené a fialové granule na zeleném nebo fialovém pozadí, granule stejné barvy jako pozadí simulovaly kryptickou kořist a ty druhé, kontrastující s pozadím, kořist nápadnou.

4.2.2. Akustické signály

Zvuky jsou během experimentů produkovány buď přímo kořistí (Wiklund et al. 2008; Vallin et al. 2005, 2006) nebo jsou predátorovi přehrávány přístroji. Přehrávaný zvuk může být předem nahraný autentický varovný zvuk kořisti, například jako u Rowe & Guilford (1999b) bzučení čmeláka zemního či vosy (Hauglund et al. 2006), nebo jde o zvuk umělý, který nemá s varováním nic společného (Rowe 2002).

4.2.3. Chuťové signály

Pokud je zapotřebí ochutit potravu tak, aby byla pro predátora odpuzivá, používají se roztoky chininu (Roper & Marples 1997; Skelhorn et al. 2008), chininsulfátu (Skelhorn & Rowe 2006a), chlorochinu (Rowland et al. 2013), methiokarbu (Avery & Nelms 1990) či Bitrexu (Skelhorn et al. 2008). Methiokarb se v praxi používá jako repelent vyvolávající po požití u ptáků nevolnost, chinin je mírně toxická hořká látka chemicky podobná obranným toxinům používaných hmyzem, která při větších koncentracích působí jako dávidlo. Bitrex je komerční název pro denatonium benzoát, což je umělá velmi hořká netoxická chemikálie. K odrazení ptáků od konzumace potravy stačí poměrně slabé roztoky těchto látek. Skelhorn et al. (2008) použili 2% roztok chininu a 2% roztok Bitrexu, stejně tak Skelhorn & Rowe (2006b). Síla roztoku je důležitá, někdy jsou testovány rozdíly mezi různě silnými roztoky, například Halpin et al. (2008b) použili 1% a 4% roztok chininsulfátu.

4.2.4. Čichové signály

Mnoho druhů kořisti produkuje na svoji obranu specifické pachy, často jde o různé formy pyrazinů. V experimentech se používají 2-isobutyl-3-methoxypyrazin (Rowe & Guilford 1996; Rowe & Guilford 1999a; Jetz et al. 2001; Lindström et al. 2001; Siddall & Marples 2008), 3-sec-butylpyrazin (Marples & Roper 1996) nebo 3-isopropyl-2-methoxypyrazin (Kelly & Marples 2004). Pyraziny se vyskytují v nejrůznějších organismech napříč biologickým systémem – v rostlinách, hmyzu, suchozemských obratlovcích, mořských organismech, houbách i bakteriích (Woolfson & Rothschild 1990). Na svou obranu je produkuje například slunéčko sedmitečné (*Coccinella septempunctata*) (Marples et al. 1994). Pyraziny mohou být varujícím signálem (Rowe & Guilford 1999a), mohou zesilovat vrozenou averzi vůči nové výstražně zbarvené kořisti (Marples & Roper 1996) a když predátor překoná strach z nové potravy a začne s ní manipulovat, může podle pachu pyrazinu rozlišovat různé druhy potravy vizuálně identické (Guilford et al. 1987).

Později byl objeven i vliv pyrazinů na fyziologii živočichů. Katz et al. (1999) testovali vliv 3-isobutyl-2-methoxypyrazinu na fyziologii kura domácího (*Gallus gallus domesticus*). Kuřata byla pyrazinu vystavena v různých fázích vývoje. Pach byl přítomen v inkubátoru ve formě roztoku, který byl obnovován každých 12 hodin, po vylíhnutí kuřat byl pach v chovné místnosti oživován každé ráno po krmení. U samců vystavených pyrazinu v inkubátoru i po vylíhnutí významně vzrostla relativní hmotnost nadledvin, hypertrofie orgánu byla způsobena dlouhodobým stresem zapříčiněným pyrazinem. U samic vystavených působení pyrazinu po dobu inkubace klesla relativní hmotnost hřebínku. Celková hmotnost těla klesla v přítomnosti pyrazinu u obou pohlaví, i když u samců byl úbytek oproti kontrole výraznější. U samců myši domácí (*Mus musculus domesticus*) vystavených 2,5-dimethylpyrazinu zjistili Jemiolo & Novotny (1994) naopak nárůst hmotnosti těla. Katz et al. (1999) uvažují, že příčinou rozdílu může být jak taxonomická vzdálenost druhů, tak použití jiného typu pyrazinu.

Pyrazin u slepic ovlivňuje také velikost vajec. Dospělé slepice byly v experimentu Barnea & Rothschild (2002) vystaveny pyrazinu po 16 týdnů. První čtyři týdny snášely tyto slepice oproti kontrole sice méně vajec, ale už v šestém týdnu kontrolu vyrovnaly počtem a předčily velikostí vajec. Pyrazin neměl vliv na tloušťku skořápky ani na hmotnost slepic.

4.3. Predátoři

V naprosté většině prací o multimodálních výstražných signálech se setkáváme s ptačími predátory, nejčastěji pak s kurem domácím *Gallus gallus domesticus* (Galliformes). Někdy známe konkrétní plemeno, například Ross (Jetz et al. 2001), ale obvykle je zmíněno pouze pohlaví, původ a stáří testovaných ptáků. Velkou výhodou práce s kurem domácím je jeho snadná dostupnost a možnost odběru naivních několikadenních mláďat z průmyslových líhní. Mláďata kura domácího (kuřata) jsou zvyklá žít ve skupině, proto se během experimentů studujících potravní chování používají tzv. „společníci“ (angl. „buddy chicks“). To jsou kuřata, která se neúčastní vlastního experimentu, ale jsou

mu přítomna, aby testovaná kuřata nebyla stresována osamoceností a nebyly ovlivněny výsledky (např. Skelhorn & Rowe 2005a). Kuřata jsou stěžejní pro experimenty studující chemickou a optickou signalizaci a jsou důležitá i pro testování akustické a optické signalizace kořisti vůči stejným predátorům. Do řádu Galliformes patří i křepelka japonská (*Coturnix coturnix japonicus*), kterou jako predátora slunéček sedmitečných testovali Marples et al. (1994).

Aby se vyloučilo, že poznatky získané na kurovi domácím, jsou specifické pouze pro něj či pro řád hrabavých, studovali Kelly & Marples (2004) potravní chování dospělců zebřičky pestré *Taeniopygia guttata* (Passeriformes). Autoři testovali vždy dvě zebřičky najednou tak, aby spolu mohly vokálně komunikovat a nevznikl u nich stres z osamocenosti.

Kromě naivních mláďat odchovaných v laboratoři nebo líhni lze experimentovat s ptáky odchycenými z přírody, příkladem může být špaček obecný *Sturnus vulgaris* (Passeriformes). Špačci jsou buď vybráni z hnízda a dokrmeni v laboratoři (Skelhorn & Rowe 2006a) nebo jsou odchyceni jako dospělci (Skelhorn & Rowe 2010). Pokud by byl s oběma skupinami prováděn stejný experiment studující potravní chování, dá se předpokládat, že se výsledky budou lišit díky rozdílné zkušenosti ptáků. Špačci nejsou vypuštěni do přírody ihned po experimentu, někdy zůstávají v zajetí poměrně dlouho, například Barnett et al. (2012) je vypustili až po 7-9 měsících od odchycení.

Podmínky v zajetí by měly divokým ptákům co nejvíce připomínat jejich přirozené prostředí a ptáci by si na ně měli nějakou dobu zvykat (habituovat se), proto Avery & Nelms (1990) chovali před testováním vlvovce červenokřídlé *Agelaius phoeniceus* (Passeriformes) ve skupinách 20-25 jedinců po dobu 3-6 měsíců. I samotný experiment se musel podřítit tomu, že vlvovci žijí ve skupinách, a tak byli ptáci testováni ve skupinách po čtyřech.

Oblíbeným modelovým predátorem je také sýkora modřinka *Cyanistes caeruleus* (Passeriformes). Zde vystupuje v experimentech s babočkami jako predátor, na kterého funguje jejich optická antipredační signalizace.

Na akustickou složku multimodální signalizace baboček reagují savci. Olofsson et al. (2011) zjistili, že predátory baboček jsou jak hlodavci (Rodentia) myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*) či norník rudý (*Clethrionomys glareolus*), tak hmyzožravci (Eulipotyphla) jako například rejsci (*Sorex* spp.). Olofsson et al. (2012) prováděli experiment s myšicemi lovicími babočky v laboratoři, k těmto účelům je odchytávali z přírody pomocí pastí s nastroženými oříšky a okurkou. V zajetí drželi myšice jednotlivě v klecích, v kterých měly dostatek potravy i vody a místo k úkrytu.

Noční motýly přástevníky zase loví netopýři, například netopýři hnědí *Eptesicus fuscus* (Hristov & Conner 2005) či netopýři ušatí *Myotis septentrionalis* (Ratcliffe & Fullard 2005). Netopýři odchycení z volné přírody nejsou v zajetí drženi dlouho, Ratcliffe & Fullard (2005) drželi netopýře ušaté jen 2-6 nocí, než byli využiti k testování, byli netopýři umístěni v dřevěných krabicích s dostatkem vody a potravy, někdy i ručně dokrmováni moučnými červy.

4.4. Typy experimentů

Práce studující multimodální antipredační signalizaci můžeme rozdělit na experimenty odehrávající se v přirozeném prostředí a experimenty v laboratoři. Oba způsoby mají své klady i zápory. Pozorováním chování kořisti a predátora v přirozeném prostředí se odpoutáme od chyb, které mohou být zapříčiněné špatnou volbou metodiky nebo podmínkami v laboratoři příliš vzdálenými realitě. Na druhou stranu zde nelze kontrolovat faktory ovlivňující kořist a predátora tak snadno jako v laboratoři. Některé experimenty je jednodušší provádět v laboratoři a u některých by to ani jinde nebylo možné, což je zřejmě důvod, proč je prací z přirozeného prostředí méně.

V přirozeném prostředí je možné pozorovat hibernující babočky paví oko a babočky kopřivové, které přezimují na nevytápěných půdách. Wiklund et al. (2008) ve své práci velmi podrobně jednu takovou půdu popsali, babočky i jejich predátoři sem měli volný přístup a autoři v několika intervalech počítali úbytky kořisti. Olofsson et al. (2011) na stejné půdě predaci baboček přímo natáčeli pomocí kamer s infračerveným snímáním, které byly aktivovány pohybem.

Experimenty v laboratoři můžeme dobře rozdělit podle toho, zda testují iniciální opatrnost vůči kořisti, učení nebo paměť predátora. Autoři prací studujících iniciální opatrnost vystavují predátora potravě, jejíž přítomnost je pro něj v jistých parametrech (barva, chuť, pach, zvuk) nepříjemná či nová, a sledují, zda ji predátor ochutná či zkonsumuje, případně jak dlouho bude trvat, než se k těmto krokům odhodlá (Rowe & Guilford 1996; Rowe & Skelhorn 2005). U tohoto typu experimentů se predátor s kořistí setká pouze jednou a výsledky plynou z počtu jednotlivých napadených či zkonsumovaných typů kořisti. Pokud chtějí autoři sledovat schopnost averzivního učení predátora, umožní mu setkat se s týmhž typem kořisti opakovaně a během každého kola si opět všimají množství napadené a zkonsumované kořisti (Siddall & Marples 2008). Predátor je považován za poučeného, pokud splní tzv. kritérium naučení (learning criterion), například tím, že konzumuje pouze neaposematickou nehořkou kořist (Siddall & Marples 2008). Poté může být různými způsoby testována paměť, Barnea et al. (2004) si definovali tzv. sílu zapamatování (length of recall) jako počet dní, které uplynuly od posledního dne učení do dne, kdy kuřata naučenou informaci zapomněla. Roper & Marples (1997) měřili paměť kuřat pouze jednorázově po 24 hodinách, Siddall & Marples (2008) rozdělili kuřata na skupinu testovanou po 3 hodinách a skupinu testovanou po 96 hodinách.

Všechny typy experimentů v laboratoři mají společnou část probíhající ještě před začátkem experimentu a tou je fáze vyhladování predátora. Jelikož je sledováno potravní chování, musí být predátor k lovu a hledání potravy motivován. Někteří autoři nechají kuřata vyhladovět přes noc (Jezt et al. 2001), jiní jen několik málo hodin těsně před experimentem (Rowe & Skelhorn 2005), efekt obou postupů je podobný, protože se denní ptáci v noci nekrmí. Stejně se dá zvýšit motivace pít během experimentu vodu jako v práci Barnea et al. (2004), kteří nechali kuřata bez vody přes noc. Jak naivní ptáci odchovaní v laboratoři, tak dospělci odchycení z volné přírody mohou v experimentální aréně přijít do styku s nezvyklou situací nebo předmětem. Pokud není cílem práce sledovat právě reakci na situaci, s kterou se ještě pták neseťkal, musí být před pokusem trénován. Fáze tréninku trvá obvykle

několik dní a predátor má zde prostor zvyknout si na nové prostředí. Ptáci se učí pít vodu z hadiček (Barnea et al. 2004), konzumovat neobvyklou potravu (Lindström et al. 2001) nebo se jen seznamují s boxem, kde bude později proveden pokus. Ptáci, kteří neuspějí v tréninku, jsou z experimentu vyřazeni.

Specifické zacházení a prostory vyžadují experimenty se signály působícími na velkou vzdálenost, například s pyrazinem. Siddall & Marples (2008) sledovaly dvě skupiny kuřat, z nichž pouze jedna byla pod vlivem pyrazinu. Aby nedošlo ke kontaminaci nepyrazinové skupiny pachem pyrazinu, každá polovina experimentu se odehrávala v jiné místnosti oddělené dveřmi, které během testování zůstávaly zavřené. Stejně oddělené prostory využili Siddall & Marples (2011) v práci s akustickými signály.

5. Akustická a optická signalizace

Multimodálnost může být efektivní obranou dvěma způsoby. Buď jednotlivé komponenty účinkují zároveň, působí na jednoho predátora a pro kořist je účinnější používat obě najednou, nebo multimodální obrana zvyšuje počet druhů predátorů, vůči kterým funguje. (Wiklund et al. 2008). Právě akustická a optická signalizace je kombinací, u které byly nalezeny a studovány oba úhly pohledu.

5.1 Funkce vůči různým predátorům

Následující práce se zabývají tím, že existují druhy hmyzu, které jsou loveny zároveň ptáky i savci a dokáží se těmto predátorům bránit za různých podmínek různým způsobem. Tato strategie může být mezi kořistí rozšířená více, ale jde o problém studovaný převážně až v současnosti a rozhodně zde zůstává mnoho nezodpovězených otázek.

U dlouhožijících motýlů, kteří procházejí zimní hibernací, očekáváme, že budou dobře chráněni proti predaci. Babočka paví oko (*Inachis io*) je nejedovatý druh motýla, který v klidu vypadá nenápadně jako suchý list, ale pokud je napaden, rychle třepotá křídly, což jednak způsobuje syčivý zvuk a jednak odhaluje výstražné oční skvrny na svrchní straně křídel. Jak zvuky vznikají, popsali Mohl & Miller (1976), kteří si všimli, že jsou při setkání s babočkou paví oko poplašení netopýři, konkrétně netopýr ušatý (*Plexotus auritus*) a netopýr hvízdavý (*Pipistrellus pipistrellus*) a že toto poplašení není způsobeno barevným vzorem křídel, nýbrž ultrazvuky produkované babočkou. Autoři rozdělili zvuky baboček na tři druhy – skřípavé zvuky, málo intenzivní cvakání („low-intensity clicks“) a velmi intenzivní cvakání („high-intensity clicks“). Skřípavé zvuky vznikají třením předních a zadních křídel o sebe, cvakání babočka vydává, když je úhel mezi křídly 30° - 60°. Vliv ultrazvuků na netopýry se zdá analogický vlivu přítomnosti očních skvrn na ptáky. Ptáci reagují na optický signál babočky paví oko, ale podle Mohl & Miller (1976) pravděpodobně neslyší zvuky, které motýl produkuje. Frekvence těchto ultrazvuků se pohybuje mezi 30 000 a 60 000 Hz, přičemž by ptáci měli být podle některých autorů schopni slyšet jen v rozmezí od 60 do 15 000 Hz (Brand & Kellogg 1939; Edwards 1943). Tito autoři studovali poměrně širokou škálu druhů - poláka dlouhozobého (*Nyroca valisineria*), výra virginského (*Bubo virginianus*), skřivana ouškatého (*Eremophila alpestris*), špačka obecného (*Sturnus vulgaris*), vrabce domácího (*Passer domesticus*) a holuba domácího (*Columba livia*). Schwartzkopff (1955) však naměřila, že některé druhy slyší na hranici ultrazvuku (20 000 Hz) či mírně nad ní s maximem u pěnkavy obecné (*Fringilla coelebs*), které dosahuje až 29 000 Hz.

Vallin et al. (2005) testovali, jestli zvuky produkované babočkou paví oko nějak ovlivňují sýkory modřínky (*Parus caeruleus*), jaký vliv na ně mají oční skvrny na křídlech motýlů a kombinace obou antipredačních mechanismů. Čtrnáctidenní dospělci babočky paví oko byli s dostatečnými energetickými zásobami umístěni do chladné místnosti o teplotě 6°C. Za této nízké teploty se aktivita motýlů omezí a nelétají. První skupině baboček autoři zabarvili oční skvrny černou fixou, tak aby

ztratily optický výstražný signál. Druhé skupině ustříhli část předních křídel, aby bylo zabráněno stridulaci a u třetí skupiny provedli obě úpravy. Každá ze skupin baboček byla spárována s kontrolou, které byla nabarvena a/nebo ustřížena jiná stejně velká část křídel. Experiment se odehrával v osvětlené místnosti, uprostřed které byl umístěn kmen z vrby (*Salix caprea*) s babočkami. Každý pták se během experimentu setkal pouze s jedním typem upravených baboček. Sýkory byly povzbuzeny k hledání potravy poblíž kmene umístěním dvou moučných červů na jeho konec. Experiment trval 30 minut a během této doby byly vždy objeveny všechny babočky. Než se sýkora přiblížila, zůstávaly babočky nehybné s křídly přitisknutými k sobě, po kontaktu se sýkorou křídla roztáhly a mávaly jimi. Z výsledků plyne, že více motýlů přežilo, pokud mohli používat optický signál – varovné oční skvrny na křídlech, než když jim byla černě přebarvena. Žádný rozdíl se naopak nenašel v přežívání skupin, které se lišily možností použití akustického obranného signálu. Z videozáznamu pořízeného během experimentu bylo zjištěno, že babočky se zabarvenými křídly stridulovaly intenzivněji než ty s přirozenou kresbou křídel a ptáci zůstávali v jejich blízkosti déle, protože je křídla bez očních skvrn nezastrašila a nedonutila k ústupu. Vše nasvědčuje tomu, že oční skvrny na křídlech babočky paví oko fungují dobře jako antipredační optický signál vůči sýkorám, ale stridulace motýlů na chování sýkor vliv nemá.

V navazujícím experimentu srovnávali Vallin et al. (2006) pravděpodobnost přežití setkání se sýkorou modřinkou u třech druhů motýlů – babočky paví oko (*Inachis io*), babočky kopřivové (*Aglais urticae*) a babočky meruzalkové označované také jako babočka bílé C (*Polygonia c-album*). Autoři použili stejnou experimentální místnost jako v pokusu Vallin et al. (2005), tentokrát vytopenou na 12°C, a sledovali, zda bude babočka objevena modřinkou a pokud ano, zda přežije její útok. Pokus přežilo 100 % baboček paví oko, přestože byly všechny odhaleny. Z patnácti baboček kopřivových bylo odhaleno třináct a z odhalených přežila pouze jedna, celkově přežilo tedy pouze 20 % baboček kopřivových. Antipredační strategií baboček meruzalkových je krypse, sýkory proto odhalily pouze 9 z 18 baboček a z devíti odhalených přežily dvě, celkově přežilo 67 % baboček meruzalkových. Babočky meruzalkové nemávaly po napadení sýkorou vůbec křídly, babočky paví oko tak činily naopak všechny. Také devět baboček kopřivových z patnácti použilo proti sýkorám mávání křídel a stridulaci. Jak babočky paví oko, tak babočky meruzalkové dobře přežily setkání s predátorem, každý druh ale z jiného důvodu – babočka meruzalková díky kryptickému zbarvení, babočka paví oko díky výstražné kresbě na křídlech. Babočky kopřivové nebyly v odhánění sýkor úspěšné takřka vůbec, pravděpodobně protože nedisponují výstražnými oky ani nejsou úplně kryptické. Autoři se domnívají, že může být jejich strategie účinná vůči menším predátorům.

Babočky prezimují například na nevytápěných půdách, v zahradních domcích a podobně, kde se setkávají i s jinými než ptačími predátory. Přežíváním zimního období baboček se zabývali Wiklund et al. (2008), kteří studovali dva druhy baboček zároveň – babočkou paví oko (*Inachis io*) a babočkou kopřivovou (*Aglais urticae*). Oba druhy se ve Švédsku, kde se experiment odehrával, líhnou na přelomu července a srpna a rozmnožují se až další jaro po několika měsících hibernace. Autoři

sledovali šestnáct týdnů stavy baboček přímo na jejich přirozeném zimovišti – nevytápěné půdě, kam umístili 120 motýlů od každého druhu a každé dva týdny kontrolovali jejich počet. Na půdu měli přístup přirození predátoři. Autoři také sledovali přežívání zimy stejně početných skupin obou druhů v podmínkách bez predace. Bez predace přežilo zimu 98 % baboček kopřivových a 92 % baboček paví oko. V experimentu s přirozenou predací přežilo šestnáctitýdenní periodu 65 % baboček kopřivových a 66 % baboček paví oko, přičemž naprostá většina z baboček, které nepřežily, zmizela během první poloviny periody. Blízko křídel zbylých po mrtvých babočkách byly často nacházeny myši exkrementy, které nasvědčují tomu, že byly babočky zkonzumovány malými hlodavci. Autorům se dokonce podařilo odchytnout dva jedince myšice lesní (*Apodemus flavicollis*). Na půdě nebyly nalezeny naopak žádné pozůstatky přítomnosti ptáků nebo netopýrů. Přežívání zimní hibernace baboček kopřivových a baboček paví oko se nelišilo, což může znamenat, že je jejich akustická obrana rovnocenně kvalitní a že optická obrana baboček paví oko není proti predaci hlodavci v zimě účinná.

Na stejných druzích baboček sledovali predaci i Olofsson et al. (2011), na rozdíl od Wiklund et al. (2008) však predaci přímo natáčeli pomocí kamer snímajících infračervené záření. Autoři chtěli zjistit, kdo babočky loví a zda se chování dvou druhů baboček v přítomnosti predátora nějak liší. Babočky byly umístěny vždy na místo, kde běžně přezimují a kam mají přístup predátoři. Kolo experimentu bylo ukončeno, pokud se motýl přesunul z dohledu kamery, nebo když byl uloven predátorem. Během každého kola byla kamerou sledována pouze jedna babočka, aby si jí predátor všiml, byl do její blízkosti umístěn kousek sušenky. Celkově bylo vyhodnocováno 17 kol s babočkami kopřivovými a 21 kol s babočkami paví oko. Během experimentu bylo zabito celkem 26 z 38 motýlů. Při 34 z 38 napadení byla nafilMOVána myšice lesní (*Apodemus flavicollis*) nebo myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*). Dále se podařilo natočit norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), rejsky (*Sorex spp.*) a jednoho potkana (*Rattus norvegicus*), do výsledků byly zahrnuty dva útoky norníka a dva rejsků, potkan motýla neatakoval. Experiment přežilo 10 (z 21) baboček paví oko a pouze dvě (ze 17) babočky kopřivové, paví oka byla také mnohem úspěšnější v zastrašování predátorů třepotáním křídel. Tyto výsledky se podstatně liší od předchozí popsané práce Wiklund et al. (2008). Babočky kopřivové musí na rozdíl od pavího oka přizpůsobovat antipredační strategii podle ročního období, v létě je pro ně nejlepší zůstat nenápadné, protože jejich barevný vzor ptáky od konzumace neodradí, v zimě by měly při napadení zastrašovat hlodavce či hmyzožravce třepotáním křídel a vytvářením ultrazvuku. Na videokameru byla zaznamenána pouze jedna takto se bránící babočka kopřivová, ale je možné, že jich bylo více. Pokud byl útok predátora velmi rychlý, nestačila se totiž kamera spouštěná pohybem zapnout a v osmi případech napadení babočky kopřivové nebyla situace před útokem natočena.

V navazujícím experimentu studovali vztahy mezi babočkou pavím okem a myšicemi (*A. flavicollis*, *A. sylvaticus*) Olofsson et al. (2012) v laboratoři. Babočky byly rozděleny do dvou skupin. První skupině bylo zamezeno ve stridulaci i produkci ultrazvuků ustřížením částí křídel, které jsou k těmto účelům používány. Druhé skupině baboček byly odstriženy stejně velké části křídel, které ale

na produkci zvuků žádný vliv nemají. U těchto baboček bylo pomocí zařízení detekující ultrazvuky ověřeno, že je po napadení mohou babočky produkovat. Experimenty se odehrávaly v noci v neosvětlených boxech chlazených na 7°C a vše natáčela videokamera citlivá na infračervené světlo. Motýl byl umístěn na stěně boxu, pod něj byl připraven moučný červ, aby myšice motýla snáze našla. Třepotání křídly bylo téměř vždy vyvoláno dotykem myšice, obvykle očicháním motýla. 8 motýlů třepotalo křídly už po prvním kontaktu s myšicí, 14 motýlu po druhém nebo třetím kontaktu a 2 motýli po větším počtu dotyků s myšicí. Z výsledků vyplývá, že 75 % (18 z 24) myšic ustoupilo od motýla po tom, co začal třepotat křídly a že se myšice stáhly rychleji, pokud se setkaly s motýlem, který mohl produkovat zvuky. Během experimentu bylo zabito a zkonsumováno 7 z 26 motýlů, myšice tedy motýly nevyhledávají, pokud mají k dispozici jinou potravu. Autoři však předpokládají, že se myšice v zimě při nedostatku potravy babočkami živí. Všechna zabití v tomto experimentu byla způsobena myšicí křovinnou (*Apodemus sylvaticus*). Překvapivě nebyl pozorován rozdíl v přežívání mezi babočkami produkující zvuky a těmi, co zvuky produkovat nemohly. Olofsson et al. (2012) si vysvětlují tento jev jako důsledek provádění pokusu na malém množství motýlů a myšic. Autoři sice popisují, jak reaguje motýl na dotyk hlodavce, ale už se nezmiňují o tom, že by třepotání křídly a jejich dotyk mohl myšice vylekat a odradit je od další manipulace s babočkou. Toto by mohlo vysvětlit, proč autoři nenalezli rozdíl mezi babočkami produkující zvuky a bez nich.

Babočky paví oko (*Inachis io*) jsou krásným příkladem kořisti, která používá multimodální obranu, jejíž každá složka funguje na jiného predátora. Vallin et al. (2005) zjistil, že mimo období hibernace jsou hlavním predátorem baboček ptáci, vůči kterým je chrání výstražné barevné oční skvrny na svrchní straně křídel. Na snížení predace ptáky nemá žádný vliv, když babočka produkuje ultrazvuky. Dobré přežívání setkání s ptákem baboček paví oko potvrdil následující experiment (Vallin et al. 2006). Útokům sýkor modřinek už o něco hůře odolávaly kryptické babočky meruzalkové (*Polygonia c-album*) a jen 20 % baboček kopřivových (*Aglais urticae*) přežilo setkání se sýkorou. Babočka kopřivová má svrchní stranu křídel méně výstražně zbarvenou než babočka paví oko, spodní stranu křídel má méně nenápadnou než babočka meruzalková a tak není její ochrana proti ptákům tak dokonalá. Wiklund et al. (2008) zjistili, že se ochrana babočky kopřivové vyrovná ochraně babočky paví oko v zimním období hibernace. V těchto podmínkách není barevný vzor efektivní obranou a nastupuje právě ultrazvuk. Olofsson et al. (2011) zjistili, že hlavními zimními predátory motýlů jsou myšice lesní (*Apodemus flavicolis*) a myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*), našli ale také důkazy o predaci normíkem rudým (*Clethrionomys glareolus*) a hmyzožravými rejsky (*Sorex spp.*). Olofsson et al. (2012) při sledování interakcí mezi myšicemi a babočkami v laboratoři překvapivě zjistili, že se nelišilo přežívání baboček produkujících ultrazvuky a těch, které je vydávat nemohly. Celkové množství zkonsumovaných baboček bylo však velmi malé, protože o ně myšice při dostatku jiné potravy nejevily příliš velký zájem.

Ratcliffe & Nydam (2008) studovali obranu proti predátorovi u dalších motýlů, tentokrát přástevníků (*Arctiinae*). Někteří přástevníci jsou nepoživatelní a svou nepoživatelnost signalizují

netopýřimu predátorovi pomocí produkce ultrazvuků speciálními stridulačními (tymbalačními) orgány, jiné druhy jsou nápadně zbarvené a všichni přástevníci dokáží slyšet ultrazvuky netopýřů. Ratcliffe & Nydam studovali celkem 26 druhů přástevníků, kteří se lišili svojí antipredační strategií. Ukázalo se, že na jaře, kdy jsou aktivní ptáci a netopýři tolik ne, přástevníci neprodukují ultrazvuky. Přástevníci aktivní ve dne jsou barevně nápadní na jaře i v létě. Druhy, které se objevují později v sezóně, už ultrazvuky produkují a noční přástevníci jsou kryptičtí. U přástevníků nejde o přízpůsobování jednoho druhu během roku různým predátorům jako tomu je u baboček, ale o rozdílné strategie jednotlivých druhů podčeledi *Arctiinae*, které jsou ovlivňovány predací v daném období. Účinnost obranného aposematického zbarvení na ptačí predátory není bohužel zatím podrobně prostudovaná. Autoři se více věnují druhé části strategie přástevníků - jejich ultrazvukové signalizaci vůči netopýřům. Fullard et al. (1979) v laboratoři porovnávali parametry zvuků produkovaných přástevníkem *Cycnia tenera* a netopýřem hnědým (*Eptesicus fuscus*). A zjistili, že přástevník vysílá směrem k netopýřovi ultrazvuky podobné ozvěnám signálů od netopýřa, tato akustická kamufláž predátora zmate a nemůže kořist pomocí echolokace ulovit. Hristov & Conner (2005) si vybrali čtyři druhy přástevníků, kteří se lišili mírou nepoživatelnosti a schopností produkovat ultrazvuky, a sledovali, jak se s nimi naučí zacházet netopýři hnědí (*Eptesicus fuscus*). Ti se rychle naučili vyhýbat přástevníkům produkujícím ultrazvuky jen tehdy, když byli zároveň chemicky chráněni. Ratcliffe & Fullard (2005) důležitost chemické složky potvrzují na práci s přástevníkem *Cycnia tenera* a netopýřem ušatým (*Myotis septentrionalis*). Zjistili, že když dojde k fyzickému kontaktu přástevníka a netopýřa, je už důležitější chemická obrana než akustická.

5.2 Funkce vůči stejným predátorům

Práce studující akustickou a optickou složku signalizace působící na jednoho predátora zároveň jsou prováděny v laboratoři obvykle s tradičním modelovým predátorem – kurem domácím, který se rozhoduje o konzumaci umělé potraviny.

V části své práce se Rowe & Guilford (1999b) zabývají otázkou, zda může bzučení spustit vrozenou averzi vůči kořisti, která je nová nebo aposematicky zbarvená. Kuřata byla rozdělena do tří skupin. První skupina kuřat se měla rozhodovat mezi čtyřmi hnědými a čtyřmi zelenými granulemi, druhá skupina mezi hnědými a žlutými, třetí mezi zelenými a žlutými granulemi. Hnědé granule byly považovány za potravu, na kterou jsou kuřata zvyklá, zelené a žluté granule byly pro kuřata nové. Polovině každé skupiny bylo po celou dobu experimentu přehráváno bzučení čmeláka zemního (*Bombus terrestris*). Hlasitost zvuku byla nastavena dle poznatků z předchozí práce s kuřaty tak, aby samotné bzučení v kuřatech žádnou averzi nevyvolalo. Z výsledků vyplývá, že bzučení zesiluje v kuřatech skrytou averzi vůči potravě nové barvy, protože konzumovala více známých hnědých granulí než nových zelených či žlutých. Kuřata ze třetí skupiny v přítomnosti bzučení zkonsumovala méně žlutých granulí než zelených, ve skupině bez zvuku nebyl mezi zkonsumovanými granulemi těchto dvou barev rozdíl.

Také Rowe (2002) prováděla experiment v laboratoři na umělé potravě a jako predátoři zde figurovala naivní kuřata. Kuřata byla nejprve v tréninku naučena odkrývat různobarevné kartonové kloboučky, pod kterými nacházela granule. Ve vlastním experimentu mělo v aréně každé kuře šest kloboučků zelené barvy a šest fialových, přičemž pouze pod jednou barvou se skrývala odměna. Kuřata se po deset kol učila napadat pouze kloboučky s odměnou a v této fázi bylo úspěšných 77 z 81 kuřat. Polovina kuřat nacházela granule pod fialovými kloboučky, druhá polovina pod zelenými. Polovině se zelenými a polovině s fialovými kloboučky byl navíc vždy během učení přehrán tón, pokud kuře klovo do kloboučku bez odměny. Přehraným zvukem bylo jednoduché pípnutí, které nevytvářelo v ptácích žádnou averzi. Druhá polovina kuřat se učila bez zvuků. Přestože byly vybrány barvy kloboučků, které nejsou spojené s aposematickou signalizací, kuřata při prvním setkání s kloboučky napadala významně více zelených než fialových. Dále se ukázalo, že přehrávání zvuku během experimentu významně zrychlilo učení rozpoznávání kloboučků bez ohledu na to, která barva znamenala odměnu a která klobouček bez odměny.

Rowe (2002) zvolila pro svůj experiment barvy, které nejsou aposematické a zvuk, který nevyvolával v predátorovi žádný odpor. Hauglund et al. (2006) zvolili naopak interakci výstražného černo-žlutého pruhování s typickým vosím bzučením a sledovali vliv na učení a zapamatování těchto signálů naivními kuřaty. Kuřatům byli podáváni mouční červi, kteří byli upravení několika způsoby. Nepoživatelní červi byli namočení do 4 % roztoku chininu s hořčicí, jedlé kontroly byly namočeny do vody. Během experimentu byli červi zakryti malým žlutým či zeleným papírkem, v polovině případů s černými pruhy. Nepoživatelní červi namočení v roztoku chininu byli podáváni vždy jen pod žlutými papírky. Červi byli ptákům podáváni po jednom a vždy se střídal žlutý nepoživatelný se zeleným jedlým. Části kuřat bylo při podání žlutého nepoživatelného červa přehráno bzučení vosy. V prvním kole se ukázalo, že bzučení nemá na zesílení averze kuřat žádný vliv. Žlutá barva naopak vyvolává v kuřatech už při prvním setkání silný odpor. Černé pruhy na žluté barvě tuto averzi nijak nezesílily, ale způsobily snížení konzumace červů přikrytých zeleným papírkem. Autoři s každým ptákem opakovali experiment dvanáctkrát. U kuřat se během těchto kol zvýšila pouze síla averze vůči černému pruhování, žluté barvě se kuřata vyhýbala velmi po celou dobu experimentu. Shrme-li výsledky experimentu Hauglund et al. (2006), můžeme říct, že žlutá barva je nejsilnějším z testovaných stimulů ve vytváření averze vůči potravě při prvním setkání, černé pruhování podporuje averzivní učení a efekt bzučení nenaplnil očekávání, podle kterého měl zvyšovat odpor k ostatním averzivním signálům nebo ovlivnit průběh učení.

Siddall & Marples (2011) také studovaly vliv bzučení čmeláka zemního na averzi kuřat vůči potravě, učení a paměť. V prvním experimentu bylo kuřatům po jedné podáváno 12 zelených granulí, na které byla zvyklá a 12 nových žlutých nebo červených granulí. Polovině kuřat bylo přehráváno bzučení po dobu, co měla hlavu v misce s aposematickou granulí. Autorky použily stejnou hlasitost bzučení jako Rowe & Guilford (1999b). Ukázalo se, že bzučení nemělo vliv na délku doby překonání strachu z nové potraviny nebo výběr jednoho druhu granulí. Nebyl nalezen žádný rozdíl mezi

množstvím zkonsumovaných zelených a aposematických granulí kromě skupiny, které byly podávány zelené a červené granule a byl přítomen akustický signál. Pouze tato kombinace signálů umožnila kuřatům lépe rozlišovat mezi zelenými a červenými granulemi. V druhém experimentu se Siddall & Marples (2011) zabývaly učením a pamětí kuřat. Nyní bylo kuřatům během každého ze sedmi kol podáváno 12 zelených jedlých granulí a 12 nejedlých žlutých granulí, které byly ochucené Bitrexem. Bzučení bylo polovině kuřat přehráno vždy, když se naklonila nad misku se žlutou granulí. Jedna část kuřat zopakovala postup po třech hodinách, u druhé byla měřena paměť po 96 hodinách. Ani zde autorky nenašly žádný efekt bzučení na chování kuřat. Kuřata ze skupin se zvukem a bez něj se naučila stejně rychle vyhýbat nepoživatelné aposematické potravě, celkové množství zkonsumovaných zelených a žlutých granulí během všech kol se mezi těmito skupinami také nelišilo. Po tříhodinové pauze byly výsledky obou skupin kuřat stejné a po 96 hodinách všechna kuřata shodně zapoměla naučenou averzi vůči žlutým granulím a atakovala jich stejný počet jako v prvním kole experimentu.

Výsledky Siddall & Marples (2011) se neshodují s Rowe & Guilford (1999b), kteří pozorovali, že stejný zvuk o stejné hlasitosti ve spojení s novou či výstražnou barvou v kuřatech averzi vůči potravě vyvolává. Siddall & Marples (2011) vidí příčinu neshody v rozdílném přístupu k naměřeným výsledkům. Rowe & Guilford odečítali množství zkonsumovaných žlutých granulí od množství zkonsumovaných zelených granulí a vyvozovali závěry pouze z tohoto rozdílu, zatímco Siddall & Marples si všimaly jak rozdílu zkonsumovaných granulí, tak prodlevy před napadením každé granule. V prvním kole učení napadala kuřata v práci Siddall & Marples (2011) stejné množství zelených a žlutých granulí, toto se shoduje s výsledky Hauglund et al. (2006), kteří použili zvuk letící vosy. Hauglund et al. (2006) ve svém experimentu pozorovali sílu averzivního signálu aposematické žluté barvy a vliv černého pruhování kořisti na averzivní učení, ale nenašli žádný odpudivý efekt vosího bzučení. Rowe (2002) vliv přítomnosti zvuku na urychlení učení kuřat naměřila, použitý zvuk bylo ale umělé pípnutí a Siddall & Marples (2011) se domnívají, že mohl tento nepřirozený zvuk vyvolat v kuřatech neobvyklou reakci, která by jinak pozorována nebyla. Dalším rozdílem v metodice byl způsob přehrávání zvuku během experimentu. Rowe & Guilford (1999b) přehrávali zvuk po celou dobu, zatímco Siddall & Marples (2011) a Hauglund et al. (2006) pouze při interakci kuřete a nepoživatelné či aposematické potravě, tato metodika má blíže k přirozené situaci, kdy se hmyz obvykle akusticky brání jen v momentu ohrožení.

6. Kombinace chemické a optické signalizace

Chemicko-optická signalizace kořisti vůči predátorovi je zřejmě nejčastější a určitě nejlépe prostudovanou formou výstražné multimodální komunikace vůbec. Chemickou složku lze dobře rozdělit na čichovou a chuťovou, ty pak odlišuje především vzdálenost, v jaké se predátor od kořisti nachází. Komunikace chutí vyžaduje těsný kontakt kořisti a predátora, zatímco pachy dokáží dráždit čichový aparát predátora i na velkou vzdálenost.

6.1. Kombinace čichové a optické signalizace

Čichovou složku této signalizace velmi často představují pyraziny, které jsou vedle výstražného zbarvení dalším antipredačním signálem, který je používán řadou různých taxonů kořisti. Různé deriváty pyrazinu byly nalezeny ve značném množství druhů rostlin a aposematického hmyzu (Woolfson & Rothschild 1990). Hmyz mající ochranné mechanismy při napadení predátorem obvykle vylučuje pyraziny na povrch svého těla, což může predátora od další manipulace s kořistí odradit.

6.1.1. Vliv čichových a optických signálů kořisti na iniciální opatrnost predátora

Podrobně se mechanismy fungování pyrazinu zabývali Rowe & Guilford (1996). V první části jejich práce měla kuřata po dvanáct kol přístup ke čtyřem požitelným zeleným granulím a čtyřem nepožitelným žlutým granulím, obě barvy granulí byly pro ptáky nové. Granule byly obarveny potravinářskými barvivy. Žluté granule byly napuštěny roztokem chininu a hořčice. Šest kuřat mělo pod miskou s granulemi bavlněnou podložku nasáklou 2-isobutyl-3-methoxypyrazinem, jehož pach se díky otvorům ve dně misky mohl volně šířit mezi granule. Dalších šest kuřat bylo testováno bez přítomnosti pyrazinu. Pyrazin zesílil iniciální opatrnost kuřat vůči žluté nepožitelné potravě tak, že jí zkonsumovala podstatně méně než potravu zelené. V druhém experimentu byly kuřatům naopak nabídnuty čtyři nejedlé zelené granule a čtyři jedlé žluté granule. Jinak byl design stejný jako v prvním experimentu. Mohli bychom očekávat, že budou v přítomnosti pyrazinu kuřata méně konzumovat nepožitelné zelené granule. To se ale nestalo, v přítomnosti pyrazinu opět klesla konzumace žlutých granulí, přestože byly jedlé. V třetím experimentu autoři ukázali, že pyrazin samotný k vytvoření averze vůči potravě nestačí. Kuřatům podávali známé hnědé granule v přítomnosti pyrazinu a bez něj, přičemž se tyto dvě skupiny v množství zkonsumovaných granulí nelišily. Dále podávali autoři naivním kuřatům zelené a žluté granule tak jako v prvním či druhém experimentu, nyní však s tím rozdílem, že byly oba druhy granulí jedlé. Zjistili, že pyrazin vyvolává averzi vůči žluté potravě i při absenci nepříjemné chuti chininu. Bez pyrazinu kuřata napadala a konzumovala žluté a zelené granule rovnoměrně. Stejný postup zopakovali Rowe & Guilford v pátém experimentu a navíc ho obohatili o dvě skupiny kuřat, kterým byly nabídnuty zelené a červené jedlé granule. Během prvních tří kol byly výsledky červené barvy stejné jako barvy žluté, v dalších kolech averze vůči červeným granulím v přítomnosti pyrazinu mírně klesala, proto považují autoři žlutou barvu za mírně averzivnější podnět

než barvu červenou. Autoři tedy zjistili, že pyrazin vyvolává averzi vůči aposematické žluté a červené potravě ať už je nebo není nepoživatelná, zatímco samotná žlutá barva nebo samotný pach tuto averzi nevyvolá, a že bez přítomnosti pyrazinu kuřata konzumují zelenou i žlutou potravu rovnoměrně.

O několik let později publikovali Rowe & Guilford (1999a) práci rozšiřující výsledky o další informace. V prvním experimentu této práce byla kuřata rovnoměrně rozdělena do tří skupin podle druhu potravy podávané během pokusu – nová barva/žádný pach, nová barva/nový pach, nová barva/známý pach. Novými barvami byly zelená a žlutá, pach byl opět 2-isobutyl-3-methoxypyrazin. První dvě skupiny opakovaly experimentální design z předchozí práce (Rowe & Guilford 1996), kuřata z třetí skupiny (nová barva/známý pach) byla navíc během tréninku seznámena s pachem pyrazinu. Během tréninku kuřata třetí skupiny konzumovala neaposematické hnědé granule a množství zkonsumovaných granulí nebylo stejně jako v práci Rowe & Guilford (1996) ovlivněno přítomností pyrazinu. Kuřata první a třetí skupiny (nová barva/žádný pach, nová barva/známý pach) zkonsumovala během pokusu stejné množství zelených a žlutých granulí, což znamená, že musí být pach pyrazinu pro kuřata nový, jinak se jeho účinky neprojeví. Kuřata z druhé skupiny (nová barva/nový pach) se žlutým granulím vyhýbala. Druhý experiment této práce byl proveden stejně, s tím rozdílem, že kuřata třetí skupiny nebyla předně seznámena s pyrazinem, ale se zelenou a žlutou barvou potravy (známá barva/nový pach). Barva granulí během tréninku neovlivnila jejich zkonsumované množství. Nyní se téměř shodovaly výsledky kuřat z druhé a třetí skupiny (nová barva/nový pach, známá barva/nový pach). Předcházející seznámení kuřat s novou barvou potravy tedy nemělo na jejich averzi v přítomnosti pyrazinu téměř žádný vliv.

Používat pro testování stále tentýž modelový organismus není ideální, poznatky získané z prací na kurovi domácím nám nezaručí, že by se podobně chovali nedomestikovaní hrabaví (Galliformes) ve volné přírodě či jiné druhy ptáků. Kur domácí byl po mnoho generací selektován na dosažení co nejvyšší hmotnosti a tím u něj mohla být redukována přirozená fobie z nové potravy (Mench 2002). Proto Kelly & Marples (2004) vybrali zástupce ze skupiny pěvců (Passeriformes) zebříčku pestrou (*Taeniopygia guttata*), aby zjistili, zda lze výsledky testované na kuřatech zobecnit i na jiné ptačí taxony. Autoři nejdříve zebříčky naučili konzumovat tzv. cvičnou potravu (hrubá pasta z vody a zrní) a poté je rozdělili do čtyř skupin podle potravy podávané během experimentu: (1) známá cvičná potrava, (2) známá cvičná potrava za přítomnosti pyrazinu, (3) cvičná potrava obarvená načerveno, (4) cvičná potrava obarvená načerveno za přítomnosti pyrazinu. Všechna potrava byla požitelná, červená potrava byla obarvená potravinářským barvivem. Pokud byl přítomen pyrazin, šlo o 3-isopropyl-2-methoxypyrazin nanesený na filtrační papír na dně misky s potravou. V částech experimentu bez pyrazinu byla na filtrační papír nanesena voda. Autoři sledovali u všech skupin délku prodlevy před prvním klovnutím a zkonsumováním nabídnuté potravy. Skupina s cvičnou potravou (1) a skupina s cvičnou potravou za přítomnosti pyrazinu (2) se shodovaly v délce prodlevy před prvním klovnutím do potravy i před jejím zkonsumováním. Skupiny s červeně obarvenou potravou (3 a 4) se shodovaly v délce prodlevy před prvním klovnutím, ale lišily se délkou prodlevy před

konzumaci potravy tak, že zebřičky ze skupiny s potravou nové barvy za přítomnosti pyrazinu otálely s konzumací výrazně déle. Kelly & Marples srovnávají své výsledky s prací Marples & Roper (1996) a dochází k závěru, že zde zebřičky vykazují stejné trendy v chování vůči potravě nové barvy a pachu jako kuřata v práci Marples & Roper (1996) a že jsou tudíž výsledky pocházející z experimentů na kuřatech zobecnitelné na zebřičky a pravděpodobně i na další příbuzné druhy. Nutno ovšem dodat, že experiment Marples & Roper (1996) byl proveden s potravou zelené barvy, která není považována za aposematickou, narozdíl od experimentu Kelly & Marples (2004), kdy byla použita barva červená. Kelly & Marples (2004) dále potvrdili fakt, že zebřičky při setkání s novou potravou používají čich a rozhodují se podle něj.

Už bylo zmíněno, že je výskyt pyrazinů v přírodě velmi častý. Marples & Roper (1996) chtěli ověřit myšlenku, že pach pyrazinu zesiluje neofobní reakci ptáků na nově vypadající potravu a zjistit, jaký účinek budou mít další aromatické látky. Testovali účinky 3-sec-butyl-2-methoxypyrazinu a 3-isobutyl-2-methoxypyrazinu, protože tyto pyraziny patří mezi nejaromatičtější, a dále mandlového oleje, vanilkového oleje a thiazolu. Modelovým predátorem byl opět kur domácí. Za přítomnosti výše vyjmenovaných pachů podávali kuřatům buď vodu nebo granule známé či nové barvy a sledovali, jak dlouho bude trvat, než je pták poprvé okusí. Granule byly obarveny zeleným potravinářským barvivem, voda modrým. Všechny pachy až na thiazol prodlužovaly jak dobu před prvním napitím, tak dobu před prvním kontaktem s granulemi. Thiazol měl vliv pouze na pití modře obarvené vody. V přítomnosti pyrazinů čekala naivní kuřata s manipulací s nově zbarvenou potravou nebo vodou nejdéle. To znamená, že pach pyrazinů zesiluje neofobii z potravy nového vzhledu nejsilněji. Podobný efekt byl sledován i u mandlového aroma, které je v přírodě spojeno s toxicitou rostlin (značí přítomnost kyseliny kyanovodíkové). Výsledek byl slabší u vanilkové vůně a v případě thiazolu nebyl vůbec žádný. Autoři si tento jev vysvětlují tak, že vanilka ani thiazol v přírodě neznamenaají nebezpečí a nejsou využívány v chemické obraně. Naivní mláďata kura domácího vykazovala znaky neofobie jen vůči pachům, které jsou v přírodě spojeny s chemickou obranou. Doba před prvním napitím či zkonsumováním granule byla za přítomnosti těchto pachů delší, pokud šlo o potravu a vodu nového vzhledu (modrá voda, zelené granule), než když byla kuřatům nabídnuta neobarvená voda a hnědé granule.

Vliv dalších pachů na naivní mláďata kura domácího testovali Jetz et al. (2001). Cílem jejich experimentu bylo srovnat fungování 2-isobutyl-3-methoxypyrazinu jako výstražného signálu s dalšími dvěma látkami, které nemají v přírodě žádnou výstražnou funkci – metylsalicylátem a etylacetátem. Kuřatům byly podávány požitelné zelené, žluté a hnědé granule. Zelené a žluté barvy bylo opět docíleno postřikem potravinářským barvivem. Hnědé granule byly stejně ošetřeny vodou. Granule byly podávány v perforovaných Petriho miskách, pod nimiž byla umístěna bavlněná podložka nasáklá příslušnou chemickou látkou, jejíž pach se mohl volně šířit. Každý týden se testovala účinnost jiné chemikálie, vždy s novými kuřaty. Kuřata byla vždy rozdělena do dvou skupin, prvním byly podávány známé hnědé a nové zelené granule, druhým nové zelené a nové žluté granule. Kuřata přistupovala ke

granulím po jedné a po vyhodnocení (zkonzumování či odmítnutí) a pokračování k další granuli už neměla možnost vrátit se zpět. Z výsledků vyplývá, že přítomnost pachu měla při rozhodování nad potravou významný efekt, překvapivě ale nezáleželo na druhu pachu. Kuřata vystavená při experimentu pachům zkonsumovala vždy méně potravy než kontrolní skupina kuřat rozhodující se bez přítomnosti pachů. Za přítomnosti pachů bylo zkonsumováno méně zelených granulí než hnědých a méně žlutých granulí než zelených. V dalším rozšiřujícím experimentu byl použit pouze etylacetát. Experimentální design se oproti předchozímu pokusu lišil pouze tím, že byla přidána skupina kuřat, která se s pachem ethylacetátu seznámila ještě před testováním. Tato kuřata v průběhu experimentu nevykazovala vůči potravě žádnou averzi a zkonsumovala stejné množství potravy jako kuřata rozhodující se bez přítomnosti ethylacetátu. Jako antipredační signál fungoval pach ethylacetátu, pouze pokud se s ním kuřata dříve nesetkala. Autoři tedy na rozdíl od Marples & Roper (1996) zjistili, že averzi vůči nové či aposematické potravě způsobují jakékoliv pachy, jestliže jsou pro predátora nové. Marples & Roper (1996) však tyto účinky našli pouze u pyrazinů a madlového aroma. Jetz et al. (2001) si rozdíl ve výsledcích vysvětlují koncentrací použitých pachů a myslí si, že kdyby Marples & Roper (1996) použili silnější koncentrace, pozorovali by averzivní reakce i na vanilkový olej a thiazol.

V multimodální čichovo-optické signalizaci může hrát roli i jiný optický signál než jen barva potravy a to nápadnost daná kontrastem kořisti vůči podkladu. Lindström et al. (2001) zjistili, že sama nápadnost potravy může ve spojení s pyrazinem vyvolat v predátorovi skrytou averzi. Kuřata byla naučena konzumovat hnědé granule v experimentální aréně a poté rozdělena do čtyř skupin. Zelené a fialové granule byly podávány buď na zeleném nebo fialovém pozadí v přítomnosti 2-isobutyl-3-methoxypyrazinu nebo bez něj. Na zeleném pozadí jsou zelené granule kryptické a fialové nápadné, analogicky pak u skupin s fialovým pozadím. Kuřeti byly vždy nabídnuty čtyři zelené a čtyři fialové granule, všechny granule byly požitelné. Přítomnost pyrazinu neovlivnila konzumaci kryptické potravy, ale významně snížila množství zkonsumovaných nápadných granulí. V navazujícím experimentu chtěli Lindström et al. (2001) odfiltrovat možné ovlivnění kuřat neofobií z nápadné potravy. Rozdělili proto kuřata na dvě skupiny již v tréninku, přičemž první skupině podávali hnědé granule na hnědém pozadí (kryptické) a druhé skupině hnědé granule na bílém pozadí tak, aby si zvykla na nápadnost potravy. Následující kroky experimentu byly stejné jako v první části práce. Výsledky této části byly shodné s výsledky první. Kuřata se opět za přítomnosti pyrazinu vyhýbala nápadným granulím. Z experimentu plyne, že sama nápadnost nemusí být pro predátora nová, aby se takové potravě za přítomnosti pyrazinu vyhnul.

6.1.2. Vliv čichových a optických signálů kořisti na učení a paměť predátora

Jádrem dosud popsaných experimentů bylo především sledovat averze predátorů vůči potravě, s kterou se ještě nesetkali. V práci Barnea et al. (2004) autoři učili kuřata asociaci mezi barvou hadice, kterou přitékala voda a chutí této vody za přítomnosti 3-isobutyl-2-methoxypyrazinu. Voda byla

kuřatům podávána hadicemi bílé, červené, žluté, zelené a modré barvy. Voda přitékající hadicí jiné barvy než bílé byla vždy ochucena hořkým chininem. Hadice měly po stranách připevněný filtrační papír pokapaný podle potřeby pyrazinem nebo vodou. První čtyři dny byla kuřata trénována, aby si zvykla pít vodu z hadic. Pátý a šestý den byla rozdělena do osmi skupin a učila se asociaci mezi specifickou barvou hadice a chutí vody buď v přítomnosti pyrazinu, nebo bez něj. V testovacím boxu mělo kuře vždy k dispozici jednu bílou hadici s čistou vodou a jednu hadici jiné barvy s hořkou vodou a učila se tak dlouho, dokud nepila pouze z hadice s čistou vodou. Po fázi učení následovala pauza a jedenáctý den byla poprvé testována paměť. Kuřata byla opět v testovacím boxu za stejné situace s tím rozdílem, že z obou hadic tekla čistá neochucená voda. Kuřata, která se napoprvé napila z bílé hadice, pokračovala v experimentu, ostatní byla vyřazena, protože se špatně rozhodla pro hadici, z které dříve tekla hořká voda. Stejný postup byl proveden 13., 14., 15., 18., a 21. den. Síla zapamatování (length of recall) byla definována jako počet dní, který uplynul od šestého dne do dne, kdy si kuře poprvé vybralo „špatnou“ hadici s hořkou vodou, tedy dokud nezapomnělo asociaci mezi bílou hadicí a čistou vodou. Výsledky ukázaly, že bez přítomnosti pyrazinu červená, žlutá a zelená barva ovlivnily sílu zapamatování asociace barva hadice-chuť vody rovnocenně, zatímco asociaci mezi modrou barvou a hořkou chutí si lépe pamatovalo větší procento kuřat. Modrá barva naopak jako jediná nezlepšila sílu zapamatování v přítomnosti pyrazinu. Autoři pro tyto zvláštní výsledky nemají vysvětlení, ale upozorňují na to, že byla modrá barva sytější než barvy ostatní a mohli tedy nechtěně pozorovat efekt silného kontrastu tmavě modré na pozadí bílé zdi. V přítomnosti pyrazinu se zesílilo zapamatování hořké chuti vody ve spojení se žlutou, zelenou a červenou barvou hadic. Druhým pozorovaným aspektem byla rychlost učení asociace mezi barvou hadice a její chutí, tedy to, kolik kol během pátého a šestého dne, muselo být provedeno, než kuřata pila pouze z bílé hadice s čistou vodou. Bez přítomnosti pyrazinu nebyl mezi účinkem barev hadice s hořkou vodou žádný rozdíl. Z celkového pohledu na všechny barvy pyrazin učení urychlil. Při spočítání efektu pachu pyrazinu u každé barvy zvlášť se ukázalo, že pouze v přítomnosti červené a modré urychlil pyrazin učení signifikantně. Kombinace červené barvy a pachu pyrazinu byla tedy jedinou kombinací, která zesílila zapamatování i urychlila učení hořké chuti nabízené vody. Žlutá a zelená barva neměly podobný efekt, což autoři srovnávají s výsledky Rowe & Guilford (1996), kteří zjistili, že žlutá barva granulí v přítomnosti pyrazinu spouští v kuřatech averzi. Podle Barnea et al. (2004) za rozdíly může použití vody v jedné práci a pevné potraviny v druhé. Podle Gillette et al. (1980) si predátoři hůře formují averzi vůči tekutinám než vůči pevné potravě.

Siddall & Marples (2008) použili při testování učení a paměti kuřat granule. Zelené a žluté granule byly podávány po jedné v oddělených miskách, jejichž konstrukce umožňovala umístění filtračního papíru, na který byla nanášena kapka 2-isobutyl-3-methoxy-pyrazinu či vody. Žluté granule byly ochuceny hořkým Bitrexem. Během fáze učení bylo kuřatům v sedmi kolech prezentováno 12 žlutých nepoživatelných granulí a 12 zelených jedlých granulí. Polovina kuřat měla v miskách se žlutými granulemi vždy jednu kapku pyrazinu vsáknutou do filtračního papíru. Druhá polovina kuřat

se účastnila pokusu zcela bez pyrazinu. Všechna kuřata se naučila vyhýbat žlutým nepoživatelným granulím, během posledního sedmého kola učení napadala signifikantně méně žlutých granulí než během kola prvního. V prvním kole nebyl žádný rozdíl mezi počtem zkonzumovaných žlutých granulí za přítomnosti pyrazinu a bez něj, ale už ve třetím kole kuřata učící se v přítomnosti pyrazinu atakovala signifikantně méně žlutých granulí než kuřata bez pyrazinu. Nepřítomnost rozdílu mezi skupinami v prvním kole je v rozporu s výsledky Rowe & Guilford (1996). V obou experimentech byl použit stejný pyrazin (2-isobutyl-3-methoxypyrazin), ale příprava roztoků z něj se lišila. Siddall & Marples (2008) rozpustili pyrazin ve vodě, zatímco Rowe & Guilford (1996) smísili pyrazin s ethanolem a destilovanou vodou. Příčina rozdílných výsledků může být i v použití různého množství roztoku pyrazinu. Rowe & Guilford (1996) použili tři kapky, Siddall & Marples (2008) pouze jednu. Po fázi učení (learning trials) nastalo testování vyhasínání paměti kuřat (extinction trials), kuřata byla rozdělena do dvou skupin, jedna test podstoupila po třech hodinách od ukončení fáze učení (během této doby dochází k upevňování získaných informací, které přechází do dlouhodobé paměti), druhá po 96 hodinách. Kuřata, která se učila rozlišovat mezi zelenými a žlutými granulemi bez pyrazinu napadala po třech hodinách méně nepoživatelných žlutých granulí než při posledním kole fáze učení právě díky této „upevňovací“ fázi. Po 96 hodinách vykazovaly známky vyhasínání paměti všechny skupiny kuřat, kromě té, které byla žlutá potrava prezentována za přítomnosti pyrazinu jak ve fázi učení tak i při testování paměti. Žlutá barva v kombinaci s pyrazinem se zde ukázala jako silný signál, který se kuřata naučila spojit s nepoživatelnou potravou a pokud se s ním setkala po 96 hodinách, stále si ho dokonale pamatovala.

Sílu čichové složky multimodální signalizace při učení, prezentovali v další práci Roper & Marples (1997). Autoři sledovali, jak rychle se naivní kuřata naučí vyhýbat vodě nepříjemné chuti, do které byl přidán chinin. Kuřatům byla od vylíhnutí podávána voda určité barvy a poté se učila rozpoznávat vodu s chininem, která měla buď stejnou barvu a nebylo přítomno žádné aroma, vodu stejné barvy ale s aroma nebo vodu jiné barvy bez aroma. Testované barvy byly zelená a modrá, aroma mandlové a vanilkové. Výsledky kuřat odchovaných na zelené vodě se nelišily od výsledků kuřat s modrou vodou, ale mezi dílčími skupinami už rozdíly byly. Přítomnost mandlového aroma urychlila u skupin s barvou vody, na kterou byly zvyklé, averzivní učení (avoidance learning), ale vanilková vůně takový účinek neměla. Efekt byl viditelný jak na prodlevě před pitím, tak v počtu napití během jednoho kola. Kuřata se také naučila rychleji vyhýbat nepoživatelné vodě nové barvy, než když byla na barvu vody zvyklá. V další části práce autoři deset kol učili kuřata rozlišovat neobarvenou vodu a bezbarvý 0,3% roztok chininu, v polovině případů byl roztok chininu spárován s mandlovým aroma, v druhé polovině s vanilkovým. O 24 hodin později jim byla podávána voda s příslušným aroma či bez něj a testována tak paměť kuřat. Během tréninku se naučila všechna kuřata rozlišovat mezi vodou a roztokem chininu, ale u kuřat s mandlovým aroma bylo toto učení rychlejší než u kuřat s vanilkovým aroma. Po 24 hodinách se vodě za přítomnosti pachu vyhýbala pouze skupina s mandlovým aroma. Spojitost mezi vanilkovým aroma a nepoživatelností se v paměti kuřat tak dlouho neudržela.

6.1.3 Shrnutí

Jak ukázalali Rowe & Guilford (1996) i Kelly & Marples (2004), pyrazin funguje jako antipredační signál pouze v multimodální kombinaci spolu s dalším (zde optickým) signálem. Ptáci se v přítomnosti pyrazinu chovají opatrněji, vyhýbají se aposematicky zbarvené či nápadné potravě, ať už je tato potrava požitelná nebo není. Konzumaci známé kryptické či neaposematické potraviny pyrazin nijak neovlivňuje (Rowe & Guilford 1996; Lindström et al. 2001; Kelly & Marples 2004), ale v práci Marples & Roper (1996) zredukoval konzumaci zelených granulí a množství vypité modré vody. Tyto barvy mezi aposematické neřadíme, ale zde v přítomnosti pyrazinu fungovaly averzivně, protože byly pro kuřata nové. Ptáci reagují na nové barvy a nápadnou potravu v přítomnosti pyrazinu averzivně i když jsou navyklí tuto potravu konzumovat bez pyrazinu (Rowe & Guilford 1999a). V práci Lindström et al. (2001) vyvolal v kuřatech pyrazin odpor ke konzumaci fialových a zelených neaposematických granulí, pokud byly prezentovány jako nápadné a kontrastní vůči podkladu. Stejný efekt měl pyrazin i v případě, že byla kuřata zvyklá konzumovat nápadnou potravu kontrastující s pozadím. Nápadnost se tedy jeví jako důležitý parametr optického signálu, který v kombinaci se signálem chemickým funguje, i když už se s ním predátor dříve setkal. Komplikovanější je pohled na výsledky srovnávající účinky pyrazinu s dalšími přírodními i umělými pachy. Marples & Roper (1996) zjistili, že opatrnost vůči potravě a vodě nové barvy iniciují pyraziny a mandlový olej, které se v přírodě vyskytují v souvislosti s jedovatou potravou, ale tento efekt už nezpůsobují thiazol a vanilkový olej. Jetz et al. (2001) došli naopak k závěru, že jako antipredační signál funguje jakýkoliv pach, pokud je pro predátora nový. Uvažují, že by Marples & Roper (1996) tohoto výsledku dosáhli také, pokud by použili silnější koncentrace thiazolu a vanilkového oleje. Pokud proti predaci fungují jakékoliv pachy, nabízí se otázka, proč jsou v přírodě nejčastěji používané právě pyraziny? Podle Jetz et al. (2001) to můžeme nejlépe vysvětlit jejich vysokou účinností zkombinovanou s nízkými náklady na syntézu. Pyraziny jsou velmi těkavé a snadno rozpoznatelné čichem, přičemž jde zároveň o poměrně jednoduché látky, které se vyskytují v mnoha hostitelských rostlinách. Důležitost novosti pachu při setkání predátora a kořisti potvrzuje také práce Rowe & Guilford (1999a). Pyrazin má vliv i na procesy související s učením a pamětí. V přítomnosti pyrazinu se predátoři lépe učí souvislosti mezi barvou a chutí potraviny či vody, za určitých podmínek se tento proces díky pyrazinu i urychluje a naučené znalosti pomaleji vyhasínají (Barnea et al. 2004; Siddall & Marples 2008; Roper & Marples 1997).

6.2. Kombinace chuťové a optické signalizace

V publikacích o čichovo-optické signalizaci hrály hořké látky jako chinin nebo Bitrex pouze roli averzivního podnětu, zatímco bylo sledováno chování predátorů v přítomnosti a nepřítomnosti různých pachů a barev. Nyní budeme sledovat účinky látek působících na chuť predátora v kombinaci s optickými signály. V případě chuťové komunikace není někdy možné rozhodnout, zda má určitá látka funkci signálu nebo je vlastní chemickou obranou kořisti.

6.2.1. Vliv chuťových a optických signálů kořisti na iniciální opatrnost predátora

Rowe & Skelhorn (2005) testovali, zda může hořká chuť u kuřat vyvolat či zesílit iniciální opatrnost vůči potravě žluté a červené barvy. V prvním experimentu byla testována ochucená pevná potrava – granule. V experimentální aréně se kuřata nejprve setkala se třemi hnědými granulemi, které byly ochuceny 0%, 1% nebo 4% roztokem chininu, ihned poté pokračovala k šedesáti obarveným neochuceným granulím. Jedna polovina kuřat se setkala s třiceti žlutými a třiceti zelenými granulemi, druhá polovina s třiceti červenými a třiceti zelenými granulemi. Kuřata byla z arény odstraněna po manipulaci se šestnácti granulemi, přičemž autoři rozlišují mezi pouhým napadením a úplným zkonsumováním granule. Kuřata napadla celkově méně červených granulí než žlutých a počet napadených aposematically obarvených granulí klesal se stoupající koncentrací roztoku chininu na hnědých granulích podávaných na začátku. Chinin také zredukoval konzumaci aposematically granulí, na množství zkonsumovaných zelených granulí však vliv neměl. V druhé části práce Rowe & Skelhorn (2005) byl průběh experimentu stejný jako v první, ale roztok chininu nebyl aplikován na granule. Kuřata na začátku experimentu dostala destilovanou vodu nebo 0,3% roztok chininu přímo do zobáku. Chuť 0,3% roztoku aplikovaného v tekuté formě se vyrovná (podle lidských měřítek) chuti 4% roztoku podávaného na granulích. Po podání chininu kuřata opět preferovala konzumaci zelených granulí oproti aposematickým, červených bylo celkově opět zkonsumováno méně než žlutých. Celkový počet zkonsumovaných granulí byl menší než v prvním experimentu. Získaná data svědčí o tom, že nepoživatelnost potravy či vody způsobená roztokem chininu, s kterou se kuřata setkala na začátku experimentu, může vyvolat nebo zesílit iniciální opatrnost a averzi mláďat kura domácího vůči výstražně zbarvené potravě.

Skelhorn et al. (2008) zjišťovali, zda může mít stejný efekt jako chinin i další hořká látka – netoxická umělá chemikálie Bitrex. Použitý experimentální design byl v zásadě stejný jako práci Rowe & Skelhorn (2005), na začátku byly podávány čtyři ochucené hnědé granule a poté se kuřata setkala s dvaceti červenými a dvaceti zelenými jedlými granulemi. Na hnědé granule byla nanášena voda, chinin, Bitrex nebo obě chemikálie. Všechna kuřata zkonsumovala všechny hnědé granule a pokračovala napadením všech šestnácti barevných granulí. Kuřata vystavená nejdříve granulím s vodou a Bitrexem napadla signifikantně více červených granulí a zkonsumovala méně zelených granulí než kuřata ze skupiny s chininem a kombinací chininu a Bitrexu. Samotný Bitrex tedy nezredukoval počet zkonsumovaných zelených granulí, ani počet napadených červených granulí. Množství zkonsumovaných červených granulí se po vystavení chuti Bitrexu překvapivě ještě zvýšilo. Následující kontrolní experiment provedený pouze s vodou a Bitrexem neodhalil mezi testovanými skupinami kuřat žádný rozdíl v konzumaci granulí, Bitrex opět nijak nesnížil množství zkonsumovaných červených granulí. Ve třetím experimentu byly kuřatům podávány hnědé granule ochucené dvěma různými koncentracemi Bitrexu. Ukázalo se, že ani koncentrovanější Bitrex chování kuřat nijak neovlivnil. Ze všech částí práce vyplývá, že v kuřatech Bitrex nevyvolává vrozenou averzi vůči výstražně zbarvené potravě, tak jako to dokáže chinin.

Aposematismus se často vyskytuje u skupinově žijících organismů, takto agregovaní jedinci by měli být lépe chráněni před predátory (Gamberale & Tullberg 1996). Efekt agregace může fungovat různě, Rowland et al. (2013) zkoumali jeden jeho konkrétní aspekt. Testovali hypotézu, že agregace sníží množství zkonsumované červené potravy, ale neovlivní konzumaci potravy zelené, a že napuštění potravy hořkým chlorochinem zesílí averzi vůči červené agregované potravě, ale už ne zelené. Na začátku tohoto experimentu dostala naivní kuřata buď vodu nebo roztok chlorochinu a poté si měla vybrat agregovaně či jednotlivě podávané moučné červy (larvy potemníka moučného). Červ byl podáván na víčku uzavřené Petriho misky, v ní nebylo buď nic, nebo dalších 7 červů stejné barvy. Každé kuře se během experimentu setkalo pouze s jednou barvou červů - zelenou nebo červenou. Kuřata s červenou potravou napadala výrazně méně červů prezentovaných ve skupině než kuřata se zelenou potravou. Po okusení roztoku chlorochinu navíc kuřata s červenou potravou napadala signifikantně méně agregované potravy, než kuřata co prve okusila vodu. Z výsledků experimentu Rowland et al. (2013) vyplývá, že je shlukování kořisti efektivní antipredační strategií pokud je kořist aposematicky zbarvená, to je ve shodě například s prací Gamberale & Tullberg (1998), které zjistily, že pravděpodobnost napadení aposematické kořisti klesá se vzrůstajícím počtem členů agregace. Pokus Rowland et al. (2013) také poprvé dokládá, že nevizuální obrana (hořká chuť) způsobuje averzi vůči agregované kořisti, přičemž kořist musí být výstražně zbarvená.

6.2.2. Vliv chuťových a optických signálů kořisti na učení a paměť predátora

U kombinace chuťové a optické signalizace je stejně jako u čichové a optické multimodální signalizace zajímavé testování učení a paměti ptačích predátorů. Skelhorn & Rowe (2006c) chtěli zjistit, zda se kuřata naučí během čtyř dní rozlišovat mezi vizuálně identickými granulemi, které jsou chemicky chráněné stejnou látkou o různé koncentraci. Červené granule byly obarveny potravinářskými barvivy a chráněny 1% nebo 4% roztokem chininsulfátu. Každé kuře mělo na výběr mezi dvaceti zelenými, deseti červenými s 1% roztokem a deseti červenými granulemi s 4% roztokem. Množství zkonsumovaných červených granulí bylo porovnáváno s konzumací jedlých zelených granulí. Výsledky ukázaly, že se kuřata během osmi kol naučila vyhýbat nepoživatelným červeným granulím a také, že se naučila rozlišovat míru ochrany kořisti na základě její chuti. Po ochutnání granule bylo odmítnuto významně více silně chráněných (4%) než slabě chráněných granulí (1% roztok).

V následující práci se Skelhorn & Rowe (2007) snažili vysvětlit existenci tzv. automimetiků a automodelů v populacích některých druhů hmyzu. U mnoha druhů aposematického hmyzu se mohou jednotliví jedinci uvnitř populace lišit mírou chemické ochrany. Jedinec, který je chráněný více se nazývá automodel, jedinec který chemicky chráněný není a spoléhá pouze na výstražné zbarvení, se nazývá automimetik. Produkce obranných chemikálií může být fyzicky náročná a tudíž automimetici získávají jistou selektivní výhodu. Tento fenomén miméze se autoři pokusili přenést do laboratorních podmínek. Kuřatům bylo v každém kole jejich experimentu podáváno dvacet červených a dvacet zelených granulí na zeleném pozadí, díky kterému byly zelené granule kryptické a červené nápadné.

Zelené granule byly vždy neochucené, část červených granulí, která představovala nechráněné automimety také nebyla ochucená, ale část červených granulí představující automodely byla chráněna 4% roztokem chininu. Kuřata byla rozdělena do čtyř skupin podle poměru chráněných a nechráněných červených granulí v nabídce, tedy podle poměru automimetiků a automodelů v „populaci“ (0%, 25%, 50%, 100% automimetiků), a během každého z osmi kol mohla napadnout vždy maximálně 16 granulí. Experiment potvrdil, že ptáci dokáží rozpoznat míru ochrany kořisti podle chuti. Se vzrůstajícím procentem nechráněných červených granulí v nabídce vzrostl během učení počet napadení všech červených granulí. Tudíž vysoký počet automimetiků v populaci aposematického hmyzu vystavuje vyššímu nebezpečí napadení všechny členy této populace. Dále bylo zjištěno, že zatímco ve skupině s 25% podílem automimetiků zkonsumovala kuřata po prvotním ochutnání stejné procento automimetiků a automodelů, se vzrůstajícím množstvím automimetiků v nabídce vzrůstalo právě jejich riziko, že budou zkonsumováni, zatímco riziko chráněných automodelů klesalo. Ptáci se naučí vybírat z populace výstražně zbarveného hmyzu nechráněné automimiky, pokud jejich koncentrace vzhledem k automodelům vzroste nad 25 %.

V dalších experimentu chtěli Skelhorn & Rowe (2005b) zjistit, zda mají uprostřed populace aposematické kořisti jedinci se vzácným typem chemické ochrany nějakou selektivní výhodu oproti ostatním. Kuřata měla na výběr mezi dvaceti požitelnými zelenými granulemi a dvaceti červenými granulemi ochucenými chininem nebo Bitrexem. Kuřata byla rozdělena do tří pokusných skupin podle poměru chinin:Bitrex (1:3; 1:1; 3:1). Každé ze sedmi kol pokusu bylo ukončeno po napadení šestnácti granulí kuřetem. Během experimentu se všechna kuřata naučila vyhýbat červeným nepoživatelným granulím a konzumovala výrazně více granulí zelených. Autoři zde opět rozlišují mezi napadením (klovnutím, ochutnáním) a zkonsumováním granule. V průběhu pokusu se od sebe skupiny kuřat nelišily aktuálním množstvím napadených červených a zelených granulí, ale lišily se typem konzumovaných červených granulí. Kuřata ve skupině s poměrem chinin:Bitrex 1:3 po ochutnání skutečně zkonsumovaly výrazně více granulí ochucených Bitrexem, kuřata ve skupině s poměrem chinin:Bitrex 3:1 po ochutnání skutečně zkonsumovaly výrazně více granulí ochucených chininem. U skupiny, kde bylo množství chininem a Bitrexem ochucených granulí stejné (1:1) bylo vyrovnané i množství skutečně zkonsumovaných granulí. Autoři z výsledků vyvozují, že míra přežívání po napadení každého aposematického jedince závisí na frekvenci výskytu jeho obranné chemikálie v populaci. Hypotézu lze rozšířit i na Müllerovské mimikry, což je fenomén, kdy dva nepoživatelné druhy sdílejí výstražné zbarvení a vzor (Wickler 1968 ex Skelhorn & Rowe 2006b). Podle Skelhorn & Rowe (2005b) jsou Müllerovší mimetikové lépe chráněni, pokud disponují různými chemikáliemi, než mimetikové sdílející stejnou chemickou ochranu.

Skelhorn & Rowe (2006b) chtěli dále zjistit, zda se ptačí predátoři naučí také lépe vyhýbat dvěma vizuálně odlišným druhům, pokud budou chráněné různými chemikáliemi, než dvěma odlišným druhům chráněným stejnou chemikálií. Kuřatům bylo podáváno 20 neochucených zelených granulí, 10 hořkých červených a 10 hořkých černých granulí. Hořká chuť byla způsobena chininem a

Bitrexem. Vznikly tak celkem čtyři skupiny kuřat – červená/chinin + černá/Bitrex; červená/Bitrex + černá/chinin; a dvě skupiny s granulemi ochucenými stejnou látkou. Kuřatům bylo opět dovoleno v každém kole napadnout maximálně 16 granulí. Během čtyř dní každé kuře prošlo celkem sedmi koly učení. Na konci této fáze experimentu se všechna kuřata uměla vyhýbat hořkým červeným a černým granulím, průběh a rychlost učení byla podobná u všech skupin, nezáleželo na barvě ani chuti granulí. 96 hodin po posledním kole učení podstoupila kuřata test paměti (extinction trial), aby se otestovalo, jak si kuřata vybaví naučenou averzi vůči červeným a černým granulím. Kuřata zde napadala významně více těchto granulí než v sedmém kole tréninku, přičemž mezi jednotlivými skupinami nebyl rozdíl, nezáleželo tedy na tom, zda byly červené a černé granule napuštěny chininem i Bitrexem nebo všechny stejnou látkou. Z prací Skelhorn & Rowe (2005b a 2006b) společně vyplývá, že se predátor lépe naučí a zapamatuje vyhýbat se dvojici druhů, které vypadají stejně a chutnají různě, než dvojici druhů odlišného vzhledu i chuti.

Vlastnosti kombinace chemické a optické obrany hmyzu studovali Skelhorn & Rowe (2006a) i na špačcích obecných (*Sturnus vulgaris*) a snažili se testovat hypotézu, že hmyz používá sekreci hořkých tekutin jako efektivní obranu proti predátorovi, která je účinnější než uchovávání těchto látek uvnitř těla. Skelhorn & Rowe (2006a) sledovali potenciální výhody sekrece chemikálií na povrch těla oproti jejich uchovávání uvnitř těla. Modelovou kořistí se stali mouční červi (*Tenebrio molitor*). Červi představující hmyz sekretující hořkou látku na povrch byli namočeni do 2% roztoku chininsulfátu a do těla jim bylo vpraveno 0,02 ml vody, červi představující hmyz s vnitřní chemickou obranou byli namočeni ve vodě a chininsulfát jim byl aplikován do těla. Špačci prošli tréninkem, kde se naučili odkrývat kousky kartonu, pod kterými byl schovaný moučný červ, a také podle zelené a fialové barvy kartonu rozlišovat, zda jde o jedlého či nejedlého červa. Špačci měli vždy na výběr mezi neochucenými červy a jedním typem chráněných červů. Během experimentu všichni ptáci konzumující červy s roztokem chininu na povrchu ihned po napadení kořisti třáslí hlavou a otírali si zobák, což je klasické averzivní chování běžné pokud pták ochutná chinin. U ptáků z druhé skupiny nic takového pozorováno nebylo, což znamená, že ptáci vůbec chuť chininu nezaregistrovali. Z experimentu dále vyplývá, že se ptáci naučí rozlišovat mezi chráněnou a nechráněnou kořistí podle barvy nezávisle na tom, zda je kořist chráněna pouze uvnitř nebo i na povrchu, ale proces učení je rychlejší, když je ptákům umožněno tuto potravu ochutnat. Výhody pro kořist chráněnou hořkou látkou na povrchu plynou také z toho, že se predátor seznámí s její nepoživatelností dříve, než ji způsobí smrtelná zranění.

Nápadné zbarvení kořisti zvyšuje pravděpodobnost jejího odhalení predátorem. Otázkou, jak mohly první nápadné formy vznikající v populaci kryptické kořisti odolat útokům predátora, se zabývali Halpin et al. (2008a). V první části své práce testovali hypotézu, zda mohou mít vzácné nápadné formy v populaci kořisti selektivní výhodu oproti početně převažujícím kryptickým formám, jestliže je celá populace chemicky chráněná. Kuřatům byly podávány zelené a fialové granule buď na zeleném pozadí, tak aby zelené granule byly kryptické a fialové nápadné, nebo na fialovém pozadí

s opačnou funkcí barev granulí. Podle potřeby byly granule ochuceny 1% roztokem chininu. Každé skupině bylo nabídnuto 20 kryptických nechráněných granulí, 15 chráněných kryptických granulí a 5 chráněných nápadných granulí. Kuřata byla z experimentální arény odstraněna opět vždy po napadení šestnácti granulí, učení probíhalo pět dní po dvou kolech za den. Stejný postup byl proveden s kontrolními skupinami kuřat, jediný rozdíl byl v tom, že 5 nápadných granulí bylo nechráněných. Kuřata napadala výrazně více nechráněných kryptických granulí než chráněných, což může znamenat, že dokázala tyto dva typy rozlišovat vizuálně, výrazně více nechráněných kryptických granulí také skutečně zkonsumovala. Také bylo napadeno a zkonsumováno více kryptických fialových granulí než kryptických zelených granulí. U kontrolních skupin kuřat byly nechráněné nápadné granule napadány více než granule kryptické. U skupiny, kde byly granule podávány na zeleném pozadí, bylo zjištěno, že byly chráněné nápadné granule atakovány méně často než chráněné kryptické granule, přičemž se tento rozdíl během učení zvětšoval. U skupiny s fialovým pozadím výsledky překvapivě vyšly úplně opačně. Zelená a fialová barva byla vybrána, protože není v přírodě spojována s aposematismem a nevytváří v predátorech averzi. Zda byla příčinou neuspokojivých výsledků špatná volba barev granulí, se snažili autoři odhalit v druhé části práce. Zde prezentovali kuřatům po šest kol zároveň dvacet zelených a dvacet fialových granulí buď na zeleném, nebo fialovém pozadí, tentokrát byly ale všechny granule jedlé. Ukázalo se, že mají kuřata tendenci napadat více fialových granulí než zelených a nerozhodují se tedy pouze na základě jejich nápadnosti.

V navazující práci se Halpin et al. (2008b) použili autoři úplně stejný experimentální design jako v první části předchozí práce, jen nyní ochucovali chráněnou potravu buď 1% nebo 4% roztokem chininu. Stejně jako v Halpin et al. (2008a) se kuřata nenačila vyhýbat nápadné chráněné potravě, pokud byla fialová a jen málo chráněná (1% roztokem), ale naučila se vyhýbat silněji chráněné nápadné potravě. Pokud byly nápadné granule zelené barvy, naučila se jim kuřata vyhýbat při obou koncentracích roztoku chininu. Kryptické chráněné potravě se kuřata nenačila vyhýbat vůbec. Vzácná chemicky chráněná nápadná kořist je méně často atakována predátorem než kořist kryptická, a pokud už ji predátor napadne, má větší šanci, že ji bez poškození pustí. První nápadné formy v populaci chráněné kryptické kořisti mohly tedy získat jistou selektivní výhodu a díky ní se v populaci udržet.

6.2.3. *Shrnutí*

Jak zjistili Rowe & Skelhorn (2005b), chinin vyvolává ve spojení s aposematickými barvami v kuřatech averzi a s čím silnějším roztokem chininu se kuřata setkají, tím výraznější averze je. Takových účinků nemůže dosáhnout každá hořká látka, například umělá hořká chemikálie Bitrex podobný efekt u výrazně zbarvené potraviny nevyvolala (Skelhorn et al. 2008). Chinin dokáže také vyvolat averzi vůči agregované aposematické potravě (Rowland et al. 2013). Pokud jsou aposematicky zbarvené granule chráněné hořkým roztokem chininu, naučí se jim ptáci vyhýbat a konzumují jich podstatně méně než nechráněných neaposematických granulí (Skelhorn & Rowe 2006c; Skelhorn &

Rowe 2005b). Zacházení ptáků s potravou se dá rozdělit do dvou kroků, nejprve pták potravu ochutná (klovne do ní), pak se rozhoduje o její úplné konzumaci. Skelhorn & Rowe (2006c) zjistili, že tímto ochutnáním dokáží kuřata rozlišovat mezi granulemi ochucenými 1% a 4% roztokem chininu a konzumují převážně jen slabě chráněné granule. Podle Skelhorn & Rowe (2005b) je také větší šance, že kuře po ochutnání zkonsumuje granuli, jejíž obranná chemikálie se v nabídce vyskytuje častěji. Autoři výsledky interpretují tak, že čím vzácnější obrannou chemikálii výstražně zbarvený jedinec v populaci sekretuje, tím větší šanci přežít setkání s predátorem má. Predátor se zase lépe naučí a zapamatuje vyhýbat se dvojici druhů, které vypadají stejně a chutnají různě, než dvojici druhů odlišného vzhledu i chuti (Skelhorn & Rowe 2006b). Pro aposematickou kořist je výhodnější sekretovat obranné látky na povrch těla, než je uchovávat pouze uvnitř. Predátor se sice podle barvy kořisti naučí rozlišovat mezi chráněnou a nechráněnou nezávisle na tom, zda je kořist chráněna pouze uvnitř nebo i na povrchu, ale proces učení je výrazně rychlejší, když je predátorovi umožněno kořist ochutnat (Skelhorn & Rowe 2006a). Halpin et al. (2008a) našli u kuřat tendenci napadat více fialových granulí než zelených, a to i přestože byly napuštěny 1% roztokem chininu. Tuto preferenci pro fialovou potravu si autoři neumí vysvětlit, ale dokázali ji překonat použitím silnějšího roztoku chininu v navazujícím experimentu Halpin et al. (2008b). Stejně barvy používali ve výzkumu vlivu pyrazinu na averzi ptáků Lindström et al. (2001), ale žádný podobný efekt fialové nenašli. Halpin et al. (2008a; 2008b) dále zjistili, že v populaci kryptické chemicky chráněné kořisti mohly vzniknout a udržet se nápadné aposematické formy, jelikož mají tyto formy nad kryptickými selektivní výhodu při predaci.

6.3. Práce kombinující čichovo-optické a chuťovo-optické experimenty

Následující práce jsou unikátní svým rozsahem, komplikovaností experimentálního designu a propojením studia čichovo-optické a chuťovo-optické multimodální signalizace.

Avery & Nelms (1990) sledovali vliv methiokarbu v kombinaci s výstražnou červenou barvou a pachem 2-methoxy-3-methylpyrazinu na dospělé vlhovce červenokřídle (*Agelaius phoeniceus*). Methiokarb se v praxi používá jako repelent vyvolávající po požití u ptáků nevolnost. Vlhovci byli testováni ve skupinách po čtyřech, testování trvalo vždy tři hodiny a ptáci měli během této doby k dispozici 100 g testované a 100 g alternativní potravu. Testovaná potrava byla rýže podle potřeby obarvená červenou potravinářskou barvou, ochucená methiokarbem či podávaná v přítomnosti pyrazinu, který zde byl aplikovaný přímo na rýži těsně před začátkem experimentu. Příjem testované potravu nejvíce klesl u skupiny vlhovců, kterým byla nabízena červená rýže s chutí methiokarbu. Tito ptáci zkonsumovali významně méně rýže, než ptáci vystavení červené barvě v kombinaci s pachem pyrazinu či pouze červené barvě potravu. Samotná červená barva byla sice slabším averzivním podnětem než v kombinaci s methiokarbem, ale přesto dostatečně silným pro redukci konzumace rýže. Samotný pyrazin nedokázal zredukovat konzumování rýže vůbec, fungoval však v kombinaci s methiokarbem a to i bez obarvení rýže načerveno.

Ve všech předchozích experimentech používali autoři kořist umělou, Marples et al. (1994) zatím jako jediní testovali chemicko-optickou multimodální signalizaci na přirozené kořisti křepelky japonské (*Coturnix coturnix japonicus*) sluněčku sedmítečném (*Coccinella septempunctata*). V těle sluněčka sedmítečného kolují hořké alkaloidy kokcinelin a prekocinelin, jejichž největší koncentrace se nachází v hemolymfě vypuzované z končetin na rozhraní tibie a femuru. Sluněčka reflexní krev s pachem pyrazinu uvolňují při nebezpečí. Autoři naučili dospělé křepelky konzumovat kontrolní potravu dospělého potměníka stájového (*Alphitobius diaperinus*), který je podobně velký jako sluněčko, a larvy potměníka moučného (*Tenebrio molitor*). Autoři chtěli u křepelky vyrovnat dobu, kdy se každý jedinec naposledy setkal se sluněčkem, proto křepelkám 14 dní před začátkem experimentu předložili tuto kořist naposledy. Podle zkušeností z předchozí práce (Marples 1990 ex Marples et al. 1994) je 14 dní dostatečně dlouhá doba na to, aby křepelky zapomněly averzi vůči sluněčkům a při opětovném setkání k nim znovu vyhodnocovaly svůj postoj. Byla sledována reakce křepelky na různé kombinace barvy, chuti, pachu a toxicity sluněčka, přičemž křepelky prošly dvěma koly, která se vždy lišila jedním sledovaným prvkem (Tabulka 1). Jednotlivých kombinací bylo dosaženo manipulací se sluněčkou a potměníky stájovými. V prvním kole dostala skupina č. 1 celé sluněčko, skupina č. 2 potměníka pokrytého hemolymfou sluněčka, skupina č. 3 potměníka na perforované Petriho misce, pod kterou bylo rozmáčkuté sluněčkou páchnoucí pyrazinem a skupina č. 4 dostala potměníka s přilepenými krovkami sluněčka. Ve skupině č. 1 druhého kola se nízké toxicity sluněčka dosáhlo tak, že bylo donuceno hemolymfu vypudit. Křepelkám byli takto upravení brouci podáváni po jedenáct dní.

Tabulka 1: Kombinace obranných prvků sluněčka sedmítečného (Marples et al. 1994).

Číslo skupiny křepelky	1. kolo	2. kolo
1	barva, chuť, pach, vysoká toxicita	barva, chuť, pach, nízká toxicita
2	chuť, pach, netoxicita	chuť, pach, barva, netoxicita
3	pach, netoxicita	pach, barva, netoxicita
4	barva, netoxicita	barva, pach, netoxicita

Křepelky ze skupiny č. 1 se vyhýbaly sluněčkům vypuzujícím reflexní krev v prvním kole více než těm z kola druhého, které reflexní krev nevypuzovaly. Hořká chuť se ukázala jako averzivnější podnět než zápach pyrazinu. Připojení výstražné barvy k odpudivé chuti a pachu významně zesílilo averzi vůči takto upravené potravě, přičemž byl efekt silnější u kombinace chuti a barvy než u kombinace pachu a barvy. Síla averze vyvolaná kombinací hořké chuti a výstražné barvy se dá srovnat s averzí vyvolanou kompletním sluněčkem. Samotný pach (skupina č. 3, 1. kolo) vyvolal velmi slabý odpor, který nebyl přidáním barvy ve druhém kole příliš zesílen. Samotná barva u čtvrté skupiny křepelky vyvolala vůči potravě naopak silnou averzi. Celý experiment dobře demonstruje rozdíly mezi silou

averzivních podnětů produkovaných slunečkem sedmitečným a dochází k závěru, že barva je nejúčinnější, zatímco samotný pach pyrazinu je účinný nejméně.

Tyto komplexní práce se shodují, že kombinace chuťového a optického signálu je při vyvolání odporu vůči potravě silnější než kombinace čichového a optického signálu. Kombinování výstražných signálů dosahuje lepších účinků než jednotlivé signály samotné, z nichž je ale nejsilnější signál optický – barva kořisti. Avery & Nelms (1990) zjistili, že samotný zápach pyrazinu predátora od kořisti neodradí, to se shoduje s výsledky Rowe & Guilford (1996) a Kelly & Marples (2004). V práci Marples et al. (1994) vyvolal samotný pyrazin jen velmi slabý odpor, který se ale překvapivě nezesílil po přidání výstražné červené barvy. To se neshoduje s výsledky Rowe & Guilford (1996), Lindström et al. (2001) a dalších, kteří pozorovali u ptáků averzi vyvolanou kombinací výstražné barvy a pyrazinu. V práci Marples et al. (1994) byli na rozdíl od ostatních testování poučení predátoři a i když byla v pokusu zařazena čtrnáctidenní perioda pro zapomenutí averze, může toto být příčinou rozdílu ve výsledcích. Avery & Nelms (1990) hodnotili také interakci čichového a chuťového signálu bez přítomnosti optického a zjistili, že pyrazin v kombinaci s methiokarbem funguje averzivně i bez přítomnosti výstražné barvy.

7. Závěr

U mnoha druhů kořisti se vyvinula multimodální výstražná signalizace vůči predátorovi, která chrání kořist lépe, než signalizace unimodální. Multimodální výstražnou signalizaci lze testovat ve volné přírodě, ale nejčastěji se setkáváme s experimenty prováděnými v laboratoři za lépe kontrolovatelných podmínek. Oblíbenými modelovými predátory jsou ptáci, kombinace chemické a optické signalizace byla testována především na nich. Ptáci mohou být odchyceni z volné přírody jako poučení dospělí predátoři, nejčastěji se však setkáváme s naivními predátory – několikadenními mláďaty kura domácího. Existují také práce studující tuto problematiku na savcích – myšicích či netopýrech.

Multimodální signalizace může fungovat jako obrana proti několika různým predátorům, kdy každý reaguje na jinou část signálu, jako je tomu například u kombinace akustické a optické signalizace babočky paví oko, nebo jednotlivé modality interagují a doplňují se, aby zprostředkovaly informaci jedinému predátorovi. Během experimentu je sledováno chování predátora vůči umělé či přirozené multimodálně signalizující kořisti a porovnáváno s reakcemi na kořist signalizující unimodálně či jinak upravenou potravu. Častěji se používá kořist umělá – krmné granule a různě upravení mouční červi, ale setkáváme se i s pokusy testujícími přirozeně signalizující hmyz.

V chemické čichové signalizaci hrají důležitou roli pyraziny, samostatně jejich pach ale účinný není, musí být kombinován se signálem jiné modality. Ptáci se v přítomnosti pyrazinu chovají opatrněji, vyhýbají se aposematicky zbarvené, nové či nápadné potravě, ať už je tato potrava požitelná nebo není. Konzumaci známé kryptické či neaposematické potravu pyrazin nijak neovlivňuje (Lindström et al. 2001). Pyrazin má vliv i na učení a paměť, v jeho přítomnosti se predátoři lépe učí souvislosti mezi barvou a chutí potravu či vody a pak také tyto znalosti pomaleji zapomínají (Siddall & Marples 2008). Méně jednoznačný je pohled na další přírodní i umělé aromatické látky a jejich účinky na chování predátora. Někteří autoři (Jetz et al. 2001) předpokládají, že averzi vůči opticky odpudivé potravě může vyvolat jakýkoliv pach, pokud je nový, jiní autoři se naopak setkali se situací, kdy jistý pach averzivní reakci ani za této podmínky nevyvolal (Marples & Roper 1996). Další chemickou látkou, která dokáže vyvolat u predátora skrytou averzi vůči aposematické, nové a agregované potravě je chinin působící na predátorovu chuť. Ukázalo se, že tohoto efektu nedosáhne každá hořká látka, například Bitrex v práci Skelhorn et al. (2008) takové účinky neměl. Bylo také zjištěno, že ptáci dokáží ochutnáním rozlišovat potravu s různým stupněm chemické ochrany a vybírají si tu méně chráněnou (Skelhorn & Rowe 2006c). Toto ochutnávání je důležité také pro učení naivních ptačích predátorů vyhýbat se nepoživatelné aposematické potravě. Kořist je tedy lépe chráněná sekrety-li ochranné chemické látky na svůj povrch, než když je uchovává pouze uvnitř těla (Skelhorn & Rowe 2006a).

Poměrně málo společných závěrů můžeme vyvodit z prací týkajících se funkce akustické a optické multimodální signalizace vůči jedinému predátorovi. Někteří autoři zjistili, že přehrávání

zvuku urychluje učení kuřat vyhýbat se aposematicky zbarvené kořisti, jiní tento efekt nepozorovali. Výsledky experimentů se různí v závislosti na typu přehrávaného zvuku a tom, zda byl zvuk přehráván po celou dobu experimentu nebo jen v přítomnosti aposematické potravy.

Přítomnost multimodálních výstražných signálů ovlivňuje iniciální opatrnost predátora, jeho schopnost učení i paměť. Experimentální design prací se liší podle toho, na který z těchto aspektů chování predátora se zaměřuje. Výsledky experimentů studujících multimodální signalizaci mohou ovlivnit i malé detaily, proto se můžeme setkat i s velice podobnými pokusy s nečekaně nepodobnými závěry, což zajisté vyžaduje další studium této problematiky. Konkrétním příkladem neprobádané oblasti může být optická složka multimodální opticko-akustické signalizace motýlů přástevníků.

8. Seznam použité literatury

*Sekundární literatura je značena hvězdičkou.

- Avery, M. L., & Nelms, C. O.** (1990). Food avoidance by red-winged blackbirds conditioned with a pyrazine odor. *The Auk*, 544-549.
- Barnea, A., & Rothschild, M.** (2002). The odour of pyrazine increases the egg mass of domestic chickens (*Gallus gallus domesticus* L.). *Journal of Zoology*, 257(3), 411-416.
- Barnea, A., Gvaryahu, G., & Rothschild, M.** (2004). The effect of the odour of pyrazine and colours on recall of past events and learning in domestic chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Insect and bird interactions. Andover (UK): Intercept*, 205-222.
- Barnett, C. A., Skelhorn, J., Bateson, M., & Rowe, C.** (2012). Educated predators make strategic decisions to eat defended prey according to their toxin content. *Behavioral Ecology*, 23(2), 418-424.
- Brand, A. R., & Kellogg, P. P.** (1939). Auditory responses of starlings, English sparrows, and domestic pigeons. *The Wilson Bulletin*, 38-41.
- Doucet, S. M., & Montgomerie, R.** (2003). Multiple sexual ornaments in satin bowerbirds: ultraviolet plumage and bowers signal different aspects of male quality. *Behavioral Ecology*, 14(4), 503-509.
- ***Edmunds, M.** (1974). *Defence in animals: a survey of anti-predator defences*. Harlow: Longman.
- Edwards, E. P.** (1943). Hearing ranges of four species of birds. *The Auk*, 60(2), 239-241.
- Elias, D. O., Lee, N., Hebets, E. A., & Mason, A. C.** (2006). Seismic signal production in a wolf spider: parallel versus serial multi-component signals. *Journal of experimental biology*, 209(6), 1074-1084.
- Fullard, J. H., Fenton, M. B., & Simmons, J. A.** (1979). Jamming bat echolocation: the clicks of arctiid moths. *Canadian Journal of Zoology*, 57(3), 647-649.
- Gamberale, G., & Tullberg, B. S.** (1996). Evidence for a more effective signal in aggregated aposematic prey. *Animal Behaviour*, 52(3), 597-601.
- Gamberale, G., & Tullberg, B. S.** (1998). Aposematism and gregariousness: the combined effect of group size and coloration on signal repellence. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265(1399), 889-894.
- Gillette, K., Martin, G. M., & Bellingham, W. P.** (1980). Differential use of food and water cues in the formation of conditioned aversions by domestic chicks (*Gallus gallus*). *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 6(2), 99-111.
- Grafe, T. U., Preininger, D., Sztatecsny, M., Kasah, R., Dehling, J. M., Proksch, S., & Hödl, W.** (2012). Multimodal communication in a noisy environment: A case study of the Bornean rock frog *Staurois parvus*. *PLoS One*, 7(5), e37965.
- Guilford, T., Nicol, CH., & Rothschild, M.** (1987). The biological roles of pyrazines: evidence for a warning odour function. *Biological Journal of the Linnean Society*, 31, 113-128.
- Halpin, C. G., Skelhorn, J., & Rowe, C.** (2008a). Naïve predators and selection for rare conspicuous defended prey: the initial evolution of aposematism revisited. *Animal Behaviour*, 75(3), 771-781.
- Halpin, C. G., Skelhorn, J., & Rowe, C.** (2008b). Being conspicuous and defended: selective benefits for the individual. *Behavioral Ecology*, 19(5), 1012-1017.
- Hauglund, K., Hagen, S. B., & Lampe, H. M.** (2006). Responses of domestic chicks (*Gallus gallus domesticus*) to multimodal aposematic signals. *Behavioral Ecology*, 17(3), 392-398.
- Hölldobler, B.** (1995). The chemistry of social regulation: multicomponent signals in ant societies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(1), 19-22.
- Hristov, N. I., & Conner, W. E.** (2005). Sound strategy: acoustic aposematism in the bat-tiger moth arms race. *Naturwissenschaften*, 92(4), 164-169.
- Jacob, S., Rieucan, G., & Heeb, P.** (2011). Multimodal begging signals reflect independent indices of nestling condition in European starlings. *Behavioral Ecology*, 22(6), 1249-1255.

- Jemiolo, B., & Novotny, M.** (1994). Inhibition of sexual maturation in juvenile female and male mice by a chemosignal of female origin. *Physiology & behavior*, 55(3), 519-522.
- Jetz, W., Rowe, C., & Guilford, T.** (2001). Non-warning odors trigger innate color aversions—as long as they are novel. *Behavioral Ecology*, 12(2), 134-139.
- Katz, A., Gvaryahu, G., Robinzon, B., Snapir, N., & Barnea, A.** (1999). The effect of pyrazine odor on body weight and the weight of various organs in chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Poultry Science*, 78(12), 1786-1789.
- Kelly, D. J., & Marples, N. M.** (2004). The effects of novel odour and colour cues on food acceptance by the zebra finch, *Taeniopygia guttata*. *Animal behaviour*, 68(5), 1049-1054.
- Kulahci, I. G., Dornhaus, A., & Papaj, D. R.** (2008). Multimodal signals enhance decision making in foraging bumble-bees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1636), 797-802.
- Lindström, L., Rowe, C., & Guilford, T.** (2001). Pyrazine odour makes visually conspicuous prey aversive. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 268(1463), 159-162.
- ***Marples, N.** (1990). *The influence of predation on ladybird colour patterns* (Doctoral dissertation, University of Wales. Cardiff.).
- Marples, N. M., van Veelen, W., & Brakefield, P. M.** (1994). The relative importance of colour, taste and smell in the protection of an aposematic insect *Coccinella septempunctata*. *Animal Behaviour*, 48(4), 967-974.
- Marples, N. M., & Roper, T. J.** (1996). Effects of novel colour and smell on the response of naive chicks towards food and water. *Animal Behaviour*, 51(6), 1417-1424.
- Mench, J. A.** (2002). Broiler breeders: feed restriction and welfare. *World's Poultry Science Journal*, 58(1), 23-29
- Mohl, B., & Miller, L. A.** (1976). Ultrasonic clicks produced by the peacock butterfly: a possible bat-repellent mechanism. *The Journal of Experimental Biology*, 64(3), 639-644.
- Olofsson, M., Vallin, A., Jakobsson, S., & Wiklund, C.** (2011). Winter predation on two species of hibernating butterflies: monitoring rodent attacks with infrared cameras. *Animal Behaviour*, 81(3), 529-534.
- Olofsson, M., Jakobsson, S., & Wiklund, C.** (2012). Auditory defence in the peacock butterfly (*Inachis io*) against mice (*Apodemus flavicollis* and *A. sylvaticus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 66(2), 209-215.
- Partan, S. R., & Marler, P.** (2005). Issues in the classification of multimodal communication signals. *The American Naturalist*, 166(2), 231-245.
- Ratcliffe, J. M., & Fullard, J. H.** (2005). The adaptive function of tiger moth clicks against echolocating bats: an experimental and synthetic approach. *Journal of experimental biology*, 208(24), 4689-4698.
- Ratcliffe, J. M., & Nydam, M. L.** (2008). Multimodal warning signals for a multiple predator world. *Nature*, 455(7209), 96-99.
- Roper, T. J., & Marples, N. M.** (1997). Odour and colour as cues for taste-avoidance learning in domestic chicks. *Animal behaviour*, 53(6), 1241-1250.
- ***Rothschild, M., & Moore, B.** (1987). Pyrazines as alerting signals in toxic plants and insects. *SER. ENTOMOL.* 1987.
- Rowe, C.** (1999). Receiver psychology and the evolution of multicomponent signals. *Animal Behaviour*, 58(5), 921-931.
- Rowe, C.** (2002). Sound improves visual discrimination learning in avian predators. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 269(1498), 1353-1357.

- Rowe, C., & Guilford, T.** (1996). Hidden colour aversions in domestic chicks triggered by pyrazine odours of insect warning displays. *Nature*, 383, 520-522.
- Rowe, C., & Guilford, T.** (1999a). Novelty effects in a multimodal warning signal. *Animal behaviour*, 57(2), 341-346.
- Rowe, C., & Guilford, T.** (1999b). The evolution of multimodal warning displays. *Evolutionary Ecology*, 13(7), 655-671.
- Rowe, C., & Halpin, C.** (2013). Why are warning displays multimodal?. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1-15.
- Rowe, C., & Skelhorn, J.** (2005). Colour biases are a question of taste. *Animal behaviour*, 69(3), 587-594.
- Rowland, H. M., Ruxton, G. D., & Skelhorn, J.** (2013). Bitter taste enhances predatory biases against aggregations of prey with warning coloration. *Behavioral Ecology*.
- Scheuber, H., Jacot, A., & Brinkhof, M. W.** (2003). The effect of past condition on a multicomponent sexual signal. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1526), 1779-1784.
- Schwartzkopff, J.** (1955). On the hearing of birds. *The Auk*, 340-347.
- Siddall, E. C., & Marples, N. M.** (2008). Better to be bimodal: the interaction of color and odor on learning and memory. *Behavioral Ecology*, 19(2), 425-432.
- Siddall, E. C., & Marples, N. M.** (2011). Hear no evil: The effect of auditory warning signals on avian innate avoidance, learned avoidance and memory. *Current Zoology*, 57(2).
- Skelhorn, J., & Rowe, C.** (2005a). Tasting the difference: do multiple defence chemicals interact in Müllerian mimicry?. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1560), 339-345.
- Skelhorn, J., & Rowe, C.** (2005b). Frequency-dependent taste-rejection by avian predation may select for defence chemical polymorphisms in aposematic prey. *Biology letters*, 1(4), 500-503.
- Skelhorn, J., & Rowe, C.** (2006a). Predator avoidance learning of prey with secreted or stored defences and the evolution of insect defences. *Animal behaviour*, 72(4), 827-834.
- Skelhorn, J., & Rowe, C.** (2006b). Do the multiple defense chemicals of visually distinct species enhance predator learning?. *Behavioral Ecology*, 17(6), 947-951.
- Skelhorn, J., & Rowe, C.** (2006c). Avian predators taste-reject aposematic prey on the basis of their chemical defence. *Biology letters*, 2(3), 348-350.
- Skelhorn, J., & Rowe, C.** (2007). Automimic frequency influences the foraging decisions of avian predators on aposematic prey. *Animal Behaviour*, 74(5), 1563-1572.
- Skelhorn, J., & Rowe, C.** (2010). Birds learn to use distastefulness as a signal of toxicity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1688), 1729-1734.
- Skelhorn, J., Griksaitis, D., & Rowe, C.** (2008). Colour biases are more than a question of taste. *Animal Behaviour*, 75(3), 827-835.
- Smith, C. L., & Evans, C. S.** (2013). A new heuristic for capturing the complexity of multimodal signals. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1-10.
- Suthers, R. A.** (1990). Contributions to birdsong from the left and right sides of the intact syrinx. *Nature*, 347(6292), 473-477.
- Taylor, R. C., Klein, B. A., Stein, J., & Ryan, M. J.** (2011). Multimodal signal variation in space and time: how important is matching a signal with its signaler?. *The Journal of Experimental Biology*, 214(5), 815-820.
- Vallin, A., Jakobsson, S., Lind, J., & Wiklund, C.** (2005). Prey survival by predator intimidation: an experimental study of peacock butterfly defence against blue tits. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1569), 1203-1207.

Vallin, A., Jakobsson, S., Lind, J., & Wiklund, C. (2006). Crypsis versus intimidation—anti-predation defence in three closely related butterflies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 59(3), 455-459.

***Wickler, W.** (1968). Mimicry in plants and animals.

Wiklund, C., Vallin, A., Friberg, M., & Jakobsson, S. (2008). Rodent predation on hibernating peacock and small tortoiseshell butterflies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62(3), 379-389.

Woolfson, A., & Rothschild, M. (1990). Speculating about pyrazines. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 242(1304), 113-119.