

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



Bc. Hana Bednářová

Role aldehydů v multimodální výstražné signalizaci ploštic
Role of aldehydes in multimodal aposematic signaling of true bugs

Diplomová práce

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

Konzultant: Mgr. Dana Adamová

Praha, 2016

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:

.....

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především své školitelce doc. Mgr. Alici Exnerové Ph.D. a konzultantce Mgr. Daně Adamové za jejich trpělivost, čas, pomoc a rady, které mi poskytovaly po celou dobu od momentu příprav experimentů, až po zpracování dat a sepsání této diplomové práce.

Dále bych ráda poděkovala Janu Krajíčkovi z katedry analytické chemie PřF UK za přípravu směsi aldehydů, Davidu Redeiovi z Nankai University, Tianjin, za odchyt ploštic *Pyrrhocoris tibialis* a panu prof. RNDr. Pavlu Štysovi, CSc. za cenné informace o biologii tohoto druhu.

V neposlední řadě velmi děkuji celému týmu ze 106tky za spolupráci při péči o ptáčata i dospělé sýkory a svým přátelům a rodině za nepostradatelnou podporu během celého mého studia.

Abstrakt:

S multimodální signalizací se v přírodě setkáváme poměrně často. I pokud se omezíme pouze na signalizaci mezi kořistí a predátorem, stále nalezneme řadu příkladů komunikace pomocí kombinace více modalit (zrak, sluch, čich, chuť) najednou. Tato práce se zabývá multimodální výstražnou opticko-čichovou signalizací mezi plošticemi (Heteroptera) a jejich predátory. Jednou z majoritních složek repelentní sekrece většiny ploštic jsou aldehydy, které jsou považovány za látky mající obranný antipredační význam. V našich experimentech jsme testovali vliv přítomnosti směsi aldehydů na chování naivních ručně odchovaných a dospělých z přírody odchycených sýkor koňader (*Parus major*) vůči několika druhům kořisti – aposematické ploštici *Pyrrhocoris apterus*, neaposematické ploštici *Pyrrhocoris tibialis* a načerveno obarveným larvám potemníka moučného (*Tenebrio molitor*). Sledovali jsme vliv aldehydů na iniciální reakci, průběh učení a paměť predátora. U naivních mláďat vyvolaly aldehydy skrytou vrozenou iniciální opatrnost vůči aposematické *P. apterus*, zatímco vůči *P. tibialis* takový efekt nezpůsobily. Zdá se tedy, že na nezkušené predátory aldehydy účinkují jako signál nepoživatelnosti, ale pouze v multimodální kombinaci se signálem optickým. U dospělých sýkor koňader podobný efekt aldehydů sledován nebyl. V experimentu s načerveno obarvenými larvami potemníka jsme zjistili, že barva je při rozpoznávání nejedlé kořisti od jedlé pro dospělé sýkory důležitějším ukazatelem, než pach aldehydů.

Klíčová slova: multimodální signalizace, aposematismus, aldehydy, *Pyrrhocoris apterus*, *Pyrrhocoris tibialis*, sýkora koňadra, *Parus major*

Abstract:

Multimodal signaling is quite common in nature. Even if we focus only on signaling among prey and its predator, we can still find many examples of communication combining more than one modality (vision, hearing, smell, taste). This thesis is about multimodal warning visual and olfactory signaling between true bugs (Heteroptera) and their avian predators. Aldehydes are an important compound of repellent secretion of most true bug species. They are considered to have defence effects against predators. In our experiments, we tested the effect of aldehydes mixture on behaviour of predators – naive hand-reared and experienced wild-caught adult great tits (*Parus major*) – towards several kinds of prey – aposematic true bugs *Pyrrhocoris apterus*, nonaposematic true bugs *Pyrrhocoris tibialis* and red painted mealworms (*Tenebrio molitor* larvae). We were focusing on the effect of aldehydes on initial reaction, learning process and predator's memory. Aldehydes elicited innate wariness in naive hand-reared great tits towards aposematic *P. apterus*, but not towards *P. tibialis*. Therefore it seems possible, that aldehydes act as a signal of unpalatability for naive predators, but only in multimodal combination with visual warning signal. Similar effect of aldehydes was not found in experiments with wild-caught adults. In experiments with red painted mealworms, we found out that for wild-caught great tits, the colour is far more important cue for discrimination between palatable and unpalatable prey than the smell of aldehydes.

Key words: multimodal signaling, aposematism, aldehydes, *Pyrrhocoris apterus*, *Pyrrhocoris tibialis*, great tit, *Parus major*

1. Úvod.....	7
2. Cíle	8
3. Literární přehled.....	9
3.1. Multimodální signalizace	9
3.2. Multimodální výstražná signalizace.....	10
3.3. Opticko – chemická multimodální výstražná signalizace	12
3.4. Ptačí predátoři a opticko – chemická signalizace.....	14
3.5. Kořist a opticko – chemická signalizace	15
3.6. Role aldehydů opticko – čichové multimodální signalizaci.....	16
3.7. Charakteristika testovaných druhů	18
4. Materiál a metodika.....	22
4.1. Predátoři	22
4.2. Kořist.....	24
4.3. Aldehydy	25
4.4. Pokusná klec.....	25
4.5. Experimentální design.....	26
4.6. Statistické zpracování dat.....	29
5. Výsledky.....	32
5.1. Mláďata – vliv druhu plošnice a přítomnosti aldehydů.....	32
5.2. Mláďata testovaná s <i>Pyrrhocoris apterus</i>	38
5.3. Mláďata testovaná s <i>Pyrrhocoris tibialis</i>	45
5.4. Srovnání mláďat a dospělých ptáků testovaných s <i>Pyrrhocoris tibialis</i>	50
5.5. Dospělí ptáci testování s <i>Pyrrhocoris tibialis</i>	56
5.6. Dospělí ptáci testování s načerveno nabarvenými larvami potemníka moučného	65
5.7. Dospělí ptáci – test aldehydů jako diskriminačního kritéria	77
5.8. Dospělí ptáci – srovnání barvy a aldehydů jako diskriminačního kritéria	80
6. Diskuze.....	83
6.1. Mláďata	83
6.2. Srovnání mláďat a dospělých ptáků	87
6.3. Dospělí ptáci.....	88
7. Závěr.....	92
8. Seznam použité literatury	93

1. ÚVOD

Při multimodální výstražné signalizaci dává kořist predátorovi najevo, že je nepoživatelná nebo jinak nevýhodná, prostřednictvím více než jedné smyslové modality. Může cílit například zároveň na predátorův zrak a sluch či zrak a chuť nebo čich. Mnoho druhů kořisti tak kombinuje výstražné aposematické zbarvení s výstražnými pachy či odstrašujícími zvuky (Rowe and Guilford, 1999a).

Tyto obranné mechanismy se vyvinuly u různých skupin živočichů včetně hmyzu. Plošnice (Heteroptera) přirozeně signalizují svoji nepoživatelnost multimodálně až třemi způsoby. Využívají k tomu výstražné zbarvení, stridulaci a sekreci směsi chuťově nepříjemných a páchnoucích chemických látek (Aldrich, 1988). Podstatnou složkou repelentní sekrece ploštic jsou aldehydy, vysoce volatilní látky, které by mohly fungovat i jako olfaktorické výstražné signály a interagovat se signály optickými – výstražným zbarvením ploštic.

V souvislosti s opticko – chemickou multimodální výstražnou signalizací patří mezi nejprostudovanější látky pyraziny, u kterých byl pozorován vliv na chování ptačích predátorů vůči nové a aposematicky zbarvené potravě. Pyraziny zvyšují iniciální opatrnost predátorů vůči takové potravě (Kelly and Marples, 2004; Rowe and Guilford, 1996), v jejich přítomnosti se ptáci rychleji učí rozlišovat mezi jedlou a nejedlou potravou a déle si naučené informace pamatují (Siddall and Marples, 2008).

Kromě pyrazinů by mohly zajímavou roli v multimodální výstražné signalizaci hrát právě aldehydy a proto se jejich účinky na chování ptačích predátorů vůči aposematické kořisti v této práci zabýváme.

2. CÍLE

- (1) Testovat efekt kombinace aldehydů a výstražného zbarvení na chování ptačích predátorů.
- (2) Zjistit, zda aldehydy mohou u naivních predátorů vyvolávat skrytou vrozenou averzi vůči výstražně zbarvené kořisti.
- (3) Zjistit, zda přítomnost aldehydů urychluje averzivní učení a ovlivňuje zapamatování aposematického signálu.

3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1. MULTIMODÁLNÍ SIGNALIZACE

Multimodální komunikace spočívá v tom, že při ní organismy využívají více smyslových modalit najednou. V přírodě nalezneme nejčastěji příklady kombinace opticko-akustické a opticko-chemické, tedy takové, kdy je využíván zároveň zrak a sluch, respektive zrak a chuť nebo čich. Termínem „modalita“ označujeme smyslový systém, kterým signalizující jedinec vysílá signál, který je přijat stejným nebo jiným smyslem přijímajícího jedince (Smith and Evans, 2013). Multimodální signalizace je všudypřítomná a uplatňuje se v každodenním životě řady rostlin (Kulahci et al., 2008) i živočichů (Grafe et al., 2012; Jacob et al., 2011; Taylor et al., 2011).

Multimodální signalizaci můžeme klasifikovat podle redundantnosti (nadbytečnosti, zástupnosti) jednotlivých komponent. Vysílat několik redundantních signálů je běžné a zvyšuje se tak pravděpodobnost, že přijímající informaci obdrží. Pokud jsou redundantní signály prezentovány odděleně, mají stejný význam. Vysláním více neredundantních signálů najednou poskytneme v krátkém čase více informací. Pokud jsou jednotlivé složky prezentovány samostatně, neznamenají totéž, a jejich spojením v multimodální signál vzniká nový význam (Partan and Marler, 1999; Partan and Marler, 2005). Někdy je jako synonymum multimodální signalizace používán termín signalizace multisensorická (Partan and Marler, 2005).

Určitým úskalím multimodální signalizace může být energeticky nákladnější produkce, koordinace a recepce signálů. Používání komplexnější signalizace může mít také za následek zvýšení rizika predace. Signalizující jedinec se stává nápadnějším pro predátora a přijímající jedinec může v důsledku věnování pozornosti složité komunikaci predátora přehlédnout (Partan and Marler, 2005). Poslední zmíněné riziko lze zanedbat, jestliže jde o signalizaci mezi kořistí a predátorem, tedy o multimodální výstražnou signalizaci, kterou se budeme dále zabývat.

3.2. MULTIMODÁLNÍ VÝSTRAŽNÁ SIGNALIZACE

Přehled literatury o multimodální signalizaci s hlavním důrazem na využití multimodální signalizace v komunikaci mezi kořistí a predátorem je zpracován v rešeršní bakalářské práci (Bednářová, 2013). Tato diplomová práce na ni volně navazuje a zabývá se především opticko – chemickou, respektive opticko – čichovou multimodální výstražnou signalizací, kterou kořist používá jako obranu proti útoku predátora.

V našem případě jde o situaci, kdy by měly jednotlivé signalizující modalitty interagovat, doplňovat se a zesilovat tak svůj účinek na jediného predátora. Existuje však i taková multimodální výstražná signalizace kořisti, kdy signál každé modalitty cílí na jiného predátora (Vallin et al., 2005; Wiklund et al., 2008). Příkladem kořisti, která takovou signalizaci používá, jsou babočky paví oko (*Inachis io*). Babočky se v období hibernace brání proti útokům hlodavců produkováním ultrazvuků, zatímco mimo období hibernace, kdy jsou hlavním predátorem baboček ptáci, se brání výstražnými barevnými očními skvrnami na svrchní straně křídel (Olofsson et al., 2011; Vallin et al., 2005). Multimodální výstražná signalizace působící na různé predátory se nachází také u přástevníků z podčeledi *Arctiinae*, někteří z nich jsou nepoživatelní, aposematicky zbarvení a část zástupců této podčeledi signalizuje svoji nepoživatelnost pomocí produkce ultrazvuků. Aposematické zbarvení nesou hlavně denní druhy, které loví ptáci. Ultrazvuk využívají na svoji obranu noční kryptické druhy, které jsou loveny netopýry. U přástevníků se tedy nejedná o situaci totožnou s babočkami, ale o rozdílné strategie jednotlivých druhů přástevníků z podčeledi *Arctiinae* (Fullard et al., 1979; Ratcliffe and Nydam, 2008).

Hmyz se může vyhýbat útokům ptačích predátorů mnoha způsoby. Může se u něj vyvinout nenápadný kryptický vzhled, může být aktivní v jinou denní dobu nebo v jiném prostoru než ptáci. Další úspěšnou adaptací, která se u hmyzu vyvinula je aposematické výstražné zbarvení, často v kombinaci s varovným signálem jiné modalitty (Schmidt, 1990).

Aposematismus je antipredační strategie pomocí níž informuje kořist predátory o své nevýhodnosti, škodlivosti či jedovatosti (Cott, 1940). Jinými slovy, aby mohla být kořist klasifikována jako aposematická, musí být jednak nepoživatelná a jednak musí být

snadno rozpoznatelná potenciálními predátory tak, aby se jí mohl predátor vyhnout už po prvním setkání (Järvi et al., 1981). Někteří predátoři mají averzi vůči nepoživatelné aposematické kořisti vrozenou, jiní se jí musí naučit vyhýbat (Exnerová et al., 2007). Predátoři se však nemusí vždy aposematické kořisti vyhýbat pouze z důvodu vrozené opatrnosti vůči jejím specifickým signálům, ale také díky neofobii a potravnímu konzervatismu (Coppinger, 1970; Marples and Kelly, 1999; Marples et al., 1998).

S aposematismem se můžeme setkat u různých skupin živočichů (Dumbacher et al., 2009; Maan and Cummings, 2012; Pekar, 2014). Nejvíce aposematických zástupců však pravděpodobně nalezneme u hmyzu (Insecta) (Cott, 1940).

Hmyz často kombinuje aposematické zbarvení s výstražnými pachy, odstrašujícími zvuky a dalším specifickým chováním, jako například třepotáním jasně zbarvených křídel nebo pěněním z otvorů, kterými vystupují vzdušnice na povrch těla (Rowe and Guilford, 1999a).

Opticko – akustická multimodální signalizace se převážně vyskytuje u hmyzích řádů dvoukřídlých (Diptera) a blanokřídlých (Hymenoptera), zatímco opticko – chemickou používají často řády rovnokřídlí (Orthoptera), brouci (Coleoptera), motýli (Lepidoptera) a ploštice (Heteroptera) (Rowe and Halpin, 2013).

Výše vyjmenované komponenty výstražné signalizace mohou zvyšovat pravděpodobnost přežití kořisti při setkání s predátorem (Rowe and Guilford, 1999a). Měli bychom však rozlišovat mezi komponentami, které jsou signálem a informují predátora o nevýhodnosti kořisti (např. červená barva), a komponentami, které jsou součástí obrany a přímo odrazují predátora od konzumace (např. velmi hořká chuť). Ne vždy je ale snadné signály do těchto dvou kategorií rozřadit, nejenom proto, že bychom nevěděli, jak přesně na predátora fungují, ale také často proto, že může být látka toxická a hořká zároveň a může tedy fungovat jako signál i přímá obrana. Rowe & Halpin (2013) ve svém review proto zdůrazňují rozdíl mezi tzv. „multimodálními obrannými projevy“ (angl. multimodal defensive displays), kde o jednotlivých komponentách nevíme, zda plní roli signálu nebo jsou součástí vlastní přímé obrany, a tzv. „multimodálními výstražnými projevy“ (multimodal warning displays), u kterých víme, že plní komunikační funkci.

3.3. OPTICKO – CHEMICKÁ MULTIMODÁLNÍ VÝSTRAŽNÁ SIGNALIZACE

V přírodě se nejčastěji setkáváme s opticko – akustickou a opticko – chemickou multimodální výstražnou signalizací. Chemicky může kořist působit na chuť nebo na čich predátora. Tyto dva způsoby signalizace se do sebe mimo jiné liší tím, v jaké vzdálenosti od kořisti predátor je, když signál přijímá. Pachy mohou působit i na velkou vzdálenost, zatímco komunikace chutí vyžaduje těsný kontakt kořisti a predátora. V případě chuťové komunikace proto může být někdy obtížné rozhodnout, zda má určitá látka funkci signálu nebo je vlastní chemickou obranou kořisti a dle Rowe & Halpin (2013) bychom ji zařadili mezi multimodální obranné projevy.

Chemické látky produkované kořistí mohou být nepoživatelné, páchnoucí nebo přímo toxické (Aldrich, 1988) a mohou ovlivnit reakci predátora před napadením kořisti, ale i během útoku či po něm (Skelhorn and Rowe, 2005, 2006a, b). Mohou také způsobit nevolnost a zvracení (Ruxton et al., 2004; Staples et al., 2002).

Při studiu multimodální výstražné signalizace autoři obvykle sledují vliv přítomnosti kořisti na iniciální reakci predátora, vliv signalizace kořisti na průběh averzivního učení a na paměť (Kelly and Marples, 2004; Siddall and Marples, 2008).

Dosavadní studium kombinace opticko – čichové signalizace bylo z větší části zaměřeno na testování role pyrazinů jako antipredačního signálu, který používá řada různých druhů kořisti. Pyraziny jsou velmi těkavé látky, snadno rozpoznatelné čichem, které jsou zároveň poměrně jednoduchého složení a proto nepředstavují vysoké náklady při syntéze (Jetz et al., 2001). Různé deriváty pyrazinu byly nalezeny u mnoha druhů rostlin a aposematického hmyzu (Woolfson and Rothschild, 1990).

Rowe & Guilford (1996) testovali vliv přítomnosti 2-isobutyl-3-methoxypyrazinu na chování mláďat kura domácího (kuřat) (*Gallus gallus domesticus*) vůči nové aposematické i neaposematické potravě. Autoři kuřatům předkládali zelené jedlé granule a žluté nepoživatelné granule napuštěné roztokem chininu a hořčice. V přítomnosti pyrazinu se kuřata více vyhýbala žlutým granulím. Stejný výsledek byl pozorován i v případě, že nepoživatelné byly zelené granule a žluté granule byly jedlé. V další části experimentu, kdy autoři kuřatům podávali hnědé granule známého vzhledu, se ukázalo, že samotný pach pyrazinu k vytvoření averze vůči známé potravě nestačí (Rowe and Guilford, 1996). Pokud byla kuřata s pachem pyrazinu před vlastním

experimentem předem seznámena v tréninku, ztratila přítomnost pyrazinu na konzumaci barevných granulí vliv. Předcházející seznámení kuřat s novou barvou potravy naopak nemělo na averzivní reakci kuřat v přítomnosti pyrazinu vliv a tak se i poučená kuřata žlutým granulím vyhýbala. Z toho vyplývá, že pach pyrazinu musí být pro kuřata nový, aby fungoval jako signál, ale barva potravy nová být nemusí (Rowe and Guilford, 1999b).

Podobných výsledků jako Rowe & Guilford dosáhli Kelly & Marples (2004), kteří testovali vliv 3-isopropyl-2-methoxypyrazinu na iniciální reakci zebřiček pestrých (*Taeniopygia guttata*) vůči známé a nové (červeně obarvené) potravě. Samotná přítomnost pyrazinu neměla na konzumaci známé potravy vliv. Efekt pyrazinu se projevil až u červeně obarvené potravy. Zebřičky s konzumací této potravy v přítomnosti pyrazinu otálely výrazně déle, než když nebyl pach pyrazinu přítomen.

Siddall & Marples (2008) testovali vliv 2-isobutyl-3-methoxypyrazinu na averzivní učení a paměť kuřat. Kuřata se po sedm kol učila rozlišovat mezi jedlými zelenými granulemi a nejedlými žlutými granulemi. Všechna kuřata se nepoživatelným žlutým granulím naučila vyhýbat, ale v přítomnosti pyrazinu probíhalo averzivní učení rychleji. Už ve třetím kole experimentu kuřata učící se v přítomnosti pyrazinu napadala signifikantně méně žlutých granulí než kuřata bez pyrazinu. Následoval test paměti, který byl u části kuřat proveden po třech hodinách a u části po 96 hodinách. Po 96 hodinách vykazovaly známky vyhasínání paměti všechny skupiny kuřat, kromě té, které byly žluté granule prezentovány za přítomnosti pyrazinu jak ve fázi učení, tak i při testování paměti.

Ze zmíněných experimentů plyne, že mají pyraziny vliv na konzumaci aposematické potravy. Predátoři se takové potravě v přítomnosti pyrazinu vyhýbají více, než když pach pyrazinu přítomen není. Efekt pyrazinu se ale neprojeví u potravy, která je neaposematická a známá (Kelly and Marples, 2004; Rowe and Guilford, 1996). V přítomnosti pyrazinu také rychleji probíhá averzivní učení a predátoři si naučené informace déle pamatují (Siddall and Marples, 2008).

Nutno podotknout, že v naprosté většině experimentů zabývajících se účinky pyrazinů, byla v roli predátorů testována mláďata kura domácího (*Gallus gallus domesticus*). Tento stav není ideální, protože kur domácí byl po mnoho generací selektován na dosažení co nejvyšší hmotnosti a tím u něj mohla být redukována přirozená fobie z nové

potravu. Z tohoto důvod tudíž nevíme, zda by se podobně chovali i nedomestikovaní hrabaví (Galliformes) ve volné přírodě či jiné druhy ptáků (Mench, 2002).

3.4. PTAČÍ PREDÁTOŘI A OPTICKO – CHEMICKÁ SIGNALIZACE

V našich experimentech jsme jako predátory používali naivní ručně odchovaná mláďata a dospělé z přírody odchycené sýkory koňadry (*Parus major*).

Ptáci jsou pro příjem optických signálů vybaveni velmi dobře, zrak je pro ně nejdůležitějším smyslem. Od lidského zraku se ten ptačí liší v několika ohledech. O většině ptáků platí, že mají na sítnici v čípcích čtyři typy fotopigmentů, jsou schopni vnímat ultrafialové (UV) záření a lépe vnímat kontrast barev díky speciálnímu systému olejových kapek a karotenoidních pigmentů, které leží uvnitř čípků mezi dopadajícím světlem a barevným pigmentem (Espmark et al., 2000). Ptačí zrak je ve srovnání s lidským ostřejší a to především u ptáků, kteří loví pohybující se kořist a z nich obzvlášť u těch, co loví v letu (Donner, 1951).

Ptačí čich se tradičně v porovnání se zrakem a sluchem považuje za méně důležitý smysl (Roper, 1997). Čichové laloky jsou spíše malé, ovšem u žádných ptáků zcela nechybí (Hill, 1905). Čichové receptory jsou u ptáků stejně jako u ostatních obratlovců inervovány čichovým nervem. Čich je tedy funkčním smyslem pro většinu ptáků (Wenzel, 1987). Velmi dobře vyvinutý je však pouze u několika řádů, jako například u trubkonosých (Procellariiformes). V poslední době se však s rozvojem molekulárních technik objevují i studie, které upozorňují na zbytečné podceňování čichu u ptáků (Steiger et al., 2008). Jak z morfologických, tak z etologických a genetických studií tedy vyplývá, že ptáci čich určitě používají a olfaktorické informace zpracovávají (Kelly and Marples, 2004; Rowe and Guilford, 1996; Steiger et al., 2008; Wenzel, 1987).

Ve srovnání s ostatními obratlovci mají ptáci nízký počet chuťových pohárků (Mason and Clark, 2000). Jsou rozprostřeny po celé ústní dutině, ale nejvíce jich nalezneme v blízkosti vývodů slinných žláz (Berkhoudt, 1985). Počet chuťových pohárků se mění během ontogeneze jedince, jednodenní mláďata kura domácího mají dvakrát méně pohárků než dospělí, v dospělosti pak s věkem pohárků naopak ubývá (Duncan, 1960). Když se ptáci chystají konzumovat novou potravu, nejprve do ní klovnou (ochutnají ji)

a potom se teprve rozhodují, zda ji zkonsumují celou. Skelhorn & Rowe (2006a) zjistili, že mláďata kura domácího díky tomuto ochutnání mohou rozlišovat mezi granulemi ochucenými 1% a 4% roztokem chininu a pro další konzumaci si vybrat méně chemicky chráněnou potravu.

Kromě čichu a chuti mohou ptáci chemické látky registrovat také prostřednictvím chemoreceptivních vláken trojklanného nervu. Jde o tzv. chemestézi neboli vnímání chemicky způsobené bolesti. Chemesteticky působící látky (např. methyl anthranilát) bývají obsaženy v obranné sekreci různých skupin hmyzu (Conner et al., 2007; Mason and Clark, 2000).

3.5. KOŘIST A OPTICKO – CHEMICKÁ SIGNALIZACE

Vliv opticko – čichových multimodálních signálů na predátora lze studovat jak na umělé, tak na přirozené kořisti. U přirozené kořisti využíváme její vlastní signalizaci, která patří k charakteristickým vlastnostem daného druhu. Ostatní kořist můžeme označit jako kořist umělou, protože jí při pokusu upravujeme a přidáváme jí vlastnosti, které původně nenesla.

Mezi výhody umělé kořisti patří to, že ji můžeme upravovat podle potřeby a také lépe kontrolovat, na co přesně predátor reaguje. Není ale jisté, že na umělou kořist predátor reaguje stejně, jako by reagoval na přirozenou. Na druhou stranu, pokud používáme přirozenou kořist, musíme počítat s tím, že ji predátor vnímá jinak než my a že mu předkládáme komplexní soubor vlastností, které byly na obranu proti němu vytvořeny (Lindström, 1999).

Mnoho druhů hmyzu uchovává velkou část obranných chemikálií v integumentu a křídlech (Franzl et al., 1986). Díky tomu může predátor rychleji zaregistrovat, že je kořist chráněná a ta má větší šanci na přežití. Pokročilejším stupněm obrany, který vyvinula řada druhů hmyzu, je sekrece chemických látek na povrch těla (Eisner and Meinwald, 1966). Jde o velmi efektivní způsob obrany (Skelhorn and Rowe, 2009), který má opět pozitivní vliv na rychlost učení a snižování pravděpodobnosti útoku predátora na kořist (Skelhorn and Rowe, 2006a). Ještě dokonaleji používá chemickou

obranu například ploštica *Graphosoma lineatum*, která chemické látky na predátora vystříkuje (Gregorovičová, 2015; Svádová et al., 2010).

Ploštica (Heteroptera) přirozeně signalizují svoji nepoživatelnost multimodálně až třemi způsoby. Využívají k tomu výstražné zbarvení, stridulaci a sekreci směsi chuťově nepříjemných a páchnoucích chemikálií (Aldrich, 1988).

Ploštica produkuje chemické látky v zásadě dvěma typy pachových žláz, jejichž aktivita se mění během ontogeneze jedince. Dorsoabdominální žlázy (DAG) hrají stěžejní roli především u larválních stádií, metathorakální žlázy (MTG) potom v dospělosti (Staddon, 1979). Mezi nejběžnější chemické látky, které nalezneme v sekreci ploštic, patří alkany, aldehydy, estery, alkoholy a terpenoidy. Méně běžné jsou laktony, ketony a alkeny (Farine et al., 1992). Přesné složení sekrece je druhově specifické (Staddon, 1979).

Různé druhy ploštic se mohou v účinnosti obrany vůči predátorovi lišit. V experimentu s naivními predátory – mládčaty sýkory koňadry (*Parus major*) byla testována obrana čtyř druhů červeno-černých ploštic (*Lygaeus equestris*, *Spilostethus saxatilis*, *Pyrrhocoris apterus*, *Graphosoma lineatum*) (Hotová Svádová et al., 2013). Sýkory napadly všechny druhy ploštic stejně rychle, odlišný byl průběh averzivního učení. To proběhlo rychleji, pokud sekrece ploštic vyvolala okamžitý odpudivý účinek, obzvlášť pokud byly chemické látky v případě *G. lineatum* vystříknuty na predátora z dálky. Obranné chemické látky *P. apterus* vyvolaly negativní reakci u sýkor až několik minut po konzumaci, což averzivní učení zpomalovalo. *G. lineatum* je z testovaných druhů nejlépe chráněná proti naivním ptačím predátorům, zatímco obrana *P. apterus* je nejslabší (Hotová Svádová et al., 2013).

V části našich experimentů jsme jako přirozenou kořist použili dospělé jedince ploštic *Pyrrhocoris apterus* a *Pyrrhocoris tibialis*.

3.6. ROLE ALDEHYDŮ OPTICKO – ČICHOVÉ MULTIMODÁLNÍ SIGNALIZACI

Jak už bylo zmíněno, nejčastěji se při studiu opticko – čichové multimodální signalizace autoři věnují vlivu pyrazinů na chování predátora (Kelly and Marples, 2004; Siddall and Marples, 2008). Další zajímavé informace přináší studium aldehydů, které jsou velmi

efektivními chemickými iritanty (Farine et al., 1992) a jako jedna z hlavních složek sekrece ploštice by mohly fungovat jako signál nevýhodnosti či nepoživatelnosti kořisti.

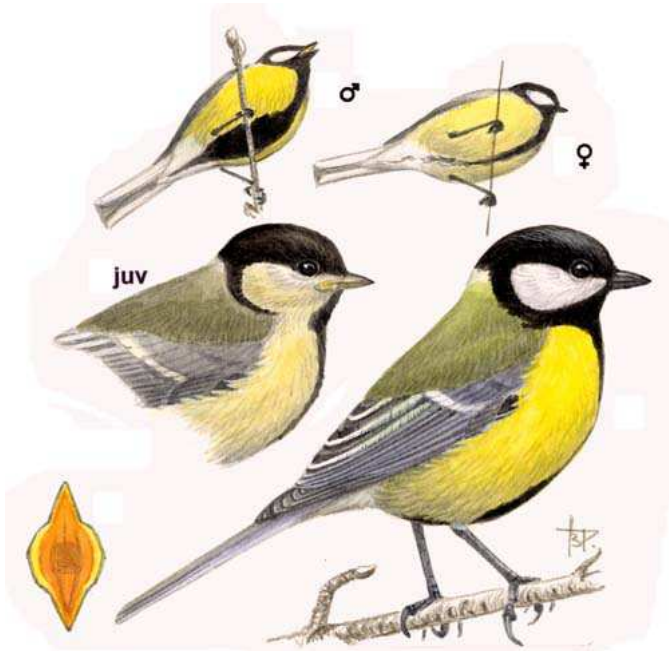
Tato diplomová práce volně navazuje na výsledky diplomové práce Malečkové (2011) a disertační práce Gregorovičové (2015), které se obě zabývají významem jednotlivých složek repelentní sekrece ploštice *Graphosoma lineatum* vůči několika různým predátorům. Autorky testovaly vliv směsi tří aldehydů: (E)-hex-2-enal, (E)-oct-2-enal, (E)-dec-2-enal rozpuštěných v hexanu na reakci gekončků nočních (*Eublepharis macularius*), ještěrek zelených (*Lacerta viridis*) (Gregorovičová, 2015), sýkor koňader (*Parus major*) a sýkor modřinek (*Cyanistes caeruleus*) (Gregorovičová, 2015; Malečková, 2011) na předloženou kořist – larvy potemníka moučného (*Tenebrio monitor*).

Směs aldehydů vyvolala averzivní reakci u všech testovaných predátorů. Jejich reakce se částečně lišily, ale z výsledků vyplývá, že by aldehydy mohly hrát roli signálu nepoživatelnosti kořisti. Gekončící noční napadali larvy potemníka v přítomnosti aldehydů s delší latencí a i později se přibližovali k larvám pomaleji, přestože už pach aldehydů přítomen nebyl (Gregorovičová and Černíková, 2015b). Směs aldehydů prodloužila latence přiblížení a napadení kořisti i u ještěrek zelených. Efekt aldehydů byl ještě zesílen, pokud byla ještěrce před pokusem podána samotná živá *G. lineatum* nebo *Pyrrhocoris apterus*. Přítomnost *G. lineatum* efekt zesílila více (Gregorovičová and Černíková, 2015a). Latence napadení kořisti v přítomnosti aldehydů byla ve srovnání s kontrolní skupinou signifikantně delší i u sýkor koňader. Efekt aldehydů vytrval i do posledních kol, kde už byly koňadrám podávány larvy bez aldehydů. U sýkor modřinek se efekt aldehydů na prodloužení latence napadení kořisti neprojevil hned, ale až v závěrečných kolech experimentu, kde byly modřinkám podávány larvy bez aldehydů (Malečková, 2011).

Aldehydy nemusí hrát roli pouze v obraně proti predátorům z řad obratlovců. U aldehydů (E)-hex-2-enal a (E)-oct-2-enal byly pozorovány repelentní účinky na kudlanku čínskou (*Tenodera aridifolia sinensis*) (Noge et al., 2012). Výsledky studie také naznačují, že chemické signály podporují účinnost výstražného zbarvení ploštice (Noge et al., 2012).

3.7. CHARAKTERISTIKA TESTOVANÝCH DRUHŮ

Sýkora koňadra (*Parus major*)



Obr. 1: Sýkora koňadra (*Parus major*), zdroj: www.avibirds.com

Sýkora koňadra, *Parus major* (Linnaeus 1758) je pěvec z čeledi sýkorovitých (Passeriformes: Paridae). Ze sýkor vyskytujících se v České republice je s velikostí těla 13,5 – 15 cm největším druhem. Samec se od samice liší dobře patrným širším černým středovým pruhem na hrudi, který sahá až k nohám (Obr. 1). Samice bývají světlejší a mají užší a často neúplný černý pruh. Mláďata se podobají dospělcům, ale mají žlutavé skvrny na tvářích bez úplného spodního černého okraje (Svensson et al., 2012).

Areál rozšíření tohoto druhu je velmi rozsáhlý, největší ze všech sýkor rodu *Parus*. Zahrnuje celou Evropu, sever Afriky a podstatnou část Asie. Sýkora koňadra je jedním z nejpočetnějších ptáků v Evropě. Hnízda umísťuje do nejrůznějších dutin a ochotně obsazuje vyvěšované hnízdní budky. Hnízdí jednou až dvakrát do roka, od dubna do poloviny července (Svensson et al., 2012; Šťastný et al., 2006). Samičky snáší 5 – 12 vajec, na kterých sedí přibližně 12 – 15 dní, poté oba rodiče ptáčata 16 – 22 dní krmí a po vylétnutí z hnízda ještě jeden až dva týdny dokrmují (Del Hoyo, 2007).

Sýkory koňadry jsou potravní generalisté a oportunisté, sýkora koňadra má ze všech sýkor zřejmě nejrozmanitější jídelníček, což poukazuje na vysokou přizpůsobivost tohoto druhu. Na jaře a v létě se sýkory živí převážně bezobratlými živočichy z 13 řádů hmyzu (Insecta), mnohonožek (Diplopoda), roztočů (Acari), pavouků (Chelicerata: Araneae), plžů (Mollusca: Gastropoda) nebo koryšů (Crustacea: Isopoda) (Del Hoyo, 2007). Sýkory koňadry příliš neloví rychle se pohybující živočichy, vybírají si spíš pomalejší pavouky, mouchy a další hmyz (Royama, 1970). Mimo hnízdní období do jídelníčku zařazují i různá semena, ovoce, mízu a alternativní zdroje potravy (tuk, chleba, maso apod.). Ptáčata jsou nejčastěji krmena housenkami motýlů, méně často pavouky (Del Hoyo, 2007), první dny po vylíhnutí je pro krmení nejdůležitější housenky píďalky podzimní (*Operophtera brumata*) a šedokřídlece lískového (*Epirrita dilutata*), které sýkory sbírají nejčastěji z dubového listí. Později jsou při krmení také důležité housenky zejkovce pozdního (*Colotois pennaria*) a drsnokřídlece hrušňového (*Phigalia pilosaria*), které sýkory nacházejí na trnkách, hlohu a jasanu (Royama, 1970).

U naivních ručně odchovaných mláďat i dospělých z přírody odchycených sýkor koňader byla testována jejich reakce na různé druhy aposematických ploštic. U naivních mláďat nebyla nalezena žádná vrozená opatrnost vůči aposematickým plošticím *Lygaeus equestris*, *Spilostethus saxatilis*, *Pyrrhocoris apterus* a *Graphosoma lineatum*, které tvoří mimetický komplex červeno-černě zbarvených ploštic střední Evropy. Mláďata se musela informaci o nepoživatelnosti ploštic naučit (Hotová Svádová et al., 2013). Oproti tomu dospělé sýkory koňadry odchycené z volné přírody ploštici *Pyrrhocoris apterus* konzumovat odmítají a manipulují s ní opatrně, takže ploštice setkání se sýkorou zpravidla přežije (Exnerová et al., 2003). Dospělé sýkory koňadry se vyhýbají i dalším druhům aposematicky zbarveného hmyzu, například housenkám otakárka fenyklového (*Papilio machaon*) (Järvi et al., 1981). Sýkory koňadry jsou jedním z modelových druhů pro studium funkce aposematických signálů, zejména v experimentech s umělou kořistí (Lindström et al., 1997; Lindström et al., 1999b).

Ploštice (*Pyrrhocoris apterus*, *Pyrrhocoris tibialis*)



Obr. 2: Ploštice *Pyrrhocoris apterus* (vlevo), zdroj: www.insectime.org a *Pyrrhocoris tibialis* (vpravo), foto: A. Exnerová

Ploštice (Insecta: Hemiptera: Heteroptera) jsou jednou z nejrozšířenějších skupin hmyzu s proměnou nedokonalou. V porovnání s ostatními skupinami hmyzu je značná především jejich ekologická diverzita, obývají obrovské množství různých habitatů. Některé druhy žijí jako parazité ptáků i savců, další jsou fytofágní či mycetofágní, jiné ploštice jsou predátory ostatních členovců, žijí ve vodě nebo na povrchu vody (Schuh and Slater, 1995). Ploštice jsou takto úspěšné také díky dokonalé vnitrodruhové i mezidruhové chemické komunikaci zajišťované složitým systémem pachových žláz. (Staddon, 1979).

Čeď Pyrrhocoridae zahrnuje více než 300 fytofágních a dravých druhů ploštic (Heteroptera: Pentatomomorpha). Oba testované druhy ploštic *Pyrrhocoris apterus* (Linnaeus 1758) i *Pyrrhocoris tibialis* (Stål 1874) (Obr. 2) se živí podobnými rostlinami z čeledi slézovitých (Malvaceae). Z hlediska aldehydů je obranná sekrece *P. tibialis* a *P. apterus* velmi podobná, sdílí hlavně složku (E)-2-hexenal (Krajíček et al., v tisku).

P. apterus (ruměnice pospolná) je gregariozní nelétavý euroasijský druh s aposematickým černo-červeným zbarvením, díky kterému patří do mimetického komplexu červeno-černých ploštic střední Evropy (Svádová et al., 2010). V České republice jde o velmi běžný druh ploštice (Socha, 1993). Živí se především na lípách *Tilia* spp. a dalších rostlinách z čeledi slézovitých (Malvaceae) (*Altea officinalis*,

Malva spp., *Hibiscus* spp.) (Kristenová et al., 2011). Velikost dospělců se pohybuje mezi 7 a 12 mm (Socha, 1993).

Sekrece *P. apterus* obsahuje 35 různých složek, z čehož 3 hlavní složky představují 90 % celku. Jsou to (E)-2-hexenal (76 %), (E)-2-octenal (10 %) a tridecane (4 %). Na zbylých deset procent připadá směs 16 aldehydů, čtyř nasycených uhlovodíků, pět alkoholů, dvou laktonů, dvou terpenů, jednoho esteru a dalších dvou složek (Farine et al., 1992). Pro *P. apterus* je charakteristická pouze mírná chemická obrana s opožděným efektem na predátora. Tento druh používá na svoji obranu sekreci poměrně neochotně, pouze pokud je opravdu silně atakován (Hotová Svádová et al., 2013).

Pyrrhocoris tibialis je soliterní asijský druh s nenápadným kryptickým zbarvením. Vyskytuje se v Číně, Koreji, Japonsku a zřejmě i na Dálném Východě v Rusku (Štys a Exnerová, nepublikováno). Dosud nebyla vyřešena problematika potenciální synonymie s *Pyrrhocoris sibiricus* (Kuschakevich 1867). Dle Štysa a Exnerové jde o dva různé druhy, jejichž správná nomenklatura musí být potvrzena dosud neprovedenou revizí typového materiálu.

P. tibialis je makropterní dobře létající, šedohnědě zbarvená ploštice. První až třetí larvální instary jsou nápadně aposematicky zbarvené, zatímco čtvrtý a pátý instar a dospělec mají jen lehce narůžovělý abdomen. V době aktivity na jaře a v létě netvoří agregace, přestože může populace *P. tibialis* dosahovat vysoké hustoty. Vyskytuje se v řídkých lesích, zahradách, parcích a ruderalních stanovištích převážně na zemi nebo na nízkých keřích. Živí se na bylinných a křovitých rostlinách z čeledi slézovitých (Malvaceae), například na ibišcích či topolovce (*Hibiscus* spp., *Alcea* spp.) (Štys a Exnerová, nepublikováno).

Obranná sekrece dospělců *P. tibialis* obsahuje 11 uhlovodíků, 9 alkoholů (především 1-dodecanol, (E)-2-hexen-1-ol a (E)-2-octen-1-ol), 8 aldehydů (především (E)-2-octenal a (E)-2-hexenal), 2 ketony a 8 esterů kyselin (Krajíček et al., v tisku).

4. MATERIÁL A METODIKA

4.1. PREDÁTOŘI

V experimentech figurovali jako predátoři dospělé sýkory koňadry (*Parus major*) a mládřata stejného druhu. Dospělí ptáci byli odchyceni ve volné přírodě, ptáčata byla vybrána z budek a ručně odchována. Celkem šlo o 106 dospělců a 63 mládřat.

Odchyt ptáků a experimenty byly prováděny na základě oprávnění k používání pokusných zvířat č. 13060/2014-MZE-17214 vydaného MZE, projektu pokusu č.42521/ENV/14-2268/630/14 schváleného MŽP, a povolení k testování volně žijících druhů ptáků MHMP-043585/2009/OOP-V-26/R-8/Pra a MHMP-154521/04OOP-V-25/R-40/09/Pra udělených Odborem životního prostředí magistrátu hlavního města Prahy.

4.1.1. DOSPĚLÍ PREDÁTOŘI

Dospělé sýkory koňadry (*Parus major*) byly odchytávány v období od října do února v letech 2013 - 2015 v areálu Botanické zahrady Přírodovědecké fakulty UK v Praze, Na Slupi 16, pomocí nárazových odchytových sítí. U sýkor koňader je možné dobře rozlišovat pohlaví, dle věku lze ptáky chytané v zimním období dělit na jednoleté (byli tedy chyceni v jejich první zimě) a víceleté. Při zařazování sýkor do jednotlivých experimentálních skupin jsme se snažili o rovnoměrné rozložení dle věku a pohlaví jedinců, ne vždy to však bylo zcela možné, protože víceletých ptáků se podařilo odchytit podstatně více než ptáků jednoletých.

Po odchycení byly sýkory ubytovány samostatně v domovských klecích o rozměrech 50 x 40 x 40 cm. Klec měla plastové dno, strop a stěny, pouze přední stěna byla tvořena kovovou mříží. Dno klece bylo pokryto filtračním papírem a při čištění ho bylo možné vysunout a papír vyměnit, aniž by byla sýkora příliš rušena. Domovská klec byla vybavena třemi bidýlky v různé výšce, čistou vodou ve dvou závěsných miskách, miskou s larvami potměníka moučného (*Tenebrio molitor*), miskou se slunečnicovými semeny a miskou s vaječnou směsí (Oké-bird: Versele - Lega nebo Uni patee: Orlux). Potrava a voda byly pravidelně doplňovány a měněny při čištění klece, které probíhalo

minimálně jednou denně. Než byly sýkory přemístěny do pokusné klece, strávily v domovské kleci alespoň 24 hodin z důvodu aklimatizace na laboratorní podmínky. Po ukončení experimentu byly opět navraceny do svých domovských klecí, kde zůstaly alespoň do druhého dne, aby se mohly dostatečně nasytit. Poté byly okroužkovány a vypuštěny v místě odchytu. Klece se sýkorami byly umístěny v etologické laboratoři (PřF UK v Praze, Viničná 7, místnost 106), kde byl nastaven světelný režim korespondující s aktuálními venkovními podmínkami, teplota 18 - 20 °C a vlhkost 40 - 55 %.

4.1.2. NAIVNÍ PREDÁTOŘI

Naivnými predátory byla v experimentech ptáčata sýkor koňader, která dosud nezískala zkušenosti s aposematickou ani chemicky chráněnou potravou. Ptáčata byla vybírána z budek rozmístěných v několika parcích v Praze, v lesích v blízkosti obce Velemína a v Městských lesích Hradce Králové. Všechny budky byly před hnízdní sezónou vyčištěny a v případě potřeby opraveny. Ptáčata byla z budek vybrána ve věku 10 - 15 dní, počet vybraných ptáčat z jedné budky závisel na velikosti snůšky, nejčastěji byla vybrána dvě ptáčata z jedné budky. Do stejné experimentální skupiny nebyla nikdy zařazena více jak dvě ptáčata ze stejné snůšky. Ptáčata byla označena barevnými plastovými kroužky, tak abychom stále měli přehled o původu každého konkrétního jedince. Zpočátku byla ptáčata chována v menších (po 4 - 5 ptáčatech) nebo větších (po 6 - 8 ptáčatech) plastových boxech vystlaných prodyšnou látkou a papírovým ubrouskem, později byla přemístěna do malé klícky s bidýlky a po dosažení vzletnosti do velké klece maximálně po pěti jedincích v jedné kleci. Ptáčata byla ručně krmena usmrcenými larvami potemníka moučného, komerčním krmivem pro ptáčata (Handmix: Orlux, Nutribird: Versele - Laga), uvařenými vejci a domácí směsí z vajec, mrkve a piškotů. Dále byly ptáčatům denně podávány vitamíny (Roboran: Unisvit s.r.o., Kombisol: Biofaktory). Po přemístění do velkých klecí byla ptáčata stále ručně krmena až do doby osamostatnění. V kleci měla ptáčata k dispozici misky s vodou, larvami potemníka moučného a vaječnou (Oké-bird: Versele - Lega nebo Uni patee: Orlux) či hmyzí směsí (Insect patee: Orlux). Ptáčata se postupně zcela osamostatnila a ve věku 35 dní mohla být testována.

4.2. KOŘIST

V experimentech byly použity celkem tři hlavní typy kořisti – 2 druhy ploštice *Pyrrhocoris apterus* a *Pyrrhocoris tibialis* a různě manipulované larvy potemníka moučného (*Tenebrio molitor*).

4.2.1. LARVY POTE MNÍKA MOUČNÉHO (*TENEBRIO MOLITOR*)

V experimentech, kde byla testována reakce sýkor koňader na ploštice, byly larvy potemníka moučného používány pouze jako kontrolní kořist. V takovém případě byly sýkorám podávány živé cca 1,5 cm velké larvy přirozeného zbarvení.

V jiných experimentech byly samotné larvy potemníka moučného přímo testovanou kořistí. Zde byly obarveny červenou netoxickou barvou ředěnou ve vodě (Jovi). Nepoživatelné larvy byly injikovány 2 μ l hořkého 6% roztoku chininu (chlorochinin difosfát, Sigma-Aldrich). Injekcí byly larvy zároveň usmrceny a z tohoto důvodu byly kontrolní larvy potemníka v těchto experimentech injikovány 2 μ l vody stejným způsobem.

4.2.2. PLOŠTICE

Ruměnice pospolné, *Pyrrhocoris apterus* (Linnaeus 1758) (Heteroptera: Pyrrhocoridae) byly dle potřeby sbírány na lípách v okolí PŘF UK v Praze (Viničná 7) a uchovávány v plastovém boxu s možností úkrytu, dostatkem vody a potravy – semeny lípy (*Tilia* sp.). Ploštice byly chovány při pokojové teplotě nebo v klimaboxu při teplotách 23 ± 2 °C a světelném režimu L16: D8.

Ploštice *Pyrrhocoris tibialis* (Stål 1874, Heteroptera: Pyrrhocoridae) využit v experimentu pocházely z Tianjinu v Číně, byly chovány při teplotách 25 ± 2 °C a světelném režimu L16: D8 v plastových nádobách s dostatkem vody, potravy (semeny *Hibiscus trionum*, *Althea officinalis*) a možností úkrytu. V experimentu byli použiti vždy pouze dospělí jedinci obou druhů.

Již bylo zmíněno, že oba testované druhy ploštic *Pyrrhocoris apterus* a *Pyrrhocoris tibialis* využívají obrannou sekreci poměrně neochotně a pouze při výrazném

podráždění. Díky tomu bylo možné použít samostatně aplikované aldehydy jako chemický signál, aniž by s nimi příliš interferovaly vlastní obranné látky ploštic.

4.3. ALDEHYDY

V experimentu byla jako chemický signál použita směs tří aldehydů: (E)-hex-2-enal, (E)-oct-2-enal a (E)-dec-2-enal, které tvoří majoritní část obranné sekrece řady taxonů ploštic (Aldrich, 1988). Konkrétní složení směsi bylo odvozeno ze sekrece kněžice páskované, *Graphosoma lineatum* (Linnaeus, 1758) (Heteroptera: Pentatomidae), aposematické ploštic žijící na rostlinách z čeledi Apiaceae (Šanda et al., 2012). Byl použit 2% roztok těchto aldehydů (v poměru 10/1/10 2-decenal/2-octenal/2-hexanal) v hexanu a aplikováno bylo vždy množství 2 μ l, které odpovídá množství aldehydů v sekreci uvolněné plošticí při podráždění (Šanda, nepublikováno).

4.4. POKUSNÁ KLEC



Obr. 3: Pokusná klec, foto: A. Exnerová

Všechny experimenty probíhaly v pokusné kleci o rozměrech 70 x 70 x 70 cm, tedy větších. Dno a konstrukce klece byly ze dřeva, stěny a strop z pletiva, přední stěna byla tvořena jednosměrně průhledným sklem tak, aby sýkora v kleci nebyla po dobu experimentu rušena přítomností člověka v místnosti. U stropu klece byly umístěny dvě zářivky simulující denní světlo (Osram-biolux), které klec dostatečně osvětlovaly, zatímco byl zbytek místnosti částečně zatemněn. V přední části klece pod sklem byl

umístěn otáčivý karusel se šesti kruhovými otvory, do kterých se umísťovaly Petriho misky s předkládanou kořistí. V experimentu s obarvenými larvami potměníka moučného byla Petriho miska podložena bílým pozadím pro lepší kontrast červené barvy larev, v experimentech s *P. tibialis* a *P. apterus* byla na pozadí ponechána vlastní barva a struktura dřevěného karuselu. Sýkora byla do klece vpuštěna dvířky v zadní části klece, po celou dobu experimentu měla k dispozici vodu ad libitum a jedno bidýlko umístěné v kleci tak, aby bez problémů viděla na předkládanou potravu.

4.5. EXPERIMENTÁLNÍ DESIGN

Tato práce shrnuje výsledky pokusů s celkem osmi různými skupinami sýkor. Větší část experimentálního designu je společná pro všechny pokusy. Chování sýkor bylo zaznamenáváno na videokameru, ručně do zápisníku a zároveň do počítače pomocí programu Observer, verze XT 8.0, z kterého byla později data převedena do excelové tabulky a následně statisticky vyhodnocena v programu Statistica 8. Byly zaznamenávány následující projevy chování: (1) explorace pokusné klece, (2) pozorování kořisti, (3) přiblížení se ke kořisti, (4) napadení kořisti, (5) konzumace kořisti, (6) odhození kořisti, (7) čištění zobáku, (8) otřepávání se, (9) pití, (10) spánek/komfortní chování, (11) zvracení.

Před vlastním experimentem sýkory vždy přibližně dvě hodiny hladověly, aby byly lépe motivované napadat předkládanou kořist. Dostatečná motivace byla otestována předložením první kontrolní larvy potměníka moučného, kterou sýkory obvykle napadly a zkonzumovaly ihned po předložení.

Experimentální kořist byla sýkorám předkládána v sekvenci se známou kontrolní kořistí – larvou potměníka moučného, ve dvou po sobě následujících dnech. První den se sýkora učila vyhýbat nepoživatelné kořisti, přičemž byl experiment ukončen po uplynutí šedesáti kol, tj. po předložení třiceti ploštic (v případě testování reakce na ploštici *P. apterus* nebo *P. tibialis*), respektive čtyřiceti kol, tj. po předložení dvaceti larev (v případě testování reakce na nepoživatelnou červeně obarvenou larvu potměníka moučného), či po dosažení tzv. „kritéria naučení“ (learning criterion). Tohoto kritéria bylo dosaženo, když sýkora odmítla manipulovat s předloženou kořistí ve třech po sobě následujících kolech experimentu. O prvním dnu experimentu dále mluvíme jako o „učení“.

Druhý den byla otestována paměť sýkor. Design pokusu byl totožný se dnem předchozím, proběhlo ale pouze deset kol, tedy pět předložení nepoživatelné kořisti střídané pěti kontrolními larvami potemníka moučného. O druhém dnu experimentu dále mluvíme jako o „paměťovém testu“.

Sýkory byly v rámci skupin testovaných s jednotlivými typy kořisti vždy rozděleny ještě na dvě dílčí skupiny, kdy byla testována jejich reakce na kořist 1) v přítomnosti aldehydů a 2) bez aldehydů. Výjimku tvoří skupina sýkor testovaná v přítomnosti aldehydů pouze s červenými larvami potemníka moučného, která byla pouze jedna.

Pokud byla v experimentu použita směs aldehydů, byla vždy aplikována v množství 2 μ l do rohu Petriho misky tak, aby nedošlo ke kontaktu s testovanou potravou. Dané množství bylo odměřeno mikropipetou Hamilton.

Následuje přehled pokusů rozdělených dle druhu testované kořisti doplněný o detaily, kterými se jednotlivé experimentální skupiny lišily.

4.5.1. DESIGN EXPERIMENTŮ S PLOŠTICEMI

Testovali jsme vliv přítomnosti pachu aldehydů na iniciální reakci sýkor vůči aposematické plošticí *P. apterus* a neaposematické *P. tibialis*, vliv aldehydů na průběh averzivního učení a paměť sýkor.

Sýkorám byla v sudých kolech experimentu předkládána ploštice po dobu maximálně 5 minut. Kola s plošticí byla střídána koly s larvami potemníka moučného, která byla ukončena ihned po zkonsumování této kontrolní kořisti. V experimentu s plošticí *P. apterus* bylo otestováno celkem 42 mlád'at (20 ve skupině bez aldehydů, 22 ve skupině s aldehydy). V experimentu s plošticí *P. tibialis* bylo otestováno celkem 50 dospělých sýkor (25 ve skupině bez aldehydů, 25 ve skupině s aldehydy). Ve skupině bez aldehydů bylo otestováno 11 jednoletých samic, 7 víceletých samic, 2 jednoletí samci a 5 víceletých samců. Ve skupině s aldehydy bylo otestováno 7 jednoletých samic, 2 víceleté samice, 3 jednoletí samci a 13 víceletých samců. Dále bylo s plošticí *P. tibialis* otestováno 21 mlád'at ve skupině s aldehydy. Testování kontrolní skupiny s mlád'aty bez přítomnosti aldehydů (v počtu 20 ptáčat) prováděla Alice Exnerová a tato data jsou zde využita pro srovnání se skupinou testovanou s aldehydy. U této kontrolní skupiny však nebyl proveden paměťový test. Experiment

s dospělými sýkorami koňadrami a *P. apterus* prováděn nebyl, protože ptáci odchycení z volné přírody aposematickou plošticí prakticky nenapadají a nekonzumují (Exnerová et al., 2007, Hotová Svádová et al. 2010). Proto byly zařazeny experimenty s obarvenými larvami potemníka moučného.

4.5.2. DESIGN EXPERIMENTŮ S LARVAMI POTE MNÍKA MOUČNÉHO

S červenými larvami potemníka moučného jsme prováděli dva typy experimentů. V prvním typu experimentu jsme testovali vliv přítomnosti aldehydů na iniciální reakci, průběh učení a paměť dospělých sýkor koňader, kterým byly v sudých kolech experimentu předkládány červené nepoživatelné larvy potemníka moučného injikované 2 μ l 6% roztoku chininu. Každé kolo trvalo 5 minut. Kontrolní larvy potemníka moučného byly injikovány 2 μ l čisté vody. Tato kontrolní kola trvala vždy celých 5 minut i přesto, že byla larva obvykle zkonsumována ihned po předložení. Experiment byl ukončen po dosažení kritéria naučení. Takto bylo celkem testováno 40 dospělých sýkor (20 bez aldehydů, 20 s aldehydy). Ve skupině bez aldehydů bylo otestováno 5 jednoletých samic, 5 víceletých samic, 3 jednoletí samci a 7 víceletých samců. Ve skupině s aldehydy bylo otestováno 5 jednoletých samic, 5 víceletých samic, 3 jednoletí samci a 7 víceletých samců.

V druhém experimentu s červenými larvami potemníka moučného jsme testovali to, zda jsou sýkory schopné diskriminovat mezi nejdělnými a jedlými červenými larvami pouze na základě přítomnosti a nepřítomnosti pachu aldehydů.

Experiment byl zahájen předložením jedné živé larvy přirozené barvy, abychom otestovali potravní motivaci sýkor. V lichých kolech byla sýkorám předkládána červená larva potemníka injikovaná 2 μ l vody bez přítomnosti aldehydů, v sudých kolech jim byl předkládána červená larva potemníka injikovaná 2 μ l roztoku chininu za přítomnosti aldehydů. Všechna kola trvala celých 5 minut. Experiment byl ukončen po uplynutí 40 kol, tedy po předložení 20 larev potemníka moučného bez aldehydů a 20 s aldehydy. Celkem bylo takto testováno 15 dospělých sýkor, z toho bylo otestováno 6 jednoletých samic, 3 víceleté samice, 1 jednoletý samec a 5 víceletých samců.

4.6. STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT

Pro statistické vyhodnocení dat byl použit program Statistica 8. Nulová hypotéza byla zamítnuta při pětiprocentní hladině významnosti. Vliv vyhodnocovaného faktoru označujeme jako marginální, pokud p nabývá hodnot $0,05 < p < 0,10$.

4.6.1. INICIÁLNÍ REAKCE

Při hodnocení iniciální reakce predátora na předloženou kořist byla sledována latence prvního přiblížení a latence prvního napadení kořisti v závislosti na přítomnosti aldehydů. Latence byla měřena od začátku testu, tj. od okamžiku předložení kořisti testovanému jedinci. Data byla vyhodnocována analýzou kovariance (ANCOVA), kdy byla jako kovariáta použita latence napadení první předložené (kontrolní) larvy potemníka moučného. Všechny latence byly logaritmicky transformovány.

Ve vyhodnocení celkového modelu pro mláďata byl kromě vlivu přítomnosti aldehydů zároveň sledován také vliv druhu plošnice na latence přiblížení a napadení kořisti. U celkového modelu pro *P. tibialis* byl kromě vlivu přítomnosti aldehydů sledován i vliv stáří predátora na latence přiblížení a napadení kořisti.

4.6.2. UČENÍ

Zde byl hodnocen vliv přítomnosti aldehydů na počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic nebo larev potemníka moučného pomocí zobecněného lineárního modelu (glm ANOVA) pro Poissonovské rozdělení dat. Dále byl jednocestným ANOVA testem hodnocen vliv aldehydů na pravděpodobnost zabití napadené kořisti. Pravděpodobnost byla vypočítána jako podíl zabitých ze všech napadených ploštic nebo larev potemníka moučného a byla arcsinově transformována. Pokud někteří predátoři kořist vůbec nenapadli, nebyli do vyhodnocení zahrnuti.

Ve vyhodnocení celkového modelu pro mláďata byl kromě vlivu přítomnosti aldehydů zároveň sledován ještě vliv druhu plošnice na počty napadených, zabitých a konzumovaných ploštic a pravděpodobnost zabití. U celkového modelu pro *P. tibialis* byl kromě vlivu přítomnosti aldehydů sledován i vliv stáří predátora na zmíněné proměnné.

U skupiny dospělých sýkor, u kterých jsme testovali pach aldehydů jako diskriminační kritérium pro diskriminaci mezi jedlými a nejedlými červenými larvami potemníka moučného, byly pomocí analýzy variance pro opakovaná měření (repeated measures ANOVA) porovnávány latence napadení prvních pěti jedlých (neobarvených) a prvních pěti nejedlých (červených) předložených larev v závislosti na pořadí, přítomnosti aldehydů a palatabilitě larvy. Latence byly logaritmičsky transformovány.

4.6.3. PAMĚŤOVÝ TEST

Paměť byla testována pouze u sýkor, které během učení napadly alespoň jednu ploštic. Výsledky paměťového testu byly porovnávány mezi skupinami ptáků testovanými s aldehydy a bez aldehydů a také v rámci jednotlivých skupin porovnávány s výsledky počáteční fáze (prvních pěti kol) učení.

Mezi skupinami byly opět porovnávány latence prvního přiblížení a napadení kořisti. Data byla hodnocena jednocestným ANOVA testem, latence byly logaritmičsky transformovány. Dále byly pomocí zobecněného lineárního modelu (glm ANOVA) pro Poissonovské rozdělení dat porovnány počty napadených, zabitých a konzumovaných ploštic.

Uvnitř skupin byla Wilcoxonovým párovým testem porovnávána latence prvního napadení ploštic a opět počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic v prvních pěti kolech učení a v paměťovém testu.

4.6.4. VLIV VĚKU A POHLAVÍ DOSPĚLÝCH SÝKOR

Uvnitř skupin dospělých sýkor byl vždy vyhodnocen i vliv věku a pohlaví na sledované faktory. Pomocí analýzy kovariance (ANCOVA) s latencí prvního napadení kontrolní larvy potemníka moučného jako kovariátou byl testován vliv věku a pohlaví na latenci prvního přiblížení a napadení kořisti. Dále byl pomocí zobecněného lineárního modelu (glm ANOVA) pro Poissonovské rozdělení dat hodnocen vliv věku a pohlaví na počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic či larev potemníka během učení.

4.6.5. TEST ALDEHYDŮ JAKO DISKRIMINAČNÍHO KRITÉRIA

Testovali jsme, zda se dospělé sýkory koňadry naučí diskriminovat mezi červenými jedlými a nejedlými larvami potemníka moučného podle přítomnosti a nepřítomnosti aldehydů. Wilcoxonovým párovým testem jsme porovnávali latence napadení první larvy s druhou, třetí se čtvrtou a páté se šestou. Dále byla stejným testem porovnána latence napadení první nejedlé larvy během učení a v paměťovém testu a také počty napadených, zabitých a konzumovaných nejedlých larev potemníka během učení a v paměťovém testu.

4.6.6. SROVNÁNÍ BARVY A ALDEHYDŮ JAKO DISKRIMINAČNÍHO KRITÉRIA

Porovnávali jsme význam barvy a pachu kořisti v diskriminaci sýkor mezi jedlou a nejedlou kořistí. Pomocí analýzy kovariance (ANCOVA) s latencí prvního napadení kontrolní larvy potemníka moučného jako kovariátou byla porovnávána latence napadení celkově šesté červené larvy v závislosti na tom, zda sýkory diskriminovaly podle barvy nebo podle pachu kořisti. Dále jsme u těchto dvou skupin pomocí zobecněného lineárního modelu (glm ANOVA) porovnávali počty napadených, zabitých a konzumovaných červených larev během prvních pěti kol učení a v paměťovém testu.

4.6.7. VLIV DRUHU PLOŠTICE NA FREKVENCI ZVRACENÍ SÝKOR

Porovnávali jsme frekvenci zvracení po konzumaci ploštice mlád'aty sýkor koňader v závislosti na druhu ploštice *P. apterus* a *P. tibialis* pomocí Chi-kvadrát testu.

5. VÝSLEDKY

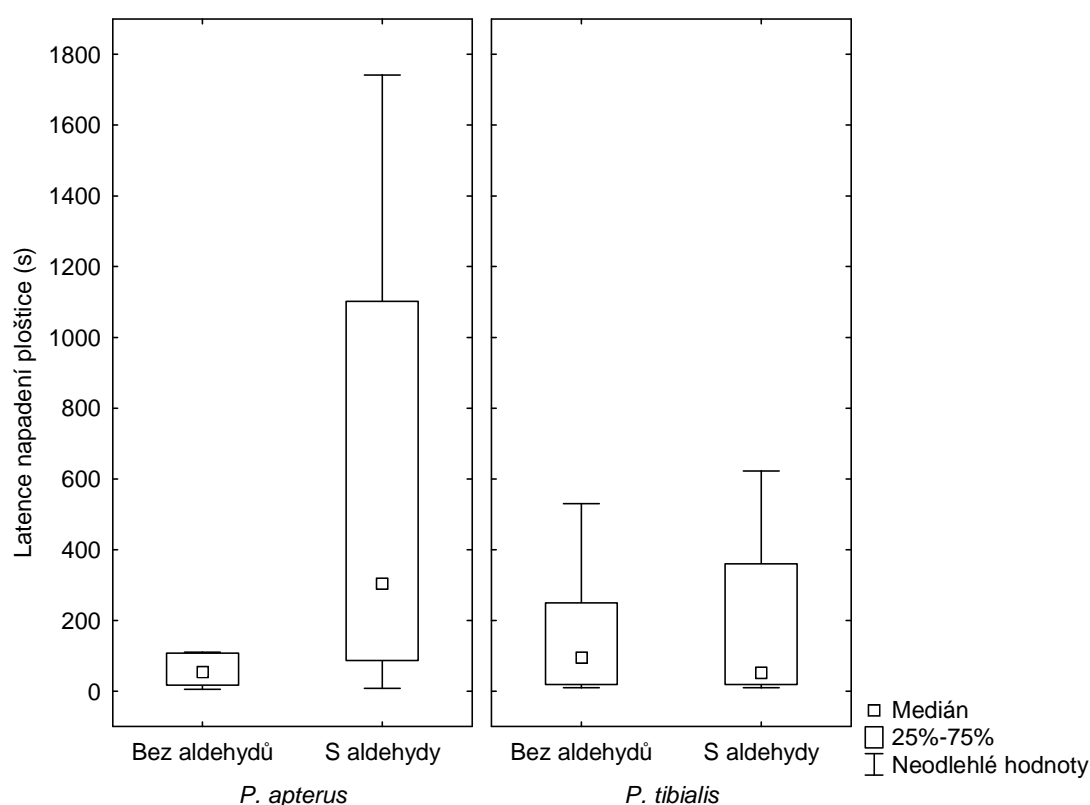
5.1. MLÁĎATA – VLIV DRUHU PLOŠTICE A PŘÍTOMNOSTI ALDEHYDŮ

U mláďat jsme testovali vliv druhu plošnice (*Pyrrhocoris apterus*, *Pyrrhocoris tibialis*) a přítomnosti aldehydů na latenci prvního přiblížení k plošnici, latenci napadení první plošnice, počty napadených, zabitých a konzumovaných plošnic během učení a pravděpodobnost zabití napadených plošnic.

5.1.1. INICIÁLNÍ REAKCE

Na latenci prvního přiblížení k plošnici měla vliv pouze latence napadení první předložené (kontrolní) larvy potemníka moučného (ANCOVA: $F(1,78) = 4,449$; $p = 0,038$). Druh kořisti ($F(1,78) = 1,961$; $p = 0,165$), přítomnost aldehydů ($F(1,78) = 0,148$; $p = 0,702$) ani interakce obou těchto faktorů ($F(1,78) = 0,008$; $p = 0,929$) na latenci prvního přiblížení k plošnici vliv neměla.

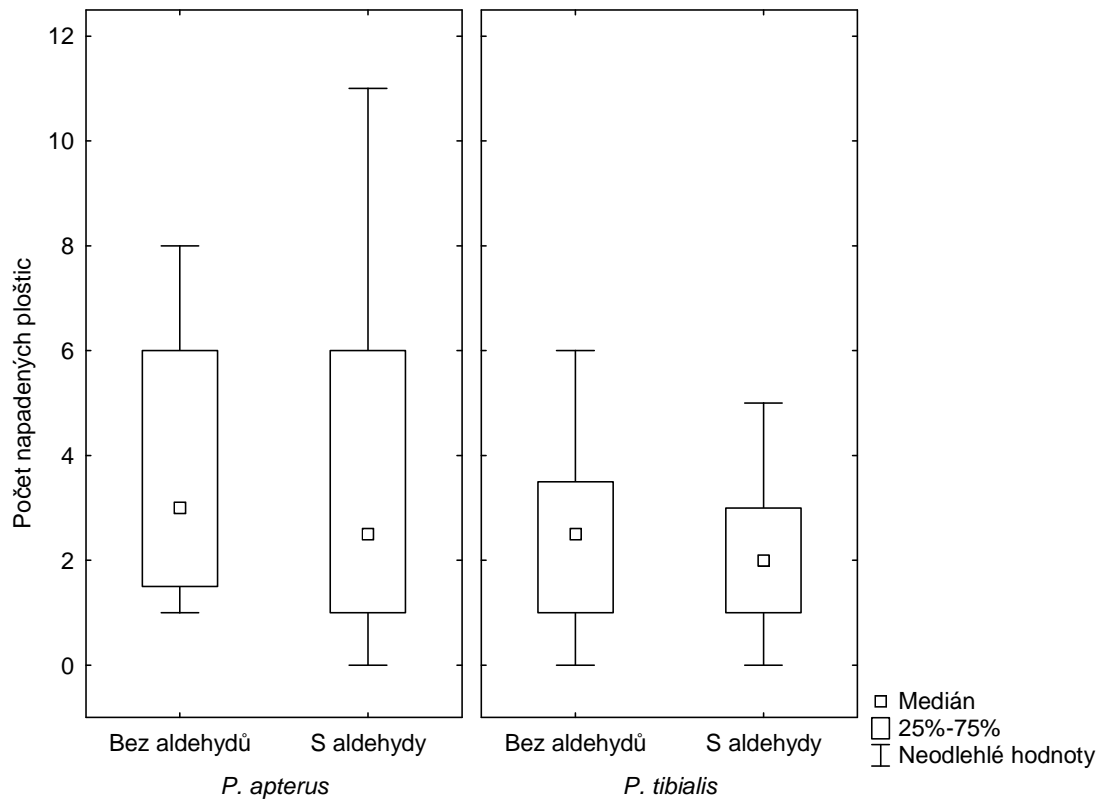
Latence prvního napadení plošnice už latencí napadení první kontrolní larvy ovlivněná nebyla (ANCOVA: $F(1,78) = 0,925$; $p = 0,339$), byl však prokázán vliv interakce druhu kořisti a přítomnosti aldehydů. V přítomnosti aldehydů se latence prvního napadení plošnice prodlužuje, ale pouze u plošnice *P. apterus* ($F(1,78) = 5,127$; $p = 0,031$). Samostatný vliv druhu kořisti ($F(1,78) = 0,304$; $p = 0,583$) nebo přítomnosti aldehydů ($F(1,78) = 2,525$; $p = 0,116$) na latenci napadení plošnice prokázán nebyl (Obr. 4).



Obr. 4: Latence prvního napadení plošnice v závislosti na přítomnosti aldehydů a druhu plošnice během učení.

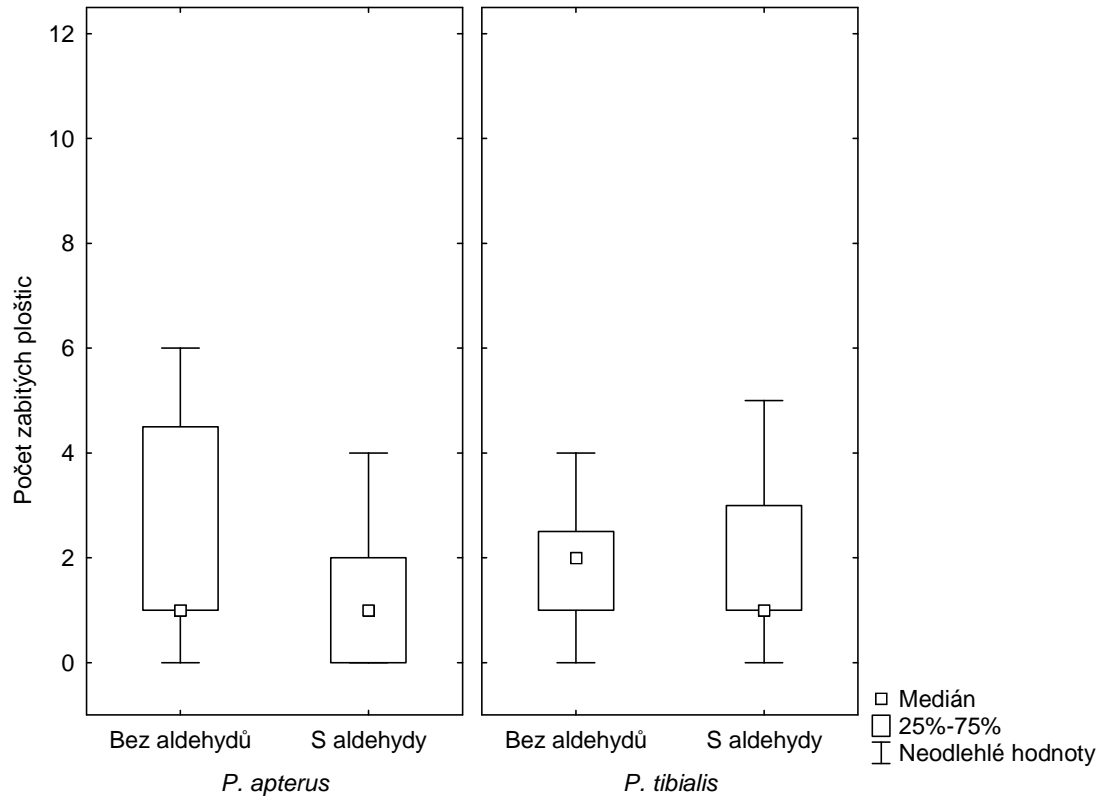
5.1.2. UČENÍ

Byl prokázán rozdíl mezi skupinami testovanými s různými druhy kořisti v počtu ploštic napadených během učení. Sýkory napadaly více ploštice *P. apterus* než *P. tibialis* (glm ANOVA: Wald (1,79) = 19,217; $p < 0,001$). Přítomnost aldehydů (Wald (1,79) = 1,253; $p = 0,263$) ani interakce obou faktorů (Wald (1,79) = 1,398; $p = 0,237$) průkazný vliv na počet napadených ploštic během učení neměla (Obr. 5).



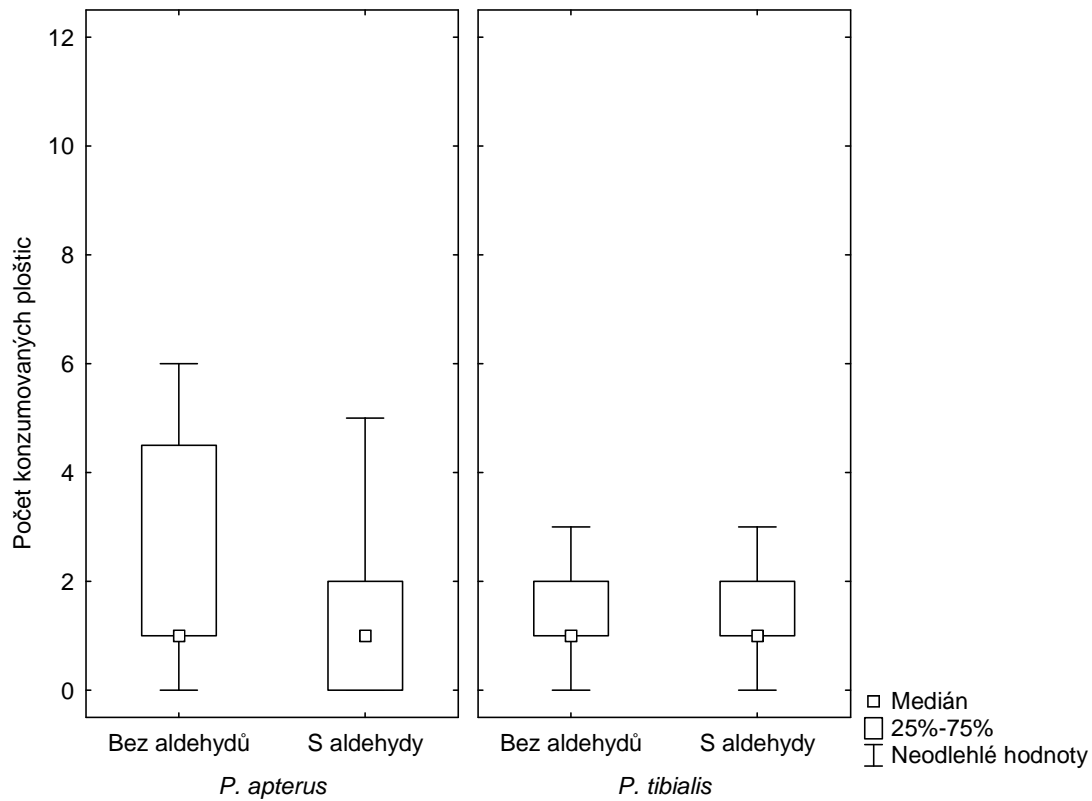
Obr. 5: Počet napadených ploštic v závislosti na přítomnosti aldehydů a druhu ploštice během učení.

Na počet zabívaných ploštic během učení už neměl druh kořisti vliv (glm ANOVA: Wald (1,79) = 2,072; p = 0,150) a nebyl prokázán ani vliv přítomnosti aldehydů (Wald (1,79) = 0,194; p = 0,660), ani vzájemné interakce obou faktorů (Wald (1,79) = 0,049; p = 0,824) (Obr. 6).



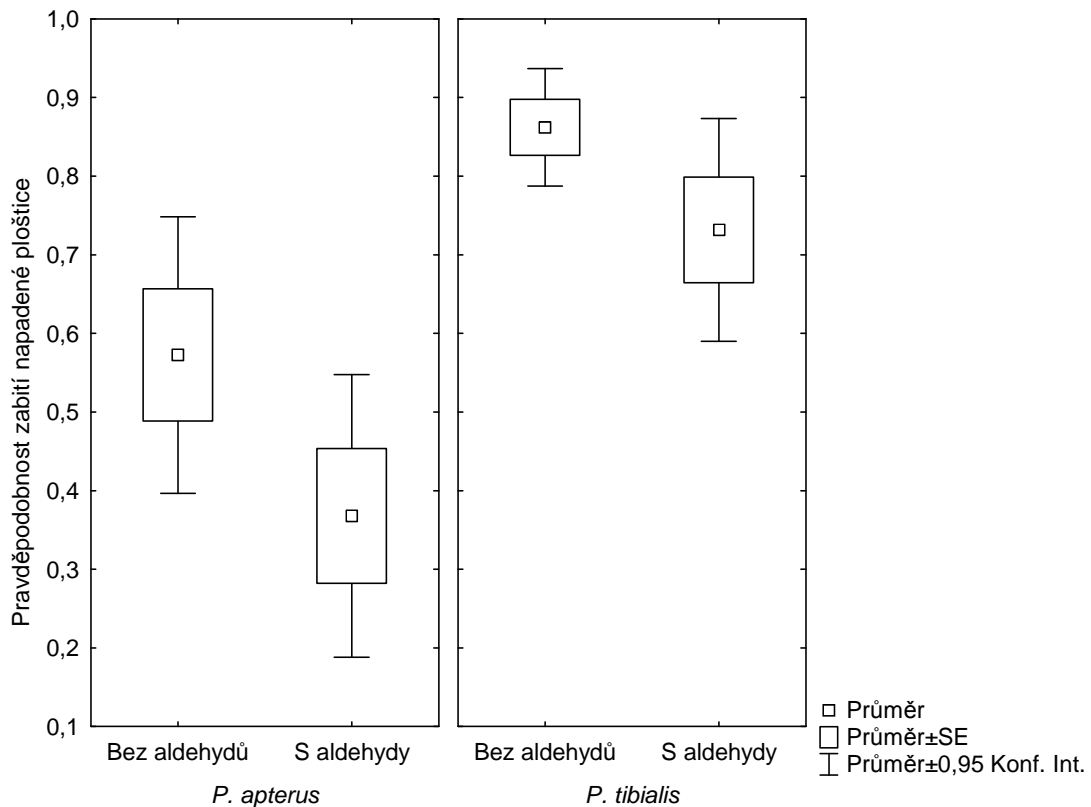
Obr. 6: Počet zabívaných ploštic v závislosti na přítomnosti aldehydů a druhu ploštic během učení.

U počtu konzumovaných ploštic nebyl během učení nalezen rozdíl mezi skupinami testovanými s různými druhy kořisti (glm ANOVA: Wald (1,79) = 0,882; p = 0,348), ani mezi skupinami lišícími se přítomností aldehydů (Wald (1,79) = 1,223 p = 0,269). Vzájemná interakce obou faktorů měla na počet konzumovaných ploštic marginální vliv. U skupiny testované bez přítomnosti aldehydů s plošticí *P. apterus* je počet mírně vyšší (Wald (1,79) = 3,056; p = 0,080) (Obr. 7).



Obr. 7: Počet konzumovaných ploštic v závislosti na přítomnosti aldehydů a druhu ploštic během učení.

Pravděpodobnost zabití napadené plošnice se liší v závislosti na druhu plošnice, přičemž u *P. tibialis* je pravděpodobnost vyšší (jednocestná ANOVA: $F(1,72) = 20,817$; $p < 0,001$). Zároveň záleží i na přítomnosti aldehydů, kdy je pravděpodobnost zabití plošnice u obou skupin testovaných s aldehydy prokazatelně nižší ($F(1,72) = 0,268$; $p = 0,022$). Nebyl prokázán vliv vzájemné interakce obou faktorů ($F(1,72) = 0,268$; $p = 0,606$) (Obr. 8).



Obr. 8: Pravděpodobnost zabití napadené plošnice v závislosti na přítomnosti aldehydů a druhu plošnice během učení.

5.1.3. SROVNÁNÍ FREKVENCE ZVRACENÍ MLÁĎAT V ZÁVISLOSTI NA DRUHU PLOŠTICE

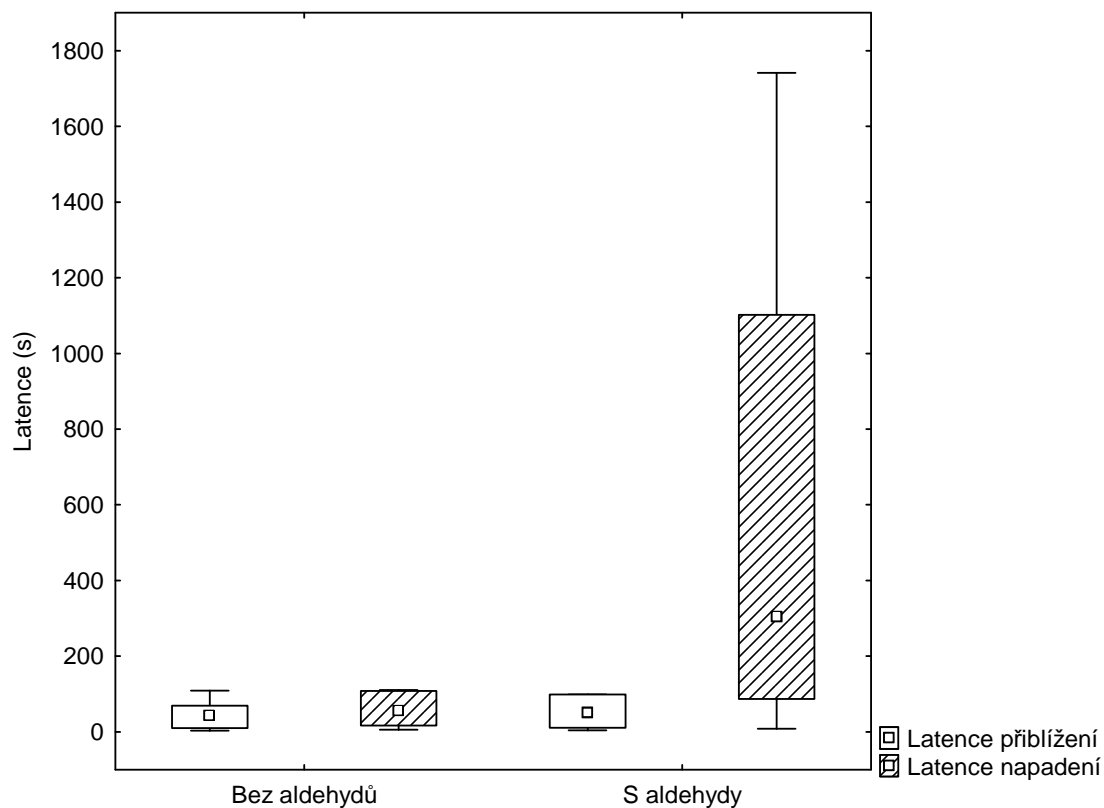
Celkem 16 mláďat sýkory koňadry konzumovalo plošnice *P. apterus*, z toho pouze 3 mláďata následně zvracela. Plošnici *P. tibialis* konzumovalo celkem 19 mláďat, z toho 13 následně zvracelo (Chi-kvadrát test: $\chi^2 = 6,75$; $p < 0,05$). Do výpočtu byla zahrnuta pouze mláďata testovaná bez přítomnosti aldehydů.

5.2. MLÁĎATA TESTOVANÁ S *PYRRHOCORIS APTERUS*

Vliv přítomnosti aldehydů na iniciační reakci, průběh učení a paměť jsme testovali samostatně u mláďat sýkor koňader, kterým byla jako kořist předkládána aposematická ploštice *Pyrrhocoris apterus*.

5.2.1. INICIÁLNÍ REAKCE

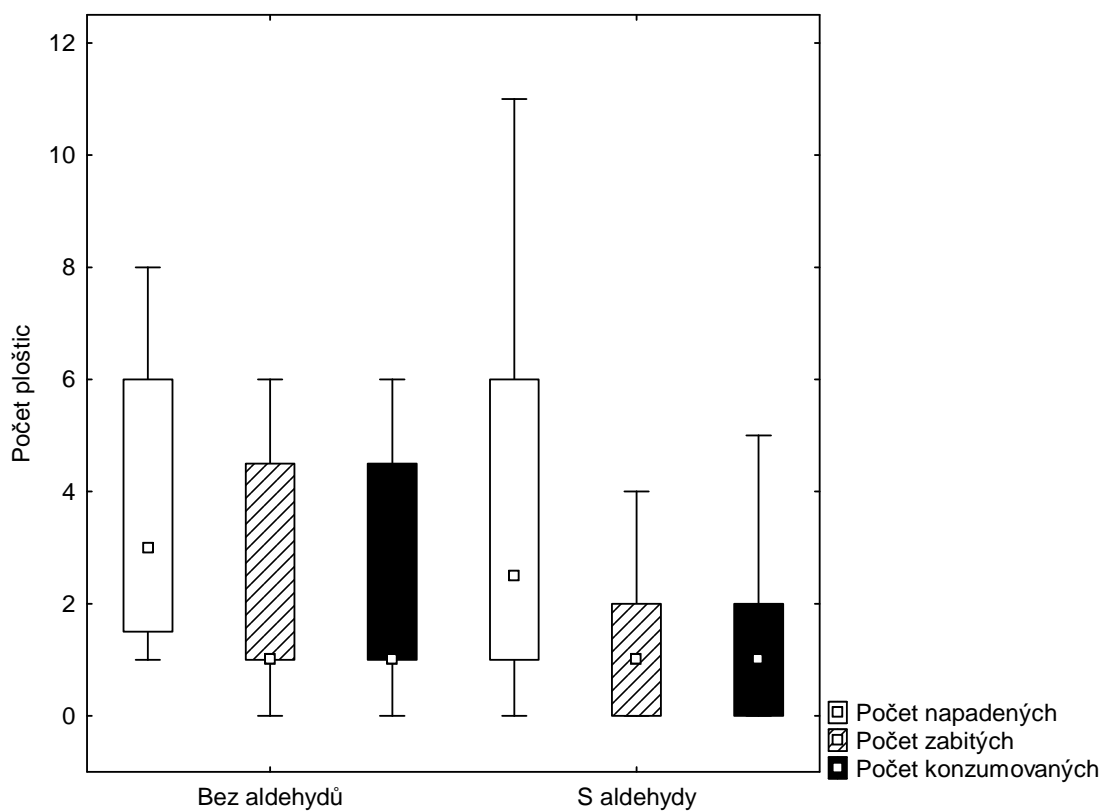
Na latenci přiblížení k první ploštici neměla vliv latence napadení první předložené (kontrolní) larvy potemníka moučného (ANCOVA: $F(1,39) = 1,655$; $p = 0,206$), přítomnost aldehydů vliv na délku latence také neměla ($F(1,39) = 0,005$; $p = 0,942$). Stejně tak neměla latence napadení první kontrolní larvy vliv na latenci prvního napadení ploštice sýkorou (ANCOVA: $F(1,39) = 0,020$; $p = 0,887$). Byl však zjištěn signifikantní rozdíl mezi testovanými skupinami v závislosti na přítomnosti aldehydů ($F(1,39) = 6,699$; $p = 0,013$), přičemž byla latence napadení ploštice v přítomnosti aldehydů výrazně delší (Obr. 9).



Obr. 9: Latence prvního přiblížení a napadení ploštice *P. apterus* u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy během učení. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

5.2.2. UČENÍ

Skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy se marginálně liší v počtu napadených ploštic během učení, v přítomnosti aldehydů napadaly sýkory ploštic méně (glm ANOVA: Wald (1,40) = 3,642; p = 0,056). V počtu zabitých ploštic se obě testované skupiny vzájemně neliší (Wald (1,40) = 0,027; p = 0,869), ale byl nalezen signifikantní rozdíl mezi skupinami v počtu konzumovaných ploštic, kdy jich sýkory v přítomnosti aldehydů konzumovaly méně (Wald (1,40) = 4,446; p = 0,035) (Obr. 10).



Obr. 10: Počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic *P. apterus* u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy během učení. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Pravděpodobnost, že budou napadené ploštice během učení i zabity, je na přítomnosti aldehydů pouze marginálně závislá (jednocestná ANOVA: $F(1,37) = 2,906$; $p = 0,097$) (Obr. 11). Ve skupině testované bez aldehydů napadly alespoň jednu ploštici všechny sýkory, ve skupině testované s aldehydy to bylo z celkového počtu 22 mláďat 19.

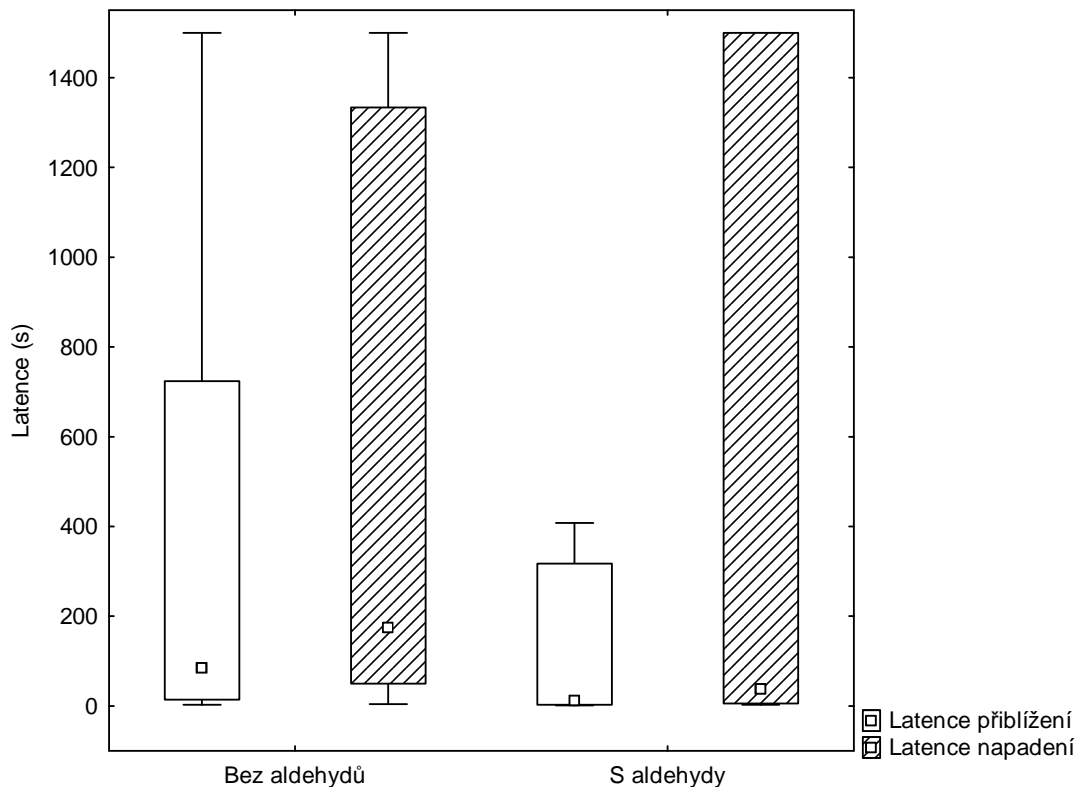


Obr. 11: Pravděpodobnost zabití napadené ploštice *P. apterus* u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy během učení.

5.2.3. PAMĚŤ – MEZISKUPINOVÉ SROVNÁNÍ

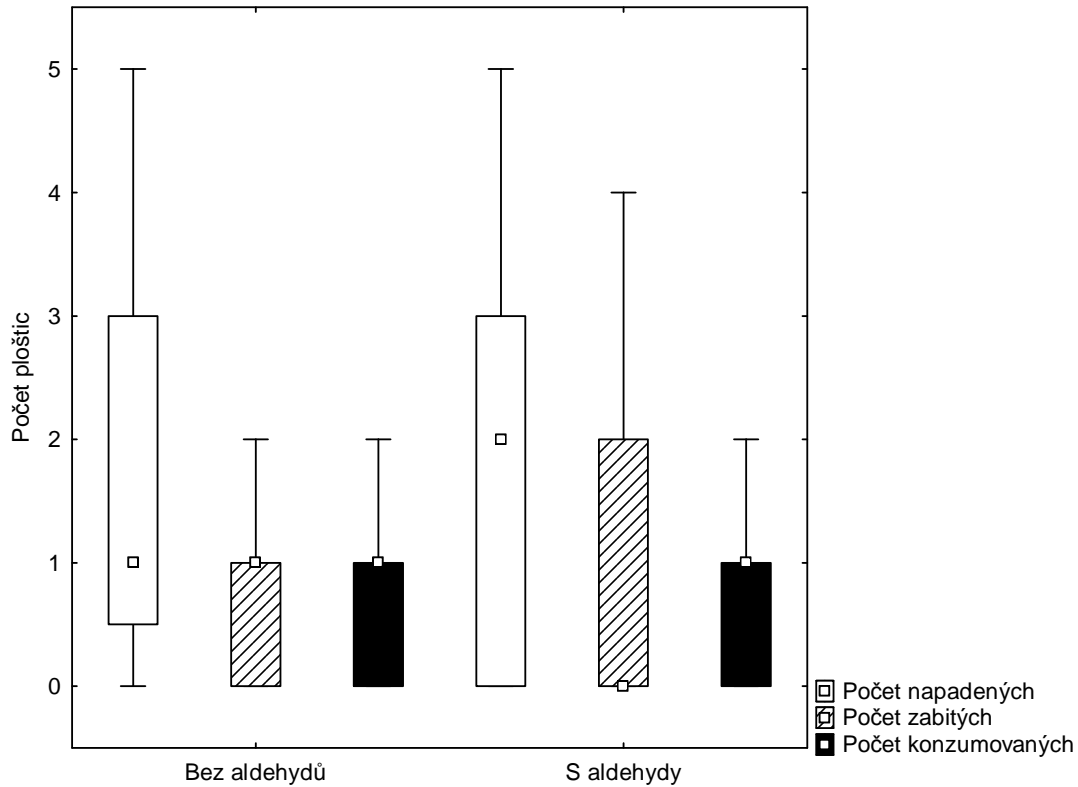
Paměť byla testována pouze u sýkor, které během učení napadly alespoň jednu plošnici. Ve skupině testované bez aldehydů bylo takových jedinců všech 20, ve skupině testované s aldehydy 19 z celkového počtu 22 sýkor.

Latence prvního přiblížení k plošnici a latence napadení plošnice se v paměťovém testu v závislosti na přítomnosti aldehydů neliší (jednocestná ANOVA, přiblížení: $F(1,37) = 2,519$; $p = 0,121$; napadení: $F(1,37) = 1,329$; $p = 0,256$) (Obr. 12).



Obr. 12: Latence prvního přiblížení a napadení plošnice *P. apterus* v paměťovém testu v závislosti na přítomnosti aldehydů. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Přítomnost aldehydů nemá v paměťovém testu vliv ani na počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic (glm ANOVA; počet napadených: Wald (1,37) = 0,329; p = 0,566; počet zabitých: Wald (1,37) = 0,009; p = 0,925; počet konzumovaných: Wald (1,37) < 0,001; p = 0,994) (Obr. 13).

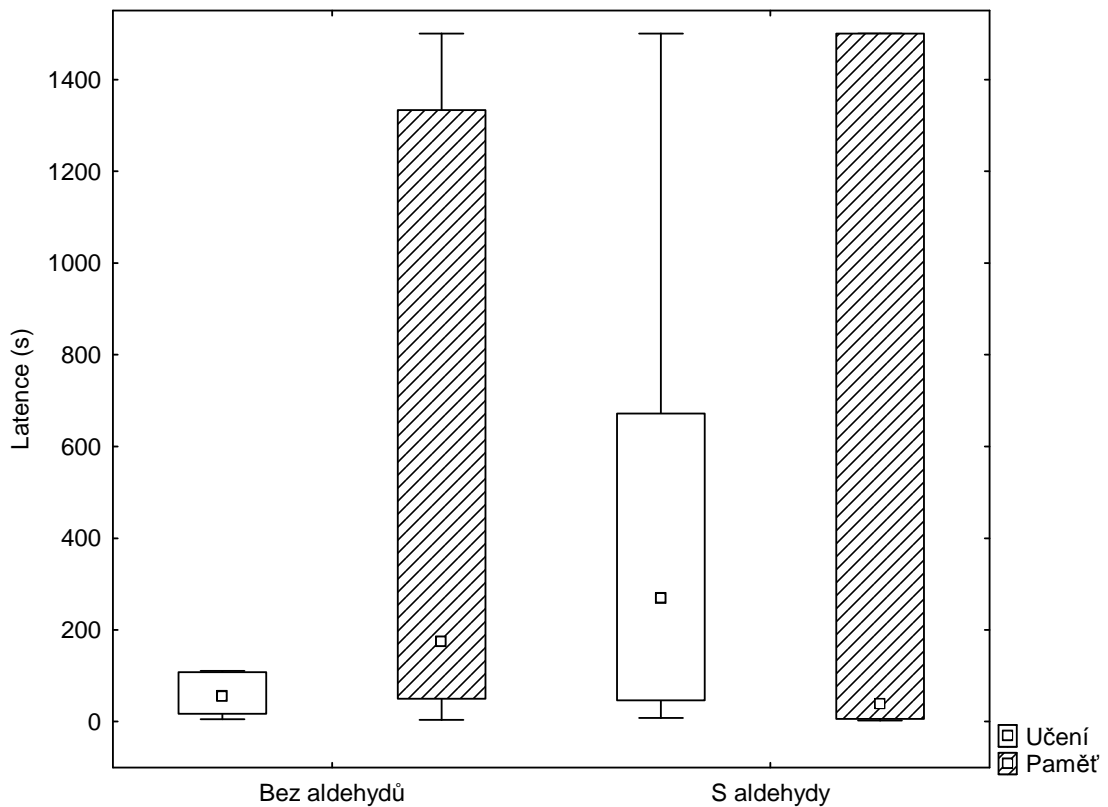


Obr. 13: Počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic *P. apterus* v paměťovém testu u skupin testovaných bez aldehydů a s aldehydy. □ medián
 ■ 25%-75% T rozpětí neudělných hodnot

5.2.4. PAMĚŤ – VNITROSKUPINOVÉ SROVNÁNÍ

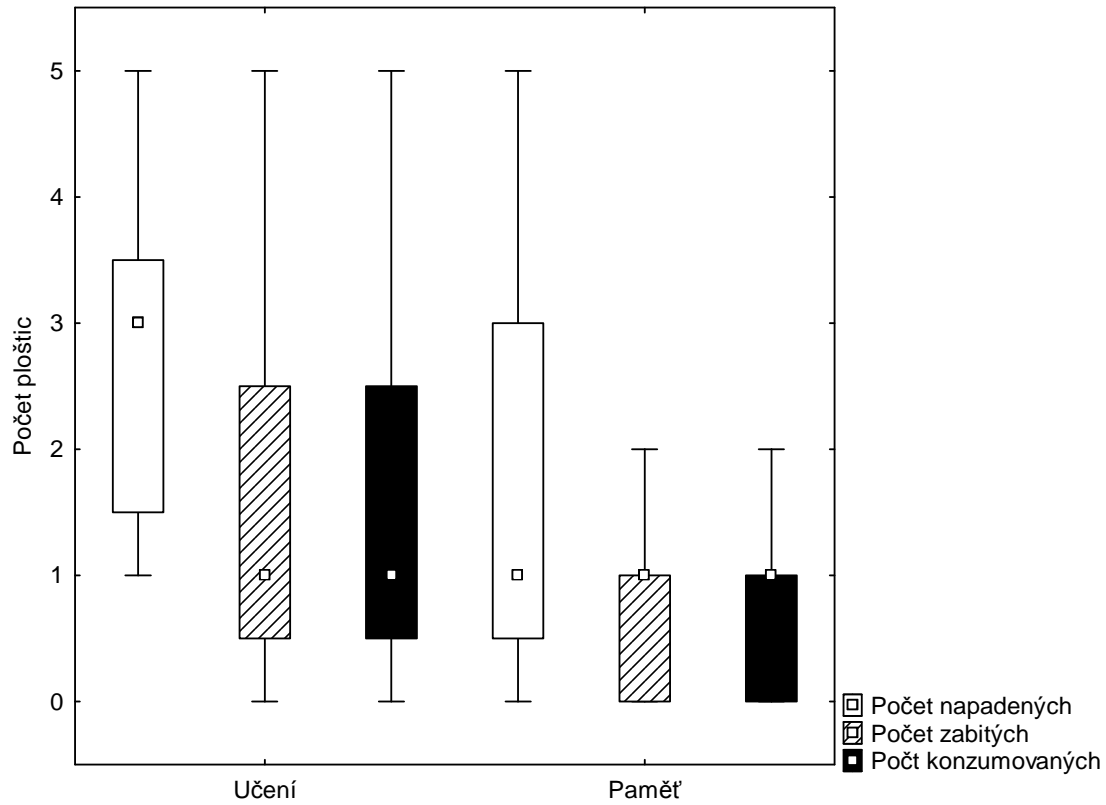
Dále jsme zvlášť u skupiny testované bez aldehydů a u skupiny testované s aldehydy porovnávali latenci prvního napadení plošnice a počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic v prvních pěti kolech učení a v paměťovém testu.

U skupiny testované bez aldehydů se ve srovnání s učením latence prvního napadení plošnice v paměťovém testu marginálně prodlužuje (Wilcoxonův párový test: $N = 20$; $Z = 1,94$; $p = 0,052$). U skupiny testované s aldehydy se latence průkazně nezměnila ($N = 19$; $Z = 0,071$; $p = 0,943$) (Obr. 14).



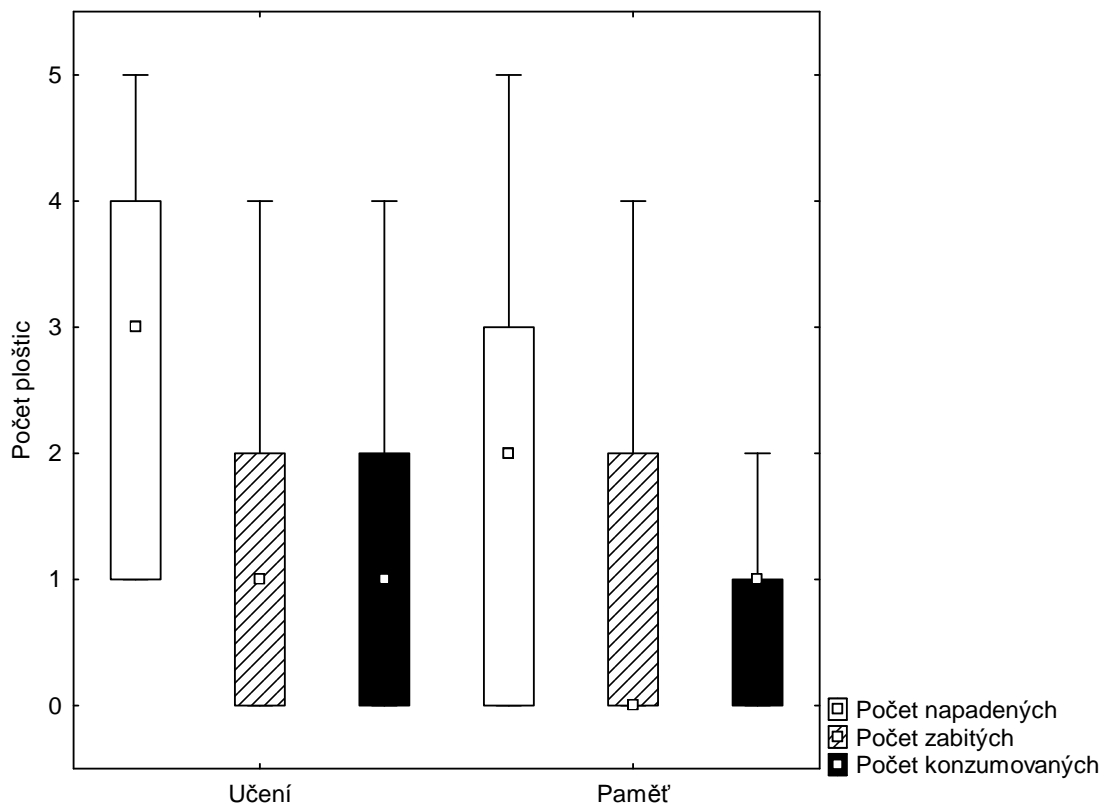
Obr. 14: Latence prvního napadení plošnice *P. apterus* během učení a v paměťovém testu u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic v prvních pěti kolech učení je u skupiny testované bez aldehydů vždy vyšší než v paměťovém testu (Wilcoxonův párový test; $N = 20$, počet napadených: $Z = 2,627$; $p = 0,009$; počet zabitých: $Z = 2,027$; $p = 0,043$; počet konzumovaných: $Z = 2,166$; $p = 0,030$) (Obr. 15).



Obr. 15: Porovnání počtu napadených, zabitých a konzumovaných ploštic *P. apterus* u skupiny testované bez aldehydů během učení a v paměťovém testu. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

U skupiny testované s aldehydy klesl ve srovnání s prvními pěti koly učení pouze počet napadených ploštic a to pouze marginálně (Wilcoxonův párový test: $N = 19$; $Z = 1,946$; $p = 0,052$). Počet zabitých a počet konzumovaných ploštic se během učení a paměťového testu za přítomnosti aldehydů nezměnil (počet zabitých: $Z = 0,267$; $p = 0,789$; počet konzumovaných: $Z = 0,357$; $p = 0,721$) (Obr. 16).



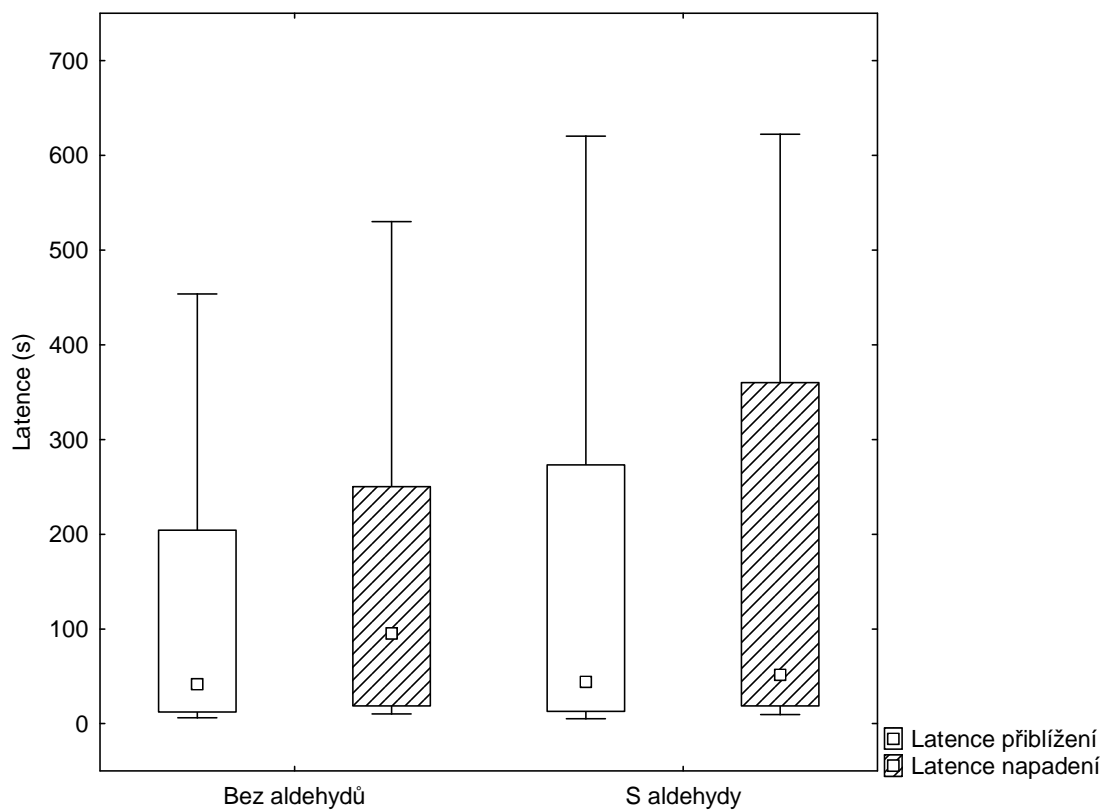
Obr. 16: Porovnání počtu napadených, zabitých a konzumovaných ploštic *P. apterus* u skupiny testované s aldehydy během učení a v paměťovém testu. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehklých hodnot

5.3. MLÁĎATA TESTOVANÁ S *PYRRHOCORIS TIBIALIS*

Vliv přítomnosti aldehydů na iniciální reakci, průběh učení a paměť jsme testovali samostatně u mláďat sýkor koňader, kterým byla jako kořist předkládána neaposematická ploštice *Pyrrhocoris tibialis*.

5.3.1. INICIÁLNÍ REAKCE

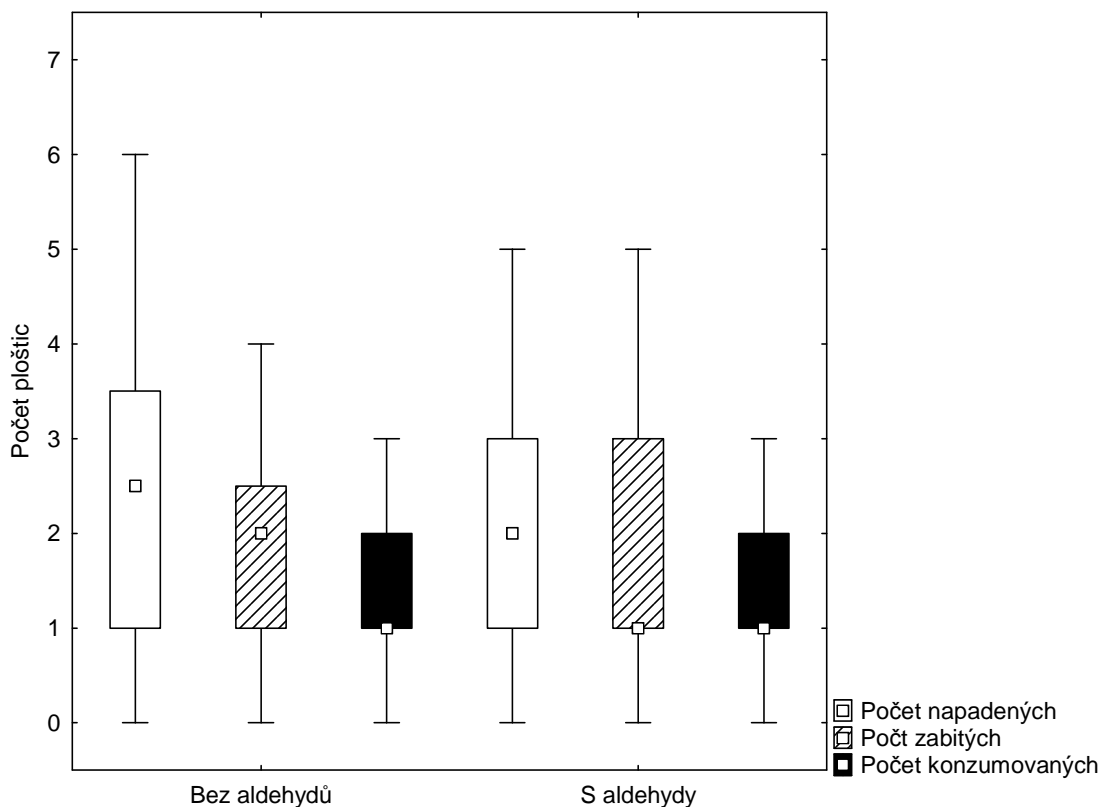
Na latenci přiblížení k první plošnici neměla vliv latence napadení první předložené (kontrolní) larvy potměníka moučného (ANCOVA: $F(1,38) = 2,822$; $p = 0,101$), přítomnost aldehydů vliv na délku latence také neměla ($F(1,38) = 0,197$; $p = 0,660$). Stejně tak neměla latence napadení první kontrolní larvy vliv na latenci prvního napadení plošnice sýkorou (ANCOVA: $F(1,38) = 1,476$; $p = 0,232$), ta také nebyla ovlivněna ani přítomností aldehydů ($F(1,38) = 0,062$; $p = 0,804$) (Obr. 17). Zde se výsledky podstatně odlišují od předchozí experimentální skupiny mláďat testovaných s *Pyrrhocoris apterus*.



Obr. 17: Latence prvního přiblížení a napadení plošnice *P. tibialis* u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy během učení. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

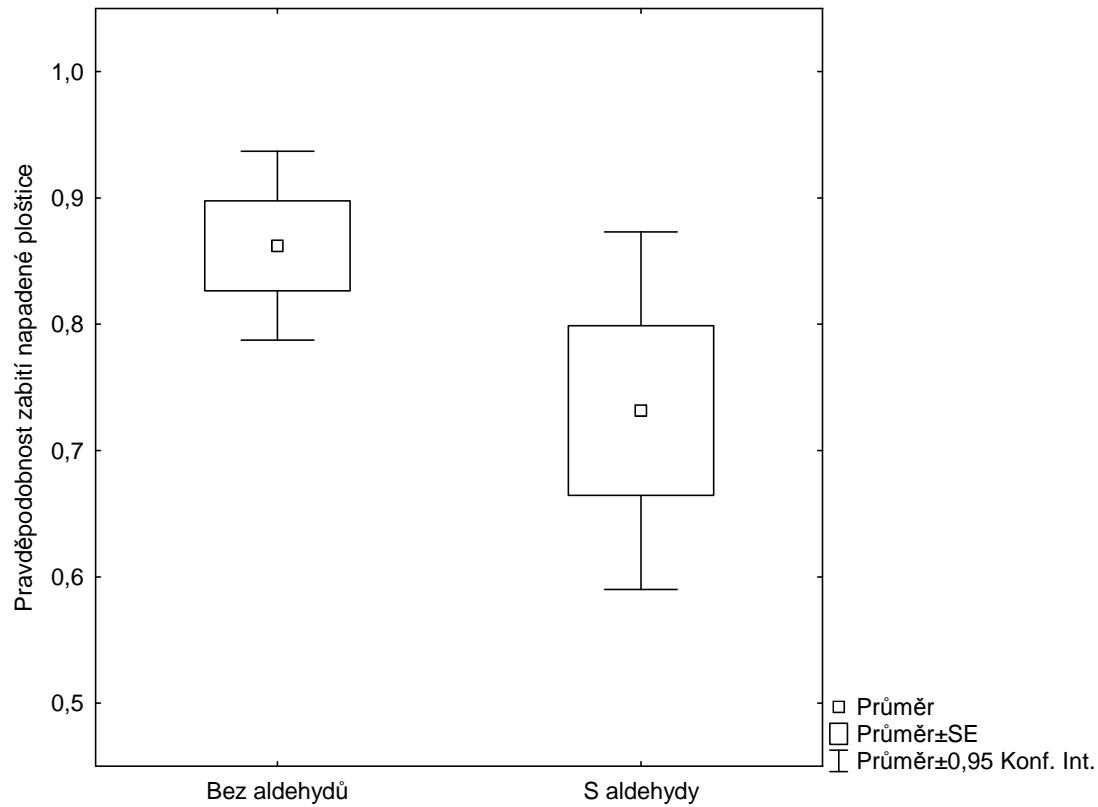
5.3.2. UČENÍ

Mezi skupinami testovanými s aldehydy a bez aldehydů nebyl nalezen rozdíl v počtu napadených, zabitých a konzumovaných ploštic (glm ANOVA: počet napadených: Wald (1,39) = 0,002; p = 0,969; počet zabitých: Wald (1,39) = 0,195; p = 0,658; počet konzumovaných: Wald (1,39) = 0,190; p = 0,662) (Obr. 18).



Obr. 18: Počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic *P. tibialis* u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy během učení. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

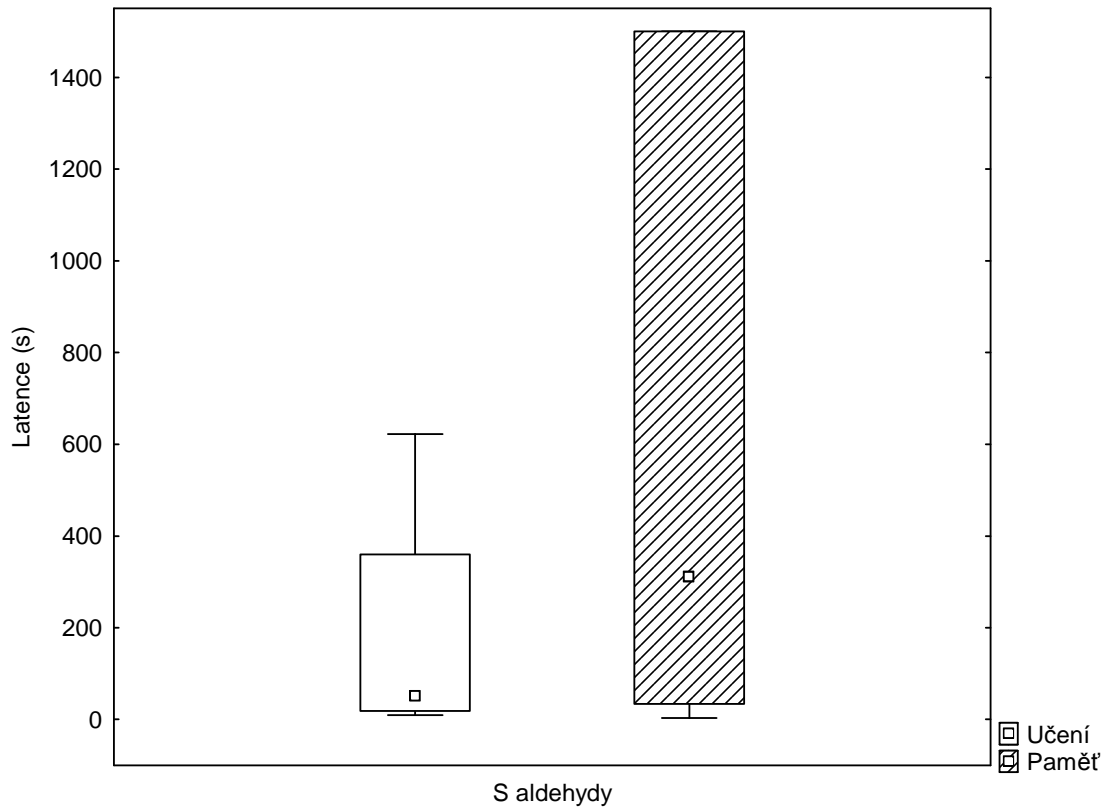
Pravděpodobnost, že budou napadené ploštice během učení i zabity, není na přítomnosti aldehydů závislá (jednocestná ANOVA: $F(1,34) = 1,241$; $p = 0,273$) (Obr. 19). Z celkového počtu 20 sýkor ve skupině testované bez aldehydů napadlo ploštici 19 sýkor, ve skupině testované s aldehydy to bylo z celkového počtu 21 sýkor 18.



Obr. 19: Pravděpodobnost zabít napadené ploštice *P. tibialis* u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy během učení.

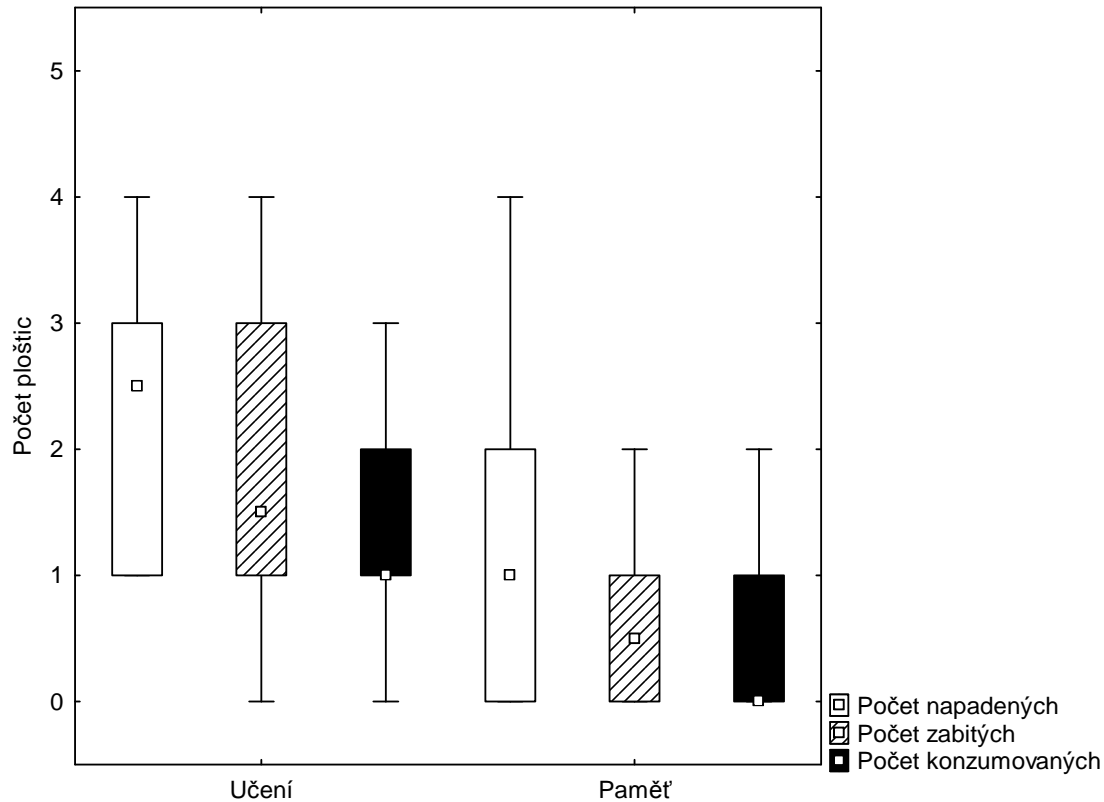
5.3.3. PAMĚŤ – VNITROSKUPINOVÉ SROVNÁNÍ

U skupiny testované s aldehydy se ve srovnání s učením latence prvního napadení plošnice v paměťovém testu výrazně prodlužuje (Wilcoxonův párový test: $N = 21$; $Z = 2,112$; $p = 0,035$) (Obr. 20).



Obr. 20: Latence prvního napadení plošnice *P. tibialis* u skupiny testované s aldehydy během učení a v paměťovém testu. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Počet napadených, zabitých a konzumovaných ploščic je v prvních pěti kolech učení u skupiny testované s aldehydy vždy vyšší než v paměťovém testu (Wilcoxonův párový test; $N = 21$; počet napadených: $Z = 2,691$; $p = 0,007$; počet zabitých: $Z = 3,180$; $p = 0,001$; počet konzumovaných: $Z = 3,296$; $p < 0,001$) (Obr. 21).



Obr. 21: Počet napadených, zabitých a konzumovaných ploščic *P. tibialis* u skupiny testované aldehydy během učení a v paměťovém testu. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

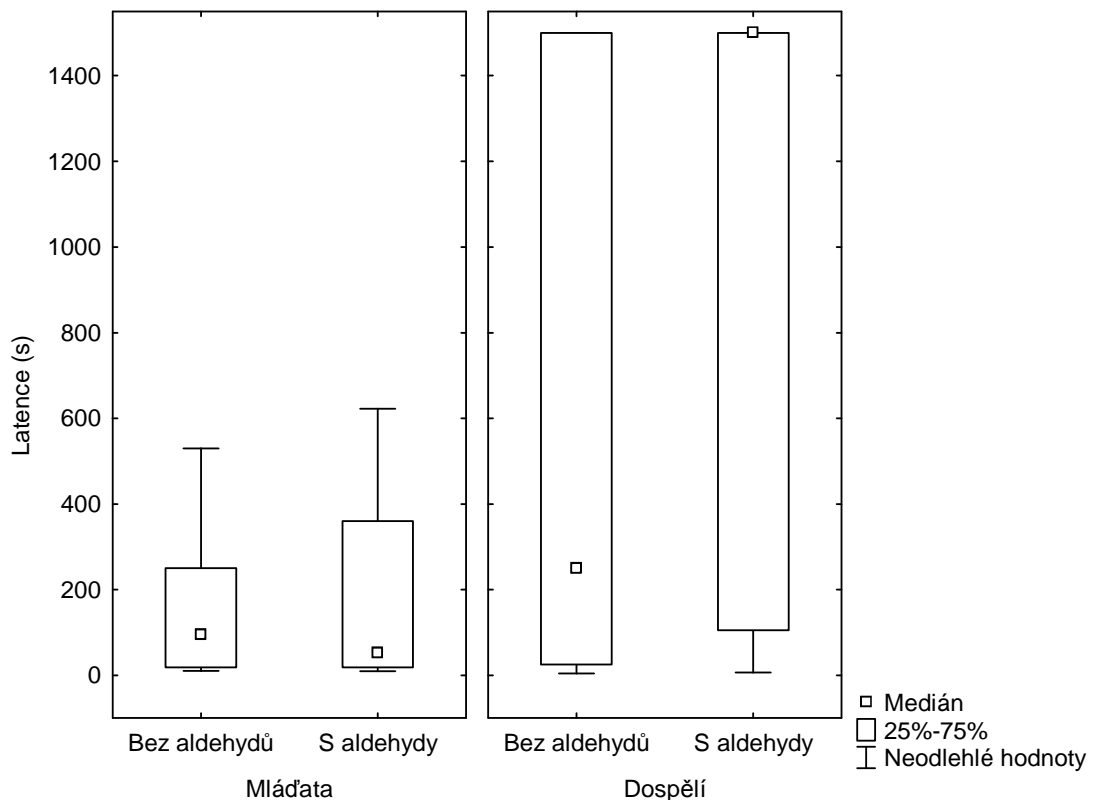
5.4. SROVNÁNÍ MLÁĎAT A DOSPĚLÝCH PTÁKŮ TESTOVANÝCH S *PYRRHOCORIS TIBIALIS*

Zde jsme testovali vliv přítomnosti aldehydů a věku sýkor na latenci prvního přiblížení k ploščici *P. tibialis*, latenci prvního napadení ploščice, počty napadených, zabitých a konzumovaných ploščic a pravděpodobnost zabití napadených ploščic během učení.

5.4.1. INICIÁLNÍ REAKCE

Na latenci prvního přiblížení k plošnici měla vliv pouze latence napadení první předložené larvy potměníka moučného (ANCOVA: $F(1,86) = 7,661$; $p = 0,007$). Latence přiblížení k plošnici nebyla ovlivněna ani věkem predátorů, ani přítomností aldehydů a ani interakcí těchto dvou faktorů (ANCOVA věk: $F(1,86) = 0,645$; $p = 0,424$; aldehydy: $F(1,86) = 0,084$; $p = 0,773$; interakce: $F(1,86) = 0,963$; $p = 0,329$).

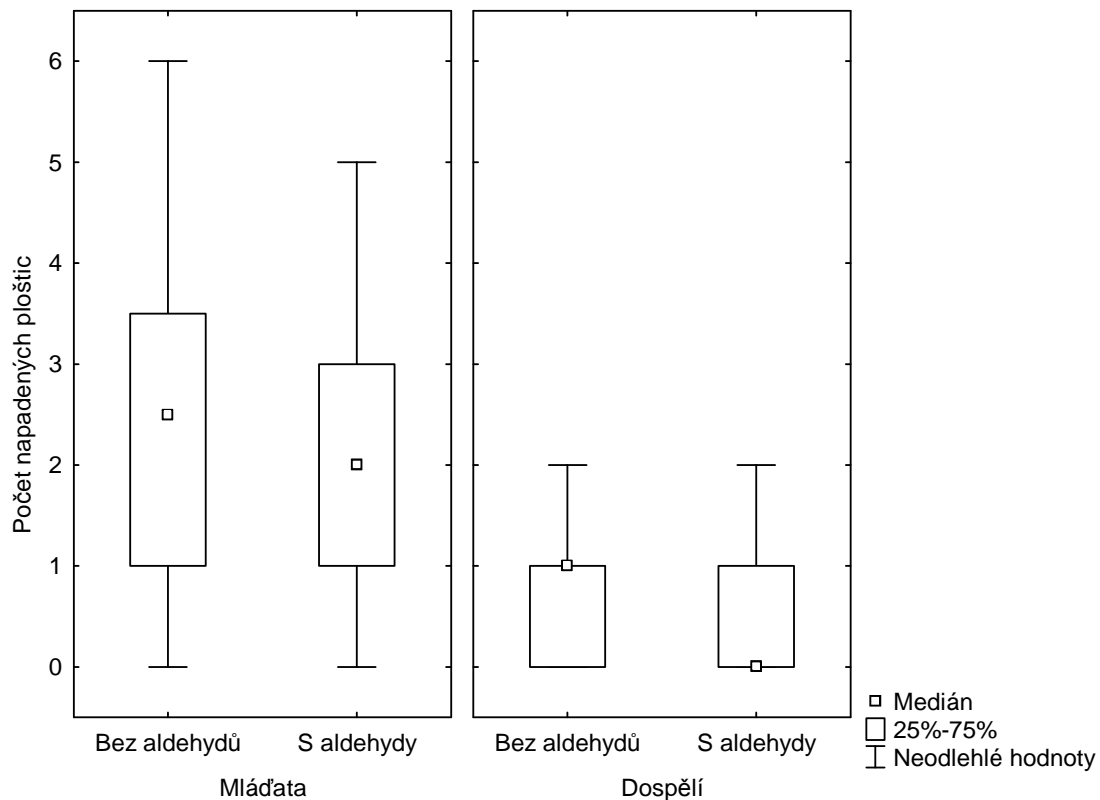
Na latenci prvního napadení plošnice už latence napadení první kontrolní larvy vliv neměla (ANCOVA: $F(1,86) = 2,342$; $p = 0,130$). Latence napadení se však signifikantně liší v závislosti na věku predátora a to tak, že je u mláďat kratší ($F(1,86) = 4,667$; $p = 0,034$). Vliv přítomnosti aldehydů nebo interakce obou faktorů prokázán nebyl (aldehydy: $F(1,86) = 0,475$; $p = 0,492$; interakce: $F(1,86) = 0,884$; $p = 0,350$) (Obr. 22).



Obr. 22: Latence napadení plošnice *P. tibialis* v závislosti na věku predátorů a přítomnosti aldehydů.

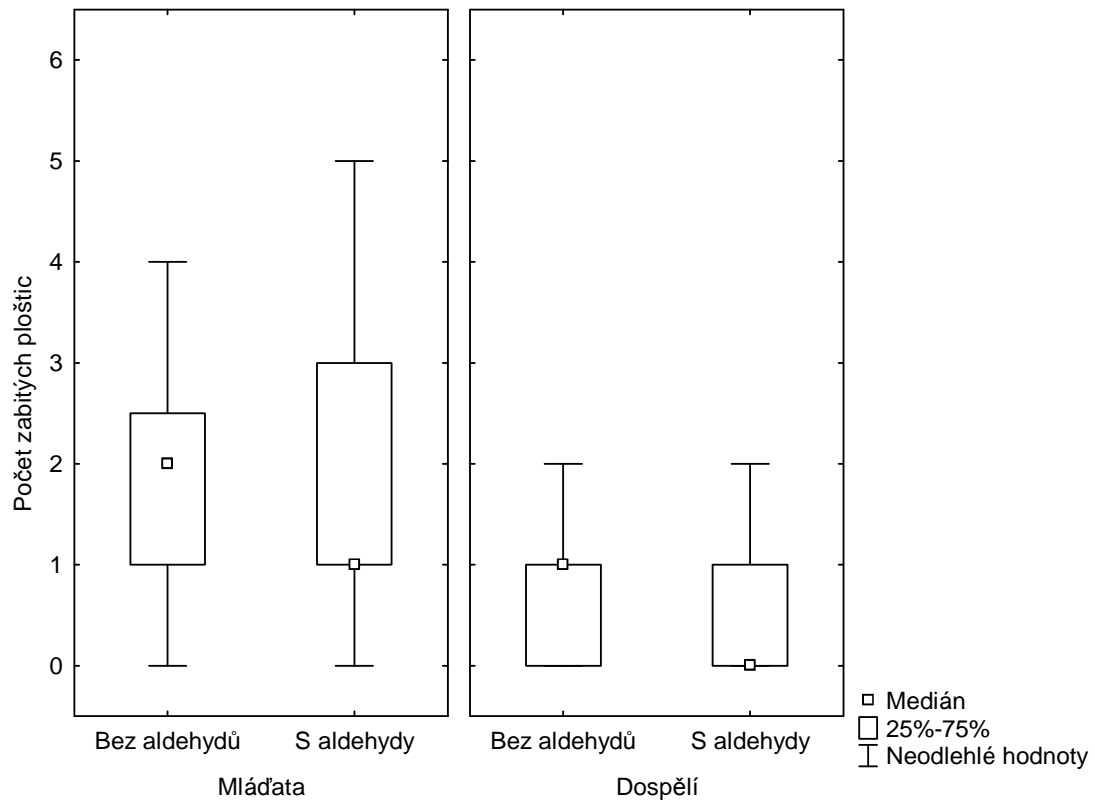
5.4.2. UČENÍ

V počtu napadených ploštic během učení se testované skupiny liší v závislosti na věku, kdy mláďata napadala celkově více ploštic, než dospělí (glm ANOVA: Wald (1,87) = 22,141; $p < 0,001$). Přítomnost aldehydů ani interakce obou faktorů nehraje v počtu napadených ploštic během učení roli (aldehydy: Wald (1,87) = 0,461; $p = 0,497$; interakce: Wald (1,87) = 0,400; $p = 0,527$) (Obr. 23).



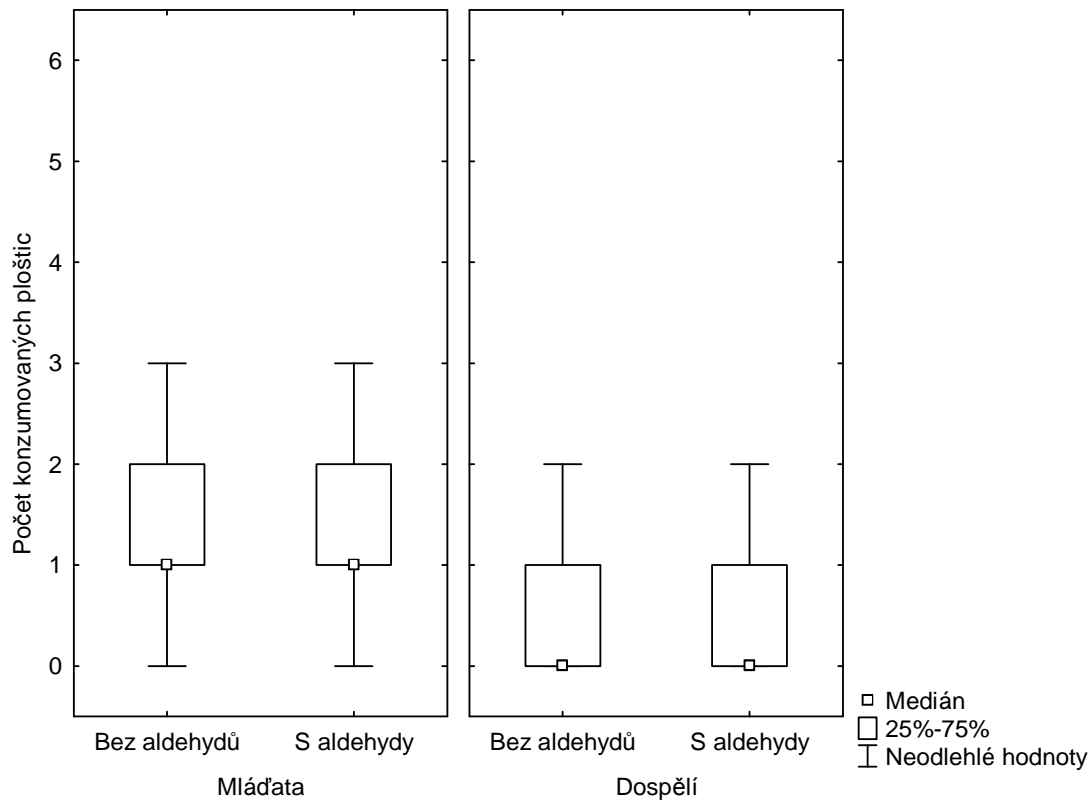
Obr. 23: Počet napadených ploštic v závislosti na věku predátora a přítomnosti aldehydů během učení.

Stejný trend jako u počtu napadených ploštic byl potvrzen i u počtu zabitých ploštic. Mláďata zabíjela víc ploštic než dospělí (glm ANOVA: Wald (1,87) = 12,812; $p < 0,001$). Přítomnost aldehydů ani interakce obou faktorů opět neměla na počet zabitých ploštic vliv (aldehydy: Wald (1,87) = 0,528; $p = 0,468$; interakce: Wald (1,87) = 0,032; $p = 0,860$) (Obr. 24).



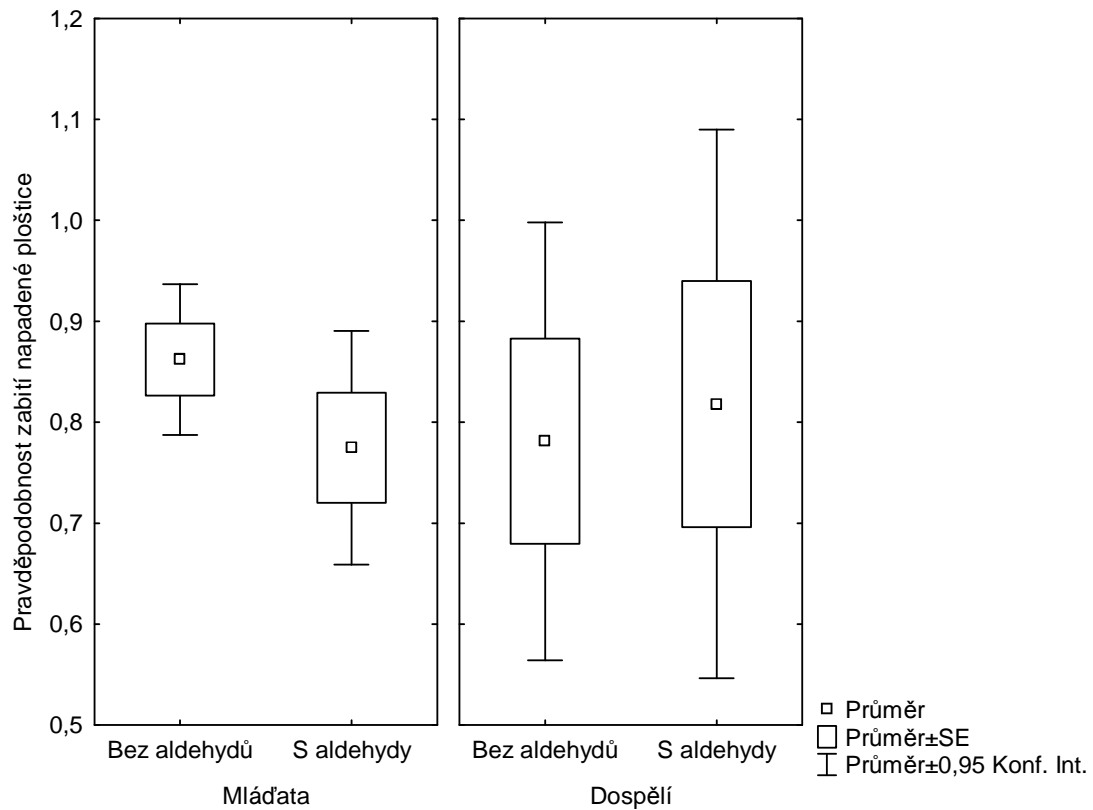
Obr. 24: Počet zabitých ploštic v závislosti na věku predátora a přítomnosti aldehydů během učení.

Stejně tak se projevilo vliv věku u počtu konzumovaných ploštic, kdy mláďata konzumovala více než dospělí (glm ANOVA: Wald (1,87) = 6,971; $p < 0,001$). Přítomnost aldehydů ani interakce obou faktorů opět neměla na počet konzumovaných ploštic vliv (aldehydy: Wald (1,87) = 0,027; $p = 0,869$; interakce: Wald (1,87) = 0,535; $p = 0,465$) (Obr. 25).



Obr. 25: Počet konzumovaných ploštic v závislosti na věku predátora a přítomnosti aldehydů během učení.

Na pravděpodobnost zabití napadené plošnice nemá vliv žádný ze sledovaných faktorů (jednocestná ANOVA, věk: $F(1,60) = 0,001$; $p = 0,972$; aldehydy: $F(1,60) = 0,338$; $p = 0,563$; interakce: $F(1,60) = 1,083$; $p = 0,302$) (Obr. 26).



Obr. 26: Pravděpodobnost zabití napadené plošnice v závislosti na přítomnosti aldehydů a věku predátora během učení.

5.5. DOSPĚLÍ PTÁCI TESTOVANÍ S *PYRRHOCORIS TIBIALIS*

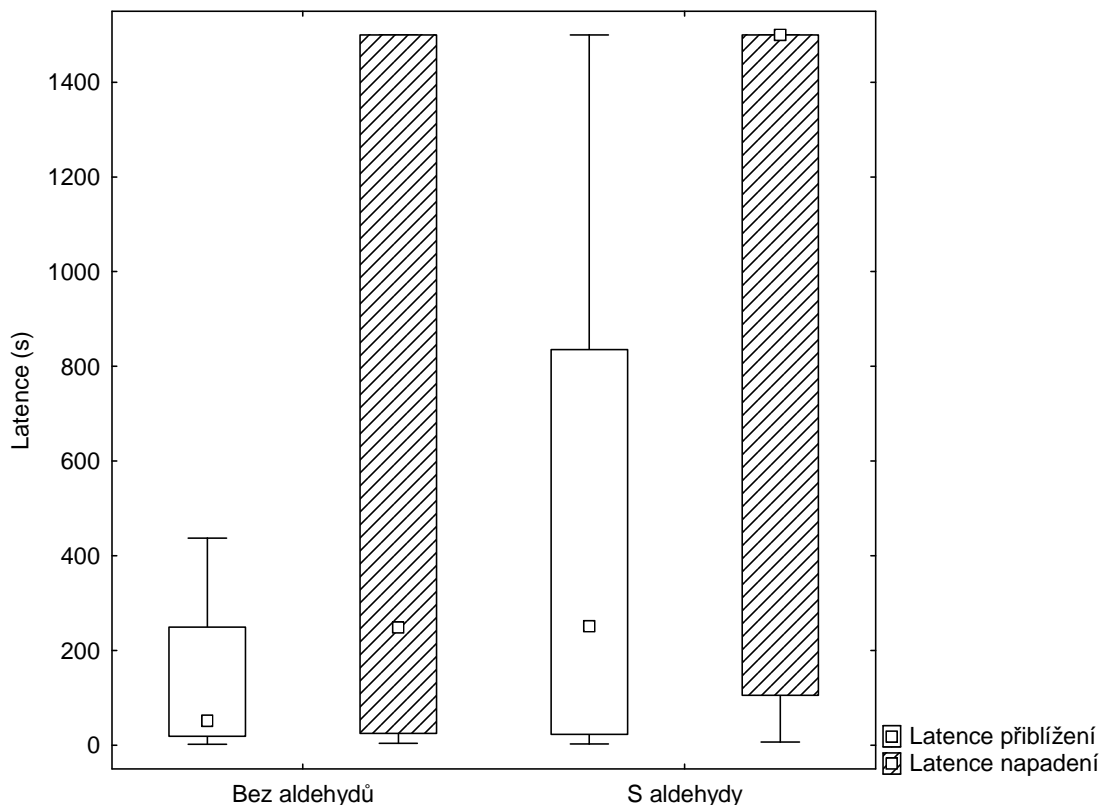
Vliv přítomnosti aldehydů na iniciální reakci, průběh učení a paměť jsme testovali samostatně u dospělých sýkor koňader, kterým byla jako kořist předkládána neaposematická ploštice *Pyrrhocoris tibialis*.

5.5.1. INICIÁLNÍ REAKCE

Na latenci přiblížení k první ploštici měla vliv pouze latence napadení první předložené (kontrolní) larvy potemníka moučného (ANCOVA: $F(1,47) = 4,702$; $p = 0,035$), přítomnost aldehydů vliv na délku latence neměla ($F(1,47) = 0,826$; $p = 0,369$). U skupiny testované bez aldehydů neměly na latenci přiblížení vliv věk (ANCOVA: $F(1,20) = 0,378$; $p = 0,546$) ani pohlaví sýkor ($F(1,20) < 0,001$; $p = 0,980$). U skupiny testované s aldehydy věk ($F(1,20) = 0,164$; $p = 0,690$) vliv neměl, ale byl pozorován marginální vliv pohlaví sýkor ($F(1,20) = 4,252$; $p = 0,052$), přičemž byly latence přiblížení u samců mírně delší. Interakce obou faktorů neměla ani v jednom případě vliv ($p > 0,05$).

Na latenci napadení první ploštice neměla vliv ani latence napadení první kontrolní larvy (ANCOVA: $F(1,47) = 1,022$; $p = 0,317$), ani přítomnost aldehydů ($F(1,47) = 1,393$; $p = 0,244$) (Obr. 27).

U skupiny testované bez aldehydů neměly na latenci napadení ploštice vliv věk (ANCOVA: $F(1,20) = 0,273$; $p = 0,607$) ani pohlaví sýkor ($F(1,20) = 0,573$; $p = 0,458$). U skupiny testované s aldehydy věk ($F(1,20) = 2,800$; $p = 0,110$) vliv neměl, ale byl pozorován marginální vliv pohlaví sýkor ($F(1,20) = 3,184$; $p = 0,089$), přičemž byly latence přiblížení u samců opět mírně delší. Interakce obou faktorů neměla ani v jednom případě vliv ($p > 0,05$).



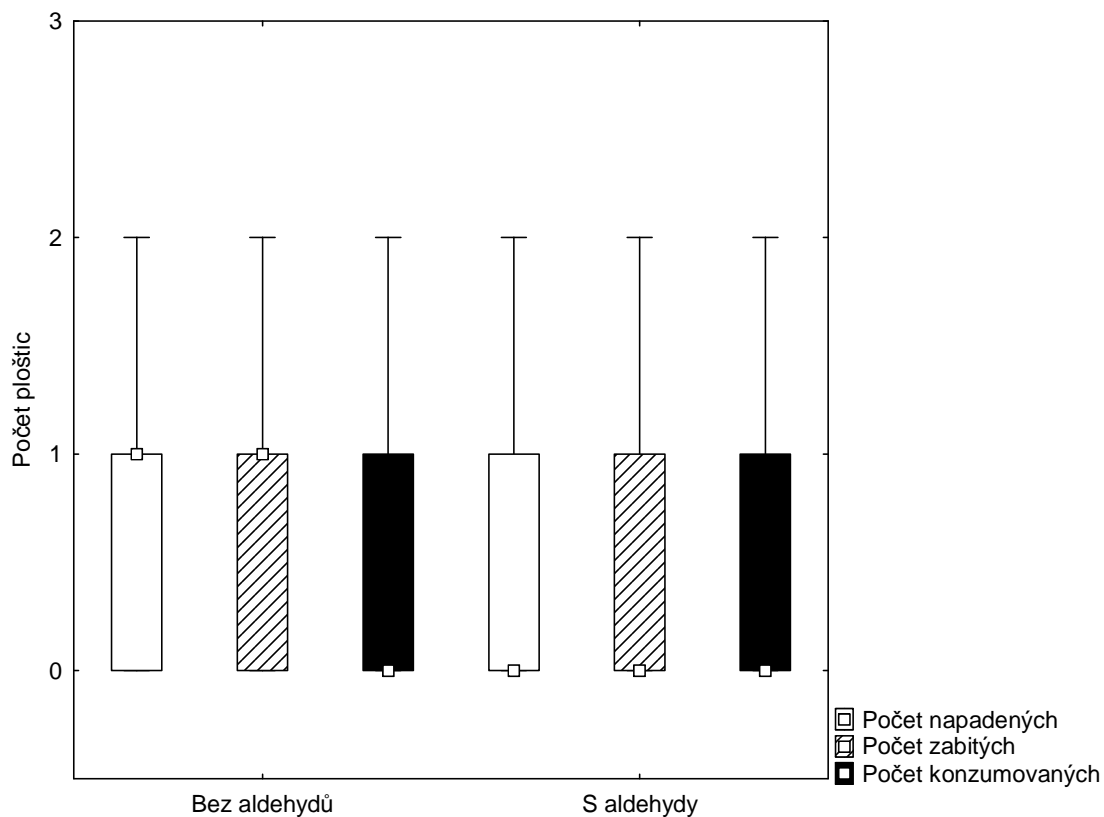
Obr. 27: Latence prvního přiblížení a napadení plošnice *P. tibialis* u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy během učení. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

5.5.2. UČENÍ

Mezi skupinami testovanými s aldehydy a bez aldehydů nebyl nalezen rozdíl v počtu napadených, zabitých a konzumovaných ploštic během učení (glm ANOVA: počet napadených: Wald (1,48) = 0,664; $p = 0,415$; počet zabitých: Wald (1,48) = 0,333; $p = 0,564$; počet konzumovaných: Wald (1,48) = 0,347; $p = 0,556$) (Obr. 28).

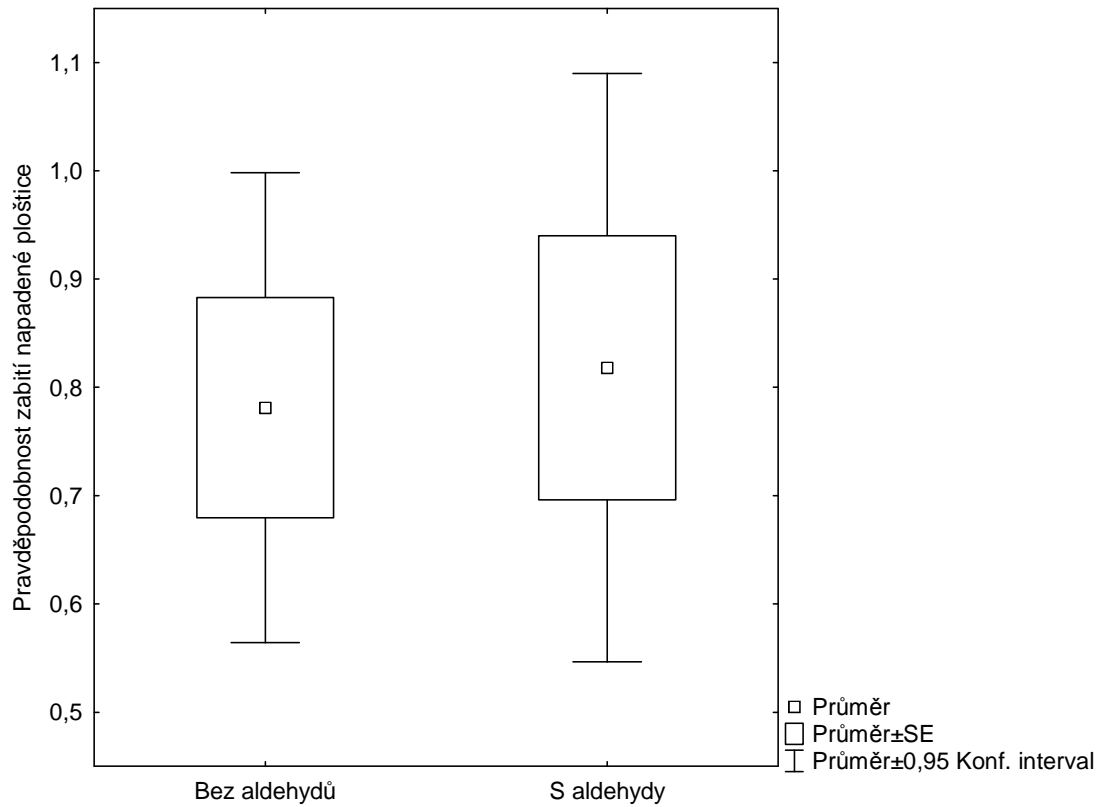
U skupiny testované bez aldehydů nebyl nalezen vliv věku a pohlaví na počet napadených (glm ANOVA: věk: Wald (1,21) = 0,359; $p = 0,548$; pohlaví: Wald (1,21) = 0,671; $p = 0,413$), zabitých (věk: Wald (1,21) = 0,042; $p = 0,838$; pohlaví: Wald (1,21) = 0,972; $p = 0,324$) ani konzumovaných ploštic (věk: Wald (1,21) < 0,001; $p = 1,000$; pohlaví: Wald (1,21) = 0,781; $p = 0,377$). Vliv na počty neměla ani interakce obou faktorů ($p > 0,05$).

Ve skupiny testované s aldehydy víceletí ptáci napadli signifikantně více ploštic než ptáci jednoletí (glm ANOVA: Wald (1,21) = 6,860; p = 0,009), vliv pohlaví zde pozorován nebyl (Wald (1,21) = 1,914; p = 0,166). Víceletí ptáci také zabili více ploštic než ptáci jednoletí (glm ANOVA: Wald (1,21) = 5,375; p = 0,020), vliv pohlaví prokázán nebyl (Wald (1,21) = 1,820; p = 0,178). Stejný trend se projevil i u počtu konzumovaných ploštic, víceletí ptáci konzumovali více (Wald(1,21) = 4,941; p = 0,026) a pohlaví vliv nemělo (Wald(1,21) = 1,207; 0,271). Efekt interakce obou faktorů nebyl u žádného z počtů nalezen (p > 0,05).



Obr. 28: Počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic *P. tibialis* během učení ve skupině testované bez aldehydů a s aldehydy. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Pravděpodobnost, že budou napadené ploštice během učení i zabity, není dle výsledků na přítomnosti aldehydů závislá (jednocestná ANOVA: $F(1,25) = 0,054$; $p = 0,818$) (Obr. 29). Z celkového počtu 25 sýkor ve skupině bez aldehydů napadlo ploštici pouze 16 sýkor, ve skupině s aldehydy to bylo z celkového počtu 25 sýkor pouze 11.

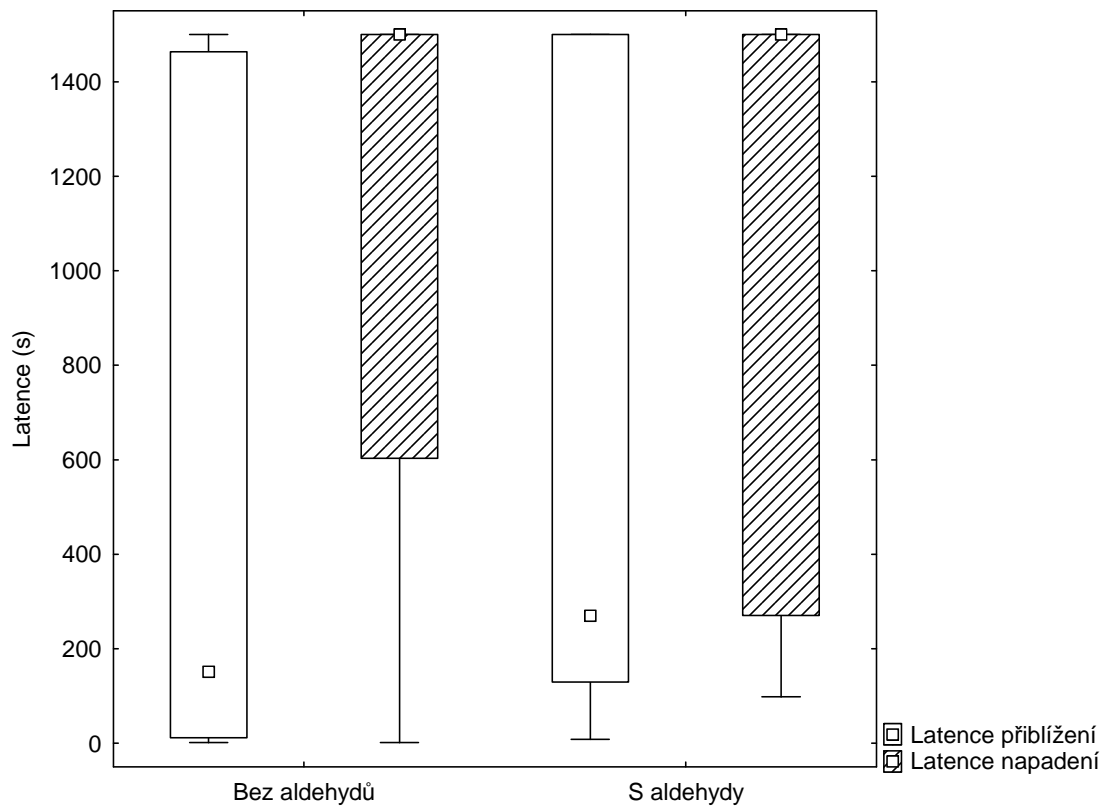


Obr. 29: Pravděpodobnost zabití napadené ploštice *P. tibialis* u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy během učení.

5.5.3. PAMĚŤ – MEZISKUPINOVÉ SROVNÁNÍ

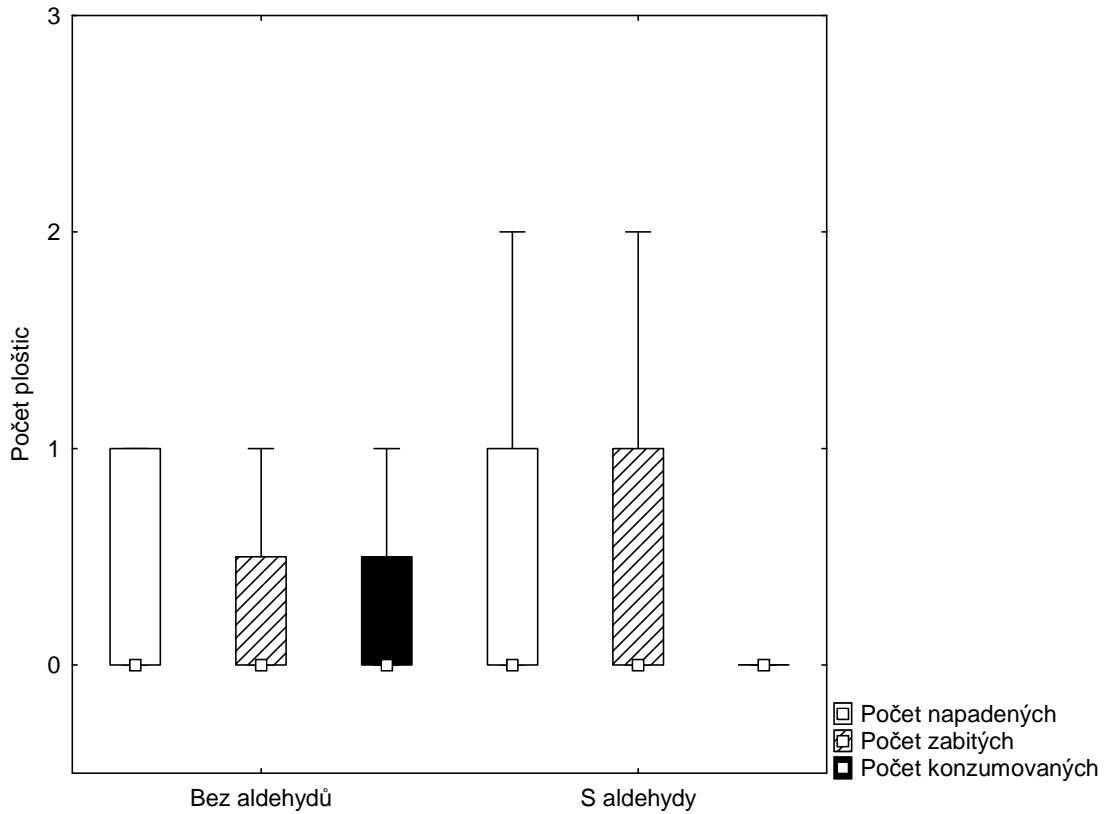
Paměť byla testována pouze u sýkor, které během učení napadly alespoň jednu plošnici. Ve skupině testované bez aldehydů bylo takových jedinců 16, ve skupině testované s aldehydy pouze 11 z celkového počtu 25 sýkor.

Latence prvního přiblížení a napadení k plošnici v paměťovém testu v závislosti na přítomnosti aldehydů neliší (jednocestná ANOVA, přiblížení: $F(1,25) = 2,055$; $p = 0,164$; napadení: $F(1,25) = 0,511$; $p = 0,481$) (Obr. 30).



Obr. 30: Latence prvního přiblížení a napadení plošnice *P. tibialis* v paměťovém testu v závislosti na přítomnosti aldehydů. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Přítomnost aldehydů nemá v paměťovém testu vliv ani na počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic (glm ANOVA: počet napadených: Wald (1,25) = 1,190; p = 0,275; počet zabitých: Wald (1,25) = 0,838; p = 0,360; počet konzumovaných: Wald (1,25) = 1,587; p = 0,208) (Obr. 31).

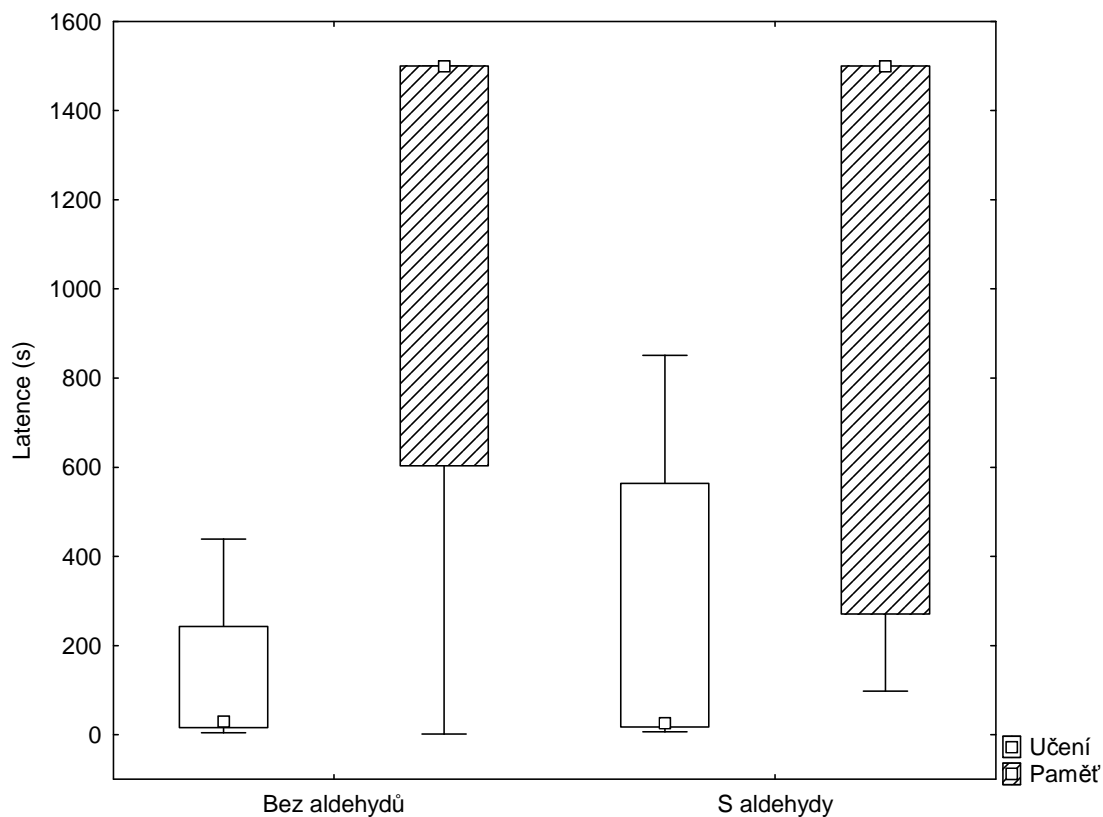


Obr. 31: Počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic *P. tibialis* v paměťovém testu u skupin testovaných bez aldehydů a s aldehydy. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

5.5.4. PAMĚŤ – VNITROSKUPINOVÉ SROVNÁNÍ

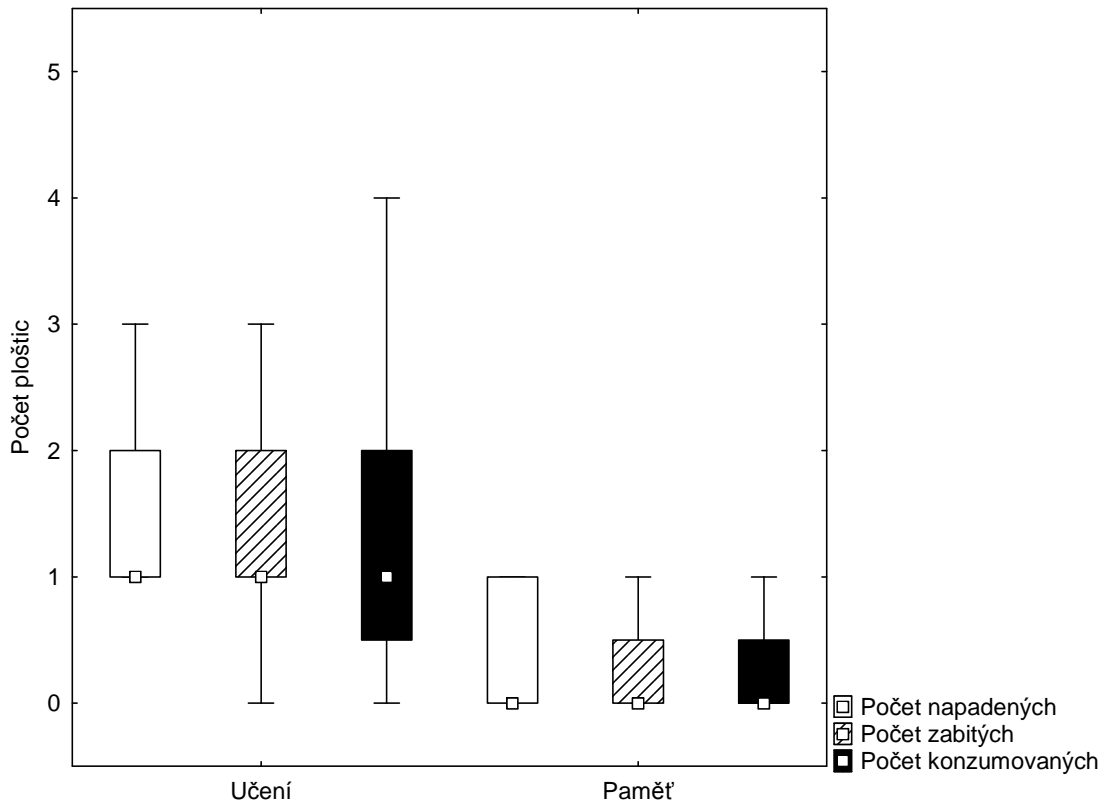
Dále jsme zvlášť u skupiny testované bez aldehydů a u skupiny testované s aldehydy porovnávali latenci prvního napadení plošnice a počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic v prvních pěti kolech učení a v paměťovém testu.

U skupiny testované bez přítomnosti aldehydů se ve srovnání s učením latence prvního napadení plošnice v paměťovém testu výrazně prodlužuje (Wilcoxonův párový test: $Z = 3,206$; $p = 0,001$). Stejně tak se tato latence v paměťovém testu výrazně prodlužuje i u skupiny testované s aldehydy ($Z = 2,401$; $p = 0,016$) (Obr. 32).



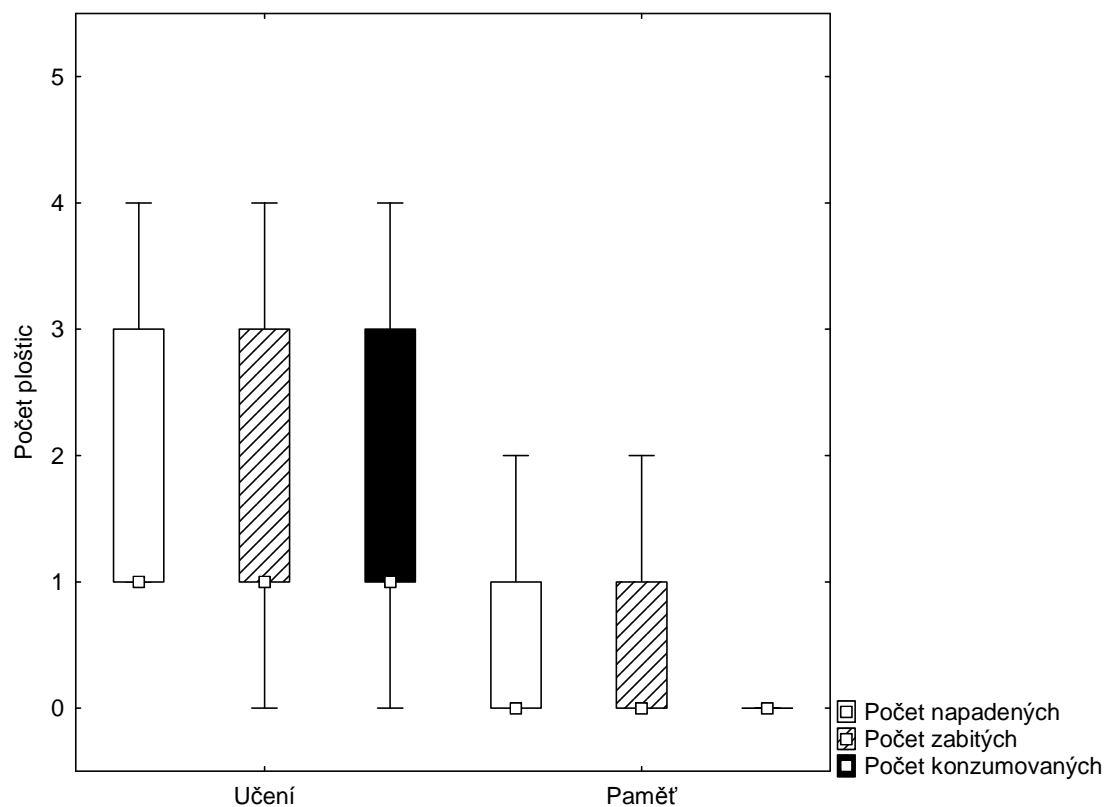
Obr. 32: Latence prvního napadení plošnice *P. tibialis* během učení a v paměťovém testu u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic v prvních pěti kolech učení je u skupiny testované bez aldehydů vždy vyšší než v paměťovém testu (Wilcoxonův párový test, počet napadených: $Z = 3,067$; $p = 0,002$; počet zabitých: $Z = 2,795$; $p = 0,005$; počet konzumovaných: $Z = 2,667$; $p = 0,008$) (Obr. 33).



Obr. 33: Porovnání počtu napadených, zabitých a konzumovaných ploštic *P. tibialis* u skupiny testované bez aldehydů během učení a v paměťovém testu. □ medián
 ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Stejně tak v paměťovém testu klesl počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic u skupiny testované s aldehydy (Wilcoxonův párový test, počet napadených: $Z = 2,803$; $p = 0,005$; počet zabitých: $Z = 2,521$; $p = 0,012$; počet konzumovaných: $Z = 2,521$; $p = 0,012$) (Obr. 34).



Obr. 34: Porovnání počtu napadených, zabitých a konzumovaných ploštic *P. tibialis* u skupiny testované s aldehydy během učení a v paměťovém testu. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

5.6. DOSPĚLÍ PTÁCI TESTOVANÍ S NAČERVENO NABARVENÝMI LARVAMI POTEMNÍKA MOUČNÉHO

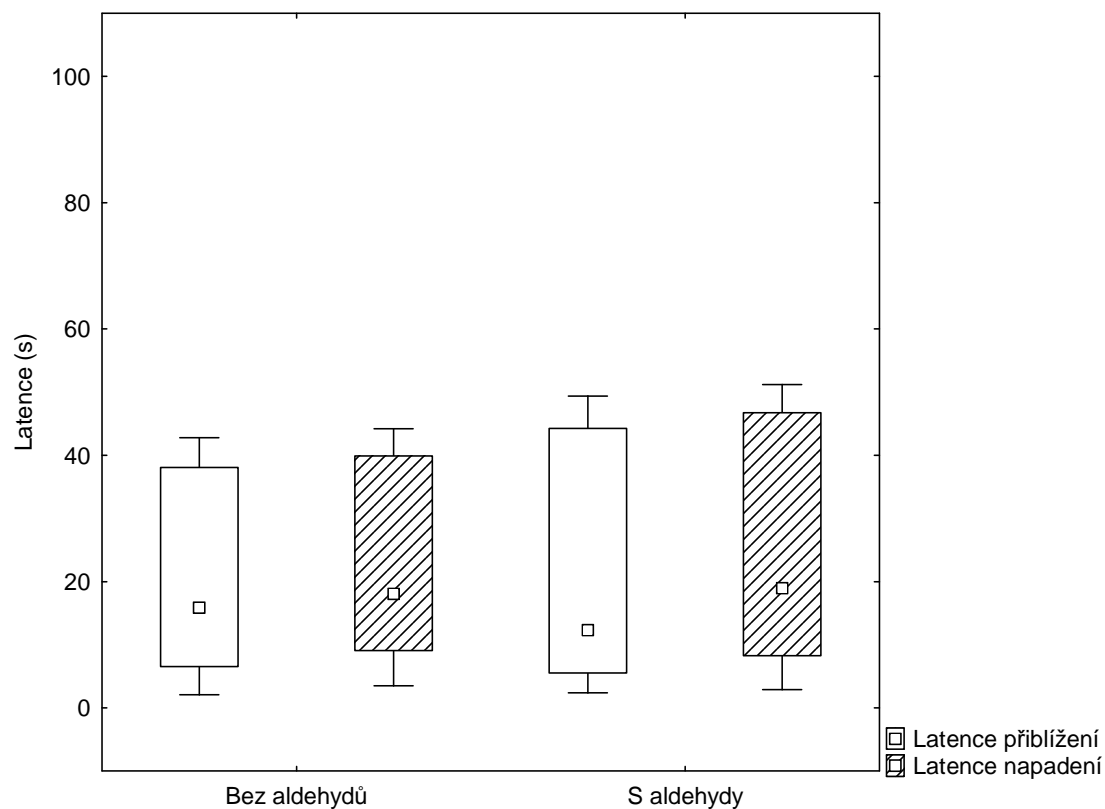
Testovali jsme vliv přítomnosti aldehydů na iniciální reakci, průběh učení a paměť dospělých sýkor koňader, kterým byly jako testovaná kořist předkládány načerveno nabarvené nepoživatelné larvy potemníka moučného. Kontrolní larvy byly ponechány přirozeně zbarvené.

5.6.1. INICIÁLNÍ REAKCE

Na latenci přiblížení k první červené larvě potemníka moučného měla vliv pouze latence napadení první předložené (kontrolní) larvy (ANCOVA: $F(1,37) = 14,163$; $p < 0,001$), přítomnost aldehydů vliv neměla ($F(1,37) < 0,001$, $p = 0,996$). Stejně tak měla latence napadení kontrolní larvy vliv na latenci napadení první červené larvy (ANCOVA: $F(1,37) = 13,335$; $p < 0,001$), ale přítomnost aldehydů opět vliv neměla ($F(1,37) = 0,009$; $p = 0,923$) (Obr. 35).

U skupiny testované bez aldehydů neměly na latenci přiblížení vliv věk (ANCOVA: $F(1,15) = 1,054$; $p = 0,321$) ani pohlaví sýkor ($F(1,15) = 2,141$; $p = 0,164$). U skupiny testované s aldehydy věk ($F(1,15) = 1,501$; $p = 0,239$) ani pohlaví sýkor ($F(1,15) = 0,073$; $p = 0,790$) vliv neměly. Interakce obou faktorů neměla ani v jednom případě vliv ($p > 0,05$).

U skupiny testované s aldehydy neměly na latenci napadení larvy potemníka vliv věk (ANCOVA: $F(1,15) = 1,909$; $p = 0,187$) ani pohlaví sýkor ($F(1,15) = 2,561$; $p = 0,130$). U skupiny testované s aldehydy věk ($F(1,15) = 1,203$; $p = 0,290$) ani pohlaví sýkor ($F(1,15) = 0,037$; $p = 0,850$) opět vliv na latenci napadení neměly. Interakce obou faktorů neměla ani v jednom případě vliv ($p > 0,05$).



Obr. 35: Latence prvního přiblížení k červené larvě potměníka a latence prvního napadení larvy u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy během učení. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

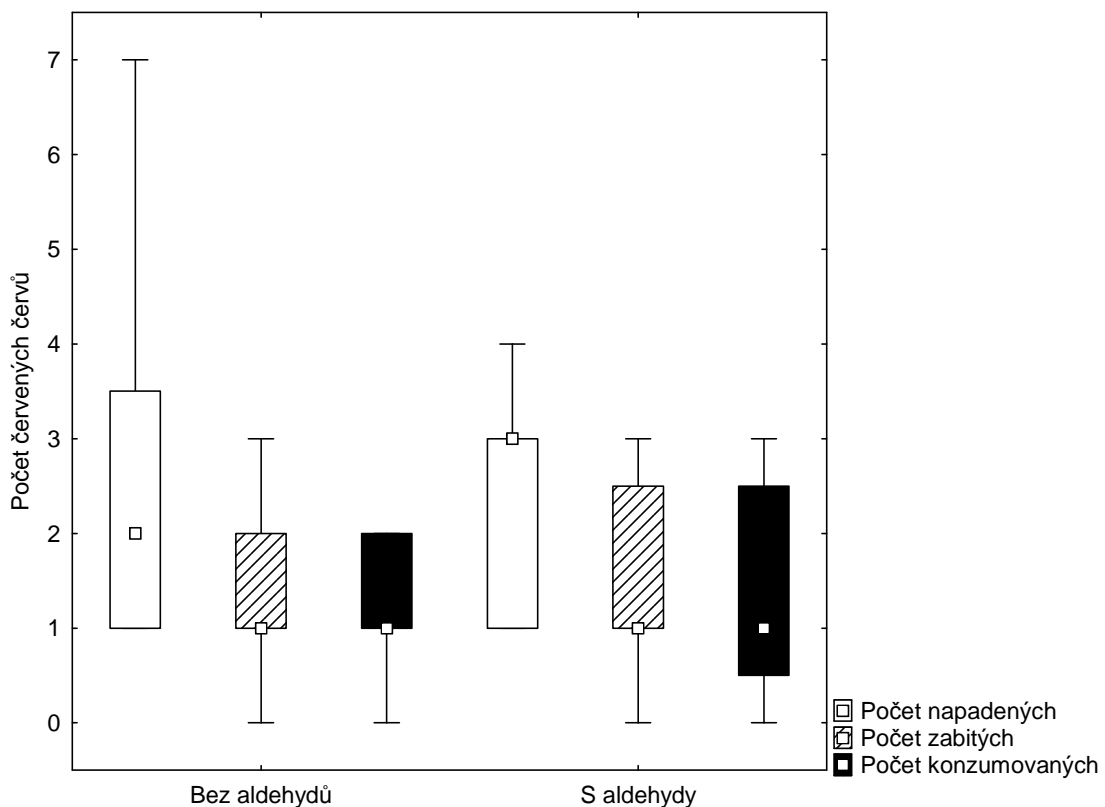
5.6.2. UČENÍ

Počet napadených, zabitých a konzumovaných červených larev potměníka moučného se u skupiny testované bez aldehydů a skupiny testované s aldehydy během učení neliší (glm ANOVA: počet napadených: Wald (1,38) = 0,091; $p = 0,763$; počet zabitých: Wald (1,38) = 0,130; $p = 0,718$; počet konzumovaných: Wald (1,38) = 0,000; $p = 1,000$) (Obr. 36).

U skupiny testované bez aldehydů nebyl nalezen vliv věku a pohlaví na počet napadených (glm ANOVA: věk: Wald (1,16) = 0,520; $p = 0,470$; pohlaví: Wald (1,16) = 0,827; $p = 0,363$), zabitých (věk: Wald (1,16) = 1,003; $p = 0,316$; pohlaví: Wald (1,16) = 0,034; $p = 0,852$) ani konzumovaných larev potměníka

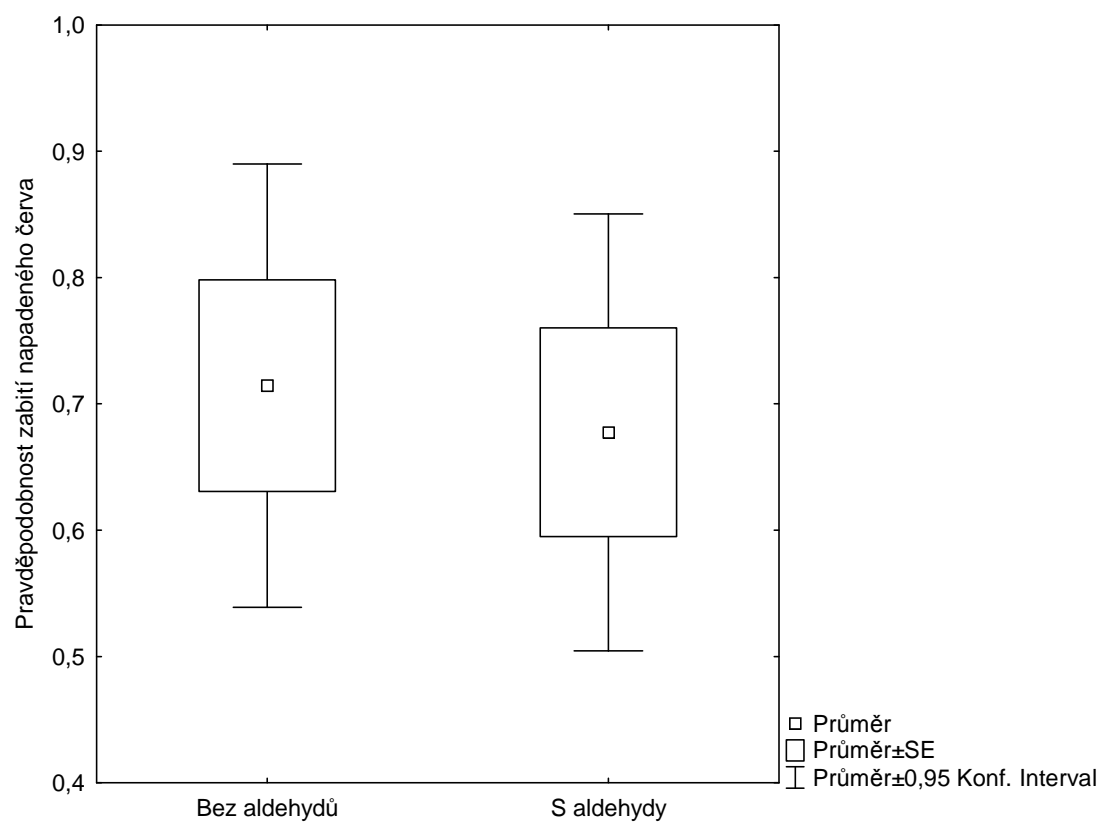
moučného (věk: Wald (1,16) = 1,183; p = 0,277; pohlaví: Wald (1,16) = 0,083; p = 0,773). Interakce obou faktorů na počty vliv neměla (p > 0,05).

U skupiny testované s aldehydy nebyl nalezen vliv věku a pohlaví na počet napadených (glm ANOVA: věk: Wald (1,16) = 0,239; p = 0,624; pohlaví: Wald (1,16) = 0,466; p = 0,495) a zabitých larev potemníka moučného (věk: Wald (1,16) = 0,380; p = 0,537; pohlaví: Wald (1,16) = 2,733; p = 0,101). Byl nalezen rozdíl mezi samci a samicemi v počtu konzumovaných červených larev potemníka moučného, přičemž samci jich konzumovali více (Wald (1,16) = 3,963; p = 0,046). Vliv věku na počet konzumovaných larev nebyl prokázán (Wald (1,16) = 0,100; p = 0,752). Vliv interakce obou faktorů na počty larev vliv neměla (p > 0,05).



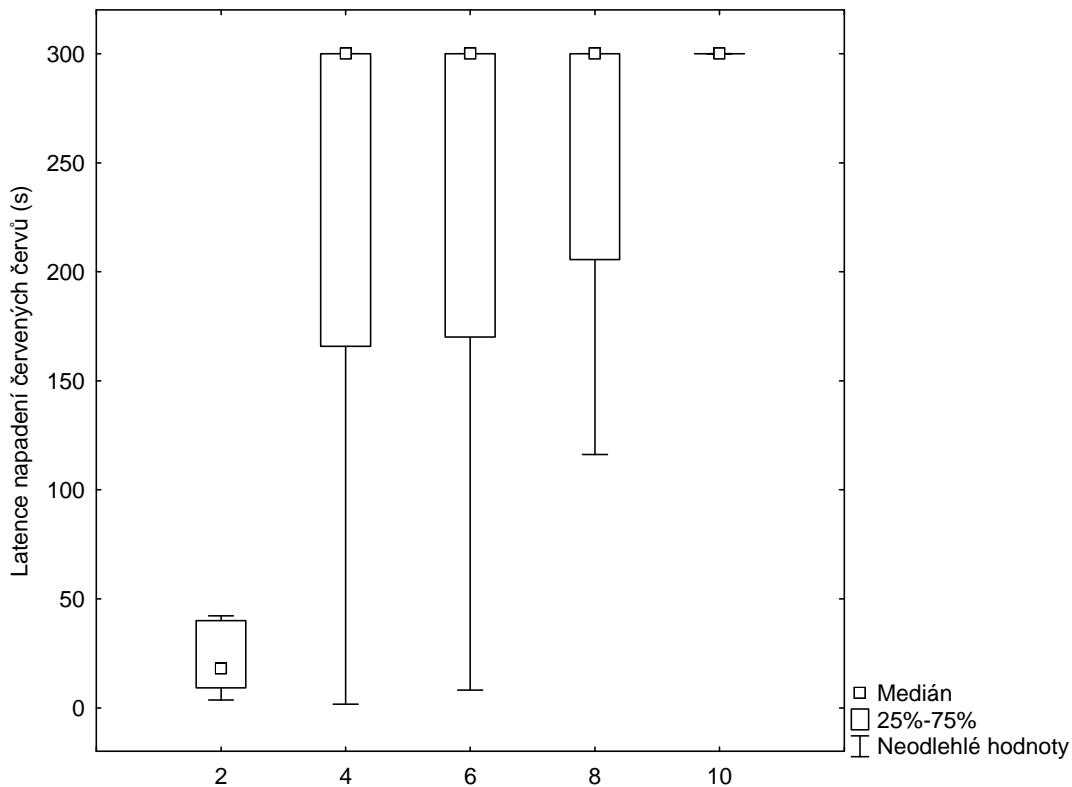
Obr. 36: Počet napadených, zabitých a konzumovaných červených larev potemníka moučného během učení ve skupině testované bez aldehydů a s aldehydy. □ medián
 ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Pravděpodobnost, že budou napadené červené larvy během učení i zabity, není závislá na přítomnosti aldehydů (jednocestná ANOVA: $F(1,38) = 0,090$; $p = 0,766$) (Obr. 37).

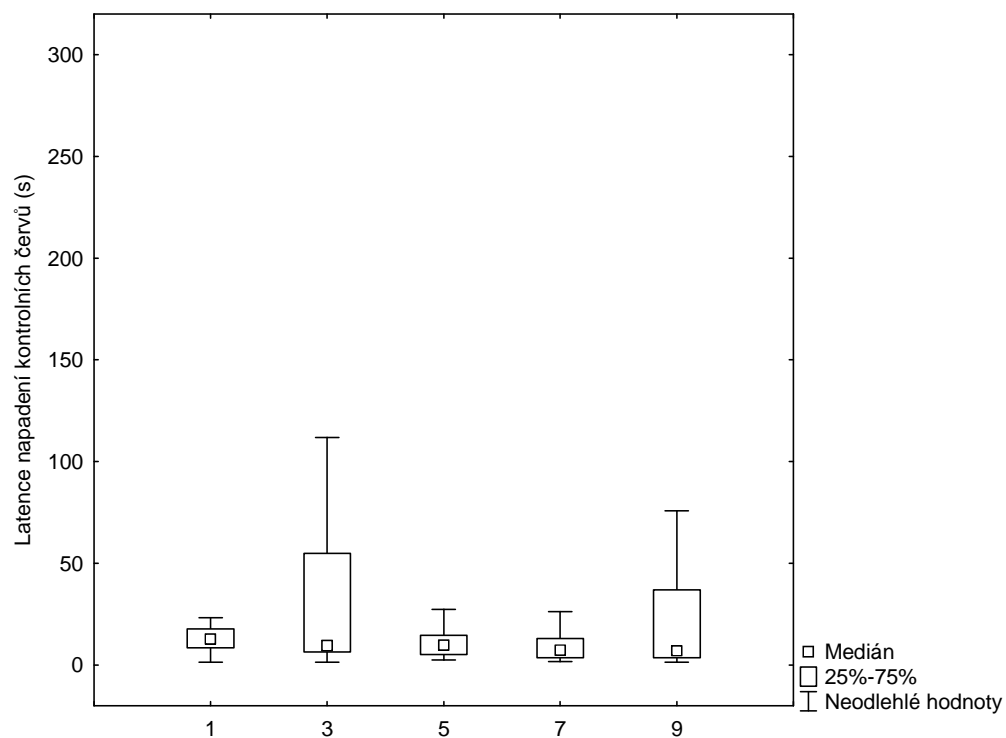


Obr. 37: Pravděpodobnost zabití napadené červené larvy potemníka moučného u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy během učení.

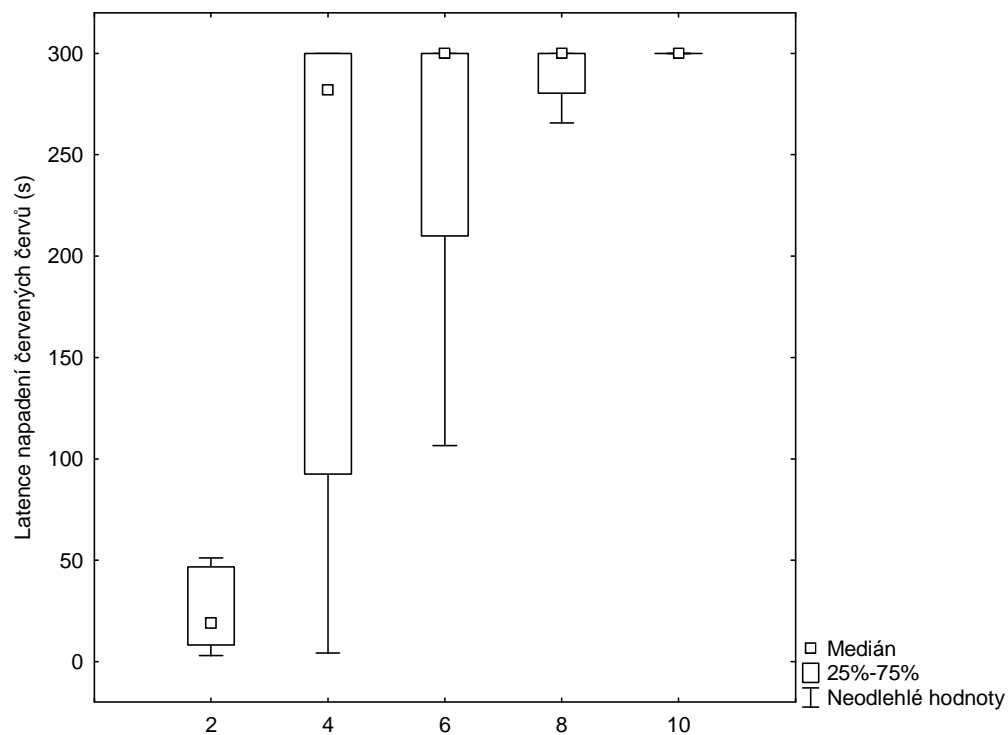
Dále byl testován vliv pořadí kola, přítomnosti aldehydů a požitelnosti larvy potměníka moučného na latence napadení prvních pěti předložených kontrolních larev a latence napadení prvních pěti červených larev. Na délku latence napadení larvy má vliv požitelnost, pořadí kola a interakce těchto dvou faktorů. Latence se s přibývajícím koly u červených larev prodlužují a u kontrolních zůstávají stejně krátké (ANOVA pro opakovaná měření: aldehydy: $F(1,38) = 0,001$; $p = 0,974$; palatabilita: $F(1,38) = 283,396$; $p < 0,001$; kolo: $F(4,152) = 25,623$; $p < 0,001$; interakce palatability a kola: $F(4,152) = 41,413$; $p < 0,001$). Při porovnání prvních pěti kol s nejdělnějšími červenými larvami mezi sebou vidíme, že se od ostatních výrazně odlišuje latence napadení v prvním kole, která je výrazně kratší (post-hoc Fisher LSD test $p < 0,001$), zatímco latence následujících kol se už mezi sebou neliší (Fisher LSD test $p > 0,05$) (Obr. 37-40).



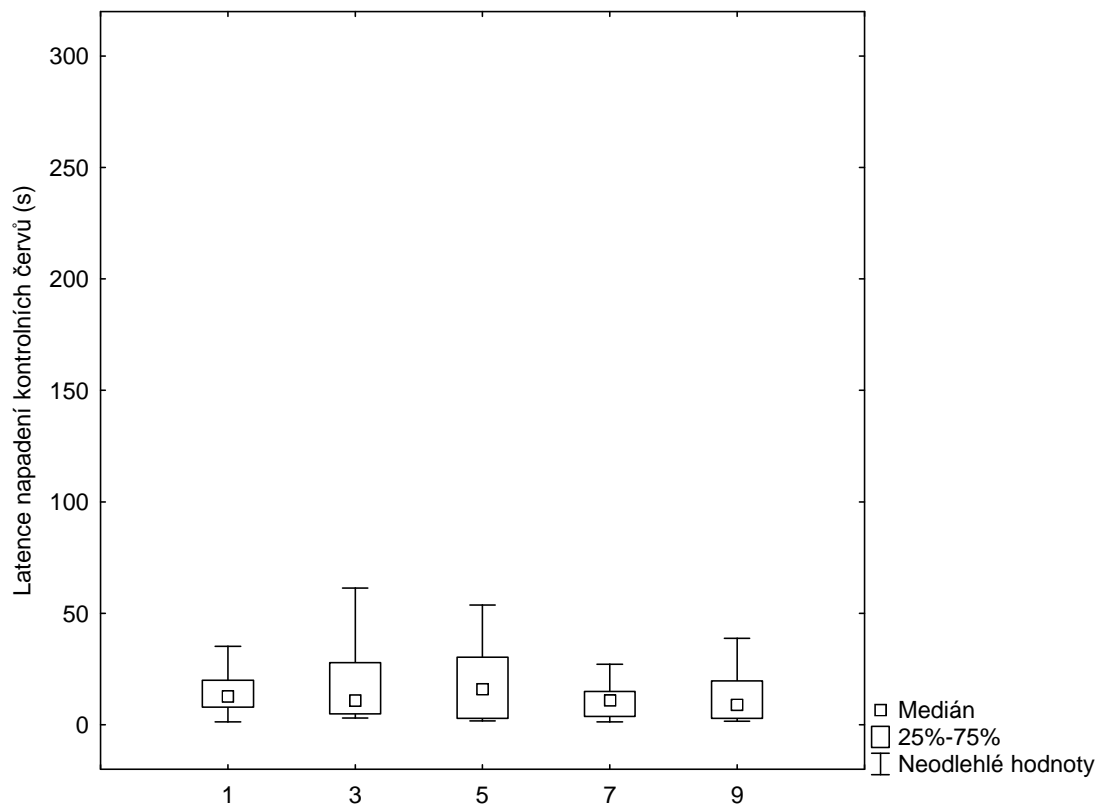
Obr. 37: Latence napadení prvních pěti červených larev potměníka moučného během učení ve skupině testované bez aldehydů.



Obr. 38: Latence napadení prvních pěti kontrolních larev potměníka moučného během učení ve skupině testované bez aldehydů.



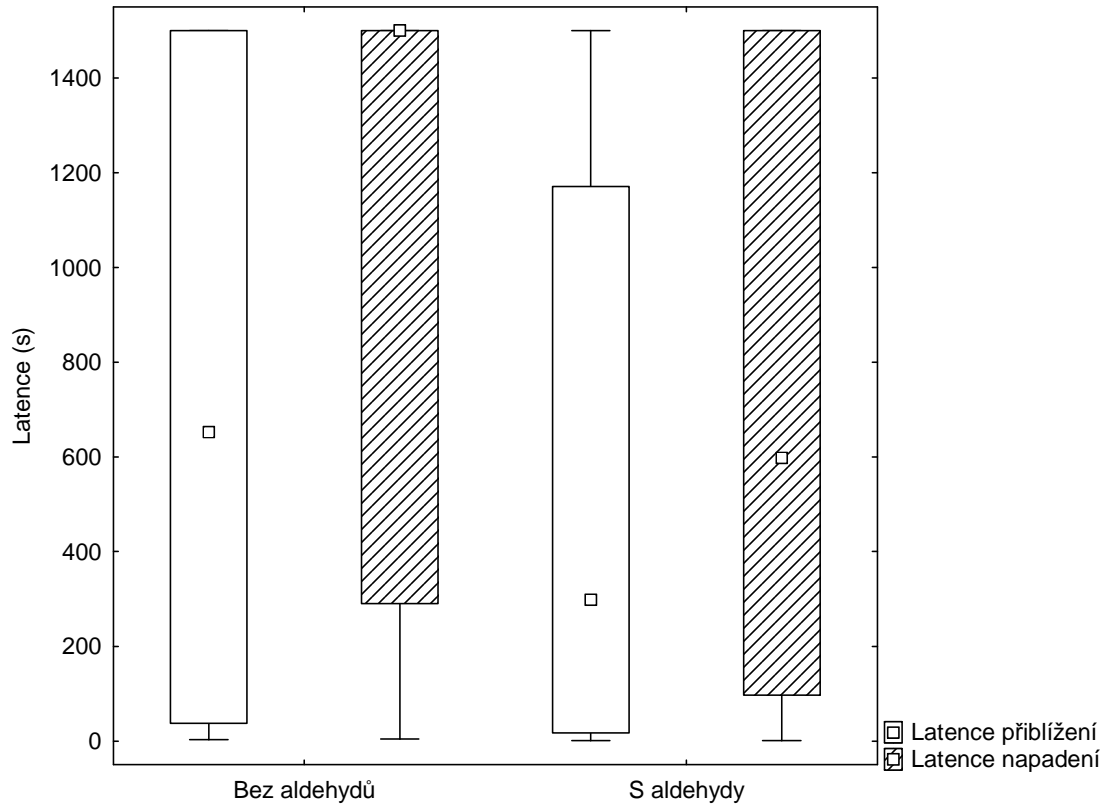
Obr. 39: Latence napadení prvních pěti červených larev potměníka moučného během učení ve skupině testované s aldehydy.



Obr. 40: Latence napadení prvních pěti kontrolních larev potemníka moučného během učení ve skupině testované s aldehydy.

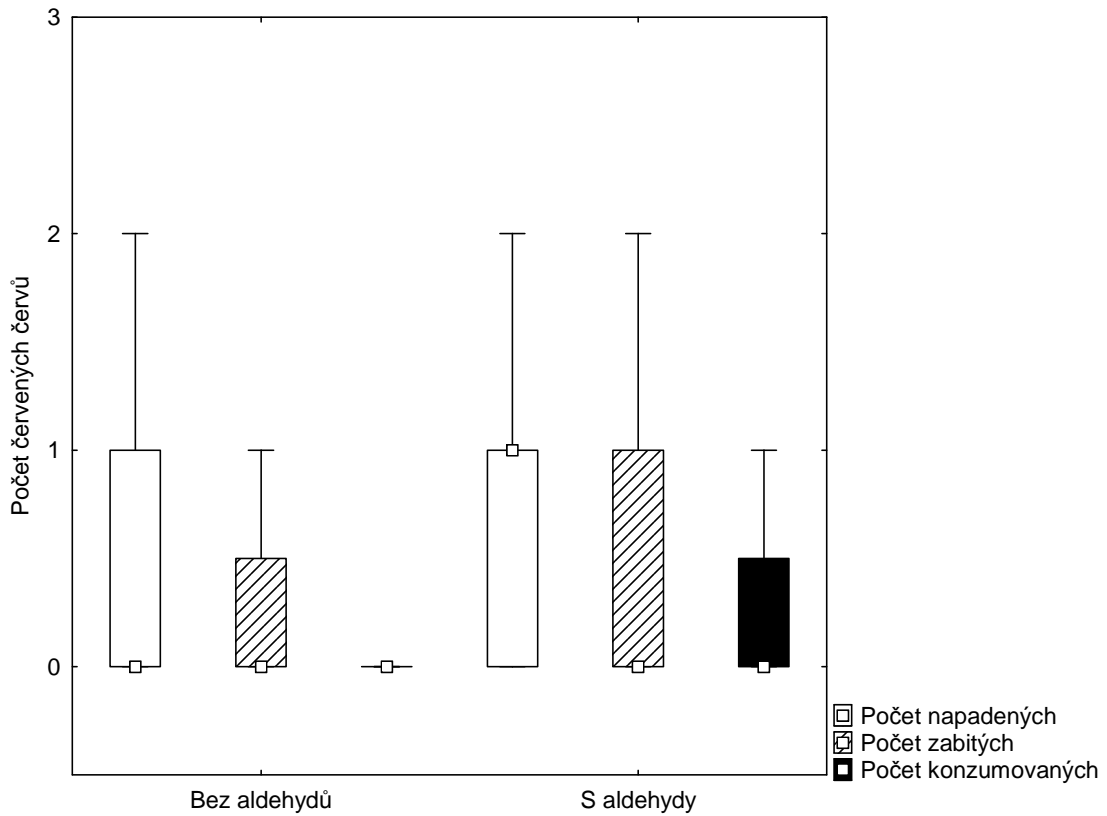
5.6.3. PAMĚŤ – MEZISKUPINOVÉ SROVNÁNÍ

Latence prvního přiblížení k červené larvě potměníka a latence napadení larvy se v závislosti na přítomnosti aldehydů neliší (jednocestná ANOVA, přiblížení: $F(1,38) = 0,559$; $p = 0,460$; napadení: $F(1,38) = 0,952$; $p = 0,335$) (Obr. 41).



Obr. 41: Latence prvního přiblížení k červené larvě potměníka a latence napadení larvy v paměťovém testu v závislosti na přítomnosti aldehydů. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

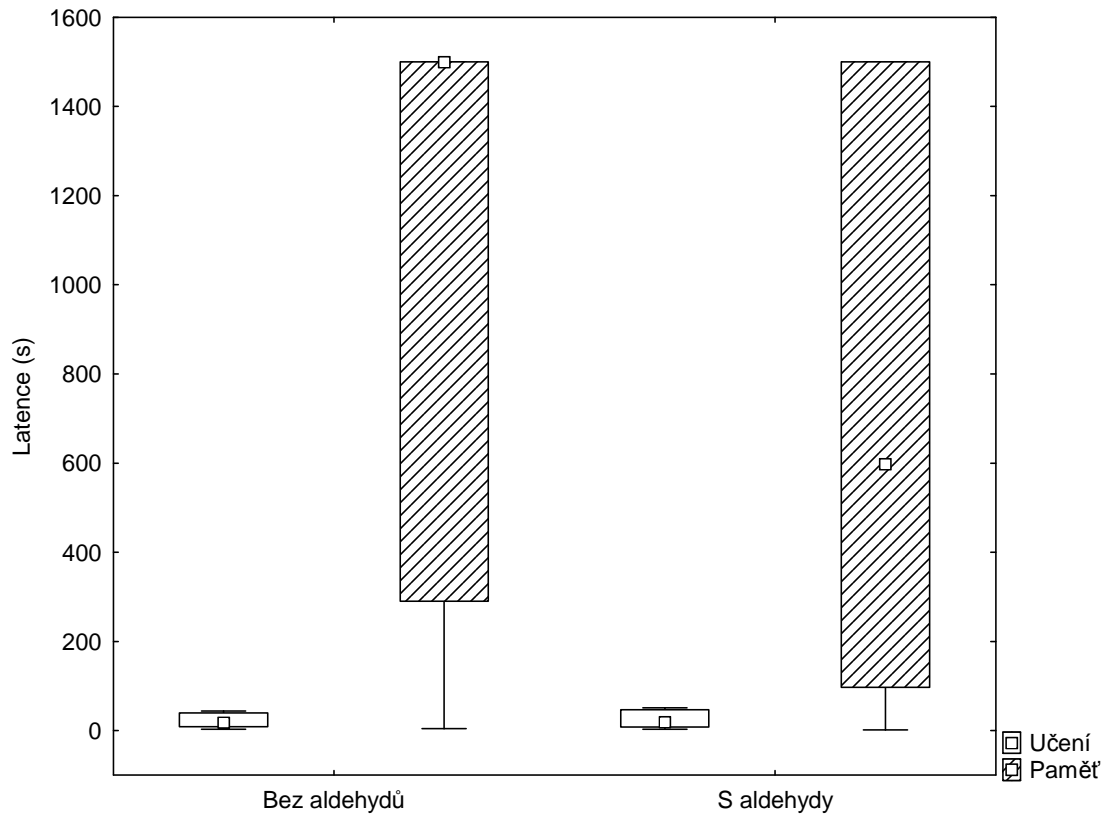
Přítomnost aldehydů nemá v paměťovém testu vliv ani na počet napadených, zabitých a konzumovaných červených larev (glm ANOVA: počet napadených: Wald (1,38) = 0,257; p = 0,613; počet zabitých: Wald (1,38) = 1,594; p = 0,207; počet konzumovaných: Wald (1,38) = 2,137; p = 0,144) (Obr. 42).



Obr. 42: Počet napadených, zabitých a konzumovaných červených larev v paměťovém testu u skupin testovaných bez aldehydů a s aldehydy. □ medián ■ 25%-75%
T rozpětí neodlehých hodnot

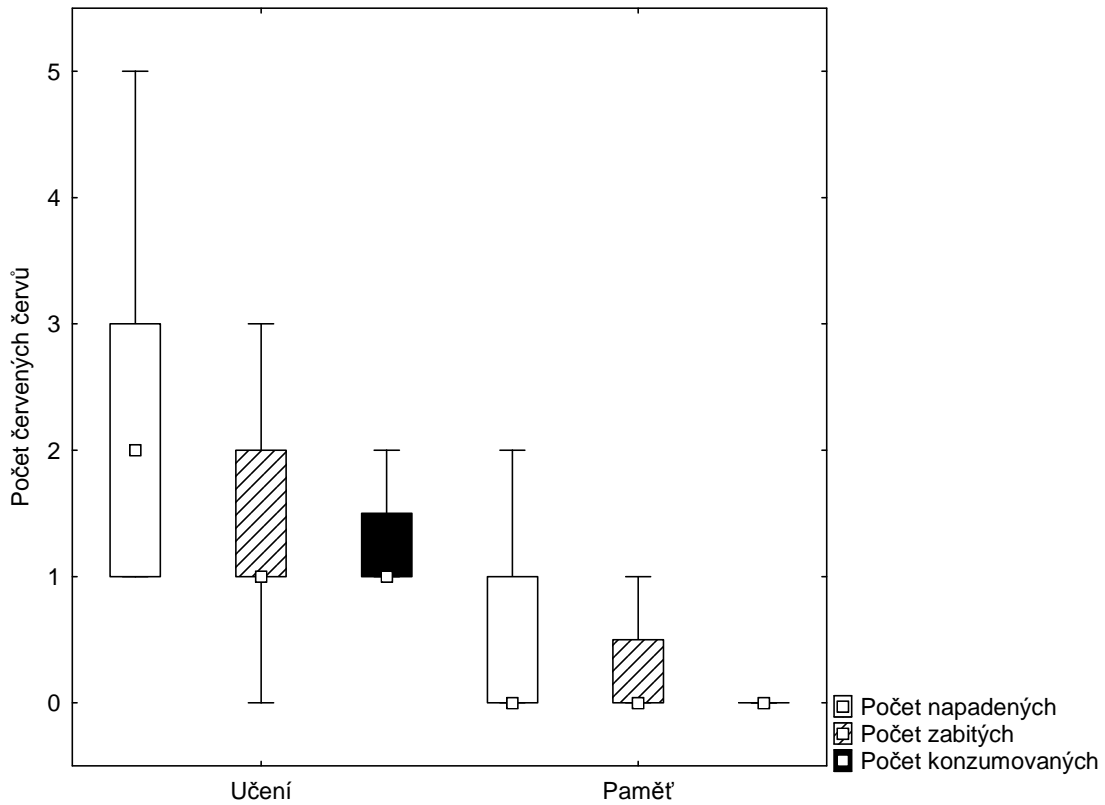
5.6.4. PAMĚŤ – VNITROSKUPINOVÉ SROVNÁNÍ

Latence prvního napadení červené larvy potemníka moučného se v paměťovém testu u skupiny testované bez aldehydů výrazně prodlužuje (Wilcoxonův párový test: $Z = 3,581$; $p < 0,001$). Stejně tak se tato latence v paměťovém testu výrazně prodlužuje i u skupiny testované s aldehydy ($Z = 3,547$; $p < 0,001$) (Obr. 43).



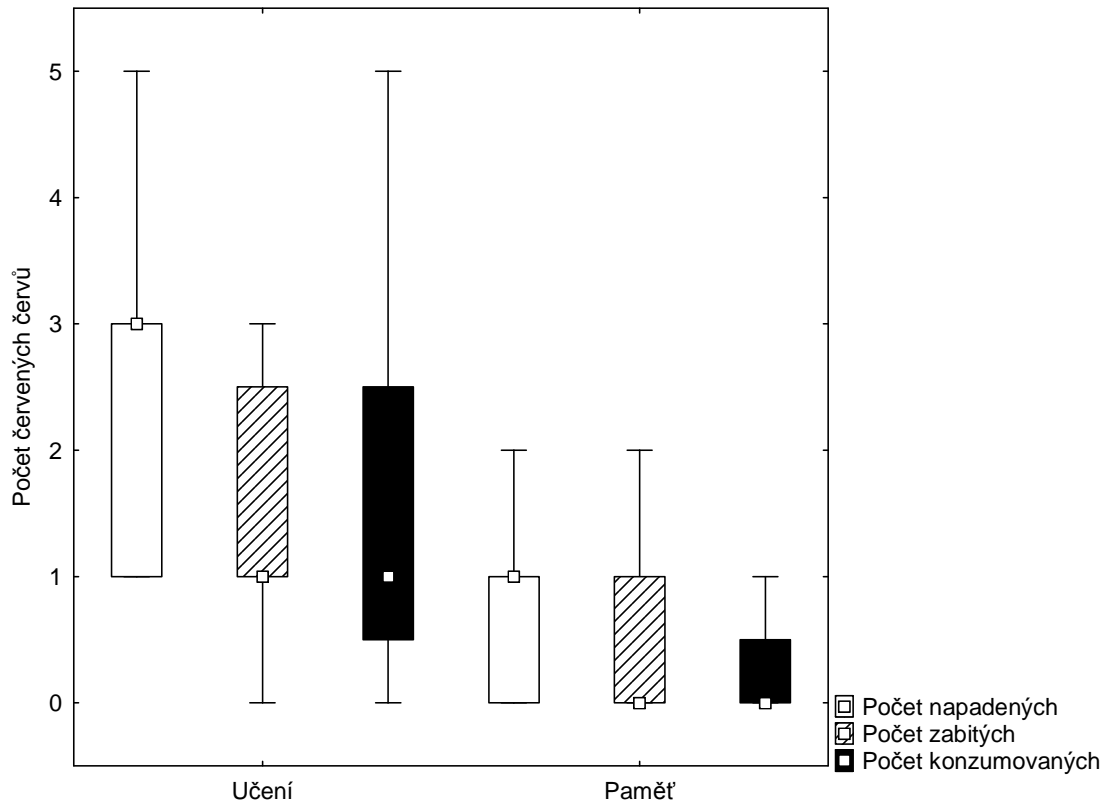
Obr. 43: Latence prvního napadení červené larvy potemníka moučného během učení a v paměťovém testu u skupiny testované bez aldehydů a s aldehydy. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Počet napadených, zabitých a konzumovaných červených larev v prvních pěti kolech učení je u skupiny testované bez aldehydů vyšší než v paměťovém testu (Wilcoxonův párový test, počet napadených: $Z = 2,911$; $p = 0,004$; počet zabitých: $Z = 3,006$; $p = 0,003$; počet konzumovaných: $Z = 3,408$; $p < 0,001$) (Obr. 44).



Obr. 44: Porovnání počtu napadených, zabitých a konzumovaných červených larev potměníka moučného u skupiny testované bez aldehydů během učení a v paměťovém testu. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

Stejně tak v paměťovém testu klesl počet napadených, zabitých a konzumovaných červených larev u skupiny testované s aldehydy (Wilcoxonův párový test, počet napadených: $Z = 3,309$; $p < 0,001$; počet zabitých: $Z = 2,896$; $p = 0,004$; počet konzumovaných: $Z = 2,471$; $p = 0,013$) (Obr. 45).

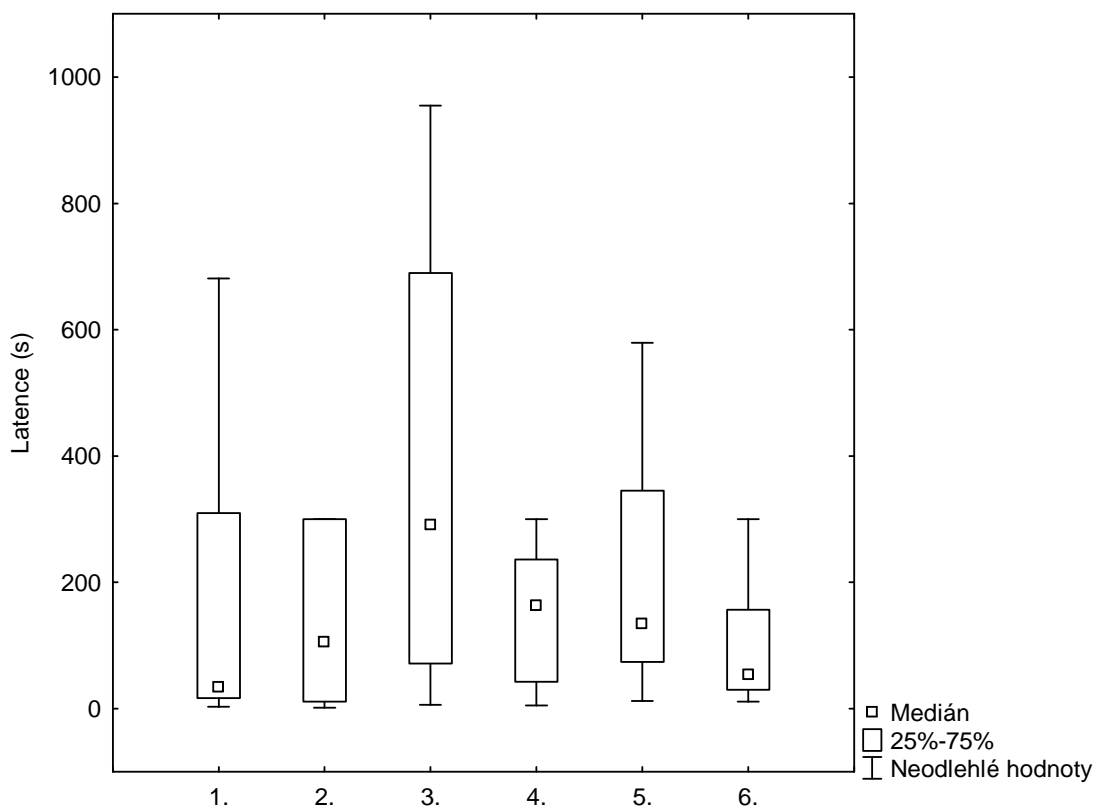


Obr. 45: Porovnání počtu napadených, zabitých a konzumovaných červených larev potměníka moučného u skupiny testované s aldehydy během učení a v paměťovém testu. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

5.7. DOSPĚLÍ PTÁCI – TEST ALDEHYDŮ JAKO DISKRIMINAČNÍHO KRITÉRIA

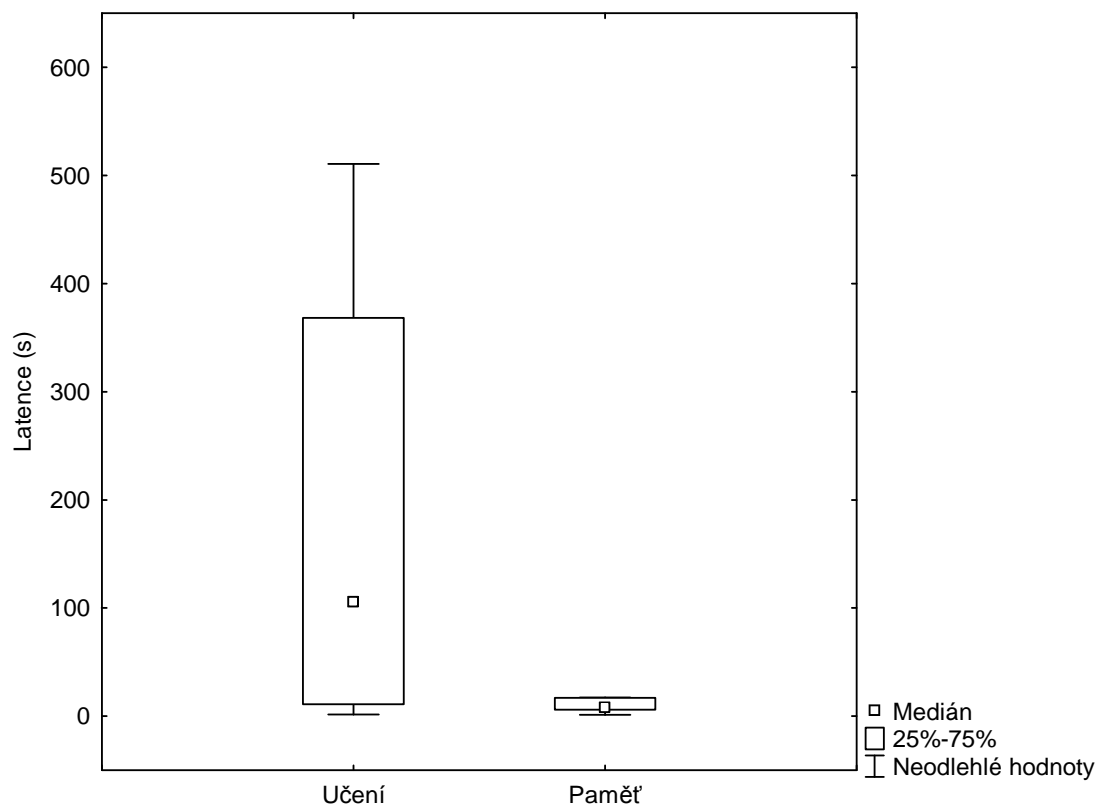
Zde jsme testovali, zda se dospělé sýkory koňadry naučí diskriminovat mezi jedlými (lichá kola) a nejedlými (sudá kola experimentu) načerveno obarvenými larvami potemníka moučného na základě přítomnosti a nepřítomnosti aldehydů.

Latence napadení celkově první a druhé červené larvy potemníka moučného se nelišila (Wilcoxonův párový test: $Z = 0$; $p = 1,000$). Latence napadení třetí larvy byla marginálně delší než latence napadení čtvrté ($Z = 1,874$; $p = 0,061$). Rozdíl v latenci napadení páté a šesté larvy je signifikantní, latence napadení páté larvy je delší ($Z = 2,556$; $p = 0,011$) (Obr. 46).



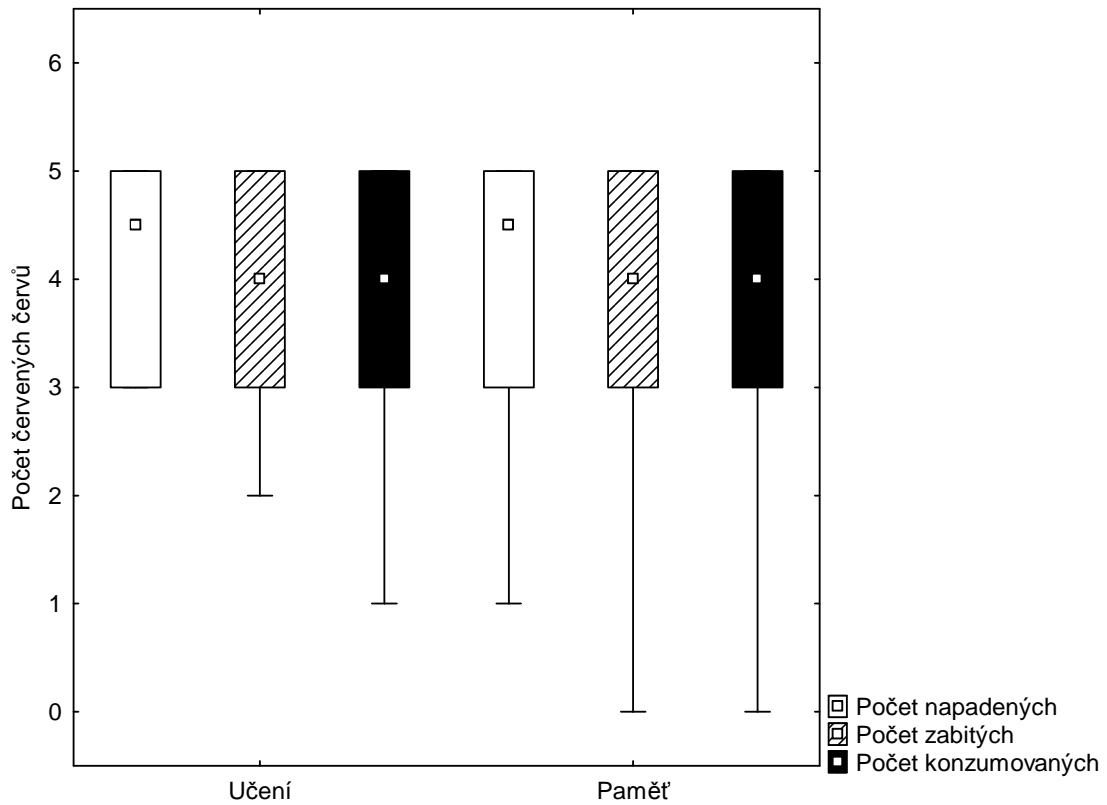
Obr. 47: Latence napadení prvních šesti předložených červených larev potemníka moučného během učení.

Latence napadení celkově druhé červené larvy potměníka moučného byla během učení signifikantně delší než v paměťovém testu (Wilcoxonův párový test: $Z = 2,062$; $p = 0,039$) (Obr. 48).



Obr. 48: Latence napadení celkově druhé červené larvy potměníka moučného během učení a v paměťovém testu.

Počty napadených, zabitých a konzumovaných nejedlých červených larev byly během učení a v paměťovém testu stejné (Wilcoxonův párový test: napadení: $Z = 0,760$; $p = 0,447$; zabití: $Z = 0,306$; $p = 0,760$; konzumování: $Z = 0,102$; $p = 0,919$) (Obr. 49).

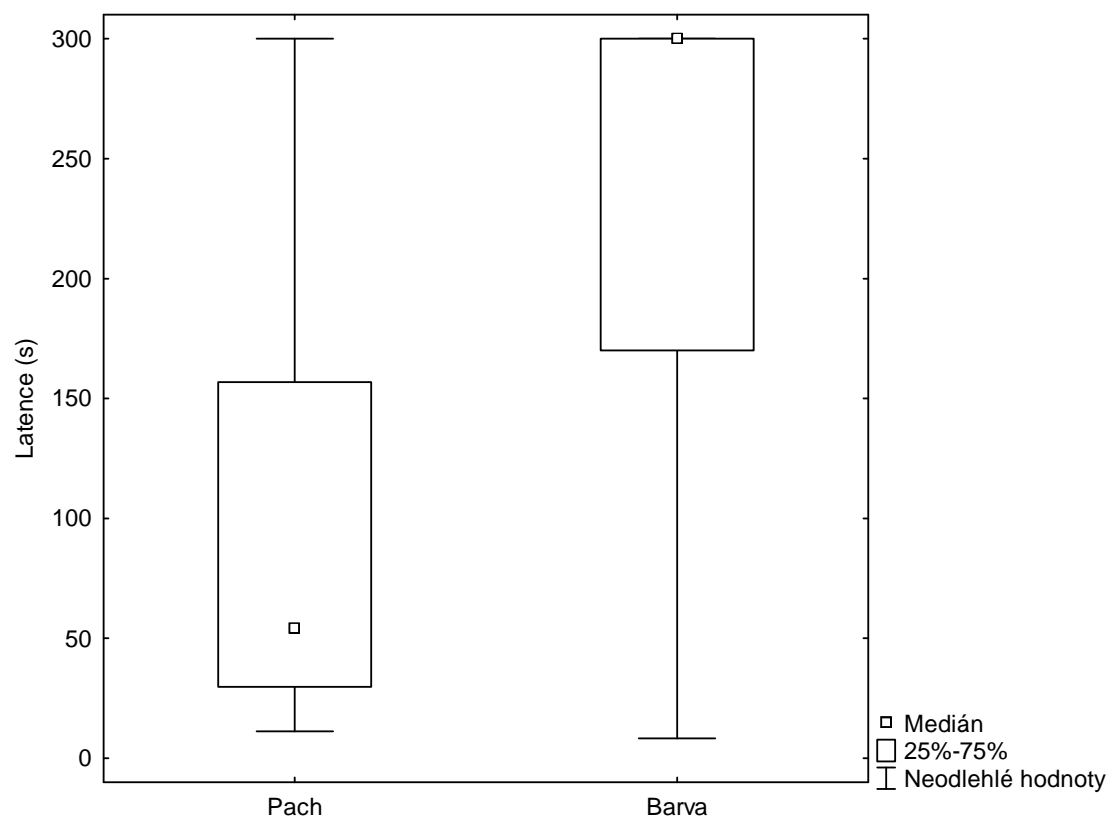


Obr. 49: Počet napadených, zabitých a konzumovaných nejedlých červených larev během učení a v paměťovém testu. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

5.8. DOSPĚLÍ PTÁCI – SROVNÁNÍ BARVY A ALDEHYDŮ JAKO DISKRIMINAČNÍHO KRITÉRIA

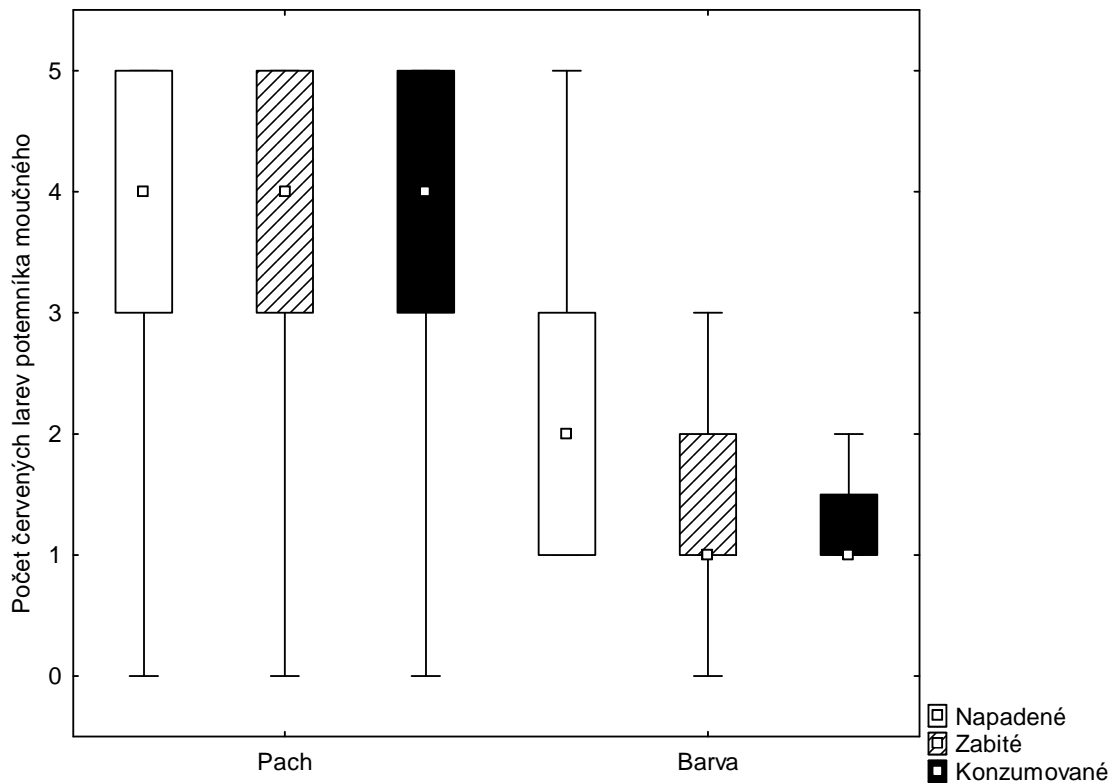
Zde jsme porovnávali důležitost barvy kořisti a pachu aldehydů v diskriminaci sýkor mezi jedlou a nejedlou kořistí. Porovnávali jsme latence napadení šesté červené larvy potemníka moučného a počty napadených, zabitých a konzumovaných larev během učení a v paměťovém testu mezi skupinami v závislosti na diskriminačním kritériu – barvě a pachu kořisti.

Latence napadení celkově šesté (nejedlé) červené larvy je signifikantně delší u testované skupiny sýkor, která diskriminovala podle barvy, než u testované skupiny diskriminující podle pachu (ANCOVA: $F(1,32) = 8,433$; $p = 0,007$) (Obr. 50).



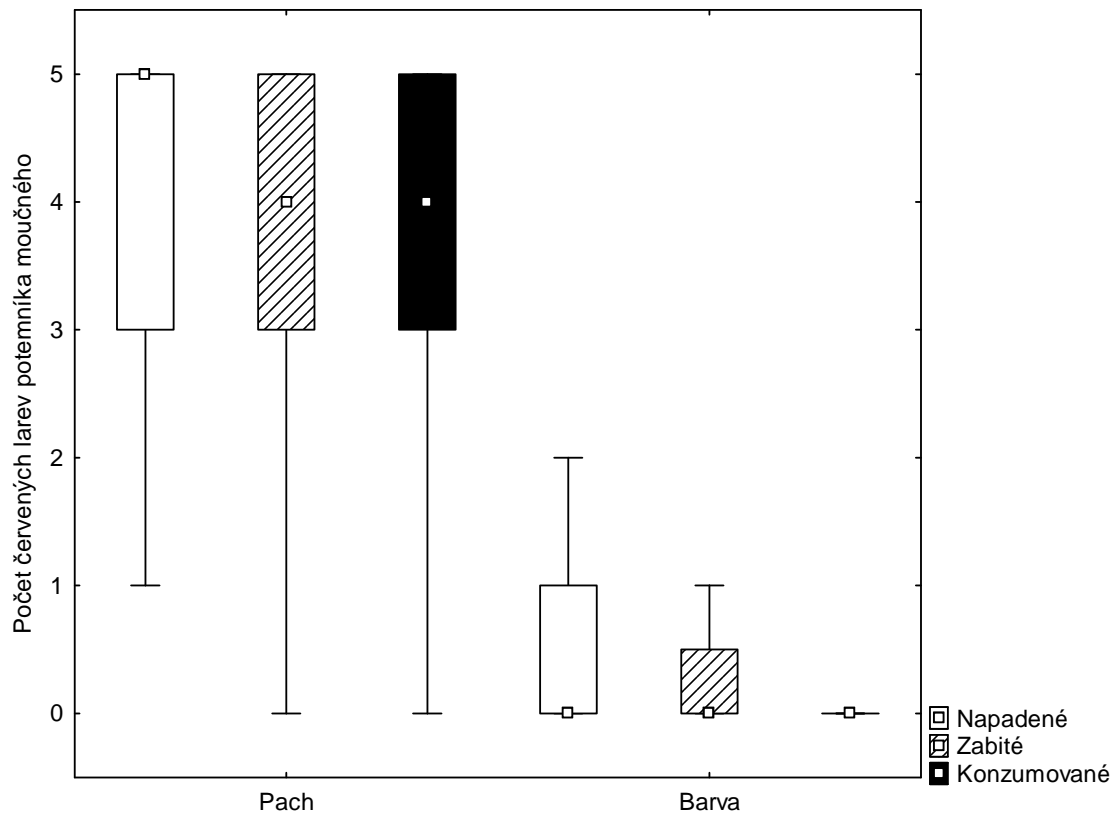
Obr. 50: Porovnání latence napadení třetí nejedlé červené larvy potemníka moučného během učení v závislosti na tom, zda sýkory diskriminovaly podle pachu nebo barvy.

Počet napadených, zabitých i konzumovaných červených nejdých larev potemníka moučného je v rámci prvních pěti kol učení signifikantně nižší u testované skupiny sýkor, která diskriminovala na základě barvy (glm ANOVA: počet napadených: Wald (1,34) = 8,509; $p = 0,004$; počet zabitých: Wald (1,34) = 13,280; $p < 0,001$; počet konzumovaných: Wald (1,34) = 14,144; $p < 0,001$) (Obr. 51).



Obr. 51: Počty napadených, zabitých a konzumovaných nejdých červených larev potemníka moučného během prvních pěti kol učení v závislosti na tom, zda sýkory diskriminovaly podle pachu nebo barvy. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehlých hodnot

Počet napadených, zabitých i konzumovaných červených nejedlých larev potměníka moučného byl v paměťovém testu signifikantně nižší u testované skupiny sýkor, která diskriminovala na základě barvy (glm ANOVA: počet napadených: Wald (1,34) = 33,511; $p < 0,001$; počet zabitých: Wald (1,34) = 32,989; $p < 0,001$; počet konzumovaných: Wald (1,34) = 32,050; $p < 0,001$) (Obr. 52).



Obr. 52: Počty napadených, zabitých a konzumovaných nejedlých červených larev potměníka moučného v paměťovém testu v závislosti na tom, zda sýkory diskriminovaly podle pachu nebo barvy. □ medián ■ 25%-75% T rozpětí neodlehých hodnot

6. DISKUZE

6.1. MLÁĎATA

U naivních ručně odchovaných mlád'at sýkor koňader (*Parus major*) jsme testovali vliv přítomnosti pachu aldehydů na chování vůči dvěma druhům kořisti – aposematické plošticí *Pyrrhocoris apterus* a neaposematické plošticí *Pyrrhocoris tibialis*. Sledovali jsme vliv na iniciální reakci, průběh averzivního učení a paměť sýkor. Použité množství, koncentrace a složení směsi aldehydů bylo odvozeno od reálné metathorakální sekrece ploštic *Graphosoma lineatum* (Šanda, nepublikováno).

Data byla vyhodnocena dvěma způsoby: (1) společně pro všechna testovaná mlád'ata, kdy jsme zároveň hodnotili vliv druhu ploštic a přítomnosti aldehydů na chování sýkor, (2) druhým způsobem jsme hodnotili vliv přítomnosti aldehydů zvlášť na skupinu testovanou s plošticí *P. apterus* a zvlášť na skupinu testovanou s *P. tibialis*.

V rámci vyhodnocení celkového modelu společného pro všechna testovaná mlád'ata (1) bylo zjištěno, že se všechna mlád'ata k testované kořisti poprvé přiblížila stejně rychle, nezávisle na přítomnosti aldehydů nebo druhu ploštic. To koresponduje s výsledky předchozích studií (Exnerová et al., 2007; Hotová Svádová et al., 2013), ve kterých autoři nepozorovali u sýkor koňader žádnou vrozenou iniciální opatrnost vůči přirozeně aposematické či nahnědo obarvené *P. apterus* (Exnerová et al., 2007), ani vůči dalším aposematickým plošticím (Hotová Svádová et al., 2013). Vliv aldehydů na latenci prvního přiblížení k plošticí nebyl pozorován ani při vyhodnocení dat samostatně pro *P. apterus* a *P. tibialis* (2). Rozdíly mezi skupinami byly nalezeny v latenci prvního napadení ploštic. V rámci celkového modelu (1) neměly na latenci napadení aldehydy a druh ploštic vliv samostatně, ale při vyhodnocení vlivu interakce obou faktorů bylo zjištěno, že u skupiny testované v přítomnosti aldehydů s plošticí *P. apterus* je latence napadení kořisti signifikantně delší. Tento rozdíl nalezneme i při samostatném vyhodnocení obou testovaných skupin (2), kdy přítomnost aldehydů signifikantně prodloužila latenci prvního napadení ploštic *P. apterus*, ale neovlivnila latenci prvního napadení *P. tibialis*. Výsledky tedy naznačují, že přítomnost aldehydů vyvolá u naivních sýkor koňader skrytou vrozenou iniciální averzi vůči aposematické kořisti, která se ale neprojevívá, pokud nemá sýkora chemický signál k dispozici. Narozdíl od latence napadení, neměla přítomnost aldehydů vliv na latenci přiblížení k plošticí.

Než se mláďata rozhodla k plošticí přiblížit, obvykle ji nejprve pozorovala z bidýlka, je tedy možné, že z této vzdálenosti pach aldehydů necítila. Absence vlivu aldehydů na latenci přiblížení lze také vysvětlit tím, že se mláďata k nové potravě přiblíží vždy, a o tom, zda jí napadnou se rozhodují až z těsné blízkosti.

Podobný efekt byl pozorován u 2-isobutyl-3-methoxypyrazinu (Rowe and Guilford, 1996) a 3-isopropyl-2-methoxypyrazinu (Kelly and Marples, 2004), které dle autorů také fungují jako signál informující predátora o nepoživatelnosti aposematicky zbarvené potravy. Rowe & Guilford (1996) předkládali naivním mláďatům kura domácího (*Gallus gallus domesticus*) zelené a žluté granule, přičemž byly pro mláďata obě barvy nové. Pach pyrazinu vyvolal u mláďat iniciální averzivní reakci vůči žluté aposematické potravě, ale vůči zelené ne. Kelly & Marples (2004) v podobném experimentu testovali zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*), kterým předkládali červeně obarvenou potravu. V přítomnosti pyrazinu zebřičky otálely s konzumací červené potravy déle, než když pach přítomen nebyl.

Z našich výsledků dále vyplývá, že během averzivního učení mláďata sýkor napadala celkově více ploštic *P. apterus* než *P. tibialis*, zabila jich ale stejné množství. Přítomnost aldehydů neměla samostatně ani v interakci s druhem ploštic na počet napadených a zabitých ploštic žádný vliv. Interakce faktorů měla během učení marginální vliv na počet konzumovaných ploštic. U skupiny testované s *P. apterus* bez přítomnosti aldehydů byl počet konzumovaných ploštic mírně vyšší. Rozdíl vyšel i při samostatném vyhodnocování (2) vlivu přítomnosti aldehydů na počet konzumovaných *P. apterus*, ale například ve srovnání s výše zmíněným rozdílem v latencích napadení první ploštic, je rozdíl v počtu konzumovaných ploštic mezi skupinami testovanými s aldehydy a bez aldehydů malý. Přesto se dá výsledek srovnat s prací Siddall & Marples (2008), kteří se věnovali průběhu učení v přítomnosti pyrazinu u naivních mláďat kura domácího a zjistili, že se v přítomnosti 2-isobutyl-3-methoxypyrazinu mláďata rychleji učí diskriminovat mezi nejedlými žlutými granulemi a zelenými jedlými granulemi a už ve třetím kole experimentu skupina testovaná s pyrazinem konzumovala méně aposematických žlutých granulí než skupina testovaná bez přítomnosti pyrazinu. To koresponduje s naším výsledkem, kdy sýkory konzumovaly v přítomnosti aldehydů méně aposematických ploštic *P. apterus*.

Vliv dalších pachů na naivní mláďata kura domácího testovali Jetz et al. (2001). Autoři porovnávali 2-isobutyl-3-methoxypyrazin a další dvě látky, které nemají v přírodě

výstražnou funkci – metylsalicylát a etylacetát. Polovině mláďat podávali známé hnědé a nové zelené granule, druhé polovině nové zelené a žluté granule v přítomnosti jedné ze jmenovaných látek. Z výsledků vyplývá, že přítomnost pachu měla při rozhodování mláďat významný vliv, překvapivě ale nezáleželo na druhu pachu. Mláďata vystavená při experimentu pachům zkonsumovala celkově méně potravy než kontrolní skupina a také vždy méně zelených granulí než hnědých a méně žlutých než zelených. Autoři zastávají názor, že averzi vůči nové nebo aposematicky zbarvené potravě může vyvolat jakýkoliv pach, pokud je pro predátora nový. V našem experimentu byl počet konzumovaných ploštic *P. apterus* v přítomnosti aldehydů během učení nižší, ploštice *P. tibialis* představovaly pro sýkory ale také novou potravu a zde se vliv aldehydů na počty napadených, zabitých a konzumovaných ploštic neprojevil. Výsledky Jetz et al. (2001) příliš nekorespondují ani s prací Marples & Roper (1996), kteří našli averzivní účinky pouze u 3-sec-butyl-2-methoxypyrazinu, 3-isobutyl-2-methoxypyrazinu a mandlového aroma, zatímco vanilkový olej a thiazol žádné averzivní účinky vůči nové a aposematické potravě na mláďata kura domácího neměly. Jetz et al. (2001) si rozdělily 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 našem experimentu neovlivnila přítomnost pachu aldehydů latenci prvního napadení ploštice *P. tibialis*, přestože šlo pro mláďata sýkor o novou kořist a i nový pach. Koncentrace a množství použité směsi aldehydů přesně odpovídala přirozené sekreci ploštice *Graphosoma lineatum* (Šanda, nepublikováno) a náš experimentální design by měl tedy věrohodně korespondovat s reálnou situací.

Ploštice *P. tibialis* měla po napadení naivním mládětem větší pravděpodobnost, že bude zabita, než *P. apterus*. Pravděpodobnost zabití napadených ploštic byla dle vyhodnocení celkového modelu (1) průkazně snížena přítomností aldehydů u obou druhů, při samostatném vyhodnocení skupin testovaných s *P. apterus* a *P. tibialis* (2), ale vyšel pouze marginální vliv u *P. apterus* a žádný vliv aldehydů na pravděpodobnost zabití u *P. tibialis*. Studie zabývající se opticko-čichovou multimodální signalizací jsou bohužel obvykle prováděné na umělé kořisti a proto není možné naše výsledky dobře srovnat

s prací podobného experimentálního designu. Z výsledků vyplývá, že by aldehydy kromě vlivu na latenci napadení ploštice mohly mít vliv i na míru opatrnosti manipulace s plošticí. Pokud predátor s plošticí manipuluje opatrněji, může ploštice využít další

obrané mechanizmy a útok s větší pravděpodobností přežít. Taková obrana může mít důležitý význam například u druhů žijících ve velkých agregacích, kdy může aldehydová sekrece jednoho jedince chránit i ostatní.

Poměrně často se během experimentu stávalo, že sýkora několik minut po konzumaci plošnice zvracela. Naivní sýkory testované bez přítomnosti aldehydů zvracely častěji po konzumaci *P. tibialis*, kterou ale obvykle zkonsumovaly celou, zatímco u plošnice *P. apterus* zkonsumovaly pouze část. Je tedy otázkou, zda sýkory zvracely po konzumaci *P. tibialis* častěji, protože byla lépe chemicky chráněná nebo protože zkonsumovaly celou plošnici. Chemická ochrana *P. apterus* a *P. tibialis* se liší. V sekreci *P. tibialis* byl na rozdíl od *P. apterus* nalezen například limonen, který stejně jako další terpenoidy, hraje v chemické obraně ploštic důležitou roli (Krajíček et al., v tisku).

Z výsledků dále vyplývá, že přítomnost aldehydů neměla vliv na průběh paměťového testu skupin testovaných s *P. apterus*. Obě testované skupiny si nepoživatelnost plošnice zapamatovaly stejně dobře a nelišily se ani v latenci přiblížení a napadení plošnice, ani v počtu napadených, zabitých a konzumovaných ploštic v druhém dni experimentu. Siddall & Marples (2008) testovali paměť mládřat kura domácího po 96 hodinách. Mládřata, která se učila diskriminovat mezi nejedlými žlutými granulemi a jedlými zelenými granulemi v přítomnosti 2-isobutyl-3-methoxypyrazinu si jako jediná i po tak dlouhé době naučené informace pamatovala. Mládřata, která byla otestována bez přítomnosti pyrazinu po uplynutí 96 hodin od posledního kola učení, vykazovala známky vyhasínání paměti. Je tedy možné, že bychom rozdíl mezi skupinami testovanými s aldehydy a bez aldehydů také pozorovali, pokud bychom paměťový test provedli po delší době, než den následující po fázi učení.

Srovnáním průběhu učení a paměťového testu v rámci každé skupiny zvlášť jsme zjistili, že se u skupiny testované bez aldehydů v paměťovém testu marginálně prodloužila latence napadení *P. apterus*. U skupiny testované s aldehydy se latence napadení plošnice během učení a v paměťovém testu neliší, protože už první den experimentu byla díky přítomnosti aldehydů dlouhá.

Počet napadených, zabitých a konzumovaných *P. apterus* v paměťovém testu výrazně poklesl pouze u skupiny testované bez aldehydů. U skupiny testované s aldehydy lehce poklesl počet napadených ploštic zatímco počet zabitých a konzumovaných ploštic během učení a v paměťovém testu zůstal stejný. Skupina testovaná s *P. tibialis*

s aldehydy měla podobné výsledky jako skupina testovaná s *P. apterus* bez aldehydů, poučily se o nepoživatelnosti ploštic rovnocenně.

6.2. SROVNÁNÍ MLÁĎAT A DOSPĚLÝCH PTÁKŮ

S plošticí *Pyrrhocoris tibialis* jsme testovali jak naivní ručně odchovaná mláďata, tak dospělé z přírody odchycené sýkory koňadry, proto můžeme srovnat chování těchto dvou testovaných skupin lišících se věkem a zkušenostmi vůči neaposematické plošticí v přítomnosti a nepřítomnosti aldehydů.

Mláďata se k první předložené plošticí přiblížila stejně rychle jako dospělí, ale poté mláďata plošticí napadla výrazně rychleji než dospělí. Latence přiblížení a napadení první ploštice nebyla závislá na přítomnosti aldehydů a nebyl nalezen ani vliv interakce aldehydů a věku predátorů. Tento výsledek opět potvrzuje fakt, že mláďata sýkor koňader nemají žádnou vrozenou iniciální opatrnost vůči kořisti nového vzhledu (Exnerová et al., 2007; Hotová Svádová et al., 2013).

Celkový počet napadených, zabitých a konzumovaných ploštic byl během učení vždy u mláďat vyšší než u dospělých, vliv aldehydů ani interakce věku a přítomnosti aldehydů roli nehrála. Mláďata napadla obvykle dvě až tři ploštice a konzumovala alespoň jednu, zatímco dospělí napadli jednu nebo žádnou a většinou žádnou nekonzumovali.

Exnerová et al. (2015) testovali reakci sýkor koňader dvou geograficky oddělených populací (české a finské) na aposematickou *P. apterus* a neaposematickou hnědě obarvenou variantu *P. apterus*. Ve Finsku se *P. apterus* přirozeně nevyskytuje a tudíž v tomto experimentu figurovaly dospělé finské sýkory jako naivní. Neaposematickou plošticí napadlo stejné množství českých a finských sýkor, ale aposematická ploštice byla mnohem častěji napadána finskými sýkorami než českými. Finské dospělé sýkory se však naučily aposematickým plošticím vyhýbat často už po prvním kole, tedy mnohem rychleji, než mláďata testovaná v naší práci bez přítomnosti aldehydů. Pomalejší učení mláďat sýkor koňader pozorovali také Svádová et al. (2009). Exnerová et al. (2015) si rozdíl vysvětluje tím, že finské dospělé sýkory odchycené z volné přírody už mají zkušenosti s nepoživatelnou kořistí, i když odlišného vzhledu než *P. apterus*, což jim díky generalizaci pomohlo zrychlit proces učení. Alternativně bychom rozdíl mohli vysvětlit tak, že mláďata během experimentu celkově více

zkoumala svoje okolí a reagovala i na podněty, které se samotným experimentem nespojují (například na papírek s číslem pokusu na boku klece) a pohybující se ploštice pro ně byly velmi atraktivní. Některá mláďata o ploštici projevila zájem, až když se začala hýbat. Dospělí ptáci se chovali opatrněji. Podobné rozdíly v chování mezi mláďaty a dospělými pozoroval u sýkor koňader i Vince (1960).

Věk, přítomnost aldehydů ani interakce obou faktorů neměly vliv na pravděpodobnost zabití napadených ploštic *P. tibialis*.

6.3. DOSPĚLÍ PTÁCI

Je známo, že dospělé odchycené sýkory koňadry víceméně nenapadají aposematické ploštice *Pyrrhocoris apterus* (Exnerová et al., 2003; Exnerová et al., 2007) a vyhýbají se i dalším druhům aposematických ploštic (Sillén-Tullberg et al., 1982; Svádová et al., 2010). Proto jsme u dospělých z přírody odchycených sýkor testovali reakci na přirozenou neaposematickou kořist *Pyrrhocoris tibialis* a jako aposematickou alternativu k *P. apterus* jsme zvolili kořist umělou – červeně obarvené larvy potměnka moučného. Stejně jako u mláďat jsme sledovali vliv přítomnosti aldehydů na iniciální reakci, průběh učení a paměť sýkor. Kromě toho jsme u jedné experimentální skupiny otestovali významnost aldehydů jako diskriminačního kritéria a porovnali jsme jejich důležitost s kritériem barvy kořisti.

U sýkor které byly testované s plošticí *P. tibialis* nebyl nalezen žádný rozdíl mezi skupinami testovanými s aldehydy a bez aldehydů. Latence prvního přiblížení k ploštici i napadení ploštice byly u obou testovaných skupin stejné. Malečková (2011) předkládala sýkorám koňadrám 10 přirozeně zbarvených larev potměnka moučného, druhá až šestá larva byla podávána se stejnou směsí aldehydů, jakou jsme použili v experimentech my. U sedmé až desáté podávané larvy způsobila předchozí přítomnost aldehydů prodlouženou latenci napadení kořisti, i když zde už aldehydy přítomné nebyly. To, že Malečková narozdíl od nás našla efekt aldehydů i u neaposematické kořisti může být dáno odlišností experimentálního designu. My jsme ve skupině testované s aldehydy podávali sýkorám ploštici vždy v přítomnosti aldehydů a nenásledovala žádná kola bez aldehydů, tak jako ve srovnávané práci. Alternativně by se pozorovaný rozdíl dal vysvětlit tím, že larvy potměnka byly v experimentu Malečkové pro testované

sýkory známou kořistí, zatímco čínské ploštice *P. tibialis* byly pro sýkory v našem experimentu nové. Je tedy možné, že se v přítomnosti nové kořisti orientovaly obě testované skupiny shodně primárně podle vzhledu kořisti, pachu aldehydů nevěnovaly pozornost a proto na ně neměl vliv. Při testování dospělých sýkor jsme sledovali i vliv pohlaví a věku sýkor na jejich chování. Věk na latenci přiblížení k ploštici a latenci napadení ploštice vliv neměl, ale marginální vliv mělo pohlaví. Latence byly v obou případech mírně delší u samců testovaných v přítomnosti aldehydů.

Průběh učení byl v našem experimentu také nezávislý na přítomnosti aldehydů, mezi testovanými skupinami se nelišily ani počty napadených, zabitých a konzumovaných ploštic, ani pravděpodobnost, že budou napadené ploštice zabity. Obě skupiny se tedy poučily stejně rychle. Narozdíl od latencí nemělo na počty ploštic vliv pohlaví, ale věk sýkor. V přítomnosti aldehydů víceletí ptáci napadli, zabili a konzumovali signifikantně více ploštic než ptáci jednoletí. Ve skupině testované bez aldehydů žádný takový rozdíl pozorován nebyl. Tento výsledek odpovídá předchozím studiím, ve kterých bylo zjištěno, že se jednoleté sýkory koňadry chovají ve srovnání s víceletými opatrněji i vůči různě barevným formám *Pyrrhocoris apterus* (Exnerová et al., 2006) a černo-žlutě pruhovaným larvám potemníka moučného (Lindström et al., 1999a). Narozdíl od těchto studií nenašla Malečková (2011) rozdíl mezi jednoletými a víceletými sýkorami v chování vůči larvám potemníka moučného předkládaným se směsí aldehydů. V práci Malečkové však sýkory reagovaly na neaposematickou kořist známého vzhledu, ve srovnávaných studiích, včetně té naší, se sýkory setkaly buď s aposematickou kořistí nebo s kořistí, kterou dříve neznaly.

Sýkory si naučené informace shodně pamatovaly do druhého dne experimentu. V paměťovém testu jsou latence napadení ploštice stejně dlouhé a také se v závislosti na přítomnosti aldehydů neliší počty napadených, zabitých a konzumovaných *P. tibialis*. Jak u skupiny testované s aldehydy, tak u skupiny bez aldehydů se v paměťovém testu signifikantně prodloužila latence napadení první ploštice a také se snížily počty napadených, zabitých a konzumovaných *P. tibialis*. Obě testované skupiny se tedy stejně kvalitně poučily o nepoživatelnosti *P. tibialis*.

U dospělých sýkor testovaných s načerveno obarvenými larvami potemníka moučného také nebyl pozorován rozdíl mezi skupinami testovanými bez aldehydů a s aldehydy. Latence přiblížení k první předložené červené larvě potemníka, ani latence napadení larvy se v závislosti na přítomnosti aldehydů nelišila. Věk ani pohlaví dospělých sýkor neměly na latenci přiblížení či napadení žádný vliv ani u skupiny testované s aldehydy,

ani bez aldehydů. Aldehydy neměly vliv ani na další průběh učení - počet napadených, zabitých a konzumovaných larev byl u obou testovaných skupin stejný a nelišila se ani praavděpodobnost zabití napadených larev. U skupiny testované bez aldehydů neměly věk ani pohlaví sýkor vliv na počty larev, u skupiny testované s aldehydy mělo na počet konzumovaných larev vliv pohlaví, přičemž samci konzumovali více larev. V průběhu učení se prodlužují latence napadení nepoživatelných červených larev, zatímco latence napadení kontrolních larev přirozené barvy a chuti zůstávají stále stejně krátké. Tento trend je stejný u skupiny testované bez aldehydů i s aldehydy. Latence prvního přiblížení i napadení červené larvy je nezávisle na přítomnosti aldehydů stejná i v paměťovém testu, stejně tak i počty napadených, zabitých a konzumovaných červených larev. Oproti učení se v paměťovém testu u obou testovaných skupin prodloužily latence napadení a snížily počty napadených, zabitých a konzumovaných červených larev.

Srovnáme-li skupiny dospělých sýkor testovaných s *P. tibialis* a s červenými larvami potemníka moučného, vidíme, že se sýkory chovaly vůči těmto dvěma druhům kořisti prakticky stejně, přestože jde jednou o neaposematickou plošticí a podruhé o uměle aposematickou larvu potemníka. Oba druhy kořisti měly společné to, že byly pro sýkory nové.

Chemicko-optická multimodální signalizace je obvykle testována na umělé kořisti, výjimkou je práce testující reakci křepelky japonské (*Coturnix coturnix japonicus*) na multimodálně signalizující sluněčka sedmítečná (*Coccinella septempunctata*) (Marples et al., 1994). Autoři porovnávali význam jednotlivých obranných prvků sluněčka – aposematického zbarvení, hořké chuti a pachu pyrazinů. Ukázalo se, že samotný pach pyrazinů vyvolá u křepelk jen velmi slabý odpor, zatímco samotná barva vyvolala velmi silnou averzivní reakci. Výsledky tohoto experimentu korelují s našimi výsledky, kdy jsme také došli k závěru, že výstražná barva je důležitější obranný mechanismus kořisti než pach. Pokud měly v našem experimentu dospělé sýkory jako jediné diskriminační kritérium na rozlišování mezi jedlými a nejedlými načerveno obarvenými larvami potemníka moučného přítomnost pachu aldehydů, nebyly v diskriminování úspěšné. Sýkory se o napadení další předložené larvy rozhodovaly vždy podle poslední zkušenosti, a tudíž váhaly déle u jedlých červených larev, než u nejedlých, přestože v nejedlé byly podávány v přítomnosti aldehydů.

Barva je jako samostatný signál dostatečně silný na to, aby se pouze podle něj ptáci naučili diskriminovat mezi jedlou a nejedlou potravou (Ham et al., 2006). Podle autorů

této studie dokonce ani nezáleží na tom, zda nepoživatelná potrava nese barvu aposematickou (žlutou, oranžovou, červenou) nebo neutrální (šedou), všechny testované sýkory se naučily vyhýbat nejedlé potravě stejně rychle nezávisle na tom, s jakou barvou byla spjata.

Při srovnání důležitosti pachu aldehydů a barvy larvy jako diskriminačního kritéria v naší práci také jednoznačně převažuje význam barvy. Sýkory, které se učily rozeznávat jedlé a nejedlé larvy pouze na základě barvy, se to naučily rychle. Pokud měly sýkory k dispozici k barvě i pach aldehydů, nijak to průběh učení neurychlilo a pokud mohly diskriminovat pouze podle pachu aldehydů, nenaučily se to vůbec. Optický signál, v našem případě barva, je tedy pro učení dospělých sýkor koňader mnohem důležitější, než pach aldehydů.

Opticko-čichová multimodální signalizace může být studována i jinak, než v souvislosti s potravou. Roper & Marples (1997) sledovali, jak rychle se naivní mláďata kura domácího naučí vyhýbat vodě nepříjemné chuti na základě barvy vody a přítomnosti určitého aroma. Testované barvy byly zelená a modrá a aroma mandlové a vanilkové. Přítomnost mandlového aroma urychlila averzivní učení mláďat nezávisle na tom, zda byla testována se zelenou nebo modrou vodou. Vanilkové aroma takový efekt nemělo. Mláďata se také učila rychleji, pokud pro ně byla barva vody nová. Pokud mláďata diskriminovala mezi pitnou a nepitnou vodou pouze na základě přítomnosti aroma a voda byla bezbarvá, naučila se to rychleji v přítomnosti mandlového aroma než vanilkového. V našem experimentu se dospělé sýkory pouze na základě pachu aldehydů nenaučily diskriminovat mezi jedlou a nejedlou kořistí, na rozdíl od srovnávané studie, kde byla testována voda aposematicky nevýznamných barev či voda bezbarvá, šlo v našem případě o aposematicky zbarvenou kořist a síla barvy jako signálu zřejmě zastínila význam přítomnosti pachu aldehydů.

Důležitost výstražné barvy jako silného signálu porovnávali Aronsson & Gamberale-Stille (2008) s dalším diskriminačním kritériem – vzorem kořisti. Autoři zjistili, že se naivní mláďata kura domácího rozhodují při konzumaci potravy podle barvy více než podle vzoru, což opět souhlasí s výsledkem naší práce a potvrzuje význam barvy jako důležitého optického signálu vnímaného ptačími predátory.

7. ZÁVĚR

Tématem diplomové práce byla role aldehydů v multimodální výstražné signalizaci ploštic. Bylo otestováno několik druhů kořisti – aposematické ploštice *Pyrrhocoris apterus*, neaposematické ploštice *Pyrrhocoris tibialis* a červeně obarvené larvy potemníka moučného (*Tenebrio molitor*). Na základě výsledků experimentů prováděných s naivními ručně odchovanými mláďaty a dospělými z přírody odchycenými sýkorami koňadrami (*Parus major*) můžeme konstatovat, že:

- (1) Aldehydy vyvolávají u naivních sýkor koňader skrytou vrozenou averzi vůči výstražně zbarvené kořisti, zatímco u neaposematické kořisti tento efekt nezpůsobují.
- (2) Naivní sýkory napadaly v průběhu averzivního učení celkově více aposematických ploštic *P. apterus* než neaposematických *P. tibialis*. Aldehydy neměly na počet ploštic napadených a zabitých v průběhu učení vliv. V přítomnosti aldehydů pak naivní sýkory konzumovaly méně *P. apterus* než v jejich nepřítomnosti.
- (3) Napadené ploštice *P. tibialis* měly větší pravděpodobnost, že budou naivními sýkorami zabity než *P. apterus*. Přítomnost aldehydů snížila pravděpodobnost zabití obou druhů ploštic.
- (4) U dospělých z přírody odchycených sýkor koňader testovaných s plošticí *P. tibialis* nebo s červenými larvami potemníka moučného neměla přítomnost směsi aldehydů vliv na iniciální reakci, ani na průběh učení a paměť.
- (5) Při diskriminaci mezi jedlou a nejedlou kořistí je pro dospělé sýkory koňadry důležitějším kritériem barva kořisti než pach aldehydů.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

* značí sekundární citace

Aldrich, J. (1988). Chemical ecology of the Heteroptera. *Annual review of entomology* 33, 211-238.

Aronsson, M., and Gamberale-Stille, G. (2008). Domestic chicks primarily attend to colour, not pattern, when learning an aposematic coloration. *Animal Behaviour* 75, 417-423.

Bednářová, H. (2013). Antipredační funkce multimodálních výstražných signálů.

*Berkhoudt, H. (1985). Structure and function of avian taste receptors. Form and function in birds 3, 463-496.

Conner, W.E., Alley, K.M., Barry, J.R., and Harper, A.E. (2007). Has vertebrate chemesthesis been a selective agent in the evolution of arthropod chemical defenses? *The Biological Bulletin* 213, 267-273.

Coppinger, R.P. (1970). The effect of experience and novelty on avian feeding behavior with reference to the evolution of warning coloration in butterflies. II. Reactions of naive birds to novel insects. *American Naturalist*, 323-335.

Cott, H.B. (1940). Adaptive coloration in animals.

Del Hoyo, J., Elliot A, Christie D, and Boles W. (2007). *Handbook of the birds of the World*.

Donner, K.O. (1951). The visual acuity of some passerine birds.

Dumbacher, J.P., Menon, G.K., and Daly, J.W. (2009). Skin as a toxin storage organ in the endemic New Guinean genus *Pitohui*. *The Auk* 126, 520-530.

*Duncan, C. (1960). The sense of taste in birds. *Annals of Applied Biology* 48, 409-414.

Eisner, T., and Meinwald, J. (1966). Defensive secretions of arthropods. *Science* 153, 1341-1350.

Espmark, Y., Amundsen, T., and Rosenqvist, G. (2000). *Animal signals: signalling and signal design in animal communication* (Tapir Academic Press).

Exnerová, A., Ježová, D., Štys, P., Doktorovová, L., Rojas, B., and Mappes, J. (2015). Different reactions to aposematic prey in 2 geographically distant populations of great tits. *Behavioral Ecology* 26, 1361-1370.

Exnerová, A., Landová, E., Štys, P., Fuchs, R., Prokopová, M., and Cehláriková, P. (2003). Reactions of passerine birds to aposematic and non-aposematic firebugs (*Pyrrhocoris apterus*; Heteroptera). *Biological Journal of the Linnean Society* 78, 517-525.

Exnerová, A., Svádová, K., Štys, P., Barcalova, S., Landová, E., Prokopova, M., Fuchs, R., and Socha, R. (2006). Importance of colour in the reaction of passerine predators to aposematic prey: experiments with mutants of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera). *Biological Journal of the Linnean Society* 88, 143-153.

Exnerová, A., Štys, P., Fučíková, E., Veselá, S., Svádová, K., Prokopová, M., Jarošík, V., Fuchs, R., and Landová, E. (2007). Avoidance of aposematic prey in European tits (*Paridae*): learned or innate? *Behavioral Ecology* 18, 148-156.

Farine, J., Bonnard, O., Brossut, R., and Le Quere, J. (1992). Chemistry of defensive secretions in nymphs and adults of fire bug, *Pyrrhocoris apterus* L. (Heteroptera, Pyrrhocoridae). *Journal of chemical ecology* 18, 1673-1682.

Franzl, S., Nahrstedt, A., and Naumann, C.M. (1986). Evidence for site of biosynthesis and transport of the cyanoglucosides linamarin and lotaustralin in larvae of *Zygaena trifolii* (Insecta: Lepidoptera). *Journal of insect physiology* 32, 705-709.

- Fullard, J.H., Fenton, M.B., and Simmons, J.A. (1979). Jamming bat echolocation: the clicks of arctiid moths. *Canadian Journal of Zoology* 57, 647-649.
- Grafe, T.U., Preininger, D., Sztatecsny, M., Kasah, R., Dehling, J.M., Proksch, S., and Hödl, W. (2012). Multimodal communication in a noisy environment: a case study of the Bornean rock frog *Staurois parvus*. *PLoS One* 7, e37965.
- Gregorovičová, M. (2015). Role of individual chemical compounds of repellent secretion of *Graphosoma lineatum* towards different predator species.
- Gregorovičová, M., and Černíková, A. (2015a). Reactions of green lizards (*Lacerta viridis*) to major repellent compounds secreted by *Graphosoma lineatum* (Heteroptera: Pentatomidae). *Zoology* 118, 176-182.
- Gregorovičová, M., and Černíková, A. (2015b). Reactions of leopard geckos (*Eublepharis macularius*) to defensive secretion of *Graphosoma lineatum* (Heteroptera Pentatomidae): an experimental approach. *Ethology Ecology & Evolution*, 1-18.
- Ham, A., Ihalainen, E., Lindström, L., and Mappes, J. (2006). Does colour matter? The importance of colour in avoidance learning, memorability and generalisation. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 60, 482-491.
- Hill, A. (1905). Can birds smell? *Nature* 71, 318-319.
- Hotová Svádová, K., Exnerová, A., Kopečková, M., and Štys, P. (2013). How do predators learn to recognize a mimetic complex: experiments with naïve great tits and aposematic Heteroptera. *Ethology* 119, 814-830.
- Jacob, S., Rieucou, G., and Heeb, P. (2011). Multimodal begging signals reflect independent indices of nestling condition in European starlings. *Behavioral Ecology* 22, 1249-1255.
- Järvi, T., Sillen-Tullberg, B., and Wiklund, C. (1981). The cost of being aposematic. An experimental study of predation on larvae of *Papilio machaon* by the great tit *Parus major*. *Oikos*, 267-272.

- Jetz, W., Rowe, C., and Guilford, T. (2001). Non-warning odors trigger innate color aversions—as long as they are novel. *Behavioral Ecology* *12*, 134-139.
- Kelly, D.J., and Marples, N.M. (2004). The effects of novel odour and colour cues on food acceptance by the zebra finch, *Taeniopygia guttata*. *Animal Behaviour* *68*, 1049-1054.
- Krajíček, J., Havlikova, M., Bursova, M., Ston, M., Cabala, R., Exnerova, A., Stys, P., and Bosakova, Z. (v tisku). Comparative analysis of volatile defensive secretions of three species of Pyrrhocoridae (Insecta: Heteroptera) by gas chromatography-mass spectrometric method.
- Kristenová, M., Exnerová, A., and Stys, P. (2011). Seed preferences of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera: Pyrrhocoridae): Are there specialized trophic populations? *European Journal of Entomology* *108*, 581.
- Kulahci, I.G., Dornhaus, A., and Papaj, D.R. (2008). Multimodal signals enhance decision making in foraging bumble-bees. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* *275*, 797-802.
- Lindström, L. (1999). Experimental approaches to studying the initial evolution of conspicuous aposematic signalling. *Evolutionary Ecology* *13*, 605-618.
- Lindström, L., Alatalo, R.V., and Mappes, J. (1997). Imperfect Batesian mimicry—the effects of the frequency and the distastefulness of the model. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* *264*, 149-153.
- Lindström, L., Alatalo, R.V., and Mappes, J. (1999a). Reactions of hand-reared and wild-caught predators toward warningly colored, gregarious, and conspicuous prey. *Behavioral Ecology* *10*, 317-322.
- Lindström, L., Alatalo, R.V., Mappes, J., Riipi, M., and Vertainen, L. (1999b). Can aposematic signals evolve by gradual change? *Nature* *397*, 249-251.

- Maan, M.E., and Cummings, M.E. (2012). Poison frog colors are honest signals of toxicity, particularly for bird predators. *The American Naturalist* 179, E1-E14.
- Malečková, D. (2011). Reactions of bird predators on components of repellent secretion of Heteroptera.
- Marples, N., and Kelly, D. (1999). Neophobia and dietary conservatism: two distinct processes? *Evolutionary Ecology* 13, 641-653.
- Marples, N.M., and Roper, T.J. (1996). Effects of novel colour and smell on the response of naive chicks towards food and water. *Animal Behaviour* 51, 1417-1424.
- Marples, N.M., Roper, T.J., and Harper, D.G. (1998). Responses of wild birds to novel prey: evidence of dietary conservatism. *Oikos*, 161-165.
- Marples, N.M., van Veelen, W., and Brakefield, P.M. (1994). The relative importance of colour, taste and smell in the protection of an aposematic insect *Coccinella septempunctata*. *Animal Behaviour* 48, 967-974.
- Mason, J.R., and Clark, L. (2000). The chemical senses in birds. *Sturkie's avian physiology*, 39-56.
- Mench, J. (2002). Broiler breeders: feed restriction and welfare. *World's Poultry Science Journal* 58, 23-29.
- Noge, K., Prudic, K.L., and Becerra, J.X. (2012). Defensive roles of (E)-2-alkenals and related compounds in Heteroptera. *Journal of chemical ecology* 38, 1050-1056.
- Olofsson, M., Vallin, A., Jakobsson, S., and Wiklund, C. (2011). Winter predation on two species of hibernating butterflies: monitoring rodent attacks with infrared cameras. *Animal behaviour* 81, 529-534.
- Partan, S., and Marler, P. (1999). Communication goes multimodal. *Science* 283, 1272.

- Partan, S.R., and Marler, P. (2005). Issues in the classification of multimodal communication signals. *The American Naturalist* 166, 231-245.
- Pekar, S. (2014). Comparative analysis of passive defences in spiders (Araneae). *Journal of Animal Ecology* 83, 779-790.
- Ratcliffe, J.M., and Nydam, M.L. (2008). Multimodal warning signals for a multiple predator world. *Nature* 455, 96-99.
- Roper, T.J. (1997). How birds use sight and smell. *Journal of Zoology* 243, 211-213.
- Roper, T.J., and Marples, N.M. (1997). Odour and colour as cues for taste-avoidance learning in domestic chicks. *Animal Behaviour* 53, 1241-1250.
- Rowe, C., and Guilford, T. (1996). Hidden colour aversions in domestic chicks triggered by pyrazine odours of insect warning displays.
- Rowe, C., and Guilford, T. (1999a). The evolution of multimodal warning displays. *Evolutionary Ecology* 13, 655-671.
- Rowe, C., and Guilford, T. (1999b). Novelty effects in a multimodal warning signal. *Animal Behaviour* 57, 341-346.
- Rowe, C., and Halpin, C. (2013). Why are warning displays multimodal? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 67, 1425-1439.
- Royama, T. (1970). Factors governing the hunting behaviour and selection of food by the great tit (*Parus major* L.). *The Journal of Animal Ecology*, 619-668.
- Ruxton, G.D., Sherratt, T.N., and Speed, M.P. (2004). *Avoiding attack* (Oxford University Press).
- Schmidt, J.O. (1990). *Insect defenses: adaptive mechanisms and strategies of prey and predators* (SUNY Press).

- Schuh, R.T., and Slater, J. (1995). True bugs of the world. Comstock, Ithaca, New York.
- Siddall, E.C., and Marples, N.M. (2008). Better to be bimodal: the interaction of color and odor on learning and memory. *Behavioral Ecology* 19, 425-432.
- Sillén-Tullberg, B., Wiklund, C., and Järvi, T. (1982). Aposematic coloration in adults and larvae of *Lygaeus equestris* and its bearing on Müllerian mimicry: an experimental study on predation on living bugs by the great tit *Parus major*. *Oikos*, 131-136.
- Skelhorn, J., and Rowe, C. (2005). Frequency-dependent taste-rejection by avian predation may select for defence chemical polymorphisms in aposematic prey. *Biology letters* 1, 500-503.
- Skelhorn, J., and Rowe, C. (2006a). Avian predators taste–reject aposematic prey on the basis of their chemical defence. *Biology Letters* 2, 348-350.
- Skelhorn, J., and Rowe, C. (2006b). Prey palatability influences predator learning and memory. *Animal Behaviour* 71, 1111-1118.
- Skelhorn, J., and Rowe, C. (2009). Distastefulness as an antipredator defence strategy. *Animal Behaviour* 78, 761-766.
- Smith, C.L., and Evans, C.S. (2013). A new heuristic for capturing the complexity of multimodal signals. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 67, 1389-1398.
- Socha, R. (1993). *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera)-an experimental model species: a review. *Eur J Entomol* 90, 241-286.
- Staddon, B.W. (1979). The scent glands of Heteroptera. *Adv Insect Physiol* 14, 351-418.
- Staples, J.K., Krall, B.S., Bartelt, R.J., and Whitman, D.W. (2002). Chemical defense in the plant bug *Lopidea robiniae* (Uhler). *Journal of chemical ecology* 28, 601-615.

- Steiger, S.S., Fidler, A.E., Valcu, M., and Kempenaers, B. (2008). Avian olfactory receptor gene repertoires: evidence for a well-developed sense of smell in birds? *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 275, 2309-2317.
- Svádová, K., Exnerová, A., Štys, P., Landova, E., Valenta, J., Fučíková, A., and Socha, R. (2009). Role of different colours of aposematic insects in learning, memory and generalization of naive bird predators. *Animal Behaviour* 77, 327-336.
- Svádová, K.H., Exnerová, A., Kopecková, M., and Stys, P. (2010). Predator dependent mimetic complexes: Do passerine birds avoid Central European red-and-black Heteroptera? *European Journal of Entomology* 107, 349.
- Svensson, L., Mullarney, K., Zetterström, D., Grant, P.J., and Doležal, R. (2012). Ptáci Evropy, severní Afriky a Blízkého Východu (Ševčík).
- Šanda, M., Žáček, P., Streinz, L., Dračínský, M., and Koutek, B. (2012). Profiling and characterization of volatile secretions from the European stink bug *Graphosoma lineatum* (Heteroptera: Pentatomidae) by two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 881, 69-75.
- Šťastný, K., Bejček, V., and Hudec, K. (2006). Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice, 2001-2003 (Aventinum).
- Taylor, R.C., Klein, B.A., Stein, J., and 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, 815-820.
- Vallin, A., Jakobsson, S., Lind, J., and Wiklund, C. (2005). Prey survival by predator intimidation: an experimental study of peacock butterfly defence against blue tits. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 272, 1203-1207.
- Vince, M. (1960). Developmental changes in responsiveness in the Great Tit (*Parus major*). *Behaviour* 15, 219-242.

Wenzel, B.M. (1987). The olfactory and related systems in birds. *Annals of the New York Academy of Sciences* 519, 137-149.

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

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