

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Lucie Pešková

Vliv inkubační teploty na vývoj ptačího embrya

Influence of incubation temperature on avian embryo development

Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. Mgr. Miroslav Šálek, Ph.D.

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

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci zpracovala samostatně a na základě konzultace se svým školitelem, a že jsem řádně uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce, ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 15. 5. 2017

Podpis:

Poděkování:

Ráda bych touto cestou poděkovala mému školiteli prof. Mgr. Miroslavu Šálkovi, Ph.D. za ochotu, pomoc a cenné rady při směřování této práce. Poděkování patří také doc. Mgr. Tomáši Albrechtovi, Ph.D. Děkuji též mé rodině, za věcné připomínky a psychickou odolnost, kterou její jednotliví členové prokázali během doby, kdy jsem tuto práci sepisovala.

Abstrakt

Inkubace u ptáků je ovlivněna třemi základními faktory: teplotou, vlhkostí a otáčením vajec. Inkubační teplota může výrazně ovlivnit vývoj jedince před vylíhnutím, ale i po něm. V přírodě je inkubační teplota udržována rodičem, který se jí snaží stabilizovat v optimu vhodném pro vývoj. Rodič musí též během inkubace zajišťovat své potřeby, což vede ke kolísání teploty. Přestože je hodnota inkubační teploty druhově specifická, její střední hodnota se u všech skupin pohybuje mezi 30–40 °C. Nižší teploty, pohybující se stále v optimálním rozmezí, způsobují sníženou líhivost a prodloužení doby inkubace. Vyšší teploty způsobují zkrácení inkubační doby a též snižují líhivost. Inkubační teplota ovlivňuje hmotnost jedince, jeho tělesné proporce, metabolismus, přežívání po vylíhnutí a pravděpodobně i následný reprodukční úspěch (fitness). Detailní pochopení mechanismů, kterými teplota ovlivňuje vývoj embrya a jeho vlastnosti, je nezbytné mimo jiné i pro optimalizaci inkubačních metod v umělých líhních.

Klíčová slova: inkubace, teplota, reintrodukce, vejce, ptačí embryo, líhivost, délka inkubace

Abstract

Avian incubation is influenced by three basic factors: temperature, humidity, and egg rotation. The incubation temperature can significantly affect the development of an individual before hatching as well as after it. In natural conditions the incubation temperature is maintained by a parent trying to stabilize it at the developmental optimum. The parents must also provide their own needs during incubation, which results in temperature fluctuations. Although the incubation temperature is species-specific, its mean varies between 30 °C and 40 °C across all avian taxa. Lower temperatures but still within the optimum range cause reduced hatchability and prolongation of incubation period. Higher temperatures within the optimum range shorten incubation period and also reduce hatchability. Incubation temperature affects also the weight of an individual, its body proportions, metabolism, survival after hatching, and possibly also reproduction success (fitness). A detailed understanding of the mechanisms by which temperature affects the embryo development and its features is necessary, among others, to optimize incubation methods in artificial incubators.

Key words: incubation, temperature, reintroduction, egg, avian embryo, hatchability, incubation length

Obsah

1 Úvod	1
2 Atributy ovlivňující ptačí inkubaci	1
2. 1 Teplota	2
2. 2 Vlhkost	2
2. 3 Otáčení vajec	3
2. 4 Další atributy	3
3 Inkubační teplota	4
3. 2 Průběžné změny inkubační teploty	6
3. 1 Regulace inkubační teploty	7
3. 3 Vliv inkubační teploty	10
3. 3. 1 Faktory ovlivňující prohřívání vajec	10
3. 3. 2 Vliv inkubační teploty na líhivost	11
3. 3. 3 Vliv inkubační teploty na délku inkubace	14
3. 3. 4 Vliv inkubační teploty na poměr pohlaví	15
3. 3. 5 Vliv inkubační teploty na kvalitu mláďat	16
3. 3. 5. 1 Přežívání po vylíhnutí	16
3. 3. 5. 2 Vliv na hmotnost	18
3. 3. 5. 3 Vliv na tělesné proporce	19
3. 3. 5. 4 Vliv na metabolismus a imunitu	20
3. 3. 5. 5 Vliv teploty na následný reprodukční úspěch	20
3. 4 Metodická úskalí při výzkumu inkubační teploty	21
3. 4. 1 Senzory pro měření	21
3. 4. 2 Výplň měřícího vejce	22
3. 5 Inkubační teplota a reintrodukční projekty	23
4 Závěr	25
5 Seznam použité literatury	27

1 Úvod

Embrya u ptáků se vyvíjejí mimo tělo matky. K zajištění relativně stabilního prostředí pro tento vývoj si ptáci vyvinuli několik postupů, z nichž zcela dominujícím je zahřívání vlastním tělesným teplem, neboť mají, například na rozdíl od plazů (Reptilia), stálou tělesnou teplotu. Přesto je zárodek vystaven proměnám způsobeným, jak vnějšími faktory, tak i chováním rodičů. Díky tomu jsou embrya v řadě ohledů výrazně zranitelnější, než je tomu u jiných obratlovců, například u savců. Ukazuje se, že prostředí, kterému je jedinec vystaven před vylíhnutím, jej ovlivňuje mnohem více, než se předpokládalo, stejně tak jako podmínky, kterým je vystaven po vylíhnutí. K úspěšnému vývinu embrya ve vejci a vylíhnutí mláděte je potřeba vejce inkubovat. Inkubace je proces, při kterém jsou vejce udržována ve vhodném rozmezí teplot pro embryonální vývoj, při vhodné vlhkosti, která se pravidelně mění (kvůli zajištění výměny plynů) a také jsou pravidelně otáčena. Především pro odlišení od plazů se definice zpřesňuje doplněním, že inkubační teplota se pohybuje převážně mezi 37–38 °C a největší část energie je získávána od inkubujícího ptáka (rodiče) nikoliv z okolního prostředí (Deeming, 2002b). Inkubace vajec je zcela zásadní pro reprodukci všech ptačích druhů. Je prostředkem nejen k nastartování vlastní embryogeneze, ale hlavně k zdárnému průběhu a ukončení embryonálního vývoje. Existuje pouze několik málo ptačích druhů, které svá vejce neinkubují vlastním tělem (taboni, hnízdní parazité). Rodič během inkubace udržuje vyvíjející se embrya ve vhodném mikroklimatu, ale též svou přítomností a chováním výrazně snižuje riziko predace.

Nastavení inkubačních podmínek výrazně ovlivňuje úspěšnost líhnutí i následnou kvalitu mláďat. Svou roli může sehrát stabilita podmínek, ale i extrémní výkyvy, kterým je embryo vystaveno. Má práce shrnuje poznatky o vlivu inkubační teploty na líhivost, délku inkubace, poměr pohlaví a kvalitu mláďat u ptáků. Právě kvalita mláďat je velmi důležitá z praktického hlediska při odchovu pro reintrodukční projekty a může být hodnocena mnoha různými způsoby.

2 Atributy ovlivňující ptačí inkubaci

Správný průběh inkubace je zajištěn třemi základními faktory: teplotou, vlhkostí a otáčením vajec (Deeming, 2002b). Tyto atributy aktivně zajišťuje a koordinuje sám rodič (rodičové). I při umělé inkubaci je nezbytně nutné nezanedbat správné nastavení všech těchto faktorů. Podlimitní i nadlimitní hodnota jediného z nich během inkubace vede k zásadnímu navýšení

mortality embryí. Další popisované faktory, jako například vliv vystavení světlu či zvuková stimulace, jsou spíše doplňující, ale mohou rovněž ovlivnit mortalitu či kvalitu mláďat. V hnízdě navíc ovlivňují vývoj embrya (následně i mládě po vylíhnutí) ještě další faktory, například predace a parazitace (Hansell & Deeming, 2002). Míra predace výrazně ovlivňuje chování rodiče a délku jeho přítomnosti na hnízdě (Sonerud, 1985; Basso & Richner, 2015).

2. 1 Teplota

Vhodná teplota je zajišťována nejčastěji teplem, které produkuje sám rodič. Průměrné teploty nutné k optimálnímu vývoji embrya se mezi druhy liší méně výrazně než je tomu například u hodnot vlhkosti, kde bývají mezidruhové i vnitrodruhové rozdíly větší (Huggins, 1941; Smith et al., 2012). Detailněji viz kapitola 3 Inkubační teplota.

2. 2 Vlhkost

Vejde je relativně uzavřený systém. Během inkubace dochází kontinuálně ke ztrátám vody vypařováním skrze skořápečné póry, ale na druhou stranu později se voda začíná tvořit metabolismem samotného embrya. Proto je patrné kolísání koncentrace vody ve vejci v obou směrech, zprvu ztráta vody převyšuje nad metabolickou produkcí, následně v druhé části vývoje produkce vody převyšuje ztrátu, až nakonec těsně před vylíhnutím se relativní koncentrace vody ustavuje zhruba na počáteční hladině (Ar & Rahn, 1980). Regulace přiměřeného úbytku vody je stěžejní pro hydrataci tkání. Při nízké vlhkosti může dojít k vysušení embrya, naopak při příliš vysoké vlhkosti (nebo při nedostatečném vypařování vody z důvodu přílišné tloušťky skořápky) dochází k nesprávnému vývoji embrya a v důsledku absence vzduchové kapsy často k mortalitě embryí před líhnutím. Na druhé straně vysoká vlhkost při inkubaci pomáhá kompenzovat vysoké teploty okolního prostředí a zabraňuje vysoušení embrya při těchto teplotách (Piestun et al., 2008). Úroveň humidity má menší vliv na délku inkubace či líhivost vyvíjejícího se embrya než výška inkubační teploty, ale oproti tomu má větší vliv na průměrnou ztrátu hmotnosti vejce během inkubace (Prince et al., 1969). Manipulace s relativní vlhkostí prostředí se používá při umělé inkubaci k dosažení požadovaného úbytku hmotnosti vejce během vývoje. Její sledování je jedním ze způsobů, jak se dá při inkubaci v inkubátoru kontrolovat zdárný vývoj embrya, odpovídající vývoji v přírodě (Klimstra et al., 2009).

2. 3 Otáčení vajec

Otáčení vajec má u většiny druhů zásadní vliv na úspěšný vývoj embrya. Je pouze několik málo druhů ptáků, kteří vejce neotáčí, jelikož jim to většinou nedovoluje jejich umístění (taboni, kivi, rorýs palmový). Obecně se soudí, což ukazuje i praxe v líhních, že otáčení je nezbytné kvůli zamezení adheze embrya ke stěně vejce. U drůbeže (*Gallus gallus*) se uvádí, že stěžejní doba, kdy musí být vejce nezbytně otáčena, je mezi 4. a 7. dnem vývoje. Pokud není vejce tyto dny pravidelně otáčeno, dochází k výraznému snížení líhivosti (New, 1957). Nesprávná či hlavně nedostatečná frekvence otáčení může vést i k nesprávné distribuci proteinů z bílku a tedy k jejich nízké hladině ve žloutkovém vaku nebo k nízké tepové frekvenci a následně pomalejšímu vývoji embrya (Deeming, 2009).

2. 4 Další atributy

V souvislosti s inkubací je diskutován i vliv světelné expozice na embryo. V praxi se používají zabudované senzory v umělých vejcích snímající intenzitu světla, které pomáhají stanovit přesný čas a trvání nepřítomnosti inkubujícího jedince, což spolu s informací o teplotě může podávat ucelenější náhled na tuto problematiku (Smith et al., 2012).

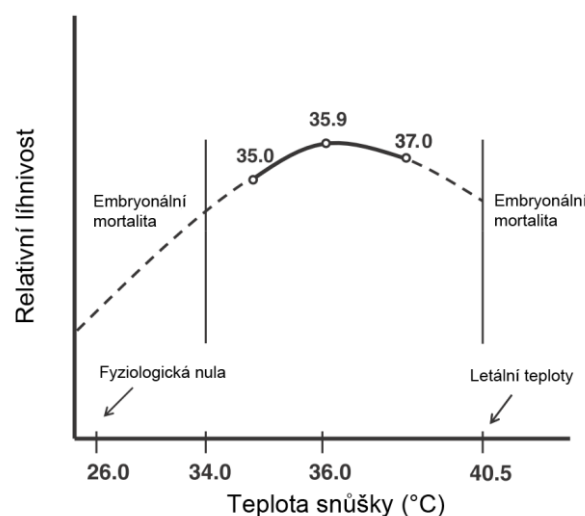
Přesto však teprve v poslední době se objevily práce ukazující, že samotná expozice světlu může mít u některých druhů ptáků vliv na líhivost. Vystavení klasickému bílému světlu zvyšuje hladinu serotoninu v těle, což může mít pozitivní vliv na metabolismus či vývoj nervového systému, a tak ovlivňovat kvalitu mláďat, jejich odolnost vůči stresu i délku inkubace embryí. Zda dojde ke zvýšení líhivosti závisí podle Huth & Archer (2015) na pigmentaci vejce. Ukázalo se, že velmi pozitivní vliv na líhivost má červená složka světla, zvýhodněna jsou tedy tmavší vejce, která jí propouští. Oproti tomu negativní vliv má modrá složka světla (Hluchý et al., 2012). Není zcela jasné, z jakého důvodu se efekt u líhivosti liší při použití různých složek světla (Austin et al., 2014; Huth & Archer, 2015). Též může mít vliv orientace samotného vejce ve snůšce či v inkubátoru. Vyšší líhivosti je dosaženo v případě, že jsou vejce inkubovaná v horizontální, nikoliv ve vertikální, poloze (Klimstra et al., 2009).

Vývoj embrya je pravděpodobně ovlivňován i vokalizací. Mezi embryem a rodičem totiž dochází v poslední fázi inkubace k vzájemné komunikaci. Embryo je schopno po protržení blány vzduchové komůrky vokalizací komunikovat s rodiči. Nejčastěji se zárodek ozývá ve spojitosti s nízkými teplotami, které pociťuje (Brua et al., 1996). Také rodiče zvukově

informují svá embrya ve vejci, tím intenzivněji, čím je venkovní teplota vyšší a blíží se líhnutí (Mariette & Buchanan, 2016).

3 Inkubační teplota

U naprosté většiny druhů ptáků se o udržení snůšky při optimální teplotě potřebné pro správný vývin mláďat ve vajíčku stará rodič (popř. oba rodičové), což je energeticky a časově náročné. Jedná se z pohledu rodiče o trade off mezi investicí do embrya a sebeudržováním (Conway & Martin, 2000a). Během inkubace není teplota zcela konstantní, naopak se mění, hlavně ve vztahu k vnější teplotě, podmínkám okolního prostředí (počasí, přítomnost vegetace, oslunění) a především chování rodiče. Tyto výkyvy nebo i pravidelné oscilace byly studovány jak u ptáků ve volné přírodě (Webb, 1987) tak i u ptáků chovaných v zajetí a inkubujících v klecích (Berntsen & Bech, 2016). Rodič se snaží udržet vejce ve vhodné teplotě pro optimální vývoj, která se pohybuje zhruba v rozmezí 30–40 °C (Webb, 1987), většinou však kolem 38 °C (Davis et al., 1984; Berntsen & Bech, 2016). U tučňáků se pohybuje optimální inkubační teplota jen kolem 32 °C (Webb, 1987). Vliv různých teplot na líhivost u kachniček karolínských ukazuje Obr. 1. Průběh křivky grafu je reprezentativní pro všechny ptačí druhy, pouze číselné hodnoty střední optimální teploty a rozmezí optimálních teplot pro inkubaci se u různých druhů ptáků liší (Huggins, 1941). U déle žijících druhů byly pozorovány v průměru nižší inkubační teploty než u druhů s kratší dobu dožití, což podle autora může souviset s menší investicí do péče o snůšku u dlouho žijících druhů (Martin et al., 2015).



Obr. 1: Závislost relativní líhivosti embrya na inkubační teplotě na příkladu kachniček karolínských (*Aix sponsa*) s vyznačeným optimálním teplotním rozmezím pro inkubaci 35–37 °C (upraveno podle DuRant et al., 2013b).

Příliš vysoké či nízké teploty negativně ovlivňují líhivost či kvalitu mláďat (Ardia et al., 2010; Wada et al., 2015). Na druhou stranu mohou mít do jisté míry i pozitivní vliv, např.: zvýšit toleranci vůči nízkým či vysokým teplotám, což je důležité pro přežívání po vylíhnutí u některých druhů (Piestun et al., 2008). Nízké teploty ihned po snesení vejce však některým druhům pravděpodobně nevdí, pouze zpomalí či zastaví vývoj embrya, který znovu započne po zahřátí na optimální teplotu. Toto oddálení nastartování embryogeneze zajišťuje synchronní líhnutí snůšky. Nízké teploty se využívá i při umělé inkubaci, kdy jsou vejce z provozních důvodů v praxi takto skladována při teplotě zhruba kolem 15 °C (Weinrich & Baker, 1978; Klimstra et al., 2009). Vlivem nepřítomnosti rodiče před začátkem inkubace může být vejce v některých zeměpisných šířkách vystaveno i vyšším teplotám než je optimální, například u zebřiček pestrých (*Taeniopygia guttata*) může teplota v hnízdě dosahovat i 51 °C, nebylo však prokázáno, že by takto vysoké teploty před začátkem inkubace měly na vývoj embrya vliv (Griffith et al., 2016).

Výzkumy potvrdily, že nezáleží pouze na výši teploty, které je embryo vystaveno, ale také na tom, v jaké fázi inkubace je těmto teplotám vystaveno. V různém čase může výrazně působit na vznik a vývoj orgánů i různých biochemických drah a ovlivnit tak například termoregulační schopnosti či odolnost vůči stresu v dospělosti (Yalcin & Siegel, 2003; Piestun et al., 2008; Wilsterman et al., 2015).

Řada prací zjišťovala, jak přesně rodič teplotu ovlivňuje a kolik úsilí musí na její udržení v optimálních hodnotách vynaložit (Davis et al., 1984; Nilsson et al., 2008; Alvarez & Barba, 2014; McClintock et al., 2014). Je z nich patrné, že se inkubující ptáci vyrovnávají velmi efektivně s nepředvídatelnými výkyvy venkovních teplot, ke kterým při běžných změnách počasí dochází. Embryo je pociťuje významně menší měrou, přičemž střídání teplot mezi dnem a nocí nepocítí téměř vůbec (Caldwell & Cornwell, 1975).

Velké teplotní oscilace pozorujeme u druhů uniparentálních, kde inkubuje nejčastěji pouze samice. V době, kdy potřebuje obstarat vlastní potřeby (krmení apod.), nemá žádného zástupce, takže vajíčka zanechá neinkubovaná a po návratu musí vynaložit o to větší energii k jejich opětovnému zahřátí. U druhů biparentálních se častěji větší měrou podílí na inkubaci samice a samec ji střídá především v době jejího krmení nebo jí sám zajišťuje potravu a tím zkracuje dobu, kdy snůška není inkubována. Inkubace uniparentální je pravděpodobně původním stavem, oproti tomu inkubace biparentální je stavem odvozeným (Tullberg et al., 2002). U poloviny všech ptačích čeledí inkubují vejce oba rodiče, u necelých 40 % inkubují pouze samice a u 6 % inkubují pouze samci (Deeming, 2002a). Udržení vejce v jeho teplotním

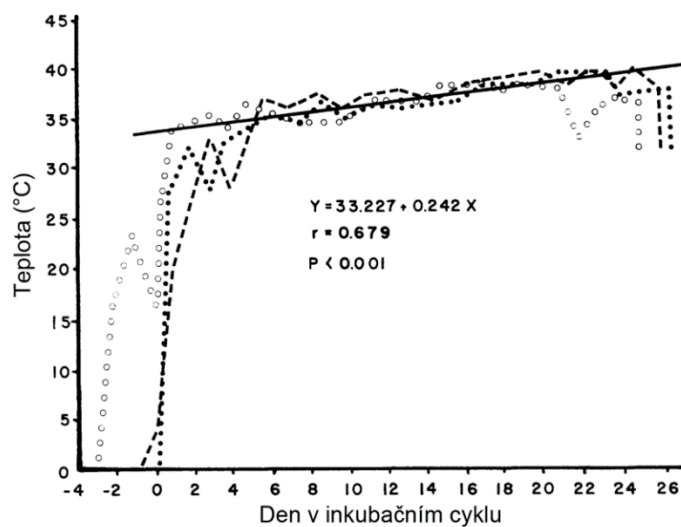
optimu rodič zajišťuje manipulací s intenzitou přenosu tepla a s dobou svého pobytu na hnízdě. Při nižších teplotách dochází zpravidla ke zkrácení doby nepřítomnosti (Davis et al., 1984; McClintock et al., 2014) a naopak při vyšších venkovních teplotách si rodič může dovolit vzdálit se od snůšky na delší dobu (Davis et al., 1984; Alvarez & Barba, 2014; McClintock et al., 2014). Nižší venkovní teplota však nemusí mít na rodiče podle některých výzkumů účinek žádný (Alvarez & Barba, 2014) nebo může mít účinek opačný, kdy rodič sníží intenzitu péče o snůšku a výrazněji se věnuje svým potřebám (Ardia et al., 2010). Příliš vysoké venkovní teploty mohou vyžadovat přítomnost rodiče, který vejce před osluněním a přehřátím ochrání. To bylo popsáno například u na zemi hnízdících druhů, jako je u strnádky skřivanovitá (*Calamospiza melanocorys*; With & Webb, 1993). Typickým příkladem na zemi hnízdícího druhu chránícího svá vejce před vysokými teplotami je kulík nilský (*Pluvianus aegyptius*). Ten kromě své přítomnosti reguluje teplotu snůšky též zahrabáváním vajec do písku či jejich zvlhčováním (Howell, 1979). Kromě venkovní teploty ovlivňuje dobu nepřítomnosti rodiče na hnízdě i hmotnost vejce. U vajec o hmotnosti 10–100 g rodič inkubuje 80 % času, oproti tomu u vajec nad 100 g věnuje rodič snůšce 90 % času a u vajec nad 500 g dokonce 99 % času. Podobné hodnoty jsou u druhů uniparentálních i biparentálních (Deeming, 2002a).

3. 2 Průběžné změny inkubační teploty

V přírodě i přes inkubaci oběma rodiči dochází k jistým teplotním oscilacím, které oproti tomu umělé odchovy za použití inkubátoru vylučují či je složité je simulovat (Smith et al., 2012). Vliv kolísání teplot při přirozené inkubaci není dostatečně znám a není jasné, jak ho napodobovat v umělých líhních. Autoři experimentů jsou si často vědomi těchto oscilací a imitují různými způsoby nepřítomnost rodičů a pokles teploty i při umělých inkubacích. Používaným postupem je například ochlazení 2x během jednoho dne po dobu jedné hodiny během celého inkubačního období (Hepp & Kennamer, 2012) nebo 1x denně po dobu 30 min. od 9. dne od snesení do konce inkubace (Koláčková et al., 2015). Ochlazení probíhá často na úroveň laboratorní teploty, neboť pro dosažení nižších teplot během kratšího času je nutný další inkubátor s nastavenou příslušnou teplotou. Z rozmezí hodnot je patrný nejednotný postoj k tomuto fenoménu.

Pozorování ve volné přírodě u kachničky karolínské (*Aix sponsa*) ukázala, že bez přítomnosti rodiče je hnízdo v průměru 2x denně, a to nejčastěji 1x ráno (po kratší dobu) a 1x večer (po delší dobu). Doba nepřítomnosti rodiče byla v průměru 100 minut (Manlove & Hepp, 2000), což zhruba odpovídá režimu umělé inkubace, který použili u stejného druhu Hepp &

Kennamer (2012). Avšak u kachen se doba nepřítomnosti (a tedy i nezahřívání) mírně liší v závislosti na umístění hnízda. Carter et al., (2014) se zaměřili na to, jaký vliv má délka a frekvence inkubačních pauz. V umělých líhních na vejcích kachniček karolínských zjišťovali, zda může být takto ovlivněn vývoj embryí. Inkubační doba se prodloužila o dva dny, jestliže vejce nebyla zahřívána (tj. imitace nepřítomnosti rodiče) 2x denně po dobu dvou hodin a poklesla-li teplota po tuto dobu pod 30 °C. Po srovnání s dalšími rozdílně inkubovanými skupinami se ukázalo, že největší podíl na prodloužení inkubace má délka simulované nepřítomnosti rodiče. Neprojevilo se žádný vliv na hmotnost či kondici mláďat, i rozdíly v líhivosti byly minimální.



Obr. 2: Graf změn inkubační teploty v průběhu inkubace u tří různých snůšek u kachny divoké (*Anas platyrhynchos*; upraveno podle Caldwell & Cornwell, 1975).

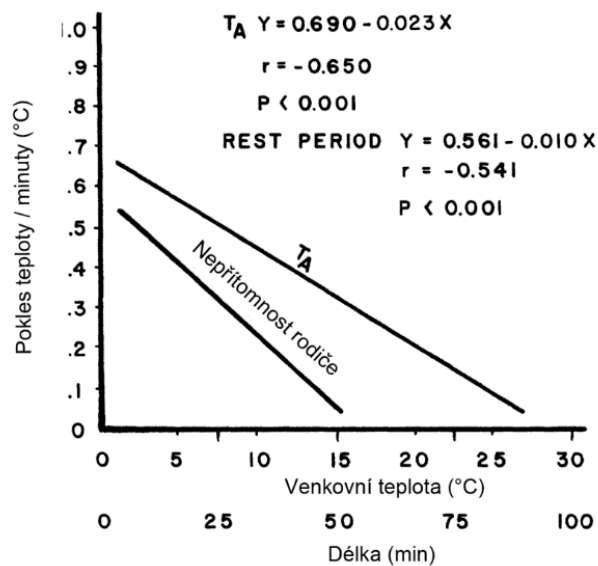
Ani průměrná teplota během inkubace nemusí být dlouhodobě konstantní, ale může vykazovat určitý trend. Caldwell & Cornwell (1975) ve studii na kachnách divokých (*Anas platyrhynchos*) ukázali, že v průběhu celé inkubace se průměrná teplota mírně zvyšuje (Obr. 2). To může částečně vysvětlit výraznější příspěvek metabolismu a tedy i tepla v druhé části inkubace od samotného vyvíjejícího se embrya.

3. 1 Regulace inkubační teploty

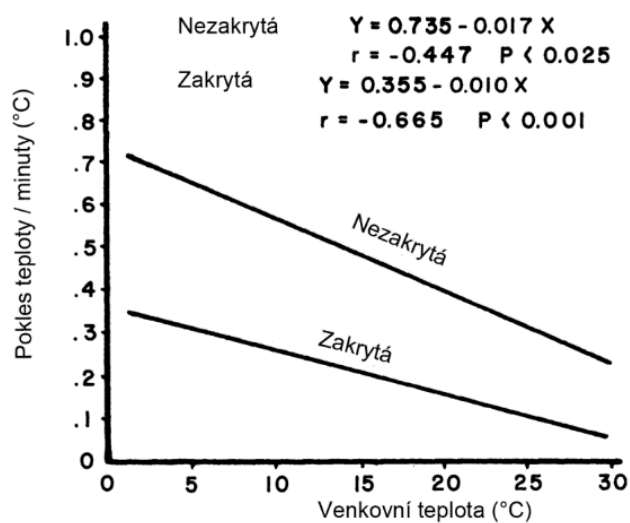
Během inkubace pečující pták zásadně změní své chování a vše podřídí péči o snůšku (Deeming, 2002a). Rodič zpravidla nevolí dobu své nepřítomnosti náhodně, ale s ohledem na okolní teplotu a hnízdo opouští v době, kdy je tato teplota nejbližší k inkubačnímu optimu (Reid et al., 1999; Conway & Martin, 2000a). Doba nepřítomnosti rodiče zásadně ovlivňuje

teplotu vajec (Tieleman et al., 2004). Na dobu i frekvenci opuštění snůšky má vliv okolní prostředí, a to především přítomnost predátorů (Sonerud, 1985; Conway & Martin, 2000b; Massaro et al., 2008; Basso & Richner, 2015). Během nepřítomnosti dospělce mohou vlivem okolní teploty vejce výrazně vychladnout a teplota (měřená ve vzduchové komůrce) může poklesnout i o 11 °C (Obr. 3; Caldwell & Cornwell, 1975). Pro stabilitu inkubační teploty většina ptáků (např. pěvci) investuje do stavby kvalitního hnízda s dobrou izolační schopností, která umožňuje hnízdění i v chladných obdobích či v oblastech s celoročně nižšími teplotami (Lombardo, 1994; Lombardo et al., 1995). K udržení teploty může též pomoci zakrytí hnízdním materiálem při opuštění snůšky, tzn. při absenci zdroje tepla (Obr. 4; Caldwell & Cornwell, 1975; Handrich, 1989; With & Webb, 1993). Kvůli ochraně před slunečním svitem a příliš vysokými teplotami může rodič u některých druhů ptáků (například u zebřičky pestré) opatřit hnízdo střechem, díky které je možné udržet v hnízdě teplotu o několik stupňů nižší (Griffith et al., 2016). Dalším, velmi unikátním způsobem, jak snížit teplotu snůšky během nepřítomnosti (a zabránit přehřívání), je její vyplnění světlými kameny, které odráží světlo, a zajišťují tak snížení teploty o několik stupňů, což bylo zjištěno u kulíka hvízdavého (*Charadrius melodus*; Mayer et al., 2009).

Odlišné inkubační podmínky se vyskytují u druhů, které hnízdo jako takové nestaví, avšak přesto místo pro svou budoucí snůšku nějak modifikují. Zde se může jednat například o důlek v hlíně či písku. Tvar a izolace takového hnízda se může výrazně lišit v závislosti na velikosti daného druhu, jak bylo zjištěno při pozorováních v chladnějších oblastech. Pro menší druhy (s menšími vejci) je důležité co nejvíce investovat do lépe krytého hnízda a kvalitní izolace, aby zpomalily ochlazování snůšky. Větší druhy naopak příliš do izolace neinvestují a tvoří pouze mělké důlky (Tulp et al., 2012). Jedinými dvěma druhy, jejichž vejce nejsou inkubována v hnízdě, jsou tučňák císařský (*Aptenodytes forsteri*; Stonehouse, 1956) a tučňák patagonský (*Aptenodytes patagonica*; Handrich, 1989). Oba druhy inkubují na nohách vejce je překryto kožním záhybem. Inkubační hromady u čeledi tabonovitých (Megapodiidae) lze považovat za specifický typ hnízda (Booth, 1987).



Obr. 3: Graf poklesu teploty vajec během nepřítomnosti rodičů v závislosti na venkovní teplotě (upraveno podle Caldwell & Cornwell, 1975).



Obr. 4: Graf poklesu teploty vejce v hnízdě vzhledem k venkovní teplotě u vajec zakrytých a nezakrytých materiálem (upraveno podle Caldwell & Cornwell, 1975).

3. 3 Vliv inkubační teploty

3. 3. 1 Faktory ovlivňující prohřívání vajec

Teplota vejce nezáleží pouze na kvalitě hnízda a intenzitě teploty, kterou embryu dodává rodič, ale i na vlastnostech (např. tvaru a velikosti) samotného vejce, velikosti snůšky a dalších vlivech okolního prostředí. U malých vajec (do 10 g) probíhá při nepřítomnosti inkubujícího rodiče výměna tepla hlavně mezi vejcem a vzduchem a vychládají tedy rychleji (Boulton & Cassey, 2012). U větších vajec 10–100 g je výraznější gradient mezi jádrem a povrchem vejce, tedy z jádra proudí pozvolna teplo přenosem do periferií. Tímto způsobem je zpomaleny snižování teploty během nepřítomnosti rodiče, ale po jeho návratu je nutné vynaložit k opětovnému zahřátí mnohem větší množství energie než u menších vajec (Deeming, 2002a).

Jiným aspektem ovlivňujícím inkubační teplotu jednotlivých vajec je velikost snůšky. Velká snůška vyžaduje k zahřívání více energie a větší kontaktní plochu, což může být limitující. V opačném směru to souvisí s vyšší setrvačností při ochlazování. U zebříček pestrých byl zkoumán vliv velikosti snůšky na inkubační teplotu, které je schopna docílit samice (Nord et al., 2010). Autoři této studie experimentálně manipulovali s venkovní teplotou a také s velikostí snůšky, jako kontrola byla použita snůška se 4 vejci při okolní teplotě 20 °C, zhruba odpovídající situaci v přírodě. S rostoucí velikostí snůšky (nad počet vajec přirozených pro tento druh v přírodě) klesala průměrná inkubační teplota. Boulton & Cassey (2012) zkoumali rychlost chladnutí snůšky u sýkory koňadry (*Parus major*) ve volné přírodě. Ukázalo se, že rychleji klesá teplota naopak při menším počtu vajec ve snůšce. Též nižší venkovní teploty měly za následek nižší teploty inkubace (Nord et al., 2010; Boulton & Cassey, 2012).

Rychlost ztráty tepla vejce závisí i na dalších aspektech. Vejce, která se nacházejí v pozdější fázi inkubace, dříve vychládají, než ta na počátku inkubace (Boulton & Cassey, 2012). Jedním z možných vysvětlení je rozvoj krevního oběhu v průběhu inkubace. Na počátku inkubace se teplo dostává do všech částí vejce rovnoměrně, ale později, právě díky krevnímu oběhu, je teplo distribuováno nerovnoměrně, méně do středu vejce a naopak dochází k většímu oteplování povrchu a následně pak k rychlejšímu vychládání (Turner, 1987).

Rychleji klesá povrchová teplota vajec umístěných dále od středu snůšky (Boulton & Cassey, 2012). I z tohoto důvodu inkubující samice častěji v rámci snůšky přemisťují vejce, která jsou dále od středu než ta, která jsou k němu blíže (Griffith et al., 2016). Pokles teploty při nepřítomnosti rodiče závisí též na orientaci jednotlivých vajec a jejich uspořádání ve snůšce.

Jak bylo zjištěno u křepelek (*Coturnix japonica*) i samotné vejce neztrácí teplotu ve všech částech identicky. Tupý konec vejce ztrácí teplotu pomaleji než ostrý. Jsou-li vejce ve snůšce orientována tupým koncem směrem od středu snůšky je teplota ve středu snůšky vyšší než při orientaci vajec opačným směrem (Šálek & Zárybnická, 2015). To může ptákům umožňovat do jisté míry manipulovat mikroklimatickými poměry ve snůšce v závislosti na tom, zda jsou vejce vystavena chladu nebo naopak riziku přehřátí.

3. 3. 2 Vliv inkubační teploty na líhivost

Líhivost je velmi dobře a jasně stanovitelná veličina. Vyjadřuje se jako poměr mezi počtem oplozených vajec na začátku inkubace a počtem úspěšně vyklubaných mláďat. Mortalita embryí je způsobena mnoha faktory, avšak přesné souvislosti s podmínkami při inkubaci nejsou známy. V přírodě bývá za optimálních podmínek líhivost vysoká (více než 90 %; Koenig, 1982), naopak při umělé inkubaci bývá výrazně nižší (Klimstra et al., 2009; Smith et al., 2011). Při pokusech s domestikovanými i divokými druhy ptáků, jejichž vejce byla uměle inkubována, se zjistilo, že při stejných podmínkách je líhivost zcela rozdílná mezi odlišnými skupinami ptáků, ale i mezi blízkce příbuznými druhy, což může souviset mimo jiné s odchýlením od přírodních podmínek, a tedy ukazovat na druhovou specifitu inkubační teploty a jejího průběhu (Klimstra et al., 2009; Smith et al., 2012).

Wada et al. (2015) studovali, jak různé výšky teplot během umělé inkubace vajec zebřiček pestrých ovlivňují líhivost. Skupiny inkubovaných vajec byly vystaveny odlišným teplotám (viz Tab. 1). Nejvyšší líhivost 84,6 % byla zjištěna u kontrolní skupiny s optimální teplotou 37,4 °C a zdaleka nejnižší líhivost 59,1 % u nejvyšší teploty 38,4 °C, což je o ¼ méně než u kontrolní skupiny. Snížená líhivost při vyšších teplotách (38,3 °C) byla pozorována též při umělé inkubaci drůbeže (*Gallus gallus*; Tab. 1). Zvýšená mortalita zde byla zaznamenána v pozdní fázi inkubace, při prvotním proražení skořápky a následně i bezprostředně po vylíhnutí (Collins et al., 2013). Teploty pohybující uprostřed teplotního optima vykazují nejvyšší líhivost (Tab. 1) u tabona holubího (*Leipoa ocellata*; Booth, 1987) i u buňáčka šedého (*Oceanodroma furcata*; Vleck & Kenagy, 1980). Inkubace tučňáků kroužkových (*Pygoscelis adeliae*) při 34 °C vykazuje nejnižší mortalitu během vývoje (líhivost nebyla zjišťována) a také minimalizuje výskyt defektů vznikajících při vývoji mozku, krevních ostrůvků či primitivního proužku. Defekty a poškození stejně jako mortalita embryí naopak výrazně narůstají při odchýlení od této optimální inkubační teploty (Weinrich & Baker, 1978). U kachen divokých byla též nejvyšší líhivost pozorována u embryí inkubovaných při kontrolní teplotě

kolem 37 °C (73,9 % resp 66 %) a snižovala se směrem k vyšším i nižším teplotám (Tab. 1; Prince et al., 1969; Koláčková et al., 2015). U vyšších inkubačních teplot se objevila nejvyšší mortalita v počátečním období 0 - 6 dní a v pozdním období od 19 dní až po vylíhnutí (27. den), u nižších teplot byla pozorována nejvyšší mortalita pouze v poslední fázi vývoje od 19. dne po vylíhnutí. Mezi 7 a 18 dny byla mortalita obecně nízká bez ohledu na inkubační teplotu. To poukazuje na vyšší citlivost embryí zpočátku a ke konci inkubace (Prince et al., 1969). Též Klimstra et al., (2009) uvádí, že k úmrtí embryí dochází nejčastěji a nejvýrazněji v poslední fázi inkubace, tj. bezprostředně před líhnutím.

Rozhodující je i doba, po kterou je během dne vysokým či nízkým teplotám embryo vystaveno. V předchozích pracích se jednalo o permanentní vystavení těmto teplotám po 24 hodin denně, pouze ojediněle došlo k přerušení inkubace a snížení teploty na 30 min. (Koláčková et al., 2015). Piestun et al. (2008) se zajímali o to, jakým způsobem se bude lišit vývoj embrya kura (*Gallus gallus*) při vystavení velmi vysokým teplotám (39,5 °C) na 12 hodin denně a na 24 hodin denně během prostřední fáze inkubace (Tab. 1). U embryí inkubovaných bez přestávky celý den při vyšších teplotách byla líhivost o 30% nižší v porovnání s takto inkubovanými embryi 12 hodin denně nebo s kontrolní skupinou inkubovanou při optimální teplotě. Celkem 60 % nevylihnutých embryí ze skupiny 24 hodin inkubovaných jedinců nebylo schopno úspěšně prorazit skořápku v porovnání s 23 % resp. 33 % u kontrolních resp. 12 hodin denně inkubovaných mlád'at. Problém s proražením skořápky mohl být způsoben poruchami při zásobení *musculus complexus* energií. Tento sval totiž zajišťuje právě proražení skořápky, tzv. *external pipping*, a následné líhnutí. Při problémech se zásobením energií se zpomaluje růst a vývoj kosterní svaloviny (Christensen et al., 2001). Na to mohou mít vliv právě i nízké teploty.

Berntsen & Bech (2016) zjistili, že inkubace vajec zebřiček při různých teplotách (Tab. 1), během posledních 2/3 inkubační doby, nemá na líhivost žádný vliv. Naopak inkubace během prvních 2/3 vývoje u sýkory modřinky (*Cyanistes caeruleus*) ukázala, že nižší inkubační teploty (35 °C) v této fázi mají negativní vliv na líhivost v porovnání s jedinci inkubovanými v přírodních podmínkách (Nord & Nilsson, 2011). Wilsterman et al. (2015) u kura domácího téměř žádný vliv zvýšené inkubační teploty oproti optimální nepozorovali (Tab. 1). Smith et al. (2011) zabývající se reintrodukcí amerických jeřábů (*Grus americana*), je toho názoru, že líhivost by mohla být právě díky modifikaci inkubační metody (mimo jiné i teploty) zvýšena až o 40 %.

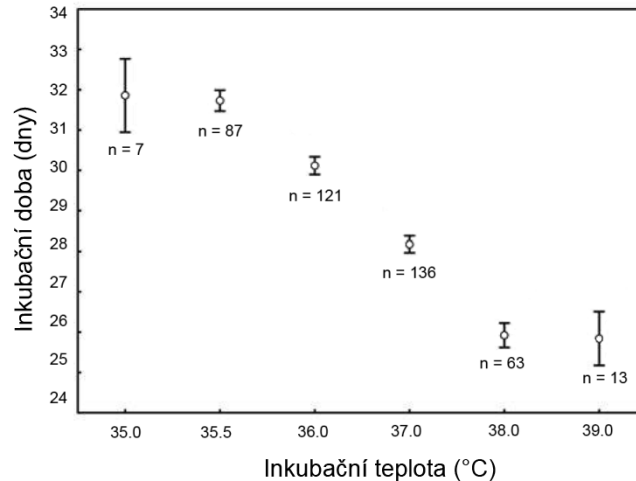
Tab. 1: Souhrn hodnot teplot, kterým byli vystaveni zkoumaní ptáci a jejich vliv na celkovou líhivost. Zvýrazněny jsou teploty považované za neoptimálnější pro inkubaci a příslušná hodnota líhivosti. Pro úplnost je uvedena i doba během inkubace, po kterou byla embrya této teplotě téměř bez přestávek vystavena. Tabulka zahrnuje pouze skupiny vystavené daným teplotám po celý den.

druh	zdroj	zkoumané varianty		
		ink. teplota (°C)	líhivost (%)	doba vystavení teplotě během inkubace
zebríčka pestrá (<i>Taeniopygia guttata</i>)	Wada et al. 2015	36,2	80,3	celá
		<u>37,4</u>	<u>84,6</u>	celá
		38,4	59,1	celá
kur domácí (<i>Gallus gallus</i>)	Piestun et al. 2008	37,8	88,0	celá
		39,5	63,0	7. - 16. den
	Collins et al., 2013	36,7	91,6	celá
		<u>37,5</u>	<u>93,5</u>	celá
		38,3	83,6	celá
	Wilsterman et al. 2015	<u>37,5</u>	<u>87 ± 3%</u>	celá
		38,6	87 ± 3%	celá
		38,6	87 ± 3%	1. - 5. den
38,6		87 ± 3%	6. - 18. den	
kachna divoká (<i>Anas platyrhynchos</i>)	Prince et al., 1969	35,6	45,0	celá
		36,7	60,0	celá
		<u>37,5</u>	<u>66,0</u>	celá
		38,3	64,0	celá
		39,4	48,0	celá
	Koláčková et al., 2015	35,0	15,2	celá
		35,5	47,3	celá
		36,0	65,8	celá
		<u>37,0</u>	<u>73,9</u>	celá
		<u>38,0</u>	<u>68,5</u>	celá
tabon holubí (<i>Leipoa ocellata</i>)	Booth, 1987	30,0	0,0	celá
		32,0	22,0	celá
		<u>34,0</u>	<u>80,0</u>	celá
		36,0	44,0	celá
		38,0	38,0	celá
buřňáček šedý (<i>Oceanodroma furcata</i>)	Vleck & Kenagy, 1980	26,0	0,0	1. - 10. den
		30,0	20,0	celá
		34,0	62,5	celá
		<u>37,0</u>	<u>100,0</u>	celá

3. 3. 3 Vliv inkubační teploty na délku inkubace

Délka inkubace podléhá stejně jako další biologické parametry určité variabilitě. Podíl různých vlivů ji přitom může výrazně měnit. Zásadně se liší mezi různými skupinami ptáků, pohybuje se v řádech několika dnů až měsíců. U pěvců (Passeriformes) můžeme pozorovat druhy inkubující méně než 14 dnů, oproti tomu u albatrosů z řádu trubkonosých (Procellariiformes) je inkubační doba i 80 dnů dlouhá. U nejvíce studovaného druhu kura domácího trvá průměrná inkubace 21 dní. Délka přirozené inkubace je jedním z klasických údajů sledovaných ornitology. Různá délka inkubace napříč druhy může být ovlivněna právě odlišnými optimálními inkubačními teplotami (Martin et al., 2015).

Délka inkubace však kolísá i v rámci jednoho druhu, a to jak v řádech hodin (Piestun et al., 2008), tak dokonce i dní (Hepp & Kennamer, 2012). U tabona holubího (*Leipoa ocellata*) kolísá délka vývoje v závislosti na teplotě běžně mezi 45–70 dny. Důvodem je pro tyto tabony unikátní způsob inkubace v hromadách tlející organické hmoty, ve kterých se velmi špatně zjišťuje a reguluje teplota (Booth, 1987). Wada et al. (2015) ukázali, že u zebřiček, jež byly vystaveny při umělé inkubaci vyšší teplotě (38,4 °C), dochází k líhnutí v průměru o téměř dva dny dříve než u skupiny embryí inkubované při teplotě o 2,2 °C nižší. Taktéž u kachniček karolínských dochází u embryí inkubovaných při 37,3 °C k líhnutí v průměru o 4 dny dříve než u skupiny inkubované při 35,9 °C a dokonce o 8 dní dříve než u embryí inkubovaných při 35 °C (Hepp & Kennamer, 2012). Zkrácení inkubační doby vlivem vyšších teplot ukazují i studie na kachnách divokých. Zde byla závislost patrná napříč všemi studovanými skupinami inkubovanými při teplotách v rozmezí 35–39 °C (Obr. 5; Koláčková et al., 2015), či 35,6–39,4 °C (Prince et al., 1969). Ukazuje se tedy, že vývoj se zrychluje se zvyšující se inkubační teplotou (Prince et al., 1969; DuRant et al., 2013a; Koláčková et al., 2015). Teplota se však stále musí pohybovat uvnitř optimálního teplotního rozmezí, neboť při jeho překročení dochází k významnému nárůstu mortality. Při nižších teplotách se naopak inkubační doba výrazně prodlužuje, jak bylo prokázáno například u sýkory modřinky. Zde umělá inkubace při prvních 2/3 vývoje embrya při teplotě 35 °C měla za následek prodloužení inkubační doby o 1 až 2 dny v porovnání s délkou inkubace u tohoto druhu v přírodě. Zvýšení teploty na 38 °C vedlo k dřívějšímu líhnutí o 0,6 dne (Nord & Nilsson, 2011).



Obr. 5: Graf závislosti délky inkubace na inkubační teplotě u kachen divokých (*Anas platyrhynchos*; upraveno podle Koláčková et al., 2015).

Nilsson et al. (2008) nepozorovali při umělém snížení teploty u sýkor modřinek ve volné přírodě žádnou změnu délky inkubace. Ovšem, je to jedna z mála studií z volné přírody. Stejně tak Tieleman et al. (2004), kteří zkoumali v přírodě probíhající inkubaci 14 různých (12 uniparentálních a 2 biparentálních) druhů ptáků, nezjistili souvislost mezi inkubační teplotou a délkou inkubační periody. Další komplexní studie, tentokrát na osmi druzích, srovnávala délku inkubace u vajec inkubovaných přirozeně a uměle. U druhů, u kterých byla v přírodě pozorována kratší inkubační doba (v porovnání s ostatními druhy), bylo zjištěno prodloužení při umělé inkubaci. U druhů s delší inkubační dobou nebyl v porovnání s umělou inkubací pozorován žádný rozdíl. Avšak výsledky mohly být ovlivněny nevhodným nastavením teploty v inkubátoru (36,5 °C), která pravděpodobně odpovídala spíše optimální teplotě pro druhy s delší inkubační periodou (Robinson et al., 2014).

3. 3. 4 Vliv inkubační teploty na poměr pohlaví

Teplotní určení pohlaví je typické pro skupinu plazů (Reptilia) a některé obojživelníky a ryby. Vzhledem ke stejnému původu, a k faktu, že v některých případech může teplota dokonce potlačit genetické mechanismy určení pohlaví, se uvažuje, zda nemůže mít teplota vliv i na pohlaví u ptáků (Shoemaker & Crews, 2009). V chovech drůbeže by možnost ovlivnit poměr pohlaví přinášela velké výhody. Neexistují dostupné práce dokládající manipulaci poměrem pohlaví díky teplotě bez ovlivnění mortality jednoho pohlaví. Göth & Booth (2005) a později Eiby et al. (2008) zjistili, že u tabonů lesních (*Alectura lathamii*) může různá teplota

při inkubaci zapříčinit vyšší mortalitu jednoho pohlaví, a tak je možné docílit vychýlení poměru pohlaví u vylíhnutých mlád'at. Nižší teploty (32 °C) při umělé inkubaci vedly k vyšší mortalitě samičích embryí a vyšší teploty (36 °C) k nárůstu mortality u samců během prvních dvou týdnů embryonálního vývoje. Taboni svá vejce neinkubují svým teplem, ale v hromadách tlejícího listí, kde teploty kolísají výrazněji než u ostatních druhů ptáků. Díky tomu se u nich v přírodě případné změny v poměru pohlaví v závislosti na teplotě studují lépe (Eiby et al., 2008). Avšak například Collins et al. (2013) u kura domácího neprokázali výraznější mortalitu samců či samic vzhledem k inkubační teplotě.

3. 3. 5 Vliv inkubační teploty na kvalitu mlád'at

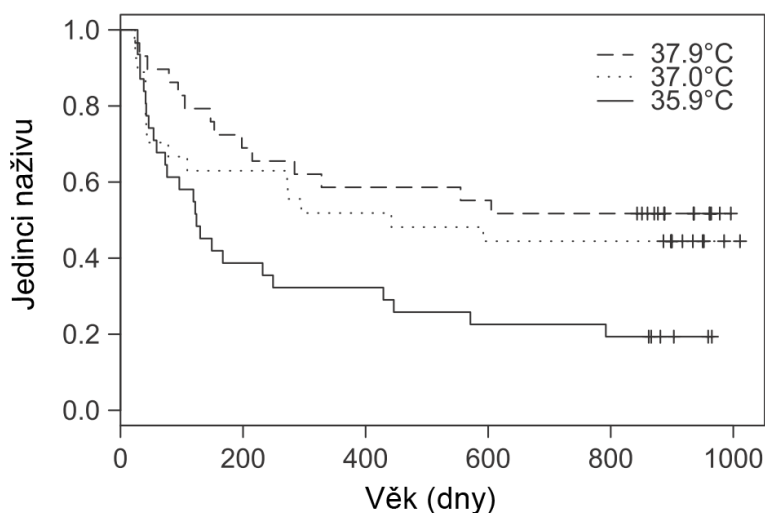
Kvalita mlád'at je zásadní pro přežívání populací i celých druhů, kvalitnější mlád'ata jsou v přírodě konkurenceschopnější a mají větší šanci dosáhnout dospělosti. Velký význam má kvalita mlád'at při umělém odchovu pro reintrodukci, přesto je tento aspekt v chovných zařízeních dosud opomíjen (Smith et al., 2012). Pojem „kvalita mlád'at“ zahrnuje velké množství faktorů. Je mnoho způsobů, jakými lze jednotlivé aspekty kvality mlád'at hodnotit a kvantifikovat. Ultimátním kritériem je vyhodnocení jejich přežívání v přírodě, dosažení reprodukčního věku, celkový věk dožití a celkový reprodukční úspěch (tedy celková fitness), což je v praxi problematické, především kvůli potřebě obrovského vzorku a dlouhodobého sledování. Častěji jsou k dispozici výsledky experimentů na mlád'atech v zajetí, kde ovšem nejsou prověřeny komplexně vlivy všech faktorů, které působí ve volné přírodě. Na druhou stranu můžeme přesněji studovat vliv faktorů jednotlivě, při kontrole na všechny ostatní.

K hodnocení kvality se tedy běžněji používají jednotlivé dobře stanovitelné a zjistitelné parametry, které jsou měřitelné během vývoje embrya ve vejci, bezprostředně po vylíhnutí či několik málo dní poté. Je to například přežívání po vylíhnutí, hmotnost (embrya či mláděte po vylíhnutí), tělesné proporce a kondice, růstová rychlost, imunitní reakce apod.

3. 3. 5. 1 Přežívání po vylíhnutí

Stejně jako líhivost i přežívání mlád'at po vylíhnutí se zásadně liší i mezi blízce příbuznými druhy (Klimstra et al., 2009). Berntsen & Bech (2016) ve své studii zjistili, že rozmezí, ve kterém se pohybuje inkubační teplota v chovech zebřiček, je 36–38 °C. Následně na 2/3 doby inkubace odebrali a uměle inkubovali jejich vejce ve 3 skupinách, vystavených teplotám vycházejících z naměřeného rozmezí: 37,9 °C (kontrola), 37 °C a 35,9 °C. Ukázalo se, že

snížením průměrné teploty o 2 °C se snížila doba přežívání mláďat po vylíhnutí. Z grafu (Obr. 6) je patrný nejvyšší úhyn jedinců ze skupiny, která byla inkubována při nejnižší teplotě. Stejně tomu bylo v jiné studii u zebříček inkubovaných při 36,2 °C, 37,4 °C (kontrola) a 38,4 °C. Po úspěšném vylíhnutí nejvíce jedinců uhynulo ve skupině vystavené nejnižší teplotě, převážně do tří dnů po vylíhnutí (17,5 %), oproti tomu v kontrolní skupině nebyl pozorován žádný úhyn (Wada et al., 2015). Teplota pouze o 1,2 °C nižší než je optimum může mít tedy zcela zásadní vliv na přežívání. K největší mortalitě dochází u vylíhnutých mláďat právě v několika prvních dnech po vylíhnutí, pravděpodobně z toho důvodu, že první proražení skořápky a následné klubání je velmi energeticky náročné a energetické rezervy vyklubaného jedince nemusí být dostatečné.



Obr. 6: Graf přežívání zebříček (*Taeniopygia guttata*) v chovech inkubovaných při různých teplotách (upraveno podle Berntsen & Bech, 2016).

Mortalita při krátkodobém vystavení vysokým teplotám se používá pro testování toho, zda ovlivňuje inkubační teplota vyrovnávání se s extrémními teplotami i v pozdějších fázích života. Piestun et al. (2008) zjišťovali, zda kuřata vystavená vysokým teplotám během vývoje odolají 35. den po vylíhnutí teplotě 35 °C po dobu 5 hodin. Samci, kteří byli vystaveni v prostřední části inkubace vysokým teplotám, byli výrazně odolnější než samci inkubovaní po celou dobu při optimální teplotě, kteří vykazovali o polovinu vyšší mortalitu. Oproti tomu u samic bez ohledu na teplotu při inkubaci nebyla zjištěna žádná mortalita. To tedy ukazuje na vývojové rozdíly během inkubace mezi pohlavími.

3. 3. 5. 2 Vliv na hmotnost

Wada et al. (2015) ukázali, že inkubační teplota má u zebřiček vliv na váhu embrya. Skupiny inkubovaných vajec byly vystaveny teplotám 36,2 °C, 37,4 °C (kontrola) a 38,4 °C. Embrya inkubovaná při 38,4 °C ztratila během první poloviny inkubace výrazně více váhy než kontrolní embrya inkubovaná při 37,4 °C. Také se ukázalo, že vyšší teplota měla negativní vliv na váhu samců po vylíhnutí - vážili méně, u samic žádný rozdíl pozorován nebyl. Autoři uvádějí, že tito samci měli po vylíhnutí méně svalové hmoty a menší hmotnost orgánů. Pravděpodobně vysoké teploty způsobily problémy s příjmem živin a vývojem embrya. Piestun et al. (2008) objevili u kura domácího nižší hmotnost obou pohlaví v závislosti na vysoké inkubační teplotě během prostřední fáze inkubace (7.–16. den). Také při vystavení vajec kura domácího nižším teplotám (36,9 °C) během počáteční fáze inkubace (0.–8. den) vykazovala embrya nižší váhu než embrya inkubovaná při optimální či při vyšší teplotě (Yalcin & Siegel, 2003). Váha může být snížena i vlivem jednoho dne mimo optimální inkubační teplotu. Záleží na tom, v jaké části inkubace je embryo extrémním teplotám vystaveno. Jak uvádí Feast et al. (1998), snížením inkubační teploty na 22 °C po 24 hodin v prostředí fázi inkubace může dojít k výraznému snížení hmotnosti. Při takto nízkých teplotách se zastavuje vývoj embrya, a proto v porovnání se stejně starými embryi vykazují nižší hmotnost, avšak to neznamená, že tento rozdíl přetrvá do vylíhnutí.

U kachniček karolínských měli jedinci inkubovaní při nižších teplotách po vylíhnutí nižší hmotnost, nebyl však pozorován rozdíl mezi hmotnostmi samců a samic (Hepp & Kennamer, 2012), totéž bylo pozorováno u přirozeně inkubovaných vajec sýkory modřinky (Nilsson et al., 2008) a také u vlaštovek stromových (*Tachycineta bicolor*; Pérez et al., 2008) a několik dní před vylíhnutím u zebřiček pestrých (Olson et al., 2006). Při pozdějších studiích na uměle inkubovaných vejcích sýkor modřinek se vliv teploty na hmotnost prokázat nepodařilo (Nord & Nilsson, 2011).

Wilsterman et al. (2015) u kura domácího, Prince et al. (1969) ani Koláčková et al. (2015) u kachny divoké žádný vliv inkubační teploty na hmotnost po vylíhnutí nepozorovali, ale vyšší teplota pozitivně ovlivnila hmotnost žloutkového vaku, naopak hmotnost těla bez žloutkového vaku se snižovala se zvyšující se inkubační teplotou, ale celková hmotnost se neměnila (Koláčková et al., 2015). Při periodickém ochlazování během inkubace stráví vyvíjející se embrya za stejnou inkubační dobu větší množství žloutku (Olson et al., 2006). To může mít vážné následky na přežívání a růst po vylíhnutí.

Hmotnost embrya v různých částech inkubace souvisí s rychlostí růstu (Olson et al., 2006). I když se vliv teploty neprojeví přímo na hmotnosti jedince po vylíhnutí, může být patrný při zaměření na rychlost růstu. Ta se zjišťuje porovnáním váhy embrya v různých dnech inkubace. Právě Nilsson et al. (2008) zjistili, že i když váha mláďat po vylíhnutí není ovlivněna inkubační teplotou, přírůstek hmotnosti v průběhu inkubace je u embryí vystavených nižším inkubačním teplotám (které jsou stále v optimálním rozmezí) menší než u ostatních mláďat.

3. 3. 5. 3 Vliv na tělesné proporce

I když se rychlost růstu vlivem vyšších inkubačních teplot spíše zvyšuje (Weinrich & Baker, 1978), nemusí to znamenat, že veškeré části těla též zrychlí svůj vývoj. To ukazují například měření délky tarsu, který je právě při nižších inkubačních teplotách delší (Hepp & Kennamer, 2012; Koláčková et al., 2015). Je to způsobeno pravděpodobně tím, že se se snižující inkubační teplotou prodlužuje inkubační doba a tarsus je po vylíhnutí, v porovnání s jedinci inkubovanými při vyšších teplotách, více vyvinutý (Koláčková et al., 2015).

Ovlivněna může být ale i délka lebky, která je podle Koláčkové et al. (2015) nejvyšší při kontrolní inkubační teplotě 37 °C a snižuje se směrem k vyšším i nižším teplotám. Též délka zobáku se může lišit vlivem různých inkubačních teplot. Koláčková et al., (2015) pozorovali nejdelší zobák u jedinců inkubovaných při 39 °C a nejnižší u 35,5 °C, šířka zobáku se snižovala se zvyšující se inkubační teplotou. Oproti tomu Yalcin & Siegel (2003) zjistili vlivem vyšších inkubačních teplot v první části inkubace (0.–8. den) výrazně kratší lebku, křídlo i tibii. Růst kostí může být zpomalen i v případě, že inkubace probíhá neustále za optimálních teplot a pouze během jednoho dne inkubace jsou embrya vystavena extrémně nízkým teplotám (kolem 22 °C). To o kolik se růst zpomalí, záleží na fázi inkubace. Nejvýrazněji je délka kosti ovlivněna nízkými teplotami na počátku druhé poloviny inkubace (Feast et al., 1998; Yalcin & Siegel, 2003). Vliv inkubační teploty na růst některých částí těla se nemusí projevit ihned po vylíhnutí, ale až například po dvou týdnech od vylíhnutí, jak ukázalo měření délky tarsu u sýkory modřinky. Kratší tarsus byl naměřen u jedinců, kteří byli uměle inkubováni při 35 °C v prvních 2/3 inkubace a poté opět inkubováni přirozeně. Vliv na délku křídla se zde neprojevil (Nord & Nilsson, 2011).

Při vývoji a po vylíhnutí je též sledována asymetrie těla. Ta vzniká hlavně během raného vývoje, postupem času se srovná a před vylíhnutím výrazně klesá, z toho důvodu asymetrie naměřená během raného vývoje nemusí mít výrazný vliv na výslednou asymetrii a celkovou kvalitu mláďete po vylíhnutí (Yalcin & Siegel, 2003).

3. 3. 5. 4 Vliv na metabolismus a imunitu

V souvislosti s vlivem různých inkubačních teplot se posuzuje rychlost metabolismu / úroveň bazálního metabolismu, či například vliv na intenzitu odpovědi imunitního systému. U studovaných zebřiček byly rozdíly pozorovány v závislosti na pohlaví. Vystavení samic nižší inkubační teplotě způsobilo signifikantně vyšší bazální metabolismus než tomu bylo u kontroly. U těchto samic byla též prokázána vyšší adenokortikoidní odpověď díky vlivu nižších inkubačních teplot. Ani u jednoho pohlaví nebyl patrný vliv na funkci imunitního systému (Wada et al., 2015).

Nord & Nilsson (2011) zjistili, že sýkory modřinky inkubované při nižších teplotách (35 °C) mají rychlejší metabolismus než jedinci stejného druhu inkubovaní při vyšších teplotách. Jedním z možných vysvětlení je přizpůsobení organismu nepříznivým podmínkám. U buňáček šedých vystavených při umělé inkubaci každý pátý den na 24 hodin teplotě 10 °C se ukázalo, že ochlazení i po takto dlouhou dobu nemá výrazný vliv na rychlost metabolismu, jednalo se však o velmi malý vzorek (Vleck & Kenagy, 1980). V protikladu s tím je studie Feast et al. (1998) na kuru domácím, v níž jedinci vystavení pouze na jeden den během embryonálního vývoje teplotám 22 °C, snížili příjem energie ze žloutku, což naznačuje, že došlo ke zpomalení či dokonce zastavení vývoje embrya. Tolerance nízkých teplot je tedy pravděpodobně druhově specifická (viz také Williams & Ricklefs, 1984).

3. 3. 5. 5 Vliv teploty na následný reprodukční úspěch

Zatím bylo publikováno velmi málo prací vypovídajících o vlivu teploty při inkubaci na budoucí reprodukční úspěch ptáků ve volné přírodě. Takové studie vyžadují dlouhodobá pozorování (v řádech let) a je pro ně nezbytný velmi rozsáhlý zkoumaný vzorek. Hepp & Kennamer (2012) zmiňují, že při zpětných odchytech kachniček karolínských se ukázalo, že 4x častěji hnízdily samice inkubované při vyšších teplotách (37,3 °C) než ty inkubované při nižších teplotách (35 °C), jednalo se však o velmi malý vzorek, neboť věrnost místu vylíhnutí si zachovává pouze malé procento kachniček.

3. 4 Metodická úskalí při výzkumu inkubační teploty

S rozvojem mikroelektroniky a citlivých biologických metod došlo v posledních letech k výraznému posunu při studiu vztahu různých inkubačních podmínek a úspěšnosti líhnutí a přežívání mláďat.

3. 4. 1 Senzory pro měření

Pro potřeby studií v umělých chovech je nejprve důležité stanovit optimální rozmezí inkubačních teplot daných druhů v přírodě. Je mnoho více či méně přesných způsobů, jak zjistit inkubační teplotu. Patrně nejjednodušším způsobem měření je umístění teplotních data loggerů do hnízda těsně před snesením prvního vejce (Griffith et al., 2016). Tím je vyloučeno ovlivnění inkubujícího ptáka člověkem a minimalizuje se možnost, že by ptáci hnízdo opustili. Avšak teplota naměřená pod vejci neodpovídá teplotě vajec samotných. Ani senzory přidělané na hnízdní nažinu inkubujícího ptáka nám nepodávají informaci o teplotě vejce. Můžeme tím ale zjistit, jakým teplotám je vejce vystaveno. Další možností je měření teploty termokamerou, to je však možné pouze v případě, že pták není na hnízdě přítomen. Takto lze zjistit povrchovou teplotu vajec, ale také nám to umožňuje identifikovat rozdíly mezi teplotami jednotlivých vajec v závislosti na umístění ve snůšce (Šálek & Zárybnická 2015) a v závislosti na dni inkubace, tedy změny způsobené vývojem embrya (Boulton & Cassey, 2012). Avšak přesné teploty, při kterých se embryo vyvíjí, přímo nezjistíme.

Další možností, jak změřit velmi přesně teplotu, které je embryo vystaveno, je vložení termočlánku malých rozměrů do centra čerstvého vejce (Webb & King, 1983; Tieleman et al., 2004; Olson et al., 2006) a to dokonce i u tak malých druhů ptáků, jako je zebříčka pestrá. Tato metoda má však za následek úhyn daného embrya a Tieleman et al. (2004) uvádí, že je potřeba po 4 dnech vejce vyměnit, aby rozklad obsahu vejce nezapříčinil opuštění snůšky rodiči.

Dobrym způsobem, jak přesně zjistit teplotu inkubovaných vajec, jsou umělá vejce se senzory zaznamenávajícími průběžně teplotu vajec, která mohou obsahovat ale i další senzory snímající vlhkost, otáčení vejce či vystavení světlu. Zde je limitující velikost vajíčka studovaného druhu. U jeřábů amerických, kteří mají vejce o délce zhruba 98 mm a průměru 63 mm, je možné měřit všechny výše zmíněné parametry (Smith et al., 2012). Smith et al. (2012) také tvrdí, že v literatuře se uvádí minimální průměr vejce 30 mm, popřípadě do 19 mm

vejce by bylo ještě teoreticky možné aparaturu vestavět. Limitující je zde především velikost baterie.

Umělá vejce s vbudovanými senzory mohou být použita jak při srovnávání podmínek umělé a přirozené inkubace, tak i pro studium hnízdní biologie ptáků ve volné přírodě. To pomáhá stále lépe pochopit a optimalizovat vhodné podmínky pro umělou inkubaci ptačích vajec. Lze předpokládat, že pokud bude dobře napodobena inkubace přirozená, bude kvalita mláďat v umělých líhních vyšší. Dalším využitím může být i identifikace rodičů neschopných plně inkubovat svá vejce, hlavně u kriticky ohrožených druhů, kde je problém s produktivitou, a je proto potřeba maximalizovat líhivost již snesených vajec (Smith et al., 2012).

3. 4. 2 Výplň měřícího vejce

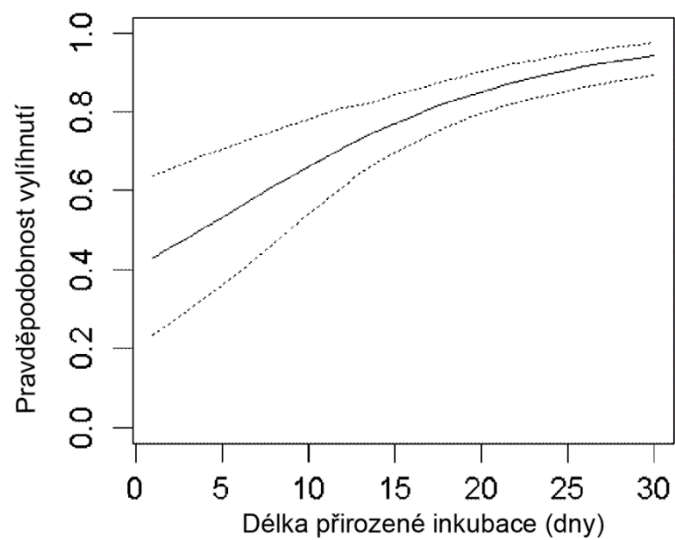
V praxi je velmi častý způsob měření teploty vbudováním teplotních senzorů do umělého vejce. Zde často může nastat jedna z prvních chyb měření, mimo jiné také díky volbě nevhodného materiálu pro výplň měřícího vejce, neboť přírodní vejce mají velmi specifické fyzikální parametry. Napodobeniny vajec se obecně používají pro potřeby většiny studií, při kterých jsou pravá vejce odebrána a vystavena po určitou dobu vývoje umělé inkubaci, a pak jsou opět navracena do hnízd. Po tuto dobu je nutné vejce nahradit umělými. Zde příliš nezáleží na materiálu, ze kterého je umělé vejce vytvořeno, ale i tak je potřeba, aby barvou i tvarem co nejlépe odpovídalo vejci skutečnému a nebylo odmítnuto inkubujícím rodičem. Tato vejce se vyrábějí například ze dřeva, hlíny, sádry či různých polymerových modelovacích hmot (Nord & Nilsson, 2011; Griffith et al. 2016).

Oproti tomu vejce, do kterých jsou vkládány teplotní senzory, je potřeba se co nejvíce materiálem přiblížit hustotě a dalším fyzikálním vlastnostem pravého vejce. Autoři samotní často výplň měřících vajec neuvádějí, je tedy otázkou, zda nevhodná výplň vajec, zdaleka neodpovídající ve vedení teploty reálným vejcím, nemůže měření zkreslovat. Webb (1987) uvádí, že vejce plněná například silikonem či voskem mohou zkreslovat měřenou inkubační teplotu. Se zajímavým řešením přišli Ardia et al. (2010), použili jako výplň měřícího vejce ClearGlide™ Wire Pulling Lubricant. Ten je podle nich vhodný z důvodu stability v teplotním rozmezí -1 °C až 82 °C a po uschnutí tvoří polotekutou hmotu, což vhodně imituje bílek pravého vejce.

3. 5 Inkubační teplota a reintrodukční projekty

S ohledem na vysokou líhivost a taktéž kvalitu mláďat je nejen pro reintrodukční projekty nejlepší přirozená inkubace rodičem (Smith et al., 2012). Pro produkci jedinců k vypouštění do volné přírody a záchranu ohrožených druhů se kromě biologických rodičů používají tři základní metody: inkubace a odchov mláďat nehnízdícími či neplodnými páry stejného druhu; odchov párem jiného druhu (příbuzného původnímu druhu) a inkubace v umělých líhních (Smith et al., 2012). Posledně jmenovaná metoda má své uplatnění při kvantitativní produkci velkého počtu jedinců. Avšak líhivost při tomto způsobu inkubace bývá výrazně nižší než je tomu u inkubace přirozené, ať už se jedná o biologického či náhradního rodiče (Smith et al., 2011). Jedním z možných důvodů může být fakt, že se v praxi používá nastavení inkubačních podmínek detailně popsanych na nejvíce studovaném ptačím druhu, kterým je kur domácí. Tyto podmínky se často aplikují právě na umělou inkubaci u mnoha druhů kurů nepříbuzných (Deeming, 2002b). Pro dosažení vysoké kvality z hlediska přežívání a úspěšného zapojení do reprodukce je optimalizace inkubace důležitou biologickou i ekologickou otázkou.

Vejce pro umělou inkubaci a reintrodukcí se odebírají buď ze snůšek z volné přírody nebo od ptáků chovaných v zajetí. Po včasném odebrání celé snůšky obvykle ptáci snesou náhradní snůšku. Ukázalo se ale, že příliš rychlé odebrání vajec rodičům (ihned po jejich snesení) a vystavení umělé inkubaci způsobuje sníženou líhivost (Burnham, 1983). Oproti tomu embrya inkubovaná čtyři a více dní přirozeně rodičem tolerují větší rozmezí inkubačních teplot později během umělé inkubace a mají výrazně větší líhivost než embrya inkubovaná po celou dobu uměle (Burnham, 1983). Smith et al. (2011) považují u jeřába amerického za ideální trvání inkubace vlastním rodičem 16 dní, což by měl být kompromis mezi produkcí vajec (náhradních snůšek) a inkubací rodičem za účelem zvýšení líhivosti. Pravděpodobnost vylíhnutí se však zvyšuje po celou dobu přirozené inkubace (Obr. 7). Probíhá-li inkubace 1–5 dní, je pravděpodobnost vylíhnutí 33 %, pro inkubaci v rozsahu 10–15 dní činí tato pravděpodobnost 72 % a trvá-li 20–25 dní, pravděpodobnost vylíhnutí se zvyšuje až na 92 % (Smith et al., 2011).



Obr. 7: Pravděpodobnost vylíhnutí u jeřába amerického (*Grus americana*) se zvyšuje se zvyšující se dobou, po kterou probíhá přirozená inkubace (upraveno podle Smith et al., 2011).

4 Závěr

Inkubační teplota je zásadní faktor ovlivňující vývoj ptačího embrya. Její mírné kolísání v rámci inkubačního optima bývá narušeno extrémními hodnotami zvláště u uniparentálních druhů. Rozmezí optimálních teplot je specifické pro různé ptačí druhy. Též extrémní teploty mimo optimum snáší různé druhy odlišně. Aktuální teplota vejce je ovlivněna kromě teploty dodávané rodičem i teplotou okolního prostředí, velikostí vejce, počtem vajec ve snůšce, fázi inkubace, ve které se embryo nachází i orientací vajec v rámci snůšky.

Existuje poměrně velké množství prací zabývajících se vlivem různých teplot (uvnitř i mimo optimální rozmezí) na embrya při umělé inkubaci. Výhodou umělé inkubace je možnost manipulace s teplotou, nevýhodou je nemožnost komplexně posoudit všechny faktory, které se na inkubaci podílejí v přírodě. Předmětem těchto studií jsou většinou modelové druhy (kur domácí, zebříčka pestrá, kachna divoká). V naprosté většině případů jsou embrya vystavena jedné testované teplotě po celou dobu inkubace či během jedné ze tří hlavních inkubačních fází. Minimum prací se zabývá vlivem krátkodobých teplotních výkyvů (pro přírodní inkubaci typických), které jsou velmi špatně modelovatelné a v praxi jsou tyto experimenty velmi náročné.

To, jakým způsobem ovlivní inkubační teplota líhnivost vajec, je dáno nejen výškou teploty, ale i dobou, po kterou je embryo této teplotě vystaveno, stejně jako fází inkubace, ve které je této teplotě vystaveno. Pro dosažení nejvyšší líhnivosti je nejvhodnější průměrná optimální teplota, při jejím navýšení či snížení se častěji objevují defekty a zvyšuje se mortalita embryí. Negativní vliv na líhnivost mají především vyšší inkubační teploty. Délka inkubace je druhově specifická. Projeví-li se vliv inkubační teploty na délce inkubace, dochází ke zkrácení inkubační doby vlivem vyšších teplot, které zapříčiňují rychlejší vývoj embrya. Avšak růst některých kostí teplotou urychlit nelze, proto dříve vylíhnutí jedinci mohou mít kratší např. tarsus, tibií či lebku a některé další části těla. Na poměru pohlaví se obecně vliv inkubační teploty neprojevuje (s výjimkou tabonů lesních).

Teplota při inkubaci ovlivňuje jedince i postnatálně. Vyššího věku se dožívají ptáci inkubovaní při vyšších teplotách. Inkubační teplota ovlivňuje pravděpodobně i hmotnost embrya během vývoje a i po vylíhnutí, ale není možné z publikovaných prací jednoznačně určit jakým způsobem. Nižší teploty v rámci optimálního rozmezí zvyšují rychlost metabolismu, avšak klesnou-li teploty pod optimum, metabolismus embrya se výrazně zpomaluje.

Studii z přírody, které dokazují vliv inkubační teploty na embrya, je minimum. Při přirozené inkubaci jsou výrazně patrné krátkodobé teplotní oscilace, které jsou ale opět velmi

špatně hodnotitelné a lze nanejvýš stanovit minima a maxima, kterým může být po krátkou dobu embryo vystaveno. Přesto se ale ukazuje, že oscilace teplot mají svůj význam a mohou přispívat k líhivosti a kvalitě mlád'at, neboť z mnoha studií vyplývá, že přirozená inkubace rodičem i po omezenou (často velmi krátkou) dobu, má na vývoj embrya pozitivní účinky, což je zcela zásadní poznatek mimo jiné i pro reintrodukční odchovy.

O nedostatečném poznání vlivu inkubační teploty hovoří výrazně nižší líhivost v umělých chovech na rozdíl od přirozené inkubace. Ukázalo se, že konstantní inkubační teplota není vhodná ani během komerčních odchovů. Ve velkochovech je žádoucí kromě neoddiskutovatelné vysoké líhivosti i dobrá kvalita mlád'at, byť nejsou po dobu svého života vystavena stresům srovnatelným s jedinci volně žijícími. Tím spíše je kvalita mlád'at žádoucí u odchovů ptáků, kteří jsou určeni k vypouštění do volné přírody.

5 Seznam použité literatury

- Alvarez, E., & Barba, E.** (2014). Behavioural responses of great tits to experimental manipulation of nest temperature during incubation. *Ornis Fennica* 91(4), 220–230.
- Ar, A., & Rahn, H.** (1980). Water in the Avian Egg Overall Budget of Incubation. *Integrative Comparative Biology* 20(2), 373–384.
- Ardia, D.R., Pérez, J.H., & Clotfelter, E.D.** (2010). Experimental cooling during incubation leads to reduced innate immunity and body condition in nestling tree swallows. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 277(1689), 1881–1888.
- Austin, S.H., Hau, M., & Robinson, W.D.** (2014). Effect of photoperiod on incubation period in a wild passerine, *Sylvia atricapilla*. *Journal of Avian Biology* 45(4), 359–364.
- Basso, A., & Richner, H.** (2015). Effects of nest predation risk on female incubation behavior and offspring growth in great tits. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 69(6), 977–989.
- Berntsen, H.H., & Bech, C.** (2016). Incubation temperature influences survival in a small passerine bird. *Journal of Avian Biology* 47(2), 141–145.
- Booth, D.** (1987). Effect of Temperature on Development of Mallee Fowl *Leipoa ocellata* Eggs. *Physiological Zoology* 60(4), 437–445.
- Boulton, R.L., & Cassey, P.** (2012). How avian incubation behaviour influences egg surface temperatures: relationships with egg position, development and clutch size. *Journal of Avian Biology* 43(4), 289–296.
- Brua, R.B., Nuechterlein, G.L., & Buitron, D.** (1996). Vocal response of Eared Grebe embryos to egg cooling and egg turning. *The Auk* 113(3), 525–533.
- Burnham, W.** (1983). Artificial Incubation of Falcon Eggs. *The Journal of Wildlife Management* 47(1), 158–168.
- Caldwell, P.J., & Cornwell, G.W.** (1975). Incubation Behavior and Temperatures of the Mallard Duck. *The Auk* 92(4), 706–731.
- Carter, A.W., Hopkins, W.A., Moore, I.T., & DuRant, S.E.** (2014). Influence of incubation recess patterns on incubation period and hatchling traits in wood ducks *Aix sponsa*. *Journal of Avian Biology* 45(3), 273–279.
- Christensen, V.L., Wineland, M.J., Fassenko, G.M., & Donaldson, W.E.** (2001). Egg Storage Effects on Plasma Glucose and Supply and Demand Tissue Glycogen Concentrations of Broiler Embryos. *Poultry Science* 80(12), 1729–1735.
- Collins, K.E., Jordan, B.J., McLendon, B.L., Navara, K.J., Beckstead, R.B., & Wilson, J.L.** (2013). No evidence of temperature-dependent sex determination or sex-biased embryo mortality in the chicken. *Poultry Science* 92(12), 3096–3102.
- Conway, C.J., & Martin, T.E.** (2000a). Effects of ambient temperature on avian incubation behavior. *Behavioral Ecology* 11(2), 178–188.

- Conway, C.J., & Martin, T.E.** (2000b). Evolution of Passerine Incubation Behavior: Influence of Food, Temperature, and Nest Predation. *Evolution* 54(2), 670–685.
- Davis, S., Williams, J., Adams, W., & Brown, S.** (1984). The Effect of Egg Temperature on Attentiveness in the Belding Savannah Sparrow. *The Auk* 101(3), 556–566.
- Deeming C.D.** (2002a). Behaviour patterns during incubation. Pages 63–87 in Avian incubation: behaviour, environment and evolution (eds. Deeming, C.D.). *Oxford University Press, New York*, 421 p.
- Deeming, C.D.** (2002b). Importance and evolution of incubation in avian reproduction. Pages 1–7 in Avian incubation: behaviour, environment and evolution (eds. Deeming, C.D.). *Oxford University Press, New York*, 421 p.
- Deeming, C.D.** (2009). The role of egg turning during incubation. *Avian Biology Research* 2(1–2), 67–71.
- DuRant, S.E., Hopkins, W.A., Carter, A.W., Stachowiak, C.M., & Hepp, G.R.** (2013a). Incubation conditions are more important in determining early thermoregulatory ability than posthatch resource conditions in a precocial bird. *Physiological and Biochemical Zoology* 86(4), 410–420.
- DuRant, S.E., Hopkins, W.A., Hepp, G.R., & Walters, J.R.** (2013b). Ecological, evolutionary, and conservation implications of incubation temperature-dependent phenotypes in birds. *Biological Reviews* 88(2), 499–509.
- Eiby, Y.A., Wilmer, J.W., & Booth, D.T.** (2008). Temperature-dependent sex-biased embryo mortality in a bird. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 275(1652), 2703–2706.
- Feast, M., Noble, R.C., Speake, B.K., & Ferguson, M.W.J.** (1998). The effect of temporary reductions in incubation temperature on growth characteristics and lipid utilisation in the chick embryo. *Journal of Anatomy* 193(3), 383–390.
- Göth, A., & Booth, D.T.** (2005). Temperature-dependent sex ratio in a bird. *Biology Letters* 1(1), 31–33.
- Griffith, S.C., Mainwaring, M.C., Sorato, E., & Beckmann, C.** (2016). High atmospheric temperatures and ‘ambient incubation’ drive embryonic development and lead to earlier hatching in a passerine bird. *Open Science* 3(2), 1–14.
- Handrich, Y.** (1989). Incubation Water Loss in King Penguin Egg. I. Change in Egg and Brood Pouch Parameters. *Physiological Zoology* 62(1), 96–118.
- Hansell, M.H. & Deeming, D.C.** (2002). Location, structure and function of incubation sites. Pages 8–27 in Avian incubation: behaviour, environment and evolution (eds. Deeming, C.D.). *Oxford University Press, New York*, 421 p.
- Hepp, G.R., & Kennamer, R.A.** (2012). Warm Is Better: Incubation Temperature Influences Apparent Survival and Recruitment of Wood Ducks (*Aix sponsa*). *PLoS ONE* 7(10), e47777.

- Hluchý, S., Toman, R., Cabaj, M., & Adamkovičová, M.** (2012). The Effect of White and Monochromatic Lights on Chicken Hatching. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies* 45(2), 408–410.
- Howell, T.R.** (1979). Incubation behaviour. Pages 26–30 in Breeding Biology of the Egyptian Plover, *Pluvianus Aegyptius*. *University of California Press*, 103 p.
- Huggins, R.A.** (1941). Egg Temperatures of Wild Birds Under Natural Conditions. *Ecology* 22(2), 148–157.
- Huth, J.C., & Archer, G.S.** (2015). Effects of LED lighting during incubation on layer and broiler hatchability, chick quality, stress susceptibility and post-hatch growth. *Poultry Science* 94(12), 3052–3058.
- Klimstra, J.D., Stebbins, K.R., Heinz, G.H., Hoffman, D.J., & Kondrad, S.R.** (2009). Factors related to the artificial incubation of wild bird eggs. *Avian Biology Research* 2(3), 121–131.
- Koenig, W.D.** (1982). Ecological and Social Factors Affecting Hatchability of Eggs. *The Auk* 99(3), 526–536.
- Kolářková, M., Prokūpková, L., Albrecht, T., & Hořák, D.** (2015). Incubation Temperature Influences Trade-Off between Structural Size and Energy Reserves in Mallard Hatchlings. *Physiological and Biochemical Zoology* 88(1), 1–10.
- Lombardo, M.** (1994). Nest Architecture and Reproductive-Performance in Tree Swallows (*Tachycineta bicolor*). *The Auk* 111(4), 814–824.
- Lombardo, M.P., Bosman, R.M., Faro, C.A., Houtteman, S.G., & Kluisza, T.S.** (1995). Effect of feathers as nest insulation on incubation behavior and reproductive performance of Tree Swallows (*Tachycineta bicolor*). *The Auk* 112(4), 973–981.
- Manlove, C.A., & Hepp, G.R.** (2000). Patterns of nest attendance in female wood ducks. *The Condor* 102(2), 286–291.
- Mariette, M.M., & Buchanan, K.L.** (2016). Prenatal acoustic communication programs offspring for high posthatching temperatures in a songbird. *Science* 353(6301), 812–814.
- Martin, T.E., Oteyza, J.C., Boyce, A.J., Lloyd, P., & Ton, R.** (2015). Adult Mortality Probability and Nest Predation Rates Explain Parental Effort in Warming Eggs with Consequences for Embryonic Development Time. *The American Naturalist* 186(2), 223–236.
- Massaro, M., Starling-Windhof, A., Briskie, J.V., & Martin, T.E.** (2008). Introduced Mammalian Predators Induce Behavioural Changes in Parental Care in an Endemic New Zealand Bird. *PLoS ONE* 3(6), e2331.
- Mayer, P.M., Smith, L.M., Ford, R.G., Watterson, D.C., McCutchen, M.D., & Ryan, M.R.** (2009). Nest construction by a ground-nesting bird represents a potential trade-off between egg crypticity and thermoregulation. *Oecologia* 159(4), 893–901.

- McClintock, M.E., Hepp, G.R., & Kennamer, R.A.** (2014). Plasticity of incubation behaviors helps Wood Ducks (*Aix sponsa*) maintain an optimal thermal environment for developing embryos. *The Auk* 131(4), 672–680.
- New, D. a. T.** (1957). A Critical Period for the Turning of Hens' Eggs. *Development* 5(3), 293–299.
- Nilsson, J.F., Stjernman, M., & Nilsson, J.-Å.** (2008). Experimental reduction of incubation temperature affects both nestling and adult Blue Tits *Cyanistes caeruleus*. *Journal of Avian Biology* 39(5), 553–559.
- Nord, A., & Nilsson, J.-Å.** (2011). Incubation temperature affects growth and energy metabolism in blue tit nestlings. *The American Naturalist* 178(5), 639–651.
- Nord, A., Sandell, M.I., & Nilsson, J.-Å.** (2010). Female Zebra finches compromise clutch temperature in energetically demanding incubation conditions. *Functional Ecology* 24(5), 1031–1036.
- Olson, C.R., Vleck, C.M., & Vleck, D.** (2006). Periodic cooling of bird eggs reduces embryonic growth efficiency. *Physiological and Biochemical Zoology* 79(5), 927–936.
- Pérez, J.H., Ardia, D.R., Chad, E.K., & Clotfelter, E.D.** (2008). Experimental heating reveals nest temperature affects nestling condition in Tree Swallows (*Tachycineta bicolor*). *Biology Letters* 4(5), 468–471.
- Piestun, Y., Shinder, D., Ruzal, M., Halevy, O., Brake, J., & Yahav, S.** (2008). Thermal manipulations during broiler embryogenesis: Effect on the acquisition of thermotolerance. *Poultry Science* 87(8), 1516–1525.
- Prince, H.H., Siegel, P.B., & Cornwell, G.W.** (1969). Incubation Environment and the Development of Mallard Embryos. *The Journal of Wildlife Management* 33(3), 589–595.
- Reid, J.M., Monaghan, P., & Ruxton, G.D.** (1999). The effect of clutch cooling rate on starling, *Sturnus vulgaris*, incubation strategy. *Animal Behaviour* 58(6), 1161–1167.
- Robinson, W.D., Austin, S.H., Robinson, T.R., & Ricklefs, R.E.** (2014). Incubation temperature does not explain variation in the embryo development periods in a sample of Neotropical passerine birds. *Journal of Ornithology* 155(1), 45–51.
- Shoemaker, C.M., & Crews, D.** (2009). Analyzing the coordinated gene network underlying temperature-dependent sex determination in reptiles. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 20(3), 293–303.
- Smith, D.H.V., Converse, S.J., Gibson, K.W., Moehrensclager, A., Link, W.A., Olsen, G.H., & Maguire, K.** (2011). Decision analysis for conservation breeding: Maximizing production for reintroduction of whooping cranes. *The Journal of Wildlife Management* 75(3), 501–508.
- Smith, D.H.V., Moehrensclager, A., Christensen, N., Knapik, D., Gibson, K., & Converse, S.J.** (2012). Archive eggs: A research and management tool for avian conservation breeding. *Wildlife Society Bulletin* 36(3), 342–349.

- Sonerud, G.A.** (1985). Nest Hole Shift in Tengmalm's Owl *Aegolius funereus* as Defence Against Nest Predation Involving Long-Term Memory in the Predator. *Journal of Animal Ecology* 54(1), 179–192.
- Stonehouse, B.** (1956). The King Penguin of South Georgia. *Nature* 178(4548), 1424–1426.
- Šálek, M.E., & Zárbynická, M.** (2015). Different Temperature and Cooling Patterns at the Blunt and Sharp Egg Poles Reflect the Arrangement of Eggs in an Avian Clutch. *PLoS ONE* 10(2), e0117728.
- Tieleman, B.I., Williams, J.B., & Ricklefs, R.E.** (2004). Nest attentiveness and egg temperature do not explain the variation in incubation periods in tropical birds. *Functional Ecology* 18(4), 571–577.
- Tullberg, B.S., Ah-King, M., & Temrin, H.** (2002). Phylogenetic reconstruction of parental-care systems in the ancestors of birds. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 357(1419), 251–257.
- Tulp, I., Schekkerman, H., & de Leeuw, J.** (2012). Eggs in the Freezer: Energetic Consequences of Nest Site and Nest Design in Arctic Breeding Shorebirds. *PLoS One* 7(6), e38041.
- Turner, J.S.** (1987). Blood circulation and the flows of heat in an incubated egg. *The Journal of Experimental Zoology Supplement* 1, 99–104.
- Vleck, C., & Kenagy, G.** (1980). Embryonic Metabolism of the Fork-Tailed Storm Petrel - Physiological Patterns During Prolonged and Interrupted Incubation. *Physiological Zoology* 53(1), 32–42.
- Wada, H., Kriengwatana, B., Allen, N., Schmidt, K.L., Soma, K.K., & MacDougall-Shackleton, S.A.** (2015). Transient and permanent effects of suboptimal incubation temperatures on growth, metabolic rate, immune function and adrenocortical responses in zebra finches. *Journal of Experimental Biology* 218(18), 2847–2855.
- Webb, D.** (1987). Thermal Tolerance of Avian Embryos - a Review. *The Condor* 89(4), 874–898.
- Webb, D.R., & King, J.R.** (1983). An Analysis of the Heat Budgets of the Eggs and Nest of the White-Crowned Sparrow, *Zonotrichia leucophrys*, in Relation to Parental Attentiveness. *Physiological Zoology* 56(4), 493–505.
- Weinrich, J., & Baker, J.** (1978). Adelie Penguin (*Pygoscelis adeliae*) Embryonic-Development at Different Temperatures. *The Auk* 95(3), 569–576.
- Williams, J., & Ricklefs, R.** (1984). Egg Temperature and Embryo Metabolism in Some High-Latitude Procellariiform Birds. *Physiological Zoology* 57(1), 118–127.
- Wilsterman, K., Mast, A.D., Luu, T.H., & Haussmann, M.F.** (2015). The timing of embryonic exposure to elevated temperature alters stress endocrinology in domestic chickens (*Gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology* 212, 10–16.

With, K., & Webb, D. (1993). Microclimate of Ground Nests - the Relative Importance of Radiative Cover and Wind Breaks for 3 Grassland Species. *The Condor* 95(2), 401–413.

Yalcin, S., & Siegel, P.B. (2003). Exposure to cold or heat during incubation on developmental stability of broiler embryos. *Poultry Science* 82(9), 1388–1392.