

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



Funkce a význam maternálních androgenů u ptáků

Bakalářská práce

Eva Krkavcová

Laboratoř pro výzkum biodiverzity, Praha 2010

Školitel: Mgr. Jakub Kreisinger, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Veronika Javůrková a Tomáš Albrecht, Ph.D.

OBSAH

Abstrakt	3
1 Úvod	5
2 Steroidní hormony	7
2.1 Klasifikace steroidních hormonů	7
2.2 Mechanismy ukládání maternálních hormonů	10
2.3 Působení maternálních hormonů	11
3 Hlavní fenotypové projevy maternálních androgenů	13
3.1 Vliv maternálních androgenů na rychlost růstu	13
3.2 Vliv maternálních androgenů na imunitní systém	15
3.2.1 Buněčná a humorální imunita	16
3.2.2 Nepřímý vliv maternálních androgenů na imunokompetenci	18
3.3 Vliv maternálních androgenů na chování	19
3.3.1 Personalita	19
3.3.2 Konkurenční chování mláďat	20
3.3.3 Dlouhodobé účinky maternálních androgenů	21
4 Faktory prostředí ovlivňující množství maternálních androgenů ve snůšce	23
4.1 Optimalizace hladiny maternálních androgenů	23
4.2 Hustota populace	23
4.3 Hnízdní predace	25
4.4 Atraktivita partnera	25
4.5 Další faktory	27
5 Závěr	29
6 Přílohy	30
7 Literatura	32

Abstrakt

Předmětem této bakalářské práce jsou maternální androgeny u ptáků, negenetická složka maternálních efektů ovlivňující fenotyp potomstva. Prostřednictvím těchto hormonů je samice patrně schopna adaptivně přizpůsobit fenotyp potomstva, a tím zvýšit pravděpodobnost jejich přežití. Studie založené na experimentální manipulaci s hladinou androgenů v ptačím žloutku ve fyziologickém rozmezí naznačuje, že mateřské androgeny ovlivňují morfologii, růst, imunitní funkce i chování potomků, v některých případech dokonce v průběhu celého jejich života. Cílem práce je shrnout dosavadní poznatky o vlivu maternálních androgenů na potomstvo, se vztahem k faktorům prostředí, kterým je vystavena samice během hnízdění a které mají hlavní vliv na množství androgenů uložených do ptačího vejce. Práce je členěna do čtyř kapitol. Úvod se zaměřuje na maternální efekty a maternální androgeny obecně. Druhá kapitola se věnuje klasifikaci steroidních hormonů a fyziologii jejich působení, především na buněčné úrovni. Třetí kapitola shrnuje nejdůležitější fenotypové znaky, které jsou hladinou maternálních androgenů ovlivněny. Poslední kapitola se zabývá faktory prostředí ovlivňující množství maternálních androgenů uložených samicí do ptačího vejce.

Klíčová slova: maternální efekty, androgeny, ptáci, individuální vývoj, prostředí

Abstrakt

Object of this bachelor work is function of maternal androgens in birds, non-genetic component of maternal effects influencing offspring phenotype. Through these hormones females are probably able to adaptively adjust offspring phenotype, and thereby increase the likelihood of their survival. Manipulation with androgen levels in bird egg yolk in physiological range suggests that maternal androgens affect morphology, growth, immune function and behavior of offspring, in some cases even in their lifetime. The aim of this thesis is to summarize the current knowledge on the effects of maternal androgens on offspring, related to environmental factors facing the female during breeding and have a major impact on the amount of androgens deposited into a chicken egg. The thesis is divided into four chapters. Introduction focuses on the maternal effects and maternal androgens in general. The second chapter deals with the classification of steroid hormones and physiology of their effect, mainly at the cellular level. The third chapter summarizes the most important phenotypic traits that are influenced by the concentration of maternal androgens. The last chapter deals with the environmental factors influencing the concentration of maternal androgens deposited into the female's egg.

Keywords: maternal effects, androgens, birds, individual development, environment

1 Úvod

Snaha rodičů o zvýšení vlastního fitness, definovaného jako schopnost jedince předat vlastní geny do dalších generací, tedy dožít se reprodukčního věku a přivést na svět potomky schopné další reprodukce (Hamilton, 1964), by měla vést k produkci potomstva s fenotypem umožňujícím co možná největší pravděpodobnost přežití. Mnoho organismů má schopnost tzv. „fenotypové plasticity.“ Tato plasticita je často odrazem prostředí, jemuž bude jedinec během svého života vystaven, což dává prostor tzv. „rodičovským efektům.“ Mezi tyto efekty lze zahrnout předání „kvalitních“ genů, prenatální péči jako je placentální výživa savců a inkubace u ptáků, případně zajištění potravy a ochrany mláďat po narození. Také „maternální efekty“ v podobě předání fyziologicky významných látek potomstvu v průběhu embryogeneze jako jsou hormony, antibakteriální bílkoviny nebo vitamíny mohou výrazně manipulovat s fenotypem potomstva. S těmito maternálními efekty se můžeme setkat u nižších obratlovců (McCormick, 1999), ptáků (Gil, 2003) i savců (Fligny et al., 2009).

Steroidní hormony, jako androgeny jsou důležité mediátory prenatálních maternálních efektů. Díky svému působení na regulaci genové exprese se stávají jedním z důležitých prostředníků mezi genotypem a výsledným fenotypem potomstva. Vystavení těmto hormonům během embryogeneze může vést k dlouhotrvajícím organizačním účinkům na morfologii a chování (např. Cooke, 1998). Neméně důležité jsou však i účinky maternálních androgenů na další fenotypové znaky, například rychlost růstu nebo imunokompetenci.

Vliv maternálních androgenů na různé fenotypové znaky není vždy stejný. S rostoucí hladinou maternálních androgenů může dojít ke změně v určitém znaku a v závislosti na prostředí docházet k potenciálním fitness benefits. Stejně zvýšení hladiny maternálních androgenů však může být v jiném prostředí spojeno i s fitness costs, kvůli negativnímu vlivu na jiný fenotypový znak. Protože každý jedinec je jiný, nebo žije v odlišném prostředí, bude se lišit i optimální hladina maternálních androgenů ovlivňujících potomstvo. Působení maternálních androgenů na fenotyp mláďat mající vliv na jejich fitness by tedy mohlo představovat adaptivní změnu na prostředí. Přesto dříve převažoval spíše názor, že odchylky v koncentracích těchto hormonů od normálu jsou potenciálně patologické (např. Gilbert, 2001).

Ideálním modelovou skupinou pro studium vlivu maternálních androgenů na fenotyp potomstva jsou ptáci. Žloutky ptačích vajec obsahují značné koncentrace androgenů, které jsou mnohem vyšší než u ptačích embryí nebo dospělých jedinců. Tyto hormony se navíc vyskytují ve vejci před začátkem vlastní hormonální produkce embrya, nebo i ve vejcích nefertilních (Groothuis

et al., 2005b). Proto je zřejmý jejich maternální původ. Na rozdíl od savců se ptačí embryo vyvíjí mimo tělo matky, a tudíž kromě relativně krátké senzitivní fáze, během které jsou maternální hormony do žloutku ukládány, nedochází k ovlivňování embryogeze (například prostřednictvím placenty). Díky samostatnému vývoji mohou vznikat i experimentální studie manipulující s koncentrací maternálních androgenů ve žloutku bez kontaktu se samicí.

2 Steroidní hormony

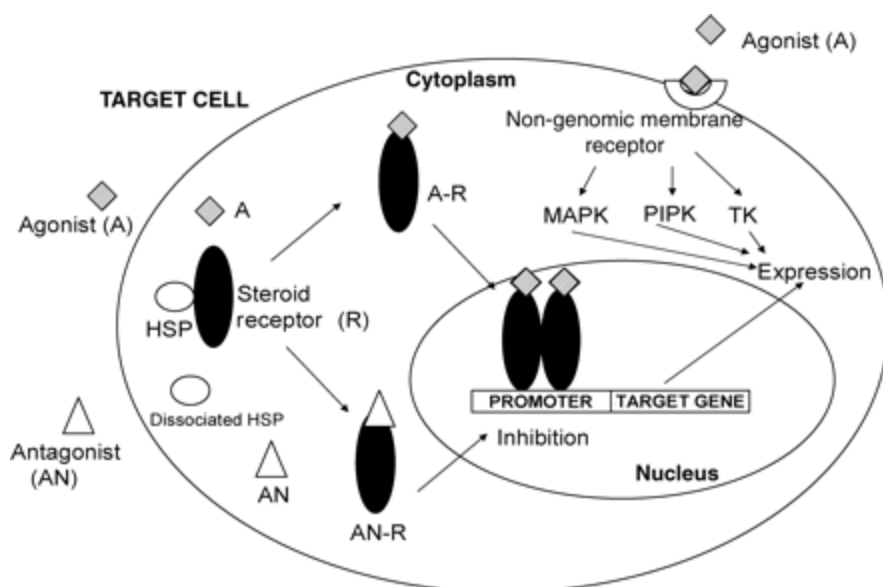
2.1 Klasifikace steroidních hormonů

Steroidní hormony jsou malé lipofilní molekuly odvozené od cholesterolu. K cílovým buňkám se dostávají prostřednictvím krve, v níž cirkulují ve vazbě se specifickými dopravními proteiny (např. kortikosteron vázající globulin). Vstup do buňky přes fosfolipidovou membránu se odehrává díky jejich lipofilní povaze prostou difuzí (Beato a Klung, 2000).

V cílové buňce hormony působí prostřednictvím steroidních receptorů (Obr. 1) nacházejících se jak v cytosolu, tak v jádře. Tyto receptory jsou v neaktivní formě, vázané na tzv. chaperony, které také pomáhají udržet jejich správnou konformaci. Mezi chaperony vázající se na steroidní receptory patří především heat shock proteins, například HSP90. Receptor, jako transkripční faktor, může být aktivován vstupem ligandu (steroidního hormonu) a změnou konformace. V závislosti na povaze aktivujícího ligandu se mění i regulace genové exprese – pozitivně, nebo negativně; a to různými mechanismy (Beato a Klug, 2000).

Odštěpením chaperonu může dojít ke vzniku komplexu ligand-receptor. Tento komplex putuje do jádra a váže se na specifickou sekvenci HREs (hormone response elements), která je v rámci chromatinu vystavena na povrchu. Tato sekvence se nalézá v blízkosti cílových genů a spolu s komplexem ligand-receptor je zodpovědná za remodelaci chromatinu a aktivaci nebo potlačení transkripce cílových genů (Beato a Klug, 2000).

Steroidní receptory se vyskytují volně v cytoplazmě a v buněčném jádře, ale i vázané v plazmatické membráně (Hammes a Levin, 2007). Na rozdíl od pomalé reakce jaderných receptorů, aktivace membránových steroidních receptorů může vést k rychlé buněčné odpovědi, prostřednictvím signálních drah druhých posílů: protein-kinázové kaskády (MAPK, PIPK, TK), cAMP – cyklický adenosinmonofosfát (Nordeen et al., 1994). Reakce buňky na tuto stimulaci se odehrává velmi rychle – řádově v sekundách až minutách, a má vliv na celou řadu buněčných a fyziologických procesů (Falkenstein et al., 2000), například ovlivňuje membránový potenciál buňky, vylučování Ca^{2+} nebo opět i samotný přepis genů (Obr. 1).



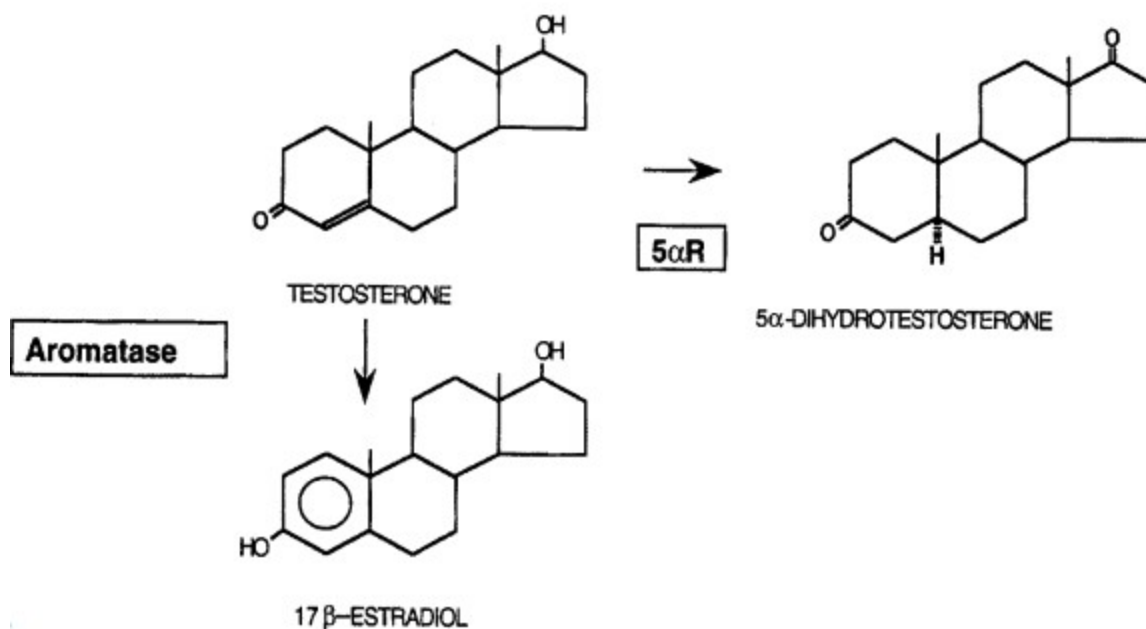
Obr. 1: Genomické a ne-genomické působení steroidních hormonů (A) na cílovou buňku.

HSP – proteiny tepelného šoku heat shock protein; MAPK – mitogeny aktivované protein kinázy; PIPK – fosfatidylinositol fosfát kinázy ; TK – tyrosin kinázy (Roy et al., 2007)

Mezi steroidní hormony patří i testosteron, hormon ze skupiny androgenů – pohlavních hormonů. Přestože hladina testosteronu cirkulujícího v krvi je relativně vysoká, biologicky dostupná je jen malá část 1-2% (Hiipakka a Liao, 1998). Většina je totiž vázaná na transportní bílkoviny (albumin a pohlavní hormon vázající globulin), které zároveň chrání hydrofóbní molekuly testosteronu před degradací. Testosteron může působit sám nebo prostřednictvím svých metabolitů (Obr. 2). Zhruba 7% je v buňce přeměněno 5 α -reduktázou na 5 α -dihydrotestosteron (DHT). Tato redukovaná forma působí na buňku stejně jako testosteron, tedy vazbou na androgenní receptor. Afinita DHT k tomuto receptoru je však třikrát větší (Randall, 1994). Androgeny – testosteron a DHT, mají maskulinizující účinky. Druhý metabolit testosteronu – estradiol, patří mezi estrogény má účinky naopak feminizující (Mooradian et al., 1987). Na estradiol je pomocí aromatázy P450arom (Payne a Hales, 2004) přeměňována pouze malá část, asi 0,3% testosteronu. Estradiol se poté v buňkách váže na estrogenní receptory ER α a ER β a stejně jako testosteron ovlivňuje expresi cílových genů (Couse a Korach, 1999).

V ptačím žloutku se ve značné koncentraci vyskytuje mimo testosteronu a DHT i androstendion. Tento androgenní hormon je produkován nadledvinami, ve varlatech i ve vaječnicích. Stejně jako testosteron má také anabolické účinky. Pozitivně ovlivňuje například růst svalů a mineralizaci kostí (Chen et al., 2004). Androstendion je také společným prekurzorem pro

syntézu testosteronu i estrogenů – estronu a estradiolu (Brown et al., 2006). K této přeměně dochází přímo v místech produkce androstendionu nebo v periferních tkáních, kam je transportován krevní plazmou. Většina studií na ptácích věnujících se vlivu maternálních androgenů *in ovo* na fenotyp potomstva se zaměřuje právě na testosteron, DHT a androstendion.



Obr. 2: Mechanismus nevratné přeměny testosteronu na své metabolity. 5 α -dihydrotestosteron (DHT) vzniká pomocí 5 α -reduktázy, aromatizace testosteronu na estradiol probíhá díky aromatáze P450arom (McPhaul a Young, 2001).

Přestože androgeny mají vliv na expresi asi 200-500 genů (Snyder et al., 2009), jejich účinky na genovou expresi byly zkoumány především na savčím modelu. U ptáků obecně není zatím vliv androgenů na genovou expresi během embryogeneze prozkoumán. Výzkum vlivu maternálních androgenů na celogenomovou expresi během embryogeneze je však nezbytným krokem, který by v budoucnu mohl lépe osvětlit mechanistické pozadí vztahu mezi tímto maternálním efektem a genotypem potomstva.

2.2 Mechanismy ukládání maternálních hormonů

Důležitou a zatím nepříliš studovanou problematikou je mechanismus ukládání hormonů do ptačího vejce. Může se lišit mezi hormony, vzhledem k místu jejich primární produkce. Androgeny jsou produkovány folikulární stěnou oocyty ve vaječniku a vznikají tedy na rozhraní mezi mateřským organismem a oocytem, na rozdíl od glukokortikoidů, které mají původ ve vzdálenějších nadledvinách (Johnson, 2002). Groothuis a Schwabl ve své práci (Groothuis a Schwabl, 2007) navrhuje dva možné mechanismy ukládání maternálních androgenů do vaječného žloutku.

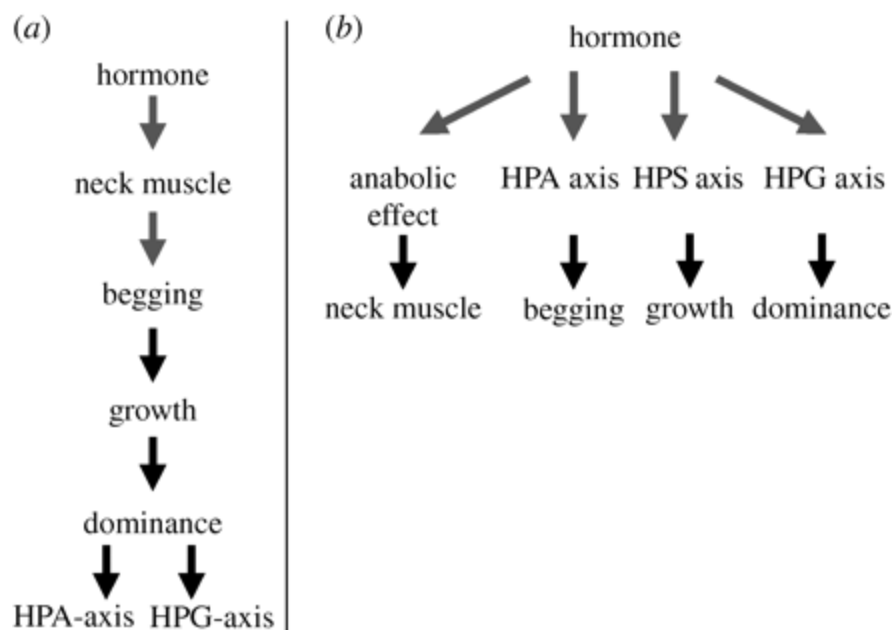
Prvním mechanismem je tzv. „physiological epiphenomenon hypothesis“ (PEH). Tato hypotéza předpokládá, že množství hormonů ve vejci je odrazem vlastní hormonální produkce a sekrece samice. Pokud by tato hypotéza platila, nemusel by být vliv maternálních androgenů na potomstvo adaptivní, ale i neutrální, pořípadě maladaptivní (Ketterson a Nolan, 1999). Podpora pro tuto hypotézu byla však nalezena pouze pro kortikosteroidy a hormony štítné žlázy (Hayward et al., 2005; Love, 2005). Doprava těchto hormonů je vzhledem k poměrně značné vzdálenosti mezi místem jejich produkce a vaječnými závislá na krevním oběhu samice, a proto lze očekávat korelaci hladin těchto hormonů mezi žloutkem a plazmou samice. Androgeny naproti tomu vznikají ve stěnách vaječných folikulů, a proto jejich transport do ptačího vejce nemusí nutně záviset na jejich koncentraci v mateřském krevním oběhu (např. Mazuc et al., 2003a; Verboven et al., 2003)

Další mechanismus zahrnuje „flexible distribution hypothesis“ (FDH) a „independent regulation hypothesis“ (IRH). Plazmatická hladina steroidních hormonů samice je odrazem hormonální produkce folikulů v různých fázích zrání, zatímco množství steroidních hormonů ve žloutku je pod vlivem produkce folikulu vlastního. V případě schopnosti samice regulovat množství a rychlost dozrávání folikulů (Young a Badyaev, 2004) přes hypothalamus-hypofýza-gonadální osu (HPG), je možná nezávislá korelace mezi plazmou samice a žloutkem. Ve vaječném žloutku se zároveň ve vysokých koncentracích vyskytují steroid-vazebné bílkoviny, umožňující spolu s lipid-lipoproteinovou matrix vyšší koncentrace hormonů ve vejci oproti krevní plazmě samice. Tento mechanismus by vedl k minimalizaci fyziologických trade-off a vysvětloval by maternální hormony jako adaptaci.

2.3 Působení maternálních androgenů

Existují pravděpodobně dva možné mechanismy působení maternálních androgenů. Lze

předpokládat, že několik znaků může být ovlivněno jedním prostředníkem (Obr. 3.a). Například testosteron ovlivňuje embryonální růst svalů, včetně krčních svalů (Lipar a Ketterson, 2000) odpovídajících za líhnutí a následné žebravé chování (Schwabl a Lipar, 2002). Dřívější doba vylíhnutí a zvýšené žebravé chování může zvýhodňovat mládě v sourozenecké soutěži o potravu. Tím testosteron nepřímo vede k dalšímu zvyšování růstu, který má dlouhodobé účinky na dominanci a imunitní funkci jedince (Monaghan, 2008). Změna jednoho fenotypového znaku způsobená maternálním testosteronem měla za následek ovlivnění dalších rysů potomstva. Tento mechanismus by však dosti zúžoval možnosti maternálního vlivu na jednotlivé složky fenotypu.



Obr. 3: Pleiotropní působení maternálních androgenů na fenotyp potomstva.

(a) Působení maternálních androgenů na jeden fenotypový znak s nepřímými důsledky na další rysy potomstva.

(b) Ovlivňování několika znaků potomstva současně a nezávisle na sobě.

(Groothuis a Schwabl, 2007)

Druhým mechanismem je působení maternálních androgenů na více znaků současně. Toto působení bude zprostředkováno především přímým i nepřímým vlivem produkce hormonů v časném vývoji i během pozdějších fází ontogeneze a jejich vlivem na regulaci metabolických pochodů (Obr. 3.b). Tento efekt však nebyl doposud do detailů prozkoumán, a proto níže uvedený výčet možných vlivů maternálních androgenů představuje spíše hypotetické možnosti podpořené

několika studii.

Vliv materiálních androgenů na hlavní hormonální osy (Obr. 3.b):

Androgeny obsažené v žloutku mohou působit na osu hypotalamus-hypofýza-gonády (HPG), jejímž prostřednictvím mohou ovlivňovat produkci androgenů (Müller et al., 2007) během časného vývoje i v dospělosti. To by vysvětlovalo vliv manipulace s maternálními androgeny *in ovo* na androgen-dependentní vlastnosti, které se projevují v dospělosti. Například černá skrvna na krku vrabce domácího (*Passer domesticus*) (Strasser a Schwabl, 2004) nebo svatební opeření racka chechtavého (*Larus ridibundus*) (Eising et al., 2006) jsou ovlivněny maternálními androgeny.

Zvýšení žloutkové hladiny maternálních androgenů ovlivňuje i hormonální produkci nadledvin (HPA osa). Mláďata vylíhlá z manipulovaných vajec křepelky japonské (*Coturnix japonica*) (Daisley et al., 2005) vykazovala nižší hladiny kortikosteronu – stresového hormonu, produkovaného kůrou nadledvin, než mláďata kontrolní. V dalším případě byl sledován vliv maternálních androgenů *in ovo* na hladinu kortikosteronu u mláďat poštolky pestré (*Falco sparverius*). Mláďata s vyšší hladinou maternálních androgenů měla i vyšší hladiny kortikosteronu (Sockman a Schwabl, 2001).

Přestože hormony štítné žlázy (HPT osa) ovlivňují ptačí vývoj v mnoha ohledech, včetně rozvoje nervového systému, termoregulace a růstu svalů, kostí a chrupavek (Galas et al., 2009; Whittow a Tazawa, 1991), účinek androgenů na osu hypotalamus-hypofýza-štítná žláza zatím nebyl zkoumán.

Androgeny mohou působit i přímo na centrální sekreci růstového hormonu (GH), nebo na periferní sekreci IGF-I (inzulínový růstový faktor-1), který je mediátorem anabolického působení GH (Meinhardt a Ho, 2006).

3 Hlavní fenotypové projevy maternálních androgenů

Vlivem maternálních androgenů na fenotyp jedince se doposud zabývala celá řada studií (viz Tab. 1). V řadě případů mají maternální androgeny na mezidruhové úrovni víceméně konzistentní vliv na určité fenotypové znaky, v některých případech je však jejich působení mezi jednotlivými druhy dosti heterogenní (viz. část „líhnutí“ v Tab. 1). To může být dané mezidruhovou variabilitou funkčních odpovědí na expozici maternálními hormony. V neposlední řadě je odpověď fenotypu na působení maternálních androgenů dána i typem mlád'at. Mezi ptačími druhy rozlišujeme podle stupně vývoje při líhnutí dva typy – altriciální a prekociální (Starck a Ricklefs, 1998). Altriciální mlád'ata přicházejí na svět relativně nevyvinutá a velká část jejich vývoje probíhá až po vylíhnutí, kdy jsou už maternální hormony ve žloutku téměř spotřebovány. U prekociálních ptáků je naopak většina tkání a struktur funkčních ještě před vylíhnutím. Navíc u nich byla zjištěna časná exprese steroidních receptorů a enzymů metabolizujících steroidní hormony. Např. již druhý den inkubace byla v pohlavních žlázách přítomna mRNA pro enzymy metabolizující steroidní hormony a sedmý den inkubace zde byly přítomny i androgenní receptory (Bruggeman et al., 2002). Aktivace enzymů umožňuje metabolizaci maternálního testosteronu na estrogeny a DHT (Bruggeman et al., 2002) a umožňuje jim působit na další cílové tkáně. Naproti tomu u altriciálních ptáků dochází k expresi steroidních receptorů až v pozdějších fázích embryonálního vývoje, a to především na úrovni mozku a nervové soustavy. Např. mezi sedmým a desátým dnem inkubace zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*) se objevují první androgenní receptory v oblasti zadního mozku a nervových drah inervujících svaly krku a syrinx, což jsou struktury důležité pro líhnutí a žebřivé chování (Godsave et al., 2002).

3.1 Vliv maternálních androgenů na rychlost růstu

Rychlost růstu je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících šanci mlád'at na přežití. Ukázalo se, že maternální androgeny u ptáků jsou zásadními stimulatory urychlujícími růst mlád'at během embryonální fáze i po narození (např. Schwabl, 1996a). Urychlení růstu způsobené maternálními androgeny je v řadě případů spojeno s fitness benefits – např. výhoda v sourozenecké konkurenci o potravu nebo snížení pravděpodobnosti hnízdni predace díky zkrácení doby strávené v hnízdě (Schwabl et al., 2007). Na druhé straně urychlení růstu může přinášet i jisté fitness costs – především v podobě nedostatečného dozrání některých funkcí jako je imunitní systém (Andersson

et al., 2004) nebo zvýšeným oxidativním stresem způsobeným zvýšením bazálního metabolismu (Martin a Schwabl, 2008).

Maternální androgeny mohou působit na růst potomstva několika způsoby. Androgeny mohou ovlivňovat genovou expresi jak v embryonální fázi, tak v období postnatálním, a tímto mechanismem přímo působit na růst a vývoj tkání jako jsou svaly a kosti. Růst mláďat po narození je však podmíněn především množstvím potravy získaným od rodičů. Androgeny mají vliv na míru žebrového chování, které je zásadním faktorem v sourozenecké soutěži o množství potravy přidělené rodiči. Přestože většina studií ukazuje pozitivní korelaci mezi zvýšenou hladinou maternálních androgenů *in ovo* a zvýšeným růstem mláďat vylíhlých z těchto vajec, nelze často jednoznačně určit, jaký mechanismus je příčinou této změny rychlosti růstu, zda přímo anabolické účinky androgenů a nebo jejich vliv na žebrové chování mláďat.

Zvýšení hladiny maternálních androgenů vedlo ke zkrácení embryonálního vývoje a urychlení doby líhnutí u špačka obecného (*Sturnus vulgaris*) (Lipar, 2001) a vlhovce červenokřídlého (*Agelaius phoeniceus*) (Lipar a Ketterson, 2000), pravděpodobně jako důsledek zvětšení *musculus complexus*, svalu odpovědného za proražení vaječné skořápky. To potvrzuje i studie na zebřičce pestré (*Taeniopigya guttata*), u které byl během časně embryonální fáze zaznamenán výskyt androgenních receptorů v oblasti zadního mozku, která je zodpovědná za rozvoj svalů umožňujících líhnutí a žebrové chování (Godsave, 2002).

Zvýšení rychlosti růstu v postnatální fázi díky zvýšení hladiny maternálního testosteronu *in ovo* bylo potvrzeno například u mláďat racka chechtavého (*Larus ridibundus*) (Eising, 2001; Groothuis et al., 2005a) a špačka obecného (*Sturnus vulgaris*) (Pilz et al., 2004). Zvýšení růstu pod vlivem maternálních androgenů bylo pozorováno i u čerstvě narozených mláďat hýla mexického (*Carpodacus mexicanus*). Během prvního týdne však u těchto mláďat došlo ke srovnání velikostí a osmý den po narození byla manipulovaná i kontrolní mláďata stejně velká (Navara et al., 2006). Některé práce ukazují, že vztah mezi koncentrací maternálních androgenů, rychlostí růstu a hmotností mláďete nemusí být nutně lineární, ale může se při různých koncentracích maternálních androgenů kvalitativně lišit. V případě salašníka modrého (*Sialia sialis*) bylo použito několik koncentrací testosteronu, jimiž byla vejce manipulována. Mimo vlastní hormonální produkci byla u mláďat zvýšena hladina maternálního testosteronu *in ovo* ve dvou koncentracích (nízká a vysoká koncentrace). U mláďat s nižší dávkou testosteronu *in ovo* byl posílen kosterní růst během prvních dnů po vylíhnutí oproti mláďatům s vysokou dávkou testosteronu a mláďatům kontrolním. Na druhou stranu, nejvyšší dávka testosteronu vedla u dva týdny starých mláďat ke zvýšené hmotnosti, lepší kondici a celkově větší vospělosti než u dvou zbývajících skupin mláďat (Navara et al., 2005). U těchto starších mláďat bohužel nebyla sledována míra žebrového chování. Proto nelze určit, zda

mělo působení vysokých dávek testosteronu *in ovo* vliv na dlouhodobý růst, nebo byl tento růst podmíněn zvýšeným žebravým chováním manipulovaných mlád'at (Navara et al., 2005). Existuje i určitá evidence pro pohlavně specifický vliv maternálních androgenů na růst mlád'at. V případě zebřičky pestré (*Taeniopigya guttata*) měla zvýšená hladina maternálních androgenů *in ovo* pozitivní vliv na růst pouze u samic vylíhlých z manipulovaných vajec (von Engelhardt et al., 2000).

V kontrastu se všemi výše uvedenými studiemi bylo se zvýšenou hladinou maternálních androgenů ve vaječném žloutku u mlád'at poštolky pestré (*Falco sparverius*) sledováno snížení postnatálního růstu, a s tím spojená zvýšená úmrtnost manipulovaných mlád'at (Sockman a Schwabl, 2000). Není však zřejmé, zda důvodem zvýšené úmrtnosti nebyly vedlejší dopady zvýšené hladiny androgenů například na imunitní funkci mlád'at.

Jak bylo zmíněno výše, nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím postnatální růst mlád'at je množství potravy. U mlád'at mnoha druhů ptáků byla sledována manipulace s množstvím jim přidělené potravy pomocí žebrového chování a sourozenecké agresivity. Vliv maternálních androgenů *in ovo* na žebrové chování mlád'at může být zprostředkován zvětšením *musculus complexus*, svalu zodpovědného mimo jiné za zvednutí a udržení hlavy ve vertikální poloze a zároveň rozšíření krku při žebvání (Ashmore et al., 1973). Vyšší hladiny androgenů vedou ke zvětšení tohoto svalu (Lipar a Ketterson, 2000; Lipar, 2001), a tedy lepší schopnosti mlád'at žebrať o potravu.

Zvýšení žebrového chování prostřednictvím maternálních androgenů *in ovo* bylo pozorováno u manipulovaných mlád'at kanára *Serinus canaria* (Schwabl, 1996a) a racka chechtavého (*Larus ridibundus*) (Eising a Groothuis, 2003). Jak bylo zmíněno výše, u mlád'at zebřičky pestré mají maternální androgeny pohlavně specifický vliv na žebrové chování (von Engelhardt et al., 2000). U mlád'at špačka obecného (*Sturnus vulgaris*) došlo pod vlivem maternálních androgenů ke zvýšenému růst v časně postembryonální fázi. V období tohoto růstu však manipulovaná mlád'ata nevykazovala změnu v žebrovém chování oproti mlád'atům kontrolním (Pilz et al., 2004), z čehož vyplývá přímý vliv androgenů na růst mlád'at.

3.2 Vliv maternálních androgenů na imunitní systém

Androgeny mají obecně imunopresivní účinky, což bylo potvrzeno mnoha studiemi na

ptácích i savcích (např. Arstila a Lassila, 1993). Stejně tak i v případě maternálních androgenů byl ve většině případů prokázán jejich negativní vliv na imunokompetenci (např. Groothuis et al., 2005a), i když výsledky těchto studií nejsou zcela konzistentní (Cucco et al., 2008). Tento negativní efekt může být způsoben pozitivním vlivem maternálních androgenů na růst a rychlost metabolismu mláďat. Růst ptáků a vývoj imunity jsou energeticky velmi náročné fáze ontogeneze (Lochmiller a Deerenberg, 2000). Díky energetické disbalanci způsobené maternálními androgeny, může být například zvýhodňován růst na úkor imunitního systému (Andersson et al., 2004; Groothuis et al., 2005a).

Vzhledem ke složitosti a komplexnosti imunitního systému a jeho provázanosti s dalšími fyziologickými soustavami je velmi složité sledovat procesy, kterými maternální androgeny ovlivňují imunokompetenci. Imunitní reakce zahrnuje celou řadu mechanismů. Od rozpoznání potenciálního patogenu cirkulujícími makrofágy, přes nespecifické imunologické reakce jako zvýšení teploty, lýza buněk a fagocytóza, až po aktivaci T-lymfocytů a specifické imunitní odpovědi (Glick, 2000). Studie sledující vliv maternálních androgenů na imunitní odpověď mláďat většinou využívají standardizované imunoekologické metody jako například kožní PHA test (Tella et al., 2008). Přestože tento typ výzkumu dává určité relativní měřítko jednotlivých složek imunitní odpovědi (ale viz Vinkler et al., 2010), jeho schopnost vysvětlit mechanisticky vztah mezi hladinou androgenů a imunitním systémem je značně omezená (Tella et al., 2008). Přímé fyziologické mechanismy působení maternálních hormonů na jednotlivé aspekty imunitní reakce nebyly ve většině případů dostatečně detailně zkoumány, proto jsou v této kapitole navrženy pouze možnosti vlivu maternálních androgenů na ptačí imunitu.

3.2.1 Buněčná a humorální imunita

Podkladem imunitní soustavy je lymfatický systém, jehož součástí jsou u ptáků dva centrální orgány. Brzlík, který dává vzniknout T-lymfocytům (Glick, 2000) a Fabriciova burza, která je místem maturace B-lymfocytů (Glick, 1970). Oba tyto orgány se zakládají během prvního týdne embryogeneze (Le Douarin a Jotereau, 1975), a proto mohou snadno podléhat vlivům maternálních hormonů. Dalo by se očekávat, že předpokládaný imunopresivní efekt maternálních androgenů v časně fázi vývoje povede i k dlouhodobým účinkům na imunitu.

Imunokompetence ptačích mláďat v souvislosti s působením maternálních androgenů byla ve všech případech zkoumána pomocí jednoho z následujících testů. Kožním PHA testem se měří velikost lokální zánětlivé reakce po aplikaci fytohemaglutininu, který má mitogenní účinky na T-lymfocyty (Kennedy a Nager, 2006; ale Vinkler et al., 2010). Vliv na imunitu humorální se měří

pomocí lipopolysacharidu (LPS) představujícího buněčnou stěnu bakterií. LPS indukuje imunitní odpověď na bakterie v podobě zvýšeného uvolňování cytokinů vyvolávajících zánětlivou reakci a následnou tvorbu protilátek (Leshchincký a Klasing, 2001). Měří se zpravidla změna koncentrace protilátek v krevním oběhu mláďat před a po aplikaci LPS (např. Müller et al., 2005). Posledním testem je odpověď imunitního systému mláďat na aplikaci sRBC (sheep red blood cells), které indukují tvorbu specifických protilátek, především IgM (Ladics, 2007). Stejně jako v předchozím případě, i zde se měří hladina těchto protilátek v krvi před a po aplikaci sRBC (Hirota et al., 1976).

Mechanismus vlivu maternálních androgenů by se do značné míry mohl podobat vlivu androgenů na imunitní systém dospělých ptáků. I zde byl prokázán spíše imunosupresivní účinek, především změnou koncentrace lymfocytů cirkulujících v krvi (Arstila a Lassila, 1993). V brzlíku – místě maturace T lymfocytů, kde byly nalezeny androgenní receptory, se zvýšená hladina maternálního testosteronu projevila apoptickými účinky na buněčné populace tohoto lymfatického orgánu (Olsen a Kovacs, 1996). Přestože se konečný počet cirkulujících lymfocytů mezi testosteronem manipulovanými a kontrolními mláďaty salašníka modrého (*Sialia sialis*) nelišil, imunitní reakce manipulovaných mláďat byla po podání fytohemaglutininu (PHA) menší (Navara et al., 2005). To by mohlo být vysvětleno třeba menším množstvím zralých a plně funkčních lymfocytů v důsledku apoptických účinků testosteronu (Olsen a Kovacs, 1996). Imunitní reakce na PHA byla nižší i u racka chechtavého (*Larus ridibundus*) (Müller et al., 2005 a Groothuis et al., 2005a).

Existují však i práce, které supresivní účinek maternálních androgenů na T-buněčnou imunitu neprokazují. U čtrnáctidenních mláďat hýla mexického (*Carpodacus mexicanus*) vylíhlých z vajec s experimentálně zvýšenou hladinou androgenů byla zjištěna silnější imunitní reakce T-lymfocytů na PHA (Navara et al., 2006). V dalším případě nebyla prokázána žádná souvislost mezi maternálním testosteronem a imunitním systémem. Imunitní odpověď T-lymfocytů se po vpichu PHA lišila pouze ve 3%, a to ve prospěch testosteronem manipulovaných mláďat sýkory koňadry (*Parus major*) (Tschirren et al., 2005). Ani nejnovější studie neprokázaly žádnou souvislost mezi prenatálním působením testosteronu a buněčnou imunitou v dospělosti (Cucco et al., 2008).

Jak bylo zmíněno výše, B-lymfocyty vznikají v primárním lymfatickém orgánu – Fabriciových burzách. V těchto váčcích jsou stejně jako v brzlíku přítomny androgenní receptory (Sullivan a Wira, 1979) zprostředkovávající reakce androgenů. Negativní dopad na humorální imunitní reakci může mít souvislost s redukcí hmotnosti Fabriciových burz, která byla zjištěna u testosteronem (Burke, 1996) a testosteron-propionátem (Norton a Wira, 1977) manipulovaných

kuřecích mlád'at (*Gallus gallus domesticus*). Tato burzální růstová nedostatečnost by mohla vést ke špatné maturaci B-lymfocytů (Müller et al., 2005) a jejich neschopnosti vytvářet protilátky (Hirota et al., 1976). V několika případech byl sledován negativní vliv maternálních androgenů na humorální imunitní reakci mlád'at. Androgeny *in ovo* manipulovaná mlád'ata racka chechtavého (*Larus ridibundus*) nevykazovala téměř žádnou imunitní reakci na lipopolysacharid (LPS) představující bakteriální antigen, zatímco u kontrolních mlád'at došlo po 48 hodinách k prudké humorální imunitní reakci, tedy k zvýšené tvorbě protilátek (Müller et al., 2005). Šest dní stará manipulovaná mlád'ata kavky obecné (*Corvus monedula*) měla hladinu protilátek nižší ještě před sledovanou reakcí na LPS (Sandell et al., 2009). Naopak v případě injekce sRBC (sheep red blood cells) mlád'atům kura domácího (*Gallus gallus domesticus*) s manipulovanou hladinou testosteron-propionátu *in ovo* nedošlo k rozdílům v produkci protilátek (IgM) oproti kontrolním mlád'atům (Hirota et al., 1976).

3.2.2 Nepřímý vliv maternálních androgenů na imunokompetenci

Androgeny mohou působit na imunitní systém i nepřímo, například prostřednictvím jejich vlivu na produkci jiných látek s fyziologickým účinkem. Mlád'ata poštolky pesté (*Falco sparverius*) z vajec ošetřených testosteronem vykazovala vyšší hladiny kortikosteronu (Sockman a Schwabl, 2001). Glukokortikoidy obecně jsou významnými imunomodulátory vykazující u ptáků především immunosupresivní účinky (El-Lethey et al., 2003). Např. u mlád'at racka středomořského (*Larus michahellis*) byla v souvislosti s vyšší hladinou kortikosteronu snížena imunitní reakce T-lymfocytů (Rubolini et al., 2005). U kura domácího byla pod vlivem kortikosteronu indukována buněčná smrt – apoptóza, thymocytů, které v brzlíku dozrávají ve funkční T-lymfocyty (Compton et al., 1990).

U některých druhů byla zjištěna souvislost mezi prenatální hladinou androgenů a klidovým metabolismem mlád'at (Tobler et al., 2007a). Toto zvýšení metabolické aktivity u androgeny ošetřených mlád'at může vést k nadprodukcí volných kyslíkových radikálů, a tedy ke zvýšenému riziku oxidativního stresu (Martin a Schwabl, 2008). Tyto reaktivní formy kyslíku mají cytotoxické účinky jako je oxidace proteinů a molekul DNA (Finkel a Holbrook, 2000). Navíc u testosteronem manipulovaných mlád'at zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*) byla u samců zjištěna nižší hladina antioxidantů, než u samic a mlád'at nemanipulovaných bez rozdílu pohlaví (Tobler a Sandell, 2008).

3.3 Vliv maternálních androgenů na chování

Androgenní receptory se u ptáků v oblasti mozku nacházejí již během časného embryonálního vývoje (např. Godsave et al., 2002). Lze předpokládat, že působení prenatálních androgenů bude mít vliv na velikost a organizaci mozku, a tím na chování a další aspekty nervové činnosti. Vzhledem k tomu, že složitost chování odpovídá množství a provázanosti spojů nervové sítě (Lefebvre et al., 2004), maternální androgeny by mohly poskytovat hormonální základ pro intenzivnější neurální růst, jelikož jejich hladina v žloutku u ptáků na mezidruhové úrovni pozitivně koreluje s velikostí mozku (Garamszegi et al., 2006). Přesto byl vliv testosteronu na organizaci různých částí mozku a mozkovou činnost sledován především u dospělých ptáků (např. DeVoogd a Nottebohm, 1981; Louissaint et al., 2002; Van Meir et al., 2004).

Na zebřičce pestré (*Taeniopygia guttata*) byly dělány studie zkoumající přítomnost mRNA pro androgenní receptory během embryogeneze. Nejprve se androgenní receptory objevují v oblasti evolučně staršího zadního mozku a až později v rostrální části. Během sedmého dne embryogeneze jsou androgenní receptory přítomny v tracheosyringální oblasti a oblasti jazyka a během následujícího dne i v oblasti inervující svaly krku (např. Godsave et al., 2002). Z toho mimo jiné vyplývá vliv androgenů na dobu líhnutí a žebravé chování. V průběhu desátého dne embryonálního vývoje se mRNA pro androgenní receptory vyskytuje již ve všech oblastech mozku (Perlman et al., 2002). Androgeny tedy mohou v těchto cílových oblastech působit na růst a diferenciaci buněk.

3.3.1 Personalita

Několik studií věnujících se zejména prekociálním druhům sledovalo vliv androgenů *in ovo* na chování v časně postembryonální fázi se stejnými výsledky pro obě pohlaví. S rostoucí hladinou androgenů mládřata vykazovala větší aktivitu a menší strach při zkoumání nových objektů (neofobii). U mládřat se zvýšenou hladinou maternálních androgenů byl také pozorován vyšší práh pro vyvolání stresové reakce, která byla v tomto případě měřena jako prodleva před začátkem volání a následná nižší intenzita tohoto volání během izolace od skupiny. Celkově u nich byla nalezena slabší reakce na stresové faktory, s čímž koreluje i snížení hladiny vylučovaných metabolitů kortikosterkonu – stresového hormonu (Daisleya et al., 2005; ale Okuliarova et al., 2007). S prenatálně zvýšenou hladinou androgenů se u čerstvě vylíhlých mládřat zlepšila i schopnost učení. V průběhu dne před vylíhnutím byla embrya křepelky viržinské (*Colinus virginianus*) vystavena mateřskému volání. V následném testu stačila androgeny manipulovaným

mlád'atům poloviční doba k určení správného vnitrodruhového volání oproti kontrolním mlád'atům (Bertin et al., 2009). Relevantní studie, které by zkoumaly vliv maternálních androgenů na mlád'atech altriciálních druhů ptáků bohužel téměř chybí (ale viz Tobler a Sandell, 2007). Poměrně malé množství studií, které se vlivem maternálních androgenů na personalitu mlád'at zabývá nedovoluje zatím s jistotou vyvozovat obecnější závěry. Přesto můžeme předpokládat, že materiální androgeny by mohly vést k dřívějšímu osamostatnění mlád'at díky jejich snížené bázlivosti a lepší schopnosti učení. Na druhou stranu by toto aktivnější a rizikovější chování mohlo být potenciálně spojeno i s fitness costs, například s větší pravděpodobností predace (Dingemanse, 2003). Hladina androgenů by tedy v závislosti na prostředí, resp. riziku predace, měla být optimalizována, aby nedocházelo ke zvýšené úmrtnosti mlád'at.

3.3.2 Konkurenční chování mlád'at

Míra konkurenceschopnosti je důležitá zvláště pro altriciální a semi-prekociální mlád'ata, která jsou po narození zcela nebo částečně závislá na rodičích. Sourozeneckou rivalitu ovlivňují zejména dva faktory. Za prvé načasování líhnutí vzhledem k ostatním sourozencům – dříve vylíhlým mlád'atům je dříve poskytnuta potrava a tedy možnost růstu, což jim dává lepší pozici pro další soupeření o zdroje (např. Eising et al., 2001; ale Sockman a Schwabl, 2000). Druhým faktorem je míra žebrání mlád'at.

Studie zaměřené na konkurenční chování mlád'at se většinou zabývají vlivem androgenů na růst svalů *musculus complexus* ovlivňujících žebravé chování (Lipar a Ketterson, 2000). Jak bylo zmíněno v úvodu této kapitoly, testosteron může skrze androgenní receptory ovlivňovat inervaci struktur odpovídajících za líhnutí a žebravé chování. To vysvětluje, že ve většině případů lze sledovat spíše pozitivní korelaci mezi maternálním testosteronem a žebravým chováním (Schwabl, 1996a; Eising a Groothuis, 2003). U některých druhů je tento vliv androgenů navíc pohlavně specifický. Zatímco samice vylíhlé z androgeny manipulovaných vajec zebříčky pestré (*Taeniopygia guttata*) vykazovala větší žebravé chování než samice kontrolní, u samců se vliv testosteronu neprojevil (von Engelhardt et al., 2006). Mlád'ata špačka obecného (*Sturnus vulgaris*) naopak nevykazovala v sovislosti s manipulací maternálními androgeny žádný vliv na žebravé chování, nebo dokonce vliv negativní (Pilz et al., 2004).

U některých druhů ptáků se můžeme setkat s asynchronním líhnutím mlád'at (Clark a Wilson, 1981). K tomuto jevu dochází v případě, že samice začne inkubovat snůšku před její kompletací. Vzhledem k tomu, že intervaly mezi jednotlivě snesenými vejci mohou být v řádu hodin až jednoho dne, mlád'ata vylíhlá z dříve snesených vajec mají výhodu dřívější inkubace a tedy

vývoje a líhnutí. Maternální androgeny mohou být nástrojem ke zmenšení vlivu tohoto asynchronního líhnutí na časné sourozenecké soupeření. Tuto možnost podporuje i fakt, že v mnoha případech byla prokázána rostoucí depozice androgenů v pořadí kladených vajec (např. Müller et al., 2004; ale Ellis et al., 2001). Mláďata vylíhlá ve snůšce později mají tedy možnost kompenzovat svoji nevýhodnou počáteční situaci často vedoucí ke snížené pravděpodobnosti přežití (O'Connor, 1978) a díky zvýšenému růstu, žebravému a agresivnímu chování dohnat růstový deficit vzhledem k ostatní sourozencům.

U semi-prekociálních mláďat byla nalezena souvislost mezi hladinou androgenů a teritoriálním chováním. Samice racka chechtavého (*Larus ridibundus*) hnízdí ve velkých koloniích a je tedy vystavena velkému množství sociálních agonistických interakcí s mláďaty z cizých snůšek. Mláďata vylíhlá z vajec s experimentálně zvýšeným množstvím testosteronu se častěji podílela na obraně teritoria proti mláďatům z jiných hnízd, než mláďata z kontrolních vajec. Zajímavé je, že se jejich teritoriální agresivita neprojevovala v rámci sourozeneckého soupeření (Müller et al., 2009a).

3.3.3 Dlouhodobé účinky maternálních androgenů

Existuje mnoho studií zabývajících se vlivem androgenů na fenotyp a chování dospělých ptáků. Je možné, že chování v dospělosti by mohlo být i pod vlivem androgenů maternálních (Nolan et al. 1992; Ketterson a Nolan, 1999). Avšak mechanismy působení androgenů *in ovo* na chování dospělých jedinců nejsou příliš prozkoumány (viz.kapitola 2). Dospělí samci vrabce domácího (*Passer domesticus*) z androgeny manipulovaných vajec byli dominantější, agresivnější a vyjadřovali více sexuální chování, než samci kontrolní. Zároveň však mezi těmito dvěma skupinami nebyly naměřeny rozdílné koncentrace v krvi cirkulujících androgenů, což potvrzuje dlouhodobé účinky testosteronu maternálního (Partecke a Schwabl, 2008). Stejně tak u racka chechtavého (*Larus ridibundus*) došlo k většímu počtu agresivních výbojů a reprodukčního chování, resp.námluv u jedinců se zvýšenou hladinou maternálních androgenů (Eising et al., 2006). Reprodukční chování, v podobě natřásání peří a počtu kopulací, podmíněné maternálními androgeny bylo častější u samců, zatímco agresivita se u racků mezi pohlavími nelišila. U obou výše zmíněných druhů byl navíc prokázán pozitivní vliv maternálních androgenů na vývoj sekundárních pohlavních znaků ovlivňujících reprodukční úspěšnost samců (např. Möller, 1988).

Vliv maternálních androgenů na samičí reprodukci se jako mnoho jiných znaků mezidruhově liší. Dva druhy z řádu Galliformes pod vlivem testosteronu *in ovo* snížily počet kladených vajec a jejich velikost (Uller et al., 2005; Rubolini et al., 2007). Negativní efekt bude

pravděpodobně způsoben vlivem maternálních androgenů na vlastní endogenní hormonální produkci samice v dospělosti, případně větší citlivostí samice na androgeny. To by mohlo ovlivnit fungování osy hypotalamus-hypofýza-gonády (HPG), která má pod kontrolou ovulační cyklus a kladení vajec (Johnson, 2000), a tedy snížit počet vajec ve snůšce. Prenatální androgeny mohou mít vliv i na vývoj vaječníků s negativními dopady na pozdější funkci a dozrávání folikulů (Adkins-Regan et al., 1995). Negativní efekt androgenů na reprodukční chování v podobě zmenšené velikosti snůšky a snížené hmotnosti vajec byl prokázán i u samic manipulovaných androgeny až v dospělosti (např. Rutkowska et al., 2005; Veiga a Polo, 2008). Naopak u zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*) žádný vliv maternálních androgenů na samičí reprodukci prokázán nebyl (vonEngelhardt et al., 2004a; Rutkowska et al., 2007). Samice kanára divokého (*Serinus canaria*) manipulované testosteornem *in ovo* vykazovaly oproti předchozím studiím nárůst počtu vajec ve snůšce. Hmotnost vajec snesených manipulovanou samicí se ale nelišila od hmotnosti vajec samic kontrolních. V tomto případě maternální testosteron pozitivně ovlivňoval i růst samic. Proto nelze jednoznačně určit, zda bylo reprodukční chování samice pod vlivem testosteronu, nebo vedlejším efektem růstu (Müller et al., 2009b).

U mláďat vedla zvýšená hladina maternálních androgenů ke snížené bojácnosti a lepšímu učení (viz.kap. 3.3.1). Stejně tak u dospělých, devět měsíců starých jedinců zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*), měl maternální testosteron vliv na neofóbní chování. Manipulovaní jedinci bez rozdílu pohlaví si rychleji zvykali na nové druhy potravy (Tobler a Sandell, 2007).

4 Faktory ovlivňující množství maternálních androgenů ve snůšce

4.1 Optimalizace hladiny maternálních androgenů

Množství maternálních androgenů uložených samicí *in ovo* se liší mezi ptačími druhy i samicemi jednoho druhu. Stejně tak se mění hladina těchto hormonů mezi snůškami jedné samice, případně mezi vejci jedné snůšky (Groothuis a Schwabl, 2002). Důvodem pro toto rozdílné „přidělení“ androgenů je jejich schopnost pleiotropního působení, tedy ovlivňování několika znaků najednou (viz.kap 2.3).

V předchozí kapitole byly zmíněny hlavní fenotypové projevy vlivu maternálních androgenů na mláďata. Jak již bylo naznačeno, zdaleka ne ve všech případech však mají maternální androgeny pozitivní vliv na vývoj a přežívání potomstva a jejich působení na mláďata je spojeno jak s fitness benefits, tak s fitness costs. Proto závisí především na prostředí, kterému je samice během hnízdění vystavena a kterému by se měla snažit přizpůsobit i fenotyp potomstva. V případě, že je pro mláďata výhodnější urychlení růstu, například kvůli zvýšenému riziku predace, je i výhodnější zvýšit hladinu maternálních androgenů *in ovo*. Opačným faktorem vedoucím ke snižování hladiny maternálních androgenů ve vejci je například imunosupresivní účinek těchto hormonů. Pokud budou mláďata po narození vystavena vyššímu riziku infekce, mělo by dojít i ke snižování hladiny maternálních androgenů *in ovo*. Úroveň optimální hladiny maternálních androgenů je ovlivněna řadou environmentálních faktorů diskutovaných v této kapitole, které podmiňují sílu selekce pro a proti zvyšování hladiny tohoto hormonu.

4.2 Hustota populace

Důležitým parametrem prostředí, kterému je samice vystavena, je hustota populace. S hustotou populace souvisí několik faktorů, které mohou mít různý vliv na množství maternálních androgenů uložených samicí do vejce. Mimo většího množství sociálních interakcí se může jednat o kompetici o potravu (Vahl et al., 2005), zvýšené riziko infekce (Alexander, 1974), nebo pravděpodobnost nevěry – mimopárové kopulace (Westneat a Sherman, 1997). Poslední zmiňované faktory budou diskutovány v závěrečné části této kapitoly. Obecně lze předpokládat, že samice hnízdící v oblastech více osídlených dalšími ptáky bude do vejce ukládat větší množství androgenů.

Především díky vlivu těchto maternálních hormonů na zvýšenou schopnost kompetice v podobě urychleného růstu mláďat a změny chování směrem ke zvýšené agresivitě a teritorialitě (např. Eising a Groothuis, 2003; Müller et al., 2009a).

Ukázalo se, že hladina maternálních androgenů ve žloutku je v přímé závislosti na hustotě populace u špačka obecného (*Sturnus vulgaris*) (Pilz a Smith, 2004) a na množství sociálních interakcí u racka chechtavého (*Larus ridibundus*) (Groothuis et al., 2005a). V další studii byla sledována reakce samic vrabce domácího (*Passer domesticus*) během snášení vajec na přítomnost vetřelce stejného. Přítomnost klece s dalším jedincem nebo prázdné klece neměla přímý vliv na hladinu maternálních androgenů uložených samicí *in ovo*. Nicméně u samic, které v důsledku experimentálního vniknutí setrvaly v hnízdě delší dobu, byla naměřena zvýšená hladina maternálních androgenů *in ovo* než u samic, které na sociální interakci reagovaly méně (Mazuc et al., 2003a). Samice reagující na potenciální nebezpečí setrváním v hnízdě bude pravděpodobně zkušenější a předáním informace, v podobě zvýšení hladiny maternálních androgenů *in ovo*, může připravit potomstvo na rizikovější prostředí. Na druhou stranu, u vlaštovky obecné (*Hirundo rustica*) se s rostoucí populační hustotou hladina maternálních androgenů ve vaječném žloutku neměnila (Gil et al., 2006).

U koloniálně hnízdícího racka chechtavého (*Larus ridibundus*) bylo pozorováno zvýšení hladiny maternálních androgenů i s nižší populační hustotou (Groothuis a Schwabl, 2002). Tuto negativní korelaci je možné vysvětlit například zvětšeným územím, které díky nižší populační hustotě musí bránit. Stejná studie se zaměřila i na souvislost mezi vegetací v okolí hnízda a množstvím maternálních androgenů. V místech s hustou a vysokou vegetací byla hladina maternálního testosteronu ve snůšce větší, než v místech s vegetací nízkou (Groothuis a Schwabl, 2002). Přestože je v těchto oblastech relativně menší hnízdní hustota vzhledem ke snížené viditelnosti (Bukacinska a Bukacinski, 1993), je zde zvýšená kompetice o hnízdní prostor, protože místa s hustější vegetací poskytují lepší ochranu před predátory.

Menší množství sociálních interakcí může vést ke snížení hladiny maternálních androgenů v později kladených snůškách než v průběhu kladení první snůšky (např. Schwabl, 1996b; Pilz et al., 2003; Tobler et al., 2007b). Během první snůšky je samice vystavena kompetici o nový hnízdní prostor, a proto je pod větším sociálním tlakem, který by mohl mít stejný efekt na hladinu maternálních androgenů *in ovo* jako hustota populace. Následující snůšky vznikají již ve stabilnějším prostředí obsazených míst, a tedy u nich hladina maternálních androgenů ve žloutku klesá (Schwabl, 1997).

4.3 Hnízdní predace

Míra hnízdní predace je nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím mortalitu mlád'at (např. Ricklefs, 1969). Podle „life history theory“ by doba embryonálního vývoje, rychlost růstu mlád'at a čas, kdy mlád'ata opouští hnízdo, měla být optimalizována různými a často protichůdnými tlaky prostředí (Stearns, 1992). Mortalita mlád'at způsobená hnízdní predací zprostředkovává jednoznačný selekční tlak na zkrácení doby strávené v hnízdě, a tedy na urychlení embryogeneze a postnatálního vývoje mlád'at (Remeš a Martin, 2002). Ve stejné studii bylo u mlád'at ptáků vystavených silnějšímu tlaku predace pozorováno zkrácení doby strávené v hnízdě.

Vystavení embrya maternálním androgenům vede na vnitrodruhové úrovni ke zrychlenému vývoji a zkrácení embryonální fáze (např. Schwabl, 1996a), která je z hlediska predace riziková. U řádu pěvců (Passeriformes) bylo na mezidruhové úrovni v případě vyššího rizika predace sledováno zvýšení hladiny maternálních androgenů *in ovo* (Schwabl et al., 2007). Mlád'ata vyvíjející se po narození díky maternálnímu testosteronu rychleji (Eising et al., 2001) mají zároveň i lepší lokomoci, která by jim měla umožnit dřívější opuštění hnízda a zvýšit úspěšnost při útěku před predátory (Schwabl, 1993). Doposud však není jasné, do jaké míry je rychlost růstu na mezidruhové úrovni ovlivňována depozicí maternálních androgenů a do jaké míry geneticky.

Maternální androgeny mohou však za určitých okolností riziko predace i zvyšovat. Toto riziko je spojené s četností a hlasitostí žebravého chování (Haskell, 1994). Pokud je hladina maternálních androgenů zvýšena, žebravé chování je častější a mlád'ata žadoní hlasitěji (např. Eising a Groothuis, 2003; von Engelhardt et al., 2006).

4.4 Atraktivita partnera

Atraktivita partnera bude pravděpodobně jedním z důležitých faktorů ovlivňujících rozdíly v množství přidělených maternálních androgenů samicí mezi snůškami. Podle hypotézy diferenciálního přidělení – differential allocation hypothesis (DAH), by samice měly investovat více do snůšky vytvořené s atraktivním partnerem (Burley, 1988). Předpokladem samice pro páření s atraktivnějším samcem je získání přímých i nepřímých výhod. Mezi přímé výhody lze zařadit kvalitu hnízdního teritoria, svatební dary, nebo vyšší míru otcovské péče (Andersson, 1994). Zároveň hypotéza dobrých genů předpokládá, že pouze samci s dobrými geny jsou schopni udržovat a předat do dalších generací excesivní struktury, kterými jsou i pohlaví znaky, na nichž je

závislá samčí atraktivita. Samice pářící se s nejatraktivnějšími samci získává pro své potomstvo kvalitnější geny, čímž zajistí také například sexuální přitažlivost (Fisher, 1930), nebo životaschopnost (Møller a Alatalo, 1999) potomků. Zvýšením hladiny maternálních androgenů ve vejcích vzniklých s atraktivnějšími samci může samice manipulovat s mírou otcovské péče. Atraktivnější samci pravděpodobně stráví více času získáváním dalších partnerů a možností mimopárové kopulace (Raouf et al., 1997), což snižuje čas věnovaný péči o mláďata (Burley, 1988). Zvýšení maternálních androgenů vede k vyššímu žebravému chování, což by mohlo manipulovat s intenzitou otcovské péče (např. Moreno-Rueda, 2007).

Většina studií potvrzuje hypotézu diferenciálního přidělení, a tedy s větší atraktivitou partnera bylo pozorováno zvýšení samičí investice v podobě maternálních androgenů *in ovo*. Například u samců zebříčky pestré (*Taeniopigya guttata*) bylo manipulováno s jejich atraktivitou pomocí červených a zelených kroužků na nohou. Samice jasně preferovaly samce s červenými kroužky, pravděpodobně proto, že červená barva je charakteristická pro sekundární pohlavní znaky tohoto druhu. Pokud se samice pářily se samci s červenými kroužky, hladina maternálních androgenů byla ve vejcích vyšší, než u samic pářících se samci neatraktivními – se zelenými kroužky (Gil et al., 1999). Samice kanára (*Serinus canaria*) vkládaly do vajec větší množství maternálních androgenů, pokud byly vystaveny atraktivnějšímu ptačímu zpěvu (Gil et al., 2004a; Tanvez et al., 2004). Ptačí zpěv, resp. jeho délka, variabilita a množství specifických sekvencí (Vallet a Kreutzer, 1995), je stejně jako sekundární pohlavní znaky také pod tlakem pohlavního výběru, a tedy indikátorem „dobrých genů“. Na principu „dobrých genů“ souvisejících se sekundárními pohlavními znaky byla založena i studie na vlaštovce obecné (*Hirundo rustica*). Obsah maternálních androgenů *in ovo* byl větší u samic spárovaných se samci s uměle prodlouženými ocasními pery, než u samic pářících se se samci s normální délkou ocasu (Gil et al., 2006). Nejlepším důkazem pro hypotézu diferenciálního přidělení maternálních androgenů je studie na zebříčce pestré (*Taeniopigya guttata*), v níž byla měřena i samotná atraktivita samců. Na začátku testu byla u samic zjišťována preference pro jednotlivé samce. Následně byly vytvářeny páry samic s preferovanými a nepreferovanými samci. Vejce samic a upřednostňovaných, resp. atraktivních samců, obsahovala vyšší hladiny maternálních androgenů, než vejce samic a samců nepreferovaných (von Engelhardt et al., 2004b).

V případě samic vrabce domácího (*Passer domesticus*) nebylo pozorováno asortativní páření, vedoucí k preferenci samců s větším pohlavním znakem – černou skvrnou na krku, nebo samců s experimentálně zvýšenou hladinou testosteronu pomocí podkožních implantátů, přestože oba tyto znaky jsou u samců kondičně závislé. Zároveň pokud došlo k páření s těmito potenciálně atraktivnějšími samci nebylo pozorováno zvýšení hladiny maternálních androgenů *in ovo* (Mazuc et al., 2003b).

4.5 Další faktory

Množství maternálních androgenů uložených *in ovo* bude záviset i na sociálním postavení samice. U dominantních samic kura domácího (*Gallus gallus domesticus*) byla hladina maternálních androgenů vyšší ve vejcích obsahujících samičí embrya a opačně samice s nižším sociálním postavením a nižší relativní hmotností ukládaly více testosteronu do vajec se samičími embryi. Toto nerovnoměrné rozdělení maternálních hormonů mezi pohlavími bude důsledkem značného pohlavního dimorfismu, který vede k nákladnějšímu reprodukčnímu úspěchu u samců než u samic tohoto druhu. Dominantnější samice si zvyšují vlastní fitness vytvářením reprodukčně úspěšnějších potomků mužského pohlaví. Na druhou stranu se sníženou hmotností samic klesá i hmotnost jimi snesených vajec. Sníženou kvalitu vajec se pak samice snaží kompenzovat zvýšením hladiny maternálních androgenů, a to u pohlaví s menší nákladností reprodukčního úspěchu (Müller et al., 2002). Maternální hormony jsou však do žloutku ukládány před určením pohlaví embrya a nemají na toto určení vliv (Johnson, 2000). Vysvětlením pro pohlavně rozdílné hladiny maternálních androgenů by mohla být přítomnost stejných faktorů ovlivňujících jak určení pohlaví, tak množství maternálních androgenů uložených samicí do žloutku.

Další důkazy pro zvyšování hladiny maternálních androgenů ve vaječném žloutku existují u starších a zkušenějších samic (Pilz et al., 2003). Vysvětlení pro tyto výsledky by však zahrnovalo předpoklad, že investice do mláďat v podobě maternálních androgenů je pro samici nákladná. V tomto případě by si zvýšení hladiny maternálních androgenů *in ovo* mohly dovolit pouze samice v dobré kondici a zkušenější a starší samice (Pilz et al., 2003; Gil et al., 2004b). Ovšem nákladnost ukládání maternálních androgenů do ptačích vajec nebyla zatím potvrzena (viz.kapitola mechanismy). Na druhou stranu, u samic vlaštovky stromové (*Tachycineta bicolor*) hladina maternálních androgenů ve vejci klesala s rostoucím věkem samice (Wittingham a Schwabl, 2002). Příčinou tohoto poklesu však nebyl věk samotný, ale množství sociálních interakcí, kterým byly samice vystaveny. U mladších samic bylo pozorováno více agresivních výbojů v reprodukčním období, které mají za následek zvyšování hladiny androgenů uložených samicí do vejce (viz.hustota populace). Další možné vysvětlení pro klesající hladinu maternálních androgenů ve vejcích starších samic by mohlo být na fyziologické úrovni. Ukázalo se, že koncentrace androgenů ve vaječném žloutku pozitivně koreluje s kvalitou skořápky. Vzhledem k tomu, že starší samice produkují tenčí a tedy méně kvalitní skořápky, hladina maternálních androgenů v těchto vejcích je také nižší (Okuliarová et al., 2009).

Zvýšená hladina maternálních androgenů *in ovo* má u mláďat imunosupresivní efekt

(viz.kapitola imunita). Proto lze očekávat, že v prostředí s větší pravděpodobností napadení parazity, bude samice hladinu maternálního testosteronu ve vejcích snižovat. To potvrzuje i studie na sýkoře koňadře (*Parus major*), kde manipulace se zvýšeným množstvím přirozených ektoparazitů – blechy slepičí (*Ceratophyllus gallinae*), vedla k nižší hladině uloženého maternálního testosteronu (Tschirren et al., 2004).

Dalo by se předpokládat, že samice využívající alternativní reprodukční strategii hnízdního parazitismu, budou do parazitických vajec vkládat více maternálních androgenů, než hostitelská samice do vajec vlastní snůšky. Zvýšená hladina androgenů *in ovo* způsobující urychlení růstu a výraznější žebravé chování by mohla parazitickým mláďatům usnadnit kompetici s dalšími mláďaty v hníždě. Experimentální studie zkoumající tuto hypotézu však nedospěly k žádným rozdílům mezi hladinami maternálních androgenů *in ovo* mezi parazitickými a hostitelskými vejci ve snůšce (Hauber a Pilz, 2003; Pilz et al., 2005).

Dalším faktorem, který by mohl ovlivňovat hladinu maternálních androgenů *in ovo*, je dědičnost. Podporou pro vliv dědičnosti by mohla být skutečnost, že množství vaječné hmoty i množství žloutku je vysoce dědičný mateřský znak (Christians, 2002). Hladina maternálních androgenů *in ovo* závisí na prostředí, kterému je samice vystavena. Zároveň však dcery samic, které do vajec vkládaly větší množství maternálních androgenů, také vykazují zvýšené hladiny těchto hormonů ve svých snůškách (Tschirren et al., 2009). Konečná hladina maternálních androgenů ve žloutku bude tedy pod vlivem prostředí, ale ve zděděném rozmezí.

5 Závěr

Studie zabývající se maternálními efekty a maternálními androgeny u ptáků začaly vznikat v posledních dvou desetiletích. Většina těchto studií měla ekologický charakter a věnovala se především vlivům maternálních androgenů na fenotyp potomstva, nebo se zabývala faktory prostředí ovlivňující hladinu maternálních androgenů. Ukázalo se, že maternální androgeny mají na výsledný fenotyp potomstva značný vliv, ať už s výsledným pozitivním, nebo negativním efektem na fitness. V mnoha případech byla prokázána přímá souvislost mezi maternálními androgeny a určitými fenotypovými projevy mlád'at, například vliv maternálních androgenů na rychlost růstu mlád'at. Na druhou stranu však nelze vždy jednoznačně určit, zda nebyl výsledný znak ovlivňován více faktory, například zda byla zvýšená úmrtnost mlád'at pod přímým vlivem maternálních androgenů, nebo pouze vedlejším projevem jejich imunosupresivního účinku.

Tyto nejednoznačné výsledky jsou často důsledkem nedostatečných informací o fyziologii ukládání maternálních androgenů *in ovo* a principech působení maternálních androgenů na jednotlivé fenotypové znaky potomstva. V některých případech mají práce zabývající se touto problematikou dosti spekulativní charakter a bylo by vhodné se v dalších studiích zaměřit právě na fyziologii působení maternálních androgenů.

Přílohy

Tab.1: Přehled vlivu maternálních androgenů na fenotyp mláďat.

Efekt na mládě	Manipulovaný druh		Odkazy
Líhnutí			
Dřívější	Špaček obecný	<i>Sturnus vulgaris</i>	Lipar, 2001
Dřívější	Racek chechtavý	<i>Larus ridibundus</i>	Eising, 2001; Eising a Groothuis, 2003
Zpožděné	Poštolka pestrá	<i>Falco sparverius</i>	Sockman a Schwabl, 2000
Zpožděné	Zebříčka pestrá	<i>Taeniopigya guttata</i>	von Engelhardt et al., 2000
Zvětšené svaly krku	Vlhovec červenokřídlý	<i>Agelaius phoeniceus</i>	Lipar a Ketterson, 2000
Růst			
Zvýšený	Špaček obecný	<i>Sturnus vulgaris</i>	Pilz et al., 2004
Zvýšený	Racek chechtavý	<i>Larus ridibundus</i>	Eising, 2001; Groothuis et al., 2005a
Zvýšený	Hýl mexický	<i>Carpodacus mexicanus</i>	Navara et al., 2006
Zvýšený	Salašník modrý	<i>Sialia sialis</i>	Navara et al., 2005
Zvýšený u samic	Zebříčka pestrá	<i>Taeniopigya guttata</i>	von Engelhardt et al., 2000
Snížený	Poštolka pestrá	<i>Falco sparverius</i>	Sockman a Schwabl, 2000
Žebravé chování			
Zvýšené	Racek chechtavý	<i>Larus ridibundus</i>	Eising a Groothuis, 2003
Zvýšené	Kanár domácí	<i>Serinus canaria</i>	Schwabl, 1996a
Zvýšené u samic	Zebříčka pestrá	<i>Taeniopigya guttata</i>	von Engelhardt et al., 2000
Beze změny	Špaček obecný	<i>Sturnus vulgaris</i>	Pilz et al., 2004
Imunokompetence			
Potlačena	Racek chechtavý	<i>Larus ridibundus</i>	Müller et al., 2005 ; Groothuis et al., 2005a
Potlačena	Salašník modrý	<i>Sialia sialis</i>	Navara et al., 2005
Potlačena	Kavka obecná	<i>Corvus monedula</i>	Sandell et al., 2009
Potlačena	Kur domácí	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Burke, 1996; Norton a Wira, 1977; ale Hirota et al., 1976
Beze změny	Sýkora koňadra	<i>Parus major</i>	Tschirren et al., 2005
Posílena	Hýl mexický	<i>Carpodacus mexicanus</i>	Navara et al., 2006

Tab.2: Faktory prostředí ovlivňující množství maternálních androgenů (MA) ve snůšce.

Faktor prostředí	Efekt -na hladinu MA	Druh	Odkazy
-------------------------	-----------------------------	-------------	---------------

Hustota populace / množství sociálních interakcí				
	pozitivní	Vrabc domáci	<i>Passer domesticus</i>	Mazuc et al., 2003a
	pozitivní	Špaček obecný	<i>Sturnus vulgaris</i>	Pilz a Smith, 2004
	pozitivní	Racek chechtavý	<i>Larus ridibundus</i>	Groothuis et al., 2005a
	bez efektu	Vlaštovka obecná	<i>Hirundo rustica</i>	Gil et al., 2006
Větší teritorium	pozitivní	Racek chechtavý	<i>Larus ridibundus</i>	Groothuis a Schwabl, 2002
Hustota vegetace	pozitivní	Racek chechtavý	<i>Larus ridibundus</i>	Groothuis a Schwabl, 2002
Atraktivita partnera				
Barva kroužku	pozitivní	Zebřička pestrá	<i>Taeniopigya guttata</i>	Gil et al., 1999
Velikost pohl.znaku	pozitivní	Vlaštovka obecná	<i>Hirundo rustica</i>	Gil et al., 2006
Kvalita zpěvu	pozitivní	Kanár domáci	<i>Serinus canaria</i>	Gil et al., 2004a; Tanvez et al., 2004
Preferovaný partner	pozitivní	Zebřička pestrá	<i>Taeniopigya guttata</i>	von Engelhardt et al., 2004b
Velikost pohl.znaku / T	bez efektu	Vrabc domáci	<i>Passer domesticus</i>	Mazuc et al., 2003b
Další faktory				
Zatížení parazity	negativní	Sýkora koňadra	<i>Parus major</i>	Tschirren et al., 2004
Nižší sociální status samice	negativní pro samce	Kur domáci	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Müller et al., 2002
Vyšší sociální status samice	negativní pro samice	Kur domáci	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Müller et al., 2002
Vyšší věk samice	negativní	Vlaštovka stromová	<i>Tachycineta bicolor</i>	Wittingham a Schwabl, 2002

Literatura

- Adkins-Regan E., Ottinger M. A., Park J., 1995; Maternal transfer of estradiol to egg yolks alters sexual differentiation of avian offspring.
Journal of Experimental Zoology 271: 466–470
- Alexander R. D., 1974; The evolution of social behaviour.
Annual Review of Ecology and Systematics 5: 325-383
- Andersson M., Iwasa Y., 1994; Sexual selection.
Trends in Ecology & Evolution 11: 53-58
- Andersson S., Uller T., Löhms M., Sundström F., 2004; Effects of yolk testosterone on growth and immunity in a precocial bird.
Journal of Evolutionary Biology 17: 501–505
- Arstila T. P., Lassila O., 1993 ; Androgen-induced expansion of the peripheral blood gammadelta T cell population in the chicken.
The Journal of Immunology 151: 6627-6633
- Ashmore C. R., Addis P. B., Doerr L., Stokes H., 1973; Development of muscle fibers in the complexus muscle of normal and dystrophic chicks.
Journal of Histochemistry and Cytochemistry 1: 266-278
- Beato M., Klug J., 2000; Steroid hormone receptors: an update.
Human Reproduction Update 6: 225-236
- Bertin A., Richard-Yris M.-A., Möstl E., Lickliter R., 2009; Increased yolk testosterone facilitates prenatal perceptual learning in Northern bobwhite quail (*Colinus virginianus*).
Hormones and Behavior 56: 416-422
- Brown G., Vukovich M., King D., 2006; Testosterone Prohormone Supplements.
Medicine and Science in Sports and Exercise 38: 1451-1461
- Bruggeman V., Van As P., Decuypere E., 2002; Developmental endocrinology of the reproductive axis in the chicken embryo.
Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular and integrative physiology 131: 839-46
- Buchanan K. L., Evans M. R., Goldsmith A. R., 2001; Testosterone influences basal metabolic rate in male house sparrows: a new cost of dominance signalling?
Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 268: 1337-1344
- Bukacinska M., Bukacinski D., 1993; The effect of habitat structure and density of nests on territory size and territorial behaviour in the black-headed gull.
Ethology 94: 306-316
- Burke W. H., 1996; Effects of in ovo injection of an antiandrogen on embryonic and posthatching growth of broiler chicks.
Poultry Science 75: 648-55.
- Burley N., 1988; The differential allocation hypothesis: an experimental test.
American Naturalist 132: 611-628
- Chen F., Knecht K., Leu C., Rutledge S. J., Scafomas A., Gambone C., Vogel R., Zhang H., Kasparcova V., Bai C., Harada S., Schmidt A., Reszka A., Freedman L., 2004; Partial agonist/antagonist properties of androstenedione and 4-androsten-3,17-diol.
The Journal of steroid biochemistry and molecular biology 91: 247-257
- Christians J. K., 2002; Avian egg size: variation within species and inflexibility within individuals.
Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society 77: 1-26
- Clark A. B., Wilson D. S., 1981; Avian breeding adaptations: hatching asynchrony, brood reduction, and nest failure.
The Quarterly Review of Biology 56: 253-277
- Compton M. M., Gibbs P. S., Johnson L. R., 1990; Glucocorticoid activation of deoxyribonucleic acid degradation in bursal lymphocytes.
Poultry Science 69: 1292-8.
- Cooke B., Hegstrom C. D., Villeneuve L. S., Breedlove S. M., 1998; Sexual differentiation of the

- vertebrate brain: principles and mechanisms.
 Frontiers in Neuroendocrinology 19: 323-362
- Couse J. F., Korach K. S., 1999; Estrogen receptor null mice: What have we learned and where will they lead us?
 Endocrine Reviews 20: 358-417
- Cucco M., Guasco B., Malacarne G., Ottonelli R., Tanvez A., 2008; Yolk testosterone levels and dietary carotenoids influence growth and immunity of grey partridge chicks.
 General and Comparative Endocrinology 156: 418-425
- Daisley J. N., Bromundt V., Möstl E., Kotrschal K., 2005; Enhanced yolk testosterone influences behavioral phenotype independent of sex in Japanese quail chicks *Coturnix japonica*.
 Hormones and Behavior 47: 185-194
- DeVoogd T., Nottebohm F., 1981; Gonadal hormones induce dendritic growth in the adult avian brain.
 Science 214: 202-204
- Dingemanse N. J., 2003; Natural selection and avian personality in a fluctuating environment.
 PhD diss., University of Utrecht, Netherlands
- Eising C. M., Eikenaar C., Schwabl H., Groothuis T. G. G., 2001; Maternal androgens in black-headed gull (*Larus ridibundus*) eggs: consequences for chick development.
 Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 268: 839-846
- Eising C. M., Groothuis T. G. G., 2003; Yolk androgens and begging behavior in black-headed gull chicks: and experimental field study.
 Animal Behavior 66: 1027-1034
- Eising C. M., Müller W., Groothuis T. G. G., 2006; Avian mothers create different phenotypes by hormone deposition in their eggs.
 Biology Letters 2: 20-22
- Ellis L. A., Borst D. W., Thompson C. F., 2001; Hatching asynchrony and maternal androgens in egg yolks of House Wrens.
 Journal of Avian Biology 32: 26-30
- El-Lethey H., Huber-Eicher B., Jungi T. W., 2003; Exploration of stress-induced immunosuppression in chickens reveals both stress-resistant and stress-susceptible antigen responses.
 Veterinary immunology and immunopathology 95: 91-101
- Falkenstein E., Tillmann H. C., Christ M., Feuring M., Wehling M., 2000; Multiple actions of steroid hormones – a focus on rapid, nongenomic effects.
 Pharmacological Reviews 52: 513-556
- Finkel T., Holbrook N. J., 2000; Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing.
 Nature 408: 239-47
- Fisher R. A., 1930; The genetical theory of natural selection.
 Oxford University Press, U.S.A pp. 121-145
- Fligny C., Hatia S., Amireault P., Mallet J., Côté, 2009; Mammalian prenatal development: the influence of maternally derived molecules.
 BioEssays 31: 935-943
- Galas L., Raoult E., Tonon M., Okada R., Jenks B. G., Castano J. P., Kikuyama S., Malagon M., Roubos E. W., Vaudry H., 2009; TRH acts as a multifunctional hypophysiotropic factor in vertebrates.
 General and Comparative Endocrinology 164: 40-50
- Garamszegi L. Z., Biard C., Eens M., Møller A. P., Saino N., Surai P., 2006; Maternal effects and the evolution of brain size in birds: Overlooked developmental constraints.
 Neuroscience & Biobehavioral Reviews 31: 498-515
- Gil D., 2003; Golden eggs: Maternal manipulation of offspring phenotype by egg androgen in birds.
 Ardeola 50: 281-294
- Gil D., Graves J., Hazon N., Wells A., 1999; Male attractiveness and differential testosterone investment in zebra finch eggs.
 Science 286: 126-128
- Gil D., Leboucher G., Lacroix A., Cue R., Kreutzer M., 2004a; Female canaries produce eggs with greater amounts of testosterone when exposed to preferred male song.
 Hormones and Behavior 45: 64-70

- Gil D., Heim C., Bulmer E., Rocha M., Puerta M., Naquib M., 2004b; Negative effects of early developmental stress on yolk testosterone levels in a passerine bird.
Journal of Experimental Biology 207: 2215-2220
- Gil D., Ninni P., Lacroix A., de Lope F., Tirard C., Marzal A., Møller A. P., 2006; Yolk androgens in the barn swallow (*Hirundo rustica*): a test of some adaptive hypotheses.
Journal of evolutionary biology 19: 123-31
- Gilbert S. F., 2001; Ecological developmental biology: Developmental biology meets the real world.
Developmental Biology 233: 1-12
- Glick B., 1970; The Bursa of Fabricius: A Central Issue
BioScience 20: 602-604
- Glick B., 2000; Immunophysiology. In: Sturkie's avian physiology
University of Hawaii at Manoa, Honolulu, U.S.A., pp. 657-670
- Godsave S. F., Lohman R., Vloet R. P. M., Gahr M., 2002; Androgen receptors in the embryonic zebra finch hindbrain suggest a function for maternal androgens in perihatching survival.
Journal of comparative neurology 453: 57-70
- Groothuis T. G. G., Schwabl H., 2002; Determinants of within and among clutch variation in levels of maternal hormones in Black-headed gull.
Functional Ecology 16: 281-289
- Groothuis T. G. G., Eising C. M., Dijkstra C., Müller W., 2005a; Balancing between costs and benefits of maternal hormone deposition in avian eggs.
Biology Letters 1: 78-81
- Groothuis T. G. G., Müller W., von Engelhardt N., Carere C., Eising C., 2005b; Maternal hormones as a tool to adjust offspring phenotype in avian species.
Neuroscience and Biobehavioral Reviews 29: 329-352
- Groothuis T. G. G., Schwabl H., 2007; Hormone-mediated maternal effect in birds: mechanisms matter but what do we know of them?
Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 363: 1647-1661
- Hamilton W. D., 1964; The evolution of social behavior.
Journal of Theoretical Biology 7: 1-52.
- Hammes S. R., Levin E. R., 2007; Extranuclear Steroid Receptors: Nature and Actions.
Endocrine Reviews 28: 726-741
- Haskell D., 1994; Experimental evidence that nestling begging behaviour incurs a cost due to nest predation.
Proceedings: Biological Sciences 257: 161-164
- Hauber M. E., Pilz K. M., 2003; Yolk testosterone levels are not consistently higher in the eggs of obligate brood parasites than their hosts.
American Midland Naturalist 149: 354-362
- Hayward L. S., Satterlee D. G., Wingfield J. C., 2005; Japanese quail selected for high plasma corticosterone response deposit high levels of corticosterone in their eggs.
Physiological and biochemical zoology 78: 1026-31
- Hiipakka R. A., Liao S., 1998; Molecular Mechanism of Androgen Action.
Trends in Endocrinology and Metabolism 9: 317-324
- Hirota Y., Suzuki T., Chazono Y., Bito Y., 1976; Humoral immune response characteristics of testosterone-propionate-treated chickens.
Immunology 30: 341-348
- Johnson A. L., 2000; Reproduction in the female. In: Sturkie's avian physiology
University of Hawaii at Manoa, Honolulu, U.S.A., pp. 569-596
- Kennedy M. W., Nager R. G., 2006; The perils and prospects of using phytohaemagglutinin in evolutionary ecology.
Trends in ecology & evolution 21: 653-5
- Ketterson E. D., Nolan V. Jr., 1999; Adaptation, exaptation, and constraint: a hormonal perspective.
American Naturalist 154: S4-S25
- Ladics G. S., 2007; Use of SRBC antibody responses for immunotoxicity testing.
Methods 41: 9-19
- Le Douarin N. M., Jotereau F. V., 1975 Tracing of cells of the avian thymus through embryonic life in

- interspecific chimeras.
Journal of Experimental Medicine 142: 17-40
- Lefebvre L., Reader S. M., Sol D., 2004; Brains, innovations and evolution in birds and primates.
Brain, Behavior and Evolution 63: 233-246
- Leshchinsky T. V., Klasing K. C., 2001; Divergence of the inflammatory response in two types of chickens.
Developmental and comparative immunology 25: 629-38
- Lipar J. L., 2001; Yolk steroids and the development of the hatching muscle in nestling European Starling.
Journal of Avian Biology 32: 231-238
- Lipar J. L., Ketterson E. D., 2000; Maternally derived yolk testosterone enhances the development of the hatching muscle in the red-winged blackbird *Aegialius phoeniceus*.
Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 67: 2005-2010
- Lochmiller R. L., Deerenberg C., 2000; Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity?
Oikos 88: 87-98
- Louissaint A. J., Rao S., Leventhal C., Goldman S. S., 2002; Coordinated interaction of neurogenesis and angiogenesis in the adult songbird brain.
Neuron 34: 945-60.
- Love O. P., Chin E. H., Wynne-Edwards K. E., Williams T. D., 2005; Stress hormones: a link between maternal condition and sex-biased reproductive investment.
American Naturalist 166: 751-766
- Marsh J. A., 1992; Neuroendocrine-immune interactions in the avian species – a review.
Animal physiology and biochemistry 4: 129-167
- Martin T. E., Schwabl H., 2008; Variation in maternal effects and embryonic development rates among passerine species.
Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 363: 1663-1674
- Mazuc J., Bonneaud C., Chastel O., Sorci G., 2003a; Social environment affects female and egg testosterone in the house sparrow (*Passer domesticus*).
Ecology Letters 6: 1084-1090
- Mazuc J., Chastel O., Sorci G., 2003b; No evidence for differential maternal allocation to offspring in the house sparrow (*Passer domesticus*).
Behavioral Ecology 14: 340-346
- McCormick M. I., 1999; Experimental test of the effect of maternal hormones on larval quality of a coral reef fish.
Oecologia 118: 412-422
- McPhaul M. J., Young M., 2001; Complexities of androgen action
American Academy of Dermatology 45: 87-94
- Meinhardt U. J., Ho K. K. Y., 2006; Modulation of growth hormone action by sex steroids.
Clinical Endocrinology 65: 413-422
- Monaghan P., 2008; Early growth conditions, phenotypic development and environmental change.
Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 363:1635-1645
- Mooradian A. D., Morley J. E., Korenman S. G., 1987; Biological actions of androgens.
Endocrine Reviews 8: 1-28
- Moreno-Rueda G., 2007; Yolk androgen deposition as a female tactic to manipulate paternal contribution.
Behavioral Ecology 18: 496-498
- Möller A. P., 1988; Badge size in the house sparrow *Passer domesticus*.
Behavioral Ecology and Sociobiology, 22: 373-378
- Møller A. P., Alatalo R. V., 1999; Good-genes effects in sexual selection.
Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 266: 85-91
- Müller W., Eising C., Dijkstra C., Groothuis T. G. G., 2002; Sex differences in yolk hormones depend on maternal social status in Leghorn chickens (*Gallus gallus domesticus*).
Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 269: 2249-2255
- Müller W., Eising C. M., Dijkstra C., Groothuis T. G. G., 2004; Within-clutch patterns of yolk testosterone

- vary with the onset of incubation in black-headed gulls.
Behavioral Ecology 15: 893-397
- Müller W., Groothuis T. G. G., Dijkstra C., Kasprzik A., Riedstra B. J., Alatalo R. V., 2005; Prenatal androgen exposure modulates cellular and humoral immune function of black-headed gull chicks.
Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 272: 1971-1977
- Müller W., Deptuch K., López-Rull I., Gil D., 2007; Elevated yolk androgen levels benefit offspring development in a between clutch context.
Behavioral Ecology 18: 929-936
- Müller W., Dijkstra C., Groothuis T. G. G., 2009a; Maternal yolk androgens stimulate territorial behaviour in black-headed gull chicks.
Biology Letters 5: 586-588
- Müller W., Vergauwen J., Eens M., 2009b; Long-lasting consequences of elevated yolk testosterone levels on female reproduction.
Behavioral Ecology and Sociobiology 63: 809-816
- Navara K. J., Hill G. E., Mendonça M. T., 2005; Variable effects of yolk androgens on growth, survival, and immunity in eastern bluebird nestlings.
Physiological and biochemical zoology 78: 570-578
- Navara K. J., Hill G. E., Mendonça M. T., 2006; Yolk testosterone stimulates growth and immunity in house finch chicks.
Physiological and biochemical zoology 79: 550-555
- Nolan V. Jr., Ketterson E.D., Wolf L., Ziegenfus C., 1992; Testosterone and avian life histories: effects of experimentally elevated testosterone on behavior and correlates of fitness in the dark-eyed junco (*Junco hyemalis*).
The Condor 94: 364-370
- Nordeen S. K., Moyer M. L., Bona B. J., 1994; The coupling of multiple signal transduction pathways with steroid response mechanisms.
Endocrinology 134: 1723-1732
- Norton J. M., Wira C. R., 1977; Dose-related effects of the sex hormones and cortisol on the growth of the bursa of Fabricius in chick embryos.
Journal of Steroid Biochemistry 8: 985-987
- Okuliarová M., Škrobánek P., Zeman M., 2007; Effect of Increasing Yolk Testosterone Levels on Early Behaviour in Japanese Quail Hatchlings.
Acta Veterinaria 76: 325-331
- Okuliarová M., Škrobánek P., Zeman M., 2009; Variability of yolk testosterone concentrations during the reproductive cycle of Japanese quail.
Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology 154: 530-534
- Olsen N. J., Kovacs W. J., 1996; Gonadal steroids and immunity.
Endocrine Reviews 17: 369-384
- O'Connor R.J., 1978; Brood reduction in birds: selection for fratricide, infanticide and suicide?
Animal Behaviour 26: 79-96
- Partecke J., Schwabl H., 2008; Organizational Effects of Maternal Testosterone on Reproductive Behavior of Adult House Sparrows.
Developmental Neurobiology 68: 1538-1548
- Payne A. H., Hales D. B., 2004; Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones.
Endocrine Reviews 25: 947-970
- Perlman W. R., Ramachandran B., Arnold A. P., 2002; Expression of androgen receptor mRNA in the late embryonic and early posthatch zebra finch brain.
Journal of Comparative Neurology 455: 513-530
- Pilz K. M., Smith H. G., Sandell M. I., Schwabl H., 2003; Interfemale variation in egg yolk androgen allocation in the European starling: do high-quality females invest more?
Animal Behaviour 65: 841-850
- Pilz K. M., Quiroga M., Schwabl H., Adkins-Regan E., 2004; European starling chicks benefit from high

- yolk testosterone levels during a drought year.
Hormones and Behavior 46: 179-92
- Pilz K. M., Smith H. G., 2004; Egg yolk androgen levels increase with breeding density in the European starling, *Sturnus vulgaris*.
Functional Ecology 18: 58-66
- Pilz K. M., Smith H. G., Andersson M., 2005; Brood parasitic European starlings do not lay high-quality eggs.
Behavioral Ecology 16: 507-513
- Randall V. A., 1994; Role of 5 alpha-reductase in health and disease.
Baillieres Clinical Endocrinology and Metabolism 8: 405-431.
- Raouf S. A., Parker P. G., Ketterson E. D., Nolan V. Jr., Ziegenfus C., 1997; Testosterone affects reproductive success by influencing extra-pair fertilizations in male dark-eyed juncos (aves: *Junco hyemalis*).
Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 264: 1599-1603.
- Remeš V., Martin T. E., 2002; Environmental influences on the evolution of growth and developmental rates in passerines.
Evolution 56: 2505-18
- Ricklefs R. E., 1969; An analysis of nesting mortality in birds.
Smithsonian Contributions to Zoology no.9 pp. 1-48
- Roy P., Alevizaki M, Huhtaniemi I., 2007; In vitro bioassays for androgens and their diagnostic applications.
Human Reproduction Update, doi:10.1093/humupd/dmm038
- Rubolini D., Romano M., Boncoraglio G., Ferrari R. P., Martinelli R., Galeotti P., Fasola M., Saino N., 2005; Effects of elevated egg corticosterone levels on behavior, growth, and immunity of yellow-legged gull (*Larus michahellis*) chicks.
Hormones and Behavior 47: 592-605
- Rubolini D., Martinelli R., von Engelhardt N., Romano M., Groothuis T. G. G., Fasola M., Saino N., 2007; Consequences of prenatal androgen exposure for the reproductive performance of female pheasants (*Phasianus colchicus*).
Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 274: 137-142.
- Rutkowska J., Cichon M., Puerta M., Gil D., 2005; Negative effects of elevated testosterone on female fecundity in zebra finches.
Hormones and Behavior 47: 585-91
- Rutkowska J., Wilk T., Cichon M., 2007; Androgen-dependent maternal effects on offspring fitness in zebra finches.
Behavioral Ecology and Sociobiology 61: 1211-1217
- Sandell M. I., Tobler M., Hasselquist D., 2009; Yolk androgens and the development of avian immunity: an experiment in jackdaws (*Corvus monedula*).
Journal of Experimental Biology 212: 815-822
- Schwabl H., 1993; Yolk is a source of maternal testosterone for developing birds.
Proceedings of the National Academy of Sciences 90: 11446-11450
- Schwabl H., 1996a; Maternal testosterone in the avian egg enhances postnatal growth.
Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology 114: 271-276
- Schwabl H., 1996b; Environment modifies the testosterone levels of a female bird and its eggs.
Journal of Experimental Zoology 276: 157-163
- Schwabl H., 1997; The contents of maternal testosterone in house sparrow *Passer domesticus* eggs vary with breeding conditions.
Naturwissenschaften 84: 406-408
- Schwabl H., Lipar J., 2002; Hormonal regulation of begging behaviour. In: The evolution of begging.
Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 221-244
- Schwabl H., Palacios M. G., Martin T. E., 2007; Selection for Rapid Embryo Development Correlates with Embryo Exposure to Maternal Androgens among Passerine Birds.
American Naturalist 170: 196-206
- Sockman K. W., Schwabl H., 2000; Yolk androgens reduce offspring survival.
Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 267: 1451-1456
- Sockman, K. W., Schwabl H., 2001; Plasma Corticosterone in Nestling American Kestrels: Effects of Age,

- Handling Stress, Yolk Androgens and Body Condition.
 General and Comparative Endocrinology 122: 205-212
- Starck J. M., Ricklefs R. E., 1998; Avian Growth and Development: Evolution within the altricial-precocial spektrum.
 Oxford University Press, U.S.A pp. 31-58
- Stearns S. C., 1992; Life history evolution: successes, limitations, and prospects.
 Naturwissenschaften 87: 476-486
- Strasser R., Schwabl H., 2004; Yolk testosterone organizes behavior and male plumage coloration in house sparrows (*Passer domesticus*).
 Behavioral Ecology and Sociobiology 56: 491-497
- Sullivan D. A., Wira C. R., 1979; Sex hormone and glucocorticoid receptors in the bursa of Fabricius of immature chicks.
 Journal of Immunology 122: 2617 -2623
- Tanvez A., Beguin N., Chastel O., Lacroix A., Leboucher G., 2004; Sexually attractive phrases increase yolk androgens deposition in Canaries (*Serinus canaria*).
 General and comparative endocrinology 138: 113-20
- Tella J. L., Lemus J. A., Carrete M., Blanco G., 2008; The PHA Test Reflects Acquired T-Cell Mediated Immunocompetence in Birds.
 PLoS ONE 3: e3295
- Tobler M., Sandell M. I., 2007; Yolk testosterone modulates persistence of neophobic responses in adult zebra finches, *Taeniopygia guttata*.
 Hormones and Behavior 52: 640-645
- Tobler M., Nilsson J. Å., Nilsson J. F., 2007a; Costly steroids: egg testosterone modulates nestling metabolic rate in the zebra finch.
 Biology Letters 3: 408-410
- Tobler M., Granbom M., Sandell M., 2007b; Maternal androgens in the pied flycatcher: timing of breeding and within-female consistency.
 Oecologia 151: 731-40
- Tobler M., Sandell M. I., 2008; Sex-specific effects of prenatal testosterone on nestling plasma antioxidant capacity in the zebra finch.
 Journal of Experimental Biology 212: 89-94
- Tschirren B., Richner H., Schwabl H., 2004; Ectoparasite-modulated deposition of maternal androgens in great tit eggs.
 Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 271: 1371-1375
- Tschirren B., Saladin V., Ftize P. S., Schwabl H., Richner H., 2005; Maternal yolk testosterone does not modulate parasite susceptibility or immune function in great tit nestlings.
 Journal of Animal Ecology 74: 675-682
- Tschirren B., Sendecka J., Groothuis T. G. G., Gustafsson L., Doligez B., 2009; Heritable Variation in Maternal Yolk Hormone Transfer in a Wild Bird Population.
 American naturalist 174: 557-564
- Uller T., Eklöf J., Andersson S., 2005; Female egg investment in relation to male sexual traits and the potential for transgenerational effects in sexual selection.
 Behavioral Ecology and Sociobiology 57: 584-590
- Vahl W. K., Van der Meer J., Weissing F. J., Van Dullemen D., Piersma T., 2005; The mechanisms of interference competition: two experiments on foraging waders.
 Behavioral Ecology 16: 845-855
- Vallet E., Kreutzer M., 1995; Female canaries are sexually responsive to special song phrases.
 Animal Behaviour 49: 1603-1610
- Van Meir V., Verhoye M., Absil P., Eens M., Balthazart J., Van der Linden A., 2004; Differential effects of testosterone on neuronal populations and their connections in a sensorimotor brain nucleus controlling song production in songbirds: a manganese enhanced-magnetic resonance imaging study.
 Neuroimage 21: 914-23
- Veiga J. P., Polo V., 2008; Fitness consequences of increased testosterone levels in female spotless starlings.
 American Naturalist 172: 42-53

- Verboven N., Monaghan P., Evans D. M., Schwabl H., Evans N., Whitelaw C., Nager R., 2003; Maternal condition, yolk androgens and offspring performance: a supplementary feeding experiment in the lesser black-backed gull (*Larus fuscus*).
 Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 270: 2223-2232
- Vinkler M., Bainová H., Albrecht T., 2010; Functional analysis of the skin-swelling response to phytohaemagglutinin.
 Functional Ecology : DOI: 10.1111/j.1365-2435.2010.01711.x
- von Engelhardt N., Carere C., Dijkstra C., Groothuis T. G. G., 2000; Elevation of yolk testosterone abolishes sex differences in begging and growth of zebra finches.
 Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 273: 65-70
- von Engelhardt N., Groothuis T. G. G., Daan S., Dijkstra C., 2004a; Long-term effects of elevated yolk testosterone on offspring attractiveness and reproductive performance in the zebra finch, *Taeniopygia guttata*.
 PhD diss.: von Engelhardt N., Rijksuniversiteit Groningen, Nederland, pp. 91-104
- von Engelhardt N., Groothuis TGG, Bruintjes R, Dijkstra C., 2004b; Effects of male attractiveness on yolk androgens, offspring sex ratio and survival in zebra finches, *Taeniopygia guttata*.
 PhD diss.: von Engelhardt N., Rijksuniversiteit Groningen, Nederland, pp. 31-46
- von Engelhardt N., Carere C., Dijkstra C., Groothuis T. G. G., 2006; Sex-specific effects of yolk testosterone on survival, begging and growth of zebra finches.
 Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 273: 65-70
- Westneat D. F., Sherman P. W., 1997; Density and extra-pair fertilizations in birds: a comparative analysis.
 Behavioral Ecology and Sociobiology 41: 205-215
- Wittingham L. A., Schwabl H., 2002; Maternal testosterone in tree swallow eggs varies with female aggression.
 Animal Behaviour 63: 63-67
- Whittow G. C., Tazawa H., 1991; The early development of thermoregulation in birds.
 Physiological Zoology 64: 1371-1390 (The University of Chicago Press)
- Wingfield J. C., Hahn T. P., 1994; Testosterone and territorial behaviour in sedentary and migratory sparrows.
 Animal Behaviour 47: 77-89
- Young R. L., Badyaev A. V., 2004; Evolution of sex-biased maternal effects in birds I: sex specific resource allocation among simultaneously growing follicles.
 Journal of evolutionary biology 17: 1355-66