

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie



Bc. Michael Mikát

Socialní monogamie a rodičovská péče u včel rodu *Ceratina*
Social monogamy and parental care in bees of the genus *Ceratina*

Diplomová práce

Školitel: Mgr. Jakub Straka Ph.D.

Praha 2014

Prohlášení:

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

V Praze, 14. 08. 2014



Poděkování

Je mou milou povinností poděkovat všem, kteří pozitivním způsobem ovlivnili jevy, které napomohly vzniku této práce. Hlavní poděkování patří mému školiteli Jakubu Strakovi, který mě nejdříve přesvědčil, abych se zabýval včelami, poté mi zjevil skutečnost, že vůbec existují včely rodu *Ceratina*, a následně po celou dobu mého studia radil, inspiroval a pomáhal při terénních experimentech. Za zaučení do laboratorních postupů a vydatnou pomoc v začátcích experimentů bych rád poděkoval Kateřině Černé. Dále existuje dosti velká množina lidí, kteří mi různým způsobem pomohli v rámci provádění terénních experimentů. Do této množiny určitě patří: Daniel Benda, Albert Damaška, Jana Habermannová, Jiří Hadrava, Kateřina Jůzová, Celie Korittová, Karel Kodejš, Eva Matoušková, Lenka Macháčková, Miroslav Mikát, Blanka Mikátová, Šárka Mikátová a Šárka Škorpíková. Vítu Burešovi bych rád poděkoval za pořízení některých fotografií hnízd včel rodu *Ceratina*.

Dále bych rád poděkoval Grantové agentuře Univerzity Karlovy za finanční podporu projektu (GAUK 574812) a správě Národního parku Podyjí za povolení a vstřícnost k výzkumu.

Rád bych poděkoval svým rodičům, Blance Mikátové a Miroslavu Mikátovi za to, že mě již od velmi juvenilních fází mého ontogenetického vývoje směřovali k biologii a hmyzu obzvláště, a vždy mě podporovali v tom, abych dělal, co považuji za zajímavé. Evě Matouškové děkuji za psychickou podporu, a za to, že můj zájem o entomologii nejen chápe, ale i sdílí.

Na závěr musím samozřejmě poděkovat zejména *Ceratinám*, jakožto i dalším organismům, které s nimi interagují, za jejich zajímavé chování, komplexitu a diverzitu, protože jejich existence je zásadním předpokladem toho, aby se daly zkoumat, a rovněž za to, že žijí v hezkých ekosystémech, ve kterých je radost bádát.

Abstrakt

Včely rodu *Ceratina* jsou vhodným modelovým taxonem pro studium evoluce péče o potomstvo. Již dlouho je u nich známa striktně mateřská péče i eusocialita, tedy situace, kdy pečují o potomky kromě matky i další příbuzné samice. V této práci pak představujeme druh tohoto rodu, který má jako první druh včely vůbec, péči obourodičovskou.

Terénní výzkum byl prováděn v letech 2011-2013 v Národním parku Podyjí, především na lokalitě Havranické vřesoviště. Jako modelové druhy byly vybrány čtyři druhy rodu *Ceratina* vyskytující se na území České Republiky: *C. chalybea*, *C. cucurbitina*, *C. cyanea* a *C. nigrolabiata*. Byly rozmístěny hnízdní příležitosti a následně sledována a rozebírána hnízda. Byly také prováděny cílené experimenty zaměřené na efektivitu hlídání hnízd. Příbuzenská struktura hnízd druhu *C. nigrolabiata* byla zkoumána pomocí nově vyvinutých mikrosatelitových lokusů.

Všechny studované druhy jsou solitérní a v práci je popsána jejich hnízdní struktura a fenologie.

Pro včely rodu *Ceratina* je typické hlídání plného hnízda až do dospělosti potomků. Toto hlídání plného hnízda má zásadní vliv na přežití potomstva. Hnízda, v nichž byla odstraněna samice, často selhala kvůli predaci mravenci, parazitaci chalcidkami a usurpaci jinými včelami rodu *Ceratina*. U druhů *C. chalybea*, *C. cyanea* a *C. nigrolabiata* byla detekována strategie fakultativního opouštění hnízda, která dosud nebyla u včel rodu *Ceratina* známá. Opuštění hnízda mělo výrazně negativní vliv na množství přežívajících potomků u druhu *C. chalybea*. Výhodou opouštění hnízda po jeho dozásobování je možnost založit si ihned nové hnízdo.

U druhu *C. nigrolabiata* byla zjištěna obourodičovská péče. Samci *C. nigrolabiata* hlídají vchod hnízda a odhánějí potenciální nepřátele. Z hlídání hnízda samec nejspíše získává možnost páření se samicí. Hnízdo nehlídá po celou sezonu jeden samec, ale hlídající samci se mění. Čím méně se samci střídají, tím je v hnízdě signifikantně více potomků.

Z genetických analýz jasně vyplývá, že se samice páří s více samci. V jednom hnízdě je průměrně potomstvo od 3,85 otců. Hlídající samec pak nebývá otcem potomstva, ale dlouhou dobu hlídající samci (> 15 dní) obvykle nějaké potomstvo v hnízdě mají.

Je pravděpodobné, že obourodičovská péče vnikla díky vícenásobnému páření samice, neboť to nejspíše zapříčinilo prodloužení života samců a motivaci samců k hlídání samice. Je to tedy přesně opačný pářící systém, než ten, který umožňuje vznik eusociality.

Klíčová slova: sociální monogamie, rodičovská péče, včely, Apidae, Hymenoptera

Abstract

Parental care is one of the most successful strategies for providing offspring survival. There are differences in type of care between taxa. There are biparental care, maternal care, paternal care and alloparental care.

Bees of the genus *Ceratina* are suitable model taxon for study of parental care evolution. There is a long time known maternal care and eusociality, in this genus. A species of the genus *Ceratina*, which has biparental care, is introduced in this thesis.

Field experiments were performed from 2011 to 2013 in Podyjí National Park, especially in locality Havraníky heath. Four model species, which are occurring in the Czech Republic, were selected: *C. chalybea*, *C. cucurbitina*, *C. cyanea* and *C. nigrolabiata*. Artificial nesting opportunities were installed to the field site. Relationship between individuals in nests of *C. nigrolabiata* was examined by newly developed microsatellite loci.

All studied species are solitary in nesting behavior. Their nest structure and nesting phenology is described.

Guarding of full brood nest to adulthood of offspring is characteristic behavioral trait for *Ceratina* bees. This guarding is essential for offspring survival. Experimental nests with removed mother often failed by ant predation, parasitism by chalcid wasp and nest usurpation by other individuals of the genus *Ceratina*. Strategy of facultative abandonment of full brood nest was discovered in species *C. chalybea*, *C. cyanea* and *C. nigrolabiata*. This nesting strategy has never been reported for bees of the genus *Ceratina*.

Female abandonment of nest had strong negative effect to offspring survival in *C. chalybea*. On the other hand, benefit of abandonment can be opportunity of founding a new nest immediately after provisioning of the first one. Biparental care was discovered in *C. nigrolabiata* species. Its male guards entrance to nest to drive away natural enemies. Benefit for male is probably possibility of mating with female. A nest has not been guarded by one male for the whole season – males are changing within the nesting season. Fidelity of males is beneficial for nest productivity.

Genetic analyses show that female mates with multiple males. In one nest there are offspring from 3.85 fathers on average. Guarding male is usually not a father of the offspring, but long-term guarding (more than 15 days) usually provides paternity of some of the offspring in guarded nest.

Biparental care probably originated due to multiple mating of females, because it selected to prolonged male life span and motivates males to female guarding. On the contrary, origin of eusociality is known to arise on opposite mating system, i.e. single mating of female.

Key words: social monogamy, parental care, bees, Apidae, Hymenoptera

Obsah

1. Úvod	8
2. Cíle práce	9
3. Literární přehled	10
3.1. Sexuální strategie a pářící systémy.....	10
3.1.1. Samčí strategie	11
3.1.2. Samičí strategie	13
3.1.3. Třídění sexuálních a chovných systémů	14
3.1.4. Pářící systémy	15
3.1.5. Chovné systémy s dlouhodobým poutem.....	16
3.2. Péče o potomstvo	17
3.2.1. Délka péče o potomstvo	18
3.2.2. Typy péče o potomstvo	20
3.2.3. Výskyt obourodičovské péče	20
3.2.4. Co ovlivňuje vznik či výskyt obourodičovské péče.....	21
3.2.5. Dělbá práce mezi rodiče u obourodičovské péče	24
3.2.6. Péče dalších jedinců o juvenilní jedince	25
3.2.7. Samčí péče u eusociálních blanokřídých	26
3.3. Biologie včel rodu <i>Ceratina</i>	27
4. Metodika	30
4.1. Charakteristika studovaných lokalit	30
4.2. Rozmístění hnízdních příležitostí.....	32
4.3. Rozbory hnízd	33
4.4. Klasifikace typu hnízda.....	34
4.5. Fenologie a struktura hnízda.....	35
4.6. Odstraňovací experiment	35
4.7. Střídání samců <i>C. nigrolabiata</i> a jeho vliv na úspěšnost hnízda	36
4.8. Příprava a testování mikrosatelitových lokusů	37
4.9. Příprava vzorků pro fragmentační analýzu	38
4.10. Genetická struktura hnízda <i>C. nigrolabiata</i>	39
4.11. Statistické analýzy	42
5. Výsledky.....	44
5.1. Hnízdní fenologie.....	44
5.2. Struktura plného hnízda	47
5.3. Hlídní hnízda.....	51
5.4. Vliv odstranění hlídající samice	56
5.5. Aktivita samců	59

5.6.	Mikrosatelitové lokusy vyvinuté pro <i>C. nigrolabiata</i>	62
5.7.	Obourodičovská péče u <i>C. nigrolabiata</i>	64
5.7.1.	Střídání hlídajících samců.....	64
5.7.2.	Vliv střídání samců na velikost hnízda	67
5.7.3.	Počet otců v hnízdech <i>C. nigrolabiata</i>	69
5.7.4.	Rozmístění potomků od jednotlivých otců v rámci hnízda	69
5.7.5.	Co souvisí s počtem otců v jednom hnízdě?.....	71
5.7.6.	Jak často hlídá otec své vlastní potomky?.....	73
5.7.7.	Paternita samců hlídajících v průběhu hnízdění.....	73
5.7.8.	Zisky samců z hlídání hnízda.....	75
5.8.	Usurpace hnízd <i>C. nigrolabiata</i>	76
6.	Diskuse	77
6.1.	Hnízdní struktura plného hnízda	77
6.1.1.	Počet zazásobovaných komůrek.....	77
6.1.2.	Délka hnízda	78
6.1.3.	Prázdné komůrky	78
6.1.4.	Přepážky mezi komůrkami	79
6.2.	Kompetice a rozdělení nik mezi druhy rodu <i>Ceratina</i>	80
6.3.	Hlídání plného hnízda	81
6.3.1.	Funkce hlídání hnízda.....	81
6.3.2.	Fakultativní hlídání hnízda.....	83
6.4.	Samčí chování a pářící strategie <i>C. chalybea</i> , <i>C. cucurbitina</i> a <i>C. cyanea</i>	84
6.5.	Pářící systém a obourodičovské péče u <i>C. nigrolabiata</i>	85
6.5.1.	Pářící a chovný systém <i>C. nigrolabiata</i>	85
6.5.2.	Sexuální chování u <i>C. nigrolabiata</i> v průběhu sezony	86
6.5.3.	Role samce v rámci obourodičovské péče	86
6.5.4.	Důsledky stability páru z pohledu samice	87
6.5.5.	Co ze sociální monogamie získávají samci	88
6.5.6.	Srovnání s ostatními podobnými systémy	90
6.6.	Jak mohla obourodičovská péče vzniknout	91
6.6.1.	Délka života samců	91
6.6.2.	Schopnost samců najít hnízda samic	93
6.6.3.	Schopnost samců orientovat se v prostoru.....	93
6.6.4.	Výhodnost hlídání samice	94
6.6.5.	Komunikace mezi samcem a samicí.....	94
6.6.6.	Jak mohla probíhat evoluce.....	95
6.7.	Eusocialita u včel rodu <i>Ceratina</i>	95
6.8.	Vztah eusociality a obourodičovské péče	96
6.9.	Závěr.....	97
7.	Literatura	98

1. Úvod

Organismy by měly být evolucí selektovány na to, aby co nejefektivněji šířili své geny (Dawkins, 2006; Hamilton, 1963). Vyvinulo se mnoho různých strategií, jakým se organismy snaží tohoto cíle dosáhnout (Roff, 2002; Stearns, 1976). K dosažení maximální úspěšnosti jim brání řada překážek a omezení. Jedním ze zásadních trade-off, které musí řešit je, zda investovat spíše do množství, nebo do kvality potomstva (Gilbert & Manica, 2010; Lack, 1947; Walker & al., 2008). Řešení tohoto problému je velmi odlišné u různých druhů organismů a může se lišit i u různých jedinců v rámci jednoho druhu (Brockmann, 2001; Rehan & Richards, 2010a; Taborsky & al., 2008). Různá pohlaví gonochoristických organismů řeší obvykle toto trade-off odlišným způsobem (Crespi, 2007; Trivers, 1972). Samci mají většinou tendenci investovat více do množství potomstva, zatímco samice do jeho kvality (Bateman, 1948; Trivers, 1972).

Jednou z nejvýraznějších strategií, která upřednostňuje přežití potomstva před jeho množstvím je rodičovská péče (Gross, 2005), která se vyvinula nezávisle u řady skupin živočichů (Clutton-Brock, 1991; Smiseth & al., 2012; Tallamy & Wood, 1986). Péči o potomstvo se mohou věnovat oba rodiče, ale taky pouze matka nebo pouze otec (Reynolds & al., 2002; Suzuki, 2013). Pohlaví, které se na péči nepodílí, má obvykle více pářících příležitostí (Emlen & Oring, 1977; Trivers, 1972). Péče o potomstvo a sexuální strategie daného organismu se vzájemně ovlivňují (Reynolds, 1996; Thomas & Székely, 2005).

U některých živočichů se vyvinula eusocialita, tedy situace, kdy část jedinců v populaci se snaží získat co největší biologickou zdatnost nikoliv přes vlastní reprodukci, ale pomocí péče o příbuzné jedince (Hamilton, 1963; Michener, 1969; Wilson, 1971).

Včely rodu *Ceratina* jsou dobrou modelovou skupinou pro studium evoluce rodičovské péče, neboť mají péči dosti komplexní a zároveň se v rámci rodu vyskytuje několik odlišných strategií. Dosud byly známy druhy s mateřskou péčí, dále pak druhy eusociální, tedy s péčí dalších příbuzných jedinců (Michener & Eickwort, 1966; Rehan & al., 2012; S. M. Rehan & al., 2010; Sakagami & Laroca, 1971; Sakagami & Maeta, 1977). U druhu *C. nigrolabiata*, jako u první včely vůbec, se nám podařilo objevit péči obourodičovskou. Tento druh s unikátním chováním, společně s dalšími třemi druhy s péčí mateřskou, bude představen v předložené práci.

2. Cíle práce

1. Zjistit hnízdní strukturu a typ péče o potomstvo u druhů *Ceratina chalybea*, *C. cucurbitina*, *C. cyanea* a *C. nigrolabiata*
2. Ukázat efekt prodloužené péče matky po dozásobování potomstva spočívající v hlídání hnízda
3. Objasnit zisky a ztráty samců a samic vyplývající z obourodičovské péče *C. nigrolabiata*
4. Vyvout mikrosatelitové lokusy pro *C. nigrolabiata* a následně je použít k určení genetické struktury hnízda u tohoto druhu
5. Pokusit se objasnit evoluci vzniku obourodičovské péče u *C. nigrolabiata*

3. Literární přehled

3.1. Sexuální strategie a pářící systémy

Vyhledání pohlavního partnera a jeho přesvědčení ke kopulaci je zásadní pro všechny pohlavně se rozmnožující živočichy. Většina živočichů jsou gonochoristé, tedy buď samci, nebo samice (Clark, 1978; Chapman, 2009; Royer, 1975). Samci a samice jednoho druhu se často velmi výrazně liší (Hedrick & Temeles, 1989; Shine, 1989). Pokud není pohlavní dimorfismus zřetelný na první pohled, tak se pohlaví liší ve svém chování. A to platí zejména v případě interakcí s pohlavním partnerem a přípravám na ně.

Jedinci (či geny jedinců) různých taxonů se velmi podstatně liší ve strategiích, kterými se snaží dosáhnout co největší biologické zdatnosti (Roff, 1992). To samozřejmě platí i v případě strategií směřujících k získání pohlavních partnerů. Výsledkem kombinace samčích a samičích strategií je poté určitý pářící systém.

Samci a samice mají při pohlavních interakcích sice odlišné cíle (Hosken & al., 2009; Chapman & al., 2003), ale navzájem se bez sebe neobejdou. Z tohoto důvodu je výhodné, když se dokáží mezi sebou "nějak domluvit". Mezipohlavní komunikace dosahuje u mnoha druhů živočichů obrovské komplexity a je často jeden z nejvýraznějších jevů, který můžeme v přírodě pozorovat.

Samci se často snaží upoutat pozornost samic výraznými optickými, akustickými, taktilními či chemickými signály (Ayasse & al., 2001; Branham & Wenzel, 2003). Kvalita těchto signálů je samicemi často posuzována a podle ní si vybírají své pohlavní partnery (Endler & Basolo, 1998). V důsledku pohlavního výběru dochází k evoluci signálů sloužících k mezipohlavní komunikaci (Ryan, 1998)

Sexuální strategie i pářící systém daného organismu je důsledkem jeho evoluční historie a aktuálních vlivů prostředí. U daného organismu je tedy to, jaká sexuální strategie je pro něj nejvýhodnější značně ovlivněno stavbou těla a celkovou životní strategií. Tělní stavba může například ovlivňovat mechanismus kopulace, který rozhoduje o tom, zda může samec samici ke kopulaci přinutit, či nikoliv (Arnqvist & Rowe, 1995; Miller, 2003). Zásadní je rovněž vzájemné ovlivňování se s typem péče o potomstvo (Alonzo, 2010; Clutton-Brock, 1989; Emlen & Oring, 1977), více viz kapitola Péče o potomstvo. Velmi důležité je rovněž, zda organismy investují do reprodukce v jednom reprodukčním období (semelparie), nebo ve více reprodukčních obdobích (iteroparie) (Stearns, 1989; Stearns 1992). Zásadní vliv mají rovněž populační charakteristiky daného organismu, které se značně promítají do množství pářících příležitostí. Jde například o poměr pohlaví, a to především poměr pohlaví sexuálně aktivních jedinců (Emlen & Oring, 1977; Gwynne, 1990; Reynolds, 1996). Důležitý je rovněž vliv populační hustoty (Emlen & Oring, 1977).

Výše zmíněné faktory na sexuální strategie organismů samozřejmě nejen působí, ale jsou jimi rovněž i ovlivňovány. Někdy proto není lehké rozlišit, co je příčinou a co následkem (Reynolds, 1996; Thomas & Székely, 2005).

3.1.1. Samčí strategie

Výroba samčích pohlavních buněk – spermií – je podstatně levnější než výroba vajíček (Bateman, 1948; Trivers, 1972). Navíc u řady druhů platí, že u samic rovněž dochází k výrazně větší postkopulační investici do potomstva (Ayasse & al., 2001; Emlen & Oring, 1977). Samčí biologická zdatnost proto roste se zvyšujícím se počtem kopulací podstatně více, než samičí (Arnold & Duvall, 1994; Bateman, 1948). Samci jsou tudíž obvykle podstatně aktivnější pohlaví. Investují výrazně více do vyhledávání svého protějšku a jeho přesvědčování ke kopulaci, než samice. Svě partnerky příliš nevybírají (Trivers, 1972). V některých případech bojují samci přímo mezi sebou (Fraberger & Ayasse, 2007; Kemp, 2000; Rahman & al., 2003), jindy však vzhledem k přístupu ke kopulaci se samičí překonávají spíše nástrahy prostředí, nebo svádí fyzický boj se samičí (Arnqvist & Rowe, 1995). Hlavním nepřítelem daného samce je vždy jiný samec, byť někdy se utkávají jen na dálku.

Pro samce je ideální situace, kdy kopuluje s co nejvíce partnerkami, se kterými nekopuloval ani nebude kopulovat žádný jiný samec. Obvykle se v populaci vyskytuje více samců, jednotliví samci řeší trade-off mezi množstvím partnerek a jejich monopolizací (Emlen & Oring, 1977). Existuje mnoho způsobů, jakými se samci různých organismů s tímto dilema vypořádali, a tedy celá řada velmi různorodých samčích strategií.

Vyhledávání samic: Samci mohou spoléhat pouze na svou rychlost a schopnost vyhledání samice. Mohou se stahovat na místa, kde je větší pravděpodobnost výskytu samic. Obvykle při této strategii samci nejsou agresivní k jiným samcům a navzájem se ignorují. Tato strategie se vyskytuje u řady včel (Paxton, 2005), například *Osmia rufa* (Seidelmann, 1999).

Hlídní zdroje: Samci se mohou pokoušet o obranu nějakého území – teritoria, které se nachází v místech zdrojů důležitých pro samice. Zdroje bývají obvykle agregovány, což umožňuje jejich efektivní obranu (Emlen & Oring, 1977). Samice získává přístup k těmto zdrojům odměnou za kopulaci se samcem. Na následné chování samců (i samic) má zásadní vliv, zda je daný zdroj pro samice důležitý pouze dočasně, nebo je důležitý dlouhodobě. Pokud je zdroj důležitý pouze krátkodobě, tak ho po jeho využití samice brzy opouští a nedochází k vytvoření trvalého pouta mezi samcem a samičí. Samec poté u daného zdroje číhá na další samice. Samice může tento zdroj v budoucnu využít znovu, ale rovněž může využít jiný podobný zdroj. Hlídní krátkodobého zdroje se vyskytuje např. u včel rodu *Systropha*, kde samci hlídají kvetoucí opletňky (*Convolvulus* sp.) (Fraberger & Ayasse, 2007).

Samec může hlídat zdroj, který je pro samici důležitý trvale. Může též zdroj vytvořit nebo upravit svou vlastní činností tak, aby byl pro samice atraktivní (Kirkendall, 1983). V takovém případě se na něm jedna či více samic trvale usadí. Dochází poté k poutu mezi samcem a samicí, či mezi samcem a více samicemi. Mohou díky tomu vznikat podobné systémy jako při přímém hlídání samice. U některých druhů kůrovců samec vytvoří chodbu, do které následně láká samici (Kirkendall, 1983).

Agregace na výrazných místech: Samci se mohou agregovat na určitých stanovištích, která však nejsou pro samice nijak důležitým zdrojem. Na těchto místech se samci předvádí či dokonce bojují, a samice si poté samce vybírají (Emlen & Oring, 1977). U hmyzu dochází často k agregacím samců na vrcholech kopců či jiných vyvýšených místech (Alcock, 1987; Scott, 1968). Samci *Apis mellifera* se takto agregují na otevřených prostranstvích (Koeniger & al., 2000).

Odměna pro samici: Samec se může snažit zvýšit pravděpodobnost své kopulace tím, že nabídne samici něco, co je pro ni prospěšné. Zároveň tím snižuje motivaci samice k další kopulaci (Arnqvist & Nilsson, 2000). Může jít například o čištění samice před kopulací, které se vyskytuje u kůrovce *Xyleborinus saxaseni* (Biedermann & Taborsky, 2011). Samec může při kopulaci poskytnout kromě spermí i svatební dar (Arnqvist & Nilsson, 2000). U řady rovnokřídlých poskytují samci samicím nutričně bohatou směs látek (Gwynne, 1990). Zrnokaz *Callosobruchus maculatus* poskytuje samicím při kopulaci vodu (Ursprung & al., 2009). Poskytnutí svatebního daru je pro samce obvykle velmi nákladné. V důsledku toho nemůže samec kopulovat s příliš velkým množstvím samic (Gwynne, 1990). Jako extrémní formu odměny lze chápat konzumaci celého samce samicí. Může být pro samce výhodná, protože snižuje motivaci samice k dalšímu páření (Andrade, 1996), což je případ snovačky *Latrodectus hasselti*.

Hlídání samice: V některých případech nemusí být nejefektivnějším řešením snaha o to spářit se s co největším počtem samic, ale zajistit si otcovství u jedné samice či u malé skupiny samic. Jde především o situace, kdy jsou samice rozmístěné příliš řídko a snaha o jejich nalezení je tedy příliš nákladná (Emlen & Oring, 1977). V takovém případě se samci uchylují k přímému hlídání samic. Tato situace může vést ze všech nejlépe k vytváření trvalých pout mezi partnery. Hlídání skupiny samic se vyskytuje např. u ploštice *Acanthocoris sordidus* (Fujisaki, 1981). Hlídání jedné samice se vyskytuje např. u krevety *Alpheus angulatus* (Mathews, 2002a). Extrémním příkladem hlídání je zadržování samice v hnízdě u zoborožce *Tockus monteiri* (Stanback & al., 2002).

Zamezení samic v další kopulaci: Samec může samici zabránit v další kopulaci, nebo snížit pravděpodobnost jejího dalšího páření, aniž by musel samici dlouhodobě hlídat. Samci mohou dokonce samici záměrně zraňovat, aby snížili její ochotu k následnému páření (Johnstone & Keller, 2000). Samci čmeláků zalepují samicím pohlavní soustavu zátkou, která má ztížit následující kopulaci (Sauter & al., 2001). Samci pavouků rodu *Nephila* odlamují v kopulačním orgánu samice kus svého kopulačního orgánu (Fromhage & Schneider, 2006). Tato strategie je výhodná především v situaci,

kdy má samec velmi malou šanci na další páření, a tudíž se mu vyplatí maximálně investovat do toho jednoho (Fromhage & Schneider, 2006).

Alternativní strategie: V některých případech se může u jednoho druhu vyskytovat více alternativních samčích strategií (Gross, 1996; Taborsky & al., 2008). Často to souvisí s rozdílnými schopnostmi samců (Reynolds, 1996). Například u krevety *Macrobrachium rosenbergii* existují tři formy samců. Velcí samci hlídají skupinu samic a páří se s nimi. Střední samci se příležitostně páří s osamocenými samicemi. Malí samci jsou velmi rychlí a dokáží vniknout k samicím hlídaným velkým samcem a rychle se s nimi spářit (Ra'Anan & Sagi, 1985). U včely *Amegilla dawsoni*, velcí samci hledají samice poblíž míst líhnutí, zatímco menší samci je hledají převážně na květech (Alcock, 1997).

3.1.2. Samičí strategie

Samičí strategie jsou často ve srovnání se samčími výrazně složitější. Zatímco samcům jde především o co největší množství kopulací, tak samice musí sledovat více cílů zároveň: 1) mít alespoň nějakého partnera 2) mít co nejlepšího partnera (Andersson, 1994; Trivers, 1972) 3) nevyčerpávat se a neriskovat nadměrným množstvím kopulací (Arnqvist & Nilsson, 2000).

Zajištění partnera: Samci jsou obvykle dostatečně motivovaní si samice najít. Samice jim může ale tento úkol ulehčit. U velkého množství druhů hmyzu i dalších živočichů samice, pokud chtějí samce přilákat, vylučují feromony, které informují samce o tom, jakým směrem se samice nachází (Ayasse & al., 2001; Jacobson, 2012).

Výběr partnera: Samice jsou obvykle vybíravější pohlaví (Reynolds, 1996). Své partnery si vybírají podle velmi širokého množství znaků, které mohou a nemusí přímo souviset s kvalitou samce, a tedy i s kvalitou jeho potomků (Jennions & Petrie, 2000). Pohlavní výběr často vede ke vzniku velmi komplexních struktur i chování, a to zejména u samců (Eberhard, 1997). Ne vždy musí být pohlavní výběr založen na vědomé volbě samice. Samice se například mohou kopulaci bránit, a dosáhne ji tedy pouze ten samec, který samici přemůže (Arnqvist & Rowe, 1995). V řadě případů se samice páří s více samci a k pohlavnímu výběru dochází až v jejím reprodukčním ústrojí formou kompetice spermií (Eberhard, 1997; Eberhard & Cordero, 1995; Jennions & Petrie, 2000).

Optimalizace počtu kopulací: Nadbytečné kopulace vystavují samice riziku zranění, predace, parazitace a ztráty času (Moritz, 1985; Ursprung & al., 2009). Proto samice musí optimalizovat počet svých páření tak, aby dosáhla co největšího zisku a co nejmenších ztrát (Arnqvist & Nilsson, 2000; Arnqvist & Rowe, 1995). Teoreticky by mohlo jedno páření samici stačit k oplození všech vajíček. Ne vždy je ale objem spermatu dostatečný (Boomsma & al., 2009; Crozier & Fjerdingstad, 2001; Franco & al., 2011). Některý samec může být impotentní či se samicí inkompatibilní, a pokud chce samice vsadit na jistotu, že bude oplozena, páření s jedním samcem nestačí (Zeh & Zeh, 2001). Vícenásobné

páření samice rovněž zvyšuje genetickou diverzitu potomstva (Crozier & Fjerdingstad, 2001; Jennions & Petrie, 2000). V některých případech se samice vícekrát páří kvůli zisku nějakého zdroje ze svatebního daru (Arnqvist & Nilsson, 2000; Ursprung & al., 2009).

Řada dalších selekčních tlaků působí na počet páření samice u eusociálních blanokřídlých (Crozier & Fjerdingstad, 2001; Crozier & Page, 1985). Jediné páření samice zvyšuje příbuznost mezi členy společenství, a tedy i jejich ochotu zastávat roli reprodukčně podřízeného jedince. Je zřejmě nezbytné pro vznik a udržení jednoduchých eusociálních společenství (Hughes & al., 2008). U řady skupin eusociálních blanokřídlých, zejména těch, která vytvářejí velká a komplexní společenství, se ale vyvinula polyandrie (Boomsma & al., 2009; Hughes & al., 2008; Kronauer & al., 2007; Palmer & Oldroyd, 2000). Ta může mít celou řadu výhod: redukci konfliktu mezi královnou a dělnicemi o poměr pohlaví (Moritz, 1985) či redukce konfliktu o produkci synů dělnic (Crozier & Fjerdingstad, 2001), snížení vlivu produkce diploidních samců (Boomsma & al., 2009), zvýšení genetické diverzity ve společenství vedoucí k větší odolnosti proti nemocem (Crozier & Fjerdingstad, 2001) nebo lepší dělbě práce ve společenství (Boomsma & al., 2009; Oldroyd & Fewell, 2007). Převažující důvody pro vznik vícenásobného páření u sociálních blanokřídlých mohou být u různých skupin různé a není zjevné, které jsou ty klíčové (Boomsma & al., 2009; Crozier & Fjerdingstad, 2001). Jejich pochopení brzdí nedostatečná znalost počtu páření u primitivně eusociálních blanokřídlých a jim příbuzných solitérních druhů (Boomsma & al., 2009).

3.1.3. Třídění sexuálních a chovných systémů

Nejjednodušeji si můžeme sexuální systémy rozdělit podle toho, s kolika partnery se sexuálně aktivní samci a samice páří. V tomto případě existují čtyři základní kategorie: **1) monogamie**, kdy se jedna samice páří s jedním samcem a ten pouze s touto jednou samicí, **2) polygamie**, kdy se samec páří s více samicemi, ale tyto samice jen s jedním samcem **3) polygynie** kdy se samice páří s více samci a ti pouze s touto samicí a **4) promiskuita**, kdy se samci i samice páří náhodně v rámci populace.

Z metodických důvodů bývá často složité ohodnotit pářící strategie obou pohlaví. Proto se velká část studií zabývá pářícím systémem jen z pohledu jednoho pohlaví. To však často vede k nepochopení systému v celé jeho komplexitě. Např. jestliže byl lumčík *Habrobracon hebetor* zkoumán z pohledu samčího chování, tak byl jeho systém prohlášen za polygynní (Antolin & Strand, 1992), jestliže byl zkoumán z hlediska potomstva jednotlivých samic, tak byl systém označen jako monogamní (Antolin & al., 2003).

Pohlavní partneři mohou mezi sebou vytvářet pouto, při kterém se individuálně rozpoznávají a sledují se. Hlavními důvody vzniku a udržení tohoto pouta mohou být: 1) hlídání pohlavního partnera a 2) péče o společné potomstvo. Pouto může trvat jen několik minut – například tandemová pozice u

vážek (Corbet, 1999), nebo může být i mnohaleté až celoživotní – například u mnoha ptáků (Black, 1996). Vytváření dlouhodobých pout vede ke vzniku různých chovných (breeding) systémů. Tyto chovné systémy můžeme v přírodě pozorovat podstatně lépe než pářící systémy.

Pro třídění sexuálních i chovných systémů se často používají stejné pojmy, tedy především monogamie, polygamie a polyandrie. Tato terminologická nejednoznačnost může vést k podstatným nedorozuměním. Zejména u ptáků je relativně časté, že dva jedinci tvořící sociálně monogamní pár jsou si výrazně nevěrní, a tudíž je lze označit z genetického pohledu za promiskuitní (Westneat & Stewart, 2003). Naštěstí tato situace je již delší dobu známa, a tudíž není v chápání sexuálních a chovných systémů takovým problémem.

Výrazně větší problém je nedostatečné rozlišování systémů, kde dochází a kde nedochází k trvalému poutu mezi partnery. Důsledně to nerozlišují např. (Emlen & Oring, 1977; Thomas & Székely, 2005). Jako na zdrojích založená polygynie (resource-based polygyny (Emlen & Oring, 1977)), bývají označovány jakékoliv systémy, kde si samec zajišťuje přístup k samicím pomocí hlídání zdroje. Není ale brán ohled na to, zda jsou samec a několik samic se zdrojem trvale spojeni a vzniká mezi nimi pevné pouto, nebo zda samice tento zdroj využívají jen velmi dočasně (Groddeck & al., 2004). Pokud samice využívá zdroj pouze dočasně, tak za prvé nevzniká trvalé pouto mezi ní a samcem, za druhé se samice obvykle vůbec nepotká s dalšími samicemi, se kterými se samec pářil, a za třetí může příště navštívit jiný zdroj a spářit se s jiným samcem. Pak se tedy jedná vlastně o promiskuitu.

Dalším problémem je směšování sociální monogamie a monogamie založené na jednom páření. Při obou situacích se každý z partnerů páří pouze se svým partnerem, ale zatímco v prvním případě partneři výrazně investují do udržení svého vztahu, v druhém případě se partneři už po páření nikdy nepotkají.

Nedůsledné rozlišování mezi opravdovými chovnými systémy s dlouhodobým poutem a jim podobnými systémy bez pouta může být dáno tím, že se často u určitých taxonů vyskytuje majoritně buď typ bez pouta, nebo typ s poutem. Používání shodných termínů pro různé situace pak ale vede k výraznému zmatení při porovnávání sexuálních strategií mezi nepříbuznými taxony.

3.1.4. Pářící systémy

Páření trvá jen krátkou dobu, a proto bývá v přírodě těžké jej podchytit. Proto většina studií o pářících systémech bez pouta vychází buď z laboratorních pokusů, nebo ze situací, kdy je přímé pozorování páření ulehčeno díky agregaci jedinců na určitá místa. V dnešní době přibývají studie, které pářící systémy zjišťují pomocí molekulárních markerů (Hughes, 1998). Níže uvedené příklady se vztahují k živočichům, u kterých nedochází k vytvoření pouta mezi partnery. Podle stejných kritérií je ale možné klasifikovat i pářící systémy druhů, u nichž pouto mezi partnery vzniká.

V naprosté většině případů mají samec i samice více partnerů, pokud se bere v úvahu celý jejich život. Pokud se ale pářící systémy klasifikují např. podle jednoho reprodukčního období, tak jsou situace, kdy se zástupci alespoň jednoho pohlaví páří jen s jedním partnerem, podstatně častější.

Promiskuita: V tomto systému se jedinci v rámci populace náhodně potkávají a páří. Jde o nejjednodušší a pravděpodobně i nejrozšířenější pářící systém (Arnqvist & Nilsson, 2000). Vyskytuje se např. u včel rodu *Systropha* (Fraberger & Ayasse, 2007), medovosy *Ceramius fonscolombeii* (Groddeck & al., 2004) nebo klopušky *Nesidiocoris tenuis* (Franco & al., 2011).

Polygynie: V tomto systému se samec páří s více samicemi, které se páří jen s ním. Jde o častou strategii, neboť samec získá zvýšením množství kopulací mnohem více, než získá samice (Bateman, 1948). Typickým příkladem je vosík *Ropalidia marginata* (Shilpa & al., 2012), včela *Osmia rufa* (Seidelmann, 1999), nebo klopuška *Macrolophus pygmaeus* (Franco & al., 2011).

Přestože se samci snaží o spáření s více samicemi, tak se to velké části z nich obvykle nepovede (Seidelmann, 1999). V důsledku toho nemusí být velký rozdíl mezi polygynním a geneticky monogamním systémem.

Polyandrie: Samice se páří s více samci, kteří se páří pouze s touto samicí. V přírodě jde o dosti vzácnou situaci, protože je to proti obvyklým zájmům obou pohlaví. Vyskytuje se ale například u včel rodu *Apis* (Palmer & Oldroyd, 2000; Paxton, 2005). Dalším příkladem jsou pavouci rodu *Nephila* (Fromhage & Schneider, 2006).

Genetická monogamie: Samice i samec se páří pouze s jedním partnerem. Příkladem jsou bezžihadlové včely (Meliponini), kde se samice páří jen jednou a samec se nemůže pářit vícekrát, jelikož při kopulaci odlamuje endophallus (Paxton, 2005).

3.1.5. Chovné systémy s dlouhodobým poutem

Vznik těchto systémů je podmíněn schopností jednoho pohlaví monopolizovat si na určitou dobu partnera, ať už přímo, či prostřednictvím zdrojů (Reynolds, 1996). Výskyt systémů s dlouhodobým poutem bývá jednodušší odhalit, protože se jedinci spolu dlouhodobě vyskytují. Ne vždy si jsou ale partneři věrní (Reynolds, 1996; Hughes, 1998; Westneat & Stewart, 2003), v důsledku čehož rodičovství v rámci systémů s poutem často neodpovídá složení skupiny. Druhy, které vytvářejí systémy s poutem, je možné klasifikovat jak do níže uvedených systémů podle typu pouta, tak do výše uvedených systémů pouze podle počtu sexuálních partnerů. Počet sexuálních partnerů je často větší než počet sociálních partnerů, proto je tedy například řada sociálně monogamních druhů je geneticky promiskuitních.

Polygynandrie: Dochází ke vzniku pravidelného pouta ve skupině, kde je více samců a více samic. V rámci této skupiny se může pářit každý samec s každou samicí, obvykle ale není páření náhodné a

závisí na vztazích uvnitř skupiny (Matsumoto-Oda, 1999). Příkladem je pěvuška *Prunella collaris* (Hartley & al., 1995) a šimpanz *Pan troglodytes* (Matsumoto-Oda, 1999)

Trvalá polygynie: Ve skupině se vyskytuje jeden samec a více samic. Samec je obvykle výrazně agresivní k ostatním příslušníkům svého pohlaví a hlídá samice. Základním předpokladem je, že samec dokáže více samic efektivně ubránit (Emlen & Oring, 1977). Vyskytuje se např. u plošnice *Acanthocoris sordidus* (Fujisaki, 1981) a kobylky *Hemideina maori* (Gwynne & Jamieson, 1998).

Trvalá polyandrie: Ve skupině se vyskytuje více samců a jedna samice. Jde o jev relativně vzácný, ale u některých druhů byla nalezena. Typicky se vyskytuje ve spojení s převrácením pohlavních rolí – samice jsou poté výraznější a agresivnější, samci vybíravější a v případě péče o potomstvo obstarávají většinu péče (Emlen & Oring, 1977). Příkladem jsou ostnákovití (Jacanidae) (Jenni & Collier, 1972).

Sociální monogamie: Skupinu tvoří pouze dva množící se dospělci, a to samec a samice. Obvykle vzniká tak, že je pro samce výhodné si monopolizovat samice, ale monopolizace většího množství samic není možná (Emlen & Oring, 1977; Rahman & al., 2003) Partneři si ale nemusí být věrní. Proto sociální monogamie neznamená vždy monogamii genetickou (Reynolds, 1996; Westneat & Stewart, 2003; Hughes, 1998). Sociální monogamii má asi 90% ptáků (Emlen & Oring, 1977). Sociální monogamie je rovněž typická pro naprostou většinu termitů alespoň v rané fázi vývoje společenství (Shellman-Reeve, 1999; Thorne, 1997).

Pouto mezi jedinci v monogamním vztahu může trvat různě dlouhou dobu. U některých skupin dochází k vytváření celoživotních pout, jindy po určité době dojde k zániku pout a vytvoření pout nových, což se pak označuje jako seriální monogamie (Clutton-Brock, 1989). Např. u scinka *Egernia whithii* jsou partneři spolu asociováni obvykle jen po jednu sezonu, jen vzácně po více sezon (Chapple & Keogh, 2005).

Sociální monogamie je obvykle spojena s obourodčovskou péčí (viz kapitola péče o potomstvo), může se ale vyskytovat i bez ní. Příkladem jsou krevety rodu *Alpheus*, kde se pár společně podílí na obraně úkrytu (Rahman & al., 2003; Mathews, 2002a)

3.2. Péče o potomstvo

Organizmy mohou produkovat buď velké množství špatně vybaveného potomstva, nebo menší množství potomstva lépe vybaveného (Gilbert & Manica, 2010; Lack, 1947; Walker & al., 2008). Pokud rodiče nějakým způsobem zvyšují šanci přežití svého potomstva, je možné tuto situaci označit jako rodičovskou péčí (Smiseth & al., 2012; Clutton-Brock, 1991). Rodičovská péče může mít mnoho různých forem. V širším slova smyslu lze jako rodičovskou péčí chápat i investice do potomstva, které se projevují jinak než pomocí chování – tedy např. výživu gamet či živorodost (Smiseth & al., 2012).

V užším slova smyslu je jako rodičovská péče označováno chování, které vede ke zvýšení přežití potomstva. V tomto smyslu bude rodičovská péče dále chápána i v rámci této práce.

Rodičovská péče se může projevovat mnoha různými způsoby (Tallamy & Wood, 1986; Hunt & Simmons, 2002). Dvě nejdůležitější formy jsou pravděpodobně zásobování potravou a hlídání potomstva (Mas & Kölliker, 2008; Smiseth & al., 2012; Tallamy & Wood, 1986). Často se vyskytuje i stavba specifických struktur (hnízd či tunelů) pro výchovu potomstva (Kirkendall, 1983; Wenzel, 1991).

Rodičovská péče vznikla u živočichů mnohokrát nezávisle na sobě (Reynolds & al., 2002; Tallamy & Wood, 1986). Nejčastěji se vyskytuje u členovců a obratlovců (Smiseth & al., 2012). Za kterých podmínek rodičovská péče vzniká, není dosud uspokojivě vysvětleno (Wong & al., 2013). Vznik péče o potomstvo mohlo podporovat např. drsné okolní prostředí, využívání dočasných zdrojů potravy a výrazný predanční tlak na juvenilní jedince (Wong & al., 2013). Mezi důležité preadaptace patří dlouhá délka života (Tallamy & Wood, 1986) a malá disperze či tendence k agregaci u juvenilních jedinců (Nalepa & Bell, 1997).

Péče o potomstvo výrazně zvyšuje přežívání juvenilních jedinců (Eggert & al., 1998). Je velmi úspěšnou strategií, která se vyskytuje u velké části ekologicky dominantních živočichů. Vznik péče způsobuje vznik nového typu interakcí v rámci vzniku skupiny tvořené rodičem a potomky či rodiči a potomky. V důsledku toho se objevují nové selekční tlaky (Wong & al., 2013). Mezi rodiči a potomky se často vyvíjí velmi složité formy komunikace (Cocroft, 1999; Mas & Kölliker, 2008; Schuster & Schuster, 1985). Péče o potomstvo tak vede k vyšší komplexitě chování.

Jakmile péče o potomstvo jednou vznikne, tak dosti obtížně zaniká. Naopak, péče o potomstvo má tendenci zvyšovat svou komplexitu chování (Smiseth & al., 2012).

Přestože se péče o potomstvo vyskytuje u velmi širokého spektra organismů, tak většina studií se zaměřuje především na péči u ptáků a savců (Smiseth & al., 2012; Wong & al., 2013).

3.2.1. Délka péče o potomstvo

Péče o potomstvo může probíhat různě dlouhou dobu a po různý podíl juvenilního vývoje mláďat. Například u mohutnatkovitých (Belostomatidae) hlídá samec pouze vajíčka (Smith, 1997). U sekáčů rodu *Goniosoma* hlídá matka vajíčka a mladé larvy, dokud tyto larvy nedispergují (Machado, 2002). U vrzounovitých (Passalidae) pečují rodiče o larvy po celou dobu jejich larválního vývoje (Schuster & Schuster, 1997). U tzv. mass provisioners žahadlových blanokřídlých (Aculeata) sice matka ve většině případů přestane přímo interagovat s potomkem ihned po naklazení vajíčka, ale předtím mu zajistí výživu na celou dobu larválního vývoje (Michener, 2007). V některých případech mohou rodiče pečovat i o dospělé potomky. Příkladem jsou jihoamerické opice rodu *Aotus*, kdy mohou potomci

zůstávat ve skupině i nějaký čas po dosažení dospělosti (Fernandez-Duque, 2007). Podobně u včel rodu *Ceratina* matka hlídá potomky až do dospělosti a někdy i dospělé potomky krmí (Rehan & Richards, 2010b).

Rodičovská péče může být pro přežití potomků nezbytně nutná, jak tomu je u naprosté většiny ptáků a savců (Cockburn, 2006), ale i hnízdících žahadlových blanokřídlých (Wilson, 1971). V řadě případů může však být péče pro přežití potomstva prospěšná, ale nikoliv nezbytně nutná (Miettinen & Kaitala, 2000; Martins & al., 1998; Mas & Kölliker, 2008). Může rovněž platit, že je péče nezbytně nutná jen do určitého ontogenetického stádia (Smiseth & al., 2003)

Péče je zjevně prospěšná pro potomky, ale zároveň obnáší určitou cenu pro rodiče (Gross, 2005). Péče o potomstvo obvykle snižuje přežívání a budoucí reprodukci rodičů (Ratnieks, 1996; Smiseth & al., 2012; Strohm & Marliani, 2002). Mezi rodičem a potomkem rovněž může vznikat konflikt o péči, neboť pro potomka je výhodné dostávat větší množství péče, než kolik je výhodné pro rodiče, aby jim poskytoval (Wong & al., 2013). Zároveň pro potomka je výhodné, aby ho rodič preferoval před jeho sourozenci, kdežto pro rodiče je obvykle výhodné rozložit investice mezi potomky rovnoměrně (Trivers, 1974).

Rodiče se v rámci péče o potomstvo rozhodují, zda je stále ještě výhodné pečovat o dané potomstvo, nebo je lepší toto potomstvo opustit, a investovat do další reprodukce a péče o další potomstvo. Čím je potomstvo mladší, tím je pro něj obvykle rodičovská péče užitečnější. Např. u hrobaříků (*Nicrophorus* spp.) jsou larvy na péči rodičů závislé do věku 72h, ale i poté je přítomnost rodičů pro jejich přežití prospěšná (Smiseth & al., 2003). Rozhodnutí, zda o určité potomstvo nadále pečovat, nebo ho opustit, může být ovlivněno velkým množstvím faktorů.

Velmi důležitým faktorem ovlivňujícím délku rodičovské péče je příležitost k budoucí reprodukci. Když má rodič velkou šanci úspěšně se reprodukovat, tak je pro něj výhodnější opustit potomstvo dříve (Stearns, 1989; Tallamy & Brown, 1999).

Délku rodičovské péče samozřejmě ovlivňuje míra závislosti potomstva na rodičích. Pokud jsou potomci závislí na krmení od rodičů, a nejsou schopní samostatného příjmu potravy, tak je doba péče o potomstvo delší. Tato situace se vyskytuje u blanokřídlých, kdy je doba péče o potomstvo delší u tzv. progressive provisioners, jejichž larvy potřebují dostávat potravu průběžně, oproti mass provisioners, jejichž larvy postupně zpracovávají nashromážděnou potravu (Field, 2005). Dokud jsou potomci potravně závislí, tak alespoň jeden z rodičů nemůže emigrovat. Pokud jsou potomci potravně nezávislí, tak je načasování emigrace rodičů ovlivněna dalšími faktory.

Pokud péče o potomstvo není nezbytná, ale zvyšuje pravděpodobnost jeho přežití, tak rozhodnutí rodičů, zda o potomstvo pečovat či ho opustit, může ovlivňovat množství vychovávaných potomků. Např. u hrobaříka *Nicrophorus orbicollis* dochází k emigraci rodičů později, pokud se starají o větší množství larev, či na větším zdroji potravy (Trumbo, 1991)

3.2.2. Typy péče o potomstvo

Péči o potomstvo je možné rozdělit na několik typů podle toho, kteří jedinci se na ní podílí. Můžeme rozlišit mateřskou péči, otcovskou péči, obourodičovskou péči a péči sourozenců či dalších jedinců. Typ péče o potomstvo výrazně souvisí s životní strategií daného druhu a je dosti fylogeneticky konzervován (Reynolds & al., 2002).

Mateřská péče je nejrozšířenějším typem péče (Kokko & Jennions, 2008). Výrazně dominuje u savců (Reynolds & al., 2002) a členovců (Tallamy & Wood, 1986)

Otcovská péče je spíše vzácnější. Je častým typem péče u ryb a obojživelníků (Gross & Shine, 1981; Reynolds & al., 2002; Ridley, 1978). U ptáků se vyskytuje např. u nandu a tinam (Ridley, 1978). Otcovská péče se může projevovat hlídáním vajíček, kde typickým příkladem jsou mohutnatky (Heteroptera: Belostomatidae)(Smith, 1997). Samčí hlídání vajíček se vyvinulo pravděpodobně několikrát nezávisle na sobě u sekáčů (Ryotaro Hara & al., 2003).

Evoluce přechodů mezi různými typy péče o potomstvo může probíhat dosti různými cestami. Obourodičovská péče může vznikat jak z mateřské, tak z otcovské péče o potomstvo a rovněž i u organismů, kteří o potomstvo nepečují vůbec (Reynolds & al., 2002). Obourodičovská péče se může redukovat na mateřskou i na otcovskou péči (Reynolds & al., 2002). Ptáci zdělili pravděpodobně otcovskou péči od dinosaurů. U neognathních ptáků poté vznikla obourodičovská péče (Varricchio & al., 2008). Obourodičovská péče se pak v řadě případů redukovala na mateřskou či otcovskou (Tullberg & al., 2002). U švábů se pravděpodobně vyvinula obourodičovská péče nezávisle na mateřské péči známé u jiných linií švábů (Nalepa & Bell, 1997).

3.2.3. Výskyt obourodičovské péče

Obourodičovská péče je dominantním typem péče u ptáků (Cockburn, 2006). Naopak u savců se vyskytuje relativně vzácně. Vyskytuje dále například u některých pralesniček (Brown & al., 2010), a cichlid (Goodwin & al., 1998).

U hmyzu se obourodičovská péče vyskytuje u tří řádů: švábi (Blattodea), brouci (Coleoptera) a blanokřídílí (Hymenoptera) (Suzuki, 2013). U švábů se vyskytuje u rodů *Panesthia* (O'Neill & al., 1987), *Salganea* (Maekawa & al., 2008) a rodu *Cryptocercus* (Park & al., 2002; Suzuki, 2013; Tallamy & Wood, 1986). Jako klasickou obourodičovskou péči lze označit i fázi zakládání hnízda u termitů (Isoptera), kdy o první potomky musí pečovat královna i král bez přispění reprodukčně podřízených jedinců (Wilson, 1971).

V rámci brouků se obourodičovská péče vyskytuje u hrobaříků (*Nicrophorus*)(Eggert & Muller, 1997), potemníka *Parastizopus armaticeps* (Heg & al., 2006; Rasa, 1999), vrzounovitých (Passalidae)

(Schuster & Schuster, 1997), lejnožrotů (*Ontohpagus*) (Hunt & Simmons, 2002), některých kůrovců (Scolyninae) (Kirkendall, 1983) a některých jádrohlodovitých (Platypodinae) (Kirkendall, 1983).

U blanokřídlých byla obourodičovská péče byla dosud v rámci blanokřídlých známa pouze od kutilek. Samci hlídají vchod do hnízda v nepřítomnosti samice např. u rodu *Oxybellus* (Hook & Matthews, 1980). Nejvýznamnější a nejprostudovanější skupinou je podrod *Trypargillum* v rámci rodu *Trypoxylon* (Brockmann & Grafen, 1989; Buschini & Fajardo, 2010; Coville & Griswold, 1983). Samci u tohoto podrodu sedí ve vchodu hnízda a brání ho před parazity i vnitrodruhovými agresory (Brockmann & Grafen, 1989; Buschini & Donatti, 2012; Coville & Griswold, 1983; Coville & al., 2000). Alespoň u některých druhů pomáhají i při stavbě hnízda – uhlazují bláto, které samice přinesla (Brockmann, 1992). Rovněž se mohou podílet na upravování pozice kořisti, konkrétně pavouků, přinesených samicí (Buschini & Donatti, 2012). U druhu *Trypoxylon superbum* dokonce samci hlídají potomstvo i poté, co samice po dokončení zásobování hnízdo opustí (Coville & Griswold, 1984). Samčí chování obecně pomáhá k větší efektivitě vychovávání potomstva (Brockmann, 2004).

U žahadlových blanokřídlých se vyskytuje velmi výrazný pohlavní dimorfismus v chování. Samci jsou obvykle krátkověcí a umírají brzy po páření (Michener, 2007; Paxton, 2005; Wilson, 1971). Naopak samice jsou dlouhověké a podstatně aktivnější. U hnízdících druhů samice staví hnízdo a zásobuje potomky potravou. U parazitických druhů vyhledávají hostitele a kladou vajíčka do něj či do jeho hnízda. I přes toto obvyklé schéma pohlavního dimorfismu se u řady skupin blanokřídlých samci do péče o potomstvo zapojují. Samčí péči u blanokřídlých lze rozdělit do dvou typů: 1) již zmíněná klasická obourodičovská péče a 2) péče o sourozence v rámci eusociálního společenství.

3.2.4. Co ovlivňuje vznik či výskyt obourodičovské péče

Vzhledem k tomu, že péče o potomstvo přináší nejen zisky, ale i ztráty, tak se rodičům každého pohlaví vyplatí pečovat jen za situace, kdy zisky převyšují náklady (Tallamy & Wood, 1986). Obourodičovská péče by se měla vyskytovat pouze v případech, kdy je výhodné podílet se na péči pro rodiče obou pohlaví. Vzhledem k obrovské diverzitě životních strategií a forem péče o potomstvo mohou být klíčové faktory ovlivňující vznik, udržení či zánik obourodičovské péče u různých taxonů různé. Zároveň podobné nastavení určitého faktoru může vést u různých organismů k různým důsledkům kvůli vlivu dalších faktorů.

Matka i otec činí individuální rozhodnutí, zda se jim za dané situace vyplatí pečovat. Zisky z péče o potomstvo ale nezávisí pouze na péči daného jedince, ale mohou být i výrazně ovlivněny chováním jeho partnera (Westneat & Sargent, 1996). Společný účinek obou rodičů nemusí být aditivní. Pravděpodobnost výskytu obourodičovské péče by výrazně měla zvyšovat situace, kdy dochází k synergii mezi partnery, tedy jejich společný účinek je vyšší než účinek každého z nich samostatně.

Naopak by ho měla výrazně snižovat situace, kdy je působení partnerů antagonistické (Kokko & Jennions, 2008).

Pokud se příliš neliší velikost zisků či nákladů na péči mezi samcem a samicí, zvyšuje to pravděpodobnost, že budou pečovat oba (Westneat & Sargent, 1996).

Obourodičovská péče je výrazně výhodná v situaci, kdy je péče pro jednoho rodiče kriticky náročná, aby to vždy sám zvládl. Například u pralesničky *Ramitomeia imitator* vzniká obourodičovská péče kvůli tomu, že přežití pulců v malých fytotelmách vyžaduje jak samčí přenášení tak samičí výživu pomocí trofických vajíček (Brown & al., 2010). U hrobaříků je výrazná kompetice o mršiny jako zdroj potravy, přičemž pár mršinu ubrání s větší pravděpodobností než samotný jedinec (Trumbo, 1991). U ptáků je přechod od obourodičovské k striktně mateřské péči spojen s využíváním výrazně hojných zdrojů potravy, např. plodů a nektaru a tedy se snížením náročnosti krmení potomstva (Cockburn, 2006).

I v případě, kdy je péče o potomstvo výhodná pro oba rodiče, tak je výhodnější, aby více práce udělal ten druhý (Houston & al., 2005). Jeden rodič může omezovat svou péči tak, aby přinutil druhého více pracovat (Houston & al., 2005). V extrémním případě dochází i k dezerci jednoho z partnerů (Webb & al., 1999). Ke zvýšení péče v reakci na snížení péče partnera ale nedochází vždy (Meade & al., 2011)

Vliv fylogenetických omezení (constraints)

Vznik obourodičovské péče může být omezen přítomností výrazného pohlavního dimorfismu v morfologii či chování. Pokud v určité linii vyvine znak úzce související s péčí o potomstvo pouze u jednoho pohlaví, způsobuje to fylogenetické omezení pro další evoluci rodičovské péče. Například u savců je výživa mláďat závislá na kojení matkou. Samice proto nemůže od mláďat desertovat, zatímco samec je při krmení čerstvě narozených mláďat neúčinný (Smith, 1977).

U žahadlových blanokřídých jsou samci primárně krátkověcí a bez žihadla jakožto účinného nástroje lovu i obrany (Starr, 1985). Obě vlastnosti jsou velmi pravděpodobně starší než hnízdní chování blanokřídých. Také krátká životnost samců snižuje pravděpodobnost jejich zapojení do péče a nepřítomnost žihadla snižuje jejich potenciální efektivitu.

Typ péče o potomstvo může být ovlivněn i typem určení pohlaví. Je možné, že haplodiploidie podporuje vznik mateřské péče (Linksvayer & Wade, 2005). Důvodem může být to, že u haplodiploidů alela pro samičí péči mnohem s menší pravděpodobností podlehe genetickému driftu než alela pro samčí péči (Reeve, 1993).

Vliv pářících příležitostí a strategií

Pářící strategie a typ pářícího systému mají zásadní vliv na typ péče o potomstvo (Alonzo, 2010; Székely & al., 2000; Westneat & Sargent, 1996). Důvodem je existence trade-off mezi investicí do

vyhledávání pářících příležitostí a investic do péče o potomstvo (Kokko & Jennions, 2008; Wright & Cotton, 1994). Vztah mezi pářícími strategiemi a typem péče o potomstvo není ale pouze jednosměrný. Péče o potomstvo může výrazně ovlivňovat typ pářícího systému (Székely & al., 2000). V řadě případů je dosti obtížné odlišit, jestli je kauzalita od pářícího systému k péči o potomstvo, nebo obráceně (Reynolds, 1996; Thomas & Székely, 2005).

Vzhledem k tomu, že v naprosté většině případů investují více do vyhledávání pohlavního partnera samci, tak variabilita v péči o potomstvo je více podmíněna především variabilitou v samčím sexuálním chování (Trivers, 1972). Jestliže má samec příležitost se pářit s více partnerkami, tak se mu nevyplatí investovat do péče o potomstvo, ale především do získávání těchto partnerek (Emlen & Oring, 1977; Kokko & Jennions, 2008; Reynolds, 1996). Naopak v případě monogamie je pro samce výhodné do péče o potomstvo investovat, jelikož další příležitost k páření už nezíská (Emlen & Oring, 1977).

Monogamie často vzniká za situací, kdy je pro samce výhodnější investovat do hlídání jedné samičky než vyhledávání dalších samiček (Emlen & Oring, 1977; Mathews, 2002b). Péče o potomstvo pak může vznikat jako vedlejší produkt hlídání samice (Crespi, 2007). U řady kůrovců (Scolytinae) samec blokuje vchod do galerie, čímž zabraňuje vstupu jak jiným samcům, tak predátorům a parazitům (Kirkendall, 1983).

K udržení obourodíčovské péče je důležité, aby měl samec malé množství dalších příležitostí k páření a tedy malou motivaci k tomu dezertovat od potomstva (Reynolds, 1996). Pokud dojde k umělému přidání samic do populace, tak samci reagují snížením péče (Wright & Cotton, 1994). Skrytý život ve dřevě či hlíně může být dobrou preadaptací pro vznik obourodíčovské péče u hmyzu, neboť zjednodušuje hlídání partnera a snižuje příležitost k mimopárové kopulaci (Suzuki, 2013; Tallamy & Wood, 1986). Podobně řídká populační hustota a velké vzdálenosti mezi samicemi mohou přispívat k udržení obourodíčovské péče u vačnatce *Petropseudes dahli* (Runcie, 2000).

V rámci jednoho druhu mohou mít různí jedinci různé strategie. Pro samce, kteří jsou pro samice atraktivnější, by mělo být výhodnější investovat do vyhledávání partnerek, zatímco pro méně atraktivní samce spíše do péče o potomstvo (Kokko & Morrell, 2005).

V polygynních systémech je obourodíčovská péče dosti vzácná (Emlen & Oring, 1977), přesto se v některých případech vyskytuje. Pravděpodobně se může péče udržet v těch polygynních systémech, kdy kontrola samic není pro samce příliš náročná, nebo kdy je péče vedlejším produktem kontroly samic. U hmyzu jsou příkladem švábi rodu *Panthesia*, kteří žijí ve skupinách tvořených samcem, samicemi a skupinou juvenilních jedinců. Samec se zásadně podílí na obraně společenství (O'Neill & al., 1987). Samec rovněž pomáhá s blokací vchodu i u polygynních druhů kůrovců (Kirkendall, 1983).

U některých druhů se v přírodě vyskytují vedle sebe jak monogamní tak polygynní systémy. V takové situaci by se dalo předpokládat, že by měli samci v polygamních systémech pečovat o potomstvo

podstatně méně ve srovnání s monogamními. Snížení objemu samčí péče v případě polygamie bylo zaznamenáno u vačnatce *Petropseudes dahli* (Runcie, 2000). Naopak u potemníka *Parastizopus armaticeps* nemá polygamie vliv na samčí péči (Heg & al., 2006).

3.2.5. Dělbba práce mezi rodiče u obourodičovské péče

Ve většině případů obourodičovské péče nejsou role obou rodičů identické. Často bývá jeden z rodičů výrazně aktivnější než druhý. V některých případech každý z rodičů provádí jinou činnost a obě činnosti mohou být zásadní pro přežití potomstva. U řady skupin s obourodičovskou péčí, při zahynutí jednoho z rodičů, partner zvládne péči sám a není to pro přežití potomků fatální (Maekawa & al., 2008). Pokud je dělbba práce mezi partnery výrazná a jeden z rodičů je pro přežití potomstva výrazně důležitější než druhý, může časem dojít ke změně typu péče z obourodičovské na mateřskou či otcovskou.

Rodiče se často liší v množství péče, kterou provádí. Samci se obvykle na péči podílí méně než samice (Hunt & Simmons, 2002; Smiseth & Moore, 2004). Výjimkou je např. kukačka *Centropus phasianus*, kde samci provádí asi 80% veškeré péče o potomstvo (Maurer, 2008). Jelikož samci více získají dodatečnou kopulaci, tak je u nich výraznější trade-off mezi investicemi do získávání pohlavních partnerů a péčí o potomstvo (Gross, 2005)

Samci také mohou mít nižší motivaci pečovat o potomstvo, protože mají menší jistotu, že pečují o vlastní potomky (Trivers, 1972). Jestliže jsou samice více ochotné k mimopárové kopulaci, tak může být pro samce výhodné snížit péči ze dvou důvodů: 1) klesá pravděpodobnost, že investuje skutečně do vlastních potomků 2) stoupají příležitosti pro zajištění mimopárové paternity (Werren & al., 1980). Studie testující vliv paternity na intenzitu samčí péče však dosahují rozporuplných výsledků (Alonzo, 2010; Sheldon, 2002; Westneat & Sargent, 1996). Paternita nemusí mít vliv na samčí péči, protože ji samec nemusí být schopen odhadnout (Westneat & Sargent, 1996). Vliv paternity na péči se bude pravděpodobně uplatňovat především za situací, kdy péče o potomstvo výrazně ovlivňuje příležitost k mimopárové paternitě (Werren & al., 1980). Například u pěvušky *Prunella collaris* sociálně dominantní samec upravuje svou péči podle předpokládané paternity, jelikož má vysoký potenciál využít ušetřený čas k dalšímu páření, zatímco submisivní samec pečuje bez ohledu na předpokládanou paternitu (Hartley & al., 1995).

U řady skupin se samci a samice v rámci péče specializují na jiné úkoly. U druhů s výraznější dělbou práce mezi partnery se často samice věnuje více shánění potravy, zatímco samec jiným úkolům, zejména pak obraně (Suzuki, 2013). Samice potemníka *Parastizopus armaticeps* převážně vyhledávají potravu, zatímco samci hloubí tunely (Heg & al., 2006). U lejnožrouta *Onthophagus taurus* samec

převážně transportuje trus, zatímco samice ho upravuje do tvaru vhodného pro larvy (Hunt & Simmons, 2002).

Samčí chování v rámci obourodíčovské péče může být i předmětem pohlavního výběru. Samci proto často v rámci péče o potomstvo provádí ty činnosti, kterými mohou samicím demonstrovat své schopnosti. Například u některých lovecko-sběračských kmenů lidí se muži zabývají lovem velké kořisti (Bird, 1999).

3.2.6. Péče dalších jedinců o juvenilní jedince

Péče dospělců o juvenilní jedince, kteří nejsou rodiči, se vyskytuje u některých eusociálních organismů (Sherman & al., 1995). Tedy především u mravenců, termitů, některých včel a některých vos (Wilson, 1971), ale i u řady obratlovců označovaných jako cooperative breeding (Cockburn, 2006; Sherman & al., 1995). Dále se vyskytuje i v některých společenstvích tvořených pouze juvenilními jedinci, např. u larev lumků (Cruz, 1981).

Ve většině případů jsou pečující jedinci sourozenci těch, které vychovávají (Wilson, 1971). Příbuzenská struktura je ale u řady eusociálních společenství složitější, tudíž alespoň část pečujících jedinců jsou příbuzní v jiném než sourozeneckém vztahu (Atkinson & Adams, 1997; Landi & al., 2003; Richards & al., 1995; Strassmann & al., 1992).

Ve většině eusociálních společenství přechází v průběhu cyklu péče z rodičů na sourozence (Wilson, 1971). Ve společenstvích, která dosahují velké velikosti, je rodičovská péče podstatná jen ve fázi zakládání, poté sourozenci přebírají většinu úkolů. Při zakládání společenství rojením či pučení je dokonce mimorodičovská péče dominantní po celou dobu cyklu společenství (Wilson, 1971). V malých společenstvích je často srovnatelně důležitá péče rodičů i sourozenců. Tak tomu je např. u většiny cooperative breeding obratlovců (Jennions & Macdonald, 1994). Ve společenstvích blanokřídlých, která jsou tvořena pouze dvěma jedinci, tak dokonce obvykle matka potomstva provádí větší množství péče než reprodukčně podřízená samice. Reprodukčně podřízená samice se někdy podílí jen na málo náročných a málo rizikových činnostech, např. hlídání vstupu do hnízda (Francescato & al., 2002).

Vznik a udržení péče o nevlastní potomky je dodnes velmi diskutovaným tématem (Foster & al., 2006; Fromhage & Kokko, 2011; Nowak & al., 2010; Strassmann & al., 2011; Wilson & Hölldobler, 2005). Je ale pravděpodobné, že možnost o rozšíření vlastních genů přes příbuzné jedince, tedy příbuzenský výběr, má klíčový význam (Andersson, 1984; Burda & al., 2000; Hughes & al., 2008). Zároveň ale, kromě příbuzenského výběru, přispívali ke vzniku či udržení nerodičovské péče další faktory. Jde například o odložení vlastní reprodukce, která je dosti nákladná, na pozdější dobu (Jennions & Macdonald, 1994; Queller, 1989), možnost zdědění hnízda a teritoria (Field, 2008;

Jennions & Macdonald, 1994; Komdeur & al., 1995) a vysoké riziko disperze (Kranz & al., 1999; Peer & Taborsky, 2007) a tlak parazitů (Lin & Michener, 1972). U různých taxonů se pravděpodobně liší, které z těchto tlaků byly důležitější a které méně důležité (Jennions & Macdonald, 1994).

V některých případech mohou o potomstvo pečovat i úplně nepříbuzní jedinci. Např. u vosíka *Polistes dominulus* je asi třetina skupinově zakládaných hnízd založena nepříbuznými jedinci (Queller & al., 2000). Nepříbuzní pomocníci se vyskytují také např. u střízlíka *Malurus cyaneus* (Double & al., 1997).

3.2.7. Samčí péče u eusociálních blanokřídlých

U blanokřídlých jsou klasické dělnice pouze samičího pohlaví. Přesto se však v některých případech mohou samci na péči o juvenilní jedince rovněž podílet. U čmeláků jsou samci schopni zahřívát larvy v komůrkách (Cameron, 1985). Samci *Ropalidia marginata* jsou dokonce schopní krmit larvy (Sen & Gadagkar, 2006). Samci u vosíka *Mischocyttarus mastigiphorus* se mohou podílet na údržbě hnízda, např. k termoregulaci (O'Donnell, 1999). U některých druhů včel z tribu Meliponini se samci podílí na Dehydrataci nektaru (Van Veen & al., 1997).

Asi nejkomplexnější případ samčí péče o mladší sourozence je u jihoamerické kutilky *Microstigmus nigrophtalmus*. U tohoto druhu se samci velmi efektivně a dlouhodobě podílí na obraně hnízda a tato situace nejvíce připomíná opravdové samčí dělníky (Lucas & Field, 2011).

K fungování společenství jsou schopni přispívat nejen dospělci, ale i larvy. U mravenců rodu *Oecophylla* larvy předou hedvábí, které je základním stavebním prvkem hnízda (Crozier & al., 2010). Na této činnosti se podílí larvy samčího pohlaví, byť o něco méně než larvy pohlaví samičího (Wilson & Hölldobler, 1980).

Příležitostná péče mladých samců tedy byla zjištěna u řady druhů eusociálních blanokřídlých. Vzhledem k tomu, že jde často o druhy hojně či výrazně studované, je pravděpodobné, že příležitostná samčí investice do péče může být v rámci eusociálních blanokřídlých dosti rozšířená a vyskytovat se i u řady druhů, u nichž nebyla dosud detekována. Ve všech výše popsaných případech se ale péče mladých samců o sourozence týká pouze celkově malého objemu práce. Péče mladých samců o potomstvo je tedy nepříliš podstatná pro přežití hnízda. Asi jedinou výjimkou, kde je samčí péče podstatná a dlouhodobá, je kutilka *Microstigmus nigrophtalmus* (Lucas & Field, 2011).

Podle některých teorií by měla haplodiploide blokovat vznik samčích dělníků u eusociálních blanokřídlých (Hamilton, 1972; Reeve, 1993). Reálně ale neexistuje mezi plodí a přítomností či absencí samčích dělníků korelace (Ross & al., 2013). Naopak to, zda jsou přítomni i samčí dělníci či nikoliv, je spíše ovlivněno fylgenetickými omezeními, tedy tím, že samčí dělníci spíše vzniknou, pokud eusocialita vzniká z obourodčovské péče než z mateřské péče (Ross & al., 2013).

3.3. Biologie včel rodu *Ceratina*

Včely rodu *Ceratina* patří do čeledi Apidae a v rámci ní do podčeledi Xylocopinae (Michener, 2007). Na světě je známo okolo 200 druhů (Michener, 2007). Vyskytují se na všech kontinentech kromě Antarktidy (Rehan & al., 2010a).

Do podčeledi Xylocopinae patří kromě rodu *Ceratina* další tři skupiny: drvodělky (*Xylocopa*), *Manuelia* a rody zařazené do tribu Allodapini (Cardinal & al., 2010; Michener, 2007). Všechny tyto skupiny se až na výjimky vyznačují hnízděním ve dřevě či v dřeni větviček (Michener, 2007). Je rovněž pravděpodobné, že předek dané skupiny byl eusociální (Rehan & al., 2012).

Zástupci rodu *Xylocopa* patří mezi největší včely světa. Řada druhů přesahuje svou velikostí tři centimetry. Vyskytují se kosmopolitně. Hnízdí obvykle v přirozených či vlastních dutinách ve dřevě, vzácně i v zemi (Sakagami & Laroca, 1971). Vyskytují se zde druhy samotářské i primitivně eusociální s velikostí společenství do několika málo jedinců (Hogendoorn & Velthuis, 1999). Samci jsou obvykle výrazně teritoriální (Barrows, 1983). U některých druhů mohou příležitostně zalézat na noc do hnízd (Sakagami & Laroca, 1971).

Tři druhy rodu *Manuelia* se vyskytují pouze v jižní části Jižní Ameriky (Michener, 2007). Dosahují velikosti okolo 6,5 mm (Engel, 2012). Jejich hnízdní biologie není příliš prozkoumaná, ale dosud nebyly nalezeny známky eusociálního chování (Flores-Prado & al., 2008).

Tribus Allodapini je pravděpodobně sesterským taxonem k rodu *Ceratina* (Cardinal & al., 2010; Rehan & al., 2012). Vyskytují se v Africe, Jižní části Asie a v Austrálii (Michener, 1974). Dosahují spíše menší velikosti – obvykle pod 1 cm a podobně jako zástupci rodu *Ceratina* hnízdí v tunelech ve dřeni stonků, i když v některých případech jsou schopni využít i existující tunely (Michener, 2007). Všechny dosud podrobně zkoumané druhy je možné hodnotit jako eusociální, reverze k solitérnímu chování nebyla zdokumentována (Chenoweth & al., 2007; Tierney & al., 2008), i když eusocialita je u řady z nich fakultativní (Schwarz & al., 2007). Některé druhy jsou ale sociálně parazitické (Michener, 2007; Tierney & al., 2008). Jako jediná skupina v rámci podčeledi zásobují potomky potravou nikoliv před naklazením vajíčka, ale postupně, tedy systémem progressive provisioning (Michener, 1974).

Zástupci rodu *Ceratina* dosahují obvykle malé velikosti (2-12,5 mm, (Michener, 2007). Hnízdí v chodbičkách vyhlodaných ve dřeni stonků (Michener, 2007; Sakagami & Laroca, 1971)(obr. č. 1). Téměř striktně platí, že obsazují pouze chodbičky, které si samy vydlabou a naopak se vyhýbají již existujícím chodbičkám (Maeta & al., 1997a). Spektrum rostlin, ze kterých sbírají pyl a nektar, je velmi široké (Sakagami & Laroca, 1971).

V mírném pásu je životní cyklus včel rodu *Ceratina* ovlivněn sezonalitou počasí a tedy výrazně synchronizovaný (Rehan & Richards, 2010b). Přes zimu jsou dospělci v zimních hnízdech (hibernacula). Na jaře po přezimování začíná samice vrtat tunel. Po vyvrtání tunelu létá pro pyl a

nektar a zásobuje jím komůrky (Rehan & Richards, 2010b). V jednom hnízdě samice vytvoří obvykle okolo 6 zazásobovaných komůrek (Rehan & Richards, 2010b; Rehan & al., 2010b). Mezi zazásobovanými komůrkami se mohou nacházet prázdné komůrky (Rehan & al., 2009; Shiokawa, 1966). Po dozásobování hnízda ho samice hlídá až do dospělosti potomků (Rehan & Richards, 2010b; Sakagami & Maeta, 1984). Vývoj juvenilních jedinců do dospělosti je oproti ostatním druhům včel dosti krátký, trvá asi 20-50 dní (Michener & Eickwort, 1966; Rehan & Richards, 2010a). Potomci dospívají již během léta. Mohou se z hnízda rozletět a vyvrtat si vlastní hibernacula, nebo zůstat a hibernovat v původním hnízdě (Rehan & Richards, 2010b; Sakagami & Laroca, 1971).

Společný předek včel rodu *Ceratina*, stejně jako předek celé podčeledi Xylocopinae byl pravděpodobně eusociální a striktní solitarita je odvozený stav (Rehan & al., 2012). Euocialita byla zjištěna u řady nepříbuzných druhů (Rehan & al., 2012; Rehan & al., 2010a). Byla detekována především v tropických či subtropických oblastech: v Japonsku (Sakagami & Maeta, 1984), na Borneu (Rehan & al., 2009), v Austrálii (Rehan & al., 2010b) a v Jižní Americe (Sakagami & Laroca, 1971). Temperátní druhy v severní Americe lze považovat za striktně soliterní (Rehan & Richards, 2010b). I u druhů, u kterých se eusocialita vyskytuje, je obvykle socialita rozvinutá jen u výrazné menšiny hnízd (Rehan & al., 2009, 2010b; Sakagami & Maeta, 1989, 1984).

Společenství tvoří obvykle dvě samice, z nichž jedna létá pro potravu a druhá hlídá hnízdo (Hogendoorn & Velthuis, 1999; Rehan & al., 2010b). Mezi těmito samicemi dochází ke konfliktu o reprodukci (Maeta & Sakagami, 1995). V některých případech dominuje reprodukci hlídající samice, v jiných samice, která zásobuje. (Maeta & Sakagami, 1995; Rehan & al., 2010b).

U včel rodu *Ceratina* byla zaznamenána jak přímo eusociální společenství, tedy s reprodukčně dominantní matkou a podřízenou dcerou, tak semisociální společenství, tedy s dvěma samicemi stejné generace, z nichž jedna je reprodukčně dominantní (Maeta & Sakagami, 1995). U některých druhů rodu *Ceratina* byla zjištěna i reverzní eusocialita, což je situace, kdy je reprodukčně dominantní v rámci hnízda nikoliv matka, ale její dcera (Hogendoorn & Velthuis, 1999; Maeta & Sakagami, 1995). V některých případech může být počet spolupracujících samic v hnízdě větší než dvě, maximálně však čtyři (Rehan & al., 2010b)(obr. č. 1).

Přestože byla socialita u některých druhů – zejména *Ceratina japonica* (Sakagami & Maeta, 1984, 1989), *C. flavipes* (Sakagami & Maeta, 1987) a *C. australensis* (Rehan & al., 2010b) dosti podrobně studována, tak řada aspektů jejich sociální biologie je dosud neznámých. Je možné, a dosti pravděpodobné, že výše popsané obecné schéma eusociality se u rodu *Ceratina* bude u jednotlivých druhů ve větších či menších detailech lišit. Od řady druhů, které jsou považovány za eusociální není více informace, než nález hnízda, ve kterém se zároveň nacházelo více maturních samic a pod nimi juvenilní jedinci zřetelně oddělení přepážkami. Zároveň dosud nebyly precizně studovány příbuzenské vazby mezi jedinci v hnízdě – dosud publikované studie řešící generační vztahy a

reprodukční dominanci mezi jedinci spoléhaly na určení věku dle opotřebení křídel a kusadel a určení reprodukční dominance dle velikosti vaječníků případně pozorování kladení vajíček a oofagie (Maeta & Sakagami, 1995; Rehan & al., 2010b)

I druhy, které jsou v dnešní době solitérní, mají zřejmě nějaké pozůstatky chování po eusociálních předcích. Samice hlídají hnízdo až do dospělosti svých potomků (Rehan & Richards, 2010b; Rehan & al., 2010b). Jsou schopny procházet hnízdem skrz přepážky a kontrolovat potomstvo (Rehan & Richards, 2010b; Sakagami & Maeta, 1984; Maeta & al., 1997a). V některých případech rovněž krmí i dospělé potomstvo (Maeta & al., 1997b). V některých případech může stejná samice zahnízdit podruhé v původním hnízdě (Sakagami & Maeta, 1987).



Obr. č. 1: Sociální hnízdo včely rodu *Ceratina*. V horní části hnízda se nacházejí tři samice, v dolní dvě zazásobované komůrky (San Agustín, Kolumbie).

Samčí strategie nebyly u rodu *Ceratina* dosud podrobně zkoumány. Většina prací, která samce zmiňuje, se omezuje na poměr pohlaví. Ten bývá u rodu *Ceratina* velmi často nevyrovnaný, ať již ve prospěch samců (Rehan & Richards, 2010a) nebo ve prospěch samic (Rehan & al., 2009). Zjevná je ovšem výrazná dlouhověkost samců oproti obvyklé situaci u ostatních včel (Michener, 2007; Paxton, 2005). K páření může docházet jak na podzim před hibernací, tak na jaře (Kidokoro & al., 2006).

V Evropě se vyskytuje 23 druhů (Ortiz-Sánchez & Terzo, 2004; Terzo & Rasmont, 2004; Terzo, 1998). Většina druhů patří do podrodu *Euceratina*, dále se vyskytují podrody *Ceratina*, *Dalayatina* a *NeoCeratina* (Rehan & al., 2010b; Terzo, 1998). V České republice se vyskytují čtyři druhy: *C. cucurbitina*, *C. chalybea*, *C. cyanea* a *C. nigrolabiata* (Straka & al., 2007). Z nich pouze *C. cyanea* zasahuje i do Čech, ostatní se vyskytují pouze na Moravě (Straka & al., 2007). *C. cucurbitina* patří do podrodu *Ceratina*, ostatní druhy patří do podrodů *Euceratina*.

Přestože byly včely rodu *Ceratina* podrobně zkoumány, zejména v Japonsku (Sakagami & Maeta, 1989, 1987, 1984), Severní Americe (Johnson, 1990; Rehan & Richards, 2010a, 2010b) a Austrálii (Rehan & al., 2010b), tak téměř chybí podrobnější údaje o hnízdní biologii a chování evropských druhů. Dosud byla studována pouze hnízdní architektura u druhů *Ceratina cucurbitina* (Maeta & al., 1997a) a *Ceratina parvula* (Le Goff & Terzo, 1999).

4. Metodika

Metody použité v rámci předložené práce lze rozdělit do tří okruhů: 1) terénní pozorování a experimenty 2) laboratorní experimenty a 3) analýza dat.

Naprostá většina zde předložených výsledků byla získána během sezóny 2013. Pro doplnění jsou uvedeny některé výsledky z roku 2012. V roce 2011 byly provedeny pilotní pokusy, jejichž výsledky zde nejsou zpracovány.

Všechny terénní práce byly provedeny v Národním parku Podyjí či jeho blízkém okolí. Výzkum v národním parku byl možný díky povolení (NPP 0781/2011).

Většina laboratorních experimentů byla uskutečněna v laboratořích katedry zoologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze (laboratoře oddělení entomologie a oddělení pro výzkum biodiverzity).

Pro databázování a stručnou sumarizaci získaných dat byl použit program Microsoft Office Excel. Statistické analýzy byly provedeny v programu R (R Development Core Team, 2011). Analýzy paternity a počtu páření samice byly provedeny v programu Colony (Jones & Wang, 2010).

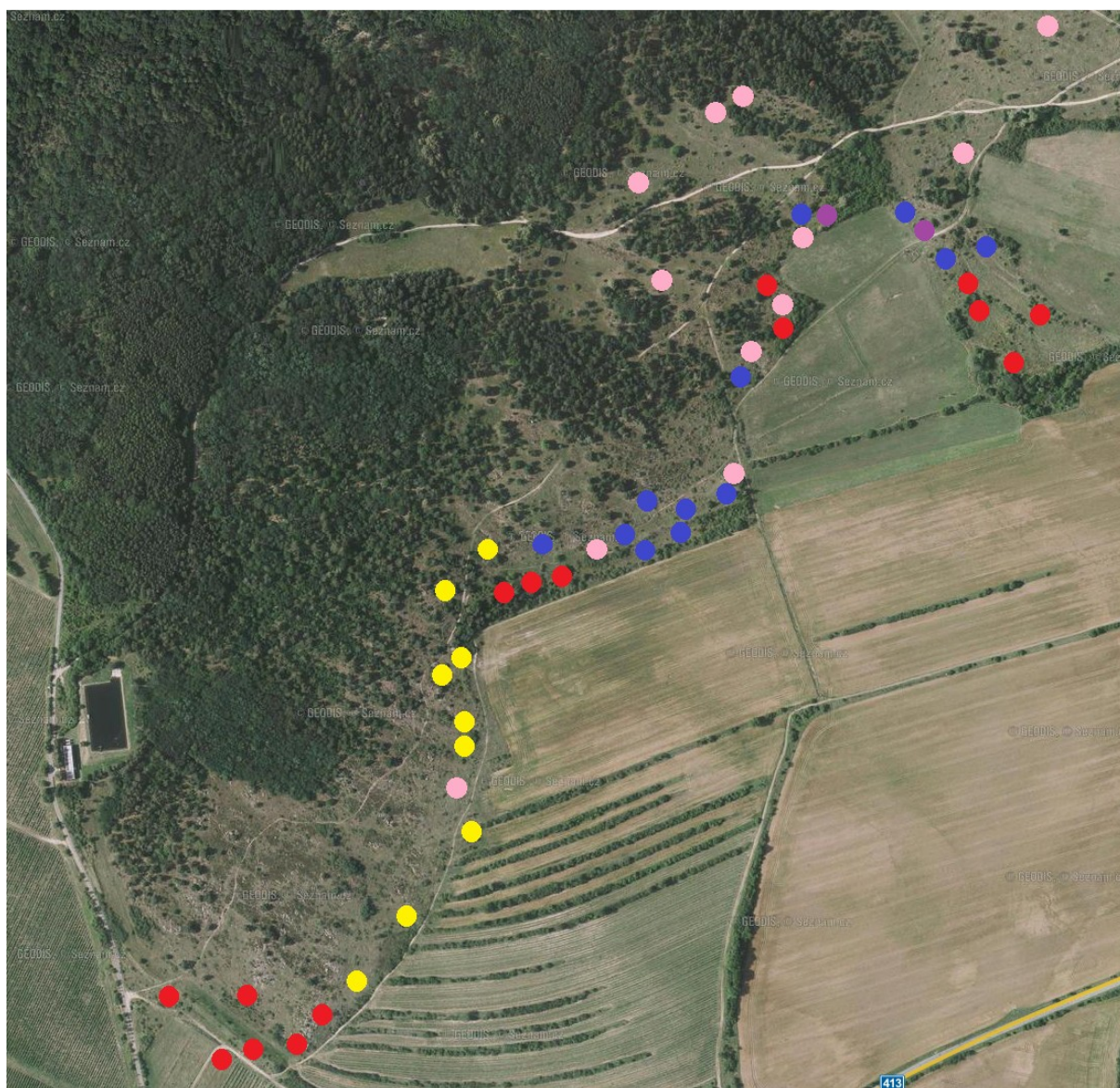
4.1. Charakteristika studovaných lokalit

Studované lokality se nachází v Národním Parku Podyjí, na jih od města Znojmo. Byly vybrány bezlesé plochy s roztroušenými keři a stromy. Výška bylinné vegetace se pohybovala od 10 do 120 cm. Na studovaných lokalitách se nachází vhodné substráty pro hnízdění včel rodu *Ceratina*. Rovněž množství rostlin, v nichž mohou včely rodu *Ceratina* sbírat pyl a nektar, je dostatečné. Hlavními studovanými lokalitami byly Havranické vřesoviště (obr. č. 2) a Šobes.

Lokalita Havranické vřesoviště se nachází poblíž obcí Hnanice, Havraníky a Znojmo-Popice. Jde o pás bezlesého území stepního charakteru, který je situován mezi lesy nad svahy Dyje a zemědělskou krajinou. Pro přirozená hnízda včely rodu *Ceratina* využívají především zlomené větve růže šípkové (*Rosa canina*). Dále jde pak o zlomené stonky divizny (*Verbascum* spp.), Inice kručinkolité (*Linaria genistifolia*) a chrpy porýnské (*Centaurea stoebe*).

Lokalita Šobes se nachází v meandru Dyje. Pro studium hnízdění včel rodu *Ceratina* byla vybrána vrchní část bezlesého svahu s jižní expozicí. Studovaná plocha je v současnosti využívána z části jako extenzivní sad a z části jako vinice. Sekání rostlin v okolí vinic i v sadu přispívá ke vzniku vhodných hnízdních příležitostí pro včely rodu *Ceratina*. Ty zde využívají především bělotrn kulatohlavý (*Echinops sphaerocephalus*), žebřici pyrenejskou (*Libanotis pyrenaica*), ostružiník (*Rubus* spp.) a pelyněk pravý (*Artemisia absinthium*).

V roce 2012 byla část hnízd sebrána i na dalších lokalitách v okolí obcí Havraníky, Hnanice, Šatov a Znojmo.



Obr. č. 2: Mapa Havranického vřesoviště s rozmístěním skupin snopků. V roce 2012 byly rozmístěny skupiny snopků v mapě značené růžově a fialově. V roce 2013 byly rozmístěny skupiny snopků v mapě značené žlutě, modře a červeně. V 2013 byly skupiny využity k těmto experimentům: modrá a fialová: zjištění hnízdní struktury a fenologie, žlutá: sledování střídání samic *C. nigrolabiata* a odstraňování samic *C. cucurbitina* a *C. chalybea*. Červená a růžová: odstraňování samic *C. chalybea* a *C. cucurbitina* a doplňující data k hnízdní struktuře.

4.2. Rozmístění hnízdních příležitostí

Naprostá většina zkoumaných hnízd byla sebrána z uměle rozmístěných hnízdních příležitostí. Rozmístění nových hnízdních příležitostí umožnilo získat dostatečný počet hnízd a zlepšilo možnosti pro pozorování hnízd. Hnízdní příležitosti byly vytvořeny ze suchých stonků rostlin obsahujících měkkou dřevninou duši (obr. č. 3B). Snopky byly nastříhány na délku přibližně 35 cm. Dále byly svázané do snopků. Každý snopek obsahoval dvacet stonků. Při tvorbě snopků bylo kontrolováno, aby horní konce stonků měly neporušenou a dostatečně širokou duši (nad 3 mm v průměru).

K snopku byla připevněna dřevěná či bambusová tyčka, pomocí níž byl snopek zafixován do země. Snopky byly umístěny na mikrohabitaty vhodné pro hnízdění včel rodu *Ceratina* (obr. č. 3A) – tedy na osluněná místa na rozhraní mezi nízkou až středně vysokou bylinnou vegetací a keři vysokými 0,5 až 2 m. K rozmístění hnízdních příležitostí došlo koncem vždy dubna, tedy před začátkem hnízdění sezony. Pokud došlo v průběhu sezóny k přílišnému nárůstu bylinné vegetace v okolí snopků, tak byla výška těchto bylin částečně zredukována. Z instalovaných umělých hnízdních příležitostí byla část (cca 40%) ponechána nedotčená, aby nedošlo v důsledku prováděných experimentů k ohrožení populací studovaných druhů ve studovaném území.

V roce 2012 bylo instalováno 570 snopků, tedy 12 000 hnízdních příležitostí. Z toho 320 snopků na lokalitě Havranické vřesoviště a 250 snopků na lokalitě Šobes. Byly použity pouze stonky Celíku (*Solidago* spp.).

V roce 2013 bylo instalováno 1015 snopků, tedy 20 300 hnízdních příležitostí. Z toho 715 snopků na lokalitě Havranické vřesoviště a 300 snopků na lokalitě Šobes. Bylo použito 351 snopků tvořených stonky celíku (*Solidago* spp.), 365 slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus*), 67 bělotrnu kulatohlavého (*Echinops sphaerocephalus*), z 25 štětky lesní (*Dipsacus sylvestris*) a 37 z pelyňku pravého (*Artemisia absinthum*). Dále bylo instalováno 170 snopků, ve kterých bylo po pěti stoncích od celíku (*Solidago* spp.), slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus*), bělotrnu kulatohlavého (*Echinops sphaerocephalus*) a divizen (*Verbascum* spp.).



Obr. č. 3: Rozmísťovanie hnízdnych príležitostí na Havranickém vřesovišti (A), Snopek se čtyřmi hnízdy, pravděpodobně od včel rodu *Ceratina* (B)

4.3. Rozbory hnízd

Hnízda byla sbírána večer (po 19:00), kdy byla jistota, že jsou všichni dospělci patřící k hnízdu uvnitř. Vchod hnízda byl při odebírání uzavřen zátkou, aby bylo zamezeno úniku jedinců z hnízda. Mezi sebráním a pitvou byla hnízda skladována v ledničce při cca 8°C.

Při rozboru byla hnízda nejdříve otevřena za pomoci nože. Poté byl zaznamenán počet dospělců starší generace a počet a pozice juvenilních jedinců. Rovněž byl zaznamenán počet a pozice prázdných komůrek a výrazné akumulace trusu. Dále byly změřeny tyto rozměry: délka hnízda, délka vstupní chodby (od vchodu k první přepážce), šířka chodby, šířka stonku a šířka duše.

Tento postup byl při pitvě hnízda proveden pro všechny níže uvedené experimenty, tedy zjišťování hnízdní struktury a fenologie, testování vlivu odstranění hlídající samice a testování vlivu střídání samců *C. nigrolabiata* na velikost hnízda a otcovství.

Dospělci a většina juvenilních jedinců z hnízd *C. nigrolabiata* byli usmrceni a zakonzervováni v 96% ethanolu pro následné genetické analýzy. Část starších juvenilních jedinců (larvy čtvrtého instaru, prepupy a pupy) byla dochována do dospělosti, byl jim ustřížen tarsus pro genetické analýzy a poté byli dospělci vypuštěni. Dospělci z hnízd ostatních druhů rodu *Ceratina* byli obvykle vypuštěni. Juvenilní jedinci byli dochováni do dospělosti, a poté rovněž vypuštěni. Jedinci z malé části hnízd byli zakonzervováni pro budoucí genetické analýzy (které ale nejsou součástí této práce).

4.4. Klasifikace typu hnízda

Hnízdní struktura je zásadně ovlivněna fází zásobování, ve které se hnízdo nachází. Pro většinu analýz je možné použít relevantní výsledky pouze z části hnízd. Zde použitá klasifikace hnízd je inspirována klasifikací dle (Rehan & al., 2009; Rehan & Richards, 2010b), ale částečně modifikována pro potřeby evropských druhů rodu *Ceratina*.

Jako **tunel** jsou klasifikována hnízda, ve kterých se nachází dospělec či více dospělců, a zároveň zde nejsou přítomné zazásobované komůrky ani patrné známky zazásobovaných komůrek v minulosti. Do této kategorie spadají hibernakula – hnízdní struktury sloužící k přezimování, nově založená hnízda chodby sloužící jako dočasné úkryty dospělců v hnízdní sezoně. Jako **aktivní hnízda** jsou označována hnízda s neporušenou hnízdní strukturou, ve kterých je přítomna alespoň jedna aktuálně zásobovaná či plně zazásobovaná komůrka a zároveň nejvyšší komůrka neobsahuje larvu nebo kuklu (obr. č. 4A). Jako **plná hnízda** jsou označována hnízda, ve kterých vnější komůrka obsahuje larvu nebo kuklu (obr. č. 4B). Hnízda byla do této kategorie zařazena i v případě, kdy potomek ve vnější komůrce pravděpodobně zahynul (komůrka obsahuje suchý pyl nebo mrtvé vajíčko) a v komůrce pod ní se nachází starší larva nebo kukla. Rovněž jsou zařazována i hnízda, ve kterých se ve spodních komůrkách nachází již juvenilní dospělci (mature brood nest- maturní hnízda dle (Rehan & Richards, 2010b)). Pro některé analýzy příbuzenské struktury hnízda byla použita plná a téměř plná hnízda, tedy kromě plných hnízd aktivní hnízda s délkou vstupní chodby menší než 5 cm. Jako **vylétávající hnízda** jsou označována hnízda, kde došlo v důsledku probourávání čerstvě vylíhlých dospělců k narušení hnízdní struktury (obr. č. 4C) Jako **opuštěná hnízda** jsou klasifikována hnízda, kde není přítomen žádný živý jedinec, ale jsou přítomni mrtví jedinci nebo zbytky zazásobovaných komůrek. Množství těchto hnízd je částečně podhodnoceno, jelikož byla analyzována jen hnízda, u kterých se podařilo určit druh.



Obr. č. 4: Různé fáze vývoje hnízda u *C. nigrolabiata*. Aktivní hnízdo (A), plné hnízdo (B), vylétávající hnízdo (C).

4.5. Fenologie a struktura hnízda

Pro zjišťování hnízdní struktury v roce 2012 byla hnízda rozebírána v období mezi 8.7. a 29.8. 2012. Byla použita jak hnízda z uměle umístěných hnízdních příležitostí, tak nalezená přirozená hnízda. Pro zjišťování hnízdní struktury a fenologie hnízd byla v hnízdní sezoně 2013 hnízda rozebrána v pravidelných intervalech 8-9 dní. Při každém z termínů bylo rozebráno přibližně 40 předem vybraných snopků na části Havranického vřesoviště. Termíny těchto rozebírání hnízd byly: 20.6., 29.6., 8.7., 17.7., 25.7., 2.8. a 11.8. Před začátkem hnízdní sezony byla rozebrána zejména přirozená hnízda a hnízda ze snopků z roku 2012. V době vrcholu výskytu plných hnízd (konec července) byla pro doplnění rozebrána hnízda ze snopků umístěných na dalších částech Havranického vřesoviště a na Šobesu. Na úplném konci hnízdní sezony (25.-26.8) byla sebrána hnízda ze snopků z Šobesu.

U druhu *C. nigrolabiata* byla do analýz hnízdní struktury a fenologie zahrnuta i hnízda primárně sebraná za účelem zjišťování frekvence střídání samců a paternity (viz oddíl Střídání samců *C. nigrolabiata* a jeho vliv na úspěšnost hnízda).

Při analýze fenologie druhu byly sledovány poměry různých fází zásobování hnízda. Pro analýzu hnízdní struktury byla použita pouze plná hnízda.

4.6. Odstraňovací experiment

Tento experiment byl proveden za účelem otestování vlivu hlídající samice na úspěšnost hnízdění. Byl proveden pro druhy *C. cucurbitina* a *C. chalybea*. Byla pro něj použita část snopků instalovaných v letech 2012 a 2013. Šlo vždy o jiné snopky, než které byly použity pro sledování hnízdní struktury a fenologie daných druhů. Nejdříve byla vytipována hnízda, kde samice již ukončila zásobování. V těchto hnízdech byla samice drážděna pomocí stébla, dokud nevylezla ven. Poté byla odchycena. Následně bylo kontrolováno, zda jde o plně zásobované hnízdo. Jako plně zásobovaná byla ohodnocena hnízda, u nichž za pomoci prosvícení baterkou (tedy do vzdálenosti cca 2-3 cm od vstupu) byla pozorována přepážka, pyl nebo potomek. Následně byla ve dvou třetinách hnízd samice odstraněna a třetina hnízd byla ponechána jako kontroly, u kterých byla samice do hnízda navracena. Po určité době byla hnízda rozebrána a zdokumentován jejich obsah. Třetina hnízd byla sebrána po třech dnech, třetina po osmi dnech a třetina po dvaceti dnech. Experiment byl proveden v roce 2013. Pro druh *C. chalybea* bylo odstraňování provedeno 1.7. až 11.7. u druhu *C. chalybea* a mezi 10.7. až 24.7. u druhu *C. cucurbitina*. Pro druh *C. chalybea* bylo provedeno odstranění v 72 hnízdech a 35 hnízd bylo stanoveno jako kontroly. Pro druh *C. cucurbitina* bylo odstranění provedeno ve 123

hnízdech a 62 hnízd bylo stanoveno jako kontroly. Jak hnízda s odstraněnou samicí tak hnízda kontrolní byla později sebrána.

4.7. Střídání samců *C. nigrolabiata* a jeho vliv na úspěšnost hnízda

Cílem experimentu bylo zjistit frekvenci střídání samců *C. nigrolabiata* a jeho vztah k úspěšnosti hnízdění. Hnízda sledovaná v tomto experimentu byla rovněž zásadní pro použití v následných laboratorních experimentech. Pro tento experiment bylo vybráno 180 snopků ve střední části Havranického vřesoviště. Experiment byl proveden v období od 19. 6. 2013 do 30. 7. 2013. Ve vymezené oblasti byly snopky pravidelně obcházeny a vytipována hnízda *C. nigrolabiata*. V tomto období byla oblast obcházena v intervalu 1-3 dny, nejčastěji však jednou denně. Výjimkou bylo pouze období od 24. 6. do 27. 6., které bylo pro aktivitu *C. nigrolabiata* nevyhovující z důvodu dlouhotrvajících srážek.

Hnízda *C. nigrolabiata* byla pravidelně kontrolována. Do každého vytipovaného hnízda bylo svíceno pomocí baterky, což umožňuje pozorování dospělců, kteří nejsou hlouběji než 2-3 cm od vchodu. Pokud byl zaznamenán neznačený jedinec, byl označen na viditelné tergity zadečku. Značení bylo provedeno pomocí olejových fixů značky UniPaint. Z fixu bylo vždy vytlačeno malé množství barvy, do ní bylo namočeno stéblo trávy a pomocí stébla byla barva nanesena na zadeček. Byly použity fixy pěti barev: bílá, žlutá, červená, zelená a zlatá. Značení neumožňovalo označit každého jedince individuálním kódem, ale umožňovalo označit odlišně jedince střídající se ve hnízdě a jedince v nejbližším okolí hnízda. Samci v hnízdech ze stejného snopku či v blízkých snopcích byli přednostně značeni jinou barvou, aby se snížila pravděpodobnost přestěhování jiného samce se stejnou barvou do daného hnízda. Podle zadečku umístěného hluboko v hnízdě není možné odlišit, zda je daný jedinec samec či samice, z předchozích výsledků ale vyplývá, že poblíž vchodu hlídá v naprosté většině případů samec. Navíc pokud byla označena pomocí barvy samice, bylo toto po určité době pozorováním zjištěno, jelikož samice za vhodného počasí často opouští hnízdo.

V přibližně dvou třetinách hnízd byli samci z hnízda vyrušeni pomocí stébla v intervalu cca pět dní, dále pak vytaženi z hnízda a byla jim ustřižena část tarsu střední nohy pro následné genetické analýzy. Posléze byli jedinci zastrčeni zpátky do hnízda. Tato činnost byla prováděna pouze v případě, že v hnízdě hlídal samec, jehož nožička dosud nebyla ustřižena (kontrolováno dle barvy).

Hnízda sledovaná v rámci tohoto experimentu byla rozebrána v termínech 27.6., 16.7. a 30.7.

4.8. Příprava a testování mikrosatelitových lokusů

Z osmi jedinců *C. nigrolabiata* byla izolována DNA pomocí DNeasy Tissue Kit (Qiagen) a zakonzervována. Tato DNA byla zaslána firmě Genoscreen (Lile, Francie). Firma Genoscreen provedla hybridizaci dané DNA se sondami na mikrosatelitové lokusy, sekvenaci a navržení primerů.

Z obdržených sekvencí bylo vybráno 71 potenciálních mikrosatelitových lokusů s největším počtem opakování a k nim byly objednány neznačené primery. U těchto 71 primerů byla testována přítomnost produktu po PCR.

Pro testování potenciálních lokusů byla používána tato směs pro PCR: Type-it Multiplex PCR Master Mix (roztok obsahující nukleotidy, polymerázu a Mg²⁺ ionty) 5 µl, roztok forward primeru 0,4 µl, roztok reverse primeru 0,4 µl, deionizovaná voda 4,2 µl a roztok DNA 0,3 µl. DNA pro testování mikrosatelitů byla izolována pomocí protokolu Qiagen Blood & Tissue Kit (250).

S touto směsí byla provedena PCR v Eppendorf cycleru. Nejdříve byla směs zahřáta na 95°C po 15 minut. Poté byl třicetkrát zopakován cyklus, při kterém byla teplota denaturace 94°C po 30 sekund, teplota nasedání primerů 60°C po 1,5 minuty a teplota prodlužování 72°C po 1 minutu. Na konci byla směs držena 30 minut při teplotě 60°C.

Po PCR bylo 5µl produktu smícháno s 1µl loading dye barvičky a nanášeno na 3% agarozový gel. Gel byl poté vložen do elektroforézy. Po cca dvou hodinách byla kontroována přítomnost syntetizovaného produktu.

32 potenciálních mikrosatelitových lokusů, u kterých byl zaznamenán jeden výrazný PCR produkt, bylo vybráno k podrobnějšímu testování. Postup laboratorních prací byl stejný jako v předchozím případě. Byla ověřována přítomnost PCR produktu u vzorků DNA ze čtyř jedinců *C. nigrolabiata*. Bylo rovněž subjektivně ohodnoceno, zda se délka PCR produktů mezi jedinci liší. Dále byla přítomnost PCR produktu testována po přidání DNA tří dalších druhů rodu *Ceratina*: *C. cucurbitina*, *C. chalybea* a *C. cyanea*.

Pro další použití bylo vybráno 14 primerů, které vykazovali největší známky polymorfismu a největší univerzálnost napříč testovanými druhy. Od těchto lokusů byly objednány značené primery u firmy Applied Biosystems. Primery byly značené pomocí různých fluorescenčních barviček (6FAM™, VIC®, NED™ or PET®). Seznam a charakteristiky těchto lokusů je v tabulce č. 1.

Z lokusů se značenými primery byl poté sestavován multiplex. Kvůli nekompatibilitě zapříčiněné nejspíše interakcí s primery jiných lokusů (vedoucí k vzniku více než dvou produktů) byly z výsledného multiplexu vyřazeny lokusy 7,8 a 17. Byl vyřazen lokus 36 kvůli překryvu s lokusem 30.

Výsledný multiplex má 10 lokusů. Lokus 30 je značený modře (6FAM), Lokusy 9,12 a 23 jsou značené zeleně (VIC), 28,43 a 46 jsou značené žlutě (NED), Lokusy 27,51 a 67 jsou značené červeně (PET).

Rozsahy délek mikrosatelitů, které jsou značené stejnou barvou, se nepřekrývají. Tento multiplex byl používán pro další analýzy.

U zbylých čtyř lokusů byla úspěšně otestována možnost jejich použití v druhém multiplexu. Jde o lokusy 17 a 36 značené modře a 8 značený zeleně a 7 značený červeně.

Tabulka č. 1: Charakteristiky použitých polymorfních mikrosatelitových lokusů.

Číslo lokusu	Obvyklá velikost	Forward primer	Reverse primer	Motiv repetice	Přibližný počet repetice
17	100	6FAM-CGATTGCCTAGTCTCCTCCA	GTTTGGTGGTACGCGGAATCTAAT	tc	11
67	102	PET-CGTGACGCGACTTTCATTC	GTTTCCTCTCACCCACTCTTACTGTCA	ag	10+5
23	103	VIC-GCACTCGTTCCTCCCTTTC	GTTTGAACACTGGTGCACCTCAGA	tc	10
28	110	NED-CTCGAACTAATTACCCGACGA	GTTTCTACATCCCTGTGACG	ag	10
30	190	6FAM-TAGAATCCTTGGAAGATTAGTGGT	GTTTACCCGGGTCCTAATTC	ag	10
27	202	PET-TTCCCTGAAGCAAATGCAG	GTTTAACTCCGTACGGCCTTCAG	tc	10
9	206	VIC-TATGCGATTAGTAGCGCGG	GTTTCCCTGGCCGTACTCTTATGC	ag	17
12	212	VIC-AGGATGGACCGGACGGAATA	GTTTGATGTTCCCTGGGTCAGGTG	ct	13
43	215	NED-AACCGGATTCCTACTACGGG	GTTTCTTCGTGATGAAATCGTGA	gac	9
36	226	6FAM-CCTTCTGCCCTACCTTGAAA	GTTTCAGAACCAGAGGGAGACGAA	ag	10
7	244	PET-TTGCGGAGATTATGGAAACG	GTTTCAGTTTTATATCTCGTTGCCTTTT	aatg	11
8	253	VIC-ACGTGTACACCGACTACGTG	GTTTAACTTGCCAGGTTGGAG	tc	11
46	264	NED-GCGAACGTATCGTTCTCAC	GTTTAACTGTAACACACCTTAAACG	agcg/ag	17
51	261	PET-CACGCTGCCCTACGAGTTT	GTTTCCCGTGAACGTCCAAAA	tc	13

4.9. Příprava vzorků pro fragmentační analýzu

Pro analýzu pářícího systému *C. nigrolabiata* byly vybrány tyto skupiny jedinců: 1) z hnízd, v nichž byly jedinci značeni, ta hnízda, ve kterých byla přítomna hlídající samice, nebo byla dříve od hlídající samice střižena nožička, 2) z hnízd sebraných v rámci pravidelného loupání hnízd ta hnízda, kde byl zároveň přítomen samec a samice a pořadí mezi potomky nebylo porušeno (tedy aktivní a plná hnízda). 3) nožičky střižené v průběhu tečkových experimentů.

DNA byla izolována pomocí tohoto postupu: 1) odstřížení kusu nožičky ze zvířete či vyjmutí nožičky ze zkumavky a následné vysušení vzorku, 2) přidání 8 µl proteinázy a 50 µl 10% suspenze chelexu, 3) promíchání směsi, 4) zahřátí na 55°C po dobu 45 minut, 5) zahřátí na 97°C po dobu osmi minut, 6) zchlazení 4°C, 7) promíchání směsi, 8) centrifugace, která vede k usazení chelexu a nožičky zvířete na

dně 8) odpipetování vrchní frakce ze zkumavky. Oproti standardnímu postupu nebyly vzorky v rámci inkubace při vysokých teplotách uloženy ve vialkách v termobloku, ale v stripech mikrozkuvek v cycleru. Najednou tudíž bylo možné izolovat až 96 vzorků. Tento postup umožnil rychlou, levnou a efektivní izolaci DNA.

Pro analýzu DNA vzorků byla použita tato směs: Type-it Multiplex PCR Master Mix 5,5 μ l, roztok izolované DNA 2 μ l, multiplex mikrosatelitů 0,5 μ l a deionizovaná voda 2 μ l. V multiplexu byly primery od 10 mikrosatelitů v koncentraci 1 μ mol/l.

S touto směsí byla provedena PCR v cycleru značky Eppendorf, nebo BioRad. Nejdříve byla směs zahřátá na 95°C po 15 minut. Poté byl třicetkrát zopakován cyklus, při kterém byla teplota denaturace 94°C po 30 sekund, teplota nasedání primerů 60°C po 1,5 minuty a teplota prodlužování 72°C po 1 minutu. Na konci byla směs držena 30 minut při teplotě 60°C.

Dále byla připravena směs pro fragmentační analýzu v sekvenátoru: 8,8 μ l formamidu, 0,8 μ l produktu PCR a 0,4 μ l markeru LIZ 500 (Applied Biosystems). Směs byla vložena do cycleru, kde byla provedena denaturace zahřátím na 95°C po dobu pěti minut a zchlazením. Poté byl vzorek přinesen do laboratoře sekvenace DNA (servisní laboratoř ve sklepě PŘF UK). V laboratoři byly změřeny délky jednotlivých fragmentů DNA.

U přibližně 15% vzorků se nepodařilo získat kvalitní chromatogram mikrosatelitů na první pokus. V tom případě byl celý proces opakován, přičemž byla použita vyšší koncentrace DNA do PCR reakce (3 μ l roztoku vyizolované DNA na 10 μ l směsi). Pokud se nepovedlo získat ani napodruhé kvalitní chromatogram, tak byla u vzorků, kde to bylo možné znovu izolována DNA a zopakován stejný postup přípravy PCR. Pokud nebylo možné znovu izolovat DNA celý vzorek byl použit v izolaci už při prvním pokusu), tak byl zopakován stejný postup jako při druhém pokusu. Pokud se ani napotřetí nepodařilo získat kvalitní data, další pokusy již nebyly prováděny.

4.10. Genetická struktura hnízda *C. nigrolabiata*

Identifikace alel

Data získaná pomocí fragmentační analýzy byly otevřeny v programu GeneMarker 1.85 (SoftGenetics). Po otevření se objevil graf ukazující závislost intenzity fluorescence na počtu bází. Lokální maxima intenzity fluorescence by měly znamenat detekci mikrosatelitu. Většinu lokálních maxim program automaticky detekoval jako mikrosatelitové alely. Byla ale provedena kontrola této detekce, a jako alely byly označeny další lokální maxima, která vypadala jako mikrosatelitové alely (symetrický tvar, pozvolný vzestup a sestup intenzity fluorescence, šířka odpovídající jedné bázi). Naopak byla smazána automaticky označená lokální maxima, která tyto podmínky nesplňovala.

V některých případech program provedl chybně automatickou kalibraci délky alely. V tom případě byla provedena manuální kalibrace, přičemž jako kalibrační body byla použita ta maxima, fluorescence markeru LIZ 500, která byla podobného tvaru a výšky jako ostatní maxima.

Výsledné délky mikrosatelitových alel z tabulky v programu GeneMarker byly zkopírovány do tabulky v programu Microsoft Excel.

Určení pohlaví potomstva

Vzhledem k tomu, že mají včely rodu *Ceratina* stejně jako naprostá většina ostatních blanokřídlých haplodiploidní určení pohlaví (Cook, 1993; Michener, 2007), tak za samice byli považováni ti jedinci, kteří byli heterozygoti v alespoň dvou lokusech. Jedinci, kteří byli homozygoti ve všech lokusech, byli považováni za samce. Nevyskytl se žádný jedinec, který by byl heterozygotní pouze v jednom lokusu. Vzhledem k relativně velké míře heterozygotnosti (tabulka č. 4), je záměna pohlaví nepříliš pravděpodobná.

Odhad frekvencí alel

Frekvence alel byla odhadnuta z genotypů všech úspěšně osekvenovaných jedinců. Stejný postup byl použit u všech deseti mikrosatelitových lokusů. Celkem tedy ze 135 samic starší generace, 548 samic mladší generace, 217 samců starší generace a 199 samců mladší generace. Vzhledem k tomu, že samci jsou haploidní a samice diploidní, tak byla frekvence alel stanovena z celkového počtu 1782 potenciálních alel.

Odhad genotypizačních chyb

Frekvence genotypizačních chyb byla provedena podle srovnání chromatogramů jedinců, u nichž byla provedena sekvenace dvakrát. Byly použity pouze ti jedinci, u nichž oba chromatogramy byly dostatečně kvalitní (tedy byly zřetelné alely na všech lokusech). Celkem šlo o 48 jedinců. Jako pravděpodobnost chyby byl považován podíl neshodných alel u stejného jedince u daného lokusu dělený dvěma. Pokud nebyla detekována žádná chyba, byla pravděpodobnost chyby aproximována jako poloviční pravděpodobnost situace, při které by byla detekována jedna chyba, tedy $1/(48 \times 2 \times 2)$, což je 0,0052.

Analýza rodičovství hlídajících rodičů

Maternita byla testována porovnáním délek mikrosatelitových lokusů hlídající matky v hnízdě a potomků z daného hnízda na základě pravidel klasické genetiky. Pokud potomek nesl v každém lokusu alelu, kterou mohl zdědit od matky, tak byl považován za potomka dané matky. Za potomka dané matky byl považován i v případě, že nesl v jednom lokusu alelu, kterou od matky zdědit nemohl.

Pokud nesl alespoň ve dvou lokusech dvě alely, které nemohl od matky zdědit, tak byl vyloučen jako potomek dané matky. V naprosté většině případů byly genotypy matky a potomků buď plně kompatibilní, nebo se neshodovali v alespoň třech alelách.

Paternita hlídajícího samce byla rovněž testována pomocí pravidel klasické genetiky. Paternita byla testována po testování maternity a pouze u potomků, u nichž byla matka úspěšně ověřena. Daný jedinec byl považován za potomka daného otce v případě, že zároveň nesl alelu, kterou mohl zdědit od otce a zároveň nenesl alelu, kterou nemohl zdědit od matky ani od otce. Pokud se neshodoval v jedné z alel na lokusech 46 a 67, u kterých byla největší pravděpodobnost genotypizačních chyb, tak byl rovněž považován za potomka daného otce.

Analýzy v programu Colony

Počet otců potomků v hnízdě byl testován v programu Colony. Při stejných analýzách v programu Colony byla testována i paternita jiných než hlídajících samců (tedy všech samců, od nichž byla získána DNA).

Pro analýzy bylo použito toto nastavení programu: **Mating system:** Female polygamy, Male polygamy, without inbreeding, **Species:** Diecious, Haplodiploid, **Length of run:** Long, **Analysis method:** FL, **Likelihood precision:** High. U ostatních voleb bylo použito defaultní nastavení.

Vlastnosti lokusů byly zadány takto: Všechny lokusy označeny jako kodominantní. Pravděpodobnost chyby genotypizace (alelic dropout) byla u každého lokusu určena metodou popsanou v oddíle odhad genotypizačních chyb. Pravděpodobnost ostatních chyb (např. mutací) nebyla testována a byla arbitrárně zadána u všech lokusů na 0,05.

Do programu byla zadána frekvence alel, genotypy potomků, genotypy potenciálních otců a genotypy matek. Před analýzou byly zadány hlídající samice s kompatibilním genotypem s potomky jako známé matky. Pokud se dané nastavení se stejnými daty pustilo dvakrát po sobě, dalo shodné, nebo téměř shodné výsledky (lišící se pouze v pravděpodobnostech na třetím desetinném místě a dalších).

Vzhledem k tomu, že doba analýzy exponenciálně roste s počtem analyzovaných potomků, tak byl dataset rozdělen na deset částí po přibližně 40-70 potomcích a tyto části byly analyzovány nezávisle. Dataset byl rozdělen 2x podle různých klíčů: 1) podle kódu hnízda kdy ve stejné skupině byla hnízda s podobným kódem 2) podle kódu hnízda tak, aby byly podobné kódy vždy v jiných skupinách. To zajistilo, že každé hnízdo bylo v těchto dvou analýzách analyzováno vždy společně s jinými hnízdy.

Počet otců v rámci hnízda byl získán z výsledků analýzy pomocí karty sub structure probability. Za relevantní byly považovány takové výsledky příbuzenské struktury, které se shodovaly mezi dvěma výše zmíněnými běhy a zároveň průměr pravděpodobností dané příbuzenské struktury byl vyšší než 0,75. Pokud jedno z těchto kritérií nebylo splněno, bylo dané hnízdo ještě znovu analyzováno v samostatné analýze bez přítomnosti jiných hnízd. Jako výsledek byla poté vybrána

nejpravděpodobnější příbuzenská struktura hnízda. Ta se vždy shodovala s nejpravděpodobnější příbuzenskou strukturou z jednoho ze dvou běhů.

Přiřazení jiných než hlídajících otců bylo rovněž získáno z výsledků programu Colony, na kartě paternity. Jako relevantní bylo považováno otcovství v situaci, kdy průměr pravděpodobností otcovství z výsledků dvou různě rozdělených datasetů (viz výše) byl vyšší než 0,5. Výsledky přiřazení otců byly mnohem méně věrohodné než určení, od kolika otců jsou dcery v daném hnízdě, mnohem častěji program vyhodnotil více možných variant.

Vyhodnocení výsledků příbuzenské struktury hnízda

Z výsledků programu Colony (karta sub structure probability), bylo možné vyčíst, kolik otců zanechalo potomky v daném hnízdě (viz výše). Tato proměnná je ale logicky korelovaná s počtem potomků samičího pohlaví v hnízdě. Proto jako míra heterogenity potomstva v hnízdě byl zvolen **počet otců připadajících na jednoho potomka samičího pohlaví v hnízdě**, tedy počet otců na hnízdo dělený počtem analyzovaných samičích potomků. Tato veličina je převrácenou hodnotou průměrného počtu dcer na jednoho otce v hnízdě.

Pro některé analýzy paternity u druhu *C. nigrolabiata* je důležitá vysvětlující proměnná pozice komůrky v rámci hnízda. Pozice znamená pořadí, v jakém byla daná komůrka zazásobována. Tedy nejspodnější spodní komůrka má pozici 1, komůrka nad ní pozici 2, atd. V rámci určování pozice komůrky se nepočítají prázdné komůrky, ale počítají komůrky, ve kterých potomek zemřel.

Pro určité analýzy byly brány tři nejspodnější a tři nejvrchnější komůrky. Logicky byla použita hnízda, která obsahují 6 a více komůrek. V ideálním případě byly zahrnuty opravdu tři vrchní a tři spodní komůrky. Pokud byla ale některá z této trojice neanalyzovatelná (potomek mrtvý, nebo samčího pohlaví), tak byly vzaty komůrky blíže středu hnízda. Pokud bylo ve vrchní nebo spodní pětici více než dvě neanalyzovatelné komůrky, tak bylo dané hnízdo vyloučeno z analýzy.

4.11. Statistické analýzy

Statistické analýzy byly provedeny v programu R 3.1.0.

Data, u kterých měly reziduály z modelu rozložení blízké normálnímu byla analyzována pomocí lineárních modelů, analýzy variance nebo t-testu. Normalita reziduálů byla v programu r kontrolována pomocí diagnostických grafů modelu.

Data, u kterých byla jedna vysvětlující proměnná a reziduály se výrazně lišily od normálního rozložení, byla testována pomocí neparametických testů (Kruskal-Wallisův test, Spearmanův korelační test). Šlo především o data s výrazně pozitivně šikmým rozložením.

Data, u kterých bylo více vysvětlujících proměnných a reziduály neměly normální rozložení, byla testována pomocí zobecněných lineárních modelů. Nejčastěji byl použit GLM binomiální rodiny. U těchto modelů bylo zkontrolováno, že se nevyskytuje overdisperte.

Data, kde byla závislá proměnná počty případů, byla testována chí-kvadrát testem, pokud počet vysvětlujících proměnných byl 1 nebo 2. Pokud byl počet vysvětlujících proměnných vyšší, byla data testována pomocí GLM binomiální rodiny.

Grafy byly vytvořeny v programu R. 3.1.0. nebo v programu Microsoft Excel.

5. Výsledky

5.1. Hnízdní fenologie

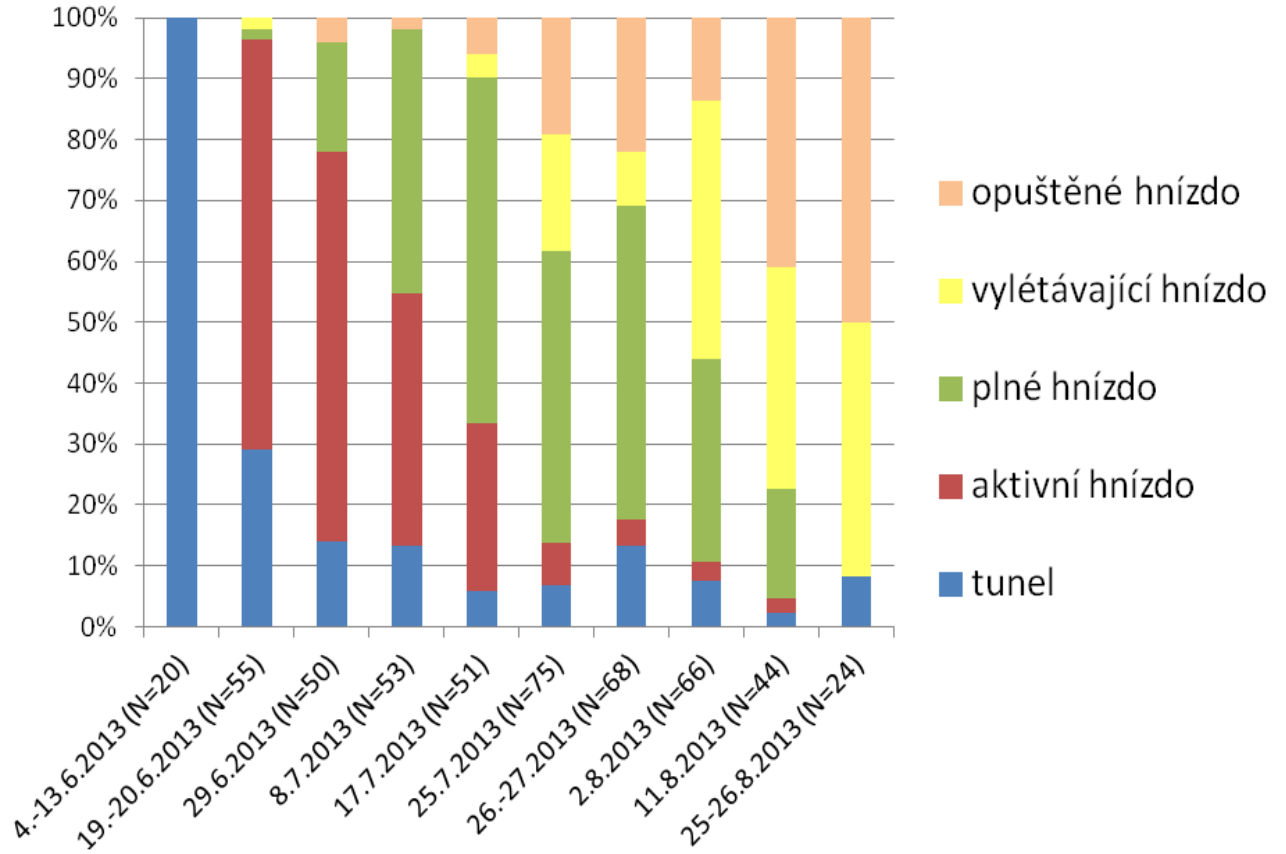
Zkoumané druhy rodu *Ceratina* mají vrchol hnízdní aktivity v červenci. Hnízdění všech druhů se z velké části překrývá, ale částečně se načasování hnízdění liší. Nejrannější je *C. cyanea*, následuje *C. chalybea*, poté *C. cucurbitina* a nejpozdější je *C. nigrolabiata*.

U druhu *C. chalybea* začíná tvorba tunelů pro hnízda na konci dubna a vrcholí v květnu. Nová hnízda ale mohou vznikat i výrazně později. Zásobování hnízda začalo v roce 2013 až koncem června, v roce 2012 byla ale aktivní hnízda částečně zaznamenána již v květnu. Až na drobné výjimky zásobování končí po polovině července. První plná hnízda se objevují už na konci června. Vylétávající hnízda se byla zjištěna po polovině července (obr. č. 5). Celkově bylo zaznamenáno více plných než aktivních hnízd, což naznačuje, že doba zásobování je kratší, než je délka larválního vývoje.

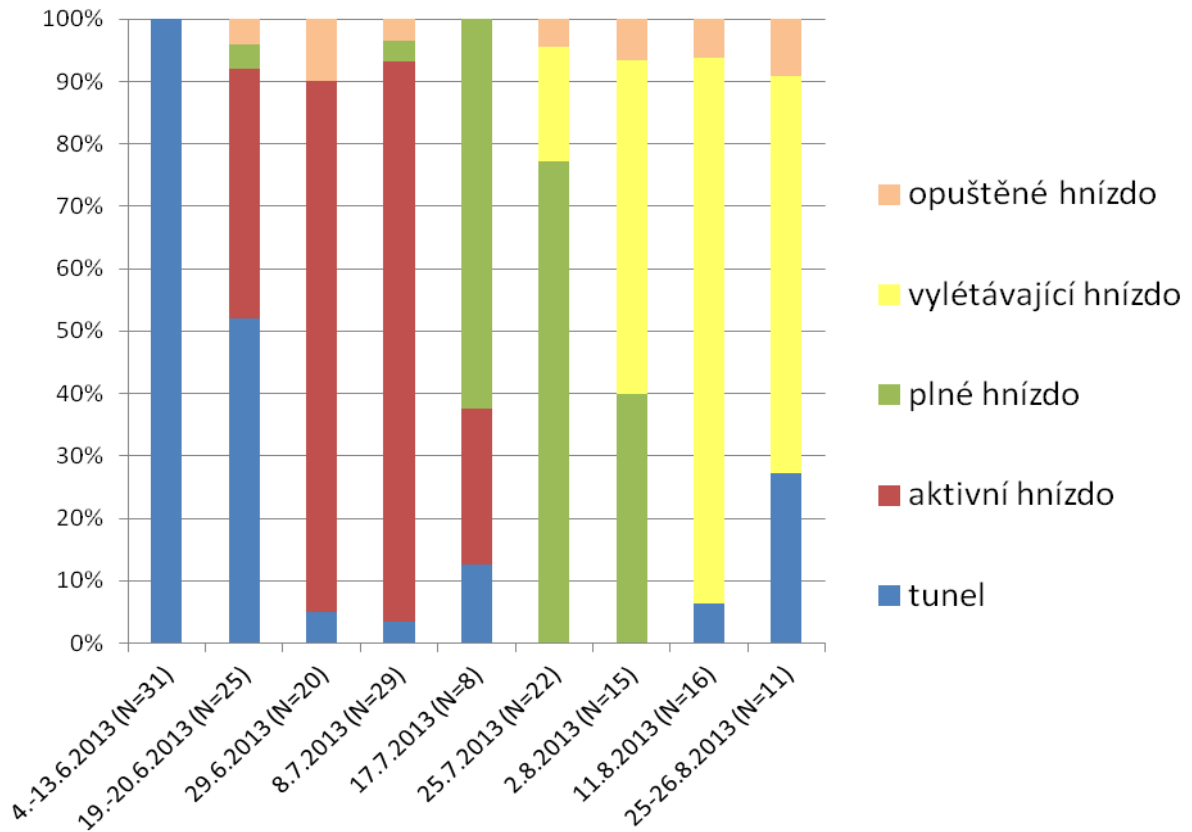
Hnízdění u druhu *C. cucurbitina* je ze všech druhů nejsynchronizovanější. Obvykle výrazně převažují hnízda jednoho typu. Zakládání hnízda probíhá v květnu a červnu. Zásobování začíná na konci června, a z naprosté většiny případů končí v půlce července. Plná hnízda se vyskytují převážně od půlky června do půlky srpna. V roce 2012 byla dvě plná hnízda zaznamenána i na konci srpna. Vylétávající hnízda se vyskytují od konce července (obr. č. 6).

Hnízdění druhu *C. cyanea* začíná ze všech druhů nejdříve a zároveň je nejméně synchronizované. Zakládání hnízd začíná od konce dubna a zakládání pokračuje v zásadě po celou sezonu. První aktivní hnízda se objevují již v květnu, mohou se ale vyskytovat až do začátku srpna. Plná hnízda byla zaznamenána od konce června do konce srpna. Vylétávající hnízda byla zaznamenána ve velmi malém množství, a to po konci července (obr. č. 7).

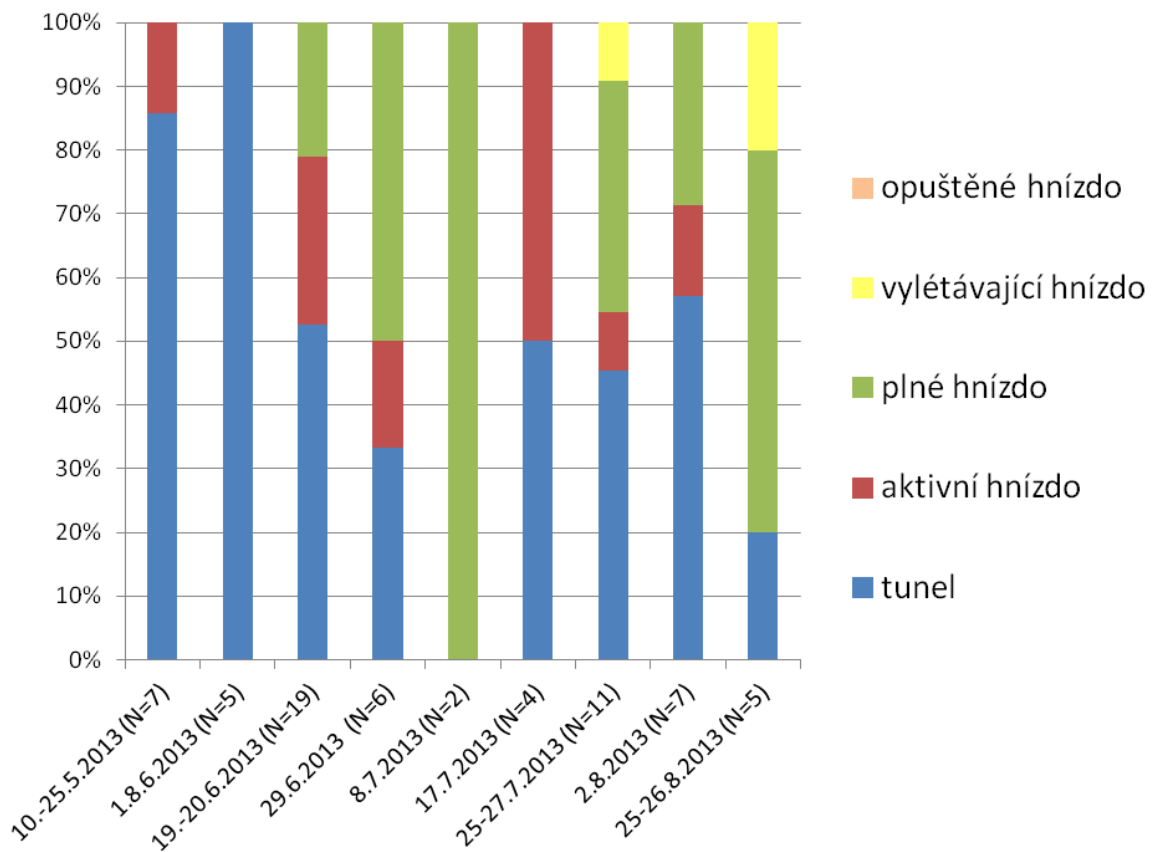
U druhu *C. nigrolabiata* dochází k zakládání nových hnízd především v květnu a červnu, pokračuje ale i v červenci. Zásobování začíná na konci června a probíhá intenzivně po celý červenec, výjimečně se může vyskytovat i v srpnu. První plná hnízda se objevují na začátku července, ve větší míře ale až od konce července. Plná hnízda byla zaznamenána i na konci srpna. Vylétávající hnízda se objevují od půlky července, ve větší míře ale až od konce července (obr. č. 8). Plných hnízd bylo ve srovnání s aktivními hnízdy nalezeno relativně malé množství, což zřejmě souvisí s rychlým larválním vývojem. Byla zaznamenána i zásobovaná hnízda, kde vespuď již byli imaturní dospělci.



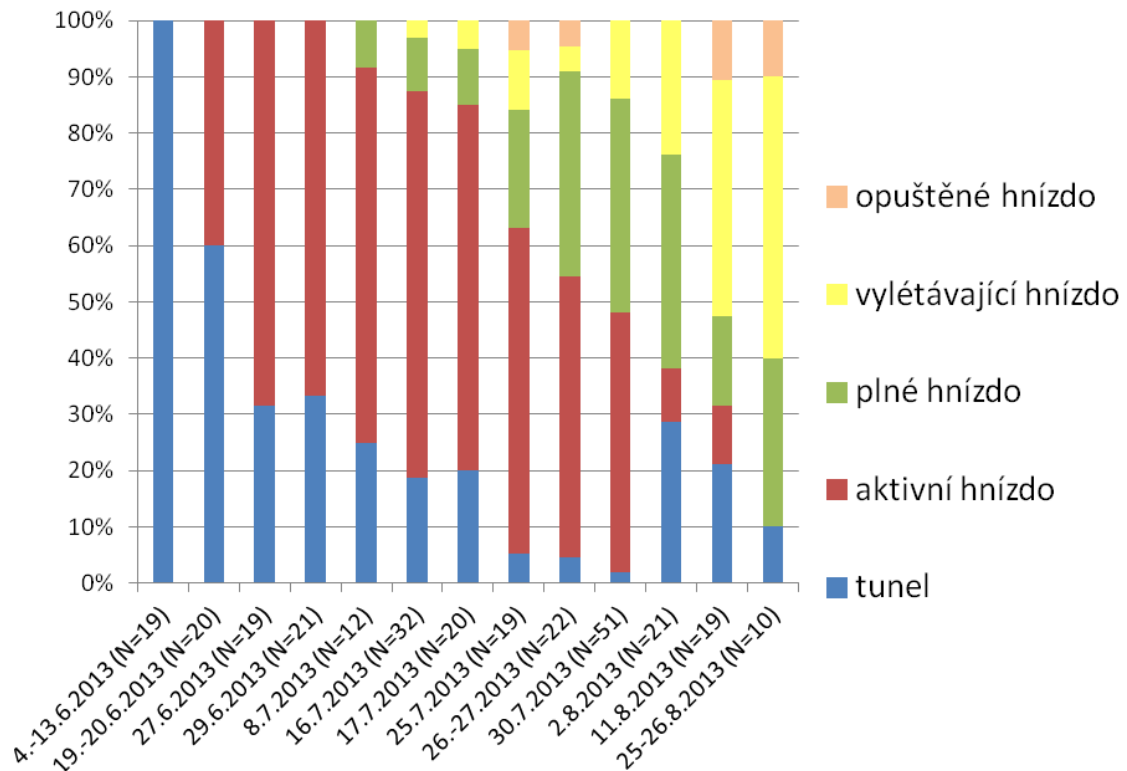
Obr. č. 5: Hnízdní fenologie druhu *C. chalybea*



Obr. č. 6: Hnízdní fenologie druhu *C. cucurbitina*



Obr. č. 7: Hnízdní fenologie druhu *C. cyanea*



Obr. č. 8: Hnízdní fenologie druhu *C. nigrolabiata*

5.2. Struktura plného hnízda

Všechny zkoumané druhy vytváří typická hnízda pro rod *Ceratina*. Jde o lineární hnízda v chodbičce vyvrtnané samicí. Komůrky jsou zazásobovány bochánky pylu. Přepážky jsou tvořeny pilinami ze stěny chodby. Mezi jednotlivými druhy jsou ale velmi podstatné rozdíly a obvykle je ve studovaném území možné i pouze podle hnízdní struktury druh determinovat.

Tabulka č. 2: Hnízdní struktura plných hnízd u zkoumaných druhů rodu *Ceratina* v roce 2013. SD=směrodatná odchylka.

Druh		<i>C. chalybea</i> 159	<i>C. cucurbitina</i> 32	<i>C. cyanea</i> 18	<i>C. nigrolabiata</i> 53	
Počet hnízd	Počet zásobovaných komůrek	Průměr	6,06	9,81	2,83	9,64
		Maximum	11,00	15,00	6,00	20,00
		Minimum	1,00	2,00	1,00	1,00
		SD	2,33	2,97	1,50	4,25
počet prázdných komůrek		Průměr	6,68	0,19	1,67	1,23
		Maximum	13,00	1,00	5,00	7,00
		Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00
		SD	2,60	0,40	1,37	1,41
podíl hnízd s neuzavřenou komůrkou nahoře		0,68	0,00	0,50	0,00	
délka chodby (cm)		Průměr	22,38	13,75	7,98	13,74
		maximum	34,70	22,00	14,40	22,90
		minimum	5,90	6,70	4,70	6,60
		SD	5,79	3,67	2,63	3,82
délka vstupní chodby (cm)		Průměr	4,14	2,45	3,24	2,73
		maximum	19,50	11,30	5,70	16,00
		minimum	0,50	0,70	0,90	0,60
		SD	2,71	2,06	1,53	3,13
šířka chodby (cm)		Průměr	0,41	0,31	0,30	0,34
		maximum	0,70	0,45	0,48	0,45
		minimum	0,25	0,25	0,20	0,25
		SD	0,00	0,00	0,00	0,00
šířka duše s chodbou (cm)		Průměr	0,58	0,38	0,54	0,41
		maximum	1,00	0,75	0,90	0,85
		minimum	0,30	0,20	0,30	0,28
		SD	0,15	0,13	0,15	0,12
šířka stonku s chodbou (cm)		Průměr	0,78	0,57	0,71	0,60
		maximum	1,15	0,90	0,90	0,90
		minimum	0,40	0,35	0,55	0,40
		SD	0,03	0,02	0,02	0,01

Tabulka č. 3: Hnízdní struktura plných hnízd u zkoumaných druhů rodu *Ceratina* v roce 2012. SD=směrodatná odchylka.

Druh		<i>C. chalybea</i>	<i>C. cucurbitina</i>	<i>C. nigrolabiata</i>
Počet hnízd		14	26	6
Počet zásobovaných komůrek	Průměr	7,43	8,23	7,00
	maximum	11,00	15,00	11,00
	minimum	3,00	2,00	4,00
	SD	2,82	3,13	3,16
počet prázdných komůrek	Průměr	8,50	0,15	0,83
	maximum	17,00	2,00	4,00
	minimum	2,00	0,00	0,00
	SD	4,29	0,46	1,60
podíl hnízd s neuzavřenou komůrkou nahoře		0,79	0,08	0,33
	délka chodby (cm)			
	Průměr	29,16	14,47	13,77
	maximum	69,40	21,50	20,70
	minimum	10,80	6,70	5,50
	SD	16,23	3,54	6,17
délka vstupní chodby (cm)	průměr	5,26	3,81	6,62
	maximum	13,30	9,30	17,00
	minimum	1,30	0,90	1,00
	SD	2,95	2,02	5,88

Hnízdní struktura u druhu *C. chalybea*

Druh *C. chalybea* vytváří nejdelší hnízda ve srovnání s ostatními studovanými druhy. Obvyklá délka hnízda je okolo 25 cm (tabulka č. 2 a 3). Rozdíl v délce mezi roky je nesignifikantní (t-test, $p=0,1401$). Nevyšší zaznamenaná délka ve snopcích v roce 2013 byla 34,7 cm. V tomto a několika dalších případech ale byla délka omezena délkou klacků ve snopcích, která byla kolem 35 cm. Nejdelší zaznamenané přirozené hnízdo mělo 69,4 cm. Hnízda *C. chalybea* se rovněž vyznačují největší šířkou chodby a největší délkou vstupní chodby ze všech druhů. I přes velkou délku hnízda je počet zazásobovaných komůrek poměrně malý, obvykle jen 6 – 7 komůrek. Rozdíl mezi roky 2012 a 2013 je marginálně signifikantní (t-test, $p=0,09965$). Maximální zaznamenaný počet zazásobovaných komůrek je 11.

Typickým prvkem hnízda *C. chalybea* jsou prázdné komůrky (obr. č. 9). Obvykle se vyskytuje 6-8 prázdných komůrek na hnízdo. Rozdíl v počtu prázdných komůrek mezi roky 2012 a 2013 je nesignifikantní (t-test, $p=0,14$). Nejčastěji se v hnízdě pravidelně střídá plná a prázdná komůrka. V některých případech je více prázdných komůrek mezi komůrkami plnými. Jen velmi výjimečně k sobě přiléhají dvě plné komůrky. Prázdné komůrky bývají o něco delší než plné komůrky. Nikdy nebyl zaznamenan průchod samice skrz přepážky do spodních částí hnízda. Exkrementy zůstávají v komůrkách okolo larev a kulek a nejsou pravidelně odstraňovány.

Ceratina chalybea vytváří hnízda dvou typů: nad poslední komůrkou se může nacházet buď zátka, nebo neuzavřená komůrka s potomkem. Zátka je obvykle podstatně delší než obvyklá přepážka mezi komůrkami - cca 1,5 cm. Hnízda, která končí zátkou, jsou v naprosté většině případů bez hlídající matky. Hnízda, která končí neuzavřenou komůrkou, jsou v naprosté většině případů hlídána matkou. Více informací o tomto jevu viz kapitola hlídání hnízda.



Obr. č. 9: Pravidelné střídání zásobovaných a prázdných komůrek v hnízdě *C. chalybea*.

Hnízdní struktura u druhu *C. cucurbitina*

C. cucurbitina má hnízda středně dlouhá, obvykle okolo 14 cm (tabulka č. 2 a 3). Rozdíl mezi roky 2012 a 2013 je nesignifikantní (t-test, $p=0,2629$). Délka vstupní chodby se pohybuje okolo 3 cm, přičemž byla signifikantně vyšší v roce 2012 (t-test, $p=0,004785$). Průměrný počet zazásobovaných komůrek je velký, okolo 9 komůrek, přičemž meziroční rozdíl je marginálně signifikantní (t-test, $p=0.06904$). Rozptyl v počtu zazásobovaných komůrek je ale podstatně nižší než u *C. nigrolabiata*. Maximální zaznamenaná počet zazásobovaných komůrek u *C. cucurbitina* je 15.

Prázdné komůrky se u *C. cucurbitina* v vyskytují jen velmi ojediněle. Pokud se v hnízdě vyskytuje prázdná komůrka, tak obvykle jde o komůrku úplně na dně hnízda.

Hnízda *C. cucurbitina* nikdy nejsou nahoře zazátkovaná tlustou přepážkou. Stará samice byla u řady hnízd *C. cucurbitina* zaznamenána nikoliv na povrchu hnízda, ale níže, v komůrkách s juvenilními jedinci. Samice tedy zjevně umí prolézat hnízdem a kontrolovat potomky. Přepážky mezi komůrkami jsou po průchodu samice částečně narušené, ale obvykle zřetelné. Exkrementy larev se pravděpodobně v důsledku činnosti samice hromadí na dně hnízda.

Hnízdní struktura u druhu *C. cyanea*

Hnízda *C. cyanea* jsou ze všech druhů nejkratší a s nejmenším počtem zazásobovaných komůrek, obvykle jen okolo tří komůrek (tabulka č. 2 a 3). Maximální počet zazásobovaných komůrek je 6. I přes malou délku hnízda je u tohoto druhu dosti dlouhá vstupní chodba – okolo 3 cm, což je skoro polovina délky hnízda.

Prázdné komůrky se u tohoto druhu vyskytují dosti často (průměrně 1,67 na hnízdo). Na rozdíl od *C. chalybea* se nestřídají pravidelně s komůrkami zásobovanými a spíše se vyskytují náhodně uvnitř hnízda.

Podobně jako u druhu *C. chalybea* se i u *C. cyanea* vyskytují dva typy uzavření hnízda: hnízdo může být uzavřeno buď silnější pilinovou zátkou, nebo nahoře může být neuzavřená komůrka s potomkem. U tohoto druhu nebylo nikdy dokumentováno prolézání samice do spodních částí hnízda. Trus není nijak odstraňován z komůrek s juvenilními jedinci.

Hnízdní struktura u druhu *C. nigrolabiata*

C. nigrolabiata vytváří středně dlouhá hnízda, obvykle okolo 14 cm dlouhá. Počet zazásobovaných komůrek je ale dosti velký – průměrně okolo 9 komůrek (tabulka č. 2 a 3). Tento druh má vůbec největší variabilitu v počtu zazásobovaných komůrek. Relativně běžně se vyskytují i hnízda s počtem komůrek 15-20. Bylo zároveň zaznamenáno vylétávající hnízdo, které mělo pravděpodobně 23 zazásobovaných komůrek. Ne všichni potomci v hnízdě jsou ale vždy potomky hlídající samice (viz kapitola Usurpace hnízd *C. nigrolabiata*)

Prázdné komůrky se v hnízdě mohou vyskytovat (průměrně 1,23 prázdných komůrek na hnízdo), ale v některých hnízdech chybí. Pozice prázdných komůrek není pravidelná. Pokud se prázdné komůrky vyskytují, tak jsou několikanásobně delší než komůrky plné (obr. č. 11).

Na povrchu hnízda se může vyskytovat silnější, až 1 cm silná, pilinová zátko, která ale nesouvisí přímo s tím, zda je hnízdo hlídáno či nikoliv. Nikdy není přítomna neuzavřená komůrka na povrchu hnízda.

U *C. nigrolabiata* nebylo dokumentováno zjevné prolézání hlídající samice ani samce skrz přepážky. V hnízdech tohoto druhu se ale vyskytuje speciální způsob odstraňování exkrementů: Mezi komůrkami se staršími juvenilními jedinci (s larvami 4. instaru a kuklami) jsou přepážky proděravěné malým otvorem, která umožňuje propadávání exkrementů (obr. č. 10). Ty poté padají na juvenilní jedince, kteří jsou v hnízdě umístěni níže. Obvykle se exkrementy hromadí ve spodní komůrce, prázdných komůrkách, nebo komůrkách s mrtvými potomky.



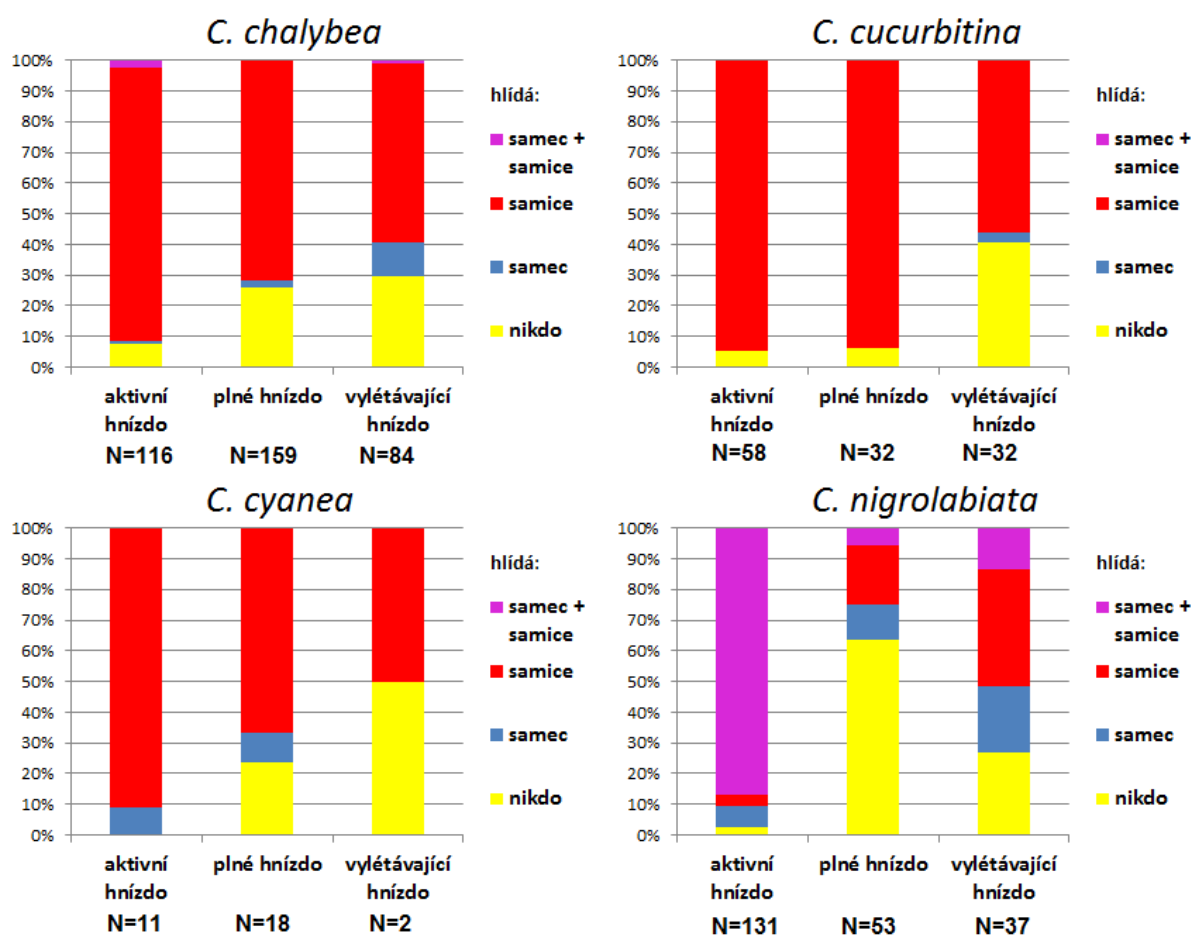
Obr. č. 10: Děravé přepážky mezi komůrkami v hnízdě *C. nigrolabiata*. Otvory slouží k propadávání trusu. V komůrkách by se za standardní situace nacházely larvy či kukly, ty ale byly pro přehlednost již odstraněny.



Obr. č. 11: Aktivní hnízdo *C. nigrolabiata* s šesti zásobovanými komůrkami. Uprostřed je výrazně dlouhá prázdná komůrka. Foto Vít Bureš.

5.3. Hlídání hnízda

Hlídající jedinec obvykle zadečkem zacpává vstup do hnízda (obr. č. 14). Zkoumané druhy rodu *Ceratina* se liší ve strategii hlídání hnízda (obr. č. 12). Aktivní hnízdo by mělo být vždy hlídáno alespoň samicí. Zaznamenané případy, kdy tomu tak není, jsou pravděpodobně situace, kdy došlo k předčasnému osiření hnízda. Plné hnízdo je ve většině případů hlídáno, ale kromě druhu *C. cucurbitina* v řadě případů hlídáno není. V případě vylétávajícího hnízda je hnízdo u všech druhů hlídáno v přibližně polovině případů.



Obr. č. 12: Hlídaní různých typů hnízd u včel rodu *Ceratina*

Hlídaní hnízda u *C. chalybea*

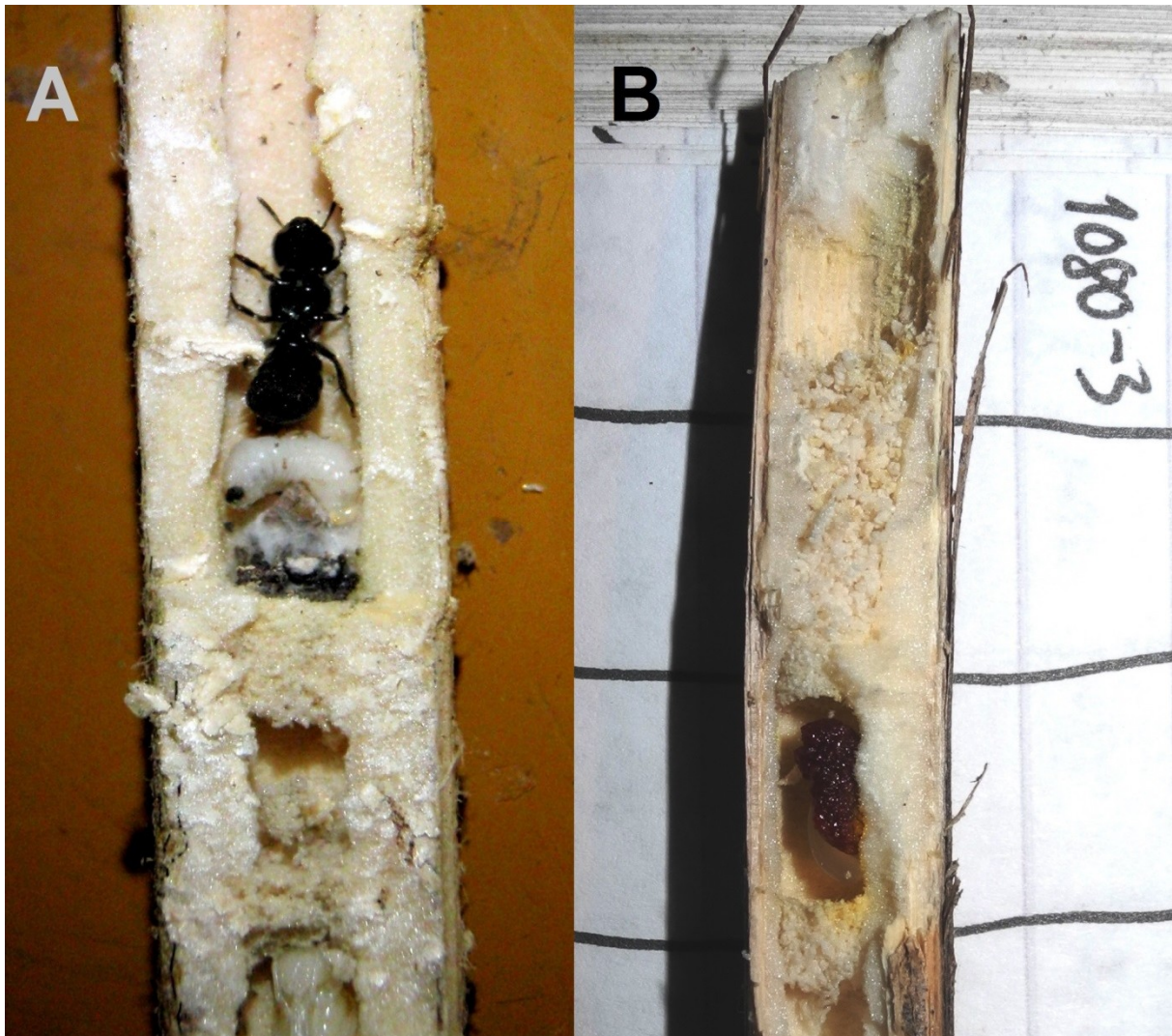
Aktivní hnízdo je v naprosté většině případů hlídáno samicí. Několik málo případů, kdy není, lze přičíst předčasnému osíření. V ojedinělých případech rovněž je aktivní hnízdo hlídáno samcem či samcem i samicí.

Plné hnízdo je ve většině případů (74%) hlídáno samicí, v 26%, ale hlídající samice přítomna není. To, zda je hlídající samice přítomna či nikoliv úzce souvisí s hnízdní strukturou. Pokud je hnízdo zakončeno pilinovou zátkou, tak samice hnízdo nehlídá (obr. č 13B). Pokud je hnízdo zakončeno neuzavřenou komůrkou s potomkem, tak samice hnízdo hlídá (obr. č 13A). Pokud je hnízdo hlídáno, tak je hlídající samice vždy přítomna v prostoru poslední neuzavřené komůrky a nikdy níže v rámci hnízda.

Hlídaná byla signifikantně častěji hnízda, která obsahovala větší počet potomků (GLM binomiální rodiny, $p < 0,00001$) (obr. č. 15A). Signifikantní vliv na to, zda bylo hnízdo hlídáno, měl rovněž hnízdní substrát (GLM binomiální rodiny, $p=0,001$). Nejčastěji jsou hlídána hnízda v celíku (*Solidago* spp), poté v bělotrnu kulatohlavém. (*Echinops sphaerocephalus*) a nejméně často ve slunečnici topinambur (*Helianthus tuberosus*).

Hlídání hnízda signifikantně zvyšuje podíl přežívajících potomků (GLM binomiální rodiny, $p=0,03502$)(obr. č. 15B). Ostatní vlastnosti hnízda (počet zásobovaných komůrek, počet prázdných komůrek, délka hnízda, šířka duše, šířka chodby, délka vstupní chodby a substrát) nemají na podíl přežívajících potomků signifikantní vliv (GLM binomiální rodiny).

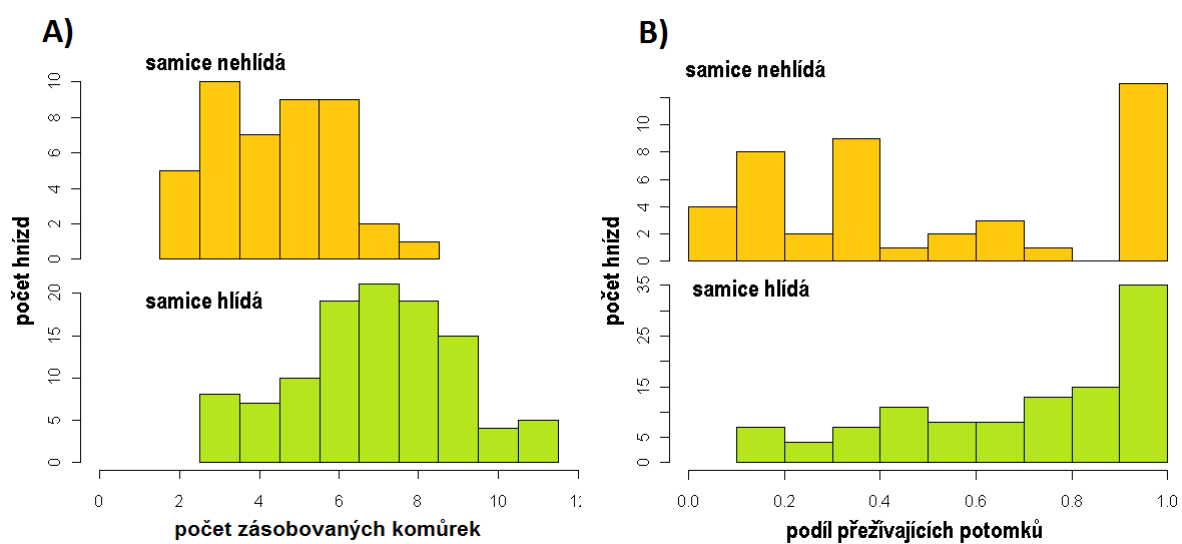
Vylétávající hnízda jsou hlídána starými samicemi podobně často jako plná hnízda, o něco častěji tam ale vlézají samci (obr. č. 12)



Obr. č. 13: Vrchní konec plných hnízd *C. chalybea*. Hnízdo hlídané matkou s poslední komůrkou neuzavřenou (A), hnízdo nehlídané matkou, které je ukončeno tlustou pilinovou zátkou.



Obr. č. 14: Značená samice *C. chalybea* hlídající plné hnízdo



Obr. č. 15: Počet zazásobovaných komůrek u hlídanych (N=114) a nehlídanych (N=45) hnízd *C. chalybea* (A), Podíl přeživajících potomků u hlídanych a nehlídanych hnízd *C. chalybea* (B).

Hlídání hnízda u *C. cucurbitina*

Aktivní i plná hnízda jsou v naprosté většině případů hlídána samicí. Vylétávající hnízda jsou hlídána o něco více než v polovině případů. Hlídající samice v plných hnízdech byla obvykle zaznamenána nad vrchní komůrkou, v několika případech se ale nacházela v některé z komůrek uvnitř hnízda, přičemž mohlo jít i o nejspodnější komůrku. Zalézání samice níže do hnízda bylo pozorováno i v terénu.

Hlídání hnízda u *C. cyanea*

Aktivní hnízda byla hlídána v naprosté většině případů samicí, pouze výjimečně samcem. Plná hnízda byla ve dvou třetinách případů hlídána samicí, ve třetině byla nehlídána. Zda je plné hnízdo hlídáno souvisí s jeho strukturou. Pokud je poslední komůrka neuzavřená, samice hnízdo hlídá vždy. Pokud je poslední komůrka uzavřená, tak samice hnízdo hlídá jen ve třetině případů. Hlídající samice se nachází vždy buď nad poslední komůrkou, nebo v poslední neuzavřené komůrce. Počet zásobovaných komůrek nemá signifikantní vliv na to, zda samice hlídá hnízdo či nikoliv (GLM binomiální rodiny, $p=0,3716$). Hlídání hnízda nemá signifikantní vliv na podíl přežívajících potomků (GLM binomiální rodiny, $p=0,7854$).

Vylétávající hnízdo je hlídáno v polovině případů.

Hlídání hnízda u *C. nigrolabiata*

Aktivní hnízdo *C. nigrolabiata* je v naprosté většině případů **hlídáno samicí i samcem** (obr. č. 12 a 16). Samec se v naprosté většině případů nachází blíže vchodu než samice. O trochu častější je hlídání pouze samcem než pouze samicí. V několika případech bylo zaznamenáno hlídání samicí a dvěma samci. Samci společně se samicemi byli obvykle pozorováni i v tunelech zakládáných hnízd.

Plné hnízdo je ve většině případů nehlídáno. Pokud je plné hnízdo hlídáno, tak obvykle samicí, ale relativně časté je i hlídání pouze samcem či samcem i samicí zároveň (obr. č. 12). To, zdaje hnízdo hlídáno či nikoliv, nemá žádnou výraznou souvislost s hnízdní strukturou. Vztah mezi velikostí hnízda a hlídáním samcem a samicí je nesignifikantní (LM, pro samce $p=0,54$, pro samice $p=0,52$). Hlídající jedinci se vždy nachází v chodbě nad vrchní komůrkou.

Vylétávající hnízdo je nejčastěji hlídané pouze samicí, ale podobně častá jsou i nehlídána hnízda, hnízda hlídána pouze samcem a hnízda hlídána samicí i samcem.



Obr. č. 16: Příklad aktivního hnízda *C. nigrolabiata*. Toto hnízdo je hlídáno samicí a žlutě označeným samcem. V první komůrce je larva, ve druhé a třetí jsou vajíčka. Právě dochází k zásobování čtvrté komůrky. Foto Vít Bureš.

5.4. Vliv odstranění hlídající samice

Ceratina chalybea

Odstranění samice má výrazný vliv na přežití potomk (Obr. č. 17, 18). Signifikantní je vliv odstranění samice na to, zda přežil v hnízdě alespoň jeden potomek (chí-kvadrát test, $p=0,002059$). Vliv odstranění se podstatněji projevil až po delším časovém období, tedy po dvaceti dnech.

Ze zaznamenaných příčin selhání hnízda měl marginálně signifikantní vliv usurpace jinými včelami (chí-kvadrát test, $p=0,06962$) (obr. č. 17C, 19). Původcem usurpace byla ve většině případů jiná samice *C. chalybea*. V jednom případě bylo hnízdo částečně narušeno včelou druhu *Pseudoanthidium lituratum*, která ale hnízdo nedokončila. Mravenci byli pozorováni častěji v hnízdech s odstraněnou samicí než v hnízdech kontrolních, trend je ale nesignifikantní (chí-kvadrát test, $p=0,8947$). Rovněž výskyt parazitoidů (Chalcidoidea (obr. č. 17B), Ichneomonidae a Gasteruption) byl častější v hnízdech s odstraněnou samicí, ale trend je také nesignifikantní (chí-kvadrát test, $p=0,2691$).

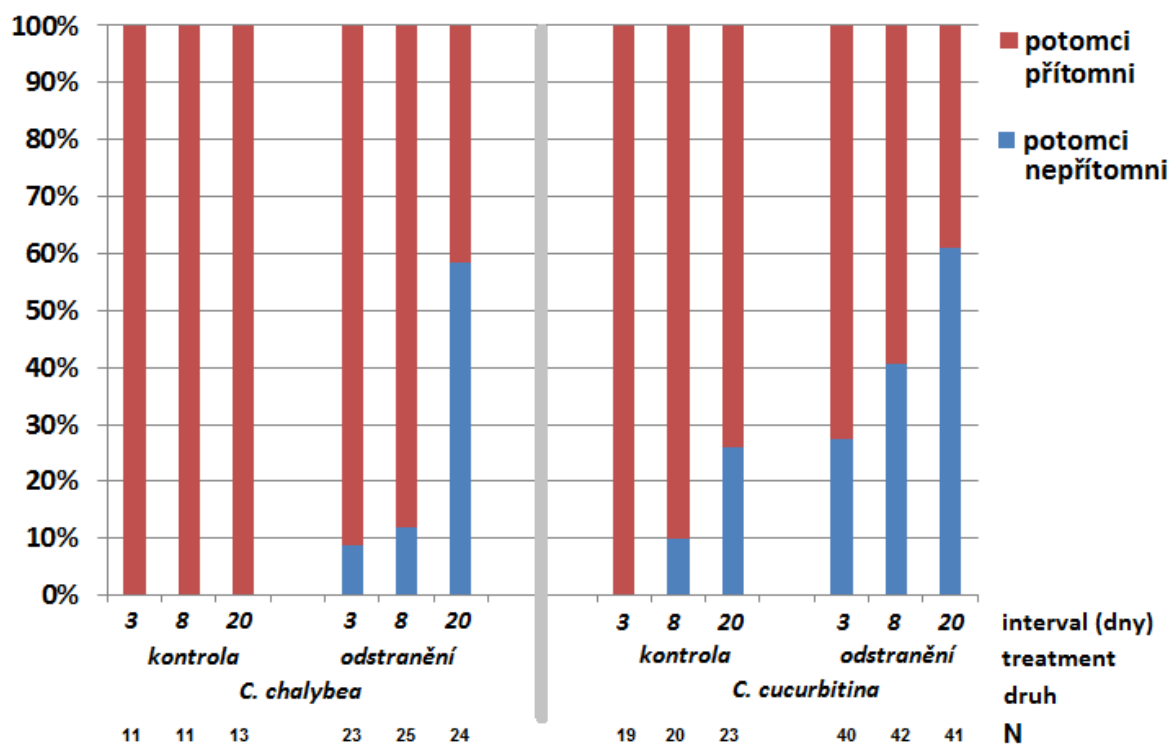


Obr. č. 17: Osudy hnízd, ve kterých byla odstraněna samice *C. chalybea*: hnízdo, ve kterém byla část potomstva zkonzumována predátory (A), hnízdo, ve kterém potomstvo podlehló parazitaci chalcidkami (Chalcidoidea) (B), hnízdo, ve kterém došlo k usurpaci jinou samicí *C. chalybea* a discardingu původního potomstva (C).

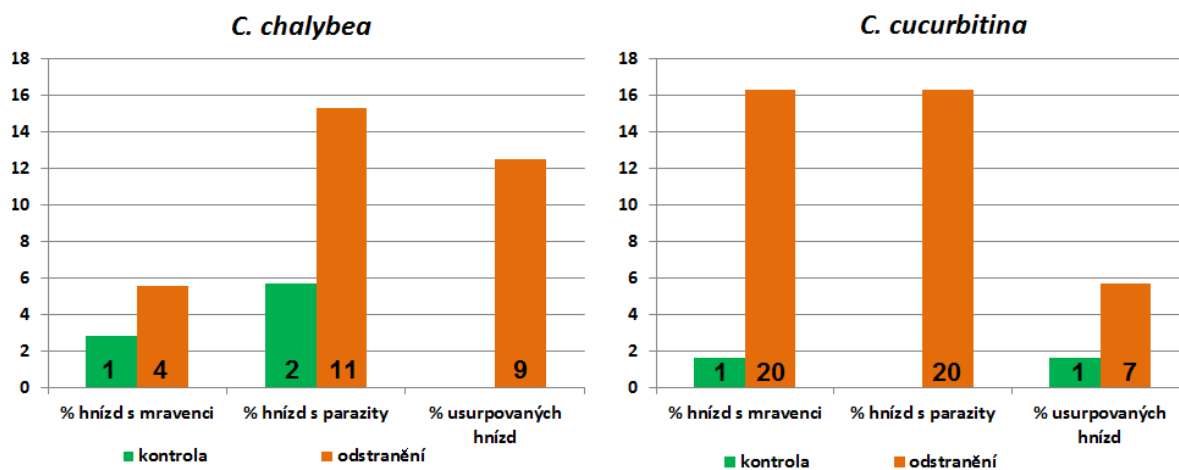
Ceratina cucurbitina

Odstranění samice velmi výrazně snižovalo podíl přežívajících potomků (obr. č 18). Vliv odstranění na to, zda přežil alespoň jeden potomek je vysoce signifikantní (chí-kvadrát test, $p=0,0007$) Vliv odstranění samice byl patrný již po třech dnech.

Signifikantně častější výskyt v hnízdech s odstraněnou samicí mají parazitoidi (chí kvadrát test, $p=0.001863$) i mravenci (chí-kvadrát test, $p=0,006547$) (obr. č. 19). Z mravenců se nejčastěji vyskytovali mravenci rodu *Lasius* a malé druhy podčeledi Myrmicinae. Z parazitoidů se vyskytovali zástupci skupiny Chalcidoidea. Usurpace byli častější u hnízd s odstraněnou samicí než u kontrolních, ale trend není signifikantní (chí-kvadrát test, $p=0,3658$). Hnízda *C. cucurbitina* usurpovali jak jiné samice *C. cucurbitina* tak druhy *C. chalybea* a *C. nigrolabiata*.



Obr. č. 18: Přežívání potomků u hnízd s odstraněnou samicí a u kontrolních hnízd.



Obr. č. 19: Zaznamenané jevy způsobující selhání hnízda u hnízd s odstraněnou samicí a u kontrolních hnízd. Čísla v sloupcích znamenají počty zaznamenaných případů.

5.5. Aktivita samců

Ceratina chalybea

Poměr pohlaví dospělců za celou sezonu je signifikantně vychýlen ve prospěch samic (chí-kvadrát test, $p=0,0$, $N=400$) Poměr pohlaví před začátkem hnízdní sezony není signifikantně odlišný od 1:1 (chí-kvadrát test, $p=0,165$, $N=63$).

Samci druhu *C. chalybea* se vyskytují po celou hnízdní sezonu, ale v období zásobování (od poloviny června) vzácněji než v období základní hnízd (obr. č. 21). Samci byli pravidelně pozorováni, jak krouží okolo hnízd samic a hnízdních příležitostí. Pokud samec našel samici ve vchodu hnízda, tak se jejího zadečku dotýkal nohama.

Bylo opakovaně pozorováno zalézání samců do hnízd samic a v několika případech byla i zdokumentována aktivní či plná hnízda s hlídajícím samcem. Samci ale ve hnízdech nezůstávali trvale. Páření bylo zaznamenáno jak na vegetaci blízko hnízda či hnízdních příležitostí, tak přímo v asociaci s hnízdem (obr. č. 20). V některých případech byla samice většinou těla v hnízdě, a z hnízda jí vyčníval pouze konec zadečku



Obr. č. 20: Páření *C. chalybea*. Samička je částečně zalezlá ve hnízdě.

Ceratina cucurbitina

Poměr pohlaví dospělců za celou sezonu je signifikantně vychýlen ve prospěch samic (chí-kvadrát test, $p=0,0$, $N=243$) Poměr pohlaví před začátkem je rovněž vychýlen ve prospěch samic (chí-kvadrát test, $p=0,01491$ $N=123$).

V průběhu hnízdní sezony dochází k rychlému úbytku samců *C. cucurbitina*. Po polovině června byli samci zaznamenáni jen výjimečně (obr. č. 21).

Páření bylo pozorováno na vegetaci poblíž hnízdních příležitostí.

Cereartina cyanea

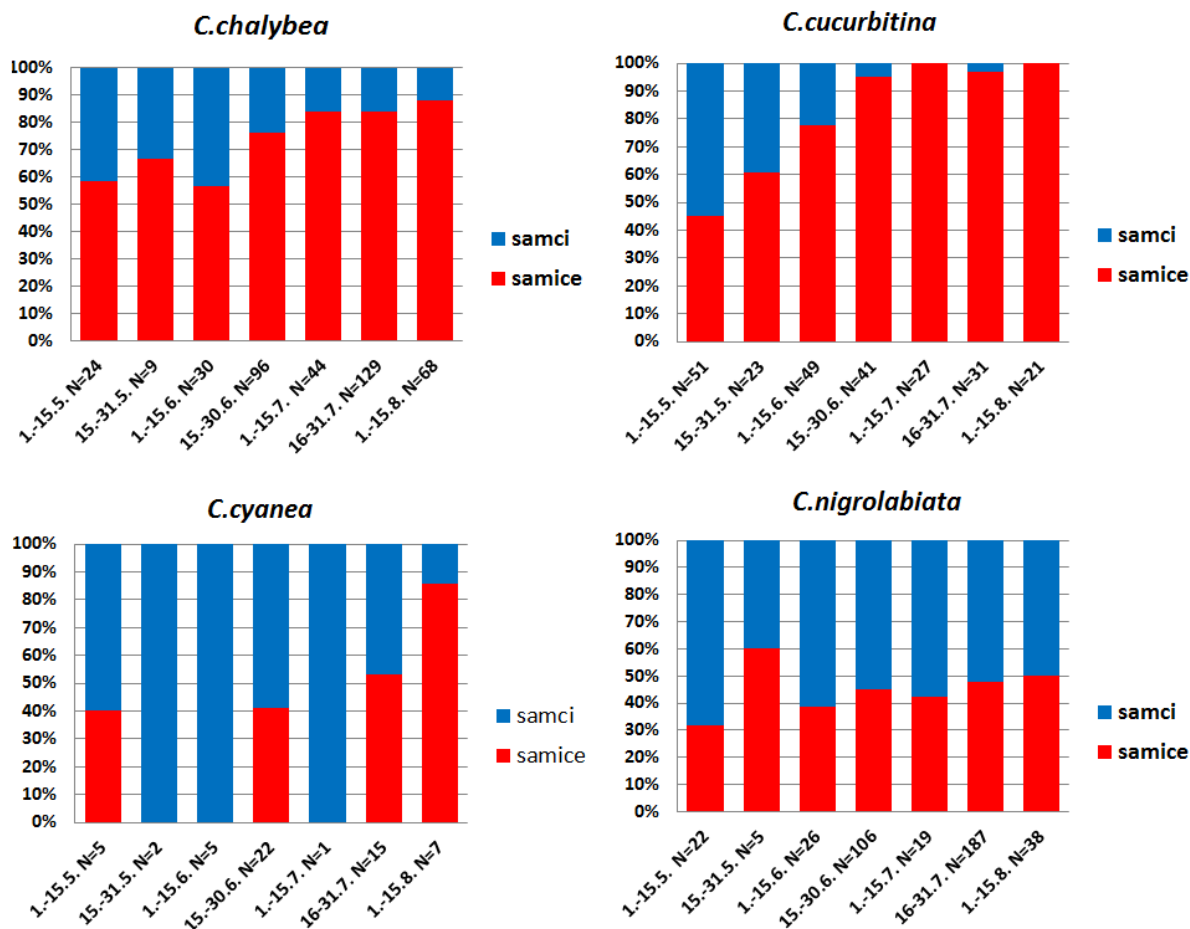
Poměr pohlaví dospělců za celou sezonu není signifikantně vychýlen (chí-kvadrát test, $p=0,3538$ $N=57$) Poměr pohlaví před začátkem hnízdní sezony je vychýlen ve prospěch samců (chí-kvadrát test, $p=0,02092$, $N=12$).

Samci se vyskytují po celou hnízdní sezonu, pravděpodobně ale postupně ubývají. Vzhledem k malému množství pozorování není možné chování samců spolehlivě ohodnotit (obr. č. 21).

Ceratina nigrolabiata

Poměr pohlaví dospělců za celou sezonu je není signifikantně vychýlen (chí-kvadrát test, $p=0,08125$ $N=403$) Poměr pohlaví před začátkem hnízdní sezony není signifikantně odlišný od 1:1 (chí-kvadrát test, $p=0,07415$, $N=53$).

Samci se vyskytují po celou hnízdní sezonu a v průběhu času jich neubývá (obr. č. 21). Pravidelně byli zaznamenáni v aktivních hnízdech společně se samicemi (viz obr. č. 12). Samci společně se samicemi byli zaznamenáni i v zakládaných hnízdech. Kroužení samců okolo hnízd a hnízdních příležitostí bylo především na začátku sezony také pozorováno, ale ne v takové intenzitě jako u *C. chalybea*.



Obr. č. 21: Vývoj poměru pohlaví dospělců starší generace včel rodu *Ceratina* získaný z rozebíraných hnízd a úkrytů ve dřevě stonků.

5.6. Mikrosatelitové lokusy vyvinuté pro *C. nigrolabiata*

Všechny použité mikrosatelitové lokusy byly polymorfni. Zjištěný polymorfismus byl 3-16 alel na lokus (tabulka č. 4 a 5). Průměrný počet alel na lokus byl 6,9. Pozorovaná heterozygotnost lokusů se pohybovala od 37 do 83%. Průměr heterozygotnosti všech lokusů byl 61,9%. Samice byly heterozygotní od 20 do 90% lokusů. Pozorovaná heterozygotnost odpovídala přibližně předpokládané, rozdíly od Hardy-Wembergovy rovnováhy nebyly signifikantní.

Odhadovaný podíl nulových alel byl vyšší než 5% u lokusů 43 a 51. U žádného z genotypizovaných samců ale nebyla pro tyto lokusy detekována nulová alela. Naopak byly nulové alely detekovány u samců na lokusu 46, a to na pěti jedincích pocházejících z jednoho hnízda.

Odhad genotypizačních chyb byl nejvyšší u lokusů 46 a 67, kde se jeho pravděpodobnost pohybovala okolo 10% (tabulka č. 4). U lokusu vycházely dobře alely o délkách 107 a 111, ostatní čtyři alely poskytovaly výrazně slabší signál a proto je bylo u některých heterozygotních jedinců bylo těžké detekovat. U lokusu 46 byly chyby pravděpodobně způsobeny pravděpodobně kvůli příliš velké velké blízkosti blízkostí sousedních alel, ty se často lišili v délce pouze o jednu bázi.

Některé lokusy (30, 12 a 27) měli dvě délkové skupiny alel. U těchto lokusů bylo největší délkové rozpětí mezi alelami. Kratší alely měly výraznější signál, než delší. Nebylo ale zaznamenáno, že by daný jev způsoboval problémy v genotypizaci, odhad genotypizačních chyb i nulových alel byl u těchto lokusů zanedbatelný (tabulka č. 4).

Tabulka č. 4: Vlastnosti mikroatelitových lokusů.

Marker	počet alel	pravděpodobnost genotypizační chyby	pozorovaná heterozygotnost	předpokládaná heterozygotnost	odhadovaná frekvence nulových alel
30	6	0,0052	0,5800	0,5710	-0,0119
23	6	0,0052	0,5450	0,5230	-0,0350
12	7	0,0052	0,6360	0,6060	-0,0267
8	5	0,0052	0,5870	0,5840	-0,0110
28	10	0,0319	0,8110	0,7760	-0,0268
43	3	0,0052	0,4270	0,4990	0,0741
46	7	0,0957	0,7410	0,8030	0,0386
67	6	0,1170	0,5590	0,5680	0,0071
27	16	0,0052	0,8390	0,8170	-0,0144
51	3	0,0213	0,3710	0,4450	0,0917

Tabulka č. 5: Frekvence zjištěných alel u jednotlivých mikrosatelitových lokusů (N=1782). Uvedená frekvence 0,0006 znamená, že daná alela byla zaznamenána jen jednou.

Marker											
30	počet bází	191	193	195	228	230	232				
	frekvence	0,5446	0,3722	0,0372	0,0028	0,0266	0,0166				
23	počet bází	101	103	105	106	107	109				
	frekvence	0,0532	0,2390	0,6473	0,0072	0,0383	0,0150				
12	počet bází	207	213	215	218	220	226	228			
	frekvence	0,5807	0,0105	0,1009	0,0422	0,0150	0,2268	0,0238			
8	počet bází	253	255	258	260	262					
	frekvence	0,0532	0,5219	0,3816	0,0405	0,0028					
28	počet bází	103	105	107	109	111	113	114	115	116	117
	frekvence	0,3322	0,0006	0,1963	0,2546	0,0116	0,0438	0,0727	0,0033	0,0832	0,0017
43	počet bází	214	217	220							
	frekvence	0,0227	0,6378	0,3394							
46	počet bází	261	262	263	264	265	266	269			
	frekvence	0,0899	0,0638	0,2884	0,1836	0,1647	0,1908	0,0189			
67	počet bází	103	107	109	110	111	113				
	frekvence	0,1204	0,2313	0,0316	0,0050	0,5940	0,0177				
27	počet bází	196	203	204	205	207	209	214	216	217	218
	frekvence	0,1425	0,3306	0,0011	0,0011	0,1725	0,1703	0,0006	0,0006	0,0055	0,0887
	počet bází	222	224	226	233	237	239				
	frekvence	0,0277	0,0288	0,0139	0,0033	0,0011	0,0116				
51	počet bází	261	263	265							
	frekvence	0,2934	0,7038	0,0028							

5.7. Obourodičovská péče u *C. nigrolabiata*

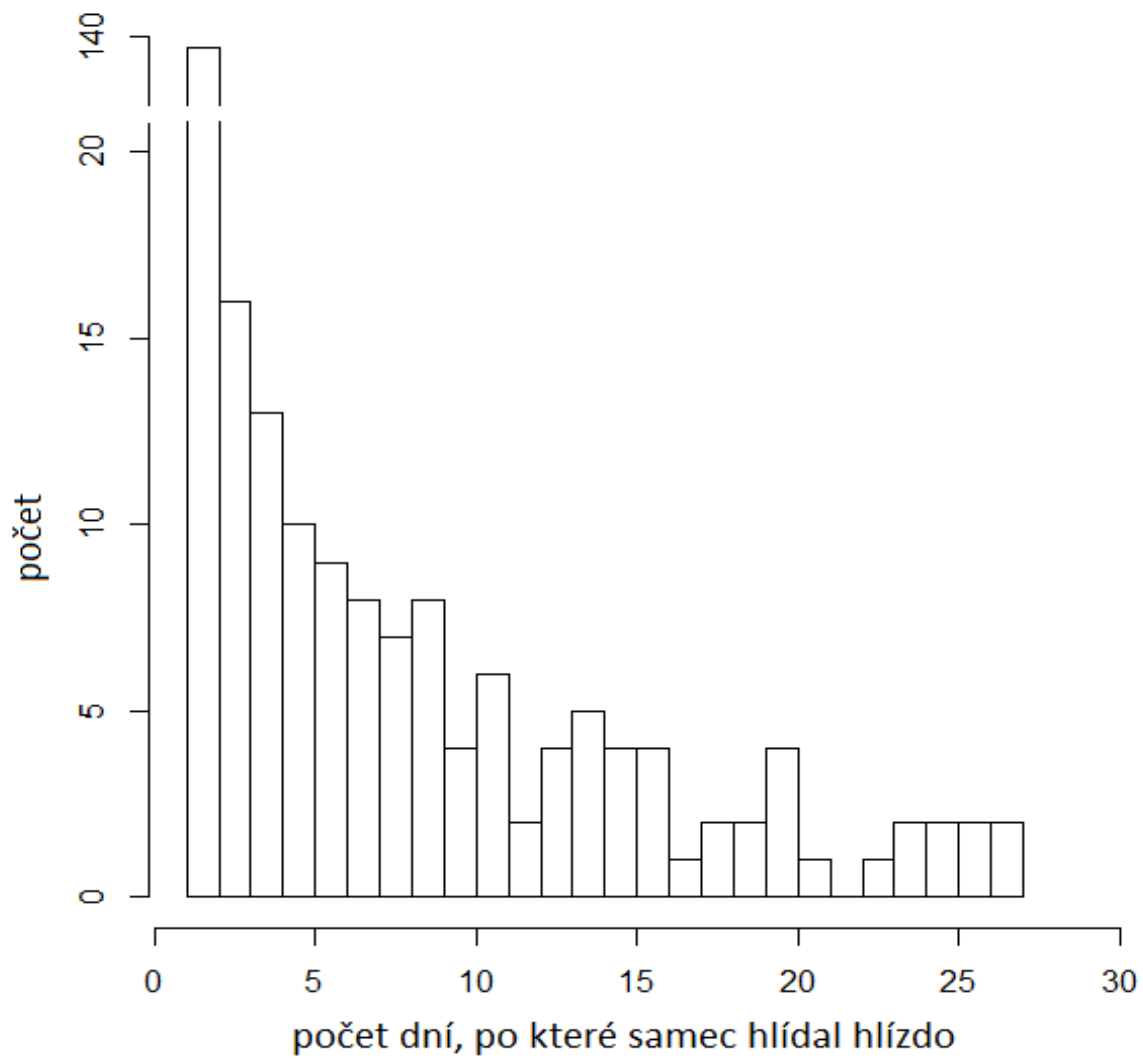
5.7.1. Střídání hlídajících samců

Přestože na naprosté většině případů je hnízdo *C. nigrolabiata* hlídáno samcem, tak jednotliví samci vydrží v jednom hnízdě jen omezenou dobu. Hlídající samec z hnízda zmizí a hnízdo začne hlídat jiný samec. Průměrná doba, po kterou vydržel hlídající samec v hnízdě, byla 5,23 dní (N=257). Téměř polovina samců vydržela v hnízdě hlídat maximálně jeden den (obr. č. 22). Pouze výjimečně vydržel jeden samec po celé, nebo téměř celé období sledování hnízda. Maximální doba, po kterou bylo jedno hnízdo hlídáno jedním samcem, byla 27 dní.

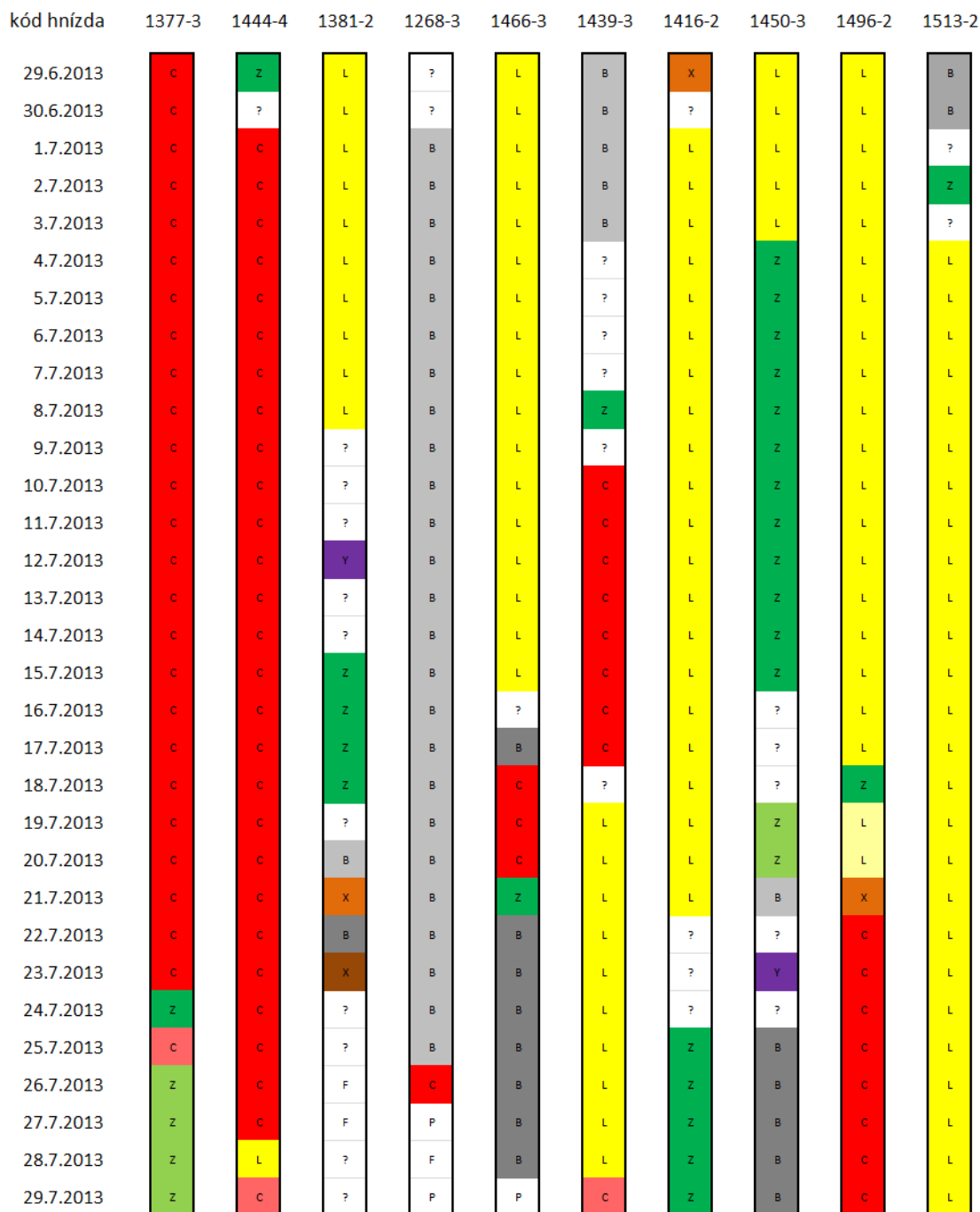
Ve hnízdech, která nebyla rušena, samec vydržel průměrně 7,07 dní, zatímco ve hnízdech, která byla rušena pouze 4,59 dní. Vliv rušení samců neměl signifikantní vliv na to, jak dlouho samec v hnízdě vydržel (Kruskal-Wallisův test, $p=0.1741$, N=257). Vliv rušení samců je ale signifikantní, pokud jsou z analýzy vyloučeni samci, kteří byli v hnízdě pozorováni pouze jednou (Kruskal-Wallisův test, $p=0.008646$, N=140).

Přestože většina samců vydržela v hnízdě jen velmi krátce, tak obvykle bylo hnízdo hlídáno alespoň jedním samcem, který tam vydržel po relativně dlouhou dobu (obr. č. 23) Existence velkého množství samců, kteří jsou v hnízdě velmi krátkou dobu, výrazně snižuje průměrné hodnoty doby, jak dlouho v hnízdě jeden samec vydrží. Z pohledu hnízd je ale velmi podstatné, po jak dlouhou dobu je v hnízdě přítomen samec, který aktuálně hlídá. Hnízda byla obvykle hlídána samcem, který byl přítomen průměrně 12,68 dní. V každém sledovaném hnízdě hlídal alespoň jeden samec, který byl v hnízdě přítomen alespoň 5 dní. V polovině hnízd hlídal alespoň jednou samec, který byl přítomen minimálně 15 dní.

Frekvence střídání samců nebyla po celou dobu hnízdní sezony stejná. Nejvíce se samci střídali na začátku hnízdní sezony (konec června) a na konci hnízdní sezony (konec července). Nejméně se střídali uprostřed hnízdní sezony, tedy kolem poloviny července.



Obr. č. 22: Rozložení počtů jednotlivých samců, v závislosti na době, jak dlouho vydrželi hlídat v jednom hnízdě.



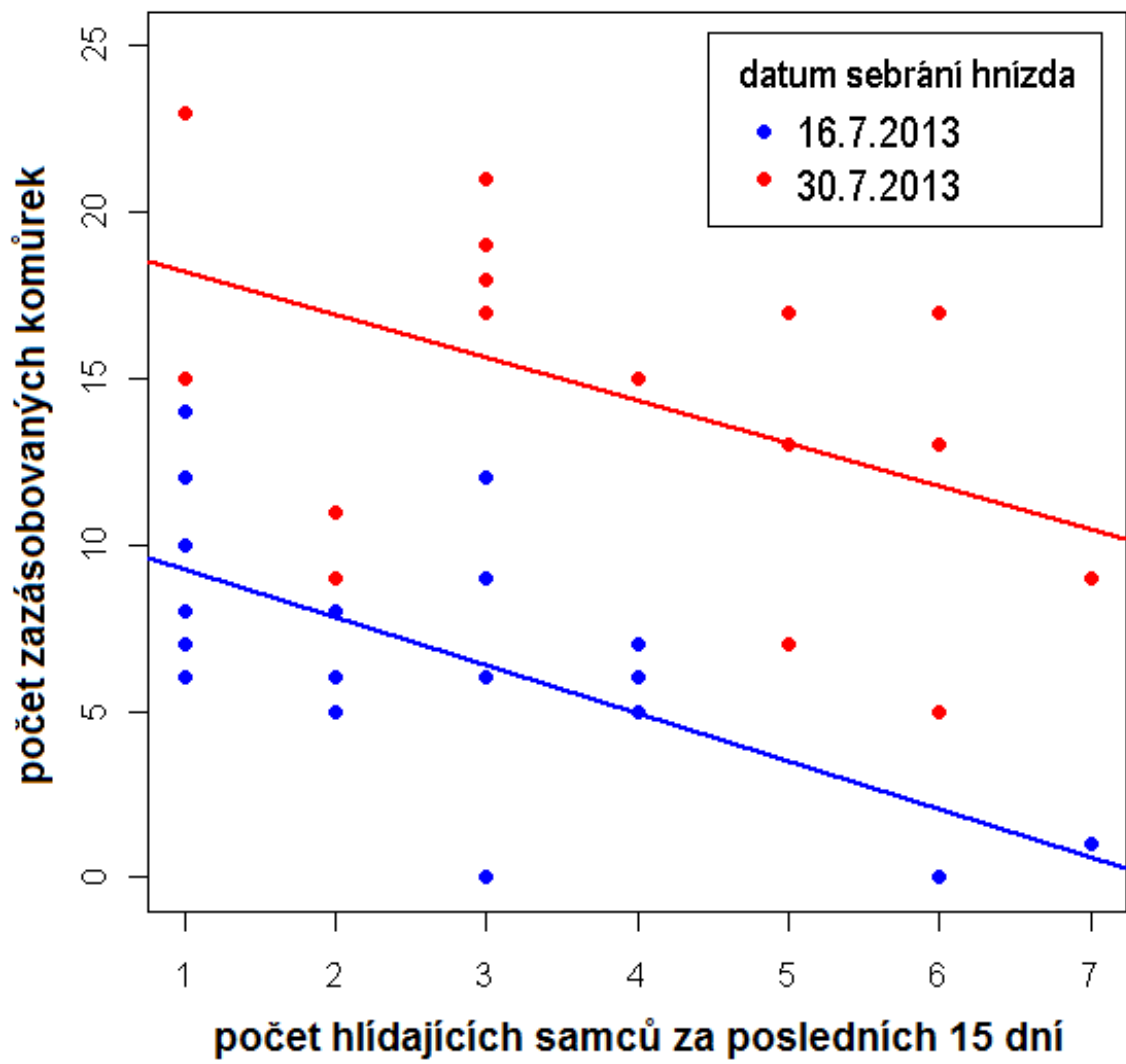
Obr. č. 23: Vybrané reprezentativní příklady střídání hlídajících samců v hnízdech *C. nigrolabiata* v průběhu hnízdní sezony. Stejný hlídající samec je v rámci jednoho hnízda vždy značen stejným odstínem. Písmeno značí faktickou barvu, kterou byl samec označen (C- červená, Z-zelená, L- žlutá, X- zlatá, B – bílá). Další značky: ? – z dat není možné odvodit, zda a jaký samec hnízdo hlídá, P – hnízdo nehlídáno, zazátkováno, F – hnízdo hlídáno pouze samicí.

5.7.2. Vliv střídání samců na velikost hnízda

Velikost hnízda je výrazně ovlivněna frekvencí střídání samců. Vliv střídání samců byl testován po odfiltrování termínu rozebírání a rušení hnízda, které vyšly vysoce signifikantně (tabulka č. 6). Čím je vyšší počet hlídajících samců za posledních 15 dní, tím menší je počet potomků v hnízdě (obr. č. 24). Tento jev je vysoce signifikantní (tabulka č. 6). Signifikantní je i v případě, že je dataset zúžen pouze na nerušená hnízda ($p=0.0004818$, $N=15$). Signifikantní je rovněž vliv počtu hlídajících samců v posledních deseti či pěti dnech (tabulka č. 6).

Tabulka č. 6: Výsledky lineárního modelu testujícího vliv různých faktorů na velikost hnízda *C. nigrolabiata*. Zvolen vždy plný model. Testovány vždy vliv termínu rozebírání (16.7. nebo 30.7), zda bylo hnízdo rušeno vytažením samců a počet hlídajících samců za určitý počet dní před rozebráním hnízda. Pro model testující vliv počtu samců za posledních 15 dní zobrazeny všechny charakteristiky, pro modely testující počet samců za posledních 10 a 5 dní zobrazeny pouze p hodnoty.

Faktor	Počet samců za 15 dní (N=38)					Za 10 dní (N=42)	Za 5 dní (N=46)
	Stupně volnosti	Suma čtverců	Průměrný čtverec	F	P	P	P
Termín rozebírání	1	561,6	561,6	55,347	0,000000	0,000006	0,000000
Hnízdo rušeno	1	177,1	177,1	17,454	0,000234	0,000096	0,000961
Počet samců za X dní	1	83,6	83,7	8,246	0,007424	0,006918	0,001343
termín*rušeno	1	57,1	57,2	5,632	0,024238	0,027751	0,005907
termín*počet samců	1	22,4	22,5	2,212	0,147328	0,242791	0,398582
rušeno*počet samců	1	23,8	23,8	2,343	0,136280	0,196871	0,946077
termín*rušeno*počet samců	1	5,0	5,0	0,495	0,487018	0,350475	0,563986
Reziduály	30	304,5	10,2				



Obr. č. 24: Vliv počtu samců za posledních 15 dní na počet potomků v hnízdě

5.7.3. Počet otců v hnízdech *C. nigrolabiata*

V jednom hnízdě jsou v naprosté většině případů potomci od více otců. Průměrný počet otců na hnízdo u plných a téměř plných hnízd byl 3,85 (N=48). Hnízda, kde byli zjištěni potomci pouze jednoho otce byla velmi vzácná a obvykle šlo pouze o hnízda, která měla maximálně dva potomky samičího pohlaví. V jednom případě bylo zjištěno hnízdo, ve kterém bylo všech devět dcer od jednoho otce. Nejčastěji ale byla zjištěna hnízda, kde měli potomky 2,3 či 6 otců. Maximální zaznamenaný počet otců na hnízdo byl 8 (obr. č. 25A).

Průměrný počet otců připadající na jednoho potomka samičího pohlaví v hnízdě byl 0,63. Častá byla především hnízda, kde vycházelo průměrně na jednoho samičího potomka 0,3-0,6 otce (obr. č. 25B). V 19,5% případů měl každý samičí potomek v hnízdě jiného otce. Obvykle šlo o hnízda s dvěma či třemi potomky samičího pohlaví, bylo ale zaznamenáno i hnízdo s pěti samičími potomky, kde měla každá dcera jiného otce.

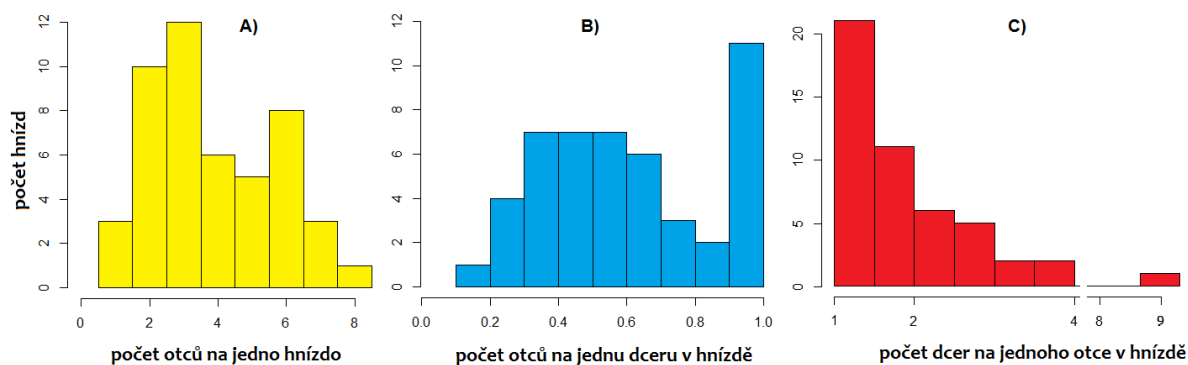
V průměrném hnízdě měl průměrný otec 1,98 dcery. Ve většině hnízd měl průměrný otec mezi 1-2 dcerami (obr. č. 25C)

5.7.4. Rozmístění potomků od jednotlivých otců v rámci hnízda

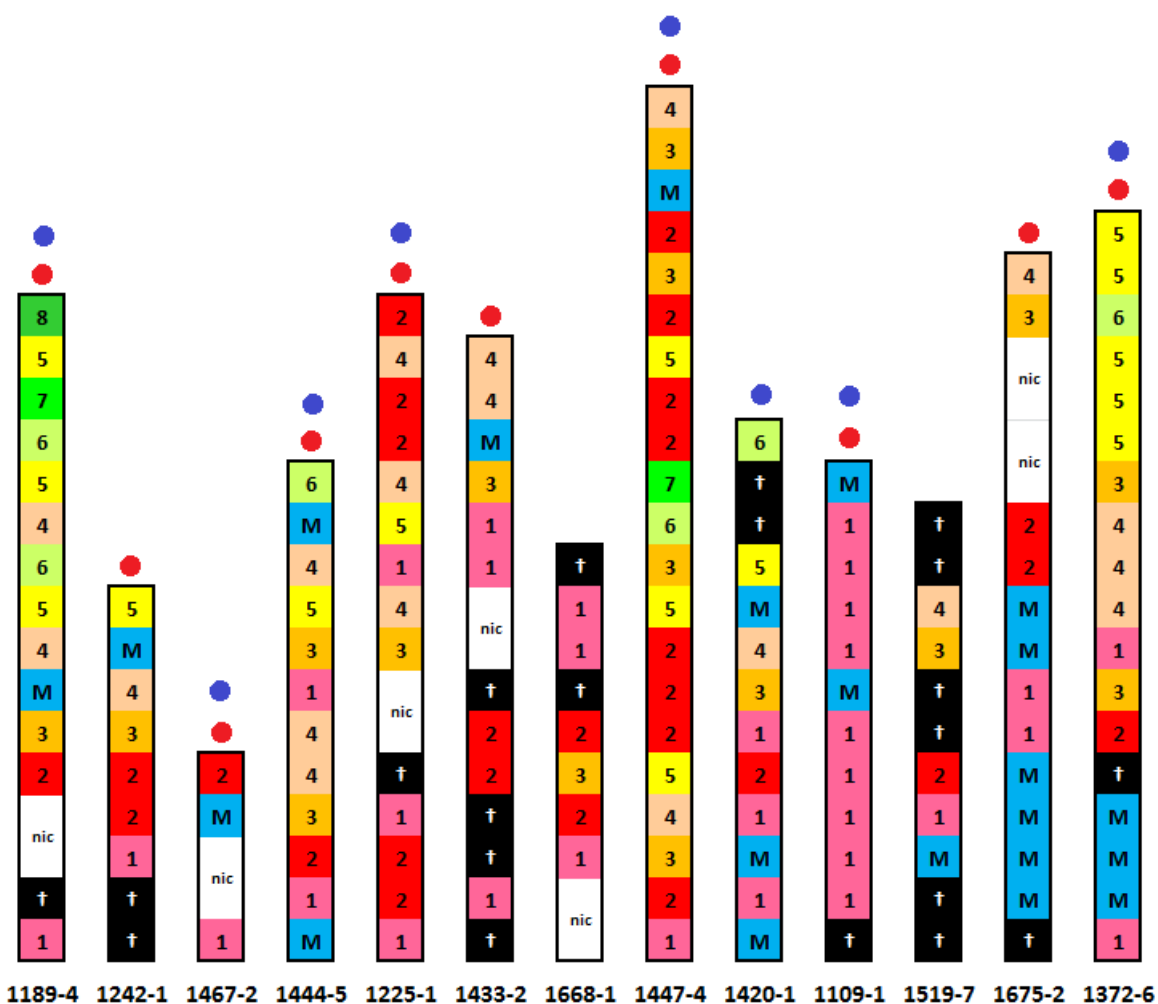
Pokud je v hnízdě více dcer od jednoho otce, obvykle nejsou všechny seřazeny přímo v komůrkách nad sebou, ale střídají se s dcerami dalších otců (obr. č. 26). Rozmístění není úplně náhodné, přece jen jsou častěji dcery od jednoho otce v komůrkách blízko sebe než na opačných koncích hnízda. Není rovněž zjevná souvislost mezi pozicí prázdných komůrek, či potomků samčího pohlaví rozmístěním dcer jednotlivých otců v rámci hnízda.

Zda mají dcery ze sousedních komůrek stejné otce, nespojuje výrazně s pozicí této komůrky v rámci hnízda (obr. č. 27A). Vztah mezi počtem otců na trojici sousedních komůrek obsahujících samičí potomky a pozicí komůrek v hnízdě není signifikantní a to při použití pozice jako lineárního prediktoru (lm, $p=0,685$, N=78), ani použití pozice jako kategoriálního prediktoru (anova, $p=0,147$, N=78). Pokud se ale srovnají tři vrchní a tři spodní komůrky se samičím potomstvem v rámci jednoho hnízda, tak signifikantně větší množství otců na tři samičí potomky je ve vrchních komůrkách (párový t-test, $p=0,00823$, N=24) (obr. č. 27B).

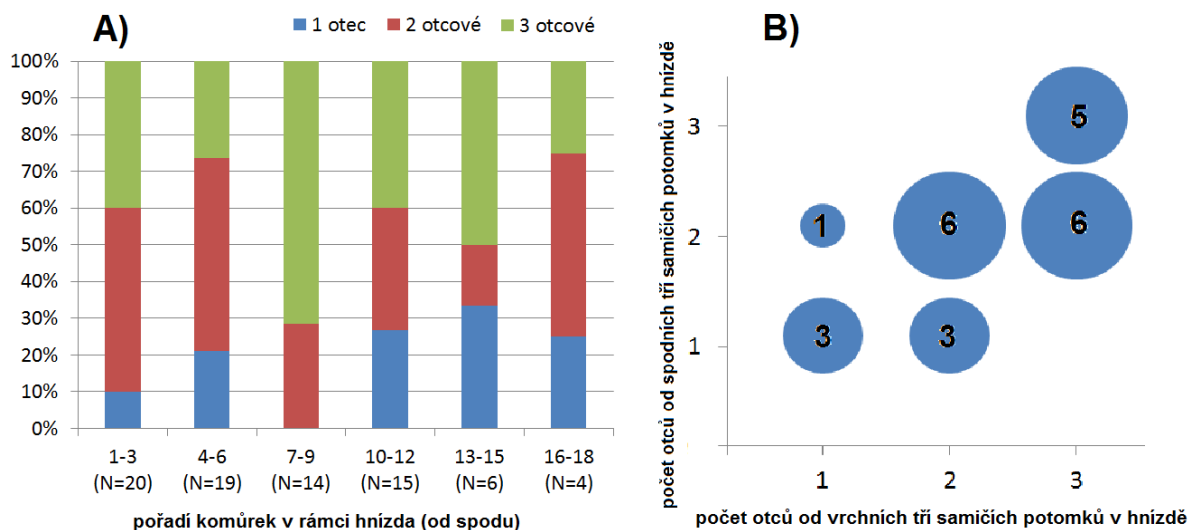
Rozdíly mezi hnízdy jsou mnohem výraznější, než rozdíly mezi vrchními a spodními pozicemi v rámci hnízd. Pokud je více otců na počet samic ve spodní části hnízda, tak je i ve vrchní. Korelace mezi počtem otců v nejspodnější a nejvrchnější trojici komůrek obsahujících samičí potomky je vysoce signifikantní (korelační test, $p=0,000160$ N=24) (obr. č. 27B)



Obr. č. 25: Histogram počtu samičích potomků v jednom hnízdě (A), průměrného počtu otců samičích potomků v jednom hnízdě přepočítaný na jednoho samičího potomka (B) a průměrného počtu dcer na jednoho otce v hnízdě (C) ve všech případech zahrnuta jen hnízda, kde je vstupní chodba kratší než 5 cm. U všech grafů byl počet analyzovaných hnízd 48.



Obr. č. 26: Vybrané reprezentativní příklady otcovství v plných či téměř plných hnízdech (vstupní chodba pod 5 cm). Každé hnízdo značeno samostatným obdélníkem. Spodní okraj obdélníku odpovídá spodnímu konci hnízda, vrchní vrchnímu. Stejnou barvou a stejným číslem je označena pozice samičích potomků od stejného otce v rámci jednoho hnízda. Modře a písmenem M je značena pozice samčích potomků. Křížkem a černě je značena pozice komůrek, kde potomek zemřel. Bíle a nápisem nic je značena pozice prázdných komůrek. Červené kolečko nad obdélníkem značí přítomnost hlídající samice, modré hlídajícího samce. Pod obdélníkem je napsán kód hnízda.



Obr. č. 27: Počet otců samičích potomků ve trojici sousedních komůrek v závislosti na pozici těchto komůrek v hnízdě. Pozice je počítána od spodu hnízda, tedy 1-3=1., 2., a 3. nejspodnější komůrka v hnízdě (A). Vztah počtu otců samičích potomků ve třech nejvyšších a třech nejnižších komůrkách v rámci hnízda. Číslo v kolečka znamená počet zaznamenaných hnízd, velikost kolečka tomu odpovídá (B).

5.7.5. Co souvisí s počtem otců v jednom hnízdě?

Zaznamenané střídání samců nemá zjevnou souvislost s tím, kolik samců v hnízdě zanechalo potomstvo. Nebyla zjištěna závislost mezi počtem otců vrchních pěti samičích potomků v hnízdě a počtem samců, kteří se v hnízdě vystřídali 10 dní před jeho rozebráním (korelační test, $p=0,457$, $N=18$).

Čím je větší počet otců připadající na jednoho potomka samičího pohlaví v hnízdě, tím je menší počet zásobovaných komůrek u plných a téměř plných hnízd. Vztah počtu zásobovaných komůrek a počtu otců na počet samičích potomků je vysoce signifikantní (tabulka č. 7, obr. č. 28A).

Čím je větší počet otců připadajících na jednoho potomka samičího pohlaví v hnízdě, tím je větší podíl samců (tedy jedinců vzniklých z neoplozených vajíček) v potomstvu. Vztah je vysoce signifikantní (tabulka č. 8, obr. č. 28B).

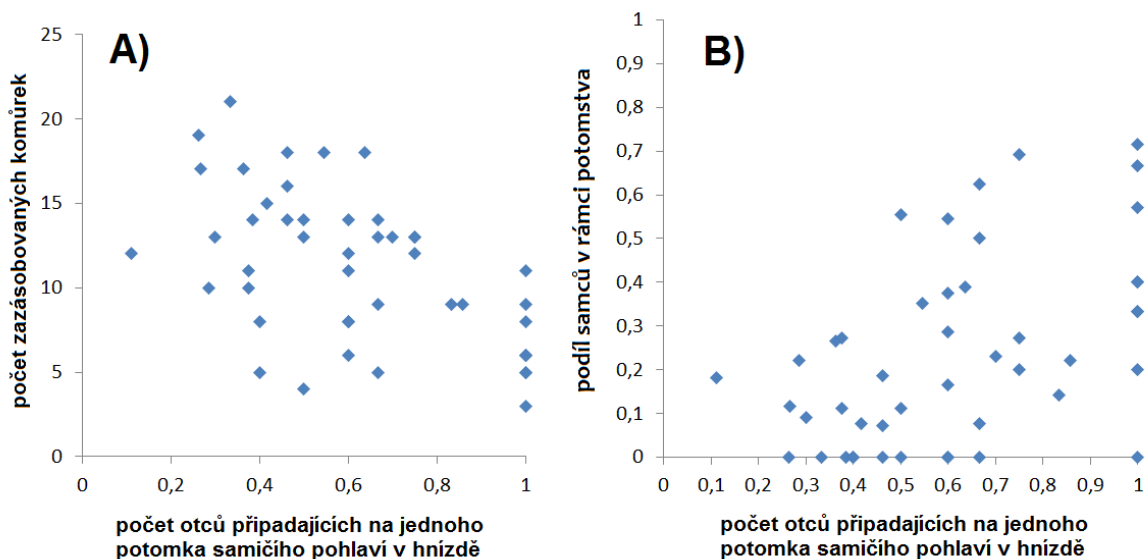
Nebyla zjištěna zjevná souvislost mezi příbuzenskou strukturou hnízda a přežíváním potomstva. Podíl přežívajících potomků není počtem otců připadající na jednoho potomka samičího pohlaví v hnízdě ovlivněn (GLM binomální rodiny, $p=0,7317$).

Tabulka č. 7: Výsledky lineárního modelu testujícího jevy ovlivňující počet zásobovaných komůrek u plných a téměř plných hnízd (vstupní chodba do 5 cm). Závislá proměnná byla do analýzy vložena ve zlogarizmnované formě.

Faktor	stupně	suma	průměrný	F	P
	volnosti	čtverců	čtverec		
počet otců připadající na jednoho potomka samičího pohlaví v hnízdě	1	2,6803	2,6803	30,1019	0,000002
Datum	1	2,9162	2,9162	32,7510	0,000000
podíl potomků samčího pohlaví	1	0,1969	0,1970	2,2190	0,144400
Reziduální variabilita	42	3,7397	0,0890		

Tabulka č. 8: Výsledky lineárního modelu testujícího jevy ovlivňující podíl samčího potomstva v hnízdě u plných a téměř plných hnízd (vstupní chodba do 5 cm).

Faktor	stupně	suma	průměrný	F	P
	volnosti	čtverců	čtverec		
počet otců připadající na jednoho potomka samičího pohlaví v hnízdě	1	0,4899	0,4899	13,6703	0,000626
Datum	1	0,0374	0,0374	1,0430	0,312968
počet zásobovaných komůrek	1	0,0359	0,0500	1,0021	0,322544
Reziduální variabilita	42	1,5052	0,0358		



Obr. č. 28: Počet zásobovaných komůrek v závislosti na počtu otců na jednu dceru v hnízdě (A), podíl samců v potomstvu v závislosti na počtu otců na jednu dceru v hnízdě (B)

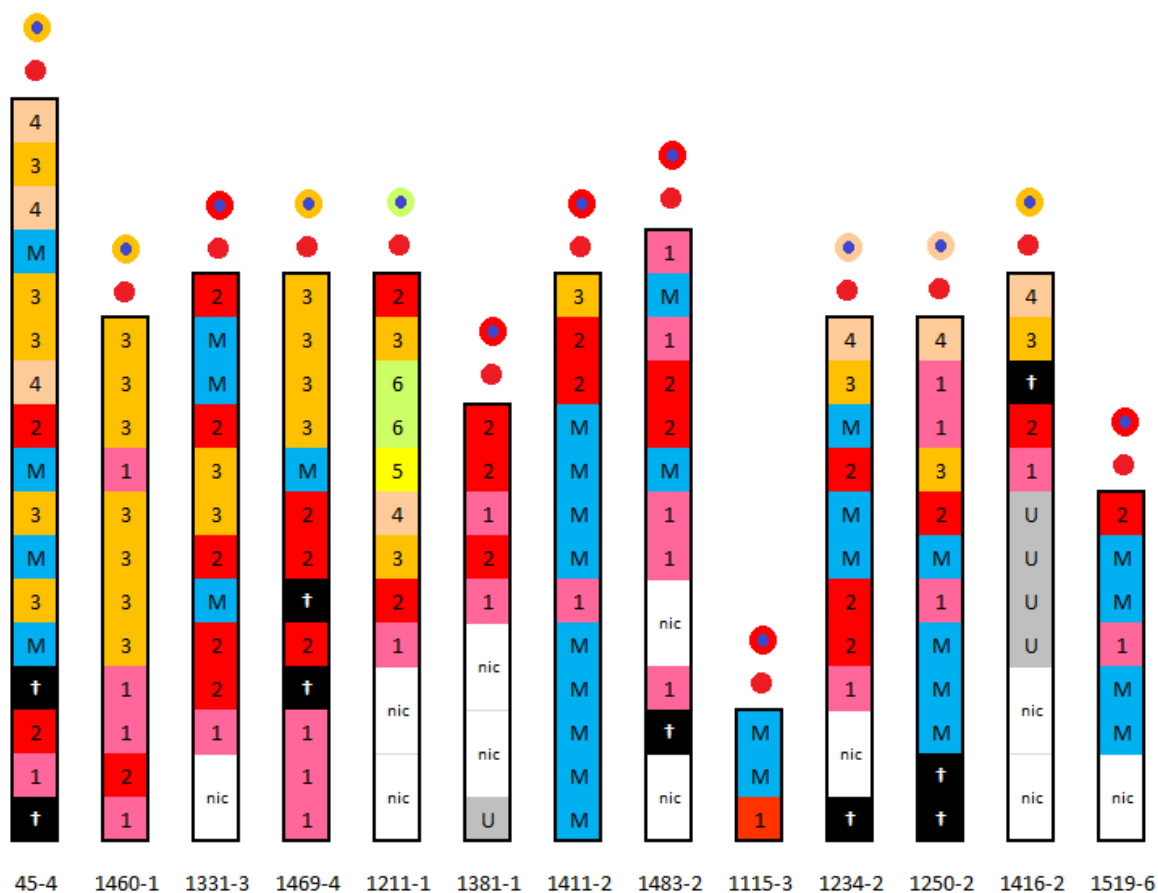
5.7.6. Jak často hlídá otec své vlastní potomky?

Hlídající samec je otcem potomků v daném hnízdě v naprosté menšině případů. V 14,29 % hnízd (N=91), které byli hlídány samcem i samicí, byl hlídající samec otcem alespoň některých samičích potomků. Podíl dcer hlídaných vlastním otcem byl 7,08 % (N=452). Celkový podíl potomků hlídaných otcem byl 5,61%. Ani v jednom případě nebyl hlídající samec otcem všech potomků v hnízdě. Nejvyšší zjištěný počet potomků hlídajícího samce je 7 z celkových dvanácti potomků v hnízdě. Ve většině případů, kdy samec hlídal alespoň nějaké potomky, byl počet hlídaných potomků 1 nebo 2 (obr. č. 29). Ve čtyřech případech hlídal samec potomky pouze samčího pohlaví, a tedy ani nemohl být otcem žádného z nich.

Hlídající samec byl otcem signifikantně častěji ve větších hnízdech ($p=0.00853$, GLM binomiální rodiny). Malá, zejména nově založená hnízda s jedním nebo dvěma potomky, nejsou nikdy hlídána otcem. Jeho potomci byli obvykle v horní, tedy novější části hnízda (obr. č. 29). Pokud měl hlídající samec alespoň jednoho potomka v hnízdě, tak byl poslední jedinec v hnízdě potomek hlídajícího samce v 53,84% případů (N=13). Jedinci ve spodní polovině hnízda byli hlídáni otcem jen v ojedinělých případech. Pokud měl hlídající samec více potomků v hnízdě, tak často, ale ne vždy, byli tito potomci v sousedních komůrkách.

5.7.7. Paternita samců hlídajících v průběhu hnízdění

Většina samců, od kterých byla střižena noha v průběhu hnízdní sezony, nezanechala ve hnízdech ve kterých hlídali žádné potomstvo. Potomstvo zanechalo 22,64% samců (12 z 53). V jednom hnízdě zanechal samec hlídající v průběhu sezony 9 potomků, v ostatních měli maximálně 1-2 potomky. Ve dvou hnízdech byly střiženy nohy dvěma otcům potomstva



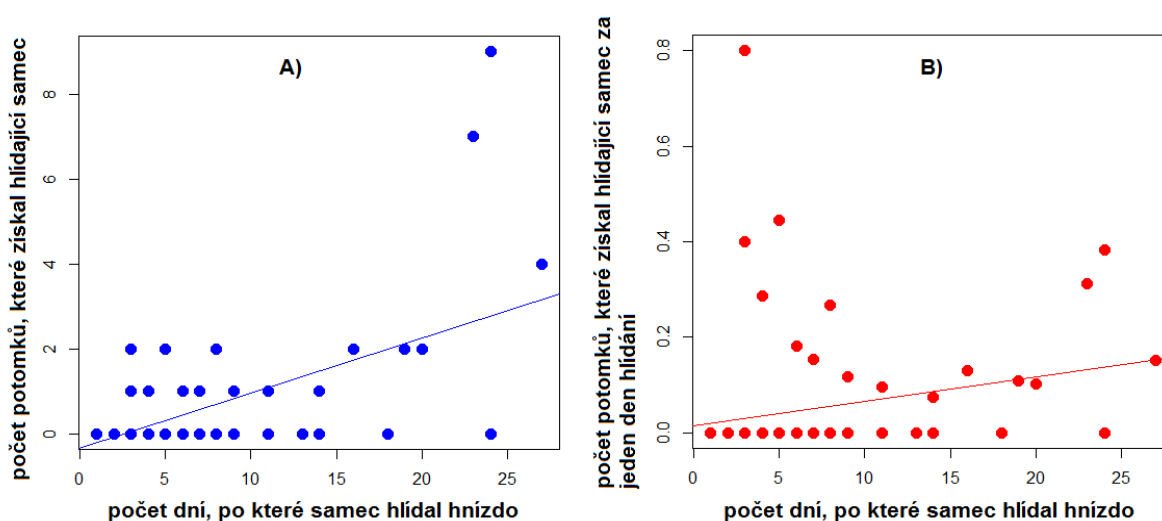
Obr. č. 29: Vybrané reprezentativní příklady otcovství v hnízdech, kde je hlídající samec otcem části potomků. Každé hnízdo značeno samostatným obdélníkem. Spodní okraj obdélníku odpovídá spodnímu konci hnízda, vrchní vrchnímu. Stejnou barvou a stejným číslem je označena pozice samičích potomků od stejného otce v rámci jednoho hnízda. Modře a písmenem M je značena pozice samčích potomků. Křížkem a černě je značena pozice komůrek, kde potomek zemřel. Bíle a nápisem nic je značena pozice prázdných komůrek. Červené kolečko nad obdélníkem značí přítomnost hlídající samice, kolečko s modrým středem hlídajícího samce. Vnější barva tohoto kolečka je stejná, jako je barva, kterou jsou značeni jeho samičí potomci. Pod obdélníkem je napsán kód hnízda.

5.7.8. Zisky samců z hlídání hnízda

Naprostá většina hlídajících samců (jak těch se stříženou nohou, tak těch hlídajících hnízdo v době rozebrání) nebyla otcem ani části potomstva.

Doba, kterou samec strávil v hnízdě, významně ovlivňuje množství potomků, které samec v tomto hnízdě má (Spearmanův korelační test, $p=0,0000007$, $N=100$)(obr. č. 30A). Samci, kteří strávili v hnízdě jeden nebo dva dny nikdy nezískali žádné potomky. K zisku potomků museli samci v hnízdě strávit alespoň tři dny. Samci, kteří strávili v hnízdě více než 15 dní, zanechali potomky v 70% případů ($N=10$). Čtyři a více potomků získali pouze samci, kteří v hnízdě strávili alespoň dvacet dní. Ani dlouhodobé hlídání ale potomstvo nezajišťuje. Byl zaznamenán samec, který strávil v hnízdě 24 dní, a přesto nezanechal žádné potomky.

Za jeden den hlídání hnízda získal samec průměrně 0,05 potomka. Pokud by získával potomky z hlídání s touto efektivitou po celou sezonu (tedy cca 45 dní), tak by díky hlídání získal 2,9 potomka. Efektivita zisku potomků z hlídání hnízda se významně zvyšuje s dobou, kterou samec v hnízdě strávil (Spearmanův korelační test, $p=0,0000065$, $N=100$)(obr. č. 30B). Rozptyl efektivity hlídání je ale velmi výrazný. Nejvyšší efektivity dosáhli někteří samci, kteří hlídali 3 a 5 dní a získali díky tomu dva potomky. Samci, kteří v hnízdě vydrželi déle než 15 dní tak získali díky hlídání průměrně za den 0,13 potomka. Pokud by hlídali po celou hnízdni sezonu s touto efektivitou, tak by získali 5,82 potomka. Není významný rozdíl mezi ziskem potomků z hlídání hnízda u samců, kterým byla střížena noha a samců, kteří byli získáni při rozebráním hnízda (Kruskal-Wallisův test, $p=0.2917$, $N=100$)



Obr. č. 30: Vztah počtu potomků, které získal samec díky hlídání a doby, po kterou hnízdo hlídal (A), Vztah počtu potomků, které získal samec průměrně za jeden den hlídání a doby, po které hnízdo hlídal.

5.8. Usurpace hnízd *C. nigrolabiata*

Z hnízd podrobených genetické analýze obsahovalo 8% (N=100) jedince, kteří nebyli potomci hlídající samice. Celkem 3,81% potomků (N=656) bylo hlídáno jinou samicí, než vlastní matkou. Ve dvou případech byli všichni jedinci v hníždě potomky jiné než hlídající samice. Ve všech případech byli potomci nehlídající samice ve spodní (starší) části hnízda (obr. č. 31). Ani v jenom případě se v pořadí v rámci hnízda nestřídali potomci více samic. V hníždě, kde byli potomci od dvou samic, tak byli potomci nehlídající samice podstatně starší, než potomci hlídající samice (např. potomci předchozí samice larvy v instaru L4, potomci nové samice larvy v instaru L1 či vajíčka). V některých hnízdech byl na stěnách patrný rozmazaný pyl, který indikuje to, že byla část potomků původní samice novou samicí odstraněna.



Obr. č. 31: Příklad hnízda *C. nigrolabiata*, u kterého došlo k usurpaci. Potomci ve spodní polovině hnízda jsou podstatně starší než ti v horní polovině, dokonce je tam již jeden juvenilní dospělec. Pomocí genetických analýz bylo ověřeno, že potomci ve spodní polovině hnízda nejsou potomky od hlídající samice. Hlídající samec byl otcem 2. potomka od svrchu v novější části hnízda.

6. Diskuse

6.1. Hnízdní struktura plného hnízda

6.1.1. Počet zazásobovaných komůrek

Počet zazásobovaných komůrek na hnízdo je hlavním měřítkem úspěšnosti daného hnízda. Je determinován dvěma faktory: 1) délkou hnízda a 2) hustotou potomků v rámci hnízda. Hustota potomků v rámci hnízda je ovlivněna délkou komůrek, šířkou přepážek a přítomností prázdných komůrek.

U včel rodu *Ceratina* se v plných hnízdech vyskytuje průměrně okolo šesti potomků. U druhu *C. calcarata* byl průměrný zjištěný počet 6,9 (Rehan & Richards, 2010b), u druhu *C. australensis* 5,5 (Rehan & al., 2010b)

Z námi zkoumaných druhů, měla v průměru nejvíce zazásobovaných komůrek *C. cucurbitina*, a to přibližně 9 komůrek. Je pravděpodobné, že u tohoto druhu je počet zazásobovaných komůrek jen málo ovlivněn vnějšími podmínkami, což ukazuje za prvé malá variabilita v počtu komůrek během jednoho roku a za druhé i malá variabilita mezi sezonami. Počet zazásobovaných komůrek nikdy nepřesáhl 15.

U druhu *C. nigrolabiata* je průměrný počet zazásobovaných komůrek o něco nižší než u *C. cucurbitina*. U *C. nigrolabiata* byl ale zaznamenán největší počet zazásobovaných komůrek v plném hnízdě, a to 20. Maximální počet komůrek, který tento druh může vytvářet, je ale ještě vyšší než 20, jelikož bylo zaznamenáno vylétávající hnízdo s dosti zachovalou strukturou, které pravděpodobně obsahovalo 23 komůrek a aktivní hnízdo, které obsahovalo 21 komůrek. Pro výrazně dlouhá hnízda *C. nigrolabiata* je obvyklé, že nejstarší potomci v dolní části hnízda jsou již ve stádiu juvenilního imaga, zatímco nejmladší potomci v horní části hnízda jsou teprve vajíčka či larvy mladších instarů. Je tedy pravděpodobné, že výskyt hnízd s extrémně velkým počtem potomků je podhodnocen, protože se tato hnízda vlastně nikdy nevyskytují ve stádiu plného hnízda, a obvykle lze pouze u plných hnízd dobře určit počet zazásobovaných komůrek.

Počet zazásobovaných komůrek u *C. nigrolabiata* je pravděpodobně dosti ovlivněn vnějšími podmínkami. Mezi jednotlivými plnými hnízdy je velká variabilita v jejich počtu. Zároveň je nejspíše velká variabilita i mezi roky - v roce 2012 bylo v plných hnízdech podstatně méně zazásobovaných komůrek než v roce 2013. Předběžná data z roku 2014 rovněž ukazují nižší počet zazásobovaných komůrek. Je možné, že příznivé klimatické podmínky (červenec 2013 byl velmi teplý a téměř bez srážek) umožnily v tomto roce výrazně dlouhá hnízda *C. nigrolabiata*.

Počet zazásobovaných komůrek *C. chalybea* je obvykle 6-7. U tohoto druhu nikdy nebyl zaznamenán počet zazásobovaných komůrek vyšší než 11. Hnízda s extrémně malým počtem komůrek (obvykle 3) má druh *C. cyanea*. U tohoto druhu byla relativně častá hnízda s pouze jednou zazásobovanou komůrkou.

Počet zásobovaných komůrek na hnízdo souvisí s biologickou zdatností dané samice. Biologická zdatnost dané samice ale není počtem zazásobovaných komůrek na hnízdo plně determinována, protože potomci v některých zazásobovaných komůrkách mohou zemřít, a také proto, že samice může vytvořit více hnízd za sezonu. U všech v rámci této práce studovaných druhů je pravděpodobné, že dokáží vytvořit více hnízd za sezonu.

6.1.2. Délka hnízda

Různé druhy včel rodu *Ceratina* se mohou dosti lišit v délce plného hnízda. Ta se může pohybovat od 3 do 84 cm (Shiokawa, 1966). Zde studované druhy se rovněž v délce plného hnízda liší. Nejdelší hnízdo má *C. chalybea*. To není vzhledem k její velikosti tolik překvapivé – jde o největší námi studovaný druh. Délka hnízd *C. chalybea* je ale podstatně větší, než by bylo z prostorových důvodů nutné. To zřejmě souvisí se strategií vytváření prázdných komůrek (viz níže).

Ceratina cucurbitina a *C. nigrolabiata* mají středně dlouhá hnízda, přibližně okolo 14 cm. Nejkratší hnízda, dlouhá asi 8 cm má *C. cyanea*.

Délka hnízda je dosti ovlivněna kvalitou a délkou hnízdního substrátu. Je tedy možné, že v nabídnutých uměle připravených stoncích měly včely rodu *Ceratina* jinou délku hnízda, než jakou by měly v přirozených hnízdních příležitostech. U druhu *C. chalybea* byla zjevně délka limitována délkou stonků. Protože stonky ve snopcích byly dlouhé 35 cm, tak nemohla být zaznamenána hnízda delší. V několika případech šla chodba hnízda až téměř k spodnímu konci stonku, což naznačuje, že délka hnízda byla opravdu délkou hnízdní příležitosti omezena. Tyto případy nebyly příliš časté, stejně tak jako pozorování hnízd v přirozených substrátech delších než 35 cm. Ve výjimečných případech se ale mohou vyskytovat i hnízda podstatně delší, o čemž svědčí nález přirozeného hnízda dlouhého 69 cm. U druhů *C. cucurbitina* a *C. nigrolabiata* je naopak možné, že jim umělé hnízdní příležitosti umožnily dělat delší hnízda, než je pro ně obvyklé. Přirozená hnízda se obvykle nacházela v krátkých stoncích pelyňků či chrp.

6.1.3. Prázdné komůrky

Mezi zazásobovanými komůrkami se mohou vyskytovat komůrky prázdné, přičemž jejich přítomnost a četnost je druhově specifická (Rehan & al., 2009; Shiokawa, 1969, 1966). Účelem prázdných komůrek může být obrana proti parazitům (Münster-Swendsen & Calabuig, 2000; Tepedino & al.,

1979). Mezi zde situovanými druhy jsou rovněž výrazné odlišnosti v množství a rozmístění prázdných komůrek.

Prázdné komůrky by měly být určitě efektivní obrana proti švábomorům (*Gasteruption* sp.), kteří kladou vajíčka do hnízda hostitele vchodem, nikoliv přes stěnu stonku. Jestliže nakladou vajíčko do prázdné komůrky, zahyne. Naopak chalcidky (*Chalcidoidea*) kladou vajíčka do hnízda přes stěnu stonku. Pokud jsou schopny lokalizovat, kde se nachází zazásobovaná komůrka, neměly by být prázdné komůrky efektivní obrana proti nim, pokud ale zazásobované komůrky přesně lokalizovat nedokáží, mohou být prázdné komůrky efektivní obranou.

Prázdné komůrky mohou také přípaně efektivně působit proti šíření vláknitých hub, protože vláknité houby nemají v komůrkách substrát, na kterém by mohly růst.

Prázdné komůrky se téměř nevyskytují u druhu *C. cucurbitina*. Hlíďající samice od tohoto druhu jsou jako u jediného zde studovaného druhu schopné prolézat hnízdem, a tedy zřejmě i čistit potomky od parazitoidů. Ostatní druhy mají prázdné komůrky podstatně častěji a zároveň matka nedokáže prolézat skrz přepážky a kontrolovat potomstvo.

Nejvíce rozšířené jsou prázdné komůrky u druhu *C. chalybea*. Jen velmi vzácně spolu sousedí dvě za zásobované komůrky, obvykle je mezi nimi alespoň jedna prázdná komůrka. Většina hnízda *C. chalybea* je vlastně naplněná pouze vzduchem. Hnízda *C. chalybea* jsou oproti druhům *C. cyanea* a *C. nigrolabiata* podstatně více parazitována chalcidkami (*Chalcidoidea*), ale podstatně méně švábomory (*Gasteruption* sp.).

Pokud *C. cucurbitina* vytváří prázdné komůrky, tak vyskytují se úplně na dně hnízda. Později matka do spodní části hnízda transportuje trus. Prázdná komůrka na spodu hnízda může tedy být užitečná proto, aby bylo pro trus dostatek prostoru.

C. nigrolabiata má velmi krátké zásobované a naopak velmi dlouhé prázdné komůrky. V prázdné komůrce se občas může vyskytovat malé množství doneseného pylu, což naznačuje, že tvorba prázdné komůrky není plánována dopředu. Tvorba dlouhé prázdné komůrky může tedy být reakcí na nějaký stres, například na klimatickou změnu, vyhocení konfliktu mezi samcem a samicí, či něco jiného.

6.1.4. Přepážky mezi komůrkami

Nejmasivnější přepážky vytváří *C. chalybea*, což souvisí nejspíše s její velikostí. Nejjemnější přepážky vytváří *C. cucurbitina*. V průběhu hlídání plného hnízda pak samice skrz přepážky prolézá a kontroluje potomstvo. Z tohoto důvodu je užitečné, že přepážky nejsou příliš masivní. Zároveň jsou u starších plných hnízd po pravidelném prolézání hnízda samicí téměř rozpadlé.

Druhy *C. chalybea*, *C. cyanea* a *C. nigrolabiata* jsou schopny vnější přepážku udělat až několik centimetrů silnou. Tvorba této zátky souvisí se strategií opuštění hnízda (viz kapitola hlídání plného hnízda).

Schopnost samice prolézat skrz přepážky je u včel rodu *Ceratina* obvyklá a nejspíše se jedná o původní stav (Rehan & Richards, 2010b). Ztráta této schopnosti způsobuje problém s akumulací trusu v komůrkách se starými larvami a kuklami. Tento problém nejsou druhy *C. chalybea* a *C. cyanea* schopny nijak řešit a jejich starší potomstvo je poté trusem obaleno. U *C. nigrolabiata* se vyvinula nová strategie vedoucí k odstranění trusu. Starší larvy, pravděpodobně pomocí svých zadečků, proděraví spodní tenké, ale pevné přepážky, a těmito otvory pak propadá trus na larvy či kukly pod nimi. Zastaví se buď v prázdné komůrce, v komůrce, kde nějaký potomek zemřel, nebo u nejspodnější položeného potomka.

6.2. Kompetice a rozdělení nik mezi druhy rodu *Ceratina*

Studované druhy rodu *Ceratina* se sice v řadě aspektů liší, ale jejich celková ekologie je velmi podobná a jejich ekologické niky se značně překrývají. Existuje výrazná kompetice o vhodná místa k hnízdění, což ukazuje relativně velké množství vnitrodruhových i mezidruhových usurpací hnízd. Určité rozdíly v preferovaném substrátu a mikrohabitatu pravděpodobně pomáhají kompetici snížit. *C. cyanea* má pravděpodobně od ostatních druhů nejodlišnější niku – začíná hnízdit nejdříve a preferuje pravděpodobně spíše stonky na skrytějších místech. Nejspíše bude také druhem, který je nejvíce tolerantní k vlhkosti. Vzhledem k malému množství nalezených hnízd je toto ale obtížné hodnotit.

Ceratina chalybea si ze všech druhů vybírá k hnízdění stonky s největším průměrem dřeně. Tato situace je sice logická vzhledem k tomu, že jde o největší druh, často ale hnízdí ve stoncích s výrazně větším průměrem duše, než jak širokou si v něm vyvrtá chodbu. *Ceratina cucurbitina* a *C. nigrolabiata* obvykle hnízdí ve stoncích s šířkou duše podobnou, jaká je šířka chodby, kterou potřebují. Důvodem může být to, že hnízda ve stoncích s větším průměrem duše by jim s větší pravděpodobností usurpovala *C. chalybea*, která je díky své velikosti nejsilnější, ale zároveň se do stonků s tenčí duší nevejde.

Kompetice mezi jednotlivými druhy je pravděpodobně snížena i odlišnými preferovanými mikrohabitaty. *Ceratina cucurbitina* obvykle zahnízdila spíše ve snopcích, které čněly více nad okolní vegetací. Naopak *C. nigrolabiata* si spíše vybrala snopky, které v ní byly skrytější. Často si také vybírala nejkratší stonek v rámci snopku. Mezidruhové rozdíly v preferovaných mikrohabitátech na stejných lokalitách žijících včel rodu *Ceratina* uvádí také (Sakagami & Maeta, 1987).

6.3. Hlídání plného hnízda

Potomstvo je u včel možné buď krmit průběžně, nebo pro něj připravit potravu a poté ho opustit. U blanokřídlých jsou tyto strategie obvykle označovány jako postupné zásobování (progressive provisioning) a jednorázové zásobování (mass provisioning). Zatímco druhy s progressive provisioning zásobují potomky průběžně, tak mass provisioners jim připraví potravu a poté je uzavřou v komůrce (Field, 2005; Michener, 2007). Pro mass provisioners je typická nepřítomnost subsociality, tedy přímého kontaktu mezi rodiči a potomky (Michener, 2007).

Včely rodu *Ceratina* se vyznačují zajímavou kombinací obou strategií. Typ zásobování larev je typický mass provisioning, samice ale obvykle hlídá potomstvo až do dospělosti, prolézá hnízdem a kontroluje při tom potomstvo. Je tedy možné je považovat za subsociální (Rehan & Richards, 2010b). Z námi studovaných druhů byla tato strategie zjištěna u *C. cucurbitina*.

U ostatních zkoumaných druhů je hlídání plného hnízda fakultativní a prolézání hnízdem nebylo zaznamenáno. U druhu *C. nigrolabiata* nebyl fyzický kontakt mezi matkou a jejími nedospělými potomky zaznamenán vůbec.

Ve většině hnízd, které byly hlídány matkou u druhů *C. chalybea* a *C. cyanea* nebyla poslední komůrka uzavřená. V důsledku toho byla matka ve fyzickém kontaktu s tímto jedním potomkem. Tyto druhy je tedy možné hodnotit jako částečně subsociální.

Strategie zadržování a opuštění hnízda dosud nebyla u rodu *Ceratina* detekována. Samice u všech dosud studovaných včel rodu *Ceratina* hlídají své potomstvo až do dospělosti (Rehan & al., 2010b; Sakagami & Maeta, 1984). Předchozí studie zabývající se včelami rodu *Ceratina* sice aktivní či plná hnízda bez hlídající matky zaznamenaly, ale autoři takové situace interpretují jako náhlé osiření, nikoliv cílenou strategii daných druhů (Rehan & al., 2009; Sakagami & Maeta, 1977). Vzhledem k tomu, že *C. chalybea*, *C. nigrolabiata* a *C. cucurbitina* jsou společně řazeny do podrodu *Euceratina* (Terzo, 1998), a jsou si tedy velmi pravděpodobně blízce příbuzné, lze předpokládat, že fakultativní opuštění hnízda je v rámci rodu *Ceratina* sekundární záležitostí.

Péče o potomstvo obvykle spíše svou komplexitu zvyšuje, reverze k jednoduššímu typu je neobvyklá (Smiseth & al., 2012). Zde dokumentovaná situace ale svědčí o výrazném zjednodušení péče o potomstvo, kdy nejdříve došlo ke ztrátě eusociality, poté ztrátě kontroly schopnosti kontrolovat potomky, a nakonec k fakultativnímu záměrnému opuštění potomstva před jeho dospělostí.

6.3.1. Funkce hlídání hnízda

Experimenty, v rámci nichž byly odstraněny hlídající samice po dokončení zásobování hnízda, ukázaly, že hlídání hnízda má zásadní efekt na přežití potomstva. Hnízda, ve kterých byla samice odstraněna, selhala s mnohem větší pravděpodobností u druhů *C. chalybea* i *C. cucurbitina*. U druhu *C. chalybea*

rovněž přežívali potomci lépe v hnízdech, které jejich matka hlídala, než ta, která opustila. Výrazně větší mortalitu potomstva u náhle osiřelých hnízd uvádí i (Sakagami & Maeta, 1977).

Výraznější zaznamenaný efekt odstranění samice byl u druhu *C. cucurbitina*. Tato skutečnost vzhledem k tomu, že u *C. cucurbitina* je hlídání obligátní, zatímco u *C. chalybea* fakultativní není překvapivá. Zatímco druh *C. cucurbitina* má velmi jemné přepážky mezi komůrkami, tak *C. chalybea* má přepážky masivnější. Hnízdo *C. cucurbitina* je proto mnohem více náchylné na narušení přirozenými nepřáteli.

Predace mravenci je pravděpodobně hlavní příčina selhání nehlídaného hnízda. Jde zřejmě o podhodnocený jev, protože zničena mravenci byla nejen hnízda, v nichž byla přítomnost mravenců zaznamenána, ale i hnízda, ve kterých nebyly zaznamenány žádní potomci ani piliny. Mravenci zřejmě veškerý obsah, včetně pilin, vynesou z hnízda ven. U druhu *C. chalybea* postupuje ničení hnízda nejspíše podstatně pomaleji než u *C. cucurbitina*, protože má tlustší a pevnější přepážky mezi komůrkami. U druhu *C. chalybea* nebyl signifikantní rozdíl v napadení mravenci mezi hnízdy s odstraněnou samicí a kontrolními hnízdy. Je ale dosti pravděpodobné, že je to dáno nedostatečným počtem pozorování.

Pro druh *C. cucurbitina* byla další velmi výraznou příčinou selhání nehlídaného hnízda přítomnost parazitů, tedy konkrétně chalcidek (Chalcidoidea). V hnízdech, kde byla odstraněná samice, se parazitace chalcidkami vyskytovala dosti často, naopak v hnízdech hlídající samicí nebyly chalcidky nikdy nalezeny. Je velmi pravděpodobné, že hlídající samice *C. cucurbitina* zvládne všechny parazitující larvy chalcidek ze svých potomků odstranit při jejich kontrole uvnitř hnízda.

U druhu *C. chalybea* byly rozdíly mezi hnízdy s odstraněnou samicí a kontrolními hnízdy v parazitovanosti chalcidkami nesignifikantní. O něco více ale byla parazitována hnízda s odstraněnou samicí. Je otázka, zda je nesignifikantní výsledek daný malým počtem pozorování v kombinaci se slabším efektem, nebo tím, že samice *C. chalybea* neumí své potomky před chalcidkami bránit. U *C. chalybea* samice zjevně neumí prolézat hnízdo a čistit potomky od parazitů. Je ale možné, že hlídání pomáhá potomkům nějakým jiným způsobem. V některých situacích vytváří hlídající samice vibrace, které jsou i slyšitelné. Je možné, že tyto vibrace stěžují kladoucím samicím chalcidek kladení vajíčka přes stěnu hnízda.

Usurpace hnízda byla nejvýznamnějším jevem, který zapříčinil selhání nehlídaného hnízda *C. chalybea*. Naopak u druhu *C. cucurbitina* byl vliv usurpace nesignifikantní. Je ale pravděpodobné, že je to dáno spíše malým počtem pozorování a celkovou vzácností jevu u *C. cucurbitina*, než tím, že by hlídání hnízda nemělo vliv na pravděpodobnost usurpace hnízda.

6.3.2. Fakultativní hlídání hnízda

Rodiče při péči o potomstvo řeší dilema, do jaké doby je výhodné o potomstvo stále pečovat a kdy je výhodné ho opustit. V tomto rozhodnutí hraje hlavní roli trade-off mezi investicí do současného potomstva a možností reprodukce v budoucnosti (Mas & Kölliker, 2008). Tedy rodiče řeší otázku, kdy je vhodné péči ukončit a je lepší investovat do další reprodukce. Lze předpokládat, že čím jsou potomci mladší, tím je pro ně péče důležitější (Mas & Kölliker, 2008).

Fakultativní hlídání hnízda umožňuje studovat faktory, které ovlivňují rozhodnutí, kdy je výhodné potomstvo opustit. U *C. chalybea* a *C. cyanea* se samice velmi pravděpodobně musí rozhodnout před tím, než hnízdo dokončí. To, zda samice hlídá, či nikoliv, tak úzce souvisí s architekturou hnízda – zatímco u hlídaných hnízd je komůrka s posledním potomkem neuzavřená, u nehlídaných hnízd je uzavřená silnou pilinovou zátkou. Samice může ale za určitých okolností rozhodnutí změnit. Pokud je hlídající samice vystresovaná, tak může dodatečně vytvořit zátku nad zásobami pro posledního potomka. Tato situace ale pravděpodobně vzhledem výrazně rozdílné architektuře hlídaných a nehlídaných hnízd dosti vzácná.

Pro rozhodnutí, zda je výhodné potomstvo opustit je důležitý počet potomků, které v hnízdě zanechá. U druhu *C. chalybea* platí, že čím je počet potomků v hnízdě větší, tím je hnízdo hlídáno s větší pravděpodobností. Se vzrůstajícím počtem potomků v plném hnízdě vzrůstají zisky samice. Čím více potomků uchrání, tím víc se jí zvýší více biologická zdatnost. Zároveň ale nedochází k nárůstu nákladů – hlídání ve vchodu hnízda je stejně náročné ať hlídá jednoho či více potomků, a náklady se projevují především ve ztrátě času, který je možný věnovat péči o potomstvo v dalším hnízdě. Vliv počtu hlídaných potomků na hlídání hnízda tedy není překvapivý.

Hlídání hnízda u *C. chalybea* bylo rovněž ovlivněno hnízdním substrátem, ve kterém samice hnízдила. Hnízda ve stoncích slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus*) byla méně často hlídána než hnízda v bělotrnu (*Echinops sphaerocephalus*) a celíku (*Solidago* spp.) Důvodem může být to, že topinambur je díky své větší tloušťce a relativně pevné kůře vhodnější pro tvorbu zátky než ostatní substráty.

U druhu *C. nigrolabiata* plné hnízdo může být hlídáno samicí, samcem, párem, nebo nehlídáno. Není zjevný vztah mezi hnízdní architekturou a hlídáním plného hnízda. Matka pravděpodobně hlídá hnízdo po nějaký čas, pak ho opustí. Hlídající samec téměř nikdy není otcem potomstva (viz kapitola pářící systém a obourodičovská péče u *C. nigrolabiata*), tedy spíše v plném hnízdě čeká na pářící příležitost se samicí, nebo se tam jen ukrývá. Hlídání plného hnízda nemusí být pro *C. nigrolabiata* tak důležité vzhledem k rychlému vývoji u tohoto druhu - u řady hnízd byli již přítomni ve spodní části hnízda mladí juvenilní jedinci v době, kdy bylo hnízdo zásobováno. Plná hnízda se tedy vyskytují po dosti krátkou dobu, juvenilní dospělci začnou prolézat hnízdem nahoru a rozbourají přepážky.

Juvenilní dospělci byli často nalezeni nad larvami či kuklami a pravděpodobně rovněž mohou zajistit hlídání hnízda.

Řada druhů rodu *Ceratina* je schopno hnízdit vícekrát za sezonu (Rehan & al., 2010b; Sakagami & Maeta, 1984). Samice se pak mohou rozhodnout, zda investují do menšího počtu hnízd s více potomky, nebo většího počtu hnízd s méně potomky. Druhy podrodu *Euceratina* mohou navíc učinit rozhodnutí, zda potomstvo hlídat do dospělosti či nikoliv. Vzhledem k tomu, že vývoj potomstva u včel rodu *Ceratina* trvá asi 20-50 dní (Michener & Eickwort, 1966; Rehan & Richards, 2010a), tak opuštění hnízda po jeho dozásobování výrazně zvyšuje počet hnízd, které může samice během sezony založit. Extrémním případem je v tomto *C. cyanea*, která staví hnízda s velmi malým množstvím potomků (průměrně 2,83). Plná hnízda se ovšem vyskytují po dosti dlouhé období (od konce června do konce srpna), je tedy pravděpodobné, že samice zvládne vytvořit alespoň 3-4 hnízda za sezonu.

Strategie se zazátkováním a opuštěním hnízda může být pravděpodobně mnohem úspěšnější v mírném pásu než v tropech. Jedním z důvodů je výrazně větší predační tlak mravenců v tropech (Jeanne, 1979). Důležité je rovněž to, že v tropických oblastech poté, co samice skončí s hlídáním hnízda, budou mít vhodné podmínky pro další hnízdění s mnohem větší pravděpodobností než v mírném pásu. V mírném pásu je délka sezony podstatně kratší, a samice si s případným dalším hnízděním musí pospíšet.

6.4. Samčí chování a pářící strategie *C. chalybea*, *C. cucurbitina* a *C. cyanea*

U všech studovaných druhů byly zaznamenány sexuální interakce pouze v okolí hnízd. Částečně může být důvodem to, že mimo hnízda nebyly včely rodu *Ceratina* intenzivně sledovány. Sbíráni potravy z různých rostlin bylo ale pozorováno pravidelně. Rovněž i samci živící se na květech byli často zaznamenáni (M. Mikát, J. Straka vlastní pozorování). Pokud by tedy docházelo k sexuálním interakcím v okolí zdrojů potravy, tak by pravděpodobně tyto interakce byly alespoň někdy zaznamenány.

To, že se sexuální aktivita vyskytuje především v okolí hnízd, není překvapivé. Pro samce je výhodné hledat samice tam, kde se samice vyskytují s největší pravděpodobností, či kde se agregují (Emlen & Oring, 1977). Vzhledem k tomu, že včely rodu *Ceratina* létají na široké spektrum rostlin (Shiokawa, 1969), tak pro ně pravděpodobně není potravní nabídka zásadním limitujícím faktorem. Limitující je pro ně spíše množství hnízdních příležitostí, což podporují jednak časté zaznamenání usurpace

hnízda, a také to, že v uměle nabídnutých hnízdních příležitostech v rámci experimentů zahnízdily včely rodu *Ceratina* v dosti velké a komůrdanci.

U žádného námi studovaného druhu nebylo zdokumentováno páření mladých jedinců na podzim, jež uvádí (Kidokoro & al., 2006) u druhu *C. flavipes*.

Samci druhu *C. cucurbitina* se vyskytují ve větší míře pouze před začátkem hnízdní sezony. Z toho lze usuzovat, že k páření dochází pouze v této době. Vzhledem k chování samců a samic je ale pravděpodobné, že samice *C. cucurbitina* se budou pářit pouze s jedním samcem, a pářicí systém tedy bude buď monogamie, nebo polygamie. Mikrosatelitové lokusy nebyly na tento druh testovány, proto tuto skutečnost zatím přesně neznáme. Podobné chování samců se pravděpodobně vyskytuje také u severoamerických včel rodu *Ceratina* z podrodu *Zadontomerus* (Vickruck & al., 2010).

U druhů *C. cyanea* a *C. chalybea* se samci vyskytují po celou hnízdní sezonu, přičemž až na konci jich začne ubývat. Samčí aktivita byla zaznamenána po celou hnízdní sezonu, byť je výraznější na jejím začátku. Podle předběžných výsledků z aplikace mikrosatelitových lokusů vyvinutých na *C. nigrolabiata* by se samice těchto druhů měly pářit s více samci. Vzhledem k samčí dlouhověkosti je nepravděpodobné, že by se samci pářili jen s jednou samicí. Pářicí systém těchto druhů je tedy možné nejspíše označit jako promiskuitu.

6.5. Pářicí systém a obourodičovské péče u *C. nigrolabiata*

6.5.1. Pářicí a chovný systém *C. nigrolabiata*

V aktivních hnízdech *C. nigrolabiata* byli v naprosté většině případů zaznamenána přítomnost samce se samicí. Stejný samec byl v jednom hnízdě obvykle pozorován po řadu dní po sobě. Z toho lze usuzovat, že u *C. nigrolabiata* se vytváří dlouhodobé pouto. Chovný systém lze tedy označit jako sociální monogamii.

V naprosté většině případů byli v hnízdě dcery od více než jednoho otce. Potomci jednoho otce ve více hnízdech byli zaznamenáni jen výjimečně, což je pravděpodobně dáno velkým počtem potenciálních otců a jejich malou provzorkovaností. Vzhledem k tomu, že byli pravidelně pozorováni značení samci, kteří se přesunuli do jiného hnízda, je zjevné, že se samci o páření ve více hnízdech pokouší. Pářicí systém lze tedy označit jako promiskuitu, neboť se zjevně samice páří s více samci a byli zaznamenáni i samci, kteří měli potomstvo s více samicemi.

Přestože dochází k vytvoření stabilního pouta mezi samcem a samicí *C. nigrolabiata*, tak toto pouto zjevně nevydrží celou sezonu. Po určité době dochází k vytvoření pouta mezi dvěma jinými jedinci. Chování *C. nigrolabiata* lze tedy označit jako seriální monogamii.

6.5.2. Sexuální chování u *C. nigrolabiata* v průběhu sezony

Přezimující samice *C. nigrolabiata* jsou pravděpodobně nespárené (předběžná data z pitvy spermaték). V období zakládání hnízd byla zaznamenána největší sexuální aktivita *C. nigrolabiata*. I v nově založených tunelech bez potomstva se nacházela obvykle samice společně se samcem. K vytváření párů tedy dochází ještě před začátkem zásobování.

Samci, kteří hlídají hnízdo v době, kdy jsou v hnízdě 1-2 potomci, nejsou nikdy otci těchto potomků. Je tedy zjevné, že část otcovství obstarají samci, se kterými byla samice buď před začátkem zásobování, nebo možná samci, se kterými se před zásobováním samice spářila mimo hnízdo.

V průběhu sezony se samice spáří alespoň s některými samci, kteří hnízdo hlídají. Vzhledem k tomu, že k páření musí docházet dosti často, a že bylo pozorováno v průběhu sezony jen výjimečně, je pravděpodobné, že k němu dochází uvnitř hnízda.

Samci zjevně neumí zbavit samici spermatu předchozího samce. To je demostrováno skutečností, že se v hnízdech často střídají potomci několika otců a ne vždy jsou potomci od jednoho otce v sousedních komůrkách v rámci hnízda (obr. č. 26).

6.5.3. Role samce v rámci obourodčovské péče

Hlavní zaznamenanou aktivitou samce v rámci hnízda bylo hlídání ve stupu hnízda a blokování vchodu zadečkem. Při vyrušení se snažil samec vystrčit agresora, ať již šlo o mravence, nebo stéblo, kterým byl drážděn. Jeho chování bylo podobné, jako chování samic hlídající hnízda u *C. chalybea* a *C. cucurbitina*. Hlídání vstupu hnízda je činností samců u i kutilek s obourodčovskou péčí - rodů *Trypoxylon* (Brockmann, 1992; Coville & al., 2000). Další zaznamenanou rolí samce *C. nigrolabiata* v hnízdě je pomoc při discardingu – vyhazování pilin a larev od přechozí hnízdící samice. Tuto činnost provádí především nově příchozí samice, ale samec je ve vchodu a veškerý odpad pro vyhození posouvá dál a vyhazuje z hnízda.

Jelikož jsou samci *C. nigrolabiata* přítomni pravidelně ve vchodu hnízda, musí mít toto chování pro ně nějakou výhodu. Je ale otázkou, jakou výhodu má toto chování pro samice a jestli vůbec nějakou.

Samec díky své pravidelné pozici u vchodu rozhoduje, kdo vstoupí do hnízda a kdo nikoliv. Hnízdo opouští výrazně vzácněji než samice, může tedy zabránit vstupu do hnízda případným nepřítelům.

Dlouhodobé ponechání nehlídaných potomků v hnízdě je u včel rodu *Ceratina* velmi rizikové. Vzhledem k tomu, že jsou usurpace hnízd u *C. nigrolabiata* dosti častým jevem, je možné, že hlavním úkolem samce je zabránit právě hnízdní usurpaci. V několika případech bylo zaznamenáno, že samec nepustil do hnízda samici, která byla velmi pravděpodobně cizí (M. Mikát, vlastní pozorování). Užitečnost samce v hnízdě ukazuje i větší úspěšnost hnízd, ve kterých se vystřídal méně samců.

Samec může díky své pozici u vchodu samici nejen pomáhat, ale i škodit. Může totiž domácí samici vydírat a pustit ji jen v případě, že je to pro něj výhodné. Obvykle samec pustil domácí samici do hnízda ihned po jejím přiletu. V některých případech ale s jejím puštěním do hnízda několik sekund otálel (M. Mikát, vlastní pozorování). Jindy zase nepustil samici zpátky dovnitř, pokud si rozmyslela původní záměr z hnízda odletět. Potenciální ztrátou samice ze samčího chování může být přílišná ztráta času nebo častější kopulace než je optimální. Zároveň se ale samec může rozhodnout domácí samici nepustit zpátky do hnízda vůbec a místo toho pustit do hnízda jinou samici. To by velmi pravděpodobně vedlo k discardingu, tedy ztrátě alespoň části potomstva samice. Tato strategie by byla výhodná především pro samce, který přijde do téměř plného hnízda. Náznaky takového chování jsme pozorovali, ale jejich skutečný průběh a funkci bude nutné ještě dále detailně studovat.

To, že dlouhodobá asociace více jedinců nemusí být prospěšná pro všechny zúčastněné, ukazují i některé případy cooperative breeding obratlovců, kdy přítomnost pomocníků nezvyšuje počet vychovaných potomků. Příkladem je střízlík *Malurus cyaneus* (Dunn & al., 1995).

Vzhledem k tomu, že se samice *C. nigrolabiata* se samcem nepáří ihned, ale až po nějaké době po příchodu do vchodu hnízda, tak lze předpokládat, že přítomnost samce ve vchodu má pro samici buď nějaký pozitivní účinek, nebo že je páření pro samici příliš nákladné. V opačném případě by bylo výhodnější se snažit spářit se samcem ihned a poté ho ze vchodu vyhnat.

6.5.4. Důsledky stability páru z pohledu samice

Pokud jsou samci samici věrní, tak to zvyšuje její biologickou zdatnost. Tento jev je podložen daty z etologických i genetických analýz, jelikož 1) frekvence střídání samců negativně koreluje s počtem zásobovaných komůrek v hnízdě, 2) počet potomků v plném hnízdě negativně koreluje s počtem otců samičích potomků v hnízdě.

Střídání samců zvyšuje sumární délku období, po které je hnízdo samcem nehlídáno. Je pravděpodobné, že když samec opustí hnízdo, tak hnízdo není hlídáno po nějakou dobu žádným samcem. To může mít za důsledek zvýšení pravděpodobnosti zničení hnízda, pokud samice bude pokračovat v zásobování, nebo sníží počet potomků, které samice stihne zazásobovat, pokud se zásobováním přestane. Zároveň samec, který je v hnízdě dlouho má v hnízdě s větší pravděpodobností už přítomné potomstvo, a proto by se jeho zájmy měli mnohem více krýt se zájmy samice.

To, že věrnost samce zvyšuje úspěšnost samice, výrazně indikuje, že přítomnost samce má pro samici pozitivní význam.

6.5.5. Co ze sociální monogamie získávají samci

Přestože samci hlídají v naprosté většině hnízd, tak v naprosté většině případů hlídají pouze nevlastní potomky. Podíl nevlastních potomků, o které samci pečují, je neobvykle vysoký – okolo 95,5%. Částečně by to mohlo být způsobeno tím, že synové nemají díky haplodiploidnímu určení pohlaví žádné otce. Podíl dcer hlídaných jiným samcem než vlastním otcem je však v případě *C. nigrolabiata* téměř stejně vysoký, a to 93%. Toto vysoké číslo je způsobeno také tím, že každý nově přichozí samec přichází do hnízda již jako nevlastní otec všech předchozích potomků. Je to systém, který u ostatních organismů není příliš obvyklý.

Většina paternitních studií, a zároveň i většina taxonů s obourodčovskou péčí, byla provedena na ptácích, kde se podíl potomků, o které pečuje nevlastní otec, pohybuje do 10% (Petrie & Kempnaers, 1998). V několika studiích u ptáků byl zjištěn podíl mimopárových potomků přesahující 50%, jde ale o velmi výjimečné případy. U vlaštovky *Tachycineta bicolor* byl podíl mimopárových potomků 69% (Barber & al., 1996), u strnada *Emberiza schoeniclus* 55% (Dixon & al., 1994) a u střízlíka *Malurus cyaneus* 72% (Dunn & Cockburn, 1998).

U savců žijících v párech se mimopárová paternita pohybuje od 0 do 10% (Cohas & Allainé, 2009). Větší podíl se vyskytuje u savců žijících ve větších skupinách, např. u sviště *Marmota marmota*, kde dosahuje 19% (Goossens & al., 1998).

Vzhledem k malému počtu hlídaných vlastních potomků u *C. nigrolabiata* péče o vlastní potomky pravděpodobně nemůže být alespoň ve většině případů hlavní motivací pro hlídání ve vchodu hnízda. Další argument, který to podporuje, je to, že samci hlídají často v nově založených tunelech, kde nejsou ještě žádní potomci, a naopak obvykle nehlídají v plných hnízdech. Pravděpodobně důležitější motivací pro samce je větší příležitost kopulace se samicí.

Vzhledem k tomu, že podíl společného potomstva obou rodičů je obvykle nízký, tak mají samec i samice dosti odlišné zájmy. Samice může odměňovat samce kopulací za dostatečně dlouhé hlídání hnízda. To je podpořeno tím, že potomstvo zanechali v hnízdě pouze samci, kteří hlídali v hnízdě delší dobu (alespoň tři dny). Zároveň efektivita zisku potomstva za jeden den hlídání se zvyšuje s počtem dní strávených v hnízdě. Zároveň ale samec může samici vydírat – díky své pozici u vchodu rozhoduje, zda jí pustí při návratu zpět do hnízda, a může si tak kopulaci vynutit. V některých případech nepustil pozorovaný samec vracující se samici do hnízda ihned. Frekvence páření bohužel není v hnízdě přímo pozorovatelná a bude nutné ji i nadále studovat nepřímými metodami.

Samci zjevně nejsou schopni odstranit ze spermatéky sperma předchozího samce, se kterým se samice pářila. Z tohoto důvodu jim ani kopulace se samicí nezajišťuje jistotu paternity. Pokud se samec spáří s danou samicí vícekrát, tak by to mělo zvyšovat pravděpodobnost paternity u dalších potomků. Samec má i nadále šanci, že bude otcem potomků poté, co hnízdo opustí a samice se spáří

s dalším samcem. Samice se ale pravděpodobně snaží přece jen vyjít dlouhodobě hlídajícímu samci vstříc – s větší pravděpodobností nechává vajíčko vůbec oplodnit. To demonstruje negativní korelace počtu otců na počet dcer a podílu potomků samičího pohlaví.

Je otázkou, proč samci vůbec hnízdo se samicí opouští, a přestěhují se do jiného hnízda. Při obourodčovské péči mají samci obvykle trade-off mezi péčí o potomstvo a příležitostmi k dalšímu páření (Magrath & Komdeur, 2003; Werren & al., 1980). Pokud samec *C. nigrolabiata* hlídá v určitém hnízdě, tak logicky přichází o možnost získat potomky díky hlídání v dalších hnízdech. Nepodařilo se zjistit, zda může samec v průběhu hnízdní sezony získat potomky i jinak, než díky páření se samicí, které hlídá hnízdo (např. pářením s jinými samicemi na květech). Vzhledem k tomu, že efektivita zisku potomstva díky hlídání roste s délkou hlídání hnízda, tak lze předpokládat, že obvykle samec opuštěním daného hnízda, které hlídá, spíše ztratí, než získá. Variabilita v efektivitě zisku potomstva z hlídání hnízda je ale obrovská (obr. č. 30B), je tedy pravděpodobné, že za určitých okolností je šance na získání dalších potomků v daném hnízda malá, a je proto výhodnější dané hnízdo opustit a zkoušet hlídat jinde.

Ke zvýšenému střídání samců v hnízdech zřejmě přispívalo rušení samců v rámci některých experimentů. V hnízdech, kde byli samcům stříhány tarsi, vydrželi samci kratší dobu. Na druhou stranu i přírodní hnízda, která nebyla nijak rušena, měla genetickou strukturu potomstva podobnou. Je tedy možné, že experiment zvýšil míru střídání samců, ale zároveň by se systém choval dost podobně i bez toho.

V některých případech bylo pozorováno, že samci opouští hnízdo bez předchozího vyrušení a zase se vrací zpět do hnízda. Motivací samce pro opuštění hnízda může být buď hlad, tedy potřeba sehnat potravu, nebo pokus o páření s jinými samicemi.

Samci se mohou rozhodnout hnízdo opustit proto, že by mohli získat větší množství potomků díky hlídání v jiném hnízdě, než v tom, kde se právě nachází. Rozdělení investic do více hnízd by mohlo mít tu výhodu, že s menší pravděpodobností dojde k tomu, že samec ztratí všechny potomky kvůli jednorázové události (Forbes, 2009). Poté, co byla zaznamenána kopulace mezi samcem a samicí, tak samec často odlétl pryč. Po kopulaci může být optimální čas k opuštění hnízda, neboť k opakování kopulace pravděpodobně může dojít až po nějaké době, a tedy samice je po kopulaci pravděpodobně méně ochotná k další kopulaci, než náhodně vybraná jiná samice v populaci. Zároveň je ale zjevné, že to nedělá vždy, protože byli zaznamenáni hlídající samci, kteří mají v hlídaném hnízdě potomstvo.

Hlídání samců ve vchodu hnízda může být efektivní i z důvodu jejich nižší mortality, než by byla při nocování venku. Pobývání ve vchodu hnízda je jistě méně riskantní činností, než je obletování různých hnízd nebo hledání samic na zdrojích potravy. Tato strategie se tedy může vyplatit i v případě, kdyby její krátkodobá efektivita byla o něco nižší než aktivnější strategie, protože samci

pak mají větší možnost delšího dožití. Zároveň ji mohou efektivně provádět i staří a opotřebovaní samci, pro které je let již příliš vyčerpávající.

6.5.6. Srovnání s ostatními podobnými systémy

V rámci blanokřídlých je trvalá asociace mezi samcem a samicí umožňující obourodičovskou péči ojedinělá. U včel dosud nebyla zaznamenána. Podobné systémy se vyskytují u některých druhů kutilek (Hook & Matthews, 1980), v naprosté většině případů ale nejde o systematická pozorování.

Nejvíce prozkoumané kutilky s obourodičovskou péčí patří do podrodu *Trypargillum* v rámci rodu *Trypoxylon* (Brockmann & Grafen, 1989; Brockmann, 1992; Buschini & Donatti, 2012; Buschini, 2007; Coville & Griswold, 1983; Coville & al., 2000). Chování těchto druhů je nejspíše velmi podobné tomu u *C. nigrolabiata*.

K vytvoření pouta mezi samcem a samicí dochází u *C. nigrolabiata* i u kutilek rodu *Trypoxylon* ještě před začátkem hnízdění (Buschini & Fajardo, 2010). U rodu *Trypoxylon* pravděpodobně také nevydrží jeden samec v hnízdě po celou dobu hnízdění, ale vystřídá se tam více (Brockmann, 2004; Buschini & Donatti, 2012). Samci u rodu *Trypoxylon*, stejně jako u *C. nigrolabiata*, hlídají vchod hnízda, zatímco samice hnízdo zásobují (Brockmann & Grafen, 1989; Buschini & Donatti, 2012; Buschini & Fajardo, 2010; Coville & al., 2000). Samec se samicí se rovněž zřejmě individuálně rozpoznají (Buschini & Donatti, 2012). Na rozdíl od *C. nigrolabiata*, kdy samec blukuje vchod zadečkem, je samec u rodu *Trypoxylon* otočen hlavou směrem ven (Coville & Griswold, 1983). Samci mají rovněž určitou funkci při stavbě hnízda, kdy pomáhají s tvarováním bláta (Brockmann, 1992). U *C. nigrolabiata* pomáhají samci s vyhazováním pilin, případně larev a kulek od předchozích obyvatelů hnízda. Jak u kutilek rodu *Trypoxylon* (Coville & al., 2000), tak u *C. nigrolabiata* musí samec samicí při návratu do hnízda pustit. Rodičovství u druhů rodu *Trypoxylon* nebylo dosud studováno pomocí molekulárně genetických metod. Je ale zjevné, že ne vždy se hlídající samec stará o vlastní potomstvo, neboť byly pozorovány kopulace se satelitními samci (Buschini & Donatti, 2012), a v řadě případů byli v části hnízd potomci pouze samčího pohlaví (Buschini, 2007; Coville & al., 2000). Na rozdíl od *C. nigrolabiata* samci kutilek rodu *Trypoxylon* jsou ve vchodu hnízda převážně přes den, v noci tam být (Brockmann, 1992; Buschini & Donatti, 2012; Coville & al., 2000). Hlídní plného hnízda se vyskytuje u druhu *Trypoxylon superbum*, u kterého hlídá plné hnízdo vždy samec (Coville & Griswold, 1984). Na rozdíl od *C. nigrolabiata*, u kterého je plné hnízdo hlídáno náhodně samicí, samcem, párem, nebo nikým. Samčí chování u *C. nigrolabiata* a kutilek rodu *Trypoxylon* dosáhlo nápadné konvergence. Výraznou preadaptací k tomuto chování je pravděpodobně tvorba lineárních hnízd, které mají blokovatelný vchod.

Případy samčí péče o potomstvo u eusociálních blanokřídlých (Cameron, 1986, 1985; Kojima, 1993; Sen & Gadagkar, 2006; Van Veen & al., 1997) jsou principiálně hodně odlišné od obourodičovské péče *C. nigrolabiata*. Samci v eusociálních společenstvích vykonávají jen malé množství práce, která nejspíše není nezbytná pro přežití společenství. Zároveň nejde o obranu, ale o zpracování potravy (Sen & Gadagkar, 2006; Van Veen & al., 1997) a termoregulaci (Cameron, 1985). Je pravděpodobné, že tyto typy samčí péče o potomstvo vznikly až v důsledku eusociálního způsobu života a u soliterních druhů blanokřídlých by dané prvky chování nebyly efektivní.

Podobně jako u jiných blanokřídlých, kde se podílejí samci na péči o potomstvo (Brockmann, 1992; Cameron, 1985; Coville & Griswold, 1984; Lucas & Field, 2011; Sen & Gadagkar, 2006; Van Veen & al., 1997), rovněž i u *C. nigrolabiata* nejsou schopni samci donášet do hnízda potravu. U hnízdících blanokřídlých je právě donášení potravy nejnáročnější složkou péče o potomstvo (Naug & Gadagkar, 1998; Wilson, 1971). Většina práce je tedy logicky obstarána samicí, zatímco na samce zbývají spíše pasivnější a méně náročné úkoly. U *C. nigrolabiata*, podobně jakou kutilek rodu *Trypoxylon* ((Brockmann & Grafen, 1989; Coville & al., 2000), a kutilky *Microstigmus nigrophthalmus* (Lucas & Field, 2011) je ale obrana hnízda nejspíše pro přežití potomstva dosti důležitá. U velké části skupin hmyzu s obourodičovskou péčí je ale podíl samců a samic na péči podstatně vyváženější (Grandcolas & al., 2001; Rasa, 1999; Suzuki, 2013; Trumbo, 1991). Podobná situace je ale u některých kůrovců, kde je také hlavním úkolem samce hlídání vchodu (do chodbiček s larvami) před nepřáteli (Kirkendall, 1983).

6.6. Jak mohla obourodičovská péče vzniknout

U většiny druhů blanokřídlého hmyzu žijí dospělí samci podstatně kratší dobu než samice a nezapojují se do péče o potomstvo (Michener, 2007; Paxton, 2005; Tallamy & Wood, 1986; Wilson, 1971). Hlídání vchodu hnízda samci u *C. nigrolabiata* je v rámci blanokřídlých zcela unikátní chování. Existence zaznamenaného chování *C. nigrolabiata* je závislá především na pěti vlastnostech samců: 1) prodloužená délka života, 2) schopnost najít hnízda samic, 3) orientace v prostoru se schopností vrátit se na stejné místo, 4) výhodnost hlídání samice 5) schopnost komunikace mezi samcem a samicí.

6.6.1. Délka života samců

Organismy musí řešit trade-off mezi aktuální investicí do reprodukce a přežíváním, které je vlastně potenciálem reprodukce budoucí (Holliday, 2006; Kirkwood & al., 1991; Walker & al., 2000). Délka života je důsledkem tohoto trade-off a ekologických, či fyziologických mortalitních faktorů (Gardner

& al., 2006; Medawar, 1957; Stearns, 1992; Straka & al., 2014). Délka života se může díky selekci v průběhu evoluce relativně rychle měnit (Luckinbill & Clar, 1985), a výrazné rozdíly v délce života se tedy mohou vyskytovat i mezi populacemi jednoho druhu (Gotthard & al., 2000). Například u hlísta *Strongyloides ratti* se délka dožití mezi parazitickou a volně žijící populací liší dokonce 80x (Gardner & al., 2006).

Pokud je v délce života výrazný pohlavní dimorfismus, souvisí to s odlišnou strategií samců a samic, jak si zajistit co největší biologickou zdatnost (Bonduriansky & al., 2008). Délka života obou pohlaví je ovlivňována příležitostmi ke kopulaci a k postkopulační investici do potomstva. Korelace délky života samců a délky období výskytu receptivních samic je známa například u okáče pýrového (*Pararge aegeria*) (Gotthard & al., 2000).

U většiny žahadlových blanokřídých jsou samice receptivní jen dosti omezenou dobu (Paxton, 2005). Za těchto podmínek musí samci investovat co nejvíce do reprodukce v době, kdy jsou samice receptivní, a tedy není selekce na prodloužení délky života samců. K péči o potomstvo vlastně ani nemají příležitost, často jsou mrtví dříve, než se začne samice vůbec o potomstvo starat (Simmons & al., 2000).

Samci řady druhů rodu *Ceratina* žijí ve stádiu dospělce více než půl (Kidokoro & al., 2006; Rehan & Richards, 2010b), tedy oproti většině druhů včel dosti dlouhou dobu. U dosud studovaných druhů v mírném či subtropickém pásu, tedy *C. calcarata* (Rehan & Richards, 2010b) a *C. flavipes* (Kidokoro & al., 2006), většina samců umírá patrně brzy po začátku hnízdní sezony, byť se v ojedinělých případech samci vyskytují i později. Podobná situace je i u námi studovaného druhu *C. cucurbitina*. Počet páření samice bohužel u těchto druhů není znám. Vzhledem k tomu, že společný předek včel rodu *Ceratina* byl eusociální (Rehan & al., 2012), a pro malá eusociální společenství je typické jednonásobné páření samice (Hughes & al., 2008), tak je pravděpodobné, že jednonásobné páření je primitivním stavem i pro včely rodu *Ceratina*.

U druhu *C. flavipes* je ale zdokumentován velký podíl samic (cca 80%), které se páří na podzim (Kidokoro & al., 2006) a nikoliv až následující sezonu. Možnost páření na podzim by měla mít negativní vliv na dožití samců, neboť jsou oslabeny selekční tlaky podporující u nich větší délku života. Selektce na delší dožití v důsledku delšího období výskytu receptivních samic by mohla být u tropických druhů. U nich není hnízdní sezona tak výrazně synchronizovaná (Rehan & al., 2009). Bohužel o délce života a chování samců tropických druhů není dostatek informací.

Samci druhů *C. chalybea*, *C. cyanea* a *C. nigrolabiata* přežívají a krouží kolem hnízd samic po celou hnízdní sezonu. Podobně jako u *C. nigrolabiata* jsou pravděpodobně i samice *C. chalybea* a *C. cyanea* receptivní po celou hnízdní sezonu a samice se nejspíše páří s více samci. Větší délka života samců v důsledku většího množství pářících příležitostí tedy bude pravděpodobně vlastností vzniklou v rámci podrodu *Euceratina* nebo u jeho předků.

Délka života a hlídání ve vchodu hnízda u *C. nigrolabiata* se mohou posilovat pomocí vzájemné zpětné vazby. Jestliže samec má bezpečný úkryt ve hnízdě, tak to snižuje pravděpodobnost jeho mortality kvůli vnějším faktorům. Snižovaná vnější mortalita selektuje na prodloužení délky (Keller & Genoud, 1997; Medawar, 1957). Další prodloužení délky života může přispět i k prodloužení hlídání hnízda.

6.6.2. Schopnost samců najít hnízda samic

Aby samci mohli v aktivních hnízdech pobývat, musí mít schopnost je najít a motivaci se blízko nich vyskytovat. Vzhledem k tomu, že místem páření u všech v rámci této práce studovaných druhů je buď přímo vstup do hnízda, nebo jeho přímé okolí, je tato podmínka splněna. Samci zároveň mají tendenci k přezimování i přenocování používat různé chodby v podobném habitatu jako jsou hnízda. V některých případech byli maturní samci *C. chalybea*, *C. cucurbitina* i *C. cyanea* zaznamenáni ve vstupu do aktivního hnízda. Do aktivních hnízd příležitostně zalézají i samci některých druhů drvodělek (*Xylocopa*) (Sakagami & Laroca, 1971)

6.6.3. Schopnost samců orientovat se v prostoru

Pouto mezi samcem a samicí vyžaduje trvalou přítomnost obou partnerů na jednom místě. Aby se pouto mezi partnery udrželo, tak místo, kde se setkávají, nemohou opustit, nebo musí být schopni se do něj vrátit. U *C. nigrolabiata* je hnízdo centrálním bodem, kde samec a samice interagují. U samic hnízdících žahadlových blanokřídlých je schopnost hnízdo opustit a vrátit se do něj samozřejmostí a základním předpokladem pro hnízdící chování vůbec. U řady druhů včel mají samci teritoria, které pravidelně obléhávají a hledají v nich samice (Barrows, 1983; Frabberger & Ayasse, 2007; Paxton, 2005). Tato strategie se pravděpodobně vyskytuje i u *C. chalybea*. To ukazuje dobrou schopnost orientace v prostoru i u samců včel.

Samci *C. nigrolabiata* hnízdo občas opouští, byť výrazně vzácněji než samice. Jelikož byli samci, u nichž bylo opuštění hnízda (obvykle po vyrušení) zaznamenáno, po čase opět pozorováni, tak musí mít schopnost se do hnízda vrátit. Po opuštění hnízda samci *C. nigrolabiata* často dělali zapamatovací let, podobně jako ho dělají samice.

Je možné, že schopnost vrátit se do hnízda se vyvinula ze schopnosti využívat k přenocování několik dní po sobě stejné místo. V řadě případů byl stejný samec *C. nigrolabiata* opakovaně pozorován po několik dní i ve slepé chodbě, ve které žádné hnízdo nebylo. Tento jev byl zaznamenán i u samců *C. cyanea* a *C. chalybea* a v principu je zřejmě vlastní i většině ostatních žahadlových blanokřídlých, kteří využívají nocoviště v dutinách stonků (Mikát a Straka, vlastní pozorování).

6.6.4. Výhodnost hlídání samice

Samci si musí vybrat, zda budou investovat do co největšího množství kopulací, nebo do zajištění paternity u samic, se kterými již kopulovali (Emlen & Oring, 1977).

Do hlídání samice je výhodné investovat pouze za předpokladu, že se tato samice má tendenci pářit vícekrát za život. U většiny druhů včel se má samice tendenci pářit pouze jednou za život, případně opakovaně, ale jen v krátkém období receptivity (Paxton, 2005). U většiny druhů rodu *Ceratina* není počet páření znám, alespoň u eusociálních druhů lze však předpokládat jediné páření (viz výše). U druhu *C. nigrolabiata*, ale pravděpodobně i u *C. cyanea* a *C. chalybea* se samice páří vícekrát během života, tudíž samec může mít výhodu z toho, že bude samici hlídat před jinými samci.

Hlídání samice se samci vyplatí za situace, kdy je poměr pohlaví vychýlený ve prospěch samců samců (Mathews, 2002a). U dospělců *C. nigrolabiata* poměr pohlaví dospělců je sice mírně vychýlen ve prospěch samců, ale rozdíl není signifikantní. U druhů *C. chalybea* a *C. cucurbitina* byl ale zaznamenaný poměr pohlaví výrazně vychýlen ve prospěch samic, u druhu *C. cyanea* nebyl rozdíl signifikantní a na začátku hnízdní sezony byl dokonce poměr pohlaví signifikantně vychýlen ve prospěch samců. Samotný poměr pohlaví tedy nejspíše výhodnost hlídání partnerky u *C. nigrolabiata* nevysvětlí, byť pravděpodobně vysvětluje, proč se hlídání nevyplatí u *C. chalybea*.

6.6.5. Komunikace mezi samcem a samicí

Pro udržení páru je nutné, aby se partneři dokázali individuálně rozpoznávat. Další komunikace je rovněž prospěšná k tomu, aby mohli samci a samice efektivněji dosahovat svých cílů. U *C. nigrolabiata* se partneři zjevně rozpoznávají – pokud se snaží do hnízda vletět domácí samice, tak ji samec obvykle pustí dovnitř, pokud se snaží dostat jiná samice, tak samec blokuje zadečkem vchod a dovnitř ji nepustí.

Hlavním zaznamenaným způsobem komunikace je škrabání nohama na zadeček. Toto chování dělají především samice vracějící se do svého hnízda, ale rovněž i samice, které hnízdo hledají, nebo samci, kteří se snaží přemluvit samici k páření. Škrabání nohama na zadeček provádí i samci druhu *C. chalybea*, když se snaží samici přítomnou v hnízdě přemluvit k páření. Lze tedy předpokládat, že se samičí chování kdy se snaží samce přesvědčit, aby ji pustil do hnízda, mohlo vzniknout expresí původně samčího předkopulačního chování u samic.

Jako další možnost lze uvažovat, že mezi samcem a samicí se uplatňuje i optická komunikace. Samci druhů rodu *Ceratina* se obvykle od samic liší větší velikostí a tvarem skvrny na clypeu (Michener, 2007). U druhu *C. nigrolabiata* je tato skvrna menšího rozsahu, než u ostatních druhů, zároveň je výrazně více variabilní, než u ostatních druhů, a ve vzácných případech může i chybět. Velikost či tvar skvrny by tak mohli přispívat k individuálnímu rozpoznávání u *C. nigrolabiata*. Individuální

rozpoznávání na základě zbarvení hlavy je známo např. od vosíka *Polistes fuscatus* (Sheehan & Tibbetts, 2009). U druhu *C. nigrolabiata* bude ještě nutné komunikaci mezi samcem a samicí prokázat. Současná pozorování ji ale naznačují.

6.6.6. Jak mohla probíhat evoluce

Vlastnosti spojené se schopností najít a zapamatovat si umístění hnízd samic vznikly pravděpodobně u předků včel rodu *Ceratina* či ještě dříve. Páření samice s více samci a prodloužená délka života pravděpodobně vznikly v rámci rodu *Ceratina*, nejspíše u předka, který zahrnoval předka podrodu *Euceratina* (kam patří *C. chalybea*, *C. cyanea* a *C. nigrolabiata*), ale nebyl předkem *C. cucurbitina*. U samců předka *C. nigrolabiata* ale muselo dojít k výrazné tendenci bydlet téměř striktně ve vchodech hnízda. Příčinou může být to, že se začalo z nějakého důvodu vyplácet hlídání samice. Dalším krokem, který umožnil vznik obourodčovské péče, bylo zvýšení komplexity komunikace mezi samcem a samicí.

Je zajímavým paradoxem, že zásadním předpokladem pro vznik dlouhodobého (byť ne celosezonního) pouta mezi samcem a samicí je vícenásobné páření samice, protože bez něj by neexistoval selekční tlak na dlouhodobé přežívání samců jakožto i tlak k hlídání samice, což jsou nezbytné podmínky delší koexistence samců se samicemi.

Vzhledem k tomu, že menší střídání a tedy větší věrnost partnerů přináší pravděpodobně výhody jak samicím, tak samcům, tak je možné předpokládat, že by věrnost mezi partnery se mohla zvětšovat a tím docházet k dalšímu prohlubování obourodčovské péče.

6.7. Eusocialita u včel rodu *Ceratina*

Společný předek včel rodu *Ceratina* byl pravděpodobně fakultativně eusociální a ke ztrátě schopnosti vytvářet eusociální společenství došlo nejspíše několikrát nezávisle na sobě (Rehan & al., 2012). U druhů studovaných v rámci této práce nebyla eusocialita nalezena. Znovupoužití stejného hnízda, které je považováno za předpoklad eusociality u rodu *Ceratina* (Sakagami & Maeta, 1987; Rehan & al., 2010b), bylo sice detekováno u druhů *C. cucurbitina* a *C. chalybea*, ale spíše ojediněle. U druhů podrodu *Euceratina* je tendence k zazátkování a opuštění hnízda, což je strategie s eusocialitou nekompatibilní. U druhu *C. cucurbitina* považují (Maeta & al., 1997a, 1997b), vzhledem ke hnízdnímu chování, výskyt eusociality za nepravděpodobný.

Eusocialita se se v rámci rodu *Ceratina* vyskytuje především u druhů vyskytujících se v tropických a subtropických oblastech (Rehan & al., 2009, 2010b, 2012). Naopak se nevyskytuje u severoamerických druhů (Rehan & Richards, 2010b) žijících v klimatu analogickém tomu, které je na

území České republiky. Eusocialita se vyskytuje u včel rodu *Ceratina* vyskytujících se na území Japonska (Sakagami & Maeta, 1984, 1987), které je oproti České republice klimaticky mírně příznivější. Výskyt striktně soliterních linií v chladnějších oblastech u primárně eusociálních taxonů je známý i v rámci čeledi Halictidae (Field & al., 2010; Sakagami & Munakata, 1972). Absence eusociality u rodu *Ceratina* na území České republiky tedy není překvapivá.

Je možné, že by se eusociální druhy rodu *Ceratina* mohly vyskytovat v klimaticky příznivějším Středomoří, ze kterého jsou dosud velmi omezené informace o hnízdní biologii rodu *Ceratina*. Dosud ale eusocialita ani ve středomoří detekována nebyla (Le Goff & Terzo, 1999; Maeta & al., 1997a, 1997b, M. Mikát, vlastní data).

6.8. Vztah eusociality a obourodičovské péče

Přestože se eusocialita vyskytuje u řady druhů rodu *Ceratina*, obvykle jde o společenství tvořené dvěma jedinci a nikdy více než čtyřmi (Rehan & al., 2010b). V tropických oblastech, ve kterých se vyskytuje velký predační tlak mravenců (Jeanne, 1979), může být eusocialita velmi efektivní strategií, především kvůli velkým ziskům z hlídání vchodu hnízda. Hlídání vchodu hnízda je ale práce pro jednoho jedince. Vzhledem k tomu, že hnízdo včel rodu *Ceratina* má lineární tvar, tak by si v něm větší množství včel spíše překáželo. Zároveň je v danou chvíli možné zásobovat jen jednu komůrku. V tom se liší včely rodu *Ceratina* od sesterského taxonu *Allodapini*, u kterého se oddělené komůrky nevyskytují, a tedy v danou chvíli je možné zásobovat více než jednoho potomka (Michener, 2007). U včel tribu *Allodapini* se vyskytují společenství s velikostí do třiceti jedinců (Dew & al., 2012), a žádný druh není striktně soliterní (Chenoweth & al., 2007; Tierney & al., 2008). Pro životní strategie včel rodu *Ceratina* pravděpodobně nepřináší velikost společenství větší než dva žádné výrazné výhody. A právě této velikosti společenství je možné dosáhnout nejen díky eusocialitě, ale i díky obourodičovské péči.

V rámci eusociálních hnízd často reprodukčně dominantní samice zásobuje komůrky, zatímco reprodukčně podřízená samice hlídá vchod hnízda (Hogendoorn & Velthuis, 1999; Rehan & al., 2010b). Podobná dělba práce se vyskytuje u dalších eusociálních taxonů, kteří vytvářejí společenství tvořené pouze dvěma samicemi, například drvodělek (*Xylocopa*) (Hogendoorn & Velthuis, 1999), nebo vosy *Eustenogaster fraterna* (Francescato & al., 2002). Samec *C. nigrolabiata* tedy zřejmě plní podobnou funkci, jako u eusociálních druhů plní reprodukčně podřízená samice.

Je pravděpodobné, že pro vznik obourodičovské péče u druhu *C. nigrolabiata* muselo nejdříve dojít k zániku eusociality. Dlouhověkost samců a motivace k hlídání samice, což jsou nezbytné podmínky pro vznik obourodičovské péče, vznikají mnohem snadněji za předpokladu vícenásobného páření samice. Naopak pro fakultativně eusociální druhy je typické, že se samice páří pouze jednou

(Boomsma & al., 2011; Hughes & al., 2008). Počet páření u fakultativně eusociálních druhů rodu *Ceratina* ale není znám.

Eusocialita není obecně nekompatibilní s obourodičovskou péčí. Eusocialita v kombinaci s obourodičovskou péčí je známá u řady taxonů (Ross & al., 2013). U nich však vznikla nejdříve obourodičovská péče, a až teprve později eusocialita (Ross & al., 2013).

Přestože u včel rodu *Ceratina* pravděpodobně není eusocialita a obourodičovská péče slučitelná a spíše jde o alternativní strategie, je možné, že určité prvky obourodičovského chování u *C. nigrolabiata* mohou být zděděné po eusociálních předcích, může jít například o schopnost vyhnouti se dvou včel ve vchodu hnízda.

6.9. Závěr

Bylo prostudováno hnízdní chování čtyř druhů rodu *Ceratina*: *C. chalybea*, *C. cucurbitina*, *C. cyanea* a *C. nigrolabiata*. U žádného z druhů nebyla detekována eusocialita. Kromě druhu *C. cucurbitina* studované druhy neumí jeden z typických prvků péče o potomstvo u rodu *Ceratina*, tedy prolézání hnízda matkou a čištění potomků od trusu a parazitů.

Hlídní hnízda samicí po jeho dozásobování snižuje riziko jeho selhání kvůli aktivitě přirozených nepřátel. Přesto se ale u zástupců podrodu *Euceratina* vyvinula **schopnost hnízdo zazátkovat a opustit**, což nejspíše souvisí s možností dřívějšího opětovného zahnízdění zahnízdění na jiném místě. Opuštění zátkováných hnízd dosud nebylo u rodu *Ceratina* popsáno a je tak novým prvkem jejich životní strategie.

U druhu *C. nigrolabiata* byla zjištěna **obourodičovská péče, což je první případ zjištěné obourodičovské péče u včel**.

Samci se na péči podílí tak, že hlídají vchod hnízda. Samec tedy plní v hníždě podobnou funkci, jakou u eusociálních druhů obvykle plní dělnice. Jeden samec nevydrží v jednom hníždě po celou sezonu, ale samci se v průběhu sezony v hníždě střídají. Čím se samci střídají méně, tím je úspěšnost hnízda větší.

Samice se v průběhu sezony páří s více samci. Ve většině případů není hlídající samec otcem ani částí potomstva. Pokud ale vydrží dostatečně dlouho, tak díky tomu obvykle nějaké potomstvo získá. Motivací samce k péči tedy spíše než péče o vlastní potomky je příležitost k páření se samicí.

Je pravděpodobné, že vícenásobné páření samice přispělo ke vzniku obourodičovské péče, neboť díky němu je selekce na prodlouženou délku života samců a motivace samců hlídat si partnerku.

7. Literatura

- Alcock, J., 1987. Leks and hilltopping in insects. *J. Nat. Hist.* 21, 319–328.
- Alcock, J., 1997. Competition from large males and the alternative mating tactics of small males of Dawson's burrowing bee (*Amegilla dawsoni*)(Apidae, Apinae, Anthophorini). *J. Insect Behav.* 10, 99–113.
- Alonzo, S.H., 2010. Social and coevolutionary feedbacks between mating and parental investment. *Trends Ecol. Evol.* 25, 99–108.
- Andersson, M., 1984. The Evolution of Eusociality. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 15, 165–189.
- Andersson, M.B., 1994. Sexual selection. Princeton University Press. 601pp
- Andrade, M., 1996. Sexual selection for male sacrifice in redback spiders. *Science.* 271: 70-72
- Antolin, M.F., Ode, P.J., Heimpel, G.E., O'Hara, R.B., Strand, M.R., 2003. Population structure, mating system, and sex-determining allele diversity of the parasitoid wasp *Habrobracon hebetor*. *Heredity* 91, 373–381.
- Antolin, M.F., Strand, M.R., 1992. Mating system of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Ecol. Entomol.* 17, 1–7.
- Arnold, S.J., Duvall, D., 1994. Animal mating systems: a synthesis based on selection theory. *Am. Nat.* 317–348.
- Arnqvist, G., Nilsson, T., 2000. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Anim. Behav.* 60, 145–164.
- Arnqvist, G., Rowe, L., 1995. Sexual conflict and arms races between the sexes: a morphological adaptation for control of mating in a female insect. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 261, 123–127.
- Atkinson, L., Adams, E.S., 1997. The origins and relatedness of multiple reproductives in colonies of the termite *Nasutitermes corniger*. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 264, 1131–1136.
- Ayasse, M., Paxton, R.J., Tengö, J., 2001. Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 46, 31–78.
- Barber, C.A., Robertson, R.J., Boag, P.T., 1996. The high frequency of extra-pair paternity in tree swallows is not an artifact of nestboxes. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 38, 425–430.
- Barrows, E.M., 1983. Male territoriality in the carpenter bee *Xylocopa virginica virginica*. *Anim. Behav.* 31, 806–813.
- Bateman, A.J., 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity* 2, 349–368.
- Biedermann, P.H.W., Taborsky, M., 2011. Larval helpers and age polyethism in ambrosia beetles. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 17064–17069.
- Bird, R., 1999. Cooperation and conflict: The behavioral ecology of the sexual division of labor. *Evol. Anthropol. Issues News Rev.* 8, 65–75.
- Black, J.M., 1996. Partnerships in Birds : The Study of Monogamy. Oxford University Press. 424pp
- Bonduriansky, R., Maklakov, A., Zajitschek, F., Brooks, R., 2008. Sexual selection, sexual conflict and the evolution of ageing and life span. *Funct. Ecol.* 22, 443–453.
- Boomsma, J.J., Beekman, M., Cornwallis, C.K., Griffin, A.S., Holman, L., Hughes, W.O.H., Keller, L., Oldroyd, B.P., Ratnieks, F.L.W., 2011. Only full-sibling families evolved eusociality. *Nature* 471,
- Boomsma, J.J., Kronauer, D.J., Pedersen, J.S., 2009. The evolution of social insect mating systems. *Organ. Insect Soc.* 3–25.
- Branham, M.A., Wenzel, J.W., 2003. The origin of photic behavior and the evolution of sexual communication in fireflies (Coleoptera: Lampyridae). *Cladistics* 19, 1–22.
- Brockmann, H.J., 1992. Male behavior, courtship and nesting in *Trypoxylon (Trypargilum) monteverdeae* (Hymenoptera: Sphecidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 66–84.
- Brockmann, H.J., 2001. The evolution of alternative strategies and tactics. *Adv. Study Behav.* 30, 1–51.

- Brockmann, H.J., 2004. Variable Life-history and Emergence Patterns of the Pipe-Organ Mud-daubing Wasp, *Trypoxylon politum* (Hymenoptera: Sphecidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 77, 503–527. doi:10.2317/E43.1
- Brockmann, H.J., Grafen, A., 1989. Mate conflict and male behaviour in a solitary wasp, *Trypoxylon (Trypargilum) politum* (Hymenoptera: Sphecidae). *Anim. Behav.* 37, Part 2, 232–255.
- Brown, J.L., Morales, V., Summers, K., 2010. A key ecological trait drove the evolution of biparental care and monogamy in an amphibian. *Am. Nat.* 175, 436–446.
- Burda, H., Honeycutt, R.L., Begall, S., Locker-Grütjen, O., Scharff, A., 2000. Are naked and common mole-rats eusocial and if so, why? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 47, 293–303.
- Buschini, M.L.T., 2007. Life-history and sex allocation in *Trypoxylon* (syn. *Trypargilum*) *lactitarse* (Hymenoptera; Crabronidae). *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 45, 206–213.
- Buschini, M.L.T., Donatti, A.J., 2012. Nesting behavior of *Trypoxylon (Trypargilum) agamemnom* Richards (Hymenoptera: Crabronidae). *Braz. J. Biol.* 72, 353–362.
- Buschini, M.L.T., Fajardo, S., 2010. Biology of the solitary wasp *Trypoxylon (Trypargilum) agamemnom* Richards 1934 (Hymenoptera: Crabronidae) in trap-nests. *Acta Zool.* 91, 426–432.
- Cameron, S.A., 1985. Brood care by male bumble bees. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82, 6371–6373.
- Cameron, S.A., 1986. Brood care by males of *Polistes major* (Hymenoptera: Vespidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 59, 183–185.
- Cardinal, S., Straka, J., Danforth, B.N., 2010. Comprehensive phylogeny of apid bees reveals the evolutionary origins and antiquity of cleptoparasitism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 16207–16211.
- Chapman, A.D., 2009. Numbers of living species in Australia and the world. Report for the Australian Biological Resources Study. Canberra, Australia 81pp.
- Chapman, T., Arnqvist, G., Bangham, J., Rowe, L., 2003. Sexual conflict. *Trends Ecol. Evol.* 18, 41–47.
- Chapple, D.G., Keogh, J.S., 2005. Complex mating system and dispersal patterns in a social lizard, *Egernia whitii*. *Mol. Ecol.* 14, 1215–1227.
- Chenoweth, L.B., Tierney, S.M., Smith, J.A., Cooper, S.J., Schwarz, M.P., 2007. Social complexity in bees is not sufficient to explain lack of reversions to solitary living over long time scales. *BMC Evol. Biol.* 7, 246.
- Clark, W.C., 1978. Hermaphroditism as a reproductive strategy for metazoans; some correlated benefits. *N. Z. J. Zool.* 5, 769–780.
- Clutton-Brock, T.H., 1989. Review lecture: mammalian mating systems. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 236, 339–372.
- Clutton-Brock, T.H., 1991. The evolution of parental care. Princeton University Press 353pp.
- Cockburn, A., 2006. Prevalence of different modes of parental care in birds. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 273, 1375–1383.
- Cocroft, R.B., 1999. Parent-Offspring Communication in Response to Predators in a Subsocial Treehopper (Hemiptera: Membracidae: *Umberia*). *Ethology* 105, 553–568.
- Cohas, A., Allainé, D., 2009. Social structure influences extra-pair paternity in socially monogamous mammals. *Biol. Lett.* 5, 313–316.
- Cook, J.M., 1993. Sex determination in the Hymenoptera: a review of models and evidence. *Heredity* 71, 421–435.
- Corbet, P.S., 1999. Dragonflies: behaviour and ecology of Odonata. Harley Books 845pp.
- Coville, R.E., Griswold, C., 1983. Nesting biology of *Trypoxylon xanthandrum* in Costa Rica with observations on its spider prey (Hymenoptera: Sphecidae; Araneae: Senoculidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 205–216.
- Coville, R.E., Griswold, C., 1984. Biology of *Trypoxylon (Trypargilum) superbum* (Hymenoptera: Sphecidae), a spider-hunting wasp with extended guarding of the brood by males. *J. Kans. Entomol. Soc.* 365–376.
- Coville, R.E., Griswold, C., Coville, P.L., 2000. Observations on the nesting biology and behavior of *Trypoxylon (Trypargilum) vagulum* (Hymenoptera: Sphecidae) in Costa Rica. *Pan-Pac. Entomol.* 76, 28–48.

- Crespi, B.J., 2007. Comparative evolutionary ecology of social and sexual systems: water-breathing insects come of age. in: Duffy, J.E., Thei, M. (eds): *Evolutionary Ecology of Social and Sexual Systems: Crustaceans as Model Organisms*. Oxf. Univ. Press. 442-460
- Crozier, R.H., Fjerdingstad, E.J., 2001. Polyandry in social Hymenoptera—diversity in diversity?, *Annales Zoologici Fennici*. pp. 267–285.
- Crozier, R.H., Newey, P.S., Schluens, E.A., Robson, S.K., 2010. A masterpiece of evolution—*Oecophylla* weaver ants (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecol. News* 13. 57-71.
- Crozier, R.H., Page, R.E., 1985. On being the right size: male contributions and multiple mating in social Hymenoptera. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 18, 105–115.
- Cruz, Y.P., 1981. A sterile defender morph in a polyembryonic hymenopterous parasite. *Nature* 294, 446–447.
- Dawkins, R., 2006. *The selfish gene*. Oxford university press. 353pp
- Dew, R.M., Rehan, S.M., Tierney, S.M., Chenoweth, L.B., Schwarz, M.P., 2012. A single origin of large colony size in allodapine bees suggests a threshold event among 50 million years of evolutionary tinkering. *Insectes Sociaux* 59, 207–214.
- Dixon, A., Ross, D., O'Malley, S.L.C., Burke, T., 1994. Paternal investment inversely related to degree of extra-pair paternity in the reed komurting. *Nature* 371, 698–700.
- Double, M.C., Dawson, D., Burke, T., Cockburn, A., 1997. Finding the fathers in the least faithful bird: a microsatellite-based genotyping system for the superb fairy-wren *Malurus cyaneus*. *Mol. Ecol.* 6, 691–693.
- Dunn, P.O., Cockburn, A., 1998. Costs and Benefits of Extra-Group Paternity in Superb Fairy-Wrens. *Ornithol. Monogr.* 147–161.
- Dunn, P.O., Cockburn, A., Mulder, R.A., 1995. Fairy-wren helpers often care for young to which they are unrelated. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 259, 339–343.
- Eberhard, W.G., 1997. Sexual selection by cryptic female choice in insects and arachnids. in: Choe, J.C., Crespi, B.J. (eds) *Evolution Mating Systems Insects Arachnids* 32–57.
- Eberhard, W.G., Cordero, C., 1995. Sexual selection by cryptic female choice on male seminal products—a new bridge between sexual selection and reproductive physiology. *Trends Ecol. Evol.* 10, 493–496.
- Eggert, A.-K., Muller, J.K., 1997. Biparental care and social evolution in burying beetles: lessons from the larder. *Evol. Soc. Behav. Insects Arachn.* 216
- Eggert, A.-K., Reinking, M., Muller, J.K., 1998. Parental care improves offspring survival and growth in burying beetles. *Anim. Behav.* 55, 97–107.
- Emlen, S.T., Oring, L.W., 1977. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science* 197, 215–223.
- Endler, J.A., Basolo, A.L., 1998. Sensory ecology, receiver biases and sexual selection. *Trends Ecol. Evol.* 13, 415–420.
- Engel, M.S., 2012. On the classification of the bee genus *Manuelia* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomol. Slov.* 20, 65-72
- Fernandez-Duque, E., 2007. Social monogamy in the only nocturnal haplorhines. *Primates Perspect.* 139-185
- Field, J., 2005. The evolution of progressive provisioning. *Behav. Ecol.* 16, 770–778.
- Field, J., 2008. The ecology and evolution of helping in hover wasps (Hymenoptera: Stenogastrinae), in: Korb, J., Heinze J. (eds): *Ecology of Social Evolution*. Springer, 85–107.
- Field, J., Paxton, R.J., Soro, A., Bridge, C., 2010. Cryptic plasticity underlies a major evolutionary transition. *Curr. Biol.* 20, 2028–2031.
- Flores-Prado, L., Chiappa, E., Niemeyer, H.M., 2008. Nesting biology, life cycle, and interactions between females of *Manuelia postica*, a solitary species of the Xylocopinae (Hymenoptera: Apidae). *N. Z. J. Zool.* 35, 93–102.
- Forbes, S., 2009. Portfolio theory and how parent birds manage investment risk. *Oikos* 118, 1561–1569.

- Foster, K.R., Wenseleers, T., Ratnieks, F.L., Queller, D.C., 2006. There is nothing wrong with inclusive fitness. *Trends Ecol. Evol.* 21, 599–600.
- Frabberger, R.J., Ayasse, M., 2007. Mating Behavior, Male Territoriality and Chemical Communication in the European Spiral-Horned Bees, *Systropha planidens* and *S. curvicornis* (Hymenoptera: Halictidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 80, 348–360.
- Francescato, E., Massolo, A., Landi, M., Gerace, L., Hashim, R., Turillazzi, S., 2002. Colony membership, division of labor, and genetic relatedness among females of colonies of *Eustenogaster fraterna* (Hymenoptera, Vespidae, Stenogastrinae). *J. Insect Behav.* 15, 153–170.
- Franco, K., Jauset, A., Castañé, C., 2011. Monogamy and polygamy in two species of mirid bugs: A functional-based approach. *J. Insect Physiol.* 57, 307–315.
- Fromhage, L., Kokko, H., 2011. Monogamy and haplodiploidy act in synergy to promote the evolution of eusociality. *Nat. Commun.* 2, 397.
- Fromhage, L., Schneider, J.M., 2006. Emasculation to plug up females: the significance of pedipalp damage in *Nephila fenestrata*. *Behav. Ecol.* 17, 353–357.
- Fujisaki, K., 1981. Studies on the mating system of the winter cherry bug, *Acanthocoris sordidus* Thunberg (Heteroptera: Coreidae) II. Harem defence polygyny. *Res. Popul. Ecol.* 23, 262–279.
- Gardner, M.P., Gems, D., Viney, M.E., 2006. Extraordinary plasticity in aging in *Strongyloides ratti* implies a gene-regulatory mechanism of lifespan evolution. *Aging Cell* 5, 315–323.
- Gilbert, J.D., Manica, A., 2010. Parental Care Trade-Offs and Life-History Relationships in Insects. *Am. Nat.* 176, 212–226.
- Goodwin, N.B., Balshine-Earn, S., Reynolds, J.D., 1998. Evolutionary transitions in parental care in cichlid fish. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 265, 2265–2272.
- Goossens, B., Graziani, L., Waits, L.P., Farand, E., Magnolon, S., Coulon, J., Bel, M.-C., Taberlet, P., Allainé, D., 1998. Extra-pair paternity in the monogamous Alpine marmot revealed by nuclear DNA microsatellite analysis. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 43, 281–288.
- Gotthard, K., Nylin, S., Wiklund, C., 2000. Mating opportunity and the evolution of sex-specific mortality rates in a butterfly. *Oecologia* 122, 36–43.
- Grandcolas, P., Park, Y.C., Choe, J.C., Piulachs, M.-D., Bellés, X., D’Haese, C., Farine, J.-P., Brossut, R., Farine, J.-P., 2001. What does *Cryptocercus kyebangensis*, n. sp. (Dictyoptera: Blattaria: Polyphagidae) from Korea reveal about *Cryptocercus* evolution? A study in morphology, molecular phylogeny, and chemistry of tergal glands. *Proc. Acad. Nat. Sci.* 151, 61–79.
- Groddeck, J., Mauss, V., Reinhold, K., 2004. The Resource-Based Mating System of the Mediterranean Pollen Wasp *Ceramius fonscolombeii* Latreille 1810 (Hymenoptera, Vespidae, Masarinae). *J. Insect Behav.* 17, 397–418.
- Gross, M.R., 1996. Alternative reproductive strategies and tactics: diversity within sexes. *Trends Ecol. Evol.* 11, 92–98.
- Gross, M.R., 2005. The evolution of parental care. *Q. Rev. Biol.* 80, 37–45.
- Gross, M.R., Shine, R., 1981. Parental care and mode of fertilization in ectothermic vertebrates. *Evolution* 35, 775–793.
- Gwynne, D.T., 1990. Testing parental investment and the control of sexual selection in katydids: the operational sex ratio. *Am. Nat.* 136, 474–484.
- Gwynne, D.T., Jamieson, I., 1998. Sexual selection and sexual dimorphism in a harem-polygynous insect, the alpine weta (*Hemideina maori*, Orthoptera Stenopelmatidae). *Ethol. Ecol. Amp Evol.* 10, 393–402.
- Hamilton, W.D., 1963. The evolution of altruistic behavior. *Am. Nat.* 97, 354–356.
- Hamilton, W.D., 1972. Altruism and related phenomena, mainly in social insects. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 3, 193–232.
- Hartley, I.R., Davies, N.B., Hatchwell, B.J., Desrochers, A., Nebel, D., Burke, T., 1995. The polygynandrous mating system of the alpine accentor, *Prunella collaris*. II. Multiple paternity and parental effort. *Anim. Behav.* 49, 789–803.

- Hedrick, A.V., Temeles, E.J., 1989. The evolution of sexual dimorphism in animals: hypotheses and tests. *Trends Ecol. Evol.* 4, 136–138.
- Heg, D., Heyl, S., Rasa, O.A.E., Peschke, K., 2006. Reproductive skew and communal breeding in the subsocial beetle *Parastizopus armaticeps*. *Anim. Behav.* 71, 427–437.
- Hogendoorn, K., Velthuis, H.H.W., 1999. Task allocation and reproductive skew in social mass provisioning carpenter bees in relation to age and size. *Insectes Sociaux* 46, 198–207.
- Holliday, R., 2006. Aging is no longer an unsolved problem in biology. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1067, 1–9.
- Hook, A.W., Matthews, R.W., 1980. Nesting Biology of *Oxybelus Sericeus* With a Discussion of Nest Guarding by Male Sphecid Wasps (Hymenoptera). *Psyche J. Entomol.* 87, 21–37.
- Hosken, D.J., Stockley, P., Tregenza, T., Wedell, N., 2009. Monogamy and the battle of the sexes. *Annu. Rev. Entomol.* 54, 361–378.
- Houston, A.I., Székely, T., McNamara, J.M., 2005. Conflict between parents over care. *Trends Ecol. Evol.* 20, 33–38.
- Hughes, C., 1998. Integrating Molecular Techniques with Field Methods in Studies of Social Behavior: A Revolution Results. *Ecology* 79, 383–399.
- Hughes, W.O., Oldroyd, B.P., Beekman, M., Ratnieks, F.L., 2008. Ancestral monogamy shows kin selection is key to the evolution of eusociality. *Science* 320, 1213–1216.
- Hunt, J., Simmons, L.W., 2002. Behavioural dynamics of biparental care in the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Anim. Behav.* 64, 65–75.
- Jacobson, M., 2012. Insect sex pheromones. Elsevier. 296pp
- Jeanne, R.L., 1979. A Latitudinal Gradient in Rates of Ant Predation. *Ecology* 60, 1211.
- Jenni, D.A., Collier, G., 1972. Polyandry in the American jacana (*Jacana spinosa*). *The Auk* 89(4), 743–765.
- Jennions, M.D., Macdonald, D.W., 1994. Cooperative breeding in mammals. *Trends Ecol. Evol.* 9, 89–93.
- Jennions, M.D., Petrie, M., 2000. Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biol. Rev.* 75, 21–64.
- Johnson, M., 1990. Female size and fecundity in the small carpenter bee, *Ceratina-calcarata* (Robertson)(Hymenoptera, Anthophoridae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 63, 414–419.
- Johnstone, R.A., Keller, L., 2000. How Males Can Gain by Harming Their Mates: Sexual Conflict, Seminal Toxins, and the Cost of Mating. *Am. Nat.* 156, 368–377.
- Jones, O.R., Wang, J., 2010. COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Mol. Ecol. Resour.* 10, 551–555.
- Keller, L., Genoud, M., 1997. Extraordinary lifespans in ants: a test of evolutionary theories of ageing. *Nature* 389, 958–960.
- Kemp, D.J., 2000. Contest behavior in territorial male butterflies: does size matter? *Behav. Ecol.* 11, 591–596.
- Kent, D.S., Simpson, J.A., 1992. Eusociality in the beetle *Austroplatypus incompertus* (Coleoptera: Curculionidae). *Naturwissenschaften* 79, 86–87.
- Kidokoro, M., Azuma, N., Higashi, S., 2006. Pre-hibernation mating by a solitary bee, *Ceratina flavipes* (Hymenoptera: Apidae: Xylocopinae). *J. Nat. Hist.* 40, 2101–2110.
- Kirkendall, L.R., 1983. The evolution of mating systems in bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae and Platypodidae). *Zool. J. Linn. Soc.* 77, 293–352.
- Kirkwood, T.B.L., Rose, M.R., Kirkwood, T.B.L., Rose, M.R., 1991. Evolution of senescence: late survival sacrificed for reproduction. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 332, 15–24.
- Koeniger, N., Koeniger, G., others, 2000. Reproductive isolation among species of the genus *Apis*. *Apidologie* 31, 313–339.
- Kojima, J., 1993. Feeding of Larvae by Males of an Australian Paper Wasp, *Ropalidia plebeiana* Richards (Hymenoptera, Vespidae). *Jpn. J. Entomol.* 61, 213–215.
- Kokko, H., Jennions, M.D., 2008. Parental investment, sexual selection and sex ratios. *J. Evol. Biol.* 21, 919–948.

- Kokko, H., Morrell, L.J., 2005. Mate guarding, male attractiveness, and paternity under social monogamy. *Behav. Ecol.* 16, 724–731.
- Komdeur, J., Huffstadt, A., Prast, W., Castle, G., Mileto, R., Wattel, J., 1995. Transfer experiments of Seychelles warblers to new islands: changes in dispersal and helping behaviour. *Anim. Behav.* 49, 695–708.
- Kranz, B.D., Schwarz, M.P., Mound, L.A., Crespi, B.J., 1999. Social biology and sex ratios of the eusocial gall-inducing thrips *Kladothrips hamiltoni*. *Ecol. Entomol.* 24, 432–442.
- Kronauer, D.J., Johnson, R.A., Boomsma, J.J., 2007. The evolution of multiple mating in army ants. *Evolution* 61, 413–422.
- Lack, D., 1947. The significance of clutch-size. *Ibis* 89, 302–352.
- Landi, M., Queller, D.C., Turillazzi, S., Strassmann, J.E., 2003. Low relatedness and frequent queen turnover in the stenogastrine wasp *Eustenogaster fraterna* favor the life insurance over the haplodiploid hypothesis for the origin of eusociality. *Insectes Sociaux* 50, 262–267.
- Le Goff, G., Terzo, M., 1999. Nouvelles observations sur *Ceratina parvula* Smith en France et en péninsule Ibérique (Hymenoptera, Xylocopinae). *Bull. Société Entomol. Fr.* 104, 53–58.
- Lin, N., Michener, C.D., 1972. Evolution of sociality in insects. *Q. Rev. Biol.* 47, 131–159.
- Linksvayer, T.A., Wade, M.J., 2005. The evolutionary origin and elaboration of sociality in the aculeate Hymenoptera: maternal effects, sib-social effects, and heterochrony. *Q. Rev. Biol.* 80, 317–336.
- Lucas, E.R., Field, J., 2011. Active and effective nest defence by males in a social apoid wasp. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 65, 1499–1504.
- Luckinbill, L.S., Clare, M.J., 1985. Heredity - Abstract of article: Selection for life span in *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 55, 9–18.
- Machado, G., 2002. Maternal care, defensive behavior, and sociality in neotropical *Goniosoma harvestmen* (Arachnida, Opiliones). *Insectes Sociaux* 49, 388–393.
- Maekawa, K., Matsumoto, T., Nalepa, C.A., 2008. Social biology of the wood-feeding cockroach genus *Salganea* (Dictyoptera, Blaberidae, Panesthiinae): did ovoviviparity prevent the evolution of eusociality in the lineage? *Insectes Sociaux* 55, 107–114.
- Maeta, Y., Sakagami, S.F., 1995. Oophagy and Egg Replacement in Artificially Induced Colonies of a Basically Solitary Bee, *Ceratina (Ceratinidia) okinawana* (Hymenoptera, Anthophoridae, Xylocopinae), with a Comparison of Social Behavior among *Ceratina*, *Xylocopa* and the Halictine Bees. *Jpn. J. Entomol.* 63, 347–375.
- Maeta, Y., Sierra, E.A., Sakagami, S.F., 1997a. Comparative studies on the in-nest behaviors of small carpenter bees, the genus *Ceratina* (Hymenoptera, Anthophoridae, Xylocopinae) : I. *Ceratina (Ceratina) cucurbitina*, part 1. *Jpn. J. Entomol.* 65, 303–319.
- Maeta, Y., Sierra, E.A., Sakagami, S.F., 1997b. Comparative studies on the in-nest behaviors of small carpenter bees, the genus *Ceratina* (Hymenoptera, Anthophoridae, Xylocopinae) : I. *Ceratina (Ceratina) cucurbitina*, part 2. *Jpn. J. Entomol.* 65, 471–481.
- Magrath, M.J., Komdeur, J., 2003. Is male care compromised by additional mating opportunity? *Trends Ecol. Evol.* 18, 424–430.
- Martins, M., Pombal, J.P., Haddad, C.F., 1998. Escalated aggressive behaviour and facultative parental care in the nest building gladiator frog, *Hyla faber*. *Amphib.-Reptil.* 19, 65–73.
- Mas, F., Kölliker, M., 2008. Maternal care and offspring begging in social insects: chemical signalling, hormonal regulation and evolution. *Anim. Behav.* 76, 1121–1131.
- Mathews, L.M., 2002a. Tests of the mate-guarding hypothesis for social monogamy: does population density, sex ratio, or female synchrony affect behavior of male snapping shrimp (*Alpheus angulatus*)? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 51, 426–432.
- Mathews, L.M., 2002b. Territorial cooperation and social monogamy: factors affecting intersexual behaviours in pair-living snapping shrimp. *Anim. Behav.* 63, 767–777.
- Matsumoto-Oda, A., 1999. Female choice in the opportunistic mating of wild chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*) at Mahale. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 46, 258–266.

- Maurer, G., 2008. Who Cares? Males Provide Most Parental Care in a Monogamous Nesting Cuckoo. *Ethology* 114, 540–547.
- Meade, J., Nam, K.-B., Lee, J.-W., Hatchwell, B.J., 2011. An Experimental Test of the Information Model for Negotiation of Biparental Care. *PLoS ONE* 6, e19684.
- Medawar, P.B., 1957. Uniqueness of the Individual. Basic Books INC N. Y. 1957, 162pp.
- Michener, C.D., 1969. Comparative social behavior of bees. *Annu. Rev. Entomol.* 14, 299–342.
- Michener, C.D., 1974. The social behavior of the bees: A comparative study. Harvard University Press. 404pp
- Michener, C.D., 2007. The bees of the world, 2nd ed. The Johns Hopkins University Press. 972pp
- Michener, C.D., Eickwort, K.R., 1966. Observations on nests of *Ceratina* in Costa Rica (Hymenoptera, Apoidea). *Rev. Biol. Trop.* 14, 279–286.
- Miettinen, M., Kaitala, A., 2000. Copulation is not a prerequisite to male reception of eggs in the golden egg bug *Phyllomorpha laciniata* (Coreidae; Heteroptera). *J. Insect Behav.* 13, 731–740.
- Miller, K.B., 2003. The phylogeny of diving beetles (Coleoptera: Dytiscidae) and the evolution of sexual conflict. *Biol. J. Linn. Soc.* 79, 359–388.
- Moritz, R.F., 1985. The effects of multiple mating on the worker-queen conflict in *Apis mellifera* L. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 16, 375–377.
- Münster-Swendsen, M., Calabuig, I., 2000. Interaction between the solitary bee *Chelostoma florissomne* and its nest parasite *Sapyga clavicornis*- empty cells reduce the impact of parasites. *Ecol. Entomol.* 25, 63–70.
- Nalepa, C.A., Bell, W.J., 1997. Posovulation parental investment and parental care in cockroaches, in: Choe, J.C., Crespi, B.J. (Eds.), *The Evolution of Social Behaviour in Insects and Arachnids*. Cambridge University Press, pp. 26–51.
- Naug, D., Gadagkar, R., 1998. The role of age in temporal polyethism in a primitively eusocial wasp. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 42, 37–47.
- Nowak, M.A., Tarnita, C.E., Wilson, E.O., 2010. The evolution of eusociality. *Nature* 466, 1057–1062.
- O'Donnell, S., 1999. The function of male dominance in the eusocial wasp, *Mischocyttarus mastigophorus* (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology* 105, 273–282.
- O'Neill, S.L., Rose, H.A., Rugg, D., 1987. Social Behaviour and Its Relationship to Field Distribution in *Panesthia cribrata* Saussure (Blattodea: Blaberidae). *Aust. J. Entomol.* 26, 313–321.
- Oldroyd, B.P., Fewell, J.H., 2007. Genetic diversity promotes homeostasis in insect colonies. *Trends Ecol. Evol.* 22, 408–413.
- Ortiz-Sánchez, F.J., Terzo, M., 2004. Las *Ceratina* Latreille, 1802 ibéricas del Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid (Hymenoptera, Apoidea). *Boletín Asoc. Esp. Entomol.* 28, 89–123.
- Palmer, K.A., Oldroyd, B.P., 2000. Evolution of multiple mating in the genus *Apis*. *Apidologie* 31, 235–248.
- Park, Y.C., Grandcolas, P., Choe, J.C., 2002. Colony composition, social behavior and some ecological characteristics of the Korean wood-feeding cockroach (*Cryptocercus kyebangensis*). *Zoolog. Sci.* 19, 1133–1139.
- Paxton, R.J., 2005. Male mating behaviour and mating systems of bees: an overview. *Apidologie* 36, 145–156.
- Peer, K., Taborsky, M., 2007. Delayed dispersal as a potential route to cooperative breeding in ambrosia beetles. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 61, 729–739.
- Petrie, M., Kempenaers, B., 1998. Extra-pair paternity in birds: explaining variation between species and populations. *Trends Ecol. Evol.* 13, 52–58.
- Queller, D.C., 1989. The evolution of eusociality: Reproductive head starts of workers. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86, 3224–3226.
- Queller, D.C., Zacchi, F., Cervo, R., Turillazzi, S., Henshaw, M.T., Santorelli, L.A., Strassmann, J.E., 2000. Unrelated helpers in a social insect. *Nature* 405, 784–787.
- R Development Core Team, 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

- Ra'Anan, Z., Sagi, A., 1985. Alternative mating strategies in male morphotypes of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Biol. Bull.* 169, 592–601.
- Rahman, N., Dunham, D.W., Govind, C.K., 2003. Social Monogamy in the Big-Clawed Snapping Shrimp, *Alpheus heterochelis*. *Ethology* 109, 457–473.
- Rasa, O.A.E., 1999. Division of Labour and Extended Parenting in a Desert Tenebrionid Beetle. *Ethology* 105, 37–56.
- Ratnieks, F.L.W., 1996. Evolution of unstable and stable biparental care. *Behav. Ecol.* 7, 490–493.
- Reeve, H.K., 1993. Haplodiploidy, eusociality and absence of male parental and alloparental care in Hymenoptera: a unifying genetic hypothesis distinct from kin selection theory. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 342, 335–352.
- Rehan, S.M., Chapman, T.W., Craigie, A.I., Richards, M.H., Cooper, S.J.B., Schwarz, M.P., 2010a. Molecular phylogeny of the small carpenter bees (Hymenoptera: Apidae: Ceratinini) indicates early and rapid global dispersal. *Mol. Phylogenet. Evol.* 55, 1042–1054.
- Rehan, S.M., Leys, R., Schwarz, M.P., 2012. A Mid-Cretaceous Origin of Sociality in Xylocopine Bees with Only Two Origins of True Worker Castes Indicates Severe Barriers to Eusociality. *PLoS ONE* 7, e34690.
- Rehan, S.M., Richards, M.H., 2010a. The influence of maternal quality on brood sex allocation in the small carpenter bee, *Ceratina calcarata*. *Ethology* 116, 876–887.
- Rehan, S.M., Richards, M.H., 2010b. Nesting biology and subsociality in *Ceratina calcarata* (Hymenoptera: Apidae). *Can. Entomol.* 142, 65–74.
- Rehan, S.M., Richards, M.H., Schwarz, M.P., 2009. Evidence of social nesting in the *Ceratina* of Borneo (Hymenoptera: Apidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 82, 194–209.
- Rehan, S.M., Richards, M.H., Schwarz, M.P., 2010b. Social polymorphism in the Australian small carpenter bee, *Ceratina (NeoCeratina) australensis*. *Insectes Sociaux* 57, 403–412.
- Reynolds, J.D., 1996. Animal breeding systems. *Trends Ecol. Evol.* 11, 68–72.
- Reynolds, J.D., Goodwin, N.B., Freckleton, R.P., 2002. Evolutionary transitions in parental care and live bearing in vertebrates. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 357, 269–281.
- Richards, M., Packer, L., Seger, J., 1995. Unexpected patterns of parentage and relatedness in a primitively eusocial bee. *Nature* 373, 239–241.
- Ridley, M., 1978. Paternal care. *Anim. Behav.* 26, Part 3, 904–932.
- Roff, D.A., 1992. *Evolution Of Life Histories: Theory and Analysis*. Springer Science & Business Media. 537pp
- Roff, D.A., 2002. *Life history evolution*. Sinauer Associates Sunderland 517pp.
- Ross, L., Gardner, A., Hardy, N., West, S.A., 2013. Ecology, Not the Genetics of Sex Determination, Determines Who Helps in Eusocial Populations. *Curr. Biol.* 23, 2383–2387.
- Royer, M., 1975. Hermaphroditism in Insects. Studies on *Icerya purchasi*, in: Reinboth, P.D.R. (Ed.), *Intersexuality in the Animal Kingdom*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 135–145.
- Runcie, M.J., 2000. Biparental care and obligate monogamy in the rock-haunting possum, *Petropseudes dahli*, from tropical Australia. *Anim. Behav.* 59, 1001–1008.
- Ryan, M.J., 1998. Sexual Selection, Receiver Biases, and the Evolution of Sex Differences. *Science* 281, 1999–2003.
- Ryotaro Hara, M., Gnaspini, P., Machado, G., 2003. Male egg guarding behavior in the Neotropical harvestman *Ampheres leucopheus* (Mello-Leitao 1922)(Opiliones, Gonyleptidae). *J. Arachnol.* 31, 441–444.
- Sakagami, S.F., Laroca, S., 1971. Observations on the Bionomics of Some Neotropical Xylocopine Bees, with Comparative and Biofaunistic Notes (Hymenoptera, Anthophoridae). *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI Zool.* 18, 57–127.
- Sakagami, S.F., Maeta, Y., 1977. Some presumably presocial habits of Japanese *Ceratina* bees, with notes on various social types in Hymenoptera. *Insectes Sociaux* 24, 319–343.
- Sakagami, S.F., Maeta, Y., 1984. Multifemale nests and rudimentary castes in the normally solitary bee *Ceratina japonica* (Hymenoptera: Xylocopinae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 57, 639–656.

- Sakagami, S.F., Maeta, Y., 1987. Multifemale nests and rudimentary castes of an “almost” solitary bee *Ceratina flavipes*, with additional observations on multifemale nests of *Ceratina japonica* (Hymenoptera, Apoidea). *Kontyu Tokyo* 55, 391–409.
- Sakagami, S.F., Maeta, Y., 1989. Compatibility and incompatibility of solitary life with eusociality in two normally solitary bees *Ceratina japonica* and *Ceratina okinawana* (Hymenoptera, Apoidea), with notes on the incipient phase of eusociality. *Jpn. J. Entomol.* 57, 417–439.
- Sakagami, S.F., Munakata, M., 1972. Distribution and Bionomics of a Transpalaeartic Eusocial Halictine Bee, *Lasioglossum (Evylaeus) calceatum*, in Northern Japan, with Reference to Its Solitary Life Cycle at High Altitude. *J. Fac. Science Hokkaido Univ. Ser. Zool.* 18, 411–439.
- Sauter, A., Brown, M.J., Baer, B., Schmid-Hempel, P., 2001. Males of social insects can prevent queens from multiple mating., in: Proceedings. Biological sciences/The Royal Society. The Royal Society, p. 1449.
- Schuster, J.C. and S., Schuster,, L.B., 1985. Social Behavior in Passalid Beetles (Coleoptera: Passalidae): Cooperative Brood Care. *Fla. Entomol.* 68, 266–272.
- Schuster, J.C., Schuster, L.B., 1997. The evolution of social behaviour in Passalidae, in: Choe, J.C., Crespi, B.J. (Eds.), *The Evolution of Social Behaviour in Insects and Arachnids*. Cambridge University Press, pp. 260–269.
- Schwarz, M.P., Richards, M.H., Danforth, B.N., 2007. Changing paradigms in insect social evolution: insights from halictine and allodapine bees. *Annu Rev Entomol* 52, 127–150.
- Scott, J.A., 1968. Hilltopping as a mating mechanism to aid the survival of low density species. *J. Res. Lepid.* 7, 191–204.
- Seidelmann, K., 1999. The race for females: the mating system of the red mason bee, *Osmia rufa* (L.)(Hymenoptera: Megachilidae). *J. Insect Behav.* 12, 13–25.
- Sen, R., Gadagkar, R., 2006. Males of the social wasp *Ropalidia marginata* can feed larvae, given an opportunity. *Anim. Behav.* 71, 345–350.
- Sheehan, M.J., Tibbetts, E.A., 2009. Evolution of Identity Signals: Frequency-Dependent Benefits of Distinctive Phenotypes used for Individual Recognition. *Evolution* 63, 3106–3113.
- Sheldon, B.C., 2002. Relating paternity to paternal care. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 357, 341–350.
- Shellman-Reeve, J.S., 1999. Courting strategies and conflicts in a monogamous, biparental termite. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 266, 137–144.
- Sherman, P.W., Lacey, E.A., Reeve, H.K., Keller, L., 1995. The eusociality continuum. *Behav. Ecol.* 6, 102–108.
- Shilpa, M.C., Sen, R., Samudre, S., Gadagkar, R., 2012. Males, but not females, mate with multiple partners: a laboratory study of a primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata*. *Insectes Sociaux* 59, 61–65.
- Shine, R., 1989. Ecological causes for the evolution of sexual dimorphism: a review of the evidence. *Q. Rev. Biol.* 419–461.
- Shiokawa, M., 1966. Comparative studies of two closely allied sympatric *Ceratina* bees, *C. flavipes* and *C. japonica* II. Nest structure. *Jpn. J. Entomol.* 34, 44–51.
- Shiokawa, M., 1969. Notes on nests of *Ceratina megastigmata* Yasumatsu et Hirashima (Hymenoptera, Anthophoridae). *Jpn. J. Entomol.* 37, 71–74.
- Simmons, L.W., Tomkins, J.L., Alcock, J., 2000. Can minor males of Dawson’s burrowing bee, *Amegilla dawsoni* (Hymenoptera: Anthophorini) compensate for reduced access to virgin females through sperm competition? *Behav. Ecol.* 11, 319–325.
- Smiseth, P.T., Darwell, C.T., Moore, A.J., 2003. Partial begging: an empirical model for the early evolution of offspring signalling. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 270, 1773–1777.
- Smiseth, P.T., Kölliker, M., Royle, N.J., 2012. What is parental care. *Evol. Parent. Care* 1–17.
- Smiseth, P.T., Moore, A.J., 2004. Behavioral dynamics between caring males and females in a beetle with facultative biparental care. *Behav. Ecol.* 15, 621–628.
- Smith, J.M., 1977. Parental investment: a prospective analysis. *Anim. Behav.* 25, 1–9.

- Smith, R.L., 1997. Evolution of paternal care in the giant water bugs (Heteroptera: Belostomatidae). In: Choe, J.C., Crespi, B.J. (eds) *Evolution Mating Systems Insects Arachnids*. 116–149.
- Stanback, M., Richardson, D.S., Boix-Hinzen, C., Mendelsohn, J., 2002. Genetic monogamy in Monteiro's hornbill, *Tockus monteiri*. *Anim. Behav.* 63, 787–793.
- Starr, C.K., 1985. Enabling mechanisms in the origin of sociality in the Hymenoptera - the stings the thing. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 78, 836–840.
- Stearns, S.C., 1976. Life-history tactics: a review of the ideas. *Q. Rev. Biol.* 51, 3–47.
- Stearns, S.C., 1989. Trade-offs in life-history evolution. *Funct. Ecol.* 3, 259–268.
- Stearns, S.C., 1992. *The evolution of life histories*. Oxford University Press Inc., New York. 249pp
- Straka, J., Bogusch, P., Přidal, A., 2007. Apoidea: Apiformes (včely). Annotated Checklist Aculeata Hymenoptera Czech Republic and Slovakia Komentovaný Seznam Žahadlových Blanokřídělých Hymenoptera Aculeata České Republiky a Slovenska. *Acta Entomol. Musei Natl. Pragae Suppl.* 11, 1–300.
- Straka, J., Černá, K., Macháčková, L., Zemenová, M., Keil, P., 2014. Life span in the wild: the role of activity and climate in natural populations of bees. *Funct. Ecol.* 1365–2435
- Strassmann, J.E., Gastreich, K.R., Queller, D.C., Hughes, C.R., 1992. Demographic and genetic evidence for cyclical changes in queen number in a neotropical wasp, *Polybia emaciata*. *Am. Nat.* 363–372.
- Strassmann, J.E., Jr, R.E.P., Robinson, G.E., Seeley, T.D., 2011. Kin selection and eusociality. *Nature* 471, E5–E6.
- Strohm, E., Marliani, A., 2002. The cost of parental care: prey hunting in a digger wasp. *Behav. Ecol.* 13, 52–58.
- Suzuki, S., 2013. Biparental care in insects: Paternal care, life history, and the function of the nest. *J. Insect Sci.* 13, 131
- Székely T, Webb J N & Cuthill I C. 2000. Mating patterns, sexual selection and parental care: an integrative approach. In 'Vertebrate Mating Systems', M. Apollonio, M Festa-Bianchet & D. Mainardi (eds), 2000, World Science Press, London 194–223.
- Taborsky, M., Oliveira, R.F., Brockmann, H.J., 2008. The evolution of alternative reproductive tactics: concepts and questions. In: Oliviera, R.F., Taborsky, M. (eds): *Alternative reproductive tactics: an integrative approach* 1–21.
- Tallamy, D.W., Brown, W.P., 1999. Semelparity and the evolution of maternal care in insects. *Anim. Behav.* 57, 727–730.
- Tallamy, D.W., Wood, T.K., 1986. Convergence patterns in subsocial insects. *Annu. Rev. Entomol.* 31, 369–390.
- Tepedino, V.J., McDonald, L.L., Rothwell, R., 1979. Defense against parasitization in mud-nesting Hymenoptera: Can empty cells increase net reproductive output? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 6, 99–104.
- Terzo, M., 1998. Annotated list of the species of the genus *Ceratina* (Latreille) occurring in the Near East, with descriptions of new species (Hymenoptera: Apoidea: Xylocopinae). *Linz. Biol. Beitr.* 30, 719–743.
- Terzo, M., Rasmont, P., 2004. Biogéographie et systématique des abeilles rubicoles du genre *Ceratina* Latreille au Turkestan (Hymenoptera, Apoidea, Xylocopinae), *Annales de La Société Entomologique de France*. Taylor & Francis, pp. 109–130.
- Thomas, G.H., Székely, T., 2005. Evolutionary pathways in shorebird breeding systems: sexual conflict, parental care, and chick development. *Evolution* 59, 2222–2230.
- Thorne, B.L., 1997. Evolution of Eusociality in Termites. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28, 27–54.
- Tierney, S.M., Smith, J.A., Chenoweth, L., Schwarz, M.P., 2008. Phylogenetics of allodapine bees: a review of social evolution, parasitism and biogeography. *Apidologie* 39, 3–15.
- Trivers, R.L., 1972. Parental investment and sexual selection, In: Campbell, B.(ed): *Sexual Selection and the Descent of Man, 1871-1971*. *Heinemann Educational*, 139–179.
- Trivers, R.L., 1974. Parent-offspring conflict. *Am. Zool.* 14, 249–264.

- Trumbo, S.T., 1991. Reproductive benefits and the duration of paternal care in a biparental burying beetle, *Necrophorus orbicollis*. *Behaviour* 82–105.
- Tullberg, B.S., Ah–King, M., Temrin, H., 2002. Phylogenetic reconstruction of parental–care systems in the ancestors of birds. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 357, 251–257.
- Ursprung, C., Hollander, M. den, Gwynne, D.T., 2009. Female seed beetles, *Callosobruchus maculatus*, remate for male-supplied water rather than ejaculate nutrition. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 63, 781–788.
- Van Veen, J.W., Sommeijer, M.J., Meeuwsen, F., 1997. Behaviour of drones in *Melipona* (Apidae, Meliponinae). *Insectes Sociaux* 44, 435–447.
- Varricchio, D.J., Moore, J.R., Erickson, G.M., Norell, M.A., Jackson, F.D., Borkowski, J.J., 2008. Avian Paternal Care Had Dinosaur Origin. *Science* 322, 1826–1828
- Vickruck, J.L., Huber, J.T., Richards, M.H., 2010. Natural enemies of the bee genus *Ceratina* (Hymenoptera: apidae) in the Niagara Region, Ontario, Canada. *J. Entomol. Soc. Ont.* 141. 11-26
- Walker, D.W., McColl, G., Jenkins, N.L., Harris, J., Lithgow, G.J., 2000. Natural selection: evolution of lifespan in *C. elegans*. *Nature* 405, 296–297.
- Walker, R.S., Gurven, M., Burger, O., Hamilton, M.J., 2008. The trade-off between number and size of offspring in humans and other primates. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 275, 827–834.
- Webb, J.N., Houston, A.I., McNamara, J.M., Székely, T., 1999. Multiple patterns of parental care. *Anim. Behav.* 58, 983–993.
- WENZEL, J.W., 1991. Evolution of nest architecture. In: Ross, K.G. and Matthews R.W.(eds): *The Social Biology of Wasps*, Cornell University Press, 480–519.
- Werren, J.H., Gross, M.R., Shine, R., 1980. Paternity and the evolution of male parental care. *J. Theor. Biol.* 82, 619–631.
- Westneat, D.F., Sargent, R.C., 1996. Sex and parenting: the effects of sexual conflict and parentage on parental strategies. *Trends Ecol. Evol.* 11, 87–91.
- Westneat, D.F., Stewart, I.R., 2003. Extra-pair paternity in birds: causes, correlates, and conflict. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 365–396.
- Wilson, E.O., 1971. *The insect societies*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 548pp
- Wilson, E.O., Hölldobler, B., 1980. Sex differences in cooperative silk-spinning by weaver ant larvae. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 77, 2343–2347.
- Wilson, E.O., Hölldobler, B., 2005. Eusociality: Origin and consequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 13367–13371.
- Wong, J.W., Meunier, J., Koelliker, M., 2013. The evolution of parental care in insects: the roles of ecology, life history and the social environment. *Ecol. Entomol.* 38, 123–137.
- Wright, J., Cotton, P.A., 1994. Experimentally induced sex differences in parental care: an effect of certainty of paternity? *Anim. Behav.* 47, 1311–1322.
- Zeh, J.A., Zeh, D.W., 2001. Reproductive mode and the genetic benefits of polyandry. *Anim. Behav.* 61, 1051–1063.