

Svoluji k zapůjčení své diplomové práce ke studijním účelům a prosím, aby byla vedena přesná evidence vypůjčovateli.

Převzaté údaje je vypůjčovatel povinen řádně ocitovat.

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie  
Obor: Zoologie



Bc. Petra Šplíchalová

**Ornamentace a mimopárový úspěch samců: manipulativní studie u lejska bělokrkého**  
**(*Ficedula albicollis*)**

Secondary male ornamentation and extra-pair paternity: experimental manipulation in  
collared flycatchers (*Ficedula albicollis*)

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

Školitel: Tomáš Albrecht  
Konzultant: Pavel Munclinger

Praha 2016

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že tato diplomová práce „**Ornamentace a mimopárový úspěch samců: manipulativní studie u lejska bělokrkého (*Ficedula albicollis*)**“ byla vypracována samostatně, pod vedením školitele. V práci jsou uvedeny všechny informační zdroje a literatura. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne .....

.....

Petra Šplíchalová

**Poděkování:**

Ráda bych na tomto místě poděkovala svému příteli a rodině za trpělivou pomoc při studiu a láskyplnou podporu. Dále bych ráda poděkovala svému školiteli Tomáši Albrechtovi za vedení této práce a cenné rady při práci se statistikou. Ráda bych také poděkovala Pavlu Munclingerovi za pomoc při práci v laboratoři a také Miloši Kristovi za možnost účastnit se terénních prací.

## Abstrakt:

U sociálně monogamně žijících pěvců se poměrně běžně vyskytují mimopárové paternity, které jsou důsledkem kopulací mimo sociální pár. Některé studie věnující se výskytu mimopárových paternit dokázaly, že samčí sekundární pohlavní znaky jsou asociované s mimopárovým reprodukčním úspěchem samců. Experimentální manipulaci ornamentu a jejímu vlivu na samčí fertilizační úspěch se však věnovalo překvapivě malé množství studií. Tato diplomová práce se zabývá vztahem mezi ornamentací a vnitropárovým a mimopárovým reprodukčním úspěchem a také celkovým reprodukčním úspěchem samců lejska bělokrkého (*Ficedula albicollis*) v souvislosti s experimentálním zvětšením a zmenšením čelní bílé skrvny, znaku, který by měl hrát roli při výběru partnera samicí. Dále byla sledována rychlost zahnízdění u manipulovaných jedinců a velikost snůšky samic. Výsledky naznačují, že ornamentace lejsků nemá vliv na samičí výběr partnera (uvedeného jako rychlost párování), reprodukci (velikost snůšky) nebo na úspěch samců v vnitropárových a mimopárových paternitách.

*Klíčová slova: mimopárové paternity, pohlavní výběr, reprodukční úspěch, lejsk bělokrký*

Extra-pair paternity, resulting from sexual promiscuity, is frequently detected in socially monogamous passerines. Previous studies on extra-pair paternity in birds have identified several traits correlated with increased fertilization success of males. However, the effect of experimental manipulation of ornament expression on male fertilization success has only seldom been evaluated. The aim of this thesis is to reveal the potential link between the size of a trait supposedly playing a role in female mate choice decision and male fertilization success in collared flycatchers (*Ficedula albicollis*), using experimental manipulation of male forehead white patch size. In addition, mating success, mating speed of the manipulated and control individuals and size of a brood (a proxy for female reproductive investments) were evaluated. Results indicate that forehead patch size manipulation did not affect male social pairing success (mating speed), his social mate reproductive investments (brood size) or male extra-pair and within-pair fertilization success.

*Keywords: extra-pair paternity, sexual selection, reproductive success, collared flycatcher*

## Obsah:

1. Úvod .....	8
1.1. Pohlavní výběr .....	9
1.1.1. Základní modely pohlavního výběru .....	10
1.2. Mimopárové paternity .....	14
1.2.1. Adaptivní význam mimopárových paternit .....	15
1.2.1.1. Samičí zisky a ztráty z mimopárových kopulací .....	16
1.2.1.1.1. Zisky samice z EPC .....	17
1.2.1.1.2. Ztráty samice z EPC .....	18
1.2.1.2. Samčí zisky a ztráty .....	19
1.2.2. EPP a variabilita v reprodukčním úspěchu samců .....	20
1.2.3. Ornamentace a mimopárové paternity .....	21
1.2.3.1. Vliv experimentální manipulace exprese ornamentu na EPP .....	23
1.3. Ornamentace a atraktivita samce .....	26
1.4. Molekulární metody určení jedince .....	27
1.4.1. Mikrosatelity .....	27
1.5. Lejsek bělokrký, modelový druh .....	28
1.5.1. Pohlavně selektované znaky lejsků .....	29
1.5.2. Sekundární pohlavní znaky jako znaky dominance .....	30
1.5.3. Ornamentace lejska a její vliv na výběr partnera .....	32
1.6. Cíle práce .....	34
2. Metodika .....	35
2.1. Lokalita .....	35
2.2. Terénní práce – odchyt dospělců na lokalitě .....	35
2.3. Manipulace ornamentace .....	36
2.4. Vyhodnocení naměřených dat .....	39
2.4.1. Genetická analýza .....	39
2.4.2. Analýza paternit .....	40
2.5. Statistické metody .....	42

3. Výsledky.....	43
3.1. Efekt manipulace ornamentu samce při výběru partnera .....	43
3.2. Efekt manipulace na rychlost párování .....	45
3.3. Efekt manipulace na velikost snůšky .....	47
3.4. Mimopárové paternity .....	48
3.5. Efekt manipulace na reprodukční úspěch samce .....	49
4. Diskuze .....	51
5. Závěr.....	59
6. Literatura.....	61

## 1. Úvod:

Vznik sekundárních pohlavních znaků by měl být podmíněn působením pohlavního výběru. Ten, jakožto evoluční hybatel, může dát vzniknout různým formám fenotypů, které se v různé míře v populaci uplatní či nikoliv (Majerus 1986; Anderson et al. 2006). U ptáků (především samců) můžeme pozorovat různé pohlavně selektované ornamenty. Tyto znaky většinou nabývají podoby pestrých struktur, či různě velkých pernatých ozdob na těle a hlavě, za pohlavně selektovanou může být považována i velikost těla (Anderson et al. 2006). Pohlavně selektované ornamenty jsou často odrazem fyzických schopností samce, jeho zdravotního stavu, věku nebo kompetičních schopností o teritorium v porovnání s ostatními samci z populace. Samci se prezentují různě vyvinutými ornamenty a dávají tak najevo svoji kvalitu samicím (Kraaijeveld et al. 2004).

Většinou je pohlavní výběr představován především jako síla působící převážně na samce, kteří spolu soupeří o možnost pářit se s samicemi (kompetice mezi samci) nebo může být důsledkem samičího výběru, a to jak na prekopulační tak na postkopulační úrovni (Cunningham & Birkhead 1998). Výběrem atraktivního samce si samice zvýší svoji fitness i fitness svých mláďat. U většiny druhů ptáků samice setrvává se samcem i po dobu hnízdění, tvoří sociální pár. Sociálně monogamní ptáci patří k modelovým taxonům studia pohlavního výběru (Clutton-Brock 2007). Je známo, že u monogamně žijících pěvců se samci s výraznějšími ornamenty rychleji spárují se sociální samicí a zároveň snadněji naleznou mimopárovou partnerku s níž mají další mláďata ( Arnqvist & Kirkpatrick 2005; Akcay & Roughgarden 2007; Eliassen & Kokko 2008; Cleasby & Nakagawa 2012)

Do sedmdesátých let předešlého století se předpokládalo, že sociálně monogamně žijící pěvci si jsou doopravdy věrní a nevěra je mezi nimi spíše výjimkou, než pravidlem (Lack 1968). S rozvojem molekulárních metod určení otcovství jsme dnes schopni mnohem efektivněji rozpoznat alternativní strategie rozmnožování (Ahlund & Andersson 2001) a výsledek většiny molekulárních prací byl překvapivý. Ukázalo se, že mezi pěvci jsou mimopárové paternity (EPP, z anglického extra-pair



paternity), čili stav kdy sociální partner není genetickým otcem mláďat sociální partnerky, široce rozšířeny (Griffith et al. 2002). Genetická polyandrie je tedy u této skupiny běžná. Otázka role mimopárových paternit v pohlavním výběru a evoluci ornamentů je však stále otevřená a výsledky nejednoznačné (Dunn et al. 2000, Mays et al. 2008). Konkrétní výsledek jednotlivých studií patrně souvisí s mechanismem výběru partnera u daného druhu (dobré versus komplementární geny, Mays & Hill 2004; Mays et al. 2008). V první, spíše rešeršní, části práce podám přehled o hlavních hypotézách vysvětlujících pohlavní výběr (zisky, které mohou plynout z výběru vybírajícímu pohlaví) a evoluci druhotných ornamentů. Dále se budu věnovat mimopárovým paternitám pěvců a jejich případné roli v evoluci druhotných ornamentů. Zaměřím se především na práce zabývající se experimentální manipulací ornamentů a jejím vlivem na mimopárový úspěch samců. Vlastní práce je pak založena na analýze dat týkajících se sledování vlivu manipulativního zvětšování a zmenšování ornamentu (čelní bílá skvrna) na atraktivitu samců a jejich fertilizační úspěch v populaci drobného sociálně monogamního pěvce, lejska bělokrkého (*Ficedula albicollis*). Důraz je kladen na pochopení vlivu manipulace ornamentu na mimopárový a vnitropárový úspěch samců, rychlosti jejich párování a velikosti snůšky (investic ze strany samice) u hnízd kde samci byli manipulováni.

## 1.1. Pohlavní výběr

Pohlavní výběr je považován za jednu z nejsilnějších evolučních sil. Společně s přírodním výběrem tvoří dvě důležité složky přirozeného výběru (Darwin 1859, 1871). Ačkoliv výběr partnera u pohlavně se rozmnožujících druhů může být pozorován jak u samců, tak u samic, ve většině modelů vysvětlujících vznik pohlavního výběru se pro zjednodušení považují samice za vybírající pohlaví (Andersson & Simmons 2006). V důsledku pohlavního výběru se (především) u samců vyvinuly různé fenotypové projevy, které zvyšují jejich atraktivitu u samic a tím i pravděpodobnost spárování a zvýšení individuální fitness. Tyto znaky se často vyvinuly jako čestné signály samčích kvalit. Ty si nelze představovat pouze jako fyzickou sílu jedince, ale spíše jako mnohem komplexnější faktor zahrnující fenotyp i genotyp jedince (Hill 2011). Ve výsledku

mohou tyto kvality být manifestovány odolnost vůči patogenům (Roulin et al. 2001) či vyrovnání se s nemocí (Hill & Farmer 2005), schopnost vyrovnat se s oxidačním stresem a udržení redoxní homeostázy (Perez-Rodriguez et al. 2010), ale i produkce funkčních spermií (phenotype-linked fertility hypotéza, Helfenstein et al. 2010) a obecně jako schopnost plodit zdravé či atraktivní potomky (Huuskonen et al. 2009). V obecné rovině mohou ornamenty působit jako handicap (ať už se bavíme o Fisherovském modelu, modelu handicapu) nebo reflektují kvalitu jedince a schopnost obrany vůči patogenům (hypotéza dobrých genů), mezi mechanismy založenými na Fisherovském modelu a modelu dobrých genů lze ale vysledovat přechod, v závislosti na tom zda je korelace mezi samčí atraktivitou a životaschopností mláďat pozitivní či negativní. Tento vztah se může změnit v reakci na environmentální změny či zvyšující se ztráty plynoucí z výběru partnera samice (Kokko et al. 2002).

Samčí ornamenty jsou lépe patrné u polygynních populací, u nichž se nachází vysoká variabilita v reprodukční úspěšnosti samců společně s kompeticí o samice. I u monogamně žijících druhů se však vyskytují často nápadné samčí struktury, a i u nich může být variabilita v reprodukčním úspěchu mezi pohlavími odlišná, například v důsledku mimopárových paternit (Dunn et al. 2001; Whittingham & Dunn 2005). Lze tedy konstatovat, že párovací systémy determinují míru pohlavního dimorfismu (Dunn et al. 2001), ale důležitým faktorem může být i vliv kompetice spermií, což je odhadováno často dle relativní velikosti varlat samců (Møller & Briskie 1995) či parametrů spermií (Lifjeld et al. 2010).

Jsou to právě mimopárové paternity, které mohou u sociálně monogamních druhů přispívat k vyšší variabilitě v reprodukčním úspěchu, čímž mohou přispívat k evoluci pohlavního dimorfismu právě u těchto druhů, kde je variabilita v reprodukčním úspěchu zdánlivě malá (Whittingham & Dunn 2005; Albrecht et al. 2007; Webster et al. 2007).

### **1.1.1 Základní modely pohlavního výběru**

Jednou z původních hypotéz je Fisher-Landeův model pohlavního výběru. Hlavní myšlenkou tohoto modelu je, že samice v populaci preferují samčí nové znaky

(ornamenty), přičemž tato preference není čistě iracionální, ale je založena na genetickém základu (Fisher 1930). Znaky související s vysokou atraktivitou jsou děděny syny, kteří jsou pak také atraktivní. „Runaway“ proces samičí preference znaku a evoluce znaku u samců je zastaven přírodním výběrem působícím proti expresi znaku u samců. Předpokládá se, že na počátku celého procesu může být nějaký arbitrární znak (mutace), který se stane samicemi z nějakého důvodu preferovaný. V tomto případě se mezi samicemi v populaci šíří gen pro preferenci daného znaku samců, neboť samice vybírající si samce s obecně preferovaným znakem mají atraktivnější samčí potomky a tím vyšší fitness. Preference samic pro samčí znak dále podporuje jeho vývoj u samců. Fisherův runaway model lze tedy obecně předpokládat mezi genem, který podporuje vznik znaku u samců (příkladem hohu uvést ocasní pera páva) a genem samic, který stojí za preferencí právě tohoto znaku (Hill 2002; Ticona & Penna 2003). Můžeme předpokládat, že ocasní pera samce vidy kohoutí (*Euplectes progne*) mohou být determinovány právě takovými geny. Stále se jedná pouze o předpoklad, to a jestli vůbec je samičí preference pro tyto ornamenty skutečně geneticky podmíněna zatím není dokázáno. Samec s delšími pery je pro samice atraktivnější a je v populaci preferován. Tito samci mají následně větší reprodukční úspěch. Samci s nejdelšími pery jsou limitováni přírodním výběrem a ocasní pera se pro ně mohou stát přítěží. Mohou například samce omezovat v útěku před predátorem. Na tomto příkladu můžeme pozorovat určitý překryv s hypotézou handicapu (Andersson 1982). Amotz Zahavi přišel v roce 1975 s hypotézou handicapu (Zahavi 1975). Sekundární pohlavní znaky ovlivňují přežívání jedince a jeho konkurence schopnost v reprodukčním úsilí. Ornament, který samce omezuje při letu, pohybu či shánění potravy je pro něj samotného přítěží, ale pro samice je indikátorem kvality, zdraví a vitality. Samec, který se dožije reprodukčního období i s tímto znakem je fyzicky zdatnější a v populaci může hrát roli alfa samce. Těmi nejlepšími samci jsou ti, kteří jsou schopni vyvážit míru exprese pohlavně selektovaného znaku tak, aby je neomezoval v přežívání, ale naopak maximalizoval jejich reprodukční úspěch (Sundberg & Dixon 1996).

Další možnou teorií zabývající se evolucí ornamentů je hypotéza evoluce zprostředkovaná parazity (parasite-mediated sexual selection; Hamilton & Zuk 1982). Na rozdíl od předchozích teorií, tato předpokládá, že na vnitrodruhové úrovni budou zdravější samci mít rozvinutější či výraznější ornament a to právě díky nízké míře

parazitace jedince. Jen tyto samci jsou schopni získat tak nákladný ornament a prostřednictvím tohoto ornamentu předvádějí (indikují) samicím svoji odolnost vůči patogenům. Na mezidruhovém úrovní se trend parazitace a míry ornamentace obrací. Na druhy, které jsou více parazitované, působí intenzivnější selekční tlak vůči parazitům, což vede k selekci spolehlivých indikátorů rezistence (ornamentace). Tyto indikátory kvality samce se stávají důležitou složkou výběru partnera a jejich signalizace je nákladná a pravdivě vypovídá o zdravotním stavu samce. Nákladná ornamentace je pak typická pro silně parazitované druhy (Hamilton & Zuk 1982).

Další možný proces vedoucí k vývoji sekundárních pohlavních ornamentů jako odpověď na výběr partnera je hypotéza dobrého rodiče (Hoelzer 1989). Tento model je založený na dvou základních předpokladech. Za prvé, pro vychování mláďat v populaci je důležitá dostatečná míra samčí rodičovské péče. Za druhé, v populaci se vyskytuje nedědičná variance v kvalitě péče o mláďata měřená jako vliv samčí péče na přežívání a fertilitu mláďat. Tato variance může být ovlivněna mnohými individuálními či environmentálními podmínkami. Například schopností samce krmit a bránit svá mláďata před hladem, predátory nebo nějakou formou zranění. Někteří samci se naučili využívat prostředky z prostředí mnohem efektivněji, nežli ostatní samci a byli schopni svým mláďatům obstarat mnohem více potravy. Další faktory jako jsou věk a velikost samce mohou změnit míru rodičovského chování v průběhu času v pozitivním i negativním smyslu nezávisle na environmentálních podmínkách (Iwasa & Pomiankowski 1999).

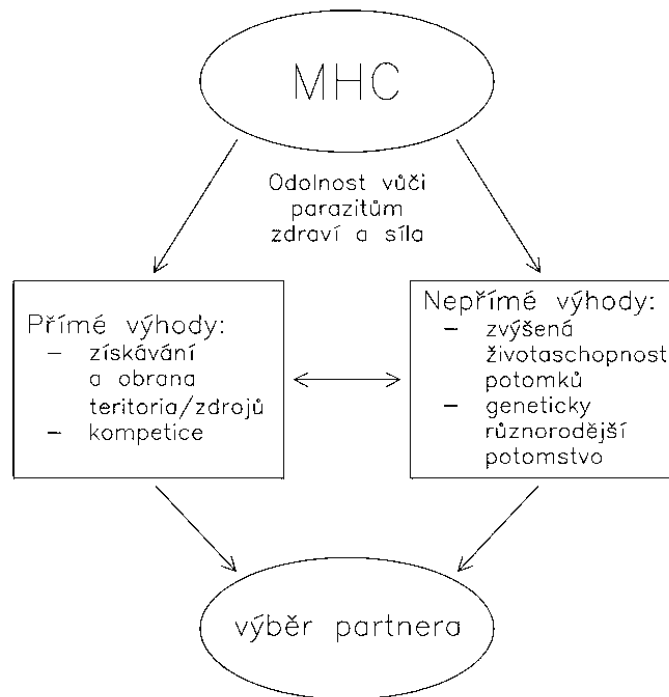
Pod hypotézou dobrých genů si můžeme představit situaci, kdy si samice vybírají kvalitní samce posouzením jejich fenotypových vlastností spojených s expresí pohlavně selektovaných ornamentů, ale také s kvalitou zpěvu nebo jinými vlastnostmi důležitými pro pohlavní výběr (Suter et al. 2009). Po spáření s kvalitním samcem dojde k přenosu konkrétních „dobrých genů“ na mláďata. Tato mláďata by se měla snáze dožít reprodukčního věku, právě za přispění získaných alel od otce a po dosažení dospělosti by měla exprimovat obdobné ornamenty jako jejich otec. Mezi takovéto dobré geny můžeme zařadit například geny zvyšující životaschopnost, například ovlivňující rezistenci vůči patogenům (Neff & Pitcher 2005). Výběrem samce, který bude mít tyto geny, si samice zvýší svoji fitness tím, že její mláďata budou přežívat lépe než ostatní mláďata. Ornamenty samců slouží samicím jako zprostředkované ukazatele kvality,

jeho zdravotního a fyzického stavu, jeho stáří a jeho kompetičních vlastností. Lze však poukázat na jistý problém, neboť pokud samice začnou preferovat konkrétní jedince s „kvalitními geny“, v populaci vymizí genetická variabilita (paradox leku; Tregenza & Wedel 2000), jinými slovy, z populace vymizí genotypy s relativně „kvalitnějšími geny“ a samci se stanou homozygotními v tomto znaku a preference pro tento znak zanikne. Řešením paradoxu leku může být neustálá koevoluce mezi parazitem a hostitelem (Hamilton & Zuk 1982) v intencích teorie „červené královny“ (red queen hypothesis; Van Valen 1973; King et al. 2006).

Alternativní možností výběru partnera, která však nevede k evoluci druhotných ornamentů, je hypotéza komplementárních genů. Průvodní myšlenkou této hypotézy je, že zplozená mláďata získají určitý znak, který je výsledkem komplementarity mezi samčími a samičími alelami. Síla exprese tohoto znaku může být odrazem odlišnosti genů mezi samcem a samicí (Mays & Hill 2004). Samice si tedy záměrně vybírají samce s co nejodlišnějším genotypem s účelem získat co nejheterozygotnější potomstvo. Mláďata mohou díky získanému genotypu (vyšší míra heterozygotnosti genomu, či specifických genů souvisejících například s obranou vůči patogenům) být v lepší kondici a mohou se vypořádat s větším množstvím parazitů na rozdíl od jejich homozygotnějších sourozenců (Mays et al. 2008). Samice se díky takovému výběru vyhnou škodlivému vlivu inbreedingu (Foerster et al. 2003; Qvarnström et al. 2006; Slatyer et al. 2012).

Evoluce sekundárních pohlavních znaků může být zprostředkovaná MHC geny. Tyto geny souvisí s rezistencí jedince vůči patogenům a také s individuálním rozpoznáním inbreedingu (Zelano & Edwards 2002). Mnohé studie se snaží propojit tyto geny s behaviorálním chováním zvířat (ptáků). Nicméně to jakým způsobem MHC geny mohou ovlivňovat výběr partnera je zatím nejasné a ani propojení s modely dobrých a kompatibilních genů není zcela vysvětlené (Jennions & Petrie 2000). Předpokládá se, že pokud onemocnění jedince ovlivňuje kondičně závislé znaky, můžeme očekávat, že imunitní odpověď zprostředkovaná MHC geny bude hrát důležitou roli ve výběru partnera (Zelano & Edwards 2002). Exprimovat kondičně závislé znaky je energeticky náročné a investici do těchto ornamentů si mohou dovolit pouze zdraví jedinci (viz Obr. 1).

Obr. 1: Schématická představa vlivu MHC genů na výběr partnera (převzato z Zelano & Edwards 2002)



## 1.2 Mimopárové paternity

U pěvců se jako nejběžnější párovací systém vystytuje sociální monogamie. Jak jsem již zmínila v předcházející kapitole, ještě před několika desítkami let bylo vědeckou obcí všeobecně přijímáno, že většina pěvců je monogamních a bez výskytu mimopárových kopulací. Tyto závěry byly zveřejněny pouze na základě přímého pozorování. S rozvojem genetických metod určení otcovství bylo zjištěno, že u mnoha druhů pěvců jsou mimopárové paternity mnohem častější. Z komparativních studií vyplývá, že u 70% druhů ptáků bylo v hnízdě objeveno alespoň jedno mimopárové mládě (Griffith et al. 2002). Je tedy zřejmé, že monogamie sociální ještě neznamena monogamii genetickou a mimopárové kopulace jsou u monogamních pěvců relativně běžné.

Míru mimopárových paternit můžeme definovat jako míru kopulací jednoho jedince s více jedinci opačného pohlaví mimo sociální pár (pokud se jedná o párování samic, hovoříme o genetické polyandrii) a z tohoto plynoucí podíl vyskytujících se

mimopárových mláďat (Westneat et al. 1990; Griffith et al. 2002). Pro samce mnohých monogamně žijících druhů mohou mimopárové kopulace být jedinou možností jak si zvýšit svůj reprodukční úspěch (na úkor jiných samců v populaci). Některé starší práce poukázaly na vztah mezi pohlavním dimorfismem a mírou mimopárových paternit u ptáků (Dunn et al. 2001), což by mohlo podporovat myšlenku, že EPP přispívají k evoluci druhotných ornamentů samců. Z evolučního hlediska tak důležitost mimopárových fertilizací může souviset s evolucí pohlavně selektovaných ornamentů a na ni vázané intenzitě pohlavního výběru (Shuster & Wade 2003). Dosud však není zcela jasné, do jaké míry EPP ovlivňují intenzitu pohlavního výběru (Freeman-Gallant et al. 2005). Některé studie naznačují, že EPP mají poměrně malý vliv na sexuální selekci, zejména pokud je limitován počet mimopárových samic, kterým se samci mohou dvořit (Webster et al. 2001; Pedersen et al. 2006), jiné naopak naznačují, že EPP zvyšují variabilitu v reprodukčním úspěchu samců některých druhů (Whittingham & Dunn 2005; Albrecht et al. 2007; Webster et al. 2007), a samci s vyvinutějším ornamentem jsou v EPP úspěšnější (Foerster et al. 2003; Safran et al. 2005; Albrecht et al. 2009; Whittingham & Dunn 2016). Na variabilitu v míře EPP v ptačích populacích může mít vliv mnoho proměnných faktorů jako je hnízdní synchronizace, populační hustota, migrace, stáří a atraktivita samce nebo samotná věrnost samice, která se může odrážet v potřebě samčí pomoci během hnízdění (Kempnaers et al. 1992; Spottiswoode & Møller 2004; Mays & Hill 2004; Mayer & Pasinelli 2013).

### **1.2.1 Adaptivní význam mimopárových paternit**

Adaptivní význam samčí i samičí promiskuity, tkví především ve výhodách spojených s tímto aktem. Samci si tímto chováním jednoduše zvyšují svoji fitness. Ovšem důvod proč jsou i samice promiskuitní není zcela jednoznačný. Samice od mimopárového samce získají pouze genetickou informaci, ale riskují tím, že při odhalení nevěry sociálním samcem ztratí výhody spojené s tímto svazkem. Při studiu adaptivního významu mimopárových paternit nebylo doposud dosaženo uceleného názoru na danou problematiku (Eliassen & Kokko 2008). Z teoretických modelů vyplývá, že samice si partnera vybírají především na základě všech zdrojů, které je

samec schopen poskytnout. Především se jedná o velikost a kvalitu teritoria, jeho fyzickou kondici a jeho ochotu účastnit se mimopárových kopulací (Eliassen & Kokko 2008; Forstmeier et al. 2011, Fortmeier et al. 2014). Studium této problematiky stále patří ke kontroverzním otázkám současné behaviorální ekologie (Arnqvist & Kirkpatrick 2005; Albrecht et al. 2006; Forstmeier et al. 2011; Forstmeier et al. 2014).

### 1.2.1.1 Samičí zisky a ztráty z EPC

Výhody, které může samice získat, jsou rozděleny na přímé a nepřímé (Jones & Ratterman 2009; Slatyer et al. 2012). Díky správnému výběru partnera má samice jisté záruky, že se její potomstvo dožije dospělosti (Møller & Jennions 2001; Andersson & Simmons 2006). Z přímých výhod samice profituje okamžitě po výběru sociálního partnera. Ovšem kvůli mimopárovým kopulacím může samice o tyto výhody přijít a bude se muset o celou snůšku postarat sama, což může značně ovlivnit její reprodukční úspěch. Seznam často uvažovaných výhod a nevýhod plynoucích z EPC je uveden v tabulce (Tab. 1).

Tab. 1: Přehled možných zisků a ztrát plynoucích z EPC samice (převzato z Forstmeier et al. 2014)

<b>zisky</b>	<b>ztráty</b>
dobré nebo kompatibilní geny	deleční mutace ( <i>de novo</i> )
vyvarování se inbreedingu	
zisk inkluzivní fitness	inbrední deprese
méně infertilních vajec	mortalita mláďat (polyspermie)
vyvarování se infanticidy	agrese soc. samce
snížený harassment (polyandrie)	zvýšené harassment
zvýšená péče (mimo. samec)	ztráta péče o ml. (soc. samec)
přístup do jiného teritoria	
zabezpečení (budoucí partner)	možnost ztráty partnera
zajištění výhod spojené s diverzitou ml.	kompetice mezi mláďaty
výhodní pohlavně přenosní mikrobi	pohlavně přenosné nemoci



### 1.2.1.1.1 Zisky samice plynoucí z EPC

Nepřímé výhody samice z mimopárového svazku patří k nejrozporuplnějším tématům studia pohlavního výběru. Obecně můžeme říci, že nepřímé zisky pro samice plynoucí s promiskuity jsou převážně ty, jež vedou ke kvalitnějšímu potomstvu (Akçay & Roughgarden 2007; Griffith et al. 2002; Slatyer et al. 2012). Samice většinou získává od mimopárového partnera pouze spermie, čili geny pro mláďata. Pod slovem kvalitnější si můžeme představit lepší přežívání mimopárových mláďat na rozdíl od mláďat párových, větší velikost mimopárových jedinců, menší míru parazitace či vyšší reprodukční úspěch mimopárových mláďat (Slatyer et al. 2012).

Přímé zisky z EPC, můžeme je též nazvat materiálními, obecně vedou k úspoře energie na straně samice, čímž přímo ovlivňují fitness samice. Díky EPC je samice schopna obstarat pro sebe a své potomky více potravy a to díky mimopárovým samcům, kteří jí mohou umožnit přístup do svého teritoria. V teritoriu mimopárového samce má samice přístup k většímu množství potravy. Toto chování bylo pozorováno u ůhýka šedého (*Lanius excubitor*), samci přinášejí samici potravu a ona výměnou za tento dar se s nimi páří (Tryjanowski & Hromada 2005). Dalším, podobným příkladem jsou vrány americké (*Corvus brachyhyntos*). Samice díky mimopárovým kopulacím získají pro svá mláďata více pomocníků (helpers), čímž pro své potomky zajistí kvalitnější péči a mláďata mají větší šanci, že se dožijí dospělosti (Slatyer et al. 2012).

Další možností proč jsou samice nevěrné, je ochrana před možnou neplodností sociálního samce. Samice na rozdíl od samců mají omezený počet vajíček a tak neúspěšná fertilizace byť jen jednoho z nich pro samici znamená velký pokles v reprodukčním úspěchu (Hasson & Stone 2009). Mimopárové chování samic můžeme pozorovat také u druhů, kde dochází k infanticidě, tedy k zabíjení mláďat ze strany samce. U těchto druhů se promiskuitní chování samic patrně vyvinulo jako adaptivní strategie na obranu mláďat. Předpokládáme, že samec, který se se samicí spáří, upustí od zvýšené agrese vůči ní či mláďatům z toho důvodu, že to mohou být jeho mláďata. Tento mechanismus se však patrně uplatňuje především u savců (Wolff & Macdonald 2004). Evidence přímých zisků z EPC je stále dosti slabá a je potřeba dalších studií, které by otestovaly, teorii že samice vyhledávají EPC právě za účelem získání a zlepšení

přímých výhod. Proto mohou přímé zisky z EPC hrát důležitou roli při výběru párového i mimopárového partnera (Charmantier et al. 2004).

Důležitým aspektem proč samice usiluje o páření mimo sociální pár může být vyvarování se škodlivému vlivu inbreedingu. Důsledkem inbredního páření je snížení genové variability potomstva. Samice si výběrem nepříbuzného samce zajistí zdravé a silné potomky (Keller & Waller 2002; Kempnaers 2007; Pitcher et al. 2008; Slatyer et al. 2012). U inbredních mláďat očekáváme snížení heterozygotnosti, s čímž je spojena slabá imunitní odpověď v boji proti parazitům nebo nižší životaschopnost a špatné přežívání takovýchto mláďat (Szulkin et al. 2013).

#### **1.2.1.1.2 Ztráty samice plynoucí z EPC**

Mimopárovým kopulacem se mohly vyvinout jako adaptivní strategie, díky níž se může samice bránit případné neplodnosti sociálního samce. Samčí neplodnost může být způsobena řadou dysfunkcí, například nepřítomností spermií v ejakulátu, jejich nízkým počtem nebo špatnou kvalitou (Hasson & Stone 2009; Lifjeld et al. 2007). Obecně můžeme říci, že se v populaci pohybuje od 1 do 5% neplodných samců (Lifjeld et al. 2007). Samice se také mohou nakazit nějakou pohlavně přenosnou nemocí, což je může vážně ohrožovat ve spojitosti s fertilitou (Sheldon 1993). Ale jak dokázali ve studii Lombardo & Thrope (2000) přítomnost bakterií u nakažené samice nijak neovlivnila velikost snůšky ani kladení vajec v porovnání se zdravými jedinci.

Ztráty spojené s odhalením nevěry samice mohou být značné. Sociální samec, který odhalí nevěru samice, se může přestat starat o mláďata nebo zvýší agresi vůči samici (Valera et al. 2003). Chování, kdy samec fyzicky napadá svoji družku za případnou nevěru, bylo pozorováno například u ťuhýka menšího (*Lanius minor*; Valera et al. 2003). Některé studie naznačují, že právě selekce proti samičí nevěře je zásadním mechanismem, který vysvětluje variabilitu v míře mimopárových paternit mezi druhy pěvců (Albrecht et al. 2006). Je dokonce možné, že samičí promiskuitní chování je pouze vedlejší produkt selekce na samcích (genetické korelace). Tendence k promiskuitě může být do značné míry dědičná, avšak alely, které zvyšují promiskuitní chování, jsou pouze u samčího pohlaví pod silnou pozitivní selekcí, neboť jen u nich je

toto chování adaptivní. U samic se tak může projevit promiskuitní chování, které však pro ně adaptivní není (Forstmeier et al. 2011).

### 1.2.1.2 Samčí zisky a ztráty z EPC

Zisky plynoucí z mimopárových kopulací samců jsou prosté. Samci se snaží maximalizovat svůj reprodukční úspěch a zplodit co nejvíce vlastních mláďat, která ponесou získanou genetickou informaci samce do dalších generací. Samci si tímto způsobem zvyšují svoji fitness (Kleven et al. 2005; Albrecht et al. 2007). Sociální nevěra nemusí pro samce znamenat pouze výhody, ale také ztráty. Mezi nejběžnější ztráty při EPC patří vypořebením ejakulátu. Navíc během EPC se samec může od mimopárové samice nakazit nějakou pohlavně přenosnou chorobou (viz výše), což může ovlivnit jeho přežívání a fitness (Sheldon 1993).

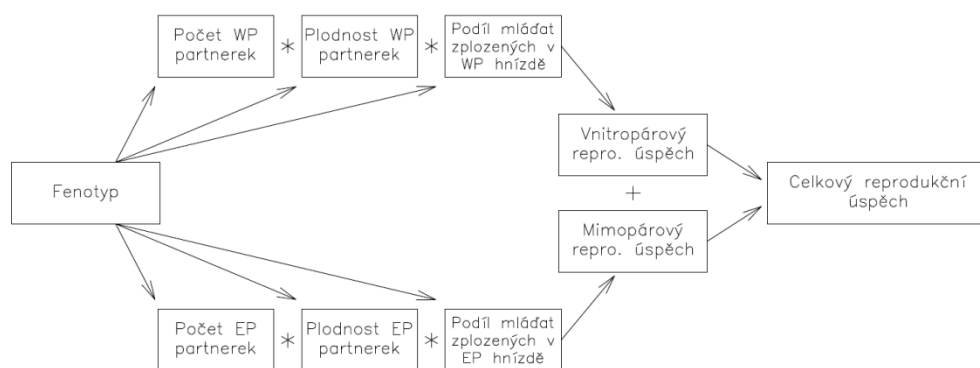
Mezi další ztráty, které může samec utrpět při EPC, jsou ztráty vlastních paternit v hnízdě. V případě, že samec vyhledává mimopárové partnerky, jeho vlastní hnízdo není chráněno před ostatními samci a samice se mohou spářit s jiným samcem. Pokud tedy samec během hnízdního období věnuje více času hledání mimopárové samice, v době nepřítomnosti není schopen uhlídat své vlastní hnízdo a paternity v něm. Může se tak stát, že po návratu z „výletu“ bude mít v hnízdě více mláďat cizích nežli vlastních (Hasselquist & Sherman 2001). Existence trade-off mezi mimopárovým a párovým úspěchem samců může vést k tomu, že EPP nijak nezvyšují variabilitu v reprodukčním úspěchu samců (Cunningham & Birkhead 1998, viz také níže). Tento předpoklad se podařilo prokázat například v kanadské populaci strnadce zpěvného (*Melospiza melodia*). Prokázali, že u tohoto sociální monogamního, ale geneticky polygynního pěvce EPP nezvyšují variabilitu v reprodukčním úspěchu samce (Lebigre et al. 2012). Toto téma je blíže diskutováno v následující kapitole.

## 1.2.2 EPP a variabilita v reprodukčním úspěchu samců

Reprodukční úspěch je dle definice možno vyjádřit jako počet úspěšných oplodnění, které je samec schopen získat, a které korelují s počtem vlastních potomků, které samec vyprodukuje (Shuster & Wade 2003).

Mnoho studií využívá reprodukčního úspěchu jakožto měřítka sexuální selekce, ale není to tak jednoduché. Reprodukční úspěch v sobě ukrývá dvě důležité části. Tou první je vnitropárový reprodukční úspěch – tedy počet potomků zplozených samicí a jejím partnerem. Druhou částí je mimopárový reprodukční úspěch – tedy počet mláďat zplozených mimo sociální pár. Z obrázku je patrné, že podíl EPP může ve značné míře ovlivnit celkový reprodukční úspěch samce (viz Obr. 2, Webster et al. 1995). Fenotypové znaky samce mohou různou měrou ovlivnit celkový reprodukční úspěch. Můžeme se tak domnívat, že EPP mohou, ale nemusí, přispívat ke zvýšené variabilitě v reprodukčním úspěchu samců a k evoluci druhotných ornamentů. Ovšem sekundární pohlavní znaky ještě nemusí znamenat vysokou úspěšnost samce v reprodukčním úsilí. Svoji roli zde má kvalita spermií jedince nebo environmentální podmínky (Keller & Reeve 1995; Whittingham & Dunn 2005; Albrecht et al. 2007; Smith 2012).

Obr. 2: Komponenty celkového reprodukčního úspěchu samce (upraveno z Webster et al. 1995)



### 1.2.3 Ornamentace a mimopárové paternity

Ptáci stejně jako lidé dorozumívají hlavně na základě vizuálních a akustických podnětů. Vizuální složku komunikace mezi ptáky lze charakterizovat především zbarvením peří jedinců a jejich chováním. Do této kategorie můžeme zařadit rituální chování, přesněji řečeno zasnubní tance nebo teritoriální chování a předstírání útoku při obraně (Török et al. 2003). Zbarvení peří vypovídá mnohé o jeho nositeli, slouží jako znak dominantnosti či podřazenosti, díky odlišnému zbarvení peří jsou jedinci v populaci schopni rozlišit její členy a stejně tak, poznají jedince ostatních druhů, což je důležité například při výběru partnera, či rozpoznání predátora (Török et al. 2003). Mezi zbarvením jedinců a jejich chováním existuje úzká vazba na sexuální selekci. Jsou velmi často její součástí a slouží jako indikátory fyzické kondice, stáří či zdravotního stavu samců (Hill & McGraw 2006).

U mnoha druhů pohlavně dimorfních ptáků lze předpokládat, že samec, který je pestřejší a výrazněji zbarvený bude na rozdíl od ostatních pro samice atraktivnější. Obecně můžeme říci, že dimorfní znaky mezi pohlavími mohou hrát důležitou roli v pohlavním výběru. Důležitou roli v této hypotéze hraje věk daného samce. Ornamenty u starších samců jsou většinou mnohem výraznější nebo větší než u mladších jedinců. Toto můžeme vysvětlit dvěma způsoby. Tím prvním je, že ornamenty samy o sobě představují stáří samce a jakožto znaky kvality samce mohou představovat jeho schopnost přežít (Kirkpatrick & Barton 1997). Za druhé tyto ornamenty mohou předvádět fyzickou kondici samce tím, že odráží zkušenosti samce nabyté věkem (Hsu et al. 2015). Proto, pokud ornament spolehlivě ukazuje stáří samce, tak samice budou preferovat samce s extravagantními znaky a my můžeme předpokládat, že samice se budou raději pářit se staršími samci (Garamszegi et al. 2005).

Podobně můžeme nahlížet i na schopnost samce získat mimopárovou partnerku. S věkem samce se tato schopnost zlepšuje (Hsu et al. 2015). Právě z tohoto důvodu je důležité provádět manipulativní experimenty s velikostí ornamentu (ideálně ornamentu, jehož exprese se s věkem mění). Jedině tak lze zjistit, zda ornamentace u námi vybraného modelového organismu má příčinný (kauzální) vliv na úspěch samce

v EPP. Při správném zvolení a dostatečném počtu náhodně manipulovaných samců můžeme separovat vliv ornamentu a věku na reprodukční úspěch samce.

U mnohých studií můžeme nalézt pozitivní vztah mezi mírou exprese ornamentu a EPP. Takovýto pozitivní vztah můžeme nalézt ve studiích na vlaštovce obecné (*Hirundo rustica*), kde pozitivně koreluje míra EPP s délkou rýdovacích per samců (Møller et al. 2003). Dalším příkladem důležitosti ornamentace při fertilizačním úspěchu je populace hýla rudého (*Carpodacus erythrinus*), kdy se zbarvení peří prokázalo jako důležitý faktor při párování (Albrecht et al. 2009). Naproti tomu u příbuzného hýla mexického (*Carpodacus mexicanus*) se souvislost mezi zbarvením a mírou EPP neobjevuje (Badyaev 2000). Vztah mezi ornamentem a stářím však může stát za mnohými studii prokazujícími souvislost mezi ornamentem a úspěchem samce v EPP (především ziskem mimopárových partnerek) u pěvců (Hsu et al. 2015)

I v rámci jednoho druhu je možné, že preference pro určitý znak může v rámci různých populací kolísat. Jako příklad lze uvést vrabce domácího (*Passer domesticus*) a velikost černé skvrny pod zobákem. Některé populace v Dánsku prokazují pozitivní vztah mezi velikostí této skvrny a úspěšnost samce v získávání partnerky (Møller 1989). Ovšem jsou zdokumentovány populace, u kterých si samice při výběru partnera tohoto ornamentu nevšímají. V britské populaci je tento vztah dokonce negativní a samice si vybírají samce s menším ornamentem (Griffith et al. 1999). Tyto rozporuplné výsledky naznačují, že samičí preference pro určitý samčí znak je velice plastická i v rámci druhu se samice různých populací mohou rozhodovat na základě rozdílných například přírodních podmínek (Griffith et al. 1999).

Při výběru partnera si samice všímají i jiných nebarevných ornamentů. Mezi ně můžeme zařadit velikost těla, stáří samce nebo kvalitu zpěvu (Sewall et al. 2013). Ptačí zpěv je jedním z hlavních a známých znaků, který je velmi důležitý při párování. Jako příklad můžeme uvést uměle zvětšený rozsah zpěvu u lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*), přičemž manipulovaní samci rychleji našli partnerku a zahníždili dříve (Alatalo et al. 1990). Obdobně tak samice strnadce bělokorunkatého (*Zonotrichia leucophrys*) byly přitahovány samci, kteří vydrželi déle a hlasitěji zpívat (Wasserman & Cigliano 1991).

Je publikováno poměrně dost studií, které se věnují vlivu ornamentace samce na jeho úspěch v EPP. Poslední souhrnnou studii, která nashromáždila všechny dostupné

práce týkající se EPP u pěvců i nepěvců je studie Griffith et al. 2002. Bohužel z tohoto ohromného počtu studií (viz Griffith et al. 2002) je většina z nich komparativních nebo se zabývají jiným tématem. K těmto studiím bohužel chybí dostatečná podpora experimentálních studií. Aby se nám podařilo zjistit skutečný vliv ornamentace na míru EPP a reprodukční úspěch, je potřeba daný ornament experimentálně upravit a zjistit reakci samic na tuto změnu. Počet takových to studií, které experimentálně manipulovali velikost či barvu nějakého pernatého ornamentu je velice nízký. Důležité při testování vlivu ornamentace je zjištění, že daný ornament je skutečně pod sexuální selekcí a výběr partnera tak není ovlivněn dalšími faktory.

### **1.2.3.1 Vliv experimentální manipulace exprese ornamentu na EPP**

Existuje velké množství výrazných morfologických ornamentů a mnohé z nich jsou spojené s potencionální rolí v pohlavním výběru (Vortman et al. 2011). Mezi jeden z hlediska role ornamentů v EPP nejvíce studovaných druhů patří vlaštovka obecná (*Hirundo rustica*). Jedná se o kosmopolitní druh, který se skládá dalších šesti poddruhů. Každý z nich se různí ve velikosti rýdovacích per a červeném zbarvení na krku. Mezi nejstudovanější poddruhy patří vlaštovka evropská (*Hirundo rustica rustica*) a severoamerická vlaštovka (*Hirundo rustica erythrogaster*). Přesto, že si jsou blízce příbuzné, u každého poddruhu se vyvinuly jiné preference pro pohlavně selektované ornamenty (Vortman et al. 2011).

Studie z roku 1997 potvrdila, že samci z italské populace vlaštovek (*Hirundo rustica rustica*) s přirozeně dlouhými pery nebo s experimentálně prodlouženými mají více vlastních mláďat ve svém hnízdě a zplodili také více mimopárových mláďat (Saino et al. 1997). Další z experimentálních studií zabývajících se důležitostí ornamentace u vlaštovky obecné, poukazuje na důležitost červeného zbarvení břicha vlaštovek. Ve studii Safran et al. (2005) zaměřili pozornost na severoamerický poddruh vlaštovky obecné (*Hirundo rustica erythrogaster*). Dokázali, že samci s experimentálně zvětšeným ornamentem byli schopni ubránit paternity ve vlastním hnízdě (Safran et al. 2005)

Poslední experimentální studie zabývající se vlivem ornamentace na atraktivitu samce u vlaštovky obecné je Vortman et al. (2011). Tato studie se zaměřila na další poddruh vlaštovky obecné (*Hirundo rustica transitiva*). Zde vytvořili několik skupin, různě manipulující ornament. V této studii věnovali pozornost jak délce ocasních per, tak velikosti a intenzitě barvy hrdelní skvrny. Zjistili, že oba dva ornamenty mohou mít potenciální roli jako sekundární pohlavní znaky účastnící se pohlavního výběru. Samci s tmavší skvrnou měli vyšší reprodukční úspěch, zatímco samcům s delšími pery se podařilo dříveji zahnídit a měli tak větší šanci k splození další snůšky. Starší samci, kteří z pravidla mají delší ocasní pera, mají také méně mimopárových mláďat ve svém hnízdě (Vortman et al. 2011). Tato zjištění dokazují, že fenotypové znaky vlaštovky obecné se různou měrou uplatňují při výběru partnera a v otázce otcovství v závislosti na poddruhu. Ornamenty tak mohou hrát roli při speciaci (vzniku mezidruhových bariér toku genů, Vortman et al. 2011).

Další studie, kde se podařilo prokázat vliv ornamentace na míru EPP, byla provedena na cukernatce kapské (*Promerops cafer*, McFarlane et al. 2010). Jedná se o sociálně monogamního pěvce, který utváří dlouhodobé sociální svazky (i přes několik sezón). Nicméně, samci tohoto druhu mají extravagantní ornament v podobě dlouhých ocasních per a zároveň se u tohoto druhu vyskytuje vysoká míra EPP (až 65% mláďat v hnízdě je mimopárových). V této studii byla manipulace ornamentu provedena ihned po spárování, vybraným samcům buďto prodloužili nebo zkrátili ocasní pera. Tento experiment tak dovolil samicím odpovědět na manipulaci. Bylo zjištěno, že samci s prodlouženými pery získali mnohem více paternit v jiných hnízdech na rozdíl od samců se zkrácenými pery. Na druhou stranu zase samci se zmenšeným ocasem měli více vlastních mláďat v hnízdě na rozdíl od samců s prodlouženým ocasem (McFarlane et al. 2010). Tyto výsledky naznačují, že samci mohou přizpůsobit reprodukční strategii v závislosti na svém ornamentu. Modelovým druhem pro výzkum důležitosti ornamentace při pohlavním výběru je i vlhovec červenokřídlý (*Agelaius phoeniceus*) a to díky jeho výrazným červenožlutým skvrnám na křídlech. V experimentální studii jedné skupině samců začervenili skvrnu na křídle a porovnávali vliv této manipulace na teritoriální chování, úspěšnost párování a reprodukční úspěch ve srovnání s kontrolní skupinou, která byla bez manipulace (Yasukawa et al. 2009). V porovnání s kontrolní skupinou, samci se začerveněnými křídly ztráceli mnohem více svá teritoria a nebyli



schopni získat mimopárové paternity. Navzdory všem pozorovaným odlišnostem mezi skupinami se reprodukční úspěch signifikantně nelišil (Yasukawa et al. 2009). Je možné, že samci se začervněnými skvrnami na křídle věnovali více úsilí na obranu hnízda a byli vůči jiným samcům agresivnější. Můžeme tedy předpokládat, že zvýšená agrese způsobená červenými skvrnami na křídle samicím oponuje, popřípadě si samci kompenzují případnou ztrátu mimopárových paternit zvýšením rodičovské péče (Yasukawa et al. 2009).

Jedna z experimentálních prací je provedena také na lejskovi bělokrkém. Této studii se budu věnovat v následující kapitole (viz níže). Tato a další experimentální studie jsou uvedeny v tabulce (Tab. 2).

Tab. 2: Tabulka experimentálních prací věnující se problematice péřové ornamentace a EPP u pěvců

druh	lantinský název	místo	ornament	N	manipulace		mláďata	EPY	sign.	zdroj
					+	-				
sýkora modřinka	<i>Cyanistes caeruleus</i>	Rakousko	b UV-hlava	79	19	23	836	126	-	Delhey et al. 2006
lejsk bělokrký	<i>Ficedula albicollis</i>	Švédsko	b křídlo	100	NA	50	634	123	-	de Heij et al. 2011
slavík modráček	<i>Luscinia svecica</i>	Norsko	b UV-krk	56	NA	26	341	105	-	Johnsen et al. 1998
slavík modráček	<i>Luscinia svecica</i>	Norsko	b krk	57	NA	31	162	49	-	Johnsen & Lifjeld 1995
cukernatka kapsaká	<i>Pramerops cafer</i>	Afrika	v ocas	57	NA	34	185	120	+	McFarlane et al. 2010
vlaštovka obecná	<i>Hirundo rustica</i>	Itálie	v ocas	90	15	12	475	NA	+	Saino et al. 1997
vlaštovka obecná	<i>Hirundo rustica</i>	Dánsko	v ocas	11	5	6	45	10	+	Smith et al. 1991
vlaštovka obecná	<i>Hirundo rustica</i>	Izrael	bv ocas	67	12	20	NA	NA	+	Vortman et al. 2013
vlaštovka obecná	<i>Hirundo rustica</i>	USA	b tělo	NA	NA	NA	NA	NA	+	Safran et al. 2005
vlaštovka stromová	<i>Tachycineta bicolor</i>	USA	b tělo	121	NA	23	615	166	+	Whittingham & Dunn 2016
vlhovec červenokřídlý	<i>Agelaius phoeniceus</i>	USA	b křídlo	26	NA	13	62	NA	-	Yasukawa et al. 2009
vlhovec červenokřídlý	<i>Agelaius phoeniceus</i>	USA	bv křídlo	113	NA	62	NA	NA	-	Westneat 2006
vída kohoutí	<i>Euplectes progne</i>	Afrika	v ocas	12	4	4	NA	NA	+	Andersson 1982

N = počet jedinců zahrnutých do studie; manipulace + = počet jedinců se zvětšeným nebo zvýrazněným ornamentem; manipulace - = počet jedinců se zmenšeným ornamentem; mláďata = počet mláďat; EPY = počet mimopárových mláďat; sign. = signifikance (+ zcela pozitivní; - zcela negativní)

Je velice překvapující, že se do roku 2016 touto problematikou u pěvců zabývalo pouze 13 studií. Může to ale souviset s náročností podobných výzkumů v terénu a omezenou nabídkou vhodných modelových druhů (jak patrně, v současnosti se jedná o 8 druhů pěvců). V tabulce 2 jsou všechny studie věnující této problematice, pouze u 10 z nich jsou uvedeny všechny potřebné informace a to z toho důvodu, že u studie Safran et al. (2005) a Anderssen (1982) nejsou potřebné informace obsaženy v článku, stejně tak u studie Westneat (2006).

### 1.3 Ornamentace a atraktivita samce

Odhadnout atraktivitu samce lze mnoha způsoby. Jak jsem již zmínila výše, samčí atraktivita může hrát roli při EPP. Lze ji však charakterizovat například i rychlostí párování (schopnost získat sociální partnerku) či investicí samice do reprodukce.

U samců s větší ornamentem můžeme předpokládat, že se rychleji spárují a to právě z toho důvodu, že jejich ornament jasně ukazuje jejich kvality. U teritoriálních druhů můžeme předpokládat, že samci, kteří doletí na hnízdiště mezi prvními, jsou pravděpodobně starší a vitálnější než ostatní a proto jsou schopni ubránit větší nebo kvalitnější teritorium (Lundberg & Alatalo 1992; de Heij et al. 2011). Samice po přiletu na hnízdiště upřednostní samce, u něhož si budou jisté, že v závěru hnízdní sezóny bude pečovat o mláďata. U lejsků samec s velkým ornamentem předvádí samicím svůj ornament, tímto jim signalizuje, že je schopný ubránit si své teritorium, což pro samici znamená, že bude mít dostatek potravy pro svá mláďata a také ochranu před ostatními samci. Tento samec bude schopen investovat více energie do péče o svá mláďata (Forstmeier et al. 2014). Toto platí za předpokladu, že samec bude monogamní a nebude hledat mimopárovou partnerku. Pokud však velikost ornamentu pozitivně koreluje se schopností samce získat mimopárové partnerky, jeho investice do snůšky a péči o mláďata se může naopak snížit. Velikost ornamentu může být korelovaná s mnohými dalšími kvalitami samce. Velikost ornamentu nebo jeho barevnost, tak mohou ovlivňovat faktory jako je stáří jedince, kvalita imunitního systému, genetická kvalita, síla agrese vůči jiným samcům či množství testosteronu (Akçay & Roughgarden 2007; Arnqvist & Kirkpatrick 2005; Forstmeier et al. 2011). Musíme tedy odfiltrovat vliv všech možných kolerátů abychom mohli testovat pouze vliv ornamentace. Poté můžeme předpokládat, že samci s velkým ornamentem se spárují dříve v sezóně na rozdíl od jiných samců s menším ornamentem.

Dle hypotézy alokace zdrojů samice mohou investovat více energie do reprodukce, pokud se spárují s vysoce atraktivním samcem (Burley 1986; Sheldon 2000). Rozdílné investování zdrojů se může projevit ve velikosti snůšky, objemu vejce (Petrie & Williams 1993; Horváthová et al. 2012) nebo v pozdějším období jako investice do rodičovské péče (Burley 1988). Na druhou stranu, kompenzační hypotéza uvádí, že samice budou investovat více do rodičovské péče, aby kompenzovaly ztrátu v případě,

že se spárují s neatraktivním samcem nebo se samcem, který není v populaci preferován (Gowaty et al. 2007; Gowaty 2008).

Experiment provedený na kachnách divokých (*Anas platyrhynchos*), ukázal, že samice si kompenzují svazek s neatraktivním samcem kladením těžších vajec. Hypotéza rozdílných alokací se zdá více rozšířená než kompenzační, ale mezi druhy je velká variabilita (Horváthová et al. 2012), což naznačuje, že je potřeba více studií zabývajících se samičí odpovědí na samce s experimentálně manipulovaným ornamentem.

## 1.4 Molekulární metody určení jedince

Při studiu sexuální selekce jsou genetické metody určení jedince nezbytností a při určení otcovství se již nemůžeme spolehnout na pouhé pozorování párů. Díky použití molekulárních metod určení otcovství bylo odhaleno, že ptáci, především pěvci nejsou tak monogamní jak se o nich myslelo. Díky využití metody DNA-fingerprintingu bylo možné poprvé prokázat mimopárové kopulace pěvců (Wetton et al. 1987). Bohužel metoda DNA-fingerprintingu je díky své technické náročnosti, nárokům finančním i kvalitativním poměrně nevyhovující. V dnešní době se k určení jedince využívá převážně metoda DNA mikrosatelitů, ale objevují se i práce využívající jednonukleotidových polymorfismů (SNP; Primer et al. 2002).

### 1.4.1 Mikrosatelity

Mikrosatelity známé také jako STR (short tandem repeats – krátká tandemová opakování) nebo SSR (simple sequence repeats – jednoduché opakující se sekvence) jsou tandemově se opakující úseky DNA. Mikrosatelitové repetice jsou nejčastěji tvořeny opakováním mono-, di-, tri- nebo tetranukleotidů. Počet repetic na konkrétním místě DNA (lokusu) definuje alelu (Dawson et al. 2010). Mikrosatelity jsou v genomu všude přítomnou skupinou a můžeme je nalézt jak u eukaryotních, tak u prokaryotních organismů (Kalinowski et al. 2007). Díky vysoké mutační rychlosti ( $10^2 - 10^6$  na lokus za

generaci) jsou mikrosatelity velmi polymorfní a to díky variabilitě v počtu opakujících se elementů (Leder et al. 2008). Díky této rozmanitosti jsme schopni je v laboratoři identifikovat a můžeme sledovat genetickou variabilitu mezi jednotlivými druhy, v rámci druhu dokonce i mezi jedinci jedné populace. Dále se efektivně používají při studiu populační struktury, toku genů, efektivní velikosti populace nebo při určování maternit a paternit (Ellegren et al. 1992). V tomto případě jedinec získá dvě kopie mikrosatelitu, jeden zdědí po matce a druhý po otci. Mikrosatelity se stali jedny z nejvíce používaných genetických markerů právě díky jejich častému výskytu po celém genomu, jejich hojnému polymorfismu a kodominantní dědičnosti. Právě díky těmto vlastnostem můžeme odhalit heterozygotní jedince. Bohužel hledání nových mikrosatelitů u druhů, které ještě zkoumány nebyly, je jejich odhalení poměrně složité a finančně náročné.

### **1.5 Lejsek bělokrký, modelový druh:**

Lejsek bělokrký (*Ficedula albicollis*) je malý pěvec velikostí připomínající štíhlého vrabce. Jeho zbarvení je krásně kontrastně černobílé. Samci ve svatebním šatě vynikají uhlově černým peřím na zádech a na spodní straně jsou zbarveni bíle (Qvarnström 1997). Poznávacím znakem lejsků je bílá iridiscentní skvrna na čele, křídle a bílá páska kolem krku, která tak odlišuje lejska bělokrkého od lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*). Právě tyto znaky se uplatňují při studiu sexuální selekce (Qvarnström 1997).

Samice je na rozdíl od samce velice nenápadně šedohnědě zbarvena a při srovnání se samicí lejska černohlavého si jsou velice podobné. Tyto dva druhy lejsků se společně vyskytují ve střední a východní Evropě. V této hybridní zóně se mohou náhodně křížit a potomstvo vzniklé z tohoto svazku nese znaky obou druhů. Každý z lejsků se ale specializuje na odlišné prostředí (Garamszegi et al. 2006). S lejskem bělokrkým se můžeme setkat především v nížinách a teplejších oblastech našeho území. Jeho hnízdní areál nezasahuje tak daleko na sever jako u jeho příbuzného, lejska černohlavého. Lejsek bělokrký se přirozeně vyskytuje především v oblastech, kde

můžeme nalézt staré listnaté lesy s dostatkem dutin na hnízdění. Lejsek je polyfágním druhem, jehož potravu představují především housenky motýlů, pavouci a různé druhy malého polétavého hmyzu. Lejsek loví hmyz ve všech patrech vegetace většinou za letu ze vzduchu nebo sezobnutím kořisti na podkadu (Šťastný et al. 2011).

Lejsek je přísně migrující druh s patrilokální hnízdní tendencí. Na svá hnízdiště se zpravidla vrací v druhé polovině dubna ze zimovišť v tropické Africe. Samci přilétají na hnízdiště dříve a obsazují hnízdní dutiny. Samice, které se navracejí na hnízdiště později, jsou do těchto dutin či budek lákány. Po úspěšném zahnízdění samice snáší 5-6 namodralých vajec (Krist & Grimm 2007).

### **1.5.1 Pohlavně selektované znaky lejsků bělokrkých**

Velikost skvrny na čele a křídle lejska bělokrkého je považována za pohlavně selektovaný znak a tyto ornamenty jsou spojovány s fertilizačním úspěchem samce (Gustafsson et al. 1995; Pärt & Qvarnström 1997; Sheldon et al. 1997). Ve studii Evanst et al. (2011) díky 25 letému pozorování švédské populace lejsků bělokrkých zjistili, že velikost skvrny na křídle pozitivně koreluje s věkem. Problematice ornamentace na křídle lejska bělokrkého se především věnují u maďarské populace lejsků (Rosivall et al. 2009; de Heij et al. 2011). Dokázali, že bílá skvrna na křídle je kondičně dependentní znak, který vypovídá o fyzické kondici a zdraví jedince. Prokázali, že velikost skvrny na křídle se u zdravých jedinců může až dvojnásobně zvětšit už druhým rokem života (Evans et al. 2011). Tato skvrna je pozitivně spjatá s délkou života a taktéž s genetickou životaschopností jedince (Rosivall et al. 2009).

V případě že sekundární pohlavní znaky jsou kondičně závislé a nákladné pro svého nositele, mohou být považovány za formu reprodukčního úsilí stejně tak jako znaky životních historií (life-history traits). Následně můžeme předpokládat jisté trade-off (souvztažnost v investicích) mezi těmito znaky. Po zvýšení reprodukčního úsilí můžeme očekávat redukci kondičně závislých sekundárních pohlavních znaků, což může mít u lejsků bělokrkých za následek snížení reprodukčního úspěchu v následujících letech způsobeného sníženou atraktivitou jedince a jeho kompetičních schopností (Gustafsson et al. 1995). V této studii byl prokázán vztah mezi velikostí

skvrny a reprodukčním úsilím samce. Ti samci, jimž byla experimentálně zvětšena snůška (do jejich hnízda bylo přidáno 1 – 3 vejce), měli v následujícím roce menší skvrnu na čele, zatím co samci, kterým byla snůška zmenšena, měli v následujícím roce skvrnu na čele větší. Tyto výsledky podporují hypotézu, že skvrna na čele lejska je kondičně závislý znak, který je citlivý na reprodukční úsilí samce v minulém roce. Dále dokázali, že velikost skvrny u mladých samců pocházejících z manipulovaných hnízd souvisela s manipulací (Gustafsson et al. 1995).

Ptáci mají na svém peří i ornamenty, které jsou našemu zraku skryté. Díky svému dokonalému zraku jsou ptáci schopni vnímat UV záření, a vyvinula se u nich signalizace i lidskému oku neviditelném spektru světla (McGraw & Hill 2006). V jedné studii (Siitari et al. 2001) experimentálně manipulovali právě s tímto ornamentem, aby zjistili, jestli má právě UV ornamentace vliv na výběr partnera. V této studii si za modelový druh vybrali lejska černošedého (*Ficedula hypoleuca*). Do experimentu si zvolili dva téměř totožné samce, ale jednomu z nich zmenšili UV ornament na čele. Jejich výsledky tak dokazují, že samice lejska černošedého si vybírají samce také podle UV ornamentace v případě, že efekt kvality teritoria je pod kontrolou (Siitari et al. 2001). Ovšem jestli tyto výsledky můžeme přenést i na lejska bělokřehého je diskutabilní. Prozatím nevyšla studie, která by se touto problematikou zabývala.

### **1.5.2 Sekundární pohlavní znaky jako znaky dominance**

Při zvířecích soubojích si můžeme všimnout, že oba zúčastnění dávají na obdiv jisté fenotypové znaky představující jejich dominanci a schopnost bojovat. Pro oba zúčastněné jsou tyto signály výhodou. Jen zřídka kdy se dají do boje dva samci, jejichž znaky jsou diametrálně odlišné. U ptáků mezi takovéto znaky můžeme zařadit rozdílnou velikost těla, zkušenosti nabyté věkem, stáří samce nebo expresi pernatých ornamentů. Právě výrazně zbarvené pernaté ornamenty, mohou mít funkci spolehlivých signálů kompetičních schopností, tedy samec s větším/barevnějším ornamentem bude lépe připraven k boji nežli samec s menším/tmavším ornamentem (Andersson 1994).

Samci lejska bělokrkého jsou velmi teritoriální a díky svým výrazným ornamentům jsou také výbornými objekty pro studium dominance a kompetice mezi samci (Pärt & Qvarnström 1997; Qvarnström 1997; Qvarnström et al. 2000; Garamszegi et al. 2006). Samci při boji načechrají peří na hlavě a rychle mávají křídly. Studie švédské populace ukázala, že velikost skvrny na čele ovlivní výsledek souboje o teritorium (Pärt & Qvarnström 1997). Samci s většími skvrnami byli schopnější v získávání teritoria a experimentální zvětšení skvrny na čele ovlivnilo pravděpodobnost založení nového teritoria v závislosti na původní velikosti skvrny na čele a věku.

V rozporu s touto studií je studie maďarské populace lejsků (Garamszegi et al. 2006) kde prokázali, že skvrna na čele nemá takový vliv při kompetici samců jako skvrna na křídle. Dokázali také, že samci s větší skvrnou na křídle a jejich věk má vliv na udržení teritoria. Zjistili, že při vypuštění samce s experimentálně zvětšenou skvrnou na křídle mezi rezidentní samce vyvolalo vlnu ataků vůči němu a reakční doba na jeho přítomnost byla kratší u samců mladých nebo s větší skvrnou na křídle. Při vypuštění samce s menší skvrnou byla odezva na jeho přítomnost mnohem klidnější, pravděpodobně proto, že samci s větší skvrnou na křídle jsou v populaci vnímáni jako větší ohrožení.

Zajímavá je také exprese obou znaků, bílá skvrna na čele se s věkem a lepší kondicí zvětšuje (Gustafson et al. 1995), zatím co exprese skvrny na křídle není kondičně závislý znak (Garant et al. 2004). Tyto rozdíly v expresi mohou alespoň částečně naznačit důležitost skvrny na čele jakožto primárního znaku při kompetici samců. Zatím co skvrna na křídle může mít vliv na výběr partnera u švédské populace lejsků (Qvarnström 1997). Můžeme tedy odvodit, že obě skvrny mohou mít důležitou roli jak při výběru partnera, tak u teritoriálního chování (Garamszegi 2006).

U lejsků jsou kompetice mezi samci a samičí volba partnera do značné míry časově oddělené. Samci přilétají na hnízdiště jako první a soutěží o nejlepší hnízdní místa. Obsadí je ještě před přiletem samic. Samice přilétají na hnízdiště později a po přiletu, je výběr kvalitních samců omezený. Kvalitní prostředí při odchovu mláďat se ukázalo jako důležitý faktor při odchovu mláďat. Má vliv jak na životaschopnost, tak na počet mláďat v hnízdě (Gustafsson et al. 1995; Sheldon et al. 1997). Výsledky studie Qvarnström et al. (2000) dokazují, že samice, které se spářily se samcem, který si dokázal ubránit své území, obdržely více rodičovské péče od svých partnerů a měly i

vyšší reprodukční úspěch na rozdíl od samic, které se spářily s méně úspěšnými samci. Můžeme tedy najít spojitost mezi velikostí ornamentu a schopností ubránit si kvalitní teritorium a jejich pozitivním vlivem na rychlost párování či počet mláďat v hnízdě.

### **1.5.3 Ornamentace lejska bělokrkého a její vliv výběr partnera**

Samice si partnera nevybírají pouze na základě jednoho ornamentu, mohou se rozhodovat na základě širších souvislostí ve spojení s různými environmentálními podmínkami (Hale et al. 2008) nebo s načasováním hnízdění (Qvarnström et al. 2000). V případě načasování hnízdění může být tento faktor velmi důležitý u migrujících ptáků. Víme, že samci přilétají na hnízdiště ještě před samcemi (Møller 2004; Kokko et al. 2006; Tottrup & Thorup 2008) a právě toto časové rozmezí může být považováno za výhodu samců (Morbey & Ydenberg 2001). Ti samci, kteří jsou schopni přiletět na hnízdiště mezi prvními, se také mohou usadit na lepším teritoriu a také sem snadněji přilákají samice, které si v takovýchto teritoriích vybírají partnera (Aebischer et al. 1996). V případě, že má samec na čele větší skvrnu, zpravidla vyhrává nad ostatními samci souboj o teritorium (Pärt & Qvarnström 1997), samice se mohou vybrat tyto samce a mít přístup k potřebným zdrojům potravy. Nicméně vybrání partnera na počátku hnízdní sezony může být nákladné, a proto se samci snaží upoutat pozornost samic mimo sociální pár (de Heij et al. 2011) na místo starání se o hnízdo. Proto může být výhodou vybrat si samce s větším ornamentem pouze později v sezóně, kdy pravděpodobnost spárování se s jiným samcem je mizivá a můžeme předpokládat, že samec bude investovat více energie do krmení mláďat (Qvarnström et al. 2000).

V této práci se zaměřím na testování předpokladu, že bílá skvrna na čele lejska je pro samice ukazatelem kvality jedince, dle níž si vybírají partnera a to včetně partnera mimopárového. Předpokládáme tedy, že samec s větší skvrnou na čele bude pro samice atraktivnějším a rády se s ním spáří. Toto tvrzení se podařilo prokázat studii z roku 1999 (Sheldon & Ellegren 1999), zjistili totiž, že oba sekundární pohlavní znaky (bílá skvrna na čele a křídle) pozitivně korerují s počtem zplozených mláďat v hnízdě. Samci s větším znakem měli ve svém hnízdě větší procento vlastních mláďat, o která se starali. Jednalo se ovšem pouze o korelativní studii.



Podobně jako v případě vrabce domácího (*Passer domesticus*, Hsu et al. 2015) i u lejska je pravděpodobné, že vnímání ornamentace při výběru partnera se může lišit v závislosti na zeměpisném umístění populace. Předcházející studie (Sheldon & Ellegren 1999) sledovala švédskou populaci lejsků, zatímco další studie sledovala maďarskou populaci (Szollosi et al. 2009). V této populaci samice, které se účastnily EPC nedávaly přednost jakémukoli znaku (skvrny na čele, křídle, velikost těla, kondice). Podíl mimopárových mláďat nezávisel na pohlavních znacích sociálního samce. Mezi mláďaty v hnízdě (jak párovými, tak mimopárovými) nebyl žádný rozdíl ani ve velikosti ani životaschopnosti. Toto tvrzení ovšem popírá studie Sheldon et al. (1997), kde mimopárová mláďata lejsků roustla rychleji nežli párová a zdala se být zdravější. V této studii nevzali v úvahu samčí zpěv či kvalitu teritoria a je možné, že právě v této populaci samice reagují spíše na tuto variantu dvoření. Zdá se tedy, že samice jsou při výběru partnera nezávislé na jejich zevnějšku (Sheldon et al. 1997).

Zdá se, že ve švédské a maďarské populaci se uplatňují při výběru partnera jiné ornamenty. Toto tvrzení potvrzují i maďarská studie z roku 2011 (de Heij et al. 2011). Tato studie je jedna z mála manipulativních, kdy byl sledován vztah ornamentace a reprodukčního chování samce, vyjádřeného počtem mimopárových mláďat (viz výše Tab. 1). Ovšem v této studii se zaměřili na zmenšení ornamentu na křídle lejska. Výběr ornamentu na křídle odůvodnili tím, že ornament na čele slouží spíše ke komunikaci mezi samci a určením jejich dominance. Zmenšili tak ornament v horní části křídla cca o jednu třetinu a to ještě před započítáním hnízdní sezóny, tedy těsně po přiletu samců na hnízdiště. Nepodařilo se dokázat vztah mezi velikostí ornamentu a rychlostí párování ani velikostí snůšky, tedy počtem mláďat zplozených daným samcem. Rozdíl mezi kontrolní a sledovanou skupinou byl zanedbatelný, nepřesahující 5%. Je tedy možné, že experimentální redukce ornamentu nemá takový vliv na počet mimopárových mláďat, ale zvětšení daného ornamentu by mohlo být průkaznější.

## 1.6 Cíle práce

Cílem této experimentální studie je zjistit reprodukční úspěch samců lejska bělokrkého na lokalitě pomocí manipulace ornamentu a to bílé iridiscentní skvrny na čele, která je jedním ze dvou ornamentů uplatňujících se při výběru partnera (viz výše). V rámci tohoto experimentu byl sledován vliv manipulace na získání mimopárových mláďat mimo sociální pár a zároveň schopnost samce uhlídat paternity ve svém vlastním hnízdě. Navíc, jako vedlejší produkt studie byla testována role skvrny pro rychlost zahníždění/spárování samců a reprodukční úsilí samic (oboje by mohly být dobré koreláty atraktivity partnera u tohoto druhu, viz výše).

Doposud bylo publikováno jen malé množství prací zabývajících se ornamentací a mimopárovým úspěchem samce lejska bělokrkého (*Ficedula albicollis*, Qvarnström 1997; Qvarnström et al. 2003; Garamszegi et al. 2006; de Heij et al. 2011), ale pouze dvě z nich se věnovaly ornamentaci lejska na experimentální úrovni. Mezi hlavní cíle této diplomové práce tedy patří vliv ornamentace na míru variability mimopárových paternit (EPP), rychlost zahníždění sledovaných jedinců a velikost snůšky u tohoto drobného pěvce. Především jsme se zaměřili na:

- Stanovení genotypů všech jedinců lejska bělokrkého za přispění 8 mikrosatelitových lokusů
- Stanovení míry mimopárových paternit u populace lejska bělokrkého provedením paternitní analýzy
- Stanovení vlivu experimentální manipulace velikostí čelní skvrny na fertilizační úspěch samců (vnitropárový i mimopárový) a celkový reprodukční úspěch samce
- Stanovení vlivu experimentální manipulace ornamentu (čelní skvrny) na aktaktivitu samce a jeho kompetitivní schopnosti, měřené jako rychlost párování a reprodukční investicí partnerky (hypotéza rozdílné alokace zdrojů)

## 2. Metodika:

### 2.1 Lokalita

Terénní práce spojené s odchytom lejsků probíhaly na vrchu Velký Kosíř, poblíž obce Čechy pod Kosířem na Prostějovsku. Lokality odchytu se nacházely v blízkosti přírodní rezervace Andělova zmola (49°32'30" N, 17°3'19" E). Na kamenitých stráních Velkého Kosíře se vyskytují teplomilné doubravy, především v zastoupení dubu zimního (*Quercus petraea*), dubu letního (*Quercus robur*) a borovice lesní (*Pinus silvestris*). Tuto lokalitu jsme si vybrali především díky přirozenému prostředí pro lejsky a také proto, že hnízdní areál lejska bělokrkého se tu s lejskem černošavlým téměř nemísí a lejsk bělokrký zde hnízdí pravidelně ve velkém počtu. Na této lokalitě jsou v pravidelných intervalech rozmístěny dřevěné budky s připravenými sklapovacími pastmi. Díky nim jsme byli schopni v krátkém čase odchytout dospělé jednice a provést manipulaci ornamentu.

### 2.2 Terénní práce - odchyt dospělců na lokalitě

Odchyt lejsků probíhal na jaře roku 2013 od poloviny dubna do poloviny května na počátku hnízdní sezóny. Lejscí, kteří se vrací ze zimoviště ve střední a jižní Africe, se snaží co nejrychleji získat ideální místo pro stavbu hnízda. Využili jsme faktu, že samci na lokalitu přilétají jako první a odchytávali jsme je do připravených pastí. Odchycení jedinci byli okroužkováni hliníkovým kroužkem s identifikačním kódem Národního muzea v Olomouci. V případě, že se nám podařilo odchytit samici, jsme ji ihned okroužkovali a následně vypustili na svobodu. Samce jsme přenesli v prodyšných látkových sáčcích do provizorní laboratoře poblíž lokality. Samcům jsme provedli základní morfologické měření a vážení, byla jim odebrána krev a spermie (pro účely jiné studie). Všechna prováděná měření, odběry a manipulaci jak dospělců, tak mláďat měla na starosti jedna osoba (Miloš Krist).

Samice do hnízda kladou mezi čtyřmi až osmi vejci. Po nalezení prvního vejce v hnízdě byla tato hnízda denně kontrolována. Každé vejce bylo označeno číslem 1-8 (dle velikosti snůšky). Jakmile samice začaly s inkubací, přestali jsme dané hnízdo sledovat a s kontrolou jsme opět začali po vylíhnutí mláďat (přibližně deset dní po snesení posledního vejce). Přibližně šest dní po vyklubání posledního mláděte v hnízdě (asi v polovině června) jsme je zvážili, okroužkovali a byl jim odebrán vzorek krve. O vylíhlá mláďata se starají oba rodiče. V tuto dobu jsme opět odchytili dospělé jedince. Samice i samce jsme změřili, zvážili a odebrali jim krev stejným způsobem jako při prvním odchytu. Odebranou krev jsme uložili do 96% alkoholu.

Nevyklubaná vejce byla z hnízda odebrána čtyři dny po té, co se vylíhlo poslední mládě, popřípadě byla odstraněna mrtvá mláďata, která společně s vejci byla jednotlivě naložena do etanolu. Tato mrtvá mláďata tak byla připravena pro následnou genetickou analýzu.

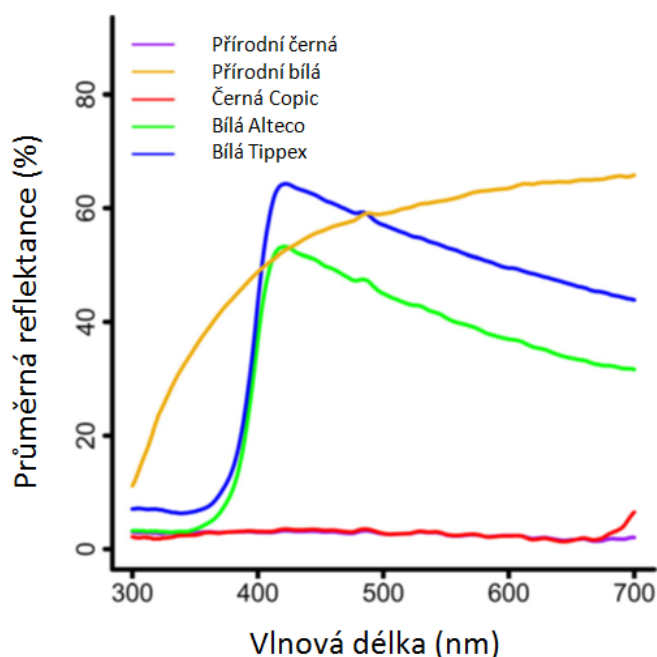
### **2.3 Manipulace ornamentace**

První samec přiletěl na lokalitu 15. dubna, v tento den jsme začali i s manipulací ornamentu. Odchycené samce jsme rozdělili do dvou skupin. Přibližně polovina všech odchycených samců nebyla do experimentu zahrnuta. Samce z této skupiny jsme pouze změřili, odebrali jim biologické vzorky na genetickou analýzu a poté jsme je vypustili. Druhou skupinu jsme rozdělili do dalších tří podskupin (kontrola= K, zvětšení= Z, redukce= R). Abychom mohli určit původní velikost ornamentu před manipulací, každému samci jsme vyfotografovali skvrnu na čele dvakrát. Stejným způsobem jsme určili i velikost ornamentu po manipulaci. V programu imageJ jsme spočítali plochu ornamentů z obou fotografií a zprůměrovali. Výsledné číslo jsme zaokrouhlili na  $0,1\text{mm}^2$ , čímž jsme získali výslednou velikost ornamentu. Stejným způsobem jsme spočítali velikost ornamentu i po manipulaci.

První skupina s 50 samci sloužila jako kontrolní pro zbylé dvě. Z této kontrolní skupiny na lokalitě zahnízdilo 26 samců. Těmto samcům jsme provedli základní morfologické měření, ale manipulaci jsme neprováděli. U skupiny samců se zvětšeným ornamentem, jichž jsme po příletu odchytili 52 (zahnízdilo  $N= 20$ ), jsme ornament

zvětšili pomocí Alteco WhiteMarkeru. Bílou skrvnu na čele jsme jim v průměru o polovinu zvětšili (viz Obr. 4a, Obr. 4b). Na rozdíl od dřívější studie (Qvarnström et al. 2000) jsme na místo Tippex markru použili marker Alteco. Díky našemu dřívějšímu testování na zebříčkách pestrých (*Taeniopygia guttata*) umístěných v chovu, jsme zjistili, že značení pomocí Tippex markeru není vhodné, protože barva vybledne ani ne do týdne, zatím co značení Alteco markerem vypadalo i po sedmi dnech dobře (Edme et al. 2017). Reflektance barvy u obou markerů měla odlišný průběh křivky na rozdíl od přirozené bílé barvy lejsků (Obr. 3). Reflektance přirozené bílé je v nižších a vyšších vlnových délkách vyšší nežli testované markery. Detailní metodika týkající se měření reflektance ornamentů je uvedena v práci Edme et al. (2017).

Obr. 3: Graf představující křivky reflektance jednotlivých barevných markerů (podle Edme et al. 2017)

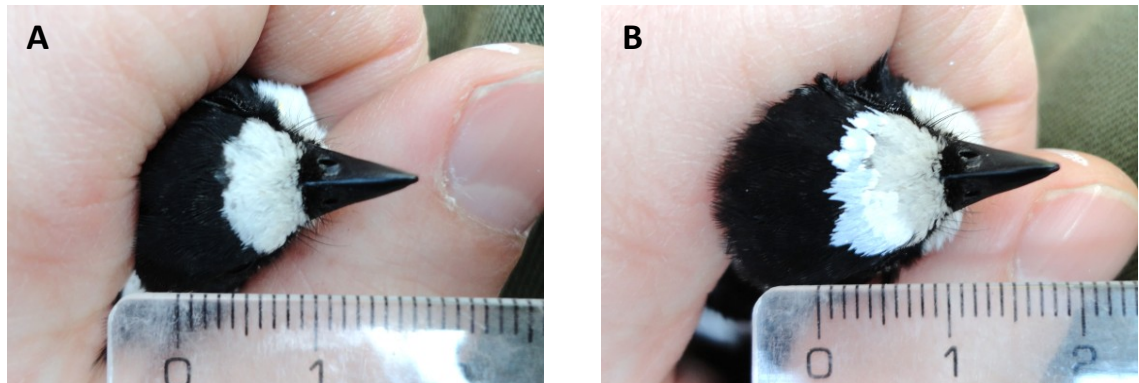


Obdobně bylo postupováno i se třetí skupinou, kdy byl samcům po odchytu ornament zmenšován (N = 51 z nichž zahrnulo N = 24) pomocí centropenu (viz Obr. 5a, Obr. 5b). Bohužel nastala komplikace s použitím černého centropenu, tato barva se za nepříznivého počasí vymývala. Tuto nedokonalost jsme zavčas objevili a nahradili

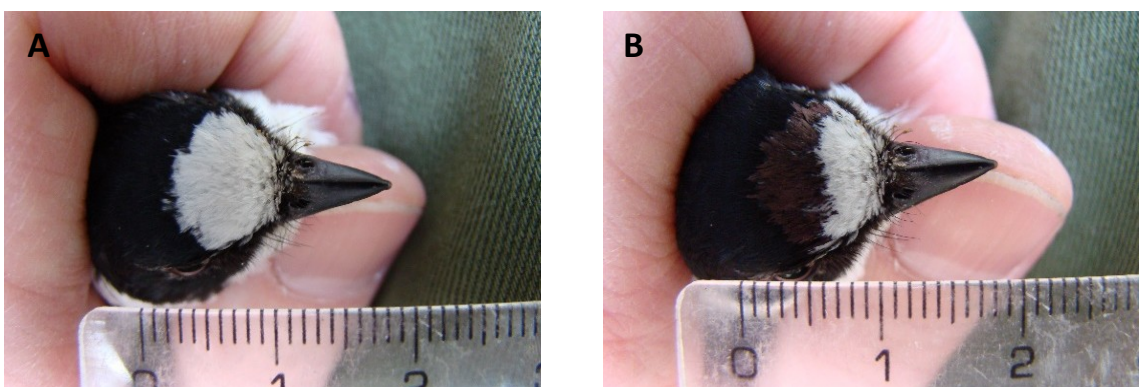
jsme tento centropen za černý copic marker vyzkoušený v dřívější studii (de Heij et al. 2011). Vybledlé samce (N= 18) jsme stihli v rozmezí několika dnů znovu přeznačit. Tímto způsobem jsme postupovali po celou dobu odchytu samců, tedy přibližně do poloviny května.

Jelikož naše značení mělo relativně krátkého trvání, manipulace mohla mít vliv pouze procesy probíhající na začátku rozmnožovacího období. Především na výběr sociálního partnera, popřípadě mimopárového partnera. Tento výběr probíhá většinou několik dnů po příletu samic na hnízdiště. Po manipulaci byli samci přeneseni na lokalitu, kde se nám je podařilo odchytit a vypuštění.

Obr. 4: Příklad experimentální manipulace skvrny lejska - zvětšení



Obr. 5: Příklad experimentální manipulace skvrny lejska - zmenšení



## 2.4 Vyhodnocení naměřených dat

### 2.4.1 Genetická analýza

Vzorky krve získané při odběru jsme uložili do 96% ethanolu a uskladnili v laboratoři. Z těchto vzorků jsme pomocí DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany) izolovali purifikovanou DNA. Samotná izolace probíhala podle standardizovaného postupu, čímž jsme získali 200 $\mu$ l DNA potřebné k dalšímu postupu při identifikaci jedinců. Pro analýzu paternit jsme použili 8 mikrosatelitových lokusů (Fhu2, Fhy407, Fhy310, Cuu4, Fhy452, Fhy405, Fhy428, Fhy431, barva písma naznačuje fluorescenční značení primerů 6FAM, VIC, NED, PET) z publikovaných prací (Ellegren 1992; Gibbs et al. 1999; Leder et al. 2008). Díky fluorescenčnímu značení primerů bylo možno amplifikovat všechny mikrosatelitové markery v jedné multiplex reakci a jednotlivé lokusy se mezi sebou nepřekrývaly.

Pro PCR reakci jsme použili Type-it Microsatellite PCR kit (Qiagen, Hilden, Germany) a postupovali dle standardizovaného postupu. Do PCR reakce jsme k PCR MasterMixu přidali fluorescenčně značené forward a neoznačené reverse primery o různých koncentracích (4, 2 a 1 ng/ $\mu$ l), dále jsme do reakce přidali ddH<sub>2</sub>O a vyzolovanou DNA. PCR destičku se vzorky jsme vložili do cycleru a spustili PCR program.

Proces PCR reakce byl zahájen 5 minutami denaturace při 95°C následovaných 30 cykly. Každý cyklus začne denaturací dvoušroubovice DNA při 95°C po dobu 30 vteřin, následně dojde k nasednutí primerů na vlákno DNA při teplotě 65°C (t= 90s), poté následuje 3 fáze cyklu, kdy dojde k syntéze komplementárního vlákna DNA při 72°C po dobu 30 vteřin. PCR reakce je zakončena finální extenzí trvající 30 minut při 60°C.

Vzorky po PCR jsme poté připravili na fragmentační analýzu. Na jeden vzorek jsme si připravili směs formamidu (9 $\mu$ l) a velikostního standardu (0,3 $\mu$ l). Jako velikostní standard jsme použili GeneScan<sup>TM</sup>-500 LIZ Size Standard (Applied Biosystems, Foster City, CA). Díky využití standardu obsahujícímu fragmenty DNA o známé délce jsme poté byli schopni identifikovat délku jednotlivých fragmentů z naší PCR reakce. Před

samotnou fragmentační analýzou je potřeba směs nechat po dobu 2 minut zdenaturovat při teplotě 95°C a ihned poté zchladit na ledu. Fragmentační analýza probíhala na sekvenátoru. Každý amplifikát daného polymorfismu nese jeden typ fluoroforu, tedy molekuly fluorescenční barvy, která po ozáření světlem laseru o určité vlnové délce emituje světlo. Díky různým typům navázaných fluoroforů excitují amplifikáty při průchodu kapilárou po ozáření laserem světlo různé barvy a intenzity, vznikají tzv. píky. Poloha každého píku vůči známému standardu pak znamená typ alely daného polymorfismu. Výsledek fragmentační analýzy je nutné vyhodnotit s pomocí vyhodnocovacího softwaru.

Jednotlivé genotypy jsem následně analyzovala v programu GeneMarker V1.90 (Softgenetics), frekvenci jednotlivých alel jsem poté stanovila v programu Cervus V3.0.3 (Field Genetics). V případě, že u některých vzorků se neamplifikovali všechny lokusy, byla provedena nová PCR reakce.

#### **2.4.2 Analýza paternit**

Do této genetické analýzy bylo zahrnuto celkem 1025 jedinců, z nichž se podařilo zgenotypovat 995 bez jediného chybějícího lokusu (97%). Ovšem do analýzy paternit byly použity všechny genotypy. Pro analýzu maternit a paternit jsem zvolila program Cervus 3.0.3. Tento program pracuje v několika krocích. Nejdříve stanoví frekvenci alel. Tato analýza poskytuje data o heterozygotnosti, odchylce od Hardy-Weingergovy rovnováhy, odhadne frekvenci nulových alel a určí pravděpodobnost kompatibility genotypu mláděte s jakýmkoliv jedincem z populace, který není jeho rodičem. Díky výsledkům této analýzy je možno zhodnotit, zda-li je mikrosatelitový set dostatečně polymorfní pro použití na paternitní analýzu. U žádného z lokusů jsme nezjistili vysokou frekvenci nulových alel, což by nám mohlo znemožnit následné analýzy. Nicméně u lokusu Fhy310 jsme pozorovali zvýšený počet homozygotů značící alelický dropout nebo nulové alely. Zvýšená frekvence nulových alel se u tohoto loksu pohybovala pod 5%. Charakteristiku jednotlivých mikrosatelitových lokusů uvádím v tabulce (Tab. 3).



Tab. 3: Charakteristika 8 mikrosatelitových lokusů použitých při paternitní analýze

Locus	k	N	Hobs	Hexp	F(Null)
Fhu2	21	1017	0.832	0.844	0.0107
Fhy407	26	1020	0.873	0.898	0.0147
Fhy310	18	1014	0.720	0.891	0.0446
Cuu4	19	1024	0.863	0.867	0.0015
Fhy452	30	1016	0.827	0.841	0.0087
Fhy405	28	1019	0.839	0.908	0.0384
Fhy428	26	1016	0.830	0.864	0.0203
Fhy431	22	1017	0.859	0.871	0.0063

K=počet alel, n=počet genotypovaných jedinců, Hobs= pozorovaný heterozygotnost, Hexp= očekávaná heterozygotnost, F(Null)= frekvence nulových alel. Jednotlivé lokusy jsou popsány v článku Leder et al. 2008.

Pro určení průkaznosti přiřazení matek byla v programu provedena simulace „simulation of parentage analysis – maternity“. Abychom správně ověřili přiřazení jednotlivých samic k mláďatům, zvolili jsme jako vstupní proměnné tyto parametry: počet kandidátních matek: 130; poměr ovzorkovaných kandidátních matek: 0,9000; poměr otypizovaných lokusů: 0,95000; poměr špatně otypizovaných lokusů: 0,01000; míra chyby ve výpočtech pravděpodobnosti: 0,01000; minimální počet otypizovaných lokusů: 6, stanovená spolehlivost: LOD, mírná úroveň spolehlivosti: 80 %, striktní úroveň spolehlivosti: 95 %“. Podařilo se nám přiřadit téměř všechny matky (97%) k jejich genetickým mláďatům (pouze 4 matky se nám přiřadit nepodařilo a to z důvodu, že u jednoho hnízda jsme našli mrtvou samici, přičemž se nám podařilo prokázat, že tato samice nebyla matkou mláďat v hnízdě a u dalších tří se nám nepodařilo získat dostatečně kvalitní DNA mláďat).

Následně jsem provedla analýzu paternit. Ke každému mláděti jsme dle maternitní analýzy přiřadili genotyp té nejpravděpodobnější samice, následně jsme zjišťovali ty nejpravděpodobnější otce. Do této analýzy bylo zahrnuto 1025 jedinců. Určení genetických otců mláďat jsme rozhodli dle výpovědní hodnoty LOD skóre. LOD skóre si můžeme vysvětlit jako přirozený logaritmus podílu pravděpodobnosti, že určitý jedinec je otcem daného mláděte a pravděpodobnosti, že daný samec je nepříbuzný. Za předpokladu, že sociální samec je i nejpravděpodobnějším genetickým otcem jsem

posuzovala na základě celkového LOD skóre a na počtu chybných (mismatch) lokusů otce a mláďete.

## 2.5 Statistické metody

K statistickému vyhodnocení naměřených dat jsem použila program R 3.3.0. (R Core Team 2016). Nejčastěji jsem využívala zobecněné lineární modely s binomickým nebo Poissonovým rozložením funkcí anebo obecné lineární modely předpokládající normální rozložení závislé proměnné i residuálů modelu (GLM = Generalized Linear Model, LM = Linear Model). U GLM modelů předpokládajících poissonovské a binomické (ale ne binární) rozložení závislé proměnné jsem též kontrolovala případnou overdispersi a použila quasipoisson či quasibinomial přístup tam kde třeba (Crawley 2013). Pro všechny použité analýzy byla za signifikantní považována hraniční hodnota  $p < 0,05$  (Pekár & Brabec 2012).

U každé analýzy jsem vždy začínala použitím plného modelu. Plný, nebo také maximální model, v sobě obsahuje všechny *a priori* vybrané proměnné, které by mohly ovlivnit variabilitu v závislé proměnné. Po nastavení plného modelu jsem pokračovala k jeho postupnému zjednodušení (Crawley 2013). To spočívalo v postupné aplikaci delečního testu za pomoci funkce `drop1`. Díky této funkci byly odstraňovány proměnné, které nevedly po odstranění k signifikantnímu zhoršení modelu (na hladině  $p < 0,05$ ). Takto jsem postupovala dále až do vytvoření minimálního adekvátního modelu. Tento model zahrnuje pouze signifikantní proměnné, či nulového modelu, pokud žádná z proměnných nebyla signifikantně asociována se závislou proměnnou. V jednotlivých krocích byla kontrolována správnost zjednodušování modelu za využití  $\chi^2$ -testu při binomickém a poisson rozložení dat a případně pomocí F-testu při quasibinomickém a quasipoisson rozložení, či v případě lineárních modelů s normálním rozložením dat. Pro kontrolu normálního rozložení dat a residuálů modelů jsem využila Shapiro-Wilkův test. Inspekce modelů byla prováděna i pomocí funkce `plot` (Pekár & Brabec 2012).

### 3. Výsledky:

#### 3.1 Efekt manipulace ornamentu samce při výběru partnera

Samci byli odchyceni ihned po přeletu na hnízdiště (N= 153). U těchto samců bylo provedeno základní morfometrické měření a vybraným jedincům byl manipulován ornament na čele. Samci přiletěli v průměru  $113.15 \pm 6.54$  (průměrná hodnota přiletu samců  $\pm$  směrodatná odchylka SD) den juliánského kalendáře (asi 23. dubna). Při následném odchytu během krmení mláďat se podařilo znovu odchytit některé samce (N= 73). Tyto informace umožnily identifikovat samce, kteří byli úspěšní během námluv, a podařilo se jim zahrnout. Pět z těchto samců bylo polygynních, a proto jejich sekundární hnízda byla vyloučena z testování vlivu manipulace na úspěšnost zahrnutí, rychlost párování a velikost snůšky. Při analýze reprodukčního úspěchu byla vzata v potaz sekundární hnízda těchto samců a mláďata nebyla započítána jako mimopárová. Všechny průměrné hodnoty proměnných v jednotlivých experimentálních skupinách jsou uvedeny v tabulce 4.

Tab. 4: Velikost vzorku a průměrné hodnoty ( $\pm$  SD) měřených znaků pro experimentální skupiny. WPY-vnitropárová mláďata, EPY-mimopárová mláďata v hnízdě, EPO – mláďata zplzená samcem mimo pár, počet mláďat – celkový počet mláďat zplzená samcem v sezóně.

	ornament		
	zvětšený	zmenšený	kontrola
počet manipulovaných samců	52	51	50
počet hnízdících samců	21	27	25
polygynní samci	1	1	3
počet samců použitých v analýze	20	24	23
přilet na hnízdiště (Juliánský kal.)	$113,8 \pm 5,2$	$112,3 \pm 5,5$	$112,7 \pm 6,8$
rychlost párování (dny)	$11,6 \pm 7,7$	$10,1 \pm 7,2$	$8,0 \pm 3,9$
velikost ornamentu před manipulací (mm <sup>2</sup> )	$56,8 \pm 8,5$	$57,7 \pm 2,16$	$54,45 \pm 12,4$
velikost ornamentu po manipulaci (mm <sup>2</sup> )	$84,58 \pm 11,5$	$29,55 \pm 6,1$	$54,45 \pm 12,4$
velikost snůšky	$5,6 \pm 1,2$	$6,13 \pm 0,8$	$6,13 \pm 0,9$
počet WPY	$4,75 \pm 2,0$	$4,92 \pm 1,5$	$4,91 \pm 2,0$
počet EPY	$1,1 \pm 1,6$	$1,1 \pm 1,4$	$1,0 \pm 1,8$
počet EPO	$1 \pm 1,58$	$0,96 \pm 1,31$	$0,47 \pm 1,05$
celkový počet mláďat	$5,75 \pm 2,6$	$5,87 \pm 2,0$	$5,39 \pm 2,39$

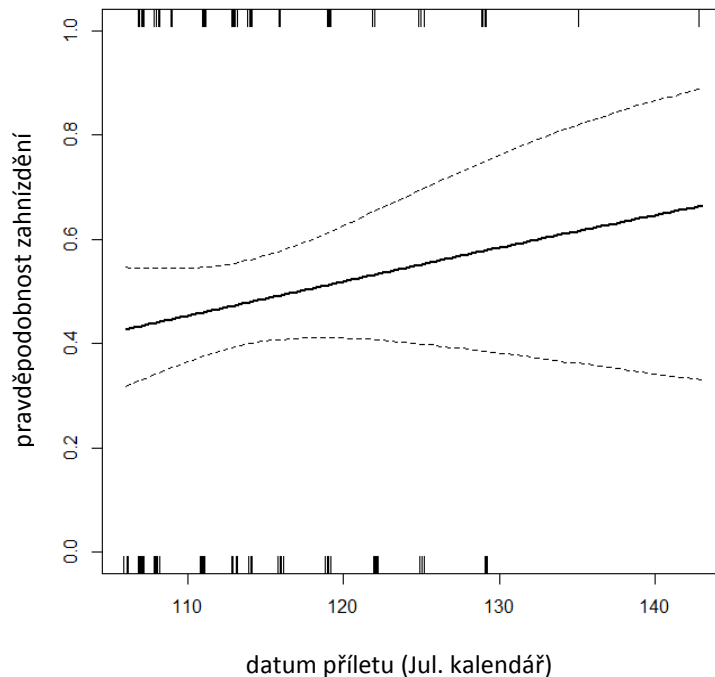
Při testování předpokladu, zda manipulace bude mít vliv na zahnízdění samců, jsme použili informace o všech odchycených jedincích (N=153). Do všech následných analýz jsme zahrnuli pouze samce, kterým se podařilo zahnízdit (N=73), ale byli vyřazeni samci, kteří zahájili hnízdění ještě před samotnou manipulací (N= 5).

Pro analýzu úspěšnosti párování samců jsem použila zobecněný lineární model glm s binomickým rozložením dat. Jakožto vysvětlovanou proměnou jsem použila informace o zahnízdění (zahnízdil: ANO/NE). Jako vysvětlující proměnné jsem zvolila přílet samce na hnízdiště, původní velikost ornamentu, manipulaci (kontrola, zvětšení, zmenšení) a stáří samce (starý/mladý). Jelikož se mladí samci (do jednoho roku) liší od starších jedinců zbarvením peří, nebyl problém s vytvořením těchto dvou skupin. Mladší samci mají do hněda zbarvené peří, zatím co starší samci jsou zbarveni do černa. Použité informace o velikosti ornamentu jsou před jeho samotnou manipulací, získáme tak výpovědní hodnotu o přirozené investici do ornamentace jedince. Nejdříve jsem testovala interakci mezi příletem na hnízdiště a manipulací, jelikož dřívější studie prokázala, že efekt manipulace může být závislý na načasování hnízdní sezóny (Qvarnström et al. 2000). Interakce se prokázala jako neprůkazná ( $p = 0.121$ ) a byla z modelu odstraněna. Žádná z dalších proměnných nevysvětlovala úspěšnost zahnízdění samce (Tab. 5). U skupiny samců se zvětšeným ornamentem byla pozorována tendence k nižší úspěšnosti zahnízdění na rozdíl od samců ze skupiny kontrolní a se zmenšeným ornamentem (Tab. 5, Obr. 6). Výsledný model zjednodušování plného modelu byl model nulový.

Tab 5.: Výsledky modelu (binární závislá proměnná, logitová spojovací funkce) závislosti úspěšnosti zahnízdění samců (nezahnízdil – 0, zahnízdil – 1) na vybraných testovaných proměnných a manipulaci.

	Úspěšnost zahnízdění		
	Estimate ± SE	F	P
(Intercept)	-0.5170 ± 0.7417	0.643	0.653
přílet	0.0074 ± 0.0058	1.567	0.204
velikost ornamentu	0.0032 ± 0.0041	0.634	0.418
věk	-0.0146 ± 0.1443	0.011	0.919
manipulace		0.686	0.492
manipulace zmenšení	0.0243 ± 0.1012		
manipulace zvětšení	-0.0861 ± 0.0996		

Obr. 6: Pravděpodobnost zahníždění samce v závislosti na datu přiletu. Přerušované čáry označují 95% konfidenční intervaly kolem vztahu predikovaného binomickým modelem s binární závislou proměnnou (nezahníždil – 0, zahníždil – 1).



### 3.2 Efekt manipulace na rychlost párování

Dalším faktorem, potenciálně ovlivněným manipulací, je rychlost párování (získání sociální partnerky). Čas, za který byli samci schopni nalézt partnerku, jsem spočítala jako rozdíl přiletu samce na hnízdiště a data zahníždění. Pět odchylených samců bohužel vykazovalo záporné hodnoty, což značí, že byli odchyleni dlouho poté, co přiletěli na hnízdiště. Z analýzy byli tito samci vyřazeni. Z analýzy jsem také vyřadila sekundární hnízda samců, kterým se podařilo zahníždít dvakrát v sezóně (N = 5). Do všech následujících analýz jsem tedy zahrnula 68 samců, kteří zahníždili a byli součástí experimentu. Testovali jsme interakci mezi rychlostí párování a manipulací, která vyšla neprůkazně (Tab. 6, Obr. 7).

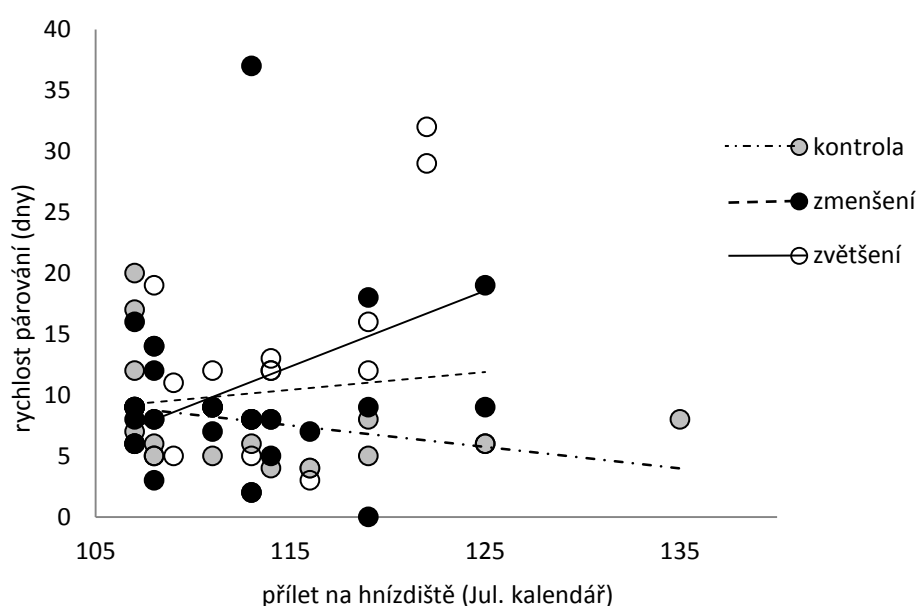
Rychlost párování byla mezi pěti až třicetisedmy dny ( $16,19 \pm 7,54$  SD). K testování jsem použila lineární model předpokládající normální rozložení závislé proměnné (funkce `lm` v R), jako vysvětlovanou proměnnou jsem zvolila rychlost párování a jako vysvětlující proměnné jsem použila ty samé jako při testování modelu

pro úspěšnost zahnízdění (Tab. 6). Zjistili jsme, že samci, kteří se rychleji spárovali, pocházeli ze skupiny kontrolní nebo se jednalo o samce ze skupiny se zmenšeným ornamentem. Samci s experimentálně zvětšeným ornamentem potřebovali poněkud více času k nalezení sociální partnerky (Obr. 7, 8), efekt manipulace na rychlost párování však nebyl průkazný (Tab. 6). Výsledný model zjednodušování plného modelu byl model nulový.

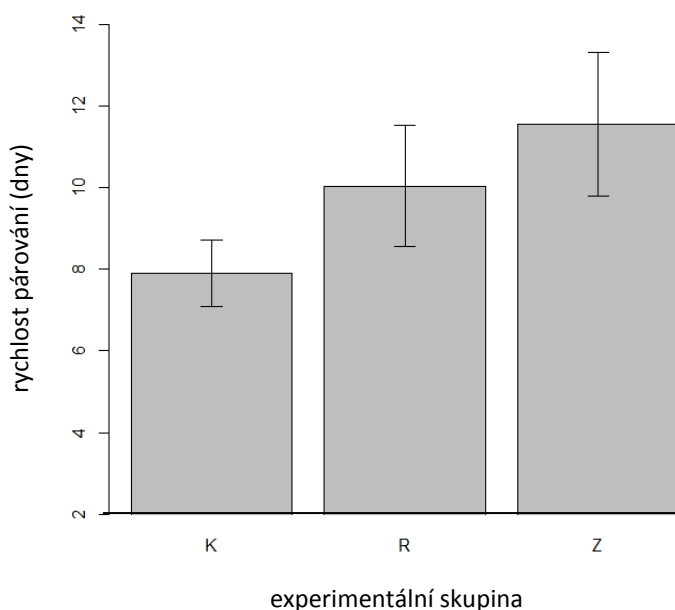
Tab. 6: Výsledky lineárního modelu s normálním rozložením dat vysvětlující rychlost párování samců (rozdíl dne zahnízdění a příletu na hnízdiště) v závislosti na vybraných proměnných a manipulaci

Rychlost párování			
	Estimate ± SE	F	P
(Intercept)	-4.7849 ± 17.963	0.873	0.791
přílet	0.1018 ± 0.1441	0.499	0.482
velikost ornamentu	0.0209 ± 0.0864	0.059	0.809
věk	1.8687 ± 2.9033	0.414	0.522
manipulace		0.059	0.81
manipulace zmenšení	1.9405 ± 1.9722		
manipulace zvětšení	3.3746 ± 2.0548		

Obr. 7: Graf znázorňující vztah mezi příletem na hnízdiště a rychlostí párování u jednotlivých manipulovaných skupin



Obr. 8: Rychlost párování u jednotlivých experimentálních skupin. Znázorněn je průměr a 95% konfidencí interval. (K= kontrola, R= redukce, Z= zvětšení)



### 3.3 Efekt manipulace na velikost snůšky

Při testování hypotézy, vlivu manipulace na velikost snůšky jsem při analýze použila velikost snůšky jednotlivých testovaných skupin (počet vajec v hnízdě) jako vysvětlovanou proměnnou a manipulaci, přilet na hnízdiště, velikost ornamentu a stáří samce jako vysvětlující proměnnou (Tab. 7). Z proměnných potenciálně ovlivňujících velikost snůšky se v plném modelu jako významný ukázal pouze přilet na hnízdiště (Tab. 7). Zjednodušování modelu vedlo k minimálnímu adekvátnímu modelu se dvěma proměnnými – manipulací ornamentu a přiletem na hnízdiště, který byl průkazně odlišný od nulového ( $\Delta Df = 3$ ,  $F = 9.448$ ,  $p < 0.001$ ). Samci, kteří přilétli na hnízdiště dříve, měli více vajec ve svém hnízdě, skupina samců se zvětšeným ornamentem měla méně vajec v hnízdě ve srovnání se skupinou se zmenšeným ornamentem a kontrolní skupinou (Tab 8., Obr. 9).

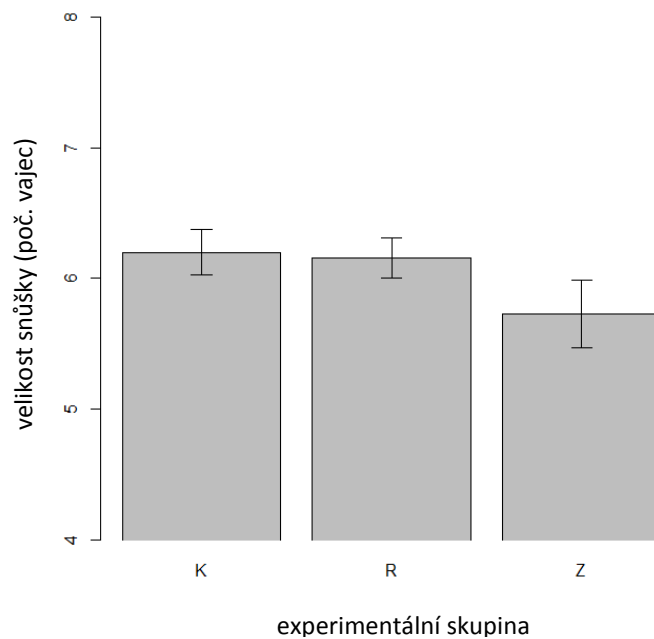
Tab. 7: Model vlivu manipulace na velikost snůšky (lineární model s normálním rozložením závislé proměnné)

	Velikost snůšky		
	Estimate ± SE	F	P
(Intercept)	16.63 ± 2.199	6.528	<0.001
přílet	-0.091 ± 0.018	26.285	<0.001
velikost ornamentu	-0.006 ± 0.011	0.321	0.573
věk	0.352 ± 0.355	0.981	0.326
manipulace		1.851	0.166
manipulace zmenšení	-0.0435 ± 0.241		
manipulace zvětšení	-0.441 ± 0.252		

Tab. 8: Minimální adekvátní model vycházející z plného modelu závislosti velikosti snůšky na experimentální manipulaci a vybraných proměnných

	Velikost snůšky		
	Estimate ± SE	F	P
(Intercept)	14.94452 ± 1.913	10.584	<0.001
přílet	-0.07744 ± 0.016	25.775	<0.001

Obr. 9: Velikost snůšky u experimentálních skupin. Znáznorněn je průměr a 95% konfidenční interval. (K= kontrola, R= redukce, Z= zvětšení)

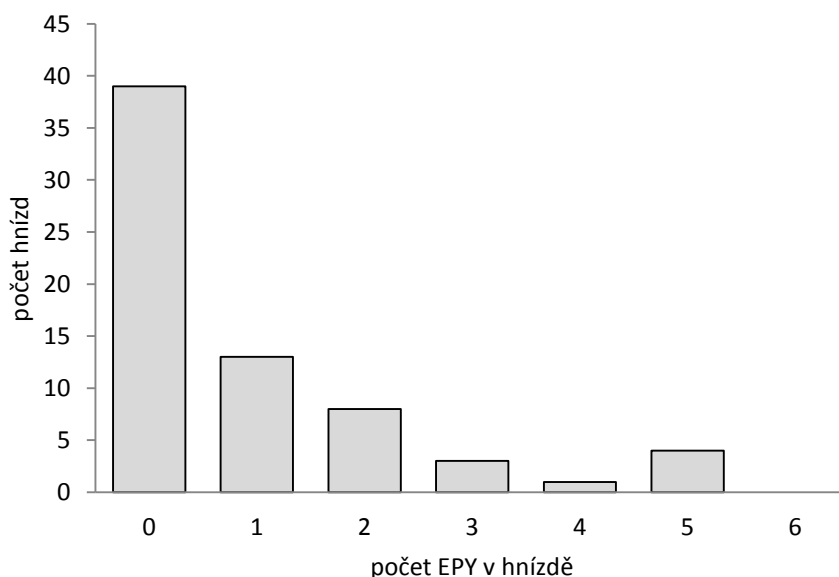






byla schopna zgenotypovat 406 mláďat a 268 dospělých jedinců. Na základě paternitní analýzy jsem určila 54 mimopárových a 352 vnitropárových mláďat. Míra EPP v populaci byla 23,5%. Průměrně se v hnízdě vyskytovalo  $5,25 \pm 2,5$  (SD) vnitropárových a  $1,06 \pm 1,64$  (SD) mimopárových mláďat. Samci průměrně splodili  $0,81 \pm 1,34$  (SD) mláďat mimo sociální hnízdo. Rozmístění mimopárových mláďat v jednom hnízdě bylo od 0 – 7 (Obr. 11). Snůška obsahovala průměrně  $5,97 \pm 0,96$  (SD) vajec. Z celkového počtu 68 hnízd bylo 39 bez jediného mimopárového mláděte (57.3%) a ve čtyřech případech byla všechna mláďata v hnízdě mimopárová. Všechny průměrné hodnoty týkající se jednotlivých experimentálních skupin jsou uvedeny v tabulce (viz Tab. 4).

Obr. 11: Distribuce EPY v hnízdech lejska (N=67 hnízd)



### 3.5 Efekt manipulace na reprodukční úspěch samce

Reprodukční úspěch má v sobě zakomponované dvě složky. Konkrétně to je vnitropárový reprodukční úspěch ve vlastním hnízdě a mimopárový úspěch mimo vlastní hnízdo samce. Nejdříve jsem testovala vliv prediktorů na vnitropárový

reprodukční úspěch, pomocí zobecněného lineárního modelu s quasibinomickým rozložením dat, neboť plný model vykazoval overdispersi. Podíl vnitropárových (WPY) a mimopárových (EPY) mláďat v hnízdě jsem zvolila jako vysvětlovanou proměnou (příkazem `cbind(WPY, EPY)`) a jako vysvětlující jsem použila ty samé proměnné jako v předchozích analýzách. Přítomnost mimopárových mláďat samce v cizích hnízdech (samec získal mimopárové mládě: ANO/NE) jsem testovala pomocí zobecněného lineárního modelu (glm) s binomickým rozložením dat. Závislou proměnnou byl samcův úspěch zplodit alespoň jedno mimopárové mládě mimo své hnízdo (kódováno jako 0 – nezplodil, 1 – zplodil).

Statistická analýza prokázala, že manipulace samce ani žádná jiná proměnná nemá vliv na podíl vlastních mláďat v hnízdě (Tab. 9). Zjistila jsem také, že žádná proměnná nemá vliv na míru mimopárových mláďat mimo hnízdo sociálního samce. Výsledný model zjednodušování plného modelu byl model nulový.

Tab. 9: Výsledný model vlivu manipulace a dalších proměnných na vnitropárový reprodukční úspěch samců (podíl vnitropárových a mimopárových mláďat, quasibinomický přístup) a výsledný model vlivu proměnných na získání alespoň jedné mimopárové paternity (zobecněný lineární model s binomickým rozložením dat).

	WPY/EPY			EPO (0,1)		
	Estimate ± SE	F	P	Estimate ± SE	Chi	P
(Intercept)	-2.3522 ± 3.303	-3.883	0.566	1.5767 ± 6.596	-9.497	0.098
přílet	0.0379 ± 0.027	-2.052	0.151	-0.0315 ± 0.054	-0.350	0.553
velikost ornamentu	-0.0059 ± 0.014	-0.178	0.672	0.0132 ± 0.029	-0.203	0.652
věk	-0.5221 ± 0.448	-1.274	0.259	-17.1961 ± 1.035	-5.936	0.054
manipulace		-0.491	0.782		-3.271	0.194
manipulace zmenšení	-0.0505 ± 0.322			1.0766 ± 0.6819		
manipulace zvětšení	-0.2263 ± 0.336			1.0644 ± 0.7172		

Dále jsem testovala vliv manipulace na celkový reprodukční úspěch samce. Reprodukční úspěch jsme testovali pomocí zobecněného lineárního modelu (glm) s quasipoissonovským rozložením dat kvůli detekované overdispersi. Jako vysvětlovanou proměnnou jsem použila celkový reprodukční úspěch samce, který jsem

získala součtem vnitropárových mláďat a mimopárových mláďat samce vyskytujících se mimo sociální hnízdo. Jako vysvětlované proměnné byly použity manipulace ornamentu, přílet samce na hnízdiště, původní velikost ornamentu a stáří samce. Statistická analýza prokázala, že manipulace ornamentu samce a ani žádná jiná proměnná neměla vliv na celkový reprodukční úspěch samce (Tab. 10), výsledný model zjednodušování byl model nulový.

Tab. 10: Výsledný model celkového reprodukčního úspěchu samců (zobecněný lineární model s quasipoissonovským rozložením dat).

	Celkový reprodukční úspěch		
	Estimate ± SE	F	P
(Intercept)	1.0622 ± 1.5297	3.306	0.428
přílet	0.0911 ± 0.0764	1.616	0.237
velikost ornamentu	-0.0191 ± 0.0458	0.656	0.679
věk	2.3203 ± 1.5402	0.010	0.137
manipulace		1.416	0.627
manipulace zmenšení	0.9867 ± 1.0462		
manipulace zvětšení	0.7200 ± 1.0901		

## 4. Diskuze:

Zjištění, že mimopárové paternity jsou u pěvců poměrně rozšířeným jevem, značně ovlivnilo naše chápání pohlavního výběru u ptáků. Porozumění všem mechanismům, které řídí mimopárové chování je náročné a jsou-li mimopárové paternity výsledkem usilování samice o mimopárové kopulace, tak míra EPP je provázána ztrátami a benefity spojenými s EPC. Pozorovaná míra EPP se mezi druhy a populacemi liší a za vzniklou variabilitu mohou různé environmentální faktory i genetické předpoklady.

U mnoha sociálně monogamních druhů jsou mimopárové paternity důležitým zdrojem variability v reprodukčním úspěchu samce (Webster et al. 2007). Nicméně teoretické studie uvádí, že pokud jsou mimopárové paternity pozitivně asociovány s vnitropárovou paternitou (WPP = within-pair paternity), zvyšuje se tak pravděpodobnost, že hrají důležitou roli v pohlavním výběru (Webster et al. 1995). K určení znaků (ornamentů), které jsou asociované s EPP je důležité zjistit vztah mezi paternitou a samičí preferencí. U mnoha druhů ptáků existují různé fenotypové projevy, které mohou mít vliv na výsledný reprodukční úspěch samců. Samice si většinou všímají stáří samce, velikosti těla, dominance nebo sekundárních pohlavních znaků. Nicméně prokázat, že ornament má vliv na sexuální selekci je obzvláště náročné především u volně žijících populací. Existují různé mechanismy jak v rámci této problematiky provést manipulaci. Mezi nejčastější patří přebarvení anebo změna velikosti pernatého ornamentu. Experimentálních prací, které manipulují ornament a sledují vliv této manipulace na reprodukční úspěch, je velice málo. Většinou se tyto studie věnují vlaštovce obecné (*Hirundo rustica*). U tohoto ptačího druhu bylo manipulováno jak s rezavou barvou na břicho, tak s délkou rýdovacích per. Oba ornamenty se ukázaly jako důležité v rámci pohlavního výběru. Vliv velikosti rýdovacích per na reprodukční úspěch samců byl potvrzen u evropské populace vlaštovek obecných (Smith et al. 1991; Saino et al. 1997), důležitost rezavého zbarvení byla prokázána u populace vlaštovek amerických (Shafran et al. 2005; Vortman et al. 2013). Bylo zjištěno, že samci s tmavším zbarvením ornamentu měli v populaci větší úspěch

při získávání partnerky. Pokud je cílem podchytit, tak jako v mé studii, vliv manipulace na další aspekty hnízdění a tvorby sociálních párů, je důležité manipulaci provést ještě před začátkem hnízdní sezóny. U druhů hnízdících dvakrát v sezóně je možné manipulaci provést také mezi prvním a druhým hnízděním. Pouze experimentální manipulací můžeme prokázat, že námi vybraný konkrétní ornament má přímý vliv na sexuální selekci (sledováním úspěchu zahnízdění a rychlosti párování).

Mezi nejčastěji studované samčí znaky patří péřové ornamenty. Lejsek je druhem, u kterého se dá testovat vztah mezi samčí ornamentací a samičí preferencí pro tento znak. Samci se po obhájení teritoria na hnízdišti snaží nejprve utvořit svazek se sociální samičí a následně mohou vyhledávat mimopárovou partnerku. Lejscí patří mezi sociálně monogamní pěvce, ale vyskytuje se u nich genetická polyandrie.

Tato práce je zaměřená na porovnání velikosti čelní skvrny samců lejska bělokrkého a sledování vlivu manipulace na reprodukční úspěch samců. Manipulace ornamentu, tedy jeho experimentální zvětšení nebo zmenšení, je obvyklý způsob testování, jímž lze snadno upravit atraktivitu samce. Proto se tato metoda často využívá při studiu výběru partnera a sexuální selekce (Mazuc et al. 2003; Grana et al. 2012; Horváthová et al. 2012). Manipulace ornamentu lejska bělokrkého (*Ficedula albicollis*), byla již dříve provedena na izolované švédské populaci na ostrově Gotland (Qvarnström 1999; Qvarnström et al. 2000). Těmito studiemi jsem se při zpracování své práce inspirovala, především převzetím způsobu manipulace ornamentu. Konkrétně ze studie Qvarnström et al. (2000) jsem použila stejný centropen na začernění bílé skvrny u samců z české populace lejska bělokrkého. Manipulací byly vytvořeny 3 skupiny samců (kontrolní, se zmenšeným a se zvětšeným ornamentem), které byly mezi sebou porovnávány. Každá skupina měla cca 50 jedinců, jejichž ornament byl upravován ihned po přiletu na hnízdiště ještě před utvořením sociálních párů. Díky této včasné manipulaci bylo možné pozorovat vliv ornamentace na úspěšnost zahnízdění a rychlost párování samců. Experimentální redukcí ornamentu jsem chtěla dokázat snížení pravděpodobnosti přilákání mimopárové samice a naopak zvětšením ornamentu samce dokázat zvýšení atraktivity a jeho snadnější párování se sociální a mimopárovou partnerkou.

Samci byli vypouštěni ihned po manipulaci ornamentace, čímž jim byl umožněn okamžitý návrat bez nutnosti opětovného budování dominance v rámci svého teritoria.

Byl tedy použit rozdílný přístup než u studie Qvarnström et al. (2000), kde byli samci drženi v zajetí po dobu jednoho dne se záměrem tuto míru dominance ovlivnit. Samci si tak museli po vypuštění své teritorium vydobýt zpět. V případě, že by se v této studii souboje o území stupňovali až ke konci hnízdní sezóny a to z důvodu nedostatku volných teritorií, by pak hnízdní latence samců s velkou skvrnou na čele byla kratší. A to z toho důvodu, že samci s větším ornamentem jsou zdatnější v získávání nových území a jsou schopni porazit konkurenci (Pärt & Qvarnström 1997).

Mezi přirozenými populacemi ptáků se vyskytuje vysoká variabilita v míře EPP a to od 0% EPY u ťuhýka menšího (*Larus minor*) až po 75% EPY u modropláštíka nádherného (*Malurus cyanus*, Double & Cockburn 2000; Valera et al. 2003). Míra mimopárových paternit (EPY) se v populaci lejsků bělokrkých pohybuje okolo 16 – 25% (Griffith et al. 2002; Rosivall et al. 2009; de Heij et al. 2011). V naší sledované populaci byla míra mimopárových snůšek 41% v těchto hnízdech bylo minimálně jedno mimopárové mládě a celkově se míra EPY pohybovala kolem 23,5%. Ve srovnání s předchozími studiemi sledujícími míru EPP ve stejné lokalitě jsou tyto výsledky srovnatelné (Krist et al. 2005; Krist & Munclinger 2011). V práci bylo tedy nutné zohlednit nejen vliv experimentální manipulace s velikostí ornamentu na sociální párování, ale i její vliv na mimopárové paternity.

V této práci se nepodařilo prokázat, že by manipulace měla vliv na celkový reprodukční úspěch samce. Nepodařilo se také prokázat vliv manipulace na vnitropárový a mimopárový úspěch. Předpokládala jsem, že získáme podobné výsledky jako v práci Qvarnström et al. (2000) a to že samci s uměle zvětšeným ornamentem budou úspěšnější v získávání mimopárových partnerek. V různých populacích se však jako ornamenty mohou uplatňovat různé znaky. Například v populaci maďarských lejsků bělokrkých zjistili, že roli hraje skvrna na křídle. Zmenšením skvrny na křídle snížili pravděpodobnost, že se samec spáří se sekundární samicí. Podařilo se jim prokázat, že samci se zmenšeným ornamentem se na rozdíl od kontrolní skupiny méně účastnili EPC (de Heij et al. 2011). Je možné, že v naší populaci by manipulace skvrny na křídle samce vedla k podobným výsledkům, nicméně tento znak jsme v rámci této studie nemanipulovali.

Mezi další klíčové faktory ovlivňující vnitropárový a mimopárový reprodukční úspěch patří stáří samce (Cleasby & Nakagawa 2012). Pokud v hnízdech starších samců

budeme nalézat převážně jejich vlastní mláďata, můžeme předpokládat, že právě starší samci budou v populaci samicemi preferováni, zatímco u mladých jedinců budeme pozorovat zvýšenou míru mimopárových paternit. V této práci jsem testovala vliv manipulace bílé skvrny na různé aspekty výběru partnera u lejsků bělokrkých. Jako kovariáty byly využity další parametry, konkrétně velikost čelní skvrny před manipulací a stáří samce (viz níže).

Je prokázáno, že bílá skvrna na čele lejska je věkem podmíněný znak a s věkem samce i samice se zvětšuje (Evans et al. 2011). Vezmeme-li v úvahu všeobecný předpoklad, že samci s větším ornamentem jsou považováni za atraktivnější, můžeme očekávat, že právě tito samci zplodí více mimopárových mláďat. Ve své práci jsem však nenalezla žádnou spojitost mezi reprodukčním úspěchem samců a jejich stářím. Nepodařilo se prokázat, že by věk samce měl vliv na získání mimopárových paternit ani na vnitropárový reprodukční úspěch. Výsledky jsou v souladu s předchozími studii (Sheldon & Ellegren 1999), která také potvrdila, že stáří samce nemá vliv na získání či ztrátu paternity v populaci. Můžeme tedy předpokládat, že při výběru partnera u lejsků bělokrkých nehraje stáří samce důležitou roli.

Dalším potencionálně důležitým faktorem pro získání EPP je velikost těla samce. Samice vnímají velikost těla samce jako jasný znak jeho fyzické kondice a zdraví, zvláště u druhů kde je samec větší než samice. Fyzicky silný a zdravý samec je schopen získat a obhájit větší teritorium. Samice, které se spáří s takovýmto samcem, mají umožněný přístup do tohoto teritoria a získají pro svá mláďata více potravy. V této práci jsem bohužel neměla k dispozici informace o velikosti těla samce a tak jsem nemohla tento předpoklad testovat. Práce sledující vliv velikosti těla lejska bělokrkého na reprodukční úspěch důležitost tohoto znaku nepotvrdily (Sheldon & Ellegren 1999).

Dalším faktorem, který byl v rámci této práce testován, byla rychlost párování samců. Navzdory očekávání jsem zjistila, že samci s větší skvrnou na čele potřebují více času na párování na rozdíl od samců se zmenšeným ornamentem nebo samců s původní velikostí ornamentu. Jak již bylo zdokumentováno v dřívějších studiích (Crik et al. 1993), samice spárované později v sezóně mívají menší snůšku, ale zato mají větší vejce. Podobný efekt alokace zdrojů byl pozorován i v našem experimentu. Samice, které se párovaly se samci se zvětšeným ornamentem, snižovaly velikost své snůšky. V průběhu hnízdní sezóny se spíše párovaly se samci z kontrolní skupiny nebo se samci ze



skupiny se zmenšeným ornamentem. Je tedy možné předpokládat, že samice vnímají samce se zvětšeným ornamentem jako riskantního partnera, který bude chtít investovat méně energie do krmení mláďat, a proto se mu později v sezóně vyvarují. Tento předpoklad nám může vysvětlit, proč mají samice v těchto podmínkách menší snůšky. Menší snůška má nižší požadavky na potravu a mláďata jsou tak méně závislá na péči samce.

V této studii se tedy podařilo najít spojitost mezi manipulací a párovací latencí, nicméně v opačném směru nežli byl předpoklad. Samice v české populaci lejsků na počátku hnízdní sezóny nevykazovaly větší zájem o manipulované samce. Ovšem později v sezóně samice dávaly přednost právě samcům z kontrolní skupiny a samcům se zmenšenou skvrnou před pozitivně manipulovanými samci. Chování samic se odlišovalo od výsledků uvedených ve studii Qvarnström et al. (2000). Pro tyto rozdílné výsledky existuje několik možných vysvětlení. Jednak je možné, že toto odlišné chování způsobil rozdílný typ bílého markeru. V našem experimentu jsme použili bílý marker značky ALTECO, zatímco ve studii Qvarnström et al. (2000) použili marker značky Tippex. Reflektance světla byla u obou markerů podobná, ale výrazně se lišila v porovnání s přírodní bílou barvou lejsků (Edme et al. 2017). Díky tomuto zjištění se můžeme domnívat, že samice jsou schopny rozlišovat mezi přírodní a umělou bílou barvou. Výsledky mohou naznačovat, že samice považují za atraktivní pouze přírodní bílou barvu, zatímco umělou mohou shledávat odpudivou. Dalším možným vysvětlením rozdílných výsledků mezi touto prací a studií Qvarnström et al. (2000) může být rozdílná manipulace ornamentu. V naší studii jsme kontrolní skupinu nijak nemanipulovali, tedy tyto samce jsme nijak nebarvili, na rozdíl od studie Qvarnström et al. (2000), kteří samcům z kontrolní skupiny přebarvili jejich ornament bílým markerem. Samci z naší populace měli stejný rozsah přirozené (atraktivní) bílé barvy na čele jako kontrolní skupina samců, samci ze skupiny se zvětšeným ornamentem měli navíc i skvrnu z umělé (neatraktivní) bílé a proto je samice mohly vnímat jako neatraktivní. Naproti tomu ve studii Qvarnström et al. (2000) měly obě skupiny (skupina se zvětšenou skvrnou a kontrolní) rozdílný rozsah umělé bílé a experimentálně zvětšená skupina měla větší rozsah umělé bílé, což je pravděpodobně činilo atraktivnějšími. Je třeba dodat, že v této práci byla u kontrolní skupiny zachována přirozená velikost i barva ornamentu. Nicméně separátní testy u této skupiny

naznačily, že mezi přirozenou velikostí skvrny a párovací latencí, velikostí snůšky nebo reprodukčním úspěchem není v populaci patrný žádný vztah. Důvodem, proč se nepodařilo potvrdit ani jeden testovaný předpoklad může být ten, že si samice při výběru partnera všímají více faktorů a ne pouze skvrny na čele samce. Dá se říci, že ornament na čele je spíše spojený s kompeticí mezi samci a slouží jako znak dominance. Srovnatelné výsledky s touto prací publikovali autoři studie věnující se maďarské populaci lejsků (Szollosi et al. 2009). Zdá se, že samice věnují rozdílnou pozornost ornamentaci samců v centrální Evropě (Česká republika, Maďarsko) a v severní Evropě (Švédsko). U české populace lejsků by bylo dobré zopakovat experiment s manipulací ornamentu, s tím rozdílem, že by se tato nová studie zaměřila na ornamentaci křídel. Bylo by zajímavé zjistit, zda by tyto výsledky korespondovaly s výsledky studie de Heij et al. (2011). Podařilo by se tak prokázat, že vnímání ornamentace a její vliv na míru mimopárových paternit a další komponenty výběru partnera je rozdílný i mezi populacemi v rámci jednoho druhu.

## 5. Závěr:

V této studii jsem testovala vliv manipulace ornamentace lejska bělokrkého (*Ficedula albicollis*) na rychlost párování, míru EPP a velikost snůšky. Cíle této práce bylo zjistit jaký vliv má manipulace na výběr partnera, samičí reprodukci a na reprodukční úspěch samců. Zjištění lze shrnout do několika bodů:

- 1) Experimentální manipulace ornamentace neovlivnila úspěšnost zahnízdění samců. Vliv na zahnízdění neměla ani původní velikost ornamentu, stáří samce. Nepodařilo se prokázat ani vztah mezi příletem samce na hnízdiště a úspěšností zahnízdění.
- 2) Na rozdíl od efektu manipulace na úspěšnost zahnízdění byl prokázán vliv manipulace a příletu samce na hnízdiště a na rychlost párování. Samci, kteří dorazili na hnízdiště mezi prvními, našli svoji sociální partnerku dříve. Zároveň bylo zjištěno, že náš záměr učinit samce atraktivnější tím, že jsme vybraným jedincům zvětšili skvrnu na čele, měl spíše opačný efekt. Právě tyto samci se spárovali převážně, až ke konci hnízdí sezóny. Samice preferovali především samce z kontrolní skupiny a také samce ze skupiny se zmenšeným ornamentem. Samice lejsků jsou zřejmě schopné rozlišit barvu mezi přírodní bílou a námi zvolenou „umělou“ bílou barvou. Proto jsme zjistili opačný vliv manipulace jako u studie Qvarnström et al. 2000.
- 3) Samice spárované se samci ze skupiny s experimentálně zvětšeným ornamentem měly ve svých hnízdech méně vajec. U populace českých lejsků lze tedy pozorovat rozdílnou alokaci zdrojů. To zřejmě z toho důvodu, že samice považovaly právě tyto samce za neatraktivní a proto do tohoto svazku investovaly pouze energii potřebnou k produkci malé snůšky.
- 4) Zjistila jsem, že manipulace neměla vliv na podíl vnitropárových mláďat v hnízdě, ani neovlivnila zisk mimopárových mláďat samce. V závěru jsem zjišťovala, zda má manipulace vliv na celkový reprodukční úspěch samce. Žádná z námi testovaných proměnných neměla vliv na celkový reprodukční úspěch samce.

Data získaná v této práci naznačují, že u sledované populace lejska bělokrkého čelní ornamentace samce neovlivňuje přímo jeho reprodukční schopnosti. Ovšem je možné, že populace českých lejsků se preferencemi ve výběru partnera podobá spíše maďarské populaci, kde se jako zásadní pro výběr partnera a míru mimopárových paternit uplatňuje ornamentace na křídle samců (de Heij et al. 2011). To otvírá další možnosti ve výzkumu naší hnízdní populace.

## 6. Literatura:

- Aebischer A, Perrin N, Krieg M, Studer J, Meyer DR, 1996.** The Role of Territory Choice, Mate Choice and Arrival Date on Breeding Success in the Savi's Warbler *Locustella luscinioides*. *Journal of Avian Biology* Vol. 27, No. 2 , pp. 143-152.
- Ahlund M & Andersson M, 2001.** Brood parasitism – Female duck can double their reproduction. *Nature* 414: 600-601.
- Akçay E & Roughgarden J, 2007.** Extra-pair paternity in birds: review of the genetic benefits. *Evolutionary Ecology Research* 9: 855-868.
- Alatalo RV, Glynn C, Lundberg A, 1990.** Singing rate and female attraction in the pied flycatcher – an experiment. *Animal Behaviour* 39: 601-603.
- Alatalo RV, Höglund J, Lundberg A, Sutherland WJ, 1992.** Evolution of black grouse leks: female preferences benefit males in larger leks. *Behav Ecol* 3 (1): 53-59.
- Albrecht T, Kreisinger J, Piálek J, 2006.** The strength of direct selection against female promiscuity is associated with rates of extrapair fertilizations in socially monogamous songbirds. *Am Nat* 167: 739–744.
- Albrecht T, Schnitzer J, Kreisinger J, Exnerová A, Bryja J, Munclinger P, 2007.** Extrapair paternity and the opportunity for sexual selection in long-distant migratory passerines. *Behavioral Ecology* 18: 477-486.
- Albrecht T, Vinkler M, Schnitzer J, Poláková R, Munclinger P, Bryja J, 2009.** Extra-pair fertilizations contribute to selection on secondary male ornamentation in a socially monogamous passerine. *Journal of Evolutionary Biology* 22: 2020-2030.
- Andersson M, 1982.** Female choice selects for extreme tail length in a widowbird. *Nature* 299, 818 - 820.
- Andersson M, 1994.** Sexual selection. *Princeton University Press, Princeton*.
- Andersson M & Simmons LW, 2006.** Sexual selection and mate choice. *Trends in Ecology & Evolution* 21, 296-302.
- Arnqvist G & Kirkpatrick M, 2005.** The evolution of infidelity in socially monogamous passerines: the strength of direct and indirect selection on extrapair copulation behavior in females. *American Naturalist* 165(suppl.): S26–S37.

- Badyaev M, 2000.** Individual variation in growth trajectories: phenotypic and genetic correlations in ontogeny of the house finch (*Carpodacus mexicanus*). *Journal of Evolutionary Biology*, 13: 290–301.
- Burley N, 1986.** Sexual selection for aesthetic traits in species with biparental care. *Am Nat* 127: 415-455.
- Burley N, 1988.** The differential-allocation hypothesis: an experimental test. *Am Nat* 132: 611-628.
- Charmantier A, Blondel J, Perret P, Lambrechts MM, 2004.** Do extra-pair paternities provide genetic benefits for female blue tits *Parus caeruleus*? *J. Avian Biol.* 35: 524-532.
- Cleasby IR & Nakagawa S, 2012.** The influence of male age on within-pair and extra-pair paternity in passerines. *Ibis*, 154: 318–324.
- Clutton-Brock T, 2007.** Sexual Selection in Males and Females. *Science: Vol. 318, Issue 5858, pp. 1882-1885.*
- Crawley MJ, 2013.** The R Book, Second Edition. *Imperial College London at Silwood Park, UK, John Wiley & Sons, Ltd.*
- Crik HQP, Gibbons DW, Magrath RD, 1993.** Seasonal Changes in Clutch Size in British Birds. *Journal of Animal Ecology* Vol. 62, No. 2, pp. 263-273.
- Cunningham EJA & Birkhead TR, 1998.** Sex roles and sexual selection. *Animal behaviour*, 56, 1311–1321.
- Darwin CR, 1859.** On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life. *London: John Murray, Albemarle Street.*
- Darwin CR, 1871.** The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex. *London.*
- Dawson DA, Horsburgh GJ, Kupper C, Stewart IRK, Ball AD, Durrant KL, Hansson B, Bacon I, Bird S, Klein A, Krupa AP, Lee JW, Martin-Galvez D, Simeoni M, Smith G, Spurgin LG, Burke T, 2010.** New methods to identify conserved microsatellite loci and develop primer sets of high cross-species utility - as demonstrated for birds. *Molecular Ecology Resources*, 10 (3), 475-494.

- de Heij ME, Gustafsson L, Brommer JE, 2011.** Experimental manipulation shows that the white wing patch in collared flycatchers is a male sexual ornament. *Ecology and Evolution* 1: 546–555.
- Delhey K, Peters A, Johnsen A, Kempenaers B, 2006.** Fertilization success and UV ornamentation in blue tits *Cyanistes caeruleus*: correlational and experimental evidence. *Behav Ecol* 2007; 18 (2): 399-409.
- Dunn PO, Whittingham LA, Pitcher TE, 2001.** Mating systems, sperm competition, and the evolution of sexual dimorphism in birds. *Evolution* 53: 161–175.
- Edme A, Zobač P, Opatová P, Šplíchalová P, Munclinger P, Albrecht P, Krist M, 2017.** Do ornaments, arrival date, and sperm size influence mating and paternity success in the collared flycatcher? *Behav Ecol Sociobiol* 71: 3.
- Eliassen S & Kokko H, 2008.** Current analyses do not resolve whether extra-pair paternity is male or female driven. *Behav Ecol Sociobiol* 62: 1795–1804.
- Ellegren H, 1992.** Polymerase-Chain-Reaction (PCR) Analysis of Microsatellites: A New Approach to Studies of Genetic Relationships in Birds. *The Auk* ol. 109, No. 4, pp. 886-895.
- Evans SR, Gustafsson L, Sheldon BC, 2011.** Divergent patterns of age-dependent in ornamental and reproductive traits in the collared. *Evolution* 65 (6): 1623-1636.
- Fisher RA, 1930.** The genetical theory of natural Selection, a complete variorum edition. *Oxford university press, Oxford*.
- Foerster K, Delhey K, Johnsen A, Lifjeld JT, Kempenaers B, 2003.** Females increase offspring heterozygosity and fitness through extra-pair matings. *Nature* 425: 714-717.
- Forstmeier W, Martin K, Bolund E, Schielzeth H, Kempenaers B, 2011.** Female extrapair mating behavior can evolve via indirect selection on males. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 10608–10613.
- Forstmeier W, Nakagawa S, Griffith SC, Kempenaers B, 2014.** Female extra-pair mating: Adaptation or genetic constraint? *Trends in Ecology & Evolution*, DOI: 10.1016/j.tree.2014.05.005.

- Freeman-Gallant CR, Wheelwright NT, Meiklejohn KE, States SL, Sollecito SV, 2005.** Little effect of extrapair paternity on the opportunity for sexual selection in savannah sparrows (*Passerculus sandwichensis*). *Evolution* 59: 422-430.
- Garamszegi LZ, Heylen D, Møller AP, Eens M, de Lope F, 2005.** Age-dependent health status and song characteristics in the barn swallow. *Behavioral Ecology* 16 (3): 580-591.
- Garamszegi LZ, Rosivall B, Hegyi G, Szollosi E, Torok J, Eens M, 2006.** Determinants of male territorial behavior in a Hungarian collared flycatcher population: plumage traits of residents and challengers. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 60, 663-671.
- Garant D, Sheldon BC, Gustafsson L, 2004.** Climatic and temporal effects on the expression of secondary sexual characters: Genetic and environmental components. *Evolution*, 58, 634-644.
- Gibbs HL, Tabak LM, Hobson K, 1999.** Graphcraft Limited, Hong Kong Characterization of microsatellite DNA loci for a neotropical migrant songbird, the Swainson's thrush (*Catharus ustulatus*). *Molecular Ecology* 8, 1551-1561.
- Gowaty PA, 2008.** Reproductive compensation. *J Evol Biol* 21: 1189-200.
- Gowaty PA, Anderson WW, Bluhm CK, Drickamer LC, Kim YK, Moore AJ, 2007.** The hypothesis of reproductive compensation and its assumptions about mate preferences and offspring viability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 15023-7.
- Grana SC, Sakaluk SK, Bowden RM, Doellman MA, Vogel LA, Thompson CF, 2012.** Reproductive allocation in female house wrens is not influenced by experimentally altered male attractiveness. *Behav Ecol Sociobiol* 66: 1247-1258.
- Griffith SC & Pryke SR, 2006.** Benefits to Female of Assessing Color Displays. *Bird Coloration, Vol. 2 Function and Evolution*, Harvard University Press, Cambridge.
- Griffith SC, Owens IPF, Burke T, 1999.** Female choice and annual reproductive success favour less-ornamented male house sparrows. *Proceedings of the Royal Society of London, series B, Biological Sciences* 266: 765-770.
- Griffith SC, Owens IPF, Thuman KA, 2002.** Extra-pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. *Mol Ecol* 11: 2195-2212.



- Gustafsson L, Qvarnstrom A, Sheldon BC, 1995.** Trade-offs between life-history traits and a secondary sexual character in male collared flycatchers. *Nature* 375 (6529): 311-313.
- Hale R, Downes BJ, Swearer SE, 2008.** Habitat selection as a source of inter-specific differences in recruitment of two diadromous fish species. *Freshwater Biology*, 53: 2145–2157.
- Hamilton WD & Zuk M, 1982.** Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science* 218, 384–387.
- Harris WE & Uller T, 2009.** Reproductive investment when mate quality varies: differential allocation versus reproductive compensation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364: 1039–48.
- Hasselquist D & Sherman PW, 2001.** Social mating systems and extrapair fertilizations in passerine birds. *Behavioral Ecology* 12: 457-466.
- Hasson O & Stone L, 2009.** Male infertility, female fertility and extrapair copulations. *Biological Reviews*, 84: 225–244.
- Helfenstein F, Losdat S, Møller AP, Blount, JD & Richner H, 2010.** Sperm of colourful males are better protected against oxidative stress. *Ecol. Lett.*, 13, 213–222.
- Hill GE, 2002.** Red Bird in a Brown Bag: The Function and Evolution of Ornamental Plumage Coloration in the House Finch. *Oxford University Press*.
- Hill GE, 2011.** Condition-dependent traits as signals of the functionality of vital cellular processes. *Ecology Letters*, 14: 625–634.
- Hill GE & Farmer KL, 2005.** Carotenoid-based plumage coloration predicts resistance to a novel parasite in the house finch. *Naturwissenschaften*, 92, 30–34.
- Hill GE & McGraw KJ, 2006.** Bird coloration. *Harvard University Press, London*.
- Hoelzer GA, 1989.** The good parent process of sexual selection. *Animal Behaviour*, Volume 40, Issue 3, Page 605.
- Horvátová T, Nakagawa S, Uller T, 2012.** Strategic female reproductive investment in response to male attractiveness in birds. *Proc Biol Sci* 279: 163–70.
- Hsu YH, Schroeder J, Burke T, Nakagawa S, 2015.** Are extra-pair males different from cuckolded males? A case study and a meta-analytic examination. *Molecular Ecology* 24, 1558–1571.

- Huuskonen H, Haakana H & Kekalainen J, 2009.** Offspring performance is linked to parental identity and male breeding ornamentation in whitefish. *Biol. J. Linnean Soc.*, 98, 532–539.
- Iwasa Y & Pomiankowski A, 1999.** Good Parent and Good Genes Models of Handicap Evolution. *Journal of Theoretical Biology Volume 200, Issue 1, Pages 97-109.*
- Johnsen A & Lifjeld JT, 1995.** Unattractive Males Guard Their Mates More Closely: an Experiment with Bluethroats (Aves, Turdidae: *Luscinia s. svecica*). *Ethology*, 101: 200–212.
- Johnsen A, Andersson S, Örnborg J, Lifjeld JT, 1998.** Ultraviolet plumage ornamentation affects social mate choice and sperm competition in bluethroats (Aves: *Luscinia s. svecica*): a field experiment. *Proc. R. Soc. Lond. B* 265, 1313-1318.
- Jones AG & Ratterman NL, 2009.** Mate choice and sexual selection: What have we learned since Darwin? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, 10001-8.
- Keller LF & Reeve HK, 1995.** Why do females mate with multiple males – the sexually selected sperm hypothesis. *Advances in the Study of Behavior*, Vol 24, 291-315.
- Keller LF & Waller DM, 2002.** Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution* 17, 230-41.
- Kempenaers B, 2007.** Mate choice and genetic quality: a review of the heterozygosity theory. *Adv. Study Behav.* 37, 189–278.
- Kempenaers B, Verheyen GR, Vandenbroeck M, Burke T, Vanbroeckhoven C, Dhondt AA, 1992.** Extra-pair paternity results from female preference for high-quality males in the blue tit. *Nature* 357: 494-96.
- King Robert C, Stansfield William D, Mulligan Pamela K, 2006.** A Dictionary of Genetics. Seventh Edition. *New York : Oxford University Press. ISBN 0-19-530761-5.*
- Kirkpatrick M & Barton NH, 1997.** The strength of indirect selection on female mating preferences. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 94: 1282–1286.

- Kleven O, Jacobsen F, Izadnegahdar R, Robertson RJ, Lifjeld JT, 2006.** Male tail streamer length predicts fertilization success in the North American barn swallow (*Hirundo rustica erythrogaster*). *Behav Ecol Sociobiol* 59: 412.
- Kleven O, Jacobsen F, Robertson RJ, Lifjeld JT, 2005.** Extrapair mating between relatives in the barn swallow: a role for kin selection? *Biology Letters* 1: 389-392.
- Kokko H, Brooks R, McNamara JM, Houston AI, 2002.** The sexual selection continuum. *Proc. R. Soc. Lond. B* 2002 269 1331-1340.
- Kokko H, Jennions MD, Brooks R, 2006.** Unifying and testing models of sexual selection. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37, 43–66.
- Kraaijeveld K, Carew PJ, Billing T, Adcock GJ, Mulder RA, 2004.** Extra-pair paternity does not result in differential sexual selection in the mutually ornamented black swan (*Cygnus atratus*). *Molecular Ecology*, 13: 1625–1633.
- Krist M & Grim T, 2007.** Are blue eggs a sexually selected signal of female collared flycatchers? A cross-fostering experiment. *Behav Ecol Sociobiol* 61: 863–876.
- Lack D, 1968.** Ecological Adaptations for Breeding in Birds. *Methuen Ltd, London*.
- Laskemoen T, Kleven O, Fossøy F, Robertson RJ, Rudolfsen G, Lifjeld JT, 2010.** Sperm quantity and quality effects on fertilization success in a highly promiscuous passerine, the tree swallow *Tachycineta bicolor*. *Behav Ecol Sociobiol* 64: 1473.
- Lebigre C, Arcese P, Sardell RJ, Keller LF, Reid JM, 2012.** Extra-pair paternity and the variance in male fitness in song sparrows (*melospiza melodia*). *Evolution*, 66: 3111–3129.
- Leder EH, Karaiskou N, Primmer CR, 2008.** Seventy new microsatellites for the pied flycatcher, *Ficedula hypoleuca* and amplification in other passerine birds. *Molecular Ecology Resources*, 8, 874–880.
- Lifjeld JT, Laskemoen T, Fossøy F, Johnsen A, Kleven O, 2007.** Functional infertility among territorial males in two passerine species, the willow warbler *Phylloscopus trochilus* and the bluethroat *Luscinia svecica*. *Journal of Avian Biology*, 38: 267–272.
- Lifjeld JT, Laskemoen T, Kleven O, Albrecht T, Robertson RJ, 2010.** Sperm length variation as a predictor of extrapair paternity in passerine birds. *PLoS ONE* 5 (10): e13456.

- Lombardo MP, Thorpe PA, 2000.** Microbes in tree swallow semen. *Journal of Wildlife Diseases* 36(3): 460-468.
- Majerus MEN, 1986.** The genetics and evolution of female choice. *Trends Ecol. Evol.* 1, 1–7
- Mayer C & Pasinelli G, 2013.** New support for an old hypothesis: density affects extra-pair paternity. *Ecology and Evolution* 3: 694-705.
- Mays HL & Hill GE, 2004.** Choosing mates: good genes versus genes that are a good fit. *Trends in Ecology & Evolution* 19: 554-559.
- Mays HL, Albrecht T, Liu M, Hill GE, 2008.** Female choice for genetic complementarity in birds: a review. *Genetica* 134: 147-158.
- Mazuc J, Chastel O, Sorci G, 2003.** No evidence for differential maternal allocation to offspring in the house sparrow (*Passer domesticus*). *Behav Ecol* 14: 340–346.
- McFarlane ML, Evans MR, Feldheim KA, Preault M, Bowie RCK, Cherry MI, 2010.** Long tails matter in sugarbirds-positively for extrapair but negatively for within-pair fertilization success. *Behavioral Ecology* 21(1): 26-32.
- Mitchell DP, Dunn PO, Whittingham LA, Freeman-Gallant CR, 2007.** Attractive males provide less parental care in two populations of the common yellowthroat. *Anim Behav* 73: 165–170.
- Møller AP, 1989.** Natural and sexual selection on a plumage signal of status and on morphology in house sparrows, *Passer domesticus*. *Journal of Evolutionary Biology* 2: 125-140.
- Møller AP & Briskie JV, 1995.** Extra-pair paternity, sperm competition and the evolution of testis size in birds. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 36: 357–365.
- Møller AP & Jennions MD, 2001.** How important are direct fitness benefits of sexual selection? *Naturwissenschaften* 88, 401-15.
- Møller AP, Brohede J, Cuervo JJ, de Lope F, Primmer C, 2003.** Extrapair paternity in relation to sexual ornamentation, arrival date, and condition in a migratory bird. *Behavioral Ecology* 14: 707-712.
- Morbey YE & Ydenberg RC, 2001.** Protandrous arrival timing to breeding areas: a review. *Ecology Letters*, 4: 663–673.

- Moreno J, Martínez JG, Morales J, Lobato E, Merino S, Tomás G, Vásquez RA, Möstl E, Osorno JL, 2010.** Paternity Loss in Relation to Male Age, Territorial Behaviour and Stress in the Pied Flycatcher. *Ethology* 116, 76–84.
- Neff BD & Pitcher TE, 2005.** Genetic quality and sexual selection: an integrated framework for good genes and compatible genes. *Molecular Ecology* 14: 19-38.
- Pärt T & Qvarnström A, 1997.** Badge size in collared flycatchers predicts outcome of male competition over territories. *Animal Behaviour* 54: 893-899.
- Pedersen MC, Dunn PO, Whittingham LA, 2006.** Extraterritorial forays are related to a male ornamental trait in the common yellowthroat. *Anim. Behav.* 72: 479–486.
- Pekár S & Brabec M, 2012.** Modern analysis of biological data. 2. Linear models with correlation in R. *Praha: Scientia*.
- Perez-Rodriguez L, Mougeot F, Alonso-Alvarez C, 2010.** Carotenoid-based coloration predicts resistance to oxidative damage during immune challenge. *J. Exper. Biol.*, 213, 1685–1690.
- Petrie M & Williams A, 1993.** Peahens lay more eggs for peacocks with larger trains. *Proc R Soc Lond B* 25: 127-131.
- Pitcher TE, Rodd FH, Rowe L, 2008.** Female choice and the relatedness of mates in the guppy (*Poecilia reticulata*). Mate choice and inbreeding depression. *Genetica* 134: 137.
- Primmer CR, Borge T, Lindell J, Sætre GP, 2002.** Single-nucleotide polymorphism characterization in species with limited available sequence information: high nucleotide diversity revealed in the avian genome. *Molecular Ecology*, 11: 603–612.
- Qvarnström A, 1997.** Experimentally increased badge size increases male competition and reduces male parental care in the collared flycatcher. *Proc. R. Soc. Lond. B* 1997 264 1225-1231.
- Qvarnström A, Griffith SC, Gustafsson L, 2000.** Male-male competition and parental care in collared flycatchers (*Ficedula albicollis*): an experiment controlling for differences in territory quality. *Proc. R. Soc. Lond. B* 2000 267 2547-2552.

- Qvarnström A, Bommer JE, Gustafsson L, 2006.** Testing the genetics underlying the co-evolution of mate choice and ornament in the wild. *Nature* 441: 84–86.
- Qvarnström A, Sheldon BC, Pärt T, Gustafsson L, 2003.** Male ornamentation, timing of breeding, and cost of polygyny in the collared flycatcher. *Behav Ecol*; 14 (1): 68-73.
- Rintamaki PT, Alatalo RV, Höglund J, Lundberg A, 1995.** Male territoriality and female choice on black grouse leks. *Animal Behaviour* 49(3):759-767.
- Rosivall B, Szöllösi E, Hasselquist D, Török J, 2009.** Effects of extrapair paternity and sex on nestling growth and condition in the collared flycatcher, *Ficedula albicollis*. *Animal Behaviour* 77 (2009) 611–617.
- Roulin A, Riols C, Dijkstra C & Ducrest AL, 2001.** Female plumage spottiness signals parasite resistance in the barn owl (*Tyto alba*). *Behav. Ecol.*, 12, 103–110.
- Safran RJ, Neuman CR, McGraw KJ, Lovette IJ, 2005.** Dynamic paternity allocation as a function of male plumage color in barn swallows. *Science* 309, 2210–2212.
- Saino N, Primmer CR, Ellegren H, Møller AP, 1997.** An experimental study of paternity and tail ornamentation in the barn swallow (*Hirundo rustica*). *Evolution* 51: 562-570.
- Saino N, Romano M, Ambrosini R, Ferrari RP, Møller AP, 2004.** Timing of reproduction and egg quality covary with temperature in the insectivorous Barn Swallow, *Hirundo rustica*. *Functional Ecology*, 18: 50–57.
- Sewall KB, Soha JA, Peters S, Nowicki S, 2013.** Potential trade-off between vocal ornamentation and spatial ability in a songbird. *Biology Letters*, 9(4).
- Sheldon BC, 1993.** Sexually-transmitted disease in birds: occurrence and evolutionary significance. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 339, 491–497.
- Sheldon BC, 2000.** Differential allocation: tests, mechanisms and implications. *Trends Ecol Evol* 15: 397–402.
- Sheldon BC, Merilä J, Qvarnström A, Gustafsson L, Ellegren H, 1997.** Paternal genetic contribution to offspring condition predicted by size of male secondary sexual character. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 264 (1380): 297-302.

- Sheldon BC & Ellegren H, 1999.** Sexual selection resulting from extrapair paternity in collared flycatchers. *Animal Behaviour* 57, 285-298.
- Shuster SM & Wade MJ, 2003.** Mating system and strategies. Monographs in behavior and ecology. *Princeton University Press, Princeton.*
- Siitari H, Honkavaara J, Huhta ESA, Viitala J, 2001.** Ultraviolet reflection and female mate choice in the pied flycatcher, *Ficedula hypoleuca*. *Animal Behaviour* 63, 97-102.
- Slatyer RA, Mautz BS, Backwell PRY, Jennions MD, 2012.** Estimating genetic benefits of polyandry from experimental studies: a meta-analysis. *Biological Reviews*, 87: 1–33.
- Smith CC, 2012.** Opposing effects of sperm viability and velocity on the outcome of sperm competition. *Behav Ecol* 23: 820–826.
- Smith HG, Montgomerie R, Poldman T, Boag PT, 1991.** DNA fingerprinting reveals relation between tail ornaments and cuckoldry in barn swallows *Hirundo rustica*. *Behavioral Ecology* 2(1).
- Spottiswoode C & Møller AP, 2004.** Extrapair paternity, migration, and breeding synchrony in birds. *Behavioral Ecology* 15: 41-57.
- Sundberg J & Dixon A, 1996.** Old, colorful male Yellowhammers, *Emberzia citrinella*, benefit from extra-pair copulations. *Animal Behaviour* 52: 113-122.
- Suter SM, Bielanska J, Rothlin-Spillman J, Strambini L, Meyer DR, 2009.** The cost of infidelity to female reed buntings. *Behav Ecol* 20: 601-608.
- Szollosi E, Rosivall B, Hasselquist D, Torok J, 2009.** The effect of parental quality and malaria infection on nestling performance in the Collared Flycatcher (*Ficedula albicollis*). *Journal of Ornithology* 150, 519-527.
- Szulkin M, Stoper KV, Pemberton JM, Reid JM, 2013.** Inbreeding avoidance, tolerance, or preference in animals? *Trends in Ecology & Evolution*, Vol. 28, 4: 205-211.
- Šťastný K & Hudec K, 2011.** Fauna ČR Ptáci III. *Academia* 2011.
- Ticona A & Penna TJP, 2003.** Simulation of Zahavi's handicap principle. *Brazilian Journal of Physics* 33, 619-22.

- Tottrup AP & Thorup K, 2008.** Sex-differentiated migration patterns, protandry and phenology in North European songbird populations. *K. J Ornithol* 149: 161.
- Török J, Hegyi G, Garamszegi LZ, 2003.** Depigmented wing patch size is a condition-dependent indicator of viability in male collared flycatchers. *Behav Ecol* 14: 382–388.
- Tregenza T & Wedell N, 2000.** Genetic compatibility, mate choice and patterns of parentage: an invited review. *Molecular Ecology* 9: 1013-1027.
- Tryjanowski P & Hromada P, 2005.** Do males of the great grey shrike, *Lanius excubitor*, trade food for extrapair copulations? *Animal Behaviour* 69(3): 529-533.
- Valera F, Hoi H, Krištín A, 2003.** Male shrikes punish unfaithful females. *Behav. Ecol.* 14, 403–408.
- Van Valen L, 1973.** A new evolutionary law. *Evolutionary Theory.* 1: 1–30.
- Vortman Y, Lotem A, Dor R, Lovette IJ, Safran RJ, 2011.** The sexual signals of the East-Mediterranean barn swallow: a different swallow tale. *Behavioral Ecology*, 22(6): 1344-1352.
- Vortman Y, Lotem A, Dor R, Lovette IJ, Safran RJ, 2013.** Multiple sexual signals and behavioral reproductive isolation in a diverging population. *Am. Nat.* 182:514–523.
- Wasserman FE & Cigliano JA, 1991.** Song output and stimulation of the female in White-throated sparrows. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 29: 55-59.
- Webster MS, Chuang-Dobbs HC, Holmes RT, 2001.** Microsatellite identification of extra-pair sires in a socially monogamous warbler. *Behavioral Ecology* 12: 439-446.
- Webster MS, S Pruett-Jones, DF Westneat and SJ Arnold, 1995.** Measuring the effects of pairing success, extra-pair copulations and mate quality on the opportunity for sexual selection. *Evolution* 49: 1147–1157.
- Webster MS, Tarvin KA, Tuttle EM, Pruett-jones S, 2007.** Promiscuity drives sexual selection in a socially monogamous bird. *Evolution* 61-9: 2205–2211.
- Westneat DF, 2006.** No Evidence of Current Sexual Selection on Sexually Dimorphic Traits in a Bird with High Variance in Mating Success. *The American Naturalist*, Vol. 167, No. 6, pp. E171-E189.
- Westneat DF, Sherman PW, Morton ML, 1990.** The ecology and evolution of extra-pair



- copulations in birds. *Current Ornithology* 7: 331-369.
- Westneat DF & Stewart IRK, 2003.** Extra-pair paternity in birds: Causes, correlates, and conflict. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 34: 365-396.
- Wetton JH, Carter RE, Parkin DT, Walters D, 1987.** Demographic-study of a wild house sparrow population by DNA fingerprinting. *Nature*, 327 (6118), 147-149.
- Whittingham LA & Dunn PO, 2005.** Effects of extra-pair and within-pair reproductive success on the opportunity for selection in birds. *Behavioral Ecology*, 16 (1), 138-144.
- Whittingham LA & Dunn PO, 2016.** Experimental evidence that brighter males sire more extra-pair young in tree swallows. *Mol Ecol*, 25: 3706–3715.
- Wolff JO & Macdonald DW, 2004.** Promiscuous females protect their offspring. *Trends in Ecology & Evolution* , Vol. 19 , Issue 3 , 127 - 134.
- Yasukawa K, Enstrom DA, Parker PG, Jones TC, 2009.** Epaulet Color and Sexual Selection in the Red-Winged Blackbird: A Field Experiment. *The Condor* 111(4): 740–751.
- Zahavi A, 1975.** Mate selection - a selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology*. 53 (1): 205–214.
- Zelano B & Edwards S, 2002.** An Mhc Component to Kin Recognition and Mate Choice in Birds: Predictions, Progress, and Prospects. *Am. Nat.* Vol. 160, pp. S225–S237.