

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Zoologie

Studijní obor: Ekologie a etologie



Bc. Žaneta Skoumalová

Faktory ovlivňující paměť ptačích predátorů pro aposematické signály

Factors affecting long-term memory of aposematic signals in avian predators

Diplomová práce

Vedoucí práce: **doc. Mgr. Alice Exnerová, Ph.D.**

Praha, 2018

Prohlášení:

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

V Praze

Podpis:

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat své školitelce, doc. Mgr. Alici Exnerové, Ph. D., za velmi cenné rady a za čas, který mi věnovala, nejen v průběhu pokusů, ale také při sepisování této práce.

Velké díky patří také mé rodině, která při mně stála a podporovala mě během celého studia.

Abstrakt:

Schopnost uložit si do paměti a v budoucnu opět rozeznat poživatelnou kořist od kořisti nebezpečné je esenciální pro přežití jedince. Řada druhů ke své obraně používá aposematické signály. Ty jsou nejčastěji reprezentovány výrazným zbarvením či kontrastním vzorem. Cílem této práce bylo zjistit v jakém intervalu dochází ke konsolidaci paměti pro aposematickou kořist a zda barva či vzor zvyšují její memorabilitu. Testovaným druhem byla sýkora koňadra (*Parus major*) a výsledky byly porovnávány mezi naivními ručně odchovanými ptáčaty a dospělými odchycenými ptáky různého věku a pohlaví. Během diskriminační úlohy konsolidačního pokusu byla ptákům simultánně předkládána jedlá a nejedlá kořist v podobě papírových siluet, lišících se v barvě (červená versus zelená). Ptáci byli rozděleni do tří skupin s odlišným intervalem (0, 1 nebo 3 hodiny) pro proběhnutí konsolidace a po 24 hodinách retestováni. Z výsledků testu konsolidace vyplývá, že úspěšněji dokázali řešit úlohu dospělí ptáci. Pouze u nich byl prokázán signifikantní rozdíl mezi skupinami, a to v případě výrazně vyšší úspěšnosti skupiny s jednohodinným intervalem. Vliv barvy stimulu na vyřešení úlohy byl také prokázán pouze u adultů. Memorabilita výstražných signálů byla testována pomocí ploštic lišících se barvou a vzorem a po jednom měsíci, během něž sýkory nepřišly do styku s testovanými stimuly, byli ptáci retestováni. Výsledky testu dlouhodobé paměti ukazují, že jsou ptáci schopni uchovat si v paměti informaci o podobě aposematické kořisti i po delší časové úseky, přestože tato informace časem slábne.

Klíčová slova: aposematismus, averzivní učení, memorabilita signálu, dlouhodobá paměť, konsolidace paměti

Abstract:

The ability to memorize and recognize edible prey from inedible prey is essential for an individual's survival. Many species use aposematic signals for their defense. These are most often represented by distinctive colors or contrast patterns. The aim of this study was to find out in which time the memory consolidation for aposematic prey is achieved and if color or pattern increase its memorability. The chosen model species was the Great tit (*Parus major*). The comparison was done between handreared naïve birds and wild-caught adults of different age and sex. During the discriminatory task of consolidation experiment, birds were simultaneously presented with palatable and unpalatable prey in the form of paper dummies of bugs, differing in color (red versus green). The birds were divided into three groups with a different interval (0, 1 or 3 hours) for consolidation. The results of consolidation test show that adult birds were more successful in solving the task than juvenile birds. The only difference between the experimental groups was that the group with one-hour interval achieved better results than other groups. The effect of color of palatable and unpalatable prey on discrimination learning was also found only in adults. Memorability of warning signals was tested using paper bugs of different color and pattern and birds were re-tested after one month, during which they did not come into contact with test stimuli. The results of the long-term memory test indicate that birds are able to retain the information about aposematic prey even for longer periods of time, even though this information fades in time.

Key words: warning signals, aposematism, avoidance learning, signal memorability, long-term memory, memory consolidation

Obsah:

Úvod.....	8
1. Cíle.....	9
2. Literární přehled	10
2.1. Aposematismus	10
2.2. Diskriminační učení.....	11
2.3. Dlouhodobá paměť.....	12
2.4. Sýkora koňadra.....	15
3. Metodika a materiál.....	16
3.1. Testované subjekty	16
3.1.1. Ptáčata	16
3.1.2. Dospělí ptáci	17
3.2. Kořist.....	17
3.3. Pokusná klec.....	18
3.4. Design experimentu.....	18
3.4.1. Konsolidace paměti.....	19
3.4.2. Dlouhodobá paměť	21
3.5. Statistická metodika	22
3.5.1. Statistické zpracování dat.....	22
3.5.2. Konsolidace paměti.....	22
3.5.3. Dlouhodobá paměť	24
4. Výsledky.....	25
4.1. Konsolidace paměti	25
4.1.1. Preferenční test	25
4.1.2. Diskriminační učení.....	26
4.1.3. Paměťový test.....	31
4.2. Dlouhodobá paměť.....	39
4.2.1. Preferenční test	39
4.2.2. Diskriminační učení a paměťový test.....	41
5. Diskuze	44
5.1. Konsolidace paměti	44
5.1.1. Preferenční test	44
5.1.2. Diskriminační učení.....	44
5.1. 2. Paměťový test.....	46

5.2.	Dlouhodobá paměť.....	50
5.2.1.	Preferenční test	50
5.2.2.	Diskriminační učení a paměťový test.....	50
6.	Závěr.....	52
7.	Seznam použité literatury	53

Úvod

Schopnost uložit si do paměti předchozí události může být klíčovou pro přežití jedince. Predátor, který si dokáže zapamatovat kořist spojenou s negativní zkušeností, se jí v budoucnu bude schopen efektivně vyhnout. Ke své obraně využívají živočichové aposematické signály, které pomáhají predátorům zapamatovat si jejich nepoživatelnost (Sherratt a Beatty, 2003; Jansson a Enquist, 2003). Nejčastěji se můžeme setkat se signály optickými, z nichž nejvýznamnější jsou výrazné barvy a kontrastní vnitřní vzor (Cott, 1940; Komárek 2003). Díky těmto komponentům se zvyšuje efektivita averzivního učení a memorabilita aposematické kořisti (Ruxton et al., 2004).

Výstražné zbarvení je k ochraně hojně využíváno bezobratlými živočichy, mezi jejichž predátory patří zejména ptáci. Ke studiu aposematismu je proto vhodné zvolit predátora z řad zástupců této skupiny. Často využívaným modelovým organismem je sýkora koňadra (*Parus major*), běžně se vyskytující pěvec s dobrými kognitivními schopnostmi a rozmanitým složením potravy (Ham et al., 2006; Exnerová et al., 2006a; Svádová et al., 2009).

Přestože je aposematismus hojně studovaným fenoménem, nebyla doposud publikována studie zabývající se procesem vytváření dlouhodobých paměťových stop pro výstražně zbarvenou kořist, tzv. konsolidací paměti. Co se týče dlouhodobé memorability aposematické kořisti u ptáků, existuje také pouze malé množství prací. Tato práce se zaměřuje na proces formování paměti, tzv. konsolidaci a vliv optických signálů na memorabilitu a vytváření dlouhodobých paměťových stop výstražně zbarvené kořisti.

1. Cíle

- 1) Zjistit, v jakém intervalu dochází ke konsolidaci paměti pro aposematickou kořist u sýkor koňader. Tedy v jakém časovém rozmezí dochází k přepsání nově naučené informace z pracovní paměti do paměti dlouhodobé. Také otestovat vliv konkrétní barvy kořisti. Dále pak porovnat výsledky mezi ptáčaty a dospělými ptáky a v rámci dospělých pak porovnat výsledky mezi kategoriemi – pohlaví, věk.
- 2) Otestovat vliv aposematických výstražných signálů na dlouhodobou paměť sýkor koňader. Zjistit, zda si ptáci uchovají v paměti podobu komplexních aposematických stimulů i během následujících čtyřech týdnů, kdy s nimi nepřijdou do styku.

2. Literární přehled

2.1. Aposematismus

Teorie varovných signálů, sloužících k odstrašení predátora je známá již od dob Alfreda Russela Wallace. Ten jako první poukázal na nezbytnou schopnost predátorů rozlišit mezi jedlou a nejedlou kořistí a na výstražné signály, které se vyvinuly jako odpovídající reakce této kořisti (Wallace, 1889). Termín aposematismus byl zaveden Edwardem Bagnall Pultonem, který ve své knize *The colours of animals* z roku 1890 rozvádí teorii funkce varovných signálů (Poulton, 1890). Alternativní hypotézu vysvětlující existenci aposematického zbarvení navrhl Grafen. Vychází ze Zahaviho handicapové teorie a předpokládá, že nápadnost výstražných signálu je velice nákladná. Její nositelé tak signalizují predátorům, že jsou natolik nevýhodnou kořistí, že si mohou dovolit být snadno nalezeni (Grafen, 1990; Zahavi, 1975).

Aposematismus můžeme definovat jako komplex výstražných signálů, které slouží k signalizaci nepoživatelnosti jedince. Nápadnost, kterou pak daný jedinec disponuje, výrazně zvyšuje pravděpodobnost nalezení predátorem. Zároveň se ale odlišuje od jiných poživatelných kořistí, což je největší výhoda výstražných signálů (Sherratt a Beatty, 2003; Jansson a Enquist, 2003). Nejčastěji využívané jsou optické signály, a to zejména jasné barvy v kombinaci s kontrastním vnitřním vzorem (Cott, 1940; Komárek 2003). Řada studií prokázala výstražnou funkci červené, žluté a oranžové barvy (Sillén-Tullberg, 1985; Roper 1990; Exnerová et al., 2003; Lindström et al, 1999; Schuler a Hesse, 1985; Rowe a Guilford, 1999). Optické signály mohou být kombinovány s pachovými či zvukovými složkami a tyto signály pak nazýváme multimodálními (Siddall a Marples, 2008). Efektivnost optických signálů je zvyšována mírou kontrastu s pozadím (Davies et al., 2012; Roper, 1994; Gamberale-Stille a Tullberg, 2001; Aronsson & Gamberale-Stille, 2009). Výstražné signály využívají ke své ochraně zástupci mnoha čeledí bezobratlých i obratlovců. Nejhojněji se ovšem vyskytuje u hmyzu (Cott, 1940).

Aposematické signály urychlují proces averzního učení a zvyšují memorabilitu kořisti mnoha způsoby. Nápadnost signálů je například příčinou vyššího počtu zprvu napadených jedinců, což usnadňuje asociaci signálu s nepoživatelností kořisti (Gittleman a Harvey, 1980). Prostřednictvím averzního učení si tedy predátor asociuje výstražný signál s nepalatable kořistí a účinnost této strategie se zvyšuje se vzrůstající densitou podobně signalizujících jedinců (Endler a Mappes, 2004). Důležitým aspektem averzního učení je posilování negativní zkušenosti, ke kterému dochází po opětovném setkání se s kořistí, díky němuž se snižuje rychlost vymizení naučené averze (Ruxton et al., 2004).

Přestože je aposematismus hojně studovaným fenoménem, většina prací se v této souvislosti zaměřuje především na vrozené averze a průběh učení (Lindström et al., 1999; Exnerová et al., 2006b; Landová et al., 2017). Značně méně prací se věnuje také memorabilitě aposematických signálů, hlavně v delším časovém rozmezí (Siddall a Marples, 2008; Bogale et al., 2012; Landová et al., in prep).

2.2. Diskriminační učení

Jako diskriminační učení můžeme označit proces, kdy se živočich učí rozlišovat mezi podněty a odlišně na ně reagovat. Z dané reakce plyne pozitivní či negativní důsledek, který si zvíře asociuje s podnětem a v budoucnu na něj adekvátně reaguje (Pearce, 2008). Rozhodnutí založená na diskriminačním učení mají významný vliv pro přežití jedince. Typicky se takto predátor učí, jaká kořist je požitelná a jaká naopak jedovatá. Důležitým prvkem je diskriminační učení ale i při volbě partnera či vhodného místa ke stavbě hnízda (Phillmore, 2008). Touto kognitivní schopností disponují zástupci z řad ptáků, primátů, ale i jiných obratlovců, jako například kopytníků, plazů nebo ryb (Phillmore et al., 2002; Itoh et al., 2001; Hall et al., 2006; Begun et al., 1988; Gerlach a Lysiak, 2006). Diskriminační učení bylo pozorováno i u zástupců bezobratlých živočichů, například chobotnic, plžů nebo hmyzu (Sutherland, 1962; Colwill et al., 1997; Cooke et al., 2007). Existuje několik typů podnětů, které se učí zvíře diskriminovat. Mohou být vizuální, akustické, chuťové či pachové. U ptáků jsou pak nejčastěji testovány podněty vizuální (Phillmore, 2008). Z výsledků řady experimentů vyplývá, že ptáci se nejčastěji orientují podle barvy podnětu (Terhune, 1977; Aronsson & Gamberale-Stille, 2008), diskriminovat jsou ale schopni i na základě vzoru, přičemž efektivita učení závisí na podobě daného vzoru (Riipi et al., 2001; Aronsson & Gamberale-Stille, 2009).

V laboratorních experimentech se schopnost diskriminačního učení testuje prostřednictvím diskriminační úlohy, kdy jako stimul je nejčastěji využívána potrava. Podněty jsou buďto posilovány pozitivně odměnou nebo negativně trestem. Jako trest slouží nepoživatelná potrava. Diskriminovaným parametrem může být barva, tvar, vzor či kontrast. Diskriminační úlohy můžeme rozdělit podle toho, jak jsou podněty subjektu předkládány. Při tzv. simultánním předložení podnětu jsou zvířeti oba podněty prezentovány současně a může tak srovnat jejich rozdíl. Druhým typem je sukcesivní předložení stimulu, kdy jsou podněty prezentovány subjektu postupně a on je tak nemůže ihned porovnat (Beatty a Franks, 2012).

Mláďata kura domácího (*Gallus gallus domesticus*) bývají často testovaným druhem v experimentech zaměřených na učení a paměť (Tiunova et al., 1998; Hale a Crowe, 2002). Některá domestikovaná plemena jsou ovšem vyšlechtěna na menší selektivitu potravy a proto nejsou k testování úloh zaměřených na aposematismus vhodná. Mnohem vhodnějšími kandidáty jsou ptáci hmyzožraví, jako například sýkora koňadra (Ham et al., 2006; Lindström et al., 1999; Rowe et al., 2004; Exnerová et al., 2006a). Sojky křovinné (*Aphelocoma coerulescens*) nebo krkavci velcí (*Corvus corax*) patří mezi další druhy, které byly testovány diskriminačními úlohami (Terhune, 1977; Range et al., 2008).

2.3. Dlouhodobá paměť

Schopnost zapamatovat si předchozí zkušenost může být klíčovou pro přežití jedince. Predátor, který si dokáže do paměti uložit kořist spojenou s negativním důsledkem, se jí v budoucnu efektivně vyhne.

Speed definoval memorabilitu jako odolnost dlouhodobých vzpomínek vůči zapomínání (Speed, 2000). Pokud predátor zapomene, jak diskriminovaná aposematická kořist vypadá, bude se postupně zvyšovat generalizace mezi jedlou a nejedlou kořistí. K upevnění znalosti o nepalatabilitě aposematické kořisti slouží opětovné setkání s ní. A to v případě, kdy predátor s kořistí přijde opakovaně do styku, ale znovu na ni neútočí (Brower et al., 1963). Její memorabilita může být ale posílena vizuální nápadností či specifickým pachem (Roper a Redstone, 1987; Roper a Marples, 1997). Jednotlivé komponenty výstražného signálu mohou mít různý vliv na memorabilitu kořisti. Nejvýznamnější roli při učení a zapamatování si aposematické kořisti se zdá mít barva, nikoli vnitřní vzor (Aronsson & Gamberale-Stille, 2008; Exnerová et al., 2006a; Terhune, 1977). Ten by mohl sloužit například k přilákání pozornosti predátora a upozornění na výstražné zbarvení (Osorio, Jones, & Vorobyev, 1999) nebo k odlišení aposematického druhu od mimetických jedinců (Aronsson & Gamberale-Stille, 2008). Přesto z některých prací vyplývá, že komplexní barevné vzory mohou také zvyšovat míru memorability. Kuřata testovaná s podněty různých barev (šedá, černá, žlutá, černo-žlutě pruhovaná) vykazovala po 24 hodinách retestování odlišné výsledky. Z nichž nejvíce projevovala naučenou averzi skupina s černo-žlutým stimulem (Johnston a Burne, 2008).

Důležitým prvkem při vytváření vzpomínek je konsolidace paměti. Jedná se o proces formování paměti, kdy se nově získaná znalost ukládá z pracovní do dlouhodobé paměti. K tomuto jevu dochází v rozmezí několika hodin po osvojení si nové znalosti (Müller a

Pilzecker, 1900). Paměťové stopy v počátku mají formu nestabilní kódované informace. Postupem času se paměť stabilizuje a stává se chráněnou před změnami synaptické transmise díky více stabilním modifikacím v synaptické stavbě. Takto konsolidovaná informace je pak uložena jako dlouhodobá vzpomínka (McGaugh, 1966). Hypotéza rekonsolidace předpokládá, že do již existující vzpomínky může být vložena nová informace či zkušenost. Pokud je paměťová stopa aktivována a přeformuje se do nestabilní podoby, je k jejímu opětovnému uložení zapotřebí nová syntéza proteinů (Nader et al, 2000). Nezbytnost proběhnutí konsolidace paměti je podpořena výsledky výzkumů, ve kterých byl subjektům před či krátce po učení injekčně vpraven do mozku anisomycin. Tato látka inhibuje tvorbu proteinů a po její aplikaci subjekty na rozdíl od kontrolních skupin selhaly v paměťových testech (Atkinson et al., 2003; Barrett a Sherry, 2012).

Role syntézy nových proteinů k uložení informace do dlouhodobé paměti byla potvrzena v práci Atkinson et al. (2003). Kuřata diskriminovala mezi červenými jedlými kousky potravy a žlutými nejedlými. Byly vytvořeny skupiny lišící se v intervalu, kdy byl injekčně vpraven anisomycin do intermediálního mediálního hyperstriáta ventrale, a to buď 15 minut před zahájením tréninku, 45 minut po jeho ukončení nebo 120 minut po ukončení. Test paměti probíhal po 24 hodinách. Z výsledků vyplývá, že tvorba dlouhodobé paměti byla ovlivněna pouze u prvních dvou skupin, tedy v časovém intervalu, kdy dochází k tvorbě nového proteinu a konsolidaci paměti.

Pro potvrzení hypotéz konsolidace a rekonsolidace byly testovány sýkory černoohlavé (*Poecile atricapillus*). Jedná se o americký druh sýkory, která je známá ukládáním potravy. V tomto experimentu byl ptákům podán anisomycin buďto 0 a 2 hodiny po uložení potravy nebo 4 a 6 hodin po uložení potravy. V následném testu po 24 hodinách byli ptáci na 20 minut vypuštěni zpět do voliéry (fáze R1), kde předešlý den potravu ukládali a po dalších 24 hodinách se proces opakoval (fáze R2). Přestože obě skupiny vykazovaly horší výsledky než kontrolní skupina bez aplikace anisomycinu, potřebovali ptáci s intervalem 4-6 hodiny nejvíce pokusů k nalezení ukryté potravy. Po uplynutí 48 hodin byli ptáci schopni nalézt i ty skrýše, které v předchozím kole zůstaly plné. Pravděpodobně zde tedy došlo k rekonsolidaci. V dalším experimentu byl ptákům podán anisomycin 0 a 2 hodiny až poté, co byli po 24 hodinách opět vypuštěni do voliéry. Přestože ve fázi R2 navštěvovali všechny skrýše a dlouhodobá paměť tedy nebyla ovlivněna, nebyli schopni zapamatovat si, které skrýše byli již vybrány během R1 a které ne. Z těchto výsledků vyplývá, že jak pro konsolidaci, tak pro rekonsolidaci je nezbytná nová syntéza proteinů (Barrett a Sherry, 2012).

Siddall a Marples (2008) ve svém experimentu dokazují, že kuřata, kterým byla předložena palatabilní (chutná) zelená kořist a nepalatabilní (nejedlá) žlutá kořist po uplynutí 3 hodinového intervalu konsolidace signifikantně méně útočila na nejedlou kořist, než v průběhu předchozích pokusných kol. Následně tyto jedince retestovali po 96 hodinách, kdy s kořistí nepřišli do styku. Ty skupiny, které diskriminovaly kořist pouze na základě barvy, projevovaly známky zapomínání naučené averze, přestože na nepalatabilní kořist útočily méně než v prvních kolech. Oproti tomu skupina, která byla testována s barevnými stimuly a negativní podnět byla navíc posílen pachem, na nepalatabilní kořist téměř neútočila. Z těchto výsledků můžeme odvodit, že memorabilita naučené averze je zvyšována multimodálními signály, jako je například barva v kombinaci se zápachem.

Mláďata sýkor koňader (*Parus major*), která byla trénována s aposematickou kořistí, ruměnicí pospolnou (*Pyrrhocoris apterus*), útočila signifikantně méně při paměťovém testu po 22 hodinách, než ptáčata trénovaná na žluté mutanty tohoto druhu (Svádová et al., 2009). Obecně je předpokládáno, že si predátoři pamatují aposematické kořisti lépe jako nepalatabilní (Speed, 2000).

Barevný stimul může v paměti predátora přetrvat i po dobu několika měsíců. Vrány hrubozubé (*Corvus macrorhynchos*), které se naučily diskriminovat podněty podle barev (červená/zelená a žlutá/modrá), byly schopné vybavit si barvu pozitivního stimulu i po uplynutí 10 měsíců, během kterých s ním nepřišly do styku (Bogale et al., 2012). Ručně odchovaná ptáčata sýkory koňadry (*Parus major*) projevovala naučenou averzi na aposematickou plošticí (*Pyrrhocoris apterus*), na rozdíl od ptáčat s averzí pro neaposematickou (hnědou) plošticí, i po 3 měsících, kdy s ní nepřišla do styku. Dospělé koňadry se ruměnicím vyhýbaly dokonce po 6 měsících (Landová et al., in prep). Jednou naučená averze pro aposematickou kořist v paměti predátora přetrvává i několik měsíců, bez nutnosti posilování. Tato vlastnost se zejména pro přezimující koňadry zdá jako nezbytná, neboť se se svou kořistí nesetkají v průběhu celého zimního období. Podobných experimentů zaměřených na dlouhodobou paměť pro aposematické kořisti ovšem není mnoho a většina prací uvádí intervaly v rámci dní, maximálně týdnů. Například Siddall a Marples (2008) prováděli test memorability po čtyřech dnech nebo Ham et al. (2006), kdy se test konal po uplynutí jednoho týdne. Rogers (1978) pak retestoval vlvovce červenokřídlé (*Agelaius phoeniceus*) dokonce po čtyřech měsících.

2.4. Sýkora koňadra

(*Parus major*, Linnaeus, 1758, Paridae)

Sýkora koňadra je zástupce řádu pěvců (Passeriformes: čeleď Paridae). I přes svůj drobný vzrůst je jedním z největších zástupců této čeledi. Velikost průměrného jedince se pohybuje mezi 12,5 až 14 cm. Dimorfismus je u koňader vcelku nevýrazný a k determinaci pohlaví slouží zejména podélný černý pruh na hrudi, směřující od hlavičky dolů. Tento pruh zasahuje u samců až k ocasu, kdežto u samic je užší a končí v dolní části břicha. Hlava je černá a lesklá, s výraznou bílou lící skvrnou a dlouhým zobákem. Zbarvení hrudi se pohybuje mezi žlutými a světle šedými odstíny. Křídla koňadry mají šedou barvu. Oproti dospělým ptákům jsou juvenilové světlejšího zbarvení, pruh na jejich hrudi není tak výrazný a odlišit je můžeme i podle velikosti zobáku (Cramp a Perrins, 1993).

Sýkory koňadry jsou typicky rozšířeny v biomech Evropy a částech Asie, kde jejich rozšíření zasahuje přes Indii, Indonesii a střed Asie až k Japonsku. Obývají zejména lesy, ale i otevřená prostranství, jako jsou mýtiny či sady. Běžně se vyskytují i v parcích, zahradách a v blízkosti lidských obydlí (Cramp a Perrins, 1993; Del Hoyo, 2007).

Sýkory koňadry žijí část roku soliterně. Se začátkem hnízdní sezóny začínají tvořit páry, které po zahnízdění společně pečují o potomstvo a stávají se teritoriálními. Během jednoho roku může koňadra zahnízdit až dvakrát. Jejich hnízda můžeme najít na nejrůznějších místech, nejčastěji však v dutinách stromů a v budkách. Hnízda budují ze suché trávy, mechu či srsti zvířete. Množství snesených vajec se pohybuje v rozmezí 3-12 a inkubace trvá 12-15 dní. V péči o potomstvo se střídají oba rodiče, hnízdo ptáčata opouští po 14 až 23 dnech a jsou dokrmována ještě 1-2 týdny (Cramp a Perrins, 1993; Del Hoyo et al., 2007). Se začínajícím podzimem se pak jedinci soustředí do hejn, v průměru o 4 až 8 jedincích. Tyto hejna přetrvávají po celou zimu a často bývají smíšená s jinými zástupci čeledi Paridae (Cramp a Perrins, 1993).

Jelikož koňadry patří mezi přezimující druhy, jejich potrava se přizpůsobuje ročnímu období. Od jara do podzimu se živí převážně různými drobnými bezobratlými živočichy, mezi ně patří zejména zástupci řádů Lepidoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Diptera, Hemiptera, ale i někteří pavouci (Cramp a Perrins, 1993). Hmyz loví převážně na stromech a keřích, ale i na zemi. Pouze vzácně byly pozorovány koňadry lovcí hmyz přímo za letu. V zimním období pak ubývající bezobratlé nahrazují semeny, plody a dalšími alternativní zdroji potravy (Del Hoyo et al., 2007).

Jedním z důvodů, proč studovat právě koňadry, jsou jejich výjimečné kognitivní schopnosti. Ty jsou doloženy řadou pozorování i výsledky laboratorních experimentů (Brodin a Urhan, 2014; Aplin et al., 2015; Landová et al., 2017). Přestože nástrojově orientované chování u sýkor běžné není, bylo pozorováno použití borové jehlice koňadrou k prohledání otvoru a získání potravy (Duyck a Duyck, 1984). Podobné chování bylo pozorováno i u jiných druhů sýkor (*Cyanistes caeruleus*, *Poecile gambeli*) v přírodě (Boswall, 1977; Gaddis, 1981). Znamější je pak případ sociálního učení, kdy se nejprve několik sýkor modřinek (*Cyanistes caeruleus*) naučilo otevírat láhve s mlékem a později se díky odpozorování této dovednosti naučili další ptáci po celé Anglii, včetně koňader (Fisher a Hinde, 1949).

3. Metodika a materiál

3.1. Testované subjekty

Testovanými ptáky byly sýkory koňadry (*Parus major*). Dospělí ptáci byli odchytáváni v přírodě a ptáčata byla ručně odchována. V jednotlivých experimentech byli ptáci rozděleni do skupin podle věku a pohlaví. Celkově bylo otestováno 20 ptáčat a 20 dospělých sýkor v experimentu zaměřeném na konsolidaci paměti a 16 dospělých v experimentu dlouhodobé paměti (viz tabulka 1).

3.1.1. Ptáčata

Mláďata sýkor byla získávána z dřevěných budek, které byly pro tento účel rozmístěny v několika lokalitách v Praze (Cibulky, Bohnice). Z každé budky byla vybrána maximálně 1/3 ptáčat (2-4) ve věku 13-16 dní. Ptáčata byla následně označena plastovými kroužky různých barev, kdy jedna barva se vždy vázala ke konkrétní budce a druhý kroužek sloužil pro individuální rozpoznávání. Umělá hnízda byla vystlána látkou a papírovými ubrusky v plastových přepravkách (Fauna-box, Tommi), do kterých bylo umístěno 4-8 ptáčat, podle velikosti přepravky. Krmení probíhalo každé dvě hodiny a to od 6 hodiny ráno do 10 hodin večer. Krmení sestávalo z usmrcených larev potemníka moučného (*Tenebrio molitor*), kompletního krmiva pro ruční dokrmování v podobě kaše Handmix (Orlux) a natvrdo vařených vajec. Jednou denně pak byly ptáčatům podány dvě larvy obalené ve vitamínové směsi Roboran (Unisvit s.r.o.). Voda byla po každém krmení podávána pomocí kapátka, potrava pomocí pinzety či kapátka.

Ve věku 18-20 dní byla ptáčata po dvou až čtyřech jedincích umístěna do menší drátěné klece s dvěma bidýlky. V poslední fázi odchovu byla ptáčata přesunuta do velkých drátěných

klecí (50 x 40 x 30 cm). V těchto klecích se nacházely misky s potravou – larvami potemníka moučného a vaječné směsi (Uni patee: Orlux). Závěsné napáječky sloužily jako zdroj vody. Ptáčata byla stále dokrmována, až do doby, kdy byla schopna samostatně přijímat dostatečné množství potravy. Poté byla přesunuta do laboratoře, kde byla ubytována v klecích využívaných k chovu dospělých koňader (popis viz níže) a ve věku 35 dní mohla být testována. V laboratoři je konstantně udržována teplota v rozmezí 18-24 °C a vlhkost 40-55 %. Světelný režim odpovídá venkovní fotoperiodě.

Ptáčatům byly po ukončení experimentu odstraněny plastové kroužky a byly nahrazeny kroužky hliněnými. K vypuštění skupin došlo v lokalitě, kde byla ptáčata vybrána z budek a zároveň byly v těchto lokalitách umístěny krmítka.

3.1.2. Dospělí ptáci

Adultní jedinci byli odchytáváni v období od října do února 2015-2017. Ptáci byli chytáni do nárazových sítí pro pěvce v botanické zahradě přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Po určení věku a pohlaví byli umístěni jednotlivě do domovských klecí. Klec o rozměrech 40 x 40 x 50 cm je vyrobena z plastu s přední mřížovou stěnou. V kleci se nacházela tři bidílka, dvě napáječky a tři misky s potravou. Ptáci byli krmeni moučnými červy (*Tenebrio molitor*), slunečnicovými semínky a v třetí misce měli k dispozici vaječnou směs (Uni patee: Orlux). Přístup potravy a vody byl zajištěn ad libitum.

Podlahy klecí byly vystlány filtračním papírem a čištěny denně. Potrava i voda byly taktéž měněny a doplňovány každý den. V laboratoři, kde byly klece umístěny, byla teplota udržována mezi 18-24 °C a vlhkost mezi 40-55 %. Denní režim byl měněn podle venkovních podmínek a světlo bylo zprostředkováno zářivkami (Osram-biolux) simulujícími denní světlo.

Po odchytu byli ptáci ponecháni v klidu nejméně dva dny, než byli zařazeni do pokusu. Po ukončení experimentu byli ještě jeden den ubytováni v domovské kleci. Následně byli okroužkováni a vypuštěni v místě odchytu.

3.2. Kořist

Jako kořist byly použity umělé siluety ploštic (viz obrázek 1). Tyto siluety byly vytvořeny v grafickém programu Adobe Photoshop CS5. Tvar byl odvozen od rodu *Palomena* (Hemiptera: Pentatomidae) a v úloze zaměřené na dlouhodobou paměť byly doplněny vzorem

odvozeným od plošnice *Parastrachia japonensis*. Siluety byly zelené a červené barvy, obě maximálně kontrastní s maximální sytostí. Hodnoty RGB byly 0,255,0 u zelené a RGB 255,0,0 u červené siluety. Tyto siluety byly vytištěny na kancelářskou čtvrtku o velikosti 1 x 1,5 cm.

Pod siluetu plošnice byla umístěna zadní polovina larvy potemníka moučného. Po usmrčení a rozpůlení byla část larvy namočená do vody (pozitivní podnět) nebo do 6 % roztoku chlorochinin difosfátu (negativní podnět). Chinin v experimentu nahrazuje toxické látky, kterými plošnice disponují v přírodě a pro ptáky je nechutný.



Obrázek 1 - Siluety ploštic užívané během experimentu. První dvojice byla použita při úloze zaměřené na konsolidaci paměti. Druhá dvojice byla použita jako stimul při úloze testující dlouhodobou paměť.

3.3. Pokusná klec

Samotný experiment se odehrával v pokusné kleci o rozměrech 70 x 70 x 70 cm. Rám klece byla vyrobena ze dřeva a byla vyplněna pletivem. Přední stěna byla tvořena jednostranně průhledným sklem. Zatímco experimentátor mohl pozorovat chování subjektu, pták nebyl rušen. Bidýlko bylo v kleci umístěno cca 30 cm od přední stěny, 20 cm od otočného karuselu a 15 cm nad podlahou. Stimuly byly během experimentu předkládány v Petriho miskách na otočném karuselu a 40 % achromatickém šedém pozadí. V zadní části klece se nacházely dvířka a na podlaze byla umístěna miska s vodou. Klec byla osvětlena pomocí dvou zářivek (Osram – biolux) na stropu klece, simulujících denní světlo.

3.4. Design experimentu

V rámci této diplomové práce byly realizovány dva experimenty, jejichž podrobný popis naleznete níže. Testování ptáci byli náhodně rozděleni do skupin a v rámci těchto skupin byli ještě rozděleni dle pohlaví a věku (viz tabulka 1).

Průběh experimentu byl zaznamenáván pomocí programu Observer XT 8.0 a videokamery. Hodnoceno bylo, s kterou siluetou začal subjekt manipulovat jako první a jak manipulace probíhala.

Tabulka 1 – Rozdělení ptáků v jednotlivých úlohách. Skupiny podle věku (jednoletí a víceletí) a pohlaví (samci a samice)

Věková kategorie	Jednoletí samci (M, 1K; 2K)	Jednoleté samice (F, 1K; 2K)	Víceletí samci (M, +1K; +2K)	Víceleté samice (F, +1K; +2K)	Celkem dospělých	Celkem ptáčat
Úloha						
Konsolidace 1 hodina	5	5	5	5	20	20
Konsolidace 3 hodiny	5	5	5	5	20	20
Dlouhodobá paměť	3	5	4	4	16	

3.4.1. Konsolidace paměti

Proces experimentu byl rozložen do tří dnů. Během prvního dne probíhala manipulační úloha a preferenční test. Hlavní část pokusu se odehrávala druhý den formou diskriminační úlohy a třetí den byli ptáci podrobeni testu paměti.

Ptáci byli předem náhodně rozděleni do skupin. Ty se lišily délkou intervalu vyhrazeného ke konsolidaci. Zde bylo otestováno vždy 20 dospělců a 20 ptáčat. V rámci těchto skupin byli subjekty ještě rozděleny na podskupiny o deseti jedincích, podle toho, která barva plošnice byla zvolena jako pozitivní stimul. Jako kontrolní skupina bylo použito 20 adultů a 20 juvenilů, kteří prošli celým diskriminačním tréninkem souvisle, bez vloženého intervalu pro proběhnutí konsolidace. Data této kontrolní skupiny pochází z diplomové práce Martiny Kišelové (2014).

3.4.1.1. Manipulační úloha

Nejdříve byli ptáci umístěni do pokusných klecí, aby měli dostatek času zvyknout si na nové prostředí. V první fázi experimentu prošli ptáci manipulační úlohou. Jejím účelem bylo naučit subjekty interagovat s podněty, které si na první pohled nespojí s potravou. Aby byli

ptáci dostatečně motivováni ke spolupráci během experimentu, byla jim dvě hodiny předem odebrána potrava.

Podněty byly ptákům předkládány vždy na achromatickém šedém pozadí v Petriho misce, vložené do otvoru v otočném karuselu. Nejprve jim byla nabídnuta larva potemníka, aby se naučili odkud přichází potrava. V další fázi byla larva umístěna na čtverec (1,5 x 1,5 cm) z bílého kartonu. Jakmile pták tuto kořist pozřel, byla nahrazena novou larvou. Tentokrát umístěnou pod kartonový čtverec, avšak ne zcela zakrytou. Těchto polo-zakrytých larev bylo použito několik, dokud se pták nenaučil otáčet čtverce a larvu si nevzal. V poslední fázi úlohy byla larva potemníka zcela zakryta čtvercem. Jakmile pták prošel úspěšně všemi fázemi manipulační úlohy a vytvořil si asociaci mezi kořistí a čtvercem, postoupil k testu preferencí. V průběhu experimentu bylo zaznamenáváno kolik kol bylo v jednotlivých fázích manipulační úlohy nezbytných, než ji subjekt úspěšně dokončil. Jedno pokusné kolo trvalo 4 minuty.

3.4.1.2. Preferenční test

Ihned po absolvování manipulační úlohy následoval test preferencí. V této úloze bylo zjišťováno, zda pták disponuje vrozenou preferencí či preferencí získanou dřívějšími zkušenostmi, pro některý z parametrů podnětu. Tím mohla být například barva siluety plošnice, které byly následně použity pro diskriminační učení. Podněty byly předkládány ptákům simultánně a testována byla proto i preference pozicní. Všechny kořisti v průběhu testu preference byly palatabilní a test byl ukončen po úspěšném absolvování pěti kol.

Na Petriho misku byla umístěna dvojice plošnic (viz obrázek 1), na jejichž spodní stranu byla připevněna zadní polovina larvy potemníka. Miska byla ptákům předložena na achromatickém šedém pozadí. Jedno pokusné kolo trvalo 4 minuty a sledováno bylo, se kterou z kořistí začne pták manipulovat jako první a zda ji nakonec pozře. Poté bylo kolo ukončeno. V případě, že s podněty neinteragoval vůbec, bylo kolo opakováno.

3.4.1.3. Diskriminační učení

V druhé části experimentu prošli ptáci diskriminačním učením. Jeho smyslem bylo naučit se odlišovat pozitivní podnět od negativního.

Před začátkem experimentu byli ptáci náhodně rozděleni do dvou skupin, kdy v první skupině byl interval na proběhnutí konsolidace stanoven na jednu hodinu a v druhé skupině na tři hodiny. V rámci těchto skupin byly dále vytvořeny podskupiny, polovina ptáků tak měla pozitivní stimul zelené barvy a druhá polovina barvy červené. Dvě hodiny před začátkem

experimentu byl pták přesunut do pokusné klece, kde měl k dispozici čerstvou vodu, ale žádnou potravu.

Před začátkem pokusného kola byly připraveny stimuly. Pozitivní stimul tvořila zadní polovina larvy potemníka, namočená v čisté vodě a připevněna na spodní stranu plošnice. Larva představující negativní stimul byla namočená v roztoku chininu a taktéž připevněna na spodní stranu plošnice. Tyto stimuly byly umístěny na Petriho misku s achromatickým šedým pozadím a předloženy sýkoře. Doba trvání pokusného kola byla stanovena na 4 minuty a ukončeno mohlo být dříve v případě, že pták manipuloval s oběma stimuly. Pokud neproběhla žádná interakce, bylo kolo opakováno. Pozice stimulů byly střídány po každém kole, aby se pták nenaučil přistupovat k misce jen z jedné strany.

Po skončení 30 kol byla ptákům nabídnuta miska s larvami potemníka (8 larev při intervalu konsolidace jedna hodina a 24 larev při intervalu tří hodin) a byli ponecháni v klidu. Počet larev byl vypočítán jako minimální množství přísunu potravy pro daný počet hodin, kdy ještě nedochází ke stresové situaci z nedostatku. Po uplynutí intervalu vyhrazeném ke konsolidaci proběhlo dalších 10 kol, které sloužily k porovnání výsledků učení. Následně byli ptáci přesunuti do domovských klecí s neomezeným přístupem k potravě.

3.4.1.4. Test paměti

Následující den po diskriminačním učení byly subjekty podrobeny paměťovému testu. Ten probíhal obdobně jako diskriminace, ale sestával pouze z 10 kol. Podněty použité v tomto testu byly totožné s těmi, které byly použity při diskriminační úloze.

3.4.2. Dlouhodobá paměť

V úloze zaměřené na dlouhodobou paměť byla otestována jen jedna skupina o 16 jedincích a to vždy se stejným pozitivním stimulem, který představovala zelená plošnice.

3.4.2.1. Manipulační úloha

Manipulační úloha probíhala v rámci experimentu zaměřeném na dlouhodobou paměť stejně jako při experimentu konsolidace. Podrobný popis viz. Konsolidace.

3.4.2.2. Preferenční test

I tento test probíhal podobně jako test preferencí v experimentu konsolidace paměti. Jediný rozdíl tvoří použité stimuly. V tomto experimentu byly testovány preference nejen pro barvu plošnice, ale i pro její vzor (viz obrázek 1). Podrobný popis postupu viz. Konsolidace.

3.4.2.3. Diskriminační učení

Experiment probíhal obdobně jako konsolidační pokus. V této úloze však byla otestována pouze jedna skupina, kde pozitivní stimul představovala zelená plošnice a negativní stimul červená plošnice se vzorem (viz obrázek 1). Ptáci prošli 40 koly následujícími bezprostředně po sobě a druhý den probíhal paměťový test.

3.4.2.4. Paměťový test

I tato úloha probíhala stejně jako paměťový test v rámci pokusu konsolidace. Poté byli ptáci po dobu 28 dní umístěni v domovských klecích s neomezeným přístupem k potravě a vodě. Během této doby nepřišli do styku s pokusnými stimuly. Po uplynutí měsíčního intervalu opět prošli deseti pokusnými koly, které měly otestovat jejich dlouhodobou paměť.

3.5. Statistická metodika

3.5.1. Statistické zpracování dat

Pro vyhodnocení dat byly použity programy Statistica (StatSoft Inc.). Nulová hypotéza byla zamítnuta při pětiprocentní hladině významnosti.

3.5.2. Konsolidace paměti

3.5.2.1. Preferenční test

V rámci preferenční úlohy bylo hodnoceno, zda ptáci disponují iniciální preferencí pro jeden typ plošnice. Tato úloha probíhala během pěti kol a hodnoceno bylo, v kolika z nich si pták vybral stimul zelené barvy. Tyto preference byly pro každého z ptáků zaneseny do preferenčního skóre. To je počítáno jako podíl kol, ve kterých je daná kořist preferovaná, s hodnotami od 0 do 1. Hodnoty jsou poté srovnány s referenční hodnotou žádné preference (0,5). K vyhodnocení byl použit single sample t-test. Porovnán byl také rozdíl preferencí mezi ptáčaty a dospělými ptáky, a to pomocí t-testu.

3.5.2.2. Diskriminační úloha

Při vyhodnocování diskriminační úlohy bylo provedeno několik testů. Nejprve byl porovnán celý soubor ptáků, kdy byl zkoumán vliv intervalu konsolidace, barvy pozitivního stimulu a věku subjektů na úspěšnost v posledních deseti kolech. Výpočet byl proveden testem factorial ANOVA. Závislou proměnnou byl podíl úspěšně vyřešených kol v posledních deseti kolech diskriminačního učení a nezávislými byly faktory "věk" (ptáčata, dospělí), "interval" (0, 1, 3 hodiny) a "barva pozitivního stimulu" (zelená, červená).

Následně byl soubor rozdělen podle věkové kategorie na juvenily a adulty. Pomocí testu factorial ANOVA byl hodnocen vliv intervalu, věku, pohlaví a barvy pozitivního stimulu na úspěšnost v posledních deseti kolech učení adultů. Tento test byl probíhal podobně jako první souhrnný test, změna byla provedena pouze v přidání faktoru "pohlaví" (samec, samice) a faktor "věk" zde představoval jednoleté a víceleté ptáky. Pomocí repeated-measures ANOVA bylo poté testováno, zda se postupně zvyšovala úspěšnost během jednotlivých fází diskriminačního učení. Závislá proměnná představovala podíl správně vyřešených kol během všech čtyřiceti kol rozdělených do bloků po deseti (dále označováno jako "desítka") a nezávislými faktory byl "interval" a "desítka" (první, druhá, třetí a čtvrtá).

U ptáčat byl vyhodnocen vliv intervalu a barvy pozitivního stimulu na úspěšnost v posledních deseti kolech diskriminačního učení. Tento test byl proveden pomocí factorial ANOVA a zvolené proměnné byly podobné jako ve stejném testu adultních ptáků. Rozdíl byl pouze v tom, že zde nebyl hodnocen vliv pohlaví a věku. Zvolené proměnné byly totožné jako ty ve stejném testu u adultů. Závislou proměnnou byl tedy počet správně vyřešených kol v posledních deseti kolech učení, nezávislými faktory pak "interval" (0, 1, 3 hodiny) a "barva pozitivního stimulu" (zelená, červená). I u juvenilů byl proveden test ověřující, zda se ptáčata během jednotlivých fází tréninku zlepšovala. Závislá proměnná představovala podíl správně vyřešených kol během všech čtyřiceti kol rozdělených do bloků po deseti a nezávislými faktory byl "interval" a "desítka" (první, druhá, třetí a čtvrtá).

3.5.2.3. Paměťový test

Paměťový test byl vyhodnocován obdobně jako diskriminační úloha. Nejprve byl souhrnným modelem zkoumán vliv intervalu, barvy pozitivního stimulu a věkové kategorie na úspěšnost v deseti kolech paměťového testu. Měření bylo provedeno pomocí factorial ANOVA. Závislou proměnnou byl podíl úspěšně vyřešených kol. Nezávislé faktory pak byly "věk" (juvenil, adult), "interval" (0, 1, 3 hodiny) a "barva pozitivního stimulu" (zelená, červená).

Následně byl soubor ptáků rozdělen na juvenily a adulty a jednotlivé skupiny byly otestovány samostatně. Paměťový test dospělých ptáků byl vyhodnocován podobně jako diskriminační úloha pomocí factorial ANOVA. Závislou proměnnou zde byl podíl správně zvolených pozitivních stimulů během deseti kol testu paměti. Nezávislými faktory byly "interval", "věk", "barva pozitivního stimulu" a "pohlaví". Pokud se ukázal mít některý z faktorů vliv, byl použit Fisherův LSD post-hoc test pro porovnání jednotlivých skupin.

Paměť ptáčat byla testována obdobně jako u dospělých sýkor. Pomocí factorial ANOVA testu byl hodnocen vliv intervalu a barvy pozitivního stimulu na úspěšnost v paměťovém testu.

Poté bylo provedeno srovnání v úspěšnosti mezi posledními deseti koly diskriminačního učení a paměťovým testem. Pro jednotlivé skupiny s různými intervaly pro konsolidaci byly provedeny párové t-testy.

3.5.3. Dlouhodobá paměť

3.5.3.1. Preferenční test

V preferenční úloze bylo hodnoceno, zda ptáci projevují iniciální preferenci pro jeden barevný typ stimulu. Tato preference byla počítána jako poměr zvolených zelených stimulů během pěti kol preferenčního testu a k tomu byl použit jednovýběrový t-test. Pro každého z ptáků bylo vytvořeno preferenční skóre, které představuje podíl kol, ve kterých je daný stimul zvolený, s hodnotami 0 a 1. Tyto hodnoty jsou poté srovnány s referenční hodnotou 0,5 (žádná preference).

Následně bylo hodnoceno, zda budou během učení úspěšnější ti ptáci, kteří budou mít preferovanou barvu stimulu použitou v experimentu jako pozitivní stimul. Vyhodnocována byla tedy korelace mezi počtem preferovaných zelených stimulů a úspěšností v prvních 10 kolech a posledních 10 kolech učení, v paměťovém testu po 24 hodinách a v paměťovém testu po jednom měsíci. Toto měření bylo provedeno pomocí Spearmanova korelačního koeficientu.

Samostatně poté bylo otestováno, zda se liší iniciální preference pro zelenou barvu mezi skupinou testovanou na dlouhodobou paměť a náhodně vybranými 16 jedinci z konsolidačního experimentu. Pro tento test byl použit t-test.

3.5.3.2. Diskriminační učení a paměťový test

Výsledky diskriminačního učení a paměťového testu byly hodnoceny následovně. Nejprve byla pomocí repeated-measures ANOVA porovnána úspěšnost správně zvoleného pozitivního stimulu v jednotlivých fázích učení a v obou paměťových testech. Jako závislé proměnné byly zvoleny podíly správně vyřešených kol během jednotlivých fází experimentu: první, druhé, třetí a čtvrté desítky kol učení a během testu paměti po 24 hodinách a testu paměti po jednom měsíci. Nezávislé proměnné byly faktory "věk" (jednoletí, víceletí), "pohlaví" (samci, samice) a "opakování" (testuje rozdíl mezi jednotlivými fázemi experimentu). Pomocí Fisherova LSD

post-hoc testu byly poté porovnány rozdíly mezi jednotlivými desítkami kol diskriminačního učení a oběma paměťovými testy.

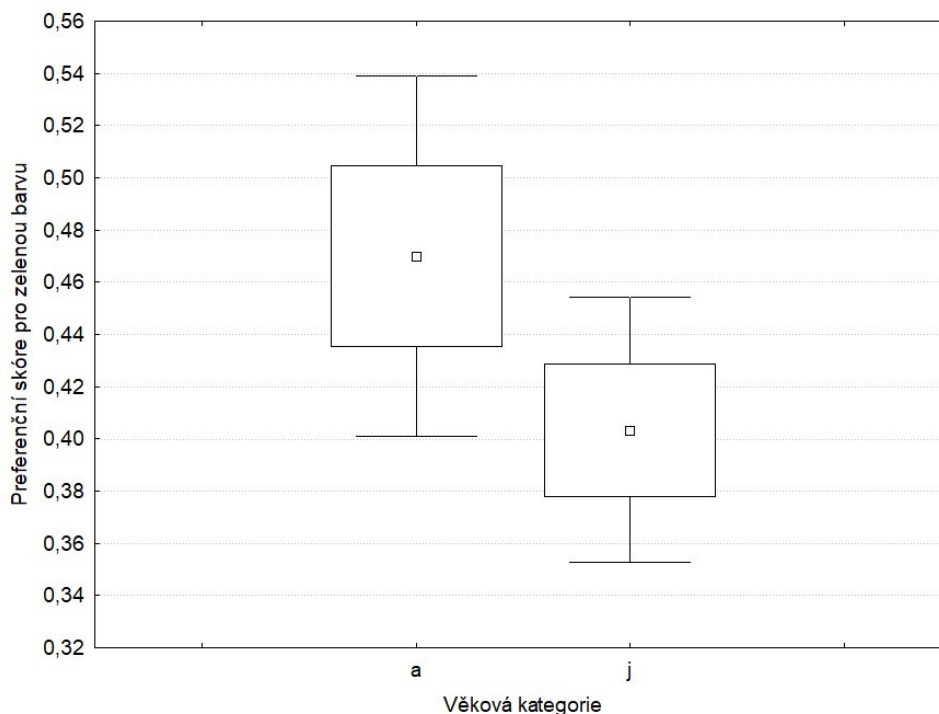
Zároveň byla v tomto modelu otestována interakce mezi věkem ptáka a úspěšností v prvních a posledních deseti kolech diskriminačního učení a pohlavím a úspěšností.

4. Výsledky

4.1. Konsolidace paměti

4.1.1. Preferenční test

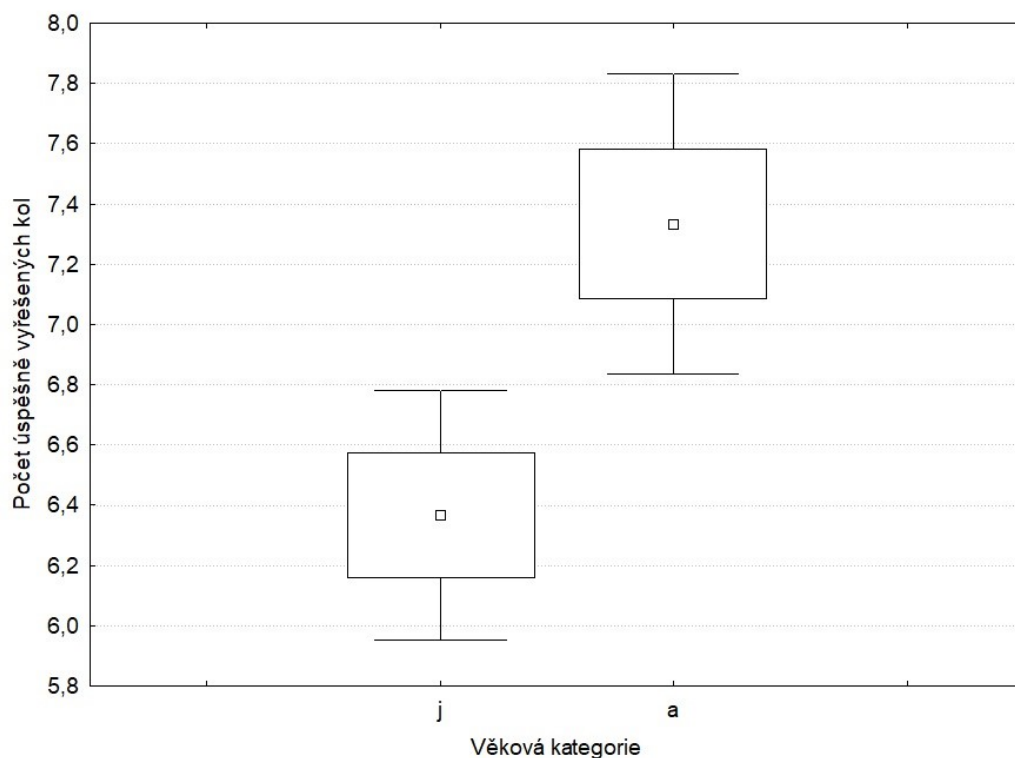
Bylo vyhodnoceno, zda ptáci během pěti kol preferenční úlohy preferovali jeden typ plošnice před druhým a zda v této volbě existuje rozdíl mezi dospělými sýkorami a ptáčaty (viz graf 1). U dospělých ptáků nebyla zjištěna preference pro jeden z testovaných stimulů (single sample t-test: $N = 60$, $t = -0.868$, $p = 0.389$). Naopak tomu u ptáčat byla potvrzena preference pro červenou barvu plošnice (single sample t-test: $N = 60$, $t = -3.809$, $p < 0.001$). Rozdíl mezi věkovými kategoriemi nebyl prokázán (t-test: $Df = 118$, $t = 1.555$, $p = 0.123$).



Graf 1 – rozdíl preferencí pro zelenou barvu mezi ptáčaty a dospělými, kategorie a – adult, j – juvenil; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

4.1.2. Diskriminační učení

Pro vyhodnocení diskriminační úlohy byl nejprve hodnocen celý soubor ptáků. Celkovým modelem byl nejprve souhrnně hodnocen počet správně zvolených pozitivních stimulů v posledních deseti kolech učení (viz graf 2). Signifikantní rozdíl je patrný mezi dospělými ptáky a ptáčaty, kdy adultní jedinci dosahují lepších výsledků (ANOVA: Df = 1, F = 9.219, p = 0.003). Nebyl prokázán vliv intervalu ani barvy pozitivního stimulu. Průkazná také nebyla žádná z interakcí (viz tabulka 2).



Graf 2 – Rozdíl v úspěšnosti v posledních deseti kolech diskriminačního učení mezi juvenilny (j) a adulty (a); boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

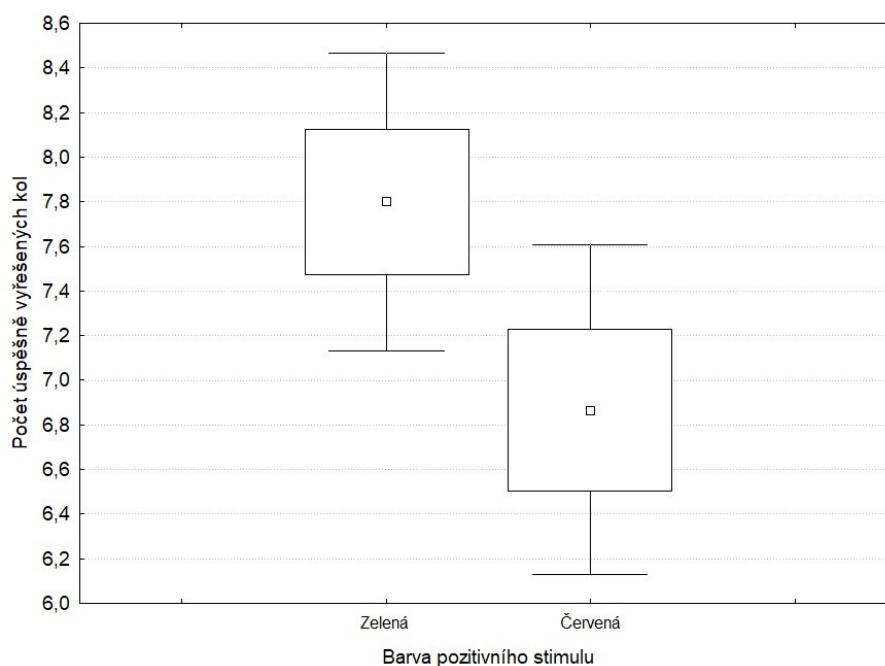
Tabulka 2 – Vliv věkové kategorie, barvy pozitivního stimulu (S+) a intervalu konsolidace na úspěšnost v posledních deseti kolech učení

	Df	F	p
Věková kategorie	1	9,219	0,003
Interval	2	2,672	0,074
Barva S+	1	1,853	0,176
Věk*Interval	2	0,134	0,874
Věk*S+	1	2,467	0,119
Interval*S+	2	1,927	0,151
Věk*interval*S+	2	0,156	0,856

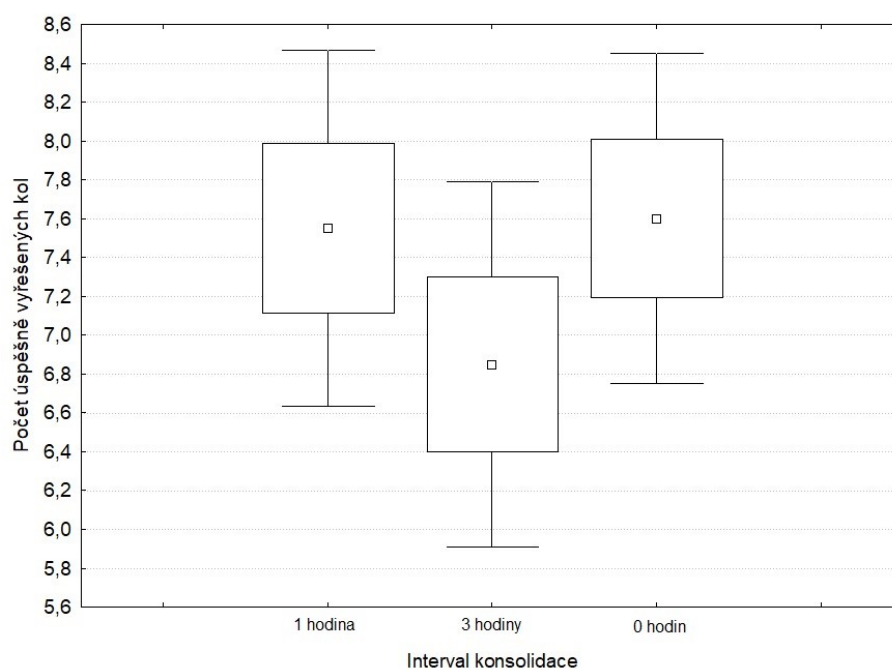
Následně byla skupina rozdělena na adultní a juvenilní jedince a byly vyhodnocovány výsledky pro tyto samostatné věkové kategorie. U dospělých ptáků byl prokázán pouze vliv barvy pozitivního stimulu (ANOVA: Df = 1, F = 4.482, p = 0.036) (viz graf 3). Pokud byli tedy ptáci testováni s pozitivním stimulem zelené barvy, dosahovali lepších výsledků než ti jedinci, testováni s pozitivním červeným stimulem. Nebyl prokázán vliv věku, pohlaví ani intervalu (viz graf 4). Interakce těchto faktorů také nebyla průkazná (viz tabulka 3). Dále byly srovnány jednotlivé fáze učení. Úspěšnost se postupně zvyšovala během všech desítek (repeated-measures ANOVA: Df = 3, F = 10.718, p < 0.001) (viz graf 5).

Tabulka 3 – Vliv věku, pohlaví a barvy pozitivního stimulu (S+) na úspěšnost v posledních deseti kolech učení u adultů

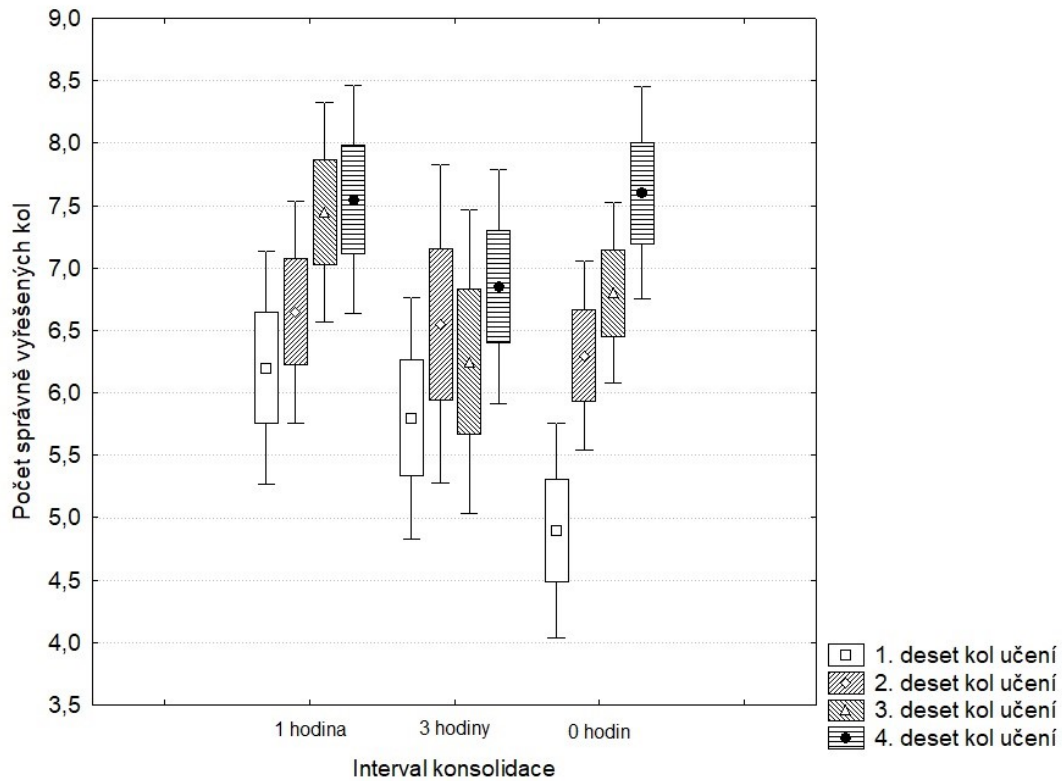
	Df	F	p
Barva S+	1	4.482	0.036
Interval	2	1.125	0.334
Věk	1	1.785	0.218
Pohlaví	1	0.041	0.841
Interval*S+	2	1.393	0.259
Věk*S+	1	1.184	0.282
Interval*věk	2	0.069	0.933
Pohlaví*S+	1	0.223	0.639
Interval*poohlaví	2	1.684	0.197
Věk*poohlaví	1	0.121	0.731



Graf 3 – Vliv barvy pozitivního stimulu na úspěšnost v posledních deseti kolech tréninku; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

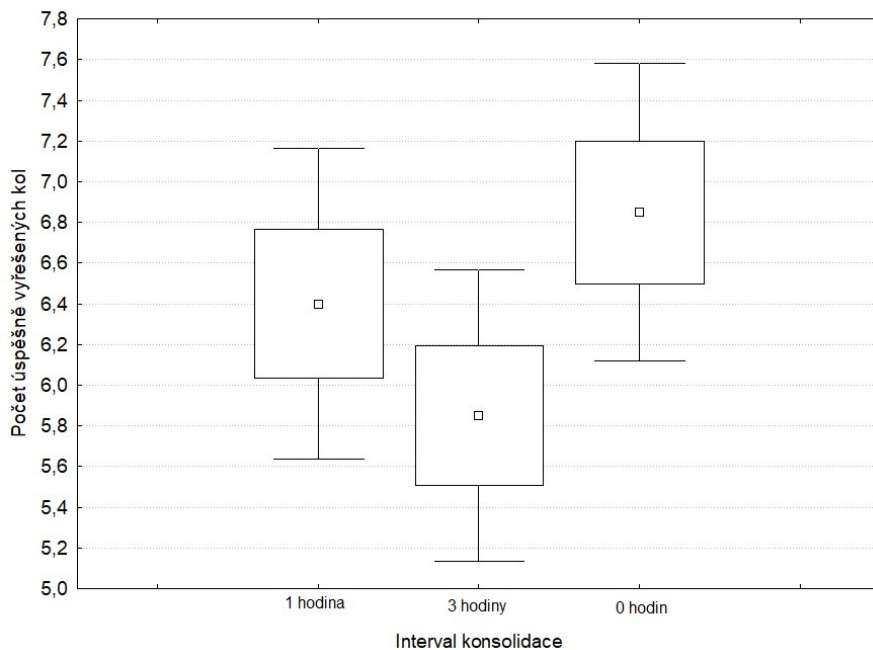


Graf 4 – Vliv intervalu konsolidace na úspěšnost v posledních deseti kolech tréninku; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

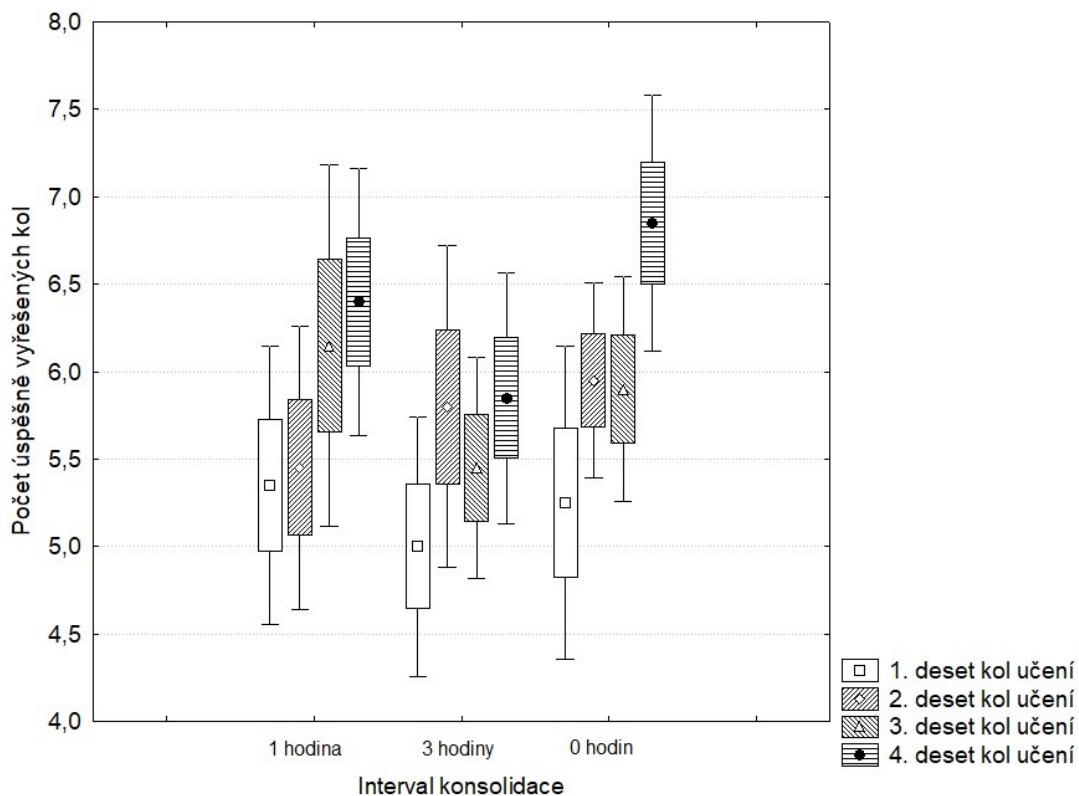


Graf 5 – Průběh postupného zvyšování úspěšnosti v diskriminačním tréninku adultů; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

U ptáčat vliv intervalu konsolidace (ANOVA: $Df = 2$, $F = 1.971$, $p = 0.149$) ani vliv barvy pozitivního stimulu (ANOVA: $Df = 1$, $F = 0.026$, $p = 0.872$) na úspěšnost v posledních deseti kolech diskriminačního učení nebyl prokázán (viz graf 6). Interakce mezi těmito dvěma faktory byla taktéž neprůkazná (ANOVA: $Df = 2$, $F = 0.871$, $p = 0.424$). Následně byl porovnán úspěch mezi jednotlivými fázemi učení (viz graf 7). Průkazné bylo postupné zlepšení v průběhu tréninku (repeated-measures ANOVA: $Df = 3$, $F = 5.962$, $p = 0.001$).



Graf 6 – Vliv intervalu konsolidace a úspěšnost v posledních deseti kolech diskriminačního učení u ptáčat; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)



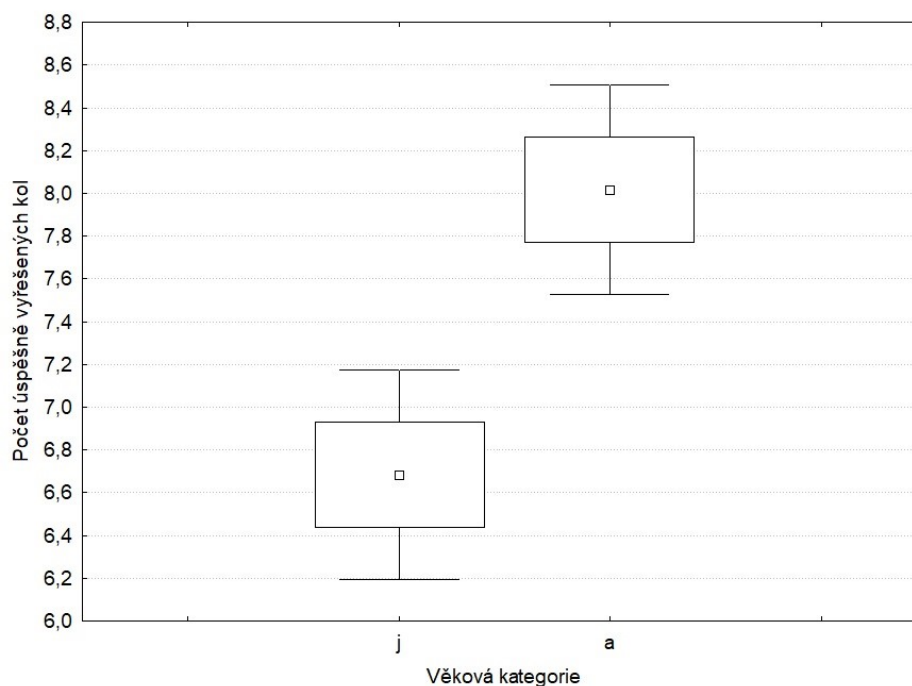
Graf 7 - Průběh postupného zvyšování úspěšnosti v diskriminačním tréninku juvenilů; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

4.1.3. Paměťový test

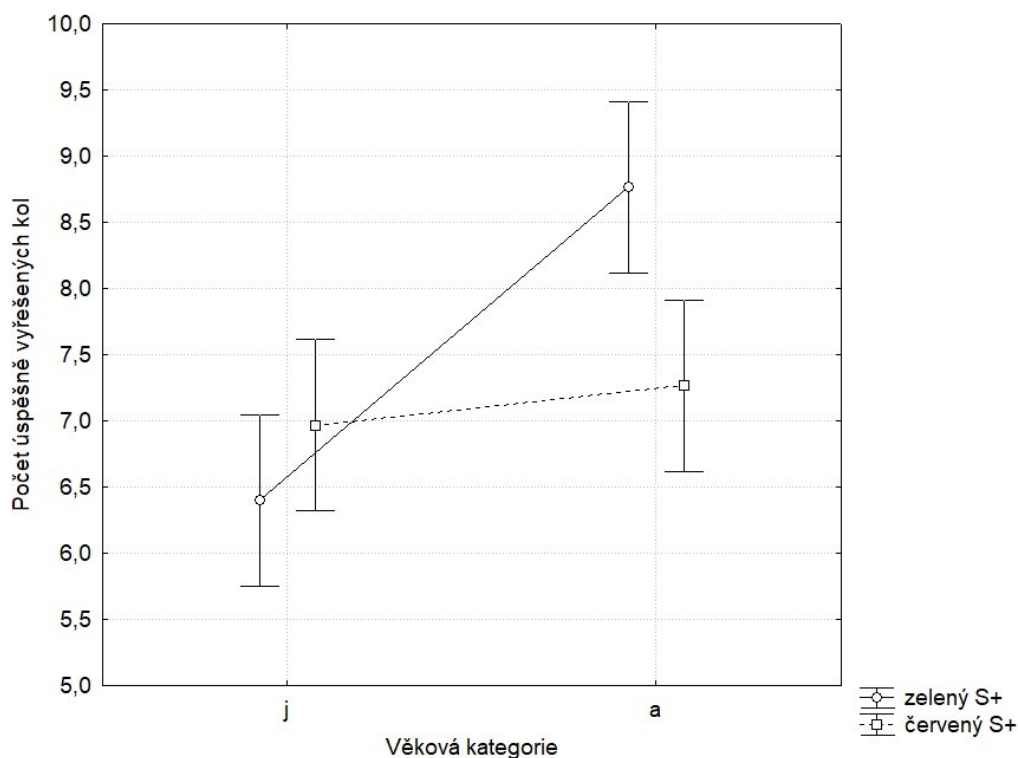
Nejprve byl celkovým modelem vyhodnocen vliv intervalu, barvy pozitivního stimulu a věku na počet úspěšně vyřešených kol v paměťovém testu. Lepších výsledků zde dosahují dospělí ptáci (ANOVA: Df = 1, F = 16.744, $p < 0.001$) (viz graf 8). Průkazná je také interakce věkové kategorie a barvy pozitivního stimulu (ANOVA: Df = 1, F = 10.057, $p = 0.002$) (viz graf 9). Nejlepších výsledků dosahují dospělí ptáci, pokud je pozitivní stimul zelené barvy. Vliv intervalu i barvy pozitivního stimulu prokázán nebyl. Interakce mezi jednotlivými faktory věk, interval a barva pozitivního stimulu také ne (viz tabulka 4).

Tabulka 4 – Celkový vliv věku, intervalu a barvy pozitivního stimulu (S+) na úspěšnost v paměťovém testu

	Df	F	p
Věková kategorie	1	16.744	0.00008
Interval	2	1.578	0.211
Barva S+	1	2.051	0.155
Věk*S+	1	10.057	0.002
Interval*S+	2	2.514	0.086
Věk*interval*S+	2	0.583	0.561



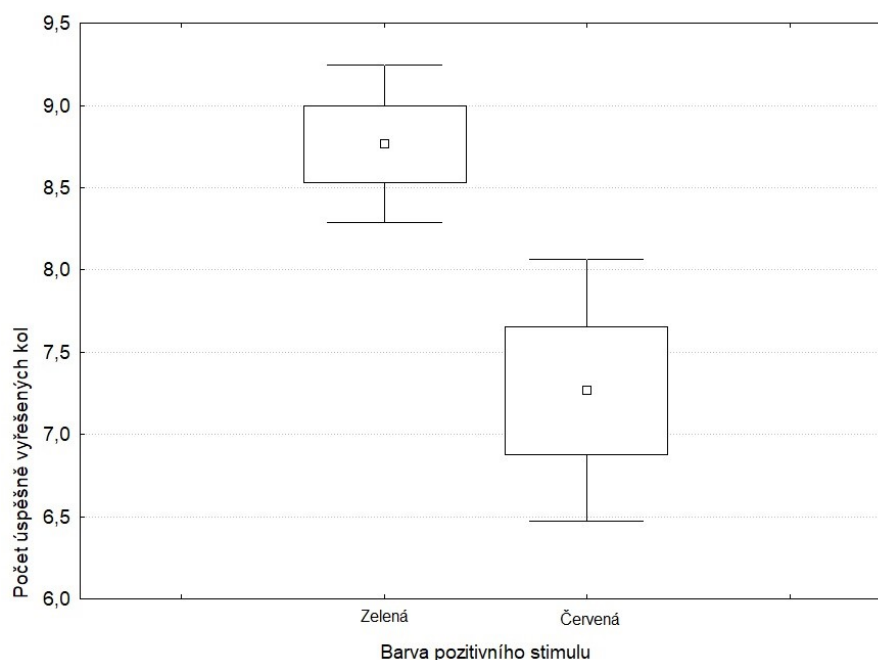
Graf 8 – Rozdíl v úspěšném vyřešení paměťového testu mezi adulty (a) a juvenily (j); boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)



Graf 9 – Vliv interakce mezi barvou pozitivního stimulu a věkovou kategorií na úspěšnost v paměťovém testu, kategorie j – juvenil, a – adult; body znázorňují průměr a vertikální úsečky konfidenční interval (95%)

U dospělých ptáků byl prokázán vliv intervalu (ANOVA: $Df = 2$, $F = 5.576$, $p = 0.007$), věku (ANOVA: $Df = 1$, $F = 5.833$, $p = 0.020$) (viz graf 12) a barvy pozitivního stimulu (ANOVA: $Df = 1$, $F = 15.769$, $p < 0.001$) (viz graf 10) na počet úspěšně vyřešených kol v paměťovém testu. Průkazná je i interakce mezi barvou pozitivního stimulu a intervalem (ANOVA: $Df = 2$, $F = 4.185$, $p = 0.022$) (viz graf 14) a mezi barvou S+ a věkem ptáků (ANOVA: $Df = 1$, $F = 5.091$, $p = 0.029$). Nejlepších výsledků dosahovali ptáci s jednohodinovým intervalem. Pokud byl podnět barvy zelené byli ptáci také úspěšnější. Nejlepší výsledky pak má ta skupina, u které dochází ke kombinaci těchto dvou faktorů. Víceletí ptáci dosahovali horších výsledků než jednoletí a to hlavně pokud byl pozitivní stimul červené barvy (viz graf 13). Nebyl prokázán vliv pohlaví (ANOVA: $Df = 1$, $F = 1.183$, $p = 0.283$). Neprůkazné jsou také interakce mezi intervalem a věkem (ANOVA: $Df = 2$, $F = 0.009$, $p = 0.991$), barvou pozitivního stimulu a pohlavím (ANOVA: $Df = 1$, $F = 0.521$, $p = 0.474$),

intervalem a pohlavím (ANOVA: Df = 2, F = 0.459, p = 0.634) a věkem a pohlavím (ANOVA: Df = 1, F = 0.131, p = 0.719).

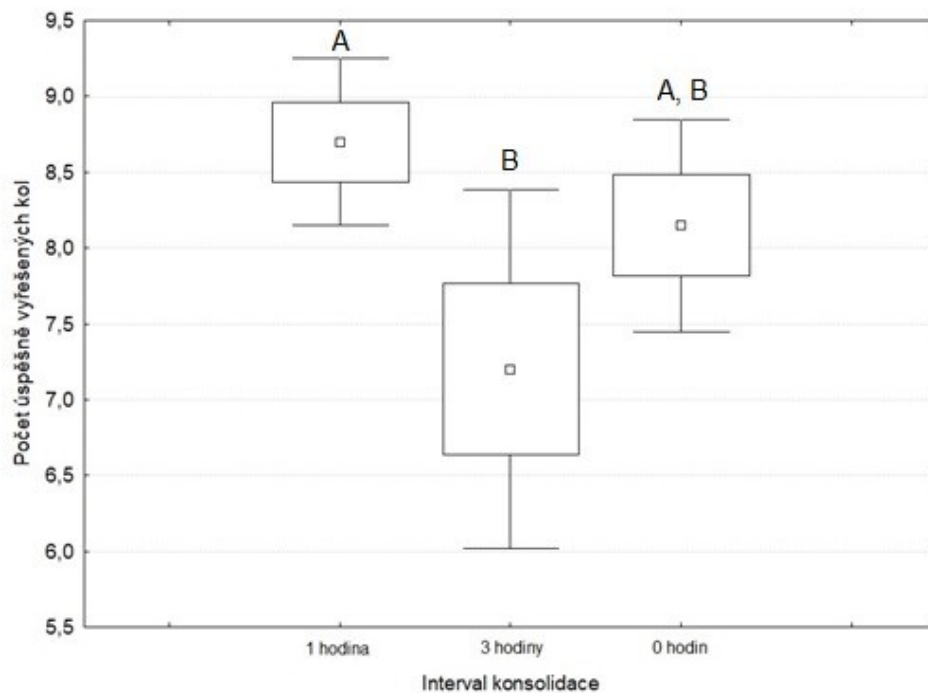


Graf 10 – Vliv bravy pozitivního stimulu na úspěšnost v paměťovém testu adultů; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

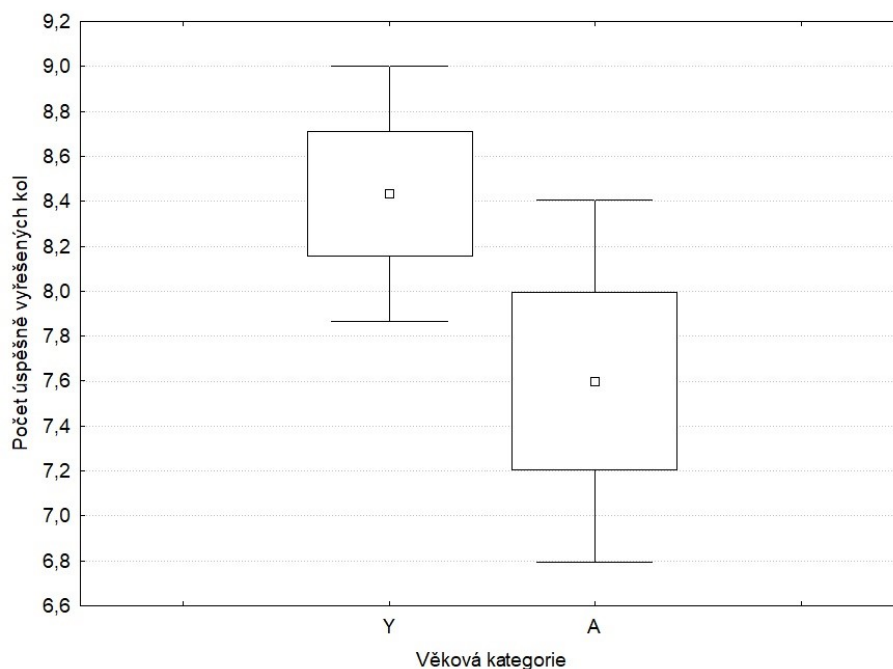
Porovnány byly výsledky skupin dospělých ptáků s různými intervaly konsolidace. Nejlepších výsledků dosahují jedinci, kteří mají interval jednodinový. Lepších výsledků než skupina s tříhodinovým intervalem dosahuje i kontrolní skupina s nulovým intervalem, rozdíl je ale pouze marginální. Měření bylo provedeno pomocí Fisherova post-hoc testu (viz tabulka 5 a graf 11).

Tabulka 5 – Porovnání úspěšnosti v paměťovém testu mezi jednotlivými skupinami adultů. Fisher post-hoc test. Signifikantní *p* hodnoty jsou zvýrazněny tučně.

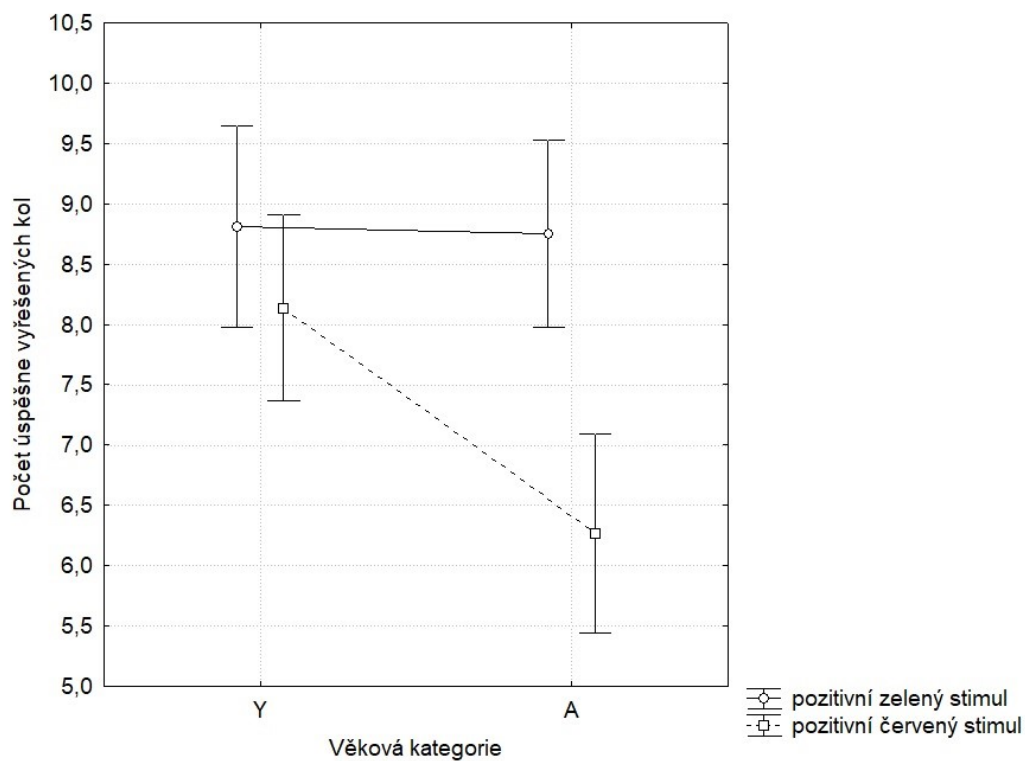
Interval	1 hodina	3 hodiny
1 hodina	-	-
3 hodiny	0,003258	-
0 hodin	0,260448	0,055184



Graf 11 – Vliv intervalu konsolidace na úspěšnost v paměťovém testu u adultů; písmena (A, B) označují homogenní skupiny podle Fisherova LSD testu, které se neliší na pětiprocentní hladině průkaznosti; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

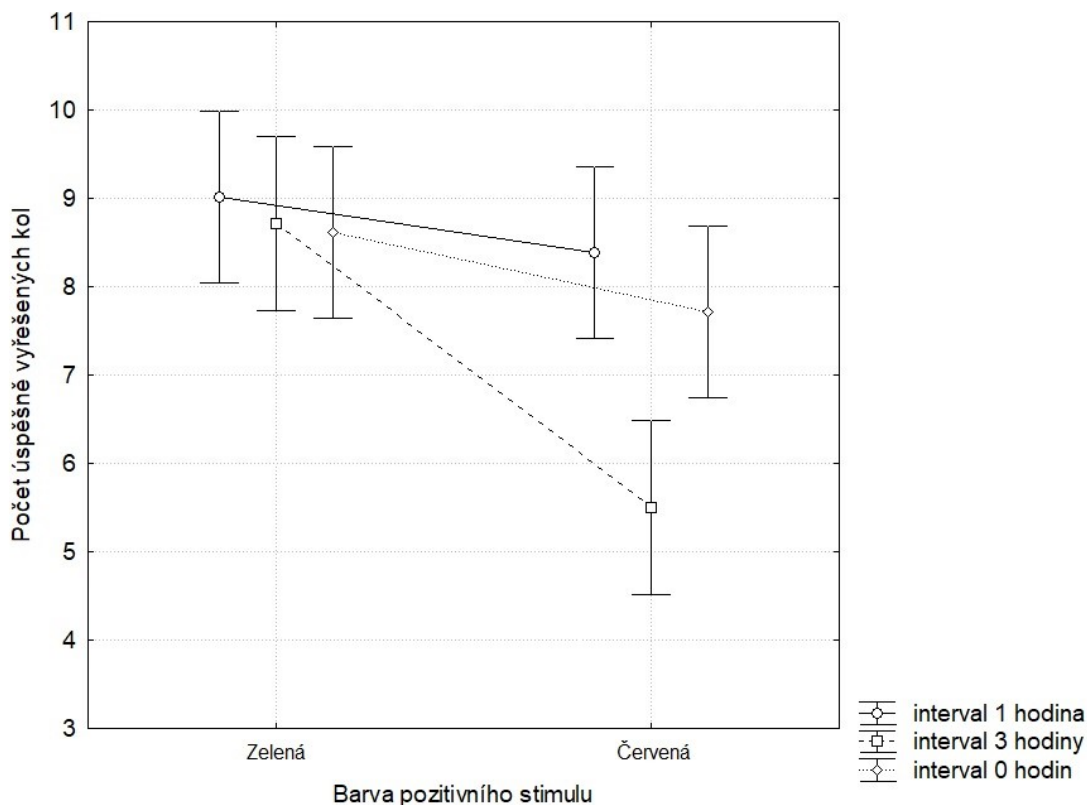


Graf 12 – Rozdíl v úspěšnosti v paměťovém testu adultů mezi jednoletými (Y) a víceletými (A); boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)



Graf 13 – Vliv interakce mezi barvou pozitivního stimulu a věkem ptáka na úspěšnost v paměťovém testu adultů, Y – jednoletí, A – víceletí; body znázorňují průměr a vertikální úsečky konfidenční interval (95%)

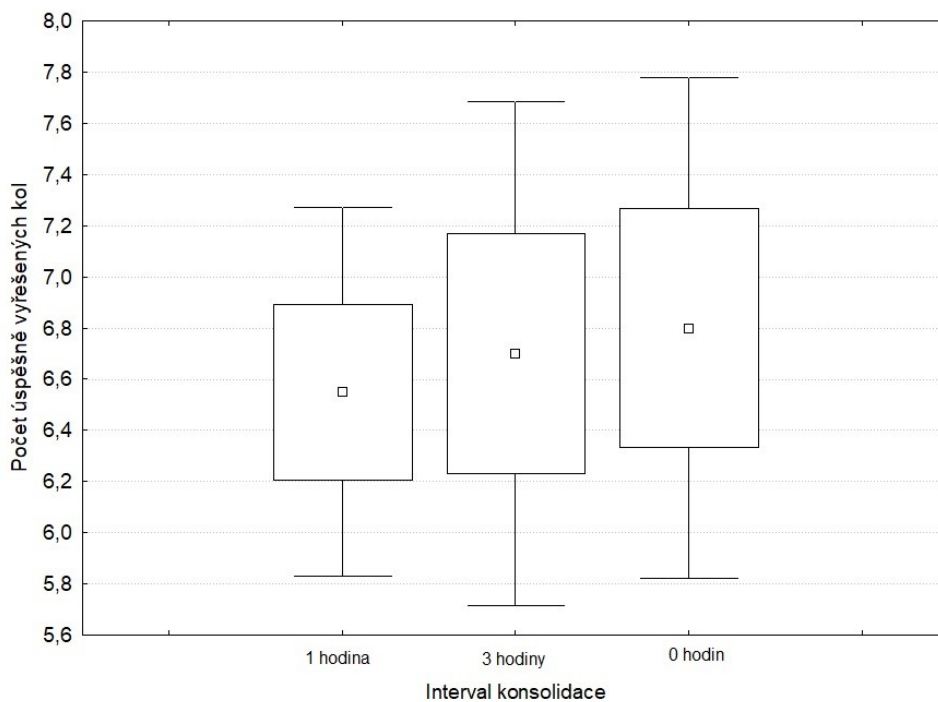
Vliv barvy pozitivního stimulu na úspěšnost v paměťovém testu není u jednoletých ptáků tak markantní, jako je tomu u víceletých. Pokud je stimul červené barvy dosahují značně horších výsledků. Pokud je pozitivní stimul zelený, jsou výkony obou věkových kategorií podobné.



Graf 14 – Vliv interakce mezi barvou pozitivního stimulu a intervalem konsolidace na úspěch v paměťovém testu adultů; body znázorňují průměr a vertikální úsečky konfidenční interval (95%)

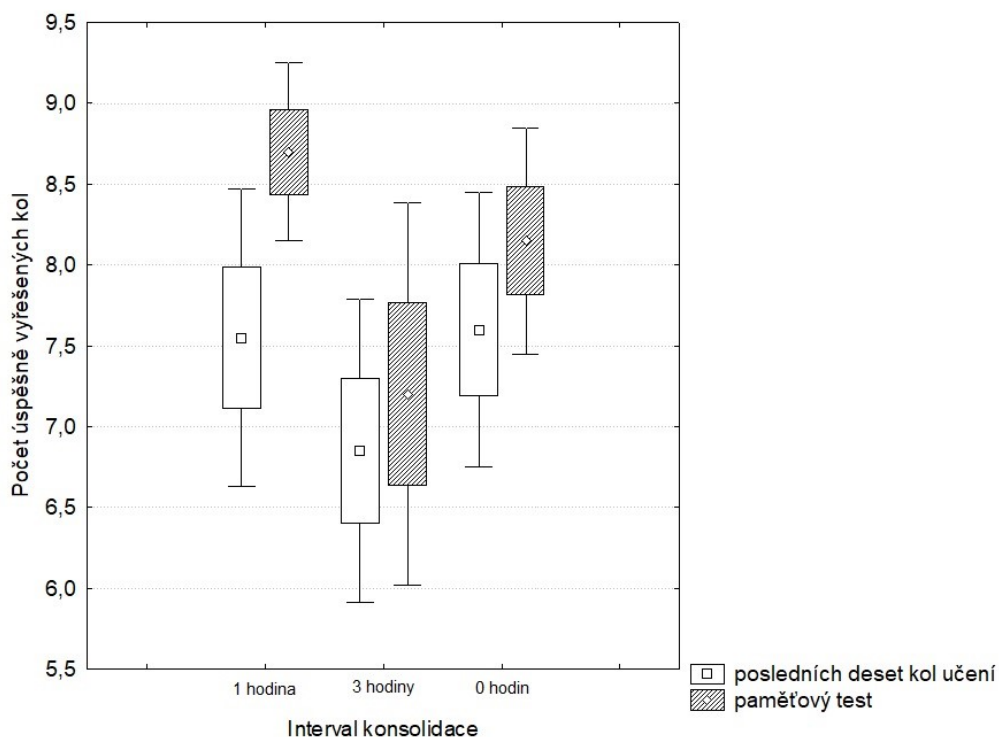
Pokud je pozitivní stimul červené barvy, je pro adultní ptáky úloha náročnější. Všechny skupiny dosahují horších výsledků, než když je stimul zelený. Patrné jsou větší rozdíly mezi skupinami a větší rozptyl v úspěšnosti.

Všechny skupiny juvenilů s různými intervaly konsolidace dosahují obdobných výsledků. Interval (ANOVA: $Df = 2$, $F = 0.083$, $p = 0.920$) (viz graf 15) ani barva (ANOVA: $Df = 1$, $F = 1.269$, $p = 0.264$) tedy vliv nemají. Neprůkazná je i interakce mezi faktory (ANOVA: $Df = 2$, $F = 0.347$, $p = 0.708$).



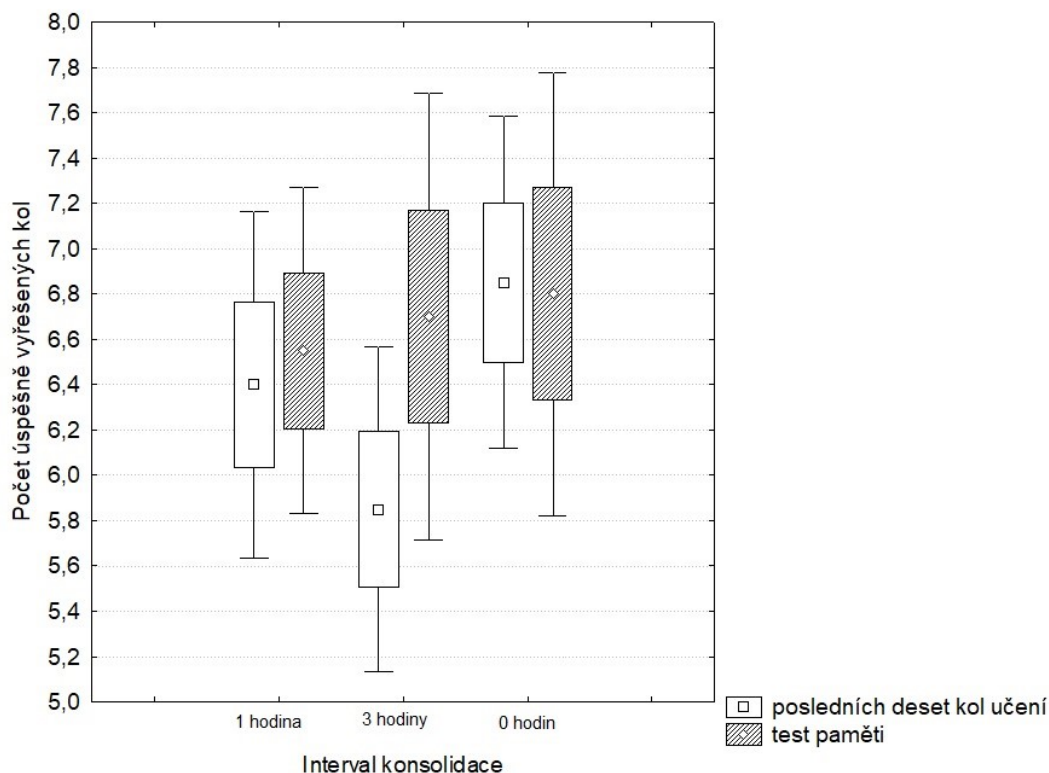
Graf 15 – Vliv intervalu konsolidace na úspěšnost v paměťovém testu juvenilů; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

Poté bylo provedeno srovnání úspěšnosti v posledních deseti kolech diskriminačního učení a v paměťovém testu. Výsledky byly vypočítány zvlášť pro adulty a zvlášť pro juvenilny. U dospělých ptáků jsou viditelné rozdíly. Zatímco u kontrolní skupiny není patrný rozdíl úspěšnosti (párový t-test: $N = 20$, $t = -1.177$, $p = 0.254$), u skupiny s jednohodinovým intervalem byl zaznamenán signifikantní rozdíl (párový t-test: $N = 20$, $t = -2.881$, $p = 0.011$). Ani skupina s tříhodinovým intervalem nedosahuje rozdílných výsledků, (párový t-test: $N = 20$, $t = -0.924$, $p = 0.367$). Trend ke zlepšení je tedy patrný u všech skupin, průkazný je ovšem jen u skupiny s jednohodinovým intervalem (viz graf 16).



Graf 16 – Rozdíl úspěšnosti jednotlivých intervalových skupin mezi posledními deseti koly diskriminačního učení a paměťovým testem u adultů; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

Skupina ptáčat s jednohodinovým intervalem (t-test: $N = 20$, $t = -0.278$, $p = 0.783$) ani skupina kontrolní s nulovým intervalem (t-test: $N = 20$, $t = 0.114$, $p = 0.910$) nedosahují výrazně rozdílných výsledků v učení a v paměťovém testu. Patrný je rozdíl u skupiny s tříhodinovým intervalem (t-test: $N = 20$, $t = -1.761$, $p = 0.094$), ale není průkazný (viz graf 17).



Graf 17 - Rozdíl úspěšnosti jednotlivých intervalových skupin mezi posledními deseti koly diskriminačního učení a paměťovým testem u juvenilů; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

4.2. Dlouhodobá paměť

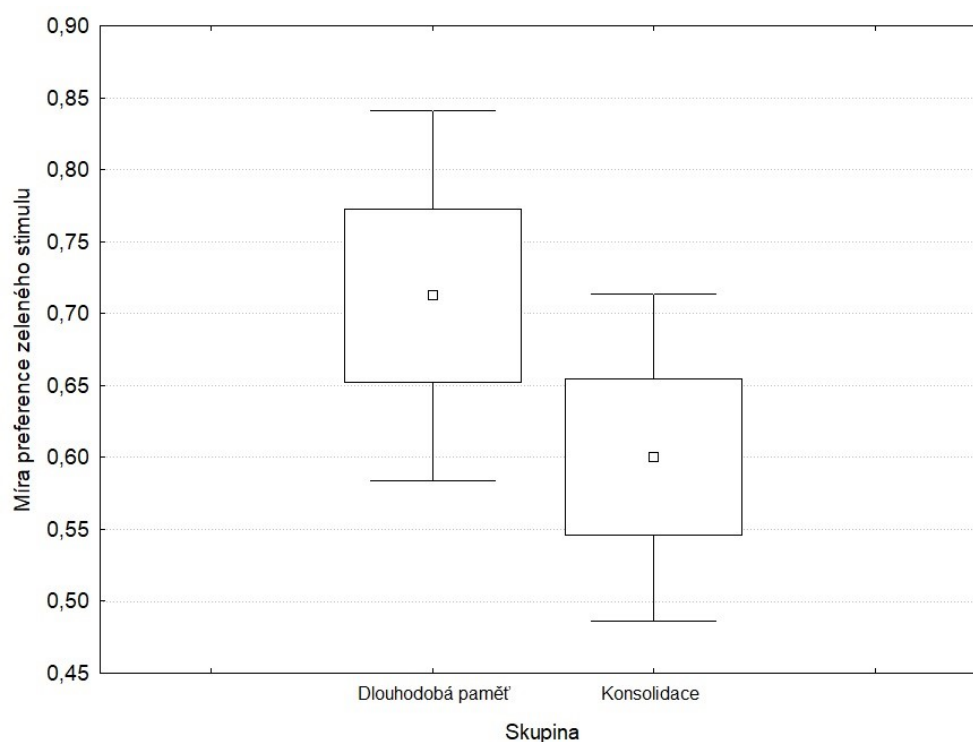
4.2.1. Preferenční test

Bylo otestováno, zda ptáci během pěti kol preferenční úlohy nevybírali více plošticí jedné barvy. Z výsledků vyplývá, že sýkory jednoznačně preferovaly stimul zelené barvy (single-sample t-test: $N = 16$, $t = 3.514$, $p = 0.003$). Následně byl pomocí Spearmanova korelačního koeficientu proveden test, ověřující, zda existuje korelace mezi preferovanou barvou a úspěšností v prvních deseti a posledních deseti kolech učení, testu paměti a testu dlouhodobé paměti. Ve výsledcích tato korelace prokázána nebyla (viz tabulka 6).

Tabulka 6 – Test korelace mezi preferovanou barvou pozitivního stimulu a úspěšnosti v diskriminačním učení a testech paměti. Spearmanův korelační koeficient. NS – not significant.

	Hodnota korelačního koeficientu
1. deset kol učení	0.323 (NS)
4. deset kol učení	-0.353 (NS)
Test paměti	-0.193 (NS)
Test dlouhodobé paměti	-0.231 (NS)

Dále bylo t-testem otestováno, zda se liší iniciální preference pro zelenou barvu mezi skupinou testovanou v experimentu zaměřeném na dlouhodobou paměť a náhodně vybranými 16-ti jedinci ze skupiny testované na konsolidaci paměti (viz graf 18). Podle získaných výsledků, ptáci testovaní s červenými plošticemi s černým vzorem preferují více zelenou barvu než ptáci testovaní s červenou plošticí bez vzoru (t-test: Df = 15, t = 2.239, p = 0.032).



Graf 18 – Porovnání míry preference zelené barvy stimulu mezi skupinami s červeným stimulem s černým vzorem (Dlouhodobá paměť) a s červeným stimulem bez vzoru (Konsolidace); boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

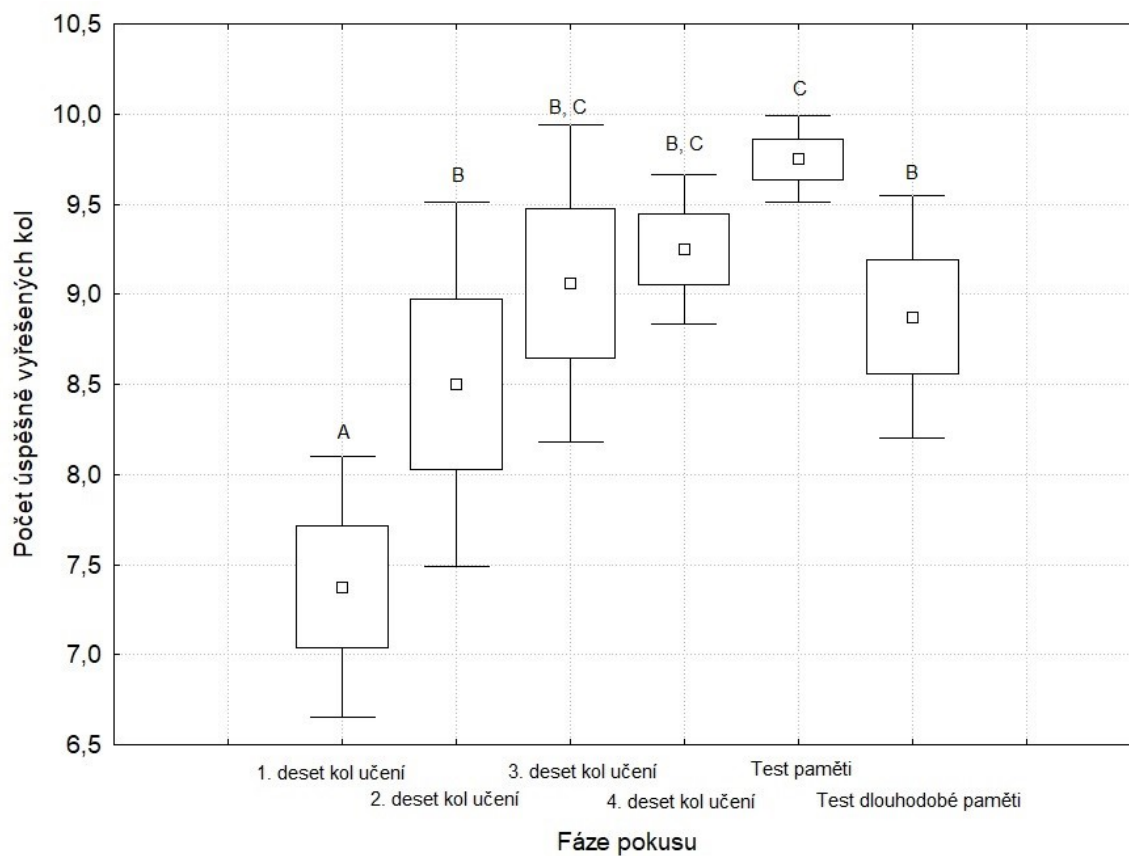
4.2.2. Diskriminační učení a paměťový test

Porovnán byl počet správně vyřešených kol v jednotlivých fázích učení. V průběhu diskriminačního tréninku se zvyšuje počet správně vyřešených kol (repeated-measures ANOVA: Df1 = 5, F = 7.599, $p < 0.001$). Nejvyšší úspěšnost byla zaznamenána v paměťovém testu po 24 hodinách, nebyla ale prokázána odlišnost od posledních deseti kol učení. V testu dlouhodobé paměti po jednom měsíci bylo prokázáno zhoršení oproti prvnímu paměťovému testu. Stejně úspěšnosti ovšem ptáci dosahovali v posledních deseti kolech učení a úspěšnost byla větší než na počátku tréninku během prvních deseti kol (viz tabulka 7 a graf 19).

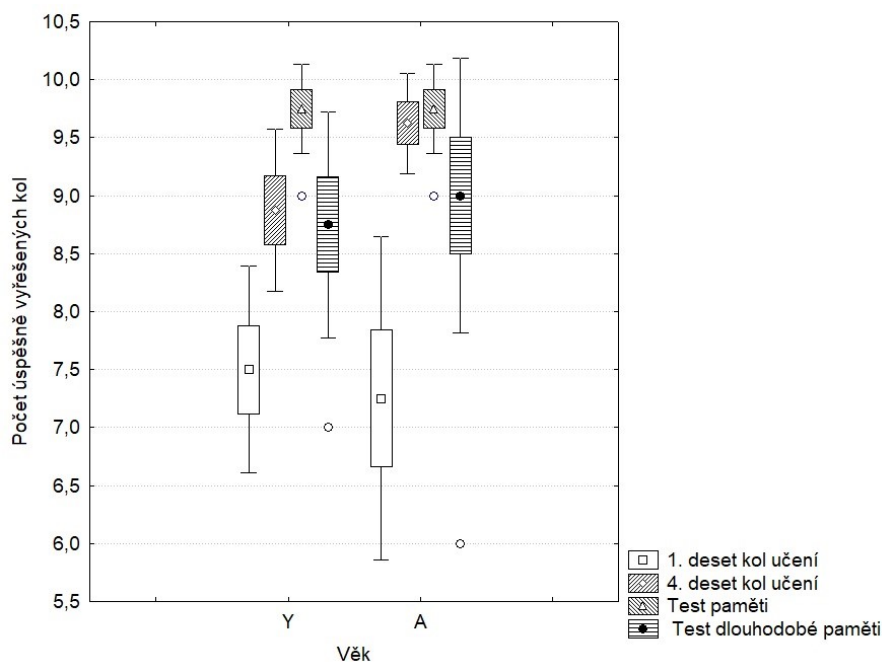
Nebyla prokázána interakce mezi věkem a úspěšností (repeated-measures ANOVA: Df1 = 5, F = 0.619, $p = 0.686$) ani mezi pohlavím a úspěšností (repeated-measures ANOVA: Df1 = 5, F = 0.056, $p = 0.998$). Samostatný vliv věku také nebyl prokázán (repeated-measures ANOVA: Df1 = 1, F = 0.979, $p = 0.342$) (viz graf 20) a signifikantní nebyl ani vliv pohlaví (repeated-measures ANOVA: Df1 = 1, F = 0.043, $p = 0.841$) (viz graf 21).

Tabulka 7 – Porovnání úspěšnosti v jednotlivých fázích učení, v paměťovém testu po 24 hodinách a v testu dlouhodobé paměti po jednom měsíci. Fisher LSD post-hoc test, signifikantní p hodnoty jsou zvýrazněny tučně

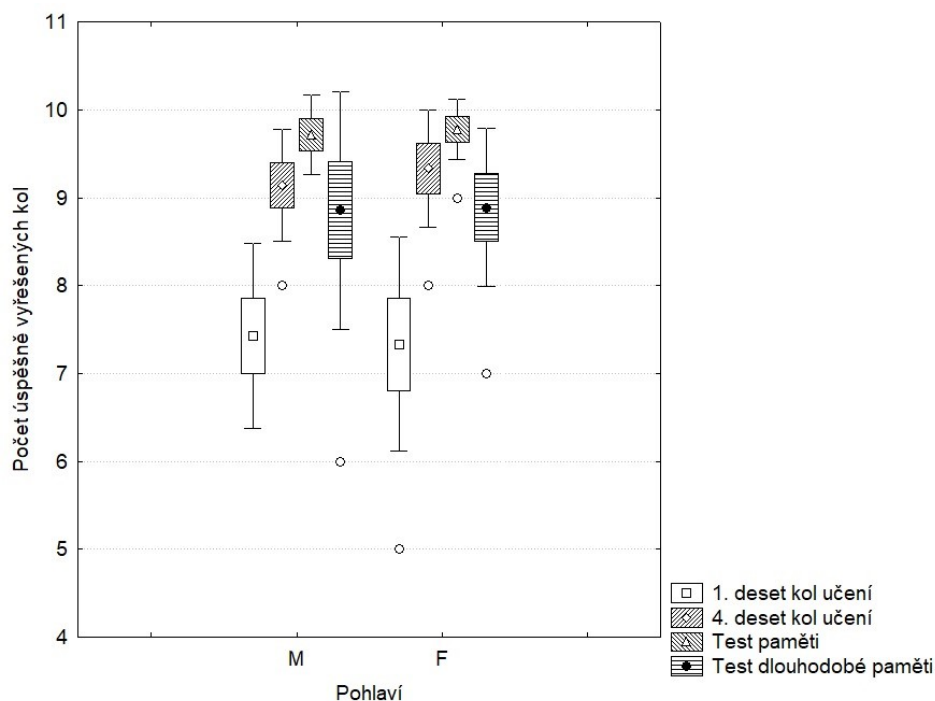
	1. deset kol učení	2. deset kol učení	3. deset kol učení	4. deset kol učení	Paměťový test
1. deset kol učení	-	-	-	-	-
2. deset kol učení	0.010506	-	-	-	-
3. deset kol učení	0.000200	0.191583	-	-	-
4. deset kol učení	0.000045	0.083322	0.661325	-	-
Paměťový test	0.000001	0.004720	0.111707	0.245015	-
Test dlouhodobé paměti	0.000825	0.382083	0.661325	0.382083	0.044282



Graf 19 - Porovnání úspěšně vyřešených kol mezi jednotlivými fázemi učení, testem paměti a testem dlouhodobé paměti; písmena (A, B, C) označují homogenní skupiny podle Fisherova LSD testu, které se neliší na pětiprocentní hladině úspěšnosti; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)



Graf 20 - Vliv věku na počet úspěšně vyřešených kol mezi prvními a čtvrtými deseti koly diskriminačního učení, paměťovým testem a testem dlouhodobé paměti, kategorie Y – jednoletí, A – víceletí; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)



Graf 21 - Vliv pohlaví na počet úspěšně vyřešených kol mezi prvními a čtvrtými deseti koly diskriminačního učení, testem paměti a testem dlouhodobé paměti, kategorie M – samec, F – samice; boxy znázorňují: průměr, střední chybu průměru (SE) a konfidenční intervaly (95%)

5. Diskuze

5.1. Konsolidace paměti

5.1.1. Preferenční test

V rámci preferenčního testu bylo hodnoceno, zda ptáci disponují preferencí pro jeden ze dvou typů kořisti. Ve výsledcích této úlohy je patrný rozdíl mezi dospělými sýkorami a ptáčaty. Zatímco adultní jedinci neprojevili žádnou preferenci, juvenilové preferovali červenou. Jelikož většina rostlin signalizuje červenou barvou zralost plodu, je jedním z možných vysvětlení tohoto jevu fakt, že naivní ptáčata bez předchozích zkušeností s aposematickým hmyzem kategorizují červenou kořist spíše jako zralý plod. Zatímco dospělí ptáci, kteří se v přírodě často setkávají s výstražně zbarvenou kořistí dokáží lépe červenou plošticí zařadit a původní preference pro barvu plodu je potlačena. Tento závěr vyplývá i z práce Schmidt a Schaefer (2004), kde ptáčata pěnice černohlavé (*Sylvia atricapilla*) preferovala červenou barvu kořisti oproti bílé, žluté, zelené nebo modré. Zatímco dospělí ptáci nejevili preferenci ani pro jednu z barev. V práci Gamberale-Stille a Tullberg (2001) byla testována naivní kuřata se stimuly zelené a červené barvy. Pokud tyto stimuly představovaly kousky potravy ve tvaru ovoce, nebyla nalezena žádná preference. Pokud ale byly stimuly obarvené nymfy hmyzu (*Graptosedum servus*), preferovala kuřata zelenou před červenou kořistí. Rozdílná reakce na odlišné typy kořisti stejných barev by mohla být zapříčiněna tvarem kořisti. Kuřata rozlišovala mezi kulatým tvarem ovoce a tvarem hmyzího těla a podle toho projevovala své preference. Podobné reakce byly pozorovány u mladých odchycených pěnic černohlavých (*Sylvia atricapilla*). Ty také nepreferovali žádnou barvu pokud kořist byla ovoce, pokud se ale jednalo o hmyz, preferovali ptáci opět zelenou barvu (Gamberale-Stille a Tullberg, 2007).

5.1.2. Diskriminační učení

Hodnocení úspěšnosti v diskriminační úloze probíhalo několika způsoby. Pokud porovnáme rychlost a úspěšnost učení se averzního podnětu u adultních a juvenilních jedinců, výrazně lepších výsledků dosahují dospělí ptáci. Vyšší počet správně zvolených pozitivních stimulů v posledních deseti kolech učení u adultů může být zapříčiněn jejich předchozí zkušeností z volné přírody, kde se denně setkávají s různými typy nepalatabilní kořisti. Tato zkušenost, kterou ručně odchovaná ptáčata nedisponují, může značně ovlivnit rychlost a efektivitu učení (Lindström et al., 2001). Horší výsledky ptáčat byly zaznamenány i v experimentu, kde testovali medosavky hvízdavé (*Notiomystis cincta*). Obarvená krmítka byla umístěna na určité místo, jakmile se ptáci naučili tuto polohu, byla krmítka přemístěna. Ptáčata

se na rozdíl od dospělých ptáků častěji vracela na prázdná místa a adulti si lépe asociovali barvu krmítka s potravou. Tento výsledek si autoři vysvětlují, jako možný stále pokračující muskuloskeletální a neurologický růst nebo nedostatek zkušeností při interakci s prostředím, ve kterém dospělí ptáci žijí déle a lépe se v něm vyznají (Franks a Thorogood, 2018). Podle Exnerové et al. (2015) může být vyšší míra neofobie u naivních ptáčat také důvodem, proč adulti dosahují lepších výsledků v averzivním diskriminačním učení.

Jak u ptáčat, tak ani u dospělých sýkor nebyl prokázán vliv intervalu konsolidace na úspěšnost učení. Pokud vycházíme z práce Siddall a Marples (2008), měl by se vliv intervalu projevit již v posledních deseti kolech diskriminačního učení, poté co interval proběhnul. Měli by tedy být úspěšnější ti ptáci, u kterých došlo ke konsolidaci. Možným vysvětlením by byl fakt, že intervaly jedné a tří hodin nebyly dostatečně dlouhé a konsolidace proto nestačila proběhnout.

Dospělí ptáci

V rámci skupiny adultních ptáků byl prokázán pouze vliv barvy pozitivního stimulu na úspěšnost v posledních deseti kolech diskriminačního učení. Na průběh a úspěšnost během celého tréninku tedy neměl vliv ani interval konsolidace ani pohlaví a věk zvířete. Nejlepších výsledků dosahovali ptáci v experimentu, kdy byla jako pozitivní stimul zvolená zelená plošnice. Výrazně rychlejší diskriminační učení v tomto případě lze vysvětlit opět jako efekt předchozí zkušenosti. Jelikož mnoho nejedlých aposematických kořistí signalizuje nepalatabilitu pomocí červeného zbarvení, mají ptáci tendenci si tuto barvu asociovat s nepoživatelností. To může nastat i v případě, že v experimentu tato barva představuje podnět pozitivní a ptákům poté trvá déle, než si vytvoří asociaci jinou, než jaká je pro ně běžná z přírody. V rozporu s těmito výsledky je ale práce Ham et al. (2006), kde si testované sýkory koňadry asociovaly červenou barvu s pozitivním podnětem stejně rychle jako barvu šedou. Nicméně v práci Kišelové (2014) se dospělé sýkory koňadry také naučily diskriminovat rychleji pokud byl pozitivní stimul zelené barvy spíše než pokud byl červený.

Během celého diskriminačního učení se postupně zvyšoval počet správně zvolených pozitivních stimulů. Ptáci se tedy úspěšně naučili asociovat barevné podněty s jejich poživatelností, tak jako tomu v řadě dalších prací (Svádová et al., 2009; Aronsson a Gamberale-Stille 2008; Aronsson a Gamberale-Stille 2009; Lindström et al., 1999; Gamberale-Stille a Guilford, 2003).

Ptáčata

Na rozdíl od dospělých ptáků nebyl u ptáčat prokázán vliv barvy pozitivního stimulu na rychlost a úspěšnost diskriminačního učení. Přestože ptáčata dosahují v učení horších výsledků v porovnání s dospělými ptáky, u všech testovaných skupin je patrný progresivní vývoj. Ptáčata tedy úspěšně prošla všemi fázemi averzního učení a nehledě na barvu pozitivního stimulu či na interval pro konsolidaci, se naučila vyhýbat negativnímu stimulu. Tento výsledek může opět podpořit hypotézu, podle které si ptáci nesou zkušenost s aposematickými kořistmi z přírody a jelikož u sýkor koňader nebyla prokázána vrozená averze k určitým barvám (Exnerová et al., 2006), nemá na úspěšnost ptáčat při učení vliv barva pozitivního stimulu. Pokud ale porovnáme různé druhy sýkor, vykazují naivní ptáčata odlišné reakce na novou kořist. Na rozdíl od koňader jsou sýkory modřinky (*Cyanistes caeruleus*) více opatrné, co se týče nové kořisti, což může být dáno například jejich tělesnou velikostí (Adamová-Ježová et al., 2016).

5.1.2. Paměťový test

V paměťovém testu bylo hodnoceno, kolik pozitivních stimulů bude subjekty vybráno během deseti kol, která následovala 24 hodin po diskriminačním tréninku. Podobně jako při učení i v tomto testu dosahovali dospělí ptáci lepších výsledků než ptáčata. Nejúspěšnější byli v testu paměti dospělí ptáci, kteří byli testováni s pozitivním stimulem zelené barvy a s intervalem jedné hodiny. U ptáčat vliv intervalu ani barvy prokázán nebyl. Rozdíl v barevných volbách mezi juvenilny a adulty by mohl být vysvětlen teorií, podle které se naivní ptáčata musí nejdříve naučit, že ne všechna kořist je požitelná a naučit se, jak mezi nimi rozlišovat. Poté by mělo nastat období, kdy jsou ptáci velmi opatrní a později díky získaným zkušenostem zase zkoušejí nové typy kořisti (Schuler, 1982).

Ptáčata

Pokud se zaměříme na výsledky ptáčat, vyplývá z nich, že všechny tři testované skupiny dosahují obdobných výsledků. Vliv barvy pozitivního stimulu na úspěšné zapamatování si aposematické kořisti nebyl prokázán. Naivní ptáčata jsou tedy schopna asociovat si různé barevné stimuly s negativní zkušeností a tuto znalost si uchovat v paměti minimálně po dobu jednoho dne. Výsledky ptáčat jsou v souladu s prací Ham et al. (2006), kde se koňadry naučily asociovat jak barvy typicky aposematické, tak barvy neutrální s nepalatabilní kořistí. Hypotézu, podle které by měli být ptáci schopni asociovat s negativními stimuly nejen aposematické barvy podporují i další práce (Gamberale-Stille a Tullberg, 1999; Svádová et al., 2009). Řada prací se zabývá také vlivem jiných faktorů na učení a memorabilitu aposematické kořisti u ptáků.

Gamberale-Stille a Guilford (2003) předpokládají, že barva kořisti je důležitějším prvkem než kontrast s pozadím či vnitřní pattern. Vnitřní kontrast by měl pravděpodobně fungovat k přitáhnutí pozornosti predátora a tím i zlepšit efektivitu učení (Osorio et al., 1999). Mnoho experimentů dokazuje, že kontrast kořisti s pozadím urychluje averzivní učení. Kuřata v práci Roper a Wistow (1986) více útočila na kořist kontrastní s pozadím než na tu, která se s pozadím barevně shodovala. S těmito výsledky se shoduje i Roperova práce i roku 1994, kde byla kuřata testována s modrými a zelenými stimuly. Pokud jim byla kořist předkládána na kontrastním pozadí, útočila na ni méně. Tyto výsledky potvrdili práci Ropera a Redstona (1987), podle níž by měla jediná zkušenost s nepalatable kořistí, předložené na kontrastním pozadí stačit k tomu, aby se jí v budoucnu zvíře vyhýbalo více, než pokud pozadí kontrastní nebylo. V rozporu s výsledky těchto prací je experiment, kde testovali zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*). Červená či šedá kořist byla ptákům předkládána vždy na šedém pozadí. Autoři nezaznamenali rozdíl v míře útoků na jednotlivé kořisti (Sillén-Tullberg, 1985). Kontrast s pozadím by tedy nemusel být nezbytnou součástí aposematického zbarvení, přesto pravděpodobně ovlivňuje rychlost a efektivitu diskriminačního učení.

Juvenilní sýkory s intervalem pro konsolidaci jedna hodina, tři hodiny a i kontrolní skupina bez tohoto intervalu dosahují velmi podobných výsledků. Z těchto výsledků proto nelze určit interval, ve kterém by měla proběhnout konsolidace paměti. Přestože ptáčata dosahují mírně horších výsledků než dospělí ptáci, prošla testem paměti úspěšně všechna. Rozdíl mezi úspěšností v posledních deseti kolech učení a v paměťovém testu nebyl u ptáčat také prokázán.

V práci Siddall a Marples (2008) byla testována kuřata (*Gallus gallus domesticus*) s aposematickou nepalatable žlutou kořistí a zelenou palatable. Ptáci byli rozděleni do skupin, kdy polovina byla testována pouze s barevnými stimuly a druhá polovina měla žlutou kořist v kombinaci s pyrazinem. Interval pro konsolidaci byl u všech skupin stanoven na tři hodiny a test paměti byl proveden po 96 hodinách. Přestože všechny skupiny byly v paměťovém testu úspěšnější než na úplném začátku tréninku, pouze skupina s negativním stimulem obohaceným o pyrazin atakovala méně žlutých kořistí než v průběhu jednotlivých fází experimentu. Ty skupiny, které byly testovány se stimuly bez pyrazinu dosahovaly v testu paměti téměř totožných výsledků. Je tedy možné, že průběh konsolidace a výsledná memorabilita aposematické kořisti je ovlivněna také multimodalitou výstražných signálů. Ty by pro formování paměti nezkušených ptáčat mohly být zásadnější, než jak je tomu u dospělých zkušených jedinců.

V práci Atkinson et al. (2003) kuřata diskriminovala mezi červenými jedlými kousky potravy a žlutými nejedlými. Byly vytvořeny skupiny lišící se v intervalu, kdy byl injekčně vpraven anisomycin do intermediálního mediálního hyperstriáta ventrale, a to buď 15 minut před zahájením tréninku, 45 minut po jeho ukončení nebo 120 minut po ukončení. Test paměti probíhal po 24 hodinách. Z výsledků vyplývá, že tvorba dlouhodobé paměti byla ovlivněna pouze u prvních dvou skupin, v tomto období by tedy měla proběhnout konsolidace, což je ovšem v rozporu s prací Siddall a Marples (2008), podle níž by konsolidace u kuřat měla probíhat během tří hodin po tréninku. Tento interval autoři stanovili záměrně delší, jelikož se domnívali, že formování paměti kuřat probíhá v rozmezí několika hodin po získání nové znalosti. Je tedy možné, že ke konsolidaci dochází i dříve, než po uplynutí třech hodin.

Dospělí ptáci

U dospělých sýkor byl zjištěn signifikantní rozdíl v úspěšnosti, odvíjející se od barvy pozitivního stimulu. Pokud byl pták trénován s pozitivním stimulem zelené barvy, dosahoval mnohem lepších výsledků v paměťovém testu. Tento výsledek by opět potvrzoval hypotézu vlivu předchozí zkušenosti, tak jako obdobné výsledky v diskriminační úloze.

Prokázán byl u adultů také vliv intervalu pro konsolidaci. Skupina s jednohodinovým intervalem konsolidace dosahuje nejlepších výsledků. Proces konsolidace paměti by tedy měl probíhat v intervalu jedné hodiny od získání nové znalosti.

Fakt, že neúspěšnější byla skupina s jednohodinovým intervalem potvrzuje i test, kdy je srovnán počet správně zvolených pozitivních stimulů v posledních deseti kolech učení a v paměťovém testu, kde tato skupina dosáhla nejlepších výsledků. Přestože tato skupina dosahuje nejlepších výsledků, není zcela jasné, zda opravdu konsolidace paměti probíhá během jedné hodiny po interakci s novým stimulem. Testovaná kuřata v práci Siddall a Marples (2008), která měla interval ke konsolidaci stanovený na tři hodiny, vykazovala mnohem lepší výsledky ihned po uběhnutí těchto tří hodin. V této práci ovšem sýkory ze všech intervalových skupin na konci diskriminačního učení dosahovaly podobných výsledků a rozdíl je pozorovatelný až v paměťovém testu po 24 hodinách. Faktem je i to, že pokud by konsolidace probíhala opravdu během jedné hodiny po získání nové znalosti, ptáci testovaní s intervalem tří hodin by touto fází prošli také a proto by měli v testu paměti být stejně úspěšní jako ptáci s intervalem jedné hodiny.

V experimentu zaměřeném na konsolidaci paměti byly testovány například i sýkory černohlavé (*Poecile atricapillus*). Tento druh pocházející z Ameriky je známý ukládáním

potravy. V tomto experimentu byl ptákům podán anisomycin, inhibující tvorbu nových proteinů, buďto 0 a 2 hodiny po uložení potravy nebo 4 a 6 hodin po uložení potravy. Následně byla po 24 hodinách otestována jejich paměť tak, že byli ptáci na 20 minut vypuštěni zpět do voliéry. V porovnání s kontrolní skupinou, které nebyl podán anisomycin, dosahovali ptáci signifikantně horších výsledků, přičemž nejvíce pokusů potřebovala k nalezení potravy skupina, které byla látka podána 4 a 6 hodin po uložení potravy (Barrett a Sherry, 2012). Z výsledku tohoto experimentu vyplývá, že pokud je narušena syntéza proteinu krátce po získání nové znalosti, je narušeno i formování paměti pro tuto informaci. Konsolidace paměti v tomto experimentu pravděpodobně probíhala v rozmezí 4 a 6 hodin po tréninku. Je tedy možné, že v této diplomové práci nebyl použit optimální interval pro konsolidaci, který by mohl být delší a proto by bylo zapotřebí provést další experimenty.

Pokud porovnáme různé experimenty, zaměřené na proces ukládání nové informace do dlouhodobé paměti, je z jejich výsledků patrné, že ke konsolidaci opravdu dochází během několika málo hodin po získání nové znalosti a nezbytná je syntéza nových proteinů. Rozdílné výsledky, co se týče intervalu, kdy konsolidace probíhá můžou mít různá vysvětlení. Je například možné, že odlišné morfologické druhy disponující odlišnými vlastnostmi mohou variovat nejen v kapacitě paměti, ale také v procesu její tvorby. Rozdíly mezi adulty a juvenily by mohl být zapříčiněn stále probíhajícím muskuloskeletálním a neurologickým růstem u ptáčat stejně jako jejich nezkušeností s testovanými stimuly. V neposlední řadě může rozdílné výsledky konsolidačních pokusů zapříčiňovat také odlišný design experimentů, jelikož některé testy zahrnují averzivní diskriminanci učení aposematické kořisti a jiné zase testují paměť ptáků při ukládání potravy (Hale a Crowe, 2002; Siddall a Marples, 2008; Barrett a Sherry, 2012).

Patrný rozdíl můžeme pozorovat i mezi věkovými kategoriemi v rámci dospělých ptáků. Úspěšnější jsou v paměťovém testu jednoletí ptáci v porovnání s víceletými. Tento rozdíl by mohl být zapříčiněn tím, že mladší ptáci prochází obdobím, kdy jsou opatrnější v interakcích s novou potravou. To by bylo v souladu s prací Lindström et al. (1999), kde jednoleté koňadry značně více preferovaly hnědé larvy potemníka moučného, na rozdíl od víceletých ptáků, kteří vybírali více larev s černožlutými pruhy.

Prokázána byla i interakce mezi věkem a barvou pozitivního stimulu. Pokud byl stimul zelené barvy dosahovali jednoletí i víceletí ptáci podobných výsledků. Pokud byl ovšem pozitivní stimul červený, jednoleté sýkory si ho dokázaly lépe zapamatovat než ty víceleté. Možným vysvětlením by mohlo být to, že zkušenost dospělých ptáků je na rozdíl od těch

mladších silnější. Asociovat si známou červenou barvu nepoživatelné kořisti s novým poživatelným stimulem by pro ně proto mohlo být těžší.

5.2. Dlouhodobá paměť

5.2.1. Preferenční test

V rámci preference byla hodnocena celková volba určitého typu kořisti v rámci pěti kol testu. Dospělé sýkory koňadry většinou preferovaly zelenou barvu plošnice. Řada prací potvrzuje fakt, že se dospělé sýkory v experimentech více vyhýbají výstražně zbarvené aposematické kořisti. Lindström et al. (1999) použili larvy potěmníků moučných obarvených na hnědo, žluto nebo černo a černo-žlutě pruhovaných. Signifikantně nejvíce se ptáci vyhýbali pruhovaným kořistem a nejvíce preferovali hnědou neaposematickou larvu. V dalším experimentu byl jako stimul použit kousek buráku přilepený pod kartonový čtverec různých aposematických barev (červená, žlutá, oranžová) a šedé barvy. Ani zde ptáci nepojídali kořist v náhodném pořadí, ale byli více ochotní pozřít šedý stimul (Ham et al., 2006). Je tedy možné, že dospělí odchycení ptáci disponují jistou naučenou averzí vůči aposematickým barvám a tato averze má původ v diskriminačním učení, kterým si zvířata procházejí ve volné přírodě.

Vliv přítomnosti černého vzoru na červené plošnici na míru preference zelené plošnice byl prokázán, když jsme porovnali rozdíl mezi skupinou testovanou pouze se zelenou a červenou plošnicí a skupinou testovanou se zelenou plošnicí a červenou s černým vzorem. Pokud měli ptáci k dispozici plošnici se vzorem, vybírali si značně více plošnici zelenou. Tyto výsledky podporují hypotézu, že komplexní barevné vzory usnadňují averzní učení a zvyšují memorabilitu aposematické kořisti (Riipi et al., 2001; Aronsson & Gamberale-Stille, 2009). Podle řady prací sýkory koňadry ale nedisponují vrozenou preferencí či averzí pro určitý pattern a vyšší averze dospělých jedinců vůči plošnici se vzorem v tomto experimentu naznačuje, že se opět jedná o naučenou zkušenost z volné přírody (Rowe et al., 2004; Lindström et al., 2006; Lindström et al., 2001; Rowland et al., 2010). Rozdílné reakce na aposematickou kořist mezi geograficky oddělenými populacemi dospělých sýkor koňader byly zaznamenány v práci Exnerová et al. (2015), kde byla porovnána míra útoků na plošnici (*Pyrhocoris apterus*). Ptáci z Čech, kteří mají s touto plošnicí zkušenosti útočili značně méně než ptáci z Finska, kde se tato plošnice nevyskytuje.

5.2.2. Diskriminační učení a paměťový test

Testování ptáci se signifikantně lišili v jednotlivých fázích diskriminačního učení. Postupné zvyšování počtu správně vybraných pozitivních stimulů můžeme pozorovat napříč

celým tréninkem. To je v souladu s pracemi, které dokazují, že jsou ptáci schopni asociovat si určitou barvu s negativním či pozitivním podnětem (Gamberale-Stille a Guliford, 2003; Ham et al., 2006; Exnerová et al., 2006a; Aronsson a Gamberale-Stille, 2008). Nejvyšší úspěšnosti pak ptáci dosahují v paměťovém testu po 24 hodinách. Tyto výsledky korelují s řadou prací, ve kterých byli ptáci schopni diskriminovat jedlou a nejedlou kořist podle aposematického zbarvení a následně si tuto informaci také uložit do paměti (Ham et al., 2006; Johnston a Burne, 2008; Svádová et al., 2009).

V paměťovém testu, který probíhal po jednom měsíci, kdy ptáci nepřišli s testovanými stimuly do styku, bylo zaznamenáno zhoršení oproti prvnímu paměťovému testu. Výsledky testu dlouhodobé paměti jsou ale srovnatelné s výsledky posledních deseti kol učení. V porovnání s první fází tréninku byli tedy ptáci značně úspěšnější. Z těchto výsledků vyplývá, že pokud není naučená informace o podobě nepalatabilní aposematické kořisti posilována, časem vyprchává. Přesto se ale může v paměti zvířete uchovat po delší časový úsek. Tyto výsledky jsou v souladu s několika pracemi. Ručně odchovaná ptáčata sýkory koňadry, která prošla averzním diskriminačním tréninkem s aposematickou ruměnicí pospolnou (*Pyrrhocoris apterus*) projevovala tuto averzi ještě tři měsíce poté, co s plošticí nepřišla do styku. Na rozdíl od ptáčat trénovaných s hnědou formou této ploštice. Dospělé odchycené sýkory se ruměnicím vyhýbaly dokonce šest měsíců poté (Landová et al., in prep). Bogale et al. (2012) v experimentu s vranami hrubozubými (*Corvus macrorhynchos*), které se naučily diskriminovat mezi červenou a zelenou nebo žlutou a modrou barvou dosáhl úspěšných výsledků dokonce po deseti měsících. Vlhovci červenokřídli (*Agelaius phoeniceus*) si naučenou averzi vybavovali ještě čtyři měsíce poté, co prošli tréninkem (Rogers 1978). Prací, které by se zaměřovali na dlouhodobou paměť ptačích predátorů zatím bohužel není mnoho a ve většině experimentů jsou ptáci retestováni v intervalech čítajících dny až týdny (Siddall a Marples, 2008; Ham et al., 2006; Siddall a Marples, 2011). Z dosavadních výsledků víme, že ptáci pravděpodobně disponují dlouhodobou pamětí v potravní souvislosti v rámci měsíců. Abychom toto komplexní téma mohli lépe pochopit, bude zapotřebí realizovat další pokusy a nashromáždit mnohem více dat.

Přítomnost černého vzoru na červené plošticí může zvyšovat memorabilitu aposematické kořisti. Schopnost zapamatovat si kořist podle přítomnosti vzoru potvrzuje několik prací (Riipi et al., 2001; Lindström et al., 2006; Aronsson & Gamberale-Stille, 2009). Pro potvrzení této hypotézy bude ovšem zapotřebí dalšího výzkumu.

6. Závěr

Tématem této práce bylo prozkoumat proces, během něž se nová informace překládá z pracovní paměti do paměti dlouhodobé a následně otestovat dlouhodobou paměť sýkor koňader v souvislosti s aposematickou kořistí. Konsolidace je velice komplexním procesem formování paměti, o jehož neurobiologické podstatě se díky novým studiím stále mnoho dozvídáme (Hale a Crowe, 2002; Siddall a Marples, 2008). V této práci byly výsledky porovnány nejen z hlediska jednotlivých typů úloh, ale také mezi odchycenými dospělými ptáky a ručně odchovanými ptáčaty, mezi víceletými a jednoletými ptáky a mezi samci a samicemi. Díky výsledkům řady výzkumů víme, že ke konsolidaci dochází během několika hodin po získání nové znalosti a že je k jejímu úspěšnému průběhu nezbytná syntéza nových proteinů (Atkinson et al., 2003; Barrett a Sherry, 2012). Abychom byli schopni stanovit konkrétní interval, kdy k vytvoření dlouhodobé vzpomínky dochází bude ovšem nezbytných dalších experimentů. Dlouhodobá paměť je u ptáčích predátorů velmi málo studovaným fenoménem (Rogers, 1978; Bogale et al., 2012; Ladnová et al., in prep). V této práci jsme otestovali, zda se v paměti dospělých koňader uchová informace o aposematické kořisti i po dobu jednoho měsíce. Vzhledem k časové náročnosti experimentů, není podobných prací mnoho a proto abychom této problematice lépe porozuměli, bude zapotřebí získat další data.

Z výsledků této práce vyplývá, že se jak ptáčata, tak dospělé sýkory koňadry dokáží naučit diskriminovat mezi jedlými a nejedlými aposematickými kořistmi a tuto informaci si zapamatovat minimálně 24 hodin. Zaznamenány byly signifikantní rozdíly mezi úspěšností juvenilů a adultů. U ptáčat nebyl zjištěn interval, kdy by mělo dojít ke konsolidaci. Naopak u dospělých sýkor byli nejúspěšnější ptáci, kteří měli tento interval jednohodinový. Prokázán byl u nich i vliv barvy pozitivního stimulu, lépe si ptáci pamatovali, že nepoživatelné jsou červené ploštice a úspěšněji řešili paměťový test jednoleté sýkory než víceleté. Vliv pohlaví zaznamenán nebyl.

Dále bylo potvrzeno, že jsou dospělé sýkory koňadry schopné uložit si naučenou averzi pro aposematickou kořist do dlouhodobé paměti i po dobu jednoho měsíce. Testování ptáci sice dosahují lepších výsledků v paměťovém testu po 24 hodinách než v testu dlouhodobé paměti po jednom měsíci, jejich úspěšnost je ale srovnatelná s poslední fází tréninku. Naučená znalost tedy v paměti ptáků přetrvala, i když s prodlužující se periodou, kdy nepřijdou do styku s danou kořistí, znalost zřejmě slábne.

7. Seznam použité literatury

- Adamová-Ježová, D., Hospodková, E., Fuchsová, L., Štys, P., & Exnerová, A. (2016). Through experience to boldness? Deactivation of neophobia towards novel and aposematic prey in three European species of tits (Paridae). *Behavioural processes*, 131, 24-31.
- Aplin, L. M., Farine, D. R., Morand-Ferron, J., Cockburn, A., Thornton, A., & Sheldon, B. C. (2015). Experimentally induced innovations lead to persistent culture via conformity in wild birds. *Nature*, 518(7540), 538.
- Aronsson, M., & Gamberale-Stille, G. (2008). Domestic chicks primarily attend to colour, not pattern, when learning an aposematic coloration. *Animal Behaviour*, 75(2), 417-423.
- Aronsson, M., & Gamberale-Stille, G. (2009). Importance of internal pattern contrast and contrast against the background in aposematic signals. *Behavioral Ecology*, ar141.
- Atkinson, R., Bevilaqua, L. R., Rostas, J. A., & Hunter, M. (2003). Discriminative taste aversion learning: A learning task for older chickens. *Neurobiology of learning and memory*, 79(1), 25-31.
- Barrett, M. C., & Sherry, D. F. (2012). Consolidation and reconsolidation of memory in black-capped chickadees (*Poecile atricapillus*). *Behavioral neuroscience*, 126(6), 809.
- Beatty, C. D., & Franks, D. W. (2012). Discriminative predation: simultaneous and sequential encounter experiments. *Current Zoology*, 58(4), 649-657.
- Begun, D., Kubie, J. L., O'Keefe, M. P., & Halpern, M. (1988). Conditioned discrimination of airborne odorants by garter snakes (*Thamnophis radix* and *T. sirtalis sirtalis*). *Journal of Comparative Psychology*, 102(1), 35.
- Bogale, B. A., Sugawara, S., Sakano, K., Tsuda, S., & Sugita, S. (2012). Long-term memory of color stimuli in the jungle crow (*Corvus macrorhynchos*). *Animal cognition*, 15(2), 285-291.
- Boswall, J. (1977). Tool-using by birds and related behaviour. *Avicultural Magazine*, 83, 146-159.
- * Brower, L. P., Brower, J. V. Z., & Collins, C. T. (1963). *Experimental studies of mimicry: Relative palatability and Müllerian mimicry among Neotropical butterflies of the subfamily Heliconiinae*. New York Zoological Society.

Brodin, A., & Urhan, A. U. (2014). Interspecific observational memory in a non-caching Parus species, the great tit *Parus major*. *Behavioral ecology and sociobiology*, 68(4), 649-656.

Colwill, R. M., Goodrum, K., & Martin, A. (1997). Pavlovian appetitive discriminative conditioning in *Aplysia californica*. *Animal Learning & Behavior*, 25(3), 268-276.

Cooke, M. H., Couvillon, P. A., & Bitterman, M. E. (2007). Delayed symbolic matching in honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Comparative Psychology*, 121(1), 106.

* **Cott HB.** 1940. Adaptive coloration in animals. London: Methuen & Co.

Cramp S, and Perrins C. 1993. Handbook of the birds of Europe, the Middle East, and North Africa: the birds of the Western Palearctic. New York: Oxford University Press.

Davies, N. B., Krebs, J. R., & West, S. A. (2012). *An introduction to behavioural ecology*. John Wiley & Sons.

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

* **Duyck, I. & Duyck, J.** (1984). Koolmees *Parus major* gebruikt instrument bij het voedselzoeken. *Wielewaal* 50: 416.

Endler, J. A., & Mappes, J. (2004). Predator mixes and the conspicuousness of aposematic signals. *The American Naturalist*, 163(4), 532-547.

Exnerová, A., Landová, E., Štys, P., FUCHS, R., Prokopová, M., & Cehláriková, P. (2003). Reactions of passerine birds to aposematic and non-aposematic firebugs (*Pyrrhocoris apterus*; Heteroptera). *Biological Journal of the Linnean Society*, 78(4), 517-525.

Exnerova, A., Svádová, K., Štys, P., Barcalova, S., Landová, E. V. A., Prokopova, M., ... & Socha, R. (2006a). Importance of colour in the reaction of passerine predators to aposematic prey: experiments with mutants of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera). *Biological Journal of the Linnean Society*, 88(1), 143-153

Exnerová, A., Štys, P., Fučíková, E., Veselá, S., Svádová, K., Prokopová, M., ... & Landová, E. (2006b). Avoidance of aposematic prey in European tits (*Paridae*): learned or innate?. *Behavioral Ecology*, 18(1), 148-156.

Exnerová, A., Ježová, D., Štys, P., Doktorovová, L., Rojas, B., & Mappes, J. (2015). Different reactions to aposematic prey in 2 geographically distant populations of great tits. *Behavioral Ecology*, 26(5), 1361-1370.

* **Fisher J, and Hinde RA.** 1949. The opening of milk bottles by birds *BRITISH BIRDS* 42(2):347-357

Franks, V. R., & Thorogood, R. (2018). Older and wiser? Age differences in foraging and learning by an endangered passerine. *Behavioural processes*, 148, 1-9.

Gaddis, P. (1981). Tool use by a mountain chickadee. *Continental Birdlife* 2:19-20.

Gamberale-Stille, G., & Tullberg, B. S. (1999). Experienced chicks show biased avoidance of stronger signals: an experiment with natural colour variation in live aposematic prey. *Evolutionary Ecology*, 13(6), 579-589.

Gamberale–Stille, G., & Tullberg, B. S. (2001). Fruit or aposematic insect? Context-dependent colour preferences in domestic chicks. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1485), 2525-2529.

Gamberale-Stille, G., & Guilford, T. (2003). Contrast versus colour in aposematic signals. *Animal Behaviour*, 65(5), 1021-1026.

Gamberale-Stille, G., Hall, K. S. S., & Tullberg, B. S. (2007). Signals of profitability? Food colour preferences in migrating juvenile blackcaps differ for fruits and insects. *Evolutionary Ecology*, 21(1), 99-108.

Gerlach, G., & Lysiak, N. (2006). Kin recognition and inbreeding avoidance in zebrafish, *Danio rerio*, is based on phenotype matching. *Animal Behaviour*, 71(6), 1371-1377.

Gittleman, J. L., & Harvey, P. H. (1980). Why are distasteful prey not cryptic?. *Nature*.

Grafen, A. (1990). Biological signals as handicaps. *Journal of theoretical biology*, 144(4), 517-546.

Hale, M. W., & Crowe, S. F. (2002). The effects of selective dopamine agonists on a passive avoidance learning task in the day-old chick. *Behavioural pharmacology*, 13(4), 295-301.

Hall, C. A., Cassaday, H. J., Vincent, C. J., & Derrington, A. M. (2006). Cone excitation ratios correlate with color discrimination performance in the horse (*Equus caballus*). *Journal of Comparative Psychology*, 120(4), 438.

Ham, A. D., Ihalainen, E., Lindström, L., & Mappes, J. (2006). Does colour matter? The importance of colour in avoidance learning, memorability and generalisation. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60(4), 482-491.

- Itoh, K., Izumi, A., & Kojima, S.** (2001). Object discrimination learning in aged Japanese monkeys. *Behavioral neuroscience*, *115*(2), 259.
- Jansson, L., & Enquist, M.** (2003). Receiver bias for colourful signals. *Animal behaviour*, *66*(5), 965-971.
- Johnston, A. N., & Burne, T. H.** (2008). Aposematic colouration enhances memory formation in domestic chicks trained in a weak passive avoidance learning paradigm. *Brain research bulletin*, *76*(3), 313-316
- Kišelová Martina** (2014) Vliv barvy, tvaru a kontrastnosti kořisti na diskriminační učení ptačích predátorů
- Komárek, S.** (2003). *Mimicry, aposematism and related phenomena: mimetism in nature and the history of its study*. Lincom Europa.
- Landová E., Exnerová A., Svádová K.** (in prep.). Long-term memory and aposematix prey avoidance in the great tit
- Landová, E., Svádová, K. H., Fuchs, R., Štys, P., & Exnerová, A.** (2017). The effect of social learning on avoidance of aposematic prey in juvenile great tits (*Parus major*). *Animal cognition*, *20*(5), 855-866.
- Lindström, L., Alatalo, R. V., & Mappes, J.** (1999). Reactions of hand-reared and wild-caught predators toward warningly colored, gregarious, and conspicuous prey. *Behavioral Ecology*, *10*(3), 317-322.
- Lindström, L., Alatalo, R. V., Lyytinen, A., & Mappes, J.** (2001). Predator experience on cryptic prey affects the survival of conspicuous aposematic prey. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, *268*(1465), 357-361.
- Lindström, L., Lyytinen, A., Mappes, J., & Ojala, K.** (2006). Relative importance of taste and visual appearance for predator education in Müllerian mimicry. *Animal Behaviour*, *72*(2), 323-333.
- Mappes, J., Marples, N., & Endler, J. A.** (2005). The complex business of survival by aposematism. *Trends in Ecology & Evolution*, *20*(11), 598-603.
- * **McGaugh, J. L.** (1966). Time-dependent processes in memory storage. *Science*, *153*(3742), 1351-1358.

- * **Müller, G. E., & Pilzecker, A.** (1900). Experimentelle Beiträge zur Lehre vom Gedächtniss [Experimental contributions to the science of memory]. *Zeitschrift für Psychologie und Physiologie der Sinnesorgane Ergänzungsband*, 1, 1–300. (ve speed 2000)
- Nader, K., Schafe, G. E., & Le Doux, J. E.** (2000). Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*, 406(6797), 722-726.
- Osorio, D., Jones, C. D., & Vorobyev, M.** (1999). Accurate memory for colour but not pattern contrast in chicks. *Current Biology*, 9(4), 199-202.
- Pearce JM.** (2008). *Animal Learning & Cognition*: Psychology Press.
- Phillmore, L. S., Sturdy, C. B., Turyk, M. R. M., & Weisman, R. G.** (2002). Discrimination of individual vocalizations by black-capped chickadees (*Poecile atricapilla*). *Animal learning & behavior*, 30(1), 43-52.
- * **Poulton, E. B.** (1890). *The colours of animals: their meaning and use, especially considered in the case of insects*. D. Appleton.
- Phillmore, L. S.** (2008). Discrimination: From behaviour to brain. *Behavioural processes*, 77(2), 285-297.
- Range, F., Bugnyar, T., & Kotrschal, K.** (2008). The performance of ravens on simple discrimination tasks: a preliminary study. *Acta ethologica*, 11(1), 34-41.
- Riipi, M., Alatalo, R. V., Lindström, L., & Mappes, J.** (2001). Multiple benefits of gregariousness cover detectability costs in aposematic aggregations. *Nature*, 413(6855), 512.
- Rogers Jr, J. G.** (1978). Some characteristics of conditioned aversion in red-winged blackbirds. *The Auk*, 362-369.
- Roper, T. J., & Wistow, R.** (1986). Aposematic colouration and avoidance learning in chicks. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B*, 38(2b), 141-149.
- Roper, T. J., & Redston, S.** (1987). Conspicuousness of distasteful prey affects the strength and durability of one-trial avoidance learning. *Animal Behaviour*, 35(3), 739-747.
- Roper, T. J.** (1990). Responses of domestic chicks to artificially coloured insect prey: effects of previous experience and background colour. *Animal Behaviour*, 39(3), 466-473.
- Roper, T. J.** (1994). Conspicuousness of prey retards reversal of learned avoidance. *Oikos*, 115-118.

- Roper, T. J., & Marples, N. M.** (1997). Odour and colour as cues for taste-avoidance learning in domestic chicks. *Animal Behaviour*, *53*(6), 1241-1250.
- Rowe, C., & Guilford, T. I. M.** (1999). Novelty effects in a multimodal warning signal. *Animal Behaviour*, *57*(2), 341-346.
- Rowe, C., Lindström, L., & Lyytinen, A.** (2004). The importance of pattern similarity between Müllerian mimics in predator avoidance learning. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, *271*(1537), 407-413.
- Rowland, H. M., Hoogesteger, T., Ruxton, G. D., Speed, M. P., & Mappes, J.** (2010). A tale of 2 signals: signal mimicry between aposematic species enhances predator avoidance learning. *Behavioral Ecology*, *21*(4), 851-860.
- Ruxton, G. D., Sherratt, T. N., & Speed, M. P.** (2004). Avoiding attack. The evolution of crypsis, warning signals and mimicry. New York: Oxford University Press.
- Sherratt, T. N., & Beatty, C. D.** (2003). The evolution of warning signals as reliable indicators of prey defense. *The American Naturalist*, *162*(4), 377-389.
- Schmidt, V., & Schaefer, H. M.** (2004). Unlearned preference for red may facilitate recognition of palatable food in young omnivorous birds. *Evolutionary Ecology Research*, *6*(6), 919-925.
- * **Schuler W.** 1982. Zur Funktion von Warnfaben: Die reaktion junger Starew auf sedpanahnlich schwarz-gelbe Attrappen. *Z Tierpsychol.* p 66-78.
- Schuler, W., & Hesse, E.** (1985). On the function of warning coloration: a black and yellow pattern inhibits prey-attack by naive domestic chicks. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *16*(3), 249-255.
- Siddall, E. C., & Marples, N. M.** (2008). Better to be bimodal: the interaction of color and odor on learning and memory. *Behavioral Ecology*, *19*(2), 425-432.
- Siddall, E. C., & Marples, N. M.** (2011). The effect of pyrazine odor on avoidance learning and memory in wild robins *Erithacus rubecula*. *Current Zoology*, *57*(2), 208-214.
- Sillén-Tullberg, B.** (1985). Higher survival of an aposematic than of a cryptic form of a distasteful bug. *Oecologia*, *67*(3), 411-415.

Speed, M. P. (2000). Warning signals, receiver psychology and predator memory. *Animal Behaviour*, 60(3), 269-278.

Sutherland, N. S. (1962). Visual discrimination of shape by Octopus: squares and crosses. *Journal of comparative and physiological psychology*, 55(6), 939.

Svádová, K., Exnerová, A., Štys, P., Landova, E., Valenta, J., Fučíková, A., & Socha, R. (2009). Role of different colours of aposematic insects in learning, memory and generalization of naive bird predators. *Animal Behaviour*, 77(2), 327-336.

Terhune, E. C. (1977). Components of a visual stimulus used by scrub jays to discriminate a Batesian model. *The American Naturalist*, 111(979), 435-451.

Tiunova, A. A., Anokhin, K. V., & Rose, S. P. (1998). Two critical periods of protein and glycoprotein synthesis in memory consolidation for visual categorization learning in chicks. *Learning & memory*, 4(5), 401-410.

Wallace, A. R. (1889, nové vydání 2007). Darwinism: an exposition of the theory of natural selection with some of its applications. Cosimo, Inc.

Zahavi, A. (1975). Mate selection—a selection for a handicap. *Journal of theoretical Biology*, 53(1), 205-214.

Přejaté citace jsou označeny hvězdičkou.