

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



Reakce kosa černého na kontinuální proměnlivost ve zbarvení cizích vajec

Diplomová práce

Autor: **Karel Gern**

T15255 – Tělesná výchova a biologie
prezenční studium

Vedoucí práce: **prof. RNDr. Tomáš Grim, Ph.D.**

Olomouc 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem předloženou diplomovou prací vypracoval samostatně pod vedením prof. RNDr. Tomáše Grima, Ph.D. a veškeré použité zdroje jsem uvedl v seznamu literatury.

V Olomouci dne

Podpis autora:

Poděkování:

Za zapůjčení potřebného vybavení a literatury, nezbytnou pomoc k teoretickému porozumění problematiky i ohledně terénní práce děkuji především vedoucímu mé diplomové práce Tomáši Grimovi. Dále velice děkuji za pomoc při práci v terénu a za poskytnutí pomoci při zpracování dat Danielu Hanleymu a za rady při statistickém zpracování děkuji Peteru Samašovi. Tato diplomová práce vznikla s podporou IGA grantů IGA_PrF_2016_017 (hlavní řešitel: prof. Grim) a IGA_PrF_2017_023 (hlavní řešitel: dr. Kandrata).

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora: Karel Gern

Název práce: Reakce kosa černého na kontinuální proměnlivost ve zbarvení cizích vajec.

Typ práce: Diplomová práce

Pracoviště: Katedra zoologie

Vedoucí práce: prof. RNDr. Tomáš Grim, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2017

Abstrakt

Chování ptáků spjaté s hnízdním parazitismem je velice populárním a dobře zkoumaným tématem. Experimenty v této oblasti byly provedeny za použití modelových či opravdových, ať už mimetických nebo ne-mimetických vajec. Téměř všechny studie zabývající se problematikou hnízdního parazitizmu však spoléhaly na subjektivní posouzení vzhledu vajec na základě lidského zraku a nezohlednily, že ptačí zrak je jiný než zrak lidský. Jedním z nejzásadnějších rozdílů je oční sítnice ptáků obsahující část citlivou na ultrafialovou oblast spektra. Pokrok v experimentech přišel až s příchodem přenosných spektrometrů, které dokáží přesně zaznamenat danou barvu a to v celém viditelném spektru ptáků. Ačkoliv bylo na téma hnízdního parazitizmu provedeno nespočet studií zaměřených na reakce hostitelských druhů vůči parazitickému vejci, pouze jediná z těchto studií zahrnovala kontinuitu barev. Studoval jsem reakci hostitelských samic kosa černého (*Turdus merula*) spojených s experimentálním hnízdním parazitismem za použití 73 barevně odlišných modelových vajec, která jsem nabarvil podle předem připravené barevné škály. V experimentech jsem se zaměřil především na odstín (angl. hue) modelového vejce a jeho sytost (angl. saturation). Statisticky významným prediktorem byl pouze odstín, který ovlivnil rozhodování hostitelské samice o tom, zda parazitické vejce přijme, či nikoliv. Konkrétně samice inklinovaly k akceptování vajec modrozelených a modrých, naproti tomu jiné odstíny spíše odmítaly.

Klíčová slova: hnízdní parazitismus, kos černý, odstín, *Turdus merula*, odmítání vajec, sytost

Počet stran: 25

Počet příloh: 1

Jazyk: český, anglický

BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION

Autor's first name and surname: Karel Gern

Title: Blackbird responses to continuous color variation of foreign eggs.

Type of thesis: Diploma thesis

Department: Department of zoology

Supervisor: prof. RNDr. Tomáš Grim, Ph.D.

The year of presentation: 2017

Abstract

The behavior of hosts of avian brood parasitism is a well-researched and popular theme. Experiments studying brood parasitism have been conducted using eggs, either model or real, that are mimetic or non-mimetic to a host's own eggs. Many classic studies relied on a subjective assessment of egg appearance, based on human vision. This did not account for the fact that the bird's eye is different from the human eye. One of the most fundamental differences between human and bird vision is that the bird's retina contains photoreceptors sensitive to the ultraviolet spectrum of light. The arrival of portable spectrometers that can record the color in an egg's full spectrum, from ultraviolet through our visible range, advanced this line of the experiments. Although there have been countless of studies focused on host responses to foreign eggs, only one has included the continuum of colors. I studied the responses of blackbird females (*Turdus merula*) to experimental parasitism using model eggs of 73 unique colors. In my experiments, I examined the blackbird response with respect to hue and saturation. I found that hue significantly predicted the host female's rejection or acceptance of the parasitic eggs. Specifically, the females tended to accept blue-green and blue eggs, but usually rejected other colors.

Key words: brood parasite, blackbird, hue, saturation, *Turdus merula*, eggs rejection

Number of pages: 25

Number of supplementary materials: 1

Language: Czech, English

Obsah

Úvod	1
Vlastní experiment	9
Výsledky	13
Literatura	14
Rukopis	1

Úvod

Jednou z nejučinnějších hybných sil evoluce jsou koevoluční závody ve zbrojení. Koevoluce je společný evoluční vývoj alespoň dvou druhů, v jehož průběhu se každý z těchto druhů přizpůsobuje evolučním změnám toho druhého, čímž vznikají takzvané adaptace a proti-adaptace. Jde tedy o zpětnovazebný evoluční proces. Příkladem je koevoluce predátor a kořist nebo parazit a hostitel, ale také koevoluce druhů žijících v symbióze (Janzen 1980). Antagonistickou koevoluci, tedy například parazit vs hostitel, také označujeme jako závody ve zbrojení (arms-races) (Rothstein a Robinson 1998). Závody ve zbrojení jsou dvojího typu a to buď vnitrodruhové, se kterými se můžeme setkat zejména u hmyzu, ale i ptáků (Yom-Tov 2001), nebo mezidruhové, například predátor vs kořist či parazit vs hostitel (Dawkins a Krebs 1979). Mezidruhový parazitizmus se vyskytuje přibližně u 100 druhů ptáků, přičemž v Evropě nejlépe prozkoumaným mezidruhovým hnízdním parazitem je kukačka obecná (*Cuculus canorus*; Davies 2000).

Hnízdní parazitizmus je tedy klasickým příkladem koevolučních závodů ve zbrojení mezi ptačím parazitem a hostitelem (Rothstein 1990, Davies 2000, Feeney et al. 2014.). Ptáci označovaní jako hnízdní parazité kladou svá vejce do hnízd jiných druhů, aby se zbavili veškeré rodičovské zodpovědnosti a životních výdajů spojených s nákladnou rodičovskou péčí. Pomocí takto zvolené strategie mohou veškerou starostlivost přenechat rodičům z řad hostitelských druhů (Rothstein 1990, Payne 1998). Hostitelé se však snaží tomuto typu parazitizmu bránit (Rothstein 1990). Jednou z nejběžnějších obranných strategií hostitele je odmítnutí neboli odstranění parazitického vejce (Feeney et al. 2014) či mláděte (Grim 2006) ze svého hnízda. U řady hostitelů se tak vyvinula schopnost parazitické vejce rozpoznat (angl. recognition) a následně je odmítnout (angl. discrimination) tedy odstranit z hnízda. To však také vyvolává následné proti-adaptace u parazitů zahrnující např. vylepšování mimikry vajec (Stevens et al. 2013). Reakce hostitele jsou také ve značné míře ovlivněny jeho předchozí individuální zkušeností s hnízdním parazitem (Hauber et al. 2006, Grim et al. 2014, Moskát et al. 2014). Nabyté zkušenosti v rozpoznávání vlastních a cizích vajec dávají hostiteli důležité informace o rozsahu možných fenotypů (např. zbarvení) vajec a díky takto získaným informacím se může hostitel v budoucnu rychleji a lépe rozhodovat (Hauber et al. 2006). Tato „bitva“ ve fázi kladení vajec je velice důležitá. Pokud totiž hostitel nedokáže rozpoznat cizí vejce včas, přijde o část snůšky nebo o celou svoji snůšku a bude nucen investovat energii do výchovy cizího mláděte (Davies 2000).

Většina hostitelských druhů se snaží odmítat parazitické vejce, což vede k evoluci mimikry u parazitických vajec (Spottiswoode a Stevens 2010). Hostitelé totiž daleko častěji odmítají vejce, která se liší od jejich vjemových vzorů více než jiná vejce, to znamená, že pokud hostitel registruje mezi vejci viditelné rozdíly, pak ta která jsou odlišná od ostatních vajec ze snůšky, daleko častěji odmítne. Výrazně odlišná vejce nazýváme nemimetická (ang. non-mimetic; Brooke a Davies 1988, Rutila et al. 2002, Antonov et al. 2006, Spottiswoode a Stevens 2010). Čím více a úspěšněji hostitel odmítá parazitické vejce, tím více a přesněji parazit přizpůsobuje vzhledem svá vejce hostitelovým, čímž se vejce parazita stávají více mimetickými (Brooke a Davies 1988, Stoddard a Stevens 2011). Aby mohl hostitel odmítnout parazitické vejce, musí nejdříve poznat, která vejce jsou jeho a která cizí (Stevens et al. 2013). Proces rozpoznání může probíhat dvěma způsoby. První možností je odmítnout nejvíce odchylné vejce ze snůšky. Druhou možností je naučit se šablonu (angl. template), jak vlastní vejce vypadá, na základě této šablony porovnat všechna vejce v hnízdě a odmítnout vejce, které vypadá jinak než vlastní (angl. mimetic egg; Hauber a Sherman 2001). Většina studií se přiklání k strategii založené na šablonách (Victoria 1972, Stokke et al 2007, Lyon 2007). Systém šablon je pro hostitele nákladný (Dukas 1998) a také šablona, kterou si hostitel zapamatuje na základě předešlých hnízdění, nemusí být aktuální pro vejce v současné snůšce (Stevens et al. 2013). Dále může být naučená šablona zkreslená podmínkami prostředí (světlo, stíny, úhel pohledu), které panovaly, když se je samice učila (Stevens et al. 2013).

Bez ohledu na možnosti rozhodování se musejí hostitelé potýkat se dvěma klíčovými problémy. Prvním z těchto problémů je sensorický, kdy si samice svá vejce nejdříve prohlédne, poté hned následuje problém kognitivní, který spočívá v porovnávání všech vajec a následném rozhodování, zda je vejce vlastní či nikoliv (Moskát a Hauber 2007). Některé parazitické druhy, jakým je například přádelník kukaččí (*Anomalospiza imberbis*), si důmyslně vyvinuly strategii, při které kladou najednou více vajec do hnízda hostitele. Tímto způsobem znemožní přesné porovnávání hostitelů mezi vejci svými a parazitickými, a tím sníží šanci na odmítnutí cizího vejce (Stevens et al. 2013).

Ptačí vejce, stejně jako většina přirozených objektů, obsahují svoji vlastní vizuální informaci (Spottiswoode a Stevens 2010). Tato informace se týká vnějšího vzhledu a podává zprávu o aktuálním stavu vejce (Dall et al. 2005). Vnější vzhled vejce zahrnuje jeho velikost, která je důležitá, poněvadž pokud je vejce příliš malé nebo velké, může dojít k odmítnutí, jelikož takové vejce je pro hostitele nápadné jak vizuálně, tak i hmatově (Rothstein 1982, Mason a Rothstein 1986). Dále jsou to skvrny na skořápce (Stoddard a Stevens 2011, Rothstein 1982) a barvy (Feeney et al. 2014), které jsou primárními podněty využívanými

hostitelem při rozpoznávání, zda jsou vejce uvnitř hostitelovy snůšky jeho vlastní, nebo parazitická (Feeney et al. 2014). A v neposlední řadě, jsou to různé druhy vzorů skořápky (Spottiswoode a Stevens 2010) zahrnující velikost zbarvené části vejce, disperzi, kontrast a variaci barevných rozměrů (Polačiková a Grim 2010, Stoddard a Stevens 2010).

Jednou z osvědčených výzkumných metod, jak lépe pochopit závody ve zbrojení mezi parazity a hostiteli, jsou experimenty s vkládáním cizích vajec do hnízda (např. Brooke a Davies 1988, Rutila et al. 2002, Antonov et al. 2006, Grim et al. 2014, Hanley et al. 2017). Umělé modely vajec mohou být libovolného zbarvení a velikosti. Jedním z nejpoužívanějších v Evropě se stal světle modrý a bezeskrvný „rehčí“ umělý model (Davies 2000). Tento model velikostí a tvarem odpovídá vejcům kukačky, která parazituje rehka zahradního (*Phoenicurus phoenicurus*). Další často používaný je konspecifický model, který se má co nejvíce podobat vlastním hostitelským vejcům (Samaš et al. 2014). Výzkumníci také běžně používají skutečná vejce, ať už od stejného (konspecifické) nebo jiného ptačího druhu, než je druh testovaný (Liang et al. 2016). Standardní testování reakcí hostitele tedy probíhá tak, že výzkumník vloží cizí vejce do hostitelského hnízda a sleduje, jak hostitel zareaguje. Nejběžnějšími reakcemi jsou akceptování, vyhození cizího vejce nebo opuštění hnízda (Davies a Brooke 1989). Při tomto postupu ovšem nastává situace, kdy se může výzkumník setkat s ptákem, který sedí v hnízdě, a musí ho dostat z hnízda pryč. Do této situace se nejčastěji dostává, když samici zastihne v období inkubace (Hanley et al. 2015). Hanley et al. (2015) ukázali, že samice kosa černého, které se zdržují v blízkosti hnízda, mohou vidět, jak výzkumník vkládá vejce do hnízda. To způsobuje, že častěji a rychleji odmítají parazitické vejce, než samice, které svědky parazitizmu nebyly. Tedy jakékoliv nepokoje v okolí, ať už způsobené výzkumníkem (Trnka a Prokop 2010) nebo například kukačkou, experimentální kukačkou (*Cuculus canorus*), mohou vyvolat podezíravé chování hostitelské samice zdržující se v blízkosti hnízda a tím i zvýšenou šanci na odhalení parazitního vejce (Požgayová et al. 2010).

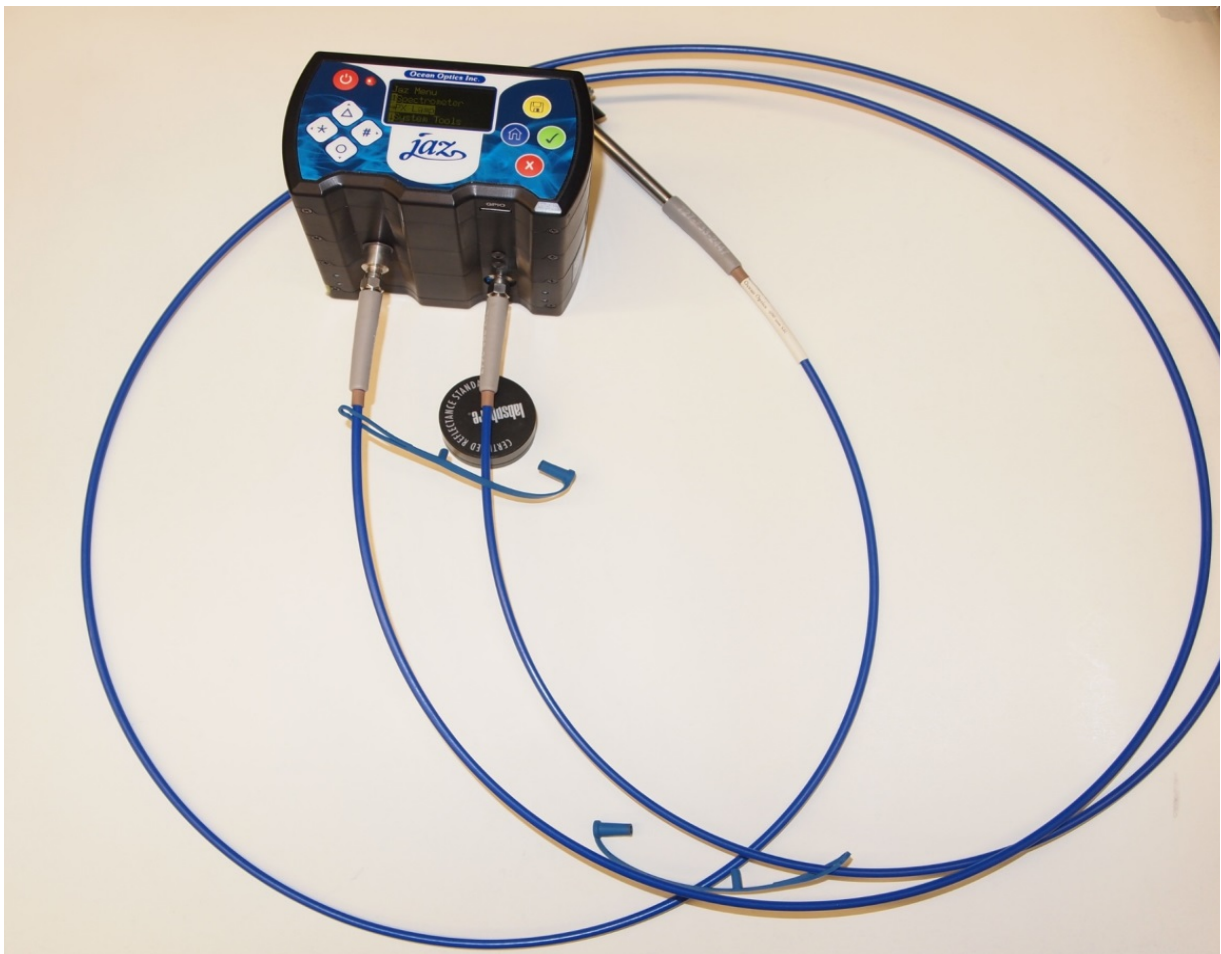
Téměř všechny studie zabývající se problematikou hnízdního parazitizmu však spoléhaly na subjektivní posouzení vzhledu vajec na základě lidského zraku (Stoddard a Stevens 2011). Například Davies a Brooke (1989) ve své studii využili při experimentech mimetických a ne-mimetických modelů vytvořených pouze podle posouzení podobnosti s opravdovými hostitelskými vejci na základě lidského zraku. Avšak zrak ptáků a člověka je velice odlišný (Bennett a Théry 2007). Barevné vidění u lidí je oproti ptákům na mnohem horší úrovni (Hart 2001). Ptáci mají dvojitě čípký, které hrají klíčovou roli v achromatických úkolech, které souvisejí s texturou a vzorem (Jones a Osorio 2004), přičemž jedním

z nejdůležitějších rozdílů je oční sítnice obsahující část citlivou na ultrafialovou oblast spektra (Cuthill 2006). Jelikož ptáci vidí na rozdíl od člověka i ultrafialovou oblast spektra, nazýváme jejich vidění tetrachromatické (Vorobyev et al. 1998).

V 90. letech přišli Moksnes a Røskaft (1995) s vylepšením pro lepší posouzení barvy vejce pomocí lidského oka. Poprvé použili takzvaný Methuen Handbook of Colour (Kornerup a Wanscher, 1978). Byl to kruh složený z barev rozdělených do úseků obsahujících různé barvy číslované od 1 do 20, kdy 1-4 byly odstíny žlutočervené, 5-8 odstíny žluté, 9-12 barvy zelenožluté, 13-16 odstíny zelené a 17-20 modrozelené barvy. Přiložením vejce k tomuto kruhu pomáhalo vědcům lépe posoudit, která barva je nejvíce podobná barvě testovaného vejce. I přesto, že tento přístup byl krokem vpřed, i nadále se jednalo pouze o posouzení barvy vejce na základě pozorování lidským okem (Moksnes a Røskaft 1995).

Jedním z nejzásadnějších zlomů v experimentech zaměřených na diskriminaci vajec hostitelem byl příchod přenosných spektrometrů (Obr. 1).

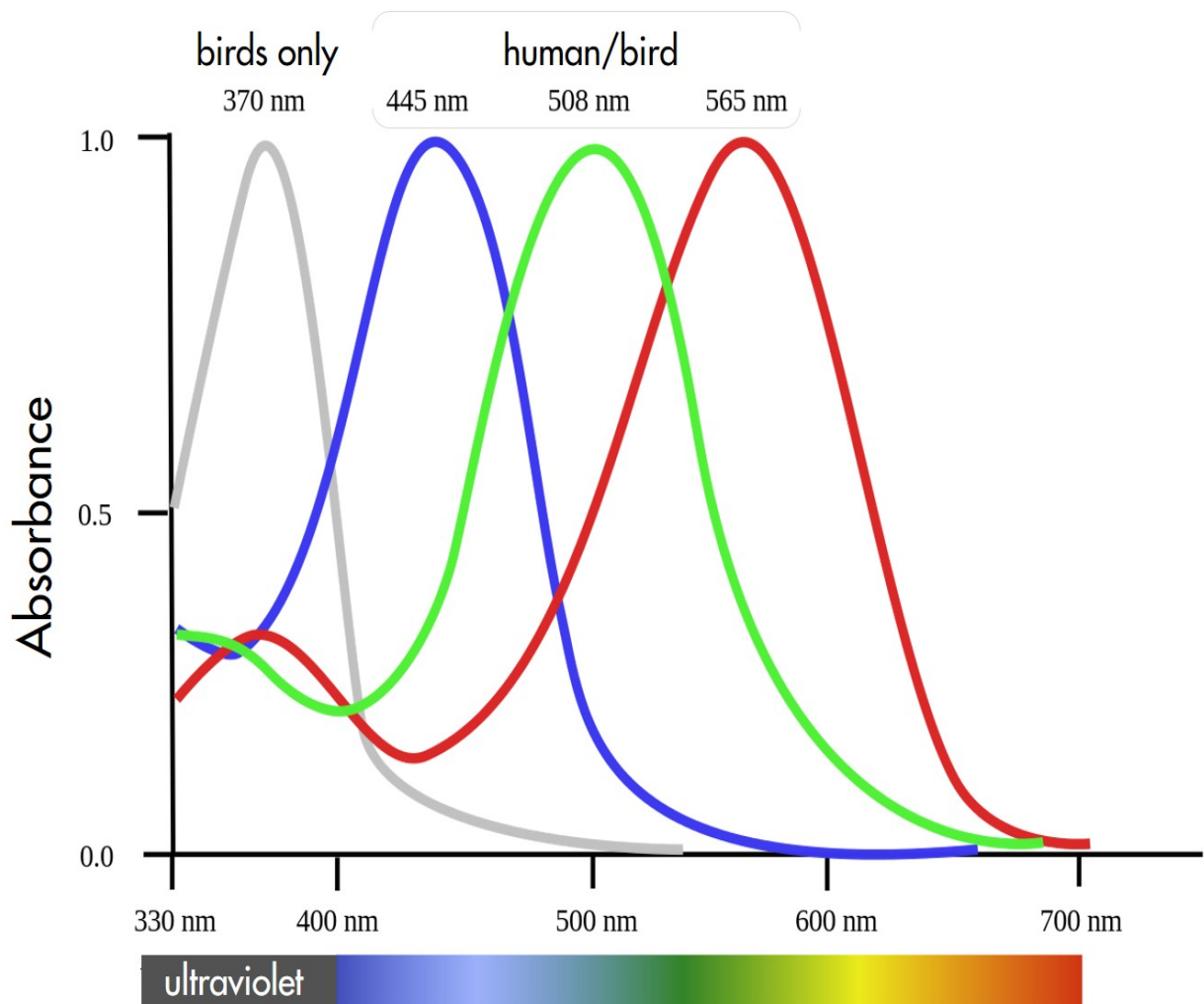
Obrázek 1. Spektrometr Ocean Optics Jaz, který jsem použil při měření barev v experimentu. Na obrázku je tělo spektrometru s displejem, který ukazuje výsledky měření. Dále jsou zde zachyceny kabely pro měření, jeden z kabelů je světelný a druhý optický. Světelný kabel vede světlo ze zdroje na měřený předmět a optický kabel vede odražené světlo z měřeného předmětu do spektrometru. V černém kruhovém víčku je uschován bílý standard využitý pro kalibraci spektrometrických měření. Černý standard na fotografii není zachycen (použil jsem tubus, uvnitř kterého byla tma a ta umožnila kalibraci černé barvy). Autor: Daniel Hanley.



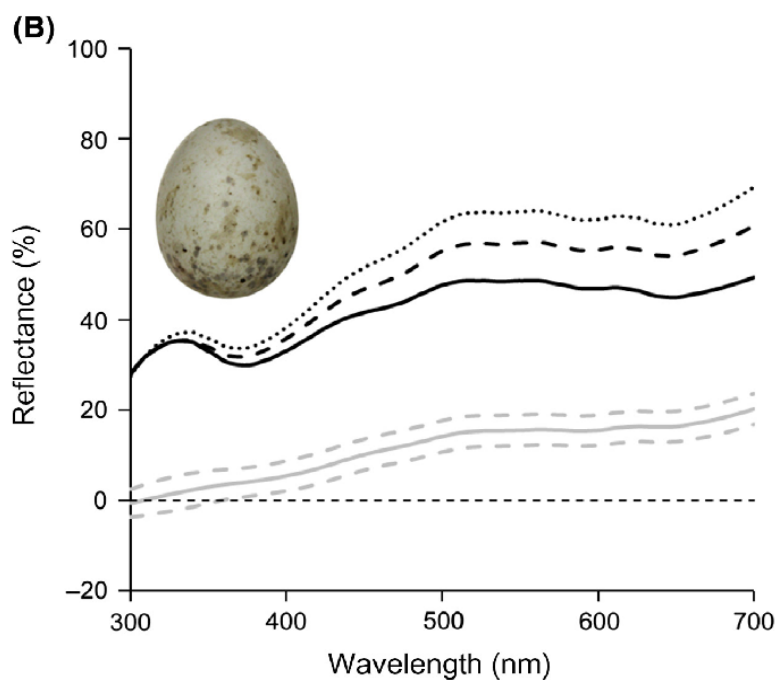
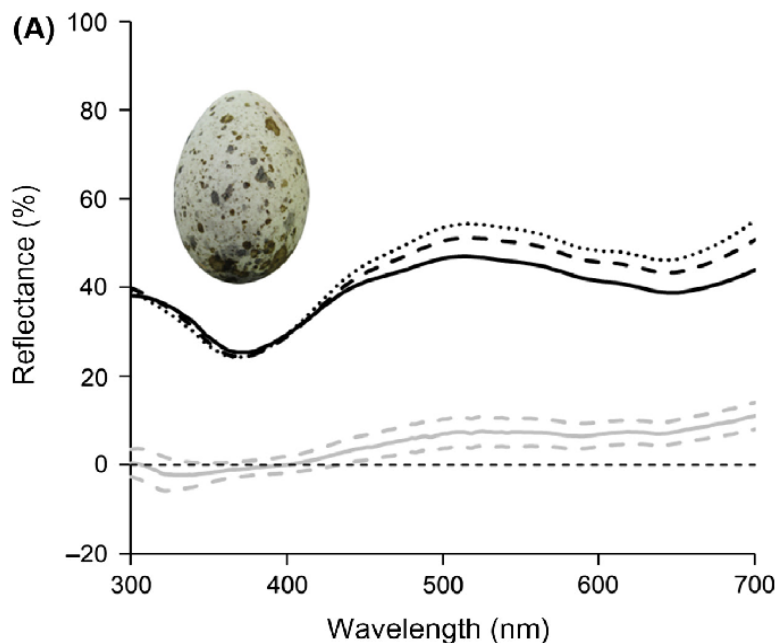
Spektrometry dokáží měřit přesné složení barvy v celém viditelném spektru ptáků (tj. 300–700 nm), což výrazně zvýšilo schopnost pochopit vnímání rozdílů ptačím pohledem (Bennett a Théry 2007). Jak již jsem výše uvedl, ptáci totiž kromě krátkých, středních a dlouhých vlnových délek dokáží na rozdíl od člověka vnímat i ultrafialové záření (300–400 nm; Stoddard a Stevens 2011). Cassey et al. (2008) demonstrovali vizuální diskriminaci vajec v experimentu, který byl proveden za použití experimentálních barev skořápky. Prokázali, že zachycení fotonů ultrafialového záření a záření o krátkých vlnových délkách (modrá barva) na

sítnici ptáků ovlivňuje u hostitelů rozhodování o odmítnutí či přijetí parazitního vejce. Získané výsledky ze spektrometru se vyobrazují v podobě takzvané spektrální křivky (Stoddard a Prum 2008, Hanley et al. 2017, Obr. 2,3.).

Obrázek 2. Ukázka spektrální křivky znázorňující rozdíl mezi lidským a ptačím zrakem. Každá z křivek znázorňuje citlivost na světlo o různých vlnových délkách každého ze 4 typů čípků, které se nacházejí v oku. 370 nm je ultrafialová vlnová délka, kterou vnímají pouze ptáci (šedá barva), 445 nm je krátká vlnová délka, která je vnímána i lidským zrakem (modrá), 508 nm je střední vlnová délka (zelená) a 565 nm je dlouhá vlnová délka (červená). Převzato z Smith (2017).

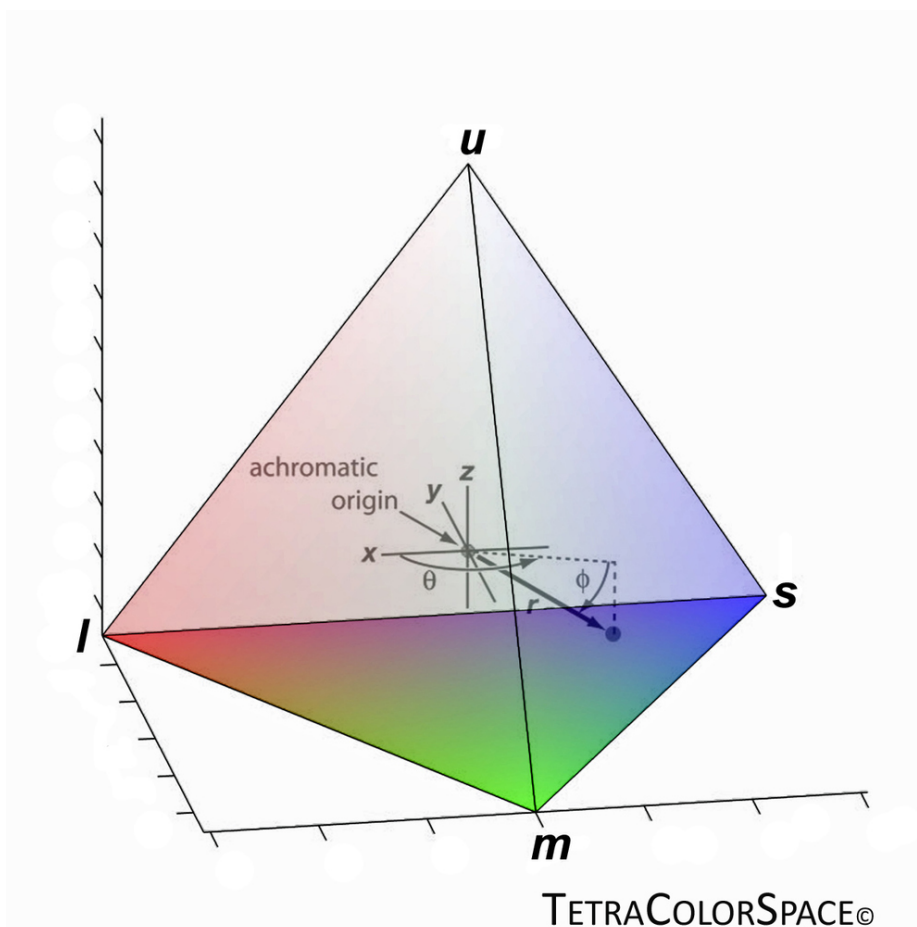


Obrázek 3. (A) Ukázka spektrální křivky vejce rákosníka velkého (*Acrocephalus arundinaceus*). (B) je spektrální křivka vejce jeho jediného parazita kukačky obecné (*Cuculus canorus*). Plná křivka značí měření hned po naklazení vejce do hnízda, přerušovaná křivka byla naměřena 4 dny po naklazení vejce a tečkovaná křivka byla změřena 8 dní po naklazení vejce do hnízda. Šedá křivka nám zde ukazuje rozdíl mezi počáteční barvou vejce a barvou naměřenou po 8 dnech. Tato šedá křivka byla vytvořena po odečtení počátečního měření, tedy měření 1. dne od měření 8. dne. Převzato z Hanley et al. (2016).



V závislosti na vzniku přenosných spektrometrů se vyvinul postup nazvaný vizuální modelování (Cassey et al. 2008). Při vizuálním modelování se využívá shromážděných dat o barvě ze spektrometru a následného přenesení této barvy do čtyřbokého barevného prostoru, tedy jehlanu (Spottiswoode a Stevens 2010, obr 4.).

Obrázek 4. Barvy, které ptáci vidí, lze zobrazit v prostoru pomocí jehlanu. U = ultrafialová část spektra, L = část spektra dlouhých vlnových délek (angl. long), M = část spektra středních vlnových délek (angl. middle) a S = část spektra krátkých vlnových délek (angl. short). Pozici každé z barev v čtyřstěnu lze popsát koordinátami θ , ϕ a r . θ je horizontální úhel (azimut) mezi pozitivní osou X a vektorem směřujícím k dané barvě. ϕ je vertikální (elevační) úhel mezi rovinou X-Y a vektorem směřujícím k dané barvě. θ a ϕ jsou analogické (zeměpisné) délce a šířce. Vzdálenost vektoru k barvě definuje r . θ a ϕ popisují barevný odstín (angl. hue) neboli směr vektoru k barvě a r vyjadřuje intenzitu barvy neboli sytost (angl. saturation), čímž definuje, nakolik se barva liší od achromatické hodnoty bílé/černé (Stoddard a Prum 2008). Převzato z webové stránky M. C. Stoddardové (2016).



Každý roh jehlanu odpovídá jedné ze čtyř barev, které ptáci vnímají (Stoddard a Prum 2008, Spottiswoode a Stevens 2010). Jsou to barvy krátkých vlnových délek (modrá), středních vlnových délek (zelená), dlouhých vlnových délek (červená) a ultrafialového záření (UV). Pomocí takto vyobrazeného prostoru můžeme zaznamenat přesnou pozici barvy v barevném prostoru, který ptáci vnímají (Hanley et al. 2017). Pozice barvy v jehlanu se odvíjí od složek, kterými barva disponuje, ať už je to odrazivost UV či přesný odstín zvolené barvy (Stoddard a Prum 2008). Jehlan nám tedy umožňuje ukázat rozdíly mezi ptačím a lidským okem ve vnímání vybrané barvy a to pomocí přidaného rozměru ultrafialových vlnových délek (Spottiswoode a Stevens 2010). Navzdory těmto pokrokům se dodnes všechny pokusy s vejci provádějí pouze s kategorickými barvami, všechny modely jsou tedy nabarveny jedním odstínem, např. pouze modrou, nebo hnědou barvou. Ty jsou pak považovány za buď mimetické, nebo nemimetické; taková kategorizace je ale problematická, protože je vždy umělá (Grim 2005, 2013). Doposud pouze jediná studie využila kontinuitu barev u svých experimentů (Hanley et al. 2017).

Vlastní experiment

Na základě těchto poznatků jsem provedl studii zaměřenou na odmítací chování hostitelských samic při použití parazitických vajec různých barev, kdy jsem se snažil zjistit, které barvy mají šanci u hostitelů na přijetí a které barvy tuto šanci nemají. Experiment jsem provedl v Olomouci (49°35'38" s. š., 17°15'3" v. d) v letech 2015/2016. Jako modelový druh pro tuto studii jsem vybral kosa černého (obr. 5.), který je jedním z nejlépe urbanizovaných druhů ptáků v Evropě vůbec (Janzen 1980, Evans a kol. 2010, 2012); to mi usnadnilo nasbírání dostatečně velkého a reprezentativního vzorku.

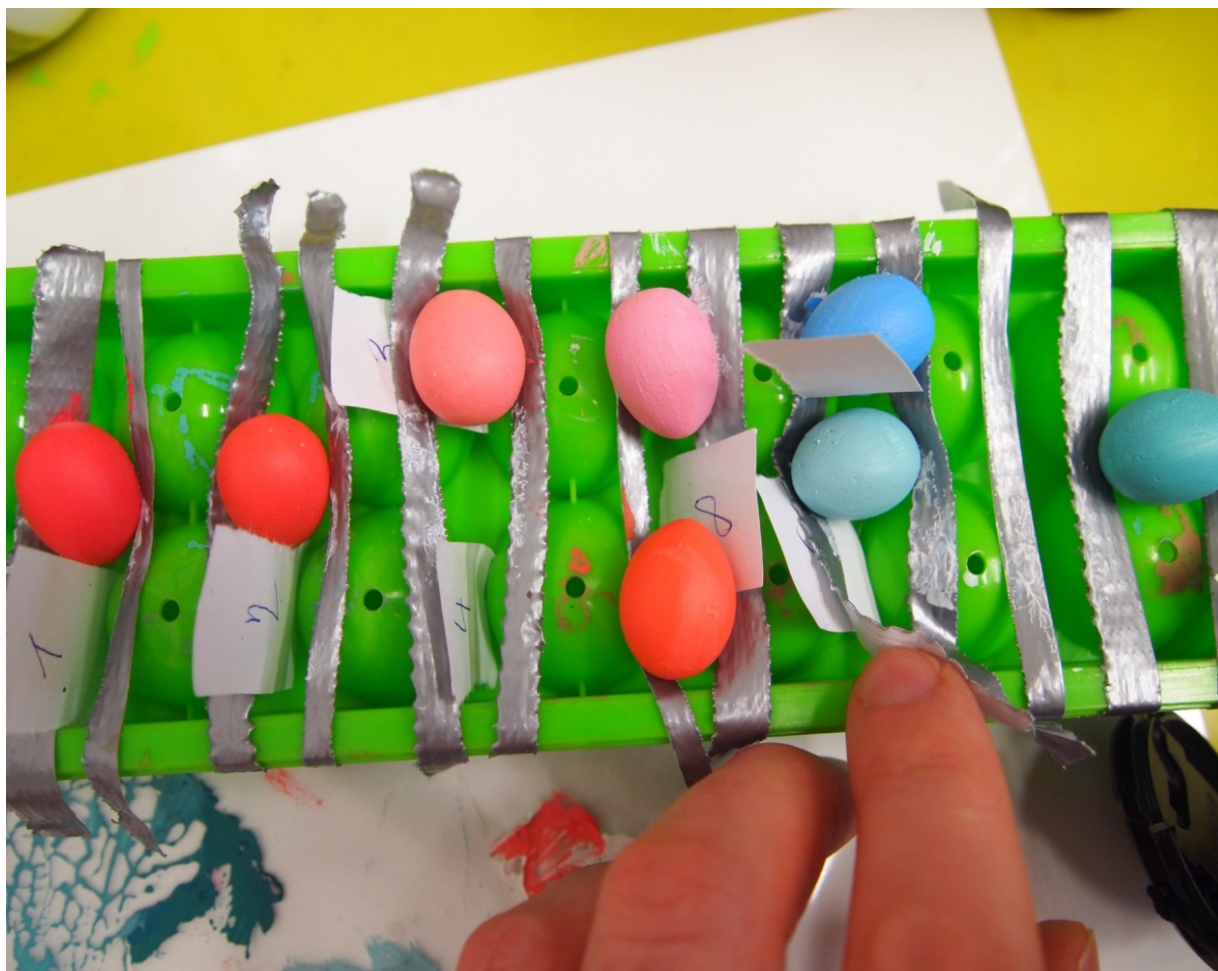
Obrázek 5. Samice kosa černého. Autor: Tomáš Grim.



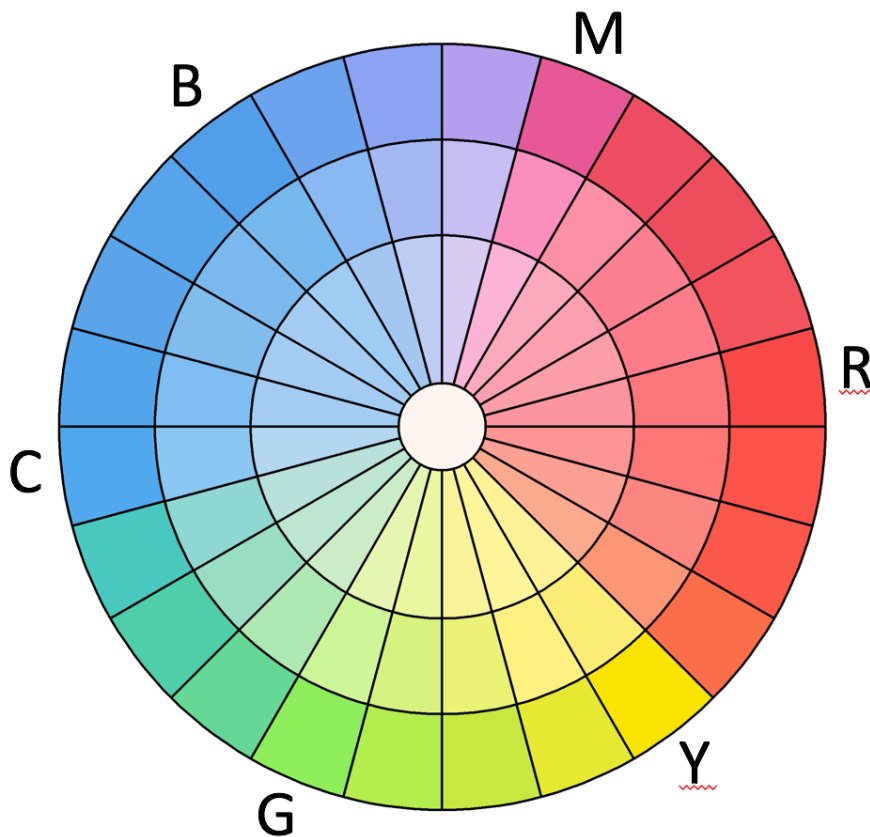
Kos černý je jedním z nejméně prostudovaných ptáků v celé Evropě, ale vyskytuje se i mimo ni. Ačkoliv byl kos ještě v 19. stol. plachým druhem, který se zdržoval spíše v lesních oblastech (Samaš et al. 2013b), postupem času se stal, jak jsem již výše uvedl, jedním z nejlépe urbanizovaných neboli městu přizpůsobených ptačích druhů s vysokou populační hustotou téměř v celé Evropě (Evans a kol. 2010, 2012). Studie provedené na kosovi proběhly v mnoha evropských zemích, mezi které se řadí například Anglie (Magrath 1991), Španělsko (Fernández-Juricic a Tellería 2000, Ibáñez-Álamo a Soler 2010), Portugalsko (Møller et al 2014), Česká republika (Samaš et al. 2013b), Itálie (Møller et al 2014), Nizozemí (Vliet et al. 2009), Německo (Partecke a Gwinner 2006), Norsko (Møller et al 2014), Polsko (Wysocki 2005), Švýcarsko (Bussche et al. 2008) Litva a Estonsko (Evans et al. 2009), ale také mimo Evropu na Novém Zélandu (Hale a Briskie 2007), kam byl kos uměle zavlečen a úspěšně se zde v dnešní době reprodukuje (Samaš et al. 2014). V České republice (Samaš et al. 2013b) je jedním z nejlépe dostupných druhů pro studium hnízdního parazitizmu, jelikož jsou jeho hnízda obvykle pro člověka snadno přístupná, například v různých druzích porostů jakými jsou například jehličnaté stromy (např. tis červený) listnaté stromy (např. lípa) nebo keře (např. rododendron) (Wysocki 2005).

Využil jsem umělých modelových vajec nabarvených 73 rozdílnými akrylovými barvami (Koh-i-Noor, Obr. 6.) zvolenými podle předem připravené barevné škály (Obr. 7.).

Obrázek 6. Nabarvená modelová vejce vybranými barvami která jsou právě v procesu usychání. Autor: Daniel Hanley.



Obrázek 7. Schéma barevné škály, která sloužila jako předloha pro namíchání barev určených na natření modelových vajec. M je základní purpurová barva, B je modrá, C azurová, G zelená, Y žlutá a R je červená barva, uvedená procenta jsou jednotlivé poměry mezi základními barvami pro jejich míchání. Jednotlivé kruhy se liší mírou saturace, přičemž vnější kruh je bez přidané bílé barvy (nejvyšší saturace), u středního kruhu jsem při míchání přidal poloviční objem bílé barvy k objemu barvy původní a v nejmenším kruhu jsem při mixování použil bílé barvy v poměru 1:1 (nejnižší saturace). Autor: Daniel Hanley.



Barevná škála obsahovala 7 základních barev a to bílou, modrou, azurovou, zelenou, žlutou, červenou a purpurovou. Dále pak zahrnovala také barvy vzniklé jejich vzájemným míšením. Před experimentálním použitím jsem nabarvená vejce nejdříve změřil pomocí spektrometru Ocean Optics Jaz (Obr. 1.), abych kvantifikoval barevné spektrum každého z nich. Poté jsem přistoupil k experimentu v terénu, kdy jsem takto nabarvené modely vkládal do hostitelských hnízd. Hnízda, která jsem vybral pro experiment, musela obsahovat vejce plné snůšky neboli maximální možný počet vajec pro daný pár. Pro každý model jsem vybral a použil pouze jedno hostitelské hnízdo (obr. 8.).

Obrázek 8. Vložené barevné modelové vejce mezi vejci plné snůšky v hnízdě kosa černého.
Autor: Karel Gern.



Po vložení modelu do hnízda jsem následujících 6 dní (Grim et al. 2011) sledoval reakci samice na takto přidané parazitické vejce, protože pouze samice z hostitelského páru vyhazuje parazitické vejce z hnízda (Weissensteinová 2012). Po získání odpovědí na všech 73 modelech a dat z 15 kontrolních hnízd jsem za pomoci statistické analýzy vyhodnotil výsledky experimentu.

Výsledky

Výsledky studie ukázaly, že zásadní vliv ovlivňující rozhodování o přijetí či odmítnutí vejce z hnízda má barevný odstín. Modrozelená vejce byla spíše přijímána, zatímco ostatní barvy, především hnědá, více odmítána. Ultrafialová komponenta a sytost barvy naopak nehrály důležitou roli. Výsledky naznačují, že samotná barva hraje nejzásadnější roli v rozhodování o tom, zda bude parazitické vejce v hostitelském hnízdě úspěšně akceptováno či nikoliv.

Diplomovou práci předkládám jako příložený rukopis.

Literatura

- Antonov A., Stokke B. G., Moksnes A., Røskaft E. (2006). Egg rejection in marsh warblers (*Acrocephalus palustris*) heavily parasitized by common cuckoos (*Cuculus canorus*). *Auk* 123: 419-430.
- Bennett A. T. D., Théry M. (2007). Avian color vision and coloration: multidisciplinary evolutionary biology. *Am. Nat.* 169: 1-6.
- Brooke M. L., Davies N. B. (1988). Egg mimicry by cuckoos *Cuculus canorus* in relation to discrimination by hosts. *Nature* 335: 630-632.
- Bussche J., Spaar R., Schmid H., Schröder B. (2008). Modelling the recent and potential future spatial distribution of the ring ouzel (*Turdus torquatus*) and blackbird (*T. merula*) in Switzerland. *J. Ornithol.* 149: 529-544.
- Cassey P., Honza M., Grim T., Hauber M. E. (2008). The modelling of avian visual perception predicts behavioural rejection responses to foreign egg colours. *Biol. Lett.* 4: 515-517.
- Cuthill I. C. (2006). Color perception. In: Hill G. E., McGraw K. J. (Eds.): *Bird coloration: Mechanism and measurements*, HUP London Vol. 1.
- Dall S. R. X., Gireldeau L. A., Olson O., McNamara J.M., Stephens D.W. (2005). Information and its use by animals in evolutionary ecology. *Trends Ecol. Evol.* 20: 187-193.
- Davies N. B., Brooke M. L. (1989). An experimental study of co-evolution between the cuckoo, *cuculus canorus*, and its hosts. II. Host egg markings, chick discrimination and general discussion. *J. Anim. Ecol.* 58: 225-236.
- Davies N. (2000). *Cuckoos, cowbirds and other cheats*. T&AD Poyser, London.
- Dawkins R., Krebs J. R. (1979). Arms races between and within species. *Proc. R. Soc. Lond. B* 205: 489-511.
- Dukas R. (1999). Costs of memory: ideas and predictions. *J. Theor. Biol.* 197: 41-50.
- Evans K. L., Gaston K. J., Sharp S. P., McGowan A., Simeoni M., Hatchwell B. J. (2009). Effect of urbanisation on disease prevalence and age structure in blackbird *Turdus merula* populations. *Oikos* 118: 774-782.
- Evans K. L., Hatchwell B. J., Parnell M., Gaston K. J. (2010). A conceptual framework for the colonisation of urban areas: the blackbird *Turdus merula* as a case study. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 85: 643-667.

- Evans K. L., Newton J., Gaston K. J., Sharp S. P., McGowan A., Hatchwell B. J. (2012). Colonisation of urban environments is associated with reduced migratory behaviour, facilitating divergence from ancestral populations. *Oikos* 121: 634-640.
- Fernández-Juricic E., Tellería J.L. (2000). Effect of human disturbance on spatial and temporal feeding patterns of blackbird *Turdus merula* in urban parks in Madrid, Spain. *Bird Study* 47: 13-21.
- Feeney W. E., Welbergen J. A., Langmore N. E. (2014). Advances in the study of coevolution between avian brood parasites and their host. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 45: 227-46.
- Grim T. (2005). Mimicry vs similarity: which resemblances between brood parasites and their hosts are mimetic and which are not? *Biol. J. Linnean Soc.* 84: 69-78.
- Grim T. (2006). The evolution of nestling discrimination by hosts of parasitic birds: why is rejection so rare? *Evol. Ecol. Res.* 8: 785-802.
- Grim T. (2013). Perspectives and debates: mimicry, signalling and co-evolution (commentary on Wolfgang Wickler – Understanding mimicry – with special reference to vocal mimicry). *Ethology* 119: 270-277.
- Grim T., Samaš P., Moskát C., Kleven O., Honza M., Moksnes A., Røskoft E., Stokke B. G. (2011). Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts? *J. Anim. Ecol.* 80: 508-518.
- Grim T., Samaš P., Hauber M. E. (2014). The repeatability of avian egg ejection behaviors across different temporal scales, breeding stages, female ages and experiences. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 68: 749-759.
- Hale K., Briskie J. V. (2007). Response of introduced european birds in New Zealand to experimental brood parasitism. *J. Avian Biol.* 38: 198-204.
- Hanley D., Samaš P., Heryán J., Hauber M. E., Grim T. (2015). Now you see it, now you don't: flushing hosts prior to experimentation can predict their responses to brood parasitism. *Sci. Rep.* 5: 9060.
- Hanley D., Šulc M., Brennan P. L. R., Hauber M. E., Grim T., Honza M. (2016). Dynamic egg color mimicry. *Ecol. Evol.* 62: 4192-4202.
- Hanley D., Grim T., Igić B., Samaš P., Lopéz A. V., Shawkey M. D., Hauber M. E. (2017). Egg discrimination along a gradient of natural variation in eggshell coloration. *Proc. R. Soc. Lond. B* 284: 20162592.
- Hart N. S. (2001). The visual ecology of avian photoreceptors. *Prog. retin. Eye Res.* 20: 675-703.

- Hauber M. E., Sherman P. W. (2001). Self-referent phenotype matching: theoretical considerations and empirical evidence. *Trends Neurosci.* 24: 609-616.
- Hauber M. E., Moskát C., Bán M. (2006). Experimental shift in hosts acceptance threshold of inaccurate-mimic brood parasite eggs. *Biol. Lett.* 22: 177-80.
- Ibáñez-Álamo J. D., Soler M. (2010). Does urbanization affect selective pressures and life-history strategies in the common blackbird (*Turdus merula* L.)? *Biol. J. Linnean. Soc.* 101: 759-766.
- Janzen D. H. (1980). When is it Coevolution? *Evolution* 34: 611-612.
- Jones C., Osorio D. (2004). Discrimination of oriented visual textures by poultry chicks. *Vision Res.* 44: 83-89.
- Kornerup A. M., Wanscher J. H. (1978). *Handbook of colour.* (3rd edn). London: Eyre Methuen.
- Liang W., Møller A. P., Stokke B. G., Yang C., Kovařík P., Wang H., Yao Ch., Ding P., Lu X., Moksnes A., Røskaft E., Grim T. (2016). Geographic variation in egg ejection rate by great tits across 2 continents. *Behav. Ecol.* 27: 1405-1412.
- Luttbeg B., Langen T. A. (2004). Comparing alternative models to empirical data: cognitive models of western scrub-jay foraging behavior. *Amer. Nat.* 163: 236-276.
- Lyon B. (2007). Mechanism of egg recognition in defenses against conspecific brood parasitism: american coots (*Fulica americana*) know their own eggs. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 61: 455-463.
- Magrath R. (1991). Nestling weight and juvenile survival in the blackbird, *Turdus merula*. *J. Anim. Ecol.* 60: 335-351.
- Manson P., Rothstein S. I. (1986). Coevolution and avian brood parasitism: cowbird eggs show evolutionary response to host discrimination. *Evolution* 40: 1207-1214.
- Moksnes A., Roskaft E. (1995). Egg-morphs and host preference in the common cuckoo (*Cuculus canorus*): an analysis of cuckoo and host eggs from European museum collections. *J. Zool.* 236: 625-648.
- Moskát C, Hauber ME. (2007). Conflict between egg recognition and egg rejection decisions in common cuckoo (*Cuculus canorus*) hosts. *Anim. Cogn.* 10: 377-386.
- Moskát C., Bán M., Hauber M. E. (2014). Naïve hosts of avian brood parasites accept foreign eggs, whereas older hosts fine-tune foreign egg discrimination during laying. *Front. Zool.* 11: 45.
- Møller A. P., Jokimäki J., Skorka P. (2014). Loss of migration and urbanization in birds: a case study of the blackbird (*Turdus merula*). *Oecologia* 175: 1019-1027.

- Partecke J., Gwinner E. (2006). Is urbanization of european blackbirds (*Turdus merula*) associated with genetic differentiation? *J. Ornithol.* 147: 549-552.
- Payne R. B. (1998). Brood parasitism in birds: strangers in the nest. *Bioscience* 48: 377–386.
- Polačiková L., Grim T. (2010). Blunt egg pole holds cues for alien egg discrimination: experimental evidence. *J. Avian Biol.* 41: 111-116.
- Požgayová M., Procházka P., Polačiková L., Honza M. (2010). Closer clutch inspection – quicker egg ejection: timing of host responses toward parasitic eggs. *Behav. Ecol.* 22: 46-51.
- Rutila J., Latja R., Kostela K. (2002). The common cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity nesting host, the redstart *Phoenicurus phoenicurus*: a peculiar cuckoo-host system? *J. Avian Biol.* 33: 414-419.
- Rothstein S. I. (1982). Mechanisms of avian egg recognition: which egg parameters elicit responses by rejecter species? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 11: 229-239.
- Rothstein S. I. (1990). A model system for coevolution: avian brood parasitism. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21: 481-508.
- Rothstein S. I., Robinson S. K. (1998). The evolution and ecology of avian brood parasites: 3-56. In: Rothstein S. I. A Robinson S. K., editors. *Parasitic birds and their hosts studies in coevolution*. Oxford University Press. New York.
- Samaš P., Grim T., Hauber M. E., Cassey P., Weidinger K., Evans K. L. (2013a). Ecological predictors of reduced avian reproductive investment in the southern hemisphere. *Ecography* 36: 809-818.
- Samaš P., Heryán J., Grim T. (2013b). Jak urbanizace ovlivňuje rozptylové chování kosa černého (*Turdus merula*)? *Sylvia* 49: 21-38.
- Samaš P., Hauber M. E., Cassey P., Grim T. (2014). Host responses to interspecific brood parasitism: a by-product of adaptations to conspecific parasitism? *Front. Zool.* 11: 34.
- Smith J. (2015). Your field guide is wrong: a bird's eye view of the world. *Srpen* 17. Dostupné z: <http://blog.nature.org/science/2015/08/17/field-guide-wrong-birds-eye-view-world-color-vision/>. Navštíveno 29.3.2017.
- Spottiswoode C. N., Stevens M. (2010). Visual modeling shows that avian host parents use multiple visual cues in rejecting parasitic eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107: 8672-8676.
- Stevens M., Troscianko J., Spottiswoode C. N. (2013). Repeated targeting of the same hosts by a brood parasite compromises host egg rejection. *Nat. Commun.* 4: 2475.

- Stoddard M. C., Prum R. O. (2008). Evolution of avian plumage color in a tetrahedral color space: a phylogenetic analysis of new world buntings. *Amer. Nat.* 171: 755-776.
- Stoddard M. C., Stevens M. (2010). Pattern mimicry of host eggs by the common cuckoo, as seen through a bird's eye. *Proc. R. Soc. Lond. B* 277: 1387-1393.
- Stoddard M. C., Stevens M. (2011). Avian vision and the evolution of egg color mimicry in the common cuckoo. *Evolution* 65: 2004-2013.
- Stoddard M. C. (2016). Animal coloration and avian sensory ecology physiology and morphology. Dostupné z: <https://www.marycstoddard.com/>. Navštíveno 29.3.2017.
- Stokke B. G., Takasu F., Moksnes A., Røskaft E. (2007). The importance of clutch characteristics and learning for antiparasite adaptations in hosts of avian brood parasites. *Evolution* 61: 2212-2228.
- Trnka A., Prokop P. (2010). Does social mating system influence nest defence behaviour in great reed warbler (*Acrocephalus arundinaceus*) males? *Ethology* 116: 1075-1083.
- Victoria J. K. (1972). Clutch characteristics and egg discriminative ability of the African village weaverbird *Ploceus cucullatus*. *Ibis* 114: 367-376.
- Vliet J., Musters C.J.M., Ter Keurs W. J. (2009). Changes in migration behaviour of blackbirds *Turdus merula* from the Netherlands. *Bird Study* 56: 276-281.
- Vorobyev M., Osorio D., Bennett A. T. D., Marshall N. J., Cuthill I. C. (1998). Tetrachromacy, oil droplets and bird plumage colours. *J. Comp. Physiol. A* 183: 621-633.
- Weiszensteinová J. (2012). Metody odmítání parazitických vajec u hostitelů hnízdních parazitů. Univerzita Palackého v Olomouci, DP.
- Wysocki D. (2005). Nest site selection in the urban population of Blackbirds *Turdus merula* of Szczecin (NW Poland). *Acta Ornithol.* 40: 61-69.
- Yom-Tov Y. (2001). An updated list and some comments on the occurrence of intraspecific nest parasitism in birds. *Ibis* 143: 133-143.

Blackbird responses to continuous color variation of foreign eggs

Karel Gern¹, Peter Samaš¹, Tomáš Grim¹, Mark E. Hauber^{2,3}, Daniel Hanley⁴

¹Department of Zoology and Laboratory of Ornithology, Palacký University, 17. listopadu 50, 77146 Olomouc, Czech Republic

²Department of Animal Biology, School of Integrative Biology, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA

³Department of Psychology, Hunter College and the Graduate Center of the City University of New York, New York, NY 10065, USA

⁴Department of Biology, Long Island University Post, Brookville, New York 11548, USA

Correspondence: daniel.hanley@liu.edu

Abstract

Despite extensive research on the sensory and cognitive processes of host recognition of brood parasitic eggs, the underlying mechanisms are not sufficiently understood. Most studies of host egg discrimination assume that hosts reject parasitic eggs from their nests based on the total perceived color differences between the parasitic egg and their own. A recent study used a continuous range of parasitic colors and discovered that hosts' were more likely to reject brown parasitic eggs despite their absolute perceived color difference to their own eggs' color. However, it remains unclear how these color-based biases are distributed throughout their perceivable color space. To address this, we built upon these previous tests by further testing blackbird (*Turdus merula*) responses to model eggs spanning a wide array of avian visible colors. We found that host decisions depended on hue of parasitic egg, but not its saturation. Hosts generally accepted green and blue-green eggs more than other colors. We suggest that future studies should replicate our experimental design in other bird species to determine how general these perceptual biases are among hosts of brood parasites.

Introduction

Co-evolutionary arms races are widespread in nature, and a driving force in evolution (Dawkins and Krebs 1979, Davies 2000). Although there are many types of arms-races, those associated with the brood fall into two categories: intraspecific, in which many species of

insects (e.g., bees *Osmia tricornis*, Field 1992), fishes (Taborsky et al. 1987) and birds (Yom-Tov 2001) lay their eggs inside of the nests of other individuals of the same species, and interspecific, in which these relationships manifest between different species (Dawkins and Krebs 1979), such as the predator and its prey, or parasites and their hosts, for example parasite trematodes and their hosts molluscs (Becker 1980). An arms race can ensue because defense abilities select for counter adaptations to evade those defenses, such that defenses and counter defenses improve reciprocally (Van Valen 1973).

Avian brood parasitism is a classic example of a co-evolutionary arms race between parasitic birds and their hosts (Rothstein 1990, Davies 2000, Feeney et al. 2014). Brood parasitic birds lay their eggs in other birds' nests, leaving hosts to raise their offspring and provide all parental care (Rothstein 1990, Payne 1998). Brood parasitism selects for host defenses against parasitism, because if hosts fail to reject a parasite, they can lose all their offspring and raise a genetically unrelated parasite (Davies 2000, Stoddard and Stevens 2011). Therefore, many hosts evade parasitism by adaptive defense behaviors (Feeney et al. 2014), and one of the most commonly used strategies is rejecting foreign offspring from their nests as either eggs (Davies and Welbergen 2009) or young (Grim 2006). Because hosts tend to reject less mimetic eggs, they inadvertently increase the fitness of individuals with more mimetic eggs (Brooke and Davies 1988, Antonov et al. 2006, Spottiswoode and Stevens 2010, Bán et al. 2013, Samas et al. 2014).

Parasitism provides the selection pressure necessary to select for improvements in the recognition abilities of hosts, which in turn selects for parasites to evolve counter-adaptations such as egg mimicry (Brooke and Davies 1988, Stoddard and Stevens 2011). This arms-race makes a host's decision based on eggshell appearance an increasingly difficult choice; however, all eggs contain species specific visual information that allows them to be distinguished (Spottiswoode and Stevens 2010), and hosts can draw upon prior experience with their own and brood parasitic eggs to make current egg rejection decisions and to improve future decisions (Hauber et al. 2006, Moskát et al. 2014). Eggshells provide this information through a range of cues, including egg size (Rothstein 1982), shape (Bán et al. 2011), pattern (Spottiswoode and Stevens 2010; Stoddard and Stevens 2011), and color (Cassey et al. 2008).

Recent work has determined that host rejection decisions are not simply based on the degree of perceived similarity (which is not necessarily synonymous with mimicry, see: Grim 2005) as traditionally thought (Stoddard and Stevens 2011). Instead host rejection responses

are biased toward natural brown colors while eggs that are of an equally dissimilar blue-green color are more often accepted (Hanley et al. 2017). Here, we examine host recognition across a larger avian color gamut than in the study of Hanley et al. (2017) to determine the breadth and depth of these color-based biases. Specifically, we examine the behavioral responses of the blackbird (*Turdus merula*) to variably colored egg models spanning a broad array of colors (hues) and intensities (saturation). We predict that hosts will be biased toward accepting blue-green egg colors, such that the rejection probability will increase as they deviate from blue-green colors (see Figure S3 in Hanley et al. 2017). Furthermore, we predict that rejection probability will increase with increasing color saturation (Stoddard and Stevens 2011).

Material and Methods

Study area and experimental procedures

To more fully sample across the avian perceivable color space, we added to our previously collected data (Hanley et al. 2017) through a series of new experiments. We collected these new data in the city of Olomouc, Czech Republic (49°35'38" N, 17°15'3" E) between March and July in 2015 and 2016. We included 88 non-predated nests in our experiment, focusing on nests that reached clutch completion without failure, due to desertion or predation, and that were not used for other experiments. We assumed blackbird females lay one egg per day and have a 13-day incubation period (Hanley et al. 2015b). In our population, clutches typically contain 4 or 5 eggs (Samas et al. 2013), and we added the experimental egg one day after the last laid egg (nest age; days \pm SE; 4.65 ± 0.42 days) such that each experiment started on the first day of incubation. Similar to most other cuckoo hosts, blackbirds do not vary their egg rejection responses between laying and incubation stages (Grim et al. 2011) including in our study population (Grim et al. 2014). To avoid influencing host response (Hanley et al. 2015a), we tried to add the experimental egg when the host parents had flown away from the nest and left it unguarded. All of experimental nests were checked daily, for six days to determine if the egg was accepted or ejected (following Grim et al. 2011). Nests deserted during this 6-day period were excluded because nest desertion is not a specific response to parasitism when a host female is parasitized by artificial egg models (Samas et al. 2014, Soler et al. 2015, Ruiz-Raya et al. 2016). These data were combined with identically collected data (Hanley et al. 2017).

Experimental egg models

Models were painted to mimic both natural colors (Hanley et al. 2015a) and unnatural color ranges (see Hanley et al. 2017). However, unlike our previous study, our current goal was to more thoroughly sample the color space; therefore, we constructed a color wheel containing 73 colors, based on 6 main hues (blue, cyan, green, yellow, red and magenta) and white (Figure 1). Hues were mixed together at variable proportions with the next most similar hue; for example, 75% blue and 25% cyan, 50% blue and 50% cyan and 25% blue and 75% cyan, respectively. This resulted in 24 unique hues, for which each was displayed at three distinct shades created by mixing each paint mixture with variable proportions of white, such that the hue was pure (i.e., 0% white), 25% white, or 50% white (i.e., variable saturation). In addition, we included a single white egg model representing the center of the color wheel. Each egg model was painting using a single unique color.

Color measurement and analysis

We used spectrometer Ocean Optics Jaz (Ocean Optics, Dunedin, Florida), a pulsed xenon light source (Jaz PX), and a white reflectance standard (WS-1) for reflectance spectrometry to objectively measure each color. During the course of our experiment the distance between the probe tip and the egg changed; therefore, color data from 2015-2016 were based on paints applied to water color paper. First, we painted each color on water color paper 20 times and measured every color patch 3 times, taking the average of each color. The previously collected data used a different spectrometer (Hanley et al. 2017); therefore, to ensure comparability between the datasets all spectra were normalized prior to analysis. This, has no influence on the coordinates within a color space or just noticeable differences in colors, but will alter just estimates of noticeable achromatic differences in color, which we will not consider in this study since previous research found that this did not influence host responses (Hanley et al. 2017). Therefore, we focus solely on the influence of color, not brightness in this study.

Visual models

We used the “pavo” R package (Maia et al. 2013) to calculate the relative sensitivity of each of the blackbird’s photoreceptors (Hart & Vorobyev 2005; Govardovskii et al. 2000; Vorobyev et al. 1998), while accounting for oil droplet cut-offs (Hart & Vorobyev 2005), following Hanley et al. (2017). This neural noise-limited visual model (Vorobyev et al. 1998; Vorobyev & Osorio 1998) integrates stimulus reflectance, photoreceptor sensitivity, and a

standard metric of daylight illumination to generate relative quantum catch estimates. These values can then be transformed into the avian tetrahedral color space (Stoddard & Prum 2008; Endler & Mielke 2005). This color space encompasses the range of colors visible to birds and is a chromaticity diagram lacking any brightness information (Stoddard & Prum 2011). It is defined by four apices corresponding with each photoreceptor. Any stimulus can be plotted within this space, and will be defined by its relative stimulation of each of these four photoreceptors, such that a stimulus that equally stimulates all four photoreceptors will be plotted at the achromatic point. Within this space a few spherical coordinates can be used to define the location of any color: *theta* represents the hue or colors around the color wheel (range: $-\pi$ to π), *phi* the angle from the UV receptor (range: $-\pi/2$ to $\pi/2$), and *r* represents the saturation or intensity of the color as measured as the relative distance from the achromatic point (range: 0 to 1).

Statistical analyses

We examined whether rejection of the foreign egg can be predicted by the spherical parameters defining colors within the tetrahedral space. Because hue values represent circular data, we used a binomial generalized additive models (GAM) to predict host responses (acceptance or rejection), because these models can accommodate circular data. We conducted these models using the ‘gam’ function in the ‘mgcv’ package version 1.8-15 in R software (R Core Team 2016). To accommodate the circular nature of hue, we used a penalized cubic regression spline as a smoothing term, which produces a smooth function such that the extreme values of hues at $-\pi$ and π would match up (Wood 2006). Unlike hue, *phi* and saturation were not circular and were included as fixed effects in the predictive model. We performed a backward stepwise elimination procedure to account for other potentially influential variables: clutch size (mean \pm se: 4.33 ± 0.05 eggs), whether the female was flushed or not (yes or no), nest age (6.46 ± 0.17 days), year of the experiment (2014, 2015, or 2016), and since we have combined data we also controlled for the dataset (either current or previous). For this stepwise selection, the smoothing parameter estimation was calculated via maximum likelihood, but we report parameter estimates after performing smoothing parameter estimation using Mallows' Cp (Mallows 1973). All analyses were conducted in R v. 3.1.2.

Results

Only the hue of the foreign eggs predicted rejection behavior in blackbird females (Table 1). Blue-green egg models were accepted more compared to other colors, especially egg model that had magenta through orange colors (Fig. 1b). Neither phi ($z = -0.37$, $p = 0.71$) nor color saturation predicted host female rejection behavior ($z = 0.20$, $p = 0.84$). Furthermore, the year of experiment, nest age, clutch size, whether the female was flushed, and study the data came from did not predict rejection behavior in blackbird females (Table 1)

Discussion

We demonstrate that the blackbird responses to parasitic eggs are influenced by the hue of experimental foreign egg. Blackbird females accepted blue-green and green, but they had a tendency to increase the frequency of rejecting other colors, especially eggs ranging from magenta through yellow. Although many of these colors do not occur in nature (Hanley et al. 2015a), brown colors that are present on birds eggs do fall within this range of hue. This may be the reason why these colors were strongly rejected. These findings are in line with an independent series of experiments in the same blackbird population (Hanley et al. 2017), and are generally consistent with our predictions. Surprisingly, saturation of eggshell colors did not influence host decisions. One explanation for not detecting an effect with saturation was because the variable lighting conditions found at every nest influenced the birds' decision making abilities (Stevens et al. 2013).

Interestingly, despite examining a range of potential color and life history variables, only hue significantly predicted host response. If females experience pigment limitation across the laying sequence, or after multiple brood attempts, the ability to base decisions on hue discrimination, independent of saturation, may reduce the chance of rejection errors (i.e., rejecting their own eggs). As found previously (Hanley et al. 2017), color was a better predictor of host response than whether the female was flushed before the experiment (Hanley et al. 2015c). In addition, previous studies found that clutch size was an important predictor of blackbird response (e.g., Ruiz-Raya et al. 2016); however, we found that clutch size did not significantly predict host response when considering hue. In fact, even other color variables did not explain host response suggesting that blackbirds might use relatively simple color decision rules to make rejection decisions.

In these experiments we used artificial model eggs, which could not be punctured by the blackbird. Although the blackbird is a grasp rejector (Soler et al. 2017), this might have influenced host responses in this study. For example, recent studies have shown that the host

females can accept parasitic eggs when they fail to puncture them (Martín-Vivaldi et al. 2002, Prather et al. 2007, Antonov et al. 2009). In addition, Soler et al. (2012) have shown that host response is related to the host's motivation to reject the parasitic egg, regardless of whether the eggs are soft or not. Moreover, a recent experiment on blackbirds has suggested that blackbirds only touch parasitic eggs if they recognize those eggs, even if they do not puncture or remove them (Soler et al. 2017). Overall, these studies suggest that parasitic eggs may be detected but are not always rejected from nest (Antonov et al. 2009, Soler et al. 2012, Ruiz-Raya et al. 2015). This, of course, does not affect our findings because whether these findings reflect recognition or motivation to respond the outcome is the same. Why should blackbirds be more motivated to remove a brown egg than an equally obvious green parasitic egg or an egg of an entirely novel color?

Based on our findings, future research should examine host response across their visual spaces in more avian species to determine whether these findings might be more general. Ideally, this future research should examine a range of hosts which face brood parasitism from both conspecifics (Samas et al. 2014) and heterospecifics parasites (Ruiz-Raya et al. 2016). Although we have used artificial egg models, the methods employed here may be more successful in the future if they explored the use of coloring natural eggs and using different types of egg models. Lastly, future research should experimentally test the effect of a host's prior experience with eggshell colors, which can influence their decisions in some species (Grim et al. 2014, Moskát et al. 2014), but not all (Grim et al. 2014), species.

Acknowledgements

Our research methods were approved by the Research Ethics Committee of Palacký University (45979/2001–1020), and the research was done under licenses from the Department of Environment of the City of Olomouc (SMOL/018342/2014/OZP/PKZ/Kol, to TG). For funding, we thank the European Social Fund and the state budget of the Czech Republic (CZ.1.07/2.3.00/30.0041, to TG and DH), the Human Frontier Science Program (RGY83/2012, to TG) and Internal Grant Agency of Palacký University (IGA_PrF_2016_017 and IGA_PrF_2017_023, to TG and KG).

Author Contributions

Concept: DH, MEH.

Experimental design: DH.

Data collection: KG, DH.

Data analysis: DH, PS.

Funding acquisition: TG.

Writing – original draft: KG, DH.

Writing – review & editing: DH, TG, MES, PS.

References

- Antonov A., Stokke B. G., Moksnes A., Røskaft E. (2006). Egg rejection in marsh warblers (*Acrocephalus palustris*) heavily parasitized by common cuckoos (*Cuculus canorus*). *Auk* 123: 419-430.
- Antonov A., Stokke B. G., Moksnes A., Røskaft E. (2009). Evidence for egg discrimination preceding failed rejection attempts in a small cuckoo host. *Biol. Lett.* 5: 169-171.
- Bán M., Barta Z., Muñoz A. R., Takasu F., Nakamura H., Moskát C. (2011). The analysis of common cuckoo's egg shape in relation to its hosts' in two geographically distant areas. *J. Zool.* 284: 77-83.
- Bán M., Moskát C., Barta Z., Hauber M. E. (2013). Simultaneous viewing of own and parasitic eggs is not required for egg rejection by a cuckoo host. *Behav. Ecol.* 24: 1014-1021.
- Becker W. (1980). Metabolic interrelationship of parasitic trematodes and molluscs, especially *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *Z. Parasitenkd.* 63: 101-111.
- Bennett A. T. D., Théry M. (2007). Avian color vision and coloration: multidisciplinary evolutionary biology. *Am. Nat.* 169: 1-6.
- Brooke M. L., Davies N. B. (1988). Egg mimicry by cuckoos *Cuculus canorus* in relation to discrimination by hosts. *Nature* 335: 630-632.
- Cassey P., Honza M., Grim T., Hauber M. E. (2008). The modelling of avian visual perception predicts behavioural rejection responses to foreign egg colours. *Biol. Lett.* 4: 515-517.
- Cuthill I. C. (2006). Color perception. In: Hill G. E., McGraw K. J. (Eds.): *Bird coloration: Mechanism and measurements*, HUP London 1.
- Davies N.B., Brooke M. L. (1989). An experimental study of co-evolution between the cuckoo, *Cuculus canorus*, and its hosts. II. Host egg markings, chick discrimination and general discussion. *J. Anim. Ecol.* 58: 225-236.
- Davies N. (2000). *Cuckoos, cowbirds and other cheats*. T&AD Poyser, London.
- Davies N. B., Welbergen J. A. (2009). Social transmission of host defense against cuckoo parasitism. *Science* 324: 1318-1320.
- Dawkins R., Krebs J. R. (1979). Arms races between and within species. *Proc. R. Soc. Lond. B* 205: 489-511.

- Feeney W. E., Welbergen J. A., Langmore N. E. (2014). Advances in the study of coevolution between avian brood parasites and their host. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 45: 227-46.
- Field J. (1992). Intraspecific parasitism as an alternative reproductive tactic in nest-building wasps and bees. *Biol. Rev.* 67: 79-126.
- Forstmeier W., Schielzeth H. (2011). Cryptic multiple hypotheses testing in linear models: overestimated effect sizes and the winner's curse. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 65: 47-55.
- Grim T. (2005). Mimicry vs similarity which resemblances between brood parasites and their hosts are mimetic and which are not? *Biol. J. Linnean Soc.* 84: 69-78.
- Grim T., Samaš P., Moskát C., Kleven O., Honza M., Moksnes A., Røskaft E., Stokke B. G. (2011). Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts? *J. Anim. Ecol.* 80: 508-518.
- Grim T., Samaš P., Hauber M. E. (2014). The repeatability of avian egg ejection behaviors across different temporal scales, breeding stages, female ages and experiences. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 68: 749-759.
- Hanley D., Grim T., Cassey P., Hauber M. E. (2015a). Not so colourful after all: eggshell pigments constrain avian eggshell colour space. *Biol. Lett.* 11: 20150087.
- Hanley D., Samaš P., Hauber M. E., Grim T. (2015b). Who moved my eggs? An experimental test of the egg arrangement hypothesis for the rejection of brood parasitic eggs. *Anim. Cogn.* 18: 299-305.
- Hanley D., Samaš P., Heryán J., Hauber M. E., Grim T. (2015c). Now you see it, now you don't: flushing hosts prior to experimentation can predict their responses to brood parasitism. *Sci. Rep.* 5: 9060.
- Hanley D., Grim T., Igic B., Samaš P., Lopéz A. V., Shawkey M. D., Hauber M. E. (2017). Egg discrimination along a gradient of natural variation in eggshell coloration. *Proc. R. Soc. Lond. B* 284: 20162592.
- Hauber M. E., Moskát C., Bán M. (2006). Experimental shift in hosts acceptance threshold of inaccurate-mimic brood parasite eggs. *Biol. Lett.* 22: 177-80.
- Honza M., Polaciková L., Procházka P. (2007). Ultraviolet and green parts of the colour spectrum affect egg rejection in the song thrush (*Turdus philomelos*). *Biol. J. Linn. Soc.* 92: 269-276.
- Jones C., Osorio D. (2004). Discrimination of oriented visual textures by poultry chicks. *Vision Res.* 44: 83-89.

- Maia R., Eliason C. M., Bitton P., Doucet S.M., Shawkey M. D. (2013). pavo: an R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. *Methods Ecol. Evol.* 4: 906-913.
- Mallows C. L. (1973). Some comments on C_p . *Technometrics* 15: 661-675.
- Martín-Vivaldi M., Soler M., Møller A. P. (2002). Unrealistic high cost of rejecting artificial model eggs in Cuckoo *Cuculus canorus* hosts. *J. Avian. Biol.* 33: 295-301.
- Moskát C., Bán M., Hauber M. E. (2014). Naïve hosts of avian brood parasites accept foreign eggs, whereas older hosts fine-tune foreign egg discrimination during laying. *Front. Zool.* 11: 45.
- Nagelkerke N. J. D. (1991). A note on a general definition of the coefficient of determination. *Biometrika* 78: 691-692.
- Payne R. B. (1998). Brood parasitism in birds: strangers in the nest. *Bioscience* 48: 377-386.
- Prather J. W., Cruz A., Weaver P. F., Wiley J. W. (2007). Effects of experimental egg composition on rejection by Village Weavers (*Ploceus cucullatus*). *Wilson. J. Ornithol.* 119: 703-711.
- Rothstein S. I. (1982). Mechanisms of avian egg recognition: which egg parameters elicit responses by rejecter species? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 11: 229-239.
- Rothstein S. I. (1990). A model system for coevolution: avian brood parasitism. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21: 481-508.
- Ruiz-Raya F., Soler M., Sánchez-Pérez L., Ibáñez-Álamo J. D. (2015). Could a factor that does not affect egg recognition influence the decision of rejection? *PloS One* 10: 0135624.
- Ruiz-Raya F., Soler M., Roncalli G., Abaurrea T., Ibáñez-Álamo J. D. (2016). Egg rejection in blackbirds *Turdus merula*: a by-product of conspecific parasitism or successful resistance against interspecific brood parasites? *Front. Zool.* 13: 16.
- Rutila J., Latja R., Kostela K. (2002). The common cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity nesting host, the redstart *Phoenicurus phoenicurus*: a peculiar cuckoo-host system? *J. Avian Biol.* 33: 414-419.
- Samaš P., Grim T., Hauber M. E., Cassey P., Weidinger K., Evans K. L. (2013). Ecological predictors of reduced avian reproductive investment in the southern hemisphere. *Ecography* 36: 001-010.
- Samaš P., Hauber M. E., Cassey P., Grim T. (2014). Host responses to interspecific brood parasitism: a by-product of adaptations to conspecific parasitism? *Frontiers in Front. Zool.* 11: 34.

- Soler M., Fernández-Morante J., Espinosa F., Martín-Vivaldi M. (2012). Pecking but accepting the parasitic eggs may not reflect ejection failure: the role of motivation. *Ethology* 118: 662-672.
- Soler M., Ruiz-Raya F., Roncalli G., Ibáñez-Álamo J. D. (2015). Nest desertion cannot be considered an egg-rejection mechanism in a medium-sized host: an experimental study with the common blackbird *Turdus merula*. *J. Avian. Biol.* 46: 369-377.
- Soler M., Ruiz-Raya F., Roncalli G., Ibáñez-Álamo J. D. (2017). Relationships between egg-recognition and egg-ejection in a grasp-ejector species. *PloS One* 12: 0166283.
- Spottiswoode C. N., Stevens M. (2010). Visual modeling shows that avian host parents use multiple visual cues in rejecting parasitic eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107: 8672-8676.
- Stevens M., Troscianko J., Spottiswoode C. N. (2013). Repeated targeting of the same hosts by a brood parasite compromises host egg rejection. *Nat. Commun.* 4: 2475.
- Stoddard M. C., Stevens M. (2011). Avian vision and the evolution of egg color mimicry in the common cuckoo. *Evolution* 65: 2004-2013.
- Stoddard M. C., Prum R. O. (2011). How colorful are birds? Evolution of the avian plumage color gamut. *Behav. Ecol.* 22: 1042-1052.
- Stokke B. G., Takasu F., Moksnes A., Røskaft E. (2007). The importance of clutch characteristics and learning for antiparasite adaptations in hosts of avian brood parasites. *Evolution* 61: 2212-2228.
- Taborsky M., Hudde B., Wirtz P. (1987). Reproductive behaviour and ecology of *Symphodus (Crenilabrus) ocellatus*, a European wrasse with four types of male behaviour. *Behaviour* 102: 82-117.
- Van Valen L. (1973). A new evolutionary law. *Evol. Theor.* 1: 1-30.
- Wood S. N. (2006). *Generalized Additive Models: an introduction with R*. CRC Press 16: 147-148.
- Yom-Tov Y. (2001). An updated list and some comments on the occurrence of intraspecific nest parasitism in birds. *Ibis* 143: 133-143.

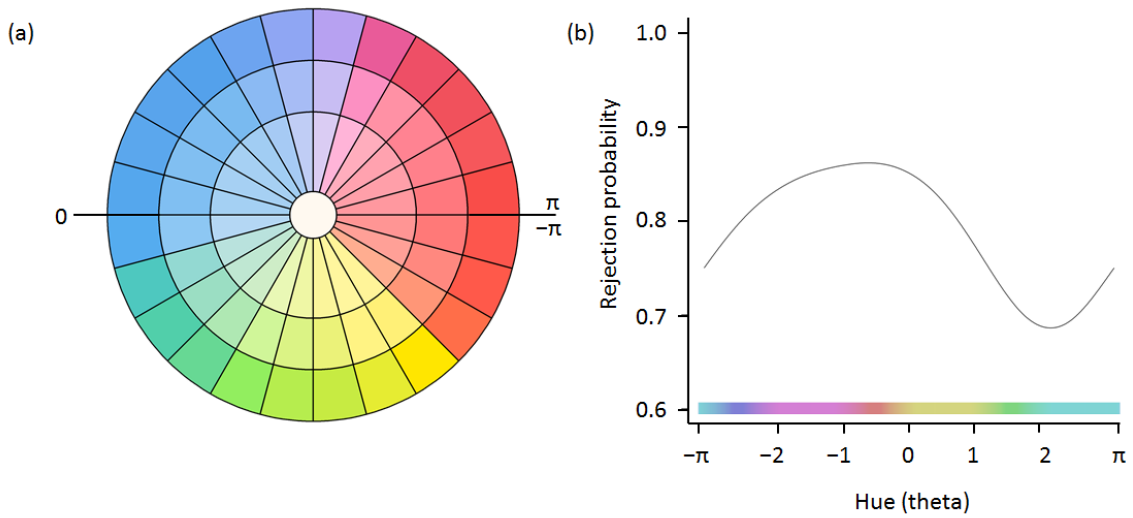


Fig. 1. Here we depict a color wheel illustrating the a) color patches represent the systematic color wheel we created. Hue values ranged from $-\pi$ to $+\pi$ (following Stoddard and Prum 2008), around the color wheel while colors become more saturated as they approach the edge of the wheel. Rejection probabilities for egg models with colors on this gradient varied with b) respect to hue.

Table 1. General additive model outputs predicting the behavioral response of blackbirds to experimental parasitism. We present the full and final models. We show a the parameter estimates with their standard error, a standardized effect (z-score), a Chi square value, and significance. Significant predictors are in bold. More details are available at Materials and Methods section.

Predictor	Full model				Final model			
	Estimate ± SE	z	χ^2	P	Estimate ± SE	z	χ^2	P
Whole model ($R^2=0.13$, AICc =168.96)					(R ² = 0.06, AICc = 166.39)			
Intercept	550.12±1261.50	0.44	–	0.66	0.08±4.69	0.017	–	0.99
Saturation	–8.84±7.22	–1.22	1.50	0.22	0.95±4.74	0.200	0.040	0.84
Phi	–1.14±1.25	–0.91	0.83	0.36	–0.42±1.12	–0.371	0.138	0.71
Year	–0.27±0.63	–0.43	0.19	0.67	–	–	–	–
Clutch size	0.33±0.34	0.98	0.96	0.33	–	–	–	–
Flushed	–1.22±0.82	–1.49	2.21	0.14	–	–	–	–
Age	–0.02±0.12	–0.15	0.02	0.88	–	–	–	–
Study	–2.14±1.32	–1.62	2.63	0.11	–	–	–	–
Hue	–	–	6.68	0.005	–	–	4.63	0.04